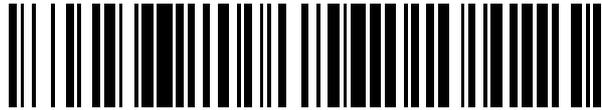


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 563 209**

51 Int. Cl.:

C12N 9/42 (2006.01)

C12P 19/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.09.2011 E 11767880 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.11.2015 EP 2622069**

54 Título: **Variantes de beta-glucosidasa y polinucleótidos que codifican las mismas**

30 Prioridad:

01.10.2010 US 388997 P

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

11.03.2016

73 Titular/es:

**NOVOZYMES, INC. (100.0%)
1445 Drew Avenue
Davis, CA 95618, US**

72 Inventor/es:

**WOGULIS, MARK;
HARRIS, PAUL y
OSBORN, DAVID**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 563 209 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

Variantes de beta-glucosidasa y polinucleótidos que codifican las mismas

5 Declaración acerca de los derechos sobre las invenciones realizadas bajo la investigación y el desarrollo patrocinados con fondos federales

[0001] Esta invención se realizó con apoyo gubernamental bajo acuerdo cooperativo DE-FC36-08GO18080 otorgado por el departamento de energía de EE.UU.. El gobierno de EE.UU. tiene ciertos derechos sobre esta invención.

10 Antecedentes de la invención

Campo de la invención

15 [0002] La presente invención se refiere a variantes de beta-glucosidasa, polinucleótidos que codifican las variantes, métodos de producción de las variantes y métodos del uso de las variantes.

Descripción de las técnicas relacionadas

20 [0003] La celulosa es un polímero de la glucosa de azúcar simple enlazado de manera covalente por beta-1,4-enlaces. Muchos microorganismos producen enzimas que hidrolizan glucanos beta-enlazados. Estas enzimas incluyen endoglucanasas, celobiohidrolasas y beta-glucosidasas. Las endoglucanasas asimilan el polímero en ubicaciones al azar, abriéndolo al ataque por celobiohidrolasas. Las celobiohidrolasas consecutivamente liberan moléculas de celobiosa desde las extremidades del polímero de celulosa. La celobiosa es un dímero de glucosa hidrosoluble beta-1,4-enlazado. Las beta-glucosidasas hidrolizan celobiosa en glucosa.

30 [0004] La conversión de materias primas lignocelulósicas en etanol tiene las ventajas de la disponibilidad inmediata de cantidades grandes de materia prima, la conveniencia de que se evita quemar o enterrar los materiales y la limpieza del combustible de etanol. Madera, residuos agrícolas, plantas de cultivo herbáceas y desperdicios sólidos municipales se han considerado como materias primas para la producción de etanol. Estos materiales principalmente consisten en celulosa, hemicelulosa y lignina. Una vez que la lignocelulosa se ha convertido en azúcares fermentables, por ejemplo, glucosa, los azúcares fermentables son fácilmente fermentados por levadura en etanol.

35 [0005] La patente de EE.UU. n.º 7.244.605 divulga una beta-glucosidasa de *Aspergillus fumigatus* y su polinucleótido.

[0006] Sería ventajoso en la técnica mejorar polipéptidos que tienen actividad de beta-glucosidasa para su uso en la degradación enzimática de materias primas lignocelulósicas.

40 [0007] La presente invención proporciona variantes de una beta-glucosidasa original con propiedades mejoradas en comparación con su original.

Resumen de la invención

45 [0008] La presente invención se refiere a variantes de beta-glucosidasa aisladas, que comprenden sustituciones en las posiciones correspondientes a las posiciones 89, 91, 140 y 186 del polipéptido maduro de SEC ID n°: 2, donde la variantes tienen actividad de beta-glucosidasa.

50 [0009] La presente invención también se refiere a polinucleótidos aislados que codifican las variantes; constructos de ácidos nucleicos y células huésped que comprenden los polinucleótidos; y métodos de producción de las variantes.

[0010] La presente invención también se refiere a métodos para degradar o convertir un material celulósico, que comprende: tratamiento del material celulósico con una composición enzimática en presencia de tal variante que tiene actividad de beta-glucosidasa.

55 [0011] La presente invención también se refiere a métodos para producir un producto de fermentación, que comprenden:

- (a) sacarificación de un material celulósico con una composición enzimática en presencia de tal variante que tiene actividad de beta-glucosidasa;
- (b) fermentación del material celulósico sacarificado con uno o más (por ejemplo, varios) microorganismos de fermentación para producir el producto de fermentación; y
- (c) recuperación del producto de fermentación a partir de la fermentación.

65 [0012] La presente invención también se refiere a métodos de fermentación de un material celulósico, que comprenden: fermentación del material celulósico con uno o más (por ejemplo, varios) microorganismos de fermentación, donde el material celulósico es sacarificado con una composición enzimática en presencia de tal variante que tiene actividad de beta-glucosidasa.

Breve descripción de las figuras

[0013]

- 5 Las figuras 1A y 1B muestran la secuencia de ADN genómico y la secuencia de aminoácidos deducida de un gen de beta-glucosidasa de *Aspergillus fumigatus* (SEC ID n°: 1 y 2, respectivamente). El péptido señal predicho está subrayado y los intrones predichos están en cursiva.
La figura 2 muestra la producción de glucosa neta de una composición de proteína celulolítica de *Trichoderma reesei* con concentraciones variables de beta-glucosidasa GH3A de la familia de *Aspergillus fumigatus* de tipo salvaje, variante L89M + G91L + F100D + I140V + I186V + S283G + N456E + F512Y, variante L89M + G91L + I140V + I186V y variante F100D + S283G + N456E + F512Y.

Definiciones

- 15 [0014] Acetilxilano esterasa: el término "acetilxilano esterasa" se refiere a una carboxilesterasa (EC 3.1.1.72) que cataliza la hidrólisis de grupos de acetil a partir de xilano polimérico, xilosa acetilada, glucosa acetilada, alfa-naftil acetato y p-nitrofenil acetato. Para fines de la presente invención, la actividad de acetilxilano esterasa se determina usando 0,5 mM de p-nitrofenilacetato como sustrato en 50 mM de acetato sódico pH 5,0 que contiene 0,01% de TWEEN™ 20 (polioxitileno sorbitán monolaurato). Una unidad de acetilxilano esterasa se define como la cantidad de
20 enzima capaz de liberar 1 µmol de p-nitrofenolato anión por minuto a pH 5, 25°C.

- [0015] Variante alélica: el término "variante alélica" se refiere a cualquiera dos o más formas alternativas de un gen que ocupa el mismo locus cromosómico. La variación alélica surge naturalmente a través de la mutación y puede dar como resultado polimorfismo dentro de poblaciones. Las mutaciones de genes pueden ser silenciosas (sin cambio en el polipéptido codificado) o pueden codificar polipéptidos que tienen secuencias de aminoácidos alteradas. Una variante alélica de un polipéptido es un polipéptido codificado por una variante alélica de un gen.

- [0016] Alfa-L-arabinofuranosidasa: el término "alfa-L-arabinofuranosidasa" se refiere a una alfa-L-arabinofuranosida arabinofuranohidrolasa (EC 3.2.1.55) que cataliza la hidrólisis de residuos de alfa-L-arabinofuranósido no reductores terminales en alfa-L-arabinósidos. La enzima actúa sobre los alfa-L-arabinofuranósidos, alfa-L-arabinanos que contienen (1,3)- y/o (1,5)-enlaces, arabinoxilanos y arabinogalactanos. La alfa-L-arabinofuranosidasa también se conoce como arabinosidasa, alfa-arabinosidasa, alfa-L-arabinosidasa, alfa-arabinofuranosidasa, polisacárido alpha-L-arabinofuranosidasa, alfa-L-arabinofuranosida hidrolasa, L-arabinosidasa o alfa-L-arabinanasa. Para fines de la presente invención, la actividad de alfa-L-arabinofuranosidasa se determina usando 5 mg de arabinoxilano de trigo de viscosidad media (Megazyme International Ireland, Ltd., Bray, Co. Wicklow, Irlanda) por ml de 100 mM de acetato sódico pH 5 en un volumen total de 200 µl durante 30 minutos a 40°C seguido de análisis de arabinosa por cromatografía en columna AMINEX® HPX-87H (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, EE.UU.).

- [0017] Alfa-glucuronidasa: el término "alfa-glucuronidasa" se refiere a una alfa-D-glucosiduronato glucuronohidrolasa (EC 3.2.1.139) que cataliza la hidrólisis de un alfa-D-glucuronósido en D-glucuronato y un alcohol. Para fines de la presente invención, la actividad de alfa-glucuronidasa se determina según de Vries, 1998, J. Bacteriol. 180: 243-249. Una unidad de alfa-glucuronidasa es igual a la cantidad de enzima capaz de liberar 1 µmol de ácido glucurónico o 4-O-metilglucurónico por minuto a pH 5, 40°C.

- [0018] Beta-glucosidasa: el término "beta-glucosidasa" se refiere a una beta-D-glucósido glucohidrolasa (E.C. 3.2.1.21) que cataliza la hidrólisis de residuos de beta-D-glucosa no reductores terminales con la liberación de beta-D-glucosa. Para fines de la presente invención, la actividad de beta-glucosidasa se determina usando el p-nitrofenil-beta-D-glucopiranosido como sustrato según el procedimiento de Venturi *et al.*, 2002, Extracellular beta-D-glucosidase from *Chaetomium thermophilum* var. coprophilum: production, purification and some biochemical properties, J. Basic Microbiol. 42: 55- 66. Una unidad de beta-glucosidasa se define como 1,0 µmol de anión de p-nitrofenolato producido por minuto a 25°C, pH 4,8 a partir de 1 mM de p-nitrofenil-beta-D-glucopiranosido como sustrato a 50 mM de citrato sódico que contiene 0,01% de TWEEN® 20.

- [0019] Beta-xilosidasa: el término "beta-xilosidasa" se refiere a una beta-D-xilósido xilohidrolasa (E.C. 3.2.1.37) que cataliza la exohidrólisis de beta(1→4)-xilooligosacáridos cortos, para eliminar residuos de D-xilosa sucesivos a partir de terminales no reductores. Para fines de la presente invención, una unidad de beta-xilosidasa se define como 1,0 µmol de anión de p-nitrofenolato producido por minuto a 40°C, pH 5 a partir de 1 mM p-nitrofenil-beta-D-xilósido como sustrato en 100 mM de citrato sódico que contiene 0,01% TWEEN® 20.

- [0020] ADNc: el término "ADNc" se refiere a una molécula de ADN que se puede preparar por transcripción inversa desde una molécula de ARNm madura empalmada obtenida a partir de una célula eucariótica u procariótica. El ADNc carece secuencias de intrones que pueden estar presentes en el ADN genómico correspondiente. El transcrito de ARN primario inicial es un precursor a ARNm que se procesa a través de una serie de pasos, incluyendo empalme, antes de aparecer como ARNm empalmado maduro.

65

[0021] Celobiohidrolasa: el término "celobiohidrolasa" se refiere a una 1,4-beta-D-glucano celobiohidrolasa (E.C. 3.2.1.91) que cataliza la hidrólisis de enlaces 1,4-beta-D-glucosídicos en celulosa, celooligosacáridos o cualquier glucosa beta-1,4-enlazada que contenga polímero, liberando celobiosa desde los extremos reductores o no reductores de la cadena (Teeri, 1997, *Crystalline cellulose degradation: New insight into the function of cellobiohydrolases*, Trends in Biotechnology 15: 160-167; Teeri *et al.*, 1998, *Trichoderma reesei* cellobiohydrolases: why so efficient on crystalline cellulose?, Biochem. Soc. Trans. 26: 173-178). La actividad de celobiohidrolasa se determina según los procedimientos descritos por Lever *et al.*, 1972, Anal. Biochem. 47: 273-279; van Tilbeurgh *et al.*, 1982, FEBS Letters, 149: 152-156; van Tilbeurgh and Claeysens, 1985, FEBS Letters, 187: 283- 288; and Tomme *et al.*, 1988, Eur. J. Biochem. 170: 575-581. En la presente invención, el método de Tomme *et al.* se puede utilizar para determinar la actividad de celobiohidrolasa.

[0022] Material celulósico: el término "material celulósico" se refiere a cualquier material que contenga celulosa. El polisacárido predominante en la pared celular primaria de la biomasa es celulosa, la segunda más abundante es hemicelulosa y la tercera es pectina. La pared celular secundaria, producida después de que la célula haya parado de crecer, también contiene polisacáridos y está reforzada por lignina polimérica reticulada de manera covalente en hemicelulosa. La celulosa es un homopolímero de anhidrocelobiosa y así un beta-(1-4)-D-glucano lineal, mientras que las hemicelulosas incluyen una diversidad de compuestos, tales como xilanos, xiloglucanos, arabinoxilanos y mananos en estructuras ramificadas complejas con un espectro de sustituyentes. Aunque en general es polimorfa, la celulosa se encuentra en el tejido vegetal principalmente como una matriz cristalina insoluble de cadenas de glucanos paralelas. Las hemicelulosas normalmente enlazan con hidrógeno a celulosa, al igual que a otras hemicelulosas, que ayudan a estabilizar la matriz de la pared celular.

[0023] La celulosa se encuentra en general, por ejemplo, en los tallos, hojas, cascotes, cáscaras y mazorcas de las plantas u hojas, ramas y madera de los árboles. El material celulósico puede ser, pero no se limita a, residuos agrícolas, material herbáceo (incluyendo plantas de cultivo de energía), residuos sólidos municipales, residuo de fábrica de pulpa y papel, papel de desecho y madera (incluyendo residuos de silvicultura) (véase, por ejemplo, Wiseloge *et al.*, 1995, en Handbook on Bioethanol (Charles E. Wyman, editor), pp.105-118, Taylor & Francis, Washington D.C.; Wyman, 1994, Bioresource Technology 50: 3-16; Lynd, 1990, Applied Biochemistry and Biotechnology 24/25: 695-719; Mosier *et al.*, 1999, Recent Progress in Bioconversion of Lignocellulosics, in Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, T. Scheper, managing editor, Volume 65, pp.23-40, Springer-Verlag, Nueva York). Se entiende aquí que la celulosa puede ser en forma de lignocelulosa, un material de la pared celular vegetal que contiene lignina, celulosa y hemicelulosa en una matriz mezclada. El material celulósico puede ser cualquier material de biomasa. El material celulósico puede ser de lignocelulosa, que comprende celulosa, hemicelulosas y lignina.

[0024] El material celulósico puede ser residuo agrícola. El material celulósico puede ser material herbáceo (incluyendo plantas de cultivo de energía). El material celulósico puede ser residuos sólidos municipales. El material celulósico puede ser residuo de fábrica de pulpa y papel. El material celulósico puede ser papel de desecho. El material celulósico puede ser madera (incluyendo residuo de silvicultura).

[0025] El material celulósico puede ser arundo. El material celulósico puede ser bagazo. El material celulósico puede ser bambú. El material celulósico puede ser mazorca de maíz. El material celulósico puede ser fibra de maíz. El material celulósico puede ser forraje de maíz. El material celulósico puede ser miscanthus. El material celulósico puede ser piel de naranja. El material celulósico puede ser paja de arroz. El material celulósico puede ser de pasto varilla. El material celulósico puede ser paja de trigo.

[0026] El material celulósico puede ser álamo. El material celulósico puede ser eucalipto. El material celulósico puede ser abeto. El material celulósico puede ser pino. El material celulósico puede ser álamo. El material celulósico puede ser picea. El material celulósico puede ser sauce.

[0027] El material celulósico puede ser celulosa algal. El material celulósico puede ser celulosa bacteriana. El material celulósico puede ser linter de algodón. El material celulósico puede ser papel de filtro. El material celulósico puede ser celulosa microcristalina. El material celulósico se puede celulosa tratada con ácido fosfórico.

[0028] El material celulósico puede ser una biomasa acuática. Como se utiliza en este caso el término "biomasa acuática" se refiere a biomasa producida en un ambiente acuático por un proceso de fotosíntesis. La biomasa acuática puede ser de algas, plantas emergentes, plantas de hoja flotante o plantas sumergidas.

[0029] El material celulósico se puede utilizar tal y como es o se puede someter a pretratamiento, usando métodos convencionales conocidos en la técnica, como se describe en este caso. El material celulósico puede ser pretratado.

[0030] Enzima celulolítica o celulasa: el término "enzima celulolítica" o "celulasa" se refiere a una o más (por ejemplo, varias) enzimas que hidrolizan un material celulósico. Tales enzimas incluyen endoglucanasa(s), celobiohidrolasa(s), beta-glucosidasa(s) o combinaciones de las mismas. Los dos métodos básicos para medir la actividad celulolítica incluyen: (1) medición de la actividad celulolítica total y (2) medición de las actividades celulolíticas individuales (endoglucanasas, celobiohidrolasas y beta-glucosidasas) como se nombran en Zhang *et al.*, Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies, 2006, Biotechnology Advances 24: 452-481. La actividad celulolítica

total se mide usualmente utilizando sustratos insolubles, incluyendo papel de filtro Whatman N°1, celulosa microcristalina, celulosa bacteriana, celulosa algal, algodón, lignocelulosa pretratada, etc. El ensayo de actividad celololítica total más común es el ensayo papel de filtro que utiliza el papel de filtro de Whatman N°1 como sustrato. El ensayo fue establecido por la *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) (Ghose, 1987, Measurement of cellulase activities, Pure Appl. Chem. 59: 257-68).

[0031] Para fines de la presente invención, la actividad enzimática celololítica se determina por medición del aumento en la hidrólisis de un material celulósico por enzima(s) celololítica(s) bajo las siguientes condiciones: 1-50 mg de proteína de enzima celololítica/g de celulosa en PCS (u otro material celulósico pretratado) durante 3-7 días a temperatura adecuada, por ejemplo, 50°C, 55°C o 60°C, en comparación con una hidrólisis de control sin adición de proteína enzimática celololítica. Las condiciones típicas son 1 ml de reacciones, PCS lavado o sin lavar, 5% de sólidos insolubles, 50 mM de acetato sódico pH 5, 1 mM de MnSO₄, 50°C, 55°C o 60°C, 72 horas, análisis de azúcar por columna AMINEX® HPX-87H (Bio- Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, EE.UU.).

[0032] Secuencia codificante: el término "secuencia codificante" se refiere a un polinucleótido, que directamente especifica la secuencia de aminoácidos de una variante. Los límites de la secuencia codificante son en general determinados por un marco de lectura abierto, que empieza con un codón de inicio tal como, ATG, GTG o TTG y finaliza con un codón de terminación tal como TAA, TAG o TGA. La secuencia codificante puede ser un ADN genómico, ADNc, ADN sintético o una combinación de los mismos.

[0033] Secuencias de control: el término "secuencias de control" se refiere a secuencias de ácido nucleico necesarias para la expresión de un polinucleótido que codifica una variante de la presente invención. Cada secuencia de control puede ser nativa (es decir, del mismo gen) o foránea (es decir, de un gen diferente) al polinucleótido que codifica la variante o nativa o foránea entre sí. Tales secuencias de control incluyen, pero de forma no limitativa, un líder, secuencia de poliadenilación, secuencia de propéptido, promotor, secuencia de péptido señal y terminador de transcripción. Como mínimo, las secuencias de control incluyen un promotor y señales de parada transcripcionales y traduccionales. Las secuencias de control pueden estar provistas de enlaces con el fin de introducir sitios de restricción específicos que faciliten el ligamiento de las secuencias de control con la región de codificación del polinucleótido que codifica una variante.

[0034] Endoglucanasa: el término "endoglucanasa" se refiere a una endo-1,4-(1,3;1,4)-beta-D-glucano 4-glucanohidrolasa (E.C. 3.2.1.4) que cataliza la endohidrólisis de enlaces 1,4-beta-D-glicosídicos en celulosa, derivados de la celulosa (tales como carboximetilcelulosa e hidroxietil celulosa), liquenina, beta-1,4 enlaces en beta-1,3 glucanos mezclados tales como beta-D-glucanos de cereal o xiloglucanos y otro material vegetal que contenga componentes celololíticos. La actividad de la endoglucanasa se puede determinar por medición de la reducción en la viscosidad de sustrato o aumento en las extremidades reductores determinados por un ensayo de azúcar reductor (Zhang *et al.*, 2006, *Biotechnology Advances* 24: 452-481). Para fines de la presente invención, la actividad de endoglucanasa se determina usando carboximetil celulosa (CMC) como sustrato según el procedimiento de Ghose, 1987, *Pure and Appl. Chem.* 59: 257-268, en pH 5, 40°C.

[0035] Expresión: el término "expresión" incluye cualquier paso implicado en la producción de una variante que incluye, pero no está limitado a, transcripción, modificación postranscripcional, traducción, modificación postraduccional y secreción.

[0036] Vector de expresión: el término "vector de expresión" se refiere a una molécula de ADN lineal o circular que comprende un polinucleótido que codifica una variante y está operativamente enlazado a secuencias de control que proporcionan su expresión.

[0037] Beta-glucosidasa de la familia GH3: el término "beta-glucosidasa de la familia GH3" se refiere a una glicósido hidrolasa de la familia 3 según Coutinho, P.M. and Henrissat, B., 1999, *Carbohydrate- active enzymes: an integrated database approach*, in "Recent Advances in Carbohydrate Bioengineering", H.J. Gilbert, G. Davies, B. Henrissat and B. Svensson eds., The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 3-12.

[0038] Glicósido hidrolasa de la familia 61: el término "glicósido hidrolasa de la familia 61" o "Familia GH61" o "GH61" se refiere a un polipéptido que desemboca en la familia glicósido hidrolasa 61 según Henrissat B., 1991, *A classification of glycosyl hydrolases based on amino-acid sequence similarities*, *Biochem. J.* 280: 309-316 y Henrissat B., and Bairoch A., 1996, *Updating the sequence-based classification of glycosyl hydrolases*, *Biochem. J.* 316: 695-696. Las enzimas en esta familia estaban originalmente clasificadas como una familia glicósido hidrolasa basada en la medición de actividad de endo-1,4-beta-D-glucanasa muy débil en un miembro de la familia. La estructura y modo de acción de estas enzimas son no canónicos y no se pueden considerar como glicosidasas auténticas. Sin embargo, se mantienen en la clasificación CAZy basándose en su capacidad para mejorar la descomposición de lignocelulosa cuando se usan conjuntamente con una celulosa o una mezcla de celulosas.

[0039] Feruloil esterasa: el término "feruloil esterasa" se refiere a una 4-hidroxi-3-metoxicinamoil-azúcar hidrolasa (EC 3.1.1.73) que cataliza la hidrólisis de grupos de 4-hidroxi-3-metoxicinamoil (feruloil) a partir de azúcar esterificado, que es normalmente arabinosa en sustratos de biomasa naturales, para producir ferulato (4-hidroxi-3-metoxicinamato).

Feruloil esterasa es también conocida como esterasa de ácido ferúlico, hidroxicinamoil esterasa, FAE-III, cinamoil éster hidrolasa, FAEA, cinnAE, FAE-I o FAE-II. Para fines de la presente invención, la actividad de feruloil esterasa se determina usando el 0,5 mM de p-nitrofenilferulato como sustrato en 50 mM de acetato sódico pH 5,0. Una unidad de feruloil esterasa es igual a la cantidad de enzima capaz de liberar 1 μ mol de anión de p-nitrofenolato por minuto en pH 5, 25°C.

[0040] Fragmento: el término "fragmento" se refiere a un polipéptido que tiene uno o más (por ejemplo, varios) aminoácidos ausentes del amino y/o carboxilo terminal de un polipéptido maduro; donde el fragmento tiene actividad de beta-glucosidasa. El fragmento puede contener al menos 720 residuos de aminoácidos, por ejemplo, al menos 760 residuos de aminoácidos o al menos 800 residuos de aminoácidos de SEC ID n°: 2.

[0041] Enzima hemicelulolítica o hemicelulasa: el término "enzima hemicelulolítica" o "hemicelulasa" se refiere a una o más (por ejemplo, varias) enzimas que hidrolizan un material hemicelulósico. Véase, por ejemplo, Shallom, D. and Shoham, Y. *Microbial hemicellulases*. *Current Opinion In Microbiology*, 2003, 6(3): 219-228). Las hemicelulasas son componentes clave en la degradación de biomasa vegetal. Ejemplos de hemicelulasas incluyen, pero de forma no limitativa, una acetilmanano esterasa, una acetilxilano esterasa, una arabinanasa, una arabinofuranosidasa, una esterasa de ácido cumárico, una feruloil esterasa, una galactosidasa, una glucuronidasa, una glucuronoil esterasa, una mananasa, una manosidasa, una xilanasa y una xilosidasa. Los sustratos de estas enzimas, las hemicelulasas, son un grupo heterogéneo de polisacáridos ramificados y lineales que están ligados vía enlaces de hidrógeno a las microfibrillas de celulosa en la pared celular vegetal, reticulándolos en una red robusta. Las hemicelulasas están también unidas de manera covalente a lignina, formando junto con la celulosa una estructura altamente compleja. La estructura y organización variable de las hemicelulasas requiere la acción concertada de muchas enzimas para su degradación completa. Los módulos catalíticos de hemicelulasas son bien glicósido hidrolasas (GHs) que hidrolizan enlaces glicosídicos, o carbohidrato esterases (CEs), que hidrolizan enlaces de éster de grupos laterales de acetato o ácido ferúlico. Estos módulos catalíticos, basados en la homología de su secuencia primaria, se puede asignar en la las familias GH y familias CE. Algunas familias, con un pliegue similar total, pueden ser además reagrupadas en clanes, marcadas alfabéticamente (por ejemplo, GH-A). Una clasificación más informativa y actualizada de estas y otras enzimas activas de carbohidrato está disponible en la base de datos *Carbohydrate-Active Enzymes* (CAZy). Actividades enzimáticas hemicelulolíticas se pueden medir según Ghose and Bisaria, 1987, *Pure & Appl. Chem.* 59: 1739-1752, a una temperatura adecuada, por ejemplo, 50°C, 55°C o 60°C y pH, por ejemplo, 5,0 o 5,5.

[0042] Condiciones de astringencia altas: el término "condiciones de astringencia altas" se refiere a sondas de al menos 100 nucleótidos de longitud, prehibridación e hibridación a 42°C en 5X SSPE, 0,3% SDS, 200 microgramos/ml de ADN de esperma de salmón cortado y desnaturalizado y 50% formamida, siguiendo procedimientos estándar de transferencia de Southern durante 12 a 24 horas. El material portador se lava finalmente tres veces cada uno durante 15 minutos utilizando 2X SSC, 0,2% SDS a 65°C.

[0043] Célula huésped: el término "célula huésped" se refiere a cualquier tipo de célula que sea susceptible de transformación, transfección, transducción o similar con un constructo de ácidos nucleicos o vector de expresión que comprenda un polinucleótido de la presente invención. El término "célula huésped" abarca cualquier descendiente de una célula original que no sea idéntico a la célula original debido a mutaciones que se produzcan durante la replicación.

[0044] Actividad específica aumentada: el término "actividad específica aumentada" se refiere a una actividad enzimática más alta por molécula o μ mol de una variante comparada con la actividad enzimática por molécula o μ mol del original. La actividad específica aumentada de la variante con respecto al original puede ser evaluada, por ejemplo, bajo una o más (por ejemplo, varias) condiciones de pH, temperatura, concentración de sustrato y concentración de inhibidor de producto, por ejemplo, glucosa.

[0045] La condición puede ser el pH. Por ejemplo, el pH puede ser cualquier pH en el rango de 3 a 7, por ejemplo, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5 o 7,0 (o entremedias). Cualquier tampón adecuado para obtener el pH deseado se puede utilizar.

[0046] La condición puede ser la temperatura. Por ejemplo, la temperatura puede ser cualquier temperatura en el rango de 25°C a 90°C, por ejemplo, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 o 90°C (o entremedias).

[0047] La condición puede ser la concentración de sustrato. Por ejemplo, la concentración de sustrato puede ser cualquier concentración de sustrato en el rango de 1 mM a 100 mM, por ejemplo, 1 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM, 75 mM o 100 mM (o entremedias). Ejemplos de un sustrato incluyen, sin limitación, celobiosa, celotriosa, celotetrosa, beta-gentiobiosa, laminaribosa o soforosa.

[0048] La condición puede ser una concentración inhibidora de producto. Por ejemplo, la concentración inhibidora de producto puede ser cualquier concentración en el rango de 1 mM a 120 mM, por ejemplo, 1 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM, 75 mM, 100 mM o 120 mM (o entremedias). Ejemplos de un producto incluyen, sin limitación, glucosa, beta-D-manosa, beta-D-sorbose o ácido D-glucurónico.

se puede determinar a pH 6,0 y 75°C. La actividad específica de la variante con respecto al original se puede determinar a pH 6,0 y 80°C. La actividad específica de la variante con respecto al original se puede determinar a pH 6,0 y 85°C. La actividad específica de la variante con respecto al original se puede determinar a pH 6,0 y 90°C.

5 [0055] Cuando se determina como anteriormente, la actividad específica de la variante con respecto al original se puede determinar en presencia de glucosa en una concentración de 10 mM. Cuando se determina como anteriormente, la actividad específica de la variante con respecto al original se puede determinar en presencia de glucosa en una concentración de 25 mM. Cuando se determina como anteriormente, la actividad específica de la variante con respecto al original se puede determinar en presencia de glucosa en una concentración de 50 mM. Cuando se determina como anteriormente, la actividad específica de la variante con respecto al original se puede determinar en presencia de glucosa en una concentración de 75 mM. Cuando se determina como anteriormente, la actividad específica de la variante con respecto al original se puede determinar en presencia de glucosa en una concentración de 100 mM. Cuando se determina como anteriormente, la actividad específica de la variante con respecto al original se puede determinar en presencia de glucosa en una concentración de 120 mM.

15 [0056] La actividad específica aumentada de la variante con respecto al original se puede determinar utilizando cualquier ensayo enzimático conocido en la técnica para beta-glucosidasas. Tales ensayos enzimáticos incluyen, sin limitación, celobiosa o p-nitrofenil-beta-D-glucopiranosido como un sustrato. Alternativamente, la actividad específica aumentada de la variante con respecto al original se puede determinar utilizando cualquier ensayo de solicitud para la variante donde el rendimiento de la variante se compare con el original. Por ejemplo, se puede usar el ensayo de solicitud descrito en el ejemplo 5.

20 [0057] La actividad específica de la variante puede ser al menos 1,01 veces, por ejemplo, al menos 1,05 veces, al menos 1,1 veces, al menos 1,5 veces, al menos 1,8 veces, al menos 2 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces y al menos 50 veces superior a la actividad específica del original.

25 [0058] Aislado: el término "aislado" se refiere a una sustancia en una forma o entorno que no se produzca en la naturaleza. Ejemplos no limitativos de sustancias aisladas incluyen (1) cualquier sustancia que no ocurra de forma natural, (2) cualquier sustancia que incluya, pero no esté limitada a, cualquier enzima, variante, ácido nucleico, proteína, péptido o cofactor, que sea al menos parcialmente retirado de uno o más o todos los constituyentes de origen natural con los que esté asociado en la naturaleza, (3) cualquier sustancia modificada por la mano del hombre con respecto a esa sustancia encontrada en la naturaleza o (4) cualquier sustancia modificada mediante el aumento de la cantidad de la sustancia con respecto a otros componentes con los que esté naturalmente asociada (por ejemplo, copias múltiples de un gen que codifica la sustancia; uso de un promotor más fuerte que el promotor naturalmente asociado al gen que codifica la sustancia). Una sustancia aislada puede estar presente en una muestra de caldo de fermentación.

30 [0059] Condiciones de astringencia bajas: el término "condiciones de astringencia bajas" se refiere a sondas de al menos 100 nucleótidos de longitud, prehibridación e hibridación a 42°C en 5X SSPE, 0,3% SDS, 200 microgramos/ml de ADN de esperma de salmón cortado y desnaturalizado y 25% formamida, siguiendo procedimientos estándar de transferencia de Southern durante 12 a 24 horas. El material portador se lava finalmente tres veces cada uno durante 15 minutos utilizando 2X SSC, 0,2% SDS a 50°C.

35 [0060] Polipéptido maduro: el término "polipéptido maduro" se refiere a un polipéptido en su forma final después de modificaciones traduccionales y postraduccionales, tales como tratamiento N-terminal, truncamiento C-terminal, glicosilación, fosforilación, etc. En un aspecto, el polipéptido maduro es los aminoácidos 20 a 863 de SEC ID n°: 2 basado en el programa SignalP (Nielsen *et al.*, 1997, Protein Engineering 10: 1-6) que predice que los aminoácidos 1 a 19 de SEC ID n°: 2 son un péptido señal. Se conoce en la técnica que una célula huésped puede producir una mezcla de dos o más polipéptidos maduros diferentes (es decir, con un aminoácido C-terminal y/o N-terminal diferente) expresado por el mismo polinucleótido.

40 [0061] Secuencia codificante del polipéptido maduro: el término "secuencia codificante del polipéptido maduro" se refiere a un polinucleótido que codifica un polipéptido maduro que tiene actividad de beta-glucosidasa. La secuencia codificante del polipéptido maduro puede ser de los nucleótidos 58 a 2580 de SEC ID n°: 1 basada en el programa SignalP (Nielsen *et al.*, 1997, *supra*) que predice que los nucleótidos 1 a 57 de SEC ID n°: 1 codifican un péptido señal. La secuencia codificante del polipéptido maduro puede ser la secuencia de ADNc contenida en los nucleótidos 58 a 2580 de SEC ID n°: 1.

45 [0062] Condiciones de astringencia media: el término "condiciones de astringencia media" se refiere a sondas de al menos 100 nucleótidos de longitud, prehibridación e hibridación a 42°C en 5X SSPE, 0,3% SDS, 200 microgramos/ml de ADN de esperma de salmón cortado y desnaturalizado y 35% formamida, siguiendo procedimientos de transferencia de Southern estándar durante 12 a 24 horas. El material portador se lava finalmente tres veces cada uno durante 15 minutos utilizando 2X SSC, 0,2% SDS a 55°C.

50 [0063] Condiciones de astringencia medio-altas: el término "condiciones de astringencia medio-altas" se refiere a sondas de al menos 100 nucleótidos de longitud, prehibridación e hibridación a 42°C en 5X SSPE, 0,3% SDS, 200

microgramos/ml de ADN de esperma de salmón cortado y desnaturalizado y 35% formamida, siguiendo procedimientos de transferencia de Southern estándar durante 12 a 24 horas. El material portador se lava finalmente tres veces cada uno durante 15 minutos utilizando 2X SSC, 0,2% SDS a 60°C.

5 [0064] Mutante: el término "mutante" se refiere a un polinucleótido que codifica una variante.

[0065] Constructo de ácidos nucleicos: el término "constructo de ácidos nucleicos" se refiere a una molécula de ácidos nucleicos, bien uni- o bicatenaria, que sea aislada de un gen de origen natural o sea modificada para contener segmentos de ácidos nucleicos de manera que de otro modo no existirían en la naturaleza o que sean sintéticos, que
10 comprendan una o más secuencias de control.

[0066] Operativamente enlazado: el término "operativamente enlazado" se refiere a una configuración en la que una secuencia de control se coloca en una posición apropiada con respecto a la secuencia codificante de un polinucleótido de manera que la secuencia de control dirija la expresión de la secuencia codificante.
15

[0067] Original o beta-glucosidasa original: el término "original" o "beta-glucosidasa original" se refiere a una beta-glucosidasa a la que se le ha realizado una alteración para producir las variantes de la presente invención. El original puede ser un polipéptido (tipo salvaje) de origen natural o una variante del mismo, o un fragmento del mismo.

[0068] Polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico: el término "polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico" se refiere a un polipéptido GH61 que cataliza la mejora de la hidrólisis de un material celulósico por una enzima que tiene actividad celulolítica. Para fines de la presente invención, la actividad de aumento celulolítico se determina por medición del aumento en azúcares reductores o el aumento del total de celobiosa y glucosa a partir de la hidrólisis de un material celulósico por la enzima celulolítica bajo las siguientes condiciones: 1-50 mg de proteína total/g de celulosa en PCS, donde la proteína está compuesta por 50-99,5% p/p de proteína enzimática celulolítica y 0,5-50% p/p de proteína de un polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico durante 1-7 días a una temperatura adecuada, por ejemplo, 50°C, 55°C o 60°C y pH, por ejemplo, 5,0 o 5,5, en comparación con una hidrólisis de control con la misma carga de proteína total sin actividad de aumento celulolítico (1-50 mg de proteína celulolítica/g de celulosa en PCS). En un aspecto preferido, una mezcla de CELLUCLAST® 1,5L (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Dinamarca) en presencia de 2-3% de beta-glucosidasa de *Aspergillus oryzae* en peso de proteína total (producido de forma recombinante en *Aspergillus oryzae* según la WO 02/095014) o 2-3% de beta-glucosidasa de *Aspergillus fumigatus* en peso de proteína total (producido de forma recombinante en *Aspergillus oryzae* como se describe en la WO 2002/095014) de carga de proteína de celulosa se usa como fuente de la actividad celulolítica.
20
25
30

[0069] Los polipéptidos GH61 que tienen actividad de aumento celulolítico mejoran la hidrólisis de un material celulósico catalizado por enzima que tiene actividad celulolítica reduciendo la cantidad de enzima celulolítica requerida para alcanzar el mismo grado de hidrólisis preferiblemente al menos 1,01 veces, por ejemplo, al menos 1,05 veces, al menos 1,10 veces, al menos 1,25 veces, al menos 1,5 veces, al menos 2 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces o al menos 20 veces.
35
40

[0070] Rastrojos de maíz pretratados: el término "PCS" o "rastrojos de maíz pretratados" se refiere a un material celulósico derivado del forraje de maíz por tratamiento con calor y ácido sulfúrico diluido, pretratamiento alcalino o pretratamiento neutro.

[0071] Identidad de secuencia: la relación entre dos secuencias de aminoácidos o entre dos secuencias de nucleótidos es descrita por el parámetro "identidad de secuencia".
45

[0072] Para fines de la presente invención, la identidad de secuencia entre dos secuencias de aminoácidos se determina utilizando el algoritmo de Needleman-Wunsch (Needleman y Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453) tal y como se implementa en el programa Needle del paquete EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice *et al.*, 2000, Trends Genet. 16: 276-277), preferiblemente versión 3.0.0, 5.0.0 o superior. Los parámetros usados son penalización por apertura de espacio de 10, penalización por extensión de espacio de 0,5 y la matriz de sustitución EBLOSUM62 (versión de EMBOSS de BLOSUM62). El resultado de Needle etiquetado "identidad más larga" (obtenido utilizando la opción -nobrief) se usa como la identidad en porcentaje y se calcula de la siguiente manera:
50
55

$$(\text{Residuos idénticos} \times 100) / (\text{Longitud de alineamiento} - \text{Número total de espacios en alineamiento})$$

[0073] Para fines de la presente invención, la identidad de secuencia entre dos secuencias de desoxirribonucleótidos se determina utilizando el algoritmo de Needleman-Wunsch (Needleman y Wunsch, 1970, *supra*) como se implementa en el programa Needle del paquete EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice *et al.*, 2000, *supra*), preferiblemente versión 3.0.0, 5.0.0 o superior. Los parámetros usados son penalización por apertura de espacio de 10, penalización por extensión de espacio de 0,5 y la matriz de sustitución EDNAFULL (versión EMBOSS de NCBI NUC4.4). El resultado de Needle etiquetado "identidad más larga" (obtenido utilizando la opción -nobrief) se usa como la identidad en porcentaje y se calcula de la siguiente manera:
60
65

(Desoxirribonucleótidos idénticos x 100)/(Longitud de alineamiento – Número total de espacios en alineamiento)

5 [0074] Subsecuencia: el término "subsecuencia" se refiere a un polinucleótido que tiene uno o más (por ejemplo, varios) nucleótidos ausentes del extremo 5'- y/o 3'- de una secuencia codificante del polipéptido maduro; donde la subsecuencia codifica un fragmento que tiene actividad de beta-glucosidasa. En un aspecto, una subsecuencia contiene al menos 2160 nucleótidos, por ejemplo, al menos 2.280 nucleótidos o al menos 2.400 nucleótidos de la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID n°: 1.

10 [0075] Variante: el término "variante" se refiere a un polipéptido que tiene actividad de beta-glucosidasa que incluye una alteración, es decir, una sustitución, inserción y/o eliminación, en una o más (por ejemplo, varias) posiciones. Una sustitución se refiere al reemplazo del aminoácido que ocupa una posición con un aminoácido diferente; una eliminación se refiere a la eliminación del aminoácido que ocupa una posición; y una inserción se refiere a añadir un aminoácido adyacente a e inmediatamente después del aminoácido que ocupa una posición. Las variantes de la presente invención tienen al menos 20%, por ejemplo, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 95% o al menos 100% de la beta-glucosidasa del polipéptido maduro de SEC ID n°: 2.

20 [0076] Condiciones de astringencia altísimas: el término "condiciones de astringencia altísimas" se refiere a sondas de al menos 100 nucleótidos de longitud, prehibridación e hibridación a 42°C en 5X SSPE, 0,3% SDS, 200 microgramos/ml de ADN de esperma de salmón cortado y desnaturalizado y 50% formamida, siguiendo procedimientos de transferencia de Southern estándar durante 12 a 24 horas. El material portador se lava tres veces cada uno durante 15 minutos utilizando 2X SSC, 0,2% de SDS a 70°C.

25 [0077] Condiciones de astringencia muy bajas: el término "condiciones de astringencia muy bajas" se refiere a sondas de al menos 100 nucleótidos de longitud, prehibridación e hibridación a 42°C en 5X SSPE, 0,3% SDS, 200 microgramos/ml de ADN de esperma de salmón cortado y desnaturalizado y 25% formamida, siguiendo procedimientos de transferencia de Southern estándar durante 12 a 24 horas. El material portador se lava tres veces cada uno durante 15 minutos utilizando 2X SSC, 0,2% SDS a 45°C.

30 [0078] Material que contiene xilano: el término "material que contiene xilano" se refiere a cualquier material que comprenda un polisacárido de la pared celular vegetal que tenga una estructura de residuos de xilosa beta-(1-4)-enlazados. Los xilanos de plantas terrestres son heteropolímeros que poseen una estructura de beta-(1-4)-D-xilopiranososa, que es ramificada por cadenas de carbohidratos cortas. Comprenden ácido D-glucurónico o su 4-O-metil éter, L-arabinosa, y/o varios oligosacáridos, compuestos por D-xilosa, L-arabinosa, D- o L-galactosa y D-glucosa. 35 Polisacáridos de tipo xilano se pueden dividir en homoxilanos y heteroxilanos, que incluyen glucuronoxilanos, (arabino)glucuronoxilanos, (glucurono)arabinoxilanos, arabinoxilanos y heteroxilanos complejos. Véase, por ejemplo, Ebringerova *et al.*, 2005, *Adv. Polym. Sci.* 186: 1-67.

40 [0079] En los métodos de la presente invención, cualquier material que contenga xilano se puede utilizar. El material que contiene xilano puede ser lignocelulosa.

45 [0080] Actividad de degradación de xilano o actividad xilanolítica: el término "actividad de degradación de xilano" o "actividad xilanolítica" se refiere a una actividad biológica que hidroliza material que contiene xilano. Los dos métodos básicos para medir la actividad xilanolítica incluyen: (1) medición de la actividad xilanolítica total y (2) medición de las actividades xilanolíticas individuales (por ejemplo, endoxilanasas, beta-xilosidasas, arabinofuranosidasas, alfa-glucuronidasas, acetilxilano esterasas, feruloilo esterasas y alfa-glucuronil esterasas). Recientes avances en ensayos de enzimas xilanolíticas se resumen en diferentes publicaciones que incluyen Biely and Puchard, *Recent progress in the assays of xylanolytic enzymes*, 2006, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86(11): 1636-1647; Spanikova and Biely, 2006, *Glucuronoyl esterase - Novel carbohydrate esterase produced by Schizophyllum commune*, *FEBS Letters* 580(19): 4597-4601; Herrmann, Vrsanska, Jurickova, Hirsch, Biely, and Kubicek, 1997, *The beta-D-xylosidase of Trichoderma reesei is a multifunctional beta-D-xylan xylohydrolase*, *Biochemical Journal* 321: 375-381.

