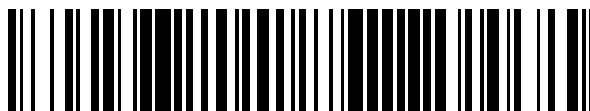


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 529 107**

51 Int. Cl.:

C12P 13/08 (2006.01)

C12P 13/22 (2006.01)

C12N 1/20 (2006.01)

C12P 13/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.09.2006** **E 11152912 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.11.2014** **EP 2354235**

54 Título: **Procedimiento para la producción por fermentación de L-aminoácidos mediante utilización de bacterias corineformes**

30 Prioridad:

05.10.2005 DE 102005047596

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

16.02.2015

73 Titular/es:

EVONIK DEGUSSA GMBH (50.0%)
Rellinghauser Strasse 1-11
45128 Essen, DE y
FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GMBH (50.0%)

72 Inventor/es:

WENDISCH, VOLKER F.;
RITTMANN, DORIS;
SAHM, HERMANN y
GERTH, CAROLINE

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 529 107 T3

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

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la producción por fermentación de L-aminoácidos mediante utilización de bacterias corineformes

Son objeto del invento unas bacterias corineformes recombinantes, en las cuales es(son) expresado(s) por lo menos uno o varios de los genes heterólogos del metabolismo del glicerol (en inglés "glycerol metabolism"), que se escoge(n) entre el conjunto que se compone de glpA, glpB, glpC, glpD, glpE, glpF, glpG, glpK, glpQ, glpT, glpX, gldA, dhaK, dhaL, dhaM, dhaR, fsa y talC, así como unos procedimientos para la producción por fermentación de L-aminoácidos, en particular de L-lisina y L-triptófano, conteniendo el medio glicerol como fuente de carbono, mediante utilización de estas bacterias. Estas bacterias muestran la capacidad para el aprovechamiento del glicerol y por consiguiente para la formación y el enriquecimiento eficaces de los L-aminoácidos.

Estado de la técnica

Unos compuestos químicos, por los que se entienden en particular los L-aminoácidos, las vitaminas, los nucleósidos y los nucleótidos, y los D-aminoácidos, encuentran uso en la medicina humana, en la industria farmacéutica, en la cosmética, en la industria alimentaria y en la nutrición de animales.

Numerosos de estos compuestos son producidos por fermentación de unas cepas de bacterias corineformes, en particular de *Corynebacterium glutamicum*. A causa de su gran importancia, se está trabajando constantemente en el mejoramiento de los procedimientos de producción. Unos mejoramientos de los procedimientos pueden concernir a unas medidas técnicas de fermentación tales como p.ej. las de agitación y abastecimiento con oxígeno, o a la composición de los medios nutritivos, tal como p.ej. la concentración de azúcares durante la fermentación, o el tratamiento para dar la forma del producto mediante por ejemplo una cromatografía con intercambio de iones o las propiedades intrínsecas de rendimiento del microorganismo propiamente dicho.

Para el mejoramiento de las propiedades de rendimiento de estas bacterias se usan unos métodos de mutagénesis, selección y elección de mutantes. De esta manera se obtienen unas cepas que son resistentes frente a unos antimetabolitos tales como p.ej. el compuesto análogo a la lisina S-(2-amino-etil)-cisteína o el compuesto análogo al triptófano 5-fluoro-triptófano, o que son auxótrofas para unos metabolitos importantes para la regulación y que producen L-aminoácidos.

Desde hace algunos años se emplean asimismo unos métodos de la técnica de ADN recombinante para el mejoramiento de las cepas de *Corynebacterium glutamicum* que producen L-aminoácidos, mediante el recurso de que se amplifican unos genes individuales de la biosíntesis de aminoácidos, y se investiga la repercusión sobre la producción de L-aminoácidos. Una exposición recopilativa acerca de los más diversos aspectos de la genética, del metabolismo y de la biotecnología de *Corynebacterium glutamicum* se encuentra en la obra de Pühler (coordinador de edición jefe): *Journal of Biotechnology* 104 (1-3), 1-338 (2003) y en la obra "Handbook of *Corynebacterium glutamicum*" (Manual de *Corynebacterium glutamicum*) de Eggeling y Bott (coordinadores de edición), CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton (2005)).

La totalidad de la industria de fermentación para la producción de L-aminoácidos utiliza como fuente de carbono hoy en día en la mayoría de los casos glucosa o sacarosa, que se obtienen en el caso de la elaboración de productos agrarios. Puesto que, sin embargo, está aumentando el precio de estas fuentes de carbono, es deseable una alternativa realizable tecnológicamente para la producción de los L-aminoácidos, de manera preferida de L-lisina y L-triptófano, el aprovechamiento de un material más barato como una materia prima alternativa para la fermentación.

El glicerol (propanotriol) es un componente natural de los aceites y las grasas, y une en forma de un "puente" a las moléculas de ácidos grasos en los triglicéridos. La molécula del glicerol es fuertemente polar y por lo tanto bien soluble en agua. Como producto de copulación o acoplamiento, esta valiosa materia prima resulta en el caso de la producción de un gasóleo biológico (= biodiesel) (p.ej. para el éster metílico de aceite de colza, RME) y se emplea en cosméticos, productos farmacéuticos, alimentos y para usos técnicos. Para el empleo del glicerol como una materia prima para la producción de componentes de piensos es decisiva la baratura. Se ha de partir del hecho de que con una producción creciente de gasóleo biológico, el glicerol se volverá interesante para la producción de aditivos para piensos.

El *Corynebacterium glutamicum* de tipo silvestre utiliza un gran número de azúcares monómeros y oligómeros tales como glucosa, sacarosa o maltosa como fuente de carbono (Vahjen y colaboradores, *FEMS Microbiology Ecology* [Microbiología eología] 18: 317-328 (1995)), pero no crece en glicerol como única fuente de carbono.

El *Corynebacterium glutamicum* de tipo silvestre dispone de algunos genes con una homología para genes conocidos del metabolismo del glicerol, pero hasta ahora no se pudo esclarecer porqué, a pesar de todo, no es posible el crecimiento en glicerol.

Misión del invento

Los autores del invento se han planteado la misión de poner a disposición unas nuevas bacterias corineformes, que estén en la situación de aprovechar el glicerol, a ser posible como la única fuente de carbono. Otra misión adicional, que está en conexión directa con este hecho, fue la de poner a disposición un procedimiento mejorado para la producción por fermentación de L-aminoácidos, en particular de L-lisina y L-triptófano, con ayuda de tales bacterias corineformes. En particular, de esta manera se debería hacer aprovechable al glicerol para una producción por fermentación de L-aminoácidos de un modo lo más rentable que sea posible.

Descripción del invento

Los problemas planteados por estas misiones, así como por otras misiones no mencionadas explícitamente, que se pueden descubrir o deducir sin problemas a partir de las conexiones discutidas en este contexto, son resueltos mediante un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1. Unas convenientes modificaciones y formas de realización del invento son puestas bajo protección en las reivindicaciones que se retrotraen a la reivindicación 1.

La descripción divulga unas bacterias corineformes recombinantes, que en particular ya segregan unos L-aminoácidos, y en las cuales es(son) expresada(s) por lo menos una o varias de las secuencia(s) de nucleótidos que codifica(n) los productos génicos heterólogos del metabolismo del glicerol (en inglés "glycerol metabolism"), que se escoge(n) entre el conjunto que se compone de glpA, glpB, glpC, glpD, glpE, glpF, glpG, glpK, glpQ, glpT, glpX, gldA, dhaK, dhaL, dhaM, dhaR, fsa y talC. Estas bacterias muestran la capacidad para el aprovechamiento del glicerol.

A las bacterias utilizadas pertenecen en particular unas bacterias corineformes, en las cuales es expresado por lo menos un polinucleótido heterólogo, cuya secuencia de aminoácidos es idéntica en por lo menos un 80 % o en por lo menos un 90 %, en particular en por lo menos un 95 %, de manera preferida en por lo menos un 98 %, de manera especialmente preferida en por lo menos un 99 % y de manera muy especialmente preferida en un 100 % con respecto a una secuencia de aminoácidos, que se escoge entre el conjunto que se compone de las SEQ ID No. 2, SEQ ID No. 4, SEQ ID No. 6, SEQ ID No. 8, SEQ ID No. 10, SEQ ID No. 12, SEQ ID No. 14, SEQ ID No. 16, SEQ ID No. 18, SEQ ID No. 20, SEQ ID No. 22, SEQ ID No. 24, ID No. 26, SEQ ID No. 28, SEQ ID No. 30, SEQ ID No. 32, ID No. 34 y SEQ ID No. 36.

Las mencionadas bacterias contienen de manera preferida por lo menos un polinucleótido heterólogo, que se escoge entre el conjunto que se compone de:

- a) Un polinucleótido con la secuencia de nucleótidos SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 19, SEQ ID No. 21, SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33 o SEQ ID No. 35 y unas secuencias de nucleótidos complementarias con éstas;
- b) Un polinucleótido con una secuencia de nucleótidos, que corresponde a la SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 19, SEQ ID No. 21, SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33 o SEQ ID No. 35 dentro del marco de la degeneración del código genético;
- c) Una secuencia de polinucleótidos con una secuencia, que se hibrida con la secuencia complementaria a la secuencia SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 19, SEQ ID No. 21, SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33 o SEQ ID No. 35 en condiciones rigurosas, alcanzándose las condiciones rigurosas de manera preferida mediante una etapa de lavado, en la que la temperatura se extiende a lo largo de un intervalo de 64°C a 68°C y la concentración de sales del tampón se extiende a lo largo de un intervalo de 2xSSC hasta 0,1xSSC;
- d) Un polinucleótido con una secuencia SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 19, SEQ ID No. 21, SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33 o SEQ ID No. 35, que contiene unas mutaciones con sentido de función neutra,

realizándose que los polinucleótidos codifican unas enzimas del metabolismo del glicerol.

La descripción divulga asimismo un procedimiento para la producción por fermentación de L-aminoácidos, en particular de L-lisina y L-triptófano, realizándose que el medio contiene glicerol como fuente de carbono, mediando utilización de unas bacterias corineformes recombinantes, que en particular ya producen L-aminoácidos, y en las que se expresa(n) por lo menos uno o varios de los genes heterólogos del metabolismo del glicerol, que se escoge(n) entre el conjunto que se compone de glpA, glpB, glpC, glpD, glpE, glpF, glpG, glpK, glpQ, glpT, glpX, gldA, dhaK, dhaL, dhaM, dhaR, fsa y talC o de unas secuencias de nucleótidos, que codifican los productos génicos de éstos.

De manera preferida, se emplean las bacterias divulgadas en la descripción.

Cuando en lo sucesivo se mencionan unos L-aminoácidos o aminoácidos, por este concepto se entiende(n) uno o varios de los aminoácidos proteinógenos, inclusive sus sales, escogidos entre el conjunto formado por el L-ácido aspártico, la L-asparagina, la L-treonina, la L-serina, el L-ácido glutámico, la L-glutamina, la L-glicina, la L-alanina, la L-cisteína, la L-valina, la L-metionina, la L-isoileucina, la L-leucina, la L-tirosina, la L-fenilalanina, la L-histidina, la L-lisina, el L-triptófano, la L-arginina y la L-prolina. Se prefieren especialmente la L-lisina y el L-triptófano. Entre los L-aminoácidos se cuenta también la L-homoserina.

Por el concepto de "aminoácidos proteinógenos" se entienden los aminoácidos que se presentan en proteínas naturales, es decir en proteínas de microorganismos, plantas, animales y seres humanos.

Cuando en lo sucesivo se mencionan unos aminoácidos, este concepto abarca también a sus sales tales como, por ejemplo, el monohidrócloruro de lisina o el sulfato de lisina en el caso del aminoácido L-lisina.

Los "genes heterólogos" o las "secuencias heterólogas de nucleótidos" pueden proceder de cualquier organismo donante procariótico, con la excepción de los representantes del género *Corynebacterium*. De manera preferida se emplean los genes procedentes de *Escherichia coli*.

El concepto de "expresión de genes heterólogos" describe en esta conexión la clonación de unos correspondientes genes y su expresión en el sistema heterólogo, lo que conduce a un establecimiento de la actividad intracelular o de la concentración de una o varias enzimas o proteínas en un microorganismo, que es(son) codificada(s) por el correspondiente ADN, mediante el recurso de que se produce por ejemplo un vector, que contiene el gen deseado o un alelo de este gen y un promotor que hace posible la expresión del gen, y se transfiere al microorganismo mediante una transformación, transducción o conjugación, y eventualmente se combinan estas medidas técnicas.

Por el concepto de "alelos" se entienden unas formas alternativas de un determinado gen. Las formas se distinguen por unas diferencias en la secuencia de nucleótidos.

Por el concepto de "producto génico" se designa a la proteína que es codificada por una secuencia de nucleótidos, es decir una proteína que es codificada por un gen o por un alelo, o al ácido ribonucleico codificado.

Es un objeto de este invento un procedimiento para la producción por fermentación de L-aminoácidos, caracterizado por que se llevan a cabo las siguientes etapas:

a) Cultivación de las bacterias corineformes recombinantes que producen el L-aminoácido deseado, en las que se presenta expresado el polinucleótido heterólogo *glpK* o sobreexpresado el polinucleótido endógeno *glpK*, en un medio que contiene glicerol o eventualmente de manera adicional una o varias otras fuentes de C, en unas condiciones, en las que el deseado L-aminoácido se enriquece en el medio o en las células, y eventualmente

b) aislamiento del L-aminoácido deseado, permaneciendo en el producto final eventualmente los componentes del caldo de fermentación y/o de la biomasa en su totalidad o en porciones (desde > 0 hasta 100 %),

realizándose que el polipéptido con la actividad de una glicerol cinasa, que es codificado por el polinucleótido heterólogo *glpK*, tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica en por lo menos un 80 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16

y realizándose que el polipéptido con la actividad de una glicerol cinasa, que es codificado por el polinucleótido endógeno *glpK*, tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38.

Las bacterias corineformes empleadas producen unos L-aminoácidos, en particular la L-lisina y el L-triptófano, de manera preferida ya antes de la expresión de uno o varios de los genes del metabolismo del glicerol en las habituales fuentes de carbono tales como por ejemplo glucosa o sacarosa. El glicerol empleado se puede utilizar individualmente o como una mezcla, debiendo de ser la proporción del glicerol de manera preferida de ≥ 10 a 100 %.

Se encontró que las bacterias corineformes, después de una expresión heteróloga de uno o varios de los genes del metabolismo del glicerol producen unos L-aminoácidos, en particular la L-lisina y el L-triptófano, a partir del glicerol como la única fuente de carbono.

Las bacterias recombinantes conformes al invento son producidas por ejemplo mediante una transformación, transducción o conjugación, o una combinación de estos métodos, con un vector, que contiene el gen deseado, un alelo de este gen o unas partes de éste, y un promotor que hace posible la expresión del gen. La expresión heteróloga se consigue en particular mediante una integración del gen o de los alelos en el cromosoma de los microorganismos o en un vector que replica fuera del cromosoma (extracromosomalmente).

En el caso del promotor se puede tratar de la propia secuencia reguladora, que se encuentra situada corriente arriba del gen, o se fusiona con el gen a un promotor procedente de bacterias corineformes. Una recopilación acerca de unos promotores conocidos de *Corynebacterium glutamicum* ha sido descrita por Pátek y colaboradores (Journal of Biotechnology 104, 311-323 (2003)).

Las bacterias, en las que se llevan a cabo las medidas técnicas del invento y que por consiguiente constituyen el punto de partida del presente invento, pueden producir aminoácidos a partir de glucosa, sacarosa, lactosa, fructosa, maltosa, una melaza, un almidón, una celulosa o a partir de etanol. Se trata de unos representantes de bacterias corineformes.

En el caso de las bacterias corineformes, se prefiere el género *Corynebacterium*. Se prefieren especialmente unas cepas que segregan aminoácidos, que se basan en las siguientes especies:

Corynebacterium efficiens tal como, por ejemplo, la cepa DSM44549,
Corynebacterium glutamicum tal como, por ejemplo, la cepa ATCC13032,
Corynebacterium thermoaminogenes tal como, por ejemplo, la cepa FERM BP-1539, y
Corynebacterium ammoniagenes tal como, por ejemplo, la cepa ATCC6871,

siendo muy especialmente preferida la especie *Corynebacterium glutamicum*.

Algunos representantes de la especie *Corynebacterium glutamicum* son conocidos en el estado de la técnica también por otras denominaciones de especies. A éstos pertenecen, por ejemplo:

Corynebacterium acetoacidophilum ATCC13870
Corynebacterium lilium DSM20137
Corynebacterium melassecola ATCC17965
Brevibacterium flavum ATCC14067
Brevibacterium lactofermentum ATCC13869 y
Brevibacterium divaricatum ATCC14020

Unos conocidos representantes de cepas de bacterias corineformes, que segregan un aminoácido, son por ejemplo: las cepas que producen L-lisina

Corynebacterium glutamicum DM58-1/pDM6 (= DSM4697)
 que se ha descrito en el documento EP 0 358 940
Corynebacterium glutamicum MH20 (= DSM5714)
 que se ha descrito en el documento EP 0 435 132
Corynebacterium glutamicum AHP-3 (= FERM BP-7382)
 que se ha descrito en el documento EP 1 108 790
Corynebacterium thermoaminogenes AJ12521 (= FERM BP3304)
 que se ha descrito en el documento de patente de los EE.UU. US 5.250.423

o las cepas que producen L-triptófano

Corynebacterium glutamicum K76 (=FERMBP-1847)
 que se ha descrito en el documento US 5.563.052
Corynebacterium glutamicum BPS13 (= FERM BP-1777)
 que se ha descrito en el documento US 5.605.818
Corynebacterium glutamicum FERM BP-3055
 que se ha descrito en el documento US 5.235.940.

Se encuentran datos acerca de la clasificación taxonómica de las cepas de este conjunto de bacterias, entre otros lugares, en las citas de Seiler (Journal of General Microbiology 129, 1433-1477 (1983), Kämpfer y Kroppenstedt (Canadian Journal of Microbiology 42, 989-1005 (1996)), Liebl y colaboradores (International Journal of Systematic Bacteriology 41, 255-260 (1991) y en el documento US-A-5.250.434.

Unas cepas con la denominación "ATCC" se pueden adquirir de la American Type Culture Collection (Colección americana de cultivos tipos) (Manassas, VA, EE.UU.). Unas cepas con la denominación "DSM" se pueden adquirir de la Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (Colección alemana de microorganismos y cultivos celulares) (DSMZ, Braunschweig, Alemania). Unas cepas con la denominación "FERM" se pueden adquirir del National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (Instituto nacional de ciencia y tecnología industrial

avanzada (AIST Tsukuba Central 6, 1-1-1 Higashi, Tsukuba Ibaraki, Japón). La mencionada cepa de *Corynebacterium thermoaminogenes* (FERM BP-1539) se describe en el documento US-A 5.250.434.

Las secuencias de nucleótidos de los genes o los marcos abiertos de lectura (ORF) de *Escherichia coli* pertenecen al estado de la técnica y pueden ser tomadas de la secuencia genómica de *Escherichia coli* que ha sido publicada por Blattner y colaboradores (Science 277: 1453-1462 (1997)).

A partir de las *Salmonella typhimurium* (n° de acceso: NC 003197 (secuencia del genoma total)) y *Shigella flexneri*, (n° de acceso: NC 004337 (secuencia del genoma total), que pertenecen asimismo a la familia de las enterobacteriáceas, se conoce ejemplificativamente asimismo la secuencia de nucleótidos para los genes *glpA*, *glpB*, *glpC*, *glpD*, *glpE*, *glpF*, *glpG*, *glpK*, *glpQ*, *glpT* und *glpX*. Por lo demás, a partir de las *Salmonella typhimurium* (n° de acceso: NC 003197 (secuencia del genoma total) se conoce la secuencia de nucleótidos para los genes *gldA* y *talC* y a partir de las *Shigella flexneri*, (n° de acceso: NC 004337 (secuencia del genoma total), se conoce la secuencia de nucleótidos para los genes *dhaK*, *dhaL*, *dhaM*, *dhaR* y *fsa*.

Los genes y las actividades del metabolismo del glicerol se han descrito a modo de recopilación también en la cita bibliográfica de Lin (en: Neidhardt (coordinador de edición), *Escherichia coli* und *Salmonella* [*Escherichia coli* y *Salmonella*], American Society for Microbiology [Sociedad americana de microbiología], Washington, D.C., EE.UU.: 307-342 (1996)).

El regulón de glicerofosfato (*glp*), que contiene los genes para el transporte y el metabolismo del glicerol, se compone de cinco operones, que están situados en tres sitios génicos diferentes en el cromosoma de *E. coli* (Cozzarelli y colaboradores, Journal of Molecular Biology [Revista de biología molecular] 31: 371-387 (1968)).

Un regulón es una unidad de genes, que ciertamente están localizados en diferentes sitios de un genoma, pero cuya expresión es controlada por las mismas proteínas reguladoras. Un operón es una unidad de genes regulados en común en un sitio del gen.

En la posición 88 min se encuentra el operón *glpFKX* (Cozzarelli y Lin, Journal of Bacteriology [Revista de bacteriología] 91: 1763-1766 (1966); Weissenborn y colaboradores, Journal of Biological Chemistry [Revista de química biológica] 267: 6122-6131 (1992)), que codifica el facilitador de glicerol *GlpF* y la glicerol cinasa *GlpK* y una fructosa-1,6 bisfosfatasa II *GlpX* (Donahue y colaboradores Journal of Bacteriology 182(19) 5624-5627 (2000)). En el operón cartografiado en 49 min se encuentran reunidos los genes *glpT* (de la glicerol-3-fosfato permeasa) y *glpQ* (de la glicerol fosfodiesterasa periplasmática), que son transcritos en el sentido contrario al de las agujas de un reloj. En un sentido opuesto a éste está dispuesto el operón *glpABC*, cuyos genes codifican las tres subunidades de la sn-glicerol-3-fosfato deshidrogenasa heterotrimérica, que es activa mediando exclusión del oxígeno del aire (en condiciones anaerobias) (Cole y colaboradores, Journal of Bacteriology 170: 2448-2456 (1988); Ehrmann y colaboradores, Journal of Bacteriology 169: 526-532 (1987)). En la posición 75 min en el cromosoma está situado el operón *glpDEG*, que codifica la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa *GlpD*, que es activa en presencia del oxígeno del aire (en condiciones aerobias) (Cozzarelli y colaboradores, Journal of Molecular Biology 31: 371-387 (1968)), la azufre transferasa *GlpE* (Cozzarelli y colaboradores, Journal of Molecular Biology 31: 371-387 (1968)) y el gen *glpG*, que tiene una función desconocida (Zeng y colaboradores, Journal of Bacteriology 178: 7080-7089 (1996)).

Una breve recopilación acerca de los genes y las actividades del metabolismo del glicerol la proporciona la siguiente enumeración;

Gen *glpA*:

Denominación: Subunidad grande de la sn-glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (anaerobia)

Función: En el medio anaerobio, el glicerol-3-fosfato es oxidado para la obtención de energía por una glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (*GlpABC*) dependiente de FAD para dar el fosfato de dihidroxiacetona, que puede pasar a formar parte en la glicólisis como un compuesto intermedio. Los equivalentes de reducción, que se ponen en libertad en el caso de esta reacción de oxidación, son transferidos por la flavoenzima a un complejo de citocromo que está asociado con una membrana, sirviendo el fumarato o nitrato como un aceptor terminal de electrones (Lin, en: Neidhardt (coordinador de edición), *Escherichia coli* und *Salmonella*, American Society or Microbiology, Washington, D.C., USA: 307-342 (1996)). Mientras que los electrones se hacen pasar por el complejo de citocromo, la energía que se pone en libertad es aprovechada para bombear protones a través de la membrana desde el lado citoplasmático hasta el lado periplasmático. Con el gradiente de protones que se ha generado junto a la membrana se modifica el potencial tanto eléctrico como también químico, con lo cual se propulsa a la ATPasa fijada a la membrana y de esta manera se puede producir el ATP.

N° DE EC: 1.1.99.5

Referencia: Blattner y colaboradores; Science 277 (5.331): 1453-1474 (1997)

SEQ ID No.: 1

N° de acceso: U00096 (región: 2350669-2352297)

Nombre alternativo del gen: b2241

	Gen glpB:	
	Denominación:	Subunidad para el anclaje a una membrana (en inglés "membrane anchor") de la sn-glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (anaerobia)
5	Función:	véase la del glpA
	N° DE EC:	1.1.99.5
	Referencia:	Blattner y colaboradores; Science 277 (5331): 1453-1474 (1997)
	SEQ ID No.:	3
	N° de acceso:	U00096 (región: 2352287-2353546)
10	Nombre alternativo del gen:	b2242
	Gen glpC:	
	Denominación:	Subunidad pequeña de la sn-glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (anaerobia)
	Función:	véase la del glpA
15	N° DE EC:	1.1.99.5
	Referencia:	Blattner y colaboradores; Science 277 (5331): 1453-1474 (1997)
	SEQ ID No.:	5
	N° de acceso:	U00096 (región: 2353543-2354733)
20	Nombre alternativo del gen:	b2243
	Gen glpD:	
	Denominación:	Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (aerobia)
	Función:	La GlpD fue identificada como una glicerol-3-fosfato-deshidrogenasa aerobia (Cozzarelli y colaboradores, Journal of Molecular Biology 31: 371-387 (1968). En el medio aerobio, con el fin de obtener energía, el glicerol-3-fosfato es oxidado por esta glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (GlpD) dependiente de FAD para dar el fosfato de dihidroxiacetona, que puede pasar a formar parte de la glicolisis como un compuesto intermedio. Los equivalentes de oxidación, que se ponen en libertad en el caso de esta reacción de reducción, son transferidos por la flavoenzima a un complejo de citocromo que está asociado con una membrana, sirviendo el oxígeno molecular o respectivamente el nitrato como un aceptor terminal de electrones (Lin, en: Neidhardt (coordinador de edición), Escherichia coli und Salmonella, American Society for Microbiology, Washington, D.C., EE.UU.: 307-342 (1996)). Mientras que los electrones se hacen pasar por el complejo de citocromo, la energía que se pone en libertad es aprovechada para bombear protones a través de la membrana desde el lado citoplasmático hasta el lado periplasmático. Con el gradiente de protones que se ha generado junto a la membrana se modifica el potencial tanto eléctrico como químico, con lo cual se propulsa a la ATPasa fijada a la membrana y de esta manera se puede producir el ATP. El marco abierto de lectura del gen glpD se compone de 501 codones y la secuencia traducida codifica una proteína con un peso molecular de 57 kDa (Austin y Larson, Journal of Bacteriology 173: 101-107 (1991)).
25		
30		
35		
40	N° DE EC:	1.1.99.5
	Referencia:	Blattner y colaboradores; Science 277 (5331): 1453-1474 (1997)
	SEQ ID No.:	7
	N° de acceso:	U00096 (región: 3560036-3561541)
45	Nombres alternativos del gen:	b3426, glyD
	Gen glpE:	
	Denominación:	Azufre transferasa; una rodanasa citoplasmática, de carácter ácido
	Función:	La GlpE fue identificada como una azufre transferasa (Cozzarelli y colaboradores, Journal of Molecular Biology 31: 371-387 (1968)). La rodanasa citoplasmática, de carácter ácido, que es codificada por el gen glpE, y que tiene un peso molecular de 12 kDa, cataliza como un dímero la transferencia de azufre al aceptor de la azufre tiorredoxina 1 ((Ray y colaboradores, Journal of Bacteriology 182: 2277-2284 (2000)).
50		
	N° DE EC:	2.8.1.1
	Referencia:	Blattner y colaboradores; Science 277 (5331): 1453-1474 (1997)
55	SEQ ID No.:	9
	N° de acceso:	U00096 (región: 3559520-3559846)
	Nombre alternativo del gen:	b3425
	Gen glpF:	
60	Denominación:	Facilitador del glicerol GlpF
	Función:	La difusión facilitada del glicerol desde del medio nutritivo es catalizada por el facilitador de glicerol GlpF (Borgnia y Agre, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98: 2888-2893 (2001)), que forma un canal específico para un sustrato con un tamaño de poros de 0,4 nm (Heller y colaboradores, Journal of Bacteriology 144: 274-278 (1980)).
65	N° DE EC:	-
	Referencia:	Blattner y colaboradores; Science 277 (5331): 1453-1474 (1997)

SEQ ID NO: 11
N° de acceso: U00096 (región: 4115268-4116113)
Nombre alternativo del gen: b3927

- 5 Gen glpG:
Denominación: Gen del regulón de glp
Función: La función fisiológica del glpG es todavía desconocida. El producto génico de glpG es una proteína citoplasmática o asociada a una membrana, de carácter básico, que tiene un peso molecular de 28 kDa (Zeng y colaboradores, Journal of Bacteriology 178: 7080-7089 (1996)).
- 10 N° DE EC: -
Referencia: Blattner y colaboradores; Science 277 (5331): 1453-1474 (1997)
SEQ ID No.: 13
N° de acceso: U00096 (región: 3558645-3559475)
Nombre alternativo del gen: b3424
- 15 Gen glpK:
Denominación: Glicerol cinasa GlpK (dependiente de ATP)
Función: El glicerol citoplasmático es fosforilado inmediatamente por la glicerol cinasa K dependiente de ATP, que se presenta asociada con el facilitador de glicerol GlpF en su forma enzimáticamente activa (Voegele y colaboradores, Journal of Bacteriology 175: 1087-1094 (1993)).
- 20 N° DE EC: 2.7.1.30
Referencia: Blattner y colaboradores; Science 277 (5331): 1453-1474 (1997)
SEQ ID No.: 15
N° de acceso: U00096 (región: 4113737-4115245)
- 25 Nombre alternativo del gen: b3926
- 30 Gen glpQ:
Denominación: Glicerol fosfodiesterasa
Función: Los diésteres de glicerol-fosfatos, que son los productos desacetilados de la degradación de los fosfolípidos (Lin, en: Neidhardt (coordinador de edición), Escherichia coli und Salmonella, American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA: 307-342 (1996)) son hidrolizados en el periplasma por la fosfodiesterasa GlpQ, que está localizada allí, para dar un alcohol (etanol) y el glicerol-3-fosfato (Larson y colaboradores, Journal of Biological Chemistry 258: 5428-5432 (1983)). Puesto que a la glicerol fosfodiesterasa se le atribuye por consiguiente un modo de acción extracitoplasmático, el producto génico que se deriva del gen glpQ heterólogo debe de abarcar un péptido director (leader) en las bacterias reivindicadas, tal como el que es típico para las proteínas excretadas de bacterias gram positivas (Nielsen y colaboradores, Protein Engineering Design and Selection 10:1-6 (1997)). Esta secuencia de señal característica hace posible una exportación mediada por el aparato de secreción general (el sistema Sec) de la proteína GlpQ a través de la membrana citoplasmática (Kell und Young, Current opinion in microbiology 3:238-243 (2000); Mukamolova y colaboradores, Molecular Microbiology 46:611-621 (2002a); Molecular Microbiology 46:613-635 (2002b)).
- 35 N° DE EC: 3.1.4.46
Referencia: Blattner y colaboradores; Science 277 (5331): 1453-1474 (1997)
- 40 SEQ ID No.: 17
N° de acceso: U00096 (región: 2347957-2349033)
Nombre alternativo del gen: b2239
- 50 Gen glpT:
Denominación: Glicerol-3-fosfato permeasa
Función: El glicerol-3-fosfato es transportado al interior de la célula por la permeasa GlpT (Eiglmeier y colaboradores, Molecular Microbiology 1: 251-258 (1987); Larson y colaboradores, Journal of Bacteriology 152: 1008-1021 (1982)) en el intercambio por un fosfato inorgánico (Auer y colaboradores, Biochemistry 40: 6628-6635 (2001)). La energía requerida para el transporte es puesta a disposición por este antiporte y al mismo tiempo se impide una acumulación del fosfato, que actúa tóxicamente (Xavier y colaboradores, Journal of Bacteriology 177: 699-704 (1995)).
- 55 N° DE EC: -
Referencia: Blattner y colaboradores; Science 277 (5331): 1453-1474 (1997)
SEQ ID No.: 19
- 60 N° de acceso: U00096 (región: 2349038-2350396)
Nombre alternativo del gen: b2240
- 65 Gen glpX:
Denominación: Fructosa-1,6-bisfosfatasa II
Función: Hasta ahora no se pudo encontrar ningún cometido fisiológico de la enzima GlpX. Una mutación en el fbp, que es el gen para la fructosa-1,6-bisfosfatasa I, no pudo ser complementada por la

GlpX. Sin embargo, parece ser segura a pesar de todo una importancia funcional, puesto que unos mutantes, que son trastornados en la glicolisis debido a una mutación en el *pfkA* (el gen de la fosfofructo cinasa A), crecen muchísimo más lentamente sin la GlpX (Donahue y colaboradores; *Journal of Bacteriology* 182 (19): 5624-5627 (2000)).

