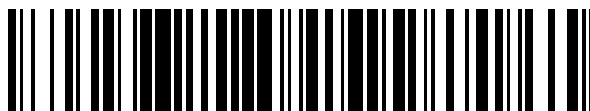


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 387 150**

21 Número de solicitud: 201130649

51 Int. Cl.:

C12N 9/02 (2006.01)

A23L 1/015 (2006.01)

A23C 19/097 (2006.01)

A23B 4/22 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **04.12.2008**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **14.09.2012**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
14.09.2012

62 Número de la solicitud inicial: **P 200803451**

71 Solicitante/s:
BIOGES STARTERS S.A.
Paseo Condesa de Sagasta 10 - 1ºC
24001 León, ES

72 Inventor/es:
ARCOS RODRÍGUEZ, Mario;
RODRÍGUEZ OLIVERA, Elías;
NAHARRO CARRASCO, Germán y
LUENGO RODRÍGUEZ, José María

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

54 Título: **NUEVA HIDROXIFENILACETALDEHÍDO DESHIDROGENASA, ÁCIDO NUCLEICO QUE LA CODIFICA Y VECTORES Y MICROORGANISMOS RECOMBINANTES QUE LA EXPRESAN**

57 Resumen:

Nueva hidroxifenilacetaldehído deshidrogenasa, ácido nucleico que la codifica y vectores y microorganismos recombinantes que la expresan. La nueva hidroxifenilacetaldehído deshidrogenasa forma parte de una vía bacteriana de degradación de tiramina y/o dopamina hasta ácido pirúvico y ácido succínico desconocida hasta ahora. Actúa tras la tiramina oxidasa que transforma tiramina o dopamina en 4-hidroxifenilacetaldehído y 3,4-dihidroxifenilacetaldehído, generando a partir de ellos ácido 4-hidroxifenilacético y 3,4-hidroxifenilacético, respectivamente. Así, puede usarse en procedimientos dirigidos a disminuir la cantidad de tiramina y/o dopamina, por ejemplo en alimentos. La invención se refiere también a las moléculas de ácido nucleico que codifican la enzima, los vectores que permitan su expresión y a microorganismos recombinantes transformados con dichos vectores.

ES 2 387 150 A1

DESCRIPCIÓN

Nueva hidroxifenilacetaldehído deshidrogenasa, ácido nucleico que la codifica y vectores y microorganismos recombinantes que la expresan

CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCIÓN.

- 5 El campo técnico de la invención pertenece a la Biotecnología. La invención se refiere a una nueva hidroxifenilacetaldehído deshidrogenasa. Forma parte de una vía de degradación bacteriana de degradación de tiramina y dopamina, desconocida hasta ahora, y lleva a cabo la transformación de los compuestos generados por dicha vía a partir de tiramina y dopamina en los ácidos 4-hidroxifenilacético y 3,4-dihidroxifenilacético respectivamente, compuestos que, al ser degradados por las enzimas de otro *cluster* complementario, son finalmente degradados en ácido pirúvico y
- 10 ácido succínico. Por tanto, la enzima puede usarse en procedimientos para disminuir el contenido de tiramina y/o dopamina en muestras que las contengan, preferentemente alimentos y bebidas.

ESTADO DE LA TÉCNICA

Aminas biogénicas. Aspectos generales

- 15 Las aminas son compuestos químicos derivados del amoníaco que resultan de la sustitución de los hidrógenos de esa molécula por radicales alquilo. Según se sustituyan uno, dos o tres hidrógenos, las aminas serán primarias, secundarias o terciarias. Cuando son originadas como consecuencia de la actividad de organismos vivos y poseen actividad biológica (cumplen importantes funciones en las células) reciben el nombre de aminas biogénicas o biogénicas. En función del número de grupos amino presentes en la molécula podemos diferenciar, monoaminas, diaminas y poliaminas. Las monoaminas alifáticas están muy extendidas en la naturaleza donde también es abundante la diamina putrescina, mientras que las poliamidas espermidina y espermina son producidas por animales, por plantas y por la
- 20 mayoría de las bacterias (1).

Las aminas aromáticas, originadas por descarboxilación de aminoácidos, son las aminas más comunes en los alimentos (histamina, 2-feniletilamina, tiramina, etc.) y también tienen gran importancia como transmisores dentro del sistema nervioso central (dopamina, noradrenalina, epinefrina, serotonina, etc.).

- 25 Podemos hacer una distinción entre aminas biogénicas endógenas, que son aquellas que son sintetizadas en diferentes tejidos de los organismos superiores (como por ejemplo la adrenalina producida en la médula adrenal o la histamina en los mastocitos) y aminas biogénicas exógenas, que son las ingeridas en la dieta. Estas aminas biogénicas exógenas pueden estar presentes en los alimentos de origen vegetal (frutas y hortalizas), o bien pueden aparecer en los alimentos como consecuencia de la actividad microbiana durante el procesado (cura de carnes y quesos) o durante el almacenaje
- 30 de los mismos. Debido a que pueden provocar efectos nocivos tanto en el hombre como en los animales, son consideradas sustancias tóxicas.

Las aminas biogénicas más importantes que pueden encontrarse en los alimentos son la histamina, la putrescina, la cadaverina, la tiramina, la triptamina, la feniletilamina, la espermina y la espermidina; y los alimentos que las contienen pueden ser muy variados (pescado, carne, huevos, quesos, bebidas fermentadas, etc.) (2).

- 35 Afortunadamente, los organismos cuentan con diferentes sistemas naturales de detoxificación (monoaminoxidasa -MAO- o la diaminooxidasa -DAO-) que les permiten eliminar las aminas biogénicas, evitando los efectos perjudiciales causados por estos compuestos. Sin embargo, puede haber casos en que estos sistemas no funcionan correctamente, o se encuentran inhibidos por la acción de determinados fármacos, por lo que la presencia de aminas biogénicas en los alimentos puede suponer un grave problema para la salud.

- 40 Por todas estas razones es muy interesante seleccionar microorganismos que al ser utilizados en los procesos de elaboración de alimentos (curados, fermentaciones, etc.), no acumulen aminas biogénicas, o que lo hagan en concentraciones que no sean peligrosas para la salud. La Ingeniería Genética y la Ingeniería Metabólica podrían contribuir a obtener este tipo de cepas asegurando, además, que se conserven otra serie de propiedades y características que son necesarias para mantener los estándares de identidad y calidad de los alimentos.

45 Las aminas biogénicas como neurotransmisores

Desde hace décadas se tiene constancia de que la transmisión catecolaminérgica está mediada por aminas biogénicas entre las que se incluyen las catecolaminas (dopamina, noradrenalina y adrenalina) derivadas del aminoácido tirosina; la indolamina serotonina, sintetizada a partir del triptófano; y la histamina, producida a partir del aminoácido histidina.

Catecolaminas

- 50 Bajo el término catecolaminas se engloban todas aquellas aminas biogénicas derivadas de la tirosina que contienen un grupo catecol y un grupo amino en su molécula. El primer paso en la síntesis de catecolaminas está catalizado por la enzima tirosinahidroxilasa mediante una reacción que requiere oxígeno como substrato y tetrahidrobiopterina como cofactor, y permite obtener como producto final dihidroxifenilalanina (DOPA) (Figura 1). Por lo tanto, la tasa de

tirosinahidroxilasa va a ser el factor limitante para la síntesis de las tres aminas neurotransmisoras catecolaminérgicas (dopamina, noradrenalina y adrenalina).

La dopamina se produce por la descarboxilación de L-DOPA. Esta reacción se lleva a cabo por la enzima DOPA descarboxilasa. El área del cerebro donde se encuentra en mayor abundancia es en el *corpus striatum*, jugando un papel esencial en la coordinación de los movimientos corporales (3). En pacientes que padecen la enfermedad de Parkinson, por ejemplo, se ha observado degeneración de las neuronas dopaminérgicas, lo que va a dar lugar a la característica disfunción motora asociada a esta enfermedad (4).

La noradrenalina, también llamada norepinefrina, requiere para su síntesis, a partir de dopamina, la acción de la dopamina-β-hidroxilasa. Esta catecolamina se produce mayoritariamente en las neuronas de los ganglios simpáticos y su acción está relacionada con el sueño, la vigilia, la atención y la conducta.

La adrenalina, también llamada epinefrina, está presente en el cerebro en niveles más bajos que las otras dos catecolaminas. La enzima que sintetiza la adrenalina, la feniletanolamina-N-metiltransferasa, se localiza solo en las neuronas secretoras de esta catecolamina.

Las enzimas más importantes en el catabolismo de catecolaminas son la monoaminoxidasa (MAO) y la catecol O-metiltransferasa (COMT) (5). Estas enzimas se encuentran respectivamente en las mitocondrias y en el citoplasma tanto de las células neuronales como de las gliales. Los inhibidores de estas enzimas se utilizan en clínica como antidepresivos (6).

Histamina

Esta amina biogénica neurotransmisora se produce por descarboxilación de la histidina debido a la acción de la histidin Descarboxilasa (Figura 2ª). En su metabolismo intervienen tanto la histidinametiltransferasa como la MAO. La mayor concentración de este neurotransmisor se encuentra en las neuronas del hipotálamo y su acción está relacionada con los procesos de alerta y atención. La histamina también es liberada por los macrófagos en respuesta a reacciones alérgicas o a daños en los tejidos.

Serotonina

Esta indolamina, también llamada 5-hidroxitriptamina, se sintetiza en las neuronas a partir del triptófano ingerido con los alimentos tras ser hidroxilado a 5-hidroxitriptófano mediante una reacción catalizada por la enzima triptófano-5-hidroxilasa. Posteriormente, el 5-hidroxitriptófano se descarboxila por medio de la acción de una 5-hidroxitriptófano descarboxilasa para dar lugar a la serotonina (Figura 2B). La principal enzima encargada de su degradación es la MAO, al igual que sucede en las demás aminas biogénicas. La serotonina está implicada en la regulación del sueño y de la vigilia.

Además de las monoaminas neurotransmisoras, existen otras aminas biogénicas que poseen una estructura molecular parecida y que actúan como neuromoduladores o “falsos neurotransmisores”. Estas aminas endógenas, también denominadas aminas “traza” o microaminas, se encuentran en pequeñas cantidades en el sistema nervioso central y su estudio está adquiriendo una importante relevancia en los últimos años.

Aminas “traza”

Con el término aminas “traza” o microaminas, se hace referencia a una familia de aminas endógenas, estructural y metabólicamente relacionadas con la dopamina, la noradrenalina y la serotonina (7-8). En este grupo se incluyen p- y m-octopamina, p- y m- tiramina, triptamina y β-feniletilamina (Figura 3). Todas estas moléculas están heterogéneamente distribuidas en el cerebro de mamíferos en concentraciones muy bajas (0,1-100 ng/g de tejido) (9), pero juegan un papel importante en la coordinación de la respuesta sináptica mediada por las aminas biogénicas neurotransmisoras.

Recientemente se han caracterizado dos receptores específicos de estas aminas “traza” que no pueden ser activados por las monoaminas neurotransmisoras. Estos receptores se denominan TA1 y TA2, pertenecen a la familia de receptores asociados a las proteínas G (GPCRs) y se encuentran localizados en la membrana plasmática pre- y post-sináptica de las neuronas receptoras. Son activados por triptamina, p-tiramina y por β-feniletilamina, así como por anfetamina, 3,4-metilenedioximetanfetamina (MDMA) y otros tipos de drogas alucinógenas. (10). Este descubrimiento ha despertado un gran interés por estos compuestos a los que, dada su relevancia fisiológica, se les denomina “anfetaminas endógenas” (11-12).

Además de estos aspectos recientemente descubiertos, desde hace años se conoce la función co-transmisora jugada por estas aminas “traza” en los sistemas de neurotransmisión mediados por dopamina, noradrenalina o por serotonina (8). La similitud estructural de estas aminas “traza” con las monoaminas neurotransmisoras, les va a permitir actuar como sustitutos o “falsos neurotransmisores” en los sistemas de dopamina y noradrenalina. Además, debido a su similitud funcional están siendo utilizados en el tratamiento de la encefalopatía hepática (13) o en la enfermedad de Parkinson (14).

Finalmente las aminas “traza” pueden servir de neuromoduladores en el sistema nervioso central, pero antes de explicar esta actividad debería hacerse una clara distinción entre neurotransmisor y neuromodulador (15).

5 Se denomina neurotransmisor, a la molécula liberada por una neurona al canal sináptico en respuesta a una actividad eléctrica y que posteriormente se va a unir específicamente a sus receptores post-sinápticos, provocando la inducción de un cambio en la excitabilidad de la célula post-sináptica y de este modo, permitir el paso de la información.

Un neuromodulador es también una molécula liberada por una neurona, pero que en este caso no es capaz de provocar un cambio en la excitabilidad de la membrana de la célula post-sináptica por sí mismo, ya que necesita de la presencia de un neurotransmisor. La liberación de un neuromodulador actúa modificando la acción (incrementándola o disminuyéndola) de un neurotransmisor coexistente.

10 Por lo tanto, no es extraño que las aminas “traza”, hayan estado implicadas en la mayoría de los trastornos neuropsiquiátricos asociados a disfunciones en los sistemas de catecolaminas e indolaminas, ya que estos compuestos modulan los procesos de señalización que ocurren en los terminales post- y pre-sinápticos de estos sistemas. Se cree que alteraciones en la función de estas “aminas traza” están involucradas en la etiología de una gran variedad de trastornos neuropatológicos, incluidas las alucinaciones, esquizofrenia, depresión, estados de ansiedad, hiperactividad, trastorno bipolar, etc. (11, 16-18).

Presencia de aminas biogénicas en los alimentos

20 Las aminas biogénicas, además de estar presentes en el sistema nervioso central cumpliendo funciones neurotransmisoras y neuromoduladoras, se encuentran presentes en los alimentos y bebidas fermentadas, donde se generan mediante la descarboxilación de sus aminoácidos precursores. Su acumulación (especialmente la de aminas biogénicas aromáticas) puede hacer que la ingesta de estos alimentos resulte perjudicial para la salud. Las principales aminas biogénicas que pueden provocar toxicidad cuando se acumulan en alimentos, aparecen reflejadas en la figura 4.

25 Las aminas y poliaminas (PAs) solamente se encuentran de forma natural en los alimentos de origen vegetal, ya que estas moléculas se encuentran en las plantas y en sus frutos, formando parte de las paredes celulares de éstos o actuando como sistema defensivo frente al ataque de patógenos o de depredadores (19). Debido a su naturaleza química, estos compuestos participan en numerosos procesos celulares básicos, así como en diferentes eventos relacionados con el crecimiento, con el desarrollo y con la respuesta de las plantas a determinadas condiciones de estrés. Las PAs además de ser esenciales para el crecimiento de las plantas, bajo condiciones apropiadas, pueden ejercer funciones específicas de control de la morfogénesis (20).

30 La amina predominante dependerá del tipo de fruto o planta que se considere; así por ejemplo, en frutos como el limón, la mandarina y la fresa, predomina la putrescina, mientras que en la frambuesa y en las setas, la amina predominante es la tiramina (21). Se ha comprobado, además, que entre distintas variedades de un mismo fruto puede haber una gran variación de los niveles de aminas (22).

35 Sin embargo, las aminas biogénicas presentes en muchos alimentos también pueden tener un origen exógeno, siendo generadas mediante descarboxilación de los aminoácidos precursores. Así, aparecen en una gran variedad de alimentos, ya sean estos no fermentados (pescado, productos lácteos, carne, etc.) o bien aquellos otros que han sufrido algún tipo de fermentación durante su elaboración (vino, cerveza, queso, etc.). Su acumulación es un aspecto a tener muy en cuenta debido a los problemas toxicológicos que puede generar su ingestión.

40 Hay factores que van a limitar la acumulación de aminas biogénicas (sobre todo las que son debidas a la actividad microbiana) en los alimentos. Así, por ejemplo, la disponibilidad de sustrato, el pH del medio, la concentración de sales y la temperatura también van a tener una gran influencia en la producción de aminas. El piridoxal fosfato es un factor requerido para que se lleve a cabo la descarboxilación de aminoácidos en la mayoría de las bacterias y, por consiguiente, su presencia o ausencia será determinante para la síntesis de aminas biogénicas.

Presencia de aminas en alimentos no fermentados

45 La presencia de aminas biogénicas en los alimentos no fermentados es un indicador de la presencia de actividad microbiana no deseada, y por lo tanto, el nivel de aminas presente puede ser utilizado como un indicador del deterioro del alimento por acción de los microorganismos. Normalmente, la cantidad de histamina, putrescina y cadaverina se incrementa durante el deterioro del alimento, mientras que los niveles de espermina y espermidina disminuyen. Debido a esta característica, se ha utilizado el Índice de Aminas Biogénicas (IAB), definido por Karmas (23) y expresado en mg/Kg, para calcular el grado de calidad de un alimento. En la actualidad la detección y cuantificación de aminas biogénicas se realiza mediante técnicas de HPLC, tal y como se describirá más adelante en este trabajo.

$$\text{IAB} = [\text{histamina}] + [\text{putrescina}] + [\text{cadaverina}] / 1 + [\text{espermina}] + [\text{espermidina}]$$

Pescados o carne con un valor de IBA por debajo de 1 son considerados de primera calidad, mientras que valores alrededor de 10 indican una pobre calidad microbiológica del producto.

Entre los alimentos no fermentados que acumulan aminos endógenos cabe destacar el pescado y la carne, que se caracterizan por acumular grandes concentraciones de histamina y tiramina, respectivamente, durante su almacenamiento, aunque éste no sea prolongado. Más aún, se ha demostrado que la acumulación de aminos como consecuencia de la actividad microbiana, no puede evitarse con el envasado al vacío del producto (24). La única medida efectiva para evitar la acumulación de aminos biogénicos es el almacenamiento de los productos a bajas temperaturas (24).

Presencia de aminos en alimentos fermentados

Durante los procesos de preparación de alimentos fermentados, el producto suele ser incubado durante días, semanas e incluso meses, hasta alcanzar el grado necesario de fermentación o maduración, por lo que cabe esperar una mayor proliferación de microorganismos y, por consiguiente, una mayor presencia de aminos biogénicos en esos productos. Además, en la elaboración de estos alimentos se necesita la participación de microorganismos que modifiquen las propiedades de la materia prima original, por lo que la eliminación de estos microorganismos desvirtuaría la calidad, propiedades y características de los productos. Esto es lo que ocurre con alimentos tan populares como el queso, los embutidos, el chucrut o el vino (25).

La amina más importante que se acumula en el queso durante la maduración del mismo es la tiramina (26) y, en menor medida, la feniletilamina. Durante este proceso, la caseína es lentamente degradada por enzimas proteolíticas, incrementando de este modo el contenido de aminoácidos libres que pueden ser susceptibles de servir de sustrato a descarboxilasas bacterianas específicas, para dar lugar a la formación de CO₂ y una amina.

En cambio, la amina que se acumula mayoritariamente en los embutidos es la histamina (21), pero en este caso su acumulación dependerá del proceso de elaboración, del tipo de carne utilizada, de su proporción y de la calidad de la misma, así como del tiempo de maduración. En el caso de los embutidos, se puede disminuir en gran medida la cantidad de aminos acumulados en el producto final mediante la utilización de cultivos iniciadores (starters) que contienen los microorganismos adecuados para llevar a cabo la fermentación requerida, pero que no producen estas aminos indeseables. Esta medida, que ha supuesto un gran avance en la regularización de los procesos de fermentación, no siempre es eficaz, ya que la flora microbiana endógena (presente en las materias primas originales) puede ser ya capaz de producir aminos biogénicos por sí misma.

Un grupo de productos importantes en cuanto a la acumulación de aminos biogénicos son las bebidas fermentadas. Tal es el caso de, la cerveza y especialmente, del vino. La presencia de aminos en estas bebidas es la responsable del característico dolor de cabeza que se experimenta después de un consumo abusivo (26).

En el vino se encuentran principalmente histamina, tiramina y putrescina, en cantidades muy variables según el tipo de vino. La concentración de estas aminos es baja durante la fermentación alcohólica y aumenta durante la fermentación maloláctica. Esto explica que los vinos tintos tengan concentraciones superiores de estas aminos con respecto a los vinos blancos, ya que estos últimos no sufren la fermentación maloláctica. Después de esta fermentación, el vino suele ser sulfatado para eliminar las poblaciones de bacterias y levaduras indeseables a partir ese momento, pero aún así, la concentración de aminos biogénicos sigue evolucionando y puede llegar hasta los 50 mg/l durante la crianza (27). Aunque no existe una regulación definida en relación a la concentración de aminos biogénicos en el vino, hay países que han establecido límites para la importación (Canadá y Suiza 10 mg/l, Holanda 5 mg/l). Esto es debido a que la presencia de aminos en el vino entraña más riesgo que en otros alimentos, ya que al interactuar con ellas el alcohol, se van a ver afectados los mecanismos de detoxificación del organismo y se incrementan las posibilidades de intoxicación por ingesta de aminos.

Los niveles de aminos biogénicos en bebidas alcohólicas elaboradas mediante fermentaciones con levaduras, son generalmente más bajos que los hallados en bebidas en cuya elaboración tiene lugar una fermentación ácido láctica (excepto el yogurt), pero aun así estas pueden contener cantidades considerables de putrescina, cadaverina, histamina y tiramina (2).

En resumen, las principales conclusiones que se pueden sacar acerca de la presencia de aminos biogénicos en los alimentos son las siguientes:

La mayoría de los alimentos son susceptibles de deteriorarse por la acción de microorganismos capaces de producir aminos biogénicos.

Concentraciones elevadas de ciertas aminos en los alimentos pueden resultar nocivos para la salud

Se debe dar gran importancia a la evaluación del contenido en aminos de los alimentos, así como a la presencia de otros agentes potenciadores del efecto de éstas, tales como otras aminos, el alcohol o ciertas drogas.

Se pueden y se deben evitar las concentraciones elevadas de aminos biogénicos en los alimentos, mediante buenas prácticas de fabricación y almacenaje de los mismos (control de la higiene, de la contaminación, de la temperatura, etc.)

En la producción de alimentos que precisen de una fermentación acidoláctica, se deben utilizar cultivos iniciadores (starters) de microorganismos que sean aminoácido descarboxilasa negativos. En este sentido, resultaría de gran

utilidad la elaboración de cultivos starters que presenten en su composición microorganismos que no solamente no produzcan esas aminas sino que sean capaces de degradarlas.

Toxicología de las aminas biogénicas

5 Como se ha indicado con anterioridad, la histamina, la tiramina, la triptamina y la β -feniletilamina son aminas biológicamente activas que pueden provocar importantes efectos fisiológicos en el ser humano, tanto psicoactivos (neuromoduladores) como vasoactivos. El consumo de alimentos con un elevado contenido en aminas biogénicas puede provocar un gran número de efectos farmacológicos (Tabla 1) que caracterizan a determinadas enfermedades, como por ejemplo la intoxicación con histamina o la "reacción del queso" producida por la ingesta de tiramina. Además, las aminas están siendo actualmente estudiadas como precursores de compuestos carcinogénicos (21).

10 **Tabla 1.** Aminas biogénicas presentes en los alimentos y sus efectos en el organismo.

Amina biogénica	Efectos farmacológicos
<p data-bbox="245 730 357 757">Histamina</p> <p data-bbox="245 1032 344 1059">Tiramina</p>	<p data-bbox="671 730 1110 757">Liberación de adrenalina y noradrenalina</p> <p data-bbox="671 786 1254 835">Estimulación de la musculatura uterina, intestinal y del aparato respiratorio.</p> <p data-bbox="671 909 1198 936">Estimulación de neuronas sensoriales y motoras.</p> <p data-bbox="671 965 1062 992">Incremento de la presión sanguínea.</p> <p data-bbox="671 1021 1018 1048">Control de la secreción gástrica.</p> <p data-bbox="671 1077 967 1104">Vasoconstricción periférica.</p> <p data-bbox="671 1133 1142 1160">Incremento del ritmo cardíaco y respiratorio.</p> <p data-bbox="671 1189 1193 1216">Estimulación de la lacrimación y de la salivación.</p> <p data-bbox="671 1245 978 1272">Liberación de noradrenalina.</p> <p data-bbox="671 1301 767 1328">Migraña.</p>
<p data-bbox="245 1397 507 1424">Putrescina y cadaverina</p> <p data-bbox="245 1547 411 1574">β-feniletilamina</p> <p data-bbox="245 1742 363 1769">Triptamina</p>	<p data-bbox="671 1352 807 1379">Hipotensión.</p> <p data-bbox="671 1408 802 1435">Bradycardia.</p> <p data-bbox="671 1464 1102 1491">Potenciación del efecto de otras aminas.</p> <p data-bbox="671 1547 978 1574">Liberación de noradrenalina.</p> <p data-bbox="671 1603 1062 1630">Incremento de la presión sanguínea.</p> <p data-bbox="671 1659 767 1686">Migraña.</p> <p data-bbox="671 1742 1062 1769">Incremento de la presión sanguínea.</p>

De entre todas las aminas biogénicas presentes en los alimentos, cabe destacar por su elevada toxicidad (consecuencia del mayor número de efectos fisiológicos que provocan), la histamina y la tiramina.

15 La histamina es una amina muy activa biológicamente, ya que desempeña muchas acciones dentro del organismo. Aunque los mastocitos y los basófilos sanguíneos contienen grandes cantidades de histamina, ésta se encuentra almacenada en gránulos característicos y no se liberarán a menos que se produzcan reacciones especiales (reacción

alérgica). La histamina puede estimular el ritmo cardiaco y este efecto tiene como consecuencia la liberación de adrenalina y noradrenalina por las glándulas suprarrenales, excitación de la musculatura uterina y del tracto respiratorio, estimulación tanto de neuronas motoras como sensoriales y control de la secreción gástrica (28). Por lo tanto, no es sorprendente que en la intoxicación con histamina se manifiesten síntomas cutáneos como son la urticaria y la aparición de edemas o erupciones, además de síntomas gastrointestinales, como por ejemplo, náuseas, vómitos y diarrea. También se pueden dar otros síntomas como hipotensión, dolor de cabeza o palpitaciones (29).

A pesar del carácter tóxico ocasionado por un exceso de histamina, la presencia de esta amina en los alimentos no tiene porqué ser peligrosa. Existen muchos alimentos que contienen pequeñas cantidades de histamina y que, por lo tanto, van a ser fácilmente toleradas por el organismo gracias a la existencia de eficientes sistemas de detoxificación en el tracto digestivo, que van a metabolizar tanto la histamina ingerida como la histamina formada por la propia flora intestinal. Este sistema de detoxificación está compuesto por dos enzimas diferentes: la diamino oxidasa y la histidina-N-metiltransferasa. Estas dos enzimas se encargan de convertir la histamina en productos sin actividad biológica, y su eficiencia es elevada cuando existe un consumo de aminas normal en la dieta. Sin embargo, estos mecanismos son menos eficaces si se ingieren grandes cantidades de aminas, o en presencia de otras aminas que potencien el efecto tóxico causado por la histamina.

La presencia de tiramina induce la liberación de noradrenalina desde el sistema nervioso simpático, lo que va a provocar un incremento de la presión sanguínea mediante la vasoconstricción periférica y un aumento del ritmo cardiaco. También puede causar dilatación de las pupilas, aumento de la salivación, de la respiración y de los niveles de azúcar en sangre (30).

En lo referente a la presencia de tiramina en los alimentos, cabe destacar no sólo su propia toxicidad, sino también sus efectos nocivos en presencia de inhibidores de la monoamino oxidasa (MAO), pudiendo provocar estados críticos de hipertensión (31-33). La MAO se encarga de la desaminación oxidativa de las aminas derivadas de los alimentos, y constituyen el mejor sistema defensivo endógeno frente a estos compuestos tóxicos, permitiendo la degradación de los mismos antes de que estos pasen al torrente circulatorio. La utilización de drogas inhibitoras de la MAO durante el tratamiento de determinadas enfermedades mentales (depresión, esquizofrenia, etc.) va a provocar la inhibición de este sistema natural de detoxificación y, como consecuencia de esta inhibición, se producirá la acumulación de tiramina en la sangre, lo que generará estados críticos de hipertensión en los pacientes. El primer alimento que se asoció con este proceso fue el queso, por lo que este incremento de la presión sanguínea es conocido como "reacción del queso" y puede causar graves dolores de cabeza, hemorragias cerebrales o fallo cardiaco (1).

Además de poder actuar como agentes tóxicos, actualmente se está estudiando la implicación de las aminas en la síntesis de derivados que podrían actuar como agentes mutagénicos. Al añadir nitratos a los alimentos como conservantes, y al reaccionar éstos con las aminas presentes en dichos alimentos, se van a generar N-nitrosaminas, que son compuestos carcinogénicos y constituyen un serio riesgo para la salud humana. Algunos ejemplos de estos procesos son la reacción entre la tiramina y nitritos que va a originar 3-diazotiramina, compuesto que induce la aparición de cáncer en la cavidad oral de ratas (30), y la reacción entre tiramina y nitratos que cuando transcurre en condiciones ácidas da lugar a un compuesto mutagénico identificado como 4-(2-aminoetil)-6-diazo-2,4-ciclohexadienona (34).

Producción de aminas biogénicas en los alimentos

Como ya hemos indicado, la mayoría de las aminas presentes en los alimentos son generadas por descarboxilación de sus correspondientes aminoácidos precursores, mediante la acción de enzimas específicas (aminoácido descarboxilasas) producidas por los microorganismos presentes en esos alimentos. Estas descarboxilasas están presentes en un gran número de especies pertenecientes a diferentes géneros bacterianos.

Para que se lleve a cabo la formación de aminas biogénicas en los alimentos se necesitan los siguientes requisitos: a) disponibilidad de aminoácidos libres (generalmente originados por acción proteolítica); b) presencia de microorganismos que posean enzima descarboxilasa (descarboxilasa positivos); y c) que se den las condiciones fisicoquímicas oportunas que permitan tanto el crecimiento bacteriano como la síntesis y la actividad descarboxilasa. Los microorganismos descarboxilasa positivos, pueden estar formando parte de la flora endógena de los alimentos, o ser introducidos por contaminación durante los procesos de elaboración o de almacenaje. En el caso de alimentos y bebidas que durante su elaboración sufren procesos de fermentación, la introducción de cultivos iniciadores puede afectar a la producción de aminas biogénicas interaccionando, directa o indirectamente, tanto con la flora endógena como con la flora contaminante (2).

La mayoría de las descarboxilasas mantienen su actividad incluso después del proceso de pasteurización. Este hecho, unido a que la mayor parte de las aminas son termoestables, implica no solo que la cantidad de aminas ya formadas en los alimentos no se va a eliminar con el proceso de pasteurización, sino que, incluso, aumentará durante el almacenaje.

Descarboxilación de aminoácidos

En la descarboxilación de aminoácidos se produce la eliminación del grupo α -carboxilo del aminoácido en cuestión para dar lugar a CO_2 y a la amina correspondiente. Esta reacción está catalizada por descarboxilasas bacterianas que son específicas para cada aminoácido. Así, por ejemplo, la ornitina puede ser degradada a putrescina y la lisina a

5 cadaverina mediante la acción de la ornitina descarboxilasa (35) y la lisina descarboxilasa (36) respectivamente. Del mismo modo y siempre que se den las condiciones adecuadas, la histidina, la tirosina, el triptófano y la fenilalanina se descarboxilarán a histamina, tiramina, triptamina y β -feniletilamina mediante la acción de la histidina descarboxilasa (37), la triptófano descarboxilasa (38), la tirosina descarboxilasa (39) y la fenilalaninadescarboxilasa (40), respectivamente. También existe una descarboxilasa de L-aminoácidos aromáticos (AADC) que cataliza la reacción de

10 Las aminoácido descarboxilasas han sido ampliamente estudiadas en los últimos años (42). La mayoría de ellas utilizan piroxal-5'-fosfato o piruvato como coenzima, y son dependientes de vitamina B₆. Actualmente se dispone de un gran número de secuencias correspondientes a aminoácido descarboxilasas que están recogidas en las diferentes bases de datos. El análisis comparativo de las mismas ha permitido clasificarlas en cuatro grupos (Tabla 2) e identificar regiones funcionalmente importantes dentro de esas secuencias.

15 Se han propuesto dos mecanismos de acción para la descarboxilación de aminoácidos, uno está basado en una reacción dependiente de piridoxal fosfato, y otro requiere una molécula de piruvato como cofactor (43).

20 En las reacciones de descarboxilación dependientes de piridoxal-5- fosfato, se forma una base de Schiff debido a la reacción del grupo aldehído del piridoxal con uno de los grupos amino pertenecientes a una lisina localizada en el centro activo de la enzima (aldimina interna). El grupo carbonilo del piridoxal-5-fosfato reacciona fácilmente con los aminoácidos para formar una nueva base de Schiff (aldimina externa) que funciona como intermediario, y que permite que éstos sean posteriormente descarboxilados para dar lugar a la correspondiente amina y a la molécula de piridoxal fosfato original.

25 En las reacciones de descarboxilación no dependientes de piridoxal-5- fosfato, está implicada una molécula de piruvato (101). En este caso será el grupo piruvil el que se une covalentemente al grupo amino del aminoácido formando una base de Schiff, permitiendo que sean posteriormente descarboxilados mediante una reacción muy similar a la reacción de descarboxilación dependiente de piridoxal-5- fosfato.

30 La descarboxilación de aminoácidos tiene una importante función energética para las bacterias en aquellos ambientes pobres en nutrientes, ya que al tratarse de una reacción endotérmica, constituye un sistema de generación de ATP, a la vez que conduce a la síntesis de aminas. Por otro lado, la formación de aminas provocará un aumento del pH del medio, favoreciendo el crecimiento bacteriano. Por todas estas razones, se puede considerar la descarboxilación de aminoácidos como un mecanismo muy ventajoso que permite la adaptación al medio a un gran número de microorganismos.

Tabla 2. α -aminoácido descarboxilasas dependientes de piridoxal-P con sus secuencias conocidas (Sandmeier *et al.*, 1994).

Enzima	Números de acceso en GenBank y fuentes
<p data-bbox="209 1480 288 1509">Grupo I</p> <p data-bbox="229 1532 608 1561">Glicina descarboxilasa (EC 1.4.4.2)</p>	<p data-bbox="804 1532 1331 1583">P23378, humana; P15505, pollo; P26969, <i>Pisum sativum</i></p>
<p data-bbox="209 1682 288 1711">Grupo II</p> <p data-bbox="229 1733 660 1762">Glutamato descarboxilasa (EC 4.1.1.15)</p>	<p data-bbox="804 1711 1283 1762">M84024, <i>Escherichia coli</i> (GAD-a) ; M84025, <i>Escherichia coli</i> (GADp);</p> <p data-bbox="804 1785 1362 1836">P20228, <i>Drosophila melanogaster</i>; mouse^o; JH0423, rata (GAD65);</p> <p data-bbox="804 1859 1315 1910">P18088, rata (GAD67); P14748, gato; M74826, humana (GAD65); M81883,</p> <p data-bbox="804 1933 995 1962">humana (GAD67)</p>

Enzima	Números de acceso en GenBank y fuentes
Histidina descarboxilasa (EC 4.1.1.22)	<p>P28577, <i>Enterobacter aerogenes</i>; P28578, <i>Klebsiella planticola</i>; P05034, <i>Morganella morganii</i>; X70644, <i>Drosophila melanogaster</i>; P23738, ratón; P16453, rata; P19113, humana.</p> <p>M96070, <i>Petroselinum crispum</i>'</p>
Tirosina descarboxilasa (EC 4.1.1.25)	<p>S19796, <i>Caenorhabditis elegans</i> ; P05031, <i>Drosophila melanogaster</i> ;</p> <p>P14173, rata; P22781; cerdo de Guinea, P80041, cerdo P27718, bovina; P20711, humana</p> <p>P17770, <i>Catharanthus roseus</i></p>
Descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (EC 4.1.1.28)	<p>P17770, <i>Catharanthus roseus</i></p>
Triptófano descarboxilasa (EC 4.1.1.17)	<p>P21169, <i>Escherichia coli</i> ; P24169, <i>Escherichia coli</i> (inducible)</p>
Grupo III	
Ornitina descarboxilasa (EC 4.1.1.18)	<p>P05033, <i>Hafiiia alvei</i>; P26934, <i>Bacillus subtilis</i>; P23892, <i>Escherichia coli</i></p>
Lisina descarboxilasa (EC 4.1.1.19)	<p>P28629, <i>Escherichia coli</i></p>
Arginina descarboxilasa (EC 4.1.1.17)	<p>P28629, <i>Escherichia coli</i> (biodegradative)</p>
Grupo IV	
Ornitina descarboxilasa (EC 4.1.1.19)	<p>P07805, <i>Trypanosoma brucei</i>; P27116, <i>Leishmania donovani</i>; P27121, <i>Neurospora crassa</i>; P08432, <i>Saccharomyces cerevisiae</i>; P27120, <i>Xenopus laevis</i>; P27118, pollo; P00860, ratón; P27119, <i>Mus pahari</i>;</p> <p>P09057, rata; P14019, hamster; P27117, bovina; P11926, humana.</p> <p>P21170, <i>Escherichia coli</i>; P22220, <i>Avena sativa</i></p>

Enzima	Números de acceso en GenBank y fuentes
Arginina descarboxilasa (EC 4.1.1.20)	

Microorganismos productores de aminas biogénicas

Enzimas con actividad descarboxilante han sido encontradas en un gran número de bacterias entre las que se incluyen especies de enterobacterias, pseudomonádidos, enterococos y lactobacilos, entre otras (44).

5 Existen varias enterobacterias con actividad descarboxilásica (fundamentalmente relacionada con la producción de cadaverina y putrescina). Los estudios llevados a cabo *in vitro* con *Enterobacter cloacae* y con diferentes especies de *Serratia*, así como en *Citrobacter freundii* y *Enterobacter aerogenes*, han puesto de manifiesto la capacidad de estos microorganismos para formar grandes cantidades de putrescina y de cadaverina (45). Otras enterobacterias se caracterizan, en cambio, por ser grandes productoras de histamina; tal es el caso de *Klebsiella oxytoca* (46), *Escherichia coli* (47) o de *Morganella morganii* (45). Aunque estas enterobacterias se encuentran en muy baja proporción en los productos finales, unas malas prácticas de almacenamiento, o una fermentación incontrolada durante la elaboración, pueden provocar una importante proliferación de las mismas.

15 Existen otros microorganismos que producen aminas biogénicas de diferente naturaleza. Tal es el caso de *Pseudomonas putrefaciens*, *Aeromonas hydrophila* y *Plesiomonas shigelloides*, microorganismos que suelen encontrarse en el pescado en mal estado de conservación (21).

20 Las bacterias acidolácticas, se utilizan profusamente en procesos destinados a obtener diversos alimentos (embutidos, vino, quesos, etc.) mediante fermentaciones, y aunque no pueden ser consideradas especies tóxicas ni patogénicas, muchas de ellas son capaces de producir aminas biogénicas. Así por ejemplo, algunas cepas de *Lactococcus* y *Leuconostoc* producen cantidades apreciables de tiramina e histamina (39) y cepas de lactobacilos pertenecientes a las especies *Lactobacillus buchneri*, *L. alimentarius*, *L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. farciminis*, *L. bavaricus*, *L. homohiochii*, *L. reuteri* y *L. sakei*, son grandes productoras de aminas, especialmente de tiramina (48-50). Muchas de estas bacterias lácticas son utilizadas en la fabricación de quesos, y están incluidas en los cultivos iniciadores empleados por la industria de productos lácteos. Tal es el caso de *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Streptococcus faecium*, *S. mitis*, *Lactobacillus helveticus*, *L. casei*, *L. acidófilus* y *L. arabinose*, todas ellas identificadas como productoras de histamina (26).

25 Cuando se estudia la acumulación de aminas biogénicas en la carne, se ha observado que especies como *Carnobacterium divergens*, *C. piscicola* y *C. gallinarum* son responsables de la presencia de elevadas concentraciones de tiramina en ella (51).

30 Otros estudios han demostrado que *Enterococcus faecalis* es responsable de la acumulación de aminas biogénicas (β -feniletilamina ente otras) en los alimentos fermentados (52).

También se ha puesto de manifiesto la producción de aminas biogénicas por parte de hongos y levaduras en alimentos fermentados. Este es el caso de *Debaryomyces* y *Candida*, dos levaduras aisladas de carne fermentada, que presentan una actividad histidina-descarboxilasa mayor incluso que la observada en las bacterias acidolácticas (50).

35 Métodos analíticos aplicados a la valoración de la capacidad de producción de aminas por parte de los microorganismos: Detección y cuantificación.

Debido a los efectos tóxicos que pueden ocasionar las aminas presentes en los alimentos, ha sido necesario el diseño de métodos y técnicas que permitan detectar capacidades productoras de aminas en los microorganismos utilizados en los procesos de elaboración de productos alimenticios, así como cuantificar la presencia de aminas en estos alimentos.

Métodos empleados para detectar microorganismos con capacidad aminobiogénica

5 Se han desarrollado varios métodos bioquímicos que permiten la detección de cepas productoras de histamina y de tiramina procedentes de carnes fermentadas y quesos (45, 53-54). Estos métodos se basan en un ensayo que implica el uso de un medio sólido que contiene el aminoácido precursor de la amina a investigar y un indicador de pH. Dado que la formación de aminas a partir de aminoácidos implica una elevación del pH del medio, si la cepa de estudio tiene capacidad para formar aminas, ésta se verá reflejada por un cambio de color del indicador de pH presente en el medio.

También existen métodos de detección molecular que se basan en el diseño de cebadores específicos para las secuencias de los genes que codifican las descarboxilasas responsables de la formación de aminas. Hasta el momento se han desarrollado tres métodos de detección de genes implicados en la producción de aminas:

10 Sistema de detección del gen *hdc* que codifica una histidina descarboxilasa (54). Para el diseño de los cebadores se compararon las secuencias de nucleótidos del gen *hdcA* de *Lactobacillus sp30A*, de *Clostridium perfringens* y las secuencias de aminoácidos de la histidina descarboxilasas de estos dos microorganismos junto con las de *Lactobacillus buchneri* y de *Micrococcus*. El análisis de las distintas secuencias reveló la existencia de un alto grado de homología entre los genes *hdc* de las diferentes bacterias lácticas, lo que permitió diseñar cebadores específicos para la detección de este gen.

15 Sistema de detección del gen *tdc* que codifica una tirosina descarboxilasa (55). Para el diseño de los cebadores se compararon las secuencias de nucleótidos del gen *tdc* de *Enterococcus faecalis*, de *Carnobacterium divergens* y de *Lactobacillus brevis*.

Sistema de detección del gen *ocd* que codifica una ornitina descarboxilasa (56). Para el diseño de los cebadores se utilizó la secuencia de nucleótidos del gen de la ornitina descarboxilasa en una cepa de *Oenococcus oeni*.

20 Métodos analíticos empleados para detectar aminas en alimentos

Hasta el momento, se han descrito varias metodologías que nos permiten detectar y cuantificar la presencia de aminas en los alimentos. Aunque el método más utilizado es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) la primera valoración de aminas, se realizó mediante cromatografía en capa fina y tuvo por objeto la determinación de histamina en comida de gatos (57). Actualmente, se han descrito multitud de métodos específicos de detección y cuantificación de aminas en multitud de alimentos, basados todos ellos en técnicas de HPLC (58-63). En los últimos años han aparecido métodos ELISA comerciales para el análisis de histamina en vinos y otros alimentos (64).

30 Algunos países han fijado valores máximos para la presencia de aminas en determinados alimentos. Así, por ejemplo, Suiza ha establecido una concentración máxima de 10 mg/L de histamina en vino como valores tolerables para la salud humana, mientras que otros países como Alemania, Bélgica y Francia recomiendan valores máximos más bajos (2 mg/L, 5-6 mg/L y 8 mg/L, respectivamente). No se han impuesto límites máximos permitidos sobre el resto de aminas biogénicas, aunque dada la importancia de los efectos de la tiramina en el organismo, es muy probable la pronta aparición de recomendaciones o reglamentaciones sobre valores máximos permitidos para esta amina.

Degradación de aminas biogénicas

35 La presencia de aminas en el medio ambiente se está viendo incrementando de forma considerable en los últimos años como consecuencia de la actividad industrial. Algunas de estas aminas, especialmente las metiladas, son muy volátiles y están implicadas en la formación de óxido nítrico, un importante gas causante del "efecto invernadero" (65-66). En cambio, otras aminas que están presentes en gran variedad de alimentos, pueden causar, como ya se ha explicado anteriormente, efectos tóxicos en el organismo.

40 La identificación de las rutas y enzimas implicadas en el metabolismo de estas aminas pueden ser de gran ayuda para la conversión de estos compuestos tóxicos en otros compuestos menos perjudiciales y evitar, de este modo, su efecto perjudicial en los organismos y en el medio ambiente.

Muchos microorganismos pueden oxidar las aminas primarias generando productos que pueden ser utilizados como fuente de carbono y energía, como fuente de nitrógeno, o como ambas (67) y que ya no son tóxicos.



45 Este mecanismo de oxidación de aminas primarias es un proceso ampliamente distribuido en la naturaleza, ya que se ha identificado tanto en organismos eucariotas como en procariotas y es catalizado por diferentes enzimas, entre las que se incluyen quinoproteínas amino oxidasas y quinoproteínas o quinohemoproteínas amino deshidrogenasas (68). Tanto las amino oxidasas como las amino deshidrogenasas catalizan la conversión de las aminas en sus correspondientes aldehídos. La diferencia radica en que mientras las amino oxidasas (presentes tanto en eucariotas como en procariotas) producen peróxidos tóxicos, las amino deshidrogenasas (presentes exclusivamente en bacterias)

50 producen equivalentes reducidos que transfieren directamente los e⁻ a la cadena respiratoria (69-70).

En cuanto a la localización de estas enzimas; parece ser que presentan una localización periplasmática en los microorganismos G⁻; algunas son solubles y otras están unidas a la cara externa de la membrana citoplasmática. Sin embargo, en microorganismos G⁺ estas enzimas se encuentran en el citoplasma o unidas a la membrana citoplasmática por su cara interna. Por otro lado, en determinadas levaduras, se ha visto que su localización es exclusivamente peroxisomal (68).

Como se ha mencionado anteriormente, las enzimas responsables de la desaminación oxidativa de las aminas utilizan distintos cofactores que son reducidos tras la oxidación del sustrato y que participan en la transferencia de e⁻ a uno o dos aceptores exógenos, tales como, el citocromo c, las cupredoxinas (azurina o amocianina) o el oxígeno molecular. En función de quien sea aceptor natural de e⁻ puede hacerse la distinción natural entre amino oxidasas y amino deshidrogenasas.

La mayoría de las enzimas implicadas en la oxidación de las diferentes aminas a sus correspondientes aldehídos, son oxidorreductasas que se caracterizan por utilizar cofactores diferentes a NAD(P)⁺ o FAD⁺ (aunque existen excepciones de flavoproteínas amino oxidasas que utilizan FAD como cofactor y que se explicaran más adelante). Estas enzimas se denominan quinoproteínas, porque utilizan cofactores que presentan un grupo quinona (71) tales como TPQ (topaquinona), TTQ (triptófano triptofilquinona), LTQ (lisina tirosilquinona) o CTQ (cisteína triptofilquinona). Estos cofactores se caracterizan porque cada uno de ellos se forma a partir de uno o dos aminoácidos presentes en la propia enzima tras sufrir una modificación química postranscripcional (72-74).

En función de la identidad del cofactor utilizado podemos diferenciar varios tipos de enzimas que catalizan reacciones de desaminación oxidativa de aminas: amino oxidasas, quinohemoproteínas amino deshidrogenasas y quinoproteínas amino deshidrogenasas

Quinoproteínas amino oxidasas

Estas enzimas reciben también la denominación de amino oxidasas dependientes de cobre (Q-AmO). En cuanto a la estructura, son generalmente homodímeros formados por dos subunidades idénticas del mismo tamaño. Se caracterizan porque en cada subunidad presentan una molécula de TPQ, un cofactor enzimático que se forma mediante modificación postranscripcional a partir de uno de los residuos de triptófano existentes en la enzima. Poseen, además, una molécula de cobre, Cu(II) que está coordinada con tres residuos de histidina y dos moléculas de agua (75-76). El Cu(II) es necesario, tanto para la biosíntesis del cofactor de la enzima, como para la catálisis enzimática (76).

Estas enzimas se caracterizan porque son las únicas que están ampliamente distribuidas tanto en bacterias como en organismos superiores y catalizan la oxidación de un gran número de aminas primarias. Así, en *Klebsiella oxytoca* se ha caracterizado una Q-AmO y que está relacionada con la degradación de PhEtNH₂ y de tiramina (68). Cuando *E. coli* (77) o *Klebsiella aerogenes* (*K. pneumoniae*) se cultivan en presencia de tiramina también se ha observado que se expresa una Q-AmO similar a la de *Klebsiella oxytoca* (68). Así mismo, se han identificado otras Q-AmO, en bacterias G⁺ y en levaduras. Por ejemplo, en *Arthrobacter globiformis* se ha caracterizado una Q-AmO que contiene cobre y que utiliza como sustrato PhEtNH₂ (75, 78), y en la levadura *Hansenula polymorpha* se ha identificado una metilamina oxidasa implicada en la degradación de metilamina (76).

La reacción catalítica llevada a cabo por estas quinoproteínas amino oxidasas, transcurre mediante un mecanismo ping-pong de transaminación que puede dividirse en dos hemirreacciones o etapas, en función del estado de oxidación del cofactor (75, 78).

I. Hemirreacción reductiva: Desaminación oxidativa del sustrato

40 Ia. El cofactor TPQ participa en esta etapa formando un enlace covalente con el sustrato (a través del grupo carbonilo del C₅), dando lugar a la formación una base de Schiff con el sustrato.

Ib. La base de Schiff es entonces desprotonada por un residuo de aspartato próximo al sitio activo y al mismo tiempo se reduce el cofactor. En este paso se forma otra base de Schiff, pero ahora es el producto el que forma la base de Schiff.

45 Ic. Posteriormente, se produce la hidrólisis de esta base de Schiff, liberándose el aldehído y dejando la forma aminoresorcinol del TPQ reducido.

La estereoespecificidad de la abstracción del protón de la posición C₁ del sustrato ha sido estudiada en diferentes enzimas, tanto bacterianas como de plantas y de animales. Se ha visto que la especificidad varía en función de la naturaleza de la enzima y de los sustratos utilizados. Así por ejemplo, en el caso de la dopamina, en ocasiones se abstrae el protón pro-R y en ocasiones el pro-S, dependiendo de si la reacción transcurre en plantas o en animales (78).

II. Hemirreacción oxidativa: reducción del oxígeno molecular

En esta etapa se produce la re-oxidación del TPQ reducido (TPQ_{red}) y la liberación de amonio. La participación del Cu(II) en esta etapa se apuntó tras el descubrimiento de la forma Cu(I)/topa semiquinona (TPQ_{sq}). Debido a que la transferencia de e⁻ desde el TPQ_{red} al Cu(II) para formar Cu(I)/TPQ_{seq} es muy rápida, y debido a que el Cu(I) reacciona fácilmente con el O₂, el estado Cu(I)/TPQ_{seq} ha sido propuesto como un intermediario cinéticamente competente con

Cu(I) que oxida directamente al O₂. De este modo, se establece un equilibrio entre la forma Cu(II)/TPQ_{red} y Cu(I)/TPQ_{sq} para la transferencia intramolecular de e⁻ (75). Posteriormente, el aldehído generado tras la desaminación del sustrato es oxidado al correspondiente ácido.

Quinohemoproteínas amino deshidrogenasas.

5 Son enzimas heterotriméricas constituidas por tres subunidades (αβγ) que utilizan como cofactor el CTQ, el cual se forma a partir de un residuo de cisteína presente en la subunidad pequeña (γ). No se descarta la posibilidad de que una cuarta proteína, cuya función es todavía desconocida, podría intervenir facilitando la formación del cofactor.

10 Estas enzimas presentan, además del grupo quinona, dos grupos hemo c, unidos a una de las subunidades de la enzima, que actúan como grupos redox activos (69, 79). En este caso, los e⁻ liberados durante el proceso de oxidación son transferidos en último término a una citocromo oxidasa presente en la cadena de transporte, vía el citocromo c₅₅₀, como se ha visto en *Paracoccus denitrificans*; o vía la azurina como sucede en *P. putida* (80-81).

15 A este grupo pertenece la quinohemoproteína amino deshidrogenasa (QH-AmDH) de *Pseudomonas putida* U, responsable de la desaminación oxidativa de la 2-feniletilamina (82) y la de *Paracoccus denitrificans*. Esta última bacteria posee dos enzimas con actividad amino deshidrogenasa en su periplasma. Una metilamina deshidrogenasa (MADH) que reconoce metilamina y una QH-AmDH que reconoce aminas primarias alifáticas y aromáticas, aunque parece que muestra mayor actividad con n-butilamina y bencilamina (81, 83-84). Otra QH-AmDH que se encuentra dentro de este grupo ha sido purificada a partir de *P. putida* IFO 15633 y ATCC 12633 (69, 79-80).

20 Los cuatro genes que codifican la QH-AmDH de *P. putida* y de *Paracoccus denitrificans* han sido identificados y secuenciados. El ORF1 codifica la subunidad α, que presenta dos grupos hemo que actúan como grupos redox durante la oxidación; el ORF2 codifica una proteína, cuya función es desconocida, pero que desempeña un papel esencial en la oxidación de estos compuestos; el ORF3 codifica la subunidad pequeña (a la que se encuentra unido el cofactor); y el ORF4 codifica la subunidad β. Estos genes se transcriben conjuntamente, por lo que constituyen un único operón (69).

El mecanismo de las reacciones catalizadas por este grupo de enzimas es el siguiente (80-81) (Figura 5):

25 La reacción se inicia mediante el ataque nucleofílico del nitrógeno del grupo amino al C₆ perteneciente al grupo carbonilo del cofactor CTQ, dando lugar a la formación de un intermediario carbinolamina (a).

La carbinolamina pierde una molécula de agua y se forma una imina (b).

A continuación un residuo del sitio activo (probablemente el Asp_{33v}) abstrae un protón del C_α de la amina para formar el intermediario carbaniónico ©. Al mismo tiempo se reduce el CTQ tras captar una molécula de H₂O, dando lugar al intermediario d.

30 El producto resultante de esta oxidación, el aldehído (e), es finalmente liberado mediante la hidrólisis del nuevo enlace imina que se había formado entre el C_α y el grupo amino.

35 Parece ser, por lo tanto, que hay una transferencia intramolecular de e⁻ desde el complejo generado por el sustrato reducido-CTQ al hemo I, desde aquí al hemo II, y a partir de él se produce una transferencia intermolecular al aceptor exógeno. Esta reacción oxidativa tendrá lugar a través de dos reacciones secuenciales hasta que se produce la re-oxidación del cofactor y de los grupos hemo.

40 Se ha comprobado que la QH-AmDH de *P. putida* puede ser inhibida por p-nitrofenilhidrazina. Este compuesto se une al sitio activo de la enzima, situado entre la subunidad β y γ, del mismo modo que lo haría el sustrato. Esta unión, provoca algunos cambios importantes en el cofactor CTQ y también cambios conformacionales en las cadenas laterales de los residuos pertenecientes a los aminoácidos del sitio activo, causando así la modificación del centro activo y, con ello, la pérdida de la actividad enzimática (80).

Quinoproteínas amino deshidrogenasas

Estas enzimas (Q-AmDH) utilizan como cofactor el TTQ que se forma a partir de dos residuos de triptófano presentes en la subunidad pequeña de la enzima. Presentan una estructura α₂β₂, donde el cofactor se encuentra unido a las subunidades β (83).

45 Dentro de este grupo se incluyen la metilamina deshidrogenasa (MADH) de *Methylobacterium extorquens* AM1 o de *Paracoccus denitrificans* (65) y la amino deshidrogenasa de aminoácidos aromáticos (AADH) descrita en *Alcaligenes faecalis* y que parece estar implicada en el catabolismo de diferentes aminas primarias tales como la PhEtNH₂, la tiramina y la triptamina (65).

50 Estas enzimas suelen utilizar como aceptor de e⁻ las proteínas azules de cobre de tipo I (cupredoxinas). Así las MADH utilizan la amicianina y las AADH la azurina (83, 85).

En cuanto a su organización genética, en *Alcaligenes faecalis* se han identificado nueve genes que se transcriben en el mismo sentido y que, aparentemente, están implicados en la degradación de aminas (ORF1, aauBEDA, ORF2, ORF3, ORF4 y hemE). Los genes aauA y aauB codifican la subunidad pequeña y la grande de la AADH, respectivamente, y son homólogos de los genes mauA y mauB que codifican la MADH. Los genes aauE y aauD son homólogos de mauE y mauD y, aparentemente, codifican proteínas que llevan a cabo la misma función (el transporte y plegamiento de la subunidad pequeña en el periplasma, respectivamente). Los genes homólogos de mauF, mauG, mauL, mauM y mauN, que participan en la biosíntesis del cofactor TTQ, no se encuentran en el cluster aau. Sin embargo, se han identificado otros ORFs, tales como el ORF2, que codifica un citocromo monohemo de tipo c, y los ORF1, ORF3, y ORF4, a los que todavía no se les ha asignado ninguna función, pero que parecen ser esenciales para la degradación de ciertas aminas, ya que su disrupción es letal en esta bacteria (65).

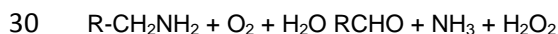
El mecanismo catalítico descrito para las AADH y las MADH es similar al propuesto para las QH-AmdH, aunque estas enzimas carecen de los dos grupos hemo.

En las reacciones catalizadas por las Q-AmdH, la transferencia de $2e^-$ desde el cofactor TTQ reducido hasta el aceptor externo de e^- se produce mediante dos reducciones consecutivas. El aceptor de e^- es la azurina en el caso de las AADH y la amicianina en el caso de las MADH. Ambos aceptores fisiológicos median la transferencia de e^- hasta diferentes tipos de citocromo c solubles. En el caso de las AADH, la reacción se favorece cuando la fuerza iónica es alta, mientras que la actividad de las MADH disminuye cuando aumenta la fuerza iónica (85).

En ambos casos, tras la liberación del producto, se genera una forma quinol del TTQ. Por ejemplo, en la reducción del TTQ por metilamina, el formaldehído es liberado pero el grupo amino permanece unido al cofactor. Por lo tanto, la reducción del sustrato implica la formación de una forma aminoquinol del TTQ en el que uno de los oxígenos del grupo carbonilo es reemplazado por el grupo amino derivado del sustrato. La liberación del grupo amino se produce tras la segunda transferencia de e^- que permite la regeneración de la quinona (85).

Desaminación de tiramina

La desaminación de la tiramina es llevada a cabo fundamentalmente por amino oxidasas. Estas enzimas están ampliamente distribuidas en todos los organismos vivos y permiten la conversión, mediante oxidación, de tiramina y otras aminas primarias en sus correspondientes aldehídos liberando una molécula de peróxido de hidrógeno (agua oxigenada). Debido a la elevada reactividad de estos productos (aldehído y peróxido de hidrógeno), deben ser rápidamente transformados, mediante reacciones mediadas por una fenilacetaldéhidoo deshidrogenasa dependiente de NAD y por una catalasa de localización citoplasmática respectivamente.



Las amino oxidasas (AOs) que llevan a cabo esta reacción de desaminación de la tiramina, se pueden clasificar en dos subgrupos: Flavoproteínas amino oxidasas (EC 1.4.3.4), que utilizan el FAD como cofactor, y quinoproteínas amino oxidasas (EC 1.4.3.6) que, como se ha explicado anteriormente, se caracterizan por contener Cu(II) y TPQ como cofactor.

Entre las flavoproteínas amino oxidasas, cabe destacar las monoamino oxidasas (MAOs) que se encuentran en infinidad de organismos, y que como la tiramina oxidasa de *Klebsiella aerogenes* (86), la de *Salmonella typhimurium* (87) o la de *Sarcina lutea* (88), son capaces de oxidar tiramina, dopamina y noradrenalina. Estas enzimas se inducen por la presencia de tiramina y sus genes están sometidos a represión catabólica en presencia de glucosa. Pero la MAO también está presente en organismos superiores, y en ellos se han descrito dos isoenzimas, MAOA y MAOB, esta clasificación se realizó en función de la inhibición específica de la MAOA por el antidepressivo clogilina y de la MAOB por el deprenil (89). Ambas isoformas son enzimas mitocondriales que juegan un importantísimo papel en la inactivación de aminas biogénicas, tales como la adrenalina, noradrenalina, serotonina, dopamina y varias "aminas traza" (entre ellas la tiramina).

Estas dos isoformas de la MAO están distribuidas de forma muy heterogénea en los diferentes tejidos del cuerpo humano, por ejemplo, en el hígado la forma MAOB es predominante, mientras que en la mucosa del duodeno la isoforma mayoritaria es la MAOA, siendo esta isoenzima la encargada de la desaminación de las aminas introducidas con la dieta. Por esta razón se provocarán procesos de hipertensión críticos en aquellos pacientes que consuman alimentos ricos en aminas y sigan tratamientos con inhibidores de la MAOA. Esta es una de las causas por las que los tratamientos con fármacos inhibidores de la MAO, actualmente están dirigidos a la inhibición de la actividad de la isoforma MAOB (90).

Pero no siempre la desaminación de tiramina es catalizada por flavoproteínas amino oxidasas. En muchos organismos se han identificado quinoproteínas amino oxidasas, (cuyo mecanismo de acción ya se ha explicado anteriormente), responsables de la desaminación de tiramina, tal es el caso de *Klebsiella oxytoca* (68), *E. coli* (77) y de *Euphorbia characias* (91). En este último caso la enzima es un homodímero soluble que contiene en el centro activo un ión Cu(II) y TPQ como cofactor.

En cambio otras bacterias G- desaminan la tiramina mediante la actividad de enzimas amino deshidrogenasas. Este es el caso de *Alcaligenes faecalis* y de *Pseudomonas aeruginosa* (68) que poseen una amina deshidrogenasa periplásmica que utiliza TTQ como cofactor.

5 Por último, cabe destacar la existencia de otro sistema de desaminación de tiramina que está mediado por una peroxidasa (EC 1.11.1.7) y que en presencia de H₂O₂ cataliza, como paso previo a la oxidación de la tiramina, la formación de un dímero intermediario (ditiramina). Esta peroxidasa requiere la presencia de H₂O₂ para llevar a cabo su acción y se ha comprobado que esta enzima trabaja cooperativamente con las amino oxidasas, actuando estas últimas como donadoras de H₂O₂. Posteriormente, el intermediario generado sufrirá una oxidación mediada por la acción de la (flavoproteína o quinoproteína) amino oxidasa correspondiente en los dos grupos amino, dando lugar a la formación de un di-p-hidroxifenilacetaldehído. (91-93). También puede ocurrir que esta peroxidasa utilice como sustratos el aldehído y el H₂O₂ obtenidos como productos de la desaminación de tiramina por acción de las amino oxidasas, dando lugar al di-p-hidroxifenilacetaldehído sin la formación previa de ditiramina (Figura 6).

Degradación microbiana de tiramina

15 Como se indicó anteriormente, la tiramina, puede desencadenar efectos tóxicos en enfermos tratados con inhibidores de la MAO, o en personas sanas cuando su aporte en la dieta es muy elevado. Por ello, el conocimiento de las vías responsables de la degradación de este compuesto por un agente microbiano puede tener importantes aplicaciones en el campo de la salud pública. Por otra parte la transferencia de los genes responsables de esa vía podría dotar de capacidad para degradar tiramina a organismos empleados en la industria alimentaria, reduciendo de este modo, la concentración de tiramina en los alimentos (quesos, vinos, etc.). Por último, el hecho de que la tiramina sea una importante amina "traza" con función en el sistema nervioso central y que posea similitud estructural con importantes neurotransmisores (por ejemplo, la dopamina), hace que el estudio de la ruta metabólica responsable de la degradación de este compuesto pueda tener interesantes aplicaciones farmacológicas, pudiendo ser usada, por ejemplo, para el tratamiento de determinadas enfermedades neurológicas.

25 En determinados microorganismos tales como *Klebsiella aerogenes* (86), *Micrococcus luteus* (67), *Salmonella typhimurium* (87) y *E. coli* (62) se ha descrito la presencia de enzimas con actividad tiramina oxidásica que son capaces de oxidar la tiramina a 4-hidroxifenilacetaldehído. Además, varios de los genes y de las proteínas responsables de la degradación de este compuesto han sido ya caracterizados (62). Así, por ejemplo, en *E. coli* K12, la degradación de tiramina y de otras aminas aromáticas relacionadas (2-feniletilamina, dopamina) requiere la acción secuencial de una monoamino oxidasa (miembro de la familia de las quinoproteínas amino oxidasas) codificada por el gen *maoA*, y una fenilacetaldehído deshidrogenasa, producto del gen *padA*, que transforma el fenilacetaldehído generado por la proteína MAOA en 4-OH-PhAc, el cual será posteriormente degradado por una ruta específica (94). Corriente arriba del gen *maoA* se encuentra el gen *maoB* que se transcribe en el mismo sentido y que codifica un regulador transcripcional perteneciente a la familia AraC. El producto del gen *maoB* activa la expresión de *maoA* pero no la del gen *padA*, que se transcribe en sentido contrario. Esto indica que, aunque estos genes están físicamente próximos en el cromosoma y forman parte de la misma ruta catabólica, no constituyen un operón (94). Todos los microorganismos en los que se ha estudiado la degradación de tiramina utilizan las mismas enzimas descritas en *E. coli*.

Catabolismo de tiramina en *P. putida* U

40 *Pseudomonas putida* U (Colección Española de Cultivos Tipo CECT 4848) es una estirpe bacteriana capaz de crecer en numerosos medios de cultivo con composición química definida (medios mínimos o MM), que contienen como fuentes de carbono diferentes moléculas difícilmente degradables, algunas de las cuales pueden incluso llegar a ser perjudiciales o tóxicas para procariontes y para eucariotes (95-98). Esta versatilidad metabólica, ha hecho que esta bacteria fuese objeto de numerosos estudios bioquímicos y genéticos lo que ha conducido al esclarecimiento de algunas de las rutas catabólicas responsables de la degradación de esas moléculas. Así, se han identificado las rutas implicadas en la degradación del ácido fenilacético y de diferentes compuestos relacionados estructuralmente con él (ácidos n-fenilalcanoicos, fenilacetaldehído, 2-feniletanol, etc) (82,96-98). Adicionalmente, se ha comprobado que *P. putida* U es capaz de degradar eficientemente otros compuestos aromáticos tales como los aminoácidos fenilalanina, tirosina y el ácido 3-hidroxifenilacético, utilizando para ello una vía, caracterizada por nuestro grupo de investigación, que implica la conversión de todos esos compuestos en homogentísico que, posteriormente, es degradado hasta ácido fumárico y ácido acetoacético (99-100).

50 Esta bacteria es también capaz de crecer en MM que contienen como únicas fuentes de carbono aminas alifáticas (propil, butil, pentil, hexil, octal y nonilaminas) y aromáticas (2-feniletilamina, tiramina y dopamina). Las rutas responsables de la degradación de las aminas alifáticas y de la 2-feniletilamina han sido identificadas por nuestro grupo (82), mientras que la ruta responsable de la asimilación de tiramina y de dopamina en esta bacteria se desconocía hasta la fecha. De hecho, muchos investigadores proponían que la degradación de tiramina en bacterias pertenecientes al género *Pseudomonas* se realizaba mediante las mismas enzimas descritas en *E. coli*, y implicaban la participación de las enzimas codificadas por los genes *maoA*, *padA* y *maoB* (94). Sin embargo, los autores de la invención han demostrado fehacientemente que, sorprendentemente, *P. putida* U degrada tiramina y dopamina mediante una nueva ruta catabólica cuyas enzimas están codificadas por los genes *tyn* tal y como se describe más adelante. Esta nueva ruta catabólica es la base de la invención.

REFERENCIAS

1. SMITH, T.A. (1980) Amines in food. *Food Chem.* 6: 169-200.
2. TEN BRINK, B., DAMINK, C., JOOSTEN, H.M.L.J., HUIS IN'T VELD, J.H.J. (1990) Occurrence and formation of biologically amines in food. *Int. J. Food Microbiol.* 11: 73-84.
- 5 4. OLANOW, C.W., FREEMAN T.B., KORDOWER, J.H. (1997) Neural transplantation as a therapy for Parkinson's disease. *Adv. Neurol.* 74: 249-269.
5. HAAVIK, J., BLAU, N., THÖNY, B. (2008) Mutations in human monoamine-related neurotransmitter pathway genes. *Hum Mutat.* 29: 891-902.
6. FIBIGER, H.C. (1995). Neurobiology of depression: Focus on dopamine *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* 49: 1-17.
- 10 7. PHILIPS S.R., DAVIS B.A., DURDEN D.A., BOULTON A.A. (1975) Identification and distribution of m-tyramine in the rat. *Can J Biochem.* 53: 65-69.
8. AXELROD, J., SAAVEDRA, J.M. (1977) Octopamine. *Nature.* 265: 501-504.
9. BOULTON A.A. (1980) Trace amines and mental disorders. *J Neurol Sci.* 7: 261-263.
- 15 10. BOROWSKY, B., ADHAM, N., JONES, K. A., RADDATZ, R., ARTYMYSHYN, R., OGOZALEK, K.L., DURKIN, M.M., LAKHLANI, P.P., BONINI, J.A., PATHIRANA, S. (2001) Trace amines: identification of a family of mammalian G protein-coupled receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98: 8966-8971.
11. KIM, K.A., VON ZASTROW, M. (2001) Old drugs learn new tricks: insights from mammalian trace amine receptors. *Mol Pharmacol.* 60: 1165-1167.
- 20 12. PREMONT, R.T., GAINETDINOV, R. R., CARON, M.G. (2001) Following the trace of elusive amines. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98: 9474-9475.
13. FOGEL, W.A., ANDRZEJEWSKI, W., MAŚLIŃSKI, C., FOGEL, W.A., ANDRZEJEWSKI, W., MAŚLIŃSKI, C. (1990) Neurotransmitters in hepatic encephalopathy. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 50: 281-93.
14. BALDESSARINI, R.J., VOGT, M., BALDESSARINI, R.J., VOGT, M. (1972) Regional release of aromatic amines from tissues of the rat brain in vitro. *J Neurochem.* 19: 755-761.
- 25 15. BERRY, M.D. (2004) Mammalian central nervous system trace amines. Pharmacologic amphetamines, physiologic neuromodulators. *J. Neurochem.* 90: 257-271.
16. BOULTON, A.A. (1976) Identification, distribution, metabolism, and function of meta and para tyramine, phenylethylamine and tryptamine in brain. *Adv Biochem Psychopharmacol.* 15: 57-67.
- 30 17. DAVIS, B.A., BOULTON, A.A. (1994) The trace amines and their acidic metabolites in depression an overview. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 18: 17-45.
18. BRANCHEK, T.A., BLACKBURN, T.P. (2003). Trace amine receptors as targets for novel therapeutics: legend, myth and fact. *Curr. Opin. Pharmacol.* 3: 90-97.
19. ROSS, W.F., WALTERS, D.R., ROBINS D.J.. (2004). Synthesis and antifungal activity of five classes of diamines. *Pest Manag. Sci.* 60: 143-148.
- 35 20. GALSTON, A.W.; KAUR-SHAWNEY, R. (1990) Polyamines in plant physiology. *Plant Physiol.* 94: 406-10.
21. SHALABY, A.R. (1996) Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International.* 29: 675-690.
22. MAGA, J.A. (1978) Amines in food. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr.* 10: 373- 403.
23. KARMAS, E. (1981). Biogenic amines as indicators of seafood freshness. *Food Sci. Technol.* 5: 108-109.
- 40 24. WEI, C.I., CHEN, C.M., KOBURGER, J.A., OTWELL, W.S., MARSHALL, M.S. (1990) Bacterial growth and histamine production on vacuum packaged tuna. *Journal of Food Science* 55: 59-63.
25. ASKAR, A., TREPTOW, H. (1986), Biogenic amine in lebensmittein vorkommen bedeutung und bestimmung. Eugen Ulmer GmbH, Stuttgart.
- 45 26. STRATTON, J.E., HUTKINS, R.W. TAYLOR, S.L. (1991) Biogenic amine in cheese and other fermented foods: *J. Food Prot.* 54: 460-470.