55 [0081] La actividad de degradación de xilano total se puede medir por determinación de los azúcares reductores formados a partir de varios tipos de xilano, incluyendo, por ejemplo, xilanos de espelta de avena, madera de haya y madera de alerce, o por determinación fotométrica de fragmentos de xilano teñidos liberados a partir de varios xilanos teñidos de manera covalente. El ensayo de actividad xilanolítica total más común se basa en la producción de azúcares reductores a partir de 4-O-metil glucuronoxilano polimérico como se describe en Bailey, Biely, Poutanen, 1992, *Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity*, *Journal of Biotechnology* 23(3): 257- 270. La actividad de xilanasas se puede determinar también con 0,2% AZCL-arabinoxilano como sustrato en 0,01% TRITON® X-100 (4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil-polietilen glicol) y 200 mM de tampón de fosfato sódico pH 6 a 37°C. Una unidad de actividad de xilanasas se define como 1,0 μmol de azúcares producidos por minuto a 37°C, pH 6 a partir de 0,2% AZCL-arabinoxilano como sustrato en 200 mM de tampón de fosfato sódico pH 6.

60 [0082] Para fines de la presente invención, la actividad de degradación de xilano se determina por medición del aumento en la hidrólisis de xilano de madera de abedul (Sigma Chemical Co., Inc., St. Louis, MO, EE.UU.) por enzima(s) degradadoras de xilano bajo las siguientes condiciones clásicas: 1 ml de reacciones, 5 mg/ml de sustrato (sólidos)

totales), 5 mg de proteína xilanólítica/g de sustrato, 50 mM de acetato sódico pH 5, 50°C, 24 horas, análisis de azúcar utilizando ensayo de hidrácido de ácido p-hidroxibenzoico (PHBAH) como se describen Lever, 1972, A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates, Anal. Biochem 47: 273- 279.

5 [0083] Xilanasa: el término "xilanasa" se refiere a una 1,4-beta-D-xilano-xilohidrolasa (E.C. 3.2.1.8) que cataliza la endohidrólisis de enlaces 1,4-beta-D-xilosídicos en xilanos. Para fines de la presente invención, la actividad de xilanasa se determina con 0,2% de AZCL-arabinoxilano como sustrato en 0,01% TRITON® X-100 y 200 mM de tampón de fosfato sódico pH 6 a 37°C. Una unidad de actividad de xilanasa se define como 1,0 µmol de azurina producida por minuto a 37°C, pH 6 a partir de 0,2% AZCL-arabinoxilano como sustrato en 200 mM de tampón de fosfato sódico pH 6.

10 [0084] Polipéptido de tipo salvaje: el término "polipéptido de tipo salvaje" se refiere a una beta-glucosidasa expresada por un microorganismo de origen natural, tal como una bacteria, levadura, u hongo filamentoso como se encuentra en la naturaleza.

15 Descripción detallada de la invención

[0085] La presente invención se refiere a variantes aisladas, que comprenden una sustitución en las posiciones correspondientes a las posiciones 89, 91,140 y 186 del polipéptido maduro de SEC ID n°: 2, donde la variantes tienen actividad de beta-glucosidasas.

20 Convenios para la denominación de variantes

[0086] Para fines de la presente invención, el polipéptido maduro descrito en SEC ID n°: 2 se usa para determinar el residuo de aminoácido correspondiente en otra beta-glucosidasa. La secuencia de aminoácidos de otra beta-glucosidasa se alinea con el polipéptido maduro descrito en SEC ID n°: 2 y basado en el alineamiento, el número de posición del aminoácido que corresponde a cualquier residuo de aminoácido del polipéptido maduro descrito en SEC ID n°: 2 se determina utilizando el algoritmo de Needleman-Wunsch (Needleman y Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453) como se implementa en el programa Needle del paquete EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice *et al.*, 2000, Trends Genet. 16: 276-277), preferiblemente versión 5.0.0 o superior. Los parámetros usados son penalización por apertura de espacio de 10, penalización por extensión de espacio de 0,5 y la matriz de sustitución EBLOSUM62 (versión de EMBOSS de BLOSUM62).

[0087] La identificación del residuo de aminoácidos correspondiente en otra beta-glucosidasa se puede determinar por un alineamiento de múltiples secuencias de polipéptidos utilizando varios programas informáticos que incluyen, pero no están limitados a, MUSCLE (comparación de secuencia múltiple por log-expectativa; versión 3.5 o superior; Edgar, 2004, Nucleic Acids Research 32: 1792-1797), MAFFT (versión 6.857 o superior; Katoh and Kuma, 2002, Nucleic Acids Research 30: 3059-3066; Katoh *et al.*, 2005, Nucleic Acids Research 33: 511-518; Katoh and Toh, 2007, Bioinformatics 23: 372-374; Katoh *et al.*, 2009, Methods in Molecular Biology 537: 39-64; Katoh and Toh, 2010, Bioinformatics 26: 1899-1900) y EMBOSS EMMA empleando ClustalW (1.83 o superior; Thompson *et al.*, 1994, Nucleic Acids Research 22: 4673-4680), utilizando sus parámetros por defecto respectivos.

[0088] Cuando el otro polipéptido ha divergido del polipéptido maduro de SEC ID n°: 2 de manera que la comparación basada en la secuencia tradicional no puede detectar su relación (Lindahl and Elofsson, 2000, J. Mol. Biol. 295: 613-615), otros algoritmos de comparación de secuencia de pares se pueden usar. Se puede obtener mayor sensibilidad en la búsqueda basada en la secuencia utilizando programas de búsqueda que usan representaciones probabilísticas de familias de polipéptidos (perfiles) para buscar bases de datos. Por ejemplo, el programa PSI-BLAST genera perfiles a través de un proceso de búsqueda de base de datos iterativa y es capaz de detectar homólogos remotos (Atschul *et al.*, 1997, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402). Incluso más sensibilidad se puede conseguir si la familia o la superfamilia del polipéptido tiene uno o más representantes en las bases de datos de estructura de proteína. Programas tales como GenTHREADER (Jones, 1999, J. Mol. Biol. 287: 797-815; McGuffin and Jones, 2003, Bioinformatics 19: 874-881) utilizan información de una diversidad de fuentes (PSI-BLAST, predicción de estructura secundaria, perfiles de alineamiento estructural y potenciales de solvatación) como resultado de una red neuronal que predice el pliegue estructural para una secuencia de consulta. De forma similar, el método de Gough *et al.*, 2000, J. Mol. Biol. 313: 903-919, puede utilizarse para alinear una secuencia de estructura desconocida con los modelos de superfamilia presentes en la base de datos SCOP. Estos alineamientos pueden a su vez usarse para generar modelos de homología para el polipéptido y tales modelos se pueden evaluar para exactitud utilizando una diversidad de herramientas desarrolladas para este fin.

[0089] Para proteínas de estructura conocida, diferentes herramientas y recursos están disponibles para recuperar y generar alineamientos estructurales. Por ejemplo, las superfamilias SCOP de proteínas se han alineado estructuralmente y esos alineamientos son accesibles y descargables. Dos o más estructuras de proteína se pueden alinear utilizando una diversidad de algoritmos tales como la matriz de alineamiento de distancia (Holm and Sander, 1998, Proteins 33: 88-96) o extensión combinatoria (Shindyalov and Bourne, 1998, Protein Engineering 11: 739-747) y la implementación de estos algoritmos se puede utilizar adicionalmente para consultar bases de datos de estructura con una estructura de interés para descubrir posibles homólogos estructurales (por ejemplo, Holm and Park, 2000, Bioinformatics 16: 566-567).

[0090] Al describir las variantes de la presente invención, la nomenclatura descrita más adelante se adapta para facilidad de referencia. Se utiliza la abreviatura de aminoácidos de tetra única o de tres letras IUPAC aceptada.

5 [0091] Sustituciones. Para una sustitución de aminoácidos, se usa la siguiente nomenclatura: aminoácido original, posición, aminoácido sustituido. Por consiguiente, la sustitución de treonina en la posición 226 con alanina se designa como "Thr226Ala" o "T226A". Las mutaciones múltiples se separan por signos de suma ("+"), por ejemplo, "Gly205Arg + Ser411 Phe" o "G205R + S411 F", representando sustituciones en las posiciones 205 y 411 de glicina (G) con arginina (R) y serina (S) con fenilalanina (F), respectivamente.

10 [0092] Deleciones. Para una deleción de aminoácidos, se usa la siguiente nomenclatura: aminoácido original, posición, *. Por consiguiente, la deleción de glicina en la posición 195 se designa como "Gly195*" o "G195*". Las deleciones múltiples se separan por signos de suma ("+"), por ejemplo, "Gly195* + Ser411*" o "G195* + S411*".

15 [0093] Inserciones. Para una inserción de aminoácidos, se usa la siguiente nomenclatura: aminoácido original, posición, aminoácido original, aminoácido insertado. Por consiguiente, la inserción de lisina después de glicina en la posición 195 se designa "Gly195GlyLys" o "G195GK". Una inserción de aminoácidos múltiples se designa [aminoácido original, posición, aminoácido original, aminoácido insertado #1, aminoácido insertado #2; etc.]. Por ejemplo, la inserción de lisina y alanina después de glicina en la posición 195 se indica como "Gly195GlyLysAla" o "G195GKA".

20 [0094] En tales casos, el(los) residuo(s) de aminoácidos insertado(s) se numeran añadiendo letras minúsculas al número de posición del residuo de aminoácido precedente al residuo(s) de aminoácido insertado. En el ejemplo anterior, la secuencia sería así:

Original:	Variante:
195	195 195a 195b
G	G - K - A

25 [0095] Alteraciones múltiples. Variantes que comprenden alteraciones múltiples se separan por signos de suma ("+"), por ejemplo, "Arg170Tyr+Gly195Glu" o "R170Y+G195E" representando una sustitución de arginina y glicina en las posiciones 170 y 195 con tirosina y ácido glutámico, respectivamente.

30 [0096] Alteraciones diferentes. Donde alteraciones diferentes se pueden introducir en una posición, las alteraciones diferentes se separan por una coma, por ejemplo, "Arg170Tir,Glu" representa una sustitución de arginina en la posición 170 con tirosina o ácido glutámico. Así, "Tir167Gli,Ala + Arg170Gly,Ala" designa las siguientes variantes:

"Tyr167Gly+Arg170Gly" "Tyr167Gly+Arg170Ala", "Tyr167Ala+Arg170Gly" y "Tyr167Ala+Arg 170Ala".

35 Variantes

[0097] La presente invención proporciona variantes de beta-glucosidasa que comprenden una sustitución en las posiciones correspondientes a las posiciones 89, 91,140 y 186 del polipéptido maduro de SEC ID n°: 2, donde la variantes tienen actividad de beta-glucosidasa.

40 [0098] En una forma de realización, la variante tiene identidad de secuencia de al menos 80%, por ejemplo, al menos 81%, al menos 82%, al menos 83%, al menos 84%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99%, pero menos del 100%, con la secuencia de aminoácidos del polipéptido original que tiene actividad de beta-glucosidasa.

45 [0099] En otra forma de realización, la variante tiene al menos 80%, por ejemplo, al menos 81%, al menos 82%, al menos 83%, al menos 84%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, tal como al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99%, pero menos del 100%, de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEC ID n°: 2.

50 [0100] El número de sustituciones en las variantes de la presente invención es 4, 5, 6, 7 u 8 sustituciones.

55 [0101] La variante puede comprender una sustitución en cada posición correspondientes a las posiciones 89, 91, 100, 140, 186, 283, 456 y 512.

60 [0102] En particular, el aminoácido en una posición correspondiente a la posición 89 se puede sustituir con Ala, Arg, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr o Val, preferiblemente con Met. En particular, la variante puede comprender la sustitución L89M del polipéptido maduro de SEC ID n°: 2.

5 polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. La variante puede comprender las sustituciones G91L + F100D + I140V + I186V + S283G + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. La variante puede comprender las sustituciones G91 L + F100D + I140V + I186V + N456E + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. La variante puede comprender las sustituciones G91 L + F100D + I140V + S283G + N456E + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. La variante puede comprender las sustituciones G91 L + F100D + I186V + S283G + N456E + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. La variante puede comprender las sustituciones G91L + I140V + I186V + S283G + N456E + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. La variante puede comprender las sustituciones F100D + I140V + I186V + S283G + N456E + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2.

10 [0121] La variante puede comprender las sustituciones L89M + G91L + F100D + I140V + I186V + S283G + N456E del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. La variante puede comprender las sustituciones L89M + G91L + F100D + I140V + I186V + S283G + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. La variante puede comprender las sustituciones L89M + G91L + F100D + I140V + I186V + N456E + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. La variante puede comprender las sustituciones L89M + G91L + F100D + I140V + S283G + N456E + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. La variante puede comprender las sustituciones L89M + G91L + F100D + I186V + S283G + N456E + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. La variante puede comprender las sustituciones L89M + G91L + I140V + I186V + S283G + N456E + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. La variante puede comprender las sustituciones L89M + F100D + I140V + I186V + S283G + N456E + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. La variante puede comprender las sustituciones G91 L + F100D + I140V + I186V + S283G + N456E + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2.

[0122] La variante puede comprender las sustituciones L89M + G91L + F100D + I140V + I186V + S283G + N456E + F512Y del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2.

25 [0123] Las variantes de la presente invención pueden comprender además una alteración, por ejemplo, deleción, inserción y/o sustitución en una o más (por ejemplo, varias) otras posiciones.

30 [0124] Los cambios en los aminoácidos pueden ser de naturaleza menor, es decir, sustituciones o inserciones de aminoácidos conservadoras que no afecten significativamente al plegado y/o la actividad de la proteína; deleciones pequeñas, típicamente de 1-30 aminoácidos; extensiones pequeñas amino- o carboxil-terminales, tales como un residuo de metionina aminoterminal; un péptido enlazador pequeño de hasta 20-25 residuos; o una extensión pequeña que facilite la purificación cambiando la carga neta u otra función, tal como un tracto de polihistidina, un epítipo antigénico o un dominio de unión.

35 [0125] Ejemplos de sustituciones conservadoras están en los grupos de aminoácidos básicos (arginina, lisina e histidina), aminoácidos ácidos (ácido glutámico y ácido aspártico), aminoácidos polares (glutamina y asparagina), aminoácidos hidrofóbicos (leucina, isoleucina y valina), aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina) y aminoácidos pequeños (glicina, alanina, serina, treonina y metionina). Sustituciones de aminoácidos que en general no alteran la actividad específica se conocen en la técnica y son descritas, por ejemplo, por H. Neurath and R.L. Hill, 1979, en, *The Proteins*, Academic Press, Nueva York. Sustituciones comunes son Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu y Asp/Gly.

45 [0126] Alternativamente, los cambios en los aminoácidos son de tal naturaleza que las propiedades físico químicas de los polipéptidos se ven alteradas. Por ejemplo, cambios en los aminoácidos pueden mejorar la termoestabilidad del polipéptido, alterar la especificidad de sustrato, cambiar el pH óptimo y similares.

50 [0127] Aminoácidos esenciales en un polipéptido se pueden identificar según procedimientos conocidos en la técnica, tal como mutagénesis dirigida al sitio o mutagénesis de escaneado de alanina (Cunningham and Wells, 1989, *Science* 244: 1081-1085). En la técnica anterior, mutaciones de alanina individuales se introducen en cada residuo de la molécula y las moléculas mutantes resultantes se evalúan para polipéptido que tiene actividad de beta-glucosidasa para identificar residuos de aminoácidos que son críticos para la actividad de la molécula. Véase también, Hilton *et al.*, 1996, *J. Biol. Chem.* 271: 4699-4708. El sitio activo del polipéptido que tiene actividad de beta-glucosidasa u otra interacción biológica se puede determinar también por análisis físico de estructura, como se determina por técnicas tales como resonancia magnética nuclear, cristalografía, difracción electrónica o marcaje por fotoafinidad, junto con mutación de aminoácidos de sitio de contacto putativo. Véase, por ejemplo, de Vos *et al.*, 1992, *Science* 255: 306-312; Smith *et al.*, 1992, *J. Mol. Biol.* 224: 899-904; Wlodaver *et al.*, 1992, *FEBS Lett.* 309: 59-64. La identidad de aminoácidos esenciales también se puede inferir a partir de un alineamiento con un polipéptido relacionado.

60 [0128] Las variantes pueden consistir en los aminoácidos 720 a 863, por ejemplo, los aminoácidos 720 a 739, 740 a 759, 760 a 779, 780 a 799, 800 a 819, 820 a 839 y 840 a 863.

[0129] La variante puede tener actividad específica mejorada.

Beta-glucosidasas originales

65

- 5 [0130] La beta-glucosidasa original puede ser (a) un polipéptido que tiene al menos 80% de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEC ID nº: 2; (b) un polipéptido codificado por un polinucleótido que hibridiza bajo condiciones de astringencia altas o condiciones de astringencia altísimas con (i) la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 1, (ii) la secuencia de ADNc de la misma o (iii) el complemento en toda su longitud de (i) o (ii); o (c) un polipéptido codificado por un polinucleótido que tiene al menos 80% de identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 1, o la secuencia de ADNc de la misma.
- 10 [0131] En un aspecto, la original tiene una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEC ID nº: 2 de al menos 81%, por ejemplo, al menos 82%, al menos 83%, al menos 84%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100%, que tiene actividad de beta-glucosidasa. La secuencia de aminoácidos del original puede diferir en hasta 10 aminoácidos, por ejemplo, en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos, del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2.
- 15 [0132] La original puede comprender o consistir en la secuencia de aminoácidos de SEC ID nº: 2. La original puede comprender o consistir en el polipéptido maduro de SEC ID nº: 2. En particular, la original puede comprender o consistir en los aminoácidos 20 a 863 de SEC ID nº: 2.
- 20 [0133] La original también puede ser un fragmento del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2 que contenga al menos 720 residuos de aminoácidos, por ejemplo, al menos 760 residuos de aminoácidos o al menos 800 residuos de aminoácidos.
- [0134] La original es una variante alélica del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2.
- 25 [0135] El polinucleótido de SEC ID nº: 1 o una subsecuencia de la misma, al igual que el polipéptido de SEC ID nº: 2 o un fragmento de la mismo, se puede utilizar para diseñar sondas de ácido nucleico para identificar y clonar ADN que codifica una original a partir de cepas de diferentes géneros o especies según métodos bien conocido en la técnica. En particular, tales sondas se pueden usar para hibridación con el ADN genómico o ADNc de una célula de interés, siguiendo procedimientos de transferencia de Southern estándar, para identificar y aislar el gen correspondiente de la misma. Tales sondas pueden ser considerablemente más cortas que toda la secuencia, pero deberían ser al menos 15, por ejemplo, al menos 25, al menos 35 o al menos 70 nucleótidos de longitud. Preferiblemente, la sonda de ácido nucleico es al menos 100 nucleótidos de longitud, por ejemplo, al menos 200 nucleótidos, al menos 300 nucleótidos, al menos 400 nucleótidos, al menos 500 nucleótidos, al menos 600 nucleótidos, al menos 700 nucleótidos, al menos 800 nucleótidos o al menos 900 nucleótidos de longitud. Se pueden usar sondas tanto de ADN como de ARN. Las sondas están típicamente marcadas para detectar el gen correspondiente (por ejemplo, con ³²P, ³H, ³⁵S, biotina o avidina).
35 Tales sondas están abarcadas por la presente invención.
- 40 [0136] Un ADN genómico o genoteca de ADNc obtenido a partir de tales otras cepas se puede seleccionar para ADN que hibridice con las sondas anteriormente descritas y codifique una original. ADN genómico u otro de tal otras cepas se puede separar por electroforesis en gel de poliacrilamida o agarosa, u otras técnicas de separación. El ADN de las bibliotecas o el ADN separado puede ser transferido e inmovilizado en nitrocelulosa u otro material portador adecuado. Para identificar a un clon o ADN que hibridice con SEC ID nº: 1 o una subsecuencia de la misma, el material portador se usa en una transferencia de Southern.
- 45 [0137] Para fines de la presente invención, hibridación indica que el polinucleótido hibridiza a una sonda de ácidos nucleicos marcada que corresponde a (i) SEC ID nº: 1; (ii) la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 1; (iii) la secuencia de ADNc de la misma; (iv) el complemento en toda su longitud de la misma; o (v) una subsecuencia de la misma; bajo condiciones de astringencia de muy bajas a altísimas. Moléculas a las que la sonda de ácidos nucleicos hibridiza bajo estas condiciones se pueden detectar usando, por ejemplo, película radiográfica o cualquiera de los otros medios de detección conocidos en la técnica.
50
- 55 [0138] La sonda de ácidos nucleicos puede ser la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 1 o la secuencia de ADNc de la misma. La sonda de ácidos nucleicos puede ser de los nucleótidos 58 a 2580 de SEC ID nº: 1 o la secuencia de ADNc de la misma. La sonda de ácidos nucleicos también puede ser un polinucleótido que codifique el polipéptido de SEC ID nº: 2; el polipéptido maduro de la misma; o un fragmento de la misma. Además, la sonda de ácidos nucleicos puede ser la SEC ID nº: 1 o la secuencia de ADNc de la misma.
- 60 [0139] En otro aspecto, la original es codificada por un polinucleótido que tiene al menos 80% de identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 1 o la secuencia de ADNc de la misma, por ejemplo, al menos 81%, al menos 82%, al menos 83%, al menos 84%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100%, que codifica un polipéptido que tiene actividad de beta-glucosidasa. En particular, la secuencia codificante del polipéptido maduro es de los nucleótidos 58 a 2580 de SEC ID nº: 1.
- 65 [0140] El original puede ser un polipéptido híbrido donde una región de un polipéptido se fusiona en el N-término o el C-término de una región de otro polipéptido.

[0141] El original puede ser un polipéptido de fusión o polipéptido de fusión divisible donde otro polipéptido se fusiona en el N-término o el C-término del polipéptido de la presente invención. Un polipéptido de fusión se produce por fusión de un polinucleótido que codifica a otro polipéptido a un polinucleótido de la presente invención. Técnicas para producir polipéptidos de fusión se conocen en la técnica, e incluyen ligamiento de las secuencias de codificación que codifican los polipéptidos de modo que éstas estén en marco y que la expresión del polipéptido de fusión esté bajo control del mismo promotor(es) y terminador. Los polipéptidos de fusión también se pueden construir usando tecnología de íntima donde los polipéptidos de fusión se crean postraduccionalmente (Cooper *et al.*, 1993, EMBO J. 12: 2575-2583; Dawson *et al.*, 1994, Science 266: 776-779).

[0142] Un polipéptido de fusión puede además comprender un sitio de escisión entre los dos polipéptidos. En la secreción de la proteína de fusión, el sitio se divide liberando los dos polipéptidos. Ejemplos de sitios de escisión incluyen, pero de forma no limitativa, los sitios descritos en Martin *et al.*, 2003, J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 3: 568-576; Svetina *et al.*, 2000, J. Biotechnol. 76: 245-251; Rasmussen- Wilson *et al.*, 1997, Appl. Environ. Microbiol. 63: 3488-3493; Ward *et al.*, 1995, Biotechnology 13: 498-503; and Contreras *et al.*, 1991, Biotechnology 9: 378-381; Eaton *et al.*, 1986, Biochemistry 25: 505-512; Collins-Racie *et al.*, 1995, Biotechnology 13: 982-987; Carter *et al.*, 1989, Proteins: Structure, Function, and Genetics 6: 240-248; and Stevens, 2003, Drug Discovery World 4: 35-48.

[0143] El original se puede obtener a partir de microorganismos de cualquier género. Para fines de la presente invención, el término "obtenido a partir de", como se utilizan en este caso, en relación con una fuente dada significará que el original codificado por un polinucleótido es producido por la fuente o por una cepa donde el polinucleótido de la fuente se ha insertado. En un aspecto, el original es secretado extracelularmente.

[0144] El original puede ser una beta-glucosidasa bacteriana. Por ejemplo, el original puede ser un polipéptido bacteriano gram-positivo tal como una beta-glucosidasa de *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Geobacillus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Oceanobacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* o *Streptomyces*, o un polipéptido bacteriano gram-negativo tal como una beta-glucosidasa de *Campylobacter*, *E. coli*, *Flavobacterium*, *Fusobacterium*, *Helicobacter*, *Ilyobacter*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Salmonella* o *Ureaplasma*.

[0145] En un aspecto, el original es una beta-glucosidasa de *Bacillus alkalophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus brevis*, *Bacillus circulans*, *Bacillus clausii*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus firmus*, *Bacillus lautus*, *Bacillus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis* o *Bacillus thuringiensis*.

[0146] En otro aspecto, el original es una beta-glucosidasa de *Streptococcus equisimilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus uberis* o *Streptococcus equi subesp. Zooepidemicus*.

[0147] En otro aspecto, el original es una beta-glucosidasa de *Streptomyces achromogenes*, *Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces coelicolor*, *Streptomyces griseus* o *Streptomyces lividans*.

[0148] El original puede ser una beta-glucosidasa fúngica. Por ejemplo, el original puede ser un polipéptido de levadura que tiene actividad de beta-glucosidasa tal como una beta-glucosidasa de *Candida*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* o *Yarrowia*. Por ejemplo, el original puede ser una beta-glucosidasa fúngica filamentosa tal como una beta-glucosidasa de *Acremonium*, *Agaricus*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Botryosphaeria*, *Ceriporiopsis*, *Chaetomidium*, *Chrysosporium*, *Claviceps*, *Cochliobolus*, *Coprinopsis*, *Coptotermes*, *Corynascus*, *Cryphonectria*, *Cryptococcus*, *Diplodia*, *Exidia*, *Filibasidium*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Holomastigotoides*, *Humicola*, *Irpex*, *Lentinula*, *Leptosphaeria*, *Magnaporthe*, *Melanocarpus*, *Meripilus*, *Mucor*, *Myceliophthora*, *Neocallimastix*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phanerochaete*, *Piromyces*, *Poitrasia*, *Pseudoplectania*, *Pseudotriconympha*, *Rhizomucor*, *Schizophyllum*, *Scytalidium*, *Talaromyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, *Tolypocladium*, *Trichoderma*, *Trichophaea*, *Verticillium*, *Volvariella* o *Xylaria*.

[0149] En otro aspecto, el original es una beta-glucosidasa de *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces diastaticus*, *Saccharomyces douglasii*, *Saccharomyces kluyveri*, *Saccharomyces norbensis* o *Saccharomyces oviformis*.

[0150] En otro aspecto, el original es una beta-glucosidasa de *Acremonium cellulolyticus*, *Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus foetidus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus japonicus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Chrysosporium inops*, *Chrysosporium keratinophilum*, *Chrysosporium lucknowense*, *Chrysosporium merdarium*, *Chrysosporium pannicola*, *Chrysosporium queenslandicum*, *Chrysosporium tropicum*, *Chrysosporium zonatum*, *Fusarium bactridioides*, *Fusarium cerealis*, *Fusarium crookwellense*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium graminum*, *Fusarium heterosporum*, *Fusarium negundi*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium reticulatum*, *Fusarium roseum*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium sarcochroum*, *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium sulphureum*, *Fusarium torulosum*, *Fusarium trichothecioides*, *Fusarium venenatum*, *Humicola grisea*, *Humicola insolens*, *Humicola lanuginosa*, *Irpex lacteus*, *Irpex lacteus*, *Mucor miehei*, *Myceliophthora thermophila*, *Neurospora crassa*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium purpurogenum*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Thielavia achromatica*, *Thielavia albomyces*, *Thielavia albopilosa*, *Thielavia australeinsis*, *Thielavia fimeti*, *Thielavia microspora*, *Thielavia ovispora*, *Thielavia*

peruviana, *Thielavia setosa*, *Thielavia spededonium*, *Thielavia subthermophila*, *Thielavia terrestris*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei* o *Trichoderma viride*.

[0151] El original puede ser una beta-glucosidasa de *Aspergillus fumigatus*, por ejemplo, la beta-glucosidasa de SEC ID n°: 2 o el polipéptido maduro de la misma.

[0152] Se entiende que para las especies anteriormente mencionadas, la invención abarca tanto los estados perfectos como los imperfectos y otros equivalentes taxonómicos, por ejemplo, anamorfos, independientemente del nombre de la especie por la que son conocidos. Expertos en la técnica reconocerán fácilmente la identidad de equivalentes apropiados.

[0153] Cepas de estas especies son fácilmente accesibles para el público en un número de colecciones de cultivo, como la *American Type Culture Collection* (ATCC), *Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH* (DSMZ), *Centraalbureau Voor Schimmelcultures* (CBS) y *Agricultural Research Service Patent Culture Collection*, *Northern Regional Research Center* (NRRL).

[0154] El original se puede identificar y obtener a partir de otras fuentes, incluyendo microorganismos aislados de la naturaleza (por ejemplo, suciedad, abonos, agua, etc.) o muestras de ADN obtenidas directamente de materiales naturales (por ejemplo, suciedad, abonos, agua, etc.) utilizando las sondas mencionadas anteriormente. Técnicas para aislar microorganismos y ADN directamente de hábitats naturales se conocen en la técnica. Un polinucleótido que codifica un original se puede obtener luego seleccionando de forma similar un ADN genómico o genoteca de ADNc de otro microorganismo o muestra de ADN mezclado. Una vez que se ha detectado un polinucleótido que codifica un original con la sonda(s), el polinucleótido se puede aislar o clonar utilizando técnicas que son conocidas por expertos en la materia (véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, 1989, *supra*).

Preparación de variantes

[0155] La presente invención también se refiere a métodos para obtener una variante que tiene actividad de beta-glucosidasa, que comprende: (a) introducción en una beta-glucosidasa original una sustitución en una o más (por ejemplo, varias) posiciones que corresponden a las posiciones 89, 91, 140 y 186 del polipéptido maduro de SEC ID n°: 2, donde la variante tiene actividad de beta-glucosidasa; y (b) recuperación de la variante.

[0156] Las variantes se pueden preparar utilizando cualquier procedimiento de mutagénesis conocido en la técnica, tal como mutagénesis dirigida al sitio, construcción de gen sintético, construcción de gen semi-sintético, mutagénesis aleatoria, redistribución, etc.

[0157] La mutagénesis dirigida al sitio es una técnica donde una o más (por ejemplo, varias) mutaciones se introducen en uno o más sitios definidos en un polinucleótido que codifica el original.

[0158] La mutagénesis dirigida se puede obtener *in vitro* por PCR implicando el uso de cebadores oligonucleótidos que contienen la alteración deseada. La mutagénesis dirigida al sitio se puede realizar también *in vitro* por mutagénesis de cassette que incluye la escisión por una enzima de restricción en un sitio en el plásmido que comprende un polinucleótido que codifica el original y posterior ligamiento de un oligonucleótido que contiene la mutación en el polinucleótido. Normalmente la enzima de restricción que asimila el plásmido y el oligonucleótido es la misma, permitiendo que las extremidades adherentes del plásmido y el inserto se enlacen el uno al otro. Véase, por ejemplo, Scherer and Davis, 1979, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 4949-4955; and Barton *et al.*, 1990, Nucleic Acids Res. 18: 7349-4966.

[0159] La mutagénesis dirigida al sitio se puede obtener también *in vivo* por métodos conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, la publicación de la solicitud de patente de EE.UU. n° 2004/0171154; Storici *et al.*, 2001, Nature Biotechnol. 19: 773-776; Kren *et al.*, 1998, Nat. Med. 4: 285-290 y Calissano and Macino, 1996, Fungal Genet. Newslett. 43: 15-16.

[0160] Cualquier procedimiento de mutagénesis dirigida al sitio se puede usar en la presente invención. Hay muchos equipos comerciales disponibles que pueden utilizarse para preparar variantes.

[0161] La construcción del gen sintético implica la síntesis *in vitro* de una molécula de polinucleótido diseñada para codificar un polipéptido de interés. La síntesis del gen se puede realizar utilizando varias técnicas, tal como la tecnología basada en microchip multiplex descrita por Tian *et al.* (2004, Nature 432: 1050-1054) y tecnologías similares donde los oligonucleótidos se sintetizan y ensamblan sobre chips microfluídicos fotoprogramables.

[0162] Sustituciones de aminoácidos únicas o múltiples, deleciones y/o inserciones se pueden hacer y evaluar usando métodos conocidos de mutagénesis, recombinación y/o redistribución, seguidos de un procedimiento de selección pertinente, tal como los descritos por Reidhaar-Olson and Sauer, 1988, Science 241: 53-57; Bowie and Sauer, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 2152-2156; WO 95/17413; o WO 95/22625. Otros métodos que se pueden usar incluyen PCR con tendencia al error, presentación en fagos (por ejemplo, Lowman *et al.*, 1991, Biochemistry 30: 10832-10837;

patente de EE.UU. n° 5,223,409; WO 92/06204) y mutagénesis dirigida a la región (Derbyshire *et al.*, 1986, Gene 46: 145; Ner *et al.*, 1988, DNA 7: 127).

[0163] Los métodos de mutagénesis/redistribución se pueden combinar con métodos de selección automatizados de alto rendimiento, para detectar actividad de polipéptidos mutagenizados expresados clonados por células huésped (Ness *et al.*, 1999, Nature Biotechnology 17: 893-896). Moléculas de ADN mutagenizadas que codifican polipéptidos activos se pueden recuperar de las células huésped y se pueden secuenciar rápidamente utilizando métodos estándar de la técnica. Estos métodos permiten la determinación rápida de la importancia de residuos de aminoácidos individuales en un polipéptido.

[0164] La construcción de gens semi sintéticos se obtiene combinando aspectos de construcción de genes sintéticos, y/o mutagénesis dirigida al sitio, y/o mutagénesis aleatoria, y/o redistribución. La construcción semi sintética se caracteriza por un proceso que utiliza fragmentos de polinucleótidos que son sintetizados, en combinación con técnicas de PCR. Las regiones definidas de los genes se pueden sintetizar así de novo, mientras que otras regiones se pueden amplificar utilizando cebadores mutagénicos específicos de sitio, mientras que otras regiones se pueden someter a PCR con tendencia al error o amplificación de PCR sin tendencia al error. Entonces las subsecuencias polinucleótidas se pueden redistribuir.

Polinucleótidos

[0165] La presente invención también se refiere a polinucleótidos aislados que codifican una variante de la presente invención.

Constructos de ácidos nucleicos

[0166] El polinucleótido que codifica una variante de la presente invención puede estar comprendido dentro de un constructo de ácidos nucleicos y puede estar operativamente enlazado a una o varias secuencias de control que dirijan la expresión de la secuencia codificante en una célula huésped adecuada bajo condiciones compatibles con las secuencias de control.

[0167] El polinucleótido se puede manipular de una diversidad de formas para proporcionar la expresión de una variante. La manipulación del polinucleótido antes de la inserción en un vector puede ser deseable o necesaria dependiendo del vector de expresión. Las técnicas para modificar polinucleótidos utilizando métodos de ADN recombinante se conocen bien en la técnica.

[0168] La secuencia de control puede ser un promotor, un polinucleótido que es reconocido por una célula huésped para la expresión del polinucleótido. El promotor contiene secuencias de control transcripcionales que median la expresión de la variante. El promotor puede ser cualquier polinucleótido que muestre actividad transcripcional en la célula huésped, incluyendo promotores mutantes, truncados e híbridos y se puede obtener de genes que codifican polipéptidos extracelulares o intracelulares, ya sean homólogos o heterólogos de la célula huésped.

[0169] Ejemplos de promotores adecuados para dirigir la transcripción de los constructos de ácidos nucleicos de la presente invención en una célula huésped bacteriana son los promotores obtenidos a partir del gen de alfa-amilasa de *Bacillus amyloliquefaciens* (*amyQ*), gen de alfa-amilasa de *Bacillus licheniformis* (*amyL*), gen de penicilinas de *Bacillus licheniformis* (*penP*), gen de amilasa maltogénica de *Bacillus stearothermophilus* (*amyM*), gen de levansucrasa de *Bacillus subtilis* (*sacB*), genes *xylA* y *xylB* de *Bacillus*, gen *cryIIIA* de *Bacillus thuringiensis* (Agaisse y Lereclus, 1994, Molecular Microbiology 13: 97-107), operón *lac* de *E. coli*, promotor *trc* de *E. coli* (Egon *et al.*, 1988, Gene 69: 301-315), gen de agarasa de *Streptomyces coelicolor* (*dagA*) y gen de beta-lactamasa procariótica (Villa-Kamaroff *et al.*, 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75: 3727-3731), al igual que el promotor *tac* (DeBoer *et al.*, 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80: 21-25). Otros promotores se describen en "Useful proteins from recombinant bacteria" in Gilbert *et al.*, 1980, Scientific American 242: 74-94; y en Sambrook *et al.*, 1989, *supra*. Ejemplos de promotores en serie se describen en la WO 99/43835.

[0170] Ejemplos de promotores adecuados para dirigir la transcripción de los constructos de ácidos nucleicos de la presente invención en una célula huésped fúngica filamentosa son los promotores obtenidos a partir de los genes para acetamidasa de *Aspergillus nidulans*, alfa-amilasa neutra de *Aspergillus niger*, alfa-amilasa estable en ácido de *Aspergillus niger*, glucoamilasa de *Aspergillus niger* o *Aspergillus awamori* (*glaA*), TAKA amilasa de *Aspergillus oryzae*, proteasa alcalina de *Aspergillus oryzae*, triosa fosfato isomerasa de *Aspergillus oryzae*, proteasa de tipo tripsina de *Fusarium oxysporum* (WO 96/00787), amiloglucosidasa de *Fusarium venenatum* (WO 00/56900), *Fusarium venenatum Daria* (WO 00/56900), *Fusarium venenatum Quinn* (WO 00/56900), lipasa de *Rhizomucor miehei*, proteinasa aspártica de *Rhizomucor miehei*, beta-glucosidasa de *Trichoderma reesei*, celobiohidrolasa I de *Trichoderma reesei*, celobiohidrolasa II de *Trichoderma reesei*, endoglucanasa I de *Trichoderma reesei*, endoglucanasa II de *Trichoderma reesei*, endoglucanasa III de *Trichoderma reesei*, endoglucanasa V de *Trichoderma reesei*, xilanasa I de *Trichoderma reesei*, xilanasa II de *Trichoderma reesei*, xilanasa III de *Trichoderma reesei*, beta-xilosidasa de *Trichoderma reesei* y factor de alargamiento de la traducción de *Trichoderma reesei*, al igual que el promotor NA2-tpi (un promotor modificado de un gen de alfa-amilasa neutra de *Aspergillus* donde el líder no traducido se ha sustituido por el líder no traducido de

un gen de triosa fosfato isomerasa de *Aspergillus*; ejemplos no limitativos incluyen promotores modificados de un gen de alfa-amilasa neutra de *Aspergillus niger*, donde el líder no traducido se ha sustituido por el líder no traducido de un gen de triosa fosfato isomerasa de *Aspergillus nidulans* o *Aspergillus oryzae*; y promotores mutantes, truncados e híbridos de los mismos. Otros promotores se describen en la patente de EE.UU. nº 6.011.147.

5 [0171] En un huésped de levadura, se obtienen promotores útiles a partir de los genes para enolasa de *Saccharomyces cerevisiae* (ENO-1), galactocinasa de *Saccharomyces cerevisiae* (GAL1), alcohol deshidrogenasa /gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa de *Saccharomyces cerevisiae* (ADH1, ADH2/GAP), triosa fosfato isomerasa de *Saccharomyces cerevisiae* (TPI), metalotioneína *Saccharomyces cerevisiae* (CUP1) y 3-fosfoglicerato quinasa de *Saccharomyces cerevisiae*. Otros promotores útiles para células huésped de levadura se describen en Romanos *et al.*, 1992, *Yeast* 8: 10 423-488.

[0172] La secuencia de control también puede ser una secuencia terminadora de transcripción, que sea reconocida por una célula huésped para terminar la transcripción. La secuencia terminadora está operativamente enlazada al 3'-termino del polinucleótido que codifica la variante. Cualquier terminador que sea funcional en la célula huésped se puede utilizar.

[0173] Terminadores preferidos para células huésped bacterianas se obtienen de los genes para proteasa alcalina de *Bacillus clausii* (*aprH*), alfa-amilasa de *Bacillus licheniformis* (*amyL*) y ARN ribosómico de *Escherichia coli* (*rrnB*).

20 [0174] Terminadores preferidos para células huésped fúngicas filamentosas se obtienen de los genes para acetamidasa de *Aspergillus nidulans*, antranilato sintasa de *Aspergillus nidulans*, glucoamilasa de *Aspergillus niger*, alfa-glucosidasa de *Aspergillus niger*, TAKA amilasa de *Aspergillus oryzae*, proteasa de tipo tripsina de *Fusarium oxysporum*, beta-glucosidasa de *Trichoderma reesei*, celobiohidrolasa I de *Trichoderma reesei*, celobiohidrolasa II de *Trichoderma reesei*, endoglucanasa I de *Trichoderma reesei*, endoglucanasa II de *Trichoderma reesei*, endoglucanasa III de *Trichoderma reesei*, endoglucanasa V de *Trichoderma reesei*, xilanasa I de *Trichoderma reesei*, xilanasa II de *Trichoderma reesei*, xilanasa III de *Trichoderma reesei*, beta-xilosidasa de *Trichoderma reesei* y factor de alargamiento de la traducción de *Trichoderma reesei*.

[0175] Terminadores preferidos para células huésped de levadura se obtienen a partir de los genes para enolasa de *Saccharomyces cerevisiae*, citocromo C de *Saccharomyces cerevisiae* (CYC1) y gliceraldehído-3-fosfato-deshidrogenasa de *Saccharomyces cerevisiae*. Otros terminadores útiles para células huésped de levadura son descritos por Romanos *et al.*, 1992, *supra*.

[0176] La secuencia de control también puede ser una región estabilizadora de ARNm abajo de un promotor y arriba de la secuencia codificante de una variante de la presente invención que aumenta la expresión de la variante.

[0177] Ejemplos de regiones estabilizadoras de ARNm adecuadas se obtienen a partir de un gen *cryIIIA* de *Bacillus thuringiensis* (WO 94/25612) y un gen *SP82* de *Bacillus subtilis* (Hue *et al.*, 1995, *Journal of Bacteriology* 177: 3465-3471).

[0178] La secuencia de control también puede ser un líder, una región no traducida de un ARNm que sea importante para la traducción por la célula huésped. La secuencia líder está operativamente enlazada al 5'-termino del polinucleótido que codifica la variante. Cualquier líder que sea funcional en la célula huésped se puede utilizar.

45 [0179] Líderes preferidos para células huésped fúngicas filamentosas se obtienen a partir de los genes para TAKA amilasa de *Aspergillus oryzae* y triosa fosfato isomerasa de *Aspergillus nidulans*.

[0180] Líderes adecuados para células huésped de levadura se obtienen a partir de los genes para enolasa de *Saccharomyces cerevisiae* (ENO-1), 3-fosfoglicerato quinasa de *Saccharomyces cerevisiae*, alfa-factor de *Saccharomyces cerevisiae* y alcohol deshidrogenasa/gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa de *Saccharomyces cerevisiae* (ADH2/GAP).