5 N° DE EC: 3.1.3.11
Referencia: Blattner y colaboradores; *Science* 277 (5331): 1453-1474 (1997)
SEQ ID No.: 21
N° de acceso: U00096 (región: 4112592-4113602)
Nombre alternativo del gen: 3925

10 Junto a los genes del transporte y del metabolismo del glicerol, pueden ser expresados heterológamente los siguientes genes de la degradación de diversos productos intermedios y finales de dicho metabolismo.

15 Gen *gldA*:
Denominación: Glicerol deshidrogenasa (NAD)
Función: La glicerol deshidrogenasa cataliza la reacción reversible, dependiente de NAD, del glicerol para dar la dihidroxiacetona (Truniger y Boos, *Journal of Bacteriology* 176(6): 1796-1800 (1994))
N° DE EC: 1.1.1.6
Referencia: Blattner y colaboradores; *Science* 277 (5331): 1453-1474 (1997)
20 SEQ ID No.: 23
N° de acceso: U00096 (región: 4135955-4137097)
Nombre alternativo del gen: b3945

25 Gen *dhaK*:
Denominación: Subunidad de la dihidroxiacetona cinasa, dominio situado en el extremo terminal de N
Función: La dihidroxiacetona cinasa cataliza, en su función como una dihidroxiacetona fosfotransferasa dependiente del fosfoenol-piruvato (PEP), la reacción de la dihidroxiacetona para dar el fosfato de dihidroxiacetona (Gutknecht y colaboradores, *The EMBO Journal* 20(10): 2480-2486 (2001)). La DhaK lleva el sitio de fijación de la dihidroxiacetona.
30 N° DE EC: 2.7.1.29
Referencia: Blattner y colaboradores; *Science* 277 (5331): 1453-1474 (1997)
SEQ ID No.: 25
N° de acceso: U00096 (región: 1248991-1250091)
Nombres alternativos del gen: *dhaK1*, *ycgT*, b1200

35 Gen *dhaL*:
Denominación: Subunidad de la dihidroxiacetona cinasa, dominio situado en el extremo terminal de C
Función: La dihidroxiacetona cinasa cataliza, en su función como una dihidroxiacetona fosfotransferasa dependiente del PEP, la reacción de la dihidroxiacetona para dar el fosfato de dihidroxiacetona (Gutknecht y colaboradores, *The EMBO Journal* 20(10): 2480-2486 (2001)). La DhaL lleva ADP como un cofactor para la transferencia de fosfato desde la DhaM hasta la dihidroxiacetona.
40 N° DE EC: 2.7.1.29
Referencia: Blattner y colaboradores; *Science* 277 (5331): 1453-1474 (1997)
SEQ ID NO: 27
45 N° de acceso: U00096 (región: 1248348-1248980)
Nombres alternativos del gen: *dhaK2*, *ycgS*, b1199

Gen *dhaM*:
50 Denominación: Subunidad de la proteína PTS de la dihidroxiacetona cinasa, una proteína de transferencia multi-fosforilada
Función: La dihidroxiacetona cinasa cataliza, en su función como una dihidroxiacetona fosfotransferasa dependiente del PEP, la reacción de la dihidroxiacetona para dar el fosfato de dihidroxiacetona (Gutknecht y colaboradores, *The EMBO Journal* 20(10): 2480-2486 (2001)). La DhaM se compone de tres dominios que tienen una similaridad con los tres dominios del sistema de la fosfotransferasa dependiente del fosfoenolpiruvato. La DhaM fosforilada transfiere el fosfato al ADP que está unido a la DhaL.
55 N° DE EC: 2.7.1.29
Referencia: Blattner y colaboradores; *Science* 277 (5331): 1453-1474 (1997)
SEQ ID No.: 29
60 N° de acceso: U00096 (región: 1246919-1248340)
Nombres alternativos del gen: *dhaH*, *ycgC*, b1198

Gen *dhaR*:
65 Denominación: Activador del operón de *dha* (*dhaKLM*)
Función: Un activador transcripcional, que estimula la transcripción del operón de *dha* de un promotor sigma70 (Bachler y colaboradores, *The EMBO Journal* 24 (2): 283-293 (2005))

N° DE EC: -
Referencia: Blattner y colaboradores; Science 277 (5331): 1453-1474 (1997)
SEQ ID No.: 31
N° de acceso: U00096 (región: 1250280-1252208)
5 Nombres alternativos del gen: ycgU, b1201

Gen fsa:
Denominación: Fructosa-6-fosfato aldolasa I
10 Función: La fructosa-6-fosfato aldolasa I cataliza un desdoblamiento aldólico del fructosa-6-fosfato, los substratos de la enzima son la dihidroxiacetona así como el fructosa-6-fosfato y el glicerolaldehído-3-fosfato, no es aprovechada la fructosa, el fructosa-1-fosfato, el fructosa-1,6-bisfosfato ni el dihidroxiacetona-fosfato (Schurmann y Sprenger, Journal of Biological Chemistry 276 (14): 11055-11061 (2001))

N° DE EC: 4.1.2.-
15 Referencia: Blattner y colaboradores; Science 277 (5331): 1453-1474 (1997)
SEQ ID No.: 33
N° de acceso: U00096 (región: 862793-863527)
Nombres alternativos del gen: mipB, ybiZ, B0825

20 Gen talC:
Denominación: Fructosa-6-fosfato aldolasa II
Función: La fructosa-6-fosfato aldolasa II cataliza un desdoblamiento aldólico del fructosa-6-fosfato (Schurmann und Sprenger, Journal of Biological Chemistry 276 (14): 11055-11061 (2001)). El gen talC está situado directamente junto al gen gldA.

25 N° DE EC: 4.1.2.-
Referencia: Blattner y colaboradores; Science 277 (5331): 1453-1474 (1997)
SEQ ID No.: 35
N° de acceso: U00096 (región: 4137069-4137731)
Nombres alternativos del gen: fsaB, yijG, b3946

30 Las secuencias de ácidos nucleicos se pueden tomar de los bancos de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) de la National Library of Medicine (Bethesda, MD, EE.UU.), del banco de datos de secuencias de nucleótidos de los European Molecular Biology Laboratories (EMBL, Heidelberg, Alemania o respectivamente Cambridge, Reino Unido) o del banco de datos de ADN del Japón (DDBJ, Mishima, Japón).

35 Para una mejor claridad de comprensión, las secuencias conocidas para los genes tratados de Escherichia coli se han representado bajo las SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 19, SEQ ID No. 21, SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33 y SEQ ID No. 35.

40 Los marcos de lectura abiertos que se han descrito en las citas bibliográficas indicadas pueden ser utilizados conforme al invento. Además, se pueden utilizar unos alelos de los genes o unos marcos de lectura abiertos, que resultan a partir de la degenerabilidad del código genético o por mutaciones con sentido, que son neutras en su función (en inglés "sense mutations").

45 Entre los alelos de los genes tratados, que contienen unas mutaciones con sentido, que son neutras en su función, se cuentan, entre otros, los que conducen a lo sumo a 13 o a lo sumo a 10, de manera preferida a lo sumo a 7 o a lo sumo a 5, de manera especialmente preferida a lo sumo a 3 o a lo sumo a 2 o a por lo menos un intercambio(s) conservativo(s) de aminoácidos en la proteína codificada por ellos.

50 En el caso de los aminoácidos aromáticos se habla de intercambios conservativos cuando se intercambian unos/as por otros/as la fenilalanina, el triptófano y la tirosina. En el caso de los aminoácidos hidrófobos se habla de intercambios conservativos cuando se intercambian unas por otras la leucina, la isoleucina y la valina. En el caso de los aminoácidos polares se habla de intercambios conservativos cuando se intercambian una por otra la glutamina y la asparagina. En el caso de los aminoácidos de carácter básico se habla de intercambios conservativos cuando se intercambian unas por otras la arginina, la lisina y la histidina. En el caso de los aminoácidos de carácter ácido se habla de intercambios conservativos cuando se intercambian uno por otro el ácido aspártico y el ácido glutámico. En el caso de los aminoácidos que contienen grupos hidroxilo se habla de intercambios conservativos cuando se intercambian una por otra la serina y la treonina.

60 De igual manera, se pueden utilizar también aquellas secuencias de nucleótidos, que codifican unas variantes de las mencionadas proteínas, que contienen adicionalmente, junto al extremo terminal de N o C, una prolongación o un acortamiento en por lo menos un (1) aminoácido. Esta prolongación o este acortamiento es de no más que 13, 10, 7, 5, 3 o 2 aminoácidos o radicales de aminoácidos.

Es conocido el hecho de que por medio de unas enzimas propias del anfitrión, las denominadas aminopeptidasas, se puede disociar la metionina situada en un extremo en el caso de la síntesis de proteínas.

Entre los alelos adecuados se cuentan también aquellos que codifican unas proteínas, en las que se ha introducido (por inserción) o suprimido (por delección) por lo menos un (1) aminoácido. El número máximo de tales modificaciones denominadas como "indels" puede ser de 2, 3, 4, 5, pero en ningún caso de más que 6 aminoácidos.

Entre los alelos adecuados se cuentan además los que son obtenibles mediante una hibridación, en particular en condiciones rigurosas, mediando utilización de las SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 19, SEQ ID No. 21, SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33 o SEQ ID No. 35 o de partes de éstas, en particular de las regiones codificadoras o respectivamente de las secuencias complementarias a éstas.

Un experto en la especialidad puede encontrar instrucciones para la identificación de secuencias de ADN mediante una hibridación, entre otros lugares, en el manual "The DIG System Users Guide for Filter Hybridization (Guía para los usuarios del sistema DIG para la hibridación en filtros)" de la entidad Boehringer Mannheim GmbH (Mannheim, Alemania, 1993) y en la cita de Liebl y colaboradores (International Journal of Systematic Bacteriology [Revista internacional de bacteriología sistemática] 41: 255-260 (1991)). La hibridación tiene lugar en condiciones rigurosas, es decir que se forman solamente unos híbridos, en los que la sonda y la secuencia diana, es decir los polinucleótidos tratados con la sonda, son idénticos/os en por lo menos un 70 %. Es conocido que la rigurosidad de la hibridación, inclusive las etapas de lavado, es influida o respectivamente determinada por una variación de la composición de los tampones, de la temperatura y de la concentración de las sales. La reacción de hibridación se lleva a cabo por lo general con una rigurosidad relativamente baja en comparación con las etapas de lavado (Hybaid Hybridisation Guide, Hybaid Limited, Teddington, Reino Unido, 1996).

Para la reacción de hibridación se puede emplear, por ejemplo, un tampón correspondiente al tampón 5x SSC a una temperatura de aproximadamente 50°C - 68°C. En este caso, también se pueden hibridar unas sondas con unos polinucleótidos, que tienen una identidad de menos que un 70 % con respecto a la secuencia de la sonda. Tales híbridos son menos estables y son eliminados mediante un lavado en condiciones rigurosas. Esto se puede conseguir, por ejemplo, mediante una disminución de la concentración de las sales hasta 2x SSC y eventualmente a continuación hasta 0,5x SSC (The DIG System User's Guide for Filter Hybridisation, Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania, 1995), ajustándose una temperatura de aproximadamente 50°C - 68°C, aproximadamente 52°C - 68°C, aproximadamente 54°C - 68°C, aproximadamente 56°C - 68°C, aproximadamente 58°C - 68°C, aproximadamente 60°C - 68°C, aproximadamente 62°C - 68°C, aproximadamente 64°C - 68°C o aproximadamente 66°C - 68°C. Se prefieren unos intervalos de temperatura de aproximadamente 64°C - 68°C, o aproximadamente 66°C - 68°C. Eventualmente, es posible disminuir la concentración de las sales hasta una concentración correspondiente a 0,2x SSC o a 0,1x SSC. Mediante un aumento escalonado de la temperatura de hibridación en unos escalones de aproximadamente 1 - 2°C desde 50°C hasta 68°C se pueden aislar unos fragmentos de polinucleótidos, que poseen una identidad de por ejemplo por lo menos un 70 % o de por lo menos un 80 % o de por lo menos un 90 %, por lo menos un 91 %, por lo menos un 92 %, por lo menos un 93 %, por lo menos un 94 %, por lo menos un 95 %, por lo menos un 96 %, por lo menos un 97 %, por lo menos un 98 % o por lo menos un 99 % con respecto a la secuencia de la sonda empleada o respectivamente a las secuencias de nucleótidos que se representan en las SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 19, SEQ ID No. 21, SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33 o SEQ ID No. 35. Otras instrucciones adicionales para la hibridación son obtenibles en el comercio en forma de los denominados estuches (p.ej. el DIG Easy Hyb de la entidad Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania, n° de catálogo 1603558).

También se pueden emplear unos polinucleótidos de *Bacillus subtilis* (n° de acceso: NC 000964 (secuencia del genoma total)) y de *Streptomyces coelicolor* (n° de acceso: NC 003888 (secuencia del genoma total)), que poseen por ejemplo una identidad de por lo menos un 70 % o de por lo menos un 80 % o de por lo menos un 90 %, por lo menos un 91 %, por lo menos un 92 %, por lo menos un 93 %, por lo menos un 94 %, por lo menos un 95 %, por lo menos un 96 %, por lo menos un 97 %, por lo menos un 98 % o por lo menos un 99 % con respecto a las secuencias de nucleótidos que se representan en las SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 19, SEQ ID No. 21, SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33 o SEQ ID No. 35 y que tienen las funciones descritas. Las secuencias de nucleótidos de los genes y de los ORFs, que se conocen a partir de los proyectos de genomas, pertenecen al estado de la técnica y se pueden deducir de diversas publicaciones, solicitudes de patentes así como del banco de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) de la National Library of Medicine (Bethesda, MD, EE.UU.).

La expresión de los genes del metabolismo del glicerol se puede detectar en el gel con ayuda de una separación de proteínas en un gel uni- o bidimensional (de 1 y 2 dimensiones) y de una subsiguiente identificación óptica de la concentración de proteínas con un correspondiente software (programa lógico) de evaluación. Un método habitual para la preparación de los geles para proteínas en el caso de bacterias corineformes y para la identificación de las proteínas lo constituye el modo de proceder descrito por Hermann y colaboradores (Electrophoresis [Electroforesis],

22:1712-23 (2001). La concentración de las proteínas se puede determinar asimismo mediante una hibridación por transferencia de bórnon Western con un anticuerpo específico para la proteína que se ha de detectar (Sambrook y colaboradores, *Molecular cloning: a laboratory manual* [Clonación molecular. Un manual de laboratorio]. 2ª edición Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., 1989) y una subsiguiente evaluación óptica con un correspondiente software para la determinación de la concentración (Lohaus y Meyer (1998) *Biospektrum* [Espectro biológico] 5:32-39; Lottspeich, *Angewandte Chemie* [Química aplicada] 111: 2630-2647 (1999)). La actividad de las proteínas que fijan al ADN se puede determinar mediante un ensayo de desplazamiento de banda de ADN ([en inglés "DNA-Band-Shift-Assay"], también designado como retención en el gel) (Wilson y colaboradores (2001) *Journal of Bacteriology* 183:2151-2155). El efecto de unas proteínas que fijan al ADN sobre la expresión de otros genes se puede detectar mediante diversos métodos bien descritos del ensayo del gen reportero (Sambrook y colaboradores, *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2ª edición. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., 1989). Las actividades enzimáticas intracelulares se pueden determinar según diversos métodos que han sido descritos (Donahue y colaboradores (2000) *Journal of Bacteriology* 182(19): 5624-5627; Ray y colaboradores (2000) *Journal of Bacteriology* 182(8): 2277-2284; Freedberg y colaboradores (1973) *Journal of Bacteriology* 115 (3): 816-823).

Los genes heterólogos son expresados por ejemplo con ayuda de unos plásmidos episómicos. Como plásmidos se adecuan aquéllos que son replicados en bacterias corineformes. Numerosos vectores plasmídicos conocidos tales como por ejemplo el pZ1 (Menkel y colaboradores, *Applied and Environmental Microbiology* [Microbiología aplicada y ambiental] (1989) 64: 549-554), pEKEx1 (Eikmans y colaboradores, *Gene* [Genes] 102: 93-98 (1991)) o pHS2-1 (Sonnen y colaboradores, *Gene* 107:69-74 (1991)) se basan en los plásmidos crípticos pHM1519, pBL1 o pGA1. Otros vectores plasmídicos tales como p.ej. los que se basan en el pCG4 (véase el documento de patente de los EE.UU. US-A 4.489.160), o en el pNG2 (Serwold-Davis y colaboradores, *FEMS Microbiology Letters* 66, 119-124 (1990)), o pAG1 (documento US-A 5.158.891) se pueden utilizar de igual manera. Un artículo recopilativo sobre el tema de los plásmidos naturales de bacterias corineformes que producen aminoácidos se encuentra en la obra *Handbook of* [Manual de] *Corynebacterium glutamicum* (Tauch, capítulo 4, 57-80, coordinadores de edición: Eggeling y Bott, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton (2005)).

Por lo demás, también se adecuan aquellos vectores plasmídicos con cuya ayuda se puede aplicar el procedimiento de la amplificación de genes mediante una integración en el cromosoma, tal como se había descrito, por ejemplo, por Reinscheid y colaboradores (*Applied and Environmental Microbiology* 60, 126-132 (1994)) para la duplicación o respectivamente la amplificación del operón *hom-thrB* o en el documento de patente internacional WO03/040373. En el caso de este método, el gen se clona en un vector plasmídico, que se puede replicar en un anfitrión (típicamente en *E. coli*) pero no en *C. glutamicum*. Como vectores entran en consideración, por ejemplo, el pSUP301 (Simon y colaboradores, *Bio/Technology* [Bio/Tecnología] 1, 784-791 (1983)), el pK18mob o el pK19mob (Schäfer y colaboradores, *Gene* 145, 69-73 (1994)), el pGEM-T (Promega Corporation, Madison, WI, USA), el pCR2.1-TOPO (Shuman (1994). *Journal of Biological Chemistry* [Revista de química biológica] 269:32678-84; documento US-A 5.487.993), el pCR®Blunt (de la entidad Invitrogen, Groningen, Países Bajos); Bernard y colaboradores, *Journal of Molecular Biology* [Revista de biología molecular], 234: 534-541 (1993)), el pEM1 (Schrumppf y colaboradores, 1991, *Journal of Bacteriology* [Revista de bacteriología] 173:4510-4516) o el pBGS8 (Spratt y colaboradores, 1986, *Gene* 41: 337-342). El vector plasmídico, que contiene el gen heterólogo que debe de ser amplificado, eventualmente inclusive las señales de expresión y/o regulación, y las regiones de borde de un gen homólogo no esencial, se transfiere a continuación mediante una conjugación o transformación a la deseada cepa de *C. Glutamicum*. El método de la conjugación se ha descrito por ejemplo en la cita de Schäfer y colaboradores (*Applied and Environmental Microbiology* 60, 756-759 (1994)). Unos métodos para la transformación se han descrito por ejemplo en las citas de Thierbach y colaboradores (*Applied Microbiology and Biotechnology* 29, 356-362 (1988)), Dunican y Shivan (Bio/Technology 7, 1067-1070 (1989)) y Tauch y colaboradores (*FEMS Microbiology Letters* 123, 343-347 (1994)). Después de una recombinación homóloga mediante un suceso de cruzamiento (en inglés "cross-over"), la cepa resultante contiene una copia del gen heterólogo inclusive la del vector plasmídico en el deseado sitio del gen del cromosoma de *C. Glutamicum*, que se había determinado previamente en el plásmido a través de las secuencias homólogas de nucleótidos. Mediante un adecuado segundo suceso de cruzamiento, que da lugar a una excisión en el gen diana o respectivamente en la secuencia diana, se consigue la introducción de solamente el gen heterólogo. En este caso, junto al respectivo sitio del gen natural no queda ninguna secuencia de nucleótidos capacitadora de una replicación episómica en microorganismos, ninguna secuencia de nucleótidos capacitadora de una transposición ni ninguna secuencia de nucleótidos mediadora de una resistencia contra antibióticos.

Adicionalmente, para realizar la producción de L-aminoácidos puede ser ventajoso, de manera adicional a la expresión funcional de uno o varios de los genes heterólogos del metabolismo del glicerol, que se escogen entre el conjunto que se compone de *glpA*, *glpB*, *glpC*, *glpD*, *glpE*, *glpF*, *glpG*, *glpK*, *glpQ*, *glpT*, *glpX*, *gldA*, *dhaK*, *dhaL*, *dhaM*, *dhaR*, *fsa* y *talC*, de una o varias enzimas de las rutas metabólicas, que aumentan o disminuyen la formación del aminoácido deseado, tales como p.ej. las de la ruta de biosíntesis, de la glicólisis, de las reacciones anapleróticas, del ciclo del ácido cítrico, del ciclo del pentosa-fosfato, de la exportación de aminoácidos, y eventualmente de unas proteínas reguladoras o bien para reforzar, en particular sobreexpresar, o bien debilitar, en particular para disminuir la expresión.

El concepto de "reforzamiento" o respectivamente de "reforzar" describe dentro de este contexto el aumento de la actividad intracelular de una o varias enzimas o respectivamente proteínas en un microorganismo, que es(son) codificada(s) por el correspondiente ADN, mediante el recurso de que por ejemplo se aumenta el número de copias del gen o respectivamente de los genes, se utiliza un promotor fuerte o un gen o respectivamente un alelo, que

Mediante las medidas técnicas del reforzamiento, en particular de la sobreexpresión, se aumenta la actividad o concentración de la correspondiente proteína por lo general en por lo menos un 10 %, 25 %, 50 %, 75 %, 100 %, 150 %, 200 %, 300 %, 400 % o 500 %, como máximo hasta en un 1.000 % o 2.000 %, referido a la actividad o concentración de la proteína de tipo silvestre o respectivamente a la actividad o concentración de la proteína en el microorganismo de partida.

Para la consecución de una sobreexpresión se puede aumentar el número de copias de los correspondientes genes, o se puede mutar la región de promotor y de regulación o el sitio de fijación a ribosomas, que se encuentra situado secuencia arriba del gen estructural. De igual manera actúan unos casetes de expresión, que son incorporados secuencia arriba del gen estructural. Por medio de unos promotores inducibles es adicionalmente posible aumentar la expresión en el transcurso de la producción por fermentación de aminoácidos. Por medio de unas medidas técnicas para la prolongación de la duración de vida del ARNm (mensajero) se mejora asimismo la expresión. Por lo demás, mediante la evitación de la degradación de la proteína enzimática se refuerza asimismo la actividad enzimática. Los genes o las construcciones artificiales de genes pueden presentarse o bien en plásmidos con diferentes números de copias, o se pueden integrar en un cromosoma y amplificar. Alternativamente, se puede conseguir además una sobreexpresión de los correspondientes genes mediante una modificación de la composición de los medios y mediante la realización de la cultivación.

Instrucciones acerca de esto las puede encontrar un experto en la especialidad, entre otros lugares, en las citas de Martin y colaboradores (Bio/Technology 5, 137-146 (1987)), de Guerrero y colaboradores (Gene 138, 35-41 (1994)), de Tsuchiya y Morinaga (Bio/Technology 6, 428-430 (1988)), de Eikmanns y colaboradores (Gene 102, 93-98 (1991)), en el documento EP 0 472 869, en el documento US 4.601.893, en las citas de Schwarzer y Pühler (Bio/Technology 9, 84-87 (1991)), de Reinscheid y colaboradores (Applied and Environmental Microbiology 60, 126-132 (1994)), de LaBarre y colaboradores (Journal of Bacteriology 175, 1001-1007 (1993)), en el documento WO 96/15246, en la cita de Malumbres y colaboradores (Gene 134, 15-24 (1993)), en el documento de solicitud de patente japonesa JP-A-10-229891, en las citas de Jensen y Hammer (Biotechnology and Bioengineering 58, 191-195 (1998)), de Makrides (Microbiological Reviews 60:512-538 (1996)) y en los conocidos libros de texto de genética y biología molecular.

Para el reforzamiento, los genes son sobreexpresados por ejemplo con ayuda de plásmidos episómicos. Como plásmidos se adecuan aquéllos que son replicados en bacterias corineformes. Numerosos vectores plasmídicos conocidos, tales como p.ej. el pZ1 (Menkel y colaboradores, Applied and Environmental Microbiology (1989) 64: 549-554), el pEKEx1 (Eikmanns y colaboradores, Gene 102: 93-98 (1991)) o el pHS2-1 (Sonnen y colaboradores, Gene 107: 69-74 (1991)) se basan en los plásmidos crípticos pHM1519, pBL1 o pGA1. Otros vectores plasmídicos, tales como los que se basan en el pCG4 (documento de patente de los EE.UU. US-A 4.489.160) o el pNG2 (Serwold-Davis y colaboradores, FEMS Microbiology Letters 66, 119-124 (1990)) o el pAG1 (documento US-A 5.158.891), pueden ser utilizados de igual manera.

Por lo demás, también se adecuan aquellos vectores plasmídicos con cuya ayuda se puede usar el procedimiento de la amplificación de genes mediante una integración en el cromosoma, tal como ha sido descrito por ejemplo por Reinscheid y colaboradores (Applied and Environmental Microbiology 60, 126-132) (1994)) para realizar la duplicación o respectivamente la amplificación del operón de hom-thrB. En el caso de este método, el gen completo es clonado en un vector plasmídico, que se puede replicar en un anfitrión (típicamente en *E. coli*), pero no en *C. glutamicum*. Como vectores entran en cuestión, por ejemplo, el pSUP301 (Simon y colaboradores, Bio/Technology 1, 784-791 (1983)), el pK18mob o el pK19mob (Schäfer y colaboradores, Gene 145, 69-73 (1994)), el pGEM-T (Promega corporation, Madison, WI, EE.UU.), el pCR2.1-TOPO (Shuman (1994). Journal of Biological Chemistry 269:32678-84; documento US-A 5.487.993), el pCR®Blunt (de la entidad Invitrogen, Groningen, Holanda; Bernard y colaboradores, Journal of Molecular Biology, 234: 534-541 (1993)), el pEM1 (Schrumpf y colaboradores, 1991, Journal of Bacteriology 173:4510-4516) o el pBGS8 (Spratt y colaboradores, 1986, Gene 41: 337-342). El vector plasmídico, que contiene el gen que debe de ser amplificado, se transfiere a continuación mediante transformación a la deseada cepa de *C. glutamicum*. El método de la conjugación se ha descrito por ejemplo en la cita de Schäfer y colaboradores (Applied and Environmental Microbiology 60, 756-759 (1994)). Unos métodos para la transformación se han descrito, por ejemplo, en las citas de Thierbach y colaboradores (Applied Microbiology and Biotechnology 29, 356-362 (1988)), de Dunican y Shivan (Bio/Technology 7, 1067-1070 (1989)) y de Tauch y colaboradores (FEMS Microbiological Letters 123, 343-347 (1994)). Después de una recombinación homóloga mediante un suceso de cruzamiento ("cross-over"), la cepa resultante contiene por lo menos dos copias del pertinente gen.

Un método habitual para introducir una o varias copias adicionales de un gen de *C. glutamicum* en el cromosoma de la deseada bacteria corineforme, es el método descrito en los documentos WO03/014330 y WO03/040373 de la

duplicación del gen. Para esto, en el documento WO03/040373, la secuencia de nucleótidos del deseado ORF, gen o alelo, eventualmente inclusive sus señales de expresión y/o regulación, se aísla y se clonan dos copias, de manera preferida en disposición en tándem, en un vector no replicador para *C. glutamicum* tal como por ejemplo, el pK18mobsacB o pK19mobsacB (Jäger y colaboradores, *Journal of Bacteriology* 174: 5462-65 (1992)). El vector se transfiere a continuación mediante una transformación o conjugación a la deseada bacteria corineforme. Después de una recombinación homóloga mediante un primer suceso de cruzamiento, que da lugar a una integración, y un adecuado segundo suceso de cruzamiento, que da lugar a una excisión, en el gen diana o respectivamente en la secuencia diana se consigue la introducción de la copia adicional del gen. Después de esto, se aíslan aquellas bacterias, en las que están presentes dos copias del ORF, gen o alelo en el respectivo sitio natural en lugar de la copia singular presente originalmente. En este caso, en el respectivo sitio natural del gen no permanece ninguna secuencia de nucleótidos capacitadora de una replicación episómica en microorganismos, ninguna secuencia de nucleótidos capacitadora de una transposición ni ninguna secuencia de nucleótidos que medie por una resistencia frente a unos antibióticos.

El concepto de "debilitamiento" describe en este contexto la disminución o desconexión de la actividad intracelular de una o varias enzima(s) (proteína(s)) en un microorganismo, que es (son) codificada(s) por el correspondiente ADN, mediante el recurso de que, por ejemplo, se utiliza un promotor débil o se utiliza un gen o respectivamente alelo, que codifica una correspondiente enzima o respectivamente proteína con una baja actividad, o respectivamente se desactiva al gen o a la enzima (proteína) correspondiente, y eventualmente se combinan estas medidas técnicas.

Mediante las medidas técnicas del debilitamiento se reduce la actividad o concentración de la correspondiente proteína por lo general a 0 hasta 75 %, a 0 hasta 50 %, a 0 hasta 25 %, a 0 hasta 10 % o a 0 hasta 5 % de la actividad o concentración de la proteína de tipo silvestre, o respectivamente de la actividad o concentración de la proteína en el microorganismo de partida.

El aumento o la disminución de la concentración de proteínas es detectable mediante los métodos ya mencionados anteriormente (Hermann y colaboradores, *Electrophoresis*, 22:1712-23 (2001); Lohaus y Meyer (*Biospektrum* 5:32-39 (1998); Lottspeich, *Angewandte Chemie* 111: 2630-2647 (1999)); Wilson y colaboradores, *Journal of Bacteriology* 183:2151-2155 (2001)).

La utilización de genes endógenos se prefiere por regla general. Por el concepto de "genes endógenos" o de "secuencias endógenas de nucleótidos" se entienden los genes o respectivamente las secuencias de nucleótidos, que están presentes en la población de una especie.

Así, por ejemplo, para la producción de L-lisina, junto a la expresión de uno o varios de los genes heterólogos del metabolismo del glicerol (glycerol metabolism) que se escogen entre el conjunto que se compone de glpA, glpB, glpC, glpD, glpE, glpF, glpG, glpK, glpQ, glpT, glpX, gldA, dhaK, dhaL, dhaM, dhaR, fsa y talC, se puede(n) reforzar, en particular sobreexpresar, uno o varios de los genes, que se escogen entre el conjunto que se compone de los genes o alelos de la producción de lisina. Por el concepto de "genes o alelos de la producción de lisina" se entienden todos los marcos abiertos de lectura, genes o alelos, de manera preferida los marcos abiertos de lectura, genes o alelos endógenos, cuyo/a reforzamiento/sobreexpresión puede dar lugar a un mejoramiento de la producción de lisina.

A estos pertenecen, entre otros los siguientes genes o alelos: accBC, accDA, cstA, cysD, cysE, cysH, cysK, cysN, cysQ, dapA, dapB, dapC, dapD, dapE, dapF, ddh, dps, eno, gap, gap2, gdh, gnd, lysC, lysC^{FBP}, lysE, msiK, opcA, oxyR, ppc, ppc^{FBP}, pgk, pknA, pknB, pknD, pknG, ppsA, ptsH, ptsI, ptsM, pyc, pyc P458S, sigC, sigD, sigE, sigH, sigM, tal, thyA, tkt, tpi, zwa1, zwf y zwf A243T. Éstos se han recopilado e ilustrado en la Tabla 1.