27. BUTEAU, C., DITSCHAEVER, C.L., ASHTON, G.C. (1984). A study of the biogenesis of amines in a Villard noir wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 35: 228-235.
28. TAYLOR, S.L., HUI, J.Y., LYOUS, D.E. (1984). Toxicology of scombroid poisoning. In: *Seafood Toxins*, ed. E.R. Ragils, ACS Symposium Series 262. Washington, DC. 1: 417.
- 5 29. GILBERT, R.J.; HOBBS, G., MURRAY, C.K., CRUICKSHANK, J.G., YOUNG, S.E. (1980) Scombrototoxic fish poisoning: features of the first 50 incidents to be reported in Britain (1976-79). *Br. Med. J.* 281: 71-72.
30. JOOSTEN, H.M.L.J. (1988). The biogenic amines contents of Dutch cheese and their toxicological significance. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 42, pp.329-357.
- 10 31. GENERALI, J.A., HOGAN, L.C., MCFARLANE, M., SCHWAB, S., HARTMAN, C.R. (1981) Hypertensive crisis resulting from avocados and a MAO inhibitor. *Drug Intell Clin Pharm.* 15: 904-906.
32. RAPAPORT, M.H. (2007) Dietary restrictions and drug interactions with monoamine oxidase inhibitors: the state of the art. *J Clin Psychiatry.* 8: 42-46.
33. SIMPSON, G.M., DE LEON, J. (1989) Tyramine and new monoamine oxidase inhibitor drugs. *Br J Psychiatry Suppl.* 6: 32-37.
- 15 34. OCHIAI, M., WAKABAYASHI, K., NAGAO, M., SUGIMURA, T. (1984) Tyramine is a major mutagen precursor in soy sauce, being convertible to a mutagen by nitrite. *Gann.* 75: 1-3.
35. BELLO-FERNANDEZ, C., PACKHAM, G., CLEVELAND, J.L. (1993) The ornithine decarboxylase gene is a transcriptional target of c-Myc. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90: 7804-7808.
- 20 36. KIKUCHI, Y., KOJIMA, H., TANAKA, T., TAKATSUKA, Y., KAMIO, Y. (1997) Characterization of a second lysine decarboxylase isolated from *Escherichia coli*. *J Bacteriol.* 179: 4486-4492.
37. RECSEI, P.A., SNELL, E.E. (1972) Histidine decarboxylaseless mutants of *Lactobacillus 30a*: isolation and growth properties. *J Bacteriol.* 112: 624-626.
38. MITOMA, C., UNDEFRIEND, S. (1960) Bacterial tryptophan decarboxylase. *Biochim Biophys Acta.* 37: 356-357.
39. CHOUDHURY, N., HANSEN, W., ENGESSER, D., HAMMES, W.P., HOLZAPFEL, W.H. (1990). Formation of histamine and tyramine by lactic acid bacteria in decarboxylase medium. *Letters in Applied Microbiology.* 11: 278-281.
- 25 40. KATO, Y., TSUDA, T., ASANO, Y. (2007) Purification and partial characterization of N-hydroxy-L-phenylalanine decarboxylase/oxidase from *Bacillus* sp. strain OxB-1, an enzyme involved in aldoxime biosynthesis in the "aldoxime-nitrile pathway". *Biochim Biophys Acta.* 1774: 856-865.
41. ISHII, S., HAYASHI, H., OKAMOTO, A., KAGAMIYAMA, H. (1998) Aromatic L-amino acid decarboxylase: conformational change in the flexible region around Arg334 is required during the transaldimination process. *Protein Sci.* 7: 1802-1810.
- 30 42. SANDMEIER E, HALE T.I, CHRISTEN P. (1994) Multiple evolutionary origin of pyridoxal-5'-phosphate-dependent amino acid decarboxylases. *Eur J Biochem.* 221: 997-1002.
43. TOLBERT, W.D., GRAHAM, D.E., WHITE, R.H., EALICK, S.E. (2003) Pyruvoyl-dependent arginine decarboxylase from *Methanococcus jannaschii*: crystal structures of the self-cleaved and S53A proenzyme forms. *Structure.* 11: 285-294.
- 35 44. SUZZI, G., GARDINI, F. (2003) Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 41-54.
45. BOVER-CID, S., HUGAS, M., IZQUIERDO-PULIDO, M., VIDAL-CAROU, M.C. (2001). Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. *International Journal of Food Microbiology.* 66: 185-189.
46. ROIG-SAGUÉS, A.X., HERNÁNDEZ-HERRERO, M., LÓPEZ-SABATER, E.I., RODRÍGUEZ-JEREZ, J.J., MORA-VENTURA, M.T. (1996). Histidine decarboxylase activity of bacteria isolated from raw and ripened Salsichon, a Spanish cured sausage. *Journal of Food Protection* 59: 516-520.
47. SILLA SANTOS, M.H., (1998). Amino acid decarboxylase capability of microorganisms isolated in Spanish fermented meat products. *International Journal Food Microbiology.* 39: 227-230.
- 45 48. LE JEUNE, C., LONVAUD-FUNEL, A., TEN BRINK., HOFSTRA, H. Y VAN DER VOSSEN. J.M.B.M. (1995) Development of a detection system for histidine decarboxylating lactic acid bacteria on DNA probes, PCR and activity test. *J. Appl. Bacteriol.* 78: 316-326.

49. MASSON, F., TALON, R., MONTEL, M.C. (1996) Histamine and tyramine production by bacteria from meat products. *International Journal of Food Microbiology*. 32: 199-207.
50. MONTEL, M.C., MASSON, F., TALON, R. (1999) Comparison of biogenic amine content in traditional and industrial French dry sausages. *Sciences des Aliments*. 19: 247- 254.
- 5 51. MASSON, F., JOHANSSON, G., MONTEL, M.C. (1999). Tyramine production by a strain of *Carnobacterium divergens* inoculated in meat-fat mixture. *Meat Science*. 52: 65- 69.
52. NOUT, M.J.R (1994) 'Fermented foods and food safety'. *Food Res. Int.* 27: 291.
53. NIVEN, C.F., JEFFREY, M.R., CORLETT, D.A. (1981) Differential plating médium for quantitative detection of histamine producing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 41: 321-322.
- 10 54. JOOSTEN, H.M.L.J., NORTHOLT, M.D. (1989). Detection, growth, and amine capacity of lactobacilli in cheese. *Appl Environ. Bacteriol.* 55: 2356-2359.
55. CONNIL, N., LE BRETON, Y., DOUSSET, X., AUFRAY, Y., RINCÉ, A., PRÉVOST, H. (2002) Identification of the *Enterococcus faecalis* tyrosine decarboxylase operon involved in tyramine production. *Appl Environ Microbiol.* 68: 3537-3544.
- 15 56. MARCOBAL, A., DE LAS RIVAS B., MORENO-ARRIBAS, M.V., MUÑOZ, R. (2004) Identification of the ornithine decarboxylase gene in the putrescine-producer *Oenococcus oeni* BIFI-83. *FEMS Microbiol. Lett.* 239: 213-220.
57. GURAYA, H.S., KOEHLER, P.E. (1991). Histamine in cats foods: survey and comparison of. methodologies. *Vet. Hum. Toxicol.* 33: 124-128.
- 20 58. VUORELA, H., HINKKANEN, R., HILTUNEN, R. (1989) Rapid determination of tyramine in fish feed and slaughter offal by HPLC using coulometric detection. *Z Lebensm Unters Forsch.* 189: 434-437.
59. LEHTONEN, P. (1996) A review. *Am. J. Enol. Vitic.* 47: 127-133.
60. ROMERO, R., GAZQUEZ, D., BAGUR, M.G., SÁNCHEZ-VINAS, M. (2000) Optimization of chromatography parameters for the determination of biogenic amines in wine by reversephase high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 871: 75-83.
- 25 61. OGURI, S., ENAMI, M., SOGA, N. (2007) Selective analysis of histamine in food by means of solid-phase extraction cleanup and chromatographic separation. *J Chromatogr A.* 1139: 70-74.
62. FERRÁNDEZ, A., PRIETO, M. A., GARCÍA, J. L., DÍAZ, E. (1997) Molecular characterization of PadA, a phenylacetaldehyde dehydrogenase from *Escherichia coli*. *FEBS Lett.* 406: 23-27.
- 30 63. GIANOTTI, V., CHIUMINATTO, U., MAZZUCCO, E., GOSETTI, F., BOTTARO, M., FRASCAROLO, P., GENNARO, M.C. (2008) A new hydrophilic interaction liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of seven biogenic amines in cheese. *J Chromatogr A.* 1185: 296-300.
64. MARCOBAL, A.; POLO, M.C.; MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J.; MORENO-ARRIBAS, M.V. (2005). Biogenic amine content of red Spanish wines: comparison of a direct ELISA and an HPLC method for the determination of histamine in wines. *Food Res. Int.* 38: 387-394.
- 35 65. Chistoserdov, A.Y. (2001) Cloning, sequencing and mutagenesis of the genes for aromatic amine dehydrogenase from *Alcaligenes faecalis* and evolution of amine dehydrogenases. *Microbiology.* 147: 2195-2202.
66. VAN NESTE, A., DUCE, R. A., LEE, C. (1987) Methylamines in the marine atmosphere. *Geophys. Res. Lett.* 14: 711-714.
- 40 67. YAMADA, H., ADACHI, O., OGATA, K. (1965) Amine oxidases of microorganisms. Part II. Purification and crystallization of amine oxidases of *Aspergillus niger*. *Agric. Biol. Chem.* 29: 649-654.
68. HACISALIHOGU, A., JONGEJAN, J.A., DUINE, J.A. (1997) Distribution of amine oxidases in bacteria grown on primary amines and characterization of the amine oxidase from *Klebsiella oxytoca*. *Microbiology.* 143: 505-512.
- 45 69. VANDENBERGHE, I., KIM, J. K., DEVREESE, B., HACISALIHOGU, A., IWABUKI, H., OKAJIMA, T., KURODA, S., ADACHI, O., JONGEJAN, J.A., DUINE, J.A. (2001) The covalent structure of the small subunit from *Pseudomonas putida* amine dehydrogenase reveals the presence of three novel types of internal cross-linkages, all involving cysteine in a thioether bond. *J. Biol. Chem.* 276: 42923-42931.
70. McINTIRE, W.S., HARTMANN, C. (1992) Copper-containing amine oxidases. In Davidson, V. (ed.), *Principles and Applications of Quinoproteins*. pp.: 97-172. New York: Marecl Dekker.

71. OUBRIE, A., ROZEBOOM, H.J., KALK, K.H., HUIZINGA, E.G. (2002) Crystal structure of quinohemoprotein alcohol dehydrogenase from *Comamonas testosteroni*. *J. Biol. Chem.* 277: 3727-3732.
72. STITES, T.E., MITCHELL, A.E., RUCKER, R.B. (2000) Physiological importance of quinoenzymes and the O-quinone family of cofactors. *J. Nutri.* 130: 719-727.
- 5 73. MATSUSHITA, K., TOYAMA, H., ADACHI, O. (2002) Quinoproteins: structure, function, and biotechnological applications. *App. Microbiol. Biotechnol.* 58: 13-22.
74. DAVIDSON, V.L. (2004) Electron transfer in quinoproteins. *Archiv. Biochem. Biophys.* 428: 32-40.
75. HIROTA, S., IWAMOTO, T., KISHISHITA, S., OKAJIMA, T., YAMAUCHI, O., TANIZAWA, K. (2001) Spectroscopic observation of intermediates formed during the oxidative half-reaction of copper/topa quinone-containing phenylethylamine oxidase. *Biochemistry.* 40: 15789-15795.
- 10 76. MATSUNAMI, H., OKAJIMA, T., HIROTA, S., YAMAGUCHI, H., HORI, H., KURODA, S., TANIZAWA, K. (2004) Chemical rescue of a site-specific mutant of bacterial copper amine oxidase for generation of the topa quinone cofactor. *Biochemistry.* 43: 2178-2187.
77. COOPER, R.A., KNOWLES, P.F., BROWN, D.E., MCGUIRL, M.A., DOOLEY, D.M. (1992) Evidence for copper and 3,4,6-trihydroxyphenylalanine quinone cofactors in an amine oxidase from the gram-negative bacterium *Escherichia coli* K-12. *Biochem J.* 288:337-340.
- 15 78. UCHIDA, M., OHTANI, A., KOHYAMA, N., OKAJIMA, T., TANIZAWA, K., YAMAMOTO, Y. (2003) Stereochemistry of 2-phenylethylamine oxidation catalyzed by bacterial copper amine oxidase. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67: 2664-2667.
79. ONO, K., OKAJIMA, T., TANI, M., KURODA, S., SUN, D., DAVIDSON, V. L., TANIZAWA, K. (2006) Involvement of a putative [Fe-S]-cluster-binding protein in the biogenesis of quinohemoprotein amine dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 281: 13672-13684.
- 20 80. SATOH, A., KIM, J.K., MIYAHARA, I., DEVREESE, B., VANDENBERGHE, I., HACISALIHOGU, A., OKAJIMA, T., KURODA, S., ADACHI, O., DUINE, J.A. (2002) Crystal structure of quinohemoprotein amine dehydrogenase from *Pseudomonas putida*. *J. Biol. Chem.* 277: 2830-2834.
81. SUN, D., ONO, K., OKAJIMA, T., TANIZAWA, K., UCHIDA, M., YAMAMOTO, Y., MATHEWS, F.S., DAVIDSON, V. (2003) Chemical and kinetic reaction mechanisms of quinohemoprotein amine dehydrogenase from *Paracoccus denitrificans*. *Biochemistry.* 42: 10896-10903.
- 25 82. ARIAS, S., OLIVERA, E R., ARCOS, M., NAHARRO, G., LUENGO, J.M. (2008) Genetic analyses and molecular characterization of the pathways involved in the conversion of 2-phenylethylamine and 2-phenylethanol into phenylacetic acid in *Pseudomonas putida* U. *Environ Microbiol.* 10: 413-432.
- 30 83. TAKAGI, K., TORIMURA, M., KAWAGUCHI, K., KANO, K., IKEDA, T. (1999) Biochemical characterization of quinohemoprotein amine dehydrogenase from *Paracoccus denitrificans*. *Biochemistry.* 38: 6935-6942.
84. DATTA, S., MORI, Y., TAKAGI, K., KAWAGUCHI, K., CHEN, Z.W., OKAJIMA, T., KURODA, S., IKEDA, T., KANO, K., TANIZAWA, K., MATHEWS, F. (2001) Structure of a quinohemoprotein amine dehydrogenase with an uncommon redox cofactor and highly unusual crosslinking. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98: 14268-14273.
- 35 85. HYUN, Y.L., DAVIDSON, V.L. (1995) Electron transfer between aromatic amine dehydrogenase and azurin. *Biochemistry.* 34: 12249-12254.
86. OKAMURA, H., MUROOKA, Y., HARADA, T. (1976) Regulation of tyramine oxidase synthesis in *Klebsiella aerogenes*. *J Bacteriol.* 127: 24-31.
- 40 87. MUROOKA, Y., HARADA, T. (1981) Regulation of derepressed synthesis of arylsulfatase by tyramine oxidase in *Salmonella typhimurium*. *J Bacteriol.* 145: 796-802.
88. KUMAGAI, H., MATSUI, H., OGATA, K., YAMADA, H. (1969) Properties of crystalline tyramine oxidase from *Sarcina lutea*. *Biochim Biophys Acta.* 171: 1-8.
89. OCHIAI, Y., ITOH, K., SAKURAI, E., ADACHI, M., TANAKA, Y. (2006) Substrate selectivity of monoamine oxidase A, monoamine oxidase B, diamine oxidase, and semicarbazide-sensitive amine oxidase in COS-1 expression systems. *Biol Pharm Bull.* 29: 2362-2366.
- 45 90. SAURA, J., NADAL, E., VAN DEN BERG, B., VILA, M., BOMBI, J.A., MAHY, N. (1996) Localization of monoamine oxidases in human peripheral tissues. *Life Sci.* 59: 1341-1349.

91. MURA, A., PINTUS, F., FAIS, A., PORCU, S., CORDA, M., SPANÒ, D., MEDDA, R., FLORIS, G. (2008) Tyramine oxidation by copper/TPQ amine oxidase and peroxidase from *Euphorbia characias* latex. *Arch Biochem Biophys.* 475: 18-24.
- 5 92. GROSS, A.J., SIZER, I.W. (1959) The oxidation of tyramine, tyrosine, and related compounds by peroxidase. *J Biol Chem.* 234 :1611-1614.
93. VALOTI, M., MORÓN, J.A., BENOCCI, A., SGARAGLI, G., UNZETA, M. (1998) Evidence of a coupled mechanism between monoamine oxidase and peroxidase in the metabolism of tyramine by rat intestinal mitochondria. *Biochem Pharmacol.* 55: 37-43.
- 10 94. DIAZ, E., FERRÁNDEZ, A., PRIETO, M.A., AND GARCÍA, J.L. (2001) Biodegradation of Aromatic Compounds by *Escherichia coli*. 65: 523-569.
95. Martínez-Blanco, H., Reglero, A., Rodríguez-Aparicio, L. B., and Luengo, J. M. (1990) Purification and biochemical characterization of phenylacetyl-CoA ligase from *Pseudomonas putida*. A specific enzyme for the catabolism of phenylacetic acid. *J Biol Chem* 265: 7084-7090.
- 15 96. LUENGO, J.M., GARCÍA, J.L., OLIVERA, E.R. (2001) The phenylacetyl-CoA catabolón: a complex catabolic unit with broad biotechnological applications. *Mol. Microbiol.* 39: 1434-1442.
97. Luengo, J. M., Arias, S., Sandoval, A., Arias-Barrau, E., Arcos, M., Naharro, G., Olivera, E. R. (2004) From aromatics to bioplastics: the phenylacetyl-CoA catabolon as a model of catabolic convergence. In Gayathri, A. (ed.), *Recent Res. Devel. Biophys. Biochem.*, Vol. 4, pp.: 257-292. Research Signpost, Kerala, India.
- 20 98. OLIVERA, E.R., MIÑAMBRES, B., GARCÍA, B., MUNIZ, C., MORENO, M.A., FERRÁNDEZ, A., DÍAZ, E., GARCÍA, J.L. Y LUENGO, J.M. (1998) "Molecular characterization of the phenylacetic acid catabolic pathway in *Pseudomonas putida* U: the phenylacetyl-CoA catabolon". *Proc Natl Acad Sci U S A.* 95: 6419-6424.
99. ARIAS-BARRAU, E., OLIVERA, E.R., LUENGO, J.M., Fernández C., Galán B., García, J.L., Díaz, E., Miñambres, B. (2004) The homogentisate pathway: A central catabolic pathway involved in the degradation of L-phenylalanine, L-tyrosine, and 3-hydroxyphenilacetate in *Pseudomonas putida*. *J. Bacteriol.* 186: 5062-5067.
- 25 100. ARIAS-BARRAU, E., SANDOVAL, A., NAHARRO, G., OLIVERA, E.R., LUENGO, J.M. (2005) A two-component hydroxylase involved in the assimilation of 3-hydroxyphenyl acetate in *Pseudomonas putida*. *J Biol Chem.* 280: 26435-26447.
101. RECSEI, P.A., MOORE, W.M., SNELL, E.E. (1983) Pyruvoyl-dependent histidine decarboxylases from *Clostridium perfringens* and *Lactobacillus buchneri*. Comparative structures and properties. *J Biol Chem.* 258: 439-444.
- 30 102. KOVACH, M.E., ELZER, P.H., HILL, D.S., ROBERTSON, G.T., FARRIS, M.A., ROOP, R.M., PETERSON, K.M. (1995) Four new derivatives of the broad-host range cloning vector pBBR1MCS, carrying different antibiotic-resistance cassettes. *Gene.* 166: 175-176.
103. QUANDT, J., HYNES, M.F. (1993) Versatile suicide vectors which allow direct selection for gene replacement in Gram-negative bacteria. *Gene.* 127: 15-21.
- 35 104. SCHÄFER, A., TAUCH, A., JÄGER, W., KALINOWSKI, J., THIERBACH, G., PÜHLER, A. (1994) Small mobilizable multi-purpose cloning vectors from the *Escherichia coli* plasmids pK18 y pK19: selection of defined deletions in the chromosome of *Corynebacterium glutamicum*. *Gene.* 145: 69-73.
- 40 105. HERRERO, M., DE LORENZO, V., TIMMIS, K.N. (1990) Transposon vector containing non-antibiotic selection markers for cloning and stable chromosomal insertion of foreign DNA in gram-negative bacteria. *J. Bacteriol.* 172: 6557-6567.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un método alternativo para la degradación de tiramina y/o dopamina en muestras que las contengan. Se basa en el descubrimiento de una nueva ruta catabólica, identificada por los autores de la invención en *Pseudomonas putida* U, capaz de degradar estas dos moléculas hasta dar lugar a ácido pirúvico y ácido succínico (o semialdehído succínico). La ruta completa implica la intervención de enzimas codificadas en dos clusters, tyn y hpa, que se encuentran contiguos en el genoma de dicha bacteria. Las enzimas del primero de los clusters, tyn, permiten la transformación tanto de tiramina como de dopamina en el correspondiente ácido 4-hidroxifenilacetico (3,4-hidroxifenilacetico en el caso de dopamina), en dos pasos: el primero implica la actuación de una tiramina oxidasa compuesta por dos subunidades, TynA y TynB, capaz de actuar tanto sobre tiramina como sobre dopamina, transformándolas en el correspondiente 4-hidroxifenilacetaldehído; la actuación sobre este compuesto de una deshidrogenasa, la enzima TynC, da lugar al correspondiente ácido 4-hidroxifenilacetico (3,4-hidroxifenilacetico en el caso de dopamina). La actuación sobre este compuesto de las enzimas codificadas en el cluster hpa permite, mediante

una secuencia de reacciones catabólicas, su transformación en ácido pirúvico y ácido succínico (o semialdehído succínico), dos metabolitos generales, cruce de distintas vías metabólicas en cualquier organismo. La ruta completa necesita un paso más en la degradación de tiramina: mientras que la acción de las enzimas del cluster tyn sobre dopamina da lugar directamente a ácido 3,4-dihidroxifenilacético, sustrato de una reacción catalizada por la dioxigenasa HpaD (3,4-dihidroxifenilacetico 2,3-dioxigenasa), la transformación de tiramina requiere la acción de una monooxigenasa compuesta por dos subunidades, HpaB y HpaC (4-hidroxifenilacetico monooxigenasa) para transformar el compuesto obtenido tras la acción de las enzimas del cluster tyn sobre la tiramina, el ácido 4-hidroxifenilacético, en ácido 3,4-hidroxifenilacético. A partir de ahí, el procedimiento catabólico es común para ambos compuestos.

Tanto la ruta catabólica en sí como las enzimas que catalizan las reacciones que forman parte de la misma (y, en particular, la primera de las enzimas de la ruta, la tiramina oxidasa TynAB) son nuevas y su naturaleza no era obvia a partir del estado de la técnica pues, como se ha comentado previamente, la ruta responsable de la asimilación de dopamina y tiramina en *Pseudomonas putida U* se desconocía hasta la fecha. El descubrimiento de esta ruta, además, demuestra que la degradación de tiramina en *Pseudomonas* no se realiza mediante las mismas enzimas descritas en *E. coli*, como proponían muchos autores. Es por ello que, tanto el procedimiento de degradación de tiramina y dopamina que parte de la tiramina oxidasa de *Pseudomonas putida* (y que puede completarse hasta ácido pirúvico y succínico mediante la acción de las sucesivas enzimas de la ruta), como la secuencia de aminoácidos de las enzimas que catalizan dichas reacciones y las secuencias codificantes de dichas enzimas, forman parte la presente invención. También son parte de la invención los vectores de expresión a partir de los cuales puedan sintetizarse dichas enzimas (o enzimas con un alto grado de homología con las mismas, que sean capaces de catalizar las mismas reacciones), así como los microorganismos recombinantes que hayan sido transformados con dichos vectores.

Dado el gran interés que la aplicación del procedimiento de la invención puede tener en alimentos, para disminuir su contenido en tiramina y/o dopamina, constituyen aspectos alternativos adicionales de la invención el uso de microorganismos capaces de sintetizar al menos la primera, un subconjunto o la totalidad de las enzimas necesarias para completar la ruta catabólica completa descrita para disminuir el contenido de tiramina y/o dopamina en alimentos que las contengan o, incluso, el uso de dichos microorganismos para actuar sobre materias primas que se vayan a transformar para ser convertidas en alimentos o bebidas listas para el consumo humano o animal y que, o bien contengan de forma natural tiramina o dopamina, o que sean susceptibles de generarlas durante el proceso de transformación de dichas materias primas en los alimentos finales. Esto es así tanto para el microorganismo que, según se divulga en la presente solicitud, contiene de forma natural todos los genes necesarios para sintetizar las enzimas que catalicen las reacciones de la ruta completa (*Pseudomonas putida U*), como para posibles microorganismos recombinantes que hayan sido transformados con algún vector que permita la expresión de al menos uno de los genes codificantes de las enzimas que catalizan las reacciones del procedimiento catabólico.

Los cluster tyn y hpa contienen además otros marcos abiertos de lectura que codifican polipéptidos que parecen estar implicados en la regulación de la ruta catabólica descrita. Dichos polipéptidos, las secuencias que los codifican, las realizaciones del procedimiento que se llevan a cabo estando presentes los polipéptidos reguladores codificados en el cluster hpa y/o los polipéptidos reguladores codificados en el cluster tyn están también incluidos dentro del alcance de la invención, así como los vectores de expresión que incluyen secuencias codificantes de los mismos y los microorganismos transformados con dichos vectores.

Así, la presente invención proporciona tanto el procedimiento alternativo descrito para la degradación de tiramina o dopamina en una muestra cualquiera, como las secuencias de las proteínas capaces de catalizar y regular el proceso de degradación de tiramina y/o dopamina hasta ácido pirúvico y ácido succínico (o semialdehído succínico), así como las secuencias nucleotídicas que codifican dichas proteínas. Los vectores de expresión que comprenden secuencias codificantes de al menos una de dichas proteínas y los microorganismos transformados con ellos constituyen también aspectos de la invención, así como el uso de *Pseudomonas putida U* o de cualquiera de dichos microorganismos recombinantes para disminuir el contenido de tiramina y/o dopamina en una muestra de un alimento o bebida destinada al uso humano o animal o en un algún producto intermedio de la transformación de las materias primas en el alimento o bebida final, incluidas las propias materias primas.

Por tanto, un primer aspecto de la invención se refiere a las moléculas de ácido nucleico a partir de las cuales pueden sintetizarse las proteínas capaces de catalizar y/o regular el procedimiento de la invención, o que codifican proteínas con un alto grado de homología con las mismas (definida o bien por el porcentaje de coincidencia en los nucleótidos (al menos 60%), o por la capacidad de aparearse en condiciones estrictas de hibridación (las condiciones en las que hibridan cadenas de ácidos nucleicos complementarias, que son fácilmente identificables por el experto en la técnica en cada caso específico, pero que pueden resumirse como condiciones de temperaturas elevadas (65°C, por ejemplo) y baja concentración de sales)), siempre y cuando sean capaces de llevar a cabo la misma actividad. Concretamente, se refieren a las moléculas de ácido nucleico a partir de las cuales pueda sintetizarse la enzima que cataliza la etapa imprescindible del procedimiento de degradación, la tiramina oxidasa TynAB, o proteínas homólogas a la misma que presenten esa misma actividad. Por tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere a una molécula de ácido nucleico aislada que codifica una proteína o complejo proteico capaz de actuar como tiramina oxidasa, seleccionada del grupo que consiste en:

- a) una molécula de ácido nucleico que comprende una primera secuencia que es idéntica, al menos en un 60%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:3 (correspondiente al DNA que codifica la subunidad TynA de TynAB) y una segunda secuencia que es idéntica, al menos en un 60%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:5 (DNA que codifica la subunidad TynB de TynAB);
- 5 b) una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia que hibrida en condiciones estrictas con las secuencias de a);
- c) una molécula de ácido nucleico que comprende una primera secuencia que codifica un polipéptido cuya secuencia de aminoácidos es idéntica, al menos en un 60%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:4 (secuencia de aminoácidos de TynA) y una segunda secuencia que codifica un polipéptido cuya secuencia de aminoácidos es idéntica, al menos en un 60%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:6 (secuencia de aminoácidos de TynB);
- 10 d) una molécula de ácido nucleico que comprende una primera secuencia que codifica una variante alélica natural de un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:4 y una segunda secuencia que codifica una variante alélica natural de un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:6, donde la molécula de ácido nucleico hibrida, bajo condiciones estrictas, con una secuencia de DNA que comprende las secuencias mencionadas en a), o secuencias complementarias a las mismas.
- 15 En una realización preferida de la invención, la molécula de ácido nucleico comprende una primera y una segunda secuencias en las que el porcentaje de homología en la alternativa a) o en la alternativa c) es del 100%.
- En una realización adicional preferida, la molécula de ácido nucleico aislada comprende también un fragmento de ácido nucleico a partir del cual pueda sintetizarse la enzima que cataliza la siguiente etapa del procedimiento de degradación, la 4-hidroxifenilacetaldehído deshidrogenasa TynC, o una proteína homóloga a la misma que realice la misma función. Así, en dicha realización, la molécula de ácido nucleico aislada comprende adicionalmente una secuencia que codifica una proteína capaz de actuar como 4-hidroxifenilacetaldehído deshidrogenasa, seleccionada del grupo que consiste en:
- 20 a) una secuencia de ácido nucleico que es idéntica, al menos en un 60%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:7 (DNA codificante de TynC);
- b) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que hibrida en condiciones estrictas con la secuencia de a);
- 25 c) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica un polipéptido cuya secuencia de aminoácidos es idéntica, al menos en un 60%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:8 (secuencia de aminoácidos de TynC);
- d) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica una variante alélica natural de un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:8, donde la molécula de ácido nucleico hibrida, bajo condiciones estrictas, con una secuencia de DNA que comprende la secuencia mencionada en a), o una secuencia complementaria a la misma.
- 30 De nuevo, se prefiere especialmente que la molécula de ácido nucleico se corresponda con la de la alternativa a) o c), en la que el porcentaje de homología es del 100%.
- 35 Otra realización adicional, complementaria de las anteriores, es aquella en la que la molécula de ácido nucleico comprende también las secuencias codificantes de los polipéptidos que parecen tener una función reguladora en la secuencia de reacciones catalizada por las enzimas TynAB y TynC, que puede seleccionarse entre TynR, TynD, Así, otra realización adicional se refiere a una molécula de ácido nucleico aislada que comprende, adicionalmente a la secuencia relacionada con TynC y/o las secuencias relacionadas con TynAB, una secuencia que codifica una proteína, seleccionada del grupo que consiste en:
- 40 a) una secuencia de ácido nucleico que es idéntica, al menos en un 90%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:9 (DNA codificante de TynR);
- b) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que hibrida en condiciones estrictas con la secuencia de a);
- 45 c) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica un polipéptido cuya secuencia de aminoácidos es idéntica, al menos en un 90%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:10 (secuencia de aminoácidos de TynR);
- d) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica una variante alélica natural de un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:10, donde la molécula de ácido nucleico hibrida, bajo condiciones estrictas, con una secuencia de DNA que comprende la secuencia mencionada en a), o una secuencia complementaria a la misma.
- 50

De nuevo, se prefiere especialmente que la molécula de ácido nucleico se corresponda con la de la alternativa a) o c), en la que el porcentaje de homología es del 100%.

En otra posible realización, la molécula de ácido nucleico aislada comprende, adicionalmente a la secuencia correspondiente a TynAB, y, optativamente, TynC y TynR, una secuencia que codifica una proteína, seleccionada del grupo que consiste en:

- 5
- a) una secuencia de ácido nucleico que es idéntica, al menos en un 90%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:11 (DNA codificante de TynD);
- b) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que hibrida en condiciones estrictas con la secuencia de a);
- 10 c) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica un polipéptido cuya secuencia de aminoácidos es idéntica, al menos en un 90%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:12 (secuencia de aminoácidos de TynD);
- d) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica una variante alélica natural de un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:12, donde la molécula de ácido nucleico híbrida, bajo condiciones estrictas, con una secuencia de DNA que comprende la secuencia mencionada en a), o una secuencia complementaria a la misma.
- 15

De nuevo, se prefiere especialmente que la molécula de ácido nucleico se corresponda con la de la alternativa a) o c), en la que el porcentaje de homología es del 100%.

Adicionalmente a las combinaciones anteriores, la molécula de ácido nucleico aislada puede comprender también la secuencia codificante a alguno de los restantes polipéptidos identificados en el cluster tyn: TynF, TynE y TynG, o combinaciones de los mismos. Así, otra posible realización es aquella en la que la molécula de ácido nucleico aislada comprende adicionalmente una secuencia que codifica una proteína, seleccionada del grupo que consiste en:

- 20
- a) una secuencia de ácido nucleico que es idéntica, al menos en un 90%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:13 (DNA codificante de TynF) y/o una secuencia de ácido nucleico que es idéntica, al menos en un 90%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:15 (DNA codificante de TynE) y/o una secuencia de ácido nucleico que es idéntica, al menos en un 90%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:17 (DNA codificante de TynG);
- 25 b) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que hibrida en condiciones estrictas con al menos una de las secuencias de a);
- c) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica un polipéptido cuya secuencia de aminoácidos es idéntica, al menos en un 90%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:14 (secuencia de aminoácidos de TynF) y/o una secuencia que codifica un polipéptido cuya secuencia de aminoácidos es idéntica, al menos en un 90%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:16 (secuencia de aminoácidos de TynE) y/o una secuencia que codifica un polipéptido cuya secuencia de aminoácidos es idéntica, al menos en un 90%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:18 (secuencia de aminoácidos de TynG);
- 30
- d) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica una variante alélica natural de un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:14 y/o una variante alélica natural de un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:16 y/o una variante alélica natural de un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:18, donde la molécula de ácido nucleico híbrida, bajo condiciones estrictas, con una secuencia de DNA que comprende al menos una de las secuencias mencionadas en a), o una secuencia complementaria a la misma.
- 35
- 40

De nuevo, se prefiere especialmente que la molécula de ácido nucleico se corresponda con la de la alternativa a) o c), en la que el porcentaje de homología es del 100%.

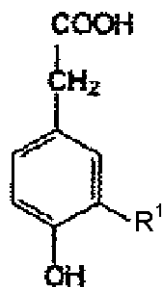
Para que la secuencia de reacciones catalizadas por las enzimas del cluster tyn se lleve a cabo en su totalidad, se prefiere particularmente que la molécula de ácido nucleico aislada comprenda secuencias codificantes de todos los polipéptidos que parecen estar codificados en el cluster: Así, en una realización particularmente preferida de este aspecto de la invención, la molécula de ácido nucleico aislada comprende las secuencias representadas por SEQ ID NO:3 (DNA TynA), SEQ ID NO:5 (DNA TynB), SEQ ID NO:7 (DNA TynC), SEQ ID NO:9 (DNA TynR) , SEQ ID NO:11 (DNA TynD), SEQ ID NO:13 (DNA TynF), SEQ ID NO:15 (DNA TynE) y SEQ ID NO:17 (DNA TynG). Una posibilidad sería que la molécula de ácido nucleico comprendiera la secuencia representada por SEQ ID NO:2, que corresponde al cluster tyn de *Pseudomonas putida* U.

45

50

En una realización preferida, la molécula de ácido nucleico aislada comprende no sólo las secuencias de marcos abiertos de lectura identificadas en el cluster tyn, sino también las de las enzimas capaces de catalizar las reacciones que dan lugar a la transformación del compuesto obtenido por la acción de las enzimas el cluster tyn sobre la tiramina, transformándolo en ácido pirúvico y ácido succínico (o semialdehído succínico): las enzimas del cluster hpa,

preferiblemente con las secuencias codificantes de los polipéptidos adicionales que parecen estar también codificados en ese mismo cluster, y que parecen tener función reguladora. Como en el caso del cluster *tyn*, están comprendidas también dentro del alcance de la invención las moléculas de ácido nucleico a partir de las cuales pueden sintetizarse las proteínas capaces de catalizar y/o regular la secuencia de reacciones que da lugar a la transformación del ácido 4-hidroxifenilacético en ácido pirúvico y ácido succínico, es decir, las moléculas que codifiquen proteínas con un alto grado de homología con las del cluster *hpa* de *Pseudomonas putida* U y que muestren la misma actividad (catalítica o reguladora) que dichas proteínas. Así, en una realización particularmente preferida de la molécula de ácido nucleico de la invención, la misma comprende, adicionalmente a las secuencias que codifican proteínas idénticas o análogas en función y homólogas en secuencia a las del cluster *Tyn*, al menos 13 secuencias, de las que cada una de las cuales codifica una proteína capaz de catalizar o regular una etapa de la transformación de un compuesto de Fórmula III,

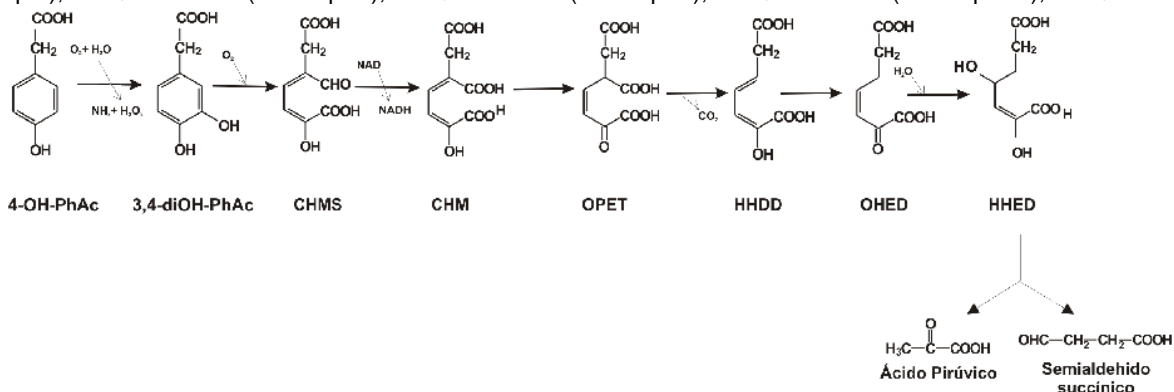


en la que R¹ es H,

en ácido pirúvico y ácido succínico (o semialdehído succínico) o alguna de sus sales, siguiendo la siguiente secuencia de reacciones:

donde cada una de dichas secuencias se selecciona del grupo que consiste en:

a) una secuencia que es idéntica, al menos en un 60%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:19 (DNA *hpaB*), SEQ ID NO:21 (DNA *hpaC*), SEQ ID NO:23 (DNA *hpaD*), SEQ ID NO:25 (DNA *hpaE*), SEQ ID NO:27 (DNA *hpaF*), SEQ ID NO:29 (DNA *hpaG1*), SEQ ID NO:31 (DNA *hpaG2*), SEQ ID NO:33 (DNA *hpaH*), SEQ ID NO:35 (DNA *hpaI*), SEQ ID NO:37 (DNA *hpaA*), SEQ ID NO:39 (DNA *hpaX*), SEQ ID NO:41 (DNA *hpaR1*), SEQ ID NO:43 (DNA



hpaR2);

b) una secuencia que hibrida en condiciones estrictas con al menos una de las secuencias de a);

c) una secuencia que codifica un polipéptido cuya secuencia de aminoácidos es idéntica, al menos en un 60%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:20 (*hpaB*), SEQ ID NO:22 (proteína *hpaC*), SEQ ID NO:24 (proteína *hpaD*), SEQ ID NO:26 (proteína *hpaE*), SEQ ID NO:28 (proteína *hpaF*), SEQ ID NO:30 (proteína *hpaG1*), SEQ ID NO:32 (proteína *hpaG2*), SEQ ID NO:34 (proteína *hpaH*), SEQ ID NO:36 (proteína *hpaI*), SEQ ID NO:38 (proteína *hpaA*), SEQ ID NO:40 (proteína *hpaX*), SEQ ID NO:42 (proteína *hpaR1*), SEQ ID NO:44 (proteína *hpaR2*);

d) una secuencia que codifica una variante alélica natural de un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42 o SEQ ID NO:44, donde la secuencia hibrida, bajo condiciones estrictas, con una secuencia de DNA que comprende al menos una de las secuencias mencionadas en a), o una secuencia complementaria a la misma.

La Fig. 7 permite observar la reacción concreta catalizada por cada una de las enzimas mencionadas. Se observa que la reacción catalizada por la 4-hidroxifenilacético monooxigenasa *hpaBC* sólo es necesaria en el caso de que el

compuesto de partida sea tiramina, pues la acción de las enzimas del cluster tyn sobre la dopamina ya da lugar a ácido 3,4-dihidroxifenilacético, el producto resultante de la actividad de hpaBC.

De nuevo, se prefiere especialmente que la molécula de ácido nucleico se corresponda con la descrita en la alternativa a) o c), en la que el porcentaje de homología es del 100%. Aún se prefiere más el caso en el que la molécula de ácido nucleico comprende la secuencia representada por SEQ ID NO:45 (secuencia que representa al cluster hpa de *Pseudomonas putida* U).

La inclusión en una cualquiera de las moléculas de ácido nucleico aislada de la invención de una secuencia codificante de una tirosina descarboxilasa permitiría que, al expresar las proteínas codificadas en ella, pudiera producirse la descarboxilación de tirosina presente en el medio para dar lugar a la tiramina, que, a continuación, podría ser degradada gracias a las restantes enzimas codificadas también en la molécula de ácido nucleico aislada: el compuesto hasta el que se llegara dependería de la molécula de ácido nucleico aislada concreta elegida entre las posibles realizaciones de la misma anteriormente descrita. Por ello, se prefiere el caso en el que la molécula de ácido nucleico aislada comprenda, además, una secuencia codificante de una tirosina descarboxilasa. Se prefiere particularmente el caso en el que la tirosina descarboxilasa es la tirosina descarboxilasa A de *Lactococcus lactis* (número de acceso en GenBank: CAF33980, comprendida en el locus AJ630043).

Otro aspecto de la invención lo constituyen las nuevas enzimas y polipéptidos reguladores identificados, que sirven para llevar a cabo el procedimiento de la invención: los correspondientes a los cluster tyn y/o hpa de *Pseudomonas putida* U, así como aquellos que guarden un alto grado de homología con sus secuencias proteicas y que realicen la misma función (actividad enzimática o reguladora). Por ello, un aspecto adicional de la invención se refiere a un polipéptido o complejo proteico purificado que se selecciona del grupo de:

a) una tiramina oxidasa cuya secuencia de aminoácidos es idéntica al menos en un 60% a una primera secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:4 (proteína TynA) y a una segunda secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:6 (proteína TynB), las cuales pueden formar parte de una única secuencia polipeptídica o pueden estar formando un complejo proteico, asociadas por enlaces distintos del enlace peptídico, tales como puentes de hidrógeno, puentes disulfuro o fuerzas de van der Waals;

b) una hidroxifenilacetaldehído deshidrogenasa, cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:8 (proteína TynC);

c) una proteína idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por una secuencia que se selecciona del grupo de SEQ ID NO:10 (proteína TynR), SEQ ID NO:12 (proteína TynD), SEQ ID NO:14 (proteína TynF), SEQ ID NO:16 (proteína TynE) y SEQ ID NO:18 (proteína TynG);

d) una hidroxifenilacetaldehído monooxigenasa cuya secuencia de aminoácidos es idéntica al menos en un 60% a una primera secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:20 (proteína hpaB) y a una segunda secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:22 (proteína hpaC), hidroxifenilacetaldehído monooxigenasa en la que la secuencia idéntica al menos en un 60% a SEQ ID NO:20 y la secuencia idéntica al menos en un 60% a SEQ ID NO:22 pueden formar parte de una única secuencia polipeptídica o pueden estar formando un complejo proteico, asociadas por enlaces distintos del enlace peptídico, tales como puentes de hidrógeno, puentes disulfuro o fuerzas de van der Waals;

e) una hidroxifenilacetaldehído dioxigenasa, cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:24 (proteína hpaD),

f) una deshidrogenasa cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:26 (proteína hpaE),

g) una isomerasa cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:28 (proteína hpaF),

h) una descarboxilasa cuya secuencia de aminoácidos es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:30 (proteína hpaG1);

i) una descarboxilasa cuya secuencia de aminoácidos es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:32 (proteína hpaG2),

j) una hidratasa cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:34 (proteína hpaH),

k) una aldolasa cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:36 (proteína hpaI),

l) una proteína idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por una secuencia que se selecciona del grupo de SEQ ID NO:38 (proteína hpaA), SEQ ID NO:40 (proteína hpaX), SEQ ID NO:42 (proteína hpaR1), SEQ ID NO:44 (proteína hpaR2),

o combinaciones de los mismos.

Se prefiere el caso en el que el polipéptido o complejo proteico comprende al menos una secuencia que es idéntica a la mencionada en uno de los apartados a) a l).

5 También están comprendidas dentro del alcance de la invención las composiciones que comprendan al menos uno de los polipéptidos o complejos proteicos mencionados. Se prefieren aquellas composiciones que comprendan al menos la primera enzima del procedimiento, la que actúa sobre tiramina o dopamina: una tiramina oxidasa cuya secuencia de aminoácidos es idéntica al menos en un 60% a una primera secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:4 (proteína TynA) y a una segunda secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:6 (proteína TynB), las cuales pueden formar parte de una única secuencia polipeptídica o pueden estar formando un complejo proteico, asociadas por enlaces distintos del enlace peptídico, tales como puentes de hidrógeno, puentes disulfuro o fuerzas de van der Waals; de entre ellas, se prefieren particularmente aquellas que comprendan adicionalmente una enzima capaz de catalizar la segunda etapa del procedimiento, una hidroxifenilacetaldehído deshidrogenasa, cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:8 (proteína TynC); más preferiblemente, la composición contendrá, además de esas dos enzimas, polipéptidos idénticos o análogos a los restantes polipéptidos codificados en el cluster *tyn* de *Pseudomonas putida* U, es decir, al menos una proteína idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por una secuencia que se selecciona del grupo de SEQ ID NO:10 (proteína TynR), SEQ ID NO:12 (proteína TynD), SEQ ID NO:14 (proteína TynF), SEQ ID NO:16 (proteína TynE) y SEQ ID NO:18 (proteína TynG) y preferiblemente, todas ellas. Las composiciones que más se prefieren son aquellas que comprenden los polipéptidos o complejos proteicos mencionados y, adicionalmente, polipéptidos o complejos proteicos idénticos o análogos en función y homólogos en secuencia (al menos un 60%) a los codificados en el locus *hpa* de *Pseudomonas putida*, es decir:

25 - una hidroxifenilacetaldehído monooxigenasa cuya secuencia de aminoácidos es idéntica al menos en un 60% a una primera secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:20 (proteína *hpaB*) y a una segunda secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:22 (proteína *hpaC*), hidroxifenilacetaldehído monooxigenasa en la que la secuencia idéntica al menos en un 60% a SEQ ID NO:20 y la secuencia idéntica al menos en un 60% a SEQ ID NO:22 pueden formar parte de una única secuencia polipeptídica o pueden estar formando un complejo proteico, asociadas por enlaces distintos del enlace peptídico, tales como puentes de hidrógeno, puentes disulfuro o fuerzas de van der Waals;

- una hidroxifenilacetaldehído dioxigenasa, cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:24 (proteína *hpaD*),

30 - una deshidrogenasa cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:26 (proteína *hpaE*),

- una isomerasa cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:28 (proteína *hpaF*),

35 - una descarboxilasa cuya secuencia de aminoácidos es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:30 (proteína *hpaG1*);

- una descarboxilasa cuya secuencia de aminoácidos es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:32 (proteína *hpaG2*),

- una hidratasa cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:34 (proteína *hpaH*),

40 - una aldolasa cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:36 (proteína *hpaI*),

- una proteína idéntica al menos en un 60% a cada una de las secuencias polipeptídicas representadas por las secuencias SEQ ID NO:38 (proteína *hpaA*), SEQ ID NO:40 (proteína *hpaX*), SEQ ID NO:42 (proteína *hpaR1*), SEQ ID NO:44 (proteína *hpaR2*)

45 Como en los casos anteriores, se prefiere especialmente que los polipéptidos o complejos proteicos comprendidos en la composición comprenda una secuencia cuya homología con la secuencia representada en el grupo de SEQ ID NO:4 a SEQ ID NO:44 sea del 100%.

50 Otro aspecto de la invención es el relativo a un vector de expresión que comprende al menos una de las posibles realizaciones de la molécula de ácido nucleico de la invención descritas anteriormente. En una realización preferida, dicho vector es un plásmido. Se prefiere particularmente el caso en el que dicho plásmido comprende un fragmento de ácido nucleico que comprende las secuencias codificantes comprendidas en el cluster *Tyn* de *Pseudomonas putida* U. Una realización particular se refiere al caso en el que dicho fragmento de ácido nucleico está insertado en el plásmido *pK18::mob*, que es un plásmido con capacidad de permanecer como forma replicativa autónoma en algunas especies bacterianas y con capacidad integrativa en otras.

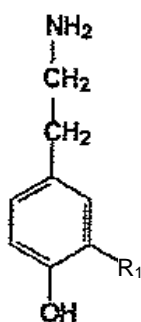
Otra realización preferida corresponde al caso en el que dicho plásmido comprende adicionalmente un fragmento de ácido nucleico que comprende las secuencias codificantes presentes en el cluster hpa de *Pseudomonas putida*. Aún se prefiere más el caso en el que el cluster hpa está insertado en el plásmido es pK18::mob.

5 En otra realización adicional el plásmido comprende además una secuencia codificante de una tirosina descarboxilasa. Se prefiere el caso en el que la tirosina descarboxilasa es la tirosina descarboxilasa A de *Lactococcus lactis*.

10 En un aspecto adicional de la invención, se describe un organismo hospedador transformado con uno cualquiera de los vectores de expresión descritos anteriormente. Un caso preferido es aquel en el que el organismo hospedador es una bacteria, siendo ésta, preferiblemente, una bacteria capaz de transformar un azúcar en ácido láctico (bacteria acidoláctica). Estos microorganismos son importantes porque la formación de ácido láctico en distintas materias primas da lugar en ella a desnaturalización y gelificación de proteínas, iniciando su transformación en derivados alimenticios tales como queso, yogur, embutidos, etc. actúan como iniciadores de la transformación de muchas materias primas y, en algunos casos (yogur), son responsables de su culminación; en otros, como el queso, particularmente las variedades de queso curado, favorecen la acción de otros microorganismos, mohos en muchos casos, que son los responsables, por ejemplo, de la aparición de sustancias sápidas características. Dado que en el proceso de transformación de materias primas como la leche o la carne en queso o embutidos se producen a menudo cantidades de tiramina que podrían hacer aconsejable disminuir el contenido presente de dicha amina, disponer de bacterias lácticas que, además de realizar su función en el proceso de transformación del alimento, dispongan de las enzimas para catalizar la ruta catabólica divulgada en la presente solicitud, que permite la degradación de tiramina y/o dopamina, facilitaría la disminución de los niveles finales de estas aminas biógenas presentes en el alimento final destinado al consumo humano o animal.

Una posible realización de este aspecto de la invención contempla el caso en el que el vector de expresión está insertado en el genoma del hospedador. En otra realización alternativa, dicho vector de expresión permanece como forma replicativa autónoma.

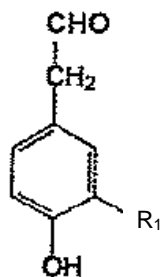
25 Otro aspecto de la invención, de gran importancia, se refiere a procedimientos que emplean las secuencias polipeptídicas descritas anteriormente, para disminuir el contenido de tiramina y/o dopamina en una muestra cualquiera, con preferencia por los alimentos y las bebidas para consumo humano o animal, las materias primas a partir de las cuales se originan o los productos intermedios de transformación de dichas materias primas en los alimentos o bebidas finales. El procedimiento contempla todos los pasos de transformación de tiramina y/o dopamina de la ruta catabólica descubierta por los inventores. Se consideran incluidas dentro del alcance de la invención todas las variantes del mismo que comprendan la primera etapa, la transformación de tiramina y/o dopamina en su correspondiente 4-hidroxifenilacetaldehído. Así, un aspecto de la invención se refiere a un procedimiento para disminuir el contenido en una muestra de un compuesto de la Fórmula I



Fórmula I

35 donde R₁ es H (tiramina) u OH (dopamina)

que comprende una etapa en la que el compuesto de Fórmula I se transforma en un compuesto de Fórmula II,



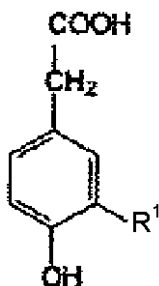
Fórmula II

donde R_1 es H u OH,

5 caracterizado por que la transformación del compuesto de Fórmula I en un compuesto de Fórmula II está catalizada por una tiramina oxidasa codificada por una molécula de ácido nucleico de la reivindicación 1 o 2 o por una tiramina oxidasa cuya secuencia de aminoácidos es idéntica al menos en un 60% a una primera secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:4 y al menos en un 60% a una segunda secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:6, tiramina oxidasa en la que la secuencia idéntica al menos en un 60% a SEQ ID NO:4 y la secuencia idéntica al menos en un 60% a SEQ ID NO:6 pueden formar parte de una única secuencia polipeptídica o pueden estar formando un complejo proteico, asociadas por enlaces distintos del enlace peptídico, tales como puentes de hidrógeno, puentes disulfuro o fuerzas de van der Waals.

Una realización preferida se refiere al caso en el que la tiramina oxidasa está formada por dos subunidades, una de las cuales comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:4 (subunidad TynA de la tiramina oxidasa TynAB de *Pseudomonas putida* U) y la segunda de las cuales comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:6 (subunidad TynB de la tiramina oxidasa TynAB de *Pseudomonas putida* U).

En otra realización, se incluye una etapa en la que el compuesto de Fórmula II se transforma en un compuesto de Fórmula III,



Fórmula III

20 donde R^1 es H u OH,

en el que la transformación del compuesto de Fórmula II en un compuesto de Fórmula III está catalizada por una 4-hidroxifenilacetaldehído deshidrogenasa codificada por una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo de:

- a) una secuencia de ácido nucleico que es idéntica, al menos en un 60%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:7;
- 25 b) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que hibrida en condiciones estrictas con la secuencia de a);
- c) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica un polipéptido cuya secuencia de aminoácidos es idéntica, al menos en un 60%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:8;
- 30 d) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica una variante alélica natural de un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:8, donde la molécula de ácido nucleico hibrida, bajo condiciones estrictas, con una secuencia de DNA que comprende la secuencia mencionada en a), o una secuencia complementaria a la misma.

o cuya secuencia de aminoácidos es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica de SEQ ID NO:8

En el caso de que intervenga una 4-hidroxifenilacetaldehído deshidrogenasa en el procedimiento, se prefiere que comprenda una secuencia polipeptídica idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:8 (proteína TynC de *Pseudomonas putida* U).

5 Se prefiere particularmente que, adicionalmente a las enzimas presentes que catalizan las etapas de transformación, esté presente en la muestra al menos una proteína cuya secuencia de aminoácidos comprenda una secuencia idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por una secuencia que se selecciona del grupo de SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16 y SEQ ID NO:18 o combinaciones de las mismas (los restantes polipéptidos sintetizables a partir de las secuencias que forman parte del cluster tyn, y que parecen tener actividad reguladora). Se prefiere el caso en el que los porcentajes de homología son del 100%. Se prefiere particularmente que esté presente al menos una proteína que comprenda la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:10 (TynR).

15 Se prefiere particularmente que el procedimiento no culmine con la obtención del compuesto de Fórmula III, sino que continúe hasta su degradación en ácido pirúvico y ácido succínico (o semialdehído succínico), especialmente siguiendo la secuencia de reacciones catalizada por las enzimas del cluster hpa de *Pseudomonas putida* U. Cuando el compuesto de partida es tiramina ($R_1 = H$), el procedimiento requiere una etapa de transformación del ácido 4-hidroxifenilacético en 3,4-dihidroxifenilacético, mientras que, cuando el compuesto de partida es dopamina ($R_1 = OH$), el compuesto de Fórmula III obtenido tras las reacciones catalizadas por las enzimas del cluster tyn es ya ácido 3,4-dihidroxifenilacético; a partir de ahí, las reacciones son idénticas tanto si se ha partido de tiramina como si se ha partido de dopamina. Por ello, una realización adicional del procedimiento de la invención se refiere al caso en el que el compuesto de Fórmula III obtenido es aquel en el que R_1 es H, que comprende una etapa posterior en el que dicho compuesto se transforma en el compuesto de Fórmula III, en el que R_1 es OH, mediante una reacción catalizada por una enzima con actividad 4-hidroxifenilacetaldehído monooxigenasa. Dentro de esta realización, se prefiere que la 4-hidroxifenilacetaldehído monooxigenasa capaz de catalizar esa reacción tenga un alto grado de homología con la correspondiente enzima de *Pseudomonas putida* U, HpaBC, enzima compuesta por dos subunidades. Así, en ese caso, se prefiere que la secuencia de aminoácidos de la 4-hidroxifenilacetaldehído monooxigenasa sea idéntica al menos en un 60% a una primera secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:20 (HpaB) y a una segunda secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:22 (HpaC), dichas secuencias pueden formar parte de una única secuencia polipeptídica o pueden estar formando un complejo proteico, asociadas por enlaces distintos del enlace peptídico, tales como puentes de hidrógeno, puentes disulfuro o fuerzas de van der Waals. Con mayor preferencia, la 4-hidroxifenilacetaldehído monooxigenasa está formada por dos subunidades, una de las cuales comprende una secuencia polipeptídica idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20 y la segunda de las cuales comprende una secuencia polipeptídica idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22.

35 Como se ha comentado, se prefieren las realizaciones del procedimiento en las que el compuesto de Fórmula III, en el que R_1 es OH (ácido 3,4-dihidroxifenilacético), se transforma en ácido pirúvico y ácido succínico o semialdehído succínico, o alguna de sus sales, siguiendo una secuencia de reacción análoga a la catalizada por las enzimas del cluster hpa de *Pseudomonas putida* U. En dicha realización, el procedimiento comprende las siguientes etapas:

- a) transformar ácido 3,4-dihidroxifenilacético en semialdehído 5-carboximetil-2-hidroxi-mucónico;
 - b) transformar semialdehído 5-carboximetil-2-hidroxi-mucónico en ácido 5-carboximetil-2-hidroxi-mucónico,
 - c) transformar ácido 5-carboximetil-2-hidroxi-mucónico en ácido 5-oxo-pent-3-ene-1,2,5-tricarboxílico,
 - 40 d) transformar ácido 5-oxo-pent-3-ene-1,2,5-tricarboxílico en ácido 2-hidroxi-hept-2,4-diene-1,7-dioico,
 - e) transformar ácido 2-hidroxi-hept-2,4-diene-1,7-dioico en ácido 2-oxo-hept-3-ene-1,7-dioico,
 - f) transformar ácido 2-oxo-hept-3-ene-1,7-dioico en ácido 2,4-hidroxi-hept-2-ene-1,7-dioico,
 - g) escindir ácido 2,4-hidroxi-hept-2-ene-1,7-dioico en ácido pirúvico y ácido succínico o semialdehído succínico,
- donde cualquiera de los ácidos citados puede estar en forma de cualquiera de sus sales.

45 En una realización preferida, las enzimas utilizadas en las respectivas etapas son enzimas con una actividad análoga a las del cluster hpa y con un alto grado de homología con las mismas (al menos 60%), es decir:

- a) una hidroxifenilacetaldehído dioxigenasa cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:24,
- 50 b) una deshidrogenasa cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:26,
- c) una isomerasa cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:28,

d) una descarboxilasa cuya secuencia de aminoácidos es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:30,

e) una descarboxilasa cuya secuencia de aminoácidos es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:32,

5 f) una hidratasa cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:34,

g) una aldolasa cuya secuencia es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:36.

Más preferido aún es el caso en el que los citados porcentajes de homología son del 100%.

10 Con mayor preferencia, en las realizaciones del procedimiento que comprenden estas etapas, llevadas a cabo mediante las enzimas descritas, está presente en la muestra, adicionalmente a las enzimas que catalizan la secuencia de reacciones, al menos una proteína análoga en función y con alta homología con al menos uno de los restantes polipéptidos codificados en el cluster hpa, es decir, una proteína cuya secuencia de aminoácidos comprende una secuencia idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por una secuencia que se selecciona del grupo de SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, o combinaciones de las mismas. Más preferido aún es el caso en el que los citados porcentajes de homología son del 100%.

20 Como se comentó previamente, en una posible realización adicional del procedimiento de la invención el compuesto de Fórmula I es aquel en el que R₁ es H (tiramina) y el procedimiento comprende una etapa previa en la que el compuesto de Fórmula I es el resultado de una reacción de descarboxilación de tirosina. Se prefiere el caso en el que la descarboxilación de tirosina está catalizada por la tirosina descarboxilasa A de *Lactococcus lactis*.

En una realización del procedimiento de la invención, las enzimas que catalizan el procedimiento se añaden a la muestra formando parte de una composición de la invención.

En otra realización, las enzimas que catalizan las etapas de dicho procedimiento se sintetizan en la muestra a partir de uno de los vectores de expresión de la invención descrito anteriormente.

25 Se prefiere la realización en la que las enzimas que catalizan las reacciones del procedimiento de la invención son sintetizadas por un microorganismo presente en la muestra o que se añade a la misma. En ese caso, una posibilidad es que las secuencias codificantes de las enzimas sintetizadas por el microorganismo estén presentes en su genoma de forma natural: es lo que sucede con *Pseudomonas putida* U (CECT 4848), cuya presencia en la muestra en la que se quiere reducir el contenido en tiramina y/o dopamina es una de las posibles alternativas para realizar el procedimiento de la invención.

30 Otra posible realización, por la cual se tiene también particular preferencia, corresponde al caso en el que el microorganismo es uno de los organismos hospedadores recombinantes de la invención: ello da muchas posibilidades para elegir los genes exógenos introducidos en el mismo y, con ello, las etapas del procedimiento de la invención. Por otro lado, la elección del microorganismo otorga también mucha versatilidad para elegir las características adicionales de las que se quiera dotar a la muestra, además de la disminución de tiramina y/o dopamina; esta característica es de especial interés para su aplicación en la industria alimentaria.

35 De acuerdo con ello, son realizaciones del procedimiento de la invención de particular interés, aquellas en las que el procedimiento de la invención se realiza en el marco de la industria alimentaria, siendo la muestra en la que se quiere disminuir el contenido del compuesto de la Fórmula I (tiramina o dopamina) un alimento o bebida destinados al consumo por seres humanos o animales, una materia prima de partida para la obtención de dicho alimento o bebida o un producto intermedio en la obtención del alimento o bebida.

40 Un caso preferido es aquel en el que el alimento, materia prima o producto intermedio se selecciona entre un derivado lácteo, leche o mezcla de leches procedente de cualquier mamífero, o un producto intermedio de la transformación de la leche o mezcla de leches y el compuesto de la Fórmula I que se desea transformar es aquel en el que R₁ es H (tiramina), pues los derivados lácteos, y los quesos en particular, son productos en los que pueden aparecer concentraciones de tiramina que aconsejen su disminución para hacerlos más apropiados para el consumo humano, evitando posibles efectos secundarios. Por ello, en una realización preferida de la anterior, el alimento, materia prima o producto intermedio se selecciona entre queso, leche procedente de vaca, oveja o cabra (las especies de las habitualmente procede la leche que se utiliza como materia prima en la elaboración del queso), una mezcla de leche procedente de al menos dos de las especies anteriores; o un producto intermedio de la transformación de la leche o mezcla de leches en queso. Es preferible el caso en el que las enzimas que catalizan las etapas del procedimiento son sintetizadas por un microorganismo presente en la muestra o que se añade a la misma. Un caso específico es aquel en el que el microorganismo es un organismo hospedador recombinante descrito anteriormente, preferiblemente una bacteria capaz de transformar un azúcar en ácido láctico, aún más preferiblemente perteneciente al género seleccionado entre *Lactobacillus*; *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*. Esto aporta la ventaja, por

una parte que la transformación se lleve a cabo con un microorganismo de una especie de las que intervienen de forma natural en el proceso de transformación del alimento; por otra, si el microorganismo se añade desde el principio, como cultivo iniciador, estará presente desde el inicio del proceso para controlar la tiramina que se vaya produciendo. Así, otra realización adicional se refiere al procedimiento descrito, en el que el microorganismo actúa como iniciador (starter) de la transformación de la leche en derivado lácteo.

Otra realización alternativa del procedimiento de la invención es aquella en la que se realiza en una bebida alcohólica, en la que la bebida, materia prima o producto intermedio se selecciona entre mosto, cebada, malta, vino, cerveza, un producto intermedio de la transformación de la cebada en cerveza, un producto intermedio de la transformación de mosto en vino, cualquier otra bebida alcohólica que requiera fermentación alcohólica por levaduras o cualquier producto intermedio de transformación de la misma. De nuevo, se prefiere el caso en el que en el que las enzimas que catalizan las etapas del procedimiento son sintetizadas por un microorganismo presente en la muestra o que se añade a la misma, que es un organismo hospedador recombinante de la invención. En una realización particularmente preferida, la bebida es vino y el microorganismo se añade al vino durante la fermentación maloláctica.

Otra realización alternativa describe un procedimiento, en el que el alimento, materia prima o producto intermedio se selecciona entre un embutido; un producto intermedio de la transformación de la carne en el embutido o carne de vacuno; porcino o cérvido o mezclas de las mismas destinadas a la preparación de un embutido.

Otra realización alternativa es aquella relativa a un procedimiento, en el que el alimento, materia prima o producto intermedio se selecciona entre el chucrut; la materia prima del mismo o un producto intermedio de la obtención del chucrut.

Aún más preferida es una realización en que en los dos últimos procedimientos citados, las enzimas que catalizan las etapas del procedimiento son sintetizadas por un microorganismo presente en la muestra o que se añade a la misma que es un organismo hospedador recombinante descrito anteriormente. Se prefiere el caso en el que el microorganismo actúa como iniciador (starter) de la transformación de la materia prima en el embutido o chucrut.

Por su importancia en la aplicación en la industria alimentaria, un aspecto adicional de la invención se refiere al uso de microorganismos que sinteticen las enzimas adecuadas para llevar a cabo el procedimiento de la invención para disminuir el contenido de tiramina y/o dopamina en un alimento o bebida destinada al consumo humano o animal. Una primera posibilidad es que el organismo sintetice esas enzimas de forma natural; por ello, una posible realización es el uso de *Pseudomonas putida* U para disminuir el contenido de tiramina o dopamina en un alimento o bebida destinada al consumo humano o animal, en la materia prima utilizada para su obtención o en un producto intermedio de la transformación de la materia prima en el alimento o bebida.

La segunda posibilidad es que el microorganismo sea un microorganismo recombinante, en el que se hayan introducido los genes adecuados para que sintetice las enzimas y polipéptidos reguladores deseados. Así, un último aspecto se refiere al uso de un organismo hospedador recombinante de la invención, para disminuir el contenido de tiramina o dopamina en un alimento o bebida destinada consumo humano o animal, en la materia prima utilizada para su obtención o en un producto intermedio de la transformación de la materia prima en el alimento o bebida.

El control de los microorganismos *starters* que inician los procesos de transformación de determinadas materias primas en alimentos o bebidas (derivados lácteos, embutidos, bebidas alcohólicas, otros alimentos en los que se dan procesos de fermentación tales como el chucrut, los pepinillos o las aceitunas) ha cobrado gran interés en los últimos años en la industria alimentaria, pues permite controlar las condiciones del proceso, dotar a los productos finales de características deseadas y, en particular, facilita la obtención de productos finales cuyas características sean más homogéneas e identificables por el consumidor como las características esperables en una determinada marca, hecho más difícil de conseguir cuando se parte de los organismos iniciadores que contiene la materia prima de forma natural. La utilización de iniciadores (*starters*) capaces de llevar a cabo el procedimiento de transformación de tiramina y/o dopamina de la invención es una ventaja más dentro del control del proceso, permitiendo el control de la concentración de estas aminas biogénicas desde el principio del proceso, según se van produciendo e, incluso, según los casos, que sean los mismos microorganismo susceptibles de producirlas los que permitan su eliminación. Es por todo ello que una realización preferida del uso de la invención es aquella en la que el organismo hospedador actúa como iniciador (starter) del proceso de transformación de la materia prima en el alimento o bebida destinada al consumo humano o animal. Se prefiere particularmente que el alimento sea un derivado lácteo (más preferiblemente queso), un embutido, o un alimento durante cuya obtención se produce fermentación tal como chucrut, pepinillos o aceitunas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCÓN

Se ha caracterizado en la bacteria *P. putida* U (CECT 4848) una nueva ruta catabólica responsable de la degradación de las aminas biogénicas tiramina y dopamina. Los diferentes genes que codifican las enzimas que componen tal ruta, se han identificado mediante el aislamiento de diferentes mutantes de *Pseudomonas putida* U incapaces de crecer en medios que contenían como únicas fuentes de carbono tiramina o dopamina. El agente mutagénico utilizado fue el transposon Tn5, que actúa integrándose al azar en el cromosoma de la bacteria (98,105). Mediante este procedimiento se aislaron once mutantes diferentes que fueron agrupados en tres tipos en función de su capacidad para degradar diferentes fuentes de carbono. Los mutantes de tipo 1 incluían aquellos que eran incapaces de crecer en medios

químicamente definidos cuando contenían tiramina o dopamina como únicas fuentes de carbono. Sin embargo, estos mutantes degradaban eficazmente los ácidos 4-hidroxifenilacético y 3,4-dihidroxifenilacético, así como otras muchas fuentes de carbono. El segundo tipo (tipo 2) incluía un grupo de mutantes que no crecía en aquellos medios que contenían como únicas fuentes de carbono tiramina o 4-hidroxifenilacético, pero que sí lo hacían en aquellos otros a los que se había añadido dopamina u otras fuentes de carbono susceptibles de ser utilizadas por la cepa parental (*P. putida* U CECT 4848). El tercer grupo de mutantes, aquellos incluidos en el tipo 3, se caracterizaban porque no podían crecer en aquellos medios de cultivo en los que se utilizaban como únicas fuentes de carbono tiramina, dopamina, 4-hidroxifenilacético o 3,4-dihidroxifenilacético. Sin embargo, estos mutantes crecían eficazmente en esos mismos medios cuando estos compuestos se sustituían por otras fuentes de carbono que podían ser asimilados por la cepa silvestre.

Todos estos resultados nos indicaban que en los mutantes de tipo 1, el transposón se había integrado en una secuencia de DNA perteneciente a alguno de los genes necesarios para la transformación de tiramina y de dopamina en los ácidos 4-hidroxifenilacético y 3,4-dihidroxifenilacético respectivamente (Fig. 7), o bien el transposón se había integrado en alguna zona que afectaba la expresión de alguno de esos genes. Además, el hecho de que estos mutantes crecieran bien en medios suplementados con 4-hidroxifenilacético y 3,4-dihidroxifenilacético, sugería que en ellos el transposón estaba afectando genes que tenían que ver con la desaminación de esas dos aminas pero no con etapas catabólicas posteriores.

En los mutantes de tipo 2, el transposón debe haberse integrado en una secuencia de DNA correspondiente a alguno de los genes que codifique enzimas requeridas para el catabolismo de tiramina y del ácido 4-hidroxifenilacético, pero no para la degradación de dopamina. Teniendo en cuenta que sólo existe una etapa catalítica cuya alteración justifique ese comportamiento metabólico, esos mutantes deberían estar afectados en el gen que codifica la 4-hidroxifenilacético hidroxilasa (HpaBC en Fig. 7).

Los mutantes de tipo 3 no pueden catabolizar tiramina, dopamina, 4-hidroxifenilacético ni 3,4-dihidroxifenilacético, lo que indica que en ellos el transposón está afectando la expresión de alguno de los genes que codifican las enzimas responsables de la transformación de 3,4-dihidroxifenilacético en los productos finales (ácido pirúvico y ácido succínico) (Fig. 7).

La identificación del punto de inserción del transposón en cada uno de los mutantes y la secuenciación de las zonas adyacentes, nos ha permitido la identificación de todos los genes necesarios para la degradación de tiramina, dopamina, 4-hidroxifenilacético y 3,4-dihidroxifenilacético en *P. putida* U. Todos ellos se localizan en un fragmento de DNA de 25132 pares de bases que incluye dos agrupaciones génicas (clusters) consecutivas (Fig. 8). El cluster *tyn* (12339 pares de bases) agrupa los genes requeridos en *P. putida* U para la transformación de tiramina y dopamina de los ácidos 4-hidroxifenilacético y 3,4-dihidroxifenilacético respectivamente, siendo ésta la primera descripción de este conjunto de genes (*tynABFECGRD*) y, además, la primera evidencia de la que se pone de manifiesto que esta nueva ruta está implicada en la desaminación de esos dos compuestos. Al lado del cluster *tyn* se halla el cluster *hpa* (12722 pares de bases), que contiene todos los genes (*hpaR₁TetRBCIHXFDEG₂G₁AR₂*) necesarios para el catabolismo del ácido 4-hidroxifenilacético (incluyendo su derivado 3,4-dihidroxifenilacético) en esta bacteria (Fig. 8). Las secuencias de todos esos genes (*tyn* y *hpa*) se incluyen en la Fig. 9.

En resumen, hemos demostrado que en *P. putida* U la transformación de tiramina y dopamina en ácido pirúvico y en ácido succínico requiere los genes correspondientes a los clusters *tyn* y *hpa*, y que la degradación de tiramina en esta bacteria implica la participación de un mayor número de genes de los descritos para otros microorganismos (68,77, 86-88, 91, 94). Otra diferencia importante es que en *P. putida* U la desaminación de tiramina y de 2-feniletilamina se lleva a cabo mediante la acción de diferentes complejos enzimáticos (82). En cambio los genes responsables de la degradación del 4-OH-PhAc en *P. putida* U, tienen una organización muy similar a la descrita para la misma ruta de *E. coli*.

La identificación de los genes *tyn* puede tener importantes implicaciones biotecnológicas ya que como hemos indicado en el apartado "Estado de la Técnica", el consumo de alimentos con un elevado contenido en tiramina puede provocar un gran número de efectos farmacológicos. Por lo tanto, la obtención de una construcción genética que permitiese a los organismos portadores degradar este compuesto, podría ser utilizada para transformar aquellos microorganismos que participan en la fermentación. Evitando, de este modo, que se produzca la acumulación de tiramina en esos alimentos.

Esas cepas recombinantes con capacidad para degradar la tiramina se podrían utilizar incluso en la elaboración de cultivos iniciadores (starters), dotando a los mismos de una mayor eficiencia, ya que los starters, aunque suelen estar constituidos por cepas no productoras de aminas biogénicas, no pueden evitar la acumulación de las aminas producidas por la flora microbiana presente en las materias primas originales. En cambio, si estos starters contaran con la presencia de bacterias capaces de degradar la tiramina y la dopamina evitarían la acumulación de estos compuestos en los alimentos con independencia de las materias primas utilizadas en la elaboración de los mismos.

Además, analizada desde un punto de vista estrictamente económico, la posibilidad de dotar a cepas bacterianas con interés para la industria alimentaria con la capacidad requerida para degradar la tiramina, puede ser esencial para la elaboración de nuevos productos y la apertura de nuevos mercados ya que muchos países (Canadá, Suiza o Holanda entre otros) están estableciendo límites para la concentración de aminas biogénicas en los alimentos importados, especialmente en el vino. La presencia de aminas en el vino entraña más riesgo que en otros alimentos, ya que al

contener alcohol, se van a ver afectados los mecanismos de detoxificación del organismo, incrementándose las posibilidades de intoxicación por ingesta de aminas.