[0181] La secuencia de control también puede ser una secuencia de poliadenilación, una secuencia operativamente enlazada al 3'-termino de la secuencia que codifica la variante y, cuando se transcribe, es reconocida por la célula huésped como una señal para añadir residuos de poliadenosina a ARNm transcrito. Cualquier secuencia de poliadenilación que sea funcional en la célula huésped se puede utilizar.

[0182] Secuencias de poliadenilación preferidas para células huésped fúngicas filamentosas se obtienen a partir de los genes para antranilato sintasa de *Aspergillus nidulans*, glucoamilasa de *Aspergillus niger*, alfa-glucosidasa de *Aspergillus niger*, TAKA amilasa de *Aspergillus oryzae* y proteasa de tipo tripsina de *Fusarium oxysporum*.

[0183] Secuencias de poliadenilación útiles para células huésped de levadura son descritas por Guo y Sherman, 1995, *Mol. Cellular Biol.* 15: 5983-5990.

65 [0184] La secuencia de control también puede ser una región codificante del péptido señal que codifique un péptido señal enlazado al N-término de una variante y dirija la variante en la vía secretora de la célula. El extremo 5' de la

secuencia codificante del polinucleótido puede contener intrínsecamente una secuencia codificante del péptido señal naturalmente enlazada en el marco de lectura de la traducción con el segmento de la secuencia codificante que codifica la variante. Alternativamente, el extremo 5' de la secuencia codificante puede contener una secuencia codificante del péptido señal que sea foránea a la secuencia codificante. Una secuencia codificante del péptido señal foráneo puede ser necesaria donde la secuencia codificante no contenga naturalmente una secuencia codificante del péptido señal. Alternativamente, una secuencia codificante de péptido señal foránea puede sencillamente reemplazar la secuencia codificante del péptido señal natural para mejorar la secreción de la variante. Sin embargo, cualquier secuencia codificante del péptido señal que dirija la variante expresada en la vía secretora de una célula huésped se puede utilizar.

[0185] Secuencias codificantes del péptido señal eficaces para células huésped bacterianas son las secuencias codificantes del péptido señal obtenidas a partir de los genes para amilasa maltogénica de *Bacillus* NCIB 11837, subtilisina de *Bacillus licheniformis*, beta-lactamasa de *Bacillus licheniformis*, alfa-amilasa de *Bacillus stearothermophilus*, proteasas neutras de *Bacillus stearothermophilus* (*nprT*, *nprS*, *nprM*) y *prsA* de *Bacillus subtilis*. Otros péptidos señal son descritos por Simonen y Palva, 1993, *Microbiological Reviews* 57: 109-137.

[0186] Secuencias codificantes del péptido señal eficaces para células huésped fúngicas filamentosas son las secuencias codificantes del péptido señal obtenidas a partir de los genes para amilasa neutra de *Aspergillus niger*, glucoamilasa de *Aspergillus niger*, TAKA amilasa de *Aspergillus oryzae*, celulasa de *Humicola insolens*, endoglucanasa V de *Humicola insolens*, lipasa de *Humicola lanuginosa* y proteinasa aspártica de *Rhizomucor miehei*.

[0187] Péptidos señal útiles para células huésped de levadura se obtienen a partir de los genes para alfa-factor de *Saccharomyces cerevisiae* e invertasa de *Saccharomyces cerevisiae*. Otras secuencias codificantes del péptido señal útiles son descritas por Romanos *et al.*, 1992, *supra*.

[0188] La secuencia de control también puede ser una secuencia codificante de propéptido que codifica un propéptido posicionado en el N-término de una variante. El polipéptido resultante se conoce como una proenzima o propolipéptido (o un zimógeno en algunos casos). Un propolipéptido es en general inactivo y se pueden convertir en polipéptido activo por escisión catalítica o autocatalítica del propéptido a partir del propolipéptido. La secuencia codificante de propéptido se puede obtener a partir de los genes para proteasa alcalina de *Bacillus subtilis* (*aprE*), proteasa neutra de *Bacillus subtilis* (*nprT*), lacasa micelioflora termófila (WO 95/33836), proteinasa aspártica de *Rhizomucor miehei* y alfa-factor de *Saccharomyces cerevisiae*.

[0189] Donde tanto el péptido señal como las secuencias de propéptido están presentes, la secuencia de propéptido está situada junto al N-término de la variante y la secuencia de péptido señal está situada junto al N-término de la secuencia de propéptido.

[0190] También puede ser deseable añadir secuencias reguladoras que regulen la expresión de la variante con respecto al crecimiento de la célula huésped. Ejemplos de secuencias reguladoras son aquellas que hacen que la expresión del gen active o desactive en respuesta a un estímulo químico o físico, incluyendo la presencia de un compuesto regulador. Secuencias reguladoras en sistemas procarióticos incluyen los sistemas operadores *lac*, *tac* y *trp*. En la levadura, el sistema ADH2 o sistema GAL1 se puede utilizar. En hongos filamentosos, se pueden utilizar el promotor de glucoamilasa de *Aspergillus niger*, el promotor de TAKA alfa-amilasa de *Aspergillus oryzae* y el promotor de glucoamilasa de *Aspergillus oryzae*, el promotor de celobiohidrolasa I de *Trichoderma reesei* y el promotor de celobiohidrolasa II de *Trichoderma reesei*. Otros ejemplos de secuencias reguladoras son aquellas que permiten la amplificación génica. En sistemas eucarióticos, estas secuencias reguladoras incluyen el gen de dihidrofolato reductasa que se amplifica en presencia de metotrexato y los genes de metalotioneína que se amplifican con metales pesados. En estos casos, el polinucleótido que codifica la variante estaría operativamente enlazado a la secuencia reguladora.

Vectores de expresión

[0191] El polinucleótido que codifica una variante de la presente invención puede estar comprendido dentro de un vector de expresión recombinante junto con un promotor y señales de parada transcripcionales y traduccionales. Las diferentes secuencias de nucleótidos y de control se pueden unir para producir un vector de expresión recombinante que puede incluir uno o más (por ejemplo, varios) sitios de restricción adecuados para permitir la inserción o sustitución del polinucleótido que codifica la variante en tales sitios. Alternativamente, el polinucleótido se puede expresar por inserción del polinucleótido o un constructo de ácidos nucleicos que comprenda el polinucleótido en un vector apropiado para la expresión. Al crear el vector de expresión, la secuencia codificante se localiza en el vector de modo que la secuencia codificante esté operativamente enlazada con las secuencias de control apropiadas para la expresión.

[0192] El vector de expresión recombinante puede ser cualquier vector (por ejemplo, un plásmido o virus) que puede ser convenientemente sometido a procedimientos de ADN recombinante y puede provocar la expresión del polinucleótido. La elección del vector típicamente dependerá de la compatibilidad del vector con la célula huésped en la que el vector se debe introducir. El vector puede ser un plásmido lineal o cerrado circular.

[0193] El vector puede ser un vector de replicación autónoma, es decir, un vector que exista como un ente extracromosómico, cuya replicación sea independiente de la replicación cromosómica, por ejemplo, un plásmido, un

elemento extracromosómico, un minicromosoma o un cromosoma artificial. El vector puede contener cualquier medio que asegure la autorreplicación. Alternativamente, el vector puede ser un vector que, cuando se introduzca en la célula huésped, se integre en el genoma y replique con el cromosoma(s) en el que se ha integrado. Además, un único vector o plásmido o dos o más vectores o plásmidos que juntos contengan el ADN total que se va a introducir en el genoma de la célula huésped, o un transposón, se puede utilizar.

[0194] El vector contiene preferiblemente uno o más (por ejemplo, varios) marcadores seleccionables que permitan la fácil selección de células transformadas, modificadas, transducidas o similares. Un marcador seleccionable es un gen cuyo producto proporciona resistencia biocida o vírica, resistencia a los metales pesados, prototrofia a auxótrofos y similares.

[0195] Ejemplos de marcadores seleccionables bacterianos son los genes *dal* de *Bacillus licheniformis* o *Bacillus subtilis*, o marcadores que confieren resistencia antibiótica tales como resistencia a ampicilina, cloranfenicol, canamicina, neomicina, espectinomicina o tetraciclina. Marcadores adecuados para células huésped de levadura incluyen, pero de forma no limitativa, ADE2, HIS3, LEU2, LYS2, MET3, TRP1 y URA3. Marcadores seleccionables para su uso en una célula huésped fúngica filamentosa incluyen, pero de forma no limitativa, *adeA* (fosforibosilaminoimidazola-succinocarboxamida sintasa), *adeB* (fosforibosilaminoimidazola sintasa), *amdS* (acetamidasa), *argB* (ornitina-carbamoyltransferasa), *bar* (fosfonitricina acetiltransferasa), *hph* (higromicina fosfotransferasa), *niaD* (nitrito-reductasa), *pyrG* (orotidina-5'-fosfato-descarboxilasa), *sC* (sulfato adeniltransferasa) y *trpC* (antranilato sintasa), al igual que equivalentes de los mismos. Se prefiere para su uso en una célula de *Aspergillus* los genes *amdS* y *pyrG* de *Aspergillus nidulans* o *Aspergillus oryzae* y un gen *bar* de *Streptomyces hygroscopicus*. Se prefiere para su uso en una célula de *Trichoderma* los genes *adeA*, *adeB*, *amdS*, *hph* y *pyrG*.

[0196] El marcador seleccionable puede ser un sistema de marcador seleccionable doble como se describe en la WO 2010/039889. En un aspecto, el marcador seleccionable doble es un sistema de marcador seleccionable doble *hph-tk*.

[0197] El vector contiene preferiblemente un(os) elemento(s) que permite(n) la integración del vector en el genoma de la célula huésped o la replicación autónoma del vector en la célula independiente del genoma.

[0198] Para integración en el genoma de la célula huésped, el vector puede contar con la secuencia de polinucleótidos que codifica la variante o cualquier otro elemento del vector para la integración en el genoma por recombinación homóloga o no homóloga. Alternativamente, el vector puede contener polinucleótidos adicionales para dirigir la integración por recombinación homóloga en el genoma de la célula huésped en una(s) ubicación(es) precisa(s) en el cromosoma(s). Para aumentar la probabilidad de integración en una ubicación precisa, los elementos integracionales deberían contener un número suficiente de ácidos nucleicos, tal como de 100 a 10.000 pares de bases, de 400 a 10.000 pares de bases y de 800 a 10.000 pares de bases, que tengan un grado alto de identidad de secuencia con la secuencia objetivo correspondiente para mejorar la probabilidad de recombinación homóloga. Los elementos integracionales pueden ser cualquier secuencia que sea homóloga de la secuencia objetivo en el genoma de la célula huésped. Además, los elementos integracionales pueden ser polinucleótidos codificantes o no codificantes. Por otro lado, el vector se puede integrar en el genoma de la célula huésped por recombinación no homóloga.

[0199] Para replicación autónoma, el vector puede comprender además una derivación de replicación que permita al vector replicar autónomamente en la célula huésped en cuestión. La derivación de replicación puede ser cualquier replicador plásmido que medie la replicación autónoma que funciona en una célula. El término "origen de replicación" o "plásmido replicador" se refiere a un polinucleótido que permite que un plásmido o vector replique *in vivo*.

[0200] Ejemplos de orígenes bacterianos de replicación son los orígenes de replicación de los plásmidos pBR322, pUC19, pACYC177 y pACYC184 que permiten la replicación en el *E. coli* y pUB110, pE194, pTA1060 y pAMB1 que permiten la replicación en el *Bacillus*.

[0201] Ejemplos de orígenes de replicación para su uso en una célula huésped de levadura son el origen de replicación de 2 micras, ARS1, ARS4, la combinación de ARS1 y CEN3 y la combinación de ARS4 y CEN6.

[0202] Ejemplos de orígenes de replicación útiles en una célula fúngica filamentosa son AMA1 y ANS1 (Gems *et al.*, 1991, Gene 98: 61-67; Cullen *et al.*, 1987, Nucleic Acids Res. 15: 9163-9175; WO 00/24883). El aislamiento del gen AMA1 y la construcción de plásmidos o vectores que comprenden el gen se puede obtener según los métodos descritos en la WO 00/24883.

[0203] Más de una copia de un polinucleótido de la presente invención se puede insertar en una célula huésped para aumentar la producción de una variante. Un aumento en el número de copias del polinucleótido se puede obtener integrando al menos una copia adicional de la secuencia en el genoma de la célula huésped o incluyendo un gen marcador seleccionable amplificable con el polinucleótido donde células que contienen copias amplificadas del gen marcador seleccionable y por lo tanto copias adicionales del polinucleótido, se pueden seleccionar mediante el cultivo de las células en presencia del agente seleccionable apropiado.

[0204] Los procedimientos usados para enlazar los elementos anteriormente descritos para construir los vectores de expresión recombinantes de la presente invención son conocidos por un experto en la materia (véase, por ejemplo, Sambrook *et al.*, 1989, *supra*).

5 Células huésped

[0205] La presente invención también se refiere a células huésped recombinantes, que comprenden un polinucleótido que codifica una variante de la presente invención. El polinucleótido puede estar operativamente enlazado a una o más (por ejemplo, varias) secuencias de control que dirigen la producción de una variante de la presente invención. Un constructo o vector que comprenda un polinucleótido se introduce en una célula huésped de modo que el constructo o vector se mantenga como un integrante cromosómico o como un vector extra-cromosómico autorreplicativo como se ha descrito anteriormente. El término "célula huésped" abarca cualquier descendiente de una célula original que es idéntico a la célula original debido a mutaciones que se producen durante la replicación. La elección de una célula huésped dependerá en gran parte al gen que codifica la variante y la fuente de la original.

[0206] La célula huésped puede ser cualquier célula útil en la producción recombinante de una variante, por ejemplo, una procarionota o una eucariota.

[0207] La célula huésped procariótica puede ser cualquier bacteria gram-positiva o gram-negativa. Bacterias gram-positivas incluyen, pero de forma no limitativa, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Geobacillus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Oceanobacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Streptomyces*. Bacterias gram-negativas incluyen, pero de forma no limitativa, *Campylobacter*, *E. coli*, *Flavobacterium*, *Fusobacterium*, *Helicobacter*, *Ilyobacter*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Salmonella* y *Ureaplasma*.

[0208] La célula huésped bacteriana puede ser cualquier célula de *Bacillus*, incluyendo, pero no limitado a, células de *Bacillus alkalophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus brevis*, *Bacillus circulans*, *Bacillus clausii*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus firmus*, *Bacillus lautus*, *Bacillus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus thuringiensis*.

[0209] La célula huésped bacteriana también puede ser cualquier célula de *Streptococcus*, incluyendo, pero no limitado a, células de *Streptococcus equisimilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus uberis* y *Streptococcus equi subesp. Zooepidemicus*.

[0210] La célula huésped bacteriana también puede ser cualquier célula de *Streptomyces*, incluyendo, pero no limitado a, células de *Streptomyces achromogenes*, *Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces coelicolor*, *Streptomyces griseus* y *Streptomyces lividans*.

[0211] La introducción de ADN en una célula de *Bacillus* se puede efectuar por transformación de protoplasto (véase, por ejemplo, Chang and Cohen, 1979, Mol. Gen. Genet. 168: 111-115), transformación de célula competente (véase, por ejemplo, Young and Spizizen, 1961, J. Bacteriol. 81: 823-829 o Dubnau and Davidoff-Abelson, 1971, J. Mol. Biol. 56: 209-221), electroporación (véase, por ejemplo, Shigekawa and Dower, 1988, Biotechniques 6: 742-751) o conjugación (véase, por ejemplo, Koehler and Thorne, 1987, J. Bacteriol. 169: 5271-5278). La introducción de ADN en una célula de *E. coli* se puede efectuar por transformación de protoplasto (véase, por ejemplo, Hanahan, 1983, J. Mol. Biol. 166: 557-580) o electroporación (véase, por ejemplo, Dower *et al.*, 1988, Nucleic Acids Res. 16: 6127-6145). La introducción de ADN en una célula de *Streptomyces* se puede efectuar por transformación de protoplasto, electroporación (véase, por ejemplo, Gong *et al.*, 2004, Folia Microbiol. (Praga) 49: 399-405), conjugación (véase, por ejemplo, Mazodier *et al.*, 1989, J. Bacteriol. 171: 3583-3585) o transducción (véase, por ejemplo, Burke *et al.*, 2001, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 98: 6289-6294). La introducción de ADN en una célula de *Pseudomonas* se puede efectuar por electroporación (véase, por ejemplo, Choi *et al.*, 2006, J. Microbiol. Methods 64: 391-397) o conjugación (véase, por ejemplo, Pinedo and Smets, 2005, Appl. Environ. Microbiol. 71: 51-57). La introducción de ADN en una célula de *Streptococcus* se puede efectuar por competencia natural (véase, por ejemplo, Perry and Kuramitsu, 1981, Infect. Immun. 32: 1295-1297), transformación de protoplasto (véase, por ejemplo, Catt and Jollick, 1991, Microbios 68: 189-207), electroporación (véase, por ejemplo, Buckley *et al.*, 1999, Appl. Environ. Microbiol. 65: 3800-3804) o conjugación (véase, por ejemplo, Clewell, 1981, Microbiol. Rev. 45: 409-436). Sin embargo, cualquier método conocido en la técnica para introducir ADN en una célula huésped se puede usar.

[0212] La célula huésped también puede estar un eucariota, tal como un mamífero, insecto, planta, o célula fúngica.

[0213] La célula huésped puede ser una célula fúngica. "Hongo", como se utiliza en este caso, incluye los filos *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Chytridiomycota* y *Zygomycota*, al igual que los *Oomycota* y todos los hongos mitospóricos (como se define en Hawksworth *et al.*, en Ainsworth and Bisby's Dictionary of The Fungi, 8th edition, 1995, CAB International, University Press, Cambridge, UK).

[0214] La célula huésped fúngica puede ser una célula de levadura. "Levadura", como se utiliza en este caso, incluye levadura ascosporógena (*Endomycetales*), levadura basidioesporogénea y levadura de los *Fungi Imperfecti* (*Blastomycetes*). Ya que la clasificación de levadura puede cambiar en el futuro, para los fines de esta invención, la

levadura debe ser definida como se describe en *Biology and Activities of Yeast* (Skinner, Passmore, and Davenport, editors, Soc. App. Bacteriol. Symposium Series No. 9, 1980).

[0215] La célula huésped de levadura puede ser una célula de *Candida*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* o *Yarrowia*, tal como una célula de *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces diastaticus*, *Saccharomyces douglasii*, *Saccharomyces kluyveri*, *Saccharomyces norbensis*, *Saccharomyces oviformis* o *Yarrowia lipolytica*.

[0216] La célula huésped fúngica puede ser una célula fúngica filamentosa. "Hongos filamentosos" incluyen todas las formas filamentosas de la subdivisión *Eumycota* y *Oomycota* (como se define por Hawkswort *et al.*, 1995, *supra*). Los hongos filamentosos están en general caracterizados por una pared micelial compuesta por quitina, celulosa, glucano, quitosano, manano y otros polisacáridos complejos. El crecimiento vegetativo es por alargamiento hifal y el catabolismo de carbono es estrictamente aeróbico. En cambio, el crecimiento vegetativo por levaduras tal como *Saccharomyces cerevisiae* es por injerto de un talo unicelular y el catabolismo de carbono puede ser fermentativo.

[0217] La célula huésped fúngica filamentosa puede ser una célula de *Acremonium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bjerkandera*, *Ceriporiopsis*, *Chrysosporium*, *Coprinus*, *Coriolus*, *Cryptococcus*, *Filibasidium*, *Fusarium*, *Humicola*, *Magnaporthe*, *Mucor*, *Myceliophthora*, *Neocallimastix*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phanerochaete*, *Phlebia*, *Piromyces*, *Pleurotus*, *Schizophyllum*, *Talaromyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, *Tolypocladium*, *Trametes* o *Trichoderma*.

[0218] Por ejemplo, la célula huésped fúngica filamentosa puede ser una célula de *Aspergillus awamori*, *Aspergillus foetidus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus japonicus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Bjerkandera adusta*, *Ceriporiopsis aneirina*, *Ceriporiopsis caregiea*, *Ceriporiopsis gilvescens*, *Ceriporiopsis pannocinta*, *Ceriporiopsis rivulosa*, *Ceriporiopsis subrufa*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Chrysosporium inops*, *Chrysosporium keratinophilum*, *Chrysosporium lucknowense*, *Chrysosporium merdarium*, *Chrysosporium pannicola*, *Chrysosporium queenslandicum*, *Chrysosporium tropicum*, *Chrysosporium zonatum*, *Coprinus cinereus*, *Coriolus hirsutus*, *Fusarium bactridioides*, *Fusarium cerealis*, *Fusarium crookwellense*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium graminum*, *Fusarium heterosporum*, *Fusarium negundi*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium reticulatum*, *Fusarium roseum*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium sarcochroum*, *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium sulphureum*, *Fusarium torulosum*, *Fusarium trichothecioides*, *Fusarium venenatum*, *Humicola insolens*, *Humicola lanuginosa*, *Mucor miehei*, *Myceliophthora thermophila*, *Neurospora crassa*, *Penicillium purpurogenum*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Phlebia radiata*, *Pleurotus eryngii*, *Thielavia terrestris*, *Trametes villosa*, *Trametes versicolor*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei* o *Trichoderma viride*.

[0219] Las células fúngicas se pueden transformar por un proceso que implica la formación de protoplasto, transformación de los protoplastos y regeneración de la pared celular conocida de manera conocida de por sí. Procedimientos adecuados para la transformación de células huésped de *Aspergillus* y *Trichoderma* son descritas en la EP 238023, Yelton *et al.*, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 81: 1470-1474 y Christensen *et al.*, 1988, Bio/Technology 6: 1419-1422. Métodos adecuados para transformar especies de *Fusarium* son descritos por Malardier *et al.*, 1989, Gene 78: 147-156 y la WO 96/00787. La levadura se puede transformar utilizando los procedimientos descritos por Becker and Guarente, In Abelson, J.N. and Simon, M.I., editors, *Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology*, Methods in Enzymology, Volume 194, pp 182-187, Academic Press, Inc., New York; Ito *et al.*, 1983, J. Bacteriol. 153: 163; and Hinnen *et al.*, 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75: 1920.

Métodos de producción

[0220] La presente invención también se refiere a métodos para producir una variante, que comprenden: (a) cultivo de una célula huésped de la presente invención bajo condiciones adecuadas para la expresión de la variante; y (b) recuperación de la variante.

[0221] Las células huésped se cultivan en un medio nutritivo adecuado para la producción de variantes utilizando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, las células se pueden cultivar por cultivo en matraz de agitación, o fermentación a pequeña escala o a gran escala (incluyendo, fermentaciones de lote continuo, lote alimentado o en estado sólido) en laboratorio o en fermentadores industriales realizadas en un medio adecuado y bajo condiciones que permitan que la variante sea expresada y/o aislada. El cultivo tiene lugar en un medio nutritivo adecuado que comprende fuentes de nitrógeno y carbono y sales inorgánicas, utilizando procedimientos conocidos en la técnica. Medios adecuados están disponibles de proveedores comerciales o se pueden preparar según composiciones publicadas (por ejemplo, en catálogos de la *American Type Culture Collection*). Si la variante se segrega en el medio nutritivo, la variante se puede recuperar directamente del medio. Si la variante no es segregada, se puede recuperar de lisatos celulares.

[0222] La variante se puede detectar utilizando métodos conocidos en la técnica que sean específicos para las variantes. Estos métodos de detección incluyen, pero de forma no limitativa, el uso de anticuerpos específicos, formación de un producto enzimático o desaparición de un sustrato enzimático. Por ejemplo, un ensayo enzimático se puede utilizar para decidir la actividad de la variante.

[0223] La variante se puede recuperar utilizando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la variante se puede recuperar a partir del medio nutritivo por procedimientos convencionales incluyendo, pero no limitado a, recogida, centrifugación, filtración, extracción, secado por pulverización, evaporación o precipitación. En un aspecto, el caldo de fermentación entero es recuperado.

[0224] La variante se puede purificar por una diversidad de procedimientos conocidos en la técnica incluyendo, pero no limitado a, cromatografía (por ejemplo, intercambio iónico, afinidad, hidrofóbico, cromatoenfoco y exclusión por tamaño), procedimientos electroforéticos (por ejemplo, isoelectroenfoco preparativo), solubilidad diferencial (por ejemplo, precipitación de sulfato amónico), SDS-PAGE o extracción (véase, por ejemplo, Protein Purification, Janson and Ryden, editors, VCH Publishers, Nueva York, 1989) para obtener variantes sustancialmente puras.

Composiciones

[0225] Las composiciones que comprenden una variante de la presente invención están preferiblemente enriquecidas con tal variante. El término "enriquecido" indica que la actividad de beta-glucosidasa de la composición ha sido aumentada, por ejemplo, con un factor de enriquecimiento de al menos 1.1.

[0226] Las composiciones pueden comprender una variante de la presente invención como componente enzimático principal, por ejemplo, una composición monocomponente. Alternativamente, las composiciones pueden comprender actividades enzimáticas múltiples, tal como una o más (varias) enzimas seleccionadas del grupo que consiste en una celulasa, un polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico, una hemicelulasa, una esterasa, una expansina, una lacasa, una enzima ligninolítica, una pectinasa, una peroxidasa, una proteasa y una swollenin.

[0227] Las composiciones se pueden preparar conforme a métodos conocidos en la técnica y pueden estar en forma de líquido o de composición seca. Las composiciones se pueden estabilizar conforme a métodos conocidos en la técnica.

[0228] Las composiciones pueden ser una formulación de caldo de fermentación o una composición celular, como se describe en este caso. Consecuentemente, la presente invención también se refiere a formulaciones de caldo de fermentación y composiciones celulares que comprenden una variante de la presente invención. En algunas formas de realización, la composición es un caldo completo con células inactivadas que contiene ácido(s) orgánico(s), células inactivadas y/o detrito celular y medio de cultivo.

[0229] El término "caldo de fermentación", como se utiliza en este caso, se refiere a una preparación producida por fermentación celular que no sufre ninguna o mínima recuperación y/o purificación. Por ejemplo, los caldos de fermentación se producen cuando los cultivos microbianos se cultivan por saturación, incubados bajo condiciones limitadoras de carbono para permitir la síntesis de la proteína (por ejemplo, expresión de enzimas por células huésped) y secreción en el medio de cultivo celular. El caldo de fermentación puede contener contenidos no fraccionados o fraccionados de los materiales de fermentación derivados al final de la fermentación. Típicamente, el caldo de fermentación es no fraccionado y comprende el medio de cultivo consumido y el detrito celular presente después de que las células microbianas (por ejemplo, células fúngicas filamentosas) se retiren, por ejemplo, por centrifugación. En algunas formas de realización, el caldo de fermentación contiene medio de cultivo celular consumido, enzimas extracelulares y células microbianas viables y/o no viables.

[0230] En una forma de realización, la formulación de caldo de fermentación y composiciones celulares comprenden un primer componente de ácido orgánico que comprende al menos un ácido orgánico de 1-5 carbono y/o una sal derivada y un segundo componente de ácido orgánico que comprende al menos un ácido orgánico de 6 o más carbonos y/o una sal derivada. En una forma de realización específica, el primer componente de ácido orgánico es ácido acético, ácido fórmico, ácido propiónico, una sal derivada o una mezcla de dos o más de los anteriores y el segundo componente de ácido orgánico es ácido benzoico, ácido ciclohexanocarboxílico, ácido 4-metilvalérico, ácido fenilacético, una sal derivada o una mezcla de dos o más de los anteriores.

[0231] En un aspecto, la composición contiene un ácido(s) orgánico(s) y opcionalmente además contiene células inactivadas y/o detrito celular. En una forma de realización, las células inactivadas y/o detrito celular son retiradas de un caldo completo con inactivación celular para proporcionar una composición que está libre de estos componentes.

[0232] Las formulaciones de caldo de fermentación o composiciones celulares pueden comprender además un conservante y/o agente antimicrobiano (por ejemplo, bacteriostático), incluyendo, pero no limitado a, sorbitol, cloruro sódico, sorbato de potasio y otros conocidos en la técnica.

[0233] El caldo completo con inactivación celular o composición puede comprender además una o más actividades enzimáticas tales como celobiohidrolasa, endoglucanasa, beta-glucosidasa, endo-beta-1,3(4)-glucanasa, glucohidrolasa, xiloglucanasa, xilanasas, xilosidasas, arabinofuranosidasas, alfa-glucuronidasas, acetil xilano esterasa, mananasa, manosidasas, alfa-galactosidasas, manano acetil esterasa, galactanasas, arabinanasas, pectato liasa, pectinasas, pectato liasa, poligalacturonasa, pectina acetil esterasa, pectina metilesterasa, beta-galactosidasas, galactanasas, arabinanasas, alfa-arabinofuranosidasas, ramnogalacturonasa, esterases de ácido ferúlico ramnogalacturonano liasa, ramnogalacturonano acetil esterasa, xilogalacturonosidasas, xilogalacturonasa, ramnogalacturonano liasa, lignina

peroxidasas, peroxidasas dependientes de manganeso, peroxidasas híbridas, con propiedades combinadas de lignina peroxidasas y peroxidasas dependientes de manganeso, glucoamilasa, amilasa, proteasa y lacasa.

5 [0234] En algunas formas de realización, el caldo completo con inactivación celular o composición incluye enzimas celulolíticas que incluyen, pero no se limitan a, endoglucanasas (i) (EG) o 1,4-D-glucano-4-glucanohidrolasas (EC 3.2.1.4), (ii) exoglucanasas, incluyendo 1,4-D-glucano glucanohidrolasas (también conocidas como celodextanasas) (EC 3.2.1.74) y 1,4-D-glucano celobiohidrolasas (exo-celobiohidrolasas, CBH) (EC 3.2.1.91) y (iii) beta-glucosidasa (BG) o beta-glucósido glucohidrolasas (EC 3.2.1.21).

10 [0235] El caldo completo con inactivación celular o composición puede contener los contenidos no fraccionados de los materiales de fermentación derivados al final de la fermentación. Típicamente, el caldo completo con inactivación celular o composición contiene el medio de cultivo consumido y el detrito celular presente después de que las células microbianas (por ejemplo, células fúngicas filamentosas) hayan crecido hasta saturación, se hayan incubado bajo condiciones limitadoras de carbono para permitir la síntesis de la proteína (por ejemplo, enzima(s) de expresión de celulasas y/o glucosidasa). En algunas formas de realización, el caldo completo con inactivación celular o composición contiene el medio de cultivo celular consumido, enzimas extracelulares y células fúngicas filamentosas inactivadas. En algunas formas de realización, las células microbianas presentes en el caldo completo con inactivación celular o composición se pueden permeabilizar y/o lisar usando métodos conocidos en la técnica.

20 [0236] Un caldo completo o composición celular como se describe en este caso es típicamente un líquido, pero puede contener componentes insolubles, tales como células inactivadas, detrito celular, componentes de medios de cultivo y/o enzima(s) insoluble(s). En algunas formas de realización, componentes insolubles se pueden retirar para proporcionar una composición líquida clarificada.

25 [0237] Las formulaciones de caldo completo y composiciones celulares de la presente invención se pueden producir por un método descrito en la WO 90/15861 o la WO 2010/096673.

30 [0238] Se aportan ejemplos más adelante de usos preferidos de las composiciones de la presente invención. La dosificación de la composición y otras condiciones bajo las que la composición se usa se pueden determinar basándose en métodos conocidos en la técnica.

Usos

35 [0239] La presente invención también se refiere a métodos para degradar o convertir un material celulósico, que comprenden: tratamiento del material celulósico con una composición enzimática en presencia de una variante de la presente invención. En una forma de realización, los métodos además comprenden recuperación del material celulósico degradado o convertido. Productos solubles de degradación o conversión del material celulósico se pueden separar del material celulósico insoluble utilizando cualquier método bien conocido en la técnica tal como, por ejemplo, centrifugación, filtración y/o sedimentación por gravedad.

40 [0240] La presente invención también se refiere a métodos para producir un producto de fermentación, que comprenden: (a) sacarificación de un material celulósico con una composición enzimática en presencia de una variante de la presente invención; (b) fermentación del material celulósico sacarificado con uno o más (por ejemplo, varios) microorganismos de fermentación para producir el producto de fermentación y (c) recuperación del producto de fermentación a partir de la fermentación.

50 [0241] La presente invención también se refiere a métodos de fermentación de un material celulósico, que comprenden: fermentación del material celulósico con uno o más (por ejemplo, varios) microorganismos de fermentación, donde el material celulósico se sacarifica con una composición enzimática en presencia de una variante de la presente invención. En un aspecto, la fermentación del material celulósico produce un producto de fermentación. En otro aspecto, los métodos además comprenden recuperación del producto de fermentación a partir de la fermentación.

55 [0242] Los métodos de la presente invención pueden utilizarse para sacarificar el material celulósico en azúcares fermentables y para convertir los azúcares fermentables en muchos productos de fermentación útiles, por ejemplo, combustible, etanol potable y/o productos químicos de plataforma (por ejemplo, ácidos, alcoholes, cetonas, gases y similares). La producción de un producto de fermentación deseado a partir del material celulósico implica típicamente pretratamiento, hidrólisis enzimática (sacarificación) y fermentación.

60 [0243] El procesamiento del material celulósico según la presente invención se puede realizar utilizando procesos convencionales en la técnica. Además, los métodos de la presente invención se pueden implementar utilizando cualquier equipo de tratamiento de biomasa convencional configurado para operar conforme a la invención.

65 [0244] La hidrólisis (sacarificación) y la fermentación, separadas o simultáneas, incluyen, pero de forma no limitativa, hidrólisis y fermentación separadas (SHF); sacarificación y fermentación simultáneas (SSF); sacarificación y co-fermentación simultáneas (SSCF); hidrólisis y fermentación híbridas (HHF); hidrólisis y co-fermentación separadas (SHCF); hidrólisis y co- fermentación híbridas (HHCF); y conversión microbiana directa (DMC), bioprocesamiento

consolidado también a veces llamado (CBP). SHF usa pasos de proceso separados para hidrolizar primero enzimáticamente el material celulósico en azúcares fermentables, por ejemplo, glucosa, celobiosa y monómeros de pentosa y luego fermentar los azúcares fermentables en etanol. En la SSF, la hidrólisis enzimática del material celulósico y la fermentación de azúcares en etanol se combinan en un paso (Philippidis, G. P., 1996, Cellulose bioconversion technology, in Handbook on Bioethanol: Production and Utilization, Wyman, C. E., ed., Taylor & Francis, Washington, DC, 179-212). La SSCF implica la co-fermentación de azúcares múltiples (Sheehan, J., and Himmel, M., 1999, Enzymes, energy and the environment: A strategic perspective on the U.S. Department of Energy's research and development activities for bioethanol, Biotechnol. Prog. 15: 817-827). La HHF implica un paso de hidrólisis separada y además un paso de sacarificación e hidrólisis simultáneas, que puede efectuarse en el mismo reactor. Los pasos en un proceso de HHF pueden llevarse a cabo a temperaturas diferentes, es decir, sacarificación enzimática a alta temperatura seguida de SSF a una temperatura inferior que la cepa de fermentación pueda aguantar. La DMC combina los tres procesos (producción enzimática, hidrólisis y fermentación) en uno o más (por ejemplo, varios) pasos donde el mismo organismo se usa para producir las enzimas para conversión del material celulósico en azúcares fermentables y para convertir los azúcares fermentables en un producto final (Lynd, L. R., Weimer, P. J., van Zyl, W. H., and Pretorius, I. S., 2002, Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology, Microbiol. Mol. Biol. Reviews 66: 506-577). Se entiende aquí que cualquier método conocido en la técnica que comprenda pretratamiento, hidrólisis enzimática (sacarificación), fermentación o una combinación de los mismos, se puede usar al poner en práctica los métodos de la presente invención.

[0245] Un equipo convencional puede incluir un reactor agitado lote alimentado, un reactor agitado de lote, un reactor agitado de flujo continuo con ultrafiltración y/o un reactor de columna de flujo de pistón continuo (Fernanda de Castilhos Corazza, Flávio Faria de Moraes, Gisella Maria Zanin and Ivo Neitzel, 2003, Optimal control in fed-batch reactor for the cellobiose hydrolysis, Acta Scientiarum. Technology 25: 33-38; Gusakov, A. V., and Sinitsyn, A. P., 1985, Kinetics of the enzymatic hydrolysis of cellulose: 1. A mathematical model for a batch reactor process, Enz. Microb. Technol. 7: 346-352), un reactor de desgaste (Ryu, S. K., and Lee, J. M., 1983, Bioconversion of waste cellulose by using an attrition bioreactor, Biotechnol. Bioeng. 25: 53-65) o un reactor con agitación intensiva inducida por un campo electromagnético (Gusakov, A. V., Sinitsyn, A. P., Davydkin, I. Y., Davydkin, V. Y., Protas, O. V., 1996, Enhancement of enzymatic cellulose hydrolysis using a novel type of bioreactor with intensive stirring induced by electromagnetic field, Appl. Biochem. Biotechnol. 56: 141-153). Otros tipos de reactores incluyen: reactores de lecho fluidificado, manto de flujo ascendente, inmovilizado y tipo extrusor para la hidrólisis y/o la fermentación.

[0246] Pretratamiento. Al poner en práctica los métodos de la presente invención, cualquier proceso de pretratamiento conocido en la técnica puede utilizarse para interrumpir componentes de pared celular vegetal del material celulósico (Chandra *et al.*, 2007, Substrate pretreatment: The key to effective enzymatic hydrolysis of lignocellulosics? Adv. Biochem. Engin./Biotechnol. 108: 67-93; Galbe and Zacchi, 2007, Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production, Adv. Biochem. Engin. / Biotechnol. 108: 41-65; Hendriks and Zeeman, 2009, Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass, Bioresource Technol. 100: 10-18; Mosier *et al.*, 2005, Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass, Bioresource Technol. 96: 673-686; Taherzadeh and Karimi, 2008, Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review, Int. J. of Mol. Sci. 9: 1621-1651; Yang and Wyman, 2008, Pretreatment: the key to unlocking low-cost cellulosic ethanol, Biofuels Bioproducts and Biorefining-Biofpr. 2: 26-40).

[0247] El material celulósico se puede someter también a reducción de tamaño de partícula, tamizado, prerremojado, humidificación, lavado y/o preparación previa al pretratamiento utilizando métodos conocidos en la técnica.

[0248] Pretratamientos convencionales incluyen, pero de forma no limitativa, pretratamiento con vapor (con o sin explosión), pretratamiento con ácido diluido, pretratamiento con agua caliente, pretratamiento alcalino, pretratamiento con cal, oxidación en húmedo, explosión en húmedo, explosión de fibra de amoníaco, pretratamiento organosolv y pretratamiento biológico. Pretratamientos adicionales incluyen filtración de amoníaco, ultrasonido, electroporación, microondas, CO₂ supercrítico, H₂O supercrítico, ozono, líquido iónico y pretratamientos de irradiación gamma.

[0249] El material celulósico se puede pretratar antes de la hidrólisis y/o la fermentación. El pretratamiento se realiza preferiblemente antes de la hidrólisis. Alternativamente, el pretratamiento puede llevarse a cabo simultáneamente con hidrólisis enzimática para liberar azúcares fermentables, tales como glucosa, xilosa y/o celobiosa. En la mayoría de los casos la etapa de pretratamiento en sí produce algo de conversión de biomasa en azúcares fermentables (incluso en ausencia de enzimas).

[0250] Pretratamiento de vapor. En el pretratamiento de vapor, el material celulósico se calienta para interrumpir los componentes de la pared celular vegetal, incluyendo lignina, hemicelulosa y celulosa para hacer la celulosa y otras fracciones, por ejemplo, hemicelulosa, accesibles a las enzimas. El material celulósico se pasa a o a través de un recipiente de reacción donde se inyecta vapor para aumentar la temperatura a la temperatura requerida y presión y se retiene en él durante el tiempo de reacción deseado. El pretratamiento de vapor se realiza preferiblemente a 140-250°C, por ejemplo, 160-200°C o 170-190°C, donde la gama de temperatura óptima depende de la adición de un catalizador químico. El periodo de permanencia para el pretratamiento con vapor es preferiblemente de 1-60 minutos, por ejemplo, de 1-30 minutos, de 1-20 minutos, de 3-12 minutos o de 4-10 minutos, donde el periodo de permanencia óptimo depende del rango de temperatura y la adición de un catalizador químico. El pretratamiento con vapor permite cargas de

sólidos relativamente altas, de modo que el material celulósico generalmente sólo está húmedo durante el pretratamiento. El pretratamiento con vapor se combina frecuentemente con una descarga explosiva del material después del pretratamiento, lo que se conoce como explosión de vapor, que es, un paso rápido a presión atmosférica y flujo turbulento del material para aumentar el área de superficie accesible por fragmentación (Duff and Murray, 1996, Bioresource Technology 85: 1-33; Galbe and Zacchi, 2002, Appl. Microbiol. Biotechnol. 59: 618-628; número de patente de EE.UU. 20020164730). Durante el pretratamiento con vapor, grupos de acetil de hemicelulosa se dividen y el ácido resultante autocataliza la hidrólisis parcial de la hemicelulosa en monosacáridos y oligosacáridos. La lignina se retira solo de forma limitada.

[0251] Pretratamiento químico: el término "pretratamiento químico" se refiere a cualquier pretratamiento químico que promueva la separación y/o liberación de celulosa, hemicelulosa y/o lignina. Tal pretratamiento puede convertir celulosa cristalina en celulosa amorfa. Ejemplos de procesos de pretratamiento químico adecuados incluyen, por ejemplo, pretratamiento de ácido diluido, pretratamiento de cal, oxidación en húmedo, explosión por congelación/de fibra de amoníaco (AFEX), filtración de amoníaco (APR), líquido iónico y pretratamientos organosolv.

[0252] Un catalizador tal como H₂SO₄ o SO₂ (típicamente 0,3 a 5% p/p) se añade frecuentemente antes del pretratamiento de vapor, que reduce el tiempo y la temperatura, aumenta la recuperación y mejora la hidrólisis enzimática (Ballesteros *et al.*, 2006, Appl. Biochem. Biotechnol. 129-132: 496- 508; Varga *et al.*, 2004, Appl. Biochem. Biotechnol. 113-116: 509-523; Sassner *et al.*, 2006, Enzyme Microb. Technol. 39: 756-762). En el pretratamiento de ácido diluido, el material celulósico se mezcla con ácido diluido, típicamente H₂SO₄ y agua para formar un lodo, calentado por vapor a la temperatura deseada y después de un periodo de permanencia se pasa rápidamente a presión atmosférica. El pretratamiento de ácido diluido se puede realizar con varios diseños de reactor, por ejemplo, reactores de flujo de pistón, reactores de contracorriente, o reactores de lecho de encogimiento de contracorriente continua (Duff and Murray, 1996, *supra*; Schell *et al.*, 2004, Bioresource Technol. 91: 179-188; Lee *et al.*, 1999, Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 65: 93-115).

[0253] Diferentes métodos de pretratamiento bajo condiciones alcalinas también pueden usarse. Estos pretratamientos alcalinos incluyen, pero de forma no limitativa, hidróxido sódico, cal, oxidación en húmedo, filtración de amoníaco (APR) y explosión por congelación/de fibra de amoníaco (AFEX).

[0254] El pretratamiento con cal se realiza con óxido de calcio o hidróxido cálcico a temperaturas de 85-150°C y tiempos de permanencia de 1 hora a varios días (Wyman *et al.*, 2005, Bioresource Technol. 96: 1959-1966; Mosier *et al.*, 2005, Bioresource Technol. 96: 673-686). La WO 2006/110891, WO 2006/110899, WO 2006/110900 y WO 2006/110901 divulgan métodos de pretratamiento que utilizan amoníaco.