Tabla 1

Genes y alelos para la producción de lisina

Nombre	Denominación de la enzima o proteína codificada	Referencia	N° de acceso
accBC	Acil-CoA carboxilasa EC 6.3.4.14 (acyl-CoA carboxylase)	Jäger y colaboradores Archives of Microbiology (1996) 166:76-82 EP1108790; WO0100805	U35023 AX123524 AX066441
accDA	Acetil-CoA carboxilasa EC 6.4.1.2 (acetyl-CoA carboxylase)	EP1055725 EP1108790 WO0100805	AX121013 AX066443
cstA	Proteína A de privación de carbono (carbon starvation protein A)	EP1108790 WO0100804	AX120811 AX066109

Nombre	Denominación de la enzima o proteína codificada	Referencia	Nº de acceso
cysD	Sulfato-adenilil transferasa subunidad II EC 2.7.7.4 (sulfate adenylyltransferase small chain)	EP1108790	AX123177
cysE	Serina acetil transferasa EC 2.3.1.30 (serine acetyltransferase)	EP1108790 WO0100843	AX122902 AX063961
cysH	3'-Fosfoadenilsulfato reductasa EC 1.8.99.4 (3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate reductase)	EP1108790 WO0100842	AX123178 AX066001
cysK	Cisteína sintasa EC 4.2.99.8 (cysteine synthase)	EP1108790 WO0100843	AX122901 AX063963
cysN	Sulfato-adenilil transferasa subunidad I EC 2.7.7.4 (sulfate adenylyltransferase)	EP1108790	AX123176 AX127152
cysQ	Proteína transportadora CysQ (transporter cysQ)	EP1108790 WO0100805	AX127145 AX066423
dapA	Dihidrodipicolinato sintasa EC 4.2.1.52 (dihydrodipicolinate synthase)	Bonnassie y colaboradores Nucleic Acids Research 18:6421 (1990) Pisabarro y colaboradores, Journal of Bacteriology 175:2743-2749 (1993) EP1108790 WO0100805 EP0435132 EP1067192 EP1067193	X53993 Z21502 AX123560 AX063773
dapB	Dihidrodipicolinato reductasa EC 1.3.1.26 (dihydrodipicolinate reductase)	EP1108790 WO0100843 EP1067192 EP1067193 Pisabarro y colaboradores, Journal of Bacteriology 175:2743-2749 (1993) JP1998215883 JP1997322774 JP 1997070291 JP1995075578	AX127149 AX063753 AX137723 AX137602 X67737 Z21502 E16749 E14520 E12773 E08900
dapC	N-Succinil-aminocetopimelato transaminasa EC 2.6.1.17 (N-succinyl-diaminopimelate transaminase)	EP1108790 WO0100843 EP1136559	AX127146 AX064219
dapD	Tetrahidrodipicolinato succinilasa EC. 2.3.1.117 (tetrahydrodipicolinate succinylase)	EP1108790 WO0100843 Wehrmann y colaboradores Journal of Bacteriology 180:3159-3165 (1998)	AX127146 AX063757 AJ004934
dapE	N-Succinil-diaminopimelato desuccinilasa EC 3.5.1.18 (N-succinyl-diaminopimelate desuccinylase)	EP1108790 WO0100843 Wehrmann y colaboradores Microbiology 140:3349-3356 (1994)	AX127146 AX063749 X81379
dapF	Diaminopimelato epimerasa EC 5.1.1.7 (diaminopimelate epimerase)	EP1108790 WO0100843 EP1085094	AX127149 AX063719 AX137620

Nombre	Denominación de la enzima o proteína codificada	Referencia	N° de acceso
ddh	Diaminopimelato deshidrogenasa EC 1.4.1.16 (diaminopimelate dehydrogenase)	EP1108790 WO0100843 Ishino y colaboradores, Nucleic Acids Research 15:3917-3917 (1987) JP1997322774 JP1993284970 Kim y colaboradores, Journal of Microbiology and Biotechnology 5:250-256 (1995)	AX127152 AX063759 Y00151 E14511 E05776 D87976
dps	Proteína de protección del ADN durante la privación (protection during starvation protein)	EP1108790	AX127153
eno	Enolasa EC 4.2.1.11 (enolase)	EP1108790 WO0100844 EP1090998 Hermann y colaboradores, Electrophoresis 19:3217-3221 (1998)	AX127146 AX064945 AX136862
gap	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa EC 1.2.1.12 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)	EP1108790 WO0100844 Eikmanns y colaboradores, Journal of Bacteriology 174:6076-6086 (1992)	AX127148 AX064941 X59403
gap2	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa EC 1.2.1.12 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 2)	EP1108790 WO0100844	AX127146 AX064939
gdh	Glutamato deshidrogenasa EC 1.4.1.4 (glutamate dehydrogenase)	EP1108790 WO0100844 Boermann y colaboradores, Molecular Microbiology 6:317- 326 (1992).	AX127150 AX063811 X59404 X72855
gnd	6-Fosfogluconato deshidrogenasa EC 1.1.1.44 (6-phosphogluconate dehydrogenase)	EP1108790 WO0100844	AX127147 AX121689 AX065125
lysC	Aspartato cinasa EC 2.7.2.4 (aspartate kinase)	EP1108790 WO0100844 Kalinowski y colaboradores, Molecular Microbiology 5:1197-204 (1991)	AX120365 AX063743 X57226
lysE	Proteína exportadora de lisina (lysine exporter protein)	EP1108790 WO0100843 Vrljic y colaboradores, Molecular Microbiology 22:815-826 (1996)	AX123539 AX123539 X96471
msiK	Proteína importadora de azúcar múltiple (multiple sugar import protein)	EP1108790	AX120892
opcA	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa subunidad (subunit of glucose-6-phosphate dehydrogenase)	WO0104325	AX076272
oxyR	Regulador de la transcripción (transcriptional regulator)	EP1108790	AX122198 AX127149
ppc ^{FBR}	Fosfoenolpiruvato carboxilasa resistente frente a la retroalimentación EC 4.1.1.31 (phosphoenolpyruvate carboxylase feedback resistant)	EP0723011 WO0100852	
ppc	Fosfoenolpiruvato carboxilasa EC 4.1.1.31 (phosphoenolpyruvate carboxylase)	EP1108790 O'Reagan y colaboradores, Gene 77(2):237-251 (1989)	AX127148 AX123554 M25819
pgk	Fosfoglicerato cinasa EC 2.7.2.3 (phosphoglycerate kinase)	EP1108790 WO0100844 Eikmanns, Journal of Bacteriology 174:6076-6086 (1992)	AX121838 AX127148 AX064943 X59403

Nombre	Denominación de la enzima o proteína codificada	Referencia	N° de acceso
pknA	Proteína cinasa A (protein kinase A)	EP1108790	AX120131 AX120085
pknB	Proteína cinasa B (protein kinase B)	EP1108790	AX120130 AX120085
pknD	Proteína cinasa D (protein kinase D)	EP1108790	AX127150 AX122469 AX122468
pknG	Proteína cinasa G (protein kinase G)	EP1108790	AX127152 AX123109
ppsA	Fosfoenol-piruvato sintasa EC 2.7.9.2 (phosphoenolpyruvate synthase)	EP1108790	AX127144 AX120700 AX122469
ptsH	Proteína H del sistema de la fosfotransferasa EC 2.7.1.69 (phosphotransferase system component H)	EP1108790 WO0100844	AX122210 AX127149 AX069154
ptsI	Enzima I del sistema de la fosfotransferasa EC 2.7.3.9 (phosphotransferase system enzyme I)	EP1108790	AX122206 AX127149
ptsM	Enzima II específica para la glucosa del sistema de la fosfotransferasa EC 2.7.1.69 (glucose-phosphotransferase-system enzyme II)	Lee y colaboradores, FEMS Microbiology Letters 119(1-2):137-145 (1994)	L18874
pyc	Piruvato carboxilasa EC 6.4.1.1 (pyruvate carboxylase)	WO9918228 Peters-Wendisch y colaboradores, Microbiology 144:915-927 (1998)	A97276 Y09548
pyc P458S	Piruvato carboxilasa EC 6.4.1.1 (pyruvate carboxylase) intercambio de aminoácidos P458S	EP1108790	
sigC	Factor sigma C alternativo de la función extracitoplasmática EC. 2.7.7.6 (extracytoplasmic function alternative sigma factor C)	EP1108790	AX120368 AX120085
sigD	Factor sigma D de la polimerasa de ARN EC 2.7.7.6 (RNA polymerase sigma factor)	EP1108790	AX120753 AX127144
sigE	Factor sigma E alternativo de la función extracitoplasmática EC 2.7.7.6 (extracytoplasmic function alternative sigma factor E)	EP1108790	AX127146 AX121325
sigH	Factor sigma H EC 2.7.7.6 (sigma factor SigH)	EP1108790	AX127145 AX120939
sigM	Factor sigma M EC 2.7.7.6 (sigma factor SigM)	EP1108790	AX123500 AX127153
ta1	Transaldolasa EC. 2.2.1.2 (transaldolase)	WO0104325	AX076272
thyA	Timidilato sintasa EC 2.1.1.45 (thymidylate synthase)	EP1108790	AX121026 AX127145
tkt	Transcetolasa EC 2.2.1.1 (transketolase)	Ikeda y colaboradores, NCBI	AB023377
tpi	Triosa-fosfato isomerasa EC 5.3.1.1 (triose-phosphate isomerase)	Eikmanns, Journal of Bacteriology 174:6076-6086 (1992)	X59403
zwa1	Factor de crecimiento celular 1 (growth factor 1)	EP1111062	AX133781

Nombre	Denominación de la enzima o proteína codificada	Referencia	N° de acceso
zwf	Glucosa-6-fosfato-1 deshidrogenasa EC 1.1.1.49 (glucose-6-phosphate-1-dehydrogenase)	EP1108790 WO0104325	AX121827 AX076272
zwf A213T	Glucosa-6-fosfato-1 deshidrogenasa EC 1.1.1.49 (glucose-6-phosphate-1-dehydrogenase) intercambio de aminoácidos A213T	EP1108790	

Además, para la producción de L-lisina puede ser ventajoso que, adicionalmente a la expresión funcional de uno o varios genes heterólogos del metabolismo del glicerol, que se escogen entre el conjunto que se compone de glpA, glpB, glpC, glpD, glpE, glpF, glpG, glpK, glpQ, glpT, glpX, gldA, dhaK, dhaL, dhaM, dhaR, fsa y talC, sean debilitados uno o varios de los genes, que se escogen entre el conjunto que se compone de los genes o alelos, que no son esenciales para el crecimiento o la producción de lisina, en particular que ellos sean desconectados o que su expresión sea reducida.

A éstos pertenecen, entre otros los siguientes marcos abiertos de lectura, genes o alelos: aecD, ccpA1, ccpA2, citA, citB, citE, fda, gluA, gluB, gluC, gluD, luxR, luxS, lysR1, lysR2, lysR3, menE, mqo, pck, pgi, poxB y zwa2, que son recopilados e ilustrados en la Tabla 2.

Tabla 2:

Genes y alelos, que no son esenciales para la producción de lisina

Nombre del gen	Denominación de la enzima o proteína codificada	Referencia	N° de acceso
aecD	Beta C-S liasa EC 2.6.1.1 (beta C-S lyase)	Rossol y colaboradores, Journal of Bacteriology 174(9):2968-77 (1992)	M89931
ccpA1	Proteína de control de catabolitos (catabolite control protein A1)	WO0100844 EP1108790 WO 02/18419	AX065267 AX127147
ccpA2	Proteína A2 de control de catabolitos (catabolite control protein A2)	WO0100844 EP1108790	AX065267 AX121594
citA	Cinasa del sensor CitA (sensor kinase CitA)	EP1108790	AX120161
citB	Regulador de la transcripción CitB (transcription regulator CitB)	EP1108790	AX120163
citE	Citrato liasa EC. 4.1.3.6 (citrate lyase)	WO0100844 EP1108790	AX065421 AX127146
fda	Fructosa-bisfosfato aldolasa EC 4.1.2.13 (fructose-1,6-bisphosphate aldolase)	von der Osten y colaboradores, Molecular Microbiology 3(11):1625-37 (1989)	X17313
gluA	Proteína de transporte de glutamato fijadora de ATP (glutamate transport ATP-binding protein)	Kronemeyer y colaboradores, Journal of Bacteriology 177(5):1152-8 (1995)	X81191
gluB	Proteína fijadora de glutamato (glutamate binding protein)	Kronemeyer y colaboradores, Journal of Bacteriology 177(5):1152-8 (1995)	X81191
gluC	Permeasa del transporte de glutamato (glutamate transport system permease)	Kronemeyer y colaboradores, Journal of Bacteriology 177(5):1152-8 (1995)	X81191
gluD	Permeasa del transporte de glutamato (glutamate transport system permease)	Kronemeyer y colaboradores, Journal of Bacteriology 177(5):1152-8 (1995)	X81191
luxR	Regulador de la transcripción LuxR (transcription regulator LuxR)	WO0100842 EP1108790	AX065953 AX123320
luxS	Histidina cinasa LuxS (histidine kinase LuxS)	EP1108790	AX123323 AX127153
lysR1	Regulador de la transcripción LysR1 (transcription regulator LysR1)	EP1108790	AX064673 AX127144
lysR2	activador de la transcripción LysR2 (transcription regulator LysR2)	EP1108790	AX123312

Nombre del gen	Denominación de la enzima o proteína codificada	Referencia	N° de acceso
lysR3	regulador de la transcripción LysR3 (transcription regulator LysR3)	WO0100842 EP1108790	AX065957 AX127150
menE	Ácido O-succinil-benzoico-CoA ligasa EC 6.2.1.26 (O-succinylbenzoate-CoA ligase)	WO0100843 EP1108790	AX064599 AX064193 AX127144
mgo	Malato-quinona oxidorreductasa (malate-quinone-oxidoreductase)	Molenaar y colaboradores, Eur. Journal of Biochemistry 1;254(2): 395-403 (1998)	AJ224946
pck	Fosfoenolpiruvato carboxi-cinasa (phosphoenolpyruvate carboxykinase)	WO0100844 EP-A-1094111	AJ269506 AX065053
pgi	Glucosa-6-fosfato-isomerasa EC 5.3.1.9 (glucose-6-phosphate isomerase)	EP1087015 EP1108790 WO 01/07626	AX136015 AX127146
poxB	Piruvato oxidasa EC 1.2.3.3 (pyruvate oxidase)	WO0100844 EP1096013	AX064959 AX137665
zwa2	Factor de crecimiento celular 2 (growth factor 2)	EP1106693 EP1108790	AX113822 AX127146

También pueden ser reforzados unos polinucleótidos endógenos de *Corynebacterium glutamicum* (n° de acceso NC 006958 o respectivamente NC 003450 (secuencia de gel genoma total)), que poseen una identidad de por lo menos un 45 % o de por lo menos un 50 % o de por lo menos un 60 % o de por lo menos un 70 % o de por lo menos un 80 % o de por lo menos un 90 %, de por lo menos un 91 %, de por lo menos un 92 %, de por lo menos un 93 %, de por lo menos un 94 %, de por lo menos un 95 %, de por lo menos un 96 %, de por lo menos un 97 %, de por lo menos un 98 % o de por lo menos un 99 % con respecto a las secuencias de nucleótidos representadas en las SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 19, SEQ ID No. 21, SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33 ó SEQ ID No. 35, y que tienen las funciones descritas. Las secuencias de nucleótidos conocidas a partir de los proyectos del genoma de los genes y de los ORFs pertenecen al estado de la técnica y pueden ser deducidas de diversas publicaciones, solicitudes de patentes así como del banco de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) de la National Library of Medicine (Bethesda, MD, EE.UU.),

Se encontró que las bacterias corineformes, también después de una sobreexpresión en común de los polinucleótidos endógenos glpK (con una identidad de un 58 % con respecto a la SEQ ID No. 15), que codifica la glicerol cinasa K dependiente de ATP, y glpD (con una identidad de un 47 % con respecto a la SEQ ID No. 7), que codifica la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa del metabolismo del glicerol, producen ciertos L-aminoácidos, en particular la L-lisina y el L-triptófano, a partir del glicerol como única fuente de carbono.

Para conseguir una mejor claridad de comprensión, las conocidas secuencias correspondientes a los genes tratados de *Corynebacterium glutamicum* se han representado bajo las SEQ ID No. 37 y SEQ ID No. 39.

Las bacterias conformes al invento se pueden cultivar continuamente - tal como se ha descrito por ejemplo en el documento PCT/EP2004/008882 - o discontinuamente en el procedimiento batch (cultivación por tandas) o en el procedimiento fed batch (procedimiento de afluencia) o en el procedimiento fed batch repeated (procedimiento de afluencia repetida) con el fin de efectuar la producción de L-aminoácidos. Una recopilación de tipo general acerca de métodos de cultivación conocidos se describe en el libro de texto de Chmiel (Bioprozesstechnik 1. Einführung in die Bioverfahrenstechnik [Técnica de bioprocesos 1. Introducción en la técnica de los bioprocesos] (editorial Gustav Fischer, Stuttgart, 1991)) o en el libro de texto de Storhas (Bioreaktoren und periphere Einrichtungen [Biorreactores y disposiciones periféricas] (editorial Vieweg, Braunschweig/Wiesbaden, 1994)).

El medio de cultivo que se ha de utilizar, debe de satisfacer de una manera apropiada las exigencias de las respectivas cepas. Unas descripciones de medios de cultivo de diferentes microorganismos están contenidas en el manual "Manual of Methods for General Bacteriology" [Manual de métodos para la bacteriología general] de la American Society for Bacteriology (Washington D.C., EE.UU., 1981).

Como fuente de carbono se utiliza el glicerol. Éste se puede utilizar individualmente o como una mezcla. Se pueden añadir unos azúcares y unos hidratos de carbono tales como p.ej. glucosa, sacarosa, lactosa, fructosa, maltosa, melazas, unos almidones y eventualmente unas celulosas, unos aceites y unas grasas, tales como p.ej. aceite de soja, aceite de girasol, aceite de cacahuete y grasa de coco, unos ácidos grasos, tales como p.ej. ácido palmítico, ácido esteárico y ácido linoleico, unos alcoholes, tales como p.ej. glicerol, metanol y etanol, y unos ácidos orgánicos, tales como p.ej. ácido acético, debiendo ser la proporción del glicerol por lo menos mayor o igual (\geq) que 10 %, o por lo menos ≥ 25 %, o por lo menos ≥ 50 %, o por lo menos ≥ 75 %, o por lo menos ≥ 90 %, o por lo menos ≥ 95 %, o por lo menos ≥ 99 %, de manera preferida de 100 % en peso.

Como fuente de nitrógeno se pueden utilizar unos compuestos orgánicos que contienen nitrógeno, tales como peptonas, un extracto de levadura, un extracto de carne, un extracto de malta, agua de maceración de maíz, harina de soja y urea, o unos compuestos inorgánicos, tales como sulfato de amonio, cloruro de amonio, fosfato de amonio, carbonato de amonio y nitrato de amonio. Las fuentes de nitrógeno se pueden utilizar individualmente o como una mezcla.

Como fuente de fósforo se pueden utilizar ácido fosfórico, dihidrógeno-fosfato de potasio o hidrógeno-fosfato de dipotasio o bien las correspondientes sales que contienen sodio. El medio de cultivo debe de contener por lo demás unas sales de metales, tales como p.ej. sulfato de magnesio o sulfato de hierro, que son necesarias para el crecimiento. Finalmente, de manera adicional a las sustancias más arriba mencionadas se pueden emplear unas sustancias de crecimiento esenciales, tales como unos aminoácidos y unas vitaminas. Al medio de cultivo se le pueden añadir además de ello unos adecuados compuestos precursores. Las mencionadas sustancias empleadas de partida se pueden añadir al cultivo en forma de una tanda única o se pueden alimentar de una manera apropiada durante la cultivación.

Para realizar el control del pH del cultivo se emplean de un modo apropiado unos compuestos de carácter básico, tales como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, amoníaco o respectivamente agua amoniacal, o unos compuestos de carácter ácido, tales como ácido fosfórico o ácido sulfúrico. Para la represión del desarrollo de espuma se pueden emplear unos agentes antiespumantes, tales como p.ej. unos ésteres poliglicólicos de ácidos grasos. Para la conservación de la estabilidad de los plásmidos, se le pueden añadir al medio unas apropiadas sustancias que actúan de un modo selectivo, tales como p.ej. unos antibióticos. Con el fin de mantener unas condiciones aerobias, se introducen en el cultivo oxígeno o unas mezclas gaseosas que contienen oxígeno, tales como por ejemplo aire. La temperatura del cultivo está situada normalmente en 20°C hasta 45°C y de manera preferida en 25°C hasta 40°C. Se continúa realizando la cultivación hasta que se haya formado una cantidad máxima del deseado producto. Este objetivo se alcanza normalmente en el transcurso de 10 horas hasta 160 horas. En el caso de los procedimientos continuos son posibles unos más largos períodos de tiempo de cultivación.

Unos métodos para la determinación de L-aminoácidos se conocen a partir del estado de la técnica. El análisis se puede efectuar, por ejemplo, tal como se ha descrito en la cita de Spackman y colaboradores (Analytical Chemistry [Química analítica], 30, (1958), 1.190) mediante una cromatografía con intercambio de aniones con una subsiguiente derivatización con ninhidrina, o él se puede efectuar mediante una HPLC (cromatografía de fase líquida de alto rendimiento) de fase inversa (en inglés "reversed phase HPLC"), tal como se ha descrito en la cita de Lindroth y colaboradores (Analytical Chemistry (1979) 51: 1167-1174).

LISTA DE SECUENCIAS:

<110> Evonik Degussa GmbH
Forschungszentrum Jülich GmbH

<120> Procedimiento para la producción por fermentación de L-aminoácidos mediante utilización de unas bacterias corineformes, en las cuales son expresados heterológamente los genes del metabolismo del glicerol

<130> 2005P10064 WE01

<160> 40

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 1629

<212> ADN

<213> Escherichia coli

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1629)

<223> región codificadora de glpA

<400> 1

atg aaa act cgc gac tgc caa tca agt gac gtg att atc att ggc ggc	48
Met Lys Thr Arg Asp Ser Gln Ser Ser Asp Val Ile Ile Ile Gly Gly	
1 5 10 15	
ggc gca acg gga gcc ggg att gcc cgc gac tgt gcc ctg cgc ggg ctg	96
Gly Ala Thr Gly Ala Gly Ile Ala Arg Asp Cys Ala Leu Arg Gly Leu	
20 25 30	
cgc gtg att ttg gtt gag cgc cac gac atc gca acc ggt gcc acc ggg	144
Arg Val Ile Leu Val Glu Arg His Asp Ile Ala Thr Gly Ala Thr Gly	
35 40 45	
cgt aac cac ggc ctg ctg cac agc ggt gcg cgc tat gcg gta acc gat	192
Arg Asn His Gly Leu Leu His Ser Gly Ala Arg Tyr Ala Val Thr Asp	
50 55 60	
gcg gaa tgc gcc cgc gaa tgc att agt gaa aac cag atc ctg aaa cgc	240
Ala Glu Ser Ala Arg Glu Cys Ile Ser Glu Asn Gln Ile Leu Lys Arg	
65 70 75 80	
att gca cgt cac tgc gtt gaa cca acc aac ggc ctg ttt atc acc ctg	288
Ile Ala Arg His Cys Val Glu Pro Thr Asn Gly Leu Phe Ile Thr Leu	
85 90 95	
cgc gaa gat gac ctc tcc ttc cag gcc act ttt att cgc gcc tgc gaa	336
Pro Glu Asp Asp Leu Ser Phe Gln Ala Thr Phe Ile Arg Ala Cys Glu	
100 105 110	
gaa gca ggg atc agc gca gaa got ata gac cgc cag caa gcg cgc att	384
Glu Ala Gly Ile Ser Ala Glu Ala Ile Asp Pro Gln Gln Ala Arg Ile	
115 120 125	

atc gaa cct gcc gtt aac ccg gca ctg att ggc gcg gtg aaa gtt ccg Ile Glu Pro Ala Val Asn Pro Ala Leu Ile Gly Ala Val Lys Val Pro 130 135 140	432
gat ggc acc gtt gat cca ttt cgt ctg acc gca gca aac atg ctg gat Asp Gly Thr Val Asp Pro Phe Arg Leu Thr Ala Ala Asn Met Leu Asp 145 150 155 160	480
gcc aaa gaa cac ggt gcc gtt atc ctt acc gct cat gaa gtc acg ggg Ala Lys Glu His Gly Ala Val Ile Leu Thr Ala His Glu Val Thr Gly 165 170 175	528
ctg att cgt gaa ggc gcg acg gtg tgc ggt gtt cgt gta cgt aac cat Leu Ile Arg Glu Gly Ala Thr Val Cys Gly Val Arg Val Arg Asn His 180 185 190	576
ctc acc ggc gaa act cag gcc ctt cat gca cct gtc gtg gtt aat gcc Leu Thr Gly Glu Thr Gln Ala Leu His Ala Pro Val Val Val Asn Ala 195 200 205	624
gct ggg atc tgg ggg caa cac att gcc gaa tat gcc gat ctg cgc att Ala Gly Ile Trp Gly Gln His Ile Ala Glu Tyr Ala Asp Leu Arg Ile 210 215 220	672
cgc atg ttc ccg gcg aaa gga tgc ctg ctg atc atg gat cac cgc att Arg Met Phe Pro Ala Lys Gly Ser Leu Leu Ile Met Asp His Arg Ile 225 230 235 240	720
aac cag cat gtg atc aac cgc tgc cgt aaa cct tcc gac gcc gat att Asn Gln His Val Ile Asn Arg Cys Arg Lys Pro Ser Asp Ala Asp Ile 245 250 255	768
ctg gtg cct gcc gat acc att tgc ctg att ggt acc acc tct tta cgt Leu Val Pro Gly Asp Thr Ile Ser Leu Ile Gly Thr Thr Ser Leu Arg 260 265 270	816
att gat tac aac gag att gac gat aat cga gtg acg gca gaa gag gtt Ile Asp Tyr Asn Glu Ile Asp Asp Asn Arg Val Thr Ala Glu Glu Val 275 280 285	864
gat att ctg ctg cgt gaa ggg gaa aaa ctg gcc ccc gtg atg gcg aaa Asp Ile Leu Leu Arg Glu Gly Glu Lys Leu Ala Pro Val Met Ala Lys 290 295 300	912
acg cgc att ttg cgg gcc tat tct ggc gtg cgc ccg ctg gtt gcc agc Thr Arg Ile Leu Arg Ala Tyr Ser Gly Val Arg Pro Leu Val Ala Ser 305 310 315 320	960
gat gac gac ccg agc gga cgt aac gtc agc cgt ggc atc gtg ctg ctc Asp Asp Asp Pro Ser Gly Arg Asn Val Ser Arg Gly Ile Val Leu Leu 325 330 335	1008
gac cat gct gaa cgc gat ggt ctg gac gga ttt atc acc atc acc ggt Asp His Ala Glu Arg Asp Gly Leu Asp Gly Phe Ile Thr Ile Thr Gly 340 345 350	1056
ggc aaa ctg atg acc tat cgg ctg atg gct gaa tgg gct acc gac gcg Gly Lys Leu Met Thr Tyr Arg Leu Met Ala Glu Trp Ala Thr Asp Ala 355 360 365	1104
gta tgc cgc aaa ctg ggc aac acg cgc ccc tgt acg act gcc gat ctg	1152

```

Val Cys Arg Lys Leu Gly Asn Thr Arg Pro Cys Thr Thr Ala Asp Leu
 370                               375                               380

gca ctg cct ggt tca caa gaa ccc gct gaa gtt acc ttg cgt aaa gtc      1200
Ala Leu Pro Gly Ser Gln Glu Pro Ala Glu Val Thr Leu Arg Lys Val
 385                               390                               395                               400

atc tcc ctg cct gcc cgg ctg cgc ggt tct gcg gtt tat cgt cat ggc      1248
Ile Ser Leu Pro Ala Pro Leu Arg Gly Ser Ala Val Tyr Arg His Gly
                               405                               410                               415

gat cgc acg cct gcc tgg ctg agc gaa ggc cgt ctg cac cgt agc ctg      1296
Asp Arg Thr Pro Ala Trp Leu Ser Glu Gly Arg Leu His Arg Ser Leu
                               420                               425                               430

gta tgt gag tgc gaa gcg gta act gcg ggt gaa gtg cag tac gcg gta      1344
Val Cys Glu Cys Glu Ala Val Thr Ala Gly Glu Val Gln Tyr Ala Val
 435                               440                               445

gaa aat tta aac gtt aat agc ctg ctg gat tta cgc cgt cgt acc cgt      1392
Glu Asn Leu Asn Val Asn Ser Leu Leu Asp Leu Arg Arg Arg Thr Arg
 450                               455                               460

gtg ggg atg ggc acc tgc cag ggc gaa ctc tgc gcc tgc cgc gct gcc      1440
Val Gly Met Gly Thr Cys Gln Gly Glu Leu Cys Ala Cys Arg Ala Ala
 465                               470                               475                               480

gga ctg ctg caa cgt ttt aac gtc acg acg tcc gcg caa tct atc gag      1488
Gly Leu Leu Gln Arg Phe Asn Val Thr Thr Ser Ala Gln Ser Ile Glu
                               485                               490                               495

caa ctt tcc acc ttc ctt aac gaa cgc tgg aaa ggc gtg caa ccc atc      1536
Gln Leu Ser Thr Phe Leu Asn Glu Arg Trp Lys Gly Val Gln Pro Ile
                               500                               505                               510

gcc tgg gga gat gca ctg cgc gaa agc gaa ttt acc cgc tgg gtt tat      1584
Ala Trp Gly Asp Ala Leu Arg Glu Ser Glu Phe Thr Arg Trp Val Tyr
 515                               520                               525

cag gga ttg tgt ggt ctg gag aag gag cag aaa gat gcg ctt tga      1629
Gln Gly Leu Cys Gly Leu Glu Lys Glu Gln Lys Asp Ala Leu
 530                               535                               540

```

<210> 2

<211> 542

<212> PRT

5 <213> Escherichia coli

<400> 2

```

Met Lys Thr Arg Asp Ser Gln Ser Ser Asp Val Ile Ile Ile Gly Gly
 1                               5                               10                               15

Gly Ala Thr Gly Ala Gly Ile Ala Arg Asp Cys Ala Leu Arg Gly Leu
 20                               25                               30

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

```

ES 2 529 107 T3

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

ES 2 529 107 T3

290		295		300
Thr Arg Ile Leu Arg Ala Tyr Ser Gly Val Arg Pro Leu Val Ala Ser				
305		310		315 320
Asp Asp Asp Pro Ser Gly Arg Asn Val Ser Arg Gly Ile Val Leu Leu				
	325		330	335
Asp His Ala Glu Arg Asp Gly Leu Asp Gly Phe Ile Thr Ile Thr Gly				
	340		345	350
Gly Lys Leu Met Thr Tyr Arg Leu Met Ala Glu Trp Ala Thr Asp Ala				
	355		360	365
Val Cys Arg Lys Leu Gly Asn Thr Arg Pro Cys Thr Thr Ala Asp Leu				
	370		375	380
Ala Leu Pro Gly Ser Gln Glu Pro Ala Glu Val Thr Leu Arg Lys Val				
385		390		395 400
Ile Ser Leu Pro Ala Pro Leu Arg Gly Ser Ala Val Tyr Arg His Gly				
	405		410	415
Asp Arg Thr Pro Ala Trp Leu Ser Glu Gly Arg Leu His Arg Ser Leu				
	420		425	430
Val Cys Glu Cys Glu Ala Val Thr Ala Gly Glu Val Gln Tyr Ala Val				
	435		440	445
Glu Asn Leu Asn Val Asn Ser Leu Leu Asp Leu Arg Arg Arg Thr Arg				
	450		455	460
Val Gly Met Gly Thr Cys Gln Gly Glu Leu Cys Ala Cys Arg Ala Ala				
465		470		475 480
Gly Leu Leu Gln Arg Phe Asn Val Thr Thr Ser Ala Gln Ser Ile Glu				
	485		490	495
Gln Leu Ser Thr Phe Leu Asn Glu Arg Trp Lys Gly Val Gln Pro Ile				
	500		505	510
Ala Trp Gly Asp Ala Leu Arg Glu Ser Glu Phe Thr Arg Trp Val Tyr				
	515		520	525
Gln Gly Leu Cys Gly Leu Glu Lys Glu Gln Lys Asp Ala Leu				
	530		535	540