5 Mediante transferencia de las agrupaciones génicas *tyn* y *hpa* como cassettes genéticos aislados o en tandem (clusters *tyn* y *hpa*) o genes idénticos, cuyas secuencias sean similares y que cumplan la misma función que los genes *tyn* y *hpa* de *P. putida* U 4848 podríamos conferir a cualquier bacteria, tanto G+ como G-, de la capacidad requerida para degradar tiramina y dopamina, evitando de este modo, la acumulación de este compuesto en aquellos alimentos en cuyo proceso de elaboración interviniese dicha bacteria. La transferencia de los clusters *tyn* y *hpa* o genes idénticos, cuyas secuencias sean similares y que cumplan la misma función que los genes *tyn* y *hpa* de *P. putida* U 4848 a cepas de *Lactococcus lactis* prevendrían la acumulación de la tiramina (generada mediante descarboxilación de la tirosina por la tirosina descarboxilasa presente en este organismo) en aquellos quesos y derivados en cuyo proceso de elaboración intervenga esta bacteria.

15 Adicionalmente, el hecho de que las enzimas codificadas en los clusters *tyn* y *hpa* sean también capaces de degradar la dopamina, permitirá disponer de organismos manipulados genéticamente que puedan asimilar este importante neurotransmisor, lo que podría tener importantes aplicaciones en alimentación y en terapia génica ya que alguno de los genes *tyn* podrían ser utilizados para el tratamiento de determinadas enfermedades degenerativas o de aquellas relacionadas con trastornos mentales causadas por concentraciones elevadas de estas aminas .

20 Por último, mediante Ingeniería Metabólica, hemos logrado establecer una nueva ruta útil para la degradación del aminoácido L-tirosina mediante la participación conjunta de las enzimas codificadas por los clusters *tyn* y *hpa* de *P. putida* U y el gen *tdcA* que codifica la tirosindescarboxilasa de *Lactococcus lactis* (ver Ejemplo 5). Una aplicación interesante de la confluencia en un mismo microorganismo de los genes *tyn* y *hpa* y *tdcA*, que permiten catabolizar tirosina a través del intermediario tiramina, podría ser la de elaboración de alimentos con bajo contenido en este aminoácido. Para la obtención de éstos podrían utilizarse cultivos iniciadores (starters) conteniendo microorganismos diseñados explícitamente para que expresen las actividades enzimáticas *Tyn*, *Hpa* y *TdcA*. De esta forma tendríamos de alimentos que podrían ser aptos para el consumo de aquellos enfermos aquejados de alcaptonuria (enfermedad metabólica caracterizada por la ausencia de la enzima homogentisato dioxigenasa que provoca el bloqueo de la ruta degradativa de fenilalanina y tirosina y que lleva implícita la acumulación de ácido homogentísico en los tejidos provocando degeneración del tejido afectado) y de otras enfermedades relacionadas con la existencia de un excesivo acumulo de catabolitos de de tirosina en diferentes tejidos (99-100).

30 **EJEMPLO 1. Identificación de los genes responsables de la degradación de tiramina y de dopamina en *P. putida* U**

Pseudomonas putida U (CECT 4848) es una bacteria que puede crecer utilizando tiramina (5 mM) o dopamina (5mM) como únicas fuentes de carbono, cuando se cultiva en un medio de composición química definida que contiene (en g/L) KH_2PO_4 (13,6); $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,25); $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,0005). Si el medio de cultivo era sólido, se añadía, además, agar al 2,5% (p/v). La incubaciones se realizaban en un agitador orbital, a 30°C y a 250 rpm, utilizando matraces Erlenmeyer de 500 mL que contenían 100 mL de medio (Fig. 10). Cuando se mutó *P. putida* U con el transposón Tn5, siguiendo la metodología decrita por nosotros en otras publicaciones (82, 95, 98-100, 1005), aislamos varios mutantes incapaces de degradar tiramina y dopamina (Fig 10) pero que, sin embargo, crecían bien cuando al medio se añadían otras fuentes de carbono (ácidos 4-hidroxifenilacético, 3,4-dihidroxifenilacético, fenilacético, benzoico, octanoico, glutámico, succínico, 2-feniletilamina). La localización mediante secuencia (98) del transposón en el cromosoma de los diferentes mutantes, nos permitió comprobar que este elemento genético móvil se había insertado en dos marcos abiertos de lectura u open reading frames (ORFs) (genes *tynA* y *tynB*) que codifican dos proteínas (*TynA* y *TynB*) (Fig 7 y Fig 8) que, a tenor de estos resultados, eran imprescindibles para el catabolismo de tiramina y dopamina en *P. putida* U.

45 La secuenciación adicional de las zonas adyacentes a esos genes nos permitió identificar los ORFs indicados en la figura 8 como *tyn* y cuya secuencias se incluyen en la Fig. 9. Todos esos genes (*tynABFECGRD*) se encuentran proximos a otro cluster ya conocido (*hpa*), responsable de la transformación del ácido 4-hidroxifenilacético (y de sus derivados) en metabolitos generales (ácidos pirúvico y succínico) (Fig 8 y Fig. 9).

EJEMPLO 2. Identificación de la unidad genética mínima funcional requerida para la desaminación oxidativa de tiramina y de dopamina en *P. putida* U

50 El análisis funcional de los genes que componen el cluster *tyn* se realizó mediante la interrupción de cada uno de ellos siguiendo un procedimiento que supone un evento de recombinación sencillo, y que se basa en la utilización de un fragmento interno de cada gen tal y como se ha descrito en diferentes publicaciones (82, 98-100). Cuando la interrupción de alguno de esos genes implicaba falta de función (ausencia de crecimiento en medios suplementados con tiramina o con dopamina), una copia silvestre del gen que había sido afectado en cada mutante se clonaba en un plásmido replicativo en *Pseudomonas* (pBBR1MCS-3, abreviadamente pMC) (102) y se expresaba, en trans, en ese mutante, estableciendo si se revertía, o no, el efecto observado tras la mutación de ese gen concreto. Siguiendo este método, comprobamos que en *P. putida* U los genes *tynA*, *tynB*, *tynC* y *tynR* eran imprescindibles para que se produjera la desaminación de la tiramina y la dopamina y para la ulterior oxidación de los aldehidos generados a los ácidos 4-hidroxifenilacético y 3,4-dihidroxifenilacético, respectivamente (Fig. 7).

En otros casos, la interrupción de ciertos genes (tyn F, tynE, tynG y tynD) no afectaba la capacidad de los diferentes mutantes para degradar tiramina y dopamina, por lo que concluimos que, al menos en *P. putida* U, éstos no son indispensables para asimilar esas aminas (probablemente porque existan en su genoma otros genes que codifiquen enzimas homólogas).

- 5 Estos resultados indican que la construcción genética que posee la información mínima necesaria para catalizar la desaminación oxidativa de la tiramina y de la dopamina en *P. putida* U, es tynABCR.

EJEMPLO 3. Obtención de una construcción genética que permita degradar tiramina y dopamina en otras bacterias

10 Con objeto de disponer de una construcción genética que pudiera ser transferida a diferentes microorganismos de tal modo que les confiriese la capacidad de degradar parcial o totalmente la tiramina y la dopamina, se clonaron los genes que integran todo el cluster tyn en los plásmidos pK18::mob (replicativo en *E. coli* e integrativo en *Pseudomonas*). (82, 98-100,103) (Fig 11). Este plásmido carece de origen de replicación en *Pseudomonas*. El proceso de obtención del cluster tyn se llevó a cabo por recombinación de un fragmento de ADN (clonado en pK18::mob) homólogo a la región de uno de los extremos del cluster, por posterior digestión a totalidad del ADN con XbaI y por religamiento final del ADN digerido. La selección de clones que contenían clonado el cluster tyn se realizó mediante selección del plásmido (resistencia a km). Con ellos se transformaron *E. coli* W14 (un mutante incapaz de degradar feniletilamina y tiramina por carecer de los genes maoA y maoB) (62, 94) y *P. putida* KT2440 una cepa silvestre muy parecida metabólicamente y genéticamente a *P. putida* U, pero que carece de los genes tyn y hpa. Los resultados expuestos en las Fig 12 revelan que la cepa de *E. coli* recombinante (*E. coli* W14 pKtyn), a diferencia de la cepa parental (*E. coli* W14 o de esta cepa transformada con el plásmido sin inserto -*E. coli* W14 pK18::mob-) crecía en medios mínimos suplementados con tiramina o con dopamina. Sin embargo, *P. putida* KT2440 pKtyn no podía hacerlo a no ser que se suplementase otra fuente de carbono a los cultivos (Fig 13). En tal caso, al acabar de crecer, el análisis de los caldos de cultivo mediante HPLC (ver condiciones al final del ejemplo) revelaba que *P. putida* KT2440 pKtyn había transformado tanto la tiramina como la dopamina en 4-hidroxifenilacético y en 3,4-dihidroxifenilacético respectivamente y que esta conversión no la llevaba a cabo la cepa silvestre (*P. putida* KT2440) ni esa misma cepa transformada con el plásmido sin inserto (*P. putida* KT2440 pK18::mob). Estos resultados indican que en presencia de otra fuente de carbono, la cepa recombinante *P. putida* KT2440 pKtyn expresa los genes tyn, pero, al no poseer los genes hpa, no puede seguir degradando los productos generados (4-hidroxifenilacético, 3,4-dihidroxifenilacético) por lo que los excreta acumulándolos en el caldo. En ausencia de una fuente de carbono adicional, *P. putida* KT2440 pKtyn no puede crecer porque no puede obtener energía ni desde tiramina ni desde dopamina (Fig 13). Sin embargo, *E. coli* W14 pKtyn, degrada ambos compuestos ya que *E. coli* W14 posee un cluster hpa que le permite continuar degradando el 4-hidroxifenilacético y el 3,4-dihidroxifenilacético generados a través de la ruta Tyn (Fig.12).

Adicionalmente, comprobamos que la expresión en *E. coli* W14 de una construcción que contenía todos los genes tyn excepto el tynD era incapaz de crecer utilizando tiramina o dopamina como únicas fuentes de carbono a 37°C, mientras que si lo hacía a 30°. Estos resultados sugieren que el gen tynD que codifica una presunta tiramina desaminasa, podría constituir una subunidad catalítica que facilitase o acelerase la velocidad de desaminación a temperaturas restrictivas para *P. putida* U.

Análisis de los caldos de cultivo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

40 El consumo de de tiramina, dopamina, 4-hidroxifenilacético, 3,4-dihidroxifenilacético y de otros compuestos, así como la acumulación de los intermediarios catabólicos acumulados por los diferentes mutantes cuando se cultivaban en medio líquido, se realizó mediante análisis de HPLC. Para ello, se tomaron muestras de los caldos de cultivo (1 ml) a diferentes tiempos. Éstas se centrifugaron (31.000 x g, 20 minutos) para eliminar los restos celulares y se filtraron a través de filtros Millipore (tamaño de poro de 0,2 µm). Diferentes alícuotas de 20 µl fueron analizadas mediante HPLC (Beckman System Gold Mod 126. Progamable Solvent Module) equipado con un detector de longitud de onda variable UV/visible (Beckman System Gold Diode Array Detector Module Mod 168), un integrador con el sistema de análisis informático Waters Millennium 32 y una columna de fase reversa (Nucleosil C-18, 250 x 4,6 mm de diámetro interno) microparticulada (tamaño de partícula 10 µm, tamaño de poro 1 µm) (Phenomenex Laboratorios U.S.A.) con una precolumna Analytical Guard Cartridge System, (KJ0-4282).

50 La fase móvil empleada contenía KH₂PO₄ (50 mM, pH 4) y acetonitrilo (CH₃CN), en una proporción 99:1 (vol/vol). El flujo se mantuvo a 2,5 ml/min y el eluyente se monitorizó a 210 nm. En estas condiciones, los tiempos de retención para dopamina, tiramina, 2-feniletilaminamPhEtNH₂, ácido 3,4-dihidroxifenilacético, 4-hidroxifenilacético, y ácido fenilacético fueron de 3; 4,5; 9,6; 13; 24 y 54 minutos, respectivamente.

EJEMPLO 4. Obtención y utilización de una construcción genética que contiene todos los genes tyn y hpa y que confiere al organismo receptor la capacidad para asimilar tiramina y dopamina

55 Dado que la utilización de los genes tyn sólo permitía crecer a expensas de tiramina o de dopamina a aquellos microorganismos que poseyesen una ruta hpa funcional, procedimos a diseñar una construcción genética que nos permitiese transferir ambos clusters (tyn y hpa) a otros organismos, confiriéndoles la capacidad para degradar estas dos aminas biogénicas hasta piruvato y succinato.

Para conseguirlo seguimos el procedimiento esquematizado en la Fig. 14 y que implicaba: (i) la clonación de los genes adyacentes a los clusters *tyn* y *hpa* en sendos plásmidos (pK18::mob y pJQ200KS) (104); (ii) dos eventos de recombinación, sencillos e independientes, mediante los que se lograba insertar ambos plásmidos en el cromosoma bacteriano (uno a cada lado, ver Fig. 14); (iii) la digestión a totalidad del cromosoma bacteriano con las endonucleasas de restricción XbaI o HindIII, y (iv) la liberación de un fragmento de DNA que llevaba el plásmido pK18::mob y un inserto de algo más de 25 kilobases que contenía los clusters *tyn* y *hpa* (Fig. 14). La transformación de *P. putida* KT2440 con este plásmido integrativo mediante mating triparental (98, 105) confería a la bacteria recombinante la capacidad para crecer en medios que contenían tiramina o dopamina como únicas fuentes de carbono (Fig 13).

EJEMPLO 5. Diseño de un protocolo de deriva metabólica que confiere a diferentes microorganismos la capacidad de degradar el aminoácido L-tirosina por la vía de la tiramina

El catabolismo del aminoácido L-tirosina (un aminoácido proteinogénico precursor de muchas aminas con extraordinaria importancia biológica) ha sido estudiada en numerosos seres vivos. En ciertas bacterias (como por ejemplo *Pseudomonas*) y en todas las células eucariotas, la degradación transcurre a través de una ruta bien conocida que implica su desaminación (transaminación) a p-hidroxifenipirúvico; la descarboxilación y reordenación intramolecular de este compuesto para dar homogentísico (2,5-dihidroxifenilacético); la apertura del anillo bencénico originando maleilacetoacético; su isomerización a fumarilacetoacético y, finalmente, la hidrólisis de este compuesto para dar fumárico y acetoacético (99). Sin embargo, muchas bacterias, como es el caso de la paradigmática *E. coli*, no poseen una ruta catabólica para transformar ese aminoácido en intermediarios generales y por consiguiente no puede crecer en aquellos medios en que sólo exista como fuente de carbono tirosina. Otras bacterias degradan sólo parcialmente la tirosina mediante reacciones que implican su desaminación o su descarboxilación (ver estado de la técnica).

Nosotros hemos desarrollado un procedimiento que permite combinar los genes *tyn* y *hpa* de *P. putida* U y el *tdcA*, que codifica la tirosind Descarboxilasa de *Lactococcus lactis*, de modo que la expresión de unos o de otros en diferentes microorganismos (en función de su capacidad catabólica) confiera al microorganismo receptor la capacidad de degradar el aminoácido L-tirosina, vía tiramina, hasta piruvato y succinato.

P. putida U es capaz de degradar L-tirosina por la vía del homogentísico (99), sin embargo un mutante en el que se ha delecionado el cluster *hmg* (99) no puede catabolizar completamente la tirosina, puesto que es incapaz de degradar el ácido homogentísico, compuesto que se acumula en el caldo y que en contacto con el oxígeno del aire se oscurece (como sucede a los pacientes alcaptonúricos). Sin embargo, este mutante *P. hmg* posee las rutas *Tyn* y *Hpa* funcionales. Por consiguiente, si esa bacteria fuese capaz de descarboxilar la tirosina a tiramina, podría crecer a expensas de esta fuente de carbono. Para comprobarlo, clonamos el gen *tdcA* de *Lactococcus lactis* en el plásmido pBBR1MCS-3 (pMC) y esa construcción fue utilizada para transformar *P. putida* U Δ *hmg*. La cepa recombinante obtenida *P. putida* U Δ *hmg* pMC*tdcA* era capaz de degradar eficientemente L-tirosina cuando se cultivaba en diferentes medios conteniendo este aminoácido como única fuente de carbono (Fig.15). Además, se observaba que la derivación metabólica hacia tiramina era muy alta ya que apenas se acumulaba homogentísico en el medio de cultivo. Cuando esta misma construcción (pMC*tdcA*) se utilizó para transformar un mutante de *P. putida* U en el que además del cluster *hmg*, se había delecionado el gen *hpd* que codifica la enzima 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (responsable de la síntesis de homogentísico desde 4-hidroxifenilpirúvico), la cepa recombinante obtenida (*P. putida* Δ *hmg* Δ *hpd* pMC*tdcA*) degradaba la tirosina incluso más eficazmente que aquella otra que carecía sólo del cluster *hmg* (Fig. 15). Este efecto puede explicarse asumiendo que, al estar bloqueada la ruta degradativa en una etapa anterior a la formación del ácido homogentísico, la pérdida de intermediarios catabólicos excretables es menor y, por consiguiente, un mayor porcentaje de L-tirosina será descarboxilado y degradado a través de las vías *Tyn* y *Hpa*.

Como ya hemos indicado anteriormente, *E. coli* W14 posee el cluster *hpa* por lo que esta bacteria puede degradar 4-hidroxifenilacético y 3,4-dihidroxifenilacético, pero no puede asimilar L-tirosina ni tiramina (todas las cepas de *E. coli* carecen de la ruta del homogentísico y esta cepa en particular ha perdido, tras sufrir un evento de deleción, los genes *maoA* y *maoB*). Por lo tanto, para que *E. coli* W14 pueda crecer en L-tirosina utilizando tiramina como intermediario, precisa de una actividad tirosinad Descarboxilasa que genere tiramina, y de las enzimas codificadas por los genes *tyn* para transformar esa amina en 4-hidroxifenilacético.

La transformación de *E. coli* W14 con las construcciones pK*tyn* y pMC*tdcA* nos permitió obtener una cepa recombinante (*E. coli* W14 pK*tyn* pMC*tdcA*pMC*tdcA*) que crecía en medios de composición definida que contenían L-tirosina o L-fenilalanina como únicas fuentes de carbono (Fig.16).

Breve descripción de las Figuras

La Figura 1 muestra la ruta biosintética de los neurotransmisores dopaminérgicos. En dicha ruta, el aminoácido tirosina es hidroxilado por la tirosina hidroxilasa en dihidroxifenilalanina (L-DOPA), que a su vez es descarboxilado a dopamina por la enzima DOPA descarboxilasa. La dopamina, por hidroxilación con dopamina hidroxilasa, da lugar a noradrenalina, y ésta, a su vez, por acción de una feniletanolamina N-etiltransferasa, da lugar a adrenalina.

La Figura 2 es la representación esquemática de la síntesis de histamina (A) a partir de histidina por acción de una histidina descarboxilasa, y serotonina (B) a partir de triptófano, gracias a dos enzimas: la triptófano 5-hidroxilasa y la 5-dihidroxitriptófano descarboxilasa.

La Figura 3 muestra la estructura de las aminas "traza" más importantes. La α -feniletilamina, la tiramina y la triptamina son sintetizadas por descarboxilación de los correspondientes aminoácidos precursores por la acción de una L-aminoácido aromático descarboxilasa. La octamina es sintetizada por hidroxilación de la tiramina por la acción de una tiramina- α -hidroxilasa.

5 La Figura 4 representa las principales aminas biogénicas presentes en los alimentos y sus aminoácidos precursores.

La Figura 5 es una representación esquemática del mecanismo de reacción utilizado por las QH-AmDH para oxidar las aminas primarias (figura modificada de Sun et al, 2003, ref. 81).

La Figura 6 es una representación esquemática de la oxidación de tiramina en *Euphorbia characias*.

10 La Figura 7 es la representación esquemática de los pasos metabólicos responsables de la degradación de tiramina, dopamina, ácido 4-hidroxifenilacético y ácido 3,4-dihidroxifenilacético (homoprotocatéquico) en *P. putida* U y de las enzimas que catalizan cada uno de ellos. Las distintas abreviaturas corresponden a: 4-OH-PhAc (ácido 4-hidroxifenilacético), 3,4-diOH-PhAc (ácido homoprotocatéquico), CHMS (semialdehído 5-carboximetil-2-hidroxi-mucónico), CHM (ácido 5-carboximetil-2-hidroxi-mucónico), OPET (ácido 5-oxo-pent-3-ene-1,2,5-tricarboxílico), HHDD (ácido 2-hidroxi-hept-2,4-diene-1,7-dioico), OHED (ácido 2-oxo-hept-3-ene-1,7-dioico) y HHED (ácido 2,4-dihidroxi-hept-2-ene-1,7-dioico). Las enzimas son: TynAB (tiramina oxidasa), TynC (4-OH-Fenilacetaldehído deshidrogenasa), HpaBC (4-OH-PhAc monooxigenasa), HpaD (3,4-diOH-PhAc 2,3-dioxigenasa), HpaE (CHMS deshidrogenasa), HpaF (CHM isomerasa), HpaG1G2 (OPET descarboxilasa), HpaH (hidratasa) y HpaI (HHED aldolasa). En este esquema también se muestra la organización de los genes implicados en esta ruta catabólica en *P. putida* U. También se indica en la figura el punto de bloqueo metabólico en los diferentes tipos de mutantes.

20 La figura 8 es el esquema de la organización genética de los dos *clusters* (*tyn* y *hpa*) implicados en la degradación de tiramina y 4-OH-PhAc en *P. putida*. En este esquema, también se indica el punto de inserción del transposón Tn5, en cada uno de los mutantes, así como algunos de los cortes de restricción utilizados para la elaboración de diferentes construcciones genéticas.

25 La figura 9 es la secuencia de nucleótidos del fragmento de DNA que contiene los genes *tyn* y *hpa* en *Pseudomonas putida* U (CECT 4848). Las regiones de la secuencia que poseen una estructura secundaria de tipo lazo (loop) se encuentran recuadradas.

30 En la Figura 10, el diagrama de curvas de la izquierda representa las curvas de crecimiento medidas como A_{540nm} en medio MM + dopamina (5mM) correspondientes a las cepas *P. putida* U CECT 4848 (silvestre) (■), *P. putida* U *tynR::pK18mob* (△) y de uno de los mutantes de tipo I (A0) (●), de tipo II (A2) (○) y de tipo III (A7) (□). Las 5 gráficas de la derecha representan la concentración residual de dopamina en el caldo de cultivo de las distintas cepas cultivadas en medio MM + dopamina (5Mm). El comportamiento de los distintos mutantes incluidos en los diferentes grupos, fue similar a cada uno de los indicados en la figura.

35 La figura 11 es una representación esquemática de la construcción genética pK_{tyn} . En esta construcción, se clonaron los genes que integran todo el cluster *tyn* en los plásmidos *pK18::mob* (replicativo en *E. coli* e integrativo en *Pseudomonas*). (82, 98-100,103) (Fig 11).

40 En la Figura 12, el diagrama de curvas de la izquierda representa las curvas de crecimiento medidas como A_{540nm} medidas en la cepa *E. coli* W14 *pKtyn* (●, ○) y de la cepa control *E. coli* W14 *pK18::mob* (■, □) cuando se cultivaban a 30 °C (●, ■) y a 37 °C (○, □) en un medio que contenía tiramina (5mM) como única fuente de carbono. El panel de la derecha representa la concentración residual de tiramina en el caldo de cultivo de *E. coli* W14 *pKtyn* crecida a 30° C y a 37° C. Se obtuvieron resultados similares al cultivar dichas cepas en medio mínimo suplementado con dopamina.

La Figura 13 representa las curvas de crecimiento correspondientes a las cepas *P. putida* KT2440 *pKtynhpa XbaI* (○, ●) y *P. putida* KT2440 *pKtyn* (□, ■) cuando se cultivan en un medio que contiene tiramina (5mM) (○, □) o 4-OH-PhAc (5mM) (●, ■). El crecimiento se midió como A_{540nm} .

45 La Figura 14 muestra la representación esquemática de la estrategia seguida para la obtención de las construcciones *pKtynhpa HindIII* y *pKtynhpa XbaI* que contienen la información genética necesaria para degradar tiramina, dopamina, 4-OH-PhAc y 3,4-diOH-PhAc.

50 La Figura 15 representa las curvas de crecimiento medidas como A_{540nm} correspondientes a las cepas: *P. putida* U Δ *hmgABC pMCtdcA* (●); *P. putida* U Δ *hpd* Δ *hmgABC pMCtdcA* (○) y a sus respectivas cepas control: *P. putida* U Δ *hmgABC pMC* (■) y *P. putida* U Δ *hpd* Δ *hmgABC pMC* (□), cuando se cultivan en un medio de composición definida que contiene L-tirosina (5mM) como única fuente de carbono.

La Figura 16 Curvas de crecimiento medidas como A_{540nm} correspondientes a la cepa *E. coli* W14 *pKtyn pMCtdcA* (●) y a su respectiva cepa control *E. coli* W14 *pKtyn pMC* (■), cuando se cultivan en un medio de composición definida que contiene L- tirosina (5mM) como única fuente de carbono.

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de ácido nucleico aislada que comprende una secuencia que codifica una proteína capaz de actuar como 4-hidroxifenilacetaldehído deshidrogenasa, seleccionada del grupo que consiste en:
- 5 a) una secuencia de ácido nucleico que es idéntica; al menos en un 60%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:7;
- b) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que hibrida en condiciones estrictas con las secuencias de a);
- c) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica un polipéptido cuya secuencia de aminoácidos es idéntica, al menos en un 60%, a la secuencia representada por SEQ ID NO:8;
- 10 d) una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica una variante alélica natural de un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEQ ID NO:8, donde la molécula de ácido nucleico hibrida, bajo condiciones estrictas, con una secuencia de DNA que comprende la secuencia mencionada en a), o una secuencia complementaria a la misma.
2. Molécula de ácido nucleico aislada según la reivindicación 1, seleccionada del grupo que consiste en:
- 15 a) una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia que es idéntica a la secuencia representada por SEQ ID NO:7;
- b) una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica un polipéptido cuya secuencia de aminoácidos es idéntica a la secuencia representada por SEQ ID NO:8.
- 20 3. Un polipéptido purificado con actividad de hidroxifenilacetaldehído deshidrogenasa cuya secuencia de aminoácidos es idéntica al menos en un 60% a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:8.
4. Polipéptido purificado con actividad hidroxifenilacetaldehído deshidrogenasa según la reivindicación 3, cuya secuencia es idéntica a la secuencia polipeptídica representada por SEQ ID NO:8.
5. Un vector de expresión que comprende una molécula de ácido nucleico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2.
- 25 6. Vector de expresión según la reivindicación 5, que es un plásmido.
7. Vector de expresión según la reivindicación 6, en el que el que la molécula de ácido nucleico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 está insertada en el plásmido pK18::mob.
8. Un organismo hospedador transformado con un vector de expresión según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7.
- 30 9. Organismo hospedador según la reivindicación 8, que es una bacteria.
10. Organismo hospedador según la reivindicación 9, que es una bacteria capaz de transformar un azúcar en ácido láctico.
11. Organismo hospedador según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en el que el vector de expresión de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7 está insertado en el genoma del hospedador.
- 35 12. Organismo hospedador según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en el que el vector de expresión de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7 permanece como forma replicativa autónoma.
13. Una composición que comprende el polipéptido o complejo proteico de la reivindicación 3 ó 4.

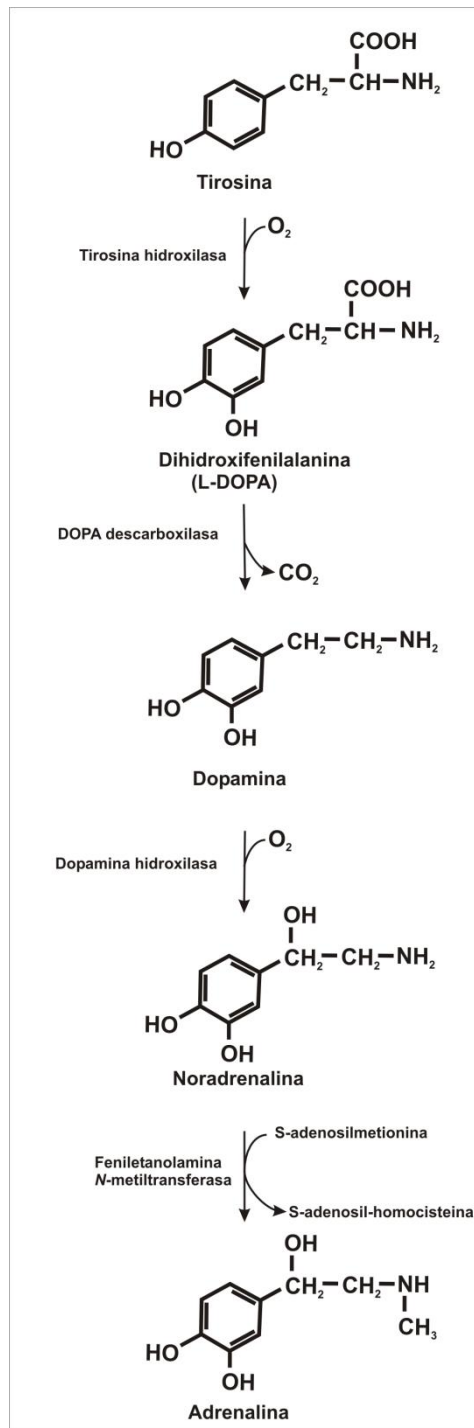


Figura 1

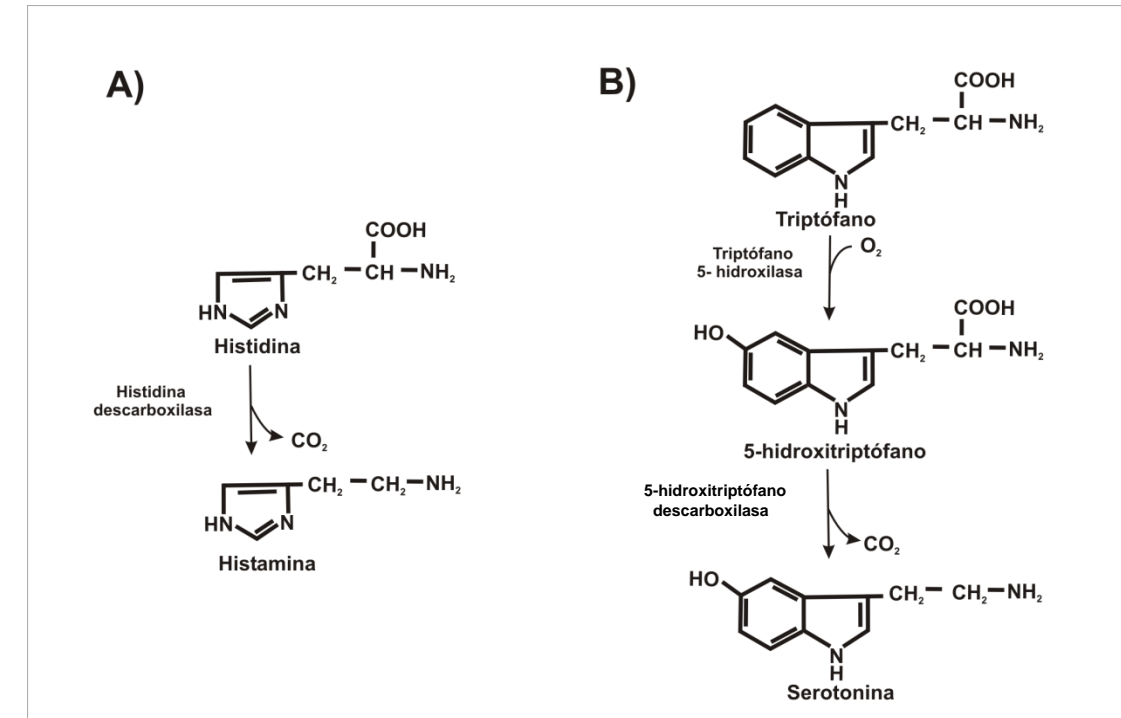


Figura 2

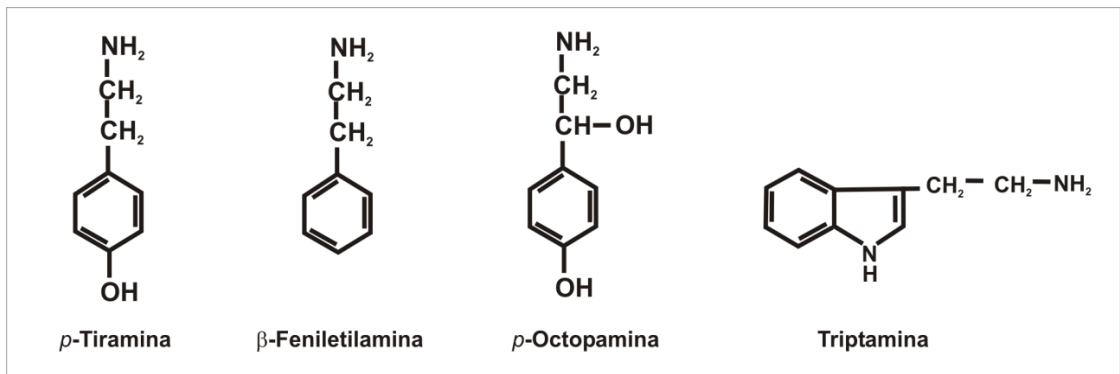


Figura 3



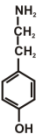
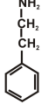
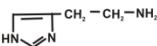
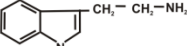
Amina biogénica		Precursor
Aminas alifáticas		
Putrescina		Ornitina
Cadaverina		Lisina
Aminas aromáticas		
Tiramina		Tirosina
Feniletilamina		Fenilalanina
Aminas heterocíclicas		
Histamina		Histidina
Triptamina		Triptófano

Figura 4

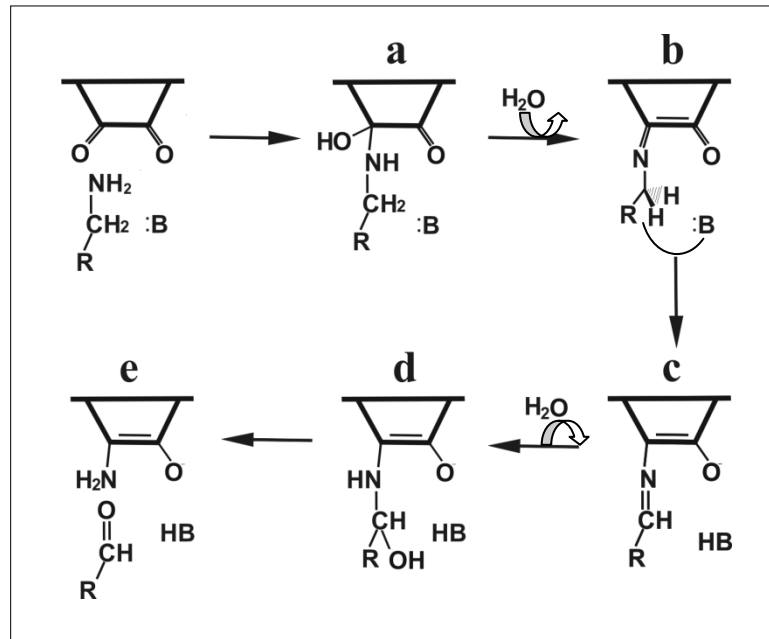


Figura 5

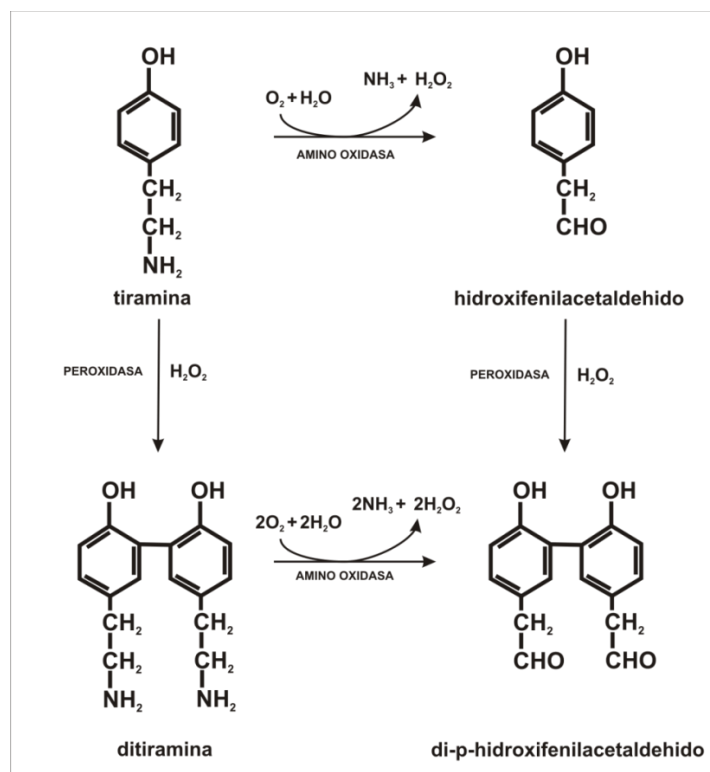


Figura 6

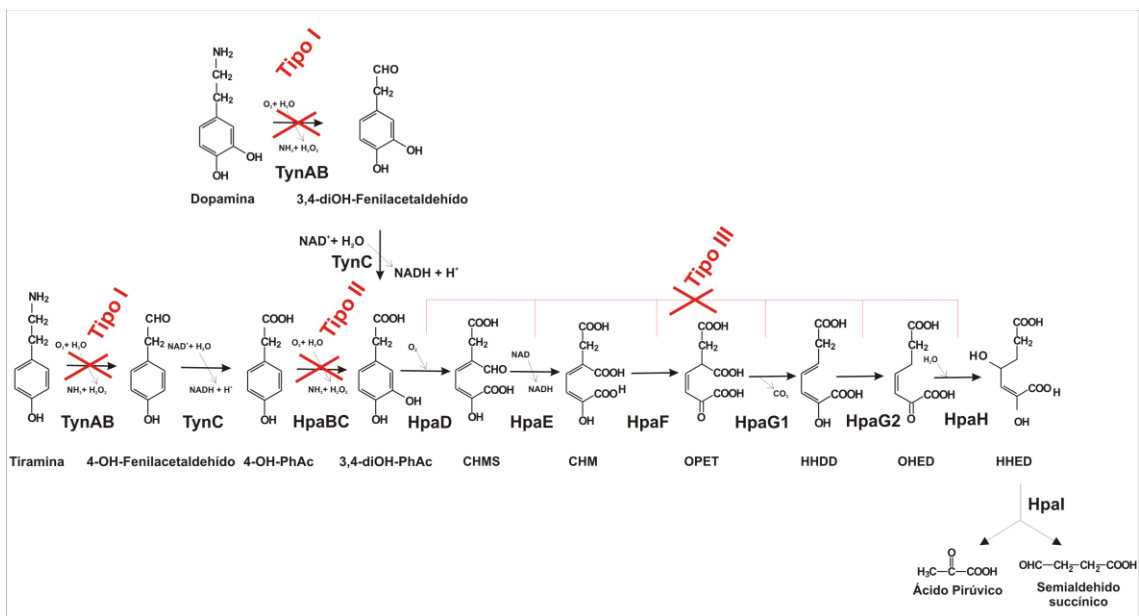


Figura 7

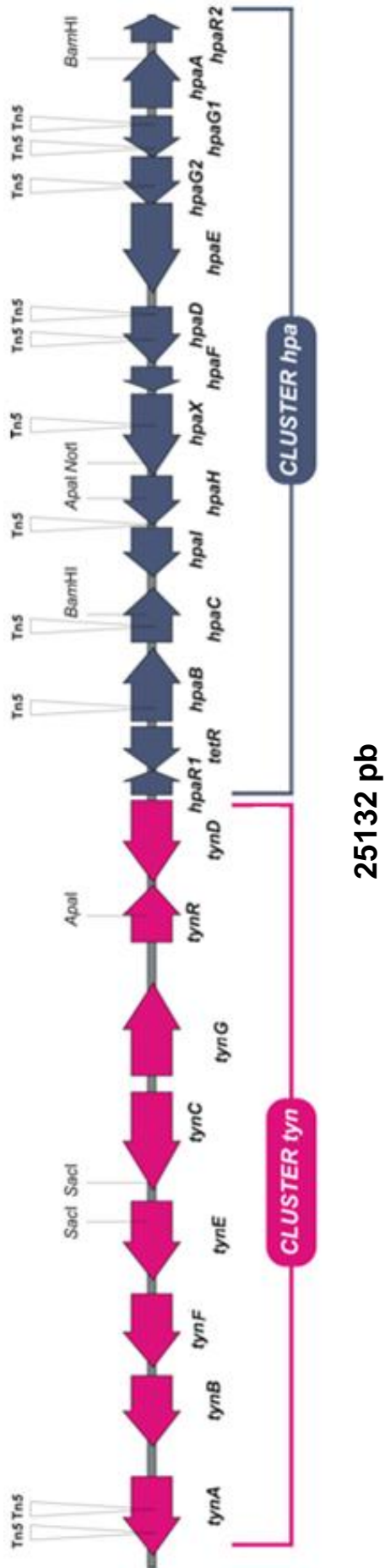


Figura 8

Figura 9

```

1 TCAGGCGAAACGCTCGAAGCGGTACGGTGACGGGTCGATCAGCGGGGTGGCCTGGGCCACCAGGTCTGCCGCCAG
  AGTCCGCTTTGCGAGCTTCGCCATGCCACTGCCAGCTAGTCGCCCCACCGGACCCGGTGGTCCAGACGGCGGTC
-2 ■ A F R E F R Y P S P D I L P T A Q A V L D A A L

76 CTGGCCAGCAGCAGGCGAGGTGCCGAAAGCCATGCCCGAAAAGCCGGTGGCCAGGGTCAGGCCCGGAATACTGGC
  GACCGGTCGTCGCTCCAGGCTTCGGTACGGGCTTTTCGGCCACCGGTCCCAGTCCGGGCCCTTATGACCG
-2 Q G A A P S T G F G H G S F G T A L T L G P I S A

151 CACCGGGCCGATGACCGGGTTGGAGTCGGGGGTGACGTCAATCGTGCCGGCCAGGCGCTGGCGATACGGGCCTG
  GTGGCCCGGCTACTGGCCCAACCTCAGCCCCACTGCAGTTAGCACGGCCGGTCCCGGACCGCTATGCCCGGAC
-2 V P G I V P N S D P T V D I T G A W A S A I R A Q

226 TTCGAACACCGGCCAGGCCGCTTTTCAGGTTGCGCATGGCCTCGTCGTTGAGGGCCGGGTTGGCGTGCGGGTCTTG
  AAGCTTGTGGCCGGTCCGGCGAAAGTCCAACGCGTACCGGAGCAGCAACTCCCGGCCAACCGCACGCCCGAAG
-2 E F V P W A A K L N R M A E D N L A P N A H P D Q

301 TACCGGTACACGCTCGAAGGGGGTTACATCCGTTGCCTTCCAGCGCCGGGGCCAGGGCCAGGTCCTTGAAGAAGTA
  ATGGGCATGTGCGAGCTTCCCCAATGTAGGCAACGGAAGTTCGGCCCGGGTCCCGGTCCAGGAACTTCTTCAT
-2 V R V R E F P T V D T A K W R R A L A L D K F F Y

376 CTTGCCAAAGCTGATGCGCAAAAAGTCCCGCTGGGCACGCAGCTGGGGCAGGTAACGCTTGCCAGCAGCAGGTG
  GAACGGTTTTCGACTACGCGTTTTTCAGGGCGACCCGTGCGTCGACCCCGTCCATTGCGAACGGGTCGTCGTCAC
-2 K G F S I R L F D R Q A R L Q P L Y R K G L L L H

451 ATCGAGGGTGAGGAAGGCGTCCAGCGCGCCGCGCTGGGTGATGATGTAGCCGCCGTCCTTGTCCTTGCAGGAAGGA
  TAGCTCCCCTCCTCCGCGAGTTCGCGGGCGCGACCCACTACTACATCGGCGGCAGGAACACGAACGCGCTTCCT
-2 D L T L F A D L A G R Q T I I Y G G D K H K R F S

526 AAAATCTGGTGCGCCACGGCGATGTCGGTGGCCCGTCCATGGGCTCTGTGCGCAGCACGGAACAGGTACAGCGG
  TTTTAGACCACGGGGTCCGCTACAGCCAACGGGCGAGGTACCCGAGACACGCGTCTGTGCCTTGTCCAGTCGCG
-2 F D P A G V A I D T P G D M P E T R L V S C T L P

601 CAAGGTCGGCAGGTTGATGCCAGGTTGCCGAGGAACTTGCAGCAGCACAGGCCACCGGCCAGCAACACCTGGTC
  GTTCCAGCCGTCCTCAACTACGGGTCCTCAACGGCTCCTTGAACGCGCTGGTGTCCGGTGGCCGGTGGTGTGGACCAG
-2 L T P L N I G L N G L F K R S W L G G A L L V Q D

676 GCAGCGGATTTACCTTGCTCGGTGACCACCCCGTGCACACGGCCGGTGCAGGTCAGCAGGTCGCGACCGCGCA
  CGTCGCCTAAAGTGGAAACGAGCCACTGGTGGGGCGACTGTGCCGGCCGACCCACTGGTCGACCGGTGGCGCGT
-2 C R I E G Q E T V V G S V R G A A T V L T R V A C

751 GTTCTCCACTACCACTGCACCTTTGGCGATCGCCGCCCCGGCGATGGCGCTGGCGGCCAGGGTTCGGTTCGGCGCG
  CAAGAGGTGATGGTACGTTGAAACCGCTAGCGGGGGCCCGCTACCGCGACCGCCGGTCCAGCCAAGCCGCGC
-2 N E V V V A G K A I A A R A I A S A A L T P E A R

826 GGCGTCGGAGGGGGTGAAGATGCCACCTGCCAATCCGCCGACCACCCGGACCATCCGGGTGATTTCCCGCGT
  CCGCAGCCTCCCCACTTCTACGGTGGACGGGTTAGGCGGGCTGGTGGGCCGTGGTAGGCCACTAAAGGGCGCA
-2 A D S P T F I G G A W D A R G G P V M R T I E R T

901 GCTCAGCAGGCGCAATCCAGGCCAGCGCTCGACGCTTTTCAGCCAGCCTTTCATGCATGCCATCTGCGTGTG
  CGAGTCGTCGCGCTTAGGTCCGGGTCGCGGAGCTGCGAAAAGTGGTCCGGAAGTACGTACGGGTAGACGCACAG
-2 S L L R S D L G L A E V S K L W G E H M G M Q T D

976 GTTACGGCCGATGAACATGATGCCGCTTGCCGATAGCCAACGTCGCTGCCAACCCGTGCGGGCATCTCGGCCA
  CAATGCCGGTACTTGTACTACGGCCGAACGGCTATCGGTTGCAGCGACGGTTGGGCACGCCCGTAGAGCCGGGT
-2 N R G I F M I G A Q R Y G V D S G V R A P M E A W

1051 CAGCCGATCAGCCGAGTGCAGGGGAATGTCATGGGCGTGGCGGTTGGTCTTGCACACCAGCCAGGTTGGC
  GTCGGCTAGTCGGCGGTACGGTCCCCTTACAGTACCCGACCCGCAACCAGAACGCGTGGGTGGGTCCAACGC
-2 L R D A A L A L P I D H A H R N T K R V W G L N R

1126 CGACGACTGCTCCCCAGCGATGCGCCCTTCTCCAGCACCACCACCGGTATGTTGCGTTCGGCGAGGCTCAGTGC
  GCTGCTGACGAGGGGTCGCTACGCGGGGAAGAGGTCGTGGTGGTGGCCATAACAACGAAGCCGCTCCGAGTCAG
-2 S S Q E G A I R G K E L V V V P I N R E A L S L A

1201 GGCGGTGAGGCCGATAATGCCGCCACCGATGATCACCACGGTAGTGGCGTCGGGTTGGCGGGTGTGGTTGAC
  CCGCCACTCCGGCTATTACGGCGGTGGCTACTAGTGGTGCATCACCAGCCCGCCCGCCACGACCAACCGTG
-2 A T L G I I G G G I I V V T T A D P H R T S T Q V
    
```

ES 2 387 150 A1

1276 AGGGGCGATCGTGGGAGACATGGCTTTACTCTTTGTTGTGCGTGCAGGGGAGTGTTCAGCGCCAGCCAGCAGCC
 TCCCGCTAGCACCTCTGTACCGAAATGAGAAACAACACGCACGTCCCCCTCACAAAGTCGCGGTCCGGTCGTCGG
 -2 P A I T P S **M**
← *tynA*

1351 TCACTGGCCAAGGCGGATCAGGGTCACTTGCCTTGCCCCGCACCGCGGTAGGCGGTGACCTCCAGCTCGACCTT
 AGTGACCGGTTCCGCCTAGTCCCAGTGAACGCGAACGGGGCGTGGGCCATCCGCCACTGGAGGTCGAGCTGGAA

1426 GTAAACGGTGGAGCCCAGCGCGGGCAGGTGACCGTGGTGGCCGGTTCGATGCCCGGAACTTCTCGCCGATCAC
 CATTGGCCACCTCGGGTCGCCGCCGTCCACTGGCACCACCGGCCAGCTACGGCGCCTTGAAGAGCGGCTAGTG

1501 GTCCATGACCCGTGGTACATCGGCAGGGTCTGGATGAACACGCGGAGTTGATGACATCGGCCAGGCTGGCATC
 CAGTACTGGGCACCATGTAGCCGTCCCAGGACCTACTTGTGCGGCTCAACTACTGTAGCCGGTCCGACCCGTAG

1576 GACTGCGGCCAGCGCGGTTTCGATGTTGGCGAACACCTGGTGGGTCTGTTTCGATGACGTCTCTGGAATGACCTG
 CTGACGCGGTCGCGCCAAAGCTACAACCGCTTGTGGACCACCCAGACAAGCTACTGCAGGAGACCTTACTGGAC

1651 GGTCTGCGGGTTGCGTCCGGCGGTGTTGGAGACGTGAATCCAGTTGTCCACCGCCACCAGGCGGGAGTAGCTGGC
 CCAGACGCCAACGCAGGCCGCCACAACCTCTGCACTTAGGTCAACAGGTGGCGGTGGTCCGCCCTCATCGACCG

1726 CATGGCTTCGAACTTGAGACCGGTTTTCAGTTTGTATGATCTGTGTATGGGCTTTCGCTTGTATCCGGTTGCGG
 GTACCGAAGCTTGAACCTCGGCCAAAAGTCAAACCTACTAGACACAGTACCCGAAACGGAACAATAGGCCAACCGC

1801 GGATCAGCTGAGAACGGGGGTTTCCAGAGGTTGAGCTTTACGCCGATGCCTTGCTCGAGCGCCTTGCCTGACAC
 CCTAGTCTGACTCTTGCCCCAAAGGTTCTCAACTCGAAATGCGGCTACGGAACGAGCTCGCGGAACGCCATGTG
 -2 **■** S L V P T E W L N L K V G I G Q E L A K R Y V

1876 CACGGTGGCCAGGCCACGTCTTCGACGGGCATGCCGCCACCCAGACATCAGGATGATTTTCGTCGTCATGCAGGCG
 GTGCCACGGGTCGGTGCAGAAGCTGCCGTACGGCGGGTGGCTGTAGTCTACTAAAGCAGCAGTACGTCCGC
 -2 V T G W A V D E V P M G G V S M L I I E D D H L R

1951 GCGCGGTGCGTCGCCGCTGATGATCTTGCCGATGTCTTCCACCTGCTCGGCGGCCAGCGTGCCTTCGGCAATCAT
 CCGGCCACGCAGCGCGACTACTAGAACGGCTACAGAAGGTGGACGAGCCCGCGTGCACGGAAGCCGTTAGTA
 -2 G P A D G S I I K G I D E V Q E A A L T G E A I M

2026 GTCCATGAAGCGCACACCTACCAGCGGTACGTGGTGTGCGCAGGCTTGGGCGAGCTCTTCGAACCAGGCCCTCGTA
 CAGTACTTCGCGTGTGGATGGTCCGCATGCACCAACACCGCTCCGAACCCGTCGAGAAGCTTGGTCCGGAGCAT
 -2 D M F R V G V L P V H N H A P K P L E E F W A E Y

2101 GAGGCCGGTGTGTCACACCTTGGCAGCTCGTCTGCTCCATGCCGGCGTCGATACTGCACGGGGCTGGCAT
 CTCCGGCCACAACAGGTGGTGGAAACGCGTGCAGCAGGACGAGGTACGGCCGAGCTATGACGTGCCCGACCGTA
 -2 L G T N D V V K R V D D Q E M G A D I S C P A P M

2176 GGCCAGGAACGCGCCAGGCTTGACCCACTCGCGGCGCACCAGCGGCTACTGGCTGGGGTCGCCGACTTCGCCCCG
 CCGTTCCTTGC CGGTCGGAACCTGGGTGAGCGCGCGTGGTCCGCCATGACCGACCCAGCGGCTGAAGCGGGCT
 -2 A L F A G P K V W E R R V L P Y Q S P D G V E G S

2251 GCTGCAGTAGCTGACCAGGTCCGAACCGCGTACCCTTCTTCCAGGGTTTCCACCCTGGACATGAGTGATTTG
 CGACTCATCGACTGGTCCAGCCTTGGCGCATGGTGAAGAAGGTCCCAAAGGTGGTGGACCTGTACTCACTAAAC
 -2 S C Y S V L D S G R V V E E L T E V V Q V H T I Q

2326 CGGGAAGCTGGTTTTTACCCAGGCGACGAAGGCATCCAGGTTCTTTCGGCCAGGCCCTTGACCTTGAGGGTGTG
 GCCCTTCGACCAAAAGTGGTCCGCTGCTTCCGTAGGTCCAAGAAGACCGGTGCCGGGAACGGAACCTCCACAG
 -2 P F S T K V W A V F A D L N K Q G R G K V K L T D

2401 GATCAGCGGGCAGACGGCCATGAACGCAGCGACCGTGGTCTTGGCCATCACCCCGGGCCGCCAGGCCGATCAC
 CTAGTCGCCGCTCTGCCGTACTTGCCTGCTGGCACCAGAACGGGTAGTGGGGCCCCGGCGGTCCGGCTAGTG
 -2 I L P C V A M F A A V T T K G M V G P G A L G I V

2476 CTTGGCGTCTTTCGCGCCAGGTGGCGGGCGCCGACGCCCGGATGGCGCGGTGCGGTAGGCCGACAGCAGGTT
 GAACCGCAGGAACGCGGTCACCGCCCCGGCTGCGGGCCCTACCGCGCCACGCCATCCGGCTGTCGTCCAA
 -2 K A D K R A L H R A G V G P I A G T R Y A S L L N

2551 GGCCGACATGTGTGCCAGTGGCGCGCGGTGTCGGCATCGTTGAGGGTGAACATCAGGATCGAGCGGGGCGAGGCC
 CCGGCTGTACACACGTCACCGCGGCCACAGCCGTAGCAACTCCCACTTGTAGTCTTAGCTCGCCCCGTCCGG
 -2 A S M H A L P A G T D A D N L T F M L I S R P L G

2626 TTTCTACGGTTGGCGATGTTTCGAGCCGTACCCTTGGCGCCTGCGGTCTGGAAGTTGCCCGGAGGTACGCCGG
 AAAGAGTGCACACCGTACAGCTCGGCATGGTGAACCGCGGACGCGAGACCTTACAGCGGGCTCCATGCGGCC
 -2 K E R N A I N S G Y W K A G A T Q F N G G L Y A P

2701 CATCGCCATCATGCGCGGTGCGGGTGGGCTTGGGCATGTTGGGGAATGGCGAGTGTGCGGGGAAGGTAATCAT
 GTAGCGGTAGTACGCGGCCAGCCGCCACCCGAACCCGTACAACCCCTTACCCTCACGAGCCCTTCCATTAGTA
 -2 M A M M R R D A T P K P M N P F P S H E P F T I M

ES 2 387 150 A1

2776 CGCGCCGTGCGAGTCGCTGTTCGGGCGGCCATGCGGTAGTCACCCTGGTACAGCAGGCCGAACATTTCTTCCAT
 GCGCGGCACGCTCAGCGACAAGCCCGGCCGTACGCCATCAGTGGGACCATGTCTGCCGCTTGTAAAGAAGGTA
 -2 A G H S D S N P G A M R Y D G Q Y L L G F M E E M

2851 GGTGTGCACACAGGCCGGCATGTTCGGTGACGCCGGCACGGATCATGTCTGCTCGGACAGGTAGATGAAGTCAAT
 CCACAGCTGTGTCCGGCCGTACAGCCACTGCGGCCGTGCCTAGTACAGGACGAGCCTGTCCATCTACTTCAGTTA
 -2 T D V C A P M D T V G A R I M D Q E S L Y I F D I

2926 TCTGGTATCGAGGGTCATGGCGGGTCTCGCAGGGCTGGCTGCCGTGGATTGTTGTTGGTTTCGAGGCAACCAG
 AGACCATAGCTCCCAGTACCGCCCAGAGCGTCCCGACCCAGCGCAGCCTAAACAACAACCAAGCTCCGTTGGTC
 -2 R T D L T **M**

← *tynB*

3001 TTTCTGTAACGACTGGTAGGTCTGTCTGTCTGCTGCCAGCCGAGTTGACCCTCAGTGCAGGGCTTCAATGG
 AAAGCGATTGCTGACCATCCAGCAGAACACAGACGGACGGTCGGCTCAACTGGCAGTCACGGTCCCAGGTTACC
 -3 █ H

3076 CCCGCGAGCGAGAAGCTGGCCGGGTGTGGCGCAGGCTGAGGGCGGTGACAGGCACACCACAGGGTGCACAGG
 GGGCGCTCGCTCTTCGACCGGCCACACCGCGTCCGACTCCCGCAGTCTGTCGGTGGTGGTCCACGTTGCC
 -3 G A L S F S A P T H R L S L A T L L C V V L T C L

3151 GCCAGCAGCGCGCCCATGCGGTGCGGCCGTGGTTGAGTACCCTGCGGCCAGCGGGCGCGCCGAGACGCC
 CGGTGCTCGGCGCGGTACGCCAGCCGGCACCAACTCATGGTACGCGCGTCCCGCCGCGCGCGCTCTGGGG
 -3 A L L A A W A T P G H N L V V A A L P A A G A S A

3226 GACAGCTGGATGGCGCCAGCAGCGCTGCGGTGGAACCCAGTGCCTTTTCTTGCAGGGCCATCACCAGCGACATC
 CTGTGCACCTACCGCGGGTCTGCGGACGCCACCTTGGGTACGGAAAAGAACGCTCCGGTAGTGGTCTGTAG
 -3 S L Q I A G L L A A T S G L A K E Q S A M V L S M

3301 AGCGTCGACTCGGCTATCCCCAGGCCGAACAGGGCTATCACCATGCCCGCGCCACACCTGGCAGCCCCAGGCCG
 TCGCAGCTGAGCCGATAGGGTCCGGCTTGTCCGATAGTGGTACGGCGCGCGGTGTGGACCTCGGGTCCGGC
 -3 L T S E A I G L G F L A I V M G G A V G P L G L G

3376 GTCAGTGCACCCAGCAGGCTGATGCAGGCACCGCGGCCATGCACAGCACGCCACCCGAGTCAAGGTATTGAGG
 CAGTACGTTGGCTCGTCCGACTACGTCCTGGCGCGCGGTACGTTGCTGCGGGTGGGCTCAGTCCATAACTCC
 -3 T L A G L L S I C A G G A M C L V G V R T L T N L

3451 CCCAGCCGGTGTATCAGGTGGCTGGCCGTATGGCGCCAGCAGGATCGACACCCCGGTGGCGCCAAACAGCAGG
 GGGTCCGGCCACTAGTCCACCGACCGGCAGTACCGCGCTCGTCTAGCTGTGGGGCCACCGCGTTTGTCTCC
 -3 G L R S I L H S A T M A G L L I S V G T A G F L L

3526 CCGAAGGCCTGGGCGCTCAGGCCGTAGTGGCCGTGATACACCAGGGTGGCACCGCCGATGTAGGCGAACAGGAAG
 GGCTTCCGGACCCGAGTCCGGCATACCCGGACCATGTGGTCCACCGTGGCGGCTACATCCGCTTGTCTCTC
 -3 G F A Q A S L G Y H A Q Y V L T A G G I Y A F L F

3601 AAGAATACCGCAGCAACCGCCAGGGTCGGGCGCAGGAAGCGCGGTCCGGCAGGATGGCCAGGTAGGTGCTGCAG
 TTCTTATGGCGTCTGTGGCGGTCCAGCCCGCTCTTCGCGCCAGCCGCTCCTACCGTCCATCCACGACGTC
 -3 F F V A A V A L T P R L F R R D A L I A L Y T S C

3676 GCGTGGCCAGGCGCAGGGTTTCGCGTTTGTGGGCGCAGGGTTTCGGGCAGGTTACAGCAGGCTGTTGACCAGC
 CGCACCGGGTCCGCGTCCCAAGCGCAAACGACCCCGCTCCCAAGCCCGTCCAAGTCTGCGACAACCTGGTGG
 -3 A H G L R L P E R K S P P L T E P L N L L S N V L

3751 ACCGTCACGCCCATGCCGGGAGTACCAGCATTACTGCACGCCAGCCGAAATGTGCGTTCGATCAGCCGCCAGG
 TGGCAGTGGGGTACGGCCGCTCATGGTCTGTAATGACGTGCGGTCCGCTTTACACGACGCTAGTGGCGGGTCC
 -3 V T V G M G A L V L M V A R W G F H A D I V G G L

3826 GCAGGTGCCAGGATCGGTGCGACGCCTTCGATGGTTCATCAGCAGGGCGAACAGTTTGGTTCGCGGCCACGCCCTGG
 CGTCCACGGTCTTAGCCACGCTGCGGAAGCTACAGTAGTCTCCGCTTGTCAAACAGCGCCGGTGGCGGACC
 -3 A P A L I P A V G E I T M L L A F L K T A A V G Q

3901 CTCACATCAGCACCATGCTCATGATCACCACCAGGGTCAGCGCACTGCCAGGCCCTGGAAAAAGCGCAGCATG
 GAGTGTAGTGGTGGTACGAGTACTAGTGGTGGTCCAGTCCGCTGACGGGTCCGGACCTTTTTCGCGTCTGATC
 -3 S V D R V M S M I V V L T L A S G L G Q F F R L M

3976 ATCAGGGTGTTCGAGGCTGGGGCTGCGGCTGCGCCAGCGACACAGGATGAACAGCAGCAGGCCCGCCAGCAGC
 TAGTCCACAGCTCCGACCCCGACCGCGGGTTCGCTCGTGTCTACTTGTCTGCTGCTCCGGCCGGTCTGCTG
 -3 I L T D L S P A A A A G L S C L I F L L L G A L L

4051 GGCTTGCGCCGCCATAAGCGTGCAGATGGGGCCGAAGATCAGCTGGCCGCGCCCATGGCCAGCAGGAAGAAG
 CCGAACCGCGCCGGTATTTCGAGTCTACCCCGGCTTCTAGTTCGACCGCGCGGGTACCGGTCTCTCTCTTC
 -3 P K R R G Y A D V I P G F I L Q G A G M A L L F F

ES 2 387 150 A1

4126 GTCAGTGTACGCTGTACGCGGGTGAAGCTAGCCTGATAGTGGCTGGCGATTTCGGGCAGGCTCGACAGGTACATG
 CAGTCACAGTCGACATGCGCCACTTCGATCGGACTATCACCGACCCTAAAGGCCGTCAGGCTGTCATGTAC
 -3 T L T L Q V R T F S A Q Y H S A I E P L S S L Y M

4201 TCGACGGCGGAAGGGCCGAGGGCGCCGATCAGGCCATAGGCCAGGGCGAAGCTGAAGGGTATGGGAGGGGAGGGA
 AGCTGCCGCTTCCCGGCTCCCGCGGCTAGTCCGGATCCGGGTCGGCTTCGACTTCCCATACCCTCCCCTCCCT
 -3 D V A S P G L A G I L G L G L A F S F P I P P S P

4276 TTGGCTTGCATGGTTTTCTCTGGCTGATTTTTTCGCCTACCGACCGGTAGGTTTGCGAATATTATTCGCCGAGTCG
 AACCGAACGTACCAAAAGAGACCGACTAAAAGCGGATGGCTGGCCATCCAACGCTTATAATAAGCGGCTCAGC
 -3 N A Q M
 ← *tynF*

4351 GCCAAGGTCAAACCTTCCGCAAGGCCACTGATTCCTGTGGGGAGCGGGCATGCCCGCAACACCGGCAAAGCCG
 CGGTCCAGTTTGGGAAGCGTTCGGTGACTAAGGACACCCTCGCCGTCAGGGCGCTTGTGGCCGTTTCGGC

4426 GTGCCACCGAGTCGCCTTCTTCGCGGGCATGCCCGTCCCACATTGACCGCAGAGGTTGGTTACCGTGGTTGCGT
 CACGGTGGCTCAGCGGAAGAAGCGCCGTACGGGCGAGGGTGAACCTGGCGTCTCCAACC AATGGCACCAACGCA

4501 CAGAACGGCACAGCCACGGTCAGCTGGCTATACACATTGGTACCATTCCCGCCACCTGGTTGCCGCGCTTGTCTC
 GTCTTGCCGTGTCCGTGCCAGTCGACCGATATGTGTAACCATGGTAAGGGCGGGTGGACCAACGGCGGCAACGAG
 -3 F P V A V T L Q S Y V N T G N G G V Q N G G N S

4576 TCGTCTTGC CGCGGCTGGTAAAGGCCACCAGCGGGCTGATTATCAGGTGCTCGTTGACTGCCATTCACATAC
 AGCAGGAACGCGCCGACCATTTCCGGGTGGTCGCGGACTAATAGTCCACGAGCAACTGACGGGTAAGGTGTATG
 -3 E D K R P Q Y L G V L P S I I L H E N V A W E V Y

4651 AGGTCCAGCTCCCGCGCATCGAGGTTGAGGCTTTCGCGGGTGCCTACGGTGTGCAAGTCAAGTACAGCGCCCG
 TCCAGGTCGAGGGCGCGTAGCTCCAACCTCCGAAAGCGCCACGCATGCCACAGCTTCAGCTTCATGTCGCGGGGG
 -3 L D L E R A D L N L S E R T R V T D F D F Y L A G

4726 ACTGTGAGATTTCCAGCGGTGTGCGCTTACGCCCCACATGGTGGATACCCGTGTTGCTGTGAAGGGGCCGGCG
 TGACACTCTAAAAGGTCGCCACAGCGGAAGTGGCGGTGTACCACCTATGGGCACAACGACAACCTCCCCGGCCCG
 -3 V T L N E L P T A K V G V H H I G T N S N F P G A

4801 TAGTTGGCAGCGACTTCACCTGGAACAGGTGCCGTAAACCGCTGGACAGGCCGCTGAACAGCGCGTCCCAGCCT
 ATCAACCGTCGCTGAAGTGGGACCTTGGTCCACGGCATTGGCGACCTGTCCGGCGACTTGTGCGCAGGGTCGGA
 -3 Y N A A V E G Q F W T G Y G S S L G S F L A D W G

4876 CCCGAGTAGCGGGTGTAGCGGTAGGTAACCTGCGGTGCCACGGCAGGTGCGCGAAGGTGTAGCCGCGCTGCAGG
 CGGCTCATCGCCACATCGCCATCCATTGGACGCCACGGGTGCCGTCCAGCCGCTTCCACATCGGCCGGACGTCC
 -3 A S Y R T Y R Y T V Q P A W P L D A F T Y G A Q L

4951 TACCAGGCTTGCTCGGGCCGTCGGTCTTGTCTGCCAGGCGTATTCGAAGCGAAACTGGCATTGTGATGCCA
 ATGGTCCGAACGAGCCCGGCGAGCCAGAACAGGACGGTCCGCATAAGCTTCCGCTTTGACCCTAACAGCTACGGT
 -3 Y W A Q E P G D T K D Q W A Y E F A F S A N D I G

5026 GCGTGCCTTCGCCCGCACGCTATACACGTCCATGCCTTTCGCGGGCTTTCTGAAAGTTCGCTGGCCATTGGTTCG
 CGCAACGGAAAGCGCGCGTGCATATGTGCAGGTACGGAAGCGCCGAAAGACTTTTCAGCGACCGGGTAACCCAGC
 -3 A N G E G R V S Y V D M G E R A K Q F D S A W Q D

5101 GTGACGTGCATGCCGTGAATCCAGGTACGCCGAGGGTGCCTAAGGCTTGGGTGTAGTCCAGCGTCCGGCGGCC
 CACTGCAGCTACGGCACTTAGGTCCAGTCCGGCTCCACGGGTCCGAAACCACATCAGGTTCGACGGCCGCGCCG
 -3 T V D I G H I W T L G L T G L A Q T Y D L T G A A

5176 AGTTCGGTTTTCGGCCGTCGGGCGGTTGTGCGATTTTCAGCCACAGCAGGCTGCCATGACGGCCATCGCTGCCCC
 TCAAGCCAAAGCCGACCCCGCCAAACAGCTAAAGTCCGTTGTCGTCGACGGTACGTCGGTAGCGACGGGGGG
 -3 L E T E A Q A R N D S K L W L L S G H L G D S G G

5251 AGGCGCAGCATTGCGGTGCGGTGCAAGGCGTGGCGGGCGGCCAGGTAGTAGCCCCGCCGCGTCCAGCGCACCG
 TCCGCGTCAACGCCACGCCAGCTTCCGCACCGCCCGCGGTCCATCATCCGGGGCGGCGCCAGGTCCGCTGGC
 -3 L R L M A T R D F A H R A A L Y Y A G G R D L A G

5326 TCGGCGACGCGTTGCCAGGTTCCGGCCGTCGTCGTTGATCAAAAACCACTGCCAGGCGAATGGTCTGGCGG
 AGCCGCTGCGGCAACGGGTCCAAGCCCGGACGAGCAACTAGTTTTTTGGTGACGGTCCGCTTACCAGACCCGC
 -3 D A V G N G L N P G D D N I L F G S G L R I T Q R

5401 CCGGCGAAACGTCCACTCCATCCTTGCCAGCACCGGGAACAGGTGCGCCGAGCGCCAGCCGAGGAAGGCGTCT
 GGCCGCTTTGACAGGTAGGTAGGAACGGTTCGTTGGCCCTTGTCCAGCCGGCTCGCGGTTCGCTCCTTCCGCGA
 -3 G A S V D V G D K G L V P F L D A S R W G L F A D

5476 TCGATCTTGGTGGTGGTTCGGAGCCATCGGTGTTGCCGGCCGATCGCCATCGCCCAAGTGGCCGAGCTCAC

ES 2 387 150 A1

AGCTAGAACCACCACGCAAGCCTCGGTAGCCACAACGGCCGGCGTAGCGGTAGCGGGTCCACCGGCTCGAGTGG
-3 E I K T T R E S G D T N G A A D G D G W T A S S V

5551 CAGTTCAGGCTGCCGTACAGCGTGCCTTGGCCGCCAGGCCCTGGTCACCGCTGAGGCCATACTTGATAAAGCCT
GTCAAGTCCGACGGCATGTGCGCACGGCAACGGCCGGTCCGGGACCAGTGGCGACTCCGGTATGAACTATTTCCGGA
-3 W N L S G Y L T G N G A L G Q D G S L G Y K I F G

5626 TCACGCCAGGTGCAACCCCTGTGGTGCCTGCTAGTTCCTTGGCGGTGTTGAACATGCCCCATACGCCAGCATG
AGTGGGTCAGCTTGGGGGACACCACGGCAGCATCAAGAACGCCGACAACCTGTACGGGTATGGCGGTGCTAC
-3 E R W T S G G T T G D Y N K R S N F M G W V A L M

5701 TCGGGCTTCAGGTGGCTGTATCGTTCGGCTACAGTCAACGGCCGGCGCGCCTGGCTGGCCAGCAAGTTGCC
AGCCCAAGTCCACCGACAGTAGCAGCCGATGTGAGTTGCCGGCCGGCGGACCGACCGGTCGTTCCAACGG
-3 D A N L H S D D D A Y L E V A P A A Q S A L L T A

5776 AGGGCCAGGCTGGACAGCTCTGTGGTTGACCATTGACATCCCTCGTTTGTCTCGGCCACCTTCACAGGGG
TCCCGGTCGACCTGTGCGAGACCCAACTGGTAAACGTGTAGGGAGCAAACAAGAGCCGGTGAAGTGTCCCG
-3 L A L S S L T Q P K V **M**
← *tynE*

5851 CCTTTGTTGTTTCGGGGGACCCCTCGGTTCTGGCGAGGGGCCATCGCGGTTGGCGGCGATGGCCTATTAGGGCGTG
GAAACAACAAGCCCCGTGGGAGCAAGACCGCTCCCCGGTAGCGCAACCGCCGCTACCGGATAATCCCCGCAC

5926 TGGCGTGGGGGGGGTCTTGTTCGTGGCTGCCAAGGGCCTTGCACGCTTGGCCACAGGCGGGTCACTAGCGGA
ACGCCACCCCGCCCCAGAACAAGCACCGACGGTTCCCGCAACGTGCGGAACCGGTTCCCGCCAGTCATCGCCT
-1 **■** Y R I

6001 TCATCACCGACTTGAGCTCGGTGAAGTCATCGATGAAGCCGAGCCGAACCTCGCGCCAATGCCGAAGCCTTGA
AGTAGTGGCTGAACTCGAGCCACTTCAGTAGCTACTTCCGGCTCGGCTTGAGCGCCGGTTACGGCCTTCGGAAC
-1 M V S K L E T F D D I F A S G F E R G I G S A K I