[0255] La oxidación en húmedo es un pretratamiento térmico realizado típicamente a 180-200°C durante 5-15 minutos con adición de un agente oxidante tal como peróxido de hidrógeno o sobrepresión de oxígeno (Schmidt and Thomsen, 1998, Bioresource Technol. 64: 139-151; Palonen *et al.*, 2004, Appl. Biochem. Biotechnol. 117: 1-17; Varga *et al.*, 2004, Biotechnol. Bioeng. 88: 567-574; Martin *et al.*, 2006, J. Chem. Technol. Biotechnol. 81: 1669-1677). El pretratamiento se realiza preferiblemente en 1- 40% de sustancia seca, por ejemplo, 2-30% de sustancia seca o 5-20% de sustancia seca y frecuentemente el pH inicial se aumenta por adición de álcali tal como carbonato de sodio.

[0256] Una modificación del método de pretratamiento de oxidación en húmedo, conocida como explosión en húmedo (combinación de oxidación en húmedo y explosión de vapor) puede utilizar sustancia seca hasta un 30%. En la explosión en húmedo, el agente oxidante se introduce durante el pretratamiento después de un determinado tiempo de permanencia. El pretratamiento se finaliza luego por paso rápido a presión atmosférica (WO 2006/032282).

[0257] El estallido de fibra de amoníaco (AFEX) implica el tratamiento del material celulósico con amoníaco líquido o gaseoso a temperaturas moderadas tales como 90-150°C y alta presión tal como 17-20 bares durante 5-10 minutos, donde el contenido de sustancia en seco puede ser tan alto como 60% (Gollapalli *et al.*, 2002, Appl. Biochem. Biotechnol. 98: 23-35; Chundawat *et al.*, 2007, Biotechnol. Bioeng. 96: 219-231; Alizadeh *et al.*, 2005, Appl. Biochem. Biotechnol. 121: 1133-1141; Teymouri *et al.*, 2005, Bioresource Technol. 96: 2014-2018). Durante el pretratamiento AFEX la celulosa y la hemicelulosas permanecen relativamente intactas. Complejos de lignina-carbohidrato son divididos.

[0258] El pretratamiento Organosolv delignifica el material celulósico por extracción utilizando etanol acuoso (40-60% etanol) en 160-200°C durante 30-60 minutos (Pan *et al.*, 2005, Biotechnol. Bioeng. 90: 473-481; Pan *et al.*, 2006, Biotechnol. Bioeng. 94: 851-861; Kurabi *et al.*, 2005, Appl. Biochem. Biotechnol. 121: 219-230). El ácido sulfúrico se añade normalmente como un catalizador. En el pretratamiento organosolv, la mayoría de la hemicelulosa y la lignina se retira.

[0259] Otros ejemplos de métodos de pretratamiento adecuados son descritos por Schell *et al.*, 2003, Appl. Biochem. and Biotechnol. Vol. 105-108, p. 69-85 y Mosier *et al.*, 2005, Bioresource Technology 96: 673-686 y la solicitud publicada de EE.UU. 2002/0164730.

- 5 [0260] El pretratamiento químico se puede realizar preferiblemente como un tratamiento de ácido diluido y más preferiblemente como un tratamiento de ácido diluido continuo. El ácido es típicamente ácido sulfúrico, pero otros ácidos también pueden usarse, tal como ácido acético, ácido cítrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido succínico, cloruro de hidrógeno o mezclas derivadas. El tratamiento de ácido moderado se realiza en el rango de pH de preferiblemente 1-5, por ejemplo, 1-4 o 1-2,5. La concentración de ácido puede estar en el rango de preferiblemente 0,01 a 10 % en peso de ácido, por ejemplo, 0,05 a 5 % en peso de ácido o 0,1 a 2 % en peso de ácido. El ácido se pone en contacto con el material celulósico y se mantiene a una temperatura en el rango de preferiblemente 140-200°C, por ejemplo, 165-190°C, durante periodos que varían de 1 a 60 minutos.
- 10 [0261] El pretratamiento se puede producir en un lodo acuoso. Preferiblemente, el material celulósico está presente durante el pretratamiento en cantidades preferiblemente entre 10-80 % en peso, por ejemplo, 20- 70 % en peso o 30-60 % en peso, tal como alrededor de 40 % en peso. El material celulósico pretratado puede ser sin lavar o lavado utilizando cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, lavado con agua.
- 15 [0262] El pretratamiento mecánico o pretratamiento físico: el término "pretratamiento mecánico " o "pretratamiento físico" se refiere en cualquier pretratamiento que promueva la reducción del tamaño de partículas. Por ejemplo, tal pretratamiento puede incluir varios tipos de trituración o molienda (por ejemplo, molienda en seco, molienda en húmedo o molienda con bola vibratoria).
- 20 [0263] El material celulósico se puede pretratar tanto física (mecánica) como químicamente. El pretratamiento mecánico o físico se puede acoplar con vaporización/explosión de vapor, hidrotermólisis, tratamiento de ácido diluido o moderado, alta temperatura, tratamiento a alta presión, irradiación (por ejemplo, irradiación de microondas), o combinaciones de los mismos. En un aspecto, alta presión se refiere a presión en el rango de preferiblemente aproximadamente 100 a aproximadamente 400 psi, por ejemplo, de aproximadamente 150 a aproximadamente 250 psi. En otro aspecto, alta temperatura se refiere a temperaturas en el rango de aproximadamente 100 a aproximadamente 300°C, por ejemplo, de aproximadamente 140 a aproximadamente 200°C. En un aspecto preferido, el pretratamiento mecánico o físico se realiza en un proceso por lote que utiliza un sistema hidrolizador de pistola de vapor que usa alta presión y alta temperatura tal y como se ha definido anteriormente, por ejemplo, un hidrolizador Sunds disponible de Sunds Defibrator AB, Suecia. Los pretratamientos físicos y químicos puede llevarse a cabo consecutivamente o simultáneamente, como se desee.
- 25 [0264] Por consiguiente, en un aspecto preferido, el material celulósico está sujeto a pretratamiento físico (mecánico) o químico, o cualquier combinación de los mismos, para promover la separación y/o liberación de celulosa, hemicelulosa y/o lignina.
- 30 [0265] Pretratamiento biológico: el término "pretratamiento biológico" se refiere a cualquier pretratamiento biológico que promueva la separación y/o liberación de celulosa, hemicelulosa, y/o lignina a partir del material celulósico. Técnicas de pretratamiento biológico pueden incluir la aplicación microorganismos de solubilización de lignina y/o enzimas (véase, por ejemplo, Hsu, T.-A., 1996, Pretreatment of biomass, in Handbook on Bioethanol: Production and Utilization, Wyman, C. E., ed., Taylor & Francis, Washington, DC, 179-212; Ghosh and Singh, 1993, Physicochemical and biological treatments for enzymatic/microbial conversion of cellulosic biomass, Adv. Appl. Microbiol. 39: 295-333; McMillan, J. D., 1994, Pretreating lignocellulosic biomass: a review, in Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production, Himmel, M. E., Baker, J. O., and Overend, R. P., eds., ACS Symposium Series 566, American Chemical Society, Washington, DC, chapter 15; Gong, C. S., Cao, N. J., Du, J., and Tsao, G. T., 1999, Ethanol production from renewable resources, in Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, Scheper, T., ed., Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, 65: 207- 241; Olsson and Hahn-Hagerdal, 1996, Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production, Enz. Microb. Tech. 18: 312-331; and Vallander and Eriksson, 1990, Production of ethanol from lignocellulosic materials: State of the art, Adv. Biochem. Eng./Biotechnol. 42: 63-95).
- 35 [0266] Sacarificación. En la etapa de hidrólisis, también conocida como sacarificación, el material celulósico, por ejemplo, pretratado, se hidroliza para descomponer celulosa y/o hemicelulosa en azúcares fermentables, tal como glucosa, celobiosa, xilosa, xilulosa, arabinosa, manosa, galactosa y/o oligosacáridos solubles. La hidrólisis se realiza enzimáticamente por una composición enzimática en presencia de una variante de la presente invención. Los componentes de las composiciones se pueden adicionar simultáneamente o consecutivamente.
- 40 [0267] La hidrólisis enzimática se realiza preferiblemente en un ambiente acuoso adecuado bajo condiciones que pueden ser fácilmente determinadas por un experto en la materia. En un aspecto, la hidrólisis se realiza bajo condiciones adecuadas para la actividad de los componentes enzimáticos, es decir, óptimas para los componentes enzimáticos. La hidrólisis puede llevarse a cabo como un proceso lote alimentado o continuo donde el material celulósico se alimenta gradualmente a, por ejemplo, una solución de hidrólisis que contiene enzima.
- 45 [0268] La sacarificación se realiza generalmente en reactores de tanque agitado o fermentadores bajo pH controlado, temperatura y condiciones de mezcla. El tiempo de proceso adecuado, la temperatura y las condiciones de pH pueden determinarse fácilmente por un experto en la técnica. Por ejemplo, la sacarificación puede durar hasta 200 horas, pero se realiza típicamente durante preferiblemente de aproximadamente 12 a aproximadamente 120 horas, por ejemplo, de aproximadamente 16 a aproximadamente 72 horas o de aproximadamente 24 a aproximadamente 48 horas. La
- 50
- 55
- 60
- 65

temperatura está en el rango de preferiblemente aproximadamente 25°C a aproximadamente 70°C, por ejemplo, de aproximadamente 30°C a aproximadamente 65°C, de aproximadamente 40°C a aproximadamente 60°C o de aproximadamente 50°C a aproximadamente 55°C. El pH está en el rango de preferiblemente aproximadamente 3 a aproximadamente 8, por ejemplo, de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 7, de aproximadamente 4 a aproximadamente 6, o de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 5,5. El contenido de sustancias secas está en el rango de preferiblemente aproximadamente 5 a aproximadamente 50 % en peso, por ejemplo, de aproximadamente 10 a aproximadamente 40 % en peso o de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 % en peso.

[0269] Las composiciones enzimáticas pueden comprender cualquier proteína útil para degradar el material celulósico.

[0270] La composición enzimática puede comprender o puede comprender además una o más (por ejemplo, varias) proteínas seleccionadas del grupo que consiste en una celulasa, un polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico, una hemicelulasa, una esterasa, una expansina, una lacasa, una enzima ligninolítica, una pectinasa, una peroxidasa, una proteasa y una swollenin. En la celulasa puede haber preferiblemente una o más (por ejemplo, varias) enzimas seleccionadas del grupo que consiste en una endoglucanasa, una celobiohidrolasa y una beta-glucosidasa. La hemicelulasa puede ser preferiblemente una o más (por ejemplo, varias) enzimas seleccionadas del grupo que consiste en una acetilmanano esterasa, una acetilxilano esterasa, una arabinanasa, una arabinofuranosidasa, una esterasa de ácido cumárico, una feruloil esterasa, una galactosidasa, una glucuronidasa, una glucuronoil esterasa, una mananasa, una manosidasa, una xilanasa y una xilosidasa.

[0271] La composición enzimática puede comprender una o más (por ejemplo, varias) enzimas celulolíticas. La composición enzimática puede comprender o puede comprender además una o más (por ejemplo, varias) enzimas hemicelulolíticas. La composición enzimática puede comprender una o más (por ejemplo, varias) enzimas celulolíticas y una o más (por ejemplo, varias) enzimas hemicelulolíticas. La composición enzimática puede comprender una o más (por ejemplo, varias) enzimas seleccionadas del grupo de enzimas celulolíticas y enzimas hemicelulolíticas. La composición enzimática puede comprender una endoglucanasa. La composición enzimática puede comprender una celobiohidrolasa. La composición enzimática puede comprender una beta-glucosidasa. La composición enzimática puede comprender un polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico. La composición enzimática puede comprender una endoglucanasa y un polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico. La composición enzimática puede comprender una celobiohidrolasa y un polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico. La composición enzimática puede comprender una beta-glucosidasa y un polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico. La composición enzimática puede comprender una endoglucanasa y una celobiohidrolasa. La composición enzimática puede comprender una endoglucanasa y una beta-glucosidasa. La composición enzimática puede comprender una celobiohidrolasa y una beta-glucosidasa. La composición enzimática puede comprender una endoglucanasa, una celobiohidrolasa y un polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico. La composición enzimática puede comprender una endoglucanasa, una beta-glucosidasa y un polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico. La composición enzimática puede comprender una celobiohidrolasa, una beta-glucosidasa y un polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico. La composición enzimática puede comprender una endoglucanasa, una celobiohidrolasa y una beta-glucosidasa. La composición enzimática puede comprender una endoglucanasa, una celobiohidrolasa, una beta-glucosidasa y un polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico.

[0272] La composición enzimática puede comprender una acetilmanano esterasa. La composición enzimática puede comprender una acetilxilano esterasa. La composición enzimática puede comprender una arabinanasa (por ejemplo, alfa-L-arabinanasa). La composición enzimática puede comprender una arabinofuranosidasa (por ejemplo, alfa-L-arabinofuranosidasa). La composición enzimática puede comprender una esterasa de ácido cumárico. La composición enzimática puede comprender una feruloil esterasa. La composición enzimática puede comprender una galactosidasa (por ejemplo, alfa-galactosidasa y/o beta-galactosidasa). La composición enzimática puede comprender una glucuronidasa (por ejemplo, alpha-D-glucuronidasa). La composición enzimática puede comprender una glucuronoil esterasa. La composición enzimática puede comprender una mananasa. La composición enzimática puede comprender una manosidasa (por ejemplo, beta-manosidasa). La composición enzimática puede comprender una xilanasa. La xilanasa puede ser una xilanasa de la familia 10. La composición enzimática puede comprender una xilosidasa (por ejemplo, beta-xilosidasa).

[0273] La composición enzimática puede comprender una esterasa. La composición enzimática puede comprender una expansina. La composición enzimática puede comprender una lacasa. La composición enzimática puede comprender una enzima ligninolítica. La enzima ligninolítica puede ser una manganeso peroxidasa. La enzima ligninolítica puede ser una lignina peroxidasa. La enzima ligninolítica puede ser una enzima productora de H₂O₂. La composición enzimática puede comprender una pectinasa. La composición enzimática puede comprender una peroxidasa. La composición enzimática puede comprender una proteasa. La composición enzimática puede comprender una swollenin.

[0274] En los métodos aquí descritos, la(s) enzima(s) se puede(n) adicionar antes o durante la sacarificación, la sacarificación y la fermentación o la fermentación.

[0275] Uno o más (por ejemplo, varios) componentes de la composición enzimática pueden ser proteínas de tipo salvaje, proteínas recombinantes o una combinación de proteínas de tipo salvaje y proteínas recombinantes. Por ejemplo, uno o más (por ejemplo, varios) componentes pueden ser proteínas nativas de una célula, que se usan como

una célula huésped para expresar de forma recombinante uno o más (por ejemplo, varios) otros componentes de la composición enzimática. Uno o más (por ejemplo, varios) componentes de la composición enzimática se pueden producir como monocomponentes, que luego se combinan para formar la composición enzimática. La composición enzimática puede ser una combinación de preparaciones de proteína de varios componentes y monocomponente.

[0276] Las enzimas usadas en los métodos de la presente invención pueden ser en cualquier forma adecuada para su uso, tal como, por ejemplo, una formulación de caldo de fermentación o una composición celular, un lisato celular con o sin detrito celular, una preparación enzimática semi purificada o purificada o una célula huésped como fuente de las enzimas. La composición enzimática puede ser un polvo seco o granulado, un granulado no pulverulento, un líquido, un líquido estabilizado o una enzima protegida estabilizada. Las preparaciones enzimáticas líquidas se puede estabilizar, por ejemplo, añadiendo estabilizadores tales como un azúcar, un alcohol de azúcar u otro poliol y/o ácido láctico u otro ácido orgánico según procesos establecidos.

[0277] Las cantidades óptimas de las enzimas y una variante de la presente invención dependen de diferentes factores incluyendo, pero no limitados a, la mezcla de componentes enzimáticos celulolíticos y/o hemicelulolíticos, el sustrato celulósico, la concentración de sustrato celulósico, el(los) pretratamiento(s) del sustrato celulósico, temperatura, tiempo, pH e inclusión del organismo fermentador (por ejemplo, levadura para sacarificación y fermentación simultáneas).

[0278] Una cantidad eficaz de proteína enzimática celulolítica o hemicelulolítica para material celulósico puede ser aproximadamente 0,5 a aproximadamente 50 mg, preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 40 mg, más preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 25 mg, más preferiblemente de aproximadamente 0,75 a aproximadamente 20 mg, más preferiblemente de aproximadamente 0,75 a aproximadamente 15 mg, aún más preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 10 mg y de la forma más preferible de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 10 mg por g de material celulósico.

[0279] Una cantidad eficaz de una variante que tiene actividad de beta-glucosidasa para material celulósico puede ser de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50,0 mg, preferiblemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 40 mg, más preferiblemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 mg, más preferiblemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 mg, más preferiblemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg, más preferiblemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg, más preferiblemente de aproximadamente 0,025 a aproximadamente 1,5 mg, más preferiblemente de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 1,25 mg, más preferiblemente de aproximadamente 0,075 a aproximadamente 1,25 mg, más preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1,25 mg, aún más preferiblemente de aproximadamente 0,15 a aproximadamente 1,25 mg y de la forma más preferible de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 1,0 mg por g de material celulósico.

[0280] Una cantidad eficaz de una variante que tiene actividad de beta-glucosidasa para proteína enzimática celulolítica puede ser de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 1,0 g, preferiblemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1,0 g, más preferiblemente de aproximadamente 0,15 a aproximadamente 0,75 g, más preferiblemente de aproximadamente 0,15 a aproximadamente 0,5 g, más preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,5 g, aún más preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,5 g y de la forma más preferible de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,2 g por g de proteína enzimática celulolítica.

[0281] Los polipéptidos que tienen actividad enzimática celulolítica o actividad enzimática hemicelulolítica al igual que otras proteínas/polipéptidos útiles en la degradación del material celulósico, por ejemplo, polipéptidos GH61 que tienen actividad de aumento celulolítico (colectivamente de ahora en adelante "polipéptidos que tienen actividad enzimática") se pueden derivar u obtener a partir de cualquier origen adecuado, incluyendo origen bacteriano, fúngico, de levadura, vegetal o mamífero. El término "obtenido" también se refiere aquí a que la enzima se pueden producir de forma recombinante en un organismo huésped utilizando métodos descritos en la presente, donde la enzima producida de forma recombinante es bien nativa o foránea del organismo huésped o tiene una secuencia de aminoácidos modificada, por ejemplo, que tienen uno o más (por ejemplo, varios) aminoácidos que están eliminados, insertados y/o sustituidos, es decir, una enzima producida de manera recombinante que es un mutante y/o un fragmento de una secuencia de aminoácidos nativa o una enzima producida por procesos de redistribución de ácido nucleico conocidos en la técnica. Abarcado dentro del significado de una enzima nativa están las variantes naturales y dentro del significado de una enzima foránea están las variantes de obtenidas de manera recombinante, tal como por mutagénesis dirigida al sitio o redistribución.

[0282] Un polipéptido que tiene actividad enzimática puede ser un polipéptido bacteriano. Por ejemplo, el polipéptido puede ser un polipéptido bacteriano gram positivo tal como un polipéptido de *Bacillus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Clostridium*, *Geobacillus*, *Caldicellulosiruptor*, *Acidothermus*, *Thermobifidia* o *Oceanobacillus* que tiene actividad enzimática, o un polipéptido bacteriano Gram negativo tal como un polipéptido de *E. coli*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Flavobacterium*, *Fusobacterium*, *Ilyobacter*, *Neisseria* o *Ureaplasma* que tiene actividad enzimática.

[0283] El polipéptido puede ser un polipéptido de *Bacillus alkalophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus brevis*, *Bacillus circulans*, *Bacillus clausii*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus firmus*, *Bacillus lautus*, *Bacillus lentus*, *Bacillus*

licheniformis, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis* o *Bacillus thuringiensis* que tiene actividad enzimática.

5 [0284] El polipéptido puede ser un polipéptido de *Streptococcus equisimilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus uberis* o *Streptococcus equi subesp. Zooepidemicus* que tiene actividad enzimática.

[0285] El polipéptido pueden ser un polipéptido de *Streptomyces achromogenes*, *Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces coelicolor*, *Streptomyces griseus* o *Streptomyces lividans* que tiene actividad enzimática.

10 [0286] El polipéptido que tiene actividad enzimática también puede ser un polipéptido fúngico y más preferiblemente un polipéptido de levadura tal como un polipéptido de *Candida*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* o *Yarrowia* que tiene actividad enzimática; o más preferiblemente un polipéptido fúngico filamentoso tal como un polipéptido de *Acremonium*, *Agaricus*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Botryosphaeria*,
15 *Ceriporiopsis*, *Chaetomidium*, *Chrysosporium*, *Claviceps*, *Cochliobolus*, *Coprinopsis*, *Coptotermes*, *Corynascus*, *Cryphonectria*, *Cryptococcus*, *Diplodia*, *Exidia*, *Filibasidium*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Holomastigotoides*, *Humicola*, *Irpex*, *Lentinula*, *Leptosphaeria*, *Magnaporthe*, *Melanocarpus*, *Meripilus*, *Mucor*, *Myceliophthora*, *Neocallimastix*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phanerochaete*, *Piromyces*, *Poitrasia*, *Pseudoplectania*, *Pseudotrichonympha*, *Rhizomucor*, *Schizophyllum*, *Scytalidium*, *Talaromyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, *Tolypocladium*, *Trichoderma*, *Trichophaea*, *Verticillium*, *Volvariella* o *Xylaria* que tiene actividad enzimática.

20 [0287] El polipéptido puede ser un polipéptido de *Saccharomyces carisbergensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces diastaticus*, *Saccharomyces douglasii*, *Saccharomyces kluyveri*, *Saccharomyces norbensis* o *Saccharomyces oviformis* que tiene actividad enzimática.

25 [0288] El polipéptido puede ser un polipéptido de *Acremonium cellulolyticus*, *Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus foetidus*, *Aspergillus japonicus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Chrysosporium keratinophilum*, *Chrysosporium lucknowense*, *Chrysosporium tropicum*, *Chrysosporium merdarium*, *Chrysosporium inops*, *Chrysosporium pannicola*, *Chrysosporium queenslandicum*, *Chrysosporium zonatum*, *Fusarium bactridioides*, *Fusarium cerealis*, *Fusarium crookwellense*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*,
30 *Fusarium graminum*, *Fusarium heterosporum*, *Fusarium negundi*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium reticulatum*, *Fusarium roseum*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium sarcochromum*, *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium sulphureum*, *Fusarium torulosum*, *Fusarium trichothecioides*, *Fusarium venenatum*, *Humicola grisea*, *Humicola insolens*, *Humicola lanuginosa*, *Irpex lacteus*, *Mucor miehei*, *Myceliophthora thermophila*, *Neurospora crassa*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium purpurogenum*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Thielavia achromatica*, *Thielavia albomyces*, *Thielavia albopilosa*,
35 *Thielavia australeinsis*, *Thielavia fimeti*, *Thielavia microspora*, *Thielavia ovispora*, *Thielavia peruviana*, *Thielavia spededonium*, *Thielavia setosa*, *Thielavia subthermophila*, *Thielavia terrestris*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride* o *Trichophaea saccata* que tiene actividad enzimática.

40 [0289] Mutantes químicamente modificados o creados genéticamente a partir de proteína de polipéptidos que tienen actividad enzimática también se pueden usar.

[0290] Uno o más (por ejemplo, varios) componentes de la composición enzimática pueden ser un componente recombinante, es decir, producido por clonación de una secuencia de ADN que codifica del componente único y célula subsecuente transformada con la secuencia de ADN y expresada en un huésped (véase, por ejemplo, WO 91/17243 y WO 91/17244).

El huésped es preferiblemente un huésped heterólogo (la enzima es foránea del huésped), pero el huésped puede ser también, bajo ciertas condiciones, un huésped homólogo (la enzima es nativo del huésped).

50 Proteínas celulolíticas monocomponentes también se pueden preparar purificando tal proteína a partir de un caldo de fermentación.

[0291] Una o más (por ejemplo, varias) enzimas celulolíticas pueden comprender una preparación enzimática celulolítica comercial. Ejemplos de preparaciones enzimáticas celulolíticas comerciales adecuadas para su uso en la presente invención incluyen, por ejemplo, CELLIC® CTec (Novozymes A/S), CELLIC® CTec2 (Novozymes A/S),
55 CELLUCLAST™ (Novozymes A/S), NOVOZYM™ 188 (Novozymes A/S), CELLUZYME™ (Novozymes A/S), CEREFLO™ (Novozymes A/S), and ULTRAFLO™ (Novozymes A/S), ACCELERASE™ (Genencor Int.), LAMINEX™ (Genencor Int.), SPEZYME™ CP (Genencor Int.), FILTRASE® NL (DSM); METHAPLUS® S/L 100 (DSM), ROHAMENT™ 7069 W (Röhm GmbH), FIBREZYME® LDI (Dyadic International, Inc.), FIBREZYME® LBR (Dyadic International, Inc.) o VISCOSTAR® 150L (Dyadic International, Inc.). Las enzimas de celulasa se agregan en cantidades efectivas de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 5,0 % en peso de sólidos, por ejemplo, de aproximadamente 0,025 a aproximadamente 4,0 % en peso de sólidos o de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 2,0 % en peso de sólidos.

60 [0292] Ejemplos de endoglucanasas bacterianas que se pueden usar en los métodos de la presente invención, incluyen, pero de forma no limitativa, una endoglucanasa de *Acidothermus cellulolyticus* (WO 91/05039; WO 93/15186; patente de

EE.UU. nº 5.275.944; WO 96/02551; patente de EE.UU. nº 5.536.655, WO 00/70031, WO 05/093050); endoglucanasa III de *Thermobifida fusca* (WO 05/093050); y endoglucanasa V de *Thermobifida fusca* (WO 05/093050).

[0293] Ejemplos de endoglucanasas fúngicas que se pueden usar en la presente invención incluyen, pero de forma no limitativa, una endoglucanasa I de *Trichoderma reesei* (Penttila *et al.*, 1986, Gene 45: 253-263; endoglucanasa I de *Trichoderma reesei* Cel7B; número de registro de GENBANK™ M15665; SEC ID nº: 4); endoglucanasa II de *Trichoderma reesei* (Saloheimo, *et al.*, 1988, Gene 63:11-22; endoglucanasa II de *Trichoderma reesei* Cel5A; número de registro de GENBANK™ M19373; SEC ID nº: 6) endoglucanasa III de *Trichoderma reesei* (Okada *et al.*, 1988, Appl. Environ. Microbiol. 64: 555-563; número de registro de GENBANK™ AB003694; SEC ID nº: 8) endoglucanasa V de *Trichoderma reesei* (Saloheimo *et al.*, 1994, Molecular Microbiology 13: 219-228; número de registro de GENBANK™ Z33381; SEC ID nº: 10) endoglucanasa de *Aspergillus aculeatus* (Ooi *et al.*, 1990, Nucleic Acids Research 18: 5884); endoglucanasa de *Aspergillus kawachii* (Sakamoto *et al.*, 1995, Current Genetics 27: 435-439); endoglucanasa de *Erwinia carotovora* (Saarilahti *et al.*, 1990, Gene 90: 9-14); endoglucanasa de *Fusarium oxysporum* (número de registro de GENBANK™ L29381); endoglucanasa de *Humicola grisea var. thermoidea* (número de registro de GENBANK™ AB003107); endoglucanasa de *Melanocarpus albomyces* (número de registro de GENBANK™ MAL515703); endoglucanasa de *Neurospora crassa* (número de registro de GENBANK™ XM 324477); endoglucanasa V de *Humicola insolens* (SEC ID nº: 12); endoglucanasa de *Myceliophthora thermophila* CBS 117.65 (SEC ID nº: 14); endoglucanasa de basidiomiceto CBS 495.95 (SEC ID nº: 16); endoglucanasa de basidiomiceto CBS 494.95 (SEC ID nº: 18); endoglucanasa de *Thielavia terrestris* NRRL 8126 CEL6B (SEC ID nº: 20); endoglucanasa de *Thielavia terrestris* NRRL 8126 CEL6C (SEC ID nº: 22); endoglucanasa de *Thielavia terrestris* NRRL 8126 CEL7A (SEC ID nº: 24); endoglucanasa de *Thielavia terrestris* NRRL 8126 CEL7E (SEC ID nº: 26); endoglucanasa de *Thielavia terrestris* NRRL 8126 CEL7F (SEC ID nº: 28); endoglucanasa de *Cladorrhinum foecundissimum* ATCC 62373 CEL7A (SEC ID nº: 30); y cepa de endoglucanasa de *Trichoderma reesei* nº VTT-D-80133 (SEC ID nº: 32; número de registro de GENBANK™ M15665). Las endoglucanasas de SEC ID nº: 4, SEC ID nº: 6, SEC ID nº: 8, SEC ID nº: 10, SEC ID nº: 12, SEC ID nº: 14, SEC ID nº: 16, SEC ID nº: 18, SEC ID nº: 20, SEC ID nº: 22, SEC ID nº: 24, SEC ID nº: 26, SEC ID nº: 28, SEC ID nº: 30 y SEC ID nº: 32, anteriormente descritas son codificadas por la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 3, SEC ID nº: 5, SEC ID nº: 7, SEC ID nº: 9, SEC ID nº: 11, SEC ID nº: 13, SEC ID nº: 15, SEC ID nº: 17, SEC ID nº: 19, SEC ID nº: 21, SEC ID nº: 23, SEC ID nº: 25, SEC ID nº: 27, SEC ID nº: 29 y SEC ID nº: 31, respectivamente.

[0294] Ejemplos de celobiohidrolasas útiles en la presente invención incluyen, pero de forma no limitativa, celobiohidrolasa I de *Trichoderma reesei* (SEC ID nº: 34); celobiohidrolasa II de *Trichoderma reesei* (SEC ID nº: 36); celobiohidrolasa I de *Humicola insolens* (SEC ID nº: 38); celobiohidrolasa II de *Myceliophthora thermophila* (SEC ID nº: 40 y SEC ID nº: 42); celobiohidrolasa II de *Thielavia terrestris* (CEL6A) (SEC ID nº: 44); celobiohidrolasa I de *Chaetomium thermophilum* (SEC ID nº: 46); y celobiohidrolasa II *Chaetomium thermophilum* (SEC ID nº: 48), celobiohidrolasa I de *Aspergillus fumigatus* (SEC ID nº: 50) y celobiohidrolasa II de *Aspergillus fumigatus* (SEC ID nº: 52). Las celobiohidrolasas de SEC ID nº: 34, SEC ID nº: 36, SEC ID nº: 38, SEC ID nº: 40, SEC ID nº: 42, SEC ID nº: 44, SEC ID nº: 46, SEC ID nº: 48, SEC ID nº: 50 y SEC ID nº: 52, anteriormente descritas son codificadas por la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 33, SEC ID nº: 35, SEC ID nº: 37, SEC ID nº: 39, SEC ID nº: 41, SEC ID nº: 43, SEC ID nº: 45, SEC ID nº: 47, SEC ID nº: 49 y SEC ID nº: 51, respectivamente.

[0295] Ejemplos de beta-glucosidasas útiles en la presente invención incluyen, pero de forma no limitativa, beta-glucosidasa de *Aspergillus fumigatus* (SEC ID nº: 2); beta-glucosidasa de *Aspergillus oryzae* (SEC ID nº: 54); beta-glucosidasa de *Penicillium brasilianum* IBT 20888 (SEC ID nº: 56); beta-glucosidasa de *Aspergillus niger* (SEC ID nº: 58); y beta-glucosidasa de *Aspergillus aculeatus* (SEC ID nº: 60). Las beta-glucosidasas de SEC ID nº: 2, SEC ID nº: 54, SEC ID nº: 58 y SEC ID nº: 60, anteriormente descritas son codificadas por la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2, SEC ID nº: 53, SEC ID nº: 55, SEC ID nº: 57 y SEC ID nº: 59, respectivamente.

[0296] Ejemplos de otras beta-glucosidasas útiles en la presente invención incluyen una proteína de fusión variante de la beta-glucosidasa de *Aspergillus oryzae* de SEC ID nº: 62 o la proteína de fusión de la beta-glucosidasa de *Aspergillus oryzae* de SEC ID nº: 64. Las proteínas de fusión de beta-glucosidasa de SEC ID nº: 122 y SEC ID nº: 124 son codificadas por SEC ID nº: 61 y SEC ID nº: 63, respectivamente.

[0297] La beta-glucosidasa de *Aspergillus oryzae* se puede obtener según la WO 2002/095014. La beta-glucosidasa de *Aspergillus fumigatus* se puede obtener según la WO 2005/047499. La beta-glucosidasa de *Penicillium brasilianum* se puede obtener según la WO 2007/019442. La beta-glucosidasa de *Aspergillus niger* puede se puede obtener según Dan *et al.*, 2000, J. Biol. Chem. 275: 4973-4980. La beta-glucosidasa de *Aspergillus aculeatus* se puede obtener según Kawaguchi *et al.*, 1996, Gene 173: 287-288.

[0298] Otras endoglucanasas útiles, celobiohidrolasas y beta-glucosidasas se divulgan en numerosas familias de glicosil hidrolasa utilizando la clasificación según Henrissat B., 1991, A classification of glycosyl hydrolases based on amino-acid sequence similarities, Biochem. J. 280: 309-316 y Henrissat B., and Bairoch A., 1996, Updating the sequence-based classification of glycosyl hydrolases, Biochem. J. 316: 695-696.

[0299] Otras enzimas celulolíticas que se pueden usar en la presente invención son descritas en la WO 98/13465, WO 98/015619, WO 98/015633, WO 99/06574, WO 99/10481, WO 99/025847, WO 99/031255, WO 2002/101078, WO 2003/027306, WO 2003/052054, WO 2003/052055, WO 2003/052056, WO 2003/052057, WO 2003/052118, WO

2004/016760, WO 2004/043980, WO 2004/048592, WO 2005/001065, WO 2005/028636, WO 2005/093050, WO 2005/093073, WO 2006/074005, WO 2006/117432, WO 2007/071818, WO 2007/071820, WO 2008/008070, WO 2008/008793, patente de EE.UU. nº 5.457.046, patente de EE.UU. nº 5.648.263 y patente de EE.UU. nº 5.686.593.

5 [0300] En los métodos de la presente invención, cualquier polipéptido GH61 que tenga actividad de aumento celulolítico se puede usar.

[0301] El polipéptido GH61 que tiene actividad de aumento celulolítico puede comprender los siguientes motivos:

10 [ILMV]-P-X(4,5)-G-X-Y-[ILMV]-X-R-X-[EQ]-X(4)-[HNQ] (SEC ID nº: 145 o SEC ID nº: 146) y [FW]-[TF]-K-[AIV],

donde X es cualquier aminoácido, X(4,5) es cualquier aminoácido en 4 o 5 posiciones contiguas y X(4) es cualquier aminoácido en 4 posiciones contiguas.

15 [0302] El polipéptido aislado que comprende los motivos mencionados anteriormente puede comprender además:

H-X(1,2)-G-P-X(3)-[YW]-[AILMV] (SEC ID nº: 147 o SEC ID nº: 148),

20 [EQ]-X-Y-X(2)-C-X-[EHQN]-[FILV]-X-[ILV] (SEC ID nº: 149), o

H-X(1,2)-G-P-X(3)-[YW]-[AILMV] (SEC ID nº: 150 o SEC ID nº: 151) y [EQ]-X-Y-X(2)-C-X-[EHQN]-[FILV]-X-[ILV] (SEC ID nº: 152),

25 donde X es cualquier aminoácido, X(1,2) es cualquier aminoácido en 1 posición o 2 posiciones contiguas, X(3) es cualquier aminoácido en 3 posiciones contiguas y X(2) es cualquier aminoácido en 2 posiciones contiguas. En los motivos anteriores, la abreviatura de aminoácido de una sola letra IUPAC aceptada se emplea.

30 [0303] El polipéptido GH61 aislado que tiene actividad de aumento celulolítico puede comprender además H-X(1,2)-G-P-X(3)-[YW]-[AILMV] (SEC ID nº: 153 o SEC ID nº: 154). El polipéptido GH61 aislado que tiene actividad de aumento celulolítico puede comprender además [EQ]-X-Y-X(2)-C-X-[EHQN]-[FILV]-X-[ILV] (SEC ID nº: 155). El polipéptido GH61 aislado que tiene actividad de aumento celulolítico puede comprender además H-X(1,2)-G-P-X(3)-[YW]-[AILMV] (SEC ID nº: 156 o SEC ID nº: 157) y [EQ]-X-Y-X(2)-C-X-[EHQN]-[FILV]-X-[ILV] (SEC ID nº: 158).

35 [0304] Polipéptidos aislados que tienen actividad de aumento celulolítico pueden comprender el siguiente motivo:

[ILMV]-P-X(4,5)-G-X-Y-[ILMV]-X-R-X-[EQ]-X(3)-A-[HNQ] (SEC ID nº: 159 o SEC ID nº: 160),

40 donde X es cualquier aminoácido, X(4,5) es cualquier aminoácido en 4 o 5 posiciones contiguas y X(3) es cualquier aminoácido en 3 posiciones contiguas. En el motivo anterior, la abreviatura de aminoácido de una sola letra IUPAC aceptada se emplea.

45 [0305] El polipéptido GH61 que tiene actividad de aumento celulolítico puede comprender una secuencia de aminoácidos que tiene un grado de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEC ID nº: 66, SEC ID nº: 68, SEC ID nº: 70, SEC ID nº: 72, SEC ID nº: 74, SEC ID nº: 76, SEC ID nº: 78, SEC ID nº: 80, SEC ID nº: 82, SEC ID nº: 84, SEC ID nº: 86, SEC ID nº: 88, SEC ID nº: 90, SEC ID nº: 92, SEC ID nº: 94, SEC ID nº: 96, SEC ID nº: 98, SEC ID nº: 100, SEC ID nº: 102, SEC ID nº: 104, SEC ID nº: 106, SEC ID nº: 108, SEC ID nº: 110, SEC ID nº: 112, SEC ID nº: 114, SEC ID nº: 116, SEC ID nº: 118, SEC ID nº: 120, SEC ID nº: 122, SEC ID nº: 124, SEC ID nº: 126 o SEC ID nº: 128 de al menos 60%, por ejemplo, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, o al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o al menos 100%.

55 [0306] El polipéptido GH61 que tiene actividad de aumento celulolítico puede ser codificado por un polinucleótido que hibridice bajo al menos condiciones de astringencia muy bajas, preferiblemente al menos condiciones de astringencia bajas, más preferiblemente al menos condiciones de astringencia medias, más preferiblemente al menos condiciones de astringencia medio altas, aún más preferiblemente al menos condiciones de astringencia altas y de la forma más preferible al menos condiciones de astringencia altísimas con (i) la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 65, SEC ID nº: 67, SEC ID nº: 69, SEC ID nº: 71, SEC ID nº: 73, SEC ID nº: 75, SEC ID nº: 77, SEC ID nº: 79, SEC ID nº: 81, SEC ID nº: 83, SEC ID nº: 85, SEC ID nº: 87, SEC ID nº: 89, SEC ID nº: 91, SEC ID nº: 93, SEC ID nº: 95, SEC ID nº: 97, SEC ID nº: 99, SEC ID nº: 101, SEC ID nº: 103, SEC ID nº: 105, SEC ID nº: 107, SEC ID nº: 109, SEC ID nº: 111, SEC ID nº: 113, SEC ID nº: 115, SEC ID nº: 117, SEC ID nº: 119, SEC ID nº: 121, SEC ID nº: 123, SEC ID nº: 125 o SEC ID nº: 127, (ii) la secuencia de ADNc contenida en la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 71, SEC ID nº: 73, SEC ID nº: 75, o SEC ID nº: 79, o la secuencia de ADN genómico que comprende la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 65, SEC ID nº: 67, SEC ID nº: 69, SEC ID nº: 77, SEC ID nº: 81, SEC ID nº: 83, SEC ID nº: 85, SEC ID nº: 87, SEC ID nº: 89, SEC ID nº: 91, SEC ID nº: 93, SEC ID nº: 95, SEC ID nº: 97, SEC ID nº: 99, SEC ID nº: 101, SEC ID nº: 103, SEC ID nº: 105, SEC ID nº: 107, SEC ID nº: 109, SEC ID nº: 111, SEC ID nº: 113, SEC ID nº: 115, SEC ID nº: 117, SEC ID nº: 119, SEC ID nº: 121, SEC ID nº: 123, SEC ID nº: 125, o

SEC ID nº: 127, (iii) una subsecuencia de (i) o (ii), o (iv) una cadena complementaria en toda su longitud de (i); (ii), o (iii) (J. Sambrook, E.F. Fritsch, and T. Maniatus, 1989, *supra*). Una subsecuencia de la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 65, SEC ID nº: 67, SEC ID nº: 69, SEC ID nº: 71, SEC ID nº: 73, SEC ID nº: 75, SEC ID nº: 77, SEC ID nº: 79, SEC ID nº: 81, SEC ID nº: 83, SEC ID nº: 85, SEC ID nº: 87, SEC ID nº: 89, SEC ID nº: 91, SEC ID nº: 93, SEC ID nº: 95, SEC ID nº: 97, SEC ID nº: 99, SEC ID nº: 101, SEC ID nº: 103, SEC ID nº: 105, SEC ID nº: 107, SEC ID nº: 109, SEC ID nº: 111, SEC ID nº: 113, SEC ID nº: 115, SEC ID nº: 117, SEC ID nº: 119, SEC ID nº: 121, SEC ID nº: 123, SEC ID nº: 125 o SEC ID nº: 127 contiene al menos 100 nucleótidos contiguos o preferiblemente al menos 200 nucleótidos contiguos. Además, la subsecuencia puede codificar un fragmento de polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico.

[0307] El polipéptido GH61 que tiene actividad de aumento celulolítico puede ser codificado por un polinucleótido que comprende o consistente en una secuencia de nucleótidos que tiene un grado de identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 65, SEC ID nº: 67, SEC ID nº: 69, SEC ID nº: 71, SEC ID nº: 73, SEC ID nº: 75, SEC ID nº: 77, SEC ID nº: 79, SEC ID nº: 81, SEC ID nº: 83, SEC ID nº: 85, SEC ID nº: 87, SEC ID nº: 89, SEC ID nº: 91, SEC ID nº: 93, SEC ID nº: 95, SEC ID nº: 97, SEC ID nº: 99, SEC ID nº: 101, SEC ID nº: 103, SEC ID nº: 105, SEC ID nº: 107, SEC ID nº: 109, SEC ID nº: 111, SEC ID nº: 113, SEC ID nº: 115, SEC ID nº: 117, SEC ID nº: 119, SEC ID nº: 121, SEC ID nº: 123, SEC ID nº: 125 o SEC ID nº: 127 de preferiblemente al menos 60%, más preferiblemente al menos 65%, más preferiblemente al menos 70%, más preferiblemente al menos 75%, más preferiblemente al menos 80%, más preferiblemente al menos 85%, aún más preferiblemente al menos 90%, de la forma más preferible al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, o al menos 95%, e incluso de la forma más preferible al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o al menos 100%.