<210> 3
 <211> 1260
 <212> ADN
 <213> Escherichia coli

5

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (1260)
 <223> región codificadora de glpB

10

```

<400> 3
atg cgc ttt gat act gtc att atg ggc ggc ggc ctc gcc gga tta ctc      48
Met Arg Phe Asp Thr Val Ile Met Gly Gly Gly Leu Ala Gly Leu Leu
1          5          10          15

tgt ggc ctg caa ctg caa aaa cac ggc ctg cgc tgt gcc att gtc act      96
Cys Gly Leu Gln Leu Gln Lys His Gly Leu Arg Cys Ala Ile Val Thr
          20          25          30

cgt ggt caa agc gca ctg cat ttc tca tcc gga tcg ctg gat ttg ctg     144
Arg Gly Gln Ser Ala Leu His Phe Ser Ser Gly Ser Leu Asp Leu Leu
          35          40          45

agc cat ctg cca gat ggt caa ccg gtg aca gac att cac agt gga ctg     192
Ser His Leu Pro Asp Gly Gln Pro Val Thr Asp Ile His Ser Gly Leu
          50          55          60

gaa tct ttg cgt cag cag gca cca gcc cat cct tac tcc ctt ctc gag     240
Glu Ser Leu Arg Gln Gln Ala Pro Ala His Pro Tyr Ser Leu Leu Glu
65          70          75          80

cca caa cgc gtg ctc gat ctc gct tgc cag gcg cag gca tta atc gct     288
Pro Gln Arg Val Leu Asp Leu Ala Cys Gln Ala Gln Ala Leu Ile Ala
          85          90          95

gaa agc ggt gcg caa ttg cag ggc agc gta gaa ctt gct cac cag cgg     336
Glu Ser Gly Ala Gln Leu Gln Gly Ser Val Glu Leu Ala His Gln Arg
          100          105          110

gtt acg ccg ctc ggc act ctg cgc tct acc tgg cta agt tcg cca gaa     384
Val Thr Pro Leu Gly Thr Leu Arg Ser Thr Trp Leu Ser Ser Pro Glu
          115          120          125

gtc ccc gtc tgg ccg ctg ccc gcg aag aaa ata tgt gta gtg gga att     432
Val Pro Val Trp Pro Leu Pro Ala Lys Lys Ile Cys Val Val Gly Ile
          130          135          140

agc ggc ctg atg gat ttt cag gcg cac ctt gcg gca gct tcg ttg cgt     480
Ser Gly Leu Met Asp Phe Gln Ala His Leu Ala Ala Ala Ser Leu Arg
          145          150          155          160

gaa ctc ggc ctt gcc gtt gaa acc gca gaa ata gag ctg ccg gaa ctg     528
Glu Leu Gly Leu Ala Val Glu Thr Ala Glu Ile Glu Leu Pro Glu Leu
          165          170          175

gat gtg ctg cgc aat aac gcc acc gaa ttt cgc gcg gtg aat atc gcc     576
Asp Val Leu Arg Asn Asn Ala Thr Glu Phe Arg Ala Val Asn Ile Ala
          180          185          190

cgt ttc ctt gat aat gaa gaa aac tgg ccg ctg tta ctt gat gcg ctt     624
    
```

Arg	Phe	Leu	Asp	Asn	Glu	Glu	Asn	Trp	Pro	Leu	Leu	Leu	Asp	Ala	Leu	
		195					200					205				
att	cct	gtc	gcc	aat	acc	tgc	gaa	atg	atc	ctg	atg	ccc	gcc	tgc	ttc	672
Ile	Pro	Val	Ala	Asn	Thr	Cys	Glu	Met	Ile	Leu	Met	Pro	Ala	Cys	Phe	
	210					215					220					
ggt	ctg	gcc	gat	gac	aaa	ctg	tgg	cgt	tgg	ttg	aat	gaa	aaa	cta	cct	720
Gly	Leu	Ala	Asp	Asp	Lys	Leu	Trp	Arg	Trp	Leu	Asn	Glu	Lys	Leu	Pro	
225					230					235					240	
tgt	tca	ctg	atg	ctt	ttg	cca	acg	ctg	cgg	cct	tcc	gtg	ctg	ggc	att	768
Cys	Ser	Leu	Met	Leu	Leu	Pro	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Val	Leu	Gly	Ile	
				245					250					255		
cgt	ctg	caa	aac	cag	tta	cag	cgc	cag	ttt	gtg	cgc	cag	ggt	ggc	gtg	816
Arg	Leu	Gln	Asn	Gln	Leu	Gln	Arg	Gln	Phe	Val	Arg	Gln	Gly	Gly	Val	
			260				265						270			
tgg	atg	cgg	ggc	gat	gaa	gtg	aaa	aaa	gtg	acc	tgt	aaa	aat	ggc	gta	864
Trp	Met	Pro	Gly	Asp	Glu	Val	Lys	Lys	Val	Thr	Cys	Lys	Asn	Gly	Val	
	275						280					285				
gtg	aac	gaa	atc	tgg	acc	cgc	aat	cac	gcc	gat	att	cgg	cta	cgt	cca	912
Val	Asn	Glu	Ile	Trp	Thr	Arg	Asn	His	Ala	Asp	Ile	Pro	Leu	Arg	Pro	
	290					295					300					
cgt	ttc	gcg	gtt	ctc	gcc	agc	ggc	agt	ttc	ttt	agt	ggc	gga	ctg	gta	960
Arg	Phe	Ala	Val	Leu	Ala	Ser	Gly	Ser	Phe	Phe	Ser	Gly	Gly	Leu	Val	
305				310					315					320		
gcg	gaa	cgt	aac	ggc	att	cga	gag	cgg	att	ctc	ggc	ctt	gat	gtg	cta	1008
Ala	Glu	Arg	Asn	Gly	Ile	Arg	Glu	Pro	Ile	Leu	Gly	Leu	Asp	Val	Leu	
				325					330					335		
caa	acc	gcc	acg	cgg	ggt	gaa	tgg	tat	aag	gga	gat	ttt	ttt	gcg	cgg	1056
Gln	Thr	Ala	Thr	Arg	Gly	Glu	Trp	Tyr	Lys	Gly	Asp	Phe	Phe	Ala	Pro	
			340				345						350			
caa	cgg	tgg	cag	cag	ttc	ggt	gta	acc	act	gat	gag	acg	cta	cgc	cgg	1104
Gln	Pro	Trp	Gln	Gln	Phe	Gly	Val	Thr	Thr	Asp	Glu	Thr	Leu	Arg	Pro	
	355						360					365				
tca	cag	gca	ggg	caa	acc	att	gaa	aac	ctg	ttt	gcc	atc	ggt	tcg	gtg	1152
Ser	Gln	Ala	Gly	Gln	Thr	Ile	Glu	Asn	Leu	Phe	Ala	Ile	Gly	Ser	Val	
	370					375					380					
ctg	ggc	gga	ttt	gat	ccc	atc	gcc	cag	gga	tgc	ggc	ggc	ggt	gtt	tgt	1200
Leu	Gly	Gly	Phe	Asp	Pro	Ile	Ala	Gln	Gly	Cys	Gly	Gly	Gly	Val	Cys	
385					390					395				400		
gcc	gtc	agt	gct	tta	cat	gcc	gct	caa	cag	att	gcc	caa	cgc	gca	gga	1248
Ala	Val	Ser	Ala	Leu	His	Ala	Ala	Gln	Gln	Ile	Ala	Gln	Arg	Ala	Gly	
				405					410					415		
ggc	caa	caa	tga													1260
Gly	Gln	Gln														

<210> 4
 <211> 419
 <212> PRT
 <213> Escherichia coli

5

<400> 4
 Met Arg Phe Asp Thr Val Ile Met Gly Gly Gly Leu Ala Gly Leu Leu
 1 5 10 15
 Cys Gly Leu Gln Leu Gln Lys His Gly Leu Arg Cys Ala Ile Val Thr
 20 25 30
 Arg Gly Gln Ser Ala Leu His Phe Ser Ser Gly Ser Leu Asp Leu Leu
 35 40 45
 Ser His Leu Pro Asp Gly Gln Pro Val Thr Asp Ile His Ser Gly Leu
 50 55 60
 Glu Ser Leu Arg Gln Gln Ala Pro Ala His Pro Tyr Ser Leu Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Gln Arg Val Leu Asp Leu Ala Cys Gln Ala Gln Ala Leu Ile Ala
 85 90 95
 Glu Ser Gly Ala Gln Leu Gln Gly Ser Val Glu Leu Ala His Gln Arg
 100 105 110
 Val Thr Pro Leu Gly Thr Leu Arg Ser Thr Trp Leu Ser Ser Pro Glu
 115 120 125
 Val Pro Val Trp Pro Leu Pro Ala Lys Lys Ile Cys Val Val Gly Ile
 130 135 140
 Ser Gly Leu Met Asp Phe Gln Ala His Leu Ala Ala Ala Ser Leu Arg
 145 150 155 160
 Glu Leu Gly Leu Ala Val Glu Thr Ala Glu Ile Glu Leu Pro Glu Leu
 165 170 175
 Asp Val Leu Arg Asn Asn Ala Thr Glu Phe Arg Ala Val Asn Ile Ala
 180 185 190
 Arg Phe Leu Asp Asn Glu Glu Asn Trp Pro Leu Leu Leu Asp Ala Leu
 195 200 205
 Ile Pro Val Ala Asn Thr Cys Glu Met Ile Leu Met Pro Ala Cys Phe
 210 215 220
 Gly Leu Ala Asp Asp Lys Leu Trp Arg Trp Leu Asn Glu Lys Leu Pro

ES 2 529 107 T3

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

<210> 5
 <211> 1191
 <212> ADN
 <213> Escherichia coli

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1191)

<223> región codificadora de glpC

5

<400> 5

atg aat gac acc agc ttc gaa aac tgc att aag tgc acc gtc tgc acc	48
Met Asn Asp Thr Ser Phe Glu Asn Cys Ile Lys Cys Thr Val Cys Thr	
1 5 10 15	
acc gcc tgc ccg gtg agc cgg gtg aat ccc ggt tat cca ggg cca aaa	96
Thr Ala Cys Pro Val Ser Arg Val Asn Pro Gly Tyr Pro Gly Pro Lys	
20 25 30	
caa gcc ggg ccg gat ggc gag cgt ctg cgt ttg aaa gat ggc gca ctg	144
Gln Ala Gly Pro Asp Gly Glu Arg Leu Arg Leu Lys Asp Gly Ala Leu	
35 40 45	
tat gac gag gcg ctg aaa tat tgc atc aac tgc aaa cgt tgt gaa gtc	192
Tyr Asp Glu Ala Leu Lys Tyr Cys Ile Asn Cys Lys Arg Cys Glu Val	
50 55 60	
gcc tgc ccg tcc gat gtg aag att ggc gat att atc cag cgc gcg cgg	240
Ala Cys Pro Ser Asp Val Lys Ile Gly Asp Ile Ile Gln Arg Ala Arg	
65 70 75 80	
gcg aaa tat gac acc acg cgc ccg tgc ctg cgt aat ttt gtg ttg agt	288
Ala Lys Tyr Asp Thr Thr Arg Pro Ser Leu Arg Asn Phe Val Leu Ser	
85 90 95	
cat acc gac ctg atg ggt agc gtt tcc acg ccg ttc gca cca atc gtc	336
His Thr Asp Leu Met Gly Ser Val Ser Thr Pro Phe Ala Pro Ile Val	
100 105 110	
aac acc gct acc tcg ctg aaa ccg gtg cgg cag ctg ctt gat gcg gcg	384
Asn Thr Ala Thr Ser Leu Lys Pro Val Arg Gln Leu Leu Asp Ala Ala	
115 120 125	
tta aaa atc gat cat cgc cgc acg cta ccg aaa tac tcc ttc ggc acg	432
Leu Lys Ile Asp His Arg Arg Thr Leu Pro Lys Tyr Ser Phe Gly Thr	
130 135 140	
ttc cgt cgc tgg tat cgc agc gtg gcg gct cag caa gca caa tat aaa	480
Phe Arg Arg Trp Tyr Arg Ser Val Ala Ala Gln Gln Ala Gln Tyr Lys	
145 150 155 160	
gac cag gtc gct ttc ttt cac ggc tgc ttc gtt aac tac aac cat ccg	528
Asp Gln Val Ala Phe Phe His Gly Cys Phe Val Asn Tyr Asn His Pro	
165 170 175	
cag tta ggt aaa gat tta att aaa gtg ctc aac gca atg ggt acc ggt	576
Gln Leu Gly Lys Asp Leu Ile Lys Val Leu Asn Ala Met Gly Thr Gly	
180 185 190	
gta caa ctg ctc agc aaa gaa aaa tgc tgc ggc gta ccg cta atc gcc	624
Val Gln Leu Leu Ser Lys Glu Lys Cys Cys Gly Val Pro Leu Ile Ala	
195 200 205	
aac ggc ttt acc gat aaa gca cgc aaa cag gca att acg aat gta gag	672
Asn Gly Phe Thr Asp Lys Ala Arg Lys Gln Ala Ile Thr Asn Val Glu	
210 215 220	
tcg atc cgc gaa gct gtg gga gta aaa ggc att ccg gtg att gcc acc	720
Ser Ile Arg Glu Ala Val Gly Val Lys Gly Ile Pro Val Ile Ala Thr	
225 230 235 240	
tcc tca acc tgt aca ttt gcc ctg cgc gac gaa tac ccg gaa gtg ctg	768

Ser Ser Thr Cys Thr Phe Ala Leu Arg Asp Glu Tyr Pro Glu Val Leu
245 250 255

aat gtc gac aac aaa ggc ttg cgc gat cat atc gaa ctg gca acc cgc 816
Asn Val Asp Asn Lys Gly Leu Arg Asp His Ile Glu Leu Ala Thr Arg
260 265 270

tgg ctg tgg cgc aag ctg gac gaa ggc aaa acg tta ccg ctg aaa ccg 864
Trp Leu Trp Arg Lys Leu Asp Glu Gly Lys Thr Leu Pro Leu Lys Pro
275 280 285

ctg ccg ctg aaa gtg gtt tat cac act ccg tgc cat atg gaa aaa atg 912
Leu Pro Leu Lys Val Val Tyr His Thr Pro Cys His Met Glu Lys Met
290 295 300

ggc tgg acg ctc tac acc ctg gag ctg ttg cgt aac atc ccg ggc ctt 960
Gly Trp Thr Leu Tyr Thr Leu Glu Leu Leu Arg Asn Ile Pro Gly Leu
305 310 315 320

gag tta acg gtg ctg gat tcc cag tgc tgc ggt att gcg ggt act tac 1008
Glu Leu Thr Val Leu Asp Ser Gln Cys Cys Gly Ile Ala Gly Thr Tyr
325 330 335

ggt ttc aaa aaa gag aac tac ccc acc tca caa gcc atc ggc gca cca 1056
Gly Phe Lys Lys Glu Asn Tyr Pro Thr Ser Gln Ala Ile Gly Ala Pro
340 345 350

ctg ttc cgc cag ata gaa gaa agc ggc gca gat ctg gtg gtc acc gac 1104
Leu Phe Arg Gln Ile Glu Glu Ser Gly Ala Asp Leu Val Val Thr Asp
355 360 365

tgc gaa acc tgt aaa tgg cag att gag atg tcc aca agt ctt cgc tgc 1152
Cys Glu Thr Cys Lys Trp Gln Ile Glu Met Ser Thr Ser Leu Arg Cys
370 375 380

gaa cat ccg att acg cta ctg gcc cag gcg ctg gct taa 1191
Glu His Pro Ile Thr Leu Leu Ala Gln Ala Leu Ala
385 390 395

<210> 6
5 <211> 396
<212> PRT
<213> Escherichia coli

<400> 6
Met Asn Asp Thr Ser Phe Glu Asn Cys Ile Lys Cys Thr Val Cys Thr
1 5 10 15

Thr Ala Cys Pro Val Ser Arg Val Asn Pro Gly Tyr Pro Gly Pro Lys
20 25 30

Gln Ala Gly Pro Asp Gly Glu Arg Leu Arg Leu Lys Asp Gly Ala Leu
35 40 45

Tyr Asp Glu Ala Leu Lys Tyr Cys Ile Asn Cys Lys Arg Cys Glu Val
50 55 60

ES 2 529 107 T3

Ala Cys Pro Ser Asp Val Lys Ile Gly Asp Ile Ile Gln Arg Ala Arg
65 70 75 80

Ala Lys Tyr Asp Thr Thr Arg Pro Ser Leu Arg Asn Phe Val Leu Ser
85 90 95

His Thr Asp Leu Met Gly Ser Val Ser Thr Pro Phe Ala Pro Ile Val
100 105 110

Asn Thr Ala Thr Ser Leu Lys Pro Val Arg Gln Leu Leu Asp Ala Ala
115 120 125

Leu Lys Ile Asp His Arg Arg Thr Leu Pro Lys Tyr Ser Phe Gly Thr
130 135 140

Phe Arg Arg Trp Tyr Arg Ser Val Ala Ala Gln Gln Ala Gln Tyr Lys
145 150 155 160

Asp Gln Val Ala Phe Phe His Gly Cys Phe Val Asn Tyr Asn His Pro
165 170 175

Gln Leu Gly Lys Asp Leu Ile Lys Val Leu Asn Ala Met Gly Thr Gly
180 185 190

Val Gln Leu Leu Ser Lys Glu Lys Cys Cys Gly Val Pro Leu Ile Ala
195 200 205

Asn Gly Phe Thr Asp Lys Ala Arg Lys Gln Ala Ile Thr Asn Val Glu
210 215 220

Ser Ile Arg Glu Ala Val Gly Val Lys Gly Ile Pro Val Ile Ala Thr
225 230 235 240

Ser Ser Thr Cys Thr Phe Ala Leu Arg Asp Glu Tyr Pro Glu Val Leu
245 250 255

Asn Val Asp Asn Lys Gly Leu Arg Asp His Ile Glu Leu Ala Thr Arg
260 265 270

Trp Leu Trp Arg Lys Leu Asp Glu Gly Lys Thr Leu Pro Leu Lys Pro
275 280 285

Leu Pro Leu Lys Val Val Tyr His Thr Pro Cys His Met Glu Lys Met
290 295 300

Gly Trp Thr Leu Tyr Thr Leu Glu Leu Leu Arg Asn Ile Pro Gly Leu

305 310 315 320

Glu Leu Thr Val Leu Asp Ser Gln Cys Cys Gly Ile Ala Gly Thr Tyr
325 330 335

Gly Phe Lys Lys Glu Asn Tyr Pro Thr Ser Gln Ala Ile Gly Ala Pro
340 345 350

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

Cys Glu Thr Cys Lys Trp Gln Ile Glu Met Ser Thr Ser Leu Arg Cys
370 375 380

Glu His Pro Ile Thr Leu Leu Ala Gln Ala Leu Ala
385 390 395

<210> 7

<211> 1506

<212> ADN

5 <213> Escherichia coli

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1506)

10 <223> región codificadora de glpD

<400> 7

atg gaa acc aaa gat ctg att gtg ata ggg ggc ggc atc aat ggt gct 48
Met Glu Thr Lys Asp Leu Ile Val Ile Gly Gly Gly Ile Asn Gly Ala
1 5 10 15

ggg atc ggc gca gac gcc gct gga cgc ggt tta tcc gtg ctg atg ctg 96
Gly Ile Ala Ala Asp Ala Ala Gly Arg Gly Leu Ser Val Leu Met Leu
20 25 30

gag ggc cag gat ctc gct tgc ggc acc tct tcc gcc agt tca aaa ctc 144
Glu Ala Gln Asp Leu Ala Cys Ala Thr Ser Ser Ala Ser Ser Lys Leu
35 40 45

att cac ggt ggc ctg cgc tac ctt gag cac tat gaa ttc cgc ctg gtc 192
Ile His Gly Gly Leu Arg Tyr Leu Glu His Tyr Glu Phe Arg Leu Val
50 55 60

agc gag ggc ctg gct gaa cgt gaa gtg ctg ctg aaa atg gcc ccg cat 240
Ser Glu Ala Leu Ala Glu Arg Glu Val Leu Leu Lys Met Ala Pro His
65 70 75 80

atc gcc ttc ccg atg cgt ttt cgc ctg cca cat cgt ccg cat ctg cgc 288
Ile Ala Phe Pro Met Arg Phe Arg Leu Pro His Arg Pro His Leu Arg
85 90 95

ccg ggc tgg atg att cgc att ggt ctg ttt atg tac gat cat ctg ggt 336
Pro Ala Trp Met Ile Arg Ile Gly Leu Phe Met Tyr Asp His Leu Gly
100 105 110

ES 2 529 107 T3

aaa cgc acc agc ttg ccg gga tca act ggt ttg cgt ttt ggc gca aat	384
Lys Arg Thr Ser Leu Pro Gly Ser Thr Gly Leu Arg Phe Gly Ala Asn	
115 120 125	
tca gtg tta aaa ccg gaa att aag cgc gga ttc gaa tat tct gac tgt	432
Ser Val Leu Lys Pro Glu Ile Lys Arg Gly Phe Glu Tyr Ser Asp Cys	
130 135 140	
tgg gta gac gac gcc cgt ctg gta ctc gcc aac gcc cag atg gtg gtg	480
Trp Val Asp Asp Ala Arg Leu Val Leu Ala Asn Ala Gln Met Val Val	
145 150 155 160	
cgt aaa ggc ggc gaa gtg ctt act cgg act cgc gcc acc tct gct cgc	528
Arg Lys Gly Gly Glu Val Leu Thr Arg Thr Arg Ala Thr Ser Ala Arg	
165 170 175	
cgc gaa aac ggc ctg tgg att gtg gaa gcg gaa gat atc gat acc ggc	576
Arg Glu Asn Gly Leu Trp Ile Val Glu Ala Glu Asp Ile Asp Thr Gly	
180 185 190	
aaa aaa tat agc tgg caa gcg cgc ggc ttg gtt aac gcc acc ggc ccg	624
Lys Lys Tyr Ser Trp Gln Ala Arg Gly Leu Val Asn Ala Thr Gly Pro	
195 200 205	
tgg gtg aaa cag ttc ttc gac gac ggg atg cat ctg cct tcg cct tat	672
Trp Val Lys Gln Phe Phe Asp Asp Gly Met His Leu Pro Ser Pro Tyr	
210 215 220	
ggc att cgc ctg atc aaa ggc agc cat att gtg gtg ccg cgc gtg cat	720
Gly Ile Arg Leu Ile Lys Gly Ser His Ile Val Val Pro Arg Val His	
225 230 235 240	
acc cag aag caa gcc tac att ctg caa aac gaa gat aaa cgt att gtg	768
Thr Gln Lys Gln Ala Tyr Ile Leu Gln Asn Glu Asp Lys Arg Ile Val	
245 250 255	
ttc gtg atc ccg tgg atg gac gag ttt tcc atc atc ggc act acc gat	816
Phe Val Ile Pro Trp Met Asp Glu Phe Ser Ile Ile Gly Thr Thr Asp	
260 265 270	
gtc gag tac aaa ggc gat ccg aaa gcg gtg aag att gaa gag agt gaa	864
Val Glu Tyr Lys Gly Asp Pro Lys Ala Val Lys Ile Glu Glu Ser Glu	
275 280 285	
atc aat tac ctg ctg aat gtg tat aac acg cac ttt aaa aag cag tta	912
Ile Asn Tyr Leu Leu Asn Val Tyr Asn Thr His Phe Lys Lys Gln Leu	
290 295 300	
agc cgt gac gat atc gtc tgg acc tac tcc ggt gtg cgt ccg ctg tgt	960
Ser Arg Asp Asp Ile Val Trp Thr Tyr Ser Gly Val Arg Pro Leu Cys	
305 310 315 320	
gat gat gag tcc gac tcg ccg cag gct att acc cgt gat tac acc ctt	1008
Asp Asp Glu Ser Asp Ser Pro Gln Ala Ile Thr Arg Asp Tyr Thr Leu	
325 330 335	
gat att cat gat gaa aat ggc aaa gca ccg ctg ctg tcg gta ttc ggc	1056
Asp Ile His Asp Glu Asn Gly Lys Ala Pro Leu Leu Ser Val Phe Gly	
340 345 350	
ggg aag ctg acc acc tac cga aaa ctg gcg gaa cat gcg ctg gaa aaa	1104

ES 2 529 107 T3

Gly Lys Leu Thr Thr Tyr Arg Lys Leu Ala Glu His Ala Leu Glu Lys
 355 360 365

cta acg ccg tat tat cag ggt att ggc ccg gca tgg acg aaa gag agt 1152
 Leu Thr Pro Tyr Tyr Gln Gly Ile Gly Pro Ala Trp Thr Lys Glu Ser
 370 375 380

gtg cta ccg ggt ggc gcc att gaa ggc gac cgc gac gat tat gcc gct 1200
 Val Leu Pro Gly Gly Ala Ile Glu Gly Asp Arg Asp Asp Tyr Ala Ala
 385 390 395 400

cgc ctg cgc cgc cgc tat ccg ttc ctg act gaa tcg ctg gcg cgt cat 1248
 Arg Leu Arg Arg Arg Tyr Pro Phe Leu Thr Glu Ser Leu Ala Arg His
 405 410 415

tac gct cgc act tac ggc agc aac agc gag ctg ctg ctc ggc aat gcg 1296
 Tyr Ala Arg Thr Tyr Gly Ser Asn Ser Glu Leu Leu Leu Gly Asn Ala
 420 425 430

gga acg gta agc gat ctc ggg gaa gat ttc ggt cat gag ttc tac gaa 1344
 Gly Thr Val Ser Asp Leu Gly Glu Asp Phe Gly His Glu Phe Tyr Glu
 435 440 445

gcg gag ctg aaa tac ctg gtg gat cac gaa tgg gtc cgc cgc gcc gac 1392
 Ala Glu Leu Lys Tyr Leu Val Asp His Glu Trp Val Arg Arg Ala Asp
 450 455 460

gac gcc ctg tgg cgt cgc aca aaa caa ggc atg tgg cta aat gcg gat 1440
 Asp Ala Leu Trp Arg Arg Thr Lys Gln Gly Met Trp Leu Asn Ala Asp
 465 470 475 480

caa caa tct cgt gtg agt cag tgg ctg gtg gag tat acg cag cag agg 1488
 Gln Gln Ser Arg Val Ser Gln Trp Leu Val Glu Tyr Thr Gln Gln Arg
 485 490 495

tta tcg ctg gcg tcg taa 1506
 Leu Ser Leu Ala Ser
 500

<210> 8

<211> 501

<212> PRT

5 <213> Escherichia coli

<400> 8

Met Glu Thr Lys Asp Leu Ile Val Ile Gly Gly Gly Ile Asn Gly Ala
 1 5 10 15

Gly Ile Ala Ala Asp Ala Ala Gly Arg Gly Leu Ser Val Leu Met Leu
 20 25 30

Glu Ala Gln Asp Leu Ala Cys Ala Thr Ser Ser Ala Ser Ser Lys Leu
 35 40 45

Ile His Gly Gly Leu Arg Tyr Leu Glu His Tyr Glu Phe Arg Leu Val
 50 55 60

ES 2 529 107 T3

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

ES 2 529 107 T3

[illegible]

<210> 9
<211> 327
<212> ADN
<213> Escherichia coli

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(327)
<223> región codificadora de glpE

```

<400> 9
atg gat cag ttc gaa tgt att aac gtt gcc gac gcg cac cag aag ttg      48
Met Asp Gln Phe Glu Cys Ile Asn Val Ala Asp Ala His Gln Lys Leu
1          5          10          15

cag gaa aaa gag gcg gtg ctg gtc gat att cgc gat cca cag agt ttc      96
Gln Glu Lys Glu Ala Val Leu Val Asp Ile Arg Asp Pro Gln Ser Phe
          20          25          30

gca atg gga cat gcg gtg cag gct ttc cat tta acc aac gac acg ctg      144
Ala Met Gly His Ala Val Gln Ala Phe His Leu Thr Asn Asp Thr Leu
          35          40          45

ggc gct ttt atg cgt gat aac gac ttt gac act ccg gtg atg gtg atg      192
Gly Ala Phe Met Arg Asp Asn Asp Phe Asp Thr Pro Val Met Val Met
          50          55          60

tgt tat cac gcc aat agc agc aaa gcc gcg gcg cag tat ctg ctg caa      240
Cys Tyr His Gly Asn Ser Ser Lys Gly Ala Ala Gln Tyr Leu Leu Gln
65          70          75          80

cag gcc tac gat gtg gtc tat agc att gac gcc gcc ttt gaa gcc tgg      288
Gln Gly Tyr Asp Val Val Tyr Ser Ile Asp Gly Gly Phe Glu Ala Trp
          85          90          95

caa cgt cag ttt ccc gca gag gtg gcg tac gcc gcc taa      327
Gln Arg Gln Phe Pro Ala Glu Val Ala Tyr Gly Ala
          100          105

```

<210> 10
 <211> 108
 <212> PRT
 5 <213> Escherichia coli

```

<400> 10
Met Asp Gln Phe Glu Cys Ile Asn Val Ala Asp Ala His Gln Lys Leu
1          5          10          15

Gln Glu Lys Glu Ala Val Leu Val Asp Ile Arg Asp Pro Gln Ser Phe
          20          25          30

Ala Met Gly His Ala Val Gln Ala Phe His Leu Thr Asn Asp Thr Leu
          35          40          45

Gly Ala Phe Met Arg Asp Asn Asp Phe Asp Thr Pro Val Met Val Met
          50          55          60

Cys Tyr His Gly Asn Ser Ser Lys Gly Ala Ala Gln Tyr Leu Leu Gln
65          70          75          80

Gln Gly Tyr Asp Val Val Tyr Ser Ile Asp Gly Gly Phe Glu Ala Trp
          85          90          95

Gln Arg Gln Phe Pro Ala Glu Val Ala Tyr Gly Ala
          100          105

```

<210> 11
 <211> 846
 <212> ADN
 <213> Escherichia coli

5

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (846)
 <223> región codificadora de glpF