6076 TGCCCCAAACGGTACAGCCGGTTCGAGCAGGGTGTGCATGTTGACCCACAGGGTACCGGCTGGATTGCGGGA
ACGGGGGTTTGCCATGTGCGCCAGCTCGTCCCACAGTACAACCTGGGTGTCCTATGGCCGGACCTAAACGCCCT
-1 G G F P V A P D L L T H M N V W L T G A Q I Q P I

6151 TCATGCGCATGGCCTTGCCAGGTCGTTGGTCCACAGGCTGGCGCTGAGGCCGTAGGGCGAGGCGTTCATCAGGT
AGTAGCGTACCGGAACGGGTCCAGCAACAGGTTCCGACCGCGACTCCGGCATCCCGCTCCGCAAGTAGTCCA
-1 M R M A K G L D N T W L S A S L G Y P S A N M L H

6226 GCAGCAGTTCGTCTTCGTGTCATAAGGCAGGAAGTGCACAGGGCCGAAGGTTTCTGGGTGAGCAGGGTGT
CGTCGTCGAAGCAGAAGCAGCAGTATTCGTCCTTCCAGCGGTGTCCCGGCTTCAAAGGACCCACTCGTCCACACA
-1 L L E D E D D Y P L F T A V P G F T E Q T L L T D

6301 CGCAGGCTGACCGGGCGAGGATTACCGTGGGTTTCGACGAAACAGCCGGGGCCGTCGCCAGGGTGGCCCGGTGAA
GCGTCCGACTGGCCCGCTCCTAATGGCACCAAGCTGCTTTGTGCGCCCCGGCAGCGGGTCCACCGCGGCACTT
-1 C A S R A L I V T P E V F C G P G D G L T G G H I

6376 TGATCTGGCTGCCTTCGGCGGGGCGATGGCGAACAGTTCGGCCAGCTTCTGCTGGTGGCGCTTGTGGCCACGG
ACTAGACCGACGGAAGCCCGCCCGTACCCTTGTCAAGCGGTCGAAGACGACCAGCCGAACACCGGTGCC
-1 I Q S G E A R A I A F L E A L K Q Q H P K N A V P

6451 GGCCGAACGGTGGCCTCGTCCAGTGGCGAGCCGATTTTCAGTTGGCCAGGCGCTGGGACAGGGCGTCCAGCA
CCGGCTTACCCACCGGAGCAGGTACCCTCGGCTAAAAGTCAACCGGGTCCGCGACCCTGTCCCGCAGGTGCT
-1 G F Q T A E D L P S G I K L Q G L R Q S L A D L L

6526 GCGGGTCGATGCGCGAGCGGTGCACATAGAAGCGCTCGCCCGGGCGCAGATTTGCCCCGAGTGCAGGAAGCCGG
CGCCAGCTACGCGCTCGCCACGTGTATCTTCGCGAGCGGGCGCCGCTTAAACGGGGCTCACGTCCTTCGGCC
-1 P D I R S R H V Y F R E G A A C I Q G S H L F G A

6601 CCTCGATGATGCCCTCCACAGCCTTGTGCGTTGCCACGTCGGGCGAGGAAGGCCACCGGTTCTTGGCCCGCAGTT
GGAGCTACTACGGCAGGTGTCGGAACAGCCAACGGTGCAGCCGCTCCTTCCGGTGGCGCAAGAACGGCGGTCAA
-1 E I I G D V A K D T A V D P L F A V A N K G G L E

6676 CCAGTGTGCGACGGGTGAGCTTGGCGCCATGGCAGCCTGGCCTACGGCGATGCCAGTGGGACGGAGCCGGTGA
GGTACAGCGTGGCCAGTCAACCGGGTACCCTCGGACCGGATGCCGCTACGGTACCCGTCGCTCGGCCACT
-1 L T A R T L K A G M A A Q G V A I G T P V S G T F

6751 ACGAGACCTTGTGCGTACCTGCGTGTGATCAGTGCCTTGGCCACCAGGCCACCACCGGTCAGCAGTTCAGTG
TGCTCTGGAACAGCCATGGACGCACGAGCTAGTACGGAACGGGTGGTCCGGTGGTGGCCAGTGTGCAAGTAC
-1 S V K D T G A H E I L A K G V L G G G T L V N L A

6826 CACCGCCGGCGAGGCTGCTTCGGTGGCCAGTTCGGCAATGCGCAGCAGCGTCAGCGGGGTGAATTGCTGGGCT
GTGGCCGGCGTCCGACGAAGCCACCGGTCAAGCGTTACGCGTGTGCGAGTCCCGCCACTTAAAGCAGCCGA
-1 G A P L G A E T A L E A I R L L T L P T F E S P K

ES 2 387 150 A1

6901 TGAGGATAATGCTGCAGCCGGTTGTGAGGGCCGAGGCCAGCTTCCAGATGGCGATCATGCTGGCGAAGTTCACG
 ACTCCTATTACGACGTCCGGCAACAGTCCCGGCTCCGGTCGAAGGTCTACCGCTAGTACGACCGCTTCAAGGTGC
 -1 L I I S C G T T L A S A L K W I A I M S A F N W P

6976 GCACGATGCCACCACCACGCAATCGGCTCGCGCAGGGTGAAGGGCTGTAGCGCTACCGGCGAACGAGGGCA
 CGTGTACGGGTGGTGGTTCGCGTTAGCCGAGCGCTCCACTTCCGCGACATCGCGAGTGGCCGCTTGCTCCCGT
 -1 V I G V V V G I P E R L T F A S Y R E G A F S P L

7051 GCGACGGGGTGATGGTCTGGCCGGTATCTTGGTCGCCCAGCCGGGTAGTAGCGCAGGAAGTGGCGGCTGCT
 CGCTGCCCCACTACCAGACCGGCCACTAGAACAGCGGGTCCGGCCATCATCGCGTCTTACGCGCCGGACGA
 -1 S P T I T Q G T I K T A W G A Y Y R L F H A A Q Q

7126 GTACTTCGAACGCACGGAAATGCCGATGAGCTTCCGGATGCAAGGTTTCCAGTGCGCCAGTCTTCCGGGT
 CATGAAGCTTGGTGCCTTTACGGCTACTCGAACGGCCTAACGTTCCAAAGGTCGACGCGGTCAAGAAGCGCCA
 -1 V E F A R S I G I L K G S Q L T E L Q A L E E R N

7201 TGGCTTCCAGCAGGTCCGCCAGCTTGAACAGCACTGCGGCGGGGGCGGGGCTGGTGTGCGACCAGGCGGTAA
 ACCGAAGGTCGTCCAGCCGTCGAACTTGTGCTGACGCGCGCCCGCCCGCCGACACAGCTGGTCCGCCATT
 -1 A E L L D A L K F L V A A R A A P S T H S W A T F

7276 AGCCTTGGCGCGAGGAGTGCAGGCATGGTCGACATCGGCCTGGTGGCGTCGGCGATGTGGCGATGGTCTGGC
 TCGGAACCGCGCTCCTCGACTGCCGTACCAGCTGTAGCCGACCAACCGCAGCCGTACACCGCTACCAGACCG
 -1 G Q R S S S V A H D V D A Q N A D A I H A I T Q G

7351 CGTTGGCCGGGTTGACCACGGCAATGTTGACGACGACTGGCTGGCGAGGTGCTGGCCGTGGATGAACACGCCAT
 GCAACCGGCCCAACTGGTGGCGTTACAAGTGTGCTGACGACCGCTCCACGACCGGCACCTACTTGTGGCGTA
 -1 N A P N V V A I N S S S Q S A L H Q G H I F V G H

7426 GCTCGCGGGCCAGGAAGGCCGTGACGGCAGGTAGGAGGGTGTGCTGCTCATGCGACTCCGGGGCAGTTGGCCA
 CGAGCGCCCGTCTTCCGGCACTGCCGTCCATCCTCCACTACAGCGAGTACGCTGAGGGCCCGTCAACCGGT
 -1 E R A L F A T V A P L L T I D S **M**

← *tynC*

7501 AAGTTTGCAGCTTAATAAGCGGGGAGTGGCGGTGCTTGTGCCTGCGTGACAGGTGCATGACTGTGGCTGCCAAC
 TTCAAACGTGCAATTATTCCGCCCCGTACGCCACGAACACGGACGCACTGTCCACGTAAGTACACCGACCGTTGG

7576 GCACTGGGTAAGCCTTGTGGGAGCGGCCTTGTGTCGCGATAGGGCCGACAGCGGCCCGCGGATGTTGGCGGG
 CGTGACCCATTCCGGAACACCTTCGCGGAACACAGCGCTATCCCGCGTCTCGCCGGGGCCGCTACAACCGCCG

7651 AAGTGAAAATGCTGGGGCCGCTTCGCGCCCTATCGCGACGCAAGGCCGCTCCACAAAAAAGCGAGCGTAGG
 TTCGACTTTTACGACCCCGCGAAGCGGGGATAGCGCTGCGTTCGGCGGAGGGTGTTCGCTCGCATCC

7726 CCGGGCTGATTGCTGGCAGGCAGCAACAAGCCCGCGGCAGCCATCGGCAAGACGCCATGCCACCGGCAGCGCAC
 GGCCCGACTAACGACCGTCCGTGCTTGTTCGGGCGCCGTCGGTAGCCGTTCTGCGGTACGGTGGCCGTGCGGTG

tynG →

+3 T **M** S L N N K L T E H

7801 AGTAATCACTCGTTCAACGCCACAAAAACAAGCCGGGGCATAACGATGCTCACTCAATAACAAGCTCACCGAGCACC
 TCATTAGTGAGCAAGTTGCGGTGTTTTTGTTCGGCCCCGATGCTACAGTGAGTTATTGTTGAGTGGCTCGTGG

+3 L N R G T V G F P T A L A S T V G L I M A S P V I

7876 TCAACCGCGGCACTGTCGGTTCACCCAGCAGTGGCCAGCACTGTCGGGCTGATCATGGCCAGCCCGGTGATCC
 AGTTGGCGCGTGACAGCCAAAGGGGTGGCGTGACCGGTGTCGACAGCCGACTAGTACCGGTGCGGCCACTAGG

+3 L T A T M G F G I G G S A F A V A M V I A A L M M

7951 TCACCGGACCATGGGCTTTGGCATCGGCGGCAGCGCCTTCGCGTGGCCATGGTCATCGCCGCACTGATGATGC
 AGTGGCGCTGGTACCCGAAACCGTAGCCCGCGTCGCGGAAGCGGCACCGGTACCAGTAGCGCGTACTACTACG
 +3 L A Q S T T F A E A A S I L P T T G S V Y D Y I N

8026 TGGCGCAGTCCACCACCTTTGCCGAGGCTGCGTCGATCCTGCCGACACGGGCTCGGTATACGACTACATCAACT
 ACCGCGTCAGGTGGTGAACGGCTCCGACGCACTAGGACGGCTGGTGGCCGAGCCATATGCTGATGTAGTTGA

+3 C G M G R F F A I T G T L S A Y L I V H V F A G T

8101 GTGGCATGGCCGTTTCTTCGCCATTACCGGCACGCTGTCGGCCTACCTGATCGTGCATGTGTTCCGCGGTACCG
 CACCGTACCCGGCAAAGAAGCGGTAATGGCCGTGCGACAGCCGGATGGACTAGCACGTACACAAGCGGCCATGGC

+3 A E T I L S G V M A L V N F E H L N T L A E S A G

8176 CCGAAACCATCCTGTCGGGGTGATGGCGTGGTGAACCTCGAGCACCTCAATACCTGGCGGAATCCGCGGGC
 GGCTTTGGTAGGACAGCCCCACTACCGCAGCACTGAAGCTCGTGGAGTTATGGGACCGCCTTAGGCGGGCCG

+3 G S W L L G V C F V V A F A V L N A F G V S A F S

8251 GTTCGTGGCTGCTGGGGGTGCTTTCGTGGTGGCGTTTGGGTGCTCAATGCCTTTGGCGTCAGCGCTTACGCC
 CAAGCACCGACGACCCACAGCAAGCACCGCAAACGCCACGAGTTACGGAAACCGCAGTCCGCGGAAGTCCG

ES 2 387 150 A1

+3 R A E V V L T F G M W T T L M V F G V L G L I A A
8326 GCGCGGAAGTGGTCCTCACCTTCGGCATGTGGACCACCTTGATGGTGTTCGGCGTGCTTGGCCTGATCGCCGCAC
CGCGCCTTACCAGGAGTGAAGCCGTACACCTGGTGAACCTACCACAAGCCGCACGAACCCGGACTAGCGGGGTG

+3 P A V E L D G P F G V S L V G T D L M T I L S L V
8401 CCGCAGTGGAACTGGACGGCCCGTTCGGCGTGTGCGTGGTGGGCACCGACCTGATGACCATCCTCTCGCTGGTGG
GGCGTCACCTTGACCTGCCGGGCAAGCCGCACAGCGACCACCCGTGGCTGGACTACTGGTAGGAGAGCGACCAGC

+3 G M A M F M F V G C E F V T P L A P E L R R S A W
8476 GCATGGCCATGTTTCATGTTTCGTTGGCTGCGAGTTCGTACGCCCGTTCGCCCCGAACCTGCGTCGCTCGGCCTGGG
CGTACCGGTACAAGTACAAGCAACCGACGCTCAAGCAGTGGGCGAACGGGGGCTTGACGCAGCGAGCCGGACCC

+3 V L P R A M A L G L F G V A S C M F I Y G A A M K
8551 TGCTGCCCGGGCCATGGCGCTGGGCGTGTTCGGCGTGGCCAGCTGCATGTTTCATCTACGGAGCGCGGATGAAGC
ACGACGGCGCCCGGTACCGCGACCCGGACAACCCGACCCGGTTCGACGTACAAGTAGATGCCTCGCCGCTACTTCG

+3 R Q V E N V V L D A A S G V H L L D T P M A I P R
8626 GCCAGGTGGAAAACGTGGTGTGGATGCCGCCAGTGGCGTGCACCTGCTGGACACGCCCATGGCCATCCCGCGCT
CGGTCCACCTTTTGCACCAGACCTACGGCGGTACCCGCACGTGGACGACCTGTGCGGGTACCGGTAGGGCGCGA

+3 F A E Q V M G D I G P V W L G I G F L F A G A A T
8701 TCGCCGAGCAGGTGATGGGTGATATTCGCCCGAGTGGCTGGGTATCGGCTTCCTGTTTCGCCCGCGCGGCCACCA
AGCGGCTCGTCCACTACCCACTATAACCGGGTACACCCGACCCATAGCCGAAGGACAAGCGCCCGCGCGGTGGT

+3 I N T L M A G V P R I L Y G M A V D G A L P K V F
8776 TCAACACGCTGATGGCCGGTGTGCCACGCATTCTTTACGGCATGGCGGTGGACGGCGCGTTCGCCAAGGTGTTCA
AGTTGTGCGACTACCGGCCACACGGTGGCTAAGAAATGCCGTACCGCCACCTGCCGCGCAACGGGTTCCACAAGT

+3 T Y L H P R F K T P L L C I L V V A L I P C L H A
8851 CCTACCTGCACCCCGCGCTTCAAGACGCCGCTGCTGTGCATCCTGGTGGTGGCGTTCATCCCTTGCTGCATGCCT
GGATGGACGTGGGCGCAAGTTCGTGCGGCGACGACAGCTAGGACCACCACCGCCAATAGGGAACGGACGTACGGAA

+3 W Y L G G N P D N I L H L V L A A V C A W S T A Y
8926 GGTACCTGGGCGGCAACCCGGACAACATCCTGCACCTGGTGTGGCGCGCTGTGCGCCTGGAGCACCGCCCTACC
CCATGGACCCCGCGTTCGGCCTGTTGTAGGACGTGGACCACGACCGGCGGACACGCGGACCTCGTGGCGGATGG

+3 L L V T L S V V I L R I R R P D L P R A Y R S P L
9001 TGCTGGTGACCCTGTCGGTGGTATATTGCGCATCCGCCGCCAGACCTGCCGCGTGCCTACCGCTCGCCGCTGT
ACGACCCTGGGACAGCCACCCTATAACCGGTAGGCGGCGGGTCTGGACGGCGCACGGATGGCGAGCGGCGACA

+3 F P L P Q I F S S S G I L I G M A F I T P P G M N
9076 TCCCGTTGCCGCGAGATATTCTCCAGTAGCGGTATCCTCATCGGCATGGCGTTCATCACACCGCCGGCATGAACC
AGGGCAACGGCGTCTATAAGAGGTTCATCGCCATAGGAGTAGCCGTACCGCAAGTAGTGTGGCGGCCGTACTTGG

+3 P A D V Y V P F A I M L G A T A A Y A L F W T L W
9151 CTGCCGATGCTACGTGCCGTTTCGCCATCATGCTTGGCGCCACTGCGGCCTATGCATGTTCTGGACGCTGTGGG
GACGGCTACAGATGCACGGCAAGCGGTAGTACGAACCGCGGTGACGCCGGATACGTAACAAGACCTGCGACACCC

+3 V Q K V N P F K P A R V E D V L E K E F A A E P G
9226 TGCAGAAGTCAACCCGTTCAAGCCGGCGCGGGTGCAGGATGTGCTCGAGAAAGAGTTCCTGCGCCGAGCCTGGCC
ACGCTCTCCAGTTGGGCAAGTTCGGCCGCGCCAGCTCCTACACGAGCTCTTTCTCAAACGACGGCTCGGACCGG

+3 H A V E H V L H D Q K F A ■
9301 ACGCCGTGGAGCACGTGCTGCATGATCAGAAATTTGCGTGAACGCTTGCTGGCGCCCGAGCGCCTTCAGGCTAT
TGCGGCACCTCGTGCACGACGTACTAGTCTTTAAACGCACTTGCGAACGACCCGCGGGGCTCGCGGAAGTCCGATA

9376 CGCCAGGGCGCCACGCTGGCATGCCTGGCGCGCAACCTGGGGCAGCAGAACCTGGTGGCGGCGGGGTGATCCAC
GCGGTCGCGGGTGGCACCCTACGGACCGCGGTTGGACCCCGTCTCTTTGGACCACCGCCGCGCCACTAGGTG

9451 GACCCGCGCCAGGGTTGGCAGGCCACGGTGCACGAACGCGTTCGAGGCCACCTGCTGATGCACATCGTACCTGT
CTGGGCGGGTCCCAACCGTCCGGTGCACGTGCTTGGCGAGCTCCGGTGGACGACTACGTGTAGCAGTGGACA

9526 GAGTTCAGCTGCAGTTGCCCTGCTCCGCAAGGGGGCGAGGTACAGCTGGAGCTGCGCCATAACCGGTGCGCTTCGC
CTCAAGTTCGACGTCAACGGACGAGGCGTTCCCCCGCTCCAGTCCGACCTCGACGCGGTATGGCCACCGCAAGCG

9601 CGTGCCGCGCTGGCCTGTGTGTACCGCAAGGGCGACCGGGCGCGCTTCGCCGACTGCGCGACCGGTTGCTGCAG
GCACGGCCGGACCGGACACACATGGCGTTCCCGTGGCCCGCGCAAGCGGGTGCACGCGTGGCCAACGACGCTC

9676 CAGGCGCACTGGTGGCGGCGTGTGCGCTGGATTTCAAGCGCCTGACCTTGGCCTGGCGCGACGGCCAATGG
GTCCGGCGTACCACCGCCGCGACTACGGCGACCTAAAGTTCGCGGACTGGAACCGGACCGCGCTGCGGGTTACC

9751 TTGTGACCTGGAGCACATGGGCGGTAGCGAAGTGGTCAACCGCATGCCAGCGTTCGCCGCTACATCCCCATC
AACGACTGGGACCTCGTGTACCCGCCATCGCTTACCAGTTGGCGTACGGTTCGCAAGCGGGATGTAGGGGTAG

ES 2 387 150 A1

9826 AGCCCGCAACAGCGGGCGCACCTGATGGCCAGCCTGGCCCAGTTCAACACTTTGCTACCTAACCTTTGACGCAAA
TCGGGGCTTGTGCGCCGCGTGGACTACCGGTGCGACCGGGTCAAGTTGTGAAACGATGGATTGGAAACTGCGTTT

9901 CTGGCATAACGCTTGTCTGTATCAAGCGACGAATGATGACAGTTGTGCGCACATAGATAACATGTTAACAATGTGC
GACCGTATGCGGAACGACATAGTTTCGCTGCTTACTACTGTCAACACGCGTGTATCTATTGTACAATGTTACAGC

tynR →

+3 M H T Q Q S N R Q G L E R W

9976 GCATAACAACAAATCCTGCGTCGAGGGCAGCCATGCATACTCAACAATCCAACCGTCAGGGGCTGGAACGCTGGA

+3 T T A M Q Q I C G R F E T E L A S N H S L F I G E

10051 CCACGGCCATGCAACAGATCTGTGGCCGTTTCGAGACGGAACCTTGGTCCAACTACTCGCTGTTTACGCGGAGG
GGTGCCGTTACGTTGTCTAGACACCGGCAAAGCTCTGCCTTGAACGAGGTTAGTGAGCGACAAGTAGCCGCTCC

+3 V S T F S R A G L P L A N L R T N A G N I R R L G

10126 TTTCTACCTTTTCCCGTGCAGGCTTGCCTGCGCAACCTGCGCACCAATGCGGGCAACATCCGCGGCTGGGCG
AAAGATGGAAAAGGCGACGGCCAAACGGCGACCGGTTGGACGCGTGGTTACGGCCGTTGTAGGCGGCGACCCCG

+3 E N P T L D D D Q H C F L V S Q R A G H S T V S Q

10201 AAAACCCGACCTTGACGATGACCAGCATTGTTTCCCTGGTCAGCCAGCGTGCAGGGGATTCACCCGTGTCAGG
TTTTGGGCTGGAACTGCTACTGGTCGTAACAAAGGACAGTGGTTCGCACGCCCCGTAAGGTGGCACAGGGTCC

+3 G G M Q V S L A P G E L L L M D S V G R C E I T P

10276 GGGGATGCAGGTGACGCTGGCGCCGGGTGAGCTGTGCTGATGGATTGCGTTCGGGCGCTGGGAAATCACCCECA
CCCCGTACGTCCAGTCGGACCGCGGCCACTCGACGACGACTACCTAAGCCAGCCCGGACGCTTTAGTGGGGGT

+3 S G L I E H V S L A L S R E Q V R K Y V Q G S G P

10351 GTGGGTTGATCGAACATGTCTCGCTGGCCCTGTGCGGTGAGCAGGTACGCAAGTATGTGCAAGGCAGCGGCCCGA
CACCCAACCTAGCTTGTACAGAGCGACCGGGACAGCGCACTCGTCCATGCGTTCATACAGCTTCCGTGCGCGGGCT

+3 M F G K I S S S N A C G R M L H V L M D Q L C K D

10426 TGTTTGCAAGATCTCCTCGAGCAACGCCCTGGGGCGCATGCTGCATGTGCTGATGGACCAACTGTGCAAGGACG
ACAAACCGTTCTAGAGGAGCTCGTTGCGGACGCCCGGTACGACGCTACACGACTACCTGGTTGACAGCTTCTCTGC

+3 G N V S G D G A Q G D A L Q T A F I A L L E P G F

10501 GCAATGTAAGCGGTGATGGGGCCAGGGCGACGCGTGCAGACCGCCTTCATTGCCCTGCTGGAGCCAGGCTTCG
CGTTACATTCGCCACTACCCCGGGTCCCGCTGCGCGACGCTTGGCGGAAGTAACGGGACGACCTCGGTCGGAAGC

+3 E R H G E A L G N L G A L N G A N L R G Y V Q Q V

10576 AGCGCCATGGCGAAGCGCTGGGCAACCTTGGGGCCTTGAACGGGGCAACCTGCGGGGCTACGTGCAGCAGGTGA
TCGCGGTACCCTTCGCGACCCGTTGGAACCCCGAACTTGCCCCGTTGGACGCCCGGATGCACGCTCGTCCACT

+3 I D E S L S Q P G L T P S N L A G R L N I S V R H

10651 TCGACGAGTCCCTGTACAGCCCGGGCTGACCCCGTCCAACCTGGCCGGTGCCTGAACATCTCGGTGCGTACC
AGCTGCTCAGGGACAGTGTGCGGGCCGACTGGGGCAGGTTGGACCGGCCAGCGGACTTGTAGAGCCACGACGTGG

+3 L Y R L F E E E G D S V C R Y I Q R A R L K R S A

10726 TGTACCGGCTGTTTCGAGGAGGAGGGCGATAGTGTGTGCCGTACATTCAGCGGGCGCGCTGAAGCGCAGTGGCG
ACATGGCCGACAAGCTCCTCCTCCCGCTATCACACCGGGCATGTAAGTCGCCCGCGGGACTTCGCGTACGCGC

+3 D D L A N P F F R S E S I T S I A Y K W G F T D S

10801 ATGACCTGGCCAACCCGTTCTTCAGGAGCGAGTCGATTACCTCGATTGCCTACAAGTGGGGGTTTACCAGCTCGG
TACTGGACCGGTTGGGCAAGAAGTCTCGCTCAGCTAATGGAGCTAACGGATGTTACCCCAATGGCTGAGCC

+3 A H F S R S F K K Q F E R S P K D Y R A Q A M V ■

10876 CGCATTTACGCCGCTCGTTCAAGAAACAGTTCAACGCTCGCCCAAGGACTACCGGGCGCAGGCGATGGTTTGGAG
GCGTAAAGTCGGCGAGCAAGTTCTTTGTCAAGCTTTCGAGCGGGTTCCTGATGGCCCGCGTCCGCTACCAAACTC

10951 TGTGATGGTGTGCTTGTGCGGGCCTCATCGCCGGCAAGTCACTTGGCGCGGTTTACGCGACGGCCGTTGAAGTA
ACACTACCACGACGAACACGCCCGGAGTAGCGGCGTTCAGTGAACCGCCGCAAGTTCGCTGCCGGCAACTTCAT
-2 ■ R R G N F Y

11026 GCCCCACAGCTGGTGCACGGTCTTCCCGGCAAGTGCAGCAGCGGGCGGAAATGGTCCCTTCCGAGGATGCGCGC
CGGGCTGTGACACAGTGCAGAGACGGCCGCTACTCGTCTGCGCCGCTTTACCAGGAACGGCTCCTACGCGCG
-2 G S L Q H V T K G A T L L L P R F H D K G L I R A

11101 ATGCTTGACCGAGCTGACCAGGTATAGCGCTTCGATCCCTCCTGCATACCCTCGGCGAGTATCTTGCAAATGAT
TACGAACTGGCTCGACTGGTCCAGTATCGCGAAGCTAGGGAGGACGTATGGGAGCCGCTCATAGAAGCTTTACTA
-2 H K V S S V L D Y R K S G E Q M G E A L I K C I I

11176 GTGGCTGGGCGTGACGCCAAAGCCGGAGTAGCCCTGCACATAGAAAGCGTTGGGGCGGTTGTCGAGGGTGCCTAT
CACCGACCCGCACTGCGGTTTCGGCTCATCGGGACGTGTATCTTTTCGCAACCCCGCAACAGCTCCCACGGATA
-2 H S P T V G F G S Y G Q V Y F A N P R N D L T G I

11251 CTGCGGAAACAGGTTGGCACTGGTGGCCATCGGGCCGCCCCAGGCCAGGTCGATGCGCACGCTTTTCAGGTAGGG

ES 2 387 150 A1

GACGCCTTTGTCCAACCGTGACCACCGGTAGCCCGGGGGTCCGGTCCAGCTACGCGTGCAGAAAGTCCATCCC
-2 Q P F L N A S T A M P G G W A L D I R V D K L Y P

11326 GAAAATCTTCAGCATCAGCGCGCGGTTCCACGCCTTCAGGTCCAGCGGGAAGTGTCTGACGAAGGGCGTGGCGGC
CTTTTAGAAGTCTAGTTCGCGCGCAAGGTGCGGAAGTCCAGGTTCGCCCTTCACGAGCTGTCTCCCGCACCGCCG
-2 F I K L M L A R N W A K L D L P F H E V F P T A A

11401 GCCAAACAGCAGGCGGTTCTCGCGGGTGACCCGGTAGTAGTCGATCACCAGGCGGATGTGCTGTAGGCCCGCGG
CGGTTTGTGCTCCGCCAAGAGCGCCCACTGGGCCATCATCAGCTAGTGGCCCGCTACAGCGACATCCGGGGCGC
-2 G F L L R N E R T V R Y Y D I V P R I D S Y A G R

11476 TATCGGGCTGATGCGCTCGATCAGCTCATCCGGCAATGGCTCGGTATCATCTGGAAGGCATAGGTGTTTATAGT
ATAGCCCGACTACGCGAGCTAGTCGAGTAGCCGTTACCGAGCCAGTAGTAGACCTTCCGTATCCCAAATATCA
-2 I P S I R E I L E D P L P E T M M Q F A Y T N I T

11551 GCGTGCCTGCAGCTGCGGCTCCAGCTTGTGAGGAAGTGTGCGCACGCCACAGCAGCTTGTGGCGCGTACCGA
CGCAGCAGCTCGACGCGGAGGTGCAACAACCTCCTTCGACAGCGTGGGGTGTGCTGCAACGACCGCGCATGGCT
-2 R A H L Q P E L K N L F S D C A W L L K S A R V S

11626 GCCACGGCCGGTGCCTACCGTGTGCTCGCCGTAGGTCACTTCCAGGGCCGGGCTGTGTTGGAAGATGCGCGC
CGGTGCCGGCCACGCATGGCACTACGCGAGCGGCATCCAGTGAAGGTCCCGGCCGACACAAGCTTCTACGCGCG
-2 G R G T R V T I R E G Y T V E L A P S H E F I R A

11701 ACCATGGCCACCAGTGCCTGCGCTTCGCCCAGCAGAGGTTACGGGAATGCACATGGCCACCGCCCATGTGCAT
TGGTACCGGGTGGTACGGACGGAAGCGGGTGTGCTCCAAGTCCCTTACGTGTACCGGTGGCGGGTACACGTA
-2 G H G V L A Q A E G L L L N L S H V H G G G M H M

11776 CAGGGCGCTGCTGTAGGCGTGTGCTGCCGATGATCTGGCGCACTTCGCTGCCACCGAGAAAACGGATCTCGTCCGG
GTCCCGCGACGACATCCGCAACGACGGCTACTAGACCGCGTGAAGCGACGGTGGCTCTTTTGCCTAGAGCAGCGC
-2 L A S S Y A N S G I I Q R V E S G G L F R I E D R

11851 GGTATTGATCGCCTTGAACGCCTTCTCCCATTTGCGCAGGGTCTGTTCCTGGCGCGGTTGAAGCCCATGTAGCC
CCATAACTAGCGGAACCTTGCGAAGAGGGTAAACCGCTCCAGACAAGGACCGCCGCAACTTTCGGGTACATCGG
-2 T N I A K F A K E W K R L T Q E Q R R N F G M Y G

11926 ATAGCCGTGGCAGAAGTCCGGCTCGATGGCGTAGCGGGCGATGCGGTCCTTGATGATGCCGGCGCCAGTTTCGCT
TATCGGCACCGTCTTCAGCCGAGCTACCGCATCGCCCGCTACGCCAGGAAGTACTACGGCCGCGGGTCAAGCGA
-2 Y G H C F D A D I A Y R A I R D K I I G A G L E S

12001 GATTCGAAAATATCCCTCAGCCCTGATCACCGACGCTGTGCGGATCTTCTCCAGGTTCGTGGCCGATGCCCGC
CTAAAGCTTTTATAGGGAGTGCGGGACTAGTGGCTGCGACGACCGCTAGAAGAGGTCCAGCACCGGCTACGGGGC
-2 I E F I D R V G Q D G V S S R I K E L D H G I G A

12076 CATGATCTGCCCGCCTTGCGCCCGTACCGCCGTAGCCCAGATAACGGCCCTCGAGCACGACGATATTGGTCAC
GTACTAGACGGGGCAACGCGGGCGATGGCGGCATCGGGTCTATTGCCGGGAGCTCGTGTGCTATAACCAAGT
-2 M I Q G G N R G S G G Y G L Y R G E L V V I N T V

12151 GCCTGTTCGCCAGCTCCAGGGCGGTGTTAATGCCGGAGAAACCGCCACCGATCACCCAGACATCGCCCTCGAT
CGGAACAAGCGGTCGAGGTCCCGCCACAATTACGGCCTCTTTGGCGGTGGCTAGTGGTGTGTAGCCGGAGCTA
-2 G Q E A L E L A T N I G S F G G G I V V V D A E I

12226 GTCGCTTCCAGGGTGGGAAGCTCAGGTTGACTTCTTGGTGCAGGAGTAGTAGGTGGGGCTCTCAGGGTGAT
CAGCGCAAGTCCCAACCTTCGAGTCCAACATGAAGAACCAGCGGCTCATCATCCACCCGAGAGCTCCCACTA
-2 D R E L T P F S L N Y K K T A S Y Y T P S E L T I

12301 CATGACCGCCTGTGACTGGAAATGGGTGAAATCATTCTATTAATGTATTAATGATTGTGCACTGGCATACT
GTACTGCGGGGACGACTGACCTTTACCCATCTTTAGTAAGATAATTACATAATTACTAACACGTGACCGTATGA
-2 M V G G A S Q F H T S I **M**

+3 **M** T T P R P S L T L T L L

12376 CGCCGGTTTGTCTATTTCCAGCCTCCTTGAGCCCGCATGACCACACCGAGACCCCTCCCTGACCTGACCTTGTCTGC
CGGCCAAACGATAAAGGTTCGGAGGAACCTCGGGCTACTGGTGTGGCTCTGGGAGGACTGGGACTGGAACGACG

+3 Q A R E A T M A F F R P A L N A H D L T E Q Q W R

12451 AGGCGCGCAAGCCACCATGGCGTTCCTCCGCCCGCGCTGAATGCCCATGACCTGACCGAGCAGCAATGGCGGG
TCCGCGCGCTTCGGTGGTACCGCAAGAAGCGGGCCGCACTTACGGGTACTGGACTGGCTCGTTCGTTACCGCC

+3 V I R I L R Q Q G E L E S H Q L A E L A C I L K P

12526 TAATCCGTATCCTGCGCCAGCAAGCGAGCTGGAAGCCATCAGTTGGCGGAGCTGGCCTGTATCCCAAACCCA
ATTAGGCATAGGACGCGGTTCGCTCGACCTTTCGGTAGTCAACCGCTCGACCGGACATAGGAGTTTGGGT

+3 S M S G V L K R L E R D G I V A R R K S P E D Q R

12601 GTATGAGCGGGTGTCAAGCGCCTGGAGCGTGACGGCATCGTAGCGGGCGCAAGTCCCGGAGGACCGCGCC

ES 2 387 150 A1

CATACTCGCCCCACGAGTTCGCGGACCTCGCACTGCGCTAGCATCGCGCCGCGTTCAGCGGCCCTCCTGGTCGCGG

+3 R V F I S L T E A G Q Q A F L A M S E E M T R N Y
12676 GGGTGTTCATCAGCCTGACCGAGGCCGCGCCAGCAAGCGTTTCTGGCGATGAGCGAGGAGATGACCCGCAACTACG
CCCACAAGTAGTCGGACTGGCTCCGGCCGGTTCGTTTCGCAAAGACCCTACTCGCTCCTCTACTGGGCGTTGATGC

+3 D K I L A Q F G D D K L Q Q L M Q L L G E M K K I
12751 ACAAGATCCTCGCCCAGTTTGGCGATGACAAGCTGCAGCAGCTGATGCAGCTGCTGGGTGAAATGAAGAAGATCA
TGTTCTAGGAGCGGGTCAAACCGCTACTGTTTCGACGTCGTCGACTACGTGACGACCCACTTTACTTCTTCTAGT

+3 K P █
12826 AACCTGACGCGCCAGGCGTCAGCGGTTGAGTGACAGCGAGTCTTCCAGCACTTTCAGCAGTGCTGCGCGCGGCC
TTGGGACTGCGCGGTCCGCACTCGCAACTCACTGTCGCTCAGAAGGTCGTGAAAGTCGTACGACGGCGCGCGG
-1 █ R N L S L S D E L V K L L A A A R R

12901 GCTCATAGGCGTCGGGGCCTGCGTACATCAGCTCTACATACAGGCTGTGATGATGCCAGGTAGGCATCGGCAT
CGAGTATCCGACGCCCCGACGCATGTAGTCGAGATGTATGTCGACAGCTACTACGGGTCCATCCGTAGCCGTA
-1 E Y A D P G A Y M L E V Y L S D I I G L Y A D A Y

12976 ACAGCGCCAGGCGGTGTGCTGCTCATGCGCCAGCCGTGGCGAGCTTGCAGGGCCACGCTGAACCTTTCGCGTA
TGTCGCGGTCCGCGACACGACGAGTACGCGGGTTCGGCACCCTCGAACGTCGCGACTTGGGAAGCGCAT
-1 L A L R S H Q E H A W G H R A Q L A V S F G E R I

13051 TGCCGTCCAGGTACTGTTCAAAGCCCGAAGTGACAATCGGCTTGATGCCCGCCGGGGCAGGAACGCCGTGCGCA
ACGGCAGGTCCATGACAAGTTTCGGGCTTCACTGTAGCCGAACACTACGGCGGGCCCCCGTCTTGGCGCACGCGT
-1 G D L Y Q E F G S T V I P K I G A P P L F A T R L

13126 ACACGAAGCGCAGTTGGGCGAGTCGCGATAACGTTTCGGCCAGGTGCAGGGCCAGCCAGTGCACCGCCGCGCAGGC
TGTCGTTCCGCTCAACCCGCTCAGCGCTATTGCAAGCCGTCACGTCGCGGTTCAGGGGCGCGGTCCG
-1 V F R L Q A S D R Y R E A L H L A L W H G A A L G

13201 CGTCGCGGGTTCCTGCGCAAAGCCGTGCTCGCAAAGCCGTTTCTGCAACAAGCGCACGCTGGAACACCTCCA
GCAGCGCCCCAAGGACGCGTTTCGGCAGCAGCTGTTTCGGCAAAGGACGTTTCGCGTGCACCTTGTGGAGGT
-1 D R A E Q A F G H E V F A T E Q V L A R Q F V E V

13276 CGAACAAGGCGTCTTGTGGCGAAATGCGCATACAGCGATGCCTTGGCGATGCCCGCAACTGGGCGATTTTCGT
GCTTGTTCGCGAGGAACAACCGCTTACGCGTATGTCGCTACGGAACGCGTACGGGCGGTTGACCCGCTAAAGCA
-1 F L A D K N A F H A Y L S A K R M G A L Q A I E N

13351 TCAGCGAAGAGGCGTCATAACCGTACTCGGCGAAGTGGCCGACGGCGGCATCGCACACACGACCCGAGAAGGGG
AGTCGCTTCCGCGAGTATTGGCATGAGCCGCTTACCAGGCTGCCGCCGTAGCGGTGTGTGCGTGGCGTCTTCCCC
-1 L S S A D Y G Y E A F H G V A A D C V R V A S P S

13426 AAAGGTCTTTCAACAGCATCACTCCGTCAGGGGCGCGGGCGCGCGCTTGTAGGGTGGGATGTGGTGAT
TTTCCAGAAAGTTGTCGTAAGTGGAGTCCCGCGCCGCGCGCGCGAGAACTCCACCCCTAACACCACTA
-1 L D K L L █

← **tetR**

13501 CGAAAATGCACGGGTCAATGCTTGTGCAAGGCAATTTCCGGGCGCCATGGAAGTGAATGTTCCCTTCGTAAC
GCTTTTACGTGCCAGTTACGAACAGCGTTCGTTAAAGGCCCGCGGTACCTTTACGTTACAAGGGGAGCATTG
hpaB → █

+3
13576 GTGCATTCCTCCACCAATCGCCGCTCACATACTGATCGCGTCTTCAATCCAATAAGAAAGAGACCGCTCATGA
CACGTAAGGAGGTGGGTTAGCGGCGAGTGTATGACTAGCGCAGAAGCTTAGGTTATTCTTTCTCTGGCGAGTACT

+3 K K P N P L L E D L K S V L P T I A A N A M R A E
13651 AAAAGCCAAACCCCTGCTGGAAGACCTGAAGTCCGTCCTGCCACCATTGCCCAATGCCATGCGTGCAGAGC
TTTTCGGTTTGGGGACGACCTTCTGGACTTCAGGCAGGACGCGTGGTAACGGCGGTTACGGTACGCACGTCCTCG

+3 Q D R S V P A E N I A L L K S I G M H R A F L P K
13726 AGGACCGCAGTGTGCCGCGCAGAGAATATCGCCTTGCTGAAAAGCATCGGCATGCACCGCGCTTCTTGGCCAAAC
TCCTGGCGTCACACGCGCTCTCTTATAGCGGAACGACTTTTCGTAGCCGTACGTGGCGCGAAAGACGGGTTG

+3 H F G G M E I T L P E F A Q C I A L L A G A C A S
13801 ACTTCGGCGGCATGGAATCACCCTGCCGAGTTCGCCAGTGCATCGCCTTGTGGCGGGGCGCTGCCAGCA
TGAAGCCCGCTACCTTTAGTGGGACGGCTCAAGCGGGTACGTAGCGGAACGACCGCCCGGACGCGGTCGT

+3 T A W A M S L L C T H S H Q M A M F S P K L Q Q E
13876 CAGCCTGGGCCATGAGCCTGCTGTGCACCCACAGCCACCAGATGGCAATGTTCTCGCCCAAGCTACAACAGGAGG
GTCGGACCCGGTACTCGGACGACAGTGGGTGTCGTTGGTCTACCGTTACAAGAGCGGGTTCGATGTTGTCTCTC

+3 V W G S D P D A T A S S S I A P F G R T E E V E G

ES 2 387 150 A1

13951 TGTGGGGTAGCGACCCGGATGCTACCGCCAGCAGTATCGCGCCGTTCCGGCCGACTGAAGAGGTTGAGGGTG
 ACACCCCATCGCTGGGCCTACGATGGCGGTGCTGCTCATAGCGCGCAAGCCGGCTGACTTCTCCAACCTCCCAC
 +3 G V S F S G E M G W S S G C D H A E W A I L G F R
 14026 GCGTGTGTTTCAGCGGCGAAATGGGCTGGAGTTCGGGTTGCGACCACGCGAATGGGCGATTCTCGGTTTCCGCC
 CGCACAGCAAGTCGCCGCTTACCCGACCTCAAGGCCAACGCTGGTGCGGCTTACCCGCTAAGAGCCAAGGCGG
 +3 R K N A E G A Q D Y C F A I L P R S D Y E I R D D
 14101 GCAAGAATGCCAAGGCGCTCAGGATTACTGCTTCGCCATCCTGCCTCGCAGTGACTATGAAATCCGTGATGACT
 CGTTCTTACGGCTTCCGCGAGTCTAATGACGAAGCGGTAGGACGGAGCGTCACTGATACTTTAGGCACTACTGA
 +3 W Y A V G M R G S G S K T L I V R D A F V P E H R
 14176 GGTATGCCGTGGGCATGCGCGGCAGCGGCAGCAAGACCCTGATCGTGCGTGATGCCTTCGTGCCCGAGCACCGCA
 CCATACGGCACCCGTACGCGCCGTCGCGCTGCTTCTGGGACTAGCACGCACTACGGAAGCACGGGCTCGTGCGCT
 +3 I Q K A K D M M E G K S A G F G L Y P D S K I F F
 14251 TCCAGAAGGCCAAGGACATGATGGAGGGCAAGTCGCGCGGGCTTTGGTTTGTACCCCGACAGCAAGATTTTCTTCG
 AGGTCTTCCGGTTCCTGTACTACCTCCCGTTCAGCCGCCGAAACCAACATGGGGCTGTCTTCTAAAAGAAGC
 +3 A P Y R P Y F A S G F S T V S L G V A E R M L E V
 14326 CCCCCTATCGCCCGTATTTTGCACAGCGGCTTCTCCACGGTCAGCTTGGGCGTTGCCGAGCGCATGCTGGAGGTGT
 GGGGCATAGCGGGCATAAAACGGTCGCCGAAGAGGTGCCAGTCGAACCCGCAACGGCTCGCGTACGACCTCCACA
 +3 F R E K T R N R V R A Y T G A A V G A A T P A L M
 14401 TCCGCGAGAAAACCCGCAACCGCGTGCCTACACCGGTGCTGCCGTGGGCGCCGCCACCCCGCGCTGATGC
 AGGCCTCTTTTGGGCGTTGGCGCACGACGGATGTGGCCACGACGGCACCCGCGGCGTGGGGCCGCGACTACG
 +3 R L A E S T H Q V A A A R A L L E K S W D E I A E
 14476 GCCTGGCCGAGTCGACCCATCAGGTGGCCGCTGCCCGGGCATTGCTGGAAAAGAGCTGGGACGAGATTGCCGAGC
 CGGACCCGCTCAGCTGGGTAGTCCACCGCGACGGGCCCGTAACGACCTTTTCTCGACCTGTCTAACGGCTCG
 +3 H S A R H E Y P S R G T L A F W R T N Q G Y A V K
 14551 ACAGTGCCTGTCACGAATACCCGTCGCGTGGCAGCGTGGCGTTCTGGCGTACCAACAGGGCTACGCCGTGAAGA
 TGTCACGGGCGAGTCTTATGGGACGCGACCGTGGCAGCCGAAGACCGCATGGTTGGTCCCGATGCGGGCACTTCT
 +3 M C I Q A V D R L M E A A G G G A W F E S N E L Q
 14626 TGTGCATCCAGGCCGTCGACCGCCTGATGGAAGCGGCGGTTGGTGCGCCTGGTTTCGAGAGCAACGAACTGCGAGC
 ACACGTAGGTCCGGCAGCTGGCGGACTACCTTCGCGGCCACCACCAGCGGACCAAGCTCTCGTTGCTTGACGTGC
 +3 R L F R D S H M T G A H A Y T D Y D V C A Q I L G
 14701 GGCTGTTCCGCGATTTCGCACATGACCGGTGCCATGCCTACACCGATTACGACGTGTGTGGCAAAATCCTCGGCC
 CCGACAAGGCGCTAAGCGTGTACTGGCCACGGGTACGGATGTGGCTAATGCTGCACACACGCGTTTAGGAGCCGG
 +3 R E L M G L E P D P A M V ■
 14776 GCGAGCTGATGGGCGCTGGAGCCTGACCCGGCGATGGTCTGAGCCGCGCACTTGTTCACCCATCCCTTACAAGCA
 CGCTCGACTACCCGGACCTCGGACTGGGCGGCTACCAGACTCGGCGGTGAACAAAAGTGGGTAGGGGATGTTTCGT
 +1 *hpaC* → ■ S K E T F D S R A
 14851 CAACAACAACAGGGCAGGCTGCCAGGCCTGCCCGGAGTCTTGCATGTCCAAAGAAACCTTCGATTACGTGCC
 GTTGTGTTTGTCCCGTCCGACGGTCCGGACGGGCCCTCAGAACGTACAGGTTTCTTTGGAAGCTAAGTGCACGG
 +1 F R R A L G N F A T G V T V V T A A G P S G R K V
 14926 TTCCGCGCGCCCTGGGCAACTTCGCCACCGGCGTGACCGTGGTGACTGCCCGCGGCCAGTGGCCGCAAGGTC
 AAGGCGGCGGGACCCGTTGAAGCGGTGGCCGCACTGGCACCACTGACGGCGGCCGGGTACCCGCGTTCCAG
 +1 G V T A N S F N S V S L D P A L I L W S I D K R S
 15001 GGCGTTACCGCCAACAGCTTCAACTCGGTGTCGCTGGACCCGGCGTGATCCTGTGGAGCATCGACAAGCGCTCC
 CCGCAATGGCGGTTGTCGAAGTTGAGCCACAGCGACCTGGCCCGGCACTAGGACACCTCGTAGCTGTTTCGCGAGG
 +1 T S H E V F E E A S H F A V N I L A A D Q I D L S
 15076 ACCAGCCATGAAGTGTTCGAAGAGGCTCGCACTTTGCCGTGAACATTCTGGCTGCGGACCAGATCGACCTGTCC
 TGGTCCGTACTTACAAGCTTCTCCGGAGCGTGAACGGCACTTGTAAAGACCGACGCTGGTCTAGCTGGACAGG
 +1 N N F A R P K E D R F A G I D Y E T G T G G A P L
 15151 AACAACTTTGCCCGCCGAAGGAAGATCGCTTTGCCGGTATCGACTACGAGACCGGCACTGGCGGCGCGCGGTTG
 TTGTTGAAACGGGCGGCTTCTTCTAGCGAAACGGCCATAGCTGATGCTCTGGCCGTGACCGCGCGCGGCAAC
 +1 F A D C A A R F E C E K Y Q Q L D G G D H W I L V
 15226 TTCGCCGATTGCGCGGCGGCTTTGAGTGTGAAAAGTACCAGCAGCTGGACGGTGGCGATCACTGGATCCTGGTG
 AAGCGGCTAACGCGCGCGCGAAACTCACACTTTTCATGGTGTGACCTGCCACCCTAGTGACCTAGGACCAAC

ES 2 387 150 A1

+1 G K V V A F D D F G R S P L L Y H Q G A Y S M V L
15301 GGCAAGGTAGTGGCCTTTGATGACTTTGGCCGCTGCGCCGCTGCTGTATCACCAGGGCGCCTATTCAATGGTGGCTG
CCGTTCATCACCGGAAACTACTGAAACCGGCGAGCGGCGACACATAGTGGTCCCAGCGGATAAGTTACCACGAC

+1 P H T R M T Q G A E G Q A P S S H F Q G R L Q H N
15376 CCGCATACCCGCATGACCCAAGGCGCAGAGGGGCGAGCCAGGACCCACTTCCAGGGCCGCTGCAGCACAAC
GGCGTATGGGCGTACTGGGTTCGCGCTCTCCCCGTCGCTGGCTCGTCGGTGAAGTCCCGGCGGACGTCGTGTTG

+1 L Y Y L M T Q A L R A Y Q A D Y Q P R Q L C T G L
15451 CTGTACTACCTGATGACCCAGGCGCTGCGTCCCTACCAGGCTGACTACCAGCCAGCCAGCTGTGTACCGGCCTG
GACATGATGGACTACTGGGTCCGCGACGACGCGGATGGTCCGACTGATGGTCCGGTGGGTCGACACATGGCCGGAC

+1 R T S E A R M L M V L E N D A G L S L N D L Q R E
15526 CGCACCAGCGAGGCACGCATGCTGATGGTGTGGAGAACGATGCGGGCCTGAGCCTGAACGACCTGCAACGCGAA
GCGTGGTCCGTCGCTACGACTACCACGACCTTGTGCTACGCCCGGACTCGGACTTGTGGACGTTGCGCTT

+1 V A M P A R E I E E A V A N L K R K G L I A D D E
15601 GTGGCGATGCCGCGCGGAGATCGAGGAAGCGTTGCCAACCTCAAGCGCAAAGGGCTGATTGCCGATGACGAA
CACCGCTACGGCCGCGCCCTTAGTCCCTTCGCCAACGGTTGGAGTTCGCGCTTCCCGACTAACGGCTACTGCTT

+1 G R V R L S V K G V D E T E A L W T I A R Q Q Q D
15676 GGGCGAGTCCGGCTATCGGTGAAGGGCGTGGACGAGACCGAGGCGTGTGGACCATTGCCCGGCAACAGCAGCAGC
CCCCTCACGCCGATAGCCACTTCCCGCACCTGCTCTGGCTCCGCAACACCTGGTAACGGGCGCTTGTGCTGCTG

+1 K V F G Q F S E Q Q L E T F K T V L K A L I N I
15751 AAGGTGTTCCGGCAGTTCAAGTGAACAGCAGCTGGAGACTTTCAAGACCGTGTCAAGGCCCTTATCAACATCTGA
TTCCACAAGCCCGTCAAGTCACTTGTGCTGACCTCTGAAAGTTCTGGCACGAGTTCGGGGAATAGTTGTAGACT

15826 ACACGCTTTGGGATGGCACC GGCTGTTTTGGATGGCACC GGCTGTGCGCGGTGTTCCGCGGATGAACCCGCTCCCAC
TGTGCGAAACCCCTACCGTGGCCGACAAAACCTACCGTGGCCGACACGGCCACAAGCGCCTACTTGGGCGAGGGTG

15901 AGGTCCAGCGCCAGTAGCAACTTCGGCGCGGTACCTGTGGGAGCGGCTTTAGCCGCGAACACCGGCAAGCCGGT
TCCAGGTCGCGGTATCGTTGAAGCGCGCCATGGACACCCTCGCCGAAATCGGCGCTTGTGGCCGTTTCGGCCA

15976 GCCATCCAACCAGAAGCCTCAGTAGGCACCACCCCGGCACTGGGGACTACCCTGTATCCTTGAACCTCCCCGC
CGGTAGGTTGGTCTTCGGAGTCATCCGTGGTGGGGCCGCTGACCCCTGATGGTGACATAGGAACCTGAAGGGGCG
-2 G D L W F G Y A G G G A S P V V V T D K F K G A

16051 CAGCTCGCGCAGCCCGCGCATCAGCACCGTGGTATCCACACCCACCGCCACAACGCCGACCCAGCTCGATGTA
GTGAGCGCGTCGGGCGGTAGTCTGGCACCATAGGTGTGGGTGGCGGTGTTTGGCGCGTGGGTCGAGCTACAT
-2 L E R L G R M L V T T D V G V A V F A A G L E I Y

16126 GCGTCGCGCCAGTTTCTCGTCCGCGCTGAGAATGCCGCGGGCTTTGCCCGCCTTGCCAATGCGCACGATTGCGTC
CGCAGCGCGTCAAAGAGCGGCGGACTTACGGCCCGGAAACGGGCGGAAACCGGTACCGCTGCTAACGCGAG
-2 R R A L K E D A S L I G A A K G A K G I R V I A D

16201 TTCAATCGCCGCTGCACCTCCGGGTGCCCGGGTGGCCGCGATGCCCATGGCCGCACTCAGGTCTGCAGGCC
AAGTTAGCGCGGACGTGGAGGCCACGGGCCCCAACGGGCTACGGGTTACCGGCTGAGTCCAGAGCTCCGGG
-2 E I A A Q V E P H G P N G R H G M A A S L D A P G

16276 GATGAACACGCCATCCACACCTTCCACTGCAACGATCTCGTCCAGGTGGCCAGGCTTCCCTTGTCTCGATCTG
CTACTTGTGGGTAGGTGTGAAGGTGACGTTGCTAGAGCAGGTCCAACCGGTCCGGAAGGAACAAGAGCTAGAC
-2 I F V G D V G E V A V I E D L N A L G E K N E I Q

16351 CACCAGCAGGCACATTTGCTCATCGGCGTGGTCCAGGTAACCGGGGAGGGTGTTCAGCGCGAAGCCCGCGCCAG
GTGGTCCGCTGTAACGAGTAGCCGACACGAGTCCATTGGCCCTCCCAAGGTCGCGCTTCGGGCGCGGTC
-2 V L L C M Q E D A H D L Y G P L T N W R S A R A L

16426 CGCGTGCCCAACCCCGCAATGCCCTTGGGCGGGTAATGCATGGCCTTGACCAGTTGCCGCGCCTGTTCCGGCAGT
GCGCGACGGGTGGGCGCTTACGGGAACCCGCCATTACGTACCGGAACCTGGTCAACGGCGCGGACAAGCCGTC
-2 A S G V G R I G K P P Y H M A K V L Q R A Q E A T

16501 TTCCACCATCGGCACCAGCAAGGTTTGTGCGCCGATATCCAGCACCTGCTTGATCAGCGCGGTATCGCCGATCAC
AAGTGGTAGCCGTTGCTTCCAAACACGCGCTATAGGTCGTGGACGAACTAGTCGCGCCATAGCGGCTAGTG
-2 E V M P V L L T Q A G I D L V Q K I L A T D G I V

16576 CGGGCGGATCACTGCCTGGGTGGGGTAGGGTGCCACCGCCTGCAACTGGGCGAGCATGCCGCGCAGGTGCTGGG
GCCCCCTAGTGACGGACCCCATCCACGTTGGCGGACGTTGACCCGCTCGTACGGCGGCTCCAGCAACCC
-2 P R I V A Q S P Y P A V A Q L Q A L M G R L D N P

16651 CGCGTGTTCGCGCTGATCAGCAGCCAGTCGAAACCGGCATTGGCCGCGCAGCTCGGCGCAGTAGGCATCGGCCAG

ES 2 387 150 A1

CGGCACAAGCGGCAGCTAGTCGTCGGTCAGCTTTGGCCGTAACCGGCGGTCGAGCCGCGTCATCCGTAGCCGGTC
 -2 A H E G D I L L W D F G A N A A L E A C Y A D A L

16726 GCCGAGCCACAGGCCGATTTGCGGTTACCGCTGTGCAGGCGTCGCTTGAAGTGGTTGATGGGCATGTCCATGAG
 CGGCTCGGTTCCGGCTAAACGCCAAGTGGCGACACGTCCCGCAGCGAACTTCACCAACTACCCGTACAGGTTACTC
 -2 G L W L G I Q P E G S H L R R K F H N I P M D **M**

← *hpaI*

16801 CAGTCTCTTAAACGAAGCGGCAGGCGATGGAGCCGAGCATGTCGTAGTCGAGCTGGAAGGTGTACCTGGGGGAG
 GTCCAGGAATTTGCTTCGGCTCCCGTACCTCGGCTCGTACAGCATCAGCTGCACCTTCCACAGTGGACCCGCTC
 -1 # V F R C A I S G L M D Y D V H F T D G P R A

16876 CGGCGACCGGGCGGGTGAACGAACCCCCAAGGATGATCTGGCCGGGCTGCAAGGTGACGTCTGACGGCCAGTT
 GCCGCTGGCCCGCCACTTGTGGGGTTCTACTAGACCGGCCGACGTTCCTGTCAGCATGCCGCGGTCAA
 -1 A V P R T F S G G L I I Q G P Q L T V D Y P A L K

16951 TGTGGCCAGCCAGGCAACGCCTTTGGCCGGGTGGTTGAGCACGGCAGCGCTGACCCCGGATTCCTCGATCACGC
 ACAACCGGTCGGTCCGTTGCGGAAACCGGCCACCAACTCGTGCCTCGCGACTGGGGCCTAAGGAGCTAGTGCG
 -1 N A L W A V G K A P H N L V A A S V G S E E I V G

17026 CATTGCGGTAGAGCACCGCCGGCACTTTGCGCAGGTCGATTTCCGTTGGGGCGCACGGCCCGCCCGCCATCACCA
 GTAACGCCATCTCGTGGCGCCGTTGAAACGCGTCCAGCTAAAGCCACCCCGCGTGCCTGGGGCGGGGTTAGTGGT
 -1 N R Y L V A P V K R L D I E T P R V A R G G M V V

17101 CGCCGGCATTGGCGGCGTGTTCGGAGATGGTGTGCAACACCTTGGCGGTGGCTGGGTTTGGCGGTCCACCTGCT
 GCGGCGTAACCGCCGCAACAGCCTTACCACAGCTTGTGGAACGCCACCGGACCCAAACGCCAGGTGGACGA
 -1 G A N A A N D S I T D F V K R T A Q T Q P D V Q Q

17176 GGATGCGCGCTCAATGATTTCCAGCGCCGGATCACCCACTCGGTGGCGTCCAGCACATCAAACACGGTGATGT
 CCTACGCGCGCAGTTACTAAAGGTCGCGGCCCTAGTGGGTGAGCCACCGCAGGTCTGTAGTTTGTGCCACTACA
 -1 I R A D I I E L A P I V W E T A D L V D F V T I N

17251 TCGGGCCCTTTCAGCGGCTTCCGAGGATGAACGCCAACTCCACTTCAACCCGCGGCACGATGAAGCGCTCGAAGG
 AGCCCGGGAAGTCGCGGAACGGCTCCTACTTGCCTGAGGTGAAGTTGGGCGCCGTGCTACTTCGCGAGCTTCC
 -1 P G K L P K G L I F A L E V E V R P V I F R E F P

17326 GGATGTCGCTGCCTTCGTCGAACAGCATGTCGTCGAGCAAGGGCCGCTAGTCCGGCTCGGTGATGTTTCGACGATA
 CCTACGCGACGGAAGCAGCTTGTGTCAGCAGCTCGTTCCGCGCATACGCCCGAGCCACTACAGCTGTAT
 -1 I D S G E D F L M D D L L A G Y D P E T I N S S V

17401 CCTGCATGGCGCGGAGGTCAGGCCGATCTTGTGGCCACCAGCTTGGCCCGGGCGGATCTTTTTTGCACCC
 GGACGTACCGCGCGTCCAGTCCGGCTAGAACACCGGGTGGTTCGAACCGGGCCCGCGCTAGAAAAACCGTGGG
 -1 Q M A R S T L G I K H G V L K R G A A I K K A V W

17476 AGGCGCGCTGGATGGCGTAGGCGTCTTCGATGGTGATTGCGGTTGCTCCAGCGAGAAGTGGCGCACTTGCTCGC
 TCCGCGCAGCTACCGCATCCGCAAGCTACCCTAACCGCCAACGAGGTCGCTCTTACCGCGTGAACGAGCG
 -1 A R Q I A Y A D E I T I A P Q E L S F Q R V Q E R

17551 GGGAGCGTTCGGCCTGGTTCGAGGCGGTCGGCGCGGTCGTTGGATGAAAGCGTGTCTAGCATGGGGCGGTCCTCTT
 CCTCGCAAGCCGGACAGCTCCGCCAGCCGCCACGACCTACTTTCGCAACAGATCGTACCCCCGCCAGAGAA
 -1 S R E A Q D L R D A A H Q I F A N D L **M**

← *hpaH*

17626 GATTCAAGGTTGACGATGGCAGCCTGGGTGCGCAACACCAGCAGGCCCGCCAGGGCGATGAAGACGGCGAGTAC
 CTAAGTTCCCAACTGCTACCGTCGGACCCACGCGTGTGGTTCGTCGGCGGGTCCCGCTACTTCTGCCGCTCATG
 -2 **M** P N V I A A Q T R L V L L G G L A I F V A L V

17701 GTACAGAGCAAGGCTGGCGCTGTGGTGGTTCGCGCACCCAGCCGATGAAGTAGGGCGTGAAGAACGAGGCGAT
 CATGCTCGTTCCGACCGGACACCCACCACAGCGCGTGGGTCCGCTACTTCATCCCGCACTTCTTGCTCCGCTA
 -2 Y L A L S A S H T T D R V W G I F Y P T F F S A I

17776 GCTGCCAGCGAGCTGATCAGGGCAATGCCGGCGGCTGGGTACGGCGGTTGAGGAACGCCGGCGGAGTTGCCA
 CGACGGGTGCTCGACTAGTCCCGTTACGGCCCGCCGACCCATGCCCGCAACTCCTTGGCGCGCCGTCACCGGT
 -2 S G L S S I L A I G A A Q T R A N L F A P P L Q W

17851 GAACATCGGCAGCGACGCGTGGCGCCCATGCCGGCCAGCACCAGGCCGCGCATTACGGCAGCGCTGCTCGGG
 CTTGTAGCCGTCGCGTCGCGACCGCGGTTACGGCCGGTTCGTTGGTCCGGCCGGTAATGGCCGTCGCGGACGAGCCC
 -2 F M P L A A S A G M G A L V L G A M V P L A Q E P

17926 GGCAATGGCCGCAATAGCGATGCCGATGGCAGCCATCAGCAGCGGTACGCACAGGTGCCAGCGCGTTCGCGTTG
 CCGTTACCGCGGTTATCGCTACGGTACCGTCCGTTAGTTCGTCGCCATGCGTGTCCACGGTCCGCCAAGCGCAAC

ES 2 387 150 A1

-2 A I A A I A I G I A A M L L P V C L H W R R E R Q
18001 GCGGTCGCTGGAGCGGCCGACGCCAGCATGAACACGCAGCCGGCCACGTACGGCACAGCGCTGAGCAGGCCGAC
CGCCAGCGACCTCGCCGGCGTGGGTCGTACTTGTGGCTCGGCCGGTGCATGCCGTGTCGCGACTCGTCCGGCTG
-2 R D S S R G C A L M F V C G A V Y P V A S L L G V
18076 ACTGGCGTCGCTGGCCACACCGGCACTGTGAATCAGGCTGGGCATCCAGAACGCAAGGGTATTACCCGCCAGCAT
TGACCGCAGCGACCGGTGTGGCCGTGACACTTAGTCCGACCCGTAGGTCTTGCCTCCCATAAAGTGGCGGTGTA
-2 S A D S A V G A S H I L S P M W F A L T N V A L M
18151 CACCGCGCAATACACGGCCACCAACAGCCACAGCGCACGGCTTGCGAAAATGGCGCGAACGAGGTACCGGGCTT
GTGGCGCGTTATGTCCGGTGGTTGTCGGTGTGCGGTGCCGAACGCTTTTACCGCGCTTGTCCAATGCCGAA
-2 V A C Y V A V L L W L A R S A F I A G F S T V P K
18226 GCGTGTCTTCTCTCACCGAATTGCGCGCGAGCGTGGCTTCTGTGCTCATCCAGCCAGCTCACCCGCTCGAA
CGCGACAAGAAGGAGTGGCTTAACGCGCGCTCGCACCAGAACGACGAGTAGGTGCGTTCGAGTGGCGGAGCTT
-2 R Q E E E G F Q A R L T A K Q Q E D L W S V R E F
18301 GTGTCGCGGCAAAACGGCCAGTACCACCAGGCCAGCAACACCACCGCGCCCTTCGAGCAGGAACATCCACTG
CACGAGGCCGTTTTGCCGGTCATGGTGGTCCGGTCTTGTGGTGGCCGCGGGGAAGCTCGTCTTGTAGGTGAC
-2 H E P L V A L V V L G L L V V P A G E L L F M W Q
18376 CCAGCCACGCAGCCCGCCCGTGTGTCGATGAAGGCCAGTATGGCCCCGACACTGGCCCGCCGACCACTCCGGC
GGTCCGGTGCCTCGGCCGGCACAGCAGTACTTCCGGTCATACCGGGCCCTGTGACCGGGCGGCTGGTGGGCCG
-2 W G R L G G T D H M F A L I A G S V P G G V V G A
18451 CAACGGCACGGCAATGGCGAACAGCGCGGTGACCTGGCGCGCGCCCGCGGGTACCAGCGGTTGAGGTA AAC
GTTGCCGTGCCGTTACCGCTTGTGCGGCCACTGGACCCGCGCGGGCCGCGCCCATGGTCCCAACTCCATTTG
-2 L P V A I A F L A T V Q A R R G A P Y W R N L Y V
18526 CAGAATGCCCGGGAAGAACCCGGCTCGGCCGCGCCAGGGCAAAGCGCAACAGGTAGAACGCGCTGCTGCTTTC
GTCTTACGGGCCCTTCTTGGGCCGAGCCGCGCGGGTCCCGTTTTCGGTTGTCCATCTTGC GCGACGACGAAAG
-2 L I G P F F G A E A A G L A F R L L Y F A S S S E
18601 GATCAGCAGCATGCTGGTCGACAACAGCCCCACACCACCATCAGGCAGGCGATCCAGCGCGTGGCCAAACGCG
CTAGTCGTCGTACGACCAGCTGTTGTGCGGGGTGTGGTGGTAGTCCGTCGCTAGGTGCGCCGACCCGGTTCGCG
-2 I L L M S T S L L G W V V M L C A I W R R P G V R
18676 GTCGAGCATCAGGTTGCTGGGGACGCCGAACAGCGCATAGGCAATGAAGAACAGCCCGGCACCCAGGCCATAGAC
CAGCTCGTAGTCCAACGACCCCTGCGGCTTGTGCGGTATCCGTTACTTCTTGTGCGGCCGTTGGTCCGGTATCTG
-2 D L M L N S P V G F L A Y A I F F L G A G L G Y V
18751 CGTGTGCGACAATGCAGGTCCTGGCTCATCTGCATCTTGGCGAAGCCAATGTTGATGCGGTCCAGGTGGCGGAA
GCACAGCCTGTTTACGTCCAGGACCGAGTAGACGTAGAACCCTTCCGTTACAACACTACGCCAGGTCCACCCGCTT
-2 T D S L H L D Q S M Q M K A F G I N I R D L H A F
18826 CAGGTAGCACACCAGCAGCAGCGGCATCAGCCGCCAGGTGACTGCCGATGGTACTGTGCGCCCGTTCAACGTG
GTCCATCGTGTGGTCGTCGCGGTAGTCCGGTCCACTGACGGGCTACCCATGACAGCCGGGCAAGTTGCAC
-2 L Y C V L L L P M L R W T V A R H T S D A R E V H
18901 TGCCTCGCGCGCGAGGCTTGTTCGAGTGTGCTCATGTTTTTGTACTTATTCTGTAATGAGTCGGGAGGGCGTG
ACGGAGCGCGCCGCTCCGAACAAGCTCACACGAGTACAAAAACATGAATAAGACATTACTCAGCCCTCCCGCAC
-2 A E R P S A Q E L T S **M**
← **hpaX**
18976 GTTTGAGCCGCGCGCTAGCGGTTGAACAGTGGGTGCAAGGTGCTGTGCTTGGCGTTCGTAGACCTGGCGGGTGTCT
CAAACCTCGGCCGCGGATCGCCAACCTTGTACCCACGTTCCACGACACGAACCCGAGCATCTGGACCCGCCACGA
-2 **■** R N F L P H L T S H K A D Y V Q A T S
19051 GTGGTCGATCTGCACGGTGTGCGGATCGGGCGCTGTTGCAGCAGTGGGTCCAGGCGCGCTTTCAACACTGCCAG
CACCAGCTAGACGTGCCACTACGGTAGCCCGCAGCAACGTCGTCACCCAGGTCCGCGCGAAGTTGTGACGGTC
-2 H D I Q V T I G I P R Q Q L L P D L R A K L V A L
19126 CAAGCTGTCGCCCCTGTTTGTGCACTCGGGCTACGGCCGGTAGCCATGCGCAGGTTGGCGTACAGAAAGCC
GTTCCAGACGGGTGACAAAACAGTGGAGCCGCGATGCCGCCATCGGTACGCGTCCAACCGCATGCTTTTCGG
-2 L S D G V T K H V E A S R G T A M R L N A Y L F G
19201 GTATTCGCTTTGCCGTGCGCCACCGCGCAATGGCGCGGGGTAGGCCAGCAGCGGTGTACCGCCAGTGGGGAA
CATAAGCGGAAACGCGAGCCGGTGGCGCGTTACCCGCCGCCCATCCGGTGTGCGCACATGGCGGTACCCCTT
-2 Y E G K G D A V A C H A A P Y A L V R T G G T P F
19276 CACGGCTTTGCCTTCGGCATCGCGCTGTTGAGCATGGTGTGCGCCAGGGCGGGCACAGGCCGGGATGTGCGC

ES 2 387 150 A1

GTGCCGAAACGGAAGCCGTAGCGCGACAAGCTCGTACCACAGCCGGTCCCGCGCCGTGCCGGCCCTACAGCCG
 -2 V A K G E A D R Q E L M T D A L A R C L G P I D A

19351 GTCGGTTTCCAGGTGGGGGTATAGAGCAGAACCAGGTGTGGCATGGGGGCCTCCTCGGTGAGGGGCGGCTGGCC
 CAGCCAAAGGTCCAGCCCCATATCTCGTCTTGGTCCACACCGTACCCCGGAGGAGCCACTCCCCGCCGACCCG
 -2 D T E L D P T Y L L V L H P M

← *hpaF*

19426 ACCCGCCAGGGCGACCAGCCGCGAACGGGTGGGTACAGGCGGCTGGTGGGCACCACGGCGCCGGGTGGCGGC
 TGGCGGTCCCGCTGGTTCGGCGCTTGCCCAACCAATGTCCGCCGACCACCGTGGTGGCCGCGCCCAACCGCCG
 -2 L R S T P V V A A P N A A

19501 CTGGGCAGCGGGGATGGCACCACCGTCTGCGGGGTGACCGGGAAGATCGCGTTGATCTGGCCGGTCCCGGAAGA
 GACCCGTCGCCCTACCGTGGTGGCAGGACGCCCACTGGCCCTTCTAGCGCAACTAGACCGGCCACGGCCTTCT
 -2 Q A A P I A G G D Q P T V P F I A N I Q G T G S S

19576 GCCGAAGTAGGGCGTGACCACTTCGGCCTTGCCGTCGTAATCGGACCAGCCAGCCAGCCAGCAGCATTGCCGT
 CGGCTTCATCCCGCACTGGTGAAGCCGGAACGGCAGCATTAGCCTGGTTCGGGTTCGGTTCGTCGTAACGGCA
 -2 G F Y P T V V E A K G D Y D S W G L A G L L M A T

19651 GTCGTGCATGAAGCCTTACCGTGGCCTTTGGCGGCGTACTCCGGCAGCATCCCGCAGAACGCTTCCCACTCGCC
 CAGCAGTACTTCGGAAGTGGCACCAGGAAACCGCCCGCATGAGGCGCTCGTAGGGCGTCTTGGGAAGGGTGAGCCG
 -2 D H M F G E G H G K A A Y E P L M G C F A E W E G

19726 GTCTGCCACATTTGCACCACACGGTGGTTCGAGGGTTTCGAGGAACGGGCTCCACACCTTGGTGGCAAAGTCCGG
 CAGGACGGTGTAAACGTGGTGTGCCACCAGCTCCCAAAGCTCCTTGCCCGAGGTGTGAACACCGTTCAGGCC
 -2 D Q W M Q V V R H D L T E L F P S W V K T A F D P

19801 CGCCTGGCCGTTCTGCGCAAGCGGTGCGACAGCGAGCCGCTGGCCAGGAACGCCACGGTTCGGTTCGTAAGTGGTC
 GCGGACCGCAAGACGCGCTTCGCCACGCTGTGCTCGGCGACCGTCTTGCCGTTGCCACGGCAGCATCACCAG
 -2 A Q G N Q A F R H S L S G S A L F A V T G D Y H D