[0308] El polipéptido GH61 que tiene actividad de aumento celulolítico puede ser una variante artificial que comprenda una sustitución, eliminación y/o inserción de uno o más (o varios) aminoácidos del polipéptido maduro de SEC ID nº: 66, SEC ID nº: 68, SEC ID nº: 70, SEC ID nº: 72, SEC ID nº: 74, SEC ID nº: 76, SEC ID nº: 78, SEC ID nº: 80, SEC ID nº: 82, SEC ID nº: 84, SEC ID nº: 86, SEC ID nº: 88, SEC ID nº: 90, SEC ID nº: 92, SEC ID nº: 94, SEC ID nº: 96, SEC ID nº: 98, SEC ID nº: 100, SEC ID nº: 102, SEC ID nº: 104, SEC ID nº: 106, SEC ID nº: 108, SEC ID nº: 110, SEC ID nº: 112, SEC ID nº: 114, SEC ID nº: 116, SEC ID nº: 118, SEC ID nº: 120, SEC ID nº: 122, SEC ID nº: 124, SEC ID nº: 126 o SEC ID nº: 128; o una secuencia homóloga de la misma.

[0309] Preferiblemente, los cambios en los aminoácidos son de naturaleza menor, esto es sustituciones de aminoácidos conservadores o inserciones que no afectan significativamente al plegado y/o a la actividad de la proteína; deleciones pequeñas, típicamente de uno a aproximadamente 30 aminoácidos; pequeñas extensiones amino o carboxilo-terminales, tales como un residuo de metionina aminoterminal; un péptido enlazador pequeño de hasta aproximadamente 20-25 residuos; o una extensión pequeña que facilite la purificación por cambio de la carga neta u otra función, tal como un tracto de polihistidina, un epítipo antigénico o un dominio de unión.

[0310] Ejemplos de sustituciones conservadoras están en el grupo de aminoácidos básicos (arginina, lisina e histidina), aminoácidos ácidos (ácido glutámico y ácido aspártico), aminoácidos polares (glutamina y asparagina), aminoácidos hidrofóbicos (leucina, isoleucina y valina), aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina) y aminoácidos pequeños (glicina, alanina, serina, treonina y metionina). Sustituciones de aminoácidos que en general no alteran la actividad específica se conocen en la técnica y son descritos, por ejemplo, por H. Neurath y R.L. Hill, 1979, In, *The Proteins*, Academic Press, Nueva York. Los intercambios que más frecuentemente se producen son Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu y Asp/Gly.

[0311] Alternativamente, los cambios en los aminoácidos son de tal naturaleza que las propiedades físico químicas de los polipéptidos son alteradas. Por ejemplo, los cambios en los aminoácidos pueden mejorar la termoestabilidad del polipéptido, alterar la especificidad de sustrato, cambiar el pH óptimo y similares.

[0312] Aminoácidos esenciales en un polipéptido original se pueden identificar según procedimientos conocidos en la técnica, tales como mutagénesis dirigida al sitio o mutagénesis de escaneado de alanina (Cunningham and Wells, 1989, *Science* 244: 1081-1085). En la última técnica, mutaciones de alanina únicas se introducen en cada residuo de la molécula y las moléculas mutantes resultantes se evalúan para actividad de aumento celulolítico para identificar residuos de aminoácidos que sean críticos para la actividad de la molécula. Véase también, Hilton *et al.*, 1996, *J. Biol. Chem.* 271: 4699-4708. El sitio activo de la enzima u otra interacción biológica se puede determinar también por análisis físico de estructura, tal y como se determina por técnicas tales como resonancia magnética nuclear, cristalografía, difracción electrónica, o marcaje por fotoafinidad, junto con mutación de aminoácidos de sitio de contacto putativo. Véase, por ejemplo, de Vos *et al.*, 1992, *Science* 255: 306-312; Smith *et al.*, 1992, *J. Mol. Biol.* 224: 899-904; Wlodaver *et al.*, 1992, *FEBS Lett.* 309: 59-64. Las identidades de aminoácidos esenciales también pueden ser inferidas de análisis de identidades con polipéptidos que estén relacionados con el polipéptido original.

[0313] Sustituciones de aminoácidos únicas o múltiples, deleciones y/o inserciones se pueden hacer y evaluar usando métodos conocidos de mutagénesis, recombinación y/o redistribución, seguidos de un procedimiento de selección pertinente, tal como los descritos por Reidhaar-Olson and Sauer, 1988, *Science* 241: 53-57; Bowie and Sauer, 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 2152-2156; WO 95/17413; o WO 95/22625. Otros métodos que se pueden usar incluyen

PCR con tendencia al error, presentación en fagos (por ejemplo, Lowman *et al.*, 1991, *Biochemistry* 30: 10832-10837; patente de EE.UU. n° 5.223.409; WO 92/06204) y mutagénesis dirigida a la región (Derbyshire *et al.*, 1986, *Gene* 46: 145; Ner *et al.*, 1988, *DNA* 7: 127).

5 [0314] Métodos de mutagénesis/redistribución se pueden combinar con métodos de selección automatizados de alto rendimiento para detectar actividad de polipéptidos mutagenizados clonados expresados por células huésped (Ness *et al.*, 1999, *Nature Biotechnology* 17: 893-896). Moléculas de ADN mutagenizadas que codifican polipéptidos activos se pueden recuperar a partir de las células huésped y secuenciar rápidamente utilizando métodos estándar en la técnica. Estos métodos permiten la determinación rápida de la importancia de residuos de aminoácidos individuales en un polipéptido.

10 [0315] El número total de sustituciones de aminoácidos, deleciones y/o inserciones del polipéptido maduro de SEC ID n°: 66, SEC ID n°: 68, SEC ID n°: 70, SEC ID n°: 72, SEC ID n°: 74, SEC ID n°: 76, SEC ID n°: 78, SEC ID n°: 80, SEC ID n°: 82, SEC ID n°: 84, SEC ID n°: 86, SEC ID n°: 88, SEC ID n°: 90, SEC ID n°: 92, SEC ID n°: 94, SEC ID n°: 96, SEC ID n°: 98, SEC ID n°: 100, SEC ID n°: 102, SEC ID n°: 104, SEC ID n°: 106, SEC ID n°: 108, SEC ID n°: 110, SEC ID n°: 112, SEC ID n°: 114, SEC ID n°: 116, SEC ID n°: 118, SEC ID n°: 120, SEC ID n°: 122, SEC ID n°: 124, SEC ID n°: 126 o SEC ID n°: 128 no es más de 4, por ejemplo, 1, 2, 3 o 4.

15 [0316] El polipéptido GH61 que tiene actividad de aumento celulolítico se puede usar en presencia de un catión metálico bivalente de activación soluble según la WO 2008/151043, por ejemplo, sulfato de manganeso.

20 [0317] El polipéptido GH61 que tiene actividad de aumento celulolítico se puede utilizar en presencia de un compuesto dioxo, un compuesto bicíclico, un compuesto heterocíclico, un compuesto que contiene nitrógeno, un compuesto de quinona, un compuesto que contiene sulfuro o un licor obtenido a partir de un material celulósico pretratado tal como rastrojos de maíz pretratados (PCS).

25 [0318] El compuesto dioxo puede incluir cualquier compuesto adecuado que contenga dos o más átomos de oxígeno. En algunos aspectos, los compuestos dioxo contienen una fracción de arilo sustituido como se describe en este caso. Los compuestos dioxo pueden comprender uno o más (por ejemplo, varios) hidroxilo y/o derivados de hidroxilo, pero también incluir fracciones de arilo sustituidas carentes de hidroxilo y derivados de hidroxilo. Ejemplos no limitativos de los compuestos dioxo incluyen pirocatecol o catecol; ácido caféico; ácido 3,4- dihidroxibenzoico; 4-tert-butil-5-metoxi-1,2-bencenodiol; pirogalol; ácido gálico; metil-3,4,5- trihidroxibenzoato; 2,3,4-trihidroxibenzofenona; 2,6-dimetoxifenol; ácido sinapínico; ácido 3,5- dihidroxibenzoico; 4-cloro-1,2-bencenodiol; 4-nitro-1,2-bencenodiol; ácido tánico; galato de etilo; glicolato de metilo; ácido dihidroxifumárico; 2-butino-1,4-diol; (ácido crocónico; 1,3-propanodiol; ácido tartárico; 2,4-pentanodiol; 3-etioxi-1,2-propanodiol; 2,4,4'-trihidroxibenzofenona; cis-2-buteno-1,4- diol; 3,4-dihidroxi-3-ciclobuteno-1,2-diona; dihidroxiacetona; acrolein acetal; metil-4- hidroxibenzoato; ácido 4-hidroxibenzoico; y metil-3,5-dimetoxi-4-hidroxibenzoato; o una sal o solvato derivado.

30 [0319] El compuesto bicíclico puede incluir cualquier sistema anular fusionado sustituido adecuado como se describe en este caso. Los compuestos pueden comprender uno o más (por ejemplo, varios) anillos adicionales y no se limitan a un número específico de anillos a menos que se especifique lo contrario. En un aspecto, el compuesto bicíclico es un flavonoide. En otro aspecto, el compuesto bicíclico es un isoflavonoide opcionalmente sustituido. En otro aspecto, el compuesto bicíclico es un ión de flavilio opcionalmente sustituido, tal como una antocianidina opcionalmente sustituida o antocianina opcionalmente sustituida, o un derivado. Ejemplos no limitativos de los compuestos bicíclicos incluyen epicatequina; quercetina; miricetina; taxifolina; kaempferol; morina; acacetina; naringenina; isoramnetina; apigenina; cianidina; cianina; kuromanina; keracianina; o una sal o solvato derivado.

35 [0320] El compuesto heterocíclico puede ser cualquier compuesto adecuado, tal como un anillo aromático o no aromático opcionalmente sustituido que comprende un heteroátomo, como se describe en este caso. En un aspecto, el heterocíclico es un compuesto que comprende una fracción de heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o una fracción de heteroarilo opcionalmente sustituido. En otro aspecto, la fracción de heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o fracción de heteroarilo opcionalmente sustituido es un heterocicloalquilo opcionalmente sustituido de 5 miembros o una fracción de heteroarilo opcionalmente sustituido de 5 miembros. En otro aspecto, el heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o fracción de heteroarilo opcionalmente sustituido es una fracción opcionalmente sustituida seleccionada de pirazolil, furanil, imidazolil, isoxazolil, oxadiazolil, oxazolil, pirrolil, piridil, pirimidil, piridazinil, tiazolil, triazolil, tienil, dihidrotieno-pirazolil, tianftenil, carbazolil, bencimidazolil, benzotienil, benzofuranil, indolil, quinoleinil, benzotriazolil, benzotiazolil, benzooxazolil, benzimidazolil, isoquinoleinil, isoindolil, acridinil, benzoisazolil, dimetilhidantoina, pirazinil, tetrahidrofuranil, pirrolinil, pirrolidinil, morfínil, indolil, diacepinil, acepinil, tiepinil, piperidinil y oxepinil. En otro aspecto, la fracción de heterocicloalquil opcionalmente sustituido o fracción de heteroaril opcionalmente sustituido es un furanil opcionalmente sustituido. Ejemplos no limitativos de los compuestos heterocíclicos incluyen (1,2-dihidroxietil)-3,4-dihidroxifuran-2(5H)-ona 4-hidroxi-5-metil-3-furanona 5-hidroxi-2(5H)- furanona; [1,2-dihidroxietil]furan-2,3,4(5H)-triona α -hidroxi- γ -butirolactona; γ -lactona ribónica; γ -lactona de ácido aldohexurónico/aldohexurónico; δ -lactona de ácido glucónico; 4-hidroxycumarina; dihidrobenzofurano; 5-(hidroxometil)furfural; furoina; 2(5H)-furanona; 5,6-dihidro-2H-piran-2-ona y 5,6-dihidro-4-hidroxi-6-metil-2H-piran-2-ona; o una sal o solvato derivado.

65

[0321] El compuesto que contiene nitrógeno puede ser cualquier compuesto adecuado con uno o varios átomos de nitrógeno. El compuesto que contiene nitrógeno puede comprender una fracción de amina, imina, hidroxilamina o nitróxido. Ejemplos no limitativos de los compuestos que contienen nitrógeno incluyen oxima de acetona; ácido violúrico; piridina-2-aldoxima; 2-aminofenol; 1,2-bencenodiamina; 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi; 5,6,7,8-tetrahidrobiopterina; 6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidropterina; y ácido maleámico; o una sal o solvato derivado.

[0322] El compuesto de quinona puede ser cualquier compuesto adecuado que comprenda una fracción de quinona como se describe en este caso. Ejemplos no limitativos de los compuestos de quinona incluyen 1,4-benzoquinona; 1,4-naftoquinona; 2-hidroxi-1,4-naftoquinona; 2,3-dimetoxi-5-metil-1,4-benzoquinona o coenzima Q₀, 2,3,5,6-tetrametil-1,4-benzoquinona o duroquinona; 1,4-dihidroxiantraquinona; 3-hidroxi-1-metil-5,6-indolinadiona o adrenocromo; 4-tert-butil-5-metoxi-1,2-benzoquinona; pirroloquinolina quinona; o una sal o solvato derivado.

[0323] El compuesto que contiene sulfuro puede ser cualquier compuesto adecuado que comprenda uno o varios átomos de azufre. El compuesto que contiene sulfuro puede comprender una fracción seleccionada de tionil, tioéter, sulfenil, sulfonil, sulfamida, sulfonamida, ácido sulfónico y éster sulfónico. Ejemplos no limitativos de los compuestos que contienen sulfuro incluyen etanotiol; 2-propanotiol; 2-propeno-1-tiol; ácido 2-mercaptoetanosulfónico; bencenotiol; benceno-1,2-ditioil; cisteína; metionina; glutatona; cistina o una sal o solvato derivado.

[0324] Una cantidad eficaz de tal compuesto anteriormente descrito para material celulósico como una proporción molar para unidades glucosídicas de celulosa pueden ser de aproximadamente 10⁻⁶ a aproximadamente 10, por ejemplo, de aproximadamente 10⁻⁶ a aproximadamente 7,5, de aproximadamente 10⁻⁶ a aproximadamente 5, de aproximadamente 10⁻⁶ a aproximadamente 2,5, de aproximadamente 10⁻⁶ a aproximadamente 1, de aproximadamente 10⁻⁵ a aproximadamente 1, de aproximadamente 10⁻⁵ a aproximadamente 10⁻¹, de aproximadamente 10⁻⁴ a aproximadamente 10⁻¹, de aproximadamente 10⁻³ a aproximadamente 10⁻¹ o de aproximadamente 10⁻³ a aproximadamente 10⁻². Una cantidad eficaz de tal compuesto anteriormente descrito puede ser de aproximadamente 0,1 μM a aproximadamente 1 M, por ejemplo, de aproximadamente 0,5 μM a aproximadamente 0,75 M, de aproximadamente 0,75 μM a aproximadamente 0,5 M, de aproximadamente 1 μM a aproximadamente 0,25 M, de aproximadamente 1 μM a aproximadamente 0,1 M, de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 50 mM, de aproximadamente 10 μM a aproximadamente 25 mM, de aproximadamente 50 μM a aproximadamente 25 mM, de aproximadamente 10 μM a aproximadamente 10 mM, de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 5 mM o de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 1 mM.

[0325] El término "licor" se refiere a la fase soluble, bien acuosa, orgánica o una combinación de las mismas, que surge del tratamiento de una lignocelulosa y/o material de hemicelulosa en un lodo, o monosacáridos de las mismas, por ejemplo, xilosa, arabinosa, manosa, etc., bajo condiciones como se describe en este caso y el contenido soluble de los mismos. Una solución para la mejora celulolítica de un polipéptido GH61 se puede producir por tratamiento de una lignocelulosa o material de hemicelulosa (o materia prima) aplicando calor y/o presión, opcionalmente en presencia de un catalizador, por ejemplo, ácido, opcionalmente en presencia de un solvente orgánico y opcionalmente en combinación con interrupción física del material y luego separando la solución de los sólidos residuales. Tales condiciones determinan el grado de mejora celulolítica obtenible a través de la combinación de licor y un polipéptido GH61 durante la hidrólisis de un sustrato celulósico por una preparación de celulasa. La solución se puede separar del material tratado utilizando un método estándar de la técnica, tal como filtración, sedimentación o centrifugación.

[0326] Una cantidad eficaz de la solución para celulosa puede ser de aproximadamente 10⁻⁶ a aproximadamente 10 g por g de celulosa, por ejemplo, de aproximadamente 10⁻⁶ a aproximadamente 7,5 g, de aproximadamente 10⁻⁶ a aproximadamente 5, de aproximadamente 10⁻⁶ a aproximadamente 2,5 g, de aproximadamente 10⁻⁶ a aproximadamente 1 g, de aproximadamente 10⁻⁵ a aproximadamente 1 g, de aproximadamente 10⁻⁵ a aproximadamente 10⁻¹ g, de aproximadamente 10⁻⁴ a aproximadamente 10⁻¹ g, de aproximadamente 10⁻³ a aproximadamente 10⁻¹ g o de aproximadamente 10⁻³ a aproximadamente 10⁻² g por g de celulosa.

[0327] Una o más (por ejemplo, varias) enzimas hemicelulolíticas pueden comprender una preparación enzimática hemicelulolítica comercial. Ejemplos de preparaciones enzimáticas hemicelulolíticas comerciales adecuadas para su uso en la presente invención incluyen, por ejemplo, SHEARZYME™ (Novozymes A/S), CELLIC® HTec (Novozymes A/S), CELLIC® HTec2 (Novozymes A/S), VISCOZYME® (Novozymes A/S), ULTRAFLO® (Novozymes A/S), PULPZYME® HC (Novozymes A/S), MULTIFECT® Xylanase (Genencor), ACCELLERASE® XY (Genencor), ACCELLERASE® XC (Genencor), ECOPULP® TX-200A (AB Enzymes), HSP 6000 Xylanase (DSM), DEPOL™ 333P (Biocatalysts Limit, Wales, UK), DEPOL™ 740L. (Biocatalysts Limit, Wales, UK) y DEPOL™ 762P (Biocatalysts Limit, Wales, UK).

[0328] Ejemplos de xilanasas útiles en los métodos de la presente invención incluyen, pero de forma no limitativa, xilanasas de *Aspergillus* (GeneSeqP:AAR63790; WO 94/21785), xilanasas de *Aspergillus fumigatus* (WO 2006/078256), *Penicillium pinophilum* (WO 2011/041405), *Penicillium sp.* (WO 2010/126772), *Thielavia terrestris* NRRL 8126 (WO 2009/079210) y *Trichophaea saccata* GH10 (WO 2011/057083).

[0329] Ejemplos de beta-xilosidasas útiles en los métodos de la presente invención incluyen, pero de forma no limitativa, beta-xilosidasa de *Trichoderma reesei* (número de registro de UniProtKB/TrEMBL Q92458), *Talaromyces emersonii* (número de registro de SwissProt Q8X212) y *Neurospora crassa* (número de registro de SwissProt Q7SOW4).

- 5 [0330] Ejemplos de acetilxilano esterasas útiles en los métodos de la presente invención incluyen, pero de forma no limitativa, acetilxilano esterasas de *Aspergillus aculeatus* (WO 2010/108918), *Chaetomium globosum* (número de registro de Uniprot Q2GWX4), *Chaetomium gracile* (número de registro de GeneSeqP AAB82124), *Humicola insolens* DSM 1800 (WO 2009/073709), *Hypocrea jecorina* (WO 2005/001036), *Myceliophthora thermophila* (WO 2010/014880), *Neurospora crassa* (número de registro de UniProt q7s259), *Phaeosphaeria nodorum* (número de registro de Uniprot QOUHJ1) y *Thielavia terrestris* NRRL 8126 (WO 2009/042846).
- 10 [0331] Ejemplos de feruloilo esterasas (esterasas de ácido ferúlico) útiles en los métodos de la presente invención incluyen, pero de forma no limitativa, feruloilo esterasas de *Humicola insolens* DSM 1800 (WO 2009/076122), *Neosartorya fischeri* (número de registro de UniProt A1D9T4), *Neurospora crassa* (número de registro de UniProt Q9HGR3), *Penicillium aurantiogriseum* (WO 2009/127729) y *Thielavia terrestris* (WO 2010/053838 y WO 2010/065448).
- 15 [0332] Ejemplos de arabinofuranosidasas útiles en los métodos de la presente invención incluyen, pero de forma no limitativa, arabinofuranosidasas de *Aspergillus niger* (número de registro de GeneSeqP AAR94170), *Humicola insolens* DSM 1800 (WO 2006/114094 y WO 2009/073383) y *M. giganteus* (WO 2006/114094).
- 20 [0333] Ejemplos de alfa-glucuronidasas útiles en los métodos de la presente invención incluyen, pero de forma no limitativa, alfa-glucuronidasas de *Aspergillus clavatus* (número de registro de UniProt alcc12), *Aspergillus fumigatus* (número de registro de SwissProt Q4WW45), *Aspergillus niger* (número de registro de Uniprot Q96WX9), *Aspergillus terreus* (número de registro de SwissProt QOCJP9), *Humicola insolens* (WO 2010/014706), *Penicillium aurantiogriseum* (WO 2009/068565), *Talaromyces emersonii* (número de registro de UniProt 08X211) y *Trichoderma reesei* (número de registro de Uniprot 099024).
- 25 [0334] Los polipéptidos que tienen actividad enzimática usados en los métodos de la presente invención se pueden producir por fermentación de las cepas microbianas mencionadas anteriormente en un medio nutritivo que contenga fuentes de nitrógeno y carbono adecuadas y sales inorgánicas, utilizando procedimientos conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Bennett, J.W. and LaSure, L. (eds.), *More Gene Manipulations in Fungi*, Academic Press, CA, 1991). Medios adecuados están disponibles de proveedores comerciales o se pueden preparar según composiciones publicadas (por ejemplo, en catálogos de la *American Type Culture Collection*). Rangos de temperatura y otras condiciones adecuadas para el crecimiento y la producción enzimática se conocen en la técnica (véase, por ejemplo, Bailey, J.E., and Ollis, D.F., *Biochemical Engineering Fundamentals*, McGraw-Hill Book Company, NY, 1986).
- 30 [0335] La fermentación puede ser cualquier método de cultivo de una célula que de como resultado la expresión o aislamiento de una enzima o proteína. La fermentación puede, por lo tanto, entenderse como que comprende el cultivo en matraz de agitación, o fermentación a pequeña o gran escala (incluyendo, fermentaciones de lote continuo, lote alimentado o estado sólido) en laboratorio o fermentadores industriales realizadas en un medio adecuado y bajo condiciones que permitan a la enzima ser expresada o aislada. Las enzimas resultantes producidas por los métodos anteriormente descritos se pueden recuperar del medio de fermentación y purificar por procedimientos convencionales.
- 35 [0336] Fermentación. Los azúcares fermentables obtenidos a partir del material celulósico hidrolizado se pueden fermentar por uno o más (por ejemplo, varios) microorganismos de fermentación capaces de fermentar los azúcares directa o indirectamente en un producto de fermentación deseado. "Fermentación" o "proceso de fermentación" se refiere a cualquier proceso de fermentación o cualquier proceso que comprenda un paso de fermentación. Los procesos de fermentación también incluyen procesos de fermentación usados en la industria de alcohol consumible (por ejemplo, cerveza y vino), industria lechera (por ejemplo, productos lácteos fermentados), industria del cuero y la industria del tabaco. Las condiciones de fermentación dependen del producto de fermentación deseado y organismo fermentador y pueden fácilmente ser determinadas por un experto en la técnica.
- 40 [0337] En la etapa de fermentación, azúcares, liberados a partir del material celulósico como resultado del pretratamiento y pasos de hidrólisis enzimática, se fermentan en un producto, por ejemplo, etanol, por un organismo fermentador, tal como levadura. La hidrólisis (sacarificación) y la fermentación pueden ser separadas o simultáneas, como se describe en este caso.
- 45 [0338] Cualquier material celulósico hidrolizado adecuado se puede usar en el paso de fermentación al poner en práctica la presente invención. El material se selecciona en general basado en el producto de fermentación deseado, es decir, la sustancia que se va a obtener de la fermentación y el proceso empleado, como es bien conocido en la técnica.
- 50 [0339] El término "medio de fermentación" se entiende aquí que se refiere a un medio antes de que se añada(n) el(los) microorganismo(s) fermentador(es), tal como, un medio resultante de un proceso de sacarificación, al igual que un medio usado en un proceso de sacarificación y fermentación simultánea (SSF).
- 55 [0340] "Microorganismos fermentador" se refiere a cualquier microorganismo, incluyendo organismos bacterianos y fúngicos, adecuados para su uso en un proceso de fermentación deseado para producir un producto de fermentación. El organismo fermentador puede organismos fermentadores de hexosa y/o pentosa, o una combinación de los mismos. Ambos organismos fermentadores de hexosa y pentosa se conocen en la técnica. Los microorganismos fermentadores
- 60
- 65

adecuados pueden fermentar, es decir, convertir, azúcares, tales como glucosa, xilosa, xilulosa, arabinosa, maltosa, manosa, galactosa, y/o oligosacáridos, directa o indirectamente en el producto de fermentación deseado. Ejemplos de organismos fermentadores bacterianos y fúngicos que producen etanol son descritos por Lin *et al.*, 2006, Appl. Microbiol. Biotechnol. 69: 627-642.

5

[0341] Ejemplos de microorganismos fermentadores que pueden fermentar azúcares de hexosa incluyen organismos bacterianos y fúngicos, tal como levadura. La levadura preferida incluye cepas de *Candida*, *Kluyveromyces* y *Saccharomyces*, por ejemplo, *Candida sonorensis*, *Kluyveromyces marxianus* y *Saccharomyces cerevisiae*.

10

[0342] Ejemplos de organismos fermentadores que pueden fermentar azúcares de pentosa en su estado nativo incluyen organismos bacterianos y fúngicos, tal como algunas levaduras. La levadura fermentadora de xilosa preferida incluye cepas de *Candida*, preferiblemente *C. sheatae* o *C. sonorensis* y cepas de *Pichia*, preferiblemente *P. stipitis*, tal como *P. stipitis* CBS 5773. La levadura fermentadora de pentosa preferida incluye cepas de *Pachysolen*, preferiblemente *P. tannophilus*. Organismos que no pueden fermentar azúcares de pentosa, tal como xilosa y arabinosa, pueden ser genéticamente modificados para que puedan por métodos conocidos en la técnica.

15

[0343] Ejemplos de bacterias que pueden fermentar de forma eficaz hexosa y pentosa en etanol incluyen, por ejemplo, *Bacillus coagulans*, *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium thermocellum*, *Clostridium phytofermentans*, *Geobacillus sp.*, *Thermoanaerobacter saccharolyticum* y *Zymomonas mobilis* (Philippidis, 1996, *supra*).

20

[0344] Otros organismos fermentadores incluyen cepas de *Bacillus*, tal como *Bacillus coagulans*; *Candida*, tal como *C. sonorensis*, *C. methanosorbosa*, *C. diddensiae*, *C. parapsilosis*, *C. naedodendra*, *C. blankii*, *C. entomophila*, *C. brassicae*, *C. pseudotropicalis*, *C. boidinii*, *C. utilis* y *C. scheidtiae*; *Clostridium*, tal como *C. acetobutylicum*, *C. thermocellum* y *C. phytofermentans*; *E. coli*, especialmente cepas de *E. coli* que se han modificado genéticamente para mejorar el rendimiento de etanol; *Geobacillus sp.*; *Hansenula*, tal como *Hansenula anomala*; *Klebsiella*, tal como *K. oxytoca*; *Kluyveromyces*, tal como *K. marxianus*, *K. lactis*, *K. thermotolerans* y *K. fragilis*; *Schizosaccharomyces*, tal como *S. pombe*; *Thermoanaerobacter*, tal como *Thermoanaerobacter saccharolyticum*; y *Zymomonas*, tal como *Zymomonas mobilis*.

25

30

[0345] La levadura puede ser un *Bretannomyces*. La levadura puede ser *Bretannomyces clausenii*. La levadura puede ser una *Candida*. La levadura puede ser *Candida sonorensis*. La levadura puede ser *Candida boidinii*. La levadura puede ser *Candida blankii*. La levadura puede ser *Candida brassicae*. La levadura puede ser *Candida diddensii*. La levadura puede ser *Candida entomophiliia*. La levadura puede ser *Candida pseudotropicalis*. La levadura puede ser *Candida scheidtiae*. La levadura puede ser *Candida utilis*. La levadura puede ser una *Clavispora*. La levadura puede ser *Clavispora lusitaniae*. La levadura puede ser *Clavispora opuntiae*. La levadura puede ser un *Kluyveromyces*. La levadura puede ser *Kluyveromyces fragilis*. La levadura puede ser *Kluyveromyces marxianus*. La levadura puede ser *Kluyveromyces thermotolerans*. La levadura puede ser un *Pachysolen*. La levadura puede ser de *Pachysolen tannophilus*. La levadura puede ser un *Pichia*. La levadura puede ser un *Pichia stipitis*. La levadura puede ser un *Saccharomyces spp.* La levadura puede ser *Saccharomyces cerevisiae*. La levadura puede ser *Saccharomyces distaticus*. La levadura puede ser *Saccharomyces uvarum*.

35

40

[0346] La bacteria puede ser un *Bacillus*. La bacteria puede ser *Bacillus coagulans*. La bacteria puede ser un *Clostridium*. La bacteria puede ser *Clostridium acetobutylicum*. La bacteria puede ser *Clostridium phytofermentans*. La bacteria puede ser *Clostridium thermocellum*. La bacteria puede ser *Geobacillus sp.* La bacteria puede ser un *Thermoanaerobacter*. La bacteria puede ser *Thermoanaerobactersaccharolyticum*. La bacteria puede ser un *Zymomonas*. La bacteria puede ser *Zymomonas mobilis*.

45

[0347] Levadura disponible comercialmente adecuada para la producción de etanol incluye, por ejemplo, BIOFERM™ AFT y XR (NABC - North American Bioproducts Corporation, GA, EE.UU.), levadura ETHANOL RED (Fermentis/Lesaffre; EE.UU.), FALI™ (Fleischmann's Yeast, EE.UU.), FERMIOL™ (DSM Specialties), GERT STRAND™ (Gert Strand AB, Suecia) y levadura fresca de SUPERSTART™ y THERMOSACC™ (Ethanol Technology, WI, EE.UU.).

50

[0348] El microorganismo fermentador puede ser genéticamente modificado para proporcionar la capacidad para fermentar azúcares de pentosa, tal como microorganismos que utilizan xilosa, arabinosa y que co-utilizan xilosa y arabinosa.

55

[0349] La clonación de genes heterólogos en varios microorganismos fermentadores ha llevado a la construcción de organismos capaces de convertir hexosas y pentosas en etanol (co- fermentación) (Chen and Ho, 1993, Cloning and improving the expression of *Pichia stipitis* xylose reductase gene in *Saccharomyces cerevisiae*, Appl. Biochem. Biotechnol. 39-40: 135-147; Ho *et al.*, 1998, Genetically engineered *Saccharomyces* yeast capable of effectively cofermenting glucose and xylose, Appl. Environ. Microbiol. 64: 1852-1859; Kotter and Ciriacy, 1993, Xylose fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*, Appl. Microbiol. Biotechnol. 38: 776-783; Walfridsson *et al.*, 1995, Xylose-metabolizing *Saccharomyces cerevisiae* strains overexpressing the TKL1 and TAL1 genes encoding the pentose phosphate pathway enzymes transketolase and transaldolase, Appl. Environ. Microbiol. 61: 4184-4190; Kuyper *et al.*, 2004, Minimal metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for efficient anaerobic xylose fermentation: a proof of principle,

60

65

5 FEMS Yeast Research 4: 655-664; Beall *et al.*, 1991, Parametric studies of ethanol production from xylose and other sugars by recombinant *Escherichia coli*, Biotech. Bioeng. 38: 296-303; Ingram *et al.*, 1998, Metabolic engineering of bacteria for ethanol production, Biotechnol. Bioeng. 58: 204-214; Zhang *et al.*, 1995, Metabolic engineering of a pentose metabolism pathway in ethanologenic *Zymomonas mobilis*, Science 267: 240-243; Deanda *et al.*, 1996, Development of an arabinose-fermenting *Zymomonas mobilis* strain by metabolic pathway engineering, Appl. Environ. Microbiol. 62: 4465-4470; WO 2003/062430, xylose isomerase).

10 [0350] El microorganismo fermentador genéticamente modificado puede ser *Candida sonorensis*. El microorganismo fermentador genéticamente modificado es *Escherichia coli*. El microorganismo fermentador genéticamente modificado puede ser *Klebsiella oxytoca*. El microorganismo fermentador genéticamente modificado puede ser *Kluyveromyces marxianus*. El microorganismo fermentador genéticamente modificado puede ser *Saccharomyces cerevisiae*. El microorganismo fermentador genéticamente modificado puede ser *Zymomonas mobilis*.

15 [0351] Es bien conocido en la técnica que los organismos anteriormente descritos también pueden usarse para producir otras sustancias, como se describe en este caso.

20 [0352] El microorganismo fermentador se añade típicamente al material celulósico degradado o hidrolisato y la fermentación se realiza durante aproximadamente 8 a aproximadamente 96 horas, por ejemplo, de aproximadamente 24 a aproximadamente 60 horas. La temperatura está típicamente entre aproximadamente 26°C a aproximadamente 60°C, por ejemplo, de aproximadamente 32°C o 50°C y de aproximadamente pH 3 a aproximadamente pH 8, por ejemplo, pH 4-5, 6 o 7.

25 [0353] La levadura y/o otro microorganismo se puede aplicar al material celulósico degradado y la fermentación se puede realizar durante aproximadamente 12 a aproximadamente 96 horas, tal como típicamente 24- 60 horas. La temperatura puede preferiblemente estar de aproximadamente 20°C a aproximadamente 60°C, por ejemplo, de aproximadamente 25°C a aproximadamente 50°C, de aproximadamente 32°C a aproximadamente 50°C o de aproximadamente 32°C a aproximadamente 50°C y el pH puede ser en general de aproximadamente pH 3 a aproximadamente pH 7, por ejemplo, de aproximadamente pH 4 a aproximadamente pH 7. Sin embargo, algunos organismos fermentadores, por ejemplo, bacterias, tienen una temperatura de fermentación óptima más alta. La levadura u otro microorganismo se aplica preferiblemente en cantidades de aproximadamente 10^5 a 10^{12} , preferiblemente de aproximadamente 10^7 a 10^{10} , especialmente aproximadamente 2×10^8 de concentración de células viables por ml de caldo de fermentación. Más información sobre el uso de levadura para la fermentación se puede encontrar en, por ejemplo, "The Alcohol Textbook" (Editors K. Jacques, T.P. Lyons and D.R. Kelsall, Nottingham University Press, United Kingdom 1999).

35 [0354] Para producir etanol, después de la fermentación el lodo fermentado se destila para extraer el etanol. El etanol obtenido según los métodos de la invención se puede usar como, por ejemplo, etanol de combustible, etanol potable, es decir, alcohol neutro potable, o etanol industrial.

40 [0355] Un estimulador de la fermentación se puede usar en combinación con cualquiera de los métodos descritos aquí para mejorar adicionalmente el proceso de fermentación y en particular, el rendimiento del microorganismo fermentador, tal como, mejora del índice y rendimiento de etanol. Un "estimulador de la fermentación" se refiere a estimuladores para el crecimiento de los microorganismos fermentadores, en particular, levadura. Estimuladores de fermentación preferidos para el crecimiento incluyen vitaminas y minerales. Ejemplos de vitaminas incluyen multivitaminas, biotina, pantotenato, ácido nicotínico, meso-inositol, tiamina, piridoxina, ácido para-aminobenzóico, ácido fólico, riboflavina y vitaminas A, B, C, D y E. Véase, por ejemplo, Alfenore *et al.*, Improving ethanol production and viability of *Saccharomyces cerevisiae* by a vitamin feeding strategy during fed-batch process, Springer-Verlag (2002). Ejemplos de minerales incluyen minerales y sales minerales que puedan suministrar nutrientes que comprenden P, K, Mg, S, Ca, Fe, Zn, Mn y Cu.

50 [0356] Productos de fermentación: un producto de fermentación pueden ser cualquier sustancia derivada de la fermentación. El producto de fermentación puede ser, sin limitación, un alcohol (por ejemplo, arabinitol, n- butanol, isobutanol, etanol, glicerol, metanol, etilenglicol, 1,3-propanodiol [propilenglicol], butanodiol, glicerina, sorbitol y xilitol); un alcano (por ejemplo, pentano, hexano, heptano, octano, nonano, decano, undecano y dodecano), un cicloalcano (por ejemplo, ciclopentano, ciclohexano, cicloheptano y ciclooctano), un alqueno (por ejemplo penteno, hexeno, hepteno y octeno); un aminoácido (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico, glicina, lisina, serina y treonina); un gas (por ejemplo, metano, hidrógeno (H₂), dióxido de carbono (CO₂) y monóxido de carbono (CO)); isopreno; una cetona (por ejemplo, acetona); un ácido orgánico (por ejemplo, ácido acético, ácido acetónico, ácido adípico, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido 2,5-diketo-D-glucónico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido glucárico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido glutárico, ácido 3-hidroxipropiónico, ácido itacónico, ácido láctico, ácido málico, ácido malónico, ácido oxálico, ácido oxaloacético, ácido propiónico, ácido succínico y ácido xilónico); y policétido. El producto de fermentación puede también ser proteína como un producto de valor alto.

65 [0357] El producto de fermentación puede ser un alcohol. Se entiende que el término "alcohol" abarca una sustancia que contiene una o varias fracciones de hidroxilo. El alcohol puede ser N-butanol. El alcohol puede ser isobutanol. El alcohol puede ser etanol. El alcohol puede ser metanol. El alcohol puede ser arabinitol. El alcohol puede ser butanodiol. El alcohol puede ser etilen glicol. El alcohol puede ser glicerina. El alcohol puede ser glicerol. El alcohol puede ser 1,3-

- propanodiol. El alcohol puede ser sorbitol. El alcohol puede ser xilitol. Véase, por ejemplo, Gong, C. S., Cao, N. J., Du, J., and Tsao, G. T., 1999, Ethanol production from renewable resources, in *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, Scheper, T., ed., Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, 65: 207-241; Silveira, M. M., and Jonas, R., 2002, The biotechnological production of sorbitol, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59: 400-408; Nigam, P., and Singh, D., 1995, Processes for fermentative production of xylitol - a sugar substitute, *Process Biochemistry* 30 (2): 117-124; Ezeji, T. C., Qureshi, N. and Blaschek, H. P., 2003, Production of acetone, butanol and ethanol by *Clostridium beijerinckii* BA101 and in situ recovery by gas stripping, *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 19 (6): 595-603.
- 5
- 10 [0358] El producto de fermentación puede ser un alcano. El alcano puede ser un alcano no ramificado o ramificado. En otro aspecto más preferido, el alcano es pentano. El alcano puede ser hexano. El alcano puede ser heptano. El alcano puede ser octano. El alcano puede ser nonano. El alcano puede ser decano. El alcano puede ser undecano. El alcano puede ser dodecano.
- 15 [0359] El producto de fermentación puede ser un cicloalcano. El cicloalcano puede ser ciclopentano. El cicloalcano puede ser ciclohexano. El cicloalcano puede ser cicloheptano. El cicloalcano puede ser ciclooctano.
- [0360] El producto de fermentación puede ser un alqueno. El alqueno puede ser un alqueno no ramificado o ramificado. El alqueno puede ser penteno. El alqueno puede ser hexeno. El alqueno puede ser hepteno. El alqueno puede ser octeno.
- 20
- [0361] El producto de fermentación puede ser un aminoácido. En otro aspecto más preferido, el ácido orgánico puede ser ácido aspártico. El aminoácido puede ser ácido glutámico. El aminoácido puede ser glicina. El aminoácido puede ser lisina. El aminoácido puede ser serina. El aminoácido puede ser treonina. Véase, por ejemplo, Richard, A., and Margaritis, A., 2004, Empirical modeling of batch fermentation kinetics for poly(glutamic acid) production and other microbial biopolymers, *Biotechnology and Bioengineering* 87 (4): 501-515.
- 25
- [0362] El producto de fermentación puede ser un gas. El gas puede ser metano. El gas puede ser H₂. El gas puede ser CO₂. El gas puede ser CO. Véase, por ejemplo, Kataoka, N., A. Miya, and K. Kiriya, 1997, Studies on hydrogen production by continuous culture system of hydrogen-producing anaerobic bacteria, *Water Science and Technology* 36 (6-7): 41-47; and Gunaseelan V.N. in *Biomass and Bioenergy*, Vol. 13 (1-2), pp. 83-114, 1997, Anaerobic digestion of biomass for methane production: A review.
- 30
- [0363] El producto de fermentación puede ser isopreno.
- 35
- [0364] El producto de fermentación puede ser una cetona. Se entiende que el término "cetona" abarca una sustancia que contiene una o varias fracciones de cetona. La cetona puede ser acetona. Véase, por ejemplo, Qureshi and Blaschek, 2003, *supra*.
- 40
- [0365] El producto de fermentación puede ser un ácido orgánico. El ácido orgánico se puede ácido acético. El ácido orgánico se puede ácido acetónico. El ácido orgánico se puede ácido adípico. El ácido orgánico se puede ácido ascórbico. El ácido orgánico se puede ácido cítrico. El ácido orgánico se puede ácido 2,5-diketo-D-glucónico. El ácido orgánico se puede ácido fórmico. El ácido orgánico se puede ácido fumárico. El ácido orgánico se puede ácido glucárico. El ácido orgánico se puede ácido glucónico. El ácido orgánico puede ser ácido glucurónico. El ácido orgánico puede ser ácido glutárico. El ácido orgánico puede ser ácido 3-hidroxipropiónico. El ácido orgánico puede ser ácido itacónico. El ácido orgánico puede ser ácido láctico. El ácido orgánico puede ser ácido málico. El ácido orgánico puede ser ácido malónico. El ácido orgánico puede ser ácido oxálico. El ácido orgánico puede ser ácido propiónico. El ácido orgánico puede ser ácido succínico. El ácido orgánico puede ser ácido xilónico. Véase, por ejemplo, Chen, R., and Lee, Y. Y., 1997, Membrane-mediated extractive fermentation for lactic acid production from cellulosic biomass, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 63-65: 435-448.
- 45
- 50
- [0366] El producto de fermentación puede ser policétido.
- [0367] Recuperación. El(los) producto(s) de fermentación se puede(n) recuperar opcionalmente del medio de fermentación utilizando cualquier método conocido en la técnica incluyendo, pero no limitado a, cromatografía, procedimientos electroforéticos, solubilidad diferencial, destilación o extracción. Por ejemplo, el alcohol es separado del material celulósico fermentado y purificado por métodos convencionales de destilación. Etanol con una pureza de hasta aproximadamente 96 vol.% se puede obtener, que se puede usar como, por ejemplo, etanol de combustible, etanol potable, es decir, alcohol neutro potable, o etanol industrial.
- 55
- 60
- [0368] La presente invención se describe adicionalment mediante los siguientes ejemplos que no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención.

Ejemplos

65

Materiales

[0369] Los productos químicos usados como tampones y sustratos fueron productos comerciales de al menos calidad reactiva.

5 Cepas

[0370] El plásmido pEJG97 (WO 2005/074647 se usó como la fuente de ADN que codifica la beta-glucosidasa 3A de la familia de *Aspergillus fumigatus*. La cepa JaL250 de *Aspergillus oryzae* (WO 99/61651) fue usada para la expresión de la beta-glucosidasa 3A de la familia de *A. fumigatus* y variantes de la misma.

10

Medios

[0371] Placas de PDA estaban compuestas por 39 gramos de agar de dextrosa de patata y agua desionizada hasta 1 litro.

15

[0372] El medio MDU2BP estaba compuesto por 45 g de maltosa, 1 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 g de NaCl, 2 g de K_2SO_4 , 12 g de KH_2PO_4 , 7 g de extracto de levadura, 2 g de urea, 0,5 ml de solución de metales traza AMG y agua desionizada hasta 1 litro, pH a 5,0.