10

<400> 11
 atg agt caa aca tca acc ttg aaa ggc cag tgc att gct gaa ttc ctc 48
 Met Ser Gln Thr Ser Thr Leu Lys Gly Gln Cys Ile Ala Glu Phe Leu
 1 5 10 15
 ggt acc ggg ttg ttg att ttc ttc ggt gtg ggt tgc gtt gca gca cta 96
 Gly Thr Gly Leu Leu Ile Phe Phe Gly Val Gly Cys Val Ala Ala Leu
 20 25 30
 aaa gtc gct ggt gcg tct ttt ggt cag tgg gaa atc agt gtc att tgg 144
 Lys Val Ala Gly Ala Ser Phe Gly Gln Trp Glu Ile Ser Val Ile Trp
 35 40 45
 gga ctg ggg gtg gca atg gcc atc tac ctg acc gca ggg gtt tcc ggc 192
 Gly Leu Gly Val Ala Met Ala Ile Tyr Leu Thr Ala Gly Val Ser Gly
 50 55 60
 gcg cat ctt aat ccc gct gtt acc att gca ttg tgg ctg ttt gcc tgt 240
 Ala His Leu Asn Pro Ala Val Thr Ile Ala Leu Trp Leu Phe Ala Cys
 65 70 75 80
 ttc gac aag cgc aaa gtt att cct ttt atc gtt tca caa gtt gcc ggc 288
 Phe Asp Lys Arg Lys Val Ile Pro Phe Ile Val Ser Gln Val Ala Gly
 85 90 95
 gct ttc tgt gct gcg gct tta gtt tac ggg ctt tac tac aat tta ttt 336
 Ala Phe Cys Ala Ala Ala Leu Val Tyr Gly Leu Tyr Tyr Asn Leu Phe
 100 105 110
 ttc gac ttc gag cag act cat cac att gtt cgc ggc agc gtt gaa agt 384
 Phe Asp Phe Glu Gln Thr His His Ile Val Arg Gly Ser Val Glu Ser
 115 120 125
 gtt gat ctg got ggc act ttc tct act tac cct aat cct cat atc aat 432
 Val Asp Leu Ala Gly Thr Phe Ser Thr Tyr Pro Asn Pro His Ile Asn
 130 135 140
 ttt gtg cag gct ttc gca gtt gag atg gtg att acc gct att ctg atg 480
 Phe Val Gln Ala Phe Ala Val Glu Met Val Ile Thr Ala Ile Leu Met
 145 150 155 160
 ggg ctg atc ctg gcg tta acg gac gat ggc aac ggt gta cca cgc ggc 528
 Gly Leu Ile Leu Ala Leu Thr Asp Asp Gly Asn Gly Val Pro Arg Gly
 165 170 175
 cct ttg gct ccc ttg ctg att ggt cta ctg att gcg gtc att ggc gca 576
 Pro Leu Ala Pro Leu Leu Ile Gly Leu Leu Ile Ala Val Ile Gly Ala
 180 185 190

tct atg ggc cca ttg aca ggt ttt gcc atg aac cca gcg cgt gac ttc	624
Ser Met Gly Pro Leu Thr Gly Phe Ala Met Asn Pro Ala Arg Asp Phe	
195 200 205	
ggc ccg aaa gtc ttt gcc tgg ctg ggc ggc tgg ggc aat gtc gcc ttt	672
Gly Pro Lys Val Phe Ala Trp Leu Ala Gly Trp Gly Asn Val Ala Phe	
210 215 220	
acc ggc ggc aga gac att cct tac ttc ctg gtg ccg ctt ttc ggc cct	720
Thr Gly Gly Arg Asp Ile Pro Tyr Phe Leu Val Pro Leu Phe Gly Pro	
225 230 235 240	
atc gtt ggc ggc att gta ggt gca ttt gcc tac cgc aaa ctg att ggt	768
Ile Val Gly Ala Ile Val Gly Ala Phe Ala Tyr Arg Lys Leu Ile Gly	
245 250 255	
cgc cat ttg cct tgc gat atc tgt gtt gtg gaa gaa aag gaa acc aca	816
Arg His Leu Pro Cys Asp Ile Cys Val Val Glu Glu Lys Glu Thr Thr	
260 265 270	
act cct tca gaa caa aaa gct tcg ctg taa	846
Thr Pro Ser Glu Gln Lys Ala Ser Leu	
275 280	

<210> 12
 <211> 281
 <212> PRT
 5 <213> Escherichia coli

<400> 12
 Met Ser Gln Thr Ser Thr Leu Lys Gly Gln Cys Ile Ala Glu Phe Leu
 1 5 10 15

Gly Thr Gly Leu Leu Ile Phe Phe Gly Val Gly Cys Val Ala Ala Leu
 20 25 30

Lys Val Ala Gly Ala Ser Phe Gly Gln Trp Glu Ile Ser Val Ile Trp
 35 40 45

Gly Leu Gly Val Ala Met Ala Ile Tyr Leu Thr Ala Gly Val Ser Gly
 50 55 60

Ala His Leu Asn Pro Ala Val Thr Ile Ala Leu Trp Leu Phe Ala Cys
 65 70 75 80

Phe Asp Lys Arg Lys Val Ile Pro Phe Ile Val Ser Gln Val Ala Gly
 85 90 95

Ala Phe Cys Ala Ala Ala Leu Val Tyr Gly Leu Tyr Tyr Asn Leu Phe
 100 105 110

Phe Asp Phe Glu Gln Thr His His Ile Val Arg Gly Ser Val Glu Ser

ES 2 529 107 T3

```

115              120              125

Val Asp Leu Ala Gly Thr Phe Ser Thr Tyr Pro Asn Pro His Ile Asn
130              135              140

Phe Val Gln Ala Phe Ala Val Glu Met Val Ile Thr Ala Ile Leu Met
145              150              155              160

Gly Leu Ile Leu Ala Leu Thr Asp Asp Gly Asn Gly Val Pro Arg Gly
165              170              175

Pro Leu Ala Pro Leu Leu Ile Gly Leu Leu Ile Ala Val Ile Gly Ala
180              185              190

Ser Met Gly Pro Leu Thr Gly Phe Ala Met Asn Pro Ala Arg Asp Phe
195              200              205

Gly Pro Lys Val Phe Ala Trp Leu Ala Gly Trp Gly Asn Val Ala Phe
210              215              220

Thr Gly Gly Arg Asp Ile Pro Tyr Phe Leu Val Pro Leu Phe Gly Pro
225              230              235              240

Ile Val Gly Ala Ile Val Gly Ala Phe Ala Tyr Arg Lys Leu Ile Gly
245              250              255

Arg His Leu Pro Cys Asp Ile Cys Val Val Glu Glu Lys Glu Thr Thr
260              265              270

Thr Pro Ser Glu Gln Lys Ala Ser Leu
275              280

<210> 13
<211> 831
<212> ADN
5 <213> Escherichia coli

<220>
<221> CDS
<222> (1) .. (831)
10 <223> región codificadora de glpG

<400> 13
atg ttg atg att acc tct ttt gct aac ccc cgc gtg gcg cag gcg ttt      48
Met Leu Met Ile Thr Ser Phe Ala Asn Pro Arg Val Ala Gln Ala Phe
1              5              10              15

gtt gat tac atg gcg acg cag ggt gtt atc ctc acg att caa caa cat      96
Val Asp Tyr Met Ala Thr Gln Gly Val Ile Leu Thr Ile Gln Gln His
20              25              30

```

ES 2 529 107 T3

aac caa agc gat gtc tgg ctg gcg gat gag tcc cag gcc gag cgc gta Asn Gln Ser Asp Val Trp Leu Ala Asp Glu Ser Gln Ala Glu Arg Val 35 40 45	144
cgg gcg gag ctg gcg cgt ttt ctc gaa aac ccg gca gat ccg cgt tat Arg Ala Glu Leu Ala Arg Phe Leu Glu Asn Pro Ala Asp Pro Arg Tyr 50 55 60	192
ctg gcg gcg agc tgg cag gca ggc cat acc ggc agt ggc ctg cat tat Leu Ala Ala Ser Trp Gln Ala Gly His Thr Gly Ser Gly Leu His Tyr 65 70 75 80	240
cgc cgt tat cct ttc ttt gcc gcc ttg cgt gaa cgc gca ggt ccg gta Arg Arg Tyr Pro Phe Phe Ala Ala Leu Arg Glu Arg Ala Gly Pro Val 85 90 95	288
acc tgg gtg atg atg atc gcc tgc gtg gtg gtg ttt att gcc atg caa Thr Trp Val Met Met Ile Ala Cys Val Val Val Phe Ile Ala Met Gln 100 105 110	336
att ctc gcc gat cag gaa gtg atg tta tgg ctg gcc tgg cca ttc gat Ile Leu Gly Asp Gln Glu Val Met Leu Trp Leu Ala Trp Pro Phe Asp 115 120 125	384
cca aca ctg aaa ttt gag ttc tgg cgt tac ttc acc cac gcg tta atg Pro Thr Leu Lys Phe Glu Phe Trp Arg Tyr Phe Thr His Ala Leu Met 130 135 140	432
cac ttc tcg ctg atg cat atc ctc ttt aac ctg ctc tgg tgg tgg tat His Phe Ser Leu Met His Ile Leu Phe Asn Leu Leu Trp Trp Trp Tyr 145 150 155 160	480
ctc gcc ggt gcg gtg gaa aaa cgc ctc ggt agc ggt aag cta att gtc Leu Gly Gly Ala Val Glu Lys Arg Leu Gly Ser Gly Lys Leu Ile Val 165 170 175	528
att acg ott atc agc gcc ctg tta agc gcc tat gtg cag caa aaa ttc Ile Thr Leu Ile Ser Ala Leu Leu Ser Gly Tyr Val Gln Gln Lys Phe 180 185 190	576
agc ggg ccg tgg ttt gcc ggg ctt tct gcc gtg gtg tat gcg ctg atg Ser Gly Pro Trp Phe Gly Gly Leu Ser Gly Val Val Tyr Ala Leu Met 195 200 205	624
ggc tac gtc tgg cta cgt gcc gaa cgc gat ccg caa agt ggc att tac Gly Tyr Val Trp Leu Arg Gly Glu Arg Asp Pro Gln Ser Gly Ile Tyr 210 215 220	672
ctg caa cgt ggg tta att atc ttt gcg ctg atc tgg att gtc gcc gga Leu Gln Arg Gly Leu Ile Ile Phe Ala Leu Ile Trp Ile Val Ala Gly 225 230 235 240	720
tgg ttt gat ttg ttt ggg atg tcg atg gcg aac gga gca cac atc gcc Trp Phe Asp Leu Phe Gly Met Ser Met Ala Asn Gly Ala His Ile Ala 245 250 255	768
ggg tta gcc gtg ggt tta gcg atg gct ttt gtt gat tcg ctc aat gcg Gly Leu Ala Val Gly Leu Ala Met Ala Phe Val Asp Ser Leu Asn Ala 260 265 270	816
cga aaa cga aaa taa	831

Arg Lys Arg Lys
275

<210> 14

<211> 276

<212> PRT

5 <213> Escherichia coli

<400> 14

Met Leu Met Ile Thr Ser Phe Ala Asn Pro Arg Val Ala Gln Ala Phe
1 5 10 15

Val Asp Tyr Met Ala Thr Gln Gly Val Ile Leu Thr Ile Gln Gln His
20 25 30

Asn Gln Ser Asp Val Trp Leu Ala Asp Glu Ser Gln Ala Glu Arg Val
35 40 45

Arg Ala Glu Leu Ala Arg Phe Leu Glu Asn Pro Ala Asp Pro Arg Tyr
50 55 60

Leu Ala Ala Ser Trp Gln Ala Gly His Thr Gly Ser Gly Leu His Tyr
65 70 75 80

Arg Arg Tyr Pro Phe Phe Ala Ala Leu Arg Glu Arg Ala Gly Pro Val
85 90 95

Thr Trp Val Met Met Ile Ala Cys Val Val Val Phe Ile Ala Met Gln
100 105 110

Ile Leu Gly Asp Gln Glu Val Met Leu Trp Leu Ala Trp Pro Phe Asp
115 120 125

Pro Thr Leu Lys Phe Glu Phe Trp Arg Tyr Phe Thr His Ala Leu Met
130 135 140

His Phe Ser Leu Met His Ile Leu Phe Asn Leu Leu Trp Trp Trp Tyr
145 150 155 160

Leu Gly Gly Ala Val Glu Lys Arg Leu Gly Ser Gly Lys Leu Ile Val
165 170 175

Ile Thr Leu Ile Ser Ala Leu Leu Ser Gly Tyr Val Gln Gln Lys Phe
180 185 190

Ser Gly Pro Trp Phe Gly Gly Leu Ser Gly Val Val Tyr Ala Leu Met
195 200 205

Gly Tyr Val Trp Leu Arg Gly Glu Arg Asp Pro Gln Ser Gly Ile Tyr
210 215 220

Leu Gln Arg Gly Leu Ile Ile Phe Ala Leu Ile Trp Ile Val Ala Gly
225 230 235 240

Trp Phe Asp Leu Phe Gly Met Ser Met Ala Asn Gly Ala His Ile Ala
245 250 255

Gly Leu Ala Val Gly Leu Ala Met Ala Phe Val Asp Ser Leu Asn Ala
260 265 270

Arg Lys Arg Lys
275

<210> 15

<211> 1509

<212> ADN

5 <213> Escherichia coli

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1509)

10 <223> región codificadora de glpK

<400> 15

atg act gaa aaa aaa tat atc gtt gcg ctc gac cag ggc acc acc agc 48
Met Thr Glu Lys Lys Tyr Ile Val Ala Leu Asp Gln Gly Thr Thr Ser
1 5 10 15

tcc cgc gcg gtc gta atg gat cac gat gcc aat atc att agc gtg tcg 96
Ser Arg Ala Val Val Met Asp His Asp Ala Asn Ile Ile Ser Val Ser
20 25 30

cag cgc gaa ttt gag caa atc tac cca aaa cca ggt tgg gta gaa cac 144
Gln Arg Glu Phe Glu Gln Ile Tyr Pro Lys Pro Gly Trp Val Glu His
35 40 45

gac cca atg gaa atc tgg gcc acc caa agc tcc acg ctg gta gaa gtg 192
Asp Pro Met Glu Ile Trp Ala Thr Gln Ser Ser Thr Leu Val Glu Val
50 55 60

ctg gcg aaa gcc gat atc agt tcc gat caa att gca gct atc ggt att 240
Leu Ala Lys Ala Asp Ile Ser Ser Asp Gln Ile Ala Ala Ile Gly Ile
65 70 75 80

acg aac cag cgt gaa acc act att gtc tgg gaa aaa gaa acc ggc aag 288
Thr Asn Gln Arg Glu Thr Thr Ile Val Trp Glu Lys Glu Thr Gly Lys
85 90 95

cct atc tat aac gcc att gtc tgg cag tgc cgt cgt acc gca gaa atc 336
Pro Ile Tyr Asn Ala Ile Val Trp Gln Cys Arg Arg Thr Ala Glu Ile
100 105 110

tgc gag cat tta aaa cgt gac ggt tta gaa gat tat atc cgc agc aat 384

Cys	Glu	His	Leu	Lys	Arg	Asp	Gly	Leu	Glu	Asp	Tyr	Ile	Arg	Ser	Asn	
		115					120					125				
acc	ggt	ctg	gtg	att	gac	ccg	tac	ttt	tct	ggc	acc	aaa	gtg	aag	tgg	432
Thr	Gly	Leu	Val	Ile	Asp	Pro	Tyr	Phe	Ser	Gly	Thr	Lys	Val	Lys	Trp	
	130					135					140					
atc	ctc	gac	cat	gtg	gaa	ggc	tct	cgc	gag	cgt	gca	cgt	cgt	ggt	gaa	480
Ile	Leu	Asp	His	Val	Glu	Gly	Ser	Arg	Glu	Arg	Ala	Arg	Arg	Gly	Glu	
145					150					155					160	
ttg	ctg	ttt	ggt	acg	gtt	gat	acg	tgg	ctt	atc	tgg	aaa	atg	act	cag	528
Leu	Leu	Phe	Gly	Thr	Val	Asp	Thr	Trp	Leu	Ile	Trp	Lys	Met	Thr	Gln	
				165					170					175		
ggc	cgt	gtc	cat	gtg	acc	gat	tac	acc	aac	gcc	tct	cgt	acc	atg	ttg	576
Gly	Arg	Val	His	Val	Thr	Asp	Tyr	Thr	Asn	Ala	Ser	Arg	Thr	Met	Leu	
			180					185					190			
ttc	aac	atc	cat	acc	ctg	gac	tgg	gac	gac	aaa	atg	ctg	gaa	gtg	ctg	624
Phe	Asn	Ile	His	Thr	Leu	Asp	Trp	Asp	Asp	Lys	Met	Leu	Glu	Val	Leu	
		195					200					205				
gat	att	ccg	cgc	gag	atg	ctg	cca	gaa	gtg	cgt	cgt	tct	tcc	gaa	gta	672
Asp	Ile	Pro	Arg	Glu	Met	Leu	Pro	Glu	Val	Arg	Arg	Ser	Ser	Glu	Val	
	210					215					220					
tac	ggt	cag	act	aac	att	ggc	ggc	aaa	ggc	ggc	acg	cgt	att	cca	atc	720
Tyr	Gly	Gln	Thr	Asn	Ile	Gly	Gly	Lys	Gly	Gly	Thr	Arg	Ile	Pro	Ile	
225					230				235						240	
tcc	ggg	atc	gcc	ggt	gac	cag	cag	gcc	gcg	ctg	ttt	ggt	cag	ttg	tgc	768
Ser	Gly	Ile	Ala	Gly	Asp	Gln	Gln	Ala	Ala	Leu	Phe	Gly	Gln	Leu	Cys	
				245				250						255		
gtg	aaa	gaa	ggg	atg	gcg	aag	aac	acc	tat	ggc	act	ggc	tgc	ttt	atg	816
Val	Lys	Glu	Gly	Met	Ala	Lys	Asn	Thr	Tyr	Gly	Thr	Gly	Cys	Phe	Met	
			260					265				270				
ctg	atg	aac	act	ggc	gag	aaa	gcg	gtg	aaa	tca	gaa	aac	ggc	ctg	ctg	864
Leu	Met	Asn	Thr	Gly	Glu	Lys	Ala	Val	Lys	Ser	Glu	Asn	Gly	Leu	Leu	
		275					280					285				
acc	acc	atc	gcc	tgc	ggc	ccg	act	ggc	gaa	gtg	aac	tat	gcg	ttg	gaa	912
Thr	Thr	Ile	Ala	Cys	Gly	Pro	Thr	Gly	Glu	Val	Asn	Tyr	Ala	Leu	Glu	
	290					295					300					
ggt	gcg	gtg	ttt	atg	gca	ggc	gca	tcc	att	cag	tgg	ctg	cgc	gat	gaa	960
Gly	Ala	Val	Phe	Met	Ala	Gly	Ala	Ser	Ile	Gln	Trp	Leu	Arg	Asp	Glu	
305					310					315					320	
atg	aag	ttg	att	aac	gac	gcc	tac	gat	tcc	gaa	tat	ttc	gcc	acc	aaa	1008
Met	Lys	Leu	Ile	Asn	Asp	Ala	Tyr	Asp	Ser	Glu	Tyr	Phe	Ala	Thr	Lys	
				325					330					335		
gtg	caa	aac	acc	aat	ggt	gtg	tat	gtg	gtt	ccg	gca	ttt	acc	ggg	ctg	1056
Val	Gln	Asn	Thr	Asn	Gly	Val	Tyr	Val	Val	Pro	Ala	Phe	Thr	Gly	Leu	
			340					345					350			
ggt	gcg	ccg	tac	tgg	gac	ccg	tat	gcg	cgc	ggg	gcg	att	ttc	ggt	ctg	1104
Gly	Ala	Pro	Tyr	Trp	Asp	Pro	Tyr	Ala	Arg	Gly	Ala	Ile	Phe	Gly	Leu	
		355					360					365				

act cgt ggg gtg aac gct aac cac att ata cgc gcg acg ctg gag tot 1152
 Thr Arg Gly Val Asn Ala Asn His Ile Ile Arg Ala Thr Leu Glu Ser
 370 375 380

att gct tat cag acg cgt gac gtg ctg gaa gcg atg cag gcc gac tot 1200
 Ile Ala Tyr Gln Thr Arg Asp Val Leu Glu Ala Met Gln Ala Asp Ser
 385 390 395 400

ggc atc cgt ctg cac gcc ctg cgc gtg gat ggt ggc gca gta gca aac 1248
 Gly Ile Arg Leu His Ala Leu Arg Val Asp Gly Gly Ala Val Ala Asn
 405 410 415

aat ttc ctg atg cag ttc cag tcc gat att ctc ggc acc cgc gtt gag 1296
 Asn Phe Leu Met Gln Phe Gln Ser Asp Ile Leu Gly Thr Arg Val Glu
 420 425 430

cgc cgc gaa gtg cgc gaa gtc acc gca ttg ggt gcg gcc tat ctc gca 1344
 Arg Pro Glu Val Arg Glu Val Thr Ala Leu Gly Ala Ala Tyr Leu Ala
 435 440 445

ggc ctg gcg gtt ggc ttc tgg cag aac ctc gac gag ctg caa gag aaa 1392
 Gly Leu Ala Val Gly Phe Trp Gln Asn Leu Asp Glu Leu Gln Glu Lys
 450 455 460

gcg gtg att gag cgc gag ttc cgt cca ggc atc gaa acc act gag cgt 1440
 Ala Val Ile Glu Arg Glu Phe Arg Pro Gly Ile Glu Thr Thr Glu Arg
 465 470 475 480

aat tac cgt tac gca ggc tgg aaa aaa gcg gtt aaa cgc gcg atg gcg 1488
 Asn Tyr Arg Tyr Ala Gly Trp Lys Lys Ala Val Lys Arg Ala Met Ala
 485 490 495

tgg gaa gaa cac gac gaa taa 1509
 Trp Glu Glu His Asp Glu
 500

<210> 16
 <211> 502
 <212> PRT
 5 <213> Escherichia coli

<400> 16
 Met Thr Glu Lys Lys Tyr Ile Val Ala Leu Asp Gln Gly Thr Thr Ser
 1 5 10 15

Ser Arg Ala Val Val Met Asp His Asp Ala Asn Ile Ile Ser Val Ser
 20 25 30

Gln Arg Glu Phe Glu Gln Ile Tyr Pro Lys Pro Gly Trp Val Glu His
 35 40 45

Asp Pro Met Glu Ile Trp Ala Thr Gln Ser Ser Thr Leu Val Glu Val
 50 55 60

Leu Ala Lys Ala Asp Ile Ser Ser Asp Gln Ile Ala Ala Ile Gly Ile

ES 2 529 107 T3

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

Met Lys Leu Ile Asn Asp Ala Tyr Asp Ser Glu Tyr Phe Ala Thr Lys
 325 330 335

Val Gln Asn Thr Asn Gly Val Tyr Val Val Pro Ala Phe Thr Gly Leu
 340 345 350

Gly Ala Pro Tyr Trp Asp Pro Tyr Ala Arg Gly Ala Ile Phe Gly Leu
 355 360 365

Thr Arg Gly Val Asn Ala Asn His Ile Ile Arg Ala Thr Leu Glu Ser
 370 375 380

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

Gly Ile Arg Leu His Ala Leu Arg Val Asp Gly Gly Ala Val Ala Asn
 405 410 415

Asn Phe Leu Met Gln Phe Gln Ser Asp Ile Leu Gly Thr Arg Val Glu
 420 425 430

Arg Pro Glu Val Arg Glu Val Thr Ala Leu Gly Ala Ala Tyr Leu Ala
 435 440 445

Gly Leu Ala Val Gly Phe Trp Gln Asn Leu Asp Glu Leu Gln Glu Lys
 450 455 460

Ala Val Ile Glu Arg Glu Phe Arg Pro Gly Ile Glu Thr Thr Glu Arg
 465 470 475 480

Asn Tyr Arg Tyr Ala Gly Trp Lys Lys Ala Val Lys Arg Ala Met Ala
 485 490 495

Trp Glu Glu His Asp Glu
 500

<210> 17

<211> 1077

<212> ADN

5 <213> Escherichia coli

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1077)

10 <223> región codificadora de glpQ

<400> 17

atg aaa ttg acg ctg aaa aac ctt agc atg gcg atc atg atg agc act

48

Met	Lys	Leu	Thr	Leu	Lys	Asn	Leu	Ser	Met	Ala	Ile	Met	Met	Ser	Thr		
1				5					10					15			
ata	gtc	atg	gga	agc	agt	gca	atg	gcg	gcg	gac	agc	aac	gaa	aaa	ata	96	
Ile	Val	Met	Gly	Ser	Ser	Ala	Met	Ala	Ala	Asp	Ser	Asn	Glu	Lys	Ile		
			20					25					30				
gtc	atc	gcc	cat	cgc	ggt	gcc	agt	gga	tat	ttg	ccg	gag	cat	acg	ctg	144	
Val	Ile	Ala	His	Arg	Gly	Ala	Ser	Gly	Tyr	Leu	Pro	Glu	His	Thr	Leu		
			35				40					45					
cca	gca	aaa	gcg	atg	gcg	tat	gcg	cag	gga	gcg	gat	tat	ctg	gaa	cag	192	
Pro	Ala	Lys	Ala	Met	Ala	Tyr	Ala	Gln	Gly	Ala	Asp	Tyr	Leu	Glu	Gln		
		50				55					60						
gat	ttg	gtg	atg	acc	aaa	gac	gac	aat	ctg	gtt	gtt	ctg	cat	gac	cat	240	
Asp	Leu	Val	Met	Thr	Lys	Asp	Asp	Asn	Leu	Val	Val	Leu	His	Asp	His		
65					70				75					80			
tac	ctc	gat	cgt	gtt	act	gat	gtt	gcc	gat	cgt	ttc	ccg	gat	cgg	gcg	288	
Tyr	Leu	Asp	Arg	Val	Thr	Asp	Val	Ala	Asp	Arg	Phe	Pro	Asp	Arg	Ala		
			85					90					95				
cgc	aaa	gac	ggt	cgt	tac	tac	gcg	ata	gat	ttc	acg	ctg	gat	gaa	att	336	
Arg	Lys	Asp	Gly	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ile	Asp	Phe	Thr	Leu	Asp	Glu	Ile		
			100					105				110					
aag	tcg	ttg	aaa	ttt	acc	gaa	ggt	ttc	gat	att	gaa	aac	ggt	aaa	aaa	384	
Lys	Ser	Leu	Lys	Phe	Thr	Glu	Gly	Phe	Asp	Ile	Glu	Asn	Gly	Lys	Lys		
		115					120				125						
gtg	cag	act	tat	ccg	ggg	cgt	ttc	cca	atg	ggt	aag	tcc	gac	ttc	cgg	432	
Val	Gln	Thr	Tyr	Pro	Gly	Arg	Phe	Pro	Met	Gly	Lys	Ser	Asp	Phe	Arg		
		130				135					140						
gtg	cac	acc	ttt	gaa	gaa	gag	att	gaa	ttt	gtt	cag	ggg	tta	aat	cac	480	
Val	His	Thr	Phe	Glu	Glu	Glu	Ile	Glu	Phe	Val	Gln	Gly	Leu	Asn	His		
145					150					155					160		
tct	acc	ggg	aaa	aat	atc	ggt	att	tat	cca	gaa	atc	aaa	gcg	ccg	tgg	528	
Ser	Thr	Gly	Lys	Asn	Ile	Gly	Ile	Tyr	Pro	Glu	Ile	Lys	Ala	Pro	Trp		
			165					170						175			
ttc	cat	cat	cag	gaa	ggg	aag	gat	att	gcg	gca	aaa	acg	ctg	gaa	gtg	576	
Phe	His	His	Gln	Glu	Gly	Lys	Asp	Ile	Ala	Ala	Lys	Thr	Leu	Glu	Val		
			180					185					190				
ctg	aag	aaa	tat	ggt	tac	acc	ggt	aaa	gac	gat	aaa	gtt	tat	ttg	caa	624	
Leu	Lys	Lys	Tyr	Gly	Tyr	Thr	Gly	Lys	Asp	Asp	Lys	Val	Tyr	Leu	Gln		
		195					200					205					
tgt	ttt	gat	gct	gat	gag	ctg	aag	cgt	att	aag	aat	gag	ctg	gaa	ccc	672	
Cys	Phe	Asp	Ala	Asp	Glu	Leu	Lys	Arg	Ile	Lys	Asn	Glu	Leu	Glu	Pro		
		210				215					220						
aaa	atg	ggc	atg	gag	ctc	aat	ctg	gta	cag	ctg	att	gcc	tat	acc	gac	720	
Lys	Met	Gly	Met	Glu	Leu	Asn	Leu	Val	Gln	Leu	Ile	Ala	Tyr	Thr	Asp		
225					230					235					240		
tgg	aat	gaa	acg	cag	cag	aaa	cag	cgg	gat	gga	agc	tgg	gtt	aat	tac	768	
Trp	Asn	Glu	Thr	Gln	Gln	Lys	Gln	Pro	Asp	Gly	Ser	Trp	Val	Asn	Tyr		
			245					250						255			

ES 2 529 107 T3

```

aac tac gac tgg atg ttt aag ccg ggt gcc atg aaa cag gtg gcg gaa      816
Asn Tyr Asp Trp Met Phe Lys Pro Gly Ala Met Lys Gln Val Ala Glu
      260                      265                      270

tat gca gat ggt att ggt ccg gat tac cat atg ttg att gag gag aca      864
Tyr Ala Asp Gly Ile Gly Pro Asp Tyr His Met Leu Ile Glu Glu Thr
      275                      280                      285

tcg cag ccg ggt aat atc aaa ctc act ggc atg gtg caa gat gct cag      912
Ser Gln Pro Gly Asn Ile Lys Leu Thr Gly Met Val Gln Asp Ala Gln
      290                      295                      300

cag aat aaa ctg gta gtg cat cct tat acc gtg cgg tca gat aaa ctg      960
Gln Asn Lys Leu Val Val His Pro Tyr Thr Val Arg Ser Asp Lys Leu
      305                      310                      315                      320

cct gaa tac act cct gat gtg aat cag tta tat gat gct ctg tat aac      1008
Pro Glu Tyr Thr Pro Asp Val Asn Gln Leu Tyr Asp Ala Leu Tyr Asn
      325                      330                      335

aaa gcg ggt gta aat ggg ctg ttt act gat ttc cct gat aag gca gta      1056
Lys Ala Gly Val Asn Gly Leu Phe Thr Asp Phe Pro Asp Lys Ala Val
      340                      345                      350

aaa ttt ctt aat aaa gag taa      1077
Lys Phe Leu Asn Lys Glu
      355

```

<210> 18

<211> 358

<212> PRT

5 <213> Escherichia coli

<400> 18

```

Met Lys Leu Thr Leu Lys Asn Leu Ser Met Ala Ile Met Met Ser Thr
1      5      10      15

Ile Val Met Gly Ser Ser Ala Met Ala Ala Asp Ser Asn Glu Lys Ile
      20      25      30

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

Pro Ala Lys Ala Met Ala Tyr Ala Gln Gly Ala Asp Tyr Leu Glu Gln
      50      55      60

Asp Leu Val Met Thr Lys Asp Asp Asn Leu Val Val Leu His Asp His
65      70      75      80

Tyr Leu Asp Arg Val Thr Asp Val Ala Asp Arg Phe Pro Asp Arg Ala
      85      90      95

Arg Lys Asp Gly Arg Tyr Tyr Ala Ile Asp Phe Thr Leu Asp Glu Ile

```

ES 2 529 107 T3

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

<210> 19
 <211> 1359
 <212> ADN
 <213> Escherichia coli

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (1359)
 <223> región codificadora de glpT

<400> 19
 atg ttg agt att ttt aaa cca gcg cca cac aaa gcg cgc tta cct gcc 48
 Met Leu Ser Ile Phe Lys Pro Ala Pro His Lys Ala Arg Leu Pro Ala
 1 5 10 15
 gcg gag atc gat ccg act tat cgt cga ttg cgc tgg caa att ttc ctg 96
 Ala Glu Ile Asp Pro Thr Tyr Arg Arg Leu Arg Trp Gln Ile Phe Leu
 20 25 30
 ggg ata ttc ttt ggc tat gcg gct tac tat ttg gtt cgt aag aac ttt 144
 Gly Ile Phe Phe Gly Tyr Ala Ala Tyr Tyr Leu Val Arg Lys Asn Phe
 35 40 45
 gcg ctt gct atg cct tat ctg gtt gag cag gga ttc tca cgc ggt gat 192
 Ala Leu Ala Met Pro Tyr Leu Val Glu Gln Gly Phe Ser Arg Gly Asp
 50 55 60
 tta ggt ttt gcc ctt tcg ggg atc tcg att gct tat gga ttt tcg aaa 240
 Leu Gly Phe Ala Leu Ser Gly Ile Ser Ile Ala Tyr Gly Phe Ser Lys
 65 70 75 80
 ttc atc atg ggt tcg gta tcg gat cgc tcg aat ccg cgc gtt ttc ctg 288
 Phe Ile Met Gly Ser Val Ser Asp Arg Ser Asn Pro Arg Val Phe Leu
 85 90 95
 ccc gca ggt ttg att ctg gcg gcg gca gtg atg ttg ttt atg ggc ttt 336
 Pro Ala Gly Leu Ile Leu Ala Ala Ala Val Met Leu Phe Met Gly Phe
 100 105 110
 gtg cca tgg gcg acg tcg agc att gcg gtg atg ttt gta ctg ttg ttc 384
 Val Pro Trp Ala Thr Ser Ser Ile Ala Val Met Phe Val Leu Leu Phe
 115 120 125
 ctc tgc ggt tgg ttc cag ggg atg ggg tgg ccg ccg tgt ggt cgt act 432
 Leu Cys Gly Trp Phe Gln Gly Met Gly Trp Pro Pro Cys Gly Arg Thr
 130 135 140
 atg gtg cac tgg tgg tcg cag aaa gaa cgt ggc ggc att gtg tca gtg 480
 Met Val His Trp Trp Ser Gln Lys Glu Arg Gly Gly Ile Val Ser Val
 145 150 155 160
 tgg aac tgt gcg cac aac gtc ggt ggt ggt att ccg ccg ctg ctg ttc 528
 Trp Asn Cys Ala His Asn Val Gly Gly Gly Ile Pro Pro Leu Leu Phe
 165 170 175
 ctg ctg ggg atg gcc tgg ttc aat gac tgg cat gcg gcg ctc tat atg 576