19876 TTCTACTGCCTTGCGCATGGCCAGCCAGCCAGGCGGGCACTGTGCGCCAGGTAGTGCAGGTCACAGGGCCGAGAC
 AAGATGACGGAACCGGTACCGGGTTCGGGTCGGCCGCTGACAGCCGTTCCATCACGCTCCACGTGTCCCGGCTCTG
 -2 E V A K R M A W G L R A S D A L Y H S T C L A S V

19951 CGAGACCACTTTGAAGTGTGGTCTGTTTCATGTAGCGCATGGGCACCAGGGTGCCTATTCCGGGGCGAGGGT
 GCTCTGGTGAACCTTACGACCAGGACCAAGTACATCGCGTACCCGTTGGTCCACGGCATAAGGCCCGCTCCCA
 -2 S V V K F H Q D Q N M Y R M P V L T G Y E P A L T

20026 GGTGGCGTGGTGGGCCATGGTTTCGACGTTGAAGCGGTTGCACTCCTCGGCCAGCAGCTTGCCAGCTCGGGATT
 CCACCGCACCCCGGTACCAAAGCTGCAACTTCGCCAACGTGAGGAGCCGGTTCGTCGAACGGGTTCGAGCCCTAA
 -2 T A H H A M T E V N F R N C E E A L L K G L E P N

20101 GCCGGGGAATGCGTAGGGCATGTTGCTGATGAAGTGCAGGAGTTCGTTGCTGGTGTACACGCCCTCGAAATGCGG
 CGGCCCTTACGCATCCCGTACAACGACTACTTACGCGCTCAAGCAACGACCACATGTGCGGGAGCTTTACGCC
 -2 G P F A Y P M N S I F H P L E N S T Y V G E F H P

20176 CCCGCACAGCACGTGGTAGTTGGCGTTGACCAGCCAGTGCCTGTCGAACACGACGATGGTTCACAGCCAGCTC
 GGGCGTGTGTCGACCATCAACCGCAACTGGTTCGGTTCAGCACAGCTTGTGCTGTACCACAGGTGCGGGTCGAG
 -2 G C L V H Y N A N V L W H T D F V V I T D V G L E

20251 ACGGCAACGCGGCTGATTTGCTGATGCCGTCGATGGCCGCTGGCGAAAGCCTTGGCGGGGCTGGCAGTTC
 TGCCGTTGCCGCCGACTAAAGCACTACGGGCAGCTACCGCGGACCGCTTTTCGGAACCGCGCCCGGACCGTCAAG
 -2 R C R R S I E H H G D I A A Q R F G Q R P G P L E

20326 GGACATGTACATGGACGTTACATGGGTAATCTTGGCAGTGAGAGCGAGTTTGGCCATGGGGTCTCCGATAAGAC
 CCTGTACATGTACCTGCCATGTACCCATTAGAACCGTCACTCTCGCTCAAACGGGTACCCCGAGGGCTATTCTG
 -2 S M Y M S P V H T I K A T L A L K G M

← *hpaD*

20401 GCTGTTGTTGTTTTGGGGCTGACCCGGTCCCTTGTTAGGAGCGCCTTGTTCGGGATGGGGCGCACAGCGGCC
 CGACAACAACAAAACCCCGACTGGGCCAGGGAACATCCTCGC GCCTTGTTCGGGATGGGGCGCACAGCGGCC
CGGAACAAGGCCCTACCCCGGTGTCGCCGGG

20476 GGCGATATCTGCGGCGAGGCTGAAATCCAGGGGCGGCTGCGCGCCCATCGCGGGCACAAGGCCGCTCCTACCC
CCGCTATAGACGCGCTCCGACTTTAGGTCCCCGGCGACGCGGGGTAGCGCCGCTGTTCCGGCGAGGATGTGG

20551 CGGGCGGTGTAAACCGCACAGAGGGTTAGATGCCCCAGCGAGGAATGTGGTATTACCCATGGAATACACACGT
 GCCCGCCACATTTGGCGTGTCTCCCAATCTACGGGGTTCGCTCCTTACACCATAATGGGTACCTTTATGTGTGCA
 -1 I G W R P I H H N G M S I C V N

20626 TCTTGTATCTGCAAAGACCTCGAAGCTGTACTGCCCGCCCTCACGCCGTTACCGGAACCTTTACGCGCCGCA
 AGAACTAGAGACGTTTCTGGAGCTTCGACATGACGGGCGGGAGTGCGGGCCATGGCCTTGGAAAGTGCGGCGGCT

ES 2 387 150 A1

```

-1 K I E A F V E F S Y Q G G E R G T G S G K V G G F
20701 ACGGCTGGCGCAGGTTCGGTACGTTCTGGTGTGATGAACACCATGCCGGCCTCGATGCCACGGGCCAGGCGAT
TGCCGACCGCGTCCAGCGCATGCAAGACCGACAACACTACTGTGGTACGGCCGGAGCTACGGTGCCTCCGGTCCGCTA
-1 P Q R L D R V N Q S N I F V M G A E I G R A L R H
20776 GGGCTTTGCCGATGTCCTGGGTCCAGATGTACGAGGCCAGGCCATACTCGGTGTCGTGGCCAGTTGCAGCGCCT
CCCAGAACGGCTACAGGACCCAGGTCTACATGCTCCGGTCCGGTATGAGCCACAGCAACCGGTCAACGTCGGGGA
-1 A K G I D Q T W I Y S A L G Y E T D N A L Q L A E
20851 CGGCTTCGTCCTTGAACGGGATCAGGCACACCACCGGGCCAAAGATTTCTTCTGGGCAATGCGCATCTTGTGTG
GCCAAGCAGGAACCTGCCCTAGTCCGTGTGGTGGCCCGTTTCTAAAGAAGGACCCGTTACCGGTAGAACACA
-1 A E D K F P I L C V V P G F I E E Q A I R M K N N
20926 TCACGTCCGCGAATACGGTGGGCTGGATGAACTGCCCTTGGCCAGGTGCGCAGGCAGGTTGGCCGGGCGCTCCA
AGTGACCGCGCTTATGCCACCCGACCTACTTGACGGGGAACCGGTCCACGCGTCCGTCCAACCGGCCGCGAGGT
-1 V D A F V T P Q I F Q G K A L H A P L N A P R E L
21001 GGCCCCCGGCGACCAGGCGTGACACCTTCTTCGATGCCAATGCGGATGTACCCGGTGACCTTGTTCATAGTGTGCT
CCGGGGCGCGCTGGTCCGCACGTGGAAGAAGCTACGGTTACGCCTACATGGGCCACTGGAACAGTATCACGACGA
-1 G G A V L R A G E E I G I R I Y G T V K D Y H Q Q
21076 GGGTGTATCGAACCGACCTGGGTTTTTCGGGTCCGGTCCGGTCCAGTACGATCAGGCGCTTGGCGCGCGCCGCAA
CCCCTAGTAGCTTGGCTGGACCCAAAAGCCAGCCAGCCAGTGGATGCTAGTCCGCGAACCGCGCGCGCGCTT
-1 T I M S G V Q T K P D T P D G V I L R K A R A A F
21151 ACTTGCACAAACTGCGGGTACACGCTTTCTGGATGAAGATGCGGCTGCCGGCGGTGCAGCGCTCGCCGTTCA
TGAGACGCTGTTTGACGCCCATGTGCGAAAGGACCTACTTCTACGCCGACGGCCGACGTCGCGAGCGGCAAGT
-1 E A V F Q P Y V S E Q I F I R S G A T C R E G N L
21226 GCGAGAAGATGGTGAACAGCGCGCGTCCAGCGCACGCTCAAGGTCTGCGTCTTCGAAGATCAGCACGGGCGACT
CGCTCTTCTACCCTTGTTCGCGCCGACGGTCCGCTGCGAGTTCAGACGCGAGAAGCTTCTAGTCTGTCGCCGCTGA
-1 S F I T F L A A D L A R E L D A D E F I L V P S K
21301 TGCCGCCCAGTTCATCGAGTACTTTTAAAGGCCTGCGGTCTGCATGATCTTCTTCCGGTGGCGGTACCGCCGG
ACGGCGGGTCAAGGTAGCTCATGAAAAATCCCGACGCCAGACGTACTAGAGAAGACGGCCACCGCCATGGCGGCC
-1 G G L E M S Y K K L G A T Q M I K K G T A T G G T
21376 TGAAGGAAATGGCGCGCACATCGGGTGGCGGACCAGGGCATCGCCGGCGGTAGCGCCGTAACCCCTGGATCACGT
ACTTCCCTTACCAGCGGTGTAGCCCCACCGCTGGTCCCGTAGCGGCCCATCGCGGCATTGGGACCTAGTGCA
-1 F S I A R V D P H R V L A D G A T A G Y G Q I V N
21451 TCAGCACCCCGTTGGGATGCCGGTCTTACCGCCAGGCGGCCAGTTCGTTGGCGGTGAGGCGCACAGCTCGC
AGTCGTGGGGCAACCCCTACGGCCGAAGATGGCGGTCCCGCGGGTCAAGCAACCGCCAGTCTCCGCTGTCGAGCG
-1 L V G N P I G A E V A L R G L E N A T L P S L E S
21526 TCATCTTACGACGCGCGGTGTGCCAGCGCCAGGCACGGCGCAGTCTTCCAGGTAGCCGTCATGAACGGCACGT
AGTAGAAGTCGTGCCGCCACAACGGGTCCGGTCCGTGCCCGCTCAGAAGTCCATCGGCAGTACTTGCCGTGCA
-1 M K L V A T N G L A L C P A T K W T A T M F P V N
21601 TCCATGGGCTTACCAGGCCACACACCCACCGGTGGTACAGGGTGTAGTTGAGCATCTGGTTCGTGACCGGGT
AGGTACCCGAATGGTCCGGCGTGTGTGGTGGCCGACCATGTCCCACATCAACTCGTAGACCAGCAGCTGGCCCA
-1 W P S V L G C V G V P Q Y L T Y N L M Q D D V P Y
21676 AGGTATGGCCGTCCATGCGCGTGCACACTTCGGCGAAGAAGTCGAAGTTGTGCGAGGCACGCGGGATCAGCACGT
TCCATACCGGCAGGTACGCGCACGTGTGAAGCCGCTTCTCAGCTTCAACACGCTCCGTGCCCCCTAGTCTGTGCA
-1 T H G D M R T C V E A F F D F N H S A R P I L V N
21751 TCTTGGTCTGGTGGATCGGCAGGCGGTGTGAGGGTTTCCAGCTCGGCGAGTTTCCGGCACGTTCTGCTCAATCA
AGAACCAGACCACCTAGCCGTCCGGCCACAGCTCCCAAAGGTGAGCCGCTCAAAGCCGTGCAAGACGAGTTAGT
-1 K T Q H I P L G T D L T E L E A L K P V N Q E I L
21826 GCTACCCAGCTTGGCGATCAGCCGGGCACGTTCCCTTGGCCGGGGTGTGGCCACTTGGGGAAGGCTTCCCTTGG
CGAGTGGGTGCAACCGGTAGTCCGGCCGTGCAAGGAACCGGCCCAACCGGGTGAACCCCTTCCGAAGGAACC
-1 E G L K R M L R A R E K A P T N A W K P F A E K A
21901 CCGCAGCCACAGCCTGGGCCACTTCCCTCGGCGCCGCGCTGGCGACTTCGCAGATGGCGTCCGGTGGCCGGT
GGCGTCCGTGTCGGACCCGGTGAAGGAGCCGCGGGCGGACCGCTGAAGCGTCTACCGCAGCGGCCACCGGCCA
-1 A A V A Q A V E E A G G S A V E C I A D G T A P N
21976 TGATGTTGACGAAGGTGTCTTTGCTCTCGACCTCACGGCCGTTGATCCAGTGTGATCATGCTGCTCATGCCCT
ACATCAACTGCTTCCACAGAAACGAGAGCTGGAGTGCCGGCAACTAGGTACGAACCTAGTACGACGAGTACGGAA
-1 Y N V F T D K S E V E R G N I W H K I M

```

ES 2 387 150 A1

← *hpaE*

-2
22051 GTTGTCTTTGAAGAAGTCAGCTTCGCTGACGATACGGTTGACCAGGCGACCGACGCTTCCACTTCCACCACCAC
CAACAAGAAGTCTTTCAGTCGAAGCGACTGCTATGCCAACTGGTCCGCTGGCTGCGGAAGGTGAAGGTGGTGGT
-2 N N K F F D A E S V I R N V L R G V G E V E V V V

22126 TTCGTCACCCGGCACCACATCGGCCAGGCCTTCTGGCGTGCCGGTGGCGATCATGTGCCCCGGTTGCAGGGTCAT
AAGCAGTGGGCCGTGGTGTAGCCGGTCCGGAAGACCGCACGGCCACCGCTAGTACAGCGGGCCAACGTCCCAGTA
-2 E D G P V V D A L G E P T G T A I M D G P Q L T M

22201 GAAGCTGGAGAAGTATTCGATGAGGTGCGGGATGTGGAAGATCATGTCCGCGGTGGTGCCTTCCTGCTTACGCTC
CTTCGACCTCTTCATAAGCTACTCCACGCCCTACAGCTTCTAGTACAGGCGCCACCACGGAAGGACGAAGTTCGAG
-2 F S S F Y E I L H P I D F I M D A T T G E Q K L E

22276 ACCGTTGATCCAGGTGCGCAGCTTACAGTTGCTGACGTCTGGCACATCGGCCGCATCGACGATCCACGGGCCGAC
TGGCAACTAGGTCCACGCGTCGAAGTCCAACGACTGCAGACCGTGTAGCCGGCGTAGCTGTAGGTGCCCGGCTG
-2 G N I W T R L K L N S V D P V D A A D V I W P G V

22351 CGGGGTGGTGGCATCGCGGTTTTTACCCGAGGTTGGGGCGGTAGTAGTTTTCCAGGTAGTCGCGGATGGCGTA
GCCCCACCACCGTAGCGCCAAAAGTGGGCGTCCAAACCCGCCATCATCAAAGGTCCATCAGCGCCTACCGCAT
-2 P T T A D R N K V R L N P R Y Y N E L Y D R I A Y

22426 GTCGTTGCACACGGTGTAGCCGGCAACGTAGGCCAGGGCGTCTCACGCTTACGCTTCTTCGCCGCTTGGCGAT
CAGCAACGTGTGCCACATCGGCCGTTGCAATCCGGTCCCGCAGGAGTGCGAAGTGCAGAAGCGGCGAAACGGCTA
-2 D N C V T Y G A V Y A L A D E R K V N K A A K G I

22501 CACCGCCACCAGCTCGCACTCGTAGTGCATGTATTGACGCTTGTCCGGGCGCCAGGTGACCTGGATGTGGCCGGT
GTGGCGGTGGTTCGAGCGTGCAGCATCACGTACATAAGCTGCAACAGGCCCGCGGTCCACTGGACCTACACCGGCCA
-2 V A V L E C E Y H M Y E V N D P R W T V Q I H G T

22576 GTAGGTGCCTGGCGACTTGTATGAAAGCCAACGGTTCGGTGGGCGGCGCAAGGCCAGCTCCCTGGCGTGGTGGC
CATCCACGGACCGCTGAACTACTTTTCGGTTGCCAAGCCACCCGCCGCGCTTCCGGTTCGAGGGACCGCACCGCCG
-2 Y T G P S K I F A L P E T P P A F A L E R A H D A

22651 GTAGTTCAGGCCCAGGGCGAACATGCTGCCGGTGGCGGGTGGCAGCCAGGTGACCTGGTCTGATGGACCAGGCG
CATCAAGTCCGGGTCGCCGCTTGTACGACGGCCACCGCCACCGTCCGTTCCACTGGACCAGGACTACCTGGTCCGC
-2 Y N L G L A F M S G T A P P L W T V Q D Q H V L R

22726 GCCGTGGCAAGGCGCAGGTGATCGTCTTCGACCGTGCATCGTGGGCTGGCCGTCGAACTGGATACGGGCGTG
CGGACCGGTTCCGCGTCCACTAGCAGAAGCTGGCACTGTAGCACCCGGACCGGCAGCTTGACCTATGCCCGCAC
-2 G D A L R L H D D E V T V D H A Q G D F Q I R A H

22801 TTTACAGGTAATTCCTCACTCGGCGACGATGTGGTTGGTCAGCTTGCCCAGGCCGTCGATCTCGATGTGACGC
AAAGTGTCCATTAAGGAGTGCAGCCGCTGTACACCAACCAGTCAACCGGGTCCGGCAGCTAGAGCTACAGCTGCG
-1 E A V I H N T L K G L G D I E I D V R
-2 K V

← *hpaG2*

22876 GGTCACCTGGCTGTACATCGACGCGGCCCTCGGGGGTTCGGGTGATCAGGATGTGCGCGGCGTGCAGGGTCATGA
CCAGTGGACCGACATGTAGCTGCGCCGGGAGCCCCAAGGCCACTAGTCCACAGCGGCGGCACGTCCCAGTACT
-1 D G P Q V D V R G E P T G T I L I D G A H L T M F

22951 ACTCGCTGATTTCCGCAATCAGCTGCGCCACCGTGGTACGCAGTTGGCGGTGTTGTTGTGCTGGCGCAGTTCCG
TGAGCGACTAAAGCCGTTAGTTCGACGCGGTGGCAGCATGCGTCAACCGCCACAACAACACACCGCGTCAAGCG
-1 E S I E A I L Q A V T R V C N A T N N H Q R L E G

23026 CGTTCACATACAGGCGCAGGCCCAGGCATCGGGTTGGCCACTTGGCTGGCGGGCACCAGTTCAGGGCCGACCG
GCAAGTGTATGTCCGCGTCCGGGTCCCGTAGCCCCAACCGGTGAACCGACCGCCCGTGGTCAAGTCCCGGCTGGC
-1 N V Y L R L G L A D P N A V Q S A P V L E P G V P

23101 GGCAAAAACCATCACGGCACTTGGCCTTACTGCAGGGCGGTAGTAGCTGGCTTCGGGCAGGCTCACTTCGTTGA
CCGTTTTTGGTAGTCCCGTGAACCGGAAGTGCAGTCCCGCCATCATCGACCGAAGCCCGTCCGAGTGAAGCAACT
-1 C F G D R C K A K V A P R Y Y S A E P L S V E N V

23176 CGATGGTGTAGCCCGCCACATGCTCCAGGGCATCGGCCACGCTGACGCGGTGGCGTCTTGCCAATCACCACCTC
GCTACCACATCGGGCGGTGTACGAGTCCCGTAGCCGGTGGCACTGCGCCGACCGAGGAACGGTTAGTGGTGAG
-1 I T Y G A V H E L A D A V S V R S A D K G I V V G

23251 CCAGCGCCGGGCGGGTTCACGCGCTGCACGCGCGGGAATACCACCTGGCCTTCATGCTGGTTGCGGGTGT
GGTCCGCGCCCGGCCAACGTGCGCGACGTGCGGCGGCCCTTATGGTGGACCGGAAGTACGACCACGCCCCACA
-1 L A P G P Q V R Q V G A P F V V Q G E H Q N R T N

23326 TCGGGTCTTGACGAACAACACCGGCTTGACCGGCAGTTGCTTGTACGGTGTCTCCACGAACCGCGCTTGGTGTCT
AGCCCCAGAAGTGTGTTGTGGCCGAAGTGGCCGTCACGAACATGCCACGAAGGTGCTTGGCGGCAACCACGA

ES 2 387 150 A1

-1 P T K V F L V P K V P L Q K Y P A E V F A A Q H Q
 23401 GCTGCAGCAAACCCCTGGTAGTTTCAGCGCGACGCCGAACAGGGTGCCGCTGGCAACGTCAAGCAGGGCATGGCTCA
 CGACGTCGTTTGGGACCATCAAGTCGCGCTGCGGCTTGTCCACGGCGACCGTTGCAGTTCGTCCCGTACCGAGT
 -1 Q L L G Q Y N L A V G F L T G S A V D L L A H S M
hpaG1 ←

23476 TGCTCTTCTCTGGCAGTGCAGGGCGGTGGCCGCTCCTGCGGATTTTCGTTAATGTGTAAATGTTATAGTTAATATG
 ACGAGAAGAGGACCGTCACGTCCCGCCACCGGCAGGACGCCTAAAGCAATTACACAATTACAATATCAATTATAC

23551 TTAACGATGGTCAAGGGGTGGCCAGTGGCGCCTGCCGGAAGGCAAGGCACCATGGGCCATCGTCAACAGGGTCA
 AATTGCTACCAGTTCCCCACCGGTACCGCGGACGGCCGTTCCGTTCCGTTGTTACCGGTAGCAGTTGTCCCGAT

hpaA →

+2 M S D R H P I P N I N I G Q V Y D Q
 23626 AGCGATTTGCGAGCAAGCAGCCATGAGCGACCGGCATCCGATACCGAACATCAACATTTGGCCAGGTTTACGACCA
 TCGCTAAACGCTCGTTCGTCGGTACTCGCTGGCCGTAGGCTATGGCTTGTAGTTGTAACCGGTCCAAATGCTGGT

+2 R Y S D S E V H Y D R L G N L A G F F G R N M P V
 23701 GCGCTACAGCGACAGCGAGGTGCATTACGACCGGCTGGGCAACCTGGCGGGCTTTTTCGGGCGCAACATGCCGGT
 CGCGATGTCGCTGTCGCTCCACGTAATGCTGGCCGACCGGTTGGACCGCCGAAAAAGCCCGGTTGTACGGCCA

+2 H R H D R F F Q V H Y V K S G T V R V Y L D D Q Q
 23776 GCACCGGCATGACCGGTTTTTCCAGGTGCATTACGTGAAGTCGGGCACAGTACGGGTGTATCTGGATGACCAGCA

+2 Y I E A G P M F F L T P P T V A H A F V T E A D S
 23851 GTACATCGAGGCCGGGCGGATGTTCTTCTCACGCCACCCACGGTGGCGCACGCGTTCGTACCCGAAGCTGACAG
 CATGTAGCTCCGGCCCGGCTACAAGAAGGAGTGGGTTGGTCCACCGCGTGCACAAGCAGTGGCTTCGACTGTC

+2 D G H V L T V R Q Q L V W Q L I E A D A S L L P A
 23926 CGACGGGCATGTGCTGACGGTGGCCAGCAACTGGTGTGGCAATTGATCGAAGCCGACGCCAGCCTGCTGCCGGC
 GTCGCCGTACACGACTGCCACGCGGTCGTTGACCACACCGTTAACTAGCTTCGGTTCGGTTCGGACGACGGCCG

+2 G M Q V Q P A C V A L G N L P A E Y K A E A Q R L
 24001 GGGCATGCAGGTGCAGCCAGCCTGTGTGGCGCTGGGCAACCTGCCGGCCGAATACAGGCCGAGGCGCAGCGCCT
 CCCGTACGTCCACGTCCGTCGGACACACCGGACCGGTTGGACGGCCGGCTTATGTTCCGGCTCCGGCTCGGGGA

+2 Q G W L D A L S D E F A T Q Q P G R E A A L Q S L
 24076 GCAAGGCTGGCTGGACGCGTTGAGTGACGAGTTTGGCCACGCAACCGGGTTCGCGAGGCGGCGGTTGCAGTCGCT
 CGTTCGGACCGACCTGCACAACCTACTGCTCAAACGGTGGCTCGTTGGCCAGCGCTCCGCCGCAACGTCAGCGA

+2 T R L I M I S L L R L C P N S L E S T P A R H E D
 24151 GACCCGCTGATCATGATCAGCCTGCTGCCGCTGTGCCCAACTCGCTGGAATCGACCCCGCGCGGCATGAAGA
 CTGGGGGACTAGTACTAGTCCGACGACGCCGACGCGGGTTGAGCGACCTTAGCTGGGGCCGCGCCGTACTTCT

+2 L K I F H R F N A L I E A H Y L E H W P L A R Y A
 24226 CCTGAAGATCTTCCACCGTTTCAATGCCCTGATCGAAGCGCATTACCTTGAGCATTTGGCCGCTGGCCCGCTACGC
 GGACTTCTAGAAGGTGGCAAAGTTACGGGACTAGCTTCGCGTAATGGAACCTGTAACCGGCACCGGGCGATGGC

+2 Q Q I G V T E A R L N D V C R R I A D L P S K R L
 24301 GCAGCAGATTGGCGTGACCGAGGACGGCTGAACGATGTGTGCCGGCGCATCGCCGACTTGCCATCCAAGCGCCT
 CGTCGCTAACCACCTGGCTCCGTGCCGACTTGCTACACACGGCCGCGTAGCGGCTGAACGGTAGGTTCCGGGA

+2 V L E R L M Q E A K R L L L F S G S T A N E I C Y
 24376 GGTGCTGGAACGGCTGATGCAGGAGGCCAAGCGTTTGTGTGTTTTCCGGCAGCACGGCCAACGAAATCTGTTA
 CCACGACCTTGGCGACTACGTCCTCCGGTTCGCAACGACAACAAAAGGCCGTCGTGCCGGTGTCTTAGACAAT

+2 Q L G F K D P A Y F S R F F N R Y A K L T P G E Y
 24451 CCAGCTCGGCTTCAAGGATCCGGCCTATTTTCAGCCGCTTCTTCAACCGCTACGCCAAGCTCACACCCGGGGAGTA
 GGTCGAGCCGAAGTTCTTAGGCCGATAAAGTCCGGCAAGAAGTTGGCGATGCGGTTCCAGTGTGGGCCCTCAT

+2 R Q R Q A E L Q ■
 24526 CCGCCAGCGGCAGGCGAATTCAGTGAATGGCCATGGCGGCTCACCCGGGTGCTGTTGTTGTTTACAGCGGAT
 GGCGGTCCGGTCCGTCTTAACTACTTTACCGGTACCGCCGAGTGGGCCACGACAACAACAAATGTCGCCCTA

24601 GGTCCGAGCCCGCGCGCCGGGCTTGAATGGGTTTTCCGTGGAACAGATTGCACTTTCCATCGTGCATGCCCTTAA
 CCAGCGTCCGGCGCGCGGCCGAACTTACCCAAAAGGCACCTTGTCTAACGTGAAAGGTAGCACGTACGGGAATT

hpaR →

+2 M T K T Q P S L T L S L L Q
 24676 ATTCGTGAATTGAGAAAAAGCCACAGGTTTGACCATGACCAAGACGCAACCTTCGCTCACGCTAAGCCTGTTGCA
 TAAGCACTTAACTCTTTTTCCGGTGTCCAACTGGTACTGGTCTGCGTTGGAAGCGAGTGCATTCGGACAACGT

ES 2 387 150 A1

+2 A R E A A M A F F R P L L N Q H D L T E Q Q W R V
24751 GGCCCGAGAAGCCGCGATGGCATTTCAGGCCGCTGTTGAACCAGCACGACCTGACCGAGCAGCAATGGCGGGT
CCGGGCTCTTCGGCGCTACCGTAAAAAGTCCGGCGACAACCTGGTCGTGCTGGACTGGCTCGTTCGTTACCGCCA

+2 I R I L K Q H G E L E N Y Q L A E L A C I L K P S
24826 AATCCGCATCCTCAAGCAGCACGGCGAGCTGGAGAATTATCAGTTGGCGGAACTGGCCTGCATCCTCAAGCCGAG
TTAGGGTAGGAGTTCGTGCTGCCGCTCGACCTCTTAATAGTCAACCGCCTTGACCGGACGTAGGAGTTCGGCTC

+2 M T G V L G R L E R D G L V R R Q K A A Q D Q R R
24901 CATGACCGGGTACTGGGGCGCCTGGAGCGAGACGGGCTGGTGCGGCGGCAGAAGCCGCGCAGGACCAGCGACG
GTACTGGCCCATGACCCCGGACCTCGCTCTGCCGACCACGCCGCCGCTCTTCGGCGCGTCTTGGTCGCTGC

+2 V F V S L T E R G E A C F A S M K E G M E A N Y Q
24976 GGTGTTCGTCAGCCTGACCGAAAGAGGGGAGGCGTGCTTTGCCTCGATGAAGGAAGGCATGGAGGCCAACTACCA
CCACAAGCAGTCGGACTGGCTTTCTCCCTCCGCACGAAACGGAGCTACTTCCTTCGTACCTCCGGTTGATGGT

+2 K I Q A Q F G E E K L Q Q L M G L L N D L K R I A
25051 GAAGATTCAGGCGCAGTTTGGTGAAGAGAAGCTGCAGCAGCTGATGGGGTTGTTGAATGACCTGAAGCGCATCGC
CTTCTAAGTCCGCGTCAAACCACTTCTTTCGACGTCGTCGACTACCCCAACAACCTTACTGGACTTCGCGTAGCG

+2 P ■
25126 GCCATAA
CGGTATT

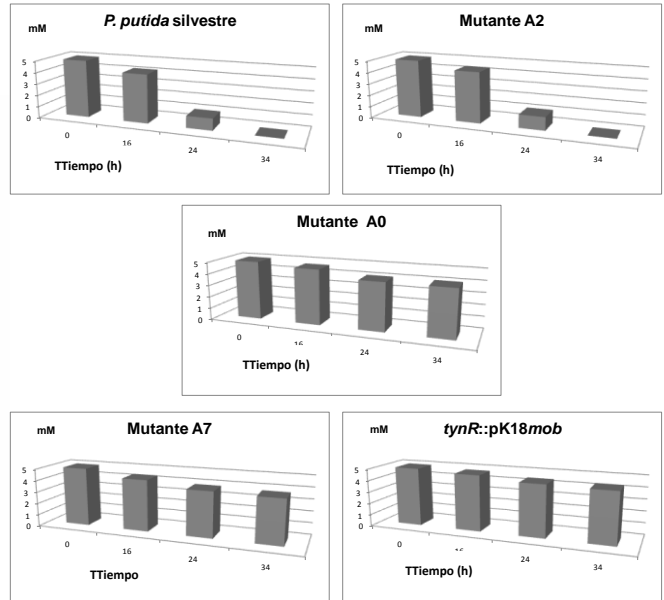
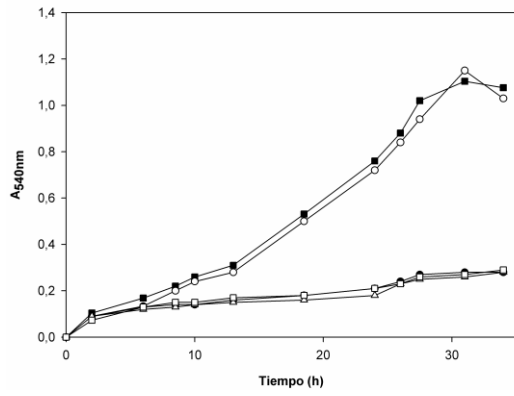


Figura 10

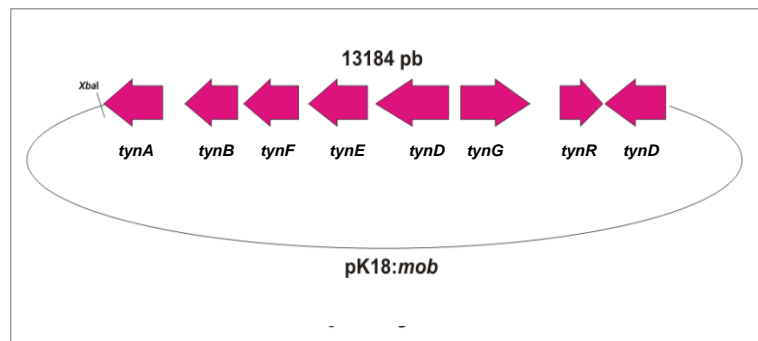


Figura 11

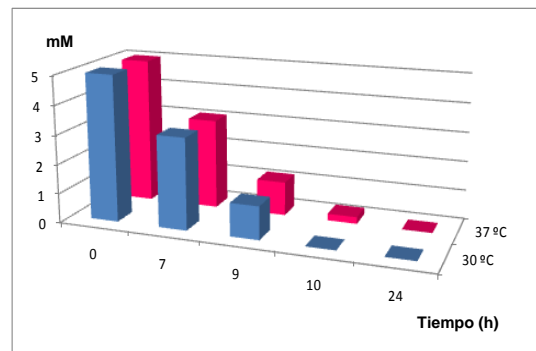
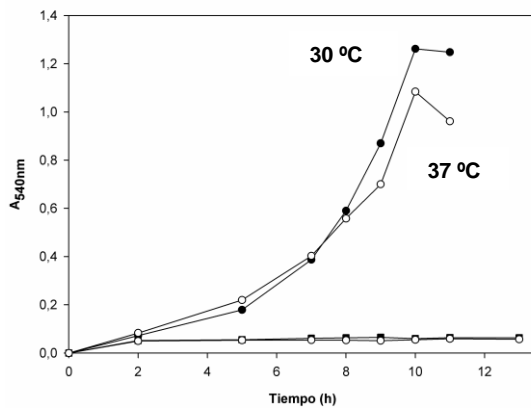


Figura 12

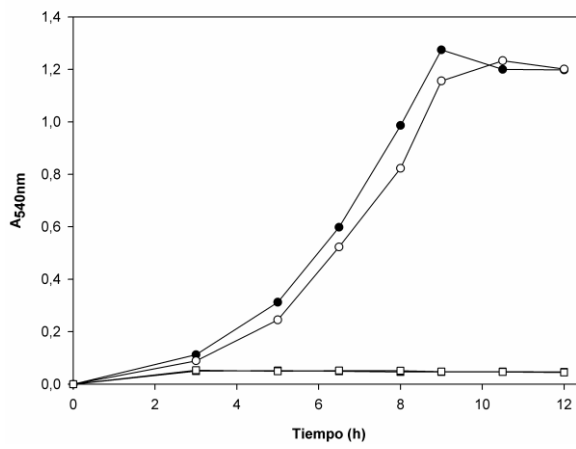


Figura 13

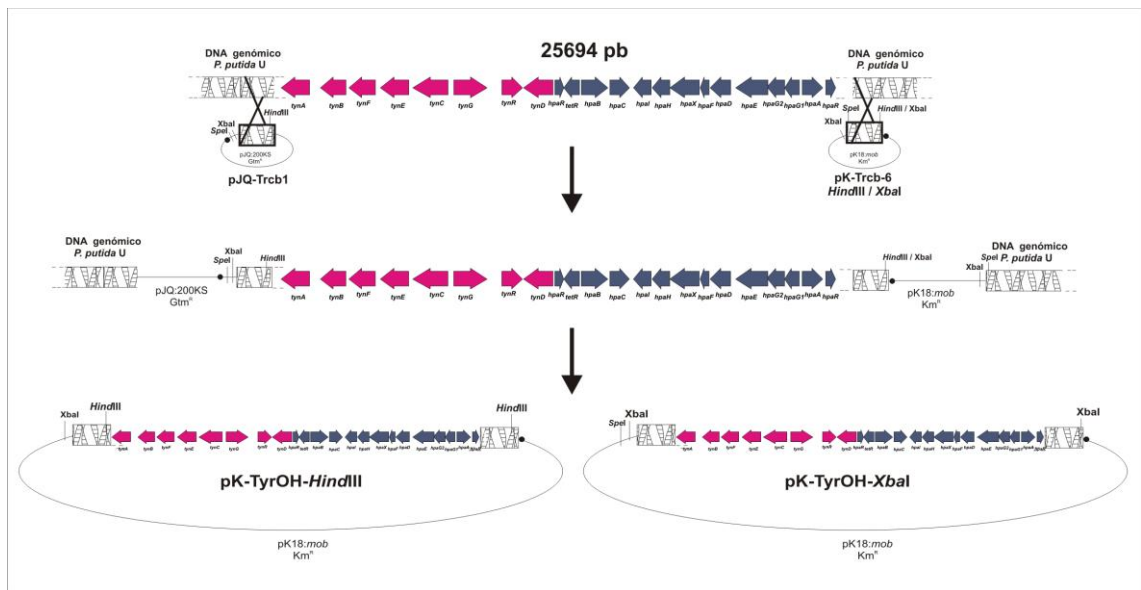


Figura 14

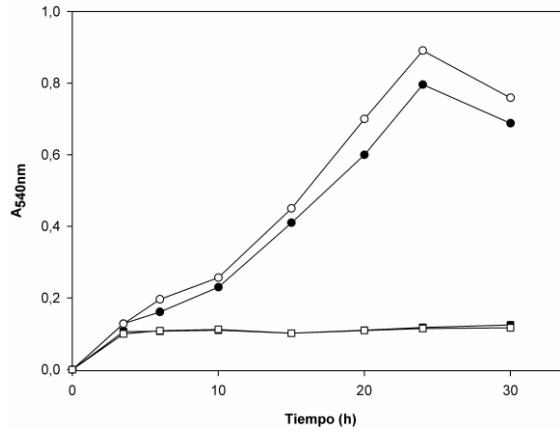


Figura 15

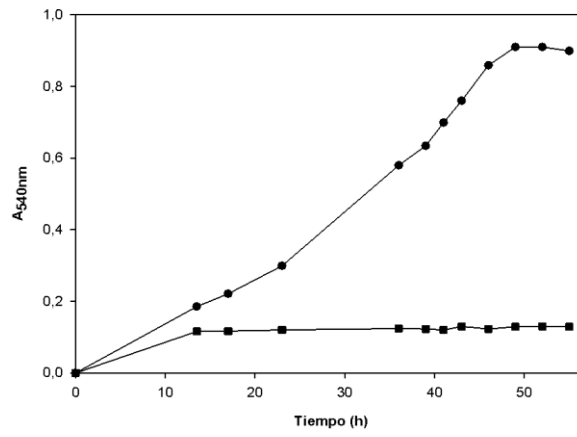


Figura 16

ES 2 387 150 A1

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> BIOGES STARTERS S.A.

<120> NUEVA HIDROXIFENILACETALDEHÍDO DESHIDROGENASA, ÁCIDO NUCLEICO QUE LA CODIFICA Y VECTORES Y MICROORGANISMOS RECOMBINANTES QUE LA EXPRESAN

<130> P-101091

<160> 45

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 25132

<212> DNA

<213> Pseudomonas putida U

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(25132)

<223> Secuencia que contiene los cluster tyn y hpa

<400> 1

```
tcaggcgaaa cgctcgaagc ggtacgggtga cgggtcgatc agcgggggtgg cctggggccac      60
caggtctgcc gccagctggc cagcagcagg cgaggtgccg aagccatgcc cggaaaagcc      120
ggtggccagg gtcaggcccg gaatactggc caccgggccg atgaccgggt tggagtcggg      180
ggtgacgtca atcgtgccgg cccaggcgct ggcgatacgg gcctgttcga acaccggcca      240
ggccgctttc aggttgcgca tggcctcgtc gttgagggcc gggttggcgt gcgggtcttg      300
taccctgaca cgctcgaagg gggttacatc cgttgccttc cagcgccggg ccaggggccag      360
gtccttgaag aagtacttgc caaagctgat gcgcaaaaag tcccgcctggg cacgcagctg      420
gggcaggtaa cgcttgccca gcagcaggtg atcgaggggt aggaaggcgt ccagcgcgcc      480
gcgctgggtg atgatgtagc cgccgtcctt gtgcttgccg aaggaaaaat ctggtgcgcc      540
cacggcgatg tcggttgccc cgtccatggg ctctgtgcgc agcacggaac aggtcagcgg      600
caaggtcggc aggttgatgc ccaggttgcc gaggaacttg cgcgaccaca ggccaccggc      660
cagcaacacc tggtcgcagc ggatttcacc ttgctcgggtg accaccgccg tgacacggcc      720
ggctgcggtg accagcgtgc gcaccgcgca gttctccact accactgcac ctttggcgat      780
cgccgcccgg gcgatggcgc tggcggccag ggtcggttcg gcgcgggctg cggagggggg      840
gaagatgcca cctgcccatt ccgcccagcc acccggcacc atccgggtga tttcccgcgt      900
gctcagcagg cgcaaatcca ggcccagcgc ctgcagcett ttcagccagc cttcatgcat      960
gcccattctg gtgtcgttac ggccgatgaa catgatgccg gcttgccgat agccaacgtc     1020
gctgccaacc cgtgcgggca tctcggccca cagccgatca gccgccagtg ccagggggat     1080
gtcatgggcg tggcggttgg tcttgccgac ccagcccagg ttgcgcgacg actgctcccc     1140
agcgatgcgc cccttctcca gcaccaccac cggtatgttg cgttcggcga ggctcagtgc     1200
ggcggtgagg ccgataatgc cgccaccgat gatcaccacg gtagtggcgt cggggtggcg     1260
ggtgctggtt tgcacagggg cgatcgtggg agacatggct ttactctttg ttgtgcgtgc     1320
agggggagtg ttcagcgcca gccagcagcc tcaactggcca aggcggatca gggteacttg     1380
cgcttgcccc gcaccgcggt aggcggtgac ctccagctcg accttgtaaa cggtgggagcc     1440
cagcggcggg caggtgaccg tgggtggccg gtcgatgccg cggaaacttct cgccgatcac     1500
gtccatgacc cgtggtacat cggcagggtc ctggatgaac acgcgcgagt tgatgacatc     1560
ggccaggctg gcatcgactg cggccagcgc ggtttcgatg ttggcgaaca cctggtgggt     1620
ctgttcgatg acgtcctctg gaatgacctg ggtctgcggg ttgcgtccgg cgggtgtgga     1680
gacgtgaatc cagttgtcca ccgccaccag gcgggagtag ctggccatgg cttegaactt     1740
ggagccgggt ttcagtttga tgatctgtgt catgggcttt gccttggtat ccggttgcgg     1800
ggatcagctg agaacggggg tttcccagag gttgagcttt acgccgatgc cttgctcgag     1860
cgccttgccg tacaccacgg tgccccaggc cagctcttcg acgggcatgc cgcccaccga     1920
catcaggatg atttcgtcgt catgcaggcg gcccggtgcg tcgcccgtga tgatcttgcc     1980
```

ES 2 387 150 A1

gatgtcttcc	acctgctcgg	cggccagcgt	gccttcggca	atcatgtcca	tgaagcgcac	2040
acctaccagc	ggtacgtggt	tgtgcgcagg	cttgggcagc	tcttcgaacc	aggcctcgta	2100
gaggccggtg	ttgtccacca	ccttgcgcac	gtcgtcctgc	tccatgcocg	cgctcgatact	2160
gcacggggct	ggcatggcca	ggaacgcgcc	aggcttgacc	cactcgcggc	gcaccagcgg	2220
gtactggctg	gggtcgccga	cttcgcccga	gctgcagtag	ctgaccaggt	cggaaccgcg	2280
taccacttct	tccagggttt	ccaccacctg	gacatgagtg	atlttgcggga	agctggtttt	2340
caccagggcg	acgaaggcat	ccaggttctt	ctggccacgg	cccttgacct	tgaggggtgtc	2400
gatcagcggg	cagacggcca	tgaacgcagc	gaccgtggtc	ttgcccatac	cccccgggcc	2460
ggccaggccg	atcaccttgg	cgtccttgcg	cgccaggtgg	cgggcgccga	cgcccgggat	2520
ggcgccggtg	cggtaggccg	acagcaggtt	ggccgacatg	tgtgccagtg	gcgcgcocgt	2580
gtcggcatcg	ttgagggtag	acatcaggat	cgagcggggc	aggcctttct	cacggttggc	2640
gatgttcgag	ccgtaccact	tggcgccctg	ggtctggaag	ttgccgcocga	ggtacgcocg	2700
catcgccatc	atgcgcocgt	cggcggtggg	cttgggcatg	ttggggaatg	gcgagtgctc	2760
ggggaaggta	atcatcgcgc	cgtgcgagtc	gctgttcggg	ccggccatgc	ggtagtcacc	2820
ctggtacagc	aggccgaaca	tttcttccat	ggtgtcgaca	caggccggga	tgtcgggtgac	2880
cccggcacgg	atcatgtcct	gctcggacag	gtagatgaag	tcaattctgg	tatcgagggt	2940
catggcgggt	ctcgcagggc	tggctgccgt	cggatttgtt	ggtggtttcg	aggcaaccag	3000
tttcgctaac	gactggtagg	tcgtcttgtg	tctgcctgcc	agccgagttg	accgtcagtg	3060
ccagggtctc	aatggcccgc	gagcgagaag	ctggccgggg	tgtggcgag	gctgagggcg	3120
gtcagcaggc	acaccaccag	ggtgcacagg	gccagcagcg	cgcccctatg	ggtcggggccg	3180
tggttgagta	ccactgcggc	cagcggggcg	gcgcggcgag	acgcgcagag	ctggatggcg	3240
cccagcagcg	ctgcgggtgga	accagtgcc	tttcttgcg	aggccatcac	cagcgacatc	3300
agcgtcgact	cggtatccc	caggccgaac	agggtatca	ccatgcocgc	ggccacacct	3360
ggcagcccca	ggccggtcag	tgcaccgagc	aggctgatgc	aggcaccgcc	ggccatgcac	3420
agcacgcca	cccagatcaa	ggtattgagg	cccagccggc	tgatcaggtg	gctggcccgtc	3480
atggcgccga	gcaggatcga	caccccggtg	gcgccaaaca	gcaggccgaa	ggcctggggcg	3540
ctcaggccgt	agtgggcctg	gtacaccagg	gtggcaccgc	cgatgtagge	gaacaggaag	3600
aagaataacc	cagcaaccgc	cagggtcggg	cgcaggaagc	ggcggtcggc	gaggatggcc	3660
aggtaggtgc	tgcaggcgtg	gcccaggcgc	aggggttcgc	gtttgcctgg	cggcagggtt	3720
tcgggcaggt	tcagcaggct	gttgaccagc	accgtcacgc	ccatgcocgc	gagtagcagc	3780
attactgcac	gccagccgaa	atgtgcctcg	atcacgcocg	ccagggcagg	tgccaggatc	3840
ggtgcgacgc	cttcgatggt	catcagcagg	gcgaacagtt	tggtcgcggc	cacgcocctg	3900
ctcacatcac	gcaccatgct	catgatcacc	accagggatc	gcgcactgoc	caggcactgg	3960
aaaaagcgca	gcatgatcag	ggtgtcgagg	ctggggctcg	cggctgcocg	cagcgagcac	4020
aggatgaaca	gcagcagggc	ggccagcagc	ggcttgcocg	ggccataagc	gtcgcagatg	4080
gggccgaaga	tcagctggcc	ggcgcccatg	gccagcagga	agaaggtcag	tgtcagctgt	4140
acgcgggtga	agctagcctg	atagtggctg	gcgatttccg	gcaggctcga	caggtacatg	4200
tcgacggcgg	aagggccgag	ggcgccgatc	aggcctaggc	ccagggcgaa	gctgaaggggt	4260
atgggagggg	agggattggc	ttgcatggtt	ttctctggct	gatttttctg	ctaccgaccg	4320
gtaggtttgc	gaatattatt	cgccgagtcg	gccaaaggta	aacccttccg	caaggccact	4380
gattcctgtg	gggagcgggc	atgcccgcg	acaccggcaa	agccgggtgc	accgagtcgc	4440
cttcttcgcg	ggcatgcccg	ctcccacatt	gaccgcagag	gttggttacc	gtggttgcgt	4500
cagaacggca	cagccacggg	cagctggcta	tacacattgg	taccattccc	gcccacctgg	4560
ttgccgcocg	tgctctcgtc	cttgcgcggc	tggtaaaggc	ccaccagcgg	gctgattatc	4620
agggtctcgt	tgactgccc	ttccacatac	aggctccagct	cccgcgcac	gaggttgagg	4680
cttctcgggg	tgcgtagcgt	gtcgaagtcg	aagtacagcg	ccccgactgt	gagattttcc	4740
agcgggtgctg	ccttcacgcc	cacatggtgg	ataccctgtg	tgtctgtgaa	ggggccggcg	4800
tagttggcag	cgacttcacc	ctggaaccag	gtgcgtaaac	cgctggacag	gocgctgaac	4860
agcgcgtccc	agcctgcccga	gtagcgggtg	tagcggtagg	taacctgcgg	tgcccacggc	4920
aggtcggcga	aggtgtagcc	ggcctgcagc	taccaggtct	gctcggggcc	gtcgttcttg	4980
tcctgcagag	cgtattcgaa	ggcgaacctg	gcattgtcga	tgccagcgtt	gccttcgocg	5040
cgcacgctat	acacgtccat	gccttcgcgg	gctttctgaa	agtcgctggc	ccattggctg	5100
gtgacgtcga	tgccgtgaat	ccaggtcagc	ccgaggggtg	ccaaggcttg	ggtgtagtoc	5160
agcgtgcocg	cgccagttc	ggtttcggcc	tgggcgcggg	tgctcgattt	cagccacagc	5220
aggctgccat	gcaggccatc	gctgcccccc	aggcgcagca	ttgcgggtgcg	gtcgaaggcg	5280
tggcgggcgg	ccaggtagta	ggccccgcgg	cggtccagcg	caccgtcggc	gacgcocgtg	5340
cccaggttcg	ggccgtcgtc	gttgatcaaa	aaaccactgc	ccagggcaat	ggtctggcgg	5400
ccggcgaaa	cgtccactcc	atccttgcgc	agcaccggga	acaggtcggc	cgagcgcacg	5460
ccgaggaagg	cgtcttcgat	cttgggtggtg	cgttccgagc	catcggtggt	gcccgcocga	5520

ES 2 387 150 A1

tgccatcgc	cccaggtggc	cgagctcacc	cagttcaggc	tgccgtacag	cgtgccgttg	5580
ccggccaggc	cctggtcacc	gctgaggcca	tacttgataa	agccttcacg	ccaggtcgaa	5640
ccccctgtgg	tgccgtcgta	gttcttgccg	ctgttgaaaca	tgccccatac	cgccagcatg	5700
tggcggttca	ggtggctgtc	atcgctggcg	tacagctcaa	cggccggcgc	ggcctggctg	5760
gccagcaagg	ttgccagggc	caggctggac	agcgtctgtg	gtttgaccat	ttgcacatcc	5820
ctcgtttgtt	ctcggccacc	ttcacagggg	cctttgttgt	tcggggggcac	cctcggttct	5880
ggcgaggggc	catcgcggtt	ggcggcgatg	gcctattagg	gcgtgtgctg	tggggcgggg	5940
tcttgttcgt	ggctgccaa	gcgcttgcc	gccttggcca	caggcgcggt	cagtagcgga	6000
tcatcaccga	cttgagctcg	gtgaagtc	cgatgaaggc	cgagccgaac	tcgcgccaa	6060
tgccggaagc	cttgatgccc	ccaaacggta	cagccgggtc	gagcaggggtg	tgcattgtga	6120
cccacagggt	accggcctgg	atlttgccgg	tcatgcgc	ggccttgccc	aggctcgttg	6180
tccacaggct	ggcgtgagg	ccgtagggcg	aggcgttcat	caggctgcagc	agttcgtctt	6240
cgctgctata	aggcaggaag	gtcgccacag	ggccgaaggt	ttcctgggtg	agcaggggtg	6300
cgaggctga	ccgggcgagg	attaccgtgg	gttcgacgaa	acagccgggg	ccgtcgccca	6360
gggtgccgcc	gtgaatgatc	tggctgcctt	cggcgcgggc	gatggcgaac	agttcggcca	6420
agctctgctg	gtcgggcttg	ttggccacgg	ggccgaactg	ggtggcctcg	tcagtgccg	6480
gcccgatttt	cagttggccc	aggcgtggg	acagggcgtc	cagcagcggg	tcgatgcgcg	6540
agcgggtcac	atagaagcgc	tcgcccgcg	cgcagatttg	ccccgagtgc	aggaagccgg	6600
cctcgatgat	gccgtccaca	gccttgtcgg	ttgccacgtc	gggcaggaag	gccaccgcgt	6660
tcttgccgcc	cagttccagt	gtcgcacggg	tcagcttggc	gcccattggca	gcctggccta	6720
cggcgatgcc	agtgggcacg	gagccgggtg	acgagacctt	gtcggtaacct	gcgtgctcga	6780
tcagtgcctt	gcccaccagg	ccaccaccgg	tcagcacggt	cagtgaccgc	gcccgcaggc	6840
ctgcttcggg	ggccagttcg	gcaatgcgca	gcagcgtcag	cgggggtgaat	tcgctgggct	6900
tgaggataat	gctgcagccg	gttgtcaggg	ccgaggccag	cttcagatg	gcgatcatgc	6960
tggcgaagtt	ccacggcacg	atgccacca	ccacgccaat	cggctcgcgc	aggggtgaagg	7020
cgctgtagcg	ctcaccggcg	aacgagggca	gcgacggggg	gatggtctgg	ccgggtgatct	7080
tggctgccca	gccggcgtag	tagcgcagga	agtgcgcggc	ctgctgtact	tcgaacgcac	7140
gggaaatgcc	gatgagcttg	ccggattgca	aggtttccag	ctgcgccagt	tcttcgcggg	7200
tggcttccag	caggtcggcc	agcttgaaca	gcactgcggc	gcccggcggcg	gggctggtgt	7260
gagaccaggc	ggtaaagcct	tggcgcgagg	agctgacggc	atggttcgaca	tcggcctggt	7320
tggcgtcggc	gatgtggggc	atggtctggc	cgttggccgg	gttgaccacg	gcaatgttcg	7380
acgacgactg	gctggcgagg	tgctggccgt	ggatgaacac	gcccattgctg	cgggcccagga	7440
aggccgtgac	ggcaggtagg	aggggtgatg	cgctcatgca	gactccgggg	cagttggcca	7500
aagtttgacg	cttaataaagc	ggggcagtg	ggtgcttgtg	cctgcgtgac	aggtgcatga	7560
ctgtggctgc	caaccgcact	gggtaagcct	tgtgggagcg	gccttgtgtc	gcgatagggc	7620
cgcagagcgg	ccccggcgat	gttggcggcg	aagctgaaaa	tgctggggcc	gcttcgcgcc	7680
cctatcgca	cgcaaggccg	ctcccacaaa	aaaagcgagc	gtaggccggg	ctgattgctg	7740
gcaggcagca	acaagcccgg	cggcagccat	cggcaagacg	ccatgccacc	ggcagcgcac	7800
agtaatcact	cgttcaacgc	cacaaaaaca	agccggggca	tacgatgtca	ctcaataaca	7860
agctcaccga	gcacctcaac	cgccggcactg	tcggtttccc	caccgcactg	gccagcactg	7920
tcgggctgat	catggccagc	ccgggtgatcc	tcaccgcgac	catgggcttt	ggcatcggcg	7980
gcagcgcctt	cgccgtggcc	atggtcatcg	ccgactgat	gatgctggcg	cagttccacca	8040
cctttgccga	ggctgcgtcg	atcctgccga	ccacgggctc	ggtatacgac	tacatcaact	8100
gtggcatggg	ccgtttcttc	gccattaccg	gcacgctgtc	ggcctacctg	atcgtgcatg	8160
tgttcgccgg	taccgccgaa	accatcctgt	cgggggtgat	ggcgtggtg	aacttcgagc	8220
acctcaatac	cctggcggaa	tccgccggcg	gttcgtggct	gctgggggtg	tgcttcgtgg	8280
tggcgtttgc	ggtgctcaat	gcctttggcg	tcagcgcctt	cagccgcgcg	gaagtggtec	8340
tcaccttcgg	catgtggacc	accttgatgg	tgttcggcgt	gcttggcctg	atcgcgcgac	8400
ccgcagtgga	actggacggc	ccgttcggcg	tgctcgtggt	gggcaccgac	ctgatgacca	8460
tcctctcgtc	ggtcggcatg	gccatgttca	tgttcgtttg	ctgcgagttc	gtcacgcgcg	8520
ttgcccccca	actgcgtcgc	tcggcctggg	tgctgcccg	ggccatggcg	ctgggctcgt	8580
ttggcgtggc	cagctgcatg	ttcatctacg	gagcggcgat	gaagcgcag	gtggaaaacg	8640
tgggtgctgga	tgccgccagt	ggcgtgcacc	tgctggacac	gcccattggcc	atcccgcgct	8700
tcgccgagca	ggtgatgggt	gatattggcc	cagtggtgct	gggtatcggc	ttcctgttcg	8760
ccggcgcggc	caccatcaac	acgctgatgg	ccgggtgtg	acgcattctt	taaggcatgg	8820
cggtggacgg	cgcgttgccc	aaggtgttca	cctacctgca	cccgcgcttc	aagacgcgcg	8880
tgctgtgcat	cctggtgggtg	gcgttgatcc	cctgcctgca	tgctgggtac	ctgggcccga	8940
accggacaa	catcctgcac	ctggtgctgg	ccgcctgtg	cgctggagc	accgcctacc	9000
tgctggtgac	cctgtcgggtg	gtgatattgc	gcatccgccg	cccagacctg	ccgcgtgctt	9060

ES 2 387 150 A1

accgctcgcc	gctgttcccc	ttgccgcaga	tatttctccag	tagcgggtatc	ctcatcgcca	9120
tggcgttcat	cacaccgccc	ggcatgaacc	ctgccgatgt	ctacgtgccc	ttcgccatca	9180
tgcttggcgc	cactgcggcc	tatgcattgt	tctggacgct	gtgggtgcag	aaggtcaacc	9240
cgttcaagcc	ggcgcgggtc	gaggatgtgc	tcgagaaaga	gtttgctgcc	gagcctggcc	9300
acgccgtgga	gcacgtgctg	catgatcaga	aatttgcgtg	aacgcttgct	ggcgcgccga	9360
gcgcttccag	gctatcgccc	aggcgccacg	ctggcatgcc	tggcgcgcaa	cctggggcag	9420
cagaacctgg	tggcggccgg	ggtgatccac	gaccgggccc	agggttggca	ggccacgggtg	9480
cacgaacgcg	tcgaggccca	cctgctgatg	cacatcgtea	cctgtgagtt	ccagctgcag	9540
ttgcctgctc	cgcaaggggg	cgaggtcagc	ctggagctgc	gccataccgg	tgcgcttcgc	9600
cgtgccggcc	tggcctgtgt	gtaccgcaag	ggcgaccggg	cgcgcttcgc	ccgactgcgc	9660
gaccggttgc	tgcagcaggc	cgactgggtg	gcggcgctga	tgccgctgga	tttcaagcgc	9720
ctgaccttgg	cctggcgcga	cggccaatgg	ttgctgacct	tggagcacat	gggcggttagc	9780
gaagtggtea	accgcatgcc	agcgtttcgc	cgctacatcc	ccatcagccc	gcaacagcgg	9840
gcgcacctga	tggccagcct	ggcccagttc	aacactttgc	tacctaacct	ttgacgcaaa	9900
ctggcatacg	ccttgctgta	tcaagcgacg	aatgatgaca	gttgtgcgca	catagataac	9960
atgtaacaa	tgtgcgata	acaacaaatc	ctgcgtcgag	ggcagccatg	catactcaac	10020
aatccaaccg	tcaggggctg	gaacgctgga	ccacggccat	gcaacagatc	tgtggccggt	10080
tcgagacgga	acttgcgtcc	aatcactcgc	tgttcatcgg	cgaggtttct	accttttccc	10140
gtgccggcct	gcccgtggcc	aacctgcgca	ccaatgccgg	caacatccgc	cggtgggcg	10200
aaaaccggac	ccttgacgat	gaccagcatt	gtttcctggt	cagccagcgt	gcggggcatt	10260
ccaccgtgtc	ccaggggggc	atgcaggtca	gcctggcgcc	gggtgagctg	ctgctgatgg	10320
attcggctcg	gcgctgcgaa	atcaccccca	gtgggttgat	cgaacatgtc	tcgctggccc	10380
tgtcgcgtga	gcaggtacgc	aagtatgtgc	aaggcagcgg	cccgatgttt	ggcaagatct	10440
cctcgagcaa	cgctgcggg	cgcatgctgc	atgtgctgat	ggaccaactg	tgcaaggacg	10500
gcaatgtaag	cggtgatggg	gcccagggcg	acgcgctgca	gaccgccttc	attgccttgc	10560
tggagccagg	cttcgagcgc	catggcgaag	cgctgggcaa	ccttggggcc	ttgaacgggg	10620
ccaacctgcg	gggctacgtg	cagcaggtga	tcgacgagtc	cctgtcacag	cccgggctga	10680
ccccgtccaa	cctggccggt	cgccgaaca	tctcgggtgcg	tcacctgtac	cggtgttctg	10740
aggaggagg	cgatagtgtg	tgccgctaca	ttcagcgggc	gcgcctgaag	cgcagtgcgg	10800
atgacctggc	caacccttcc	ttcaggagcg	agtcgattac	ctcgattgcc	tacaagtggg	10860
ggtttaccga	ctcggcgcac	ttcagccgct	cgttcaagaa	acagttcgaa	cgctcgccca	10920
aggactaccg	ggcgcaggcg	atggtttgag	tgtgatgggtg	ctgcttgtgc	gggcctcctc	10980
gccggcaagt	cacttggcgg	cggttcagcg	acggcagttg	aagttagccc	acagctgggtg	11040
cacggctctg	ccggcagtg	gcagcagcgg	gcggaaatgg	tccttgcgca	ggatgcgcgc	11100
atgcttgacc	gagctgacca	ggtcatagcg	cttcgatccc	tcctgcatac	cctcggcgag	11160
tatcttgcaa	atgatgtggc	tgggcgtgac	gccaaagccg	gagtagccct	gcacatagaa	11220
agcgttgggg	cggttgtcga	gggtgcctat	ctgcggaaac	aggttggcac	tgggtggccat	11280
cgggcccgcc	caggccaggt	cgatgcgcac	gtctttcagg	taggggaaaa	tcttcagcat	11340
cagcgcgcgg	ttccacgcct	tcaggtccag	cgggaaagtgc	tcgacgaagg	gcgtggcggc	11400
gcaaacagc	aggcggttct	cgcggtgac	ccggtagtag	tcgatcaccg	ggcggatgtc	11460
gctgtaggcc	ccgcgtatcg	ggctgatgcg	ctcgatcagc	tcacccggca	atggctcggg	11520
catcatctgg	aaggcatagg	tgtttatagt	gcgtgcgtgc	agctgcggct	ccagcttgtt	11580
gaggaagctg	tcgcacgccc	acagcagctt	gctggcgcgt	accgagccac	ggccgggtgcg	11640
taccgtgatg	cgctcgccgt	aggtcacttc	cagggccggg	ctgtgttcga	agatgcgcgc	11700
accatggccc	accagtgcct	gcgcttcgcc	cagcagcagg	ttcagggaat	gcacatggcc	11760
accgcccattg	tgcatacagg	cgctgctgta	ggcgttgcctg	ccgatgatct	ggcgcacttc	11820
gctgccaccg	agaaaacgga	tctcgtcgcg	ggtattgatc	gccttgaacg	ccttctccca	11880
tttgcgcagg	gtctgttctc	ggcggcgggt	gaagcccattg	tagccatagc	cgtggcagaa	11940
gtcggcgtcg	atggcgtagc	gggcgatgcg	gtccttgatg	atgccggcgc	ccagttcgtc	12000
gatttcgaaa	atatccctca	cgccctgatc	accgacgctg	ctgcggatct	tctccaggtc	12060
gtggccgatg	cccgccatga	tctgcccgcc	gttgcgccc	ctaccgccc	agcccagata	12120
acggccctcg	acgcacgacga	tattggctcac	gccttgttcc	gccagctcca	ggggagtggt	12180
aatgccggag	aaaccgccac	cgatcaccac	gacatcgccc	tcgatgtcgc	ggtccagggg	12240
tgggaagctc	aggttgtact	tcttggctgc	cgagtagtag	gtggggctct	cgaggggtgat	12300
catgacgcgg	cctgctgact	ggaaatgggt	agaaatcatt	ctattaatgt	attaatgatt	12360
gtgcaactggc	atactgcgcc	gtttgctatt	tccagcctcc	ttgagcccgc	atgaccacac	12420
cgagaccctc	cctgaccctg	accttgcctg	aggcgcgcga	agccaccatg	gcgttcttcc	12480
gcccggcgtc	gaatgcccat	gacctgaccg	agcagcaatg	gcgggtaatc	cgatatcctgc	12540
gccagcaagg	cgagctggaa	agccatcagt	tggcggagct	ggcctgtatc	ctcaaaccca	12600

ES 2 387 150 A1

gtatgagcgg	ggtgctcaag	cgcctggagc	gtgacggcat	cgtagcgcgg	cgcaagtgcg	12660
cggaggacca	gcgcggggtg	ttcatcagcc	tgaccgaggc	cggccagcaa	gcgtttctgg	12720
cgatgagcga	ggagatgacc	cgcaactacg	acaagatcct	cgcccagttt	ggcgatgaca	12780
agctgcagca	gctgatgcag	ctgctgggtg	aatgaagaa	gatcaaacc	tgacgcgcca	12840
ggcgtcagcg	gttgagtgcg	agcaggtctt	ccagcacttt	cagcagtgtc	gcccgcgccc	12900
gctcataggc	gtcggggcct	gcgtacatca	gctctacata	caggctgtcg	atgatgcca	12960
ggtaggcatc	ggcatacagc	gccaggcggc	tgtgctgtct	atgcgcccag	ccgtggcgag	13020
cttgcaaggc	cacgctgaac	ccttcgcgta	tgccgtccag	gtactgttca	aagcccgaag	13080
tgacaatcgg	cttgatgccc	gccgggggca	ggaacgccgt	gcgcaacacg	aagcgcagtt	13140
gggcccagtc	gcgataacgt	tccggccagg	gcagggccag	ccagtgcccc	gcccgcaggc	13200
cgctgcgggc	ttcctgcgca	aagccgtgct	cgacaaaggc	cgtttcctgc	acaagcgcac	13260
gctggaacac	ctccacgaac	aaggcgtcct	tgttggcgaa	atgcgcatac	agcgatgcct	13320
tgcgcatgcc	cgccaactgg	gcgatttctg	tcagcgaaga	ggcgtcataa	ccgtactcgg	13380
cgaagtggcc	gacggcggca	tcgcacacac	gcaccgcaga	aggggaaagg	tctttcaaca	13440
gcatcactcc	gtcaggggcg	cggcggggcg	cgcgcgtctt	gaggggtgga	ttgtggtgat	13500
cgaaaatgca	cgggtcaatg	cttgctgcaa	ggcaatttcc	gggcgccatg	gaaagtgcga	13560
tgttcccctc	gtaacgtgca	ttcctccacc	caatcgccgc	tcacatactg	atcgcgtctt	13620
cgaatccaat	aagaaagaga	ccgctcatga	aaaagccaaa	ccccctgctg	gaagacctga	13680
agtccgtcct	gccgaccatt	gccgccaatg	ccatgcgtgc	agagcaggac	cgcagtgtgc	13740
cggcagagaa	tatgccttg	ctgaaaagca	tcggcatgca	ccgcgctttc	ttgcccaaac	13800
acttcggcgg	catggaatc	accctgccgg	agttcgccca	gtgcatcgcc	ttgctggcgg	13860
gggcctgcgc	cagcacagcc	tgggcatgca	gcctgctgtg	caccacagc	caccagatgg	13920
caatgttctc	gcccaagcta	caacaggagg	tgtggggtag	cgaccgggat	gctaccgcca	13980
gcagcagtat	cgcgccgttc	ggccgcactg	aagaggttga	gggtggcgtg	tcgttcagcg	14040
gcgaaatggg	ctggagttcc	ggttgccgac	acgccgaatg	ggcgattctc	ggtttccgcc	14100
gcaagaatgc	cgaaggcgct	caggattact	gcttcgccat	cctgcctcgc	agtgactatg	14160
aatcccgatg	tgactggtat	gccgtgggca	tgccgcccag	cggcagcaag	accctgatcg	14220
tgcgatgatc	cttcgtgccc	gagcaccgca	tccagaaggc	caaggacatg	atggagggca	14280
agtccggcgg	ctttggtttg	taccctgcga	gcaagattht	cttcgccccg	tatcgcccgt	14340
atthtgccag	cggtctctcc	acggtcagct	tgggcgttgc	cgagcgcgat	ctggaggtgt	14400
tccgcgagaa	aaccgcgaac	cgcgtgcgtg	cctacaccgg	tgctgccgtg	ggcgcgcgca	14460
ccccggcget	gatgcgctg	gccgagtcga	cccatcaggt	ggccgctgcc	cgggcattgc	14520
tggaaaagag	ctgggacgag	attgccgagc	acagtgcccg	tcacgaatac	ccgtcgcgtg	14580
gcagcgtggc	gattctggcg	accaaccagg	gctacgccgt	gaagatgtgc	atccaggccg	14640
tcgaccgcct	gatggaagcg	gccggtggtg	gcgcctggtt	cgagagcaac	gaactgcagc	14700
ggctgttccg	cgattcgcac	atgaccggtg	cccatgccta	caccgattac	gacgtgtgtg	14760
cgaaatcct	cggccgcgag	ctgatgggca	tggagcctga	cccggcgatg	gtctgagccg	14820
ccacttgtht	tcaccatcc	cctacaagca	caacaacaaa	cagggcaggc	tgccaggcct	14880
gcccgggagt	cttgcatgtc	caaagaaacc	ttcgattcac	gtgccttccg	ccgcgccttg	14940
ggcaacttcg	ccaccggcgt	gaccgtggtg	actgccgcgc	gccccagtg	ccgcaaggtc	15000
ggcgttaccg	ccaacagctt	caactcgggtg	tcgctggacc	cggcgcgtgat	cctgtggagc	15060
atcgacaagc	gctccaccag	ccatgaagtg	ttcgaagagg	cctcgcactt	tgccgtgaac	15120
attctggctg	cggaccagat	cgacctgtcc	aacaacttht	cccgcccgaa	ggaagatcgc	15180
tttgccggtg	tcgactacga	gaccggcact	ggcggcgcgc	cgthgttcgc	cgattgcgcg	15240
gcgcgcttht	agtgtgaaaa	gtaccagcag	ctggacgggtg	gcgatcactg	gatcctgggtg	15300
ggcaaggtag	tggcctthtga	tgactthtgg	cgctcgcgcg	tgctgtatca	ccagggcgcc	15360
tattcaatgg	tgctgcgcga	taccgcgatg	acccaaggcg	cagaggggca	ggcaccgagc	15420
agccacttcc	agggccgcct	gcagcacaac	ctgtactacc	tgatgacca	ggcgcgtcgt	15480
gctaccagg	ctgactacca	gccacgccag	ctgtgtaccg	gcctgcgcac	cagcagggca	15540
cgatgcgtga	tggtgctgga	gaacgatgcg	ggcctgagcc	tgaacgacct	gcaacgcgaa	15600
gtggcagtag	cggcgcggga	gatcgaggaa	gcggttgcca	acctcaagcg	caaaggcctg	15660
attgccgatg	acgaaggcg	agtgccgcta	tcggtgaagg	gcgtggacga	gaccgagcgc	15720
ttgtggacca	ttgcccggca	acagcaggac	aaggtgttcg	ggcagttcag	tgaacagcag	15780
ctggagactt	tcaagaccgt	gctcaaggcc	cttatcaaca	tctgaacacg	ctthgggatg	15840
gcaccggctg	thttggatgg	caccgctgtg	gcggtgttcc	gcggatgaac	ccgctcccac	15900
aggtccagcg	ccagtagcaa	cttcggcgcg	gtacctgtgg	gagcggctth	agccgcgaa	15960
accggcaaa	ccggtgccat	ccaaccagaa	gcctcagtag	gcaccacccc	cggcactggg	16020
gactaccact	gtatcctthga	acttccccgc	cagctcgcgc	agcccgcgca	tcagcaccgt	16080
ggtatccaca	cccaccgcca	caaaccgcgc	accagctcgc	atgtagcgtc	gcgcccagth	16140