20

[0373] La solución de metales traza AMG estaba compuesta por 14,3 g de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 2,5 g de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0,5 g de $NiCl_2 \cdot 6H_2O$, 13,8 g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 8,5 g de $MnSO_4 \cdot H_2O$, 3 g de ácido cítrico y agua desionizada hasta 1 litro.

Ejemplo 1: preparación de beta-glucosidasa GH3A de *Aspergillus fumigatus*

25

[0374] La beta-glucosidasa GH3A de *A. fumigatus* (SEC ID n°: 1 [secuencia de ADN] y SEC ID n°: 2 [secuencia de aminoácido deducido]) como se muestra en las figuras 1A y 1B se preparó según la patente de EE.UU. n° 7.244.605. La concentración de proteína fue determinada usando un equipo de ensayo de proteína de BCAT™ de microplaca (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, EE.UU.) donde la albúmina de suero bovino fue usada como una proteína estándar.

30

Ejemplo 2: construcción de una variante de beta-glucosidasa GH3A de la familia de *Aspergillus fumigatus*

[0375] Variantes de la beta-glucosidasa 3A de la familia de *Aspergillus fumigatus* fueron construidas mediante la realización de mutagénesis dirigida al sitio en pEJG97 utilizando un equipo de mutagénesis dirigida a multi sitio QUIKCHANGE® (Stratagene, La Jolla, CA, EE.UU.).

35

[0376] Un resumen de los oligos usados para la mutagénesis dirigida al sitio y las variantes obtenidas se muestra en la tabla 1.

40

[0377] El ADN plásmido mutante resultante fue preparado utilizando un BIOROBOT® 9600 (QIAGEN Inc., Valencia, CA, EE.UU.). El constructo de plásmido variante fue secuenciado utilizando un analizador genético Applied Biosystems 3130xl (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.) para verificar los cambios.

Tabla 1

Cambios en los aminoácidos	Nombre del cebador	Secuencias	Nombre del pásmido
F100D	AfBGmutF100DF	cccttgggtatccgtGACgtgagctatacccgcg (SEC ID n°: 129)	pDFng128-6
S283G	AfBGmutS283GF	cgatcatgagtactggGCGcctcaccacagcggtg (SEC ID n°: 130)	
N456E	AfBGmutN456EF	gggtagtgtactgccGAGttccctacctgtcac (SEC ID n°: 131)	
F512Y	AfBGmutF512YF	gccgactctggagaggtTACatcagtgctgacggcaac (SEC ID n°: 132)	

45

Ejemplo 3: expresión de la variante F100D + S283G + N456E + F512Y de beta-glucosidasa GH3A de la familia de *Aspergillus fumigatus* en el *Aspergillus oryzae* JaL250

50

[0378] Se prepararon protoplastos de *Aspergillus oryzae* JaL250 según el método de Christensen *et al.*, 1988, Bio/Technology 6: 1419-1422 y se transformaron con 5 µg de vector de expresión pDFng128-6 o pEJG97 como un control. La transformación de *Aspergillus oryzae* JaL250 con pDFng128-6 o pEJG97 dio como resultado transformantes múltiples. Cinco transformantes para cada transformación fueron aislados en placas de PDA individuales.

55

[0379] Las placas de PDA confluentes de todos transformantes fueron lavadas con 8 ml de 0,01 % de TWEEN® 20 e inoculadas separadamente en 1 ml de medio MDU2BP en placas de cultivo de tejido estériles de 24 pocillos e incubadas a 34°C. Cinco días después de la incubación, un 10 µl de muestra del caldo cosechado de cada cultivo fue

analizado utilizando 8-16% geles de SDS-PAGE de tris-glicina (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE.UU.) según las instrucciones del fabricante. Perfiles de SDS-PAGE de los cultivos mostraron que diferentes transformantes tenían una banda principal nueva de aproximadamente 100 kDa.

5 [0380] Una placa de PDA confluyente de un transformante para cada transformación se lavó con 8 ml de 0,01% TWEEN® 20 e inoculó en frascos de agitación de vidrio de 500 ml que contenían 100 ml de medio MDU2BP y se incubó a 34°C, 200 r.p.m. para generar caldo para caracterización de la enzima. Los matraces fueron cosechados el día 5 y filtrados utilizando una membrana GP Express plus de 0,22 µm (Millipore, Bedford, MA, EE.UU.).

10 **Ejemplo 4: purificación de la beta-glucosidasa GH3A de la familia de *Aspergillus fumigatus* de tipo salvaje y variante F100D + S283G + N456E + F512Y**

[0381] El sobrenadante de caldo que contenía beta-glucosidasa GH3A de *A. fumigatus* de tipo salvaje, obtenida según el ejemplo 1, o la variante de beta-glucosidasa GH3A de *A. fumigatus* F100D + S283G + N456E + F512Y, obtenida según el ejemplo 2, fue concentrado y desalado utilizando columnas 10 DG de ECONOPAC® (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, EE.UU.) equilibradas con 20 mM Tris-HCl pH 8,0. Un volumen de 3 ml de sobrenadante de caldo fue cargado en la columna y luego eluido con un volumen de 4 ml de 20 mM Tris-HCl pH 8,0. La muestra desalada fue purificada utilizando una columna de 20 ml MONO Q™ (HR 16/10, GE Healthcare, Piscataway, NJ, EE.UU.) equilibrada con 20 mM Tris-HCl pH 8,0. Un volumen de 16 ml del material desalado fue cargado en la columna MONO Q™ y luego lavado con 5 volúmenes de columna de 20 mM Tris-HCl pH 8,0. La beta-glucosidasa GH3A de *A. fumigatus* de tipo salvaje o la variante de beta-glucosidasa GH3A de *A. fumigatus* fue eluida utilizando un gradiente de volumen de columna de 20 de 0,16 a 0,40 M NaCl en 20 mM Tris-HCl pH 8,0. Fracciones de 10 ml se recogieron y las fracciones de 11 a 21 fueron agrupadas para la variante y las fracciones de 10 a 20 fueron agrupadas para la enzima de tipo salvaje. Muestras purificadas fueron sometidas a análisis SDS-PAGE. SDS-PAGE en un gel de tris-HCl libre de mancha al 8-16% (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, EE.UU.) con formación de imágenes utilizando un formador de imágenes libre de mancha CRITERION® (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, EE.UU.) mostró que las muestras eran más de 95% puras.

30 **Ejemplo 5: pretratamiento de rastrojos de maíz**

[0382] Los rastrojos de maíz fueron pretratados en el U.S. Department of Energy National Renewable Energy Laboratory (NREL) utilizando 1,4 % (p/v) de ácido sulfúrico durante 2 minutos a 190°C. Los sólidos insolubles en agua en los rastrojos de maíz pretratados (PCS) contenían 57,5% de celulosa, 4,6% de hemicelulosas y 28,4% de lignina. La celulosa y la hemicelulosa fueron determinadas por una hidrólisis de ácido sulfúrico de dos etapas con análisis posterior de azúcares por cromatografía líquida de alto rendimiento usando el procedimiento analítico estándar #002 del NREL. Lignina fue determinada gravimétricamente después de hidrolizar fracciones de celulosa y hemicelulosa con ácido sulfúrico usando el procedimiento analítico estándar #003 del NREL.

[0383] Los rastrojos de maíz pretratados fueron lavados repetidamente utilizando agua de ósmosis inversa seguido de decantación de la fracción sobrenadante, hasta que el pH medido fue mayor de 4,0. Los rastrojos de maíz pretratados lavados (peso en seco inicial 32,35% de TS) fueron posteriormente molidos antes de su uso en una amoladora de múltiples usos en húmedo Cosmos ICMG 40 (EssEmm Corporation, Tamil Nadu, India). El peso en seco del rastrojos de maíz pretratados lavados con agua molidos fue 7,4% de TS.

45 **Ejemplo 6: determinación de la actividad específica de la beta-glucosidasa GH3A de *Aspergillus fumigatus* de tipo salvaje y la variante F100D + S283G + N456E + F512Y**

[0384] La beta-glucosidasa GH3A de *Aspergillus fumigatus* de tipo salvaje purificada y la variante F100D + S283G + N456E + F512Y, purificada según los ejemplos 1 y 2, respectivamente, fueron evaluadas para su capacidad para mejorar la hidrólisis de PCS por una preparación de proteína celulolítica de *Trichoderma reesei* compuesta por CELLULCLAST® 1,5L (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Dinamarca) suplementada con 10% de adición de polipéptido GH61A de *Thermoascus aurantiacus* que tiene actividad de aumento celulolítico (obtenido como se describe en la WO 2005/074656) y 2% de adición de SHEARZYME® 2X (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Dinamarca), en adelante denominada "composición de proteína celulolítica de *Trichoderma reesei*".

[0385] La hidrólisis de PCS fue conducida utilizando placas de pocillos profundos de 2,2 ml (Axygen, Union City, CA, EE.UU.) en un volumen de reacción total de 1,0 ml. La hidrólisis fue realizada con 50 mg de PCS tamizados, molidos, lavados (ejemplo 5) por ml de 50 mM de tampón de acetato sódico pH 5,0 conteniendo 1 mM de sulfato de manganeso, 40 g de glucosa por ml y una carga de proteína fija de 2,24 mg de la composición de proteína celulolítica de *T. reesei* por gramo de celulosa y entre 0 a 10% de adición (por proteína) a la carga de enzima de base CELLULCLAST 1.5L con la beta-glucosidasa 3A de la familia de *Aspergillus fumigatus* purificada (2,24 mg de la composición de proteína celulolítica de *T. reesei* por g de celulosa y entre 0 y 0,2 mg de beta-glucosidasa 3A de la familia de *Aspergillus fumigatus* o la variante de la misma por g de celulosa). Ensayos de hidrólisis fueron realizados por triplicado durante 72 horas a 50°C. Tras la hidrólisis, las muestras fueron filtradas con una placa de filtro de 96 pocillos de 0.45 µm MULTISCREEN® (Millipore, Bedford, MA, EE.UU.) y filtrados analizados para el contenido de azúcar como se describe más adelante. Cuando no se usó inmediatamente, partes alícuotas azucaradas filtradas fueron congeladas a -20°C.

5 [0386] Concentraciones de azúcar de muestras diluidas en 0,005 M H₂SO₄ fueron medidas después de elución por 0,005 M de H₂SO₄ con 0,05% p/p de ácido benzoico a una velocidad de flujo de 0,6 ml por minuto a partir de una columna 4,6 x 250 mM AMINEX® HPX-87H (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, EE.UU.) a 65°C con cuantificación por integración de glucosa y señales de celobiosa a partir de detección del índice de refracción (CHEMSTATION®, AGILENT® 1100 HPLC, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE.UU.) calibrado por muestras de azúcar puro. Los equivalentes resultantes fueron usados para calcular el porcentaje de conversión de celulosa para cada reacción.

10 [0387] La glucosa liberada fue calculada substrayendo niveles de glucosa medidos en los PCS solo de los medidos en los PCS con mezcla enzimática.

15 [0388] Los resultados mostrados en la figura 2 demostraron que la variante de beta-glucosidasa de *A. fumigatus* F100D + S283G + N456E + F512Y tiene una actividad específica más alta que la beta-glucosidasa de tipo salvaje (libera más glucosa en una concentración enzimática dada que la enzima de tipo salvaje en la misma concentración bajo las condiciones especificadas).

20 **Ejemplo 7: construcción de unas variantes del gen de beta-glucosidasa GH3A de la familia de *Aspergillus fumigatus***

[0389] Variantes de la beta-glucosidasa 3A de la familia de *Aspergillus fumigatus* fueron construidas mediante la realización mutagénesis dirigida al sitio en pEJG97 (para pMaWo87i1) o pDFng128-6 (para pMaWo86i1) o pMaWo87i1 (para pMaWo87i2) o pMaWo86i1 (para pMaWo86i2) o pMaWo86i2 (para pMaWo86) o pMaWo87i2 (para pMaWo87) utilizando un equipo de mutagénesis dirigida al sitio de QUIKCHANGE®.

25 [0390] Un resumen de los oligos usados para la mutagénesis dirigida al sitio y las variantes obtenidas se muestra en la tabla 2.

30 [0391] Los ADNs de plásmidos mutantes resultantes fueron preparados utilizando un BIOROBOT® 9600. Los constructos de plásmido variante fueron ordenados utilizando un analizador genético Applied Biosystems 3130xl para verificar los cambios.

Tabla 2

Cambios en los aminoácidos	Nombre del cebador	Secuencias	Nombre del plásmido de clonación
I140V	MaWo220	cgacaagggcgtggacgtttgctggggcctgc (SEC ID N°: 133)	pMaWo87i1
	MaWo221	gcaggccccagcaaaacgtccacgccctgtcg (SEC ID N°: 134)	
I140V + F100D + S283G + N456E + F512Y	MaWo220	cgacaagggcgtggacgtttgctggggcctgc (SEC ID N°: 135)	pMaWo86i1
	MaWo221	gcaggccccagcaaaacgtccacgccctgtcg (SEC ID N°: 136)	
I186V + I140V	MaWo222	ccaagacgcgggtgtggtgctactgccaagc (SEC ID N°: 137)	pMaWo87i2
	MaWo223	gcttggcagtagcaaccacaccgcgtcttgg (SEC ID N°: 138)	
L89M + G91 L + I140V + F100D + S283G + N456E + F512Y	MaWo218	ggtatcaactggggtatgtgtctccaggattccccttgggtatccg (SEC ID N°: 139)	pMaWo86i2
	MaWo219	cggatacccaaaggggaatcctggagacacatacccagttgatacc (SEC ID N°: 140)	
L89M + G91 L + I186V + I140V	MaWo218	ggtatcaactggggtatgtgtctccaggattccccttgggtatccg (SEC ID N°: 141)	pMaWo87
	MaWo219	cggatacccaaaggggaatcctggagacacatacccagttgatacc (SEC ID N°: 142)	
I186V + L89M + G91 L + I140V + F100D + S283G + N456E + F512Y	MaWo222	ccaagacgcgggtgtggtgctactgccaagc (SEC ID N°: 143)	pMaWo86
	MaWo223	gcttggcagtagcaaccacaccgcgtcttgg (SEC ID N°: 144)	

35 **Ejemplo 8: expresión de la variante de beta-glucosidasa GH3A de la familia de *Aspergillus fumigatus* L89M + G91L + F100D + I140V + I186V + S283G + N456E + F512Y y variante L89M + G91L + I140V + I186V en el *Aspergillus oryzae* JaL250**

40 [0392] Los protoplastos de *Aspergillus oryzae* JaL250 fueron preparados según el método de Christensen *et al.*, 1988, *supra* y transformados con 5 µg de vector de expresión pMaWo86 o pMaWo87 o pEJG97 (como un control) o

pDFng128-6 (como un control). La transformación de *Aspergillus oryzae* JaL250 con pDFng128-6 o pEJG97 dio múltiples transformantes. Cinco transformantes para cada transformación fueron aislados en placas de PDA individuales. La transformación de *Aspergillus oryzae* JaL250 con pMaWo86 dio cuatro transformantes, que fueron también aislados en placas de PDA individuales. La transformación de *Aspergillus oryzae* JaL250 con pMaWo87 dio dos transformantes, que fueron también aislados en placas de PDA individuales.

[0393] Placas de PDA confluentes de todos los transformantes fueron lavadas con 8 ml de 0,01 % de TWEEN® 20 e inoculadas separadamente en 1 ml de medio MDU2BP en placas de cultivo de tejido de 24 pocillos estériles e incubadas a 34°C. Cinco días después de la incubación, una muestra de caldo cosechado de 10 µl de cada cultivo fue analizada utilizando geles de SDS-PAGE de tris-glicina al 8-16% según las instrucciones del fabricante. Perfiles de SDS-PAGE de los cultivos mostraron que varios transformantes tenían una banda principal de aproximadamente 100 kDa.

[0394] Una placa de PDA confluyente de un transformante para cada transformación se lavó con 8 ml de 0,01% TWEEN® 20 y se inoculó en frascos de agitación de vidrio de 500 ml que contenían 100 ml de medio MDU2BP y se incubó a 34°C con agitación a 200 r.p.m. para generar caldo para caracterización de las variantes. Los matraces fueron cosechados el día 5 y filtrados utilizando una membrana GP Express plus de 0,22 µm.

Ejemplo 9: purificación de la variante de beta-glucosidasa GH3A de la familia de *Aspergillus fumigatus* L89M + G91 L + F100D + I140V + I186V + S283G + N456E + F512Y y variante L89M + G91L + I140V + I186V

[0395] El sobrenadante de caldo que contenía bien la variante de beta-glucosidasa GH3A de *A. fumigatus* L89M + G91 L + F100D + I140V + I186V + S283G + N456E + F512Y, bien la variante de beta-glucosidasa GH3A de *A. fumigatus* G142S + Q183R + H266Q + D703G, obtenida según el ejemplo 8, fue concentrado y desalado utilizando columnas 10DG de ECONOPAC® equilibradas con 20 mM de Tris-HCl pH 8,0. Un volumen de 3 ml de sobrenadante de caldo fue cargado en la columna y luego eluido con un volumen de 4 ml de 20 mM de Tris-HCl pH 8,0. La muestra desalada fue purificada utilizando una columna de 20 ml MONO Q™ (HR 16/10, GE Healthcare, Piscataway, NJ, EE.UU.) equilibrada con 20 mM de Tris-HCl pH 8,0. El material desalado fue cargado en la columna el MONO Q™ y luego lavado con 5 volúmenes de columna de 20 mM de Tris-HCl pH 8,0. La variante de beta-glucosidasa GH3A de *A. fumigatus* fue eluida utilizando un gradiente de volumen de columna 20 a de 0,0 a 0,40 M de NaCl en 20 mM de Tris-HCl pH 8,0. Fracciones de 6 ml fueron recogidas y fracciones de 35 a 50 fueron agrupadas para la variante de beta-glucosidasa GH3A de *A. fumigatus* L89M + G91L + F100D + I140V + I186V + S283G + N456E + F512Y y fracciones de 39 a 59 fueron agrupadas para la variante de beta-glucosidasa GH3A de *A. fumigatus* G142S + Q183R + H266Q + D703G. Las muestras purificadas fueron sometidas a análisis SDS-PAGE utilizando un gel Tris-HCl libre de mancha al 8-16% con formación de imágenes utilizando un formador de imágenes libre de mancha CRITERION®. El análisis SDS-PAGE mostró que las muestras eran más de 95% puras.

Ejemplo 10: determinación de la actividad específica de la beta-glucosidasa GH3A de la familia de *Aspergillus fumigatus* de tipo salvaje, variante L89M + G91L + F100D + I140V + I186V + S283G + N456E + F512Y, variante L89M + G91L + I140V + I186V y variante F100D + S283G + N456E + F512Y

[0396] La beta-glucosidasa GH3A de la familia de *Aspergillus fumigatus* de tipo salvaje purificada y la variante F100D + S283G + N456E + F512Y, purificada según el ejemplo 4 y la variante L89M + G91L + F100D + I140V + I186V + S283G + N456E + F512Y y variante L89M + G91L + I140V + I186V, purificada según el ejemplo 9, fueron evaluadas para su capacidad para mejorar la hidrólisis de PCS por la "composición de proteína celulolítica de *Trichoderma reesei*" (ejemplo 6).

[0397] La hidrólisis de PCS y su análisis fueron realizados según el procedimiento descrito en ejemplo 6.

[0398] Los resultados mostrados en la figura 2 demostraron que las variantes de la beta-glucosidasa GH3A de familia de *A. fumigatus* tienen una actividad específica más alta que la beta-glucosidasa de tipo salvaje (libera más glucosa en una concentración enzimática dada que la enzima de tipo salvaje en la misma concentración bajo las condiciones especificadas).

Listado de secuencias

[0399]

<110> Wogulis, Mark Harris, Paul

<120> Variantes de beta-glucosidasa y polinucleótidos que codifican las mismas

<130> 12060-US-PRO

<160> 160

<170> Versión de patentIn 3.5

<210> 1
<211> 3060
<212> ADN
5 <213> *Aspergillus fumigatus*
<400> 1

ES 2 563 209 T3

atgagattcg	gttggctoga	ggtggccgct	ctgacggcog	ettctgtagc	caatgcccsq	60
gtttgtgatg	atttccogtc	attgtttogg	atatagttga	caatagtoat	ggaaataato	120
aggaattggc	ttctototca	ccattotacc	ottogcoctg	ggtgatggc	cagggagagt	180
gggcagatgc	ccatcgacgc	gccgtcgaga	tcgtttctca	gatgacactg	gcggagaagg	240
ttaaccctac	aacgggtact	gggtgggttg	cgactttttt	gttgacagtg	agctttcttc	300
actgaccatc	tacacagatg	ggaastggac	cgatgctog	gtcaaacccg	cagcgttccc	360
aggtaaactt	gcaattctgc	aacaacgtgc	aaqtgtagtt	gctaaaacgc	ggtggtgcag	420
acttggatc	aactggggtc	tttgtggcca	ggattccctt	ttgggtatcc	gtttctgtga	480
gctatacccg	cggagtcttt	cagtccttgt	attatgtgct	gatgattgtc	tctgtatagc	540
tgacctcaac	tccgccttcc	ctgctggtag	taatgtogcc	gcgacatggg	acaagacact	600
cgcctacott	ogtggcaagg	ccatgggtga	ggaattcaac	gacaagggcg	tggacatttt	660
gotggggcct	gotgctggtc	ctctoggcaa	ataccoggac	ggcggcagaa	tctgggaagg	720
cttctctcct	gacccggttc	tcactgggtg	acttttggcc	gaaactatca	agggtatcca	780
agacgggggt	gtgattgcta	ctgccaagca	ttacattctg	aatgaacagg	agcatttccg	840
acaggttggc	gagggcccagg	gatatggtta	caacatcacg	gagacgatca	gctccaacgt	900
ggatgacaag	accatgcacg	agttgtacct	ttggtgagta	gttgacactg	caaatgagga	960
ccttgattga	tttgactgac	ctggaatgca	ggccctttgc	agatgctgtg	cgcggttaaga	1020
ttttccgtag	acttgacctc	gcgacgaaga	aatcgtgtac	gaaccatcgt	agctggcgtt	1080
ggcgtctgca	tgtgttccta	caatcaaatc	aacaacagct	acggttgtca	aaacagtcaa	1140
actctcaaca	agctcctcaa	ggctgagctg	ggcttccaag	gcttctcat	gagtgactgg	1200
agcgtctacc	acaggggtgt	aggcgtgac	ctcgtgggtt	tggatatgto	gatgootgga	1260
gacatttctt	togaogcagg	actctccttc	tggggcaoga	acctaacgtg	cagtgttctt	1320
aacggcaccg	ttccagcctg	gctgtctgat	gacatggctg	ttcgtatcat	gaccgcgtac	1380

tacaagggtg gtcgtgaccg tottctgatt cccctcaact tcagctcctg gacccgggat 1440
gagtaaggct gggagcattc tgctgtctcc gagggagcct ggacccaagg gaacgacttc 1500
gtcaatgtgc agcgcagtca ctctcagatc atcogtgaga ttggtgcgcg tagtaacgtg 1560
ctcttgaaga acacgggtgc tcttctcttg accggcaagg aggttaaagt ggggtgttctc 1620
ggtgaagacg ctggttccaa cccgtggggt gctaaccgct gcccgcaccg cggctgtgat 1680
aacggcactc ttgctatggc ctggggtagt ggtactgcca acttccctta ccttgtcacc 1740
cccgagcagg ctatccagcg agaggtcatt agcaaacggcg gcaatgtctt tgotgtgact 1800
gataaagggg ctctcagcca gatggcagat gttgcatttc aatccagggt agtgagggt 1860
cttagaaaaa gaacgttctc tgaatgaagt tttttaacca ttgcgaacag cgtgtctttg 1920
gtgtttgtca accgcgactc tggagagggt ttcatoagtg togaaggcaa cgaagggtgac 1980
cgcaaaaatc tcaactctgtg gaagsacggc gaggcctca ttgacactgt tgtcagccac 2040
tgcaacaaca cgattgtggt tattaacagt gttgggcccg tcttgatcga ccggtggtat 2100
gataacccca acgtcactgc catcatctgg gccggttgc ccggtcagga gagtggcaac 2160
tccctggtcg acgtgctcta tggccgctc aaccccagcg ccaagacccc gttcacctgg 2220
ggcaagactc gggagtctta cggggctccc ttgctcaccg agcctaacas tggcaatggt 2280
gctccccagg atgatttcaa cgaaggcctc ttcattgact accgtcactt tgacaagcgc 2340
aatgagacc ccatctatga gtttgccat ggcttgagct acaccacctt tggttactct 2400
caccttcggg ttcaggccct caatagttcg agttcggcat atgtcccagc tagcggagag 2460
accaagcctg cgcacaacct tgggtgagtc ggtagtgcgg ccgactacct gtatcccag 2520
ggtctcaaaa gaattacaaa gtttatctac ccttggctca actcgaacga cctcagggat 2580
tattctgagc acccgaacta cggctgggag gaactggagt acattccga agggctagg 2640
gatgggtctc ctcaaacctt cctgaaggct ggagggctca ctggtggtaa cactaacctt 2700
tatcaggatc ttgttagggg gtcggccacc ataaccaaca ctggtaacgt cgcgggttat 2760
gaagtccctc aattggtgag tgacccgat gttccttggg ttgcaattg gtaactcgc 2820
ttctagtatg tttcactggg cggaccgaac gagcctcggg tcgttctgcg caagtctgac 2880
cgaatcttcc tggctcctgg ggagcaaaa gtttgacca cgaactctaa ccgtcgtgat 2940
ctcgcceatt gggatgtgga ggctcaggac tgggtcatca caaagtaccc caagsaagt 3000
cacgtcggca gctcctcgcg taagctgcct ctgagagcgc ctctgcccgc tgtctactag 3060

<210> 2
<211> 863
<212> PRT
<213> *Aspergillus fumigatus*
<400> 2

5

ES 2 563 209 T3

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

ES 2 563 209 T3

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

Gly Phe Gln Gly Phe Val Met Ser Asp Trp Ser Ala His His Ser Gly
 275 280 285
 Val Gly Ala Ala Leu Ala Gly Leu Asp Met Ser Met Pro Gly Asp Ile
 290 295 300
 Ser Phe Asp Asp Gly Leu Ser Phe Trp Gly Thr Asn Leu Thr Val Ser
 305 310 315 320
 Val Leu Asn Gly Thr Val Pro Ala Trp Arg Val Asp Asp Met Ala Val
 325 330 335
 Arg Ile Met Thr Ala Tyr Tyr Lys Val Gly Arg Asp Arg Leu Arg Ile
 340 345 350
 Pro Pro Asn Phe Ser Ser Trp Thr Arg Asp Glu Tyr Gly Trp Glu His
 355 360 365
 Ser Ala Val Ser Glu Gly Ala Trp Thr Lys Val Asn Asp Phe Val Asn
 370 375 380
 Val Gln Arg Ser His Ser Gln Ile Ile Arg Glu Ile Gly Ala Ala Ser
 385 390 395 400
 Thr Val Leu Leu Lys Asn Thr Gly Ala Leu Pro Leu Thr Gly Lys Glu
 405 410 415
 Val Lys Val Gly Val Leu Gly Glu Asp Ala Gly Ser Asn Pro Trp Gly
 420 425 430
 Ala Asn Gly Cys Pro Asp Arg Gly Cys Asp Asn Gly Thr Leu Ala Met
 435 440 445
 Ala Trp Gly Ser Gly Thr Ala Asn Phe Pro Tyr Leu Val Thr Pro Glu
 450 455 460
 Gln Ala Ile Gln Arg Glu Val Ile Ser Asn Gly Gly Asn Val Phe Ala
 465 470 475 480
 Val Thr Asp Asn Gly Ala Leu Ser Gln Met Ala Asp Val Ala Ser Gln
 485 490 495
 Ser Ser Val Ser Leu Val Phe Val Asn Ala Asp Ser Gly Glu Gly Phe
 500 505 510
 Ile Ser Val Asp Gly Asn Glu Gly Asp Arg Lys Asn Leu Thr Leu Trp
 515 520 525

Lys Asn Gly Glu Ala Val Ile Asp Thr Val Val Ser His Cys Asn Asn
 530 535 540

Thr Ile Val Val Ile His Ser Val Gly Pro Val Leu Ile Asp Arg Trp
 545 550 555 560

Tyr Asp Asn Pro Asn Val Thr Ala Ile Ile Trp Ala Gly Leu Pro Gly
 565 570 575

Gln Glu Ser Gly Asn Ser Leu Val Asp Val Leu Tyr Gly Arg Val Asn
 580 585 590

Pro Ser Ala Lys Thr Pro Phe Thr Trp Gly Lys Thr Arg Glu Ser Tyr
 595 600 605

Gly Ala Pro Leu Leu Thr Glu Pro Asn Asn Gly Asn Gly Ala Pro Gln
 610 615 620

Asp Asp Phe Asn Glu Gly Val Phe Ile Asp Tyr Arg His Phe Asp Lys
 625 630 635 640

Arg Asn Glu Thr Pro Ile Tyr Glu Phe Gly His Gly Leu Ser Tyr Thr
 645 650 655

Thr Phe Gly Tyr Ser His Leu Arg Val Gln Ala Leu Asn Ser Ser Ser
 660 665 670

Ser Ala Tyr Val Pro Thr Ser Gly Glu Thr Lys Pro Ala Pro Thr Tyr
 675 680 685

Gly Glu Ile Gly Ser Ala Ala Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gly Leu Lys
 690 695 700

Arg Ile Thr Lys Phe Ile Tyr Pro Trp Leu Asn Ser Thr Asp Leu Glu
 705 710 715 720

Asp Ser Ser Asp Asp Pro Asn Tyr Gly Trp Glu Asp Ser Glu Tyr Ile
 725 730 735

Pro Glu Gly Ala Arg Asp Gly Ser Pro Gln Pro Leu Leu Lys Ala Gly
 740 745 750

Gly Ala Pro Gly Gly Asn Pro Thr Leu Tyr Gln Asp Leu Val Arg Val
 755 760 765

Ser Ala Thr Ile Thr Asn Thr Gly Asn Val Ala Gly Tyr Glu Val Pro
 770 775 780

ES 2 563 209 T3

Gln Leu Tyr Val Ser Leu Gly Gly Pro Asn Glu Pro Arg Val Val Leu
785 790 795 800

Arg Lys Phe Asp Arg Ile Phe Leu Ala Pro Gly Glu Gln Lys Val Trp
805 810 815

Thr Thr Thr Leu Asn Arg Arg Asp Leu Ala Asn Trp Asp Val Glu Ala
820 825 830

Gln Asp Trp Val Ile Thr Lys Tyr Pro Lys Lys Val His Val Gly Ser
835 840 845

Ser Ser Arg Lys Leu Pro Leu Arg Ala Pro Leu Pro Arg Val Tyr
850 855 860

- <210> 3
- <211> 1377
- <212> ADN
- <213> *Trichoderma reesei*

- <400> 3

ES 2 563 209 T3

atggcgccct cagttacact gccggttgacc acggccatcc tggccattgc ccggtccgtc 60
 gccgcccagc aaccgggtac cagcaacccc gaggtccatc ccaagttgac aacctacaag 120
 tgtacaaagt ccgggggggtg cgtggccccag gacacctcgg tggtccttga ctggaactac 180
 cgctggatgc acgacgcasa ctacaactcg tgcaccgtca acggcggcgt caacaccacg 240
 ctctgccttg acgaggcgac ctgtggcaag aactgcttca tcgagggcgt cgactacgcc 300
 gcctcggggc tcacgacctc gggcagcagc ctcaaccatga accagtacat gccacgcagc 360
 tetggcggct acagcagcgt ctctcctcgg ctgtatctcc tggactctga cggtgagtac 420
 gtgatgctga agotcaacgg ccaggagctg agottogaag togaacctct tgotatgcag 480
 tgtggagaga acggctcgtc ctacctgtct cagatggacg agaacggggg cggcaaccag 540
 tataacacgg ccggtgccaa ctacgggagc ggctactgcg atgctcagtg ccccgtccag 600
 acatggagga acggcacctc caacactagc caccagggct tctgctgcaa cgagatggat 660
 atcctggagg gcaactcgag ggcgaatgcc ttgacccctc actcttgca cggcacggcc 720
 tgcgactctg ccggttgccg attcaacccc tatggcagcg gotacaaaag ctactacggc 780
 cccggagata ccggttgacc ctcaagacc ttcaaccatca tcaaccagtt caaacgggac 840
 aacggctcgc cctcggggcaa ccttgtgagc atcacccgca agtaccagca aacggcgtc 900
 gacatcccca gcgcccagcc cggcggcgac accatctcgt cctgcccgtc cgcctcagcc 960
 tacggcggcc tcgccaccat gggcaaggcc ctgagcagcg gcatgggtct cgtgttcagc 1020
 atttggaacg acaacagcca gtacatgac tggctcgaca gcggcaacgc cggcccctgc 1080
 agcagcaacc agggcaaccc atcaaacatc ctggcaaca acccaaacac gaactcgtc 1140
 ttctccaaca tccgctgggg agacattggg tctactacga actcgactgc gccccgccc 1200
 ccgctcgtc ccagcagcag gttttcgact acacggagga gctcgacgac ttcgagcagc 1260
 ccgagctgca cgcagactca ctgggggcag tgcggtggca ttgggtacag cgggtgcaag 1320
 acgtgcacgt cgggcactac gtgccagtat agcaacgact actactcgca atgcctt 1377

5 <210> 4
 <211> 459
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*

10 <400>4

ES 2 563 209 T3

Met Ala Pro Ser Val Thr Leu Pro Leu Thr Thr Ala Ile Leu Ala Ile
 1 5 10 15

Ala Arg Leu Val Ala Ala Gln Gln Pro Gly Thr Ser Thr Pro Glu Val
 20 25 30

His Pro Lys Leu Thr Thr Tyr Lys Cys Thr Lys Ser Gly Gly Cys Val
 35 40 45

Ala Gln Asp Thr Ser Val Val Leu Asp Trp Asn Tyr Arg Trp Met His
 50 55 60

Asp Ala Asn Tyr Asn Ser Cys Thr Val Asn Gly Gly Val Asn Thr Thr
 65 70 75 80

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

Val Asp Tyr Ala Ala Ser Gly Val Thr Thr Ser Gly Ser Ser Leu Thr
 100 105 110

Met Asn Gln Tyr Met Pro Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ser Ser Val Ser
 115 120 125

Pro Arg Leu Tyr Leu Leu Asp Ser Asp Gly Glu Tyr Val Met Leu Lys
 130 135 140

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

Cys Gly Glu Asn Gly Ser Leu Tyr Leu Ser Gln Met Asp Glu Asn Gly
 165 170 175

Gly Ala Asn Gln Tyr Asn Thr Ala Gly Ala Asn Tyr Gly Ser Gly Tyr
 180 185 190

Cys Asp Ala Gln Cys Pro Val Gln Thr Trp Arg Asn Gly Thr Leu Asn
 195 200 205

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

ES 2 563 209 T3

<211> 1254
 <212> ADN
 <213> *Trichoderma reesei*

5 <400>5

```

atgaacaagt ccgtggctcc attgctgctt gcagcgtcca tactatatgg cggcgccctc      60
gcacagcaga ctgtctgggg ccagtgtgga ggtattgggt ggagoggacc tacgaattgt      120
gctcctggct cagcttgttc gaccctcaat ccttattatg cgcattgtat tccgggagcc      180
actactatca ccacttogac cgggcaaca tccggtcaca ccacacacc caggggtacc      240
tcaacaagct catcaactcc acccacgagc tctggggctc gatttgccgg cgttaacatc      300
gggggttttg aotttggttg taocacagat ggcacttgog ttaactogaa ggtttatoot      360
ccgttgaaga acttcaccgg ctcaacaac taccocgatg gcacggcca gatgcagcac      420
ttcgtcaacg aggacgggat gactattttc cgttacctg tcggatggcs gtacctctgc      480
aacaacaatt tggggggcaa tcttgattcc acgagcattt ccaagtatga tcagcttgtt      540
caggggtgcc tgtctctggg cgcatactgc atcgtcgaca tccacaatta tgctcgatgg      600
aacggtggga tcattggtoa gggcggccct actaatgctc aattcaagag ctttggctog      660
cagttggcat caaagtaacc ctctcagtcg agggctgtgt tcggcatcat gaatgagccc      720
cacgacgtga acatcaacac ctgggctgcc acggtccaag aggttgtaac cgcactccgc      780
aacgctggtg ctacgtcgca attcatctct ttgcctggaa atgattggca atctgctggg      840
gotttcatat ccgatggcag tgcagccgcc ctgtctcaag tcacgaaccc ggatgggtoa      900
acaacgaato tgatttttga cgtgcacaaa taottggaot cagacaacto cggtaactac      960
gccgaatgta ctacaaataa cattgacggc gccttttctc cgtttgccac ttggctccga     1020
cagaacaate gccaggttat cctgacagaa accggtggtg gcaacgttes gtccctgcata     1080
caagacatgt gccagcaaat ccaatatctc aaccagaact cagatgtcta tcttggctat     1140
gttggttggg gtgccggatc atttgatagc acgtatgtcc tgacggaaac accgactagc     1200
agtggtaact catggaogga cacatccttg gtcagctcgt gtctcgcaag aaag           1254
    
```

10 <210> 6
 <211> 418
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*

<400> 6

ES 2 563 209 T3

Met Asn Lys Ser Val Ala Pro Leu Leu Leu Ala Ala Ser Ile Leu Tyr
1 5 10 15

Gly Gly Ala Val Ala Gln Gln Thr Val Trp Gly Gln Cys Gly Gly Ile
20 25 30

ES 2 563 209 T3

Gly Trp Ser Gly Pro Thr Asn Cys Ala Pro Gly Ser Ala Cys Ser Thr
 35 40 45

Leu Asn Pro Tyr Tyr Ala Gln Cys Ile Pro Gly Ala Thr Thr Ile Thr
 50 55 60

Thr Ser Thr Arg Pro Pro Ser Gly Pro Thr Thr Thr Thr Arg Ala Thr
 65 70 75 80

Ser Thr Ser Ser Ser Thr Pro Pro Thr Ser Ser Gly Val Arg Phe Ala
 85 90 95

Gly Val Asn Ile Ala Gly Phe Asp Phe Gly Cys Thr Thr Asp Gly Thr
 100 105 110

Cys Val Thr Ser Lys Val Tyr Pro Pro Leu Lys Asn Phe Thr Gly Ser
 115 120 125

Asn Asn Tyr Pro Asp Gly Ile Gly Gln Met Gln His Phe Val Asn Glu
 130 135 140

Asp Gly Met Thr Ile Phe Arg Leu Pro Val Gly Trp Gln Tyr Leu Val
 145 150 155 160

Asn Asn Asn Leu Gly Gly Asn Leu Asp Ser Thr Ser Ile Ser Lys Tyr
 165 170 175

Asp Gln Leu Val Gln Gly Cys Leu Ser Leu Gly Ala Tyr Cys Ile Val
 180 185 190

Asp Ile His Asn Tyr Ala Arg Trp Asn Gly Gly Ile Ile Gly Gln Gly
 195 200 205

Gly Pro Thr Asn Ala Gln Phe Thr Ser Leu Trp Ser Gln Leu Ala Ser
 210 215 220

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Arg Val Trp Phe Gly Ile Met Asn Glu Pro
 225 230 235 240

His Asp Val Asn Ile Asn Thr Trp Ala Ala Thr Val Gln Glu Val Val
 245 250 255

Thr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Ala Thr Ser Gln Phe Ile Ser Leu Pro
 260 265 270

Gly Asn Asp Trp Gln Ser Ala Gly Ala Phe Ile Ser Asp Gly Ser Ala
 275 280 285

Ala Ala Leu Ser Gln Val Thr Asn Pro Asp Gly Ser Thr Thr Asn Leu

ES 2 563 209 T3

290		295		300																	
Ile	Phe	Asp	Val	His	Lys	Tyr	Leu	Asp	Ser	Asp	Asn	Ser	Gly	Thr	His						
305					310					315					320						
Ala	Glu	Cys	Thr	Thr	Asn	Asn	Ile	Asp	Gly	Ala	Phe	Ser	Pro	Leu	Ala						
				325					330					335							
Thr	Trp	Leu	Arg	Gln	Asn	Asn	Arg	Gln	Ala	Ile	Leu	Thr	Glu	Thr	Gly						
			340					345					350								
Gly	Gly	Asn	Val	Gln	Ser	Cys	Ile	Gln	Asp	Met	Cys	Gln	Gln	Ile	Gln						
		355					360					365									
Tyr	Leu	Asn	Gln	Asn	Ser	Asp	Val	Tyr	Leu	Gly	Tyr	Val	Gly	Trp	Gly						
	370					375					380										
Ala	Gly	Ser	Phe	Asp	Ser	Thr	Tyr	Val	Leu	Thr	Glu	Thr	Pro	Thr	Ser						
385					390					395					400						
Ser	Gly	Asn	Ser	Trp	Thr	Asp	Thr	Ser	Leu	Val	Ser	Ser	Cys	Leu	Ala						
				405					410					415							

Arg Lys

<210> 7
 <211> 702
 <212> ADN
 <213> *Trichoderma reesei*

5

<400>7

ES 2 563 209 T3

```

atgaagtcc ttcaagtcc cccctgccctc ataccggcgg cccctggccc aaccagctgt      60
gaccagtggg caaccttcac tggcaacggc tacacagtca gcaacaacct ttggggagca      120
tcagccggct ctggatttgg ctgctgacg gcggtatcgc tcagcggcgg ggctcctgg      180
cacgcagact ggcagtggtc cggcggccag aacaacgtca agtcgtaccs gaactctcag      240
attgccatte cccagaagag gaccgtcaac agcatcagca gcatgcccaac cactgccagc      300
tggagctaca gggggagcaa catccgcgct aatggtgct atgacttgtt caccgcagcc      360
aaccogaatc atgtcacgta ctccggagac tacgaactca tgatctggct tggcaatac      420
ggcgatattg ggcgatttgg gtccctcacg ggaacagtca acgtcgggtg ccagagctgg      480
acgctctact atggctacaa cggagccatg caagtctatt cctttgtggc ccagaccaac      540
actaccaact acagcggaga tgtcaagaac ttcttcaatt atctccgaga caataaagga      600
tacaacgctg caggccaata tgtttttagc taccaatttg gtaccgagcc ctccacgggc      660
agtggaaactc tgaacgtcgc atcctggacc gcctctatca ac      702

```

<210> 8

<211> 234

5 <212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 8

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

ES 2 563 209 T3

<210> 9
 <211> 726
 <212> ADN
 <213> *Trichoderma reesei*

5

<400>9

```

atgaaggca  ctctggttct  cggctccctc  attgtaggcg  ccgtttccgc  gtacaaggcc      60
accaccacgc  gctactacga  tgggcaggag  ggtgcttgcg  gatgaggctc  gagctccggc     120
gcattcccg  ggcagctcgg  catcggcaac  ggagtctaca  cggctgccgg  ctcccaggct     180
ctottogaca  cggccgggag  ttcattggtg  ggccggggct  ggggtaaata  ctaccagctc     240
acctcgacgg  gccaggcgcc  ctgctccagc  tgcggcacgg  gcggctgctg  tggccagagc     300
atcatcgtca  tggtgaccac  cctgtgcccg  aacaatggga  acgcgcagtg  gtgcccggtg     360
gtcggcggca  ccaaccaata  cggctacagc  taccatttcg  acatcatggc  gcagaacgag     420
atotttgag  acaatgtcgt  cgtogaattt  gagcccattg  cttgcccggg  gcaggctgcc     480
tctgactggg  ggacgtgcct  ctgctgaggc  cagcaagaga  cggatcccac  gcccgctctc     540
ggcaacgaca  cgggctcaac  tcctcccggg  agctcgcggc  cagcgacatc  gtcgagtcgg     600
ccgtctggcg  gcggccagca  gacgctctat  gcccagtgty  gaggtgccgg  ctggacggga     660
cotaagagct  gccaggcccc  agggacotgc  aaggttcaga  accagtggtc  ctcccagtgct     720
cttccct                                           726
    
```