Leu	Leu	Gly	Met	Ala	Trp	Phe	Asn	Asp	Trp	His	Ala	Ala	Leu	Tyr	Met	
			180					185					190			
oct	gct	ttc	tgc	gcc	att	ctg	gtg	gca	tta	ttc	gcc	ttt	gcg	atg	atg	624
Pro	Ala	Phe	Cys	Ala	Ile	Leu	Val	Ala	Leu	Phe	Ala	Phe	Ala	Met	Met	
		195					200					205				
cgc	gat	acc	cgc	caa	tcc	tgt	ggc	ttg	cgc	cgc	atc	gaa	gag	tac	aaa	672
Arg	Asp	Thr	Pro	Gln	Ser	Cys	Gly	Leu	Pro	Pro	Ile	Glu	Glu	Tyr	Lys	
	210					215					220					
aat	gat	tat	cgc	gac	gac	tat	aac	gaa	aaa	gcg	gaa	cag	gag	ctg	acg	720
Asn	Asp	Tyr	Pro	Asp	Asp	Tyr	Asn	Glu	Lys	Ala	Glu	Gln	Glu	Leu	Thr	
225					230					235					240	
gcg	aag	caa	atc	ttc	atg	cag	tac	gta	ctg	cgc	aac	aaa	ctg	ctg	tgg	768
Ala	Lys	Gln	Ile	Phe	Met	Gln	Tyr	Val	Leu	Pro	Asn	Lys	Leu	Leu	Trp	
				245					250					255		
tat	atc	gcc	atc	gcc	aac	gtg	ttc	gtt	tat	ctg	ctg	cgt	tac	ggc	atc	816
Tyr	Ile	Ala	Ile	Ala	Asn	Val	Phe	Val	Tyr	Leu	Leu	Arg	Tyr	Gly	Ile	
			260					265					270			
ctc	gac	tgg	tca	cgc	act	tat	ctg	aaa	gag	gtt	aag	cat	ttc	gcg	cta	864
Leu	Asp	Trp	Ser	Pro	Thr	Tyr	Leu	Lys	Glu	Val	Lys	His	Phe	Ala	Leu	
	275						280					285				
gat	aaa	tcc	tcc	tgg	gcc	tac	ttc	ctt	tat	gaa	tat	gca	ggc	att	cgc	912
Asp	Lys	Ser	Ser	Trp	Ala	Tyr	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Gly	Ile	Pro	
	290					295					300					
ggc	act	ctg	ctg	tgc	ggc	tgg	atg	tgc	gat	aaa	gtc	ttc	cgt	ggc	aac	960
Gly	Thr	Leu	Leu	Cys	Gly	Trp	Met	Ser	Asp	Lys	Val	Phe	Arg	Gly	Asn	
305					310					315					320	
cgt	ggg	gca	acc	ggc	gtt	ttc	ttt	atg	aca	ctg	gtg	acc	atc	gcg	act	1008
Arg	Gly	Ala	Thr	Gly	Val	Phe	Phe	Met	Thr	Leu	Val	Thr	Ile	Ala	Thr	
				325					330					335		
atc	gtt	tac	tgg	atg	aac	cgc	gca	ggc	aac	cca	acc	gtc	gat	atg	att	1056
Ile	Val	Tyr	Trp	Met	Asn	Pro	Ala	Gly	Asn	Pro	Thr	Val	Asp	Met	Ile	
			340					345					350			
tgt	atg	att	gtt	atc	ggc	ttc	ctg	atc	tac	ggc	cct	gtg	atg	ctg	atc	1104
Cys	Met	Ile	Val	Ile	Gly	Phe	Leu	Ile	Tyr	Gly	Pro	Val	Met	Leu	Ile	
		355					360					365				
ggc	ctg	cat	gcg	ctg	gaa	ctg	gca	cgc	aaa	aaa	gcg	gca	ggc	acg	gca	1152
Gly	Leu	His	Ala	Leu	Glu	Leu	Ala	Pro	Lys	Lys	Ala	Ala	Gly	Thr	Ala	
		370				375					380					
gcg	ggc	ttt	acc	ggg	ctg	ttt	ggc	tac	ctg	ggc	ggc	tgc	gtg	gcg	gcg	1200
Ala	Gly	Phe	Thr	Gly	Leu	Phe	Gly	Tyr	Leu	Gly	Gly	Ser	Val	Ala	Ala	
385					390					395				400		
agc	gcg	att	gtt	ggc	tac	acc	gtg	gac	ttc	ttc	ggc	tgg	gat	ggc	ggc	1248
Ser	Ala	Ile	Val	Gly	Tyr	Thr	Val	Asp	Phe	Phe	Gly	Trp	Asp	Gly	Gly	
				405					410					415		
ttt	atg	gta	atg	att	ggc	ggc	agc	att	ctg	gcg	gtt	atc	ttg	ttg	att	1296
Phe	Met	Val	Met	Ile	Gly	Gly	Ser	Ile	Leu	Ala	Val	Ile	Leu	Leu	Ile	
			420					425					430			

ES 2 529 107 T3

gtt gtg atg att ggc gaa aaa cgt cgc cat gaa caa tta ctg caa gaa 1344
Val Val Met Ile Gly Glu Lys Arg Arg His Glu Gln Leu Leu Gln Glu
435 440 445

cgc aac gga ggc taa 1359
Arg Asn Gly Gly
450

<210> 20

<211> 452

<212> PRT

5 <213> Escherichia coli

<400> 20

Met Leu Ser Ile Phe Lys Pro Ala Pro His Lys Ala Arg Leu Pro Ala
1 5 10 15

Ala Glu Ile Asp Pro Thr Tyr Arg Arg Leu Arg Trp Gln Ile Phe Leu
20 25 30

Gly Ile Phe Phe Gly Tyr Ala Ala Tyr Tyr Leu Val Arg Lys Asn Phe
35 40 45

Ala Leu Ala Met Pro Tyr Leu Val Glu Gln Gly Phe Ser Arg Gly Asp
50 55 60

Leu Gly Phe Ala Leu Ser Gly Ile Ser Ile Ala Tyr Gly Phe Ser Lys
65 70 75 80

Phe Ile Met Gly Ser Val Ser Asp Arg Ser Asn Pro Arg Val Phe Leu
85 90 95

Pro Ala Gly Leu Ile Leu Ala Ala Ala Val Met Leu Phe Met Gly Phe
100 105 110

Val Pro Trp Ala Thr Ser Ser Ile Ala Val Met Phe Val Leu Leu Phe
115 120 125

Leu Cys Gly Trp Phe Gln Gly Met Gly Trp Pro Pro Cys Gly Arg Thr
130 135 140

Met Val His Trp Trp Ser Gln Lys Glu Arg Gly Gly Ile Val Ser Val
145 150 155 160

Trp Asn Cys Ala His Asn Val Gly Gly Gly Ile Pro Pro Leu Leu Phe
165 170 175

Leu Leu Gly Met Ala Trp Phe Asn Asp Trp His Ala Ala Leu Tyr Met

ES 2 529 107 T3

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

Val Val Met Ile Gly Glu Lys Arg Arg His Glu Gln Leu Leu Gln Glu
 435 440 445

Arg Asn Gly Gly
 450

<210> 21

<211> 1011

<212> ADN

5 <213> Escherichia coli

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1011)

10 <223> región codificadora de glpX

<400> 21

atg aga cga gaa ctt gcc atc gaa ttt tcc cgc gtc acc gaa tca gcg 48
 Met Arg Arg Glu Leu Ala Ile Glu Phe Ser Arg Val Thr Glu Ser Ala
 1 5 10 15

gcg ctg gct ggc tac aaa tgg tta gga cgc ggc gat aaa aac acc gcg 96
 Ala Leu Ala Gly Tyr Lys Trp Leu Gly Arg Gly Asp Lys Asn Thr Ala
 20 25 30

gac ggc gcg gcg gta aac gcc atg cgt att atg ctc aac cag gtc aac 144
 Asp Gly Ala Ala Val Asn Ala Met Arg Ile Met Leu Asn Gln Val Asn
 35 40 45

att gac ggc acc atc gtc att ggt gaa ggt gaa atc gac gaa gca ccg 192
 Ile Asp Gly Thr Ile Val Ile Gly Glu Gly Glu Ile Asp Glu Ala Pro
 50 55 60

atg ctc tac att ggt gaa aaa gtc ggt act ggt cgc ggc gac gcg gta 240
 Met Leu Tyr Ile Gly Glu Lys Val Gly Thr Gly Arg Gly Asp Ala Val
 65 70 75 80

gat att gct gtt gat ccg att gaa ggc acg cgc atg acg gcg atg ggc 288
 Asp Ile Ala Val Asp Pro Ile Glu Gly Thr Arg Met Thr Ala Met Gly
 85 90 95

cag gct aac gcg ctg gcg gtg ctg gca gta ggc gat aaa ggc tgc ttc 336
 Gln Ala Asn Ala Leu Ala Val Leu Ala Val Gly Asp Lys Gly Cys Phe
 100 105 110

ctc aat gcg ccg gat atg tat atg gag aag ctg att gtc ggc ccg gga 384
 Leu Asn Ala Pro Asp Met Tyr Met Glu Lys Leu Ile Val Gly Pro Gly
 115 120 125

gcc aaa ggc acc att gat ctg aac ctg ccg ctg gcg gat aac ctg cgc 432
 Ala Lys Gly Thr Ile Asp Leu Asn Leu Pro Leu Ala Asp Asn Leu Arg
 130 135 140

aat gta gcg gcg gcg ctc ggc aaa ccg ttg agc gaa ctg acg gta acg 480
 Asn Val Ala Ala Ala Leu Gly Lys Pro Leu Ser Glu Leu Thr Val Thr
 145 150 155 160

att ctg gct aaa cca cgc cac gat gcc gtt atc gct gaa atg cag caa 528

Ile Leu Ala Lys Pro Arg His Asp Ala Val Ile Ala Glu Met Gln Gln	
165 170 175	
ctc ggc gta cgc gta ttt gct att cgc gac ggc gac gtt gcg gcc tca	576
Leu Gly Val Arg Val Phe Ala Ile Pro Asp Gly Asp Val Ala Ala Ser	
180 185 190	
att ctc acc tgt atg cca gac agc gaa gtt gac gtg ctg tac ggt att	624
Ile Leu Thr Cys Met Pro Asp Ser Glu Val Asp Val Leu Tyr Gly Ile	
195 200 205	
ggt ggc gcg cgc gaa ggc gta gtt tct gcg gcg gtg atc cgc gca tta	672
Gly Gly Ala Pro Glu Gly Val Val Ser Ala Ala Val Ile Arg Ala Leu	
210 215 220	
gat ggc gac atg aac ggt cgt ctg ctg gcg cgt cat gac gtc aaa ggc	720
Asp Gly Asp Met Asn Gly Arg Leu Leu Ala Arg His Asp Val Lys Gly	
225 230 235 240	
gac aac gaa gag aat cgt cgc att ggc gag cag gag ctg gca cgc tgc	768
Asp Asn Glu Glu Asn Arg Arg Ile Gly Glu Gln Glu Leu Ala Arg Cys	
245 250 255	
aaa gcg atg ggc atc gaa gcc ggt aaa gta ttg cgc ctg ggc gat atg	816
Lys Ala Met Gly Ile Glu Ala Gly Lys Val Leu Arg Leu Gly Asp Met	
260 265 270	
gcg cgc agc gat aac gtc atc ttc tct gcc acc ggt att acc aaa ggc	864
Ala Arg Ser Asp Asn Val Ile Phe Ser Ala Thr Gly Ile Thr Lys Gly	
275 280 285	
gat ctg ctg gaa ggc att agc cgc aaa ggc aat atc gcg act acc gaa	912
Asp Leu Leu Glu Gly Ile Ser Arg Lys Gly Asn Ile Ala Thr Thr Glu	
290 295 300	
acg ctg ctg atc cgc ggc aag tca cgc acc att cgc cgc att cag tcc	960
Thr Leu Leu Ile Arg Gly Lys Ser Arg Thr Ile Arg Arg Ile Gln Ser	
305 310 315 320	
atc cac tat ctg gat cgc aaa gac cgc gaa atg cag gtg cac atc ctc	1008
Ile His Tyr Leu Asp Arg Lys Asp Pro Glu Met Gln Val His Ile Leu	
325 330 335	
tga	1011

<210> 22
 <211> 336
 <212> PRT
 <213> Escherichia coli

5

<400> 22
 Met Arg Arg Glu Leu Ala Ile Glu Phe Ser Arg Val Thr Glu Ser Ala
 1 5 10 15
 Ala Leu Ala Gly Tyr Lys Trp Leu Gly Arg Gly Asp Lys Asn Thr Ala
 20 25 30
 Asp Gly Ala Ala Val Asn Ala Met Arg Ile Met Leu Asn Gln Val Asn

ES 2 529 107 T3

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

Asp Leu Leu Glu Gly Ile Ser Arg Lys Gly Asn Ile Ala Thr Thr Glu
290 295 300

Thr Leu Leu Ile Arg Gly Lys Ser Arg Thr Ile Arg Arg Ile Gln Ser
305 310 315 320

Ile His Tyr Leu Asp Arg Lys Asp Pro Glu Met Gln Val His Ile Leu
325 330 335

<210> 23

<211> 1143

<212> ADN

5 <213> Escherichia coli

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1143)

10 <223> región codificadora de gldA

<400> 23

atg ccg cat ttg gca cta ctc atc tct aaa gga gca att atg gac cgc 48
Met Pro His Leu Ala Leu Leu Ile Ser Lys Gly Ala Ile Met Asp Arg
1 5 10 15

att att caa tca ccg ggt aaa tac atc cag ggc gct gat gtg att aat 96
Ile Ile Gln Ser Pro Gly Lys Tyr Ile Gln Gly Ala Asp Val Ile Asn
20 25 30

cgt ctg ggc gaa tac ctg aag ccg ctg gca gaa cgc tgg tta gtg gtg 144
Arg Leu Gly Glu Tyr Leu Lys Pro Leu Ala Glu Arg Trp Leu Val Val
35 40 45

ggt gac aaa ttt gtt tta ggt ttt gct caa tcc act gtc gag aaa agc 192
Gly Asp Lys Phe Val Leu Gly Phe Ala Gln Ser Thr Val Glu Lys Ser
50 55 60

ttt aaa gat gct gga ctg gta gta gaa att gcg ccg ttt ggc ggt gaa 240
Phe Lys Asp Ala Gly Leu Val Val Glu Ile Ala Pro Phe Gly Gly Glu
65 70 75 80

tgt tcg caa aat gag atc gac cgt ctg cgt ggc atc gcg gag act gcg 288
Cys Ser Gln Asn Glu Ile Asp Arg Leu Arg Gly Ile Ala Glu Thr Ala
85 90 95

cag tgt ggc gca att ctc ggt atc ggt ggc gga aaa acc ctc gat act 336
Gln Cys Gly Ala Ile Leu Gly Ile Gly Gly Gly Lys Thr Leu Asp Thr
100 105 110

gcc aaa gca ctg gca cat ttc atg ggt gtt ccg gta gcg atc gca ccg 384
Ala Lys Ala Leu Ala His Phe Met Gly Val Pro Val Ala Ile Ala Pro
115 120 125

act atc gcc tct acc gat gca ccg tgc agc gca ttg tct gtt atc tac 432
Thr Ile Ala Ser Thr Asp Ala Pro Cys Ser Ala Leu Ser Val Ile Tyr
130 135 140

acc gat gag ggt gag ttt gac cgc tat ctg ctg ttg cca aat aac ccg 480

Thr Asp Glu Gly Glu Phe Asp Arg Tyr Leu Leu Leu Pro Asn Asn Pro	
145 150 155 160	
aat atg gtc att gtc gac acc aaa atc gtc gct ggc gca cct gca cgt	528
Asn Met Val Ile Val Asp Thr Lys Ile Val Ala Gly Ala Pro Ala Arg	
165 170 175	
ctg tta gcg gcg ggt atc ggc gat gcg ctg gca acc tgg ttt gaa gcg	576
Leu Leu Ala Ala Gly Ile Gly Asp Ala Leu Ala Thr Trp Phe Glu Ala	
180 185 190	
cgt gcc tgc tct cgt agc ggc gcg acc acc atg gcg ggc ggc aag tgc	624
Arg Ala Cys Ser Arg Ser Gly Ala Thr Thr Met Ala Gly Gly Lys Cys	
195 200 205	
acc cag gct gcg ctg gca ctg gct gaa ctg tgc tac aac acc ctg ctg	672
Thr Gln Ala Ala Leu Ala Leu Ala Glu Leu Cys Tyr Asn Thr Leu Leu	
210 215 220	
gaa gaa ggc gaa aaa gcg atg ctt gct gcc gaa cag cat gta gtg act	720
Glu Glu Gly Glu Lys Ala Met Leu Ala Ala Glu Gln His Val Val Thr	
225 230 235 240	
cgc gcg ctg gag cgc gtg att gaa gcg aac acc tat ttg agc ggt gtt	768
Pro Ala Leu Glu Arg Val Ile Glu Ala Asn Thr Tyr Leu Ser Gly Val	
245 250 255	
ggt ttt gaa agt ggt ggt ctg gct gcg gcg cac gca gtg cat aac ggc	816
Gly Phe Glu Ser Gly Gly Leu Ala Ala Ala His Ala Val His Asn Gly	
260 265 270	
ctg acc gct atc ccg gac gcg cat cac tat tat cac ggt gaa aaa gtg	864
Leu Thr Ala Ile Pro Asp Ala His His Tyr Tyr His Gly Glu Lys Val	
275 280 285	
gca ttc ggt acg ctg acg cag ctg gtt ctg gaa aat gcg ccg gtg gag	912
Ala Phe Gly Thr Leu Thr Gln Leu Val Leu Glu Asn Ala Pro Val Glu	
290 295 300	
gaa atc gaa acc gta gct gcc ctt agc cat gcg gta ggt ttg cca ata	960
Glu Ile Glu Thr Val Ala Ala Leu Ser His Ala Val Gly Leu Pro Ile	
305 310 315 320	
act ctc gct caa ctg gat att aaa gaa gat gtc ccg gcg aaa atg cga	1008
Thr Leu Ala Gln Leu Asp Ile Lys Glu Asp Val Pro Ala Lys Met Arg	
325 330 335	
att gtg gca gaa gcg gca tgt gca gaa ggt gaa acc att cac aac atg	1056
Ile Val Ala Glu Ala Ala Cys Ala Glu Gly Glu Thr Ile His Asn Met	
340 345 350	
cct ggc ggc gcg acg cca gat cag gtt tac gcc gct ctg ctg gta gcc	1104
Pro Gly Gly Ala Thr Pro Asp Gln Val Tyr Ala Ala Leu Leu Val Ala	
355 360 365	
gac cag tac ggt cag cgt ttc ctg caa gag tgg gaa taa	1143
Asp Gln Tyr Gly Gln Arg Phe Leu Gln Glu Trp Glu	
370 375 380	

<210> 24

<211> 380

5 <212> PRT

<213> Escherichia coli

400> 24

```

Met Pro His Leu Ala Leu Leu Ile Ser Lys Gly Ala Ile Met Asp Arg
1           5           10           15

Ile Ile Gln Ser Pro Gly Lys Tyr Ile Gln Gly Ala Asp Val Ile Asn
20           25           30

Arg Leu Gly Glu Tyr Leu Lys Pro Leu Ala Glu Arg Trp Leu Val Val
35           40           45

Gly Asp Lys Phe Val Leu Gly Phe Ala Gln Ser Thr Val Glu Lys Ser
50           55           60

Phe Lys Asp Ala Gly Leu Val Val Glu Ile Ala Pro Phe Gly Gly Glu
65           70           75           80

Cys Ser Gln Asn Glu Ile Asp Arg Leu Arg Gly Ile Ala Glu Thr Ala
85           90           95

Gln Cys Gly Ala Ile Leu Gly Ile Gly Gly Gly Lys Thr Leu Asp Thr
100          105          110

Ala Lys Ala Leu Ala His Phe Met Gly Val Pro Val Ala Ile Ala Pro
115          120          125

Thr Ile Ala Ser Thr Asp Ala Pro Cys Ser Ala Leu Ser Val Ile Tyr
130          135          140

Thr Asp Glu Gly Glu Phe Asp Arg Tyr Leu Leu Leu Pro Asn Asn Pro
145          150          155          160

Asn Met Val Ile Val Asp Thr Lys Ile Val Ala Gly Ala Pro Ala Arg
165          170          175

Leu Leu Ala Ala Gly Ile Gly Asp Ala Leu Ala Thr Trp Phe Glu Ala
180          185          190

Arg Ala Cys Ser Arg Ser Gly Ala Thr Thr Met Ala Gly Gly Lys Cys
195          200          205

Thr Gln Ala Ala Leu Ala Leu Ala Glu Leu Cys Tyr Asn Thr Leu Leu
210          215          220

Glu Glu Gly Glu Lys Ala Met Leu Ala Ala Glu Gln His Val Val Thr

```

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

<210> 25
 <211> 1101
 <212> ADN
 <213> Escherichia coli

5

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (1101)
 <223> región codificadora de dhak

10

<400> 25	
atg ccc tac cgt aat tgc tgg agc aaa ata atg aaa aaa ttg atc aat	48
Met Pro Tyr Arg Asn Cys Trp Ser Lys Ile Met Lys Lys Leu Ile Asn	
1 5 10 15	
gat gtg caa gac gta ctg gac gaa caa ctg gca gga ctg gcg aaa gcg	96
Asp Val Gln Asp Val Leu Asp Glu Gln Leu Ala Gly Leu Ala Lys Ala	
20 25 30	
cat oca tgg ctg aca ctg cat cag gat cgg gtg tat gtc acc cga gct	144
His Pro Ser Leu Thr Leu His Gln Asp Pro Val Tyr Val Thr Arg Ala	
35 40 45	

gat gcc cct gtt gca gga aaa gtc gcc ctg ctg tcg ggt ggc ggc agc Asp Ala Pro Val Ala Gly Lys Val Ala Leu Leu Ser Gly Gly Gly Ser 50 55 60	192
gga cac gag ccg atg cac tgt ggt tat atc ggt cag ggg atg ctt tcg Gly His Glu Pro Met His Cys Gly Tyr Ile Gly Gln Gly Met Leu Ser 65 70 75 80	240
ggg gcc tgt ccg ggc gaa att ttc acc tca ccg acg ccc gat aaa atc Gly Ala Cys Pro Gly Glu Ile Phe Thr Ser Pro Thr Pro Asp Lys Ile 85 90 95	288
ttt gaa tgc gcc atg caa gtt gat ggc ggc gaa ggt gta ctg ttg att Phe Glu Cys Ala Met Gln Val Asp Gly Gly Glu Gly Val Leu Leu Ile 100 105 110	336
atc aaa aat tac acc ggc gat att ctt aac ttt gaa aca gcg acc gag Ile Lys Asn Tyr Thr Gly Asp Ile Leu Asn Phe Glu Thr Ala Thr Glu 115 120 125	384
tta ctg cac gat agc ggc gta aaa gtg acc act gtg gtc att gat gac Leu Leu His Asp Ser Gly Val Lys Val Thr Thr Val Val Ile Asp Asp 130 135 140	432
gac gtt gcg gta aaa gac agt ctt tat act gcc ggg cga cgc ggc gtt Asp Val Ala Val Lys Asp Ser Leu Tyr Thr Ala Gly Arg Arg Gly Val 145 150 155 160	480
gcc aac acc gta tta att gaa aaa ctc gta ggc gca gcg gcg gag cgt Ala Asn Thr Val Leu Ile Glu Lys Leu Val Gly Ala Ala Ala Glu Arg 165 170 175	528
ggc gac tca ctg gac gcc tgt gcg gaa ctg ggg cgt aag ctg aat aat Gly Asp Ser Leu Asp Ala Cys Ala Glu Leu Gly Arg Lys Leu Asn Asn 180 185 190	576
caa ggc cac tca ata ggt atc gct ctc ggt gcc tgt acc gtt cct gcc Gln Gly His Ser Ile Gly Ile Ala Leu Gly Ala Cys Thr Val Pro Ala 195 200 205	624
gcg ggc aaa cct tct ttt acc ctg gcg gat aat gag atg gag ttt ggc Ala Gly Lys Pro Ser Phe Thr Leu Ala Asp Asn Glu Met Glu Phe Gly 210 215 220	672
gtc ggc att cat ggt gag ccg ggt att gac cgc cgc ccc ttc tct tcc Val Gly Ile His Gly Glu Pro Gly Ile Asp Arg Arg Pro Phe Ser Ser 225 230 235 240	720
ctt gat caa acc gtc gat gaa atg ttc gac acc ctg ctg gta aat ggc Leu Asp Gln Thr Val Asp Glu Met Phe Asp Thr Leu Leu Val Asn Gly 245 250 255	768
tca tac cat cgc act ttg cgt ttc tgg gat tat caa caa ggc agt tgg Ser Tyr His Arg Thr Leu Arg Phe Trp Asp Tyr Gln Gln Gly Ser Trp 260 265 270	816
cag gaa gaa caa caa acc aaa caa ccg ctc cag tct ggc gat cgg gtg Gln Glu Glu Gln Gln Thr Lys Gln Pro Leu Gln Ser Gly Asp Arg Val 275 280 285	864
att gcg ctg gtt aac aat ctt ggc gca act ccg ctt tct gag ctg tac	912

```

Ile Ala Leu Val Asn Asn Leu Gly Ala Thr Pro Leu Ser Glu Leu Tyr
290                      295                      300

ggc gtc tat aac cgc ctg acc aca cgt tgc cag caa gcg gga ttg act      960
Gly Val Tyr Asn Arg Leu Thr Thr Arg Cys Gln Gln Ala Gly Leu Thr
305                      310                      315                      320

atc gaa cgt aat tta att ggc gcg tac tgc acc tca ctg gat atg acc      1008
Ile Glu Arg Asn Leu Ile Gly Ala Tyr Cys Thr Ser Leu Asp Met Thr
                      325                      330                      335

ggc ttc tca atc acc tta ctg aaa gtt gat gac gaa acg ctg gca ctc      1056
Gly Phe Ser Ile Thr Leu Leu Lys Val Asp Asp Glu Thr Leu Ala Leu
                      340                      345                      350

tgg gac gcc ccg gtc cac acc ccg gcc ctt aac tgg ggt aaa taa      1101
Trp Asp Ala Pro Val His Thr Pro Ala Leu Asn Trp Gly Lys
                      355                      360                      365

```

<210> 26

<211> 366

<212> PRT

5 <213> Escherichia coli

<400> 26

```

Met Pro Tyr Arg Asn Cys Trp Ser Lys Ile Met Lys Lys Leu Ile Asn
1                      5                      10                      15

Asp Val Gln Asp Val Leu Asp Glu Gln Leu Ala Gly Leu Ala Lys Ala
20                      25                      30

His Pro Ser Leu Thr Leu His Gln Asp Pro Val Tyr Val Thr Arg Ala
35                      40                      45

Asp Ala Pro Val Ala Gly Lys Val Ala Leu Leu Ser Gly Gly Gly Ser
50                      55                      60

Gly His Glu Pro Met His Cys Gly Tyr Ile Gly Gln Gly Met Leu Ser
65                      70                      75                      80

Gly Ala Cys Pro Gly Glu Ile Phe Thr Ser Pro Thr Pro Asp Lys Ile
85                      90                      95

Phe Glu Cys Ala Met Gln Val Asp Gly Gly Glu Gly Val Leu Leu Ile
100                     105                     110

Ile Lys Asn Tyr Thr Gly Asp Ile Leu Asn Phe Glu Thr Ala Thr Glu
115                     120                     125

Leu Leu His Asp Ser Gly Val Lys Val Thr Thr Val Val Ile Asp Asp
130                     135                     140

```


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

<210> 27

<211> 633

<212> ADN

5 <213> Escherichia coli

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (633)
 <223> región codificadora de dhaL

5

<400> 27
 atg tca ctg agc aga act caa att gtt aac tgg ctc act cgt tgt ggc 48
 Met Ser Leu Ser Arg Thr Gln Ile Val Asn Trp Leu Thr Arg Cys Gly
 1 5 10 15
 gat att ttc agc acc gag agc gag tat ctt acc gga ctg gat cgc gaa 96
 Asp Ile Phe Ser Thr Glu Ser Glu Tyr Leu Thr Gly Leu Asp Arg Glu
 20 25 30
 att ggc gat gct gac cac ggg cta aat atg aac cga ggc ttt agc aaa 144
 Ile Gly Asp Ala Asp His Gly Leu Asn Met Asn Arg Gly Phe Ser Lys
 35 40 45
 gtg gtg gaa aaa ctc cct gct atc gca gat aaa gat atc ggt ttc att 192
 Val Val Glu Lys Leu Pro Ala Ile Ala Asp Lys Asp Ile Gly Phe Ile
 50 55 60
 ctc aag aat acc ggt atg acg ctg ctt tcc agc gtc ggt ggt gcc agt 240
 Leu Lys Asn Thr Gly Met Thr Leu Leu Ser Ser Val Gly Gly Ala Ser
 65 70 75 80
 ggt ccg ctg ttc ggt acc ttc ttt atc cgc gcc gca cag gcg acc cag 288
 Gly Pro Leu Phe Gly Thr Phe Phe Ile Arg Ala Ala Gln Ala Thr Gln
 85 90 95
 gca cgg caa agc ctg aca ctg gaa gag ctt tat cag atg ttc cgc gat 336
 Ala Arg Gln Ser Leu Thr Leu Glu Glu Leu Tyr Gln Met Phe Arg Asp
 100 105 110
 ggc gcg gac ggc gta atc agt cgc ggg aaa gcc gaa cct ggc gat aaa 384
 Gly Ala Asp Gly Val Ile Ser Arg Gly Lys Ala Glu Pro Gly Asp Lys
 115 120 125
 acc atg tgt gat gtg tgg gtg ccg gtg gtg gaa tcg tta cgt cag tcc 432
 Thr Met Cys Asp Val Trp Val Pro Val Val Glu Ser Leu Arg Gln Ser
 130 135 140
 agc gag caa aat ctc tct gtt ccg gtg gcg ctc gaa gct gcc agt agc 480
 Ser Glu Gln Asn Leu Ser Val Pro Val Ala Leu Glu Ala Ala Ser Ser
 145 150 155 160
 atc gcc gaa tcc gct gca caa agt acg att acg atg caa gcc cgc aaa 528
 Ile Ala Glu Ser Ala Ala Gln Ser Thr Ile Thr Met Gln Ala Arg Lys
 165 170 175
 ggc cgc gcc agt tat ctc ggt gaa cgc agt att ggt cac cag gat ccc 576
 Gly Arg Ala Ser Tyr Leu Gly Glu Arg Ser Ile Gly His Gln Asp Pro
 180 185 190
 ggc gcg acc tcg gtg atg ttt atg atg caa atg ttg gcg tta gcc gca 624
 Gly Ala Thr Ser Val Met Phe Met Met Gln Met Leu Ala Leu Ala Ala
 195 200 205
 aaa gag taa 633
 Lys Glu
 210

ES 2 529 107 T3

<210> 28
 <211> 210
 <212> PRT
 <213> Escherichia coli

5

<400> 28

```

Met Ser Leu Ser Arg Thr Gln Ile Val Asn Trp Leu Thr Arg Cys Gly
1          5          10          15

Asp Ile Phe Ser Thr Glu Ser Glu Tyr Leu Thr Gly Leu Asp Arg Glu
          20          25          30

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

Val Val Glu Lys Leu Pro Ala Ile Ala Asp Lys Asp Ile Gly Phe Ile
          50          55          60

Leu Lys Asn Thr Gly Met Thr Leu Leu Ser Ser Val Gly Gly Ala Ser
65          70          75          80

Gly Pro Leu Phe Gly Thr Phe Phe Ile Arg Ala Ala Gln Ala Thr Gln
          85          90          95

Ala Arg Gln Ser Leu Thr Leu Glu Glu Leu Tyr Gln Met Phe Arg Asp
          100          105          110

Gly Ala Asp Gly Val Ile Ser Arg Gly Lys Ala Glu Pro Gly Asp Lys
          115          120          125

Thr Met Cys Asp Val Trp Val Pro Val Val Glu Ser Leu Arg Gln Ser
          130          135          140

Ser Glu Gln Asn Leu Ser Val Pro Val Ala Leu Glu Ala Ala Ser Ser
145          150          155          160

Ile Ala Glu Ser Ala Ala Gln Ser Thr Ile Thr Met Gln Ala Arg Lys
          165          170          175

Gly Arg Ala Ser Tyr Leu Gly Glu Arg Ser Ile Gly His Gln Asp Pro
          180          185          190

Gly Ala Thr Ser Val Met Phe Met Met Gln Met Leu Ala Leu Ala Ala
          195          200          205

Lys Glu
210
  