ES 2 387 150 A1

ctcgtccgcy	ctgagaatgc	cggcggccttt	gcccgccttg	ccaatgcgca	cgattgcgtc	16200
ttcaatcgcc	gcctgcacct	cggggtgccc	ggggttgccg	cgatgcccc	tggcgcact	16260
caggtctgca	ggccccgatga	acacgccatc	cacaccttcc	actgcaacga	tctcgtccag	16320
gttggccagg	ccttccttgt	tctcgatctg	caccagcagg	cacatttget	catcggcgtg	16380
gtccaggtaa	ccggggaggg	tgttccagcg	cgaagcccgc	gccagcgcgc	tgccacccc	16440
gcgaatgcc	ttggggcgggt	aatgcatggc	cttgaccagt	tgccgcgct	gttcggcagt	16500
ttccaccatc	ggcaccagca	aggtttgtgc	gccgatatcc	agcacctgct	tgatcagcgc	16560
ggtatcgccg	atcaccgggc	ggatcactgc	ctggctgggg	tagggtgcca	ccgcctgcaa	16620
ctgggcgagc	atgccgcgca	ggtcgttggg	cgcgtgttcg	ccgtcgatca	gcagccagtc	16680
gaaaccggca	ttggccgcca	gctcggcgca	gtaggcacgc	gccaggccga	gccacaggcc	16740
gatttgcggt	tcaccgctgt	gcaggcgtcg	cttgaagtgg	ttgatgggca	tgtccatgag	16800
caggtcctta	aacgaagcgg	caggcgatgg	agccgagcat	gtcgtagtcg	acgtggaagg	16860
tgtcacctgg	gcgagcggcg	accgggcggg	tgaacgaacc	cccaaggatg	atctggccgg	16920
gctgcaaggt	gacgtcgtac	ggcgccagtt	tgttggccag	ccaggcaacg	cctttggccg	16980
ggtggttgag	cacggcagcg	ctgaccccgg	attcctcgat	cacgccattg	cggtagagca	17040
ccgcccggac	tttgccgagc	tcgatttcgg	tggggccgac	ggcccgcgg	cccatcacca	17100
cgccggcatt	ggcggcgttg	tcggagatgg	tgtcgaacac	cttgccgggtg	gctcgggttt	17160
gctgggtccac	ctgctggatg	cgcgcgtcaa	tgatttccag	cgccgggatc	accactcgg	17220
tggcgtccag	cacatcaaac	acggtgatgt	tcggggcctt	cagcggcttg	ccgaggatga	17280
acgccaactc	cacttcaacc	cgcgccagca	tgaagcgcgc	gaaggggatg	tcgctgcctt	17340
cgtcgaacag	catgtcgtcg	agcaaggcgc	cgtagtcggg	ctcgggtgatg	ttcgacgata	17400
cctgcatggc	gcgagaggtc	aggccgatct	tgtggcccac	cagcttgccg	ccggcggcga	17460
tcttttttgc	caccagggcg	cgctggatgg	cgtaggcgct	ttcgatgggtg	attgcccgtt	17520
gctccagcga	gaactggcgc	acttgctcgc	gggagcgttc	ggcctggctg	aggcggctcg	17580
cgccgtgctg	gatgaaagcg	ttgtctagca	tgggggcggg	ctcttgattc	aagggttgac	17640
gatggcagcc	tgggtgcgca	acaccagcag	gccgcccagg	gcgatgaaga	cgccgagtac	17700
gtacagagca	aggctggcgc	tgtgggtggt	gtcgcgcacc	cagccgatga	agtaggcgt	17760
gaagaacgag	gcgatgctgc	ccagcagact	gatcagggca	atgccggcgg	cctgggtacg	17820
ggcgttgagg	aacgccggcg	gcagttgcca	gaacatcggc	agcgcagcgc	tggcgcctat	17880
gccggccagc	accaggccgg	ccattaccgg	cagcgcctgc	tcgggggcaa	tggccgcaat	17940
agcgtgccc	atggcagcca	tcagcagcgg	taagcacagg	tgccagcggc	gttcgcgttg	18000
gcggtcgcctg	gagcggccgc	acgccagcat	gaacacgcag	ccggccacgt	acggcacagc	18060
gctgagcagg	ccgacactgg	cgctcgtggc	cacaccggca	ctgtgaatca	ggctgggcat	18120
ccagaacgca	agggatttca	ccgccagcat	caccgcgcaa	tacacggcca	ccaacagcca	18180
cagcgcagcg	cttgcgaaaa	tggcgcgcaa	cgaggttacg	ggcttgccgt	gttcttctc	18240
accgaattgc	gcgcgcagcg	tggctttctg	ctgctcatcc	agccagctca	cccgcctgaa	18300
gtgctccggc	aaaacggcca	gtaccaccag	gcccagcaac	accaccggcg	ccccttcgag	18360
caggaacatc	cactgccagc	cacgcagccc	gcccgtgtcg	tgcgatgaagg	ccagtatggc	18420
cccggacact	ggcccccgca	ccactccggc	caacggcacg	gcaatggcga	acagcgcggg	18480
gacctggggc	cgccgcccgg	ccgggtacca	gcggttgagg	taaaccagaa	tgcccgggaa	18540
gaaccggccc	tcggccgcgc	ccagggcaaa	gcgcaacagg	tagaacgcgc	tgctgctttc	18600
gatcagcagc	atgctggtcg	acaacagccc	ccacaccacc	atcaggcagg	cgatccagcg	18660
gcgtgggcca	acgcggctga	gcatcaggtt	gctggggacg	ccgaacagcg	cataggcaat	18720
gaagaacagc	ccggcaccca	ggccatagac	cgtgtcggac	aatgcaggt	cctggctcat	18780
ctgcatcttg	gcgaagccaa	tgttgatgcg	gtccaggtgg	gcgaacaggt	agcacaccag	18840
cagcagcggc	atcagccgcc	aggtgactgc	ccgatgggta	ctgtcggccc	gttcaacgtg	18900
tgcctcgcgc	ggcgaggctt	gttcgagtgt	gctcatgttt	ttgtaactat	tctgtaata	18960
gtcggggagg	gcgtggtttg	agccggcgcg	ctagcgggtg	aacagtgggt	gcaaggtgct	19020
gtgcttggcg	tcgtagacct	gggcggtgct	gtggctgac	tgcacgggtga	tgcgatcgg	19080
gcgctgttgc	agcagtgggt	ccaggcgcgc	tttcaacact	gccagcaagc	tgtgcgccac	19140
tgttttgtgc	acctcggcgc	tacggccggg	agccatcgcg	aggttggcgt	acagaaagcc	19200
gtattcgcct	tttccgctcg	ccaccgcgca	atgggcggcg	gggtaggcca	gcacgcgtgt	19260
accgccagtg	gggaacacgg	ccttgccttc	ggcatcgcgc	tggtcgagca	tggtgtcggc	19320
cagggcgcgg	cacaggccgg	ggatgtcggc	gtcggtttcc	aggtcggggg	tatagagcag	19380
aaccaggtgt	ggcatggggg	cctcctcggg	gaggggcggc	tggccaccgg	ccagggcgac	19440
cagccgcgaa	cggttgggtt	acaggcggct	ggtgggcacc	acggcggccg	ggttggcggc	19500
ctgggcagcg	gggatggcac	caccgtcctg	cggggtgacc	gggaagatcg	cgttgatctg	19560
gccggtgccg	gaagagccga	agtagggcgt	gaccacttcc	gccttgccgt	cgtaatcgga	19620
ccagcccagc	gcacccagca	gcattgccgt	gtcgtgcatg	aagccttcac	cgtggccttt	19680

ES 2 387 150 A1

ggcggcgtag	tccggcagca	tcccgcagaa	cgcttcccac	tcgcccgtcct	gccacatttg	19740
caccacacgg	tggtcgaggg	tttcgaggaa	cgggctccac	accttggtgg	caaagtccgg	19800
cgcttgccg	ttctgcgcga	agcgggtgcga	cagcgagccg	ctggccagga	acgccacggt	19860
gccgtcgtag	tggtcttcta	ctgccttgcg	catggcccag	cccaggcggg	cactgtcggc	19920
caggtagtgc	gaggtgcaca	gggcccagac	cgagaccact	ttgaagtgct	ggtcctgggt	19980
catgtagcgc	atgggcacca	gggtgcccga	ttccggggcg	aggggtgggt	cggtggggc	20040
catggtttcg	acgttgaagc	ggttgcactc	ctcggccagc	agcttgccca	gctcgggatt	20100
gccggggaat	gcgtagggca	tgttgctgat	gaagtgcggc	agttcgttgc	tggtgtacac	20160
gccctcgaaa	tgccggcccgc	acagcacgtg	gtagttggcg	ttgaccagcc	agtgcgtgtc	20220
gaacacgacg	atgggtgtcca	cgcccagctc	acggcaacgg	cggctgattt	cgatgatgcc	20280
gtcgatggcc	gcctggcgaa	agccttggcg	cgggcctggc	agttcggaca	tgtacatgga	20340
cggtacatgg	gtaatcttgg	cagtgaagac	gagtttgccc	atgggggtct	ccgataagac	20400
gctgttgttg	ttttggggct	gacccggctc	cttgtaggag	cggccttgtt	ccgggatggg	20460
gcgcacagcg	gcccggcgca	tatctgcggc	gaggctgaaa	tccagggggc	gctgcgcgcc	20520
ccatcgccgg	cacaaggccg	ctcctacacc	cgggcgggtg	aaaccgcaca	gaggggttaga	20580
tgccccagcg	aggaatgtgg	tgattacca	tggaataaca	cagtttcttg	atctctgcaa	20640
agacctgaa	gctgtactgc	ccgccctcac	gcccgggtacc	ggaaccttcc	acgccgcgca	20700
acggctggcg	caggtcgcgt	acgttctggc	tgttgatgaa	caccatgccg	gcctcgatgc	20760
cacgggccag	gcgatgggct	ttgccgatgt	cctgggtcca	gatgtacgag	gccaggccat	20820
actcgggtgc	gttggccagt	tcgagcgcct	cggtctcgtc	cttgaacggg	atcaggcaca	20880
ccaccggggc	aaagatttct	tcctgggcaa	tcgcatctt	gttgttcaag	tcggcgaata	20940
cggtgggctg	gatgaactgc	cccttggcca	ggtgcgcagg	caggttggcc	gggcgctcca	21000
ggcccccgcc	gaccaggcgt	gcaccttctt	cgatgccaat	gcggatgtac	ccgggtgacct	21060
tgtcatagtg	ctgctgggtg	atcatcgaac	cgacctgggt	tttcgggtcg	gtcgggtcac	21120
ctacgatcag	gcgcttggcg	cgccgcccga	actctgcgac	aaactgcggg	tacacgcttt	21180
cctggatgaa	gatgcggctg	ccggcgggtg	agcgcctgcc	gttcagcgag	aagatggtga	21240
acagcgcggc	gtccagcgca	cgctcaaggt	ctgcgtcttc	gaagatcagc	acgggcgact	21300
tgccgcccag	ttccatcgag	tactttttaa	ggcctgcggg	ctgcatgate	ttcttgcccg	21360
tgggcgtacc	gccggtgaag	gaaatggcgc	gcacatcggg	gtggcggacc	agggcatcgc	21420
cgggcgtagc	gccgtaaccc	tggatcacgt	tcagcacccc	gttggggatg	ccggcttcta	21480
ccgccaggcg	gcccagttcg	ttggcggtea	gagggcagac	ctcgtctcat	ttcagcacgg	21540
cggtgttgcc	cagcgcagcg	cacggcgcag	tcttccaggt	agccgtcatg	aacggcacgt	21600
tccatgggct	taccaggccg	cacacaccca	ccggctggta	caggggtgtag	ttgagctct	21660
ggtcgtcgac	gggttaggta	tgcccgctca	tcgctgtgca	cacttcggcg	aagaagtcga	21720
agttgtcgca	ggcacgcggg	atcagcacgt	tcttggctcg	gtggatcggc	agggcgggtg	21780
cgagggtttc	cagctcggcg	agtttcggca	cgttctgctc	aatcagctca	cccagcttgc	21840
gcatcagccg	ggcacgttcc	ttggccgggg	tgttggccca	cttggggaag	gcttccttgg	21900
ccgcagccac	agcctggggc	acttctctcg	cgccgcgcgt	ggcgacttgc	cagatggcgt	21960
cgccgggtgg	cggtttgtag	ttgacgaagg	tgtctttgct	ctcgacctca	cgccggttga	22020
tccagtgett	gatcatgctg	ctcatgcctt	gttgttcttg	aagaagttag	cttcgctgac	22080
gatacggttg	accaggcgac	cgacgccttc	cacttccacc	accacttctg	caccgggcac	22140
cacatcggcc	aggccttctg	gcgtgcccgg	ggcgtatcat	tcgcccgggt	gcagggatcat	22200
gaagctggag	aagtattcga	tgaggtgcgg	gatgtcgaag	atcatgtccg	cggtgggtgcc	22260
ttcctgcttc	agctcaccgt	tgatccaggt	gcgcagcttc	aggttgctga	cgctcggcac	22320
atcggccgca	tcgacgatcc	acgggcccag	cggggtgggt	gcatcgcggg	ttttcacccc	22380
caggttgggg	cggtagtagt	tttcagggtg	gtcgcggatg	gcgtagtcgt	tgcacacggt	22440
gtagccggca	acgtaggcca	gggctccttc	acgcttgacg	ttcttcggcg	ctttgccgat	22500
caccgccacc	agctcgcact	cgtagtgcac	gtattcgacg	ttgtccgggc	gccaggtgac	22560
ctggatgtgg	ccgggttagg	tgccctggcg	cttgatgaaa	gccaacgggt	cggtgggcgg	22620
cgcaaggcc	agctccctgg	cgtggctcgg	gtagttcagg	cccagggcga	acatgtctgc	22680
ggtggcgggt	ggcacccagg	tgacctggtc	ctgatggacc	agggcggcgt	cgccaaggcg	22740
caggtgactc	tcttcgaccg	tgacatcgct	ggcctggccg	tcgaactgga	tacgggcgtg	22800
tttcacaggt	aattcctcac	tcggcgacga	tggtgtgggt	cagcttgcgc	agggcgtcga	22860
tctcgatgtc	gacgcggtca	cctggctgta	catcgacgcg	gccctcgggg	gttccggtga	22920
tcaggatgtc	gccggcgtgc	agggatcatga	actcgtctgat	ttcggcaatc	agctgcgcca	22980
ccgtgcgtac	gcagttggcg	gtgttgttgt	gctggcgcag	ttcggcgttc	acatacaggc	23040
gcaggcccag	ggcatcgggg	ttggccactt	ggctggcggg	caccagttca	gggcccagcc	23100
ggcaaaaacc	atcacggcac	ttggccttga	ctgcagggcg	gtagtagctg	gcttcgggca	23160
ggctcacttc	gttgacgatg	gtgtagcccg	ccacatgctc	cagggcatcg	gccacgctga	23220

ES 2 387 150 A1

cgcggtggc	gtccttgcca	atcaccactc	ccagcgccgg	gccgggttgc	acgcgctgca	23280
cgccggccgg	gaataccacc	tggccttcat	gctgggttgcg	ggtgttcggg	gtcttgacga	23340
acaacaccgg	cttgaccggc	agttgcttgt	acgggtgcttc	cacgaacgcc	gcttggtgct	23400
gctgcagcaa	accctggtag	ttcagcgcg	cgccgaacag	ggtgcccgtg	gcaacgtcaa	23460
gcagggcatg	gctcatgctc	ttctcctggc	agtgcagggc	ggtggccgtc	ctgcggtatt	23520
cgtaaatgtg	ttaatgttat	agttaatatg	ttaacgatgg	tcaaggggtg	gccagtggcg	23580
cctgccggca	aggcaaggca	ccatgggcca	tcgtcaacag	ggtcaagcga	tttgcgagca	23640
agcagccatg	agcgaccggc	atccgatacc	gaacatcaac	attggccagg	tttacgacca	23700
gcgctacagc	gacagcgagg	tgcattacga	ccggctgggc	aacctggcgg	gctttttcgg	23760
gcgcaacatg	ccggtgcacc	ggcatgaccg	gtttttccag	gtgcattacg	tgaagtcggg	23820
cacagtacgg	gtgtatctgg	atgaccagca	gtacatcgag	gccggggcca	tggttcttct	23880
cacgccaccc	acgggtggcg	acgcgttctg	caccgaagct	gacagcgacg	ggcatgtgct	23940
gacggtgctc	cagcaactgg	tgtggcaatt	gatcgaagcc	gacgccagcc	tgctgccggc	24000
gggcatgcag	gtgcagccag	cctgtgtggc	gctgggcaac	ctgccggccg	aatacaaggc	24060
cgaggcgcag	cgctgcaag	gctggctgga	cgcggtgagt	gacgagtttg	ccacgcagca	24120
accgggtcgc	gaggcggcgt	tgcatgctg	gaccgcctg	atcatgatca	gctgtctgcg	24180
gctgtgcccc	aactcgctgg	aatcgacccc	ggcgcgccat	gaagacctga	agatcttcca	24240
ccgtttcaat	gccctgatcg	aagcgatta	ccttgagcat	tggccgctgg	cccgctacgc	24300
gcagcagatt	ggcgtgaccg	aggcacggct	gaacgatgtg	tgccggcgca	tcgccgactt	24360
gccatccaag	cgcttgggtc	tggaacggct	gatgcaggag	gccaagcgtt	tgctgttggt	24420
ttccggcagc	acggccaacg	aaatctgtta	ccagctcggc	ttcaaggatc	cggcctattt	24480
cagccgcttc	ttcaaccgct	acgccaagct	cacaccggg	gagtaccgcc	agcggcaggc	24540
agaattgcag	tgaaatggcc	atggcggctc	acccgggtgc	tggtgttggt	tacagcggat	24600
ggtcgcagcc	cgcgcgccgg	gcttgaatgg	gttttcctg	gaacagattg	cactttccat	24660
cgtgcatgcc	cttaaattcg	tgaattgaga	aaaagccaca	ggtttgacca	tgaccaagac	24720
gcaaccttcg	ctcacgctaa	gcctgttgca	ggcccagaaa	gccgcgatgg	catttttcag	24780
gccgctggtg	aaccagcacg	acctgaccga	gcagcaatgg	cgggtaatcc	gcatactcaa	24840
gcagcacggc	gagctggaga	attatcagtt	ggcggaactg	gcctgcatcc	tcaagccgag	24900
catgaccggg	gtactggggc	gcctggagcg	agacgggctg	gtgcccgggc	agaaggccgc	24960
gcaggaccag	cgacgggtgt	tcgtcagcct	gaccgaaaga	ggggaggcgt	gctttgcctc	25020
gatgaaggaa	ggcatggagg	ccaactacca	gaagattcag	gcgcagtttg	gtgaagagaa	25080
gctgcagcag	ctgatggggg	tggtgaatga	cctgaagcgc	atcgcgccat	aa	25132

<210> 2
 <211> 12339
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas putida U

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(12339)
 <223> Cluster tyn

<400> 2						
tcaggcga	cgctcgaagc	ggtacgggtga	cgggctcgatc	agcgggggtgg	cctggggccac	60
caggtctgcc	gccagctggc	cagcagcagg	cgaggtgccg	aagccatgcc	cggaaaagcc	120
ggtggccagg	gtcaggcccc	gaatactggc	caccggggccg	atgaccgggt	tggagtccgg	180
ggtgacgtca	atcgtgccgg	cccaggcgct	ggcgatacgg	gcctgttcga	acaccggcca	240
ggccgctttc	aggttgcgca	tggcctcgtc	gttgaggggcc	gggttggcgt	gcggttcttg	300
taccggtaca	cgctcgaagg	gggttacatc	cgctgccttc	cagcgccggg	ccagggccag	360
gtccttgaag	aagtacttgc	caaagctgat	gcgcaaaaag	tcccgtggtg	cacgcagctg	420
gggcaggtaa	cgcttgccca	gcagcaggtg	atcgagggtg	aggaaggcgt	ccagcgcgcc	480
gcgctgggtg	atgatgtagc	cgccgtcctt	gtgcttgcgg	aaggaaaaat	ctggtgcgcc	540
cacggcgatg	tcggttggcc	cgtccatggg	ctctgtgcgc	agcacggaac	aggtcagcgg	600
caaggtcggc	aggttgatgc	ccaggttgcc	gaggaaactg	cgcgaccaca	ggccaccggc	660
cagcaacacc	tggtcgcagc	ggatttcacc	ttgctcgggtg	accaccccg	tgacacggcc	720
ggtgcgggtg	accagcgtgc	gcaccgcgca	gttctccact	accactgcac	ctttggcgat	780
cgccgccccg	gcgatggcgc	tggcggccag	ggtcggttcg	gcgcgggcgt	cggagggggg	840

ES 2 387 150 A1

gaagatgcc	cctgcccaat	ccgccccacc	accgcccacc	atccgggtga	tttcccgcgt	900
gctcagcagg	cgcgaaatcca	ggcccagcgc	ctcgcagcctt	ttcagccagc	cttcatgcat	960
gcccacatctgc	gtgtcgttac	ggccgatgaa	catgatgcgcg	gcttgccgat	agccaacgctc	1020
gctgccaaacc	cgtgcgggca	tctcggccca	cagccgatca	gcccgcagtg	ccaggggaat	1080
gtcatgggcg	tggcggttg	tcttgccac	ccagcccagg	ttgcgcgacg	actgctcccc	1140
agcgatgcgc	cccttctcca	gcaccaccac	cggtatggtg	cgttcggcga	ggctcagtgc	1200
ggcggtgagg	ccgataatgc	cgccaccgat	gatcaccacg	gtagtggcgt	cggggtggcg	1260
ggtgctgggt	tgcacagggg	cgatcgtggg	agacatggct	ttactctttg	ttgtgcgtgc	1320
agggggagtg	ttcagcgcca	gccagcagcc	tactggcca	aggcggatca	gggtcacttg	1380
cgcttgcccc	gcaccgcggt	aggcggtgac	ctccagctcg	accttgtaaa	cggtggagcc	1440
cagcggcggg	caggtgaccg	tgggtggccg	gtcgatgccg	cggaacttct	cgccgatcac	1500
gtccatgacc	cgtggtacat	cggcagggtc	ctggatgaac	acgcgcgagt	tgatgacatc	1560
ggccaggctg	gcatcgactg	cggccagcgc	ggtttcgatg	ttggcgaaca	cctggtgggt	1620
ctgttcgatg	acgtcctctg	gaatgacctg	ggtctgcggg	ttgcgtccgg	cggtgttggg	1680
gacgtgaatc	cagttgtcca	ccgccaccag	gcgggagtag	ctggccatgg	cttcgaactt	1740
ggagccgggt	ttcagtttga	tgatctgtgt	catgggcttt	gccttgttat	ccggttgcgg	1800
ggtcagctg	agaacggggg	tttcccagag	ggtgagcttt	acgccgatgc	cttgctcgag	1860
cgcttgccg	tacaccacgg	tgccccaggc	cacgtcttcg	acgggcatgc	cgcccaccga	1920
catcaggatg	atctcgtcgt	catgcaggcg	gcccgggtcg	tcgccgctga	tgatcttgcc	1980
gatgtcttcc	acctgctcgg	cggccagcgt	gccttcggca	atcatgtcca	tgaagcgcac	2040
acctaccagc	ggtacgtggt	tgtgcgcagg	cttgggcagc	tcttcgaacc	aggcctcgta	2100
gaggccgggtg	ttgtccacca	ccttgccac	gtcgtcctgc	tccatgccgg	cgctgatact	2160
gcacggggct	ggcatggcca	ggaacgcgcc	aggcttgacc	cactcgcggc	gcaccagcgg	2220
gtactggctg	gggtcgcga	cttcgcccga	gctgcagtag	ctgaccaggt	cggaaccgcg	2280
taccacttct	tccagggttt	ccaccacctg	gacatgagtg	atctgcggga	agctggtttt	2340
caccagggcg	acgaaggcat	ccaggttctt	ctggccacgg	cccttgacct	tgagggtgct	2400
gatcagcggg	cagacggcca	tgaacgcagc	gaccgtggtc	ttgcccatca	ccccggggcc	2460
ggccaggccg	atcaccttgg	cgctccttgc	cgccaggtgg	cgggcgccga	cgcccgggat	2520
ggcgcgggtg	cggtaggccg	acagcaggtt	ggccgacatg	tgtgccagtg	gcgcgcgggt	2580
gtcggcatcg	ttgagggtga	acatcaggat	cgagcggggc	aggcctttct	cacggttggc	2640
gatgttcgag	ccgtaccact	tggcgcctgc	ggtctggaag	ttgccgccga	ggtacgccgg	2700
catcgccatc	atgcgcgggt	cggcgggtggg	cttgggcatg	ttggggaaatg	gcgagtgtct	2760
ggggaaggta	atcatcgcgc	cgtgcgagtc	gctgctcggg	ccggccatgc	ggtagtcacc	2820
ctcgtaacag	aggccgaaca	tttcttccat	ggtgtcgaca	caggccggca	tgtcgggtgac	2880
gcccgcacgg	atcatgtcct	gctcggacag	gtagatgaag	tcaattctgg	tatcgagggt	2940
catggcgggt	ctcgcagggc	tggctgccgt	cggatctgtt	gcttggtttcg	aggcaaccag	3000
tttcgctaac	gactggtagg	tcgtcttgtg	tctgcctgcc	agccgagttg	accgtcagtg	3060
ccagggcttc	aatggcccgc	gagcgagaag	ctggccgggg	tgtggcgcag	gctgaggggcg	3120
gtcagcaggc	acaccaccag	ggtgcacagg	gccagcagcg	cggcccatgc	ggtcggggccg	3180
tggttgagta	ccactgcggc	cagcggggcg	gcgcgggcag	acgccgacag	ctggatggcg	3240
cccagcagcg	ctgcgggtgga	accagtgcc	tttcttgcg	aggccatcac	cagcgacatc	3300
agcgtcgact	cggctatccc	caggccgaac	agggctatca	ccatgccgcc	ggccacacct	3360
ggcagcccca	ggccggctcag	tgcaccgagc	aggctgatgc	aggcaccgcc	ggccatgcac	3420
agcacgcccc	cccgagtcaa	ggtattgagg	cccagccggc	tgatcaggtg	gctggccgctc	3480
atggcgccga	gcaggatcga	caccccgggtg	gcgccaaaca	gcaggccgaa	ggcctggggcg	3540
ctcaggccgt	agtgggcctg	gtacaccagg	gtggcaccgc	cgatgtaggc	gaacaggaag	3600
aagaataaccg	cagcaaccgc	cagggctcggg	cgcaggaagc	ggcggctcggc	gaggatggcc	3660
aggtaggtgc	tgcaggcgtg	gcccaggcgc	aggggttcgc	gcttgctggg	cggcagggtt	3720
tcgggcaggt	tcagcaggct	gctgaccagc	accgtcacgc	ccatgccggc	gagtaccagc	3780
attactgcac	gccagccgaa	atgtgcgtcg	atcacgccgc	ccagggcagg	tgccaggatc	3840
ggtgcagcgc	cttcgatggt	catcagcagg	gcgaacagtt	tggtcgcggc	cacgccctgg	3900
ctcacatcac	gcaccatgct	catgatcacc	accaggtca	gcgcactgcc	caggccctgg	3960
aaaaagcgca	gcatgatcag	ggtgtcgagg	ctgggggctg	cggctgcgcc	cagcgagcac	4020
aggatgaaca	gcagcaggcc	ggccagcagc	ggcttgcgcc	ggccataagc	gtcgcagatg	4080
gggcccgaaga	tcagctggcc	ggcgcacctg	gccagcagga	agaaggtcag	tgtcagctgt	4140
acgcgggtga	agctagcctg	atagtggctg	gcgatttccg	gcaggctcga	caggtacatg	4200
tcgacggcgg	aagggccgag	ggcgcggatc	aggcctaggc	ccagggcgaa	gctgaagggt	4260
atgggagggg	agggattggc	ttgcatgggt	ttctctggct	gattttctgc	ctaccgaccg	4320
gtaggtttgc	gaatattatt	cgccgagctg	gccaaaggtca	aacccttccg	caaggccact	4380

ES 2 387 150 A1

gattcctgtg	gggagcgggc	atgcccgcga	acaccggcaa	agccgggtgcc	accgagtcgc	4440
cttcttcgcg	ggcatgcccc	ctcccacatt	gaccgcagag	gttggttacc	gtggttgcgt	4500
cagaacggca	cagccacggt	cagctggcta	tacacattgg	taccattccc	gcccacctgg	4560
ttgcccgcgt	tgctctcgtc	cttgccgggc	tggtaaaggc	ccaccagcgg	gctgattatc	4620
aggtgctcgt	tgactgcccc	ttccacatac	aggtccagct	cccgcgcatac	gaggttgagg	4680
ctttcgcggg	tgcgtacggt	gtcgaagtcg	aagtacagcg	ccccgactgt	gagattttcc	4740
agcgggtgctg	ccttcacgcc	cacatgggtg	ataccctgtg	tgctggtgaa	ggggccggcg	4800
tagttggcag	cgacttcacc	ctggaaccag	gtgccgtaac	cgctggacag	gcccgtgaac	4860
agcgcgtccc	agcctgcccga	gtagcgggtg	tagcggtagg	taacctgcgg	tgcccacggc	4920
aggtcggcga	aggtgtagcc	ggcctgcagg	taccaggcct	gctcggggcc	gtcgggtctg	4980
tcctgcccagg	cgtattcgaa	ggcgaaactg	gcattgtcga	tgccagcgtt	gccttcgccg	5040
cgcacgctat	acacgtccat	gccttcgcgg	gctttctgaa	agtcgctggc	ccattggctc	5100
gtgacgtcga	tgccgtgaat	ccaggtcagc	ccgagggtgc	ccaaggcttg	ggtgtagtcc	5160
agcgtgccgg	cggccagttc	ggtttcggcc	tgggcgcggt	tgctggattt	cagccacagc	5220
aggtgccat	gcaggccatc	gctgcccccc	agggcgcagca	ttgcggtgcg	gtcgaaggcg	5280
tggcggggcg	ccaggtagta	ggccccgcg	cggtccagcg	caccgtcggc	gacgcggttg	5340
cccaggttcg	ggccgctcgtc	gttgatcaaa	aaaccactgc	ccaggcgaat	ggtctggcgg	5400
ccggcggaaa	cgtccactcc	atccttgccc	agcaccggga	acaggtcggc	cgagcggccag	5460
ccgaggaagg	cgtcttcgat	cttggtggtg	cgttcggagc	catcgggtgt	gcccggccga	5520
tcgccatcgc	cccagggtgg	cgagctcacc	cagttcaggc	tgccgtacag	cgtgccgttg	5580
ccggccaggc	cctggtcacc	gctgaggcca	tacttgataa	agccttcaag	ccaggtcgaa	5640
ccccctgtgg	tgccgtcgta	gttcttgccg	ctggtgaaca	tgccccatac	cgccagcatg	5700
tcggcgttca	ggtggctgtc	atcgtcggcg	tacagctcaa	cggccggcgc	ggcctggctg	5760
gccagcaagg	ttgccagggc	caggctggac	agcgtctgtg	gtttgaccat	ttgcacatcc	5820
ctcgtttgtt	ctcggccacc	ttcacagggg	cctttgttgt	tcgggggac	cctcggttct	5880
ggcagggggc	catcgcggtt	ggcggcgatg	gcctattagg	gcgtgtgcgg	tggggcgggg	5940
tcttgttcgt	ggctgccaa	gcgcttgcac	gccttgcca	caggcgcggt	cagtagcgga	6000
tcacaccga	cttgagctcg	gtgaagtcac	cgatgaaggc	cgagccgaac	tcgcccga	6060
tgccggaagc	cttgatgcc	ccaaacggta	cagccgggtc	gagcagggtg	tgcatggtga	6120
cccacagggg	accggcctgg	atltgcccga	tcatgcgcac	ggccttgccc	aggtcgttgg	6180
tcacaggct	ggcgtgagg	ccgtagggcg	agggcttcat	cagggtgcagc	agttcgtctt	6240
cgctgctata	aggcaggaag	gtcggccacag	ggccgaagg	ttcctgggtg	agcagggtgt	6300
cgcaggctga	ccgggcgagg	attaccgtgg	gttcgacgaa	acagccgggg	ccgtcggcca	6360
gggtgccggc	gtgaatgatc	tggctgcctt	cgggcggggc	gatggcgaac	agttcggcca	6420
gcttctgctg	gtcggccttg	ttggccacgg	ggccgaactg	ggtggcctcg	tcagtgggcg	6480
agccgatttt	cagttggccc	agggcgtggg	acagggcgtc	cagcagcggg	tcgatgcgcg	6540
agcgggtcac	atagaagcgc	tcgcccgcgg	cgcagatttg	ccccgagtgc	aggaagccgg	6600
cctcgatgat	gcccgtccaca	gccttgctcg	ttgccacgtc	gggcaggaag	gccaccgcgt	6660
tcttgccgcc	cagttccagt	gtcgcacggg	tcagcttggc	gcccattggc	gcctggccta	6720
cggcgatgcc	agtgggcacg	gagccgggtg	acgagacctt	gtcggtaact	gcgtgctcga	6780
tcagtgcctt	gcccaccagg	ccaccaccgg	tcagcacggt	cagtgaccag	gcccgcaggc	6840
ctgcttcggg	ggccagttcg	gcaatgcgca	gcagcgtcag	cgggggtgaat	tcgctgggct	6900
tgaggataat	gctgcagccg	gttgtcaggg	ccgaggccag	cttcagatg	gcgatcatgc	6960
tggcgaagtt	ccacggcacg	atgcccacca	ccacgccaat	cggctcgcgc	aggggtgaagg	7020
cgctgtagcg	ctcaccggcg	aacgagggca	gcgacggggg	gatggtctg	ccgggtgatct	7080
tggtcgccca	gcccgcgtag	tagcgcagga	agtgcgcggc	ctgctgtact	tcgaacgcac	7140
gggaaatgcc	gatgagcttg	ccggattgca	aggtttccag	ctgcgccagt	tcttcgcggg	7200
tggcttccag	caggtcggcc	agcttgaaca	gcactgcggc	gcccggcggc	gggctggtgt	7260
gcgaccaggc	ggtaaagcct	tggcgcgagg	agctgacggc	atggtcgaca	tcggcctggt	7320
tggcgtcggc	gatgtggggc	atggtctggc	cgttggccgg	ggtgaccacg	gcaatgctcg	7380
acgacgactg	gctggcgagg	tgctggccgt	ggatgaacac	gccatgctcg	cgggcccagg	7440
agggcgtgac	gctcaggtagg	agggtagtgt	gcctcatgca	gactccgggg	cagttggcca	7500
aagtttgacg	cttaataagc	ggggcagtg	ggtgcttggt	cctgcgtgac	aggtgcatga	7560
ctgtggctgc	caaccgcact	gggtaagcct	tgtgggagcg	gccttggtgc	gcgatagggc	7620
cgcagagcgg	ccccggcgat	gttggcggcg	aaagctgaaaa	tgctggggcc	gcttcgcgcc	7680
cctatcgcga	cgcaaggccg	ctcccacaaa	aaaagcgagc	gtaggccggg	ctgattgctg	7740
gcaggcagca	acaagcccgg	cggcagccat	cggcaagacg	ccatgccacc	ggcagcgcac	7800
agtaatcact	cgttcaacgc	cacaaaaaca	agccggggca	tacgatgtca	ctcaataaca	7860
agctcaccga	gcacctcaac	cgcggcactg	tcggtttccc	caccgcactg	gccagcactg	7920

ES 2 387 150 A1

tcgggctgat	catggccagc	ccggtgatcc	tcaccgcgac	catgggcttt	ggcatcggcg	7980
gcagcgcctt	cgccgtggcc	atggtcatcg	ccgcactgat	gatgctggcg	cagtecca	8040
cctttgccga	ggctgcgtcg	atcctgccga	ccacgggctc	ggatacgcac	tacatcaact	8100
gtggcatggg	ccgtttcttc	gccattaccg	gcacgctgtc	ggcctacctg	atcgtgcatg	8160
tgttcgccgg	taccgccgaa	accatcctgt	cgggggtgat	ggcgtgggtg	aacttcgagc	8220
acctcaatac	cctggcggaa	tccgccggcg	gttcgtggct	gctgggggtg	tgcttcgtgg	8280
tggcgtttgc	gggtctcaat	gcctttggcg	tcagcgcctt	cagccgcgcg	gaagtgggcc	8340
tcaccttcgg	catgtggacc	accttgatgg	tgttcggcgt	gcttggcctg	atcgccgcac	8400
ccgcagtggg	actggacggc	ccgttcggcg	tgctcgtggg	gggcaccgac	ctgatgacca	8460
tcctctcgc	ggtcggcatg	gccatgttca	tgttcgttgg	ctgcgagttc	gtcacgcgcg	8520
ttgccccga	actgcgtcgc	tcggcctggg	tgctgccgcg	ggccatggcg	ctgggcctgt	8580
ttggcgtggc	cagctgcatg	ttcatctacg	gagcggcgat	gaagcggccag	gtggaaaacg	8640
tgggtctgga	tgccgccagt	ggcgtgcacc	tgctggacac	ggccatggcc	atcccgcgct	8700
tcgccgagca	ggatgatggg	gatattggcc	cagtgtggct	gggtatcggc	ttcctgttcg	8760
ccggcgcggc	caccatcaac	acgctgatgg	ccgggtgtgc	acgcattctt	tacggcatgg	8820
cggtggacgg	cgcgttgccc	aaggtgttca	cctaccctga	cccgcgcttc	aagacgcgcg	8880
tgctgtgcat	cctgggtggg	gcgttgatcc	cctgcctgca	tgccctggtag	ctgggcggca	8940
acccggacaa	catcctgcac	ctggtgctgg	ccgcctgtgt	cgccctggagc	accgcctacc	9000
tgctggtgac	cctgtcgggtg	gtgatattgc	gcacccgcgc	cccagacctg	ccgcgtgcct	9060
accgctcgc	gctgttcccg	ttgccgcaga	tattctccag	tagcggtagc	ctcatcggca	9120
tggcgttcat	cacaccgcgc	ggcatgaacc	ctgccgatgt	ctacgtgcgc	ttgcccatca	9180
tgcttgccgc	caactgcggc	tatgcattgt	tctggacgct	gtgggtgcag	aaggtcaacc	9240
cgttcaagcc	ggcgcgggtc	gaggatgtgc	tcgagaaaga	gtttgctgcc	gagcctggcc	9300
acgccgtgga	gcacgtgctg	catgatcaga	aatttgctgt	aacgcttgct	ggcgcgccga	9360
gcgccctcag	gctatcgcgc	aggcgcaccg	ctggcatgcc	tggcgcgcaa	cctggggcag	9420
cagaacctgg	tggcggccgg	ggtgatccac	gaccgggccc	agggttggca	ggccacgggtg	9480
cacgaacgcg	tcgaggccca	cctgctgatg	cacatcgtca	cctgtgagtt	ccagctgcag	9540
ttgcctgctc	cgcaaggggg	cgaggtcagc	ctggagctgc	gccataccgg	tgcccttcgc	9600
cgtgccggcc	tggcctgtgt	gtaccgcaag	ggcgaccggg	cgcgcttcgc	ccgactgcgc	9660
gaccggttgc	tgacgcaggc	cgcactgggtg	gcggcgtgta	tgccgctgga	tttcaagcgc	9720
ctgaccttgg	cctggcgcga	cggccaatgg	ttgctgaccc	tggagcacat	gggcggtagc	9780
gaagtggtea	accgcatgcc	agcgtttcgc	cgctacatcc	ccatcagccc	gcaacagcgg	9840
gcgcacatag	tggccagcct	ggcccagttc	aacactttgc	tacctaacct	ttgacgcaaa	9900
ctggcatacg	ccttgctgta	tcaagcagc	aatgatgaca	gttgctgcga	catagataac	9960
atgtaacaa	tgtgcgcata	acaacaaatc	ctgcgtcgag	ggcagccatg	catactcaac	10020
aatccaaccg	tcaggggctg	gaacgctgga	ccacggccat	gcaacagatc	tgtggccggt	10080
tcgagacgga	acttgcgtcc	aatcactcgc	tgttcatcgg	cgaggtttct	accttttccc	10140
gtgccggcct	gcccgtggcc	aacctgcgca	ccaatgcggg	caacatccgc	cggtgggcg	10200
aaaaccgcac	ccttgacgat	gaccagcatt	gtttcctggt	cagccagcgt	gcggggcatt	10260
ccaccgtgtc	ccaggggggc	atgcaggtea	gcctggcgc	gggtgagctg	ctgctgatgg	10320
attcggctcg	gcgctgcgaa	atcaccccca	gtgggttgat	cgaacatgtc	tcgctggccc	10380
tgctcgcgta	gcaggtacgc	aagtatgtgc	aaggcagcgg	cccgatgttt	ggcaagatct	10440
cctcagacaa	cgccctgcgg	cgcatgctgc	atgtgctgat	ggaccaactg	tgcaaggacg	10500
gcaatgtaag	cggtgatggg	gcccagggcg	acgcgctgca	gaccgccttc	attgcctcgc	10560
tggagccagg	cttcgagcgc	catggcgaag	cgctgggcaa	ccttggggcc	ttgaacgggg	10620
ccaacctgcg	gggctacgtg	cagcaggtga	tcgacgagtc	cctgtcacag	cccgggctga	10680
ccccgtccaa	cctggccggg	cgccgaaca	tctcgggtgc	tcacctgtac	cggtgttctg	10740
aggaggaggg	cgatagtgtg	tgccgctaca	ttcagcgggc	gcgcctgaag	cgcagtgccg	10800
atgacctggc	caaccctgtc	ttcaggagcg	agtcgattac	ctcgattgac	tacaagtggg	10860
ggtttaccga	ctcggcgcac	ttcagccgct	cgttcaagaa	acagttcgaa	cgctcgccca	10920
aggactaacg	ggcgcagggc	atggtttgag	tgatgatggg	ctgcttgcgc	gggcctcctc	10980
cccggcaagt	cacttggcgc	cggttcagcg	acggccggtg	aagtagcccg	acagctgggtg	11040
cacggtcctg	ccggcagtgga	gcagcagcgg	gcggaaatgg	tccttgccga	ggatgcgcgc	11100
atgcttgacc	gagctgacca	ggtcatagcg	cttcgatccc	tcctgcatac	cctcggcgag	11160
tatcttgcaa	atgatgtggc	tggcgtgac	gccaaagccg	gagtagccct	gcacatagaa	11220
agcgttgggg	cggttgctga	gggtgcctat	ctgcggaaac	aggttggcac	tggtggccat	11280
cgggcccgc	caggccaggt	cgatgcgcac	gtctttcagg	taggggaaaa	tcttcagcat	11340
cagcgcgcgg	ttccacgcct	tcaggtccag	cggaagtgc	tcgacgaagg	gcgtggcggc	11400
gccaacacg	aggcggttct	cgccgggtgac	ccggtagtag	tcgatcaccg	ggcggatgtc	11460

ES 2 387 150 A1

```

gctgtaggcc ccgcgtatcg ggctgatgcg ctcgatcagc tcatccggca atggctcggg 11520
catcatctgg aaggcatagg tgtttatagt gcgtgcgtgc agctgcggct ccagcttggt 11580
gaggaagctg tcgcacgccc acagcagctt gctggcgcgt accgagccac ggccgggtgcg 11640
taccgtgatg cgctcgccgt aggtcacttc cagggccggg ctgtgttcga agatgcgcgc 11700
accatggccc accagtgcct gcgcttcgcc cagcagcagg ttcaggggat gcacatggcc 11760
accgcccatt tgcatcaggg cgctgctgta ggcgttgctg ccgatgatct ggcgcacttc 11820
gctgccaccg agaaaacgga tctcgtcgcg ggtattgatc gccttgaacg ccttctccca 11880
tttgcgcagg gtctgttcct ggcggcgggt gaagcccatt tagccatagc cgtggcagaa 11940
gtcggcgtcg atggcgtagc gggcgatgcg gtccttgatg atgccggcgc ccagttcgtc 12000
gatttcgaaa atatccctca cgccctgatc accgacgctg ctgccgatct tctccaggtc 12060
gtggccgatg cccgccatga tctgcccgcc gttgcgcccg ctaccgccgt agcccagata 12120
acggccctcg agcagcagca tattggtcac gccttgttcc gccagctcca gggcgggtgtt 12180
aatgccggag aaaccgccac cgatcaccac gacatcggcc tcgatgtcgc gttccagggt 12240
tggaagctc aggttgact tcttggtcgc cgagtagtag gtggggctct cgaggggtgat 12300
catgacgcc cctgctgact ggaaatgggt agaaatcat 12339

```

```

<210> 3
<211> 1296
<212> DNA
<213> Pseudomonas putida U

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1296)
<223> Secuencia codificante de TynA

```

```

<400> 3
atg tct ccc acg atc gcc cct gtg caa acc agc acc cgc cac ccc gac 48
Met Ser Pro Thr Ile Ala Pro Val Gln Thr Ser Thr Arg His Pro Asp
1 5 10 15

gcc act acc gtg gtg atc atc ggt ggc ggc att atc ggc ctc acc gcc 96
Ala Thr Thr Val Val Ile Ile Gly Gly Gly Ile Ile Gly Leu Thr Ala
20 25 30

gca ctg agc ctc gcc gaa cgc aac ata ccg gtg gtg gtg ctg gag aag 144
Ala Leu Ser Leu Ala Glu Arg Asn Ile Pro Val Val Val Leu Glu Lys
35 40 45

ggg cgc atc gct ggg gag cag tcg tcg cgc aac ctg ggc tgg gtg cgc 192
Gly Arg Ile Ala Gly Glu Gln Ser Ser Arg Asn Leu Gly Trp Val Arg
50 55 60

aag acc aac cgc cac gcc cat gac att ccc ctg gca ctg gcg gct gat 240
Lys Thr Asn Arg His Ala His Asp Ile Pro Leu Ala Leu Ala Ala Asp
65 70 75 80

cgg ctg tgg gcc gag atg ccc gca cgg gtt ggc agc gac gtt ggc tat 288
Arg Leu Trp Ala Glu Met Pro Ala Arg Val Gly Ser Asp Val Gly Tyr
85 90 95

cgg caa gcc ggc atc atg ttc atc ggc cgt aac gac acg cag atg ggc 336
Arg Gln Ala Gly Ile Met Phe Ile Gly Arg Asn Asp Thr Gln Met Gly
100 105 110

atg cat gaa ggc tgg ctg aaa agc gtc gag gcg ctg ggc ctg gat tcg 384
Met His Glu Gly Trp Leu Lys Ser Val Glu Ala Leu Gly Leu Asp Ser
115 120 125

```

ES 2 387 150 A1

cgc ctg ctg agc acg cgg gaa atc acc cgg atg gtg ccg ggt ggt cgg	432
Arg Leu Leu Ser Thr Arg Glu Ile Thr Arg Met Val Pro Gly Gly Arg	
130 135 140	
gcg gat tgg gca ggt ggc atc ttc acc ccc tcc gac gcc cgc gcc gaa	480
Ala Asp Trp Ala Gly Gly Ile Phe Thr Pro Ser Asp Ala Arg Ala Glu	
145 150 155 160	
ccg acc ctg gcc gcc agc gcc atc gcc cgg gcg gcg atc gcc aaa ggt	528
Pro Thr Leu Ala Ala Ser Ala Ile Ala Arg Ala Ala Ile Ala Lys Gly	
165 170 175	
gca gtg gta gtg gag aac tgc gcg gtg cgc acg ctg gtc acc gca gcc	576
Ala Val Val Val Glu Asn Cys Ala Val Arg Thr Leu Val Thr Ala Ala	
180 185 190	
ggc cgt gtc agc ggg gtg gtc acc gag caa ggt gaa atc cgc tgc gac	624
Gly Arg Val Ser Gly Val Val Thr Glu Gln Gly Glu Ile Arg Cys Asp	
195 200 205	
cag gtg ttg ctg gcc ggt ggc ctg tgg tgc cgc aag ttc ctc ggc aac	672
Gln Val Leu Leu Ala Gly Gly Leu Trp Ser Arg Lys Phe Leu Gly Asn	
210 215 220	
ctg ggc atc aac ctg ccg acc ttg ccg ctg acc tgt tcc gtg ctg cgc	720
Leu Gly Ile Asn Leu Pro Thr Leu Pro Leu Thr Cys Ser Val Leu Arg	
225 230 235 240	
aca gag ccc atg gac ggg cca acc gac atc gcc gtg ggc gca cca gat	768
Thr Glu Pro Met Asp Gly Pro Thr Asp Ile Ala Val Gly Ala Pro Asp	
245 250 255	
ttt tcc ttc cgc aag cac aag gac ggc ggc tac atc atc acc cag cgc	816
Phe Ser Phe Arg Lys His Lys Asp Gly Gly Tyr Ile Ile Thr Gln Arg	
260 265 270	
ggc gcg ctg gac gcc ttc ctc acc ctc gat cac ctg ctg ctg ggc aag	864
Gly Ala Leu Asp Ala Phe Leu Thr Leu Asp His Leu Leu Leu Gly Lys	
275 280 285	
cgt tac ctg ccc cag ctg cgt gcc cag cgg gac ttt ttg cgc atc agc	912
Arg Tyr Leu Pro Gln Leu Arg Ala Gln Arg Asp Phe Leu Arg Ile Ser	
290 295 300	
ttt ggc aag tac ttc ttc aag gac ctg gcc ctg gcc cgg cgc tgg aag	960
Phe Gly Lys Tyr Phe Phe Lys Asp Leu Ala Leu Ala Arg Arg Trp Lys	
305 310 315 320	
gca acg gat gta acc ccc ttc gag cgt gta cgg gta caa gac ccg cac	1008
Ala Thr Asp Val Thr Pro Phe Glu Arg Val Arg Val Gln Asp Pro His	
325 330 335	
gcc aac ccg gcc ctc aac gac gag gcc atg cgc aac ctg aaa gcg gcc	1056
Ala Asn Pro Ala Leu Asn Asp Glu Ala Met Arg Asn Leu Lys Ala Ala	
340 345 350	
tgg ccg gtg ttc gaa cag gcc cgt atc gcc agc gcc tgg gcc ggc acg	1104
Trp Pro Val Phe Glu Gln Ala Arg Ile Ala Ser Ala Trp Ala Gly Thr	

ES 2 387 150 A1

355	360	365	
att gac gtc acc ccc gac tcc aac ccg gtc atc ggc ccg gtg gcc agt			1152
Ile Asp Val Thr Pro Asp Ser Asn Pro Val Ile Gly Pro Val Ala Ser			
370	375	380	
att ccg ggc ctg acc ctg gcc acc ggc ttt tcc ggg cat ggc ttc ggc			1200
Ile Pro Gly Leu Thr Leu Ala Thr Gly Phe Ser Gly His Gly Phe Gly			
385	390	395	400
acc tcg cct gct gct ggc cag ctg gcg gca gac ctg gtg gcc cag gcc			1248
Thr Ser Pro Ala Ala Gly Gln Leu Ala Ala Asp Leu Val Ala Gln Ala			
405	410	415	
acc ccg ctg atc gac ccg tca ccg tac cgc ttc gag cgt ttc gcc tga			1296
Thr Pro Leu Ile Asp Pro Ser Pro Tyr Arg Phe Glu Arg Phe Ala			
420	425	430	

<210> 4
 <211> 431
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas putida U

<400> 4

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

ES 2 387 150 A1

Ala Val Val Val Glu Asn Cys Ala Val Arg Thr Leu Val Thr Ala Ala
180 185 190

Gly Arg Val Ser Gly Val Val Thr Glu Gln Gly Glu Ile Arg Cys Asp
195 200 205

Gln Val Leu Leu Ala Gly Gly Leu Trp Ser Arg Lys Phe Leu Gly Asn
210 215 220

Leu Gly Ile Asn Leu Pro Thr Leu Pro Leu Thr Cys Ser Val Leu Arg
225 230 235 240

Thr Glu Pro Met Asp Gly Pro Thr Asp Ile Ala Val Gly Ala Pro Asp
245 250 255

Phe Ser Phe Arg Lys His Lys Asp Gly Gly Tyr Ile Ile Thr Gln Arg
260 265 270

Gly Ala Leu Asp Ala Phe Leu Thr Leu Asp His Leu Leu Leu Gly Lys
275 280 285

Arg Tyr Leu Pro Gln Leu Arg Ala Gln Arg Asp Phe Leu Arg Ile Ser
290 295 300

Phe Gly Lys Tyr Phe Phe Lys Asp Leu Ala Leu Ala Arg Arg Trp Lys
305 310 315 320

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

Ala Asn Pro Ala Leu Asn Asp Glu Ala Met Arg Asn Leu Lys Ala Ala
340 345 350

Trp Pro Val Phe Glu Gln Ala Arg Ile Ala Ser Ala Trp Ala Gly Thr
355 360 365

Ile Asp Val Thr Pro Asp Ser Asn Pro Val Ile Gly Pro Val Ala Ser
370 375 380

Ile Pro Gly Leu Thr Leu Ala Thr Gly Phe Ser Gly His Gly Phe Gly
385 390 395 400

Thr Ser Pro Ala Ala Gly Gln Leu Ala Ala Asp Leu Val Ala Gln Ala
405 410 415

Thr Pro Leu Ile Asp Pro Ser Pro Tyr Arg Phe Glu Arg Phe Ala
420 425 430

<210> 5
<211> 1140
<212> DNA
<213> Pseudomonas putida U

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1140)
<223> TynB

ES 2 387 150 A1

```

<400> 5
atg acc ctc gat acc aga att gac ttc atc tac ctg tcc gag cag gac      48
Met Thr Leu Asp Thr Arg Ile Asp Phe Ile Tyr Leu Ser Glu Gln Asp
1                               5                               10                               15

atg atc cgt gcc ggc gtc acc gac atg ccg gcc tgt gtc gac acc atg      96
Met Ile Arg Ala Gly Val Thr Asp Met Pro Ala Cys Val Asp Thr Met
                               20                               25                               30

gaa gaa atg ttc ggc ctg ctg tac cag ggt gac tac cgc atg gcc ggc      144
Glu Glu Met Phe Gly Leu Leu Tyr Gln Gly Asp Tyr Arg Met Ala Gly
                               35                               40                               45

ccg aac agc gac tcg cac ggc gcg atg att acc ttc ccc gag cac tcg      192
Pro Asn Ser Asp Ser His Gly Ala Met Ile Thr Phe Pro Glu His Ser
                               50                               55                               60

cca ttc ccc aac atg ccc aag ccc acc gcc gac cgg cgc atg atg gcg      240
Pro Phe Pro Asn Met Pro Lys Pro Thr Ala Asp Arg Arg Met Met Ala
65                               70                               75                               80

atg ccg gcg tac ctc ggc ggc aac ttc cag acc gca ggc gcc aag tgg      288
Met Pro Ala Tyr Leu Gly Gly Asn Phe Gln Thr Ala Gly Ala Lys Trp
                               85                               90                               95

tac ggc tcg aac atc gcc aac cgt gag aaa ggc ctg ccc cgc tcg atc      336
Tyr Gly Ser Asn Ile Ala Asn Arg Glu Lys Gly Leu Pro Arg Ser Ile
                               100                              105                              110

ctg atg ttc acc ctc aac gat gcc gac acc ggc gcg cca ctg gca cac      384
Leu Met Phe Thr Leu Asn Asp Ala Asp Thr Gly Ala Pro Leu Ala His
                               115                              120                              125

atg tcg gcc aac ctg ctg tcg gcc tac cgc acc ggc gcc atc ccg ggc      432
Met Ser Ala Asn Leu Leu Ser Ala Tyr Arg Thr Gly Ala Ile Pro Gly
                               130                              135                              140

gtc ggc gcc cgc cac ctg gcg cgc aag gac gcc aag gtg atc ggc ctg      480
Val Gly Ala Arg His Leu Ala Arg Lys Asp Ala Lys Val Ile Gly Leu
145                               150                               155                               160

gcc ggc ccg ggg gtg atg ggc aag acc acg gtc gct gcg ttc atg gcc      528
Ala Gly Pro Gly Val Met Gly Lys Thr Thr Val Ala Ala Phe Met Ala
                               165                              170                              175

gtc tgc ccg ctg atc gac acc ctc aag gtc aag ggc cgt ggc cag aag      576
Val Cys Pro Leu Ile Asp Thr Leu Lys Val Lys Gly Arg Gly Gln Lys
                               180                              185                              190

aac ctg gat gcc ttc gtc gcc tgg gtg aaa acc agc ttc ccg caa atc      624
Asn Leu Asp Ala Phe Val Ala Trp Val Lys Thr Ser Phe Pro Gln Ile
                               195                              200                              205

act cat gtc cag gtg gtg gaa acc ctg gaa gaa gtg gta cgc ggt tcc      672
Thr His Val Gln Val Val Glu Thr Leu Glu Glu Val Val Arg Gly Ser
                               210                              215                              220

gac ctg gtc agc tac tgc agc tcg ggc gaa gtc ggc gac ccc agc cag      720
Asp Leu Val Ser Tyr Cys Ser Ser Gly Glu Val Gly Asp Pro Ser Gln

```

ES 2 387 150 A1

225		230		235		240	
tac ccg ctg gtg cgc cgc gag tgg gtc aag cct ggc gcg ttc ctg gcc							768
Tyr Pro Leu Val Arg Arg Glu Trp Val Lys Pro Gly Ala Phe Leu Ala							
		245		250		255	
atg cca gcc ccg tgc agt atc gac gcc ggc atg gag cag gac gac gtg							816
Met Pro Ala Pro Cys Ser Ile Asp Ala Gly Met Glu Gln Asp Asp Val							
		260		265		270	
cgc aag gtg gtg gac aac acc ggc ctc tac gag gcc tgg ttc gaa gag							864
Arg Lys Val Val Asp Asn Thr Gly Leu Tyr Glu Ala Trp Phe Glu Glu							
		275		280		285	
ctg ccc aag cct gcg cac aac cac gta ccg ctg gta ggt gtg cgc ttc							912
Leu Pro Lys Pro Ala His Asn His Val Pro Leu Val Gly Val Arg Phe							
		290		295		300	
atg gac atg att gcc gaa ggc acg ctg gcc gcc gag cag gtg gaa gac							960
Met Asp Met Ile Ala Glu Gly Thr Leu Ala Ala Glu Gln Val Glu Asp							
305		310		315		320	
atc ggc aag atc atc agc ggc gac gca ccg ggc cgc ctg cat gac gac							1008
Ile Gly Lys Ile Ile Ser Gly Asp Ala Pro Gly Arg Leu His Asp Asp							
		325		330		335	
gaa atc atc ctg atg tcg gtg ggc ggc atg ccc gtc gaa gac gtg gcc							1056
Glu Ile Ile Leu Met Ser Val Gly Gly Met Pro Val Glu Asp Val Ala							
		340		345		350	
tgg ggc acc gtg gtg tac cgc aag gcg ctc gag caa ggc atc ggc gta							1104
Trp Gly Thr Val Val Tyr Arg Lys Ala Leu Glu Gln Gly Ile Gly Val							
		355		360		365	
aag ctc aac ctc tgg gaa acc ccc gtt ctc agc tga							1140
Lys Leu Asn Leu Trp Glu Thr Pro Val Leu Ser							
		370		375			

<210> 6
 <211> 379
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas putida U

<400> 6

Met Thr Leu Asp Thr Arg Ile Asp Phe Ile Tyr Leu Ser Glu Gln Asp																
1				5					10						15	
Met Ile Arg Ala Gly Val Thr Asp Met Pro Ala Cys Val Asp Thr Met																
			20					25						30		
Glu Glu Met Phe Gly Leu Leu Tyr Gln Gly Asp Tyr Arg Met Ala Gly																
		35					40						45			
Pro Asn Ser Asp Ser His Gly Ala Met Ile Thr Phe Pro Glu His Ser																
		50				55						60				
Pro Phe Pro Asn Met Pro Lys Pro Thr Ala Asp Arg Arg Met Met Ala																

ES 2 387 150 A1

65		70													
Met	Pro	Ala	Tyr	Leu	Gly	Gly	Asn	Phe	Gln	Thr	Ala	Gly	Ala	Lys	Trp
				85					90					95	
Tyr	Gly	Ser	Asn	Ile	Ala	Asn	Arg	Glu	Lys	Gly	Leu	Pro	Arg	Ser	Ile
			100					105					110		
Leu	Met	Phe	Thr	Leu	Asn	Asp	Ala	Asp	Thr	Gly	Ala	Pro	Leu	Ala	His
		115					120					125			
Met	Ser	Ala	Asn	Leu	Leu	Ser	Ala	Tyr	Arg	Thr	Gly	Ala	Ile	Pro	Gly
	130					135					140				
Val	Gly	Ala	Arg	His	Leu	Ala	Arg	Lys	Asp	Ala	Lys	Val	Ile	Gly	Leu
145					150					155					160
Ala	Gly	Pro	Gly	Val	Met	Gly	Lys	Thr	Thr	Val	Ala	Ala	Phe	Met	Ala
				165					170					175	
Val	Cys	Pro	Leu	Ile	Asp	Thr	Leu	Lys	Val	Lys	Gly	Arg	Gly	Gln	Lys
			180					185					190		
Asn	Leu	Asp	Ala	Phe	Val	Ala	Trp	Val	Lys	Thr	Ser	Phe	Pro	Gln	Ile
		195					200					205			
Thr	His	Val	Gln	Val	Val	Glu	Thr	Leu	Glu	Glu	Val	Val	Arg	Gly	Ser
	210					215					220				
Asp	Leu	Val	Ser	Tyr	Cys	Ser	Ser	Gly	Glu	Val	Gly	Asp	Pro	Ser	Gln
225					230					235					240
Tyr	Pro	Leu	Val	Arg	Arg	Glu	Trp	Val	Lys	Pro	Gly	Ala	Phe	Leu	Ala
				245					250					255	
Met	Pro	Ala	Pro	Cys	Ser	Ile	Asp	Ala	Gly	Met	Glu	Gln	Asp	Asp	Val
			260					265					270		
Arg	Lys	Val	Val	Asp	Asn	Thr	Gly	Leu	Tyr	Glu	Ala	Trp	Phe	Glu	Glu
		275					280					285			
Leu	Pro	Lys	Pro	Ala	His	Asn	His	Val	Pro	Leu	Val	Gly	Val	Arg	Phe
	290					295					300				
Met	Asp	Met	Ile	Ala	Glu	Gly	Thr	Leu	Ala	Ala	Glu	Gln	Val	Glu	Asp
305					310					315					320
Ile	Gly	Lys	Ile	Ile	Ser	Gly	Asp	Ala	Pro	Gly	Arg	Leu	His	Asp	Asp
				325					330					335	
Glu	Ile	Ile	Leu	Met	Ser	Val	Gly	Gly	Met	Pro	Val	Glu	Asp	Val	Ala
			340					345					350		
Trp	Gly	Thr	Val	Val	Tyr	Arg	Lys	Ala	Leu	Glu	Gln	Gly	Ile	Gly	Val
		355					360					365			
Lys	Leu	Asn	Leu	Trp	Glu	Thr	Pro	Val	Leu	Ser					
	370					375									

ES 2 387 150 A1

```

<210> 7
<211> 1488
<212> DNA
<213> Pseudomonas putida U

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1488)
<223> TynC

<400> 7
atg agc gac atc acc ctc cta cct gcc gtc acg gcc ttc ctg gcc cgc      48
Met Ser Asp Ile Thr Leu Leu Pro Ala Val Thr Ala Phe Leu Ala Arg
1          5          10          15

gag cat ggc gtg ttc atc cac ggc cag cac ctc gcc agc cag tcg tcg      96
Glu His Gly Val Phe Ile His Gly Gln His Leu Ala Ser Gln Ser Ser
          20          25          30

tcg aac att gcc gtg gtc aac ccg gcc aac ggc cag acc atc gcc cac      144
Ser Asn Ile Ala Val Val Asn Pro Ala Asn Gly Gln Thr Ile Ala His
          35          40          45

atc gcc gac gcc aac cag gcc gat gtc gac cat gcc gtc agc tcc tcg      192
Ile Ala Asp Ala Asn Gln Ala Asp Val Asp His Ala Val Ser Ser Ser
          50          55          60

cgc caa ggc ttt acc gcc tgg tcg cac acc agc ccc gcc gcc cgc gcc      240
Arg Gln Gly Phe Thr Ala Trp Ser His Thr Ser Pro Ala Ala Arg Ala
65          70          75          80

gca gtg ctg ttc aag ctg gcc gac ctg ctg gaa gcc aac cgc gaa gaa      288
Ala Val Leu Phe Lys Leu Ala Asp Leu Leu Glu Ala Asn Arg Glu Glu
          85          90          95

ctg gcg cag ctg gaa acc ttg caa tcc ggc aag ctc atc ggc att tcc      336
Leu Ala Gln Leu Glu Thr Leu Gln Ser Gly Lys Leu Ile Gly Ile Ser
          100          105          110

cgt gcg ttc gaa gta cag cag gcc gcg cac ttc ctg cgc tac tac gcc      384
Arg Ala Phe Glu Val Gln Gln Ala Ala His Phe Leu Arg Tyr Tyr Ala
          115          120          125

ggc tgg gcg acc aag atc acc gcc cag acc atc acc ccg tcg ctg ccc      432
Gly Trp Ala Thr Lys Ile Thr Gly Gln Thr Ile Thr Pro Ser Leu Pro
          130          135          140

tcg ttc gcc ggt gag cgc tac agc gcc ttc acc ctg cgc gag ccg att      480
Ser Phe Ala Gly Glu Arg Tyr Ser Ala Phe Thr Leu Arg Glu Pro Ile
145          150          155          160

ggc gtg gtg gtg gcc atc gtg ccg tgg aac ttc gcc agc atg atc gcc      528
Gly Val Val Val Gly Ile Val Pro Trp Asn Phe Ala Ser Met Ile Ala
          165          170          175

atc tgg aag ctg gcc tcg gcc ctg aca acc gcc tgc agc att atc ctc      576
Ile Trp Lys Leu Ala Ser Ala Leu Thr Thr Gly Cys Ser Ile Ile Leu
          180          185          190

```

ES 2 387 150 A1

aag	ccc	agc	gaa	ttc	acc	ccg	ctg	acg	ctg	ctg	cgc	att	gcc	gaa	ctg		624
Lys	Pro	Ser	Glu	Phe	Thr	Pro	Leu	Thr	Leu	Leu	Arg	Ile	Ala	Glu	Leu		
		195					200					205					
gcc	acc	gaa	gca	ggc	ctg	ccg	gcc	ggg	gca	ctg	aac	gtg	ctg	acc	ggg		672
Ala	Thr	Glu	Ala	Gly	Leu	Pro	Ala	Gly	Ala	Leu	Asn	Val	Leu	Thr	Gly		
	210					215					220						
ggg	ggc	ctg	gtg	ggc	aag	gca	ctg	atc	gag	cac	gca	ggg	acc	gac	aag		720
Gly	Gly	Leu	Val	Gly	Lys	Ala	Leu	Ile	Glu	His	Ala	Gly	Thr	Asp	Lys		
225					230					235					240		
gtc	tcg	ttc	acc	ggc	tcc	gtg	ccc	act	ggc	atc	gcc	gta	ggc	cag	gct		768
Val	Ser	Phe	Thr	Gly	Ser	Val	Pro	Thr	Gly	Ile	Ala	Val	Gly	Gln	Ala		
				245						250				255			
gcc	atg	ggc	gcc	aag	ctg	acc	cgt	gcg	aca	ctg	gaa	ctg	ggc	ggc	aag		816
Ala	Met	Gly	Ala	Lys	Leu	Thr	Arg	Ala	Thr	Leu	Glu	Leu	Gly	Gly	Lys		
			260					265					270				
aac	gcg	gtg	gcc	ttc	ctg	ccc	gac	gtg	gca	acc	gac	aag	gct	gtg	gac		864
Asn	Ala	Val	Ala	Phe	Leu	Pro	Asp	Val	Ala	Thr	Asp	Lys	Ala	Val	Asp		
		275					280					285					
ggc	atc	atc	gag	gcc	ggc	ttc	ctg	cac	tcg	ggg	caa	atc	tgc	gcc	gcg		912
Gly	Ile	Ile	Glu	Ala	Gly	Phe	Leu	His	Ser	Gly	Gln	Ile	Cys	Ala	Ala		
	290					295					300						
ggc	gag	cgc	ttc	tat	gtg	cac	cgc	tcg	cgc	atc	gac	ccg	ctg	ctg	gac		960
Gly	Glu	Arg	Phe	Tyr	Val	His	Arg	Ser	Arg	Ile	Asp	Pro	Leu	Leu	Asp		
305					310					315					320		
gcc	ctg	tcc	cag	cgc	ctg	ggc	caa	ctg	aaa	atc	ggc	tcg	cca	ctg	gac		1008
Ala	Leu	Ser	Gln	Arg	Leu	Gly	Gln	Leu	Lys	Ile	Gly	Ser	Pro	Leu	Asp		
			325						330					335			
gag	gcc	acc	cag	ttc	ggc	ccc	gtg	gcc	aac	aag	ccg	cac	cag	cag	aag		1056
Glu	Ala	Thr	Gln	Phe	Gly	Pro	Val	Ala	Asn	Lys	Pro	His	Gln	Gln	Lys		
			340						345				350				
ctg	gcc	gaa	ctg	ttc	gcc	atc	gcc	cgc	gcc	gaa	ggc	agc	cag	atc	att		1104
Leu	Ala	Glu	Leu	Phe	Ala	Ile	Ala	Arg	Ala	Glu	Gly	Ser	Gln	Ile	Ile		
		355					360					365					
cac	ggc	ggc	acc	ctg	ggc	gac	ggc	ccc	ggc	tgt	ttc	gtc	gaa	ccc	acg		1152
His	Gly	Gly	Thr	Leu	Gly	Asp	Gly	Pro	Gly	Cys	Phe	Val	Glu	Pro	Thr		
	370					375					380						
gta	atc	ctc	gcc	cgg	tca	gcc	tgc	gac	acc	ctg	ctc	acc	cag	gaa	acc		1200
Val	Ile	Leu	Ala	Arg	Ser	Ala	Cys	Asp	Thr	Leu	Leu	Thr	Gln	Glu	Thr		
385					390					395					400		
ttc	ggc	cct	gtg	gcg	acc	ttc	ctg	cct	tat	gac	gac	gaa	gac	gaa	ctg		1248
Phe	Gly	Pro	Val	Ala	Thr	Phe	Leu	Pro	Tyr	Asp	Asp	Glu	Asp	Glu	Leu		
				405					410					415			
ctg	cac	ctg	atg	aac	gcc	tcg	ccc	tac	ggc	ctc	agc	gcc	agc	ctg	tgg		1296
Leu	His	Leu	Met	Asn	Ala	Ser	Pro	Tyr	Gly	Leu	Ser	Ala	Ser	Leu	Trp		

ES 2 387 150 A1

Ile Trp Lys Leu Ala Ser Ala Leu Thr Thr Gly Cys Ser Ile Ile Leu
 180 185 190

Lys Pro Ser Glu Phe Thr Pro Leu Thr Leu Leu Arg Ile Ala Glu Leu
 195 200 205

Ala Thr Glu Ala Gly Leu Pro Ala Gly Ala Leu Asn Val Leu Thr Gly
 210 215 220

Gly Gly Leu Val Gly Lys Ala Leu Ile Glu His Ala Gly Thr Asp Lys
 225 230 235 240

Val Ser Phe Thr Gly Ser Val Pro Thr Gly Ile Ala Val Gly Gln Ala
 245 250 255

Ala Met Gly Ala Lys Leu Thr Arg Ala Thr Leu Glu Leu Gly Gly Lys
 260 265 270

Asn Ala Val Ala Phe Leu Pro Asp Val Ala Thr Asp Lys Ala Val Asp
 275 280 285

Gly Ile Ile Glu Ala Gly Phe Leu His Ser Gly Gln Ile Cys Ala Ala
 290 295 300

Gly Glu Arg Phe Tyr Val His Arg Ser Arg Ile Asp Pro Leu Leu Asp
 305 310 315 320

Ala Leu Ser Gln Arg Leu Gly Gln Leu Lys Ile Gly Ser Pro Leu Asp
 325 330 335

Glu Ala Thr Gln Phe Gly Pro Val Ala Asn Lys Pro His Gln Gln Lys
 340 345 350

Leu Ala Glu Leu Phe Ala Ile Ala Arg Ala Glu Gly Ser Gln Ile Ile
 355 360 365

His Gly Gly Thr Leu Gly Asp Gly Pro Gly Cys Phe Val Glu Pro Thr
 370 375 380

Val Ile Leu Ala Arg Ser Ala Cys Asp Thr Leu Leu Thr Gln Glu Thr
 385 390 395 400

Phe Gly Pro Val Ala Thr Phe Leu Pro Tyr Asp Asp Glu Asp Glu Leu
 405 410 415

Leu His Leu Met Asn Ala Ser Pro Tyr Gly Leu Ser Ala Ser Leu Trp
 420 425 430

Thr Asn Asp Leu Gly Lys Ala Met Arg Met Ile Pro Gln Ile Gln Ala
 435 440 445

Gly Thr Leu Trp Val Asn Met His Thr Leu Leu Asp Pro Ala Val Pro
 450 455 460

Phe Gly Gly Ile Lys Ala Ser Gly Ile Gly Arg Glu Phe Gly Ser Ala
 465 470 475 480

Phe Ile Asp Asp Phe Thr Glu Leu Lys Ser Val Met Ile Arg Tyr

ES 2 387 150 A1

	485	490	495	
<210>	9			
<211>	942			
<212>	DNA			
<213>	Pseudomonas putida U			
<220>				
<221>	CDS			
<222>	(1)..(942)			
<223>	TynR			
<400>	9			
	atg cat act caa caa tcc aac cgt cag ggg ctg gaa cgc tgg acc acg			48
	Met His Thr Gln Gln Ser Asn Arg Gln Gly Leu Glu Arg Trp Thr Thr			
	1	5	10	15
	gcc atg caa cag atc tgt ggc cgt ttc gag acg gaa ctt gcg tcc aat			96
	Ala Met Gln Gln Ile Cys Gly Arg Phe Glu Thr Glu Leu Ala Ser Asn			
		20	25	30
	cac tcg ctg ttc atc ggc gag gtt tct acc ttt tcc cgt gcc ggc ttg			144
	His Ser Leu Phe Ile Gly Glu Val Ser Thr Phe Ser Arg Ala Gly Leu			
		35	40	45
	ccg ctg gcc aac ctg cgc acc aat gcc ggc aac atc cgc cgg ctg ggc			192
	Pro Leu Ala Asn Leu Arg Thr Asn Ala Gly Asn Ile Arg Arg Leu Gly			
		50	55	60
	gaa aac ccg acc ctt gac gat gac cag cat tgt ttc ctg gtc agc cag			240
	Glu Asn Pro Thr Leu Asp Asp Asp Gln His Cys Phe Leu Val Ser Gln			
	65	70	75	80
	cgt gcg ggg cat tcc acc gtg tcc cag ggg ggc atg cag gtc agc ctg			288
	Arg Ala Gly His Ser Thr Val Ser Gln Gly Gly Met Gln Val Ser Leu			
		85	90	95
	gcg ccg ggt gag ctg ctg ctg atg gat tcg gtc ggg cgc tgc gaa atc			336
	Ala Pro Gly Glu Leu Leu Leu Met Asp Ser Val Gly Arg Cys Glu Ile			
		100	105	110
	acc ccc agt ggg ttg atc gaa cat gtc tcg ctg gcc ctg tcg cgt gag			384
	Thr Pro Ser Gly Leu Ile Glu His Val Ser Leu Ala Leu Ser Arg Glu			
		115	120	125
	cag gta cgc aag tat gtg caa ggc agc ggc ccg atg ttt ggc aag atc			432
	Gln Val Arg Lys Tyr Val Gln Gly Ser Gly Pro Met Phe Gly Lys Ile			
		130	135	140
	tcc tcg agc aac gcc tgc ggg cgc atg ctg cat gtg ctg atg gac caa			480
	Ser Ser Ser Asn Ala Cys Gly Arg Met Leu His Val Leu Met Asp Gln			
	145	150	155	160
	ctg tgc aag gac ggc aat gta agc ggt gat ggg gcc cag ggc gac gcg			528
	Leu Cys Lys Asp Gly Asn Val Ser Gly Asp Gly Ala Gln Gly Asp Ala			
		165	170	175
	ctg cag acc gcc ttc att gcc ctg ctg gag cca ggc ttc gag cgc cat			576