10 <210> 10
 <211> 242
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*

15 <400> 10

ES 2 563 209 T3

Met Lys Ala Thr Leu Val Leu Gly Ser Leu Ile Val Gly Ala Val Ser
 1 5 10 15

Ala Tyr Lys Ala Thr Thr Thr Arg Tyr Tyr Asp Gly Gln Glu Gly Ala
 20 25 30

Cys Gly Cys Gly Ser Ser Ser Gly Ala Phe Pro Trp Gln Leu Gly Ile
 35 40 45

Gly Asn Gly Val Tyr Thr Ala Ala Gly Ser Gln Ala Leu Phe Asp Thr
 50 55 60

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

Thr Ser Thr Gly Gln Ala Pro Cys Ser Ser Cys Gly Thr Gly Gly Ala
 85 90 95
 Ala Gly Gln Ser Ile Ile Val Met Val Thr Asn Leu Cys Pro Asn Asn
 100 105 110

Gly Asn Ala Gln Trp Cys Pro Val Val Gly Gly Thr Asn Gln Tyr Gly
 115 120 125

Tyr Ser Tyr His Phe Asp Ile Met Ala Gln Asn Glu Ile Phe Gly Asp
 130 135 140

Asn Val Val Val Asp Phe Glu Pro Ile Ala Cys Pro Gly Gln Ala Ala
 145 150 155 160

Ser Asp Trp Gly Thr Cys Leu Cys Val Gly Gln Gln Glu Thr Asp Pro
 165 170 175

Thr Pro Val Leu Gly Asn Asp Thr Gly Ser Thr Pro Pro Gly Ser Ser
 180 185 190

Pro Pro Ala Thr Ser Ser Ser Pro Pro Ser Gly Gly Gly Gln Gln Thr
 195 200 205

Leu Tyr Gly Gln Cys Gly Gly Ala Gly Trp Thr Gly Pro Thr Thr Cys
 210 215 220

Gln Ala Pro Gly Thr Cys Lys Val Gln Asn Gln Trp Tyr Ser Gln Cys
 225 230 235 240

Leu Pro

<210> 11
 <211> 923

ES 2 563 209 T3

<212> ADN

<213> *Humicola insolens*

<400>11

5

```

atgagttect cccccctcct ccgctccgac gttgtggcag ccctgccggt gttggccctt      60
gccgctgatg gcaggteccac ccgctactgg gactgatgca agccttcgtg cggctgggac      120
aagaaggctc ccgtgaacca gcctgtottt tctgcaaacg ccaacttcaa gogtatcaag      180
gacttcgacg ccaagtccgg ctgcgagccg ggcggtgtcg cctactcgtg cgcgcaccag      240
accccatggg ctgtgaacga cgacttcgag ctccggtttg ctgccacctc tattgccggc      300
agcaatgagg cgggctgggt ctgcgcctgc tacgagctca ccttcacata cggctectgt      360
gctggcaaga agatggttgt ccagtccacc agcaotggcg gtgatottgg cagcaaccac      420
ttogatotca acatccccgg agggggggtc ggaatottog aaggatgca tccccagttc      480
ggcggctctg ccggccagcg ctacggcggc atctcgtccc gcaacgagtg cgatcggttc      540
cccgacgccc tcaagcccgg ctgctactgg cgttcgact ggttcaagaa cgcgcacaat      600
ccgagcttca gcttcctca ggtccagtgc ccagccgagc tcgtcgtcgc caccggatgc      660
cgcgcacaac acgacggcaa cttccctgcc gtccagatcc cctccagcag caccagctct      720
ccggtcaacc agcctaccag caccagcacc acgtccacct ccaccacctc gagcccgcga      780
gtccagccta cgactcccag cggctgcact gctgagaggt gggctcagtg cggcggcaat      840
ggctggagcg gctgcaccac ctgogtggct ggcagcaatt gcaagaagat taatgactgg      900
taccatcagt gcctgtagaa ttc                                     923

```

<210> 12

<211> 305

<212> PRT

<213> *Humicola insolens*

<400> 12

10

ES 2 563 209 T3

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

ES 2 563 209 T3

Cys Asp Arg Phe Pro Asp Ala Leu Lys Pro Gly Cys Tyr Trp Arg Phe
 180 185 190

Asp Trp Phe Lys Asn Ala Asp Asn Pro Ser Phe Ser Phe Arg Gln Val
 195 200 205

Gln Cys Pro Ala Glu Leu Val Ala Arg Thr Gly Cys Arg Arg Asn Asp
 210 215 220

Asp Gly Asn Phe Pro Ala Val Gln Ile Pro Ser Ser Ser Thr Ser Ser
 225 230 235 240

Pro Val Asn Gln Pro Thr Ser Thr Ser Thr Thr Ser Thr Ser Thr Thr
 245 250 255

Ser Ser Pro Pro Val Gln Pro Thr Thr Pro Ser Gly Cys Thr Ala Glu
 260 265 270

Arg Trp Ala Gln Cys Gly Gly Asn Gly Trp Ser Gly Cys Thr Thr Cys
 275 280 285

Val Ala Gly Ser Thr Cys Thr Lys Ile Asn Asp Trp Tyr His Gln Cys
 290 295 300

Leu
 305

<210> 13

<211> 1188

<212> ADN

<213> *Myceliophthora thermophila*

<400>13

5

```

cgacttgaaa cgccccaaat gaagtcctcc atcctcgcca gcgtcttcgc cacgggcgcc      60
gtggctcaaa gtggtcogtg gcagcaatgt ggtggcatcg gatggcaagg atcgaccgac      120
tgtgtgtcgg gctaccactg cgtctaccag aacgattggt acagccagtg cgtgcctggc      180
gaggcgtcga caacgctgca gacatcgacc acgtccaggc ccacccgccc cagcaaccgc      240
cctcogtctt ccacccaact gcctagcaag ggcaagctga agtggctcgg cagcaacgag      300
tcgggcgcgg agttcgggga gggcaattac cccggcctct ggggcaagca cttcatcttc      360
cogtogaact cggcgattca gacgctcact aatgatggat acacatctt coggatcgac      420
ttctogatgg agogtctggt gcccacaacg ttgacgtctt ccttogacca gggttacctc      480
cgcaacctga ccgaggtggt caacttcgtg acgaacgcgg gcaagtagcg cgtcctggac      540
ccgcacaact acggccggta ctaccgcaac atcatcacgg acacgaacgc gttccggacc      600
ttctggacca acctggccaa gcagttcggc tccaactcgc tcgtcatctt cgacaccaac      660
aacgagtaca acacgatgga ccagaccctg gtgctcaacc tcaaccaggc cggcctcgac      720
ggcatccggg ccgcgggcgc gacctcgcag tacatcttog togagggcaa cgcgtggagc      780
ggggcctgga gctggaaacg gacaaacacc aacatggcgg cctgacgga cccgcagaac      840
aagatcgtgt acgagatgca ccagtaacct gactcggaca gctcgggac ccacgcccag      900
tgctcagca gcaccatcgg cggccagcgc gtcgtcggag ccacccagtg gctccgcgcc      960
aacggcaagc tcggcgtcct cggcgagttc gccggcggcg ccaacgccgt ctgccagcag     1020
gcogtcaacc gcctcctoga ccacctccag gacaacagcg acgtatggct ggggtgcctc     1080
tggtgggcgg ccggtccctg gtggggcgac tacatgtact cgttcgagcc tccttcgggc     1140
accggctatg tcaactacaa ctcgatcttg aagaagtact tgccgtaa                       1188

```

- <210> 14
- <211> 389
- <212> PRT
- <213> *Myceliophthora thermophila*
- <400> 14

ES 2 563 209 T3

Met Lys Ser Ser Ile Leu Ala Ser Val Phe Ala Thr Gly Ala Val Ala
 1 5 10 15

Gln Ser Gly Pro Trp Gln Gln Cys Gly Gly Ile Gly Trp Gln Gly Ser
 20 25 30

Thr Asp Cys Val Ser Gly Tyr His Cys Val Tyr Gln Asn Asp Trp Tyr
 35 40 45

Ser Gln Cys Val Pro Gly Ala Ala Ser Thr Thr Leu Gln Thr Ser Thr
 50 55 60

Thr Ser Arg Pro Thr Ala Thr Ser Thr Ala Pro Pro Ser Ser Thr Thr
 65 70 75 80

Ser Pro Ser Lys Gly Lys Leu Lys Trp Leu Gly Ser Asn Glu Ser Gly
 85 90 95

Ala Glu Phe Gly Glu Gly Asn Tyr Pro Gly Leu Trp Gly Lys His Phe
 100 105 110

Ile Phe Pro Ser Thr Ser Ala Ile Gln Thr Leu Ile Asn Asp Gly Tyr
 115 120 125

Asn Ile Phe Arg Ile Asp Phe Ser Met Glu Arg Leu Val Pro Asn Gln
 130 135 140

Leu Thr Ser Ser Phe Asp Gln Gly Tyr Leu Arg Asn Leu Thr Glu Val
 145 150 155 160

Val Asn Phe Val Thr Asn Ala Gly Lys Tyr Ala Val Leu Asp Pro His
 165 170 175

Asn Tyr Gly Arg Tyr Tyr Gly Asn Ile Ile Thr Asp Thr Asn Ala Phe
 180 185 190

Arg Thr Phe Trp Thr Asn Leu Ala Lys Gln Phe Ala Ser Asn Ser Leu
 195 200 205

Val Ile Phe Asp Thr Asn Asn Glu Tyr Asn Thr Met Asp Gln Thr Leu
 210 215 220

Val Leu Asn Leu Asn Gln Ala Ala Ile Asp Gly Ile Arg Ala Ala Gly
 225 230 235 240

Ala Thr Ser Gln Tyr Ile Phe Val Glu Gly Asn Ala Trp Ser Gly Ala
 245 250 255

Trp Ser Trp Asn Thr Thr Asn Thr Asn Met Ala Ala Leu Thr Asp Pro
 260 265 270

Gln Asn Lys Ile Val Tyr Glu Met His Gln Tyr Leu Asp Ser Asp Ser
 275 280 285

Ser Gly Thr His Ala Glu Cys Val Ser Ser Thr Ile Gly Ala Gln Arg
 290 295 300

Val Val Gly Ala Thr Gln Trp Leu Arg Ala Asn Gly Lys Leu Gly Val
 305 310 315 320

Leu Gly Glu Phe Ala Gly Gly Ala Asn Ala Val Cys Gln Gln Ala Val
 325 330 335

Thr Gly Leu Leu Asp His Leu Gln Asp Asn Ser Asp Val Trp Leu Gly
 340 345 350

Ala Leu Trp Trp Ala Ala Gly Pro Trp Trp Gly Asp Tyr Met Tyr Ser
 355 360 365

Phe Glu Pro Pro Ser Gly Thr Gly Tyr Val Asn Tyr Asn Ser Ile Leu
 370 375 380

Lys Lys Tyr Leu Pro
 385

<210> 15
 <211> 1232
 <212> ADN

ES 2 563 209 T3

<213> Basidiomycete CBS 495.95

<400>15

ggatccaactt agtaacggcc gccagtggtc tggaaagcat gaagtctctc ttctctcac	60
ttgtagcgac cgtcggcctc agctcgccag tattctctgt cgcagtctgg gggcaatgag	120
gcggcattgg cttcagcgga agcaccgtct gtgatgcagg cgcggctgt gtgaagctca	180
acgactatta ctctcaatgc caaccggcg ctcccactgc tacatccgag gcgccaagta	240
gcaacgcacc gtccggcaat tagaaggcat cggcccccctc ctccagcatt tgotatgga	300
gcgcacagcc gttccagttc ttccggtgtc acgaatccgg cgcggagttc ggcaacctga	360
acatccccgg tgtttctggc accgactaca cctggccgtc gccatccagc attgacttct	420
tcatgggcaa gggaatgaat accttccgta ttccgttcct catggagcgt cttgtcccc	480
ctgccactgg catcacagga cctctcgacc agacgtactt gggcggcctg cagacgattg	540
tcaactacat caccggcaaa ggcggctttg ctctcattga cccgcacaac tttatgatct	600
acaatggcca gaagatctcc agtaccagcg acttccagaa gttctggcag aacctcgag	660
gagtgtttas atcgaacagt cacgtcatct tcgatgttat gaacgagcct cacgatattc	720
ccgccagac cgtgttccaa ctgaaccaaag ccgctgtcaa tggcatccgt gcgagcgtg	780
cgacgtcgca gctcattctg gtcgagggca caagctggac tggagcctgg acctggacga	840
cctctggcaa cagcgatgca ttcgggtgca ttaaggatcc caacaacaac gtccgatcc	900
agatgcatca gtacctggat agcgatggct ctggcacttc gcagacctgc gtgtctcca	960
ccatcgggtc cgagcggttg caggctgoga ctcaatggtt gaagcagaac aacctcaagg	1020
gcttctctgg cgagatcggc gccggctcta actccgcttg catcagcgt gtgcagggtg	1080
cgttctgttc gatgcagcaa tctgggtgtg ggtcgggagc tctctggtgg gctgcgggac	1140
cgtggtgggg cgactactac cagtccatcg agccgcctc tggcccgggg gtgtccgca	1200
5 tactaacgca ggcactgctg acgttagagt aa	1232

<210> 16

<211> 397

<212> PRT

10 <213> Basidiomycete CBS 495.95

<400> 16

ES 2 563 209 T3

Met Lys Ser Leu Phe Leu Ser Leu Val Ala Thr Val Ala Leu Ser Ser
1 5 10 15

Pro Val Phe Ser Val Ala Val Trp Gly Gln Cys Gly Gly Ile Gly Phe
 20 25 30

Ser Gly Ser Thr Val Cys Asp Ala Gly Ala Gly Cys Val Lys Leu Asn
 35 40 45

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

ES 2 563 209 T3

```

ggasagcgtc agtatggtga aatttgccgt tgtggcaact gtcggcgcas tcttgagcgc      60
ttctgcccgc aatgcccgtt ctatctacca gcaatgtgga ggcattggat ggtctgggtc      120
cactgtttgc gaagccggtc togcttgogt tatactcaat gogtactact ttoagtgott      180
gacgcccgcg gcggggccaga caacgcaggg ctccggcgcg ccggcgtcas catcaacctc      240
tcactcaacg gtcactacgg ggagctcaca ctcaacaacc gggacgcagc cgacgaaaac      300
aactaccact ccgtcgacca caacgacct acccgccatc tctgtgtctg gtcggctctg      360
ctctggctcc aggacgaagt tcaagttctt cgggtgtgaat gaaagcggcg ccgaattcgg      420
gaacactgct tggccagggc agctcgggaa agactataca tggccttcgc ctagcagcgt      480
ggactacttc atgggggctg gattcaatac attccgtatc accttcttgs tggagcgtat      540
gagccctccg gctaccggac tcaactggccc attcaaccag acgtacctgt cgggacctcac      600
caccattgto gaactaatca cgaacaaagg aggatacgtt attattgacc cccacaactt      660
catgcgttac aacaacggca taatcagcag cacatctgac ttccggactt ggtggagcaa      720
tttggccact gtattcaaat ccacgaagaa cggcatcttc gacatccaga acgagccgta      780
cgyaatcgat gcgcagacgg tatacgaact gaatcaagct gccatcaatt cgatccggcg      840
cgctggcgtc acgtcaacgt tgattotggt tgaaggaaog tcatacaactg gagottggac      900
gtgggtotcg tcoggaaaog gagctgcttt ccgggcogtt accgatacctt acaacaacac      960
ggcaattgaa atgcaacaat acctcgacag cgaoggttot gggacaaaog aagactgtgt      1020
ctcctccacc attgggtcgc aaogtctcca agctgccaat gogtggctgc aacaacaggg      1080
actcaagggg ttctctggag agacgggtgc tgggtcgaat tcccagtgca tcgacgcctg      1140
gttcgatgaa ctttgcctata tcgaacagca aggcggctcc tggatcggtg cactctggtg      1200
ggctgcccgt ccttgggtgg gcaogtacct ttactcgatt gaacctccga gcgggtgcgc      1260
tatcccagaa gtaocttact agggctotogc tcaattactc tag      1303

```

- <210> 18
- <211> 429
- <212> PRT
- <213> *Basidiomycete* CBS 495.95
- <400> 18

ES 2 563 209 T3

Met Val Lys Phe Ala Leu Val Ala Thr Val Gly Ala Ile Leu Ser Ala
 1 5 10 15

Ser Ala Ala Asn Ala Ala Ser Ile Tyr Gln Gln Cys Gly Gly Ile Gly
 20 25 30

Trp Ser Gly Ser Thr Val Cys Asp Ala Gly Leu Ala Cys Val Ile Leu
 35 40 45

Asn Ala Tyr Tyr Phe Gln Cys Leu Thr Pro Ala Ala Gly Gln Thr Thr
 50 55 60

Thr Gly Ser Gly Ala Pro Ala Ser Thr Ser Thr Ser His Ser Thr Val
 65 70 75 80

Thr Thr Gly Ser Ser His Ser Thr Thr Gly Thr Thr Ala Thr Lys Thr
 85 90 95

Thr Thr Thr Pro Ser Thr Thr Thr Thr Leu Pro Ala Ile Ser Val Ser
 100 105 110

Gly Arg Val Cys Ser Gly Ser Arg Thr Lys Phe Lys Phe Phe Gly Val
 115 120 125

Asn Glu Ser Gly Ala Glu Phe Gly Asn Thr Ala Trp Pro Gly Gln Leu
 130 135 140

Gly Lys Asp Tyr Thr Trp Pro Ser Pro Ser Ser Val Asp Tyr Phe Met
 145 150 155 160

Gly Ala Gly Phe Asn Thr Phe Arg Ile Thr Phe Leu Met Glu Arg Met
 165 170 175

Ser Pro Pro Ala Thr Gly Leu Thr Gly Pro Phe Asn Gln Thr Tyr Leu
 180 185 190

Ser Gly Leu Thr Thr Ile Val Asp Tyr Ile Thr Asn Lys Gly Gly Tyr

<400>19

```

agccccccgt tcagggcacac ttggcatcag atcagcttag cagcgcctgc acagcatgaa      60
gctctcgcag tcggccgggc tggcggcaact caccggcagc gcgctcgcgg cccctcggc      120
cacgacggcg caggcgccga ggcaggcttc agcggctgc togtctgggg tcaagctoga      180
cgccagcacc aacgtttgga sgaagtacac gctgcacccc sacagctact accgcaagga      240
ggttgaggcc gcggtggcgc agatctcggc cccggacctc gccgccaaag ccaagaaggt      300
ggccgacgtc ggcaccttc tctggctoga ctcgatcgag aacatcggca agctggagcc      360
ggcgatccag gacgtgccct gcgagaacat cctgggcctg gtcactacg acctgccggg      420
ccgcgactgc gcggccaagg cgtccaacgg cgagctcaag gtcggcgaga tcgaccgcta      480
caagaccgag tacatcgaca gtgagtgtc cccccgggt tcgagaagag cgtgggggaa      540
agggaaaggg ttgactgact gacacggcgc actgcagaga tcgtgtcgat cctcaaggca      600
caccocaaac oggogttcgc gctggtcacc gagccggact agctgcocaa cctggtgacc      660
aacagcaact tggacacgtg ctcgagcagc gcgtcgggct accgcgaagg cgtggcttac      720
gccctcaaga acctcaacct gcccaacgtg atcatgtacc tcgacgccgg ccacggcggc      780
tggctcggct gggacggcaa cctgcagccc ggccgcgagc agctagccaa ggcgtacaag      840
aacgcgggct agoccaaaga gctcggggc ttctcgacca acgtggccgg ctggaactac      900
tggtgagatt ttttccatc caattttat tcaattata tcttagata caactatgag      960
ccccccctcc cccaaagacc caactgggtt ccggcttgat gactgggct ccttttccc      1020
gggcaaccag gatcaatcgc cggggaatt ctcccaggcg tcgacggca agtacaacaa      1080
gtgccagAAC gagaagatct acgtcagcac cttcggctcc gcgctccagt cggccggcat      1140
gcccaaccac gccatcgtcg saccggggcc caacggcgtc accggcctgc gcaaggagtg      1200
gggtgactgg tgcaacgtca acggtgcagg ttogttgtct tctttttct ctcttttgtt      1260
tgcaacgtct ggtccttttc sagcagccgt gtttggttgg gggagatgga ctccggctga      1320
tgttctgctt cctctctagg cttcggcgtg cgcaccgaga gcaacacggg cctcagactg      1380
gccgacggct tcgtgtgggt caagccggc ggcgagtcgg accgcaccag cgacagctcg      1440
tcgccgcgct acgacagctt ctgcggcaag gacgagcct tcaagccctc gcccgaggcc      1500
ggcacctgga acgaggccta cttcgagatg ctgctcaaga acgcctgccc gtcgttctaa      1560
gacggctccg catcatccgg                                     1580

```

5

<210> 20
 <211> 396
 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

10

ES 2 563 209 T3

<400> 20

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

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

ES 2 563 209 T3

Asn Lys Cys Gln Asn Glu Lys Ile Tyr Val Ser Thr Phe Gly Ser Ala
 275 280 285

Leu Gln Ser Ala Gly Met Pro Asn His Ala Ile Val Asp Thr Gly Arg
 290 295 300

Asn Gly Val Thr Gly Leu Arg Lys Glu Trp Gly Asp Trp Cys Asn Val
 305 310 315 320

Asn Gly Ala Gly Phe Gly Val Arg Pro Thr Ser Asn Thr Gly Leu Glu
 325 330 335

Leu Ala Asp Ala Phe Val Trp Val Lys Pro Gly Gly Glu Ser Asp Gly
 340 345 350

Thr Ser Asp Ser Ser Ser Pro Arg Tyr Asp Ser Phe Cys Gly Lys Asp
 355 360 365

Asp Ala Phe Lys Pro Ser Pro Glu Ala Gly Thr Trp Asn Glu Ala Tyr
 370 375 380

Phe Glu Met Leu Leu Lys Asn Ala Val Pro Ser Phe
 385 390 395

- <210> 21
- <211> 1203
- <212> ADN
- <213> *Thielavia terrestris*

5

<400>21

ES 2 563 209 T3

```

atgaagtacc tcaacctcct cgcagctctc ctgcctctcg ctctctctc cctcctgca      60
cccagcatcg aggcacagaca gtogaacgtc aacccatata toggcaagag ccgctctgtt      120
attaggtcgt acgccccaaa gcttgaggag acogtcagga ccttcacgca acgtggcgc      180
cagctcaacg ctgacaggac accgacggtg cagaacgttg cgaacttcgc ctggatctcg      240
gataccaatg gtattggagc cattcgacct ctctccaag atgctctcgc ccagcaggct      300
cgcaactggc agaaggctcat cgtccaaatc gtctctaca acctcccags tcgcgactgc      360
totgocaaag cctcgactgg agagttoaac gtaggaaacg accgtotoaa ccgatacaag      420
aactttgtca acaccatcgc ccgcgagctc tcgactgctg accctgacaa gctccacttt      480
gocctcctcc togaaaccga cgcacttgcc aacctogtoa ccaacgggaa tgccccagg      540
tgocgaatcg ccgctccccc ttacaaggag ggtatcgoot acacccctgc caacctgtcc      600
aagccccaac togaactota catogaagcc gcccacggtg gctggctcgg ctggaacgac      660
aacctccgcc ccttcgcccga actcttcaag gaagtctacg acctcgcccg ccgcatcaac      720
cccaacgcca aggtccgcgg cgtccccctc aacgtctcca actacaacce gtaccgcct      780
gaagtccgcg agcccttcac cgagtggaaq gacgcctggg accgagagccg ctacgtcaac      840
gtcctcaccg cgcacctcaa cgcctcggc ttctccggcg acttcatcgt tgaccaggga      900
cgcggtggca agggcgggat caggacggag tggggccagt ggtgcaactg taggaaogct      960
gggttcggta tcaggcctac tgccgatcag ggcgtgctcc agaaccggaa tctggatgcg      1020
attgtgtggg ttaagccggg tggagagctg gatggcaaga gtgatttgaa ctogaacagg      1080
tatgatccta cgtgcaggag tccggtggcg catgttcccg ctctgaggc tggccagtgg      1140
ttoaacagat atgttggtta cctogttttg aacgotaacg cccctattga gactaacctg      1200
taa                                                                                   1203

```

- <210> 22
- <211> 400
- <212> PRT
- <213> *Thielavia terrestris*
- <400> 22

ES 2 563 209 T3

Met Lys Tyr Leu Asn Leu Leu Ala Ala Leu Leu Ala Val Ala Pro Leu
 1 5 10 15

Ser Leu Ala Ala Pro Ser Ile Glu Ala Arg Gln Ser Asn Val Asn Pro
 20 25 30

Tyr Ile Gly Lys Ser Pro Leu Val Ile Arg Ser Tyr Ala Gln Lys Leu
 35 40 45

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

Ala Arg Thr Arg Thr Val Gln Asn Val Ala Thr Phe Ala Trp Ile Ser
 65 70 75 80

Asp Thr Asn Gly Ile Gly Ala Ile Arg Pro Leu Ile Gln Asp Ala Leu
 85 90 95

Ala Gln Gln Ala Arg Thr Gly Gln Lys Val Ile Val Gln Ile Val Val
 100 105 110

Tyr Asn Leu Pro Asp Arg Asp Cys Ser Ala Asn Ala Ser Thr Gly Glu
 115 120 125

Phe Thr Val Gly Asn Asp Gly Leu Asn Arg Tyr Lys Asn Phe Val Asn
 130 135 140

Thr Ile Ala Arg Glu Leu Ser Thr Ala Asp Ala Asp Lys Leu His Phe
 145 150 155 160

Ala Leu Leu Leu Glu Pro Asp Ala Leu Ala Asn Leu Val Thr Asn Ala
 165 170 175

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

<210> 23
 <211> 1501
 <212> ADN
 <213> *Thielavia terrestris*

<400> 23

ES 2 563 209 T3

gccgttgtca agatgggcca gaagacgctg cacggattcg ccgcccaggc tttggccggt 60
 ctcccctttg tgaaggctca gcagcccggc aacttcaagg cggagggtgc cccgcaactg 120
 ccaaogtgga agtgcaogac ogcoggoggc tgogttoagc aggacaatto ggtggtgctc 180
 gactggaaact accggttggat ccacaatgcc gacggcaacg cctcgtgcac gacgtccaagc 240
 ggggtcgacc acacgctgtg tccagatgag gcgacctgcg cgaagaactg cttcgtggaa 300
 ggcgtcaact acacgagcag cgggtgtcacc acatccggca gttcgcctgac gatgaggcag 360
 tatttcaagg ggagcaacgg gcagaccaac agcgtttcgc ctcgtctcta cctgctcggc 420
 tgggatggaa actaogtaat gctcaagctg ctogggccagg agctgagctt cgatgtcgat 480
 ctctccacgc tcccctgcgg ogagaacggc gogotgtacc tgtaogagat ggaogogacc 540
 ggtggcagga accagtaaca cacoggcggg gcccaactaag gctcgggcta ctgtgacgcc 600
 cagtgctccg tgcagacgtg gatgaacggc acgctgaaca ccaacgggca gggctactgc 660
 tgcaacgaga tggacatcct cgagggccaac tcccggcca acgogatgac acctcaccoc 720
 tgcgccaacg gcagctgcga caagagcggg tgcggactca acccctacgc cgagggtac 780
 aagagctact acggacgggg cctcacggtt gacacgtcga agcccttcac catcattacc 840
 ogottcoatc ccgaogacgg caogaacagc ggaacocctca accagatcca goggatotat 900
 gtgcagaatg gcaagaoggt ogcgtoggtt gogtcoggag gogacatcat caoggoatoc 960
 ggctgcacct cggcccaggc gttcggcggg ctggccaaca tgggogcggc gcttggacgg 1020
 ggoatggtgc tgaccttcag catctggaa cgaogctggg gctacatgaa ctggotogac 1080
 agcggcaaca accggccogt cagcagcacc gagggcaacc cgtccaacat cctggccaac 1140
 taccgggaca ccaogtggc cttctccaac atccogctgg gagacatcgg ctcgacggtc 1200
 caggtctcgg gagggggcaa cggcggctcg accaccacca cgtcgaccac cacgctgagg 1260
 acctogacca ogaccaccac caocgocccg acggocactg caacgcaactg gggacaatgc 1320
 ggcggaatcg gggtaogtca accgcctcct gcattctgtt gaggaagttc actaacgtgg 1380
 cctacgcagt ggactggacc gacogtotgc gaatogcogt acgcatgcaa ggagotgaa 1440
 ccctggtact accagtgcc ctaagttatt gcagtgaagc catactccgt gctcggcatg 1500
 g 1501

5 <210> 24
 <211> 464
 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

10 <400> 24

ES 2 563 209 T3

Met Gly Gln Lys Thr Leu His Gly Phe Ala Ala Thr Ala Leu Ala Val
1 5 10 15

Leu Pro Phe Val Lys Ala Gln Gln Pro Gly Asn Phe Thr Pro Glu Val
20 25 30

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

ES 2 563 209 T3

Leu Asn Gln Ile Gln Arg Ile Tyr Val Gln Asn Gly Lys Thr Val Ala
 290 295 300

Ser Ala Ala Ser Gly Gly Asp Ile Ile Thr Ala Ser Gly Cys Thr Ser
 305 310 315 320

Ala Gln Ala Phe Gly Gly Leu Ala Asn Met Gly Ala Ala Leu Gly Arg
 325 330 335

Gly Met Val Leu Thr Phe Ser Ile Trp Asn Asp Ala Gly Gly Tyr Met
 340 345 350

Asn Trp Leu Asp Ser Gly Asn Asn Gly Pro Cys Ser Ser Thr Glu Gly
 355 360 365

Asn Pro Ser Asn Ile Leu Ala Asn Tyr Pro Asp Thr His Val Val Phe
 370 375 380

Ser Asn Ile Arg Trp Gly Asp Ile Gly Ser Thr Val Gln Val Ser Gly
 385 390 395 400

Gly Gly Asn Gly Gly Ser Thr Thr Thr Thr Ser Thr Thr Thr Leu Arg
 405 410 415

Thr Ser Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ala Pro Thr Ala Thr Ala Thr His
 420 425 430

Trp Gly Gln Cys Gly Gly Ile Gly Trp Thr Gly Pro Thr Val Cys Glu
 435 440 445

Ser Pro Tyr Ala Cys Lys Glu Leu Asn Pro Trp Tyr Tyr Gln Cys Leu
 450 455 460

<210> 25
 <211> 1368
 <212> ADN
 <213> *Thielavia terrestris*

<400> 25

5

accgatccgc tcgaagatgg ccgccaaagtc tacagttctg gccgcctggc tgctctcctc 60
 gctggccgcg gcccaqcaga tcggcaaaagc cgtgcccgag gtccacccca aactgacaac 120
 gcagaagtgc actctcogcg gggggtgcaa gootgtcogc aootcggctg tgctogactc 180
 gtccgcgcgc tcgctgcaca aggtcgggga ccccaacacc agctgcagcg tcggcggcga 240
 cctgtgctcg gaocogaagt cgtgcggcaa gaactgcogc atogagggcg togactaocg 300
 ggcaccacggc gtggcgacca agggcgagcg cctcacgctg caccagtggc tcaagggggc 360
 cgacggcacc tacaggaccg tctcgcgcg cgtatacctc ctgggcgagc accgggaagaa 420
 ctacgaggac ttcaagctgc tcaacgcoga gctcagctc gacgtcagcg tgtcccagct 480
 cgtctgcggc atgaacggcg cccctgtactt ctccgagatg gagatggagc ggggcgcagc 540
 ccgctgaaac ccggcggggcg ccacgtacgg cacgggctac tgcgacgcgc agtgcccca 600
 gttggaactt atcaacggcg aggtatttat tttttttttt gttttttttt tccatogatt 660
 tttotgaccg gaatcggcc ttttagctca acaaaaaca caagtaaggg gogtgotgca 720
 acgagatgga catctgggag gccaaogcg tggogcaggc gtcacgcog caccogtga 780
 accgcagcgc ggtgtacaag tgcgacacgc cggacgagtg cgggcagccg gtcggcgtgt 840
 gcgacgaatg ggggtgctcg tacaacccgt ccaacttcgg ggtcaaggac tactacggc 900
 gcaacctgac ggtggacacg aaccgcaagt tcacggtgac gacgcagttc gtgacgtcca 960
 accggcggggc ggaacggogag ctgaccgaga tccggcggct gtacgtgcag gacggcgtgg 1020
 tgatccagaa ccacgcggtc accggcggcg gggcgacgta cgacagcatc accgacggct 1080
 tetgcaacgc gacggccacc tggacgcagc agcggggcgg gctcgcgcgc atgggcgagc 1140
 ccacggccg cggcatggtg ctcatcttca gctgtgggt tgacaacggc ggcttcatga 1200
 aotggctoga cagcggcaac gccgggcaat gcaacgcac acgagggogac ccggcaotga 1260
 tootgcagca gcaccoggac gccagcgtca cattotcaa catcogatgg ggcgagatcg 1320
 gcagcaacta caagagogag tgcagcaact agagtagaga ttgtaatt 1368

5 <210> 26
 <211> 423
 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

10 <400> 26

ES 2 563 209 T3

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

Ala Ala Ala Gln Gln Ile Gly Lys Ala Val Pro Glu Val His Pro Lys
 20 25 30

Leu Thr Thr Gln Lys Cys Thr Leu Arg Gly Gly Cys Lys Pro Val Arg
 35 40 45

Thr Ser Val Val Leu Asp Ser Ser Ala Arg Ser Leu His Lys Val Gly
 50 55 60

Asp Pro Asn Thr Ser Cys Ser Val Gly Gly Asp Leu Cys Ser Asp Ala
 65 70 75 80

Lys Ser Cys Gly Lys Asn Cys Ala Leu Glu Gly Val Asp Tyr Ala Ala
 85 90 95

His Gly Val Ala Thr Lys Gly Asp Ala Leu Thr Leu His Gln Trp Leu

ES 2 563 209 T3

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

ES 2 563 209 T3

Asn Gly Gly Phe Met Asn Trp Leu Asp Ser Gly Asn Ala Gly Pro Cys
 370 375 380

Asn Ala Thr Glu Gly Asp Pro Ala Leu Ile Leu Gln Gln His Pro Asp
 385 390 395 400

Ala Ser Val Thr Phe Ser Asn Ile Arg Trp Gly Glu Ile Gly Ser Thr
 405 410 415

Tyr Lys Ser Glu Cys Ser His
 420

<210> 27
 <211> 1011
 <212> ADN
 <213> *Thielavia terrestris*

5

<400> 27

atgaccctac ggctccctgt cctcagcctg ctggcctcgc tggcagcagg cgccctcgtc 60
 gtcccacggg cggagtttca cccccctctc ccgacttqga aatgcacgac ctccgggggc 120
 tqcgtgcagc agaacaccag cgtcgtcctg gaccgtgact cgaagtacgc cgcacacagc 180
 gccggctcgc ggacgggaatc ggattaacgc gcaatgggag tgtacaatto gggcaatgac 240
 gtgacgctgt accactacgt caagaccaac ggcaccctcg tcccgccttc gccgcgcctc 300
 tacctcctgg gcgcgggacgg caagtaacgt ctttatggacc tccctcaacc ggagctgtcg 360
 gtggacgtcg acttctcggc gctgcctgac ggcgagaacg gggccttcta cctgtccgag 420
 atggcggcgg acgggcgggg cgaacggggg gcgggcgacg ggtactgoga cgcgcagtg 480
 cagggctact gotgcaacga gatggacatc ctogaggcca actgatggc gacggccatg 540
 acgccgcacc cgtgcaaggc caacaactgc gaccgcagcg gctgcggcta caaccctac 600
 gccagcggcc agcgcggcctt ctacgggccc ggcagaaggg togacaagag caagcccttc 660
 accgtcgtca cgcagttcgc cgcacgcggc ggcgaagctga ccagatcac ccgcaagtac 720
 atccagaacg gcggggagat cggcggcggc ggcaccatct ccagatggcg ctccagatct 780
 tcgacgggcg gcctgaccgg catgggcgag gcgctggggc gcggaatggt gctggccatg 840
 agcatctgga acgacgcggc ccaggagatg gcatggctcg atgcggcaa caacggccct 900
 tgccgcagtg gccagggcag cccgtccttc attcagtcgc agcatccoga cccccagtc 960
 gtcttctcca acatcaggtg gggcgacatc gggctacca cgaagaacta g 1011

10

<210> 28
 <211> 336
 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

15

<400> 28

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

Gly Ala Val Val Val Pro Arg Ala Glu Phe His Pro Pro Leu Pro Thr
20 25 30

Trp Lys Cys Thr Thr Ser Gly Gly Cys Val Gln Gln Asn Thr Ser Val
35 40 45

Val Leu Asp Arg Asp Ser Lys Tyr Ala Ala His Ser Ala Gly Ser Arg
50 55 60

Thr Glu Ser Asp Tyr Ala Ala Met Gly Val Ser Thr Ser Gly Asn Ala
65 70 75 80

Val Thr Leu Tyr His Tyr Val Lys Thr Asn Gly Thr Leu Val Pro Ala
85 90 95

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

Asp Leu Leu Asn Gln Glu Leu Ser Val Asp Val Asp Phe Ser Ala Leu
115 120 125

Pro Cys Gly Glu Asn Gly Ala Phe Tyr Leu Ser Glu Met Ala Ala Asp
130 135 140

Gly Arg Gly Asp Ala Gly Ala Gly Asp Gly Tyr Cys Asp Ala Gln Cys
145 150 155 160

Gln Gly Tyr Cys Cys Asn Glu Met Asp Ile Leu Glu Ala Asn Ser Met
165 170 175

Ala Thr Ala Met Thr Pro His Pro Cys Lys Gly Asn Asn Cys Asp Arg
180 185 190

Ser Gly Cys Gly Tyr Asn Pro Tyr Ala Ser Gly Gln Arg Gly Phe Tyr
195 200 205

Gly Pro Gly Lys Thr Val Asp Thr Ser Lys Pro Phe Thr Val Val Thr
210 215 220

Gln Phe Ala Ala Ser Gly Gly Lys Leu Thr Gln Ile Thr Arg Lys Tyr
225 230 235 240

Ile Gln Asn Gly Arg Glu Ile Gly Gly Gly Thr Ile Ser Ser Cys
245 250 255

ES 2 563 209 T3

Gly Ser Glu Ser Ser Thr Gly Gly Leu Thr Gly Met Gly Glu Ala Leu
260 265 270

Gly Arg Gly Met Val Leu Ala Met Ser Ile Trp Asn Asp Ala Ala Gln
275 280 285

Glu Met Ala Trp Leu Asp Ala Gly Asn Asn Gly Pro Cys Ala Ser Gly
290 295 300

Gln Gly Ser Pro Ser Val Ile Gln Ser Gln His Pro Asp Thr His Val
305 310 315 320

Val Phe Ser Asn Ile Arg Trp Gly Asp Ile Gly Ser Thr Thr Lys Asn
325 330 335

<210> 29

<211> 1480

<212> ADN

<213> *Cladorrhinum foecundissimum*

<400> 29

5

ES 2 563 209 T3

gatccgaatt cctcctctcg ttcttttagtc acagaccaga catctgccca cgtatggttca 60
caagttcgcc ctactaacag gaactgacgc ctccctcgca tctgcccaga agataggcac 120
cgtcgtcccc gagtctcacc ccaagcttcc caccsaagggc tgcactctcg ccggtggctg 180
ccagaccgtc gacacctcca tggtcctoga cgccttccag cgtcccctcc acaagatcgg 240
cgacccttcc actccttggg tggtcggggc cctctctctgc cccgacgcca agtcctgccc 300
tgagaactgc gcgctcgagg gtgtcgacta tgccctctgg gccatcaaga ccgagggcga 360
cgccctaact ctcaaccagt ggatgcccga cccggcgaac cctggccagt acaagacgac 420
tactcccgtt aotttaottg ttgtgagga cggcaagaac taagaggatg tgaagctcct 480
ggctaaggag atctcgtttg atgcccgatg cagcaacctt cctgcccga tgaacgggtc 540
tttctacttg tctgagatgt tgatggatgg tggacgtggc gacctcaacc ctgctgggtc 600
cgagtatggt accggttact gtgatgcgca gtgcttcaag ttggatttca tcaacggcga 660
ggccaacatc gaccaaaagc accggcctcg ctgcaacgaa atggacattt tgaatccaa 720
ctcgcgcgca aagaccttgg tcccccaacc ctgcaacatc acgcaggctt acaagtgcga 780
aggcgaagac gagtggggcc agcccttggc cgtgtgcgac aagtgggggt ggggcttcaa 840
cgagtacaaa tggggcgtcg agtccttcta cggccggggc tgcagttcg ccctcgactc 900
ctccaagaag ttcaaccgtc ccacgcagtt cctgaccgac aacggcaagg aggcggcgt 960
cctcgtcagc atccgcctct tgtggcacca ggtggcaag ctgatcaaga acaccgctat 1020
ccaggttgag gagaactaca gcacggactc ggtgagcacc ggttctgcg agaagactgc 1080
ttctttcacc atgcagcggc gtggtctcaa ggogatgggc gaggctatcg gtcgtggtat 1140
ggtgctggtt ttcagcatct gggcggatga ttccgggttt atgaactggt tggatgcgga 1200
gggtaatggc ccttgcagcg cgaactgagg cgtaccgaag gagattgtca agaataagcc 1260
ggatgctagg gttacgttct caaacattag gattggtgag gttggtagca cgtatgctcc 1320
gggtgggaag tgcgggtgta agagcagggc tgetaggggg ctactgctt ctttaagggg 1380
gtgtgaaagc aggaggaggc gttggtgggg gttggagatg ataattgggc gagatggtgt 1440
agagcgggtt ggttggatat gaatacgttg aattggatgt 1480