```

<210> 29
 <211> 1422
 <212> ADN
 <213> Escherichia coli

5

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (1422)
 <223> región codificadora de dhaM

10

<400> 29

gtg atg gta aac ctg gtc ata gtt tca cat agc agc cga ctg gga gaa	48
Met Met Val Asn Leu Val Ile Val Ser His Ser Ser Arg Leu Gly Glu	
1 5 10 15	
ggt gtc ggt gaa tta gcc cgt cag atg tta atg agt gat agt tgt aaa	96
Gly Val Gly Glu Leu Ala Arg Gln Met Leu Met Ser Asp Ser Cys Lys	
20 25 30	
atc gcc att gcc gcg gga att gac gat cca caa aat ccc att ggt acc	144
Ile Ala Ile Ala Ala Gly Ile Asp Asp Pro Gln Asn Pro Ile Gly Thr	
35 40 45	
gat gcc gtc aaa gtg atg gag gcc atc gaa tct gtt gct gat gcc gac	192
Asp Ala Val Lys Val Met Glu Ala Ile Glu Ser Val Ala Asp Ala Asp	
50 55 60	
cat gtg ctg gtc atg atg gat atg ggt agc gca tta ttg agt gct gaa	240
His Val Leu Val Met Met Asp Met Gly Ser Ala Leu Leu Ser Ala Glu	
65 70 75 80	
act gcg ctg gaa ttg ctg gct ccc gag atc gcc gca aaa gta cgt ttg	288
Thr Ala Leu Glu Leu Leu Ala Pro Glu Ile Ala Ala Lys Val Arg Leu	
85 90 95	
tgt gct gcg ccg ttg gtc gaa ggt aca ctg gca gca acg gtc agc gcg	336
Cys Ala Ala Pro Leu Val Glu Gly Thr Leu Ala Ala Thr Val Ser Ala	
100 105 110	
gcc tcg ggg gcg gat atc gac aaa gtt atc ttt gac gcc atg cat gcg	384
Ala Ser Gly Ala Asp Ile Asp Lys Val Ile Phe Asp Ala Met His Ala	
115 120 125	
ctg gaa gcc aaa cgt gaa caa ctg ggt tta ccg tcc tcc gac act gaa	432
Leu Glu Ala Lys Arg Glu Gln Leu Gly Leu Pro Ser Ser Asp Thr Glu	
130 135 140	
atc tct gac aca tgt cct gcg tac gat gaa gaa gcc cgt tct ctg gcg	480
Ile Ser Asp Thr Cys Pro Ala Tyr Asp Glu Glu Ala Arg Ser Leu Ala	
145 150 155 160	
gtg gtc ata aaa aac cgt aac gcc ctg cat gta cgt ccg gcc tcc ccg	528
Val Val Ile Lys Asn Arg Asn Gly Leu His Val Arg Pro Ala Ser Arg	
165 170 175	
ctg gtt tat acc tta tcg aca ttt aat gcc gat atg ttg ctg gaa aaa	576
Leu Val Tyr Thr Leu Ser Thr Phe Asn Ala Asp Met Leu Leu Glu Lys	
180 185 190	

aac ggc aaa tgc gtc aca cca gag agt att aac cag att gcg tta cta Asn Gly Lys Cys Val Thr Pro Glu Ser Ile Asn Gln Ile Ala Leu Leu 195 200 205	624
caa gtt cgc tat aac gat acg ctg cgc ctg att gcg aaa ggg cca gaa Gln Val Arg Tyr Asn Asp Thr Leu Arg Leu Ile Ala Lys Gly Pro Glu 210 215 220	672
gct gaa gag gca ctg atc gct ttc cgt cag ctg gct gaa gat aac ttt Ala Glu Glu Ala Leu Ile Ala Phe Arg Gln Leu Ala Glu Asp Asn Phe 225 230 235 240	720
ggc gaa acg gag gaa gtc gct cca cct act ctg cgt ccc gtt ccg cct Gly Glu Thr Glu Glu Val Ala Pro Pro Thr Leu Arg Pro Val Pro Pro 245 250 255	768
gtt tcg ggt aaa gcc ttt tat tat caa cca gtt tta tgt acg gta cag Val Ser Gly Lys Ala Phe Tyr Tyr Gln Pro Val Leu Cys Thr Val Gln 260 265 270	816
gca aaa tca acc ctg acc gtg gaa gaa gaa caa gat cga tta cgc cag Ala Lys Ser Thr Leu Thr Val Glu Glu Glu Gln Asp Arg Leu Arg Gln 275 280 285	864
gct att gac ttc acg tta tta gat ctg atg acg tta aca gcg aaa gca Ala Ile Asp Phe Thr Leu Leu Asp Leu Met Thr Leu Thr Ala Lys Ala 290 295 300	912
gaa gcc agc ggg ctt gac gat att gcc gca atc ttt tct ggt cac cat Glu Ala Ser Gly Leu Asp Asp Ile Ala Ala Ile Phe Ser Gly His His 305 310 315 320	960
aca ctg tta gat gat ccg gaa ctg ctg gcg gcg gca agc gaa ctc ctt Thr Leu Leu Asp Asp Pro Glu Leu Leu Ala Ala Ala Ser Glu Leu Leu 325 330 335	1008
cag cat gaa cat tgc acg gca gaa tat gcc tgg cag caa gtt ctt aaa Gln His Glu His Cys Thr Ala Glu Tyr Ala Trp Gln Gln Val Leu Lys 340 345 350	1056
gaa ctt agc cag caa tac cag caa ctg gat gat gaa tat cta caa gct Glu Leu Ser Gln Gln Tyr Gln Gln Leu Asp Asp Glu Tyr Leu Gln Ala 355 360 365	1104
cgc tat att gat gtg gac gat ctt ctg cat cgc acc ctg gtc cac ctg Arg Tyr Ile Asp Val Asp Asp Leu Leu His Arg Thr Leu Val His Leu 370 375 380	1152
acc caa acg aaa gaa gaa ctc ccg cag ttt aac tcg cca act att cta Thr Gln Thr Lys Glu Glu Leu Pro Gln Phe Asn Ser Pro Thr Ile Leu 385 390 395 400	1200
ctg gcg gag aac att tat cct tcc aca gta ctg caa ctg gat ccg gcg Leu Ala Glu Asn Ile Tyr Pro Ser Thr Val Leu Gln Leu Asp Pro Ala 405 410 415	1248
gtt gta aaa ggt atc tgc ctt agc gcc gga agt ccg gta tcc cac agc Val Val Lys Gly Ile Cys Leu Ser Ala Gly Ser Pro Val Ser His Ser 420 425 430	1296
gcc cta atc gcc cgt gaa ctg ggg att gcc tgg att tgc cag cag ggt	1344

Ala Leu Ile Ala Arg Glu Leu Gly Ile Gly Trp Ile Cys Gln Gln Gly
435 440 445

gag aaa ctg tat gcg ata caa cca gaa gaa acg cta acg ctg gac gtt 1392
Glu Lys Leu Tyr Ala Ile Gln Pro Glu Glu Thr Leu Thr Leu Asp Val
450 455 460

aaa acg caa cgt ttc aac cgt cag ggt taa 1422
Lys Thr Gln Arg Phe Asn Arg Gln Gly
465 470

<210> 30

<211> 473

<212> PRT

5 <213> Escherichia coli

<400> 30

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

Gly Val Gly Glu Leu Ala Arg Gln Met Leu Met Ser Asp Ser Cys Lys
20 25 30

Ile Ala Ile Ala Ala Gly Ile Asp Asp Pro Gln Asn Pro Ile Gly Thr
35 40 45

Asp Ala Val Lys Val Met Glu Ala Ile Glu Ser Val Ala Asp Ala Asp
50 55 60

His Val Leu Val Met Met Asp Met Gly Ser Ala Leu Leu Ser Ala Glu
65 70 75 80

Thr Ala Leu Glu Leu Leu Ala Pro Glu Ile Ala Ala Lys Val Arg Leu
85 90 95

Cys Ala Ala Pro Leu Val Glu Gly Thr Leu Ala Ala Thr Val Ser Ala
100 105 110

Ala Ser Gly Ala Asp Ile Asp Lys Val Ile Phe Asp Ala Met His Ala
115 120 125

Leu Glu Ala Lys Arg Glu Gln Leu Gly Leu Pro Ser Ser Asp Thr Glu
130 135 140

Ile Ser Asp Thr Cys Pro Ala Tyr Asp Glu Glu Ala Arg Ser Leu Ala
145 150 155 160

Val Val Ile Lys Asn Arg Asn Gly Leu His Val Arg Pro Ala Ser Arg
165 170 175

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

420 425 430

Ala Leu Ile Ala Arg Glu Leu Gly Ile Gly Trp Ile Cys Gln Gln Gly
435 440 445

Glu Lys Leu Tyr Ala Ile Gln Pro Glu Glu Thr Leu Thr Leu Asp Val
450 455 460

Lys Thr Gln Arg Phe Asn Arg Gln Gly
465 470

<210> 31
<211> 1929
<212> ADN
5 <213> Escherichia coli

<220>
<221> CDS
<222> (1) .. (1929)
10 <223> región codificadora de dhaR

<400> 31

atg cgg gat atg agt ggc gct ttt aac aac gat ggt cgg ggc ata tct	48
Met Arg Asp Met Ser Gly Ala Phe Asn Asn Asp Gly Arg Gly Ile Ser	
1 5 10 15	
ccc tta att gca acc tcc tgg gag cga tgc aat aag ctg atg aaa cgg	96
Pro Leu Ile Ala Thr Ser Trp Glu Arg Cys Asn Lys Leu Met Lys Arg	
20 25 30	
gag aca tgg aac gta cca cat cag gcc cag ggc gtg aca ttt gct tct	144
Glu Thr Trp Asn Val Pro His Gln Ala Gln Gly Val Thr Phe Ala Ser	
35 40 45	
att tat cgg cgt aag aaa gcg atg ctg acg ctc ggg cag gct gcg ctg	192
Ile Tyr Arg Arg Lys Lys Ala Met Leu Thr Leu Gly Gln Ala Ala Leu	
50 55 60	
gaa gat gcc tgg gaa tat atg gca ccg cga gag tgt gcg ctg ttt atc	240
Glu Asp Ala Trp Glu Tyr Met Ala Pro Arg Glu Cys Ala Leu Phe Ile	
65 70 75 80	
ctc gat gaa acc gcc tgc att ctc agc cgt aat ggc gat ccg caa acc	288
Leu Asp Glu Thr Ala Cys Ile Leu Ser Arg Asn Gly Asp Pro Gln Thr	
85 90 95	
ttg cag cag cta agt gca ctg gga ttc aat gac ggc acg tat tgc gcc	336
Leu Gln Gln Leu Ser Ala Leu Gly Phe Asn Asp Gly Thr Tyr Cys Ala	
100 105 110	
gag gga att att ggt act tgt gcg cta tcg tta gcg gct atc tct ggt	384
Glu Gly Ile Ile Gly Thr Cys Ala Leu Ser Leu Ala Ala Ile Ser Gly	
115 120 125	
cag gcc gtg aaa acg atg gcc gat caa cat ttc aaa cag gta ctc tgg	432
Gln Ala Val Lys Thr Met Ala Asp Gln His Phe Lys Gln Val Leu Trp	
130 135 140	

aac tgg gcc ttt tgt gca acg ccg ttg ttt gac agc aag ggc cga ttg Asn Trp Ala Phe Cys Ala Thr Pro Leu Phe Asp Ser Lys Gly Arg Leu 145 150 155 160	480
acg gga aca ata gcg ctg gcg tgt ccg gtt gag caa act acc gca gct Thr Gly Thr Ile Ala Leu Ala Cys Pro Val Glu Gln Thr Thr Ala Ala 165 170 175	528
gat ttg ccg ttg acg ttg gca atc gcc cgc gag gtc gga aat tta ctg Asp Leu Pro Leu Thr Leu Ala Ile Ala Arg Glu Val Gly Asn Leu Leu 180 185 190	576
ctg acg gac agt ttg ctc gct gaa act aac cgt cat tta aat caa ctt Leu Thr Asp Ser Leu Leu Ala Glu Thr Asn Arg His Leu Asn Gln Leu 195 200 205	624
aat gcc ctg tta gaa agt atg gat gat gcc gtg att agc tgg gac gag Asn Ala Leu Leu Glu Ser Met Asp Asp Gly Val Ile Ser Trp Asp Glu 210 215 220	672
cag ggt aat ttg caa ttt att aat gcc cag gcg gcg cgg gtc ttg cgc Gln Gly Asn Leu Gln Phe Ile Asn Ala Gln Ala Ala Arg Val Leu Arg 225 230 235 240	720
ctt gac gcg acg gca agt cag gga cgg gca atc act gaa ctc tta acg Leu Asp Ala Thr Ala Ser Gln Gly Arg Ala Ile Thr Glu Leu Leu Thr 245 250 255	768
tta ccc gcc gta ttg caa caa gca ata aaa cag gca cat ccg ctc aaa Leu Pro Ala Val Leu Gln Gln Ala Ile Lys Gln Ala His Pro Leu Lys 260 265 270	816
cac gta gaa gca acc ttt gaa agc cag cac cag ttt att gat gcg gtg His Val Glu Ala Thr Phe Glu Ser Gln His Gln Phe Ile Asp Ala Val 275 280 285	864
ata acc ctt aaa ccg ata ata gaa acg cag gga acc agc ttt att ttg Ile Thr Leu Lys Pro Ile Ile Glu Thr Gln Gly Thr Ser Phe Ile Leu 290 295 300	912
ttg ctc cat cct gtg gaa cag atg cgg cag ttg atg acc agt caa tta Leu Leu His Pro Val Glu Gln Met Arg Gln Leu Met Thr Ser Gln Leu 305 310 315 320	960
gga aaa gtc agc cat acc ttc gct cat atg cca cag gac gat ccg caa Gly Lys Val Ser His Thr Phe Ala His Met Pro Gln Asp Asp Pro Gln 325 330 335	1008
acc cgc cgc ttg att cat ttt ggt cgc cag gcg gcg cgc agt agc ttt Thr Arg Arg Leu Ile His Phe Gly Arg Gln Ala Ala Arg Ser Ser Phe 340 345 350	1056
cct gtc ctg ctt tgt gga gaa gag gcc gtg gcc aag gca ctg cta agt Pro Val Leu Leu Cys Gly Glu Glu Gly Val Gly Lys Ala Leu Leu Ser 355 360 365	1104
cag gca att cat aat gaa agc gag cgt gct gca ggt cct tat atc gcc Gln Ala Ile His Asn Glu Ser Glu Arg Ala Ala Gly Pro Tyr Ile Ala 370 375 380	1152
gtc aat tgt gag tta tat ggt gat gct gcg ctg gcg gaa gaa ttt att	1200

Val	Asn	Cys	Glu	Leu	Tyr	Gly	Asp	Ala	Ala	Leu	Ala	Glu	Glu	Phe	Ile	
385					390					395					400	
ggt	ggc	gat	cgc	acg	gac	aat	gaa	aat	ggc	cgt	ctg	agt	cgg	ctg	gaa	1248
Gly	Gly	Asp	Arg	Thr	Asp	Asn	Glu	Asn	Gly	Arg	Leu	Ser	Arg	Leu	Glu	
				405					410					415		
ctg	gca	cac	ggc	ggc	acg	ctg	ttt	ctt	gaa	aag	att	gaa	tat	ctg	gcg	1296
Leu	Ala	His		Gly	Thr	Leu	Phe	Leu	Glu	Lys	Ile	Glu	Tyr	Leu	Ala	
			420					425					430			
gtg	gag	tta	cag	tct	gct	ttg	ctt	cag	gtt	atc	aag	cag	ggg	gtt	atc	1344
Val	Glu	Leu	Gln	Ser	Ala	Leu	Leu	Gln	Val	Ile	Lys	Gln	Gly	Val	Ile	
	435					440						445				
acg	cga	ctg	gat	gcg	cgg	cgt	tta	ata	cca	att	gat	gtc	aaa	gtg	att	1392
Thr	Arg	Leu	Asp	Ala	Arg	Arg	Leu	Ile	Pro	Ile	Asp	Val	Lys	Val	Ile	
	450					455					460					
gca	aca	acg	acc	gcg	gac	ctc	gca	atg	ctg	gtg	gaa	caa	aat	cgt	ttt	1440
Ala	Thr	Thr	Thr	Ala	Asp	Leu	Ala	Met	Leu	Val	Glu	Gln	Asn	Arg	Phe	
465				470					475						480	
agt	cgc	cag	ctg	tat	tac	gcg	ctg	cat	gca	ttt	gaa	att	acc	atc	cgc	1488
Ser	Arg	Gln	Leu	Tyr	Tyr	Ala	Leu	His	Ala	Phe	Glu	Ile	Thr	Ile	Pro	
			485					490						495		
cct	ctg	cgt	atg	cgg	cgt	ggc	agc	att	cgc	gcg	ctg	gtg	aat	aac	aaa	1536
Pro	Leu	Arg	Met	Arg	Arg	Gly	Ser	Ile	Pro	Ala	Leu	Val	Asn	Asn	Lys	
			500					505					510			
tta	cgc	agt	ctt	gaa	aaa	cgc	ttc	tct	acg	cgg	ctg	aaa	att	gat	gac	1584
Leu	Arg	Ser	Leu	Glu	Lys	Arg	Phe	Ser	Thr	Arg	Leu	Lys	Ile	Asp	Asp	
		515					520					525				
gat	gcc	ctc	gct	cgc	ctg	gtt	tct	tgt	gca	tgg	cca	ggc	aac	gat	ttt	1632
Asp	Ala	Leu	Ala	Arg	Leu	Val	Ser	Cys	Ala	Trp	Pro	Gly	Asn	Asp	Phe	
	530					535					540					
gaa	ctt	tac	agc	gtc	atc	gag	aat	ctt	gct	ctg	agt	agt	gat	aac	ggg	1680
Glu	Leu	Tyr	Ser	Val	Ile	Glu	Asn	Leu	Ala	Leu	Ser	Ser	Asp	Asn	Gly	
545				550					555						560	
cgc	att	cgc	gtc	agt	gat	ttg	cgc	gaa	cat	ctg	ttt	acc	gag	cag	gcg	1728
Arg	Ile	Arg	Val	Ser	Asp	Leu	Pro	Glu	His	Leu	Phe	Thr	Glu	Gln	Ala	
			565					570						575		
aca	gat	gat	gtc	agc	gcc	acc	cgc	ctt	tcc	acc	agt	ctg	tca	ttt	gcg	1776
Thr	Asp	Asp	Val	Ser	Ala	Thr	Arg	Leu	Ser	Thr	Ser	Leu	Ser	Phe	Ala	
			580					585					590			
gaa	gtt	gaa	aaa	gag	gca	att	att	aac	gca	gcc	cag	gtc	aca	ggc	ggt	1824
Glu	Val	Glu	Lys	Glu	Ala	Ile	Ile	Asn	Ala	Ala	Gln	Val	Thr	Gly	Gly	
	595					600					605					
cgc	att	cag	gaa	atg	tgc	gct	tta	ctt	ggg	atc	ggc	cgc	act	acg	ctg	1872
Arg	Ile	Gln	Glu	Met	Ser	Ala	Leu	Leu	Gly	Ile	Gly	Arg	Thr	Thr	Leu	
	610					615					620					
tgg	cgg	aaa	atg	aag	caa	cat	ggc	att	gat	gca	ggg	cag	ttt	aag	cgc	1920
Trp	Arg	Lys	Met	Lys	Gln	His	Gly	Ile	Asp	Ala	Gly	Gln	Phe	Lys	Arg	
625					630					635					640	
cgg	gta	tga														1929
Arg	Val															

<210> 32
 <211> 642
 <212> PRT
 <213> Escherichia coli

5

<400> 32
 Met Arg Asp Met Ser Gly Ala Phe Asn Asn Asp Gly Arg Gly Ile Ser
 1 5 10 15
 Pro Leu Ile Ala Thr Ser Trp Glu Arg Cys Asn Lys Leu Met Lys Arg
 20 25 30
 Glu Thr Trp Asn Val Pro His Gln Ala Gln Gly Val Thr Phe Ala Ser
 35 40 45
 Ile Tyr Arg Arg Lys Lys Ala Met Leu Thr Leu Gly Gln Ala Ala Leu
 50 55 60
 Glu Asp Ala Trp Glu Tyr Met Ala Pro Arg Glu Cys Ala Leu Phe Ile
 65 70 75 80
 Leu Asp Glu Thr Ala Cys Ile Leu Ser Arg Asn Gly Asp Pro Gln Thr
 85 90 95
 Leu Gln Gln Leu Ser Ala Leu Gly Phe Asn Asp Gly Thr Tyr Cys Ala
 100 105 110
 Glu Gly Ile Ile Gly Thr Cys Ala Leu Ser Leu Ala Ala Ile Ser Gly
 115 120 125
 Gln Ala Val Lys Thr Met Ala Asp Gln His Phe Lys Gln Val Leu Trp
 130 135 140
 Asn Trp Ala Phe Cys Ala Thr Pro Leu Phe Asp Ser Lys Gly Arg Leu
 145 150 155 160
 Thr Gly Thr Ile Ala Leu Ala Cys Pro Val Glu Gln Thr Thr Ala Ala
 165 170 175
 Asp Leu Pro Leu Thr Leu Ala Ile Ala Arg Glu Val Gly Asn Leu Leu
 180 185 190
 Leu Thr Asp Ser Leu Leu Ala Glu Thr Asn Arg His Leu Asn Gln Leu

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

ES 2 529 107 T3

Thr Arg Leu Asp Ala Arg Arg Leu Ile Pro Ile Asp Val Lys Val Ile
450 455 460

Ala Thr Thr Thr Ala Asp Leu Ala Met Leu Val Glu Gln Asn Arg Phe
465 470 475 480

Ser Arg Gln Leu Tyr Tyr Ala Leu His Ala Phe Glu Ile Thr Ile Pro
485 490 495

Pro Leu Arg Met Arg Arg Gly Ser Ile Pro Ala Leu Val Asn Asn Lys
500 505 510

Leu Arg Ser Leu Glu Lys Arg Phe Ser Thr Arg Leu Lys Ile Asp Asp
515 520 525

Asp Ala Leu Ala Arg Leu Val Ser Cys Ala Trp Pro Gly Asn Asp Phe
530 535 540

Glu Leu Tyr Ser Val Ile Glu Asn Leu Ala Leu Ser Ser Asp Asn Gly
545 550 555 560

Arg Ile Arg Val Ser Asp Leu Pro Glu His Leu Phe Thr Glu Gln Ala
565 570 575

Thr Asp Asp Val Ser Ala Thr Arg Leu Ser Thr Ser Leu Ser Phe Ala
580 585 590

Glu Val Glu Lys Glu Ala Ile Ile Asn Ala Ala Gln Val Thr Gly Gly
595 600 605

Arg Ile Gln Glu Met Ser Ala Leu Leu Gly Ile Gly Arg Thr Thr Leu
610 615 620

Trp Arg Lys Met Lys Gln His Gly Ile Asp Ala Gly Gln Phe Lys Arg
625 630 635 640

Arg Val

<210> 33

<211> 735

<212> ADN

5 <213> Escherichia coli

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (735)

10 <223> región codificadora de fsa

<400> 33

gtg cgt caa ctg ttc aga gag ttt tcc cgt gat agt cta cat tca gac Met Arg Gln Leu Phe Arg Glu Phe Ser Arg Asp Ser Leu His Ser Asp 1 5 10 15	48
aaa aag tac att ttg agg atg gtt atg gaa ctg tat ctg gat act tca Lys Lys Tyr Ile Leu Arg Met Val Met Glu Leu Tyr Leu Asp Thr Ser 20 25 30	96
gac gtt gtt gcg gtg aag gcg ctg tca cgt att ttt ccg ctg gcg ggt Asp Val Val Ala Val Lys Ala Leu Ser Arg Ile Phe Pro Leu Ala Gly 35 40 45	144
gtg acc act aac cca agc att atc gcc gcg ggt aaa aaa ccg ctg gat Val Thr Thr Asn Pro Ser Ile Ile Ala Ala Gly Lys Lys Pro Leu Asp 50 55 60	192
gtt gtg ctt ccg caa ctt cat gaa gcg atg gcc ggt cag ggg cgt ctg Val Val Leu Pro Gln Leu His Glu Ala Met Gly Gly Gln Gly Arg Leu 65 70 75 80	240
ttt gcc cag gta atg gct acc act gcc gaa ggg atg gtt aat gac gcg Phe Ala Gln Val Met Ala Thr Thr Ala Glu Gly Met Val Asn Asp Ala 85 90 95	288
ctt aag ctg cgt tct att att gcg gat atc gtg gtg aaa gtt ccg gtg Leu Lys Leu Arg Ser Ile Ile Ala Asp Ile Val Val Lys Val Pro Val 100 105 110	336
acc gcc gag ggg ctg gca gct att aag atg tta aaa gcg gaa ggg att Thr Ala Glu Gly Leu Ala Ala Ile Lys Met Leu Lys Ala Glu Gly Ile 115 120 125	384
ccg acg ctg gga acc gcg gta tat gcc gca gca caa ggg ctg ctg tcg Pro Thr Leu Gly Thr Ala Val Tyr Gly Ala Ala Gln Gly Leu Leu Ser 130 135 140	432
gcg ctg gca ggt gcg gaa tat gtt gcg cct tac gtt aat cgt att gat Ala Leu Ala Gly Ala Glu Tyr Val Ala Pro Tyr Val Asn Arg Ile Asp 145 150 155 160	480
gct cag gcc ggt agc gcc att cag act gtg acc gac tta cac cag tta Ala Gln Gly Gly Ser Gly Ile Gln Thr Val Thr Asp Leu His Gln Leu 165 170 175	528
ttg aaa atg cat gcg ccg cag gcg aaa gtg ctg gca gcg agt ttc aaa Leu Lys Met His Ala Pro Gln Ala Lys Val Leu Ala Ala Ser Phe Lys 180 185 190	576
acc ccg cgt cag gcg ctg gac tgc tta ctg gca gga tgt gaa tca att Thr Pro Arg Gln Ala Leu Asp Cys Leu Leu Ala Gly Cys Glu Ser Ile 195 200 205	624
act ctg cca ctg gat gtg gca caa cag atg att agc tat ccg gcg gtt Thr Leu Pro Leu Asp Val Ala Gln Gln Met Ile Ser Tyr Pro Ala Val 210 215 220	672
gat gcc gct gtg gcg aag ttt gag cag gac tgg cag gga gcg ttt gcc Asp Ala Ala Val Ala Lys Phe Glu Gln Asp Trp Gln Gly Ala Phe Gly 225 230 235 240	720
aga acg tcg att taa Arg Thr Ser Ile	735

<210> 34
 <211> 244
 <212> PRT
 <213> Escherichia coli

5

<400> 34
 Met Arg Gln Leu Phe Arg Glu Phe Ser Arg Asp Ser Leu His Ser Asp
 1 5 10 15

 Lys Lys Tyr Ile Leu Arg Met Val Met Glu Leu Tyr Leu Asp Thr Ser
 20 25 30

 Asp Val Val Ala Val Lys Ala Leu Ser Arg Ile Phe Pro Leu Ala Gly
 35 40 45

 Val Thr Thr Asn Pro Ser Ile Ile Ala Ala Gly Lys Lys Pro Leu Asp
 50 55 60

 Val Val Leu Pro Gln Leu His Glu Ala Met Gly Gly Gln Gly Arg Leu
 65 70 75 80

 Phe Ala Gln Val Met Ala Thr Thr Ala Glu Gly Met Val Asn Asp Ala
 85 90 95

 Leu Lys Leu Arg Ser Ile Ile Ala Asp Ile Val Val Lys Val Pro Val
 100 105 110

 Thr Ala Glu Gly Leu Ala Ala Ile Lys Met Leu Lys Ala Glu Gly Ile
 115 120 125

 Pro Thr Leu Gly Thr Ala Val Tyr Gly Ala Ala Gln Gly Leu Leu Ser
 130 135 140

 Ala Leu Ala Gly Ala Glu Tyr Val Ala Pro Tyr Val Asn Arg Ile Asp
 145 150 155 160

 Ala Gln Gly Gly Ser Gly Ile Gln Thr Val Thr Asp Leu His Gln Leu
 165 170 175

 Leu Lys Met His Ala Pro Gln Ala Lys Val Leu Ala Ala Ser Phe Lys
 180 185 190

Thr Pro Arg Gln Ala Leu Asp Cys Leu Leu Ala Gly Cys Glu Ser Ile
195 200 205

Thr Leu Pro Leu Asp Val Ala Gln Gln Met Ile Ser Tyr Pro Ala Val
210 215 220

Asp Ala Ala Val Ala Lys Phe Glu Gln Asp Trp Gln Gly Ala Phe Gly
225 230 235 240

Arg Thr Ser Ile

<210> 35

<211> 663

<212> ADN

5 <213> Escherichia coli

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (663)

10 <223> región codificadora de talC

<400> 35

atg gaa ctg tat ctg gac acc gct aac gtc gca gaa gtc gaa cgt ctg Met Glu Leu Tyr Leu Asp Thr Ala Asn Val Ala Glu Val Glu Arg Leu 1 5 10 15	48
gca cgc ata ttc ccc att gcc ggg gtg aca act aac ccg agc att atc Ala Arg Ile Phe Pro Ile Ala Gly Val Thr Thr Asn Pro Ser Ile Ile 20 25 30	96
gct gcc agc aag gag tcc ata tgg gaa gtg ctg ccg cgt ctg caa aaa Ala Ala Ser Lys Glu Ser Ile Trp Glu Val Leu Pro Arg Leu Gln Lys 35 40 45	144
gcg att ggt gat gag gcc att ctg ttt gct cag acc atg agc cgc gac Ala Ile Gly Asp Glu Gly Ile Leu Phe Ala Gln Thr Met Ser Arg Asp 50 55 60	192
gcg cag ggg atg gtg gaa gaa gcg aag cgc ctg cgc gac gct att ccg Ala Gln Gly Met Val Glu Glu Ala Lys Arg Leu Arg Asp Ala Ile Pro 65 70 75 80	240
ggt att gtg gtg aaa atc ccg gtg act tcc gaa ggt ctg gca gca att Gly Ile Val Val Lys Ile Pro Val Thr Ser Glu Gly Leu Ala Ala Ile 85 90 95	288
aaa ata ctg aaa aaa gag ggt att act aca ctt ggc act gct gta tat Lys Ile Leu Lys Lys Glu Gly Ile Thr Thr Leu Gly Thr Ala Val Tyr 100 105 110	336
agc gcc gca caa ggg tta tta gcc gca ctg gca ggg gca aaa tac gtt Ser Ala Ala Gln Gly Leu Leu Ala Ala Leu Ala Gly Ala Lys Tyr Val 115 120 125	384
gct ccg tat gtt aac cgc gta gat gcc cag gcc gga gac gcc att cgt Ala Pro Tyr Val Asn Arg Val Asp Ala Gln Gly Gly Asp Gly Ile Arg 130 135 140	432
acg gtt cag gag ctg caa acg ctg tta gaa atg cac gcg cca gaa agc Thr Val Gln Glu Leu Gln Thr Leu Leu Glu Met His Ala Pro Glu Ser 145 150 155 160	480
atg gtg ctg gca gcc agc ttt aaa acg ccg cgt cag gcg ctg gac tgt Met Val Leu Ala Ala Ser Phe Lys Thr Pro Arg Gln Ala Leu Asp Cys 165 170 175	528
tta ctg gca gga tgt gaa tcc atc acc ctg ccc tta gat gta gcg caa Leu Leu Ala Gly Cys Glu Ser Ile Thr Leu Pro Leu Asp Val Ala Gln 180 185 190	576
caa atg ctc aac acc cct gcg gta gag tca gct ata gag aag ttc gaa Gln Met Leu Asn Thr Pro Ala Val Glu Ser Ala Ile Glu Lys Phe Glu 195 200 205	624
cac gac tgg aat gcc gca ttt ggc act act cat ctc taa His Asp Trp Asn Ala Ala Phe Gly Thr Thr His Leu 210 215 220	663