ES 2 387 150 A1

```

Leu Gln Thr Ala Phe Ile Ala Leu Leu Glu Pro Gly Phe Glu Arg His
      180                               185                               190

ggc gaa gcg ctg ggc aac ctt ggg gcc ttg aac ggg gcc aac ctg cgg      624
Gly Glu Ala Leu Gly Asn Leu Gly Ala Leu Asn Gly Ala Asn Leu Arg
      195                               200                               205

ggc tac gtg cag cag gtg atc gac gag tcc ctg tca cag ccc ggg ctg      672
Gly Tyr Val Gln Gln Val Ile Asp Glu Ser Leu Ser Gln Pro Gly Leu
      210                               215                               220

acc ccg tcc aac ctg gcc ggt cgc ctg aac atc tcg gtg cgt cac ctg      720
Thr Pro Ser Asn Leu Ala Gly Arg Leu Asn Ile Ser Val Arg His Leu
      225                               230                               235                               240

tac cgg ctg ttc gag gag gag ggc gat agt gtg tgc cgc tac att cag      768
Tyr Arg Leu Phe Glu Glu Glu Gly Asp Ser Val Cys Arg Tyr Ile Gln
      245                               250                               255

cgg gcg cgc ctg aag cgc agt gcg gat gac ctg gcc aac ccg ttc ttc      816
Arg Ala Arg Leu Lys Arg Ser Ala Asp Asp Leu Ala Asn Pro Phe Phe
      260                               265                               270

agg agc gag tcg att acc tcg att gcc tac aag tgg ggg ttt acc gac      864
Arg Ser Glu Ser Ile Thr Ser Ile Ala Tyr Lys Trp Gly Phe Thr Asp
      275                               280                               285

tcg gcg cat ttc agc cgc tcg ttc aag aaa cag ttc gaa cgc tcg ccc      912
Ser Ala His Phe Ser Arg Ser Phe Lys Lys Gln Phe Glu Arg Ser Pro
      290                               295                               300

aag gac tac cgg gcg cag gcg atg gtt tga      942
Lys Asp Tyr Arg Ala Gln Ala Met Val
      305                               310

```

```

<210> 10
<211> 313
<212> PRT
<213> Pseudomonas putida U

```

```

<400> 10

```

```

Met His Thr Gln Gln Ser Asn Arg Gln Gly Leu Glu Arg Trp Thr Thr
 1                               5                               10                               15

Ala Met Gln Gln Ile Cys Gly Arg Phe Glu Thr Glu Leu Ala Ser Asn
      20                               25                               30

His Ser Leu Phe Ile Gly Glu Val Ser Thr Phe Ser Arg Ala Gly Leu
      35                               40                               45

Pro Leu Ala Asn Leu Arg Thr Asn Ala Gly Asn Ile Arg Arg Leu Gly
      50                               55                               60

Glu Asn Pro Thr Leu Asp Asp Asp Gln His Cys Phe Leu Val Ser Gln
      65                               70                               75                               80

Arg Ala Gly His Ser Thr Val Ser Gln Gly Gly Met Gln Val Ser Leu

```

ES 2 387 150 A1

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

<210> 11
 <211> 1335
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas putida U

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1335)
 <223> TynD

<400> 11
 atg att tct acc cat ttc cag tca gca ggc ggc gtc atg atc acc ctc
 Met Ile Ser Thr His Phe Gln Ser Ala Gly Gly Val Met Ile Thr Leu
 1 5 10 15

ES 2 387 150 A1

gag	agc	ccc	acc	tac	tac	tcg	gcg	acc	aag	aag	tac	aac	ctg	agc	ttc		96
Glu	Ser	Pro	Thr	Tyr	Tyr	Ser	Ala	Thr	Lys	Lys	Tyr	Asn	Leu	Ser	Phe		
			20					25					30				
cca	acc	ctg	gaa	cgc	gac	atc	gag	gcc	gat	gtc	gtg	gtg	atc	ggt	ggc		144
Pro	Thr	Leu	Glu	Arg	Asp	Ile	Glu	Ala	Asp	Val	Val	Val	Ile	Gly	Gly		
		35					40					45					
ggt	ttc	tcc	ggc	att	aac	acc	gcc	ctg	gag	ctg	gcg	gaa	caa	ggc	gtg		192
Gly	Phe	Ser	Gly	Ile	Asn	Thr	Ala	Leu	Glu	Leu	Ala	Glu	Gln	Gly	Val		
	50					55					60						
acc	aat	atc	gtc	gtg	ctc	gag	ggc	cgt	tat	ctg	ggc	tac	ggc	ggt	agc		240
Thr	Asn	Ile	Val	Val	Leu	Glu	Gly	Arg	Tyr	Leu	Gly	Tyr	Gly	Gly	Ser		
65					70					75					80		
ggg	cgc	aac	ggc	ggg	cag	atc	atg	gcg	ggc	atc	ggc	cac	gac	ctg	gag		288
Gly	Arg	Asn	Gly	Gly	Gln	Ile	Met	Ala	Gly	Ile	Gly	His	Asp	Leu	Glu		
			85						90					95			
aag	atc	cgc	agc	agc	gtc	ggt	gat	cag	ggc	gtg	agg	gat	att	ttc	gaa		336
Lys	Ile	Arg	Ser	Ser	Val	Gly	Asp	Gln	Gly	Val	Arg	Asp	Ile	Phe	Glu		
			100					105					110				
atc	agc	gaa	ctg	ggc	gcc	ggc	atc	atc	aag	gac	cgc	atc	gcc	cgc	tac		384
Ile	Ser	Glu	Leu	Gly	Ala	Gly	Ile	Ile	Lys	Asp	Arg	Ile	Ala	Arg	Tyr		
		115					120					125					
gcc	atc	gac	gcc	gac	ttc	tgc	cac	ggc	tat	ggc	tac	atg	ggc	ttc	aac		432
Ala	Ile	Asp	Ala	Asp	Phe	Cys	His	Gly	Tyr	Gly	Tyr	Met	Gly	Phe	Asn		
	130					135					140						
cgc	cgc	cag	gaa	cag	acc	ctg	cgc	aaa	tgg	gag	aag	gcg	ttc	aag	gcg		480
Arg	Arg	Gln	Glu	Gln	Thr	Leu	Arg	Lys	Trp	Glu	Lys	Ala	Phe	Lys	Ala		
145					150					155					160		
atc	aat	acc	cgc	gac	gag	atc	cgt	ttt	ctc	ggt	ggc	agc	gaa	gtg	cgc		528
Ile	Asn	Thr	Arg	Asp	Glu	Ile	Arg	Phe	Leu	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Arg		
				165					170					175			
cag	atc	atc	ggc	agc	aac	gcc	tac	agc	agc	gcc	ctg	atg	cac	atg	ggc		576
Gln	Ile	Ile	Gly	Ser	Asn	Ala	Tyr	Ser	Ser	Ala	Leu	Met	His	Met	Gly		
			180					185					190				
ggt	ggc	cat	gtg	cat	tcc	ctg	aac	ctg	ctg	ctg	ggc	gaa	gcg	cag	gca		624
Gly	Gly	His	Val	His	Ser	Leu	Asn	Leu	Leu	Leu	Gly	Glu	Ala	Gln	Ala		
		195					200					205					
ctg	gtg	ggc	cat	ggt	gcg	cgc	atc	ttc	gaa	cac	agc	ccg	gcc	ctg	gaa		672
Leu	Val	Gly	His	Gly	Ala	Arg	Ile	Phe	Glu	His	Ser	Pro	Ala	Leu	Glu		
	210					215					220						
gtg	acc	tac	ggc	gag	cgc	atc	acg	gta	cgc	acc	ggc	cgt	ggc	tcg	gta		720
Val	Thr	Tyr	Gly	Glu	Arg	Ile	Thr	Val	Arg	Thr	Gly	Arg	Gly	Ser	Val		
225					230					235					240		
cgc	gcc	agc	aag	ctg	ctg	tgg	gcg	tgc	gac	agc	ttc	ctc	aac	aag	ctg		768
Arg	Ala	Ser	Lys	Leu	Leu	Trp	Ala	Cys	Asp	Ser	Phe	Leu	Asn	Lys	Leu		

ES 2 387 150 A1

			245					250				255				
gag	ccg	cag	ctg	cac	gca	cgc	act	ata	aac	acc	tat	gcc	ttc	cag	atg	816
Glu	Pro	Gln	Leu	His	Ala	Arg	Thr	Ile	Asn	Thr	Tyr	Ala	Phe	Gln	Met	
			260					265					270			
atg	acc	gag	cca	ttg	ccg	gat	gag	ctg	atc	gag	cgc	atc	agc	ccg	ata	864
Met	Thr	Glu	Pro	Leu	Pro	Asp	Glu	Leu	Ile	Glu	Arg	Ile	Ser	Pro	Ile	
			275					280					285			
cgc	ggg	gcc	tac	agc	gac	atc	cgc	ccg	gtg	atc	gac	tac	tac	cgg	gtc	912
Arg	Gly	Ala	Tyr	Ser	Asp	Ile	Arg	Pro	Val	Ile	Asp	Tyr	Tyr	Arg	Val	
		290					295				300					
acc	cgc	gag	aac	cgc	ctg	ctg	ttt	ggc	gcc	gcc	acg	ccc	ttc	gtc	gag	960
Thr	Arg	Glu	Asn	Arg	Leu	Leu	Phe	Gly	Ala	Ala	Thr	Pro	Phe	Val	Glu	
					310					315					320	
cac	ttc	ccg	ctg	gac	ctg	aag	gcg	tgg	aac	cgc	gcg	ctg	atg	ctg	aag	1008
His	Phe	Pro	Leu	Asp	Leu	Lys	Ala	Trp	Asn	Arg	Ala	Leu	Met	Leu	Lys	
				325					330						335	
att	ttc	ccc	tac	ctg	aaa	gac	gtg	cgc	atc	gac	ctg	gcc	tgg	ggc	ggc	1056
Ile	Phe	Pro	Tyr	Leu	Lys	Asp	Val	Arg	Ile	Asp	Leu	Ala	Trp	Gly	Gly	
				340				345							350	
ccg	atg	gcc	acc	agt	gcc	aac	ctg	ttt	ccg	cag	ata	ggc	acc	ctc	gac	1104
Pro	Met	Ala	Thr	Ser	Ala	Asn	Leu	Phe	Pro	Gln	Ile	Gly	Thr	Leu	Asp	
			355				360								365	
aac	cgc	ccc	aac	gct	ttc	tat	gtg	cag	ggc	tac	tcc	ggc	ttt	ggc	gtc	1152
Asn	Arg	Pro	Asn	Ala	Phe	Tyr	Val	Gln	Gly	Tyr	Ser	Gly	Phe	Gly	Val	
		370				375					380					
acg	ccc	agc	cac	atc	att	tgc	aag	ata	ctc	gcc	gag	ggt	atg	cag	gag	1200
Thr	Pro	Ser	His	Ile	Ile	Cys	Lys	Ile	Leu	Ala	Glu	Gly	Met	Gln	Glu	
					390					395					400	
gga	tcg	aag	cgc	tat	gac	ctg	gtc	agc	tcg	gtc	aag	cat	gcg	cgc	atc	1248
Gly	Ser	Lys	Arg	Tyr	Asp	Leu	Val	Ser	Ser	Val	Lys	His	Ala	Arg	Ile	
				405						410					415	
ctc	ggc	aag	gac	cat	ttc	cgc	ccg	ctg	ctg	ctc	act	gcc	ggc	aag	acc	1296
Leu	Gly	Lys	Asp	His	Phe	Arg	Pro	Leu	Leu	Leu	Thr	Ala	Gly	Lys	Thr	
			420					425							430	
gtg	cac	cag	ctg	tcg	ggc	tac	ttc	aac	ggc	cgt	cgc	tga				1335
Val	His	Gln	Leu	Ser	Gly	Tyr	Phe	Asn	Gly	Arg	Arg					
			435				440									

<210> 12
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas putida U

<400> 12

Met Ile Ser Thr His Phe Gln Ser Ala Gly Gly Val Met Ile Thr Leu

ES 2 387 150 A1

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

ES 2 387 150 A1

Arg Ala Ser Lys Leu Leu Trp Ala Cys Asp Ser Phe Leu Asn Lys Leu
 245 250 255

Glu Pro Gln Leu His Ala Arg Thr Ile Asn Thr Tyr Ala Phe Gln Met
 260 265 270

Met Thr Glu Pro Leu Pro Asp Glu Leu Ile Glu Arg Ile Ser Pro Ile
 275 280 285

Arg Gly Ala Tyr Ser Asp Ile Arg Pro Val Ile Asp Tyr Tyr Arg Val
 290 295 300

Thr Arg Glu Asn Arg Leu Leu Phe Gly Ala Ala Thr Pro Phe Val Glu
 305 310 315 320

His Phe Pro Leu Asp Leu Lys Ala Trp Asn Arg Ala Leu Met Leu Lys
 325 330 335

Ile Phe Pro Tyr Leu Lys Asp Val Arg Ile Asp Leu Ala Trp Gly Gly
 340 345 350

Pro Met Ala Thr Ser Ala Asn Leu Phe Pro Gln Ile Gly Thr Leu Asp
 355 360 365

Asn Arg Pro Asn Ala Phe Tyr Val Gln Gly Tyr Ser Gly Phe Gly Val
 370 375 380

Thr Pro Ser His Ile Ile Cys Lys Ile Leu Ala Glu Gly Met Gln Glu
 385 390 395 400

Gly Ser Lys Arg Tyr Asp Leu Val Ser Ser Val Lys His Ala Arg Ile
 405 410 415

Leu Gly Lys Asp His Phe Arg Pro Leu Leu Leu Thr Ala Gly Lys Thr
 420 425 430

Val His Gln Leu Ser Gly Tyr Phe Asn Gly Arg Arg
 435 440

- <210> 13
- <211> 1218
- <212> DNA
- <213> Pseudomonas putida U

<220>

ES 2 387 150 A1

```

<221> CDS
<222> (1)..(1218)
<223> TynF

<400> 13
atg caa gcc aat ccc tcc cct ccc ata ccc ttc agc ttc gcc ctg ggc      48
Met Gln Ala Asn Pro Ser Pro Pro Ile Pro Phe Ser Phe Ala Leu Gly
1          5          10          15

cta ggc ctg atc ggc gcc ctc ggc cct tcc gcc gtc gac atg tac ctg      96
Leu Gly Leu Ile Gly Ala Leu Gly Pro Ser Ala Val Asp Met Tyr Leu
          20          25          30

tcg agc ctg ccg gaa atc gcc agc cac tat cag gct agc ttc acc cgc      144
Ser Ser Leu Pro Glu Ile Ala Ser His Tyr Gln Ala Ser Phe Thr Arg
          35          40          45

gta cag ctg aca ctg acc ttc ttc ctg ctg gcc atg ggc gcc ggc cag      192
Val Gln Leu Thr Leu Thr Phe Phe Leu Leu Ala Met Gly Ala Gly Gln
          50          55          60

ctg atc ttc ggc ccc atc gtc gac gct tat ggc cgg cgc aag ccg ctg      240
Leu Ile Phe Gly Pro Ile Val Asp Ala Tyr Gly Arg Arg Lys Pro Leu
65          70          75          80

ctg gcc ggc ctg ctg ctg ttc atc ctg tgc tcg ctg ggc gca gcc gca      288
Leu Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Leu Cys Ser Leu Gly Ala Ala Ala
          85          90          95

gcc ccc agc ctc gac acc ctg atc atg ctg cgc ttt ttc cag ggc ctg      336
Ala Pro Ser Leu Asp Thr Leu Ile Met Leu Arg Phe Phe Gln Gly Leu
          100          105          110

ggc agt gcg ctg acc ctg gtg gtg atc atg agc atg gtg cgt gat gtg      384
Gly Ser Ala Leu Thr Leu Val Val Ile Met Ser Met Val Arg Asp Val
          115          120          125

agc cag ggc gtg gcc gcg acc aaa ctg ttc gcc ctg ctg atg acc atc      432
Ser Gln Gly Val Ala Ala Thr Lys Leu Phe Ala Leu Leu Met Thr Ile
          130          135          140

gaa ggc gtc gca ccg atc ctg gca cct gcc ctg ggc ggc gtg atc gac      480
Glu Gly Val Ala Pro Ile Leu Ala Pro Ala Leu Gly Gly Val Ile Asp
145          150          155          160

gca cat ttc ggc tgg cgt gca gta atg ctg gta ctc gcc ggc atg ggc      528
Ala His Phe Gly Trp Arg Ala Val Met Leu Val Leu Ala Gly Met Gly
          165          170          175

gtg acg gtg ctg gtc aac agc ctg ctg aac ctg ccc gaa acc ctg ccg      576
Val Thr Val Leu Val Asn Ser Leu Leu Asn Leu Pro Glu Thr Leu Pro
          180          185          190

ccc agc aaa cgc gaa ccc ctg cgc ctg ggc cac gcc tgc agc acc tac      624
Pro Ser Lys Arg Glu Pro Leu Arg Leu Gly His Ala Cys Ser Thr Tyr
          195          200          205

ctg gcc atc ctc gcc gac cgc cgc ttc ctg cgc ccg acc ctg gcg gtt      672
Leu Ala Ile Leu Ala Asp Arg Arg Phe Leu Arg Pro Thr Leu Ala Val

```

ES 2 387 150 A1

210	215	220	
gct gcg gta ttc ttc ttc ctg ttc gcc tac atc ggc ggt gcc acc ctg Ala Ala Val Phe Phe Phe Leu Phe Ala Tyr Ile Gly Gly Ala Thr Leu 225	230	235	720 240
gtg tac cag gcc cac tac ggc ctg agc gcc cag gcc ttc ggc ctg ctg Val Tyr Gln Ala His Tyr Gly Leu Ser Ala Gln Ala Phe Gly Leu Leu 245	250		768 255
ttt ggc gcc acc ggg gtg tgc atc ctg ctc ggc gcc atg acg gcc agc Phe Gly Ala Thr Gly Val Ser Ile Leu Leu Gly Ala Met Thr Ala Ser 260	265		816 270
cac ctg atc agc cgg ctg ggc ctc aat acc ttg act cgg gtg ggc gtg His Leu Ile Ser Arg Leu Gly Leu Asn Thr Leu Thr Arg Val Gly Val 275	280	285	864
ctg tgc atg gcc ggc ggt gcc tgc atc agc ctg ctc ggt gca ctg acc Leu Cys Met Ala Gly Gly Ala Cys Ile Ser Leu Leu Gly Ala Leu Thr 290	295	300	912
ggc ctg ggg ctg cca ggt gtg gcc ggc ggc atg gtg ata gcc ctg ttc Gly Leu Gly Leu Pro Gly Val Ala Gly Gly Met Val Ile Ala Leu Phe 305	310	315	960 320
ggc ctg ggg ata gcc gag tgc acg ctg atg tgc ctg gtg atg gcc tgc Gly Leu Gly Ile Ala Glu Ser Thr Leu Met Ser Leu Val Met Ala Ser 325	330		1008 335
caa gaa aag gca ctg ggt tcc acc gca gcg ctg ctg ggc gcc atc cag Gln Glu Lys Ala Leu Gly Ser Thr Ala Ala Leu Leu Gly Ala Ile Gln 340	345	350	1056
ctg tgc gcg tct gcc ggc gcc gcc ccg ctg gcc gca gtg gta ctc aac Leu Ser Ala Ser Ala Gly Ala Ala Pro Leu Ala Ala Val Val Leu Asn 355	360	365	1104
cac ggc ccg acc gca tgg gcc gcg ctg ctg gcc ctg tgc acc ctg gtg His Gly Pro Thr Ala Trp Ala Ala Leu Leu Ala Leu Cys Thr Leu Val 370	375	380	1152
gtg tgc ctg ctg acc gcc ctc agc ctg cgc cac acc ccg gcc agc ttc Val Cys Leu Leu Thr Ala Leu Ser Leu Arg His Thr Pro Ala Ser Phe 385	390	395	1200 400
tcg ctc gcg ggc cat tga Ser Leu Ala Gly His 405			1218

<210> 14
 <211> 405
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas putida U

<400> 14

Met Gln Ala Asn Pro Ser Pro Pro Ile Pro Phe Ser Phe Ala Leu Gly

ES 2 387 150 A1

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

ES 2 387 150 A1

Asp	Ala	Phe	Leu	Gly	Trp	Arg	Ser	Ala	Asp	Leu	Phe	Pro	Val	Leu	Gly	
		115					120					125				
aag	gat	gga	gtg	gac	gtt	tcc	gcc	ggc	cgc	cag	acc	att	cgc	ctg	ggc	432
Lys	Asp	Gly	Val	Asp	Val	Ser	Ala	Gly	Arg	Gln	Thr	Ile	Arg	Leu	Gly	
	130					135					140					
agt	ggt	ttt	ttg	atc	aac	gac	gac	ggc	ccg	aac	ctg	ggc	aac	ggc	gtc	480
Ser	Gly	Phe	Leu	Ile	Asn	Asp	Asp	Gly	Pro	Asn	Leu	Gly	Asn	Gly	Val	
	145				150					155				160		
gcc	gac	ggt	gcg	ctg	gac	cgc	ggc	ggg	gcc	tac	tac	ctg	gcc	gcc	cgc	528
Ala	Asp	Gly	Ala	Leu	Asp	Arg	Gly	Gly	Ala	Tyr	Tyr	Leu	Ala	Ala	Arg	
				165					170					175		
cac	gcc	ttc	gac	cgc	acc	gca	atg	ctg	cgc	ctg	ggg	ggc	agc	gat	ggc	576
His	Ala	Phe	Asp	Arg	Thr	Ala	Met	Leu	Arg	Leu	Gly	Gly	Ser	Asp	Gly	
			180					185					190			
ctg	cat	ggc	agc	ctg	ctg	tgg	ctg	aaa	tcc	gac	aac	cgc	gcc	cag	gcc	624
Leu	His	Gly	Ser	Leu	Leu	Trp	Leu	Lys	Ser	Asp	Asn	Arg	Ala	Gln	Ala	
		195					200					205				
gaa	acc	gaa	ctg	gcc	gcc	ggc	acg	ctg	gac	tac	acc	caa	gcc	ttg	ggc	672
Glu	Thr	Glu	Leu	Ala	Ala	Gly	Thr	Leu	Asp	Tyr	Thr	Gln	Ala	Leu	Gly	
	210					215					220					
acc	ctc	ggg	ctg	acc	tgg	att	cac	ggc	atc	gac	gtc	acc	gac	caa	tgg	720
Thr	Leu	Gly	Leu	Thr	Trp	Ile	His	Gly	Ile	Asp	Val	Thr	Asp	Gln	Trp	
	225				230					235				240		
gcc	agc	gac	ttt	cag	aaa	gcc	cgc	gaa	ggc	atg	gac	gtg	tat	agc	gtg	768
Ala	Ser	Asp	Phe	Gln	Lys	Ala	Arg	Glu	Gly	Met	Asp	Val	Tyr	Ser	Val	
				245					250					255		
cgc	ggc	gaa	ggc	aac	gct	ggc	atc	gac	aat	gcc	agt	ttc	gcc	ttc	gaa	816
Arg	Gly	Glu	Gly	Asn	Ala	Gly	Ile	Asp	Asn	Ala	Ser	Phe	Ala	Phe	Glu	
			260				265						270			
tac	gcc	tgg	cag	gac	aag	acc	gac	ggc	ccc	gag	caa	gcc	tgg	tac	ctg	864
Tyr	Ala	Trp	Gln	Asp	Lys	Thr	Asp	Gly	Pro	Glu	Gln	Ala	Trp	Tyr	Leu	
		275				280						285				
cag	gcc	ggc	tac	acc	ttc	gcc	gac	ctg	ccg	tgg	gca	ccg	cag	gtt	acc	912
Gln	Ala	Gly	Tyr	Thr	Phe	Ala	Asp	Leu	Pro	Trp	Ala	Pro	Gln	Val	Thr	
	290					295					300					
tac	cgc	tac	acc	cgc	tac	tcg	gca	ggc	tgg	gac	gcg	ctg	ttc	agc	ggc	960
Tyr	Arg	Tyr	Thr	Arg	Tyr	Ser	Ala	Gly	Trp	Asp	Ala	Leu	Phe	Ser	Gly	
	305				310					315				320		
ctg	tcc	agc	ggt	tac	ggc	acc	tgg	ttc	cag	ggt	gaa	gtc	gct	gcc	aac	1008
Leu	Ser	Ser	Gly	Tyr	Gly	Thr	Trp	Phe	Gln	Gly	Glu	Val	Ala	Ala	Asn	
				325					330					335		
tac	gcc	ggc	ccc	ttc	aac	agc	aac	acg	ggt	atc	cac	cat	gtg	ggc	gtg	1056
Tyr	Ala	Gly	Pro	Phe	Asn	Ser	Asn	Thr	Gly	Ile	His	His	Val	Gly	Val	
			340					345					350			

ES 2 387 150 A1

aag gcg aca ccg ctg gaa aat ctc aca gtc ggg gcg ctg tac ttc gac 1104
Lys Ala Thr Pro Leu Glu Asn Leu Thr Val Gly Ala Leu Tyr Phe Asp
355 360 365

ttc gac acc gta cgc acc cgc gaa agc ctc aac ctc gat gcg cgg gag 1152
Phe Asp Thr Val Arg Thr Arg Glu Ser Leu Asn Leu Asp Ala Arg Glu
370 375 380

ctg gac ctg tat gtg gaa tgg gca gtc aac gag cac ctg ata atc agc 1200
Leu Asp Leu Tyr Val Glu Trp Ala Val Asn Glu His Leu Ile Ile Ser
385 390 395 400

ccg ctg gtg ggc ctt tac cag ccg cgc aag gac gag agc aac ggc ggc 1248
Pro Leu Val Gly Leu Tyr Gln Pro Arg Lys Asp Glu Ser Asn Gly Gly
405 410 415

aac cag gtg ggc ggg aat ggt acc aat gtg tat agc cag ctg acc gtg 1296
Asn Gln Val Gly Gly Asn Gly Thr Asn Val Tyr Ser Gln Leu Thr Val
420 425 430 435

gct gtg ccg ttc tga 1311
Ala Val Pro Phe
435

<210> 16
<211> 436
<212> PRT
<213> Pseudomonas putida U

<400> 16

Met Val Lys Pro Gln Thr Leu Ser Ser Leu Ala Leu Ala Thr Leu Leu
1 5 10 15

Ala Ser Gln Ala Ala Pro Ala Val Glu Leu Tyr Ala Asp Asp Asp Ser
20 25 30

His Leu Asn Ala Asp Met Leu Ala Val Trp Gly Met Phe Asn Ser Arg
35 40 45

Lys Asn Tyr Asp Gly Thr Thr Gly Gly Ser Thr Trp Arg Glu Gly Phe
50 55 60

Ile Lys Tyr Gly Leu Ser Gly Asp Gln Gly Leu Ala Gly Asn Gly Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Gly Ser Leu Asn Trp Val Ser Ser Ala Thr Trp Gly Asp Gly
85 90 95

Asp Ala Ala Gly Asn Thr Asp Gly Ser Glu Arg Thr Thr Lys Ile Glu
100 105 110

Asp Ala Phe Leu Gly Trp Arg Ser Ala Asp Leu Phe Pro Val Leu Gly
115 120 125

Lys Asp Gly Val Asp Val Ser Ala Gly Arg Gln Thr Ile Arg Leu Gly
130 135 140

ES 2 387 150 A1

Ser Gly Phe Leu Ile Asn Asp Asp Gly Pro Asn Leu Gly Asn Gly Val
 145 150 155 160

Ala Asp Gly Ala Leu Asp Arg Gly Gly Ala Tyr Tyr Leu Ala Ala Arg
 165 170 175

His Ala Phe Asp Arg Thr Ala Met Leu Arg Leu Gly Gly Ser Asp Gly
 180 185 190

Leu His Gly Ser Leu Leu Trp Leu Lys Ser Asp Asn Arg Ala Gln Ala
 195 200 205

Glu Thr Glu Leu Ala Ala Gly Thr Leu Asp Tyr Thr Gln Ala Leu Gly
 210 215 220

Thr Leu Gly Leu Thr Trp Ile His Gly Ile Asp Val Thr Asp Gln Trp
 225 230 235 240

Ala Ser Asp Phe Gln Lys Ala Arg Glu Gly Met Asp Val Tyr Ser Val
 245 250 255

Arg Gly Glu Gly Asn Ala Gly Ile Asp Asn Ala Ser Phe Ala Phe Glu
 260 265 270

Tyr Ala Trp Gln Asp Lys Thr Asp Gly Pro Glu Gln Ala Trp Tyr Leu
 275 280 285

Gln Ala Gly Tyr Thr Phe Ala Asp Leu Pro Trp Ala Pro Gln Val Thr
 290 295 300

Tyr Arg Tyr Thr Arg Tyr Ser Ala Gly Trp Asp Ala Leu Phe Ser Gly
 305 310 315 320

Leu Ser Ser Gly Tyr Gly Thr Trp Phe Gln Gly Glu Val Ala Ala Asn
 325 330 335

Tyr Ala Gly Pro Phe Asn Ser Asn Thr Gly Ile His His Val Gly Val
 340 345 350

Lys Ala Thr Pro Leu Glu Asn Leu Thr Val Gly Ala Leu Tyr Phe Asp
 355 360 365

Phe Asp Thr Val Arg Thr Arg Glu Ser Leu Asn Leu Asp Ala Arg Glu
 370 375 380

Leu Asp Leu Tyr Val Glu Trp Ala Val Asn Glu His Leu Ile Ile Ser
 385 390 395 400

Pro Leu Val Gly Leu Tyr Gln Pro Arg Lys Asp Glu Ser Asn Gly Gly
 405 410 415

Asn Gln Val Gly Gly Asn Gly Thr Asn Val Tyr Ser Gln Leu Thr Val
 420 425 430

Ala Val Pro Phe
 435

<210> 17

ES 2 387 150 A1

<211> 1497
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas putida U

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1497)
 <223> TynG

<400> 17
 atg tca ctc aat aac aag ctc acc gag cac ctc aac cgc ggc act gtc 48
 Met Ser Leu Asn Asn Lys Leu Thr Glu His Leu Asn Arg Gly Thr Val
 1 5 10 15

ggt ttc ccc acc gca ctg gcc agc act gtc ggg ctg atc atg gcc agc 96
 Gly Phe Pro Thr Ala Leu Ala Ser Thr Val Gly Leu Ile Met Ala Ser
 20 25 30

ccg gtg atc ctc acc gcg acc atg ggc ttt ggc atc ggc ggc agc gcc 144
 Pro Val Ile Leu Thr Ala Thr Met Gly Phe Gly Ile Gly Gly Ser Ala
 35 40 45

ttc gcc gtg gcc atg gtc atc gcc gca ctg atg atg ctg gcg cag tcc 192
 Phe Ala Val Ala Met Val Ile Ala Ala Leu Met Met Leu Ala Gln Ser
 50 55 60

acc acc ttt gcc gag gct gcg tcg atc ctg ccg acc acg ggc tcg gta 240
 Thr Thr Phe Ala Glu Ala Ala Ser Ile Leu Pro Thr Thr Gly Ser Val
 65 70 75 80

tac gac tac atc aac tgt ggc atg ggc cgt ttc ttc gcc att acc ggc 288
 Tyr Asp Tyr Ile Asn Cys Gly Met Gly Arg Phe Phe Ala Ile Thr Gly
 85 90 95

acg ctg tcg gcc tac ctg atc gtg cat gtg ttc gcc ggt acc gcc gaa 336
 Thr Leu Ser Ala Tyr Leu Ile Val His Val Phe Ala Gly Thr Ala Glu
 100 105 110

acc atc ctg tcg ggg gtg atg gcg ctg gtg aac ttc gag cac ctc aat 384
 Thr Ile Leu Ser Gly Val Met Ala Leu Val Asn Phe Glu His Leu Asn
 115 120 125

acc ctg gcg gaa tcc gcc ggc ggt tcg tgg ctg ctg ggg gtg tgc ttc 432
 Thr Leu Ala Glu Ser Ala Gly Gly Ser Trp Leu Leu Gly Val Cys Phe
 130 135 140

gtg gtg gcg ttt gcg gtg ctc aat gcc ttt ggc gtc agc gcc ttc agc 480
 Val Val Ala Phe Ala Val Leu Asn Ala Phe Gly Val Ser Ala Phe Ser
 145 150 155 160

cgc gcg gaa gtg gtc ctc acc ttc ggc atg tgg acc acc ttg atg gtg 528
 Arg Ala Glu Val Val Leu Thr Phe Gly Met Trp Thr Thr Leu Met Val
 165 170 175

ttc ggc gtg ctt ggc ctg atc gcc gca ccc gca gtg gaa ctg gac ggc 576
 Phe Gly Val Leu Gly Leu Ile Ala Ala Pro Ala Val Glu Leu Asp Gly
 180 185 190

ccg ttc ggc gtg tcg ctg gtg ggc acc gac ctg atg acc atc ctc tcg 624

ES 2 387 150 A1

Pro	Phe	Gly	Val	Ser	Leu	Val	Gly	Thr	Asp	Leu	Met	Thr	Ile	Leu	Ser	
		195					200					205				
ctg	gtc	ggc	atg	gcc	atg	ttc	atg	ttc	gtt	ggc	tgc	gag	ttc	gtc	acg	672
Leu	Val	Gly	Met	Ala	Met	Phe	Met	Phe	Val	Gly	Cys	Glu	Phe	Val	Thr	
	210					215					220					
ccg	ctt	gcc	ccc	gaa	ctg	cgt	cgc	tcg	gcc	tgg	gtg	ctg	ccg	cgg	gcc	720
Pro	Leu	Ala	Pro	Glu	Leu	Arg	Arg	Ser	Ala	Trp	Val	Leu	Pro	Arg	Ala	
225					230					235					240	
atg	gcg	ctg	ggc	ctg	ttt	ggc	gtg	gcc	agc	tgc	atg	ttc	atc	tac	gga	768
Met	Ala	Leu	Gly	Leu	Phe	Gly	Val	Ala	Ser	Cys	Met	Phe	Ile	Tyr	Gly	
				245					250					255		
gcg	gcg	atg	aag	cgc	cag	gtg	gaa	aac	gtg	gtg	ctg	gat	gcc	gcc	agt	816
Ala	Ala	Met	Lys	Arg	Gln	Val	Glu	Asn	Val	Val	Leu	Asp	Ala	Ala	Ser	
			260					265					270			
ggc	gtg	cac	ctg	ctg	gac	acg	ccc	atg	gcc	atc	ccg	cgc	ttc	gcc	gag	864
Gly	Val	His	Leu	Leu	Asp	Thr	Pro	Met	Ala	Ile	Pro	Arg	Phe	Ala	Glu	
		275					280					285				
cag	gtg	atg	ggt	gat	att	ggc	cca	gtg	tgg	ctg	ggt	atc	ggc	ttc	ctg	912
Gln	Val	Met	Gly	Asp	Ile	Gly	Pro	Val	Trp	Leu	Gly	Ile	Gly	Phe	Leu	
	290					295					300					
ttc	gcc	ggc	gcg	gcc	acc	atc	aac	acg	ctg	atg	gcc	ggt	gtg	cca	cgc	960
Phe	Ala	Gly	Ala	Ala	Thr	Ile	Asn	Thr	Leu	Met	Ala	Gly	Val	Pro	Arg	
305				310						315					320	
att	ctt	tac	ggc	atg	gcg	gtg	gac	ggc	gcg	ttg	ccc	aag	gtg	ttc	acc	1008
Ile	Leu	Tyr	Gly	Met	Ala	Val	Asp	Gly	Ala	Leu	Pro	Lys	Val	Phe	Thr	
				325					330					335		
tac	ctg	cac	ccg	cgc	ttc	aag	acg	ccg	ctg	ctg	tgc	atc	ctg	gtg	gtg	1056
Tyr	Leu	His	Pro	Arg	Phe	Lys	Thr	Pro	Leu	Leu	Cys	Ile	Leu	Val	Val	
			340					345					350			
gcg	ttg	atc	cct	tgc	ctg	cat	gcc	tgg	tac	ctg	ggc	ggc	aac	ccg	gac	1104
Ala	Leu	Ile	Pro	Cys	Leu	His	Ala	Trp	Tyr	Leu	Gly	Gly	Asn	Pro	Asp	
		355					360					365				
aac	atc	ctg	cac	ctg	gtg	ctg	gcc	gcc	gtg	tgc	gcc	tgg	agc	acc	gcc	1152
Asn	Ile	Leu	His	Leu	Val	Leu	Ala	Ala	Val	Cys	Ala	Trp	Ser	Thr	Ala	
	370					375					380					
tac	ctg	ctg	gtg	acc	ctg	tcg	gtg	gtg	ata	ttg	cgc	atc	cgc	cgc	cca	1200
Tyr	Leu	Leu	Val	Thr	Leu	Ser	Val	Val	Ile	Leu	Arg	Ile	Arg	Arg	Pro	
385					390					395					400	
gac	ctg	ccg	cgt	gcc	tac	cgc	tcg	ccg	ctg	ttc	ccg	ttg	ccg	cag	ata	1248
Asp	Leu	Pro	Arg	Ala	Tyr	Arg	Ser	Pro	Leu	Phe	Pro	Leu	Pro	Gln	Ile	
				405					410					415		
ttc	tcc	agt	agc	ggt	atc	ctc	atc	ggc	atg	gcg	ttc	atc	aca	ccg	ccg	1296
Phe	Ser	Ser	Ser	Gly	Ile	Leu	Ile	Gly	Met	Ala	Phe	Ile	Thr	Pro	Pro	
			420					425					430			

ES 2 387 150 A1

```

ggc atg aac cct gcc gat gtc tac gtg ccg ttc gcc atc atg ctt ggc      1344
Gly Met Asn Pro Ala Asp Val Tyr Val Pro Phe Ala Ile Met Leu Gly
      435                               440                               445

gcc act gcg gcc tat gca ttg ttc tgg acg ctg tgg gtg cag aag gtc      1392
Ala Thr Ala Ala Tyr Ala Leu Phe Trp Thr Leu Trp Val Gln Lys Val
      450                               455                               460

aac ccg ttc aag ccg gcg cgg gtc gag gat gtg ctc gag aaa gag ttt      1440
Asn Pro Phe Lys Pro Ala Arg Val Glu Asp Val Leu Glu Lys Glu Phe
465                               470                               475                               480

gct gcc gag cct ggc cac gcc gtg gag cac gtg ctg cat gat cag aaa      1488
Ala Ala Glu Pro Gly His Ala Val Glu His Val Leu His Asp Gln Lys
      485                               490                               495

ttt gcg tga
Phe Ala
                                                    1497

```

```

<210> 18
<211> 498
<212> PRT
<213> Pseudomonas putida U

```

```
<400> 18
```

```

Met Ser Leu Asn Asn Lys Leu Thr Glu His Leu Asn Arg Gly Thr Val
1                               5                               10                               15

Gly Phe Pro Thr Ala Leu Ala Ser Thr Val Gly Leu Ile Met Ala Ser
      20                               25                               30

Pro Val Ile Leu Thr Ala Thr Met Gly Phe Gly Ile Gly Gly Ser Ala
      35                               40                               45

Phe Ala Val Ala Met Val Ile Ala Ala Leu Met Met Leu Ala Gln Ser
      50                               55                               60

Thr Thr Phe Ala Glu Ala Ala Ser Ile Leu Pro Thr Thr Gly Ser Val
      65                               70                               75                               80

Tyr Asp Tyr Ile Asn Cys Gly Met Gly Arg Phe Phe Ala Ile Thr Gly
      85                               90                               95

Thr Leu Ser Ala Tyr Leu Ile Val His Val Phe Ala Gly Thr Ala Glu
      100                              105                              110

Thr Ile Leu Ser Gly Val Met Ala Leu Val Asn Phe Glu His Leu Asn
      115                              120                              125

Thr Leu Ala Glu Ser Ala Gly Gly Ser Trp Leu Leu Gly Val Cys Phe
      130                              135                              140

Val Val Ala Phe Ala Val Leu Asn Ala Phe Gly Val Ser Ala Phe Ser
      145                              150                              155                              160

Arg Ala Glu Val Val Leu Thr Phe Gly Met Trp Thr Thr Leu Met Val

```


ES 2 387 150 A1

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

ES 2 387 150 A1

Ala Ala Glu Pro Gly His Ala Val Glu His Val Leu His Asp Gln Lys
 485 490 495

Phe Ala

<210> 19
 <211> 1170
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas putida U

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1170)
 <223> HpaB

<400> 19
 atg aaa aag cca aac ccc ctg ctg gaa gac ctg aag tcc gtc ctg ccg 48
 Met Lys Lys Pro Asn Pro Leu Leu Glu Asp Leu Lys Ser Val Leu Pro
 1 5 10 15
 acc att gcc gcc aat gcc atg cgt gca gag cag gac cgc agt gtg ccg 96
 Thr Ile Ala Ala Asn Ala Met Arg Ala Glu Gln Asp Arg Ser Val Pro
 20 25 30
 gca gag aat atc gcc ttg ctg aaa agc atc ggc atg cac cgc gct ttc 144
 Ala Glu Asn Ile Ala Leu Leu Lys Ser Ile Gly Met His Arg Ala Phe
 35 40 45
 ttg ccc aaa cac ttc ggc ggc atg gaa atc acc ctg ccg gag ttc gcc 192
 Leu Pro Lys His Phe Gly Gly Met Glu Ile Thr Leu Pro Glu Phe Ala
 50 55 60
 cag tgc atc gcc ttg ctg gcg ggg gcc tgc gcc agc aca gcc tgg gcc 240
 Gln Cys Ile Ala Leu Leu Ala Gly Ala Cys Ala Ser Thr Ala Trp Ala
 65 70 75 80
 atg agc ctg ctg tgc acc cac agc cac cag atg gca atg ttc tcg ccc 288
 Met Ser Leu Leu Cys Thr His Ser His Gln Met Ala Met Phe Ser Pro
 85 90 95
 aag cta caa cag gag gtg tgg ggt agc gac ccg gat gct acc gcc agc 336
 Lys Leu Gln Gln Glu Val Trp Gly Ser Asp Pro Asp Ala Thr Ala Ser
 100 105 110
 agc agt atc gcg ccg ttc ggc cgc act gaa gag gtt gag ggt ggc gtg 384
 Ser Ser Ile Ala Pro Phe Gly Arg Thr Glu Glu Val Glu Gly Gly Val
 115 120 125
 tcg ttc agc ggc gaa atg ggc tgg agt tcc ggt tgc gac cac gcc gaa 432
 Ser Phe Ser Gly Glu Met Gly Trp Ser Ser Gly Cys Asp His Ala Glu
 130 135 140
 tgg gcg att ctc ggt ttc cgc cgc aag aat gcc gaa ggc gct cag gat 480
 Trp Ala Ile Leu Gly Phe Arg Arg Lys Asn Ala Glu Gly Ala Gln Asp
 145 150 155 160
 tac tgc ttc gcc atc ctg cct cgc agt gac tat gaa atc cgt gat gac 528

ES 2 387 150 A1

Tyr	Cys	Phe	Ala	Ile	Leu	Pro	Arg	Ser	Asp	Tyr	Glu	Ile	Arg	Asp	Asp	
				165					170					175		
tgg	tat	gcc	gtg	ggc	atg	cgc	ggc	agc	ggc	agc	aag	acc	ctg	atc	gtg	576
Trp	Tyr	Ala	Val	Gly	Met	Arg	Gly	Ser	Gly	Ser	Lys	Thr	Leu	Ile	Val	
			180					185					190			
cgt	gat	gcc	ttc	gtg	ccc	gag	cac	cgc	atc	cag	aag	gcc	aag	gac	atg	624
Arg	Asp	Ala	Phe	Val	Pro	Glu	His	Arg	Ile	Gln	Lys	Ala	Lys	Asp	Met	
		195					200					205				
atg	gag	ggc	aag	tcg	gcg	ggc	ttt	ggt	ttg	tac	ccc	gac	agc	aag	att	672
Met	Glu	Gly	Lys	Ser	Ala	Gly	Phe	Gly	Leu	Tyr	Pro	Asp	Ser	Lys	Ile	
	210					215					220					
ttc	ttc	gcc	ccg	tat	cgc	ccg	tat	ttt	gcc	agc	ggc	ttc	tcc	acg	gtc	720
Phe	Phe	Ala	Pro	Tyr	Arg	Pro	Tyr	Phe	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Thr	Val	
225					230					235					240	
agc	ttg	ggc	ggt	gcc	gag	cgc	atg	ctg	gag	gtg	ttc	cgc	gag	aaa	acc	768
Ser	Leu	Gly	Val	Ala	Glu	Arg	Met	Leu	Glu	Val	Phe	Arg	Glu	Lys	Thr	
				245					250					255		
cgc	aac	cgc	gtg	cgt	gcc	tac	acc	ggt	gct	gcc	gtg	ggc	gcc	gcc	acc	816
Arg	Asn	Arg	Val	Arg	Ala	Tyr	Thr	Gly	Ala	Ala	Val	Gly	Ala	Ala	Thr	
			260					265					270			
ccg	gcg	ctg	atg	cgc	ctg	gcc	gag	tcg	acc	cat	cag	gtg	gcc	gct	gcc	864
Pro	Ala	Leu	Met	Arg	Leu	Ala	Glu	Ser	Thr	His	Gln	Val	Ala	Ala	Ala	
		275					280					285				
cgg	gca	ttg	ctg	gaa	aag	agc	tgg	gac	gag	att	gcc	gag	cac	agt	gcc	912
Arg	Ala	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	Trp	Asp	Glu	Ile	Ala	Glu	His	Ser	Ala	
	290					295					300					
cgt	cac	gaa	tac	ccg	tcg	cgt	ggc	acg	ctg	gcg	ttc	tgg	cgt	acc	aac	960
Arg	His	Glu	Tyr	Pro	Ser	Arg	Gly	Thr	Leu	Ala	Phe	Trp	Arg	Thr	Asn	
305					310					315				320		
cag	ggc	tac	gcc	gtg	aag	atg	tgc	atc	cag	gcc	gtc	gac	cgc	ctg	atg	1008
Gln	Gly	Tyr	Ala	Val	Lys	Met	Cys	Ile	Gln	Ala	Val	Asp	Arg	Leu	Met	
				325					330					335		
gaa	gcg	gcc	ggt	ggt	ggc	gcc	tgg	ttc	gag	agc	aac	gaa	ctg	cag	cgg	1056
Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Ala	Trp	Phe	Glu	Ser	Asn	Glu	Leu	Gln	Arg	
			340					345					350			
ctg	ttc	cgc	gat	tcg	cac	atg	acc	ggt	gcc	cat	gcc	tac	acc	gat	tac	1104
Leu	Phe	Arg	Asp	Ser	His	Met	Thr	Gly	Ala	His	Ala	Tyr	Thr	Asp	Tyr	
			355					360				365				
gac	gtg	tgt	gcg	caa	atc	ctc	ggc	cgc	gag	ctg	atg	ggc	ctg	gag	cct	1152
Asp	Val	Cys	Ala	Gln	Ile	Leu	Gly	Arg	Glu	Leu	Met	Gly	Leu	Glu	Pro	
	370					375					380					
gac	ccg	gcg	atg	gtc	tga											1170
Asp	Pro	Ala	Met	Val												
385																

ES 2 387 150 A1

<210> 20
 <211> 389
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas putida U

<400> 20

Met Lys Lys Pro Asn Pro Leu Leu Glu Asp Leu Lys Ser Val Leu Pro
 1 5 10 15

Thr Ile Ala Ala Asn Ala Met Arg Ala Glu Gln Asp Arg Ser Val Pro
 20 25 30

Ala Glu Asn Ile Ala Leu Leu Lys Ser Ile Gly Met His Arg Ala Phe
 35 40 45

Leu Pro Lys His Phe Gly Gly Met Glu Ile Thr Leu Pro Glu Phe Ala
 50 55 60

Gln Cys Ile Ala Leu Leu Ala Gly Ala Cys Ala Ser Thr Ala Trp Ala
 65 70 75 80

Met Ser Leu Leu Cys Thr His Ser His Gln Met Ala Met Phe Ser Pro
 85 90 95

Lys Leu Gln Gln Glu Val Trp Gly Ser Asp Pro Asp Ala Thr Ala Ser
 100 105 110

Ser Ser Ile Ala Pro Phe Gly Arg Thr Glu Glu Val Glu Gly Gly Val
 115 120 125

Ser Phe Ser Gly Glu Met Gly Trp Ser Ser Gly Cys Asp His Ala Glu
 130 135 140

Trp Ala Ile Leu Gly Phe Arg Arg Lys Asn Ala Glu Gly Ala Gln Asp
 145 150 155 160

Tyr Cys Phe Ala Ile Leu Pro Arg Ser Asp Tyr Glu Ile Arg Asp Asp
 165 170 175

Trp Tyr Ala Val Gly Met Arg Gly Ser Gly Ser Lys Thr Leu Ile Val
 180 185 190

Arg Asp Ala Phe Val Pro Glu His Arg Ile Gln Lys Ala Lys Asp Met
 195 200 205

Met Glu Gly Lys Ser Ala Gly Phe Gly Leu Tyr Pro Asp Ser Lys Ile
 210 215 220

Phe Phe Ala Pro Tyr Arg Pro Tyr Phe Ala Ser Gly Phe Ser Thr Val
 225 230 235 240

Ser Leu Gly Val Ala Glu Arg Met Leu Glu Val Phe Arg Glu Lys Thr
 245 250 255

Arg Asn Arg Val Arg Ala Tyr Thr Gly Ala Ala Val Gly Ala Ala Thr
 260 265 270

ES 2 387 150 A1

Pro Ala Leu Met Arg Leu Ala Glu Ser Thr His Gln Val Ala Ala Ala
 275 280 285
 Arg Ala Leu Leu Glu Lys Ser Trp Asp Glu Ile Ala Glu His Ser Ala
 290 295 300
 Arg His Glu Tyr Pro Ser Arg Gly Thr Leu Ala Phe Trp Arg Thr Asn
 305 310 315 320
 Gln Gly Tyr Ala Val Lys Met Cys Ile Gln Ala Val Asp Arg Leu Met
 325 330 335
 Glu Ala Ala Gly Gly Gly Ala Trp Phe Glu Ser Asn Glu Leu Gln Arg
 340 345 350
 Leu Phe Arg Asp Ser His Met Thr Gly Ala His Ala Tyr Thr Asp Tyr
 355 360 365
 Asp Val Cys Ala Gln Ile Leu Gly Arg Glu Leu Met Gly Leu Glu Pro
 370 375 380
 Asp Pro Ala Met Val
 385

<210> 21
 <211> 930
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas putida U

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(930)
 <223> hpaC

<400> 21
 atg tcc aaa gaa acc ttc gat tca cgt gcc ttc cgc cgc gcc ctg ggc 48
 Met Ser Lys Glu Thr Phe Asp Ser Arg Ala Phe Arg Arg Ala Leu Gly
 1 5 10 15
 aac ttc gcc acc ggc gtg acc gtg gtg act gcc gcc ggc ccc agt ggc 96
 Asn Phe Ala Thr Gly Val Thr Val Val Thr Ala Ala Gly Pro Ser Gly
 20 25 30
 cgc aag gtc ggc gtt acc gcc aac agc ttc aac tcg gtg tcg ctg gac 144
 Arg Lys Val Gly Val Thr Ala Asn Ser Phe Asn Ser Val Ser Leu Asp
 35 40 45
 ccg gcg ctg atc ctg tgg agc atc gac aag cgc tcc acc agc cat gaa 192
 Pro Ala Leu Ile Leu Trp Ser Ile Asp Lys Arg Ser Thr Ser His Glu
 50 55 60
 gtg ttc gaa gag gcc tcg cac ttt gcc gtg aac att ctg gct gcg gac 240
 Val Phe Glu Glu Ala Ser His Phe Ala Val Asn Ile Leu Ala Ala Asp
 65 70 75 80
 cag atc gac ctg tcc aac aac ttt gcc cgc ccg aag gaa gat cgc ttt 288
 Gln Ile Asp Leu Ser Asn Asn Phe Ala Arg Pro Lys Glu Asp Arg Phe
 85 90 95

ES 2 387 150 A1

gcc ggt atc gac tac gag acc ggc act ggc ggc gcg ccg ttg ttc gcc 336
 Ala Gly Ile Asp Tyr Glu Thr Gly Thr Gly Gly Ala Pro Leu Phe Ala
 100 105 110

gat tgc gcg gcg cgc ttt gag tgt gaa aag tac cag cag ctg gac ggt 384
 Asp Cys Ala Ala Arg Phe Glu Cys Glu Lys Tyr Gln Gln Leu Asp Gly
 115 120 125

ggc gat cac tgg atc ctg gtg ggc aag gta gtg gcc ttt gat gac ttt 432
 Gly Asp His Trp Ile Leu Val Gly Lys Val Val Ala Phe Asp Asp Phe
 130 135 140

ggc cgc tcg ccg ctg ctg tat cac cag ggc gcc tat tca atg gtg ctg 480
 Gly Arg Ser Pro Leu Leu Tyr His Gln Gly Ala Tyr Ser Met Val Leu
 145 150 155 160

ccg cat acc cgc atg acc caa ggc gca gag ggg cag gca ccg agc agc 528
 Pro His Thr Arg Met Thr Gln Gly Ala Glu Gly Gln Ala Pro Ser Ser
 165 170 175

cac ttc cag ggc cgc ctg cag cac aac ctg tac tac ctg atg acc cag 576
 His Phe Gln Gly Arg Leu Gln His Asn Leu Tyr Tyr Leu Met Thr Gln
 180 185 190

gcg ctg cgt gcc tac cag gct gac tac cag cca cgc cag ctg tgt acc 624
 Ala Leu Arg Ala Tyr Gln Ala Asp Tyr Gln Pro Arg Gln Leu Cys Thr
 195 200 205

ggc ctg cgc acc agc gag gca cgc atg ctg atg gtg ctg gag aac gat 672
 Gly Leu Arg Thr Ser Glu Ala Arg Met Leu Met Val Leu Glu Asn Asp
 210 215 220

gcg ggc ctg agc ctg aac gac ctg caa cgc gaa gtg gcg atg ccg gcg 720
 Ala Gly Leu Ser Leu Asn Asp Leu Gln Arg Glu Val Ala Met Pro Ala
 225 230 235 240

cgg gag atc gag gaa gcg gtt gcc aac ctc aag cgc aaa ggg ctg att 768
 Arg Glu Ile Glu Glu Ala Val Ala Asn Leu Lys Arg Lys Gly Leu Ile
 245 250 255

gcc gat gac gaa ggg cga gtg cgg cta tcg gtg aag ggc gtg gac gag 816
 Ala Asp Asp Glu Gly Arg Val Arg Leu Ser Val Lys Gly Val Asp Glu
 260 265 270

acc gag gcg ttg tgg acc att gcc cgg caa cag cag gac aag gtg ttc 864
 Thr Glu Ala Leu Trp Thr Ile Ala Arg Gln Gln Gln Asp Lys Val Phe
 275 280 285

ggg cag ttc agt gaa cag cag ctg gag act ttc aag acc gtg ctc aag 912
 Gly Gln Phe Ser Glu Gln Gln Leu Glu Thr Phe Lys Thr Val Leu Lys
 290 295 300

gcc ctt atc aac atc tga 930
 Ala Leu Ile Asn Ile
 305

<210> 22

ES 2 387 150 A1

<211> 309
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas putida U

<400> 22
 Met Ser Lys Glu Thr Phe Asp Ser Arg Ala Phe Arg Arg Ala Leu Gly
 1 5 10 15
 Asn Phe Ala Thr Gly Val Thr Val Val Thr Ala Ala Gly Pro Ser Gly
 20 25 30
 Arg Lys Val Gly Val Thr Ala Asn Ser Phe Asn Ser Val Ser Leu Asp
 35 40 45
 Pro Ala Leu Ile Leu Trp Ser Ile Asp Lys Arg Ser Thr Ser His Glu
 50 55 60
 Val Phe Glu Glu Ala Ser His Phe Ala Val Asn Ile Leu Ala Ala Asp
 65 70 75 80
 Gln Ile Asp Leu Ser Asn Asn Phe Ala Arg Pro Lys Glu Asp Arg Phe
 85 90 95
 Ala Gly Ile Asp Tyr Glu Thr Gly Thr Gly Gly Ala Pro Leu Phe Ala
 100 105 110
 Asp Cys Ala Ala Arg Phe Glu Cys Glu Lys Tyr Gln Gln Leu Asp Gly
 115 120 125
 Gly Asp His Trp Ile Leu Val Gly Lys Val Val Ala Phe Asp Asp Phe
 130 135 140
 Gly Arg Ser Pro Leu Leu Tyr His Gln Gly Ala Tyr Ser Met Val Leu
 145 150 155 160
 Pro His Thr Arg Met Thr Gln Gly Ala Glu Gly Gln Ala Pro Ser Ser
 165 170 175
 His Phe Gln Gly Arg Leu Gln His Asn Leu Tyr Tyr Leu Met Thr Gln
 180 185 190
 Ala Leu Arg Ala Tyr Gln Ala Asp Tyr Gln Pro Arg Gln Leu Cys Thr
 195 200 205
 Gly Leu Arg Thr Ser Glu Ala Arg Met Leu Met Val Leu Glu Asn Asp
 210 215 220
 Ala Gly Leu Ser Leu Asn Asp Leu Gln Arg Glu Val Ala Met Pro Ala
 225 230 235 240
 Arg Glu Ile Glu Glu Ala Val Ala Asn Leu Lys Arg Lys Gly Leu Ile
 245 250 255
 Ala Asp Asp Glu Gly Arg Val Arg Leu Ser Val Lys Gly Val Asp Glu
 260 265 270
 Thr Glu Ala Leu Trp Thr Ile Ala Arg Gln Gln Gln Asp Lys Val Phe
 275 280 285

ES 2 387 150 A1

Gly Gln Phe Ser Glu Gln Gln Leu Glu Thr Phe Lys Thr Val Leu Lys
 290 295 300

Ala Leu Ile Asn Ile
 305

<210> 23
 <211> 924
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas putida U

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(924)
 <223> hpaD

<400> 23
 atg ggc aaa ctc gct ctc act gcc aag att acc cat gta ccg tcc atg 48
 Met Gly Lys Leu Ala Leu Thr Ala Lys Ile Thr His Val Pro Ser Met
 1 5 10 15

tac atg tcc gaa ctg cca ggc ccg cgc caa ggc ttt cgc cag gcg gcc 96
 Tyr Met Ser Glu Leu Pro Gly Pro Arg Gln Gly Phe Arg Gln Ala Ala
 20 25 30

atc gac ggg cat cac gaa atc agc cgc cgt tgc cgt gag ctg ggc gtg 144
 Ile Asp Gly His His Glu Ile Ser Arg Arg Cys Arg Glu Leu Gly Val
 35 40 45

gac acc atc gtc gtg ttc gac acg cac tgg ctg gtc aac gcc aac tac 192
 Asp Thr Ile Val Val Phe Asp Thr His Trp Leu Val Asn Ala Asn Tyr
 50 55 60

cac gtg ctg tgc ggg ccg cat ttc gag ggc gtg tac acc agc aac gaa 240
 His Val Leu Cys Gly Pro His Phe Glu Gly Val Tyr Thr Ser Asn Glu
 65 70 75 80

ctg ccg cac ttc atc agc aac atg ccc tac gca ttc ccc ggc aat ccc 288
 Leu Pro His Phe Ile Ser Asn Met Pro Tyr Ala Phe Pro Gly Asn Pro
 85 90 95

gag ctg ggc aag ctg ctg gcc gag gag tgc aac cgc ttc aac gtc gaa 336
 Glu Leu Gly Lys Leu Leu Ala Glu Glu Cys Asn Arg Phe Asn Val Glu
 100 105 110

acc atg gcc cac cac gcc acc acc ctc gcc ccg gaa tac ggc acc ctg 384
 Thr Met Ala His His Ala Thr Thr Leu Ala Pro Glu Tyr Gly Thr Leu
 115 120 125

gtg ccc atg cgc tac atg aac cag gac cag cac ttc aaa gtg gtc tog 432
 Val Pro Met Arg Tyr Met Asn Gln Asp Gln His Phe Lys Val Val Ser
 130 135 140

gtc tcg gcc ctg tgc acc tcg cac tac ctg gcc gac agt gcc cgc ctg 480
 Val Ser Ala Leu Cys Thr Ser His Tyr Leu Ala Asp Ser Ala Arg Leu
 145 150 155 160

ES 2 387 150 A1

```

His Val Leu Cys Gly Pro His Phe Glu Gly Val Tyr Thr Ser Asn Glu
65                               75                               80

Leu Pro His Phe Ile Ser Asn Met Pro Tyr Ala Phe Pro Gly Asn Pro
                               85                               90                               95

Glu Leu Gly Lys Leu Leu Ala Glu Glu Cys Asn Arg Phe Asn Val Glu
                               100                               105                               110

Thr Met Ala His His Ala Thr Thr Leu Ala Pro Glu Tyr Gly Thr Leu
                               115                               120                               125

Val Pro Met Arg Tyr Met Asn Gln Asp Gln His Phe Lys Val Val Ser
                               130                               135                               140

Val Ser Ala Leu Cys Thr Ser His Tyr Leu Ala Asp Ser Ala Arg Leu
145                               150                               155                               160

Gly Trp Ala Met Arg Lys Ala Val Glu Asp His Tyr Asp Gly Thr Val
                               165                               170                               175

Ala Phe Leu Ala Ser Gly Ser Leu Ser His Arg Phe Ala Gln Asn Gly
                               180                               185                               190

Gln Ala Pro Asp Phe Ala Thr Lys Val Trp Ser Pro Phe Leu Glu Thr
                               195                               200                               205

Leu Asp His Arg Val Val Gln Met Trp Gln Asp Gly Glu Trp Glu Ala
210                               215                               220

Phe Cys Gly Met Leu Pro Glu Tyr Ala Ala Lys Gly His Gly Glu Gly
225                               230                               235                               240

Phe Met His Asp Thr Ala Met Leu Leu Gly Ala Leu Gly Trp Ser Asp
                               245                               250                               255

Tyr Asp Gly Lys Ala Glu Val Val Thr Pro Tyr Phe Gly Ser Ser Gly
                               260                               265                               270

Thr Gly Gln Ile Asn Ala Ile Phe Pro Val Thr Pro Gln Asp Gly Gly
                               275                               280                               285

Ala Ile Pro Ala Ala Gln Ala Ala Asn Pro Ala Ala Val Val Pro Thr
290                               295                               300

Ser Arg Leu
305

```

```

<210> 25
<211> 1461
<212> DNA
<213> Pseudomonas putida U

```

```

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1461)
<223> hpaE

```

ES 2 387 150 A1

```

<400> 25
atg atc aag cac tgg atc aac ggc cgt gag gtc gag agc aaa gac acc      48
Met Ile Lys His Trp Ile Asn Gly Arg Glu Val Glu Ser Lys Asp Thr
1           5           10           15

ttc gtc aac tac aac ccg gcc acc ggc gac gcc atc tgc gaa gtc gcc      96
Phe Val Asn Tyr Asn Pro Ala Thr Gly Asp Ala Ile Cys Glu Val Ala
                20           25           30

agc ggc ggc gcc gag gaa gtg gcc cag gct gtg gct gcg gcc aag gaa      144
Ser Gly Gly Ala Glu Glu Val Ala Gln Ala Val Ala Ala Lys Glu
                35           40           45

gcc ttc ccc aag tgg gcc aac acc ccg gcc aag gaa cgt gcc cgg ctg      192
Ala Phe Pro Lys Trp Ala Asn Thr Pro Ala Lys Glu Arg Ala Arg Leu
                50           55           60

atg cgc aag ctg ggt gag ctg att gag cag aac gtg ccg aaa ctc gcc      240
Met Arg Lys Leu Gly Glu Leu Ile Glu Gln Asn Val Pro Lys Leu Ala
65           70           75           80

gag ctg gaa acc ctc gac acc ggc ctg ccg atc cac cag acc aag aac      288
Glu Leu Glu Thr Leu Asp Thr Gly Leu Pro Ile His Gln Thr Lys Asn
                85           90           95

gtg ctg atc ccg cgt gcc tcg cac aac ttc gac ttc ttc gcc gaa gtg      336
Val Leu Ile Pro Arg Ala Ser His Asn Phe Asp Phe Phe Ala Glu Val
                100           105           110

tgc acg cgc atg gac ggc cat acc tac ccg gtc gac gac cag atg ctc      384
Cys Thr Arg Met Asp Gly His Thr Tyr Pro Val Asp Asp Gln Met Leu
                115           120           125

aac tac acc ctg tac cag ccg gtg ggt gtg tgc ggc ctg gta agc cca      432
Asn Tyr Thr Leu Tyr Gln Pro Val Gly Val Cys Gly Leu Val Ser Pro
                130           135           140

tgg aac gtg ccg ttc atg acg gct acc tgg aag act gcg ccg tgc ctg      480
Trp Asn Val Pro Phe Met Thr Ala Thr Trp Lys Thr Ala Pro Cys Leu
145           150           155           160

gcg ctg ggc aac acc gcc gtg ctg aag atg agc gag ctg tcg cct ctg      528
Ala Leu Gly Asn Thr Ala Val Leu Lys Met Ser Glu Leu Ser Pro Leu
                165           170           175

acc gcc aac gaa ctg ggc cgc ctg gcg gta gaa gcc ggc atc ccc aac      576
Thr Ala Asn Glu Leu Gly Arg Leu Ala Val Glu Ala Gly Ile Pro Asn
                180           185           190

ggg gtg ctg aac gtg atc cag ggt tac ggc gct acc gcc ggc gat gcc      624
Gly Val Leu Asn Val Ile Gln Gly Tyr Gly Ala Thr Ala Gly Asp Ala
                195           200           205

ctg gtc cgc cac ccc gat gtg cgc gcc att tcc ttc acc ggc ggt acc      672
Leu Val Arg His Pro Asp Val Arg Ala Ile Ser Phe Thr Gly Gly Thr
                210           215           220

gcc acc ggc aag aag atc atg cag acc gca ggc ctt aaa aag tac tcg      720

```

ES 2 387 150 A1

Ala	Thr	Gly	Lys	Lys	Ile	Met	Gln	Thr	Ala	Gly	Leu	Lys	Lys	Tyr	Ser		
225					230					235					240		
atg	gaa	ctg	ggc	ggc	aag	tcg	ccc	gtg	ctg	atc	ttc	gaa	gac	gca	gac		768
Met	Glu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ser	Pro	Val	Leu	Ile	Phe	Glu	Asp	Ala	Asp		
				245					250					255			
ctt	gag	cgt	gcg	ctg	gac	gcc	gcg	ctg	ttc	acc	atc	ttc	tcg	ctg	aac		816
Leu	Glu	Arg	Ala	Leu	Asp	Ala	Ala	Leu	Phe	Thr	Ile	Phe	Ser	Leu	Asn		
			260					265					270				
ggc	gag	cgc	tgc	acc	gcc	ggc	agc	cgc	atc	ttc	atc	cag	gaa	agc	gtg		864
Gly	Glu	Arg	Cys	Thr	Ala	Gly	Ser	Arg	Ile	Phe	Ile	Gln	Glu	Ser	Val		
		275					280					285					
tac	ccg	cag	ttt	gtc	gca	gag	ttt	gcg	gcg	cgc	gcc	aag	cgc	ctg	atc		912
Tyr	Pro	Gln	Phe	Val	Ala	Glu	Phe	Ala	Ala	Arg	Ala	Lys	Arg	Leu	Ile		
	290					295					300						
gta	ggt	gac	ccg	acc	gac	ccg	aaa	acc	cag	gtc	ggt	tcg	atg	atc	acc		960
Val	Gly	Asp	Pro	Thr	Asp	Pro	Lys	Thr	Gln	Val	Gly	Ser	Met	Ile	Thr		
305					310				315					320			
cag	cag	cac	tat	gac	aag	gtc	acc	ggg	tac	atc	cgc	att	ggc	atc	gaa		1008
Gln	Gln	His	Tyr	Asp	Lys	Val	Thr	Gly	Tyr	Ile	Arg	Ile	Gly	Ile	Glu		
				325				330					335				
gaa	ggt	gca	cgc	ctg	gtc	gcc	ggg	ggc	ctg	gag	cgc	ccg	gcc	aac	ctg		1056
Glu	Gly	Ala	Arg	Leu	Val	Ala	Gly	Gly	Leu	Glu	Arg	Pro	Ala	Asn	Leu		
			340				345					350					
cct	gcg	cac	ctg	gcc	aag	ggg	cag	ttc	atc	cag	ccc	acc	gta	ttc	gcc		1104
Pro	Ala	His	Leu	Ala	Lys	Gly	Gln	Phe	Ile	Gln	Pro	Thr	Val	Phe	Ala		
		355				360						365					
gac	gtg	aac	aac	aag	atg	cgc	att	gcc	cag	gaa	gaa	atc	ttt	ggc	ccg		1152
Asp	Val	Asn	Asn	Lys	Met	Arg	Ile	Ala	Gln	Glu	Glu	Ile	Phe	Gly	Pro		
	370				375						380						
gtg	gtg	tgc	ctg	atc	ccg	ttc	aag	gac	gaa	gcc	gag	gcg	ctg	caa	ctg		1200
Val	Val	Cys	Leu	Ile	Pro	Phe	Lys	Asp	Glu	Ala	Glu	Ala	Leu	Gln	Leu		
385					390					395				400			
gcc	aac	gac	acc	gag	tat	ggc	ctg	gcc	tcg	tac	atc	tgg	acc	cag	gac		1248
Ala	Asn	Asp	Thr	Glu	Tyr	Gly	Leu	Ala	Ser	Tyr	Ile	Trp	Thr	Gln	Asp		
			405					410						415			
atc	ggc	aaa	gcc	cat	cgc	ctg	gcc	cgt	ggc	atc	gag	gcc	ggc	atg	gtg		1296
Ile	Gly	Lys	Ala	His	Arg	Leu	Ala	Arg	Gly	Ile	Glu	Ala	Gly	Met	Val		
			420				425						430				
ttc	atc	aac	agc	cag	aac	gta	cgc	gac	ctg	cgc	cag	ccg	ttc	ggc	ggc		1344
Phe	Ile	Asn	Ser	Gln	Asn	Val	Arg	Asp	Leu	Arg	Gln	Pro	Phe	Gly	Gly		
		435				440						445					
gtg	aaa	ggt	tcc	ggt	acc	ggg	cgt	gag	ggc	ggg	cag	tac	agc	ttc	gag		1392
Val	Lys	Gly	Ser	Gly	Thr	Gly	Arg	Glu	Gly	Gly	Gln	Tyr	Ser	Phe	Glu		
	450					455					460						

ES 2 387 150 A1

gtc ttt gca gag atc aag aac gtg tgt att tcc atg ggt aat cac cac 1440
 Val Phe Ala Glu Ile Lys Asn Val Cys Ile Ser Met Gly Asn His His
 465 470 475 480

att cct cgc tgg ggc atc taa 1461
 Ile Pro Arg Trp Gly Ile
 485

<210> 26
 <211> 486
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas putida U

<400> 26
 Met Ile Lys His Trp Ile Asn Gly Arg Glu Val Glu Ser Lys Asp Thr
 1 5 10 15

Phe Val Asn Tyr Asn Pro Ala Thr Gly Asp Ala Ile Cys Glu Val Ala
 20 25 30

Ser Gly Gly Ala Glu Glu Val Ala Gln Ala Val Ala Ala Lys Glu
 35 40 45

Ala Phe Pro Lys Trp Ala Asn Thr Pro Ala Lys Glu Arg Ala Arg Leu
 50 55 60

Met Arg Lys Leu Gly Glu Leu Ile Glu Gln Asn Val Pro Lys Leu Ala
 65 70 75 80

Glu Leu Glu Thr Leu Asp Thr Gly Leu Pro Ile His Gln Thr Lys Asn
 85 90 95

Val Leu Ile Pro Arg Ala Ser His Asn Phe Asp Phe Phe Ala Glu Val
 100 105 110

Cys Thr Arg Met Asp Gly His Thr Tyr Pro Val Asp Asp Gln Met Leu
 115 120 125

Asn Tyr Thr Leu Tyr Gln Pro Val Gly Val Cys Gly Leu Val Ser Pro
 130 135 140

Trp Asn Val Pro Phe Met Thr Ala Thr Trp Lys Thr Ala Pro Cys Leu
 145 150 155 160

Ala Leu Gly Asn Thr Ala Val Leu Lys Met Ser Glu Leu Ser Pro Leu
 165 170 175

Thr Ala Asn Glu Leu Gly Arg Leu Ala Val Glu Ala Gly Ile Pro Asn
 180 185 190

Gly Val Leu Asn Val Ile Gln Gly Tyr Gly Ala Thr Ala Gly Asp Ala
 195 200 205

Leu Val Arg His Pro Asp Val Arg Ala Ile Ser Phe Thr Gly Gly Thr
 210 215 220

Ala Thr Gly Lys Lys Ile Met Gln Thr Ala Gly Leu Lys Lys Tyr Ser

ES 2 387 150 A1

<223> hpaF

<400> 27

```

atg cca cac ctg gtt ctg ctc tat acc ccc gac ctg gaa acc gac gcc      48
Met Pro His Leu Val Leu Leu Tyr Thr Pro Asp Leu Glu Thr Asp Ala
1           5           10           15

gac atc ccc ggc ctg tgc cgc gcc ctg gcc gac acc atg ctc gaa cag      96
Asp Ile Pro Gly Leu Cys Arg Ala Leu Ala Asp Thr Met Leu Glu Gln
           20           25           30

cgc gat gcc gaa ggc aaa gcc gtg ttc ccc act ggc ggt aca cgc gtg      144
Arg Asp Ala Glu Gly Lys Ala Val Phe Pro Thr Gly Gly Thr Arg Val
           35           40           45

ctg gcc tac ccc gcc gcc cat tgc gcg gtg gcc gac ggc aaa ggc gaa      192
Leu Ala Tyr Pro Ala Ala His Cys Ala Val Ala Asp Gly Lys Gly Glu
           50           55           60

tac ggc ttt ctg tac gcc aac ctg cgc atg gct acc ggc cgt agc gcc      240
Tyr Gly Phe Leu Tyr Ala Asn Leu Arg Met Ala Thr Gly Arg Ser Ala
65           70           75           80

gag gtg cac aaa aca gtg ggc gac agc ttg ctg gca gtg ttg aaa gcg      288
Glu Val His Lys Thr Val Gly Asp Ser Leu Leu Ala Val Leu Lys Ala
           85           90           95

cgc ctg gac cca ctg ctg caa cag cgc ccg atc ggc atc acc gtg cag      336
Arg Leu Asp Pro Leu Leu Gln Gln Arg Pro Ile Gly Ile Thr Val Gln
           100           105           110

atc gac cac agc acc gcc cag gtc tac gac gcc aag cac agc acc ttg      384
Ile Asp His Ser Thr Ala Gln Val Tyr Asp Ala Lys His Ser Thr Leu
           115           120           125

cac cca ctg ttc aac cgc tag      405
His Pro Leu Phe Asn Arg
           130