<210> 30
<211> 440
<212> PRT
<213> *Cladorrhinum foecundissimum*
<400> 30

5

ES 2 563 209 T3

Met Val His Lys Phe Ala Leu Leu Thr Gly Leu Ala Ala Ser Leu Ala
1 5 10 15

Ser Ala Gln Gln Ile Gly Thr Val Val Pro Glu Ser His Pro Lys Leu
20 25 30

Pro Thr Lys Arg Cys Thr Leu Ala Gly Gly Cys Gln Thr Val Asp Thr
35 40 45

Ser Ile Val Ile Asp Ala Phe Gln Arg Pro Leu His Lys Ile Gly Asp
50 55 60

Pro Ser Thr Pro Cys Val Val Gly Gly Pro Leu Cys Pro Asp Ala Lys
65 70 75 80

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

Gly Ile Lys Thr Glu Gly Asp Ala Leu Thr Leu Asn Gln Trp Met Pro
100 105 110

Asp Pro Ala Asn Pro Gly Gln Tyr Lys Thr Thr Thr Pro Arg Thr Tyr
115 120 125

Leu Val Ala Glu Asp Gly Lys Asn Tyr Glu Asp Val Lys Leu Leu Ala
130 135 140

Lys Glu Ile Ser Phe Asp Ala Asp Val Ser Asn Leu Pro Cys Gly Met
145 150 155 160

Asn Gly Ala Phe Tyr Leu Ser Glu Met Leu Met Asp Gly Gly Arg Gly
165 170 175

Asp Leu Asn Pro Ala Gly Ala Glu Tyr Gly Thr Gly Tyr Cys Asp Ala
180 185 190

Gln Cys Phe Lys Leu Asp Phe Ile Asn Gly Glu Ala Asn Ile Asp Gln
 195 200 205

Lys His Gly Ala Cys Cys Asn Glu Met Asp Ile Phe Glu Ser Asn Ser
 210 215 220

Arg Ala Lys Thr Phe Val Pro His Pro Cys Asn Ile Thr Gln Val Tyr
 225 230 235 240

Lys Cys Glu Gly Glu Asp Glu Cys Gly Gln Pro Val Gly Val Cys Asp
 245 250 255

Lys Trp Gly Cys Gly Phe Asn Glu Tyr Lys Trp Gly Val Glu Ser Phe
 260 265 270

Tyr Gly Arg Gly Ser Gln Phe Ala Ile Asp Ser Ser Lys Lys Phe Thr
 275 280 285

Val Thr Thr Gln Phe Leu Thr Asp Asn Gly Lys Glu Asp Gly Val Leu
 290 295 300

Val Glu Ile Arg Arg Leu Trp His Gln Asp Gly Lys Leu Ile Lys Asn
 305 310 315 320

Thr Ala Ile Gln Val Glu Glu Asn Tyr Ser Thr Asp Ser Val Ser Thr
 325 330 335

Glu Phe Cys Glu Lys Thr Ala Ser Phe Thr Met Gln Arg Gly Gly Leu
 340 345 350

Lys Ala Met Gly Glu Ala Ile Gly Arg Gly Met Val Leu Val Phe Ser
 355 360 365

Ile Trp Ala Asp Asp Ser Gly Phe Met Asn Trp Leu Asp Ala Glu Gly
 370 375 380

Asn Gly Pro Cys Ser Ala Thr Glu Gly Asp Pro Lys Glu Ile Val Lys
 385 390 395 400

Asn Lys Pro Asp Ala Arg Val Thr Phe Ser Asn Ile Arg Ile Gly Glu
 405 410 415

Val Gly Ser Thr Tyr Ala Pro Gly Gly Lys Cys Gly Val Lys Ser Arg
 420 425 430

Val Ala Arg Gly Leu Thr Ala Ser
 435 440

ES 2 563 209 T3

<211> 1380
 <212> ADN
 <213> *Trichoderma reesei*

5 <400> 31
 atggcgccct cagttacact gccgttgacc acggccatcc tggccattgc ccggctcgtc 60
 gccgcccagc aaccgggtac cagcaacccc gaggtccatc ccaagttgac aacctacaag 120
 tgtacaagt ccggggggtg cgtggcccag gacacctcgg tggtccttga ctggaactac 180
 cgctggatgc acgacgcaaa ctacaactcg tgcaccgtca acggcggcgt caacaccacg 240
 ctctgccctg acgaggcgac ctgtggcaag aactgcttca tcgaggcgt cgactacgcc 300
 gectcggggc tcacgaacct gggcagcagc ctccacctga accagtacat gcccaagcgc 360
 tctggcggct acagcagcgt ctctcctcgg ctgtatctcc tggactctga cggtgagtac 420
 gtgatgctga agctcaacgg ccaggagctg agcttcgacg tcgacctctc tgctctgccg 480
 tgtggagaga acggctcgtc ctacctgtct cagatggacg agaacggggg cgccaaccag 540
 tataacacgg ccggtgccc aacacgagc ggctactcgg atgctcagtg ccccgctccag 600
 acatggagga acggcaacct caaacatagc caccagggtt tctgatgcaa cgagatggat 660
 atcctggagg gcaactogag ggogaatgac ttgacccctc actattgca cggcaaggcc 720
 tgogaacttg ccggttgogg attcaacccc tatggcagcg gotacaaaag ctactacggc 780
 cccggagata ccggttgacac ctccaagacc ttcacctca tcaccagtt caacacggac 840
 aacggctcgc cctcgggcaa ccttgtgagc atcaccgcga agtaccagca aaacggcgtc 900
 gacatccccg gcgcccagcc cggcggcgac accatctcgt cctgcccgtc cgcctcagcc 960
 tacggcggcc tcgcccacct gggcaaggcc ctgagcagcg gcatgggtgt cgtgttcagc 1020
 atttggaacg acaacagcca gtacatgaa tggctcgaca gcggcaacgc cggcccctgc 1080
 agcagcaccg agggcaaccc atccaacatc ctggccaaca accccaacac gcacgtcgtc 1140
 ttctccaaca tcgctgggg agacattggg tctactacga actcgaactgc gcccccgcc 1200
 ccgctcgtt ccagcaagac gttttogact acaaggagga gotcgaagac ttcagcagc 1260
 ccgagctgca agcagaactc atgggggagc tgoggtggca ttgggtacag ccggtgcaag 1320
 acgtgcacgt cgggcactac gtgccagtat agcaacgact actactcga atgccttag 1380

<210> 32
 <211> 459
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*

<400> 32

10

15

Met Ala Pro Ser Val Thr Leu Pro Leu Thr Thr Ala Ile Leu Ala Ile
 1 5 10 15

Ala Arg Leu Val Ala Ala Gln Gln Pro Gly Thr Ser Thr Pro Glu Val
 20 25 30

His Pro Lys Leu Thr Thr Tyr Lys Cys Thr Lys Ser Gly Gly Cys Val
 35 40 45

Ala Gln Asp Thr Ser Val Val Leu Asp Trp Asn Tyr Arg Trp Met His
 50 55 60

Asp Ala Asn Tyr Asn Ser Cys Thr Val Asn Gly Gly Val Asn Thr Thr
 65 70 75 80

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

Val Asp Tyr Ala Ala Ser Gly Val Thr Thr Ser Gly Ser Ser Leu Thr
 100 105 110

Met Asn Gln Tyr Met Pro Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ser Ser Val Ser
 115 120 125

Pro Arg Leu Tyr Leu Leu Asp Ser Asp Gly Glu Tyr Val Met Leu Lys
 130 135 140

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

Cys Gly Glu Asn Gly Ser Leu Tyr Leu Ser Gln Met Asp Glu Asn Gly
 165 170 175

Gly Ala Asn Gln Tyr Asn Thr Ala Gly Ala Asn Tyr Gly Ser Gly Tyr
 180 185 190

Cys Asp Ala Gln Cys Pro Val Gln Thr Trp Arg Asn Gly Thr Leu Asn
 195 200 205

Thr Ser His Gln Gly Phe Cys Cys Asn Glu Met Asp Ile Leu Glu Gly
 210 215 220

Asn Ser Arg Ala Asn Ala Leu Thr Pro His Ser Cys Thr Ala Thr Ala
 225 230 235 240

Cys Asp Ser Ala Gly Cys Gly Phe Asn Pro Tyr Gly Ser Gly Tyr Lys
 245 250 255

Ser Tyr Tyr Gly Pro Gly Asp Thr Val Asp Thr Ser Lys Thr Phe Thr
 260 265 270

Ile Ile Thr Gln Phe Asn Thr Asp Asn Gly Ser Pro Ser Gly Asn Leu

ES 2 563 209 T3

atgtatcggg agttggccgt catctcggcc ttctttggcca cagctcgtgc tcagtcggcc 60
 tgcactctcc aatcgggagc tcacccgcct ctgacatggc agaatgctc gtctggtggc 120
 acgtgcactc aacagacagg ctccgtggtc atcgacgcca actggcgctg gactcacgct 180
 acgaacagca gcacgaactg ctacgatggc aacacttggg gctcgaacct atgtcctgac 240
 aacgagacct gcgcgaagaa ctgctgtctg gacggtggcg cctacgcgtc cacgtacgga 300
 gttaccacga gcggtaacag cctctccatt ggctttgtca cccagtctgc gcagaagaac 360
 gttggcgctc gcctttacct tatggcgagc gacacgacct accaggaatt caccctgctt 420
 ggcaacgagt tctctttcga tgttgatgtt tcgcagctgc cgtgcggctt gaacggagct 480
 ctctacttcg tgtccatgga cgcggatggt ggctgtgagc agtatcccac caacacgct 540
 ggcgccaaqt acggcacggg gtactgtgac agccagtgc cccgcgatct gaagtccatc 600
 aatggccagg ccaacgttga gggctgggag ccgtcatcca acaacgcgaa cacgggcatt 660
 ggaggacacg gaagctgctg ctctgagatg gatatctggg aggccaaactc catctccgag 720
 gotottaacc cccacccttg caccactgta ggccaggaga tctgogaggg tgatgggtgc 780
 ggcggaactt actccgataa cagatatggc ggcacttgcg atcccgatgg ctgcgactgg 840
 aacccatacc gcctgggcaa caacagcttc taaggccctg gctcaagctt taacctogat 900
 accaccaaga aattgacctt tgtcacccag ttcgagactg cgggtgccat caaccgatac 960
 tatgtccaga atggcgtcac tttccagcag cccaacgcgg agcttggtag ttactctggc 1020
 aacgagctca acgatgatta ctgcacagct gaggaggcag aattcggcgg atcctctttc 1080
 tcagacaagg gcggcctgac tcagttcaag aaggctacct ctggcggcat ggttctggtc 1140
 atgagtctgt gggatgatta ctacgccaac atgctgtggc tggactccac ctacccgaca 1200
 aacgagacct cctccacacc cgggtgcctg cggggaaagt gctccaccag ctccggtgta 1260
 cctgctcagg tcgaatctca gtctcccaac gccaaagtca cctctccaa cctcaagttc 1320
 ggaccctatt gcagcaccgg caaccctagc ggcggcaacc ctcccggcgg aaaccgcct 1380
 ggcaccacca ccaccgcggc cccagccact accactgga gctctcccg accctaccag 1440
 tctcactacg gccagtgcgg cggatattggc tacagcggcc ccacggtctg cgcacgccc 1500
 acaacttgcc aggtcctgaa cccttactac tctcagtgcc tgtaa 1545

- <210> 34
- <211> 514
- <212> PRT
- <213> *Trichoderma reesei*
- <400> 34

ES 2 563 209 T3

Met Tyr Arg Lys Leu Ala Val Ile Ser Ala Phe Leu Ala Thr Ala Arg
1 5 10 15

Ala Gln Ser Ala Cys Thr Leu Gln Ser Glu Thr His Pro Pro Leu Thr
20 25 30

Trp Gln Lys Cys Ser Ser Gly Gly Thr Cys Thr Gln Gln Thr Gly Ser
35 40 45

Val Val Ile Asp Ala Asn Trp Arg Trp Thr His Ala Thr Asn Ser Ser
50 55 60

Thr Asn Cys Tyr Asp Gly Asn Thr Trp Ser Ser Thr Leu Cys Pro Asp

Ser Tyr Ser Gly Asn Glu Leu Asn Asp Asp Tyr Cys Thr Ala Glu Glu
 340 345 350

Ala Glu Phe Gly Gly Ser Ser Phe Ser Asp Lys Gly Gly Leu Thr Gln
 355 360 365

Phe Lys Lys Ala Thr Ser Gly Gly Met Val Leu Val Met Ser Leu Trp
 370 375 380

Asp Asp Tyr Tyr Ala Asn Met Leu Trp Leu Asp Ser Thr Tyr Pro Thr
 385 390 395 400

Asn Glu Thr Ser Ser Thr Pro Gly Ala Val Arg Gly Ser Cys Ser Thr
 405 410 415

Ser Ser Gly Val Pro Ala Gln Val Glu Ser Gln Ser Pro Asn Ala Lys
 420 425 430

Val Thr Phe Ser Asn Ile Lys Phe Gly Pro Ile Gly Ser Thr Gly Asn
 435 440 445

Pro Ser Gly Gly Asn Pro Pro Gly Gly Asn Pro Pro Gly Thr Thr Thr
 450 455 460

Thr Arg Arg Pro Ala Thr Thr Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr Gln
 465 470 475 480

Ser His Tyr Gly Gln Cys Gly Gly Ile Gly Tyr Ser Gly Pro Thr Val
 485 490 495

Cys Ala Ser Gly Thr Thr Cys Gln Val Leu Asn Pro Tyr Tyr Ser Gln
 500 505 510

Cys Leu

<210> 35
 <211> 1611
 <212> ADN
 <213> *Trichoderma reesei*

5

<400> 35

ES 2 563 209 T3

atgattgtcg gcattctcac cacgctggct acgctggcca cactcgcagc tagtgtgcct 60
 ctaggaggagc ggaagcgttg ctcaagcgtc tggtaattat gtgaacccctc tcaagagacc 120
 caaatactga gatattgtcaa ggggccaatg tggtagccag aattggctcg gtccgacttg 180
 ctgtgattcc ggaagcacat gcgctctact caacgactat tactcccagt gtcttccogg 240
 cgctgcaagc tcaagctcgt ccacgcgcgc cgcgtcgacg acttctcgag tatccccac 300
 aacatccccg tcgagctccg cgaagcctcc acctggtct actactacca gagtacctcc 360
 agtcggatcg ggaacccgcta cgtattcagg caaccccttt gttggggta ctccttgggc 420
 caatgcatat taagcctctg aagttagcag cctcgtatt cctagcttga ctggagccat 480
 ggccactgct gcagcagctg tcgcaaggt tccctcttt atgtgctgt aggtctccc 540
 ggaaccaagg caatctgta ctgaaggctc atcattcact gcagagatac tcttgacaag 600
 acccctctca tggagcaaac ctggccgac atccgcaccg caacaagaa tggcggtaac 660
 tatgcgggac agtttctggt gtatgacttg ccggatcggc attgcgctgc ccttgccctg 720
 aatggcgaat actctattgc cgtatggtgc gtcccaaat ataagaacta tatcgacacc 780
 attcgtcaaa ttgtcgtgga stattccgat atccggacc tctcgttat tggatagct 840
 ttaaacacct gcctcccccc ccccttccct tcccttcccg ccggcatctt gtcgttctgc 900
 taactattgt tccctcttcc agagcctgac tctcttgcca acctggtgac caacctcggc 960
 actccaaagt gtgccaatgc tcagtcagcc taccttgagt gcctcaacta cgcgcgcaca 1020
 cagctgaacc ttccaaatgt tcgcatgtat ttggacgctg gccatgcagg atggcttggc 1080
 tggccggcaa accaagacc ggccgcctcag ctatttgcaa atgtttaca gaatgcctc 1140
 tctccgagag ctcttcggcg attggcaacc aatgtcgcca actacaacgg gtggaacatt 1200
 accagcccc catcgtcac gcaaggcaac gctgtctaca acgagaagct gtacatcac 1260
 gctattggac gtcttcttgc caatcacggc tggcccaacg ccttcttcat cactgatcaa 1320
 ggtcgtatcg gaaagcagcc tacccgacag caacagtgg gagactggtg caatgtgatc 1380
 ggcaccggat ttggtattcg cccatccgca aacactgggg actcgttgcg ggattcgttt 1440
 gtctgggtca agccagggcg cgaagtgtgac ggcaccagcg acagcagtgc gccacgattt 1500
 gactcccact gtgcgctccc agatgccttg caaccggcgc ctcaagctgg tgcttggttc 1560
 caagcctact ttgtgcagct tctcacaaac gcaaacccat cgttccctga a 1611

- <210> 36
- <211> 471
- <212> PRT
- <213> *Trichoderma reesei*
- <400> 36

ES 2 563 209 T3

Met Ile Val Gly Ile Leu Thr Thr Leu Ala Thr Leu Ala Thr Leu Ala
1 5 10 15

Ala Ser Val Pro Leu Glu Glu Arg Gln Ala Cys Ser Ser Val Trp Gly
20 25 30

Gln Cys Gly Gly Gln Asn Trp Ser Gly Pro Thr Cys Cys Ala Ser Gly
35 40 45

Ser Thr Cys Val Tyr Ser Asn Asp Tyr Tyr Ser Gln Cys Leu Pro Gly
 50 55 60

Ala Ala Ser Ser Ser Ser Ser Thr Arg Ala Ala Ser Thr Thr Ser Arg
 65 70 75 80

Val Ser Pro Thr Thr Ser Arg Ser Ser Ser Ala Thr Pro Pro Pro Gly
 85 90 95

Ser Thr Thr Thr Arg Val Pro Pro Val Gly Ser Gly Thr Ala Thr Tyr
 100 105 110

Ser Gly Asn Pro Phe Val Gly Val Thr Pro Trp Ala Asn Ala Tyr Tyr
 115 120 125

Ala Ser Glu Val Ser Ser Leu Ala Ile Pro Ser Leu Thr Gly Ala Met
 130 135 140

Ala Thr Ala Ala Ala Ala Val Ala Lys Val Pro Ser Phe Met Trp Leu
 145 150 155 160

Asp Thr Leu Asp Lys Thr Pro Leu Met Glu Gln Thr Leu Ala Asp Ile
 165 170 175

Arg Thr Ala Asn Lys Asn Gly Gly Asn Tyr Ala Gly Gln Phe Val Val
 180 185 190

Tyr Asp Leu Pro Asp Arg Asp Cys Ala Ala Leu Ala Ser Asn Gly Glu
 195 200 205

Tyr Ser Ile Ala Asp Gly Gly Val Ala Lys Tyr Lys Asn Tyr Ile Asp
 210 215 220

Thr Ile Arg Gln Ile Val Val Glu Tyr Ser Asp Ile Arg Thr Leu Leu
 225 230 235 240

Val Ile Glu Pro Asp Ser Leu Ala Asn Leu Val Thr Asn Leu Gly Thr
 245 250 255

Pro Lys Cys Ala Asn Ala Gln Ser Ala Tyr Leu Glu Cys Ile Asn Tyr
 260 265 270

Ala Val Thr Gln Leu Asn Leu Pro Asn Val Ala Met Tyr Leu Asp Ala
 275 280 285

Gly His Ala Gly Trp Leu Gly Trp Pro Ala Asn Gln Asp Pro Ala Ala
 290 295 300

Gln Leu Phe Ala Asn Val Tyr Lys Asn Ala Ser Ser Pro Arg Ala Leu

ES 2 563 209 T3

gdcgtgaect	tgcgcgcttt	gggtggcgg	ggcgcgtcgt	ggacgggtget	tgctggtegc	60
cggccttccc	ggcgatccgc	gtgatgagag	ggccaccaac	ggcgggatga	tgctccatgg	120
ggaacttccc	catggagaag	agagagaaa	ttgoggagcc	gtgatctggg	gaaagatgot	180
ccgtgtctcg	totatataac	togagtctcc	ccgagccctc	aacaccacca	gctctgatct	240
caccatcccc	atogacaata	acgcaaacac	agcagttgtc	gggcaattcc	ttcagacaca	300
tcagtcaccc	tccttcaaaa	tgcgtaaccg	caagttcgcc	accctcgccg	cccttgtggc	360
ctcggccccc	gcccaqccgg	cgtgcagttc	caccaccgag	aggcaccctt	ccctctcttg	420
gaacaagtgc	accgcggggc	gccagtgcca	gaccgtccag	gcttccatca	ctctcgactc	480

ES 2 563 209 T3

caactggcgc tggactcacc aggtgtctg ctccaccaac tgctacacgg gcaacaagtg 540
 ggatactagc atctgcaactg atgccaagtc gtgcgctcag aactgctgcg tggatggtgc 600
 cgaactacacc agcaacctatg gcatcaccac caacgggtgat tcoctgagcc toaagttoqt 660
 caccaagggc cagcaactcga ccaacgtcgg ctgcgctacc tacctgatgg acggcggagga 720
 caagtatcag agtacgttct atcttcagcc ttctgcgccc ttgaatcctg gctaaccgtt 780
 acacttcaca gccttcgagc tccctcgcca cgagttcacc ttcgatgtcg atgtctccaa 840
 catcggctgc ggtctcaacg gggccctgta ctctgtctcc atggacgccc atggtggtct 900
 cagccgctat cctggcaaca aggtggtgc caagtacggt accggctact gcgatgctca 960
 gtgccccgct gacatcaagt tcatcaacgg cgaggccaac attgagggct ggaccggctc 1020
 caccaacgac cccaacgccc ggcggggccc ctatggctacc tgctgctctg agatggatat 1080
 ctgggaagcc acaaacatgg ctactgcctt caatcctcac ccttgcaaca tcattggcca 1140
 gagccgctgc gagggcgact cgtgcggtgc cacctacagc aacgagcgt acgcccggct 1200
 ctgcgacccc gatggctgcg acttcaactc gtaccgcccag ggcaacaaga ccttctacgg 1260
 caagggcatg accgtcgaca ccaccaaga gatcaactgc gtcaccagct tccctcaagga 1320
 tgccaaagcc gatctgggg agatcaagcg cttctagctc caggatggca agatcatccc 1380
 caactccgag tccaccatcc ccggcgctga gggcaattcc atcaccagc actggtgoga 1440
 ccgcccgaag gttgcctttg gggacattga cgaattcaac cgcagggggc gcatgaagca 1500
 gatgggcaag gccttcgccc gcccactggt cctggctaatg tccatctggg atgaccacgc 1560
 ctccaacatg ctctggctcg actcgacctt cctgtctgat gccgctggca agcccggcgc 1620
 cgagcgcggt gcctgcccga ccacctcggg tgtccctgct gaggttgagg ccgagggccc 1680
 caacagcaac gtgctcttct ccaacatccg cttcggcccc atcggctcga ccgttgctgg 1740
 tctccccggc gcgggcaacg ggggcaasca cggcggcaac ccccccccc ccaccaccac 1800
 cacctcctcg gctccggcca ccaccaccac cgcacgctct ggccccagg ctggccgctg 1860
 gcagcagtcg gggggcatcg gcttcaactg cccgaccagc tgggaggagc cctacatttg 1920
 caccaagctc aacgactggt actctcagtg cctgtaaatt ctgagtcgct gactcgacga 1980
 tcacggccgg tttttgcatg aaaggaaaca aacgaccgcy ataaaantgg agggtaatga 2040
 gatgctc 2046

<210> 38
 <211> 525
 <212> PRT
 <213> *Humicola insolens*

<400> 38
 Met Arg Thr Ala Lys Phe Ala Thr Leu Ala Ala Leu Val Ala Ser Ala
 1 5 10 15

Ala Ala Gln Gln Ala Cys Ser Leu Thr Thr Glu Arg His Pro Ser Leu
 20 25 30

Ser Trp Asn Lys Cys Thr Ala Gly Gly Gln Cys Gln Thr Val Gln Ala
 35 40 45

Ser Ile Thr Leu Asp Ser Asn Trp Arg Trp Thr His Gln Val Ser Gly
 50 55 60

Ser Thr Asn Cys Tyr Thr Gly Asn Lys Trp Asp Thr Ser Ile Cys Thr
 65 70 75 80

Asp Ala Lys Ser Cys Ala Gln Asn Cys Cys Val Asp Gly Ala Asp Tyr
 85 90 95

Thr Ser Thr Tyr Gly Ile Thr Thr Asn Gly Asp Ser Leu Ser Leu Lys
 100 105 110

Phe Val Thr Lys Gly Gln His Ser Thr Asn Val Gly Ser Arg Thr Tyr
 115 120 125

Leu Met Asp Gly Glu Asp Lys Tyr Gln Thr Phe Glu Leu Leu Gly Asn
 130 135 140

Glu Phe Thr Phe Asp Val Asp Val Ser Asn Ile Gly Cys Gly Leu Asn
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Tyr Phe Val Ser Met Asp Ala Asp Gly Gly Leu Ser Arg
 165 170 175

Tyr Pro Gly Asn Lys Ala Gly Ala Lys Tyr Gly Thr Gly Tyr Cys Asp
 180 185 190

Ala Gln Cys Pro Arg Asp Ile Lys Phe Ile Asn Gly Glu Ala Asn Ile
 195 200 205

Glu Gly Trp Thr Gly Ser Thr Asn Asp Pro Asn Ala Gly Ala Gly Arg
 210 215 220

Tyr Gly Thr Cys Cys Ser Glu Met Asp Ile Trp Glu Ala Asn Asn Met
 225 230 235 240

Ala Thr Ala Phe Thr Pro His Pro Cys Thr Ile Ile Gly Gln Ser Arg
 245 250 255

Cys Glu Gly Asp Ser Cys Gly Gly Thr Tyr Ser Asn Glu Arg Tyr Ala
 260 265 270

Gly Val Cys Asp Pro Asp Gly Cys Asp Phe Asn Ser Tyr Arg Gln Gly
 275 280 285

Asn Lys Thr Phe Tyr Gly Lys Gly Met Thr Val Asp Thr Thr Lys Lys
 290 295 300

Ile Thr Val Val Thr Gln Phe Leu Lys Asp Ala Asn Gly Asp Leu Gly
 305 310 315 320

Glu Ile Lys Arg Phe Tyr Val Gln Asp Gly Lys Ile Ile Pro Asn Ser
 325 330 335

Glu Ser Thr Ile Pro Gly Val Glu Gly Asn Ser Ile Thr Gln Asp Trp
 340 345 350

Cys Asp Arg Gln Lys Val Ala Phe Gly Asp Ile Asp Asp Phe Asn Arg
 355 360 365

Lys Gly Gly Met Lys Gln Met Gly Lys Ala Leu Ala Gly Pro Met Val
 370 375 380

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

Asp Ser Thr Phe Pro Val Asp Ala Ala Gly Lys Pro Gly Ala Glu Arg
 405 410 415

Gly Ala Cys Pro Thr Thr Ser Gly Val Pro Ala Glu Val Glu Ala Glu
 420 425 430

Ala Pro Asn Ser Asn Val Val Phe Ser Asn Ile Arg Phe Gly Pro Ile
 435 440 445

Gly Ser Thr Val Ala Gly Leu Pro Gly Ala Gly Asn Gly Gly Asn Asn
 450 455 460

Gly Gly Asn Pro Pro Pro Pro Thr Thr Thr Thr Ser Ser Ala Pro Ala
 465 470 475 480

Thr Thr Thr Thr Ala Ser Ala Gly Pro Lys Ala Gly Arg Trp Gln Gln
 485 490 495

Cys Gly Gly Ile Gly Phe Thr Gly Pro Thr Gln Cys Glu Glu Pro Tyr
 500 505 510

Ile Cys Thr Lys Leu Asn Asp Trp Tyr Ser Gln Cys Leu
 515 520 525

<211> 1812

<212> ADN

<213> *Myceliophthora thermophila*

5 <400> 39

ES 2 563 209 T3

atggccaaga agcttttcat cacogccgoc cttgcggetg ccgtgttggc ggcccccgtc 60
 attgaggagc gccagaaactg cggcgctgtg tggtaaagaa gcccggtctg agtttcccat 120
 gactttctca togagtaatg gcataaggoc ccccccttog actgactgtg agaatogato 180
 aaatccagga ctcaatgcgg cggcaacggg tggcagggtc ccacatgctg cgcctcgggc 240
 tcgacctgcy ttgcgcagaa cgagtggtag tctcagtgcg tgcccaaca tcaggtgacg 300
 agttcaaca ctccgtogtc gacttcaac tcgcagoga gcagcagca ctcagcagc 360
 agcaccagga gcggcagctc ctctctctc accaccacgc ccctcccgct ctccagcccc 420
 gtgactagca ttccccggcg tgccaccacc acggcgagct actctggca ccccttctcg 480
 ggogtccggc tottggcaaa cgactactac aggtccgagg tccacaatct cgcattct 540
 agcatgaccg gtaactotggc ggccaaggct tcggccgtog ccgaagtccc tagcttccag 600
 tggctcgacc ggaacgtcac catcgacacc ctgatggtcc agactctgtc ccagatccgg 660
 gctgccasta atgccgggtgc caatcctccc tatgctggtg agttacatgg cggcgacttg 720
 ccttctctgc ccccaccttt cttgacggga tcggttacct gacctggagg caaaacaasa 780
 ccagcccaac ttgtcgtcta cgacctccc gacctgact gcgcggccgc tgcgtccaac 840
 ggcgagtttt cgattgcasa cggcgggcgc gccaaactaca ggagctacat cgacgctatc 900
 cgcaagcaca tcattgagta ctgggacatc cggatcctcc tggttatcga gcccgactcg 960
 atggccaaca tggtgaccaa catgaaactg gccaaagtgc gcaacgcgcg gtcgacgtac 1020
 cacgagttga ccgtgtaccg gctcagcag ctgaaactgc ccaacgtcgc catgtatctc 1080
 gacgcgggoc acgcgggctg gctcggctgg cccgcccaaca tccagcccgc cgcggacctg 1140
 tttgcgggca tctacaatga cgcgggcaag ccggctgccc tccggggcct ggccactaac 1200
 gtcgccaaact acaacgcctg gagtatcgtc tcggccccgt cgtacacgtc ccctaaccct 1260
 aactacgacg agaagcacta catcgaggoc ttcagcccgc tccgaaacgc ggccggcttc 1320
 cccgcacgct tcattgtoga cactggcccg aacggcaaac aacctaccgg tatggttttt 1380
 ttcttttttt ttctctgttc ccctccccct tcccctcag ttggcgtcga caaggtctct 1440
 tagtcttgct tcttctcggg caaaccttcc cccaccccc caacgcaccg cccacaaccg 1500
 ttcgactcta tactcttggg aatggggcgc gaaactgacc gttcgacagg ccaacaacag 1560
 tggggtgact ggtgcaatgt caagggcaact ggctttggcg tgcgcccagc ggccaacacg 1620
 ggccacgacc tggtcgatgc ctttgtctgg gtcgaagccc gcggcgagtc cgacggcaca 1680
 agcgacacca gcgcggcccg ctacgactac cactgcggcc tgcocgatgc cctgcagcct 1740
 gctccggagg ctggacagtg gttccaggcc tacttcgagc agctgctcac caacgccaac 1800
 ccgccttct aa 1812

<210> 40
<211> 482
<212> PRT
<213> *Myceliophthora thermophila*

5

<400> 40

ES 2 563 209 T3

Met Ala Lys Lys Leu Phe Ile Thr Ala Ala Leu Ala Ala Ala Val Leu
1 5 10 15

Ala Ala Pro Val Ile Glu Glu Arg Gln Asn Cys Gly Ala Val Trp Thr
20 25 30

Gln Cys Gly Gly Asn Gly Trp Gln Gly Pro Thr Cys Cys Ala Ser Gly
35 40 45

Ser Thr Cys Val Ala Gln Asn Glu Trp Tyr Ser Gln Cys Leu Pro Asn
50 55 60

Asn Gln Val Thr Ser Ser Asn Thr Pro Ser Ser Thr Ser Thr Ser Gln
65 70 75 80

Arg Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ser Ser Thr Arg Ser Gly Ser Ser Ser
85 90 95

Ser Ser Thr Thr Thr Pro Pro Pro Val Ser Ser Pro Val Thr Ser Ile
100 105 110

Pro Gly Gly Ala Thr Thr Thr Ala Ser Tyr Ser Gly Asn Pro Phe Ser
115 120 125

Gly Val Arg Leu Phe Ala Asn Asp Tyr Tyr Arg Ser Glu Val His Asn
130 135 140

Leu Ala Ile Pro Ser Met Thr Gly Thr Leu Ala Ala Lys Ala Ser Ala
145 150 155 160

Val Ala Glu Val Pro Ser Phe Gln Trp Leu Asp Arg Asn Val Thr Ile
165 170 175

Asp Thr Leu Met Val Gln Thr Leu Ser Gln Ile Arg Ala Ala Asn Asn
180 185 190

Ala Gly Ala Asn Pro Pro Tyr Ala Ala Gln Leu Val Val Tyr Asp Leu
195 200 205

Pro Asp Arg Asp Cys Ala Ala Ala Ala Ser Asn Gly Glu Phe Ser Ile
210 215 220

Ala Asn Gly Gly Ala Ala Asn Tyr Arg Ser Tyr Ile Asp Ala Ile Arg
 225 230 235 240

Lys His Ile Ile Glu Tyr Ser Asp Ile Arg Ile Ile Leu Val Ile Glu
 245 250 255

Pro Asp Ser Met Ala Asn Met Val Thr Asn Met Asn Val Ala Lys Cys
 260 265 270

Ser Asn Ala Ala Ser Thr Tyr His Glu Leu Thr Val Tyr Ala Leu Lys
 275 280 285

Gln Leu Asn Leu Pro Asn Val Ala Met Tyr Leu Asp Ala Gly His Ala
 290 295 300

Gly Trp Leu Gly Trp Pro Ala Asn Ile Gln Pro Ala Ala Asp Leu Phe
 305 310 315 320

Ala Gly Ile Tyr Asn Asp Ala Gly Lys Pro Ala Ala Val Arg Gly Leu
 325 330 335

Ala Thr Asn Val Ala Asn Tyr Asn Ala Trp Ser Ile Ala Ser Ala Pro
 340 345 350

Ser Tyr Thr Ser Pro Asn Pro Asn Tyr Asp Glu Lys His Tyr Ile Glu
 355 360 365

Ala Phe Ser Pro Leu Leu Asn Ala Ala Gly Phe Pro Ala Arg Phe Ile
 370 375 380

Val Asp Thr Gly Arg Asn Gly Lys Gln Pro Thr Gly Gln Gln Gln Trp
 385 390 395 400

Gly Asp Trp Cys Asn Val Lys Gly Thr Gly Phe Gly Val Arg Pro Thr
 405 410 415

Ala Asn Thr Gly His Asp Leu Val Asp Ala Phe Val Trp Val Lys Pro
 420 425 430

Gly Gly Glu Ser Asp Gly Thr Ser Asp Thr Ser Ala Ala Arg Tyr Asp
 435 440 445

Tyr His Cys Gly Leu Ser Asp Ala Leu Gln Pro Ala Pro Glu Ala Gly
 450 455 460

Gln Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu Thr Asn Ala Asn Pro
 465 470 475 480

Pro Pha

- 5
- <210> 41
 - <211> 1802
 - <212> ADN
 - <213> *Myceliophthora thermophila*
 - <400> 41

atggccaaga	agcttttcat	cacogccggg	cttgcggetg	ccgtgttggc	ggccccctc	60
attgaggagc	gccagaaactg	cggcgctgtg	tggtaaagaa	gccccgtccg	agtctcccat	120
gattttctcg	tcgagtaatg	gcataagggc	caccccttcg	actgaccgtg	agaatcgatc	180
aaatccagga	ctcaatgcgg	cggtaacggg	tggcaaggtc	ccacatgctg	cgccctgggc	240
tcgacctgcy	ttgocgagaa	cgagtggtag	tctcagtgcc	tgccccacag	ccaggtgacg	300
agttccacca	ctccgtcgtc	gacttccacc	tcgcagcgca	gcaccagcac	ctccagcagc	360
aocaccagga	goggcagctc	ctctctctcc	tcacccaagc	ccccgcocgt	ctccagcccc	420
gtgaccagca	ttccgggggg	tgogaacctc	acggcgagat	actatggcaa	cccattctcg	480
ggcgtccggc	tottogocaa	cgactactac	aggtcogagg	tcacaaatct	cgccattcct	540
agcatgaactg	gtactctggc	ggccaaggct	tcggccgtcg	ccgaagtccc	tagcttccag	600
tggctcgacc	ggaacgtcac	catcgacacc	ctgatggtcc	agactctgtc	ccaggtccgg	660
gctctcaata	aggccgggtg	caatctctcc	tatgctggtg	agttacatgg	cgacttgcc	720
tctcgtcccc	tacctttctt	gacgggatcg	gttacctgac	ctggaggcaa	aacaacaaca	780
gccccactcg	tcgtctacga	cctccccgac	cgtgactgtg	ccgcccgtgc	gtccaacggc	840
gagttttcga	ttgcaaacgg	cggcgccggc	aactacagga	gctacatcga	cgctatccgc	900
aagcacatca	ttgagtactc	ggacatccgg	atcatcctgg	ttatcgagcc	cgactcgatg	960
gccaacatgg	tgaccaaact	gaaagtggcc	aagtgcagca	acgcccggtc	gacgtaccac	1020
gagttgaccg	tgtaocggct	caagcagctg	aacctgcccc	acgtcgccat	gtatctcgac	1080
gcccggccacg	ccggctggct	cggctggccc	gccaacatcc	agcccggccg	cgagctgttt	1140
gcccggcatct	aaatgatg	cggcaagccg	gctgcccgtc	goggccctgg	caactaacgtc	1200
gccaactaca	acgcctggag	catcgcttcg	gccccgtcgt	acacgtcgcc	taacctaac	1260
taogaogaga	agcaactaat	cgaggccttc	agcccgtctc	tgaactogga	cggcttcccc	1320
gcacgcttca	ttgtcgacac	tggccgcaac	ggcaaaccaac	ctaccggtat	gttttttttt	1380
cttttgtctc	tgtccccccc	ttttctcccc	cttcagttgg	cgtccacaag	gtctcttagt	1440
cctgcttcat	ctgtgaccaa	cctccccccc	cccggcacccg	cccacaaccg	tttgactcta	1500
tactcttggg	aatggggccc	gaaactgacc	gttccacagg	ccaacaacag	tggggtgact	1560
ggtgcaatgt	caagggcacc	ggctttggcg	tgoccccgac	ggccaacacg	ggccacgagc	1620
tggctgatgc	ctttgtctgg	gtcaagcccg	gcccggagtc	cgacggcaca	agcgacacca	1680
gcccggcccg	ctacgactac	cactgcccgc	tgtcccgtgc	cctgcagcct	gccccggagg	1740
ctggacagtg	gttccagggc	tacttcgagc	agctgctcac	caacgccaac	ccgcctctct	1800
aa						1802

<211> 481

<212> PRT

<213> *Myceliophthora thermophila*

5 <400> 42

ES 2 563 209 T3

Met Ala Lys Lys Leu Phe Ile Thr Ala Ala Leu Ala Ala Ala Val Leu
 1 5 10 15

Ala Ala Pro Val Ile Glu Glu Arg Gln Asn Cys Gly Ala Val Trp Thr
 20 25 30

Gln Cys Gly Gly Asn Gly Trp Gln Gly Pro Thr Cys Cys Ala Ser Gly
 35 40 45

Ser Thr Cys Val Ala Gln Asn Glu Trp Tyr Ser Gln Cys Leu Pro Asn
 50 55 60

Ser Gln Val Thr Ser Ser Thr Thr Pro Ser Ser Thr Ser Thr Ser Gln
 65 70 75 80

Arg Ser Thr Ser Thr Ser Ser Ser Thr Thr Arg Ser Gly Ser Ser Ser
 85 90 95

Ser Ser Ser Thr Thr Pro Pro Pro Val Ser Ser Pro Val Thr Ser Ile
 100 105 110

Pro Gly Gly Ala Thr Ser Thr Ala Ser Tyr Ser Gly Asn Pro Phe Ser
 115 120 125

Gly Val Arg Leu Phe Ala Asn Asp Tyr Tyr Arg Ser Glu Val His Asn
 130 135 140

Leu Ala Ile Pro Ser Met Thr Gly Thr Leu Ala Ala Lys Ala Ser Ala
 145 150 155 160

Val Ala Glu Val Pro Ser Phe Gln Trp Leu Asp Arg Asn Val Thr Ile
 165 170 175

Asp Thr Leu Met Val Gln Thr Leu Ser Gln Val Arg Ala Leu Asn Lys
 180 185 190

Ala Gly Ala Asn Pro Pro Tyr Ala Ala Gln Leu Val Val Tyr Asp Leu
 195 200 205

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

Gln Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu Thr Asn Ala Asn Pro
465 470 475 480

Pro

- <210> 43
- <211> 1446
- <212> ADN
- <213> *Thielavia terrestris*

- <400> 43

atggctcaga agctccttct cgcgcgcgcc cttgcgggcca ggcacctcgc tgctcccgtc 60
 gtcgaggagc gccagaactg cggttccgtc tggagccaat gcggcggcat tggttggtcc 120
 ggcgcgacct gctgcgcttc gggcaatacc tgcggtgagc tgaaccggta ctactcgcag 180
 tgccctgccc acagccaggt gactacctcg accagcaaga ccacctccac caccaccagg 240
 agcagcacca ccagccacag cagcgggtccc accagcaaga gcaccaccac caccagcagt 300
 cccgtggtca ctaccocgcc gagtacctcc atccccggcg gtgcctcgtc aacggccagc 360
 tggctccggca acccgttctc gggcgtgcag atgtgggcca acgactacta cgcctccgag 420
 gtctcgtcgc tggccatccc cagcatgacg ggcgccatgg ccaccaaggc ggccgaggtg 480
 gccaaaggtg ccagottcca gtggcttgac cgcacaagta ccctcgcacc gotgttcgcc 540
 cacacgctgt cgcagatccg cgcggccaac cagaagggcg ccaaccocgc ctacgcgggc 600
 atcttctgtg totacgacct tcaggacccc gactgcgcgc ccgcocggtc caacggcgag 660
 ttctccatcg cgaacaacgg ggcggccaac taccagacgt acatcgcgcg gctccggagc 720
 ctcgtcctcc agtaactcaga cctcgcctcc atcttctgta togagcccca ctcgtcggcc 780
 aacatggtga ccaacctgaa cgtggccaag tgcgccaaag ccgagtcgac ctacaaggag 840
 ttgaccgtct acgcgctgca gcagctgaac ctgcccaacg tggccatgta cctggacgcc 900
 ggccacgcgc gctggctcgg ctggccocgc aacatccagc cggccgcaca cctcttcgcc 960
 gagatctaca cgcgcgcggg caagccggcc gccgtgcgcg gcctcgcacc caacgtggcc 1020
 aactacaacg gctggagcct ggccacgcgc cctcgttaca ccagggcga ccccaactac 1080
 gacgagagcc actacgtcca ggccctcgc ccgctgctca ccgccaacgg ctccccgcc 1140
 cacttcacca ccgacaccgg ccgcaacggc aagcagccga ccggacaacg gcaatgggga 1200
 gactggtgca acgttatcgg aactggatto gggtgcgcgc cgcagacaaa ccocggcctc 1260
 gacatcaggg acgccttctg ctgggtcaag ccggcgggcg agtgagacgg acagagcaac 1320
 acgacctata ccagctacga ctaccactga ggactgtagg acgagatgca gactgctccg 1380
 gaggcgggca cttggttcca ggootaotto gagcagctcc tgaccaaagc caaccocccc 1440
 ttttaa 1446

5 <210> 44
 <211> 481
 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

10 <400> 44

ES 2 563 209 T3

Met Ala Gln Lys Leu Leu Leu Ala Ala Ala Leu Ala Ala Ser Ala Leu
1 5 10 15

Ala Ala Pro Val Val Glu Glu Arg Gln Asn Cys Gly Ser Val Trp Ser
20 25 30

Gln Cys Gly Gly Ile Gly Trp Ser Gly Ala Thr Cys Cys Ala Ser Gly
35 40 45

Asn Thr Cys Val Glu Leu Asn Pro Tyr Tyr Ser Gln Cys Leu Pro Asn
50 55 60

Ser Gln Val Thr Thr Ser Thr Ser Lys Thr Thr Ser Thr Thr Thr Arg
65 70 75 80

Ser Ser Thr Thr Ser His Ser Ser Gly Pro Thr Ser Thr Ser Thr Thr
85 90 95

Thr Thr Ser Ser Pro Val Val Thr Thr Pro Pro Ser Thr Ser Ile Pro
100 105 110

Gly Gly Ala Ser Ser Thr Ala Ser Trp Ser Gly Asn Pro Phe Ser Gly
115 120 125

Val Gln Met Trp Ala Asn Asp Tyr Tyr Ala Ser Glu Val Ser Ser Leu
130 135 140

Ala Ile Pro Ser Met Thr Gly Ala Met Ala Thr Lys Ala Ala Glu Val
145 150 155 160

Ala Lys Val Pro Ser Phe Gln Trp Leu Asp Arg Asn Val Thr Ile Asp
165 170 175

Thr Leu Phe Ala His Thr Leu Ser Gln Ile