<210> 36
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> Escherichia coli

5

<400> 36
 Met Glu Leu Tyr Leu Asp Thr Ala Asn Val Ala Glu Val Glu Arg Leu
 1 5 10 15
 Ala Arg Ile Phe Pro Ile Ala Gly Val Thr Thr Asn Pro Ser Ile Ile
 20 25 30
 Ala Ala Ser Lys Glu Ser Ile Trp Glu Val Leu Pro Arg Leu Gln Lys
 35 40 45
 Ala Ile Gly Asp Glu Gly Ile Leu Phe Ala Gln Thr Met Ser Arg Asp
 50 55 60
 Ala Gln Gly Met Val Glu Glu Ala Lys Arg Leu Arg Asp Ala Ile Pro
 65 70 75 80
 Gly Ile Val Val Lys Ile Pro Val Thr Ser Glu Gly Leu Ala Ala Ile
 85 90 95
 Lys Ile Leu Lys Lys Glu Gly Ile Thr Thr Leu Gly Thr Ala Val Tyr
 100 105 110
 Ser Ala Ala Gln Gly Leu Leu Ala Ala Leu Ala Gly Ala Lys Tyr Val
 115 120 125
 Ala Pro Tyr Val Asn Arg Val Asp Ala Gln Gly Gly Asp Gly Ile Arg
 130 135 140
 Thr Val Gln Glu Leu Gln Thr Leu Leu Glu Met His Ala Pro Glu Ser
 145 150 155 160
 Met Val Leu Ala Ala Ser Phe Lys Thr Pro Arg Gln Ala Leu Asp Cys
 165 170 175
 Leu Leu Ala Gly Cys Glu Ser Ile Thr Leu Pro Leu Asp Val Ala Gln
 180 185 190
 Gln Met Leu Asn Thr Pro Ala Val Glu Ser Ala Ile Glu Lys Phe Glu
 195 200 205
 His Asp Trp Asn Ala Ala Phe Gly Thr Thr His Leu
 210 215 220

<210> 37
 <211> 1530
 <212> ADN
 <213> Corynebacterium glutamicum

10

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (1530)
 <223> región codificadora de glpK

5

<400> 37
 atg aga atc tca aag gcc aat gcg tat gtt gca gcg att gac caa ggc 48
 Met Arg Ile Ser Lys Ala Asn Ala Tyr Val Ala Ala Ile Asp Gln Gly
 1 5 10 15
 acc act tcc act cgg tgc atc ttc att gat gcc caa gga aaa gtg gtg 96
 Thr Thr Ser Thr Arg Cys Ile Phe Ile Asp Ala Gln Gly Lys Val Val
 20 25 30
 tct tct gct tcc aag gag cac cgc caa atc ttc cca caa cag ggc tgg 144
 Ser Ser Ala Ser Lys Glu His Arg Gln Ile Phe Pro Gln Gln Gly Trp
 35 40 45
 gta gag cac gat cct gaa gaa att tgg gac aac atc cga tct gtc gtc 192
 Val Glu His Asp Pro Glu Glu Ile Trp Asp Asn Ile Arg Ser Val Val
 50 55 60
 agc cag gcg atg gtc tcc att gac atc acc cca cac gag gtt gca tcg 240
 Ser Gln Ala Met Val Ser Ile Asp Ile Thr Pro His Glu Val Ala Ser
 65 70 75 80
 ctg gga gtc acc aac cag cgc gaa acc acc gtg gtg tgg gac aag cac 288
 Leu Gly Val Thr Asn Gln Arg Glu Thr Thr Val Val Trp Asp Lys His
 85 90 95

acc ggc gaa cct gtc tac aac gca atc gtg tgg caa gac acc cgc acc	336
Thr Gly Glu Pro Val Tyr Asn Ala Ile Val Trp Gln Asp Thr Arg Thr	
100 105 110	
tct gac att tgc cta gag atc gcg ggc gaa gaa ggc cag gaa aag tgg	384
Ser Asp Ile Cys Leu Glu Ile Ala Gly Glu Glu Gly Gln Glu Lys Trp	
115 120 125	
ctt gac cgc acc ggc ctg ctg atc aac tcc tac cca tcg ggg ccc aaa	432
Leu Asp Arg Thr Gly Leu Leu Ile Asn Ser Tyr Pro Ser Gly Pro Lys	
130 135 140	
atc aag tgg att ctc gac aac gtt gag gga gct cgc gaa cgc gcc gaa	480
Ile Lys Trp Ile Leu Asp Asn Val Glu Gly Ala Arg Glu Arg Ala Glu	
145 150 155 160	
aag ggc gac ctt ttg ttt ggc acc atg gat acc tgg gtg ctg tgg aac	528
Lys Gly Asp Leu Leu Phe Gly Thr Met Asp Thr Trp Val Leu Trp Asn	
165 170 175	
ctg acc ggc ggt gtc cgc ggc gac gac ggt gat gat gcc atc cac gtc	576
Leu Thr Gly Gly Val Arg Gly Asp Asp Gly Asp Asp Ala Ile His Val	
180 185 190	
acc gat gtc acc aac gca tcc cgc aca cta ttg atg gat ctc cgc acg	624
Thr Asp Val Thr Asn Ala Ser Arg Thr Leu Leu Met Asp Leu Arg Thr	
195 200 205	
caa cag tgg gat cca gaa cta tgc gaa gcc cta gac att ccg atg tcc	672
Gln Gln Trp Asp Pro Glu Leu Cys Glu Ala Leu Asp Ile Pro Met Ser	
210 215 220	
atg ctc cct gag att cgt ccc tcc gtc gga gaa ttc cgc tcc gtg cgc	720
Met Leu Pro Glu Ile Arg Pro Ser Val Gly Glu Phe Arg Ser Val Arg	
225 230 235 240	
cac cgc gga acc cta gcc gac gtc ccg att act ggc gtg ctc ggc gac	768
His Arg Gly Thr Leu Ala Asp Val Pro Ile Thr Gly Val Leu Gly Asp	
245 250 255	
cag caa gcg gcc ctt ttt ggt cag ggc gga ttc cac gaa ggt gct gct	816
Gln Gln Ala Ala Leu Phe Gly Gln Gly Gly Phe His Glu Gly Ala Ala	
260 265 270	
aaa aat acc tac ggc acc ggc ctc ttc ctg ctg atg aac acc ggc acc	864
Lys Asn Thr Tyr Gly Thr Gly Leu Phe Leu Leu Met Asn Thr Gly Thr	
275 280 285	
tcg ttg aag att tcc gag cac ggc ctg ctg tcc acc atc gcc tat caa	912
Ser Leu Lys Ile Ser Glu His Gly Leu Leu Ser Thr Ile Ala Tyr Gln	
290 295 300	
cgg gaa gga tcc got ccg gtc tac gcg ctg gaa ggt tcc gta tcc atg	960
Arg Glu Gly Ser Ala Pro Val Tyr Ala Leu Glu Gly Ser Val Ser Met	
305 310 315 320	
ggc ggt tcc ttg gtg cag tgg ctg cgc gac aac cta cag cta atc ccc	1008
Gly Gly Ser Leu Val Gln Trp Leu Arg Asp Asn Leu Gln Leu Ile Pro	
325 330 335	
aac gca cca gcg att gaa aac ctc gcc cga gaa gtc gaa gac aac ggt	1056

```

Asn Ala Pro Ala Ile Glu Asn Leu Ala Arg Glu Val Glu Asp Asn Gly
    340                      345                      350

ggc gtt cat gtt gtc cca gca ttc acc gga ctg ttc gca cca cgt tgg      1104
Gly Val His Val Val Pro Ala Phe Thr Gly Leu Phe Ala Pro Arg Trp
    355                      360                      365

cgc ccc gat gct cgt ggc gtc att aca ggc ctc acc cgt ttt gcc aac      1152
Arg Pro Asp Ala Arg Gly Val Ile Thr Gly Leu Thr Arg Phe Ala Asn
    370                      375                      380

cgc aaa cac atc gcc cgc gca gtc ctt gaa gcc aac gcc ttc caa acc      1200
Arg Lys His Ile Ala Arg Ala Val Leu Glu Ala Asn Ala Phe Gln Thr
    385                      390                      395                      400

cgc gaa gtt gtg gac gcc atg gcc aaa gac gca ggc aaa gcc ctc gaa      1248
Arg Glu Val Val Asp Ala Met Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ala Leu Glu
    405                      410                      415

tcc ctc cgc gtc gac ggt gcg atg gtg gaa aat gac ctc ctc atg caa      1296
Ser Leu Arg Val Asp Gly Ala Met Val Glu Asn Asp Leu Leu Met Gln
    420                      425                      430

atg caa gcc gac ttc ctc ggc atc gac gtc caa cgt ctc gag gac gta      1344
Met Gln Ala Asp Phe Leu Gly Ile Asp Val Gln Arg Leu Glu Asp Val
    435                      440                      445

gaa acc acc gcc gtc ggc gtc gca ttc gct gca ggt ctc ggc tct gga      1392
Glu Thr Thr Ala Val Gly Val Ala Phe Ala Ala Gly Leu Gly Ser Gly
    450                      455                      460

ttc ttc aaa aca act gac gag atc gaa aaa ctt att gca gtg aag aaa      1440
Phe Phe Lys Thr Thr Asp Glu Ile Glu Lys Leu Ile Ala Val Lys Lys
    465                      470                      475                      480

gtc tgg aac cct gac atg agc gaa gaa gag cgc gaa cgt cgc tat gcc      1488
Val Trp Asn Pro Asp Met Ser Glu Glu Glu Arg Glu Arg Arg Tyr Ala
    485                      490                      495

gaa tgg aat agg gca gtg gag cat tct tat gac cag gcc tag      1530
Glu Trp Asn Arg Ala Val Glu His Ser Tyr Asp Gln Ala
    500                      505

```

<210> 38

<211> 509

<212> PRT

5 <213> Corynebacterium glutamicum

<400> 38

```

Met Arg Ile Ser Lys Ala Asn Ala Tyr Val Ala Ala Ile Asp Gln Gly
1          5          10          15

Thr Thr Ser Thr Arg Cys Ile Phe Ile Asp Ala Gln Gly Lys Val Val
20          25          30

Ser Ser Ala Ser Lys Glu His Arg Gln Ile Phe Pro Gln Gln Gly Trp
35          40          45

```

Val Glu His Asp Pro Glu Glu Ile Trp Asp Asn Ile Arg Ser Val Val
50 55 60

Ser Gln Ala Met Val Ser Ile Asp Ile Thr Pro His Glu Val Ala Ser
65 70 75 80

Leu Gly Val Thr Asn Gln Arg Glu Thr Thr Val Val Trp Asp Lys His
85 90 95

Thr Gly Glu Pro Val Tyr Asn Ala Ile Val Trp Gln Asp Thr Arg Thr
100 105 110

Ser Asp Ile Cys Leu Glu Ile Ala Gly Glu Glu Gly Gln Glu Lys Trp
115 120 125

Leu Asp Arg Thr Gly Leu Leu Ile Asn Ser Tyr Pro Ser Gly Pro Lys
130 135 140

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

Lys Gly Asp Leu Leu Phe Gly Thr Met Asp Thr Trp Val Leu Trp Asn
165 170 175

Leu Thr Gly Gly Val Arg Gly Asp Asp Gly Asp Asp Ala Ile His Val
180 185 190

Thr Asp Val Thr Asn Ala Ser Arg Thr Leu Leu Met Asp Leu Arg Thr
195 200 205

Gln Gln Trp Asp Pro Glu Leu Cys Glu Ala Leu Asp Ile Pro Met Ser
210 215 220

Met Leu Pro Glu Ile Arg Pro Ser Val Gly Glu Phe Arg Ser Val Arg
225 230 235 240

His Arg Gly Thr Leu Ala Asp Val Pro Ile Thr Gly Val Leu Gly Asp
245 250 255

Gln Gln Ala Ala Leu Phe Gly Gln Gly Gly Phe His Glu Gly Ala Ala
260 265 270

Lys Asn Thr Tyr Gly Thr Gly Leu Phe Leu Leu Met Asn Thr Gly Thr
275 280 285

Ser Leu Lys Ile Ser Glu His Gly Leu Leu Ser Thr Ile Ala Tyr Gln

```

290                      295                      300

Arg Glu Gly Ser Ala Pro Val Tyr Ala Leu Glu Gly Ser Val Ser Met
305                      310                      315                      320

Gly Gly Ser Leu Val Gln Trp Leu Arg Asp Asn Leu Gln Leu Ile Pro
                      325                      330                      335

Asn Ala Pro Ala Ile Glu Asn Leu Ala Arg Glu Val Glu Asp Asn Gly
                      340                      345                      350

Gly Val His Val Val Pro Ala Phe Thr Gly Leu Phe Ala Pro Arg Trp
                      355                      360                      365

Arg Pro Asp Ala Arg Gly Val Ile Thr Gly Leu Thr Arg Phe Ala Asn
                      370                      375                      380

Arg Lys His Ile Ala Arg Ala Val Leu Glu Ala Asn Ala Phe Gln Thr
385                      390                      395                      400

Arg Glu Val Val Asp Ala Met Ala Lys Asp Ala Gly Lys Ala Leu Glu
                      405                      410                      415

Ser Leu Arg Val Asp Gly Ala Met Val Glu Asn Asp Leu Leu Met Gln
                      420                      425                      430

Met Gln Ala Asp Phe Leu Gly Ile Asp Val Gln Arg Leu Glu Asp Val
                      435                      440                      445

Glu Thr Thr Ala Val Gly Val Ala Phe Ala Ala Gly Leu Gly Ser Gly
450                      455                      460

Phe Phe Lys Thr Thr Asp Glu Ile Glu Lys Leu Ile Ala Val Lys Lys
465                      470                      475                      480

Val Trp Asn Pro Asp Met Ser Glu Glu Glu Arg Glu Arg Arg Tyr Ala
                      485                      490                      495

Glu Trp Asn Arg Ala Val Glu His Ser Tyr Asp Gln Ala
500                      505

```

<210> 39

<211> 1725

<212> ADN

5 <213> Corynebacterium glutamicum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1725)

10 <223> región codificadora de glpD

<400> 39

atg tgg gtt ggc ggt ttt cct att agg ctc act ttt atg acg agc gca Met Trp Val Gly Gly Phe Pro Ile Arg Leu Thr Phe Met Thr Ser Ala 1 5 10 15	48
cac ttt gaa tcc cgc cgg att ggc cct ccg ctt cgc gat aat tat gac His Phe Glu Ser Arg Arg Ile Gly Pro Pro Leu Arg Asp Asn Tyr Asp 20 25 30	96
gtc att gtg att ggc ggt ggt atc tca ggt gta cag att gcg cga cat Val Ile Val Ile Gly Gly Gly Ile Ser Gly Val Gln Ile Ala Arg His 35 40 45	144
gct caa ggc cgc ggt tta cgc act gtg atg ttt gag gcc aga gat tat Ala Gln Gly Arg Gly Leu Arg Thr Val Met Phe Glu Ala Arg Asp Tyr 50 55 60	192
tct tct gga aca tca tcc aca acc tcc aag atg att cat ggt ggt ttg Ser Ser Gly Thr Ser Ser Thr Thr Ser Lys Met Ile His Gly Gly Leu 65 70 75 80	240
cgc tat ttg gag cag tac gat ttc ggc gtg gtc cag gaa gcc gtg aag Arg Tyr Leu Glu Gln Tyr Asp Phe Gly Val Val Gln Glu Ala Val Lys 85 90 95	288
gaa cgc cgg tac cta ggt atc gcc gct ccg cat ttg gtg gct cca cgc Glu Arg Arg Tyr Leu Gly Ile Ala Ala Pro His Leu Val Ala Pro Arg 100 105 110	336
agt ttc atg ctc acg gcg ttt gat tgg tca gag ccg aaa gcc cct atg Ser Phe Met Leu Thr Ala Phe Asp Trp Ser Glu Pro Lys Ala Pro Met 115 120 125	384
ttg ggt gct ggt gtg gcg ttg tat gaa acg atg gcg tgg cag cgt aac Leu Gly Ala Gly Val Ala Leu Tyr Glu Thr Met Ala Trp Gln Arg Asn 130 135 140	432
cag ggg caa tcc aag gaa aac cac tcc ccg cgt ttc cgg tgg att cct Gln Gly Gln Ser Lys Glu Asn His Ser Pro Arg Phe Arg Trp Ile Pro 145 150 155 160	480
aaa aat gca ctg ctc aag gaa gtc ccg tgg ctt gac ccg gag ggc ttg Lys Asn Ala Leu Leu Lys Glu Val Pro Trp Leu Asp Pro Glu Gly Leu 165 170 175	528
aag gga gcg tgg cgc cac gat gat acg ttg aat ctc cat gca gaa cga Lys Gly Ala Trp Arg His Asp Asp Thr Leu Asn Leu His Ala Glu Arg 180 185 190	576
ctc ctc ctc gcg gtg att aaa gct ttt gcg gca gat ggc gga acg gcg Leu Leu Leu Ala Val Ile Lys Ala Phe Ala Ala Asp Gly Gly Thr Ala 195 200 205	624
atc aac cac gcc aaa gtc act cgc att ctc ccg aac gtg gaa gaa ggc Ile Asn His Ala Lys Val Thr Arg Ile Leu Arg Asn Val Glu Glu Gly 210 215 220	672
cgc gtc aag ggt gta gaa gtg act gat cag gtc acc aac acc acg cat	720

Arg	Val	Lys	Gly	Val	Glu	Val	Thr	Asp	Gln	Val	Thr	Asn	Thr	Thr	His	
225					230					235					240	
gag	gtg	aat	gcc	cct	gtg	gtg	atc	aac	gct	gcg	ggt	cgc	tgg	gtt	gcg	768
Glu	Val	Asn	Ala	Pro	Val	Val	Ile	Asn	Ala	Ala	Gly	Pro	Trp	Val	Ala	
				245				250						255		
cag	gcg	ttg	ggt	gat	ttg	gcg	gag	gta	acc	aag	ttg	aag	gtg	cgc	caa	816
Gln	Ala	Leu	Gly	Asp	Leu	Ala	Glu	Val	Thr	Lys	Leu	Lys	Val	Arg	Gln	
			260				265						270			
tcc	aag	gga	gtg	cat	ttg	ctc	act	ggt	gat	ttg	ggc	agc	cag	agt	ggc	864
Ser	Lys	Gly	Val	His	Leu	Leu	Thr	Gly	Asp	Leu	Gly	Ser	Gln	Ser	Gly	
		275					280					285				
gtg	ttt	gtg	cgt	ggc	aaa	aac	ggc	aag	cat	gtg	atc	gtg	aat	cgc	tgg	912
Val	Phe	Val	Arg	Gly	Lys	Asn	Gly	Lys	His	Val	Ile	Val	Asn	Pro	Trp	
	290					295					300					
atg	ggg	cgc	acc	ctt	att	ggt	cca	acc	gac	acc	atg	att	gac	ggt	gac	960
Met	Gly	Arg	Thr	Leu	Ile	Gly	Pro	Thr	Asp	Thr	Met	Ile	Asp	Gly	Asp	
305					310					315					320	
gct	gat	gat	gcg	gct	gca	gat	gaa	agc	gat	atc	gat	ttg	ctg	ctt	gag	1008
Ala	Asp	Asp	Ala	Ala	Ala	Asp	Glu	Ser	Asp	Ile	Asp	Leu	Leu	Leu	Glu	
				325						330				335		
acc	atc	gat	tgc	gta	cgc	gct	aca	cgc	ctt	gat	cgc	aaa	gag	atc	atc	1056
Thr	Ile	Asp	Ser	Val	Arg	Ala	Thr	Pro	Leu	Asp	Arg	Lys	Glu	Ile	Ile	
			340					345					350			
tcc	acg	ctg	gtg	ggt	gtg	cgc	cgc	ctt	ggt	gat	gac	ggc	acc	gac	acc	1104
Ser	Thr	Leu	Val	Gly	Val	Arg	Pro	Leu	Val	Asp	Asp	Gly	Thr	Asp	Thr	
		355					360					365				
tac	acg	tcc	tct	cgc	cgt	ttc	gat	att	tcc	gat	cac	gcc	aac	gtc	ggc	1152
Tyr	Thr	Ser	Ser	Arg	Arg	Phe	Asp	Ile	Ser	Asp	His	Ala	Asn	Val	Gly	
	370					375					380					
att	gat	ggt	ttg	gtg	tct	gtc	tct	ggc	ggc	aag	tgg	acc	act	tgc	cgc	1200
Ile	Asp	Gly	Leu	Val	Ser	Val	Ser	Gly	Gly	Lys	Trp	Thr	Thr	Ser	Arg	
385					390					395					400	
gtg	atg	ggg	tac	aag	gtg	att	gag	cat	gtg	gtg	gag	cac	caa	gct	gcg	1248
Val	Met	Gly	Tyr	Lys	Val	Ile	Glu	His	Val	Val	Glu	His	Gln	Ala	Ala	
				405					410					415		
gtg	tta	cct	cgc	ctg	cgc	cac	ttt	gac	tcc	agg	cag	atg	cgc	ttg	agt	1296
Val	Leu	Pro	Pro	Leu	Arg	His	Phe	Asp	Ser	Arg	Gln	Met	Pro	Leu	Ser	
			420					425					430			
act	tct	ttt	ggc	gcg	tat	gag	tcc	gtg	gct	gat	tcc	ttt	gag	tca	gcg	1344
Thr	Ser	Phe	Gly	Ala	Tyr	Glu	Ser	Val	Ala	Asp	Ser	Phe	Glu	Ser	Ala	
		435					440					445				
ctt	cgc	agc	cac	ccc	gag	ctg	gat	gtg	gat	gat	gaa	atc	cgc	gtg	cat	1392
Leu	Arg	Ser	His	Pro	Glu	Leu	Asp	Val	Asp	Asp	Glu	Ile	Arg	Val	His	
		450				455					460					
ctg	gcc	aga	ctg	tat	gga	act	gag	cat	gaa	aaa	gtg	ctg	gat	ctc	gtc	1440
Leu	Ala	Arg	Leu	Tyr	Gly	Thr	Glu	His	Glu	Lys	Val	Leu	Asp	Leu	Val	
465					470					475					480	

gca aag caa ccc gac ctg ggg cgc cga ctt gac cca gac aac ctt gat 1488
 Ala Lys Gln Pro Asp Leu Gly Arg Arg Leu Asp Pro Asp Asn Leu Asp
 485 490 495

atc gcg gcg cag gcc gtt ttt gct gtc gcc gag gag gcg gcc gtc gac 1536
 Ile Ala Ala Gln Ala Val Phe Ala Val Ala Glu Glu Ala Ala Val Asp
 500 505 510

ctg gcg gac gtg ctg gat cgt cgc atc gtg ctc ggc acg ctg ggt tat 1584
 Leu Ala Asp Val Leu Asp Arg Arg Ile Val Leu Gly Thr Leu Gly Tyr
 515 520 525

gtg caa ccg gct gcc gtg cgt gcg acg gcc gaa gca atg gcg cag gtc 1632
 Val Gln Pro Ala Ala Val Arg Ala Thr Ala Glu Ala Met Ala Gln Val
 530 535 540

acc ggg tgg tca gct gag ctt atc gac gcc cag tgc cag tcc tac ctc 1680
 Thr Gly Trp Ser Ala Glu Leu Ile Asp Ala Gln Cys Gln Ser Tyr Leu
 545 550 555 560

gcc aag caa gac aaa atc caa gcc gtg tta aag ccg tac cgc taa 1725
 Ala Lys Gln Asp Lys Ile Gln Ala Val Leu Lys Pro Tyr Arg
 565 570

<210> 40

<211> 574

<212> PRT

5 <213> Corynebacterium glutamicum

<400> 40

Met Trp Val Gly Gly Phe Pro Ile Arg Leu Thr Phe Met Thr Ser Ala
 1 5 10 15

His Phe Glu Ser Arg Arg Ile Gly Pro Pro Leu Arg Asp Asn Tyr Asp
 20 25 30

Val Ile Val Ile Gly Gly Gly Ile Ser Gly Val Gln Ile Ala Arg His
 35 40 45

Ala Gln Gly Arg Gly Leu Arg Thr Val Met Phe Glu Ala Arg Asp Tyr
 50 55 60

Ser Ser Gly Thr Ser Ser Thr Thr Ser Lys Met Ile His Gly Gly Leu
 65 70 75 80

Arg Tyr Leu Glu Gln Tyr Asp Phe Gly Val Val Gln Glu Ala Val Lys
 85 90 95

Glu Arg Arg Tyr Leu Gly Ile Ala Ala Pro His Leu Val Ala Pro Arg
 100 105 110

Ser Phe Met Leu Thr Ala Phe Asp Trp Ser Glu Pro Lys Ala Pro Met

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

ES 2 529 107 T3

Tyr Thr Ser Ser Arg Arg Phe Asp Ile Ser Asp His Ala Asn Val Gly
 370 375 380
 Ile Asp Gly Leu Val Ser Val Ser Gly Gly Lys Trp Thr Thr Ser Arg
 385 390 395 400
 Val Met Gly Tyr Lys Val Ile Glu His Val Val Glu His Gln Ala Ala
 405 410 415
 Val Leu Pro Pro Leu Arg His Phe Asp Ser Arg Gln Met Pro Leu Ser
 420 425 430
 Thr Ser Phe Gly Ala Tyr Glu Ser Val Ala Asp Ser Phe Glu Ser Ala
 435 440 445
 Leu Arg Ser His Pro Glu Leu Asp Val Asp Asp Glu Ile Arg Val His
 450 455 460
 Leu Ala Arg Leu Tyr Gly Thr Glu His Glu Lys Val Leu Asp Leu Val
 465 470 475 480
 Ala Lys Gln Pro Asp Leu Gly Arg Arg Leu Asp Pro Asp Asn Leu Asp
 485 490 495
 Ile Ala Ala Gln Ala Val Phe Ala Val Ala Glu Glu Ala Ala Val Asp
 500 505 510
 Leu Ala Asp Val Leu Asp Arg Arg Ile Val Leu Gly Thr Leu Gly Tyr
 515 520 525
 Val Gln Pro Ala Ala Val Arg Ala Thr Ala Glu Ala Met Ala Gln Val
 530 535 540
 Thr Gly Trp Ser Ala Glu Leu Ile Asp Ala Gln Cys Gln Ser Tyr Leu
 545 550 555 560
 Ala Lys Gln Asp Lys Ile Gln Ala Val Leu Lys Pro Tyr Arg
 565 570

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la producción por fermentación de L-aminoácidos, caracterizado por que se llevan a cabo las siguientes etapas:

a) Cultivación de las bacterias corineformes recombinantes que producen el L-aminoácido deseado, en las que se presenta expresado por lo menos el polinucleótido heterólogo glpK, que codifica un polipéptido con la actividad de una glicerol cinasa, o sobreexpresado el polinucleótido endógeno glpK, en un medio que contiene glicerol o eventualmente de manera adicional una o varias fuentes de C en unas condiciones, en las que el deseado L-aminoácido se enriquece en el medio o en las células, y eventualmente

b) aislamiento del L-aminoácido deseado, permaneciendo en el producto final eventualmente los componentes del caldo de fermentación y/o de la biomasa en su totalidad o en porciones (desde > 0 hasta 100 %).

realizándose que el polipéptido con la actividad de una glicerol cinasa, que es codificado por el polinucleótido heterólogo glpK, tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica en por lo menos un 80 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16

y realizándose que el polipéptido con la actividad de una glicerol cinasa, que es codificado por el polinucleótido endógeno glpK, tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38.

2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que el polipéptido heterólogo con la actividad de una glicerol cinasa tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica en un 100 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16.

3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que en las bacterias recombinantes de la especie *Corynebacterium glutamicum*, que producen el L-aminoácido deseado, se presenta sobreexpresado adicionalmente el polinucleótido heterólogo glpD, que codifica un polipéptido con la actividad de una glicerol-3-fosfato deshidrogenasa, o el polinucleótido endógeno glpD, realizándose que el polipéptido con la actividad de una glicerol-3-fosfato deshidrogenasa, que es codificado por el polinucleótido heterólogo glpD, tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica en por lo menos un 80 % con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8, y realizándose que el polipéptido con la actividad de una glicerol-3-fosfato deshidrogenasa, que es codificado por el polinucleótido endógeno glpD, tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:40.

4. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizado por que el polipéptido heterólogo con la actividad de una glicerol-3-fosfato deshidrogenasa tiene una secuencia de aminoácidos que es idéntica en un 100 % a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8.

5. Procedimiento de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 hasta 4, en las cuales el polinucleótido heterólogo expresado procede de un organismo procariótico, de manera preferida de Enterobacteriaceae, de manera muy especialmente preferida de *Escherichia coli*.

6. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que como fuente de C se emplea el glicerol en ≥ 10 hasta 100 %.

7. Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1 hasta 6, caracterizado por que se produce L-lisina o L-triptófano.

8. Procedimiento de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 hasta 7, caracterizado por que se emplean unas bacterias, en las cuales han sido reforzadas por lo menos parcialmente las rutas del metabolismo, que aumentan la formación del deseado L-aminoácido.

9. Procedimiento de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 hasta 8, caracterizado por que se emplean unas bacterias, en las cuales se han desconectado por lo menos parcialmente las rutas del metabolismo que disminuyen la formación del deseado L-aminoácido.

10. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizado por que para la producción de L-aminoácidos, en particular de L-lisina y L-triptófano, se fermentan unas bacterias de la especie *Corynebacterium glutamicum*, en las cuales se refuerza(n), en particular se sobreexpresa(n), uno o varios de los genes, que se escogen entre el conjunto que se compone de accBC, accDA, cstA, cysD, cysE, cysH, cysK, cysN, cysQ, dapA, dapB, dapC, dapD, dapE, dapF, ddh, dps, eno, gap, gap2, gdh, gnd, lysC, lysC^{FBR}, lysE, msik, opcA, oxyR, ppc, ppC^{FBR}, pgk, pknA, pknB, pknD, pknG, ppsA, ptsH, ptsI, ptsM, pyc, pyc P458S, sigC, sigD, sigE, sigH, sigM, tal, thyA, tkt, tpi, zwa1, zwf y zwf A243T, glpA, glpB, glpC, glpE, glpF, glpG, qlpQ, glpT, glpX, gldA, dhaK, dhaL, dhaM, dhaR, fsa y talC.

11. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizado por que la actividad o concentración de la(s) proteína(s), que es(son) codificada(s) por el(los) gen(es) reforzado(s), aumenta en cada caso en 10 hasta 2.000 %, referida a la de la proteína de tipo silvestre o respectivamente a la actividad o concentración de la proteína en el microorganismo de partida.

5 12. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado por que para la producción de L-aminoácidos, en particular de L-lisina, se fermentan unas bacterias de la especie *Corynebacterium glutamicum*, en las cuales, de manera simultánea, se debilita(n), en particular se desconecta(n) o se disminuye la expresión de, uno o varios de los genes, que se escogen entre el conjunto que se compone de *aecD*, *ccpA1*, *ccpA2*, *citA*, *citB*, *citE*, *fda*, *gluA*, *gluB*,
10 *gluC*, *gluD*, *luxR*, *luxS*, *lysR1*, *lysR2*, *lysR3*, *menE*, *mgo*, *pck*, *pgi*, *poxB* y *zwa2*.

13. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, caracterizado por que la actividad o concentración de la(s) proteína(s), que es(son) codificada(s) por el(los) gen(es) debilitado(s), disminuye en cada caso a un 0 hasta 75 %, referido a la proteína de tipo silvestre o respectivamente a la actividad o concentración de la proteína en el
15 microorganismo de partida.