```

<210> 28

<211> 134

<212> PRT

<213> Pseudomonas putida U

<400> 28

```

Met Pro His Leu Val Leu Leu Tyr Thr Pro Asp Leu Glu Thr Asp Ala
1           5           10           15

Asp Ile Pro Gly Leu Cys Arg Ala Leu Ala Asp Thr Met Leu Glu Gln
           20           25           30

Arg Asp Ala Glu Gly Lys Ala Val Phe Pro Thr Gly Gly Thr Arg Val
           35           40           45

Leu Ala Tyr Pro Ala Ala His Cys Ala Val Ala Asp Gly Lys Gly Glu
           50           55           60

Tyr Gly Phe Leu Tyr Ala Asn Leu Arg Met Ala Thr Gly Arg Ser Ala

```


ES 2 387 150 A1

```

cct gaa ctg gtg ccc gcc agc caa gtg gcc aac ccc gat gcc ctg ggc      432
Pro Glu Leu Val Pro Ala Ser Gln Val Ala Asn Pro Asp Ala Leu Gly
   130                               135                               140

ctg cgc ctg tat gtg aac ggc gaa ctg cgc cag cac aac aac acc gcc      480
Leu Arg Leu Tyr Val Asn Gly Glu Leu Arg Gln His Asn Asn Thr Ala
   145                               150                               155                               160

aac tgc gta cgc acg gtg gcg cag ctg att gcc gaa atc agc gag ttc      528
Asn Cys Val Arg Thr Val Ala Gln Leu Ile Ala Glu Ile Ser Glu Phe
                               165                               170                               175

atg acc ctg cac gcc ggc gac atc ctg atc acc gga acc ccc gag ggc      576
Met Thr Leu His Ala Gly Asp Ile Leu Ile Thr Gly Thr Pro Glu Gly
                               180                               185                               190

cgc gtc gat gta cag cca ggt gac cgc gtc gac atc gag atc gac ggc      624
Arg Val Asp Val Gln Pro Gly Asp Arg Val Asp Ile Glu Ile Asp Gly
   195                               200                               205

ctg ggc aag ctg acc aac cac atc gtc gcc gag tga      660
Leu Gly Lys Leu Thr Asn His Ile Val Ala Glu
   210                               215

```

```

<210> 30
<211> 219
<212> PRT
<213> Pseudomonas putida U

```

```
<400> 30
```

```

Met Ser His Ala Leu Leu Asp Val Ala Ser Gly Thr Leu Phe Gly Val
 1      5      10      15

Ala Leu Asn Tyr Gln Gly Leu Leu Gln Gln His Gln Ala Ala Phe Val
 20      25      30

Glu Ala Pro Tyr Lys Gln Leu Pro Val Lys Pro Val Leu Phe Val Lys
 35      40      45

Thr Pro Asn Thr Arg Asn Gln His Glu Gly Gln Val Val Phe Pro Ala
 50      55      60

Gly Val Gln Arg Val Gln Pro Gly Pro Ala Leu Gly Val Val Ile Gly
 65      70      75      80

Lys Asp Ala Ser Arg Val Ser Val Ala Asp Ala Leu Glu His Val Ala
 85      90      95

Gly Tyr Thr Ile Val Asn Glu Val Ser Leu Pro Glu Ala Ser Tyr Tyr
 100     105     110

Arg Pro Ala Val Lys Ala Lys Cys Arg Asp Gly Phe Cys Pro Val Gly
 115     120     125

Pro Glu Leu Val Pro Ala Ser Gln Val Ala Asn Pro Asp Ala Leu Gly
 130     135     140

```

ES 2 387 150 A1

Leu Arg Leu Tyr Val Asn Gly Glu Leu Arg Gln His Asn Asn Thr Ala
 145 150 155 160
 Asn Cys Val Arg Thr Val Ala Gln Leu Ile Ala Glu Ile Ser Glu Phe
 165 170 175
 Met Thr Leu His Ala Gly Asp Ile Leu Ile Thr Gly Thr Pro Glu Gly
 180 185 190
 Arg Val Asp Val Gln Pro Gly Asp Arg Val Asp Ile Glu Ile Asp Gly
 195 200 205
 Leu Gly Lys Leu Thr Asn His Ile Val Ala Glu
 210 215

<210> 31
 <211> 765
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas putida U

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(765)
 <223> hpaG2

<400> 31
 gtg aaa cac gcc cgt atc cag ttc gac ggc cag gcc cac gat gtc acg 48
 Val Lys His Ala Arg Ile Gln Phe Asp Gly Gln Ala His Asp Val Thr
 1 5 10 15
 gtc gaa gac gat cac ctg cgc ctt gcc gac ggc cgc ctg gtc cat cag 96
 Val Glu Asp Asp His Leu Arg Leu Ala Asp Gly Arg Leu Val His Gln
 20 25 30
 gac cag gtc acc tgg ctg cca ccc gcc acc ggc agc atg ttc gcc ctg 144
 Asp Gln Val Thr Trp Leu Pro Pro Ala Thr Gly Ser Met Phe Ala Leu
 35 40 45
 ggc ctg aac tac gcc gac cac gcc agg gag ctg gcc ttc gcg ccg ccc 192
 Gly Leu Asn Tyr Ala Asp His Ala Arg Glu Leu Ala Phe Ala Pro Pro
 50 55 60
 acc gaa ccg ttg gct ttc atc aag tcg cca ggc acc tac acc ggc cac 240
 Thr Glu Pro Leu Ala Phe Ile Lys Ser Pro Gly Thr Tyr Thr Gly His
 65 70 75 80
 atc cag gtc acc tgg cgc ccg gac aac gtc gaa tac atg cac tac gag 288
 Ile Gln Val Thr Trp Arg Pro Asp Asn Val Glu Tyr Met His Tyr Glu
 85 90 95
 tgc gag ctg gtg gcg gtg atc ggc aaa gcg gcg aag aac gtc aag cgt 336
 Cys Glu Leu Val Ala Val Ile Gly Lys Ala Ala Lys Asn Val Lys Arg
 100 105 110
 gag gac gcc ctg gcc tac gtt gcc ggc tac acc gtg tgc aac gac tac 384
 Glu Asp Ala Leu Ala Tyr Val Ala Gly Tyr Thr Val Cys Asn Asp Tyr
 115 120 125

ES 2 387 150 A1

```

gcc atc cgc gac tac ctg gaa aac tac tac cgc ccc aac ctg cgg gtg      432
Ala Ile Arg Asp Tyr Leu Glu Asn Tyr Tyr Arg Pro Asn Leu Arg Val
    130                      135                      140

aaa aac cgc gat gcc acc acc ccg gtc ggc ccg tgg atc gtc gat gcg      480
Lys Asn Arg Asp Ala Thr Thr Pro Val Gly Pro Trp Ile Val Asp Ala
    145                      150                      155                      160

gcc gat gtg cca gac gtc agc aac ctg aag ctg cgc acc tgg atc aac      528
Ala Asp Val Pro Asp Val Ser Asn Leu Lys Leu Arg Thr Trp Ile Asn
                      165                      170                      175

ggt gag ctg aag cag gaa ggc acc acc gcg gac atg atc ttc gac atc      576
Gly Glu Leu Lys Gln Glu Gly Thr Thr Ala Asp Met Ile Phe Asp Ile
                      180                      185                      190

ccg cac ctc atc gaa tac ttc tcc agc ttc atg acc ctg caa ccg ggc      624
Pro His Leu Ile Glu Tyr Phe Ser Ser Phe Met Thr Leu Gln Pro Gly
    195                      200                      205

gac atg atc gcc acc ggc acg cca gaa ggc ctg gcc gat gtg gtg ccg      672
Asp Met Ile Ala Thr Gly Thr Pro Glu Gly Leu Ala Asp Val Val Pro
    210                      215                      220

ggt gac gaa gtg gtg gtg gaa gtg gaa ggc gtc ggt cgc ctg gtc aac      720
Gly Asp Glu Val Val Val Glu Val Glu Gly Val Gly Arg Leu Val Asn
    225                      230                      235                      240

cgt atc gtc agc gaa gct gac ttc ttc aag aac aac aag gca tga      765
Arg Ile Val Ser Glu Ala Asp Phe Phe Lys Asn Asn Lys Ala
                      245                      250

<210> 32
<211> 254
<212> PRT
<213> Pseudomonas putida U

<400> 32

Val Lys His Ala Arg Ile Gln Phe Asp Gly Gln Ala His Asp Val Thr
1                      5                      10                      15

Val Glu Asp Asp His Leu Arg Leu Ala Asp Gly Arg Leu Val His Gln
20                      25                      30

Asp Gln Val Thr Trp Leu Pro Pro Ala Thr Gly Ser Met Phe Ala Leu
35                      40                      45

Gly Leu Asn Tyr Ala Asp His Ala Arg Glu Leu Ala Phe Ala Pro Pro
50                      55                      60

Thr Glu Pro Leu Ala Phe Ile Lys Ser Pro Gly Thr Tyr Thr Gly His
65                      70                      75                      80

Ile Gln Val Thr Trp Arg Pro Asp Asn Val Glu Tyr Met His Tyr Glu
85                      90                      95

Cys Glu Leu Val Ala Val Ile Gly Lys Ala Ala Lys Asn Val Lys Arg

```

ES 2 387 150 A1

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

<210> 33
 <211> 804
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas putida U

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(804)
 <223> hpaH

<400>	33		
	atg cta gac aac gct ttc atc cag cac gcc gcc gac cgc ctc gac cag		48
	Met Leu Asp Asn Ala Phe Ile Gln His Ala Ala Asp Arg Leu Asp Gln		
	1 5 10 15		
	gcc gaa cgc tcc cgc gag caa gtg cgc cag ttc tcg ctg gag caa ccg		96
	Ala Glu Arg Ser Arg Glu Gln Val Arg Gln Phe Ser Leu Glu Gln Pro		
	20 25 30		
	gca atc acc atc gaa gac gcc tac gcc atc cag cgc gcc tgg gtg gca		144
	Ala Ile Thr Ile Glu Asp Ala Tyr Ala Ile Gln Arg Ala Trp Val Ala		
	35 40 45		
	aaa aag atc gcc gcc ggg cgc aag ctg gtg ggc cac aag atc ggc ctg		192
	Lys Lys Ile Ala Ala Gly Arg Lys Leu Val Gly His Lys Ile Gly Leu		
	50 55 60		
	acc tcg cgc gcc atg cag gta tcg tcg aac atc acc gag ccc gac tac		240
	Thr Ser Arg Ala Met Gln Val Ser Ser Asn Ile Thr Glu Pro Asp Tyr		

ES 2 387 150 A1

65	70	75	80	
ggc gcc ttg ctc gac gac atg ctg ttc gac gaa ggc agc gac atc ccc				288
Gly Ala Leu Leu Asp Asp Met Leu Phe Asp Glu Gly Ser Asp Ile Pro	85	90	95	
ttc gag cgc ttc atc gtg ccg cgg gtt gaa gtg gag ttg gcg ttc atc				336
Phe Glu Arg Phe Ile Val Pro Arg Val Glu Val Glu Leu Ala Phe Ile	100	105	110	
ctc ggc aag ccg ctg aag ggc ccg aac atc acc gtg ttt gat gtg ctg				384
Leu Gly Lys Pro Leu Lys Gly Pro Asn Ile Thr Val Phe Asp Val Leu	115	120	125	
gac gcc acc gag tgg gtg atc ccg gcg ctg gaa atc att gac gcg cgc				432
Asp Ala Thr Glu Trp Val Ile Pro Ala Leu Glu Ile Ile Asp Ala Arg	130	135	140	
atc cag cag gtg gac ccg caa acc cag gcc acc cgc aag gtg ttc gac				480
Ile Gln Gln Val Asp Pro Gln Thr Gln Ala Thr Arg Lys Val Phe Asp	145	150	155	160
acc atc tcc gac aac gcc gcc aat gcc ggc gtg gtg atg ggc ggg cgg				528
Thr Ile Ser Asp Asn Ala Ala Asn Ala Gly Val Val Met Gly Gly Arg	165	170	175	
gcc gtg cgc ccc acc gaa atc gac ctg cgc aaa gtg ccg gcg gtg ctc				576
Ala Val Arg Pro Thr Glu Ile Asp Leu Arg Lys Val Pro Ala Val Leu	180	185	190	
tac cgc aat ggc gtg atc gag gaa tcc ggg gtc agc gct gcc gtg ctc				624
Tyr Arg Asn Gly Val Ile Glu Glu Ser Gly Val Ser Ala Ala Val Leu	195	200	205	
aac cac ccg gcc aaa ggc gtt gcc tgg ctg gcc aac aaa ctg gcg ccg				672
Asn His Pro Ala Lys Gly Val Ala Trp Leu Ala Asn Lys Leu Ala Pro	210	215	220	
tac gac gtc acc ttg cag ccc ggc cag atc atc ctt ggg ggt tcg ttc				720
Tyr Asp Val Thr Leu Gln Pro Gly Gln Ile Ile Leu Gly Gly Ser Phe	225	230	235	240
acc cgc ccg gtc gcc gct cgc cca ggt gac acc ttc cac gtc gac tac				768
Thr Arg Pro Val Ala Ala Arg Pro Gly Asp Thr Phe His Val Asp Tyr	245	250	255	
gac atg ctc ggc tcc atc gcc tgc cgc ttc gtt taa				804
Asp Met Leu Gly Ser Ile Ala Cys Arg Phe Val	260	265		

<210> 34
 <211> 267
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas putida U

<400> 34
 Met Leu Asp Asn Ala Phe Ile Gln His Ala Ala Asp Arg Leu Asp Gln
 1 5 10 15

ES 2 387 150 A1

Ala Glu Arg Ser Arg Glu Gln Val Arg Gln Phe Ser Leu Glu Gln Pro
 20 25 30

Ala Ile Thr Ile Glu Asp Ala Tyr Ala Ile Gln Arg Ala Trp Val Ala
 35 40 45

Lys Lys Ile Ala Ala Gly Arg Lys Leu Val Gly His Lys Ile Gly Leu
 50 55 60

Thr Ser Arg Ala Met Gln Val Ser Ser Asn Ile Thr Glu Pro Asp Tyr
 65 70 75 80

Gly Ala Leu Leu Asp Asp Met Leu Phe Asp Glu Gly Ser Asp Ile Pro
 85 90 95

Phe Glu Arg Phe Ile Val Pro Arg Val Glu Val Glu Leu Ala Phe Ile
 100 105 110

Leu Gly Lys Pro Leu Lys Gly Pro Asn Ile Thr Val Phe Asp Val Leu
 115 120 125

Asp Ala Thr Glu Trp Val Ile Pro Ala Leu Glu Ile Ile Asp Ala Arg
 130 135 140

Ile Gln Gln Val Asp Pro Gln Thr Gln Ala Thr Arg Lys Val Phe Asp
 145 150 155 160

Thr Ile Ser Asp Asn Ala Ala Asn Ala Gly Val Val Met Gly Gly Arg
 165 170 175

Ala Val Arg Pro Thr Glu Ile Asp Leu Arg Lys Val Pro Ala Val Leu
 180 185 190

Tyr Arg Asn Gly Val Ile Glu Glu Ser Gly Val Ser Ala Ala Val Leu
 195 200 205

Asn His Pro Ala Lys Gly Val Ala Trp Leu Ala Asn Lys Leu Ala Pro
 210 215 220

Tyr Asp Val Thr Leu Gln Pro Gly Gln Ile Ile Leu Gly Gly Ser Phe
 225 230 235 240

Thr Arg Pro Val Ala Ala Arg Pro Gly Asp Thr Phe His Val Asp Tyr
 245 250 255

Asp Met Leu Gly Ser Ile Ala Cys Arg Phe Val
 260 265

<210> 35
 <211> 804
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas putida U

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(804)
 <223> hpaI

ES 2 387 150 A1

```

<400> 35
atg gac atg ccc atc aac cac ttc aag cga cgc ctg cac agc ggt gaa      48
Met Asp Met Pro Ile Asn His Phe Lys Arg Arg Leu His Ser Gly Glu
1                               5                               10                               15

ccg caa atc ggc ctg tgg ctc ggc ctg gcc gat gcc tac tgc gcc gag      96
Pro Gln Ile Gly Leu Trp Leu Gly Leu Ala Asp Ala Tyr Cys Ala Glu
                20                               25                               30

ctg gcg gcc aat gcc ggt ttc gac tgg ctg ctg atc gac ggc gaa cac      144
Leu Ala Ala Asn Ala Gly Phe Asp Trp Leu Leu Ile Asp Gly Glu His
                35                               40                               45

gcg ccc aac gac ctg cgc ggc atg ctc gcc cag ttg cag gcg gtg gca      192
Ala Pro Asn Asp Leu Arg Gly Met Leu Ala Gln Leu Gln Ala Val Ala
                50                               55                               60

ccc tac ccc agc cag gca gtg atc cgc ccg gtg atc ggc gat acc gcg      240
Pro Tyr Pro Ser Gln Ala Val Ile Arg Pro Val Ile Gly Asp Thr Ala
65                               70                               75                               80

ctg atc aag cag gtg ctg gat atc ggc gca caa acc ttg ctg gtg ccg      288
Leu Ile Lys Gln Val Leu Asp Ile Gly Ala Gln Thr Leu Leu Val Pro
                85                               90                               95

atg gtg gaa act gcc gaa cag gcg cgg caa ctg gtc aag gcc atg cat      336
Met Val Glu Thr Ala Glu Gln Ala Arg Gln Leu Val Lys Ala Met His
                100                               105                               110

tac ccg ccc aag ggc att cgc ggg gtg ggc agc gcg ctg gcg cgg gct      384
Tyr Pro Pro Lys Gly Ile Arg Gly Val Gly Ser Ala Leu Ala Arg Ala
                115                               120                               125

tcg cgc tgg aac acc ctc ccc ggt tac ctg gac cac gcc gat gag caa      432
Ser Arg Trp Asn Thr Leu Pro Gly Tyr Leu Asp His Ala Asp Glu Gln
                130                               135                               140

atg tgc ctg ctg gtg cag atc gag aac aag gaa ggc ctg gcc aac ctg      480
Met Cys Leu Leu Val Gln Ile Glu Asn Lys Glu Gly Leu Ala Asn Leu
145                               150                               155                               160

gac gag atc gtt gca gtg gaa ggt gtg gat ggc gtg ttc atc ggg cct      528
Asp Glu Ile Val Ala Val Glu Gly Val Asp Gly Val Phe Ile Gly Pro
                165                               170                               175

gca gac ctg agt gcg gcc atg ggg cat cgc ggc aac ccc ggg cac ccg      576
Ala Asp Leu Ser Ala Ala Met Gly His Arg Gly Asn Pro Gly His Pro
                180                               185                               190

gag gtg cag gcg gcg att gaa gac gca atc gtg cgc att ggc aag gcg      624
Glu Val Gln Ala Ala Ile Glu Asp Ala Ile Val Arg Ile Gly Lys Ala
                195                               200                               205

ggc aaa gcc gcc gcc att ctc agc gcg gac gag aaa ctg gcg cga cgc      672
Gly Lys Ala Ala Gly Ile Leu Ser Ala Asp Glu Lys Leu Ala Arg Arg
                210                               215                               220

tac atc gag ctg ggt gcg gcg ttt gtg gcg gtg ggt gtg gat acc acg      720

```

ES 2 387 150 A1

```

Tyr Ile Glu Leu Gly Ala Ala Phe Val Ala Val Gly Val Asp Thr Thr
225                               230                               235                               240

gtg ctg atg cgc ggg ctg cgc gag ctg gcg ggg aag ttc aag gat aca      768
Val Leu Met Arg Gly Leu Arg Glu Leu Ala Gly Lys Phe Lys Asp Thr
                               245                               250                               255

gtg gta gtc ccc agt gcc ggg ggt ggt gcc tac tga      804
Val Val Val Pro Ser Ala Gly Gly Gly Ala Tyr
                               260                               265

<210> 36
<211> 267
<212> PRT
<213> Pseudomonas putida U

<400> 36
Met Asp Met Pro Ile Asn His Phe Lys Arg Arg Leu His Ser Gly Glu
1                               5                               10                               15

Pro Gln Ile Gly Leu Trp Leu Gly Leu Ala Asp Ala Tyr Cys Ala Glu
                               20                               25                               30

Leu Ala Ala Asn Ala Gly Phe Asp Trp Leu Leu Ile Asp Gly Glu His
                               35                               40                               45

Ala Pro Asn Asp Leu Arg Gly Met Leu Ala Gln Leu Gln Ala Val Ala
                               50                               55                               60

Pro Tyr Pro Ser Gln Ala Val Ile Arg Pro Val Ile Gly Asp Thr Ala
65                               70                               75                               80

Leu Ile Lys Gln Val Leu Asp Ile Gly Ala Gln Thr Leu Leu Val Pro
                               85                               90                               95

Met Val Glu Thr Ala Glu Gln Ala Arg Gln Leu Val Lys Ala Met His
                               100                              105                              110

Tyr Pro Pro Lys Gly Ile Arg Gly Val Gly Ser Ala Leu Ala Arg Ala
                               115                              120                              125

Ser Arg Trp Asn Thr Leu Pro Gly Tyr Leu Asp His Ala Asp Glu Gln
130                               135                              140

Met Cys Leu Leu Val Gln Ile Glu Asn Lys Glu Gly Leu Ala Asn Leu
145                               150                              155                              160

Asp Glu Ile Val Ala Val Glu Gly Val Asp Gly Val Phe Ile Gly Pro
                               165                              170                              175

Ala Asp Leu Ser Ala Ala Met Gly His Arg Gly Asn Pro Gly His Pro
180                               185                              190

Glu Val Gln Ala Ala Ile Glu Asp Ala Ile Val Arg Ile Gly Lys Ala
195                               200                              205

Gly Lys Ala Ala Gly Ile Leu Ser Ala Asp Glu Lys Leu Ala Arg Arg
210                               215                              220

```


ES 2 387 150 A1

Tyr Ile Glu Leu Gly Ala Ala Phe Val Ala Val Gly Val Asp Thr Thr
 225 230 235 240

Val Leu Met Arg Gly Leu Arg Glu Leu Ala Gly Lys Phe Lys Asp Thr
 245 250 255

Val Val Val Pro Ser Ala Gly Gly Gly Ala Tyr
 260 265

<210> 37
 <211> 906
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas putida U

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(906)
 <223> hpaA

<400> 37
 atg agc gac cgg cat ccg ata ccg aac atc aac att ggc cag gtt tac 48
 Met Ser Asp Arg His Pro Ile Pro Asn Ile Asn Ile Gly Gln Val Tyr
 1 5 10 15
 gac cag cgc tac agc gac agc gag gtg cat tac gac cgg ctg ggc aac 96
 Asp Gln Arg Tyr Ser Asp Ser Glu Val His Tyr Asp Arg Leu Gly Asn
 20 25 30
 ctg gcg ggc ttt ttc ggg cgc aac atg ccg gtg cac cgg cat gac cgg 144
 Leu Ala Gly Phe Phe Gly Arg Asn Met Pro Val His Arg His Asp Arg
 35 40 45
 ttt ttc cag gtg cat tac gtg aag tcg ggc aca gta cgg gtg tat ctg 192
 Phe Phe Gln Val His Tyr Val Lys Ser Gly Thr Val Arg Val Tyr Leu
 50 55 60
 gat gac cag cag tac atc gag gcc ggg ccg atg ttc ttc ctc acg cca 240
 Asp Asp Gln Gln Tyr Ile Glu Ala Gly Pro Met Phe Phe Leu Thr Pro
 65 70 75 80
 ccc acg gtg gcg cac gcg ttc gtc acc gaa gct gac agc gac ggg cat 288
 Pro Thr Val Ala His Ala Phe Val Thr Glu Ala Asp Ser Asp Gly His
 85 90 95
 gtg ctg acg gtg cgc cag caa ctg gtg tgg caa ttg atc gaa gcc gac 336
 Val Leu Thr Val Arg Gln Gln Leu Val Trp Gln Leu Ile Glu Ala Asp
 100 105 110
 gcc agc ctg ctg ccg gcg ggc atg cag gtg cag cca gcc tgt gtg gcg 384
 Ala Ser Leu Leu Pro Ala Gly Met Gln Val Gln Pro Ala Cys Val Ala
 115 120 125
 ctg ggc aac ctg ccg gcc gaa tac aag gcc gag gcg cag cgc ctg caa 432
 Leu Gly Asn Leu Pro Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Ala Gln Arg Leu Gln
 130 135 140
 ggc tgg ctg gac gcg ttg agt gac gag ttt gcc acg cag caa ccg ggt 480

ES 2 387 150 A1

Gly Trp Leu Asp Ala Leu Ser Asp Glu Phe Ala Thr Gln Gln Pro Gly
 145 150 155 160

cgc gag gcg gcg ttg cag tcg ctg acc cgc ctg atc atg atc agc ctg 528
 Arg Glu Ala Ala Leu Gln Ser Leu Thr Arg Leu Ile Met Ile Ser Leu
 165 170 175

ctg cgg ctg tgc ccc aac tcg ctg gaa tcg acc ccg gcg cgg cat gaa 576
 Leu Arg Leu Cys Pro Asn Ser Leu Glu Ser Thr Pro Ala Arg His Glu
 180 185 190

gac ctg aag atc ttc cac cgt ttc aat gcc ctg atc gaa gcg cat tac 624
 Asp Leu Lys Ile Phe His Arg Phe Asn Ala Leu Ile Glu Ala His Tyr
 195 200 205

ctt gag cat tgg ccg ctg gcc cgc tac gcg cag cag att ggc gtg acc 672
 Leu Glu His Trp Pro Leu Ala Arg Tyr Ala Gln Gln Ile Gly Val Thr
 210 215 220

gag gca cgg ctg aac gat gtg tgc cgg cgc atc gcc gac ttg cca tcc 720
 Glu Ala Arg Leu Asn Asp Val Cys Arg Arg Ile Ala Asp Leu Pro Ser
 225 230 235 240

aag cgc ctg gtg ctg gaa cgg ctg atg cag gag gcc aag cgt ttg ctg 768
 Lys Arg Leu Val Leu Glu Arg Leu Met Gln Glu Ala Lys Arg Leu Leu
 245 250 255

ttg ttt tcc ggc agc acg gcc aac gaa atc tgt tac cag ctc ggc ttc 816
 Leu Phe Ser Gly Ser Thr Ala Asn Glu Ile Cys Tyr Gln Leu Gly Phe
 260 265 270

aag gat ccg gcc tat ttc agc cgc ttc ttc aac cgc tac gcc aag ctc 864
 Lys Asp Pro Ala Tyr Phe Ser Arg Phe Phe Asn Arg Tyr Ala Lys Leu
 275 280 285

aca ccc ggg gag tac cgc cag cgg cag gca gaa ttg cag tga 906
 Thr Pro Gly Glu Tyr Arg Gln Arg Gln Ala Glu Leu Gln
 290 295 300

<210> 38
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas putida U

<400> 38

Met Ser Asp Arg His Pro Ile Pro Asn Ile Asn Ile Gly Gln Val Tyr
 1 5 10 15

Asp Gln Arg Tyr Ser Asp Ser Glu Val His Tyr Asp Arg Leu Gly Asn
 20 25 30

Leu Ala Gly Phe Phe Gly Arg Asn Met Pro Val His Arg His Asp Arg
 35 40 45

Phe Phe Gln Val His Tyr Val Lys Ser Gly Thr Val Arg Val Tyr Leu
 50 55 60

ES 2 387 150 A1

Asp Asp Gln Gln Tyr Ile Glu Ala Gly Pro Met Phe Phe Leu Thr Pro
65 70 75 80

Pro Thr Val Ala His Ala Phe Val Thr Glu Ala Asp Ser Asp Gly His
85 90 95

Val Leu Thr Val Arg Gln Gln Leu Val Trp Gln Leu Ile Glu Ala Asp
100 105 110

Ala Ser Leu Leu Pro Ala Gly Met Gln Val Gln Pro Ala Cys Val Ala
115 120 125

Leu Gly Asn Leu Pro Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Ala Gln Arg Leu Gln
130 135 140

Gly Trp Leu Asp Ala Leu Ser Asp Glu Phe Ala Thr Gln Gln Pro Gly
145 150 155 160

Arg Glu Ala Ala Leu Gln Ser Leu Thr Arg Leu Ile Met Ile Ser Leu
165 170 175

Leu Arg Leu Cys Pro Asn Ser Leu Glu Ser Thr Pro Ala Arg His Glu
180 185 190

Asp Leu Lys Ile Phe His Arg Phe Asn Ala Leu Ile Glu Ala His Tyr
195 200 205

Leu Glu His Trp Pro Leu Ala Arg Tyr Ala Gln Gln Ile Gly Val Thr
210 215 220

Glu Ala Arg Leu Asn Asp Val Cys Arg Arg Ile Ala Asp Leu Pro Ser
225 230 235 240

Lys Arg Leu Val Leu Glu Arg Leu Met Gln Glu Ala Lys Arg Leu Leu
245 250 255

Leu Phe Ser Gly Ser Thr Ala Asn Glu Ile Cys Tyr Gln Leu Gly Phe
260 265 270

Lys Asp Pro Ala Tyr Phe Ser Arg Phe Phe Asn Arg Tyr Ala Lys Leu
275 280 285

Thr Pro Gly Glu Tyr Arg Gln Arg Gln Ala Glu Leu Gln
290 295 300

<210> 39
<211> 1308
<212> DNA
<213> Pseudomonas putida U

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1308)
<223> hpaX

<400> 39
atg agc aca ctc gaa caa gcc tcg ccg cgc gag gca cac gtt gaa cgg
Met Ser Thr Leu Glu Gln Ala Ser Pro Arg Glu Ala His Val Glu Arg

ES 2 387 150 A1

1	5	10	15	
gcc gac agt acc cat cgg gca gtc acc tgg cgg ctg atg ccg ctg ctg Ala Asp Ser Thr His Arg Ala Val Thr Trp Arg Leu Met Pro Leu Leu	20	25	30	96
ctg gtg tgc tac ctg ttc gcc cac ctg gac cgc atc aac att ggc ttc Leu Val Cys Tyr Leu Phe Ala His Leu Asp Arg Ile Asn Ile Gly Phe	35	40	45	144
gcc aag atg cag atg agc cag gac ctg cat ttg tcc gac acg gtc tat Ala Lys Met Gln Met Ser Gln Asp Leu His Leu Ser Asp Thr Val Tyr	50	55	60	192
ggc ctg ggt gcc ggg ctg ttc ttc att gcc tat gcg ctg ttc ggc gtc Gly Leu Gly Ala Gly Leu Phe Phe Ile Ala Tyr Ala Leu Phe Gly Val	65	70	75	240
ccc agc aac ctg atg ctc gac cgc gtt ggc cca cgc cgc tgg atc gcc Pro Ser Asn Leu Met Leu Asp Arg Val Gly Pro Arg Arg Trp Ile Ala	85	90	95	288
tgc ctg atg gtg gtg tgg ggg ctg ttg tcg acc agc atg ctg ctg atc Cys Leu Met Val Val Trp Gly Leu Leu Ser Thr Ser Met Leu Leu Ile	100	105	110	336
gaa agc agc agc gcg ttc tac ctg ttg cgc ttt gcc ctg ggc gcg gcc Glu Ser Ser Ser Ala Phe Tyr Leu Leu Arg Phe Ala Leu Gly Ala Ala	115	120	125	384
gag gcc ggg ttc ttc ccg ggc att ctg gtt tac ctc aac cgc tgg tac Glu Ala Gly Phe Phe Pro Gly Ile Leu Val Tyr Leu Asn Arg Trp Tyr	130	135	140	432
ccg gcc ggg cgc cgc gcc cag gtc acc gcg ctg ttc gcc att gcc gtg Pro Ala Gly Arg Arg Ala Gln Val Thr Ala Leu Phe Ala Ile Ala Val	145	150	155	480
ccg ttg gcc gga gtg gtc ggc ggg cca gtg tcc ggg gcc ata ctg gcc Pro Leu Ala Gly Val Val Gly Gly Pro Val Ser Gly Ala Ile Leu Ala	165	170	175	528
ttc atg cac gac acg ggc ggg ctg cgt ggc tgg cag tgg atg ttc ctg Phe Met His Asp Thr Gly Gly Leu Arg Gly Trp Gln Trp Met Phe Leu	180	185	190	576
ctc gaa ggg gcg ccg gtg gtg ttg ctg ggc ctg gtg gta ctg gcc gtt Leu Glu Gly Ala Pro Val Val Leu Leu Gly Leu Val Val Leu Ala Val	195	200	205	624
ttg ccg gag cac ttc gag cgg gtg agc tgg ctg gat gag cag cag aaa Leu Pro Glu His Phe Glu Arg Val Ser Trp Leu Asp Glu Gln Gln Lys	210	215	220	672
gcc acg ctg cgc gcg caa ttc ggt gag gaa gaa cag cgc aag ccc gta Ala Thr Leu Arg Ala Gln Phe Gly Glu Glu Glu Gln Arg Lys Pro Val	225	230	235	720
acc tcg ttc ggc gcc att ttc gca agc cgt gcg ctg tgg ctg ttg gtg				768

ES 2 387 150 A1

Thr	Ser	Phe	Gly	Ala	Ile	Phe	Ala	Ser	Arg	Ala	Leu	Trp	Leu	Leu	Val		
				245					250					255			
gcc	gtg	tat	tgc	gcg	gtg	atg	ctg	gcg	gtg	aat	acc	ctt	gcg	ttc	tgg		816
Ala	Val	Tyr	Cys	Ala	Val	Met	Leu	Ala	Val	Asn	Thr	Leu	Ala	Phe	Trp		
			260					265				270					
atg	ccc	agc	ctg	att	cac	agt	gcc	ggt	gtg	gcc	agc	gac	gcc	agt	gtc		864
Met	Pro	Ser	Leu	Ile	His	Ser	Ala	Gly	Val	Ala	Ser	Asp	Ala	Ser	Val		
		275					280					285					
ggc	ctg	ctc	agc	gct	gtg	ccg	tac	gtg	gcc	ggc	tgc	gtg	ttc	atg	ctg		912
Gly	Leu	Leu	Ser	Ala	Val	Pro	Tyr	Val	Ala	Gly	Cys	Val	Phe	Met	Leu		
	290					295					300						
gcg	tgc	ggc	cgc	tcc	agc	gac	cgc	caa	cgc	gaa	cgc	cgc	tgg	cac	ctg		960
Ala	Cys	Gly	Arg	Ser	Ser	Asp	Arg	Gln	Arg	Glu	Arg	Arg	Trp	His	Leu		
305				310						315					320		
tgc	gta	ccg	ctg	ctg	atg	gct	gcc	atc	ggc	atc	gct	att	gcg	gcc	att		1008
Cys	Val	Pro	Leu	Leu	Met	Ala	Ala	Ile	Gly	Ile	Ala	Ile	Ala	Ala	Ile		
				325					330						335		
gcc	ccc	gag	cag	gcg	ctg	ccg	gta	atg	gcc	ggc	ctg	gtg	ctg	gcc	ggc		1056
Ala	Pro	Glu	Gln	Ala	Leu	Pro	Val	Met	Ala	Gly	Leu	Val	Leu	Ala	Gly		
			340					345					350				
atg	ggc	gcc	agc	gct	gcg	ctg	ccg	atg	ttc	tgg	caa	ctg	ccg	ccg	gcg		1104
Met	Gly	Ala	Ser	Ala	Ala	Leu	Pro	Met	Phe	Trp	Gln	Leu	Pro	Pro	Ala		
		355					360					365					
ttc	ctc	aac	gcc	cgt	acc	cag	gcc	gcc	ggc	att	gcc	ctg	atc	agc	tcg		1152
Phe	Leu	Asn	Ala	Arg	Thr	Gln	Ala	Ala	Gly	Ile	Ala	Leu	Ile	Ser	Ser		
	370					375					380						
ctg	ggc	agc	atc	gcc	tcg	ttc	ttc	acg	ccc	tac	ttc	atc	ggc	tgg	gtg		1200
Leu	Gly	Ser	Ile	Ala	Ser	Phe	Phe	Thr	Pro	Tyr	Phe	Ile	Gly	Trp	Val		
385				390						395					400		
cgc	gac	acc	acc	cac	agc	gcc	agc	ctt	gct	ctg	tac	gta	ctc	gcc	gtc		1248
Arg	Asp	Thr	Thr	His	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Leu	Tyr	Val	Leu	Ala	Val		
				405					410					415			
ttc	atc	gcc	ctg	ggc	ggc	ctg	ctg	gtg	ttg	cgc	acc	cag	gct	gcc	atc		1296
Phe	Ile	Ala	Leu	Gly	Gly	Leu	Leu	Val	Leu	Arg	Thr	Gln	Ala	Ala	Ile		
			420					425					430				
gtc	aac	cct	tga														1308
Val	Asn	Pro															
		435															
<210>	40																
<211>	435																
<212>	PRT																
<213>	Pseudomonas putida U																
<400>	40																

ES 2 387 150 A1

Met Ser Thr Leu Glu Gln Ala Ser Pro Arg Glu Ala His Val Glu Arg
1 5 10 15

Ala Asp Ser Thr His Arg Ala Val Thr Trp Arg Leu Met Pro Leu Leu
20 25 30

Leu Val Cys Tyr Leu Phe Ala His Leu Asp Arg Ile Asn Ile Gly Phe
35 40 45

Ala Lys Met Gln Met Ser Gln Asp Leu His Leu Ser Asp Thr Val Tyr
50 55 60

Gly Leu Gly Ala Gly Leu Phe Phe Ile Ala Tyr Ala Leu Phe Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Asn Leu Met Leu Asp Arg Val Gly Pro Arg Arg Trp Ile Ala
85 90 95

Cys Leu Met Val Val Trp Gly Leu Leu Ser Thr Ser Met Leu Leu Ile
100 105 110

Glu Ser Ser Ser Ala Phe Tyr Leu Leu Arg Phe Ala Leu Gly Ala Ala
115 120 125

Glu Ala Gly Phe Phe Pro Gly Ile Leu Val Tyr Leu Asn Arg Trp Tyr
130 135 140

Pro Ala Gly Arg Arg Ala Gln Val Thr Ala Leu Phe Ala Ile Ala Val
145 150 155 160

Pro Leu Ala Gly Val Val Gly Gly Pro Val Ser Gly Ala Ile Leu Ala
165 170 175

Phe Met His Asp Thr Gly Gly Leu Arg Gly Trp Gln Trp Met Phe Leu
180 185 190

Leu Glu Gly Ala Pro Val Val Leu Leu Gly Leu Val Val Leu Ala Val
195 200 205

Leu Pro Glu His Phe Glu Arg Val Ser Trp Leu Asp Glu Gln Gln Lys
210 215 220

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

Thr Ser Phe Gly Ala Ile Phe Ala Ser Arg Ala Leu Trp Leu Leu Val
245 250 255

Ala Val Tyr Cys Ala Val Met Leu Ala Val Asn Thr Leu Ala Phe Trp
260 265 270

Met Pro Ser Leu Ile His Ser Ala Gly Val Ala Ser Asp Ala Ser Val
275 280 285

Gly Leu Leu Ser Ala Val Pro Tyr Val Ala Gly Cys Val Phe Met Leu
290 295 300

Ala Cys Gly Arg Ser Ser Asp Arg Gln Arg Glu Arg Arg Trp His Leu
305 310 315 320

ES 2 387 150 A1

<400> 43
atg acc aag acg caa cct tcg ctc acg cta agc ctg ttg cag gcc cga 48
Met Thr Lys Thr Gln Pro Ser Leu Thr Leu Ser Leu Leu Gln Ala Arg
1 5 10 15
gaa gcc gcg atg gca ttt ttc agg ccg ctg ttg aac cag cac gac ctg 96
Glu Ala Ala Met Ala Phe Phe Arg Pro Leu Leu Asn Gln His Asp Leu
20 25 30
acc gag cag caa tgg cgg gta atc cgc atc ctc aag cag cac ggc gag 144
Thr Glu Gln Gln Trp Arg Val Ile Arg Ile Leu Lys Gln His Gly Glu
35 40 45
ctg gag aat tat cag ttg gcg gaa ctg gcc tgc atc ctc aag ccg agc 192
Leu Glu Asn Tyr Gln Leu Ala Glu Leu Ala Cys Ile Leu Lys Pro Ser
50 55 60
atg acc ggg gta ctg ggg cgc ctg gag cga gac ggg ctg gtg cgg cgg 240
Met Thr Gly Val Leu Gly Arg Leu Glu Arg Asp Gly Leu Val Arg Arg
65 70 75 80
cag aag gcc gcg cag gac cag cga cgg gtg ttc gtc agc ctg acc gaa 288
Gln Lys Ala Ala Gln Asp Gln Arg Arg Val Phe Val Ser Leu Thr Glu
85 90 95
aga ggg gag gcg tgc ttt gcc tcg atg aag gaa ggc atg gag gcc aac 336
Arg Gly Glu Ala Cys Phe Ala Ser Met Lys Glu Gly Met Glu Ala Asn
100 105 110
tac cag aag att cag gcg cag ttt ggt gaa gag aag ctg cag cag ctg 384
Tyr Gln Lys Ile Gln Ala Gln Phe Gly Glu Glu Lys Leu Gln Gln Leu
115 120 125
atg ggg ttg ttg aat gac ctg aag cgc atc gcg cca taa 423
Met Gly Leu Leu Asn Asp Leu Lys Arg Ile Ala Pro
130 135 140

<210> 44
<211> 140
<212> PRT
<213> Pseudomonas putida U

<400> 44
Met Thr Lys Thr Gln Pro Ser Leu Thr Leu Ser Leu Leu Gln Ala Arg
1 5 10 15
Glu Ala Ala Met Ala Phe Phe Arg Pro Leu Leu Asn Gln His Asp Leu
20 25 30
Thr Glu Gln Gln Trp Arg Val Ile Arg Ile Leu Lys Gln His Gly Glu
35 40 45
Leu Glu Asn Tyr Gln Leu Ala Glu Leu Ala Cys Ile Leu Lys Pro Ser
50 55 60
Met Thr Gly Val Leu Gly Arg Leu Glu Arg Asp Gly Leu Val Arg Arg

ES 2 387 150 A1

65		70		75		80
Gln Lys Ala Ala Gln Asp Gln Arg Arg Val Phe Val Ser Leu Thr Glu						
		85		90		95
Arg Gly Glu Ala Cys Phe Ala Ser Met Lys Glu Gly Met Glu Ala Asn						
	100		105		110	
Tyr Gln Lys Ile Gln Ala Gln Phe Gly Glu Glu Lys Leu Gln Gln Leu						
	115		120		125	
Met Gly Leu Leu Asn Asp Leu Lys Arg Ile Ala Pro						
	130		135		140	

<210> 45
 <211> 12722
 <212> DNA
 <213> Pseudomonas putida U

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(12722)
 <223> cluster hpa

<400> 45
 atgaccacac cgagaccctc cctgaccctg accttgctgc aggcgcgcga agccaccatg 60
 gcgttcttcc gcccggcgct gaatgcccat gacctgaccg agcagcaatg gcgggtaatc 120
 cgtatcctgc gccagcaagg cgagctggaa agccatcagt tggcggagct ggccctgtatc 180
 ctcaaaccga gtatgagcgg ggtgctcaag cgccctggagc gtgacggcat cgtagcgcgg 240
 cgcaagtgcg cggaggacca gcgccgggtg ttcacagcc tgaccgaggc cggccagcaa 300
 gcgtttctgg cgatgagcga ggagatgacc cgcaactacg acaagatcct cgcccagttt 360
 ggcgatgaca agctgcagca gctgatgcag ctgctgggtg aaatgaagaa gatcaaacc 420
 ttgacgcgca ggcgtcagcg gttgagtgc agcagatcct ccagcacttt cagcagtgc 480
 gccgcgcgcc gctcataggc gtcggggcct gcgtacatca gctctacata caggctgtcg 540
 atgatgccca ggtaggcatc ggcatacagc gccaggcggc tgtgctgctc atgcgcccag 600
 ccgtggcgag cttgcagggc cacgctgaac ccttcgcgta tgccgtccag gtactgttca 660
 aagcccgaag tgacaatcgg cttgatgcc gcccggggca ggaacgcgct gcgcaacacg 720
 aagcgcagtt gggccgagtc gcgataacgt tcggccaggt gcagggccag ccagtgcgcc 780
 gccgccaggc cgtcgcgggc ttcttgcgca aagccgtgct cgacaaaggc cgtttcctgc 840
 acaagcgcac gctggaacac ctccacgaac aaggcgtcct tgttggcgaa atgcgcatac 900
 agcgatgcct tgcgcatgcc cgccaactgg gcgatttctg tcagcgaaga ggcgtcataa 960
 ccgtactcgg cgaagtggcc gacggcggca tcgcacacac gcaccgcaga aggggaaagg 1020
 tctttcaaca gcatcactcc gtcaggggcg cggcggggcc cgccgctctt gaggggtggga 1080
 ttgtggtgat cgaaaatgca cgggtcaatg cttgtcgcaa ggcaatttcc gggcgccatg 1140
 gaaagtgcaa tgttcccctc gtaacgtgca ttctccacc caatcgccgc tcacatactg 1200
 atcgcgtctt cgaatccaat aagaaagaga ccgctcatga aaaagccaaa ccccctgctg 1260
 gaagacctga agtccgtcct gccgaccatt gccgccaatg ccatgctgctc agagcaggac 1320
 cgcagtgtgc cggcagagaa tatcgccttg ctgaaaagca tcggcatgca ccgcgctttc 1380
 ttgcccacac acttcggcgg catggaatc accctgccgg agttcgccca gtgcctgcgc 1440
 ttgctggcgg gggcctgcgc cagcacagcc tgggccatga gcctgctgtg caccacagc 1500
 caccagatgg caatgttctc gcccaagcta caacaggagg tgtggggtag cgaccggat 1560
 gctaccgcca gcagcagtat cgcgccgttc ggccgcaactg aagaggttga ggggtggcgtg 1620
 tcgttcagcg gcgaaatggg ctggagtctc ggttgcgacc acgccgaatg ggcgattctc 1680
 ggtttccgcc gcaagaatgc cgaagcgcct caggattact gcttcgccat cctgcctcgc 1740
 agtgactatg aaatccgtga tgactggtat gccgtgggca tgcgcggcag cggcagcaag 1800
 accctgatcg tgcgtgatgc cttcgtgccc gagcaccgca tccagaaggc caaggacatg 1860
 atggagggca agtcggcggg ctttggtttg taccgccgca gcaagatddd cttcgccccg 1920
 tatcgcctcg attttgccag cggcttctcc acggctcagct tgggcgttgc cgagcgcgatg 1980

ES 2 387 150 A1

ctggaggtgt	tccgcgagaa	aaccgcgaac	cgcggtgcgtg	cctacaccgg	tgctgcccgtg	2040
ggcgccgcca	ccccggcgct	gatgcgcctg	gccgagtcga	cccatcaggt	ggccgctgcc	2100
cgggcattgc	tggaaaagag	ctgggacgag	attgcccagc	acagtgcgcc	tcacgaatac	2160
ccgtcgcgtg	gcacgctggc	gttctggcgt	accaaccagg	gctacgccgt	gaagatgtgc	2220
atccaggccg	tcgaccgcct	gatggaagcg	gccggtgggtg	gcccctgggt	cgagagcaac	2280
gaactgcagc	ggctgttccg	cgattcgcac	atgaccgggtg	cccatgccta	caccgattac	2340
gacgtgtgtg	cgcaaactct	cggccgcgag	ctgatgggcc	tggagcctga	cccggcgatg	2400
gtctgagccg	ccacttgttt	tcacccatcc	cctacaagca	caacaacaaa	cagggcaggc	2460
tgccaggcct	gcccgggagt	cttgcatgtc	caaagaaacc	ttcgattcac	gtgccttccg	2520
ccgcgcctcg	ggcaacttcg	ccaccggcgt	gaccgtgggtg	actgcccgcg	gccccagtg	2580
ccgcaaggtc	ggcgttaccg	ccaacagctt	caactcgggtg	tcgctggacc	cggcgctgat	2640
cctgtggagc	atcgacaagc	gctccaccag	ccatgaagtg	ttcgaagagg	cctcgcactt	2700
tgccgtgaac	attctggcgtg	cggaccagat	cgacctgtcc	aacaactttg	cccgccgaa	2760
ggaagatcgc	tttgccggta	tcgactacga	gaccggcact	ggcggcgcgc	cgttgttcgc	2820
cgattgcgcg	gcgcgctttg	agtgtgaaaa	gtaccagcag	ctggacgggtg	gcgatcactg	2880
gatctgggtg	ggcaaggtag	tggcctttga	tgactttggc	cgctcgcgcg	tgctgtatca	2940
ccagggcgcc	tattcaatgg	tgctgcccga	taccgcgatg	acccaaggcg	cagaggggca	3000
ggcaccgagc	agccacttcc	agggccgcct	gcagcacaac	ctgtactacc	tgatgaccca	3060
ggcgtgcgtg	gcctaccagg	ctgactacca	gccacgccag	ctgtgtaccg	gcctgcgcac	3120
cagcgaggca	cgcatgctga	tgggtgctgga	gaacgatgcg	ggcctgagcc	tgaacgacct	3180
gcaacgcgaa	gtggcgatgc	cggcgcgggg	gatcgaggaa	gcggttgcca	acctcaagcg	3240
caaagggctg	attgccgatg	acgaagggcg	agtgcgggcta	tcgggtgaagg	gcgtggacga	3300
gaccgagggc	ttgtggacca	ttgcccggca	acagcaggac	aagggtgttcg	ggcagttcag	3360
tgaacagcag	ctgggagactt	tcaagaccgt	gctcaaggcc	cttatcaaca	tctgaacacg	3420
ctttgggatg	gcaccggcgtg	ttttggatgg	caccggcgtg	gccgggtgttc	gcggatgaac	3480
ccgctcccac	aggtccagcg	ccagtagcaa	cttcggcgcg	gtacctgtgg	gagcggcttt	3540
agccgcgaac	accggcaaa	ccggtgccat	ccaaccagaa	gcctcagtag	gcaccacccc	3600
cggcactggg	gactaccact	gtatccttga	acttccccgc	cagctcgcgc	agcccgcgca	3660
tcagcaccgt	ggtatccaca	cccaccgcca	caaacgcgcg	accagctcgc	atgtagegctc	3720
gcgccagttt	ctcgtccgcg	ctgagaatgc	cggcggtctt	gcccgccttg	ccaatgcgca	3780
cgattgcgtc	ttcaatcgcc	gcctgcacct	ccgggtgccc	gggggtgccc	cgatgccccca	3840
tggccgcact	caggtctgca	ggcccgatga	acacgccatc	cacaccttc	actgcaacga	3900
tctcgtccag	gttggccagg	ccttccttgt	tctcgatctg	caccagcagg	cacatttgct	3960
catcgcccg	gtccaggtaa	ccggggaggg	tgttccagcg	cgaagcccgc	gcacatgcgc	4020
tgcccacccc	gcgaatgcc	ttgggcgggt	aatgcgatgg	cttgaccagt	tgcgcgcct	4080
gttcggcagt	ttccaccatc	ggcaccagca	aggtttgtgc	gccgatatcc	agcaoctgct	4140
tgatcagcgc	ggtatcgccg	atcaccgggc	ggatcactgc	ctggctgggg	tagggtgcca	4200
ccgcctgcaa	ctgggcgagc	atgccgcgca	ggtcgttggg	cgctgttccg	ccgtcgatca	4260
gcagccagtc	gaaaccggca	ttggccgcca	gctcggcgca	gtaggcatcg	gccaggccga	4320
gccacaggcc	gatttgccgt	tcaccgctgt	gcaggcgtcg	cttgaagtgg	ttgatgggca	4380
tgtccatgag	caggtcctta	aacgaagcgg	caggcgatgg	agccgagcat	gtcgtagtcg	4440
acgtggaagg	tgtcacctgg	gcgagcggcg	accgggcggg	tgaacgaacc	ccaaggatg	4500
atctggcccg	gctgcaaggt	gacgtcgtac	ggcgccagtt	tgttggccag	ccaggcaacg	4560
cctttggccg	ggtggttgag	cacggcagcg	ctgaccccgg	attcctcgat	cacgccattg	4620
cggtagagca	ccgccggcac	tttgccgagg	tcgatttcgg	tggggcgcac	ggcccgcgcc	4680
cccatcacca	cgccggcatt	ggcggcggtt	tcggagatgg	tgtcgaacac	cttgccgggtg	4740
gcctgggttt	gcgggtccac	ctgctggatg	cgcgcgtaaa	tgatttccag	cgccgggatc	4800
accactcgg	tggcgtccag	cacatcaaac	acggtgatgt	tcgggcccct	cagcggcttg	4860
ccgaggatga	acgccaactc	cacttcaacc	cgcggcacga	tgaagcgtc	gaaggggatg	4920
tcgctgcctt	cgtcgaacag	catgtcgtcg	agcaaggcgc	cgtagtcggg	ctcgggtgatg	4980
ttcgacgata	cctgcatggc	gcgcgaggtc	aggccgatct	tgtggcccac	cagcttgcgc	5040
ccggcgcgca	tcttttttgc	caccagggcg	cgtggatgg	cgtaggcgtc	ttcgatgggtg	5100
attgccgggt	gctccagcga	gaactggcgc	acttgctcgc	gggagcgttc	ggcctgggtcg	5160
aggcgttcgg	cgcgctgctg	gatgaaagcg	ttgtctagca	tggggcggtt	ctcttgattc	5220
aagggttgac	gatggcagcc	tgggtgcgca	acaccagcag	gccgcccagg	gcgatgaaga	5280
cggcgagtac	gtacagagca	aggctggcgc	tgtgggtggg	gtcgcgcacc	cagccgatga	5340
agtagggcgt	gaagaacgag	gcgatgctgc	ccagcagcgt	gatcagggca	atgccggcgg	5400
cctgggtacg	ggcgttgagg	aacgcggcgg	gcagttgcca	gaacatcggc	agcgcagcgc	5460
tggcgcccat	gccggccagc	accaggccgg	ccattaccgg	cagcgcctgc	tcgggggcaa	5520

ES 2 387 150 A1

tggccgcaat	agcgatgccg	atggcagcca	tcagcagcgg	tacgcacagg	tgccagcggc	5580
gttcgcgctg	gcggtcgctg	gagcggccgc	acgccagcat	gaacacgcag	ccggccacgt	5640
acggcacagc	gctgagcagg	ccgacactgg	cgtcgctggc	cacaccggca	ctgtgaatca	5700
ggctgggcat	ccagaacgca	agggatttca	ccgccagcat	caccgcgcaa	tacacggcca	5760
ccaacagcca	cagcgcacgg	cttgcgaaaa	tggcgccgaa	cgaggttacg	ggcttgcgct	5820
gttcttctc	accgaattgc	gcgcgacggc	tggctttctg	ctgctcatcc	agccagctca	5880
cccgtctgaa	gtgctccggc	aaaacggcca	gtaccaccag	gccagcaac	accaccggcg	5940
ccccttcgag	caggaacatc	cactgccagc	cacgcagccc	gcccgtgtcg	tgcatgaagg	6000
ccagtatggc	cccggacact	ggcccgccga	ccactccggc	caacggcacg	gcaatggcga	6060
acagcgcggg	gacctggggc	cggcgccccg	ccgggtacca	gcggttgagg	taaaccagaa	6120
tgcccgggaa	gaaccgcggc	tcggccgcgc	ccagggcaaa	gcgcaacagg	tagaacgcgc	6180
tgctgctttc	gatcagcagc	atgctggctg	acaacagccc	ccacaccacc	atcaggcagg	6240
cgatccagcg	gcgtggggca	acgcggtcga	gcatcagggt	gctggggacg	ccgaacagcg	6300
cataggaat	gaagaacagc	ccggcaccca	ggccatagac	cgtgtcggac	aatgcagggt	6360
cctggctcat	ctgcatcttg	gcgaagccaa	tgttgatgcg	gtccagggtg	gcgaacagggt	6420
agcacaccag	cagcagcggc	atcagccgcg	aggtgactgc	ccgatgggta	ctgtcggccc	6480
gttcaacgtg	tgccctgcgc	ggcgaggctt	ggtcagtggt	gctcatgttt	ttgtacttat	6540
tctgtaatga	gtcggggagg	gcgtggtttg	agccggcgcg	ctagcggttg	aacagtgggt	6600
gcaaggtgct	gtgcttggcg	tcgtagacct	ggcggtgct	gtggtcgata	tgcaagggtga	6660
tgccgatcgg	gcgctggttc	agcagtgggt	ccaggcgcgc	tttcaacact	gccagcaagc	6720
tgctgcccac	tgttttgtgc	acctcggcgc	tacggccggg	agccatgcgc	aggttggcgt	6780
acagaaagcc	gtattcgctt	ttgccgtcgg	ccaccgcgca	atggggcggc	gggtaggcca	6840
gcacgcgtgt	accgccagtg	gggaacacgg	ctttgccttc	ggcatcgcgc	tgttcgagca	6900
tggtgtcggc	cagggcgcgg	cacaggccgg	ggatgtcggc	gtcggtttcc	aggtcggggg	6960
tatagagcag	aaccagggtg	ggcatggggg	cctcctcggg	gaggggcggc	tgcccacccg	7020
ccagggcgac	cagccgcgaa	cgggtggggt	acaggcggct	ggtgggcacc	acggcggccc	7080
ggttgccggc	ctgggcagcg	gggatggcac	caccgtcctg	cggggtgacc	gggaagatcg	7140
cgttgatctg	gccggtgccg	gaagagccga	agtaggcgt	gaccacttcg	gccttgccgt	7200
cgtaatcgga	ccagcccagc	gcaccagca	gcattgccc	gtcgtgcatg	aagccttcac	7260
cgtggccttt	ggcggcgtag	tccggcagca	tcccgcagaa	cgcttcccac	tcgccgtcct	7320
gccacatttg	caccacacgg	tggtcgaggg	tttcgaggaa	cgggctccac	accttggtgg	7380
caaagtccgg	cgctggccg	ttctgcgcga	agcggtgcca	cagcgcgccc	ctggccagga	7440
acgccacggg	gccgtcgtag	tggtcttcta	ctgccttgcc	catggcccag	cccaggcggg	7500
cactgcaggg	caggtagtcg	gaggtgcaca	gggcccagac	cgagaccact	ttgaagtgc	7560
ggtcctgggt	catgtagcgc	atgggcacca	gggtgccgta	ttccggggcg	agggtggtgg	7620
cgtggtgggc	catggtttcg	acgttgaagc	ggttgcactc	ctcggccagc	agcttgccca	7680
gctcgggatt	gccggggaat	gcgtagggca	tgttgctgat	gaagtgcggc	agttcgttgc	7740
tggtgtacac	gccctcgaaa	tgcgccccgc	acagcacgtg	gtagttggcg	ttgaccagcc	7800
agtgcgtgtc	gaacacgacg	atggtgtcca	cgcccagctc	acggcaacgg	cggctgattt	7860
cgtgatgcc	gtcgatggcc	gcctggcgaa	agccttggcg	cgggcctggc	agttcggaca	7920
tgtacatgga	cggtacatgg	gtaatcttgg	cagtgcagagc	gagtttgccc	atgggggtct	7980
ccgataagac	gctgttgttg	ttttggggct	gaccgggtcc	cttgcagggg	agccttggtt	8040
ccgggatggg	gcgcacagcg	gccccggcga	tatctgcggc	gaggctgaaa	tcaggggccc	8100
gctgcgcgcc	ccatcgcggg	cacaaggccg	ctcctacacc	cgggcgggtg	aaaccgcaca	8160
gagggttaga	tgccccagcg	aggaatgtgg	tgattaccca	tggaaataca	caggttcttg	8220
atctctgcaa	agacctcgaa	gctgtactgc	ccgccctcac	gcccggtagc	ggaacctttc	8280
acgccgccga	acggctggcg	caggtcgcgt	acgttctggc	tgttgatgaa	caccatgccg	8340
gcctcgatgc	cacgggccag	gcgatgggct	ttgccgatgt	cctgggtcca	gatgtacgag	8400
gccaggccat	actcgggtgc	ggtggccagt	tgacgcgctc	cggcttcgct	cttgaacggg	8460
atcaggcaca	ccaccggggc	aaagatttct	tcctggggca	tgccatctct	ggtgttcacg	8520
tcggcgata	cgggtgggctg	gatgaactgc	cccttggcca	ggtgcgcagg	caggttggcc	8580
gggcgctcca	ggccccggc	gaccaggcgt	gcaccttctt	cgatgccaat	cggtatgtac	8640
ccggtgacct	tgctcatagt	ctgctgggtg	atcatcgaa	cgacctgggt	tttcgggtcg	8700
gtcgggtcac	ctacgatcag	gcgcttggcg	cgccgcgcaa	actctgcgac	aaactgcggg	8760
tacacgcttt	cctggatgaa	gatgcggctg	ccggcgggtg	agcgcctccc	gttcagcgag	8820
aagatggtga	acagcgcggc	gtccagcgca	cgctcaagggt	ctgctctctc	gaagatcagc	8880
acgggcgact	tgccgcccag	ttccatcgag	tactttttaa	ggcctgcggg	ctgcatgata	8940
ttcttgccgg	tggcgggtacc	gccgggtgaag	gaaatggcgc	gcacatcggg	gtggcggacc	9000
agggcatcgc	cggcggtagc	gccgtaacc	tggatcacgt	tcagcacc	ggtggggatg	9060

ES 2 387 150 A1

ccggcttcta	ccgccaggcg	gcccagttcg	ttggcgggtca	gagggcgacag	ctcgcctcacc	9120
ttcagcacgg	cggtgttgcc	cagcgccagg	cacggcgag	tcttccagggt	agccgtcatg	9180
aacggcacgt	tccatgggct	taccaggccg	cacacaccca	ccggctggta	caggggtgtag	9240
ttgagcatct	ggtcgtcgac	cggttaggta	tggcgtcca	tgcgcgtgca	cacttcggcg	9300
aagaagtcca	agttgtgca	ggcacgccc	atcagcacgt	tcttgggtctg	gtggatcggc	9360
aggccgggtg	cgagggtttc	cagctcggcg	agtttcggca	cgttctgctc	aatcagctca	9420
cccagcttgc	gcatcagccg	ggcacgttcc	ttggccgggg	tgttggccca	cttggggaag	9480
gcttccttgg	ccgcagccac	agcctgggcc	acttcctcgg	cgccgcctg	ggcgacttcg	9540
cagatggcgt	cgccgggtgg	cggtttag	ttgacgaagg	tgtctttgct	ctcgacctca	9600
cggccgttga	tccagtgcct	gatcatgctg	ctcatgcctt	gttgttcttg	agaagtcag	9660
cttcgctgac	gatacggttg	accaggcgac	cgacgccttc	cacttccacc	accacttcgt	9720
cacccggcac	cacatcgcc	aggccttctg	gcgtgcgggt	ggcgatcatg	tcgcccgggt	9780
gcagggatcat	gaagctggag	aagtattcga	tgaggtgcgg	gatgtcgaag	atcatgtccg	9840
cggtgggtg	ttctgtcttc	agctcaccgt	tgatccagggt	gcgagcttc	aggttgcctga	9900
cgctcggcac	atcggccgca	tcgacgatcc	acgggcccag	cggttgggtg	gcatcgcgggt	9960
ttttcacccg	caggttgggg	cggtagtagt	tttccaggta	gtcgcgggatg	gctcgcggatg	10020
tgacacaggt	gtagccggca	acgtaggcca	ggggtcctc	acgcttgacg	ttcttcgccc	10080
ctttgcccgat	caccgccacc	agctcgcact	cgtagtgcac	gtattcgacg	ttgtccgggg	10140
gccaggtgac	ctggatgtgg	ccggtgtagg	tgccctggcga	cttgatgaaa	gccaacgggt	10200
cggtggggcg	cgcaaggcc	agctccctgg	cggtgtcggc	gtagttcagg	cccaggggca	10260
acatgctgcc	gggtggcgggt	ggcagccagg	tgacctggtc	ctgatggacc	aggcggccgt	10320
cggaaggcg	caggtgatcg	tcttcgaccg	tgacatcgtg	ggcctggccg	tcgaactgga	10380
tacgggcgtg	tttcacaggt	aattcctcac	tcggcgacga	tgtggttgggt	cagcttgccc	10440
aggccgtcca	tctcgatgtc	gacgcgggtca	cctggctgta	catcgacgcg	gcccctgggg	10500
gttccgggtga	tcaggatgtc	gccggcgtgc	agggatcatga	actcgcctgat	ttcggcaatc	10560
agctgcgcca	ccgtgcgtac	gcagttggcg	gtgttgttgt	gctggcgcag	ttcgccttcc	10620
acatacaggc	gcaggcccag	ggcatcgggg	ttggccactt	ggctggcggg	caccagttca	10680
gggcccagccg	ggcaaaaacc	atcacggcac	ttggccttga	ctgcagggcg	gtagtagctg	10740
gcttcgggca	ggctcacttc	gttgacgatg	gtgtagcccg	ccacatgctc	cagggcatcg	10800
gccacgtgca	cgcggtggtg	gtccttgcca	atcaccactc	ccagcgcggg	gcccgggttc	10860
acgcgctgca	cgccggccgg	gaataccacc	tgcccttcat	gctggttgcg	gggttccggg	10920
gtcttgacga	acaacaccgg	cttgaccggc	agttgcttgt	acggtgcttc	cacgaacgcc	10980
gcttgggtgct	gctgcagcaa	accctggtag	ttcagcgcga	cgccgaacag	gggtccgctg	11040
gcaacgtaaa	gcagggcatg	gctcatgctc	ttctcctggc	agtgcagggc	gggtgcccgc	11100
ctgcggatct	cgttaatgtg	ttaatgttat	agttaatatg	ttaacgatgg	tcaaggggtg	11160
gccagtggcg	cctgcccggca	aggcaaggca	ccatgggcca	tcgtcaacag	ggtcaagcga	11220
tttgcgagca	agcagccatg	agcgaccggc	atccgatacc	gaacatcaac	attggccagg	11280
tttacgacca	gcgctacagc	gacagcgagg	tgcattacga	ccggctgggc	aacctggcgg	11340
gctttttcgg	gcgcaacatg	ccggtgcacc	ggcatgaccg	gtttttccag	gtgcattacg	11400
tgaagtccgg	cacagtacgg	gtgtatctgg	atgaccagca	gtacatcgag	gcccggccga	11460
tgcttcttct	cacgccacc	acggtggcgc	acgcgttcgt	caccgaagct	gacagcgacg	11520
ggcatgtgct	gacggtgcgc	cagcaactgg	tgtggcaatt	gatcgaagcc	gacgccagcc	11580
tgctgcccgg	gggcatgcag	gtgcagccag	cctgtgtggc	gctgggcaac	ctgcccggcc	11640
aatacaaggc	cgaggcgag	cgccgtgcaag	gctggctgga	cgctttagt	gacgagtttg	11700
ccacgcagca	accgggtcgc	gaggcggcgt	tgacgtcgtc	gaccgcctg	atcatgatca	11760
gctgctgctg	gctgtgcccc	aactcgtctg	aatcgacccc	ggcgcggcat	gaagacctga	11820
agatcttcca	ccgtttcaat	gcccgtgatcg	aagcgcatta	ccttgagcat	tgcccgctgg	11880
cccgtacgc	gcagcagatt	ggcgtgaccg	aggcacggct	gaacgatgtg	tgcccggcga	11940
tcgcccactt	gccatccaag	cgccgtggtg	tggaacggct	gatgcaggag	gccaagcgtt	12000
tgctgttgtt	ttccggcagc	acggccaacg	aaatctgtta	ccagctcggc	ttcaaggatc	12060
cgccctatct	cagccgcttc	ttcaaccgct	acgccaagct	cacaccggg	gagtagccgc	12120
agcggcaggg	agaattgcag	tgaaatggcc	atggcggctc	accgggtgct	tgtgttgtt	12180
tacagcgat	ggtcgcagcc	cgccgcggg	gcttgaatgg	gttttccgtg	gaacagattg	12240
cactttccat	cgtgcagcc	cttaaatctg	tgaattgaga	aaaagccaca	ggtttgacca	12300
tgaccaagac	gcaaccttcg	ctcacgctaa	gctgttgca	ggcccagaaa	gcccgcagtg	12360
catttttcag	gcccgtgttg	aaccagcacg	acctgaccga	gcagcaatgg	cggttaatcc	12420
gcatcctcaa	gcagcacggc	gagctggaga	attatcagtt	ggcggaaactg	gctgcacatc	12480
tcaagccgag	catgaccggg	gtactggggc	gctggagcg	agacgggctg	gtgcccggc	12540
agaaggccgc	gcaggaccag	cgacgggtgt	tcgtcagcct	gaccgaaaga	ggggaggcgt	12600

ES 2 387 150 A1

```
gctttgcctc gatgaaggaa ggcattggagg ccaactacca gaagattcag gcgcagtttg 12660
gtgaagagaa gctgcagcag ctgatgggggt tgttgaatga cctgaagcgc atcgcgccat 12720
aa 12722
```



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201130649

②② Fecha de presentación de la solicitud: 04.12.2008

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	SUZZI, G. et al. "Biogenic amines in dry fermented sausages: a review". INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY. 15.11.2003. Vol. 88, N.º. 1, páginas 41 - 54; Apartados 7 y 8.	1-13
A	EP 132674 A2 (BOVRIL, LTD) 13.02.1985, resumen.	1-13
A	ES 483919 A1 (UNDERBERGER, E.) 01.09.1980, reivindicaciones.	1-13
A	LEUSCHNER, R.G. et al. "Histamine and tyramine degradation by food fermenting microorganisms". INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY. 06.01.1998. Vol. 39, N.º. 1-2, páginas 1 - 10; Tabla 1.	1-13

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe
24.08.2012

Examinador
M. Novoa Sanjurjo

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C12N9/02 (2006.01)

A23L1/015 (2006.01)

A23C19/097 (2006.01)

A23B4/22 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12N, A23L, A23C, A23B

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, BIOSIS, EMBL, GOOGLE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 24.08.2012

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-13	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-13	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

Consideraciones:

4-hidroxifenilacetaldehido deshidrogenasa de Pseudomonas putida U CECT 4848. Se presenta la secuencia de ADN y de aminoácidos de la enzima de la invención. La enzima se utiliza en procedimientos para eliminar de alimentos, aminas biogénicas.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	SUZZI, G. et al. "Biogenic amines in dry fermented sausages: a review". INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY. 15.11.2003. Vol. 88, N°. 1, páginas 41 - 54; Apartados 7 Y 8.	
D02	EP 132674 A2 (BOVRIL, LTD)	13.02.1985
D03	ES 483919 A1 (UNDERBERGER, E.)	01.09.1980
D04	LEUSCHNER, R.G. et al. "Histamine and tyramine degradation by food fermenting microorganisms". INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY. 06.01.1998. Vol. 39, N°. 1-2, páginas 1 - 10; Tabla 1.	

El documento D01, presenta una revisión sobre la presencia de aminas biogénicas en embutidos. Se menciona la utilización de microorganismos con actividad amino oxidasa en procesos que controlan o reducen la acumulación de dichas aminas biogénicas.

El documento D02, describe un procedimiento enzimático para eliminar aminas de alimentos entre los que se encuentran queso, embutidos y vino. Las enzimas utilizadas son mono y di- amina oxidasas obtenidas de *Aspergillus niger*.

El documento D03, describe un procedimiento para obtener alimentos bajos en aminas biógenas añadiendo bacterias como *Pseudomonas* o *Lactobacillus* que desaminan la histidina. El procedimiento se utiliza en la fabricación de queso, bebidas y col fermentada.

El documento D04, presenta un estudio con distintos microorganismos que fermentan comida con la intención de identificar aquellos capaces de degradar histamina y tiramina. Entre los microorganismos estudiados no se encuentra *Pseudomonas putida*.

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA

La enzima con actividad 4-fenilacetaldehído deshidrogenasa producida por *Pseudomonas putida* U CECT 4848 de la invención, no se ha descrito previamente en el estado de la técnica.

Los documentos citados solo muestran el estado general de la técnica y no se consideran de particular relevancia, ya que para una persona experta en la materia, no sería obvio aplicar las características de los documentos citados y llegar a la invención tal y como se menciona en las reivindicaciones 1-13. Por lo tanto, el objeto de la presente solicitud cumple los requisitos de novedad y actividad inventiva de acuerdo con los Artículos 6 y 8 de la Ley de Patentes 11/1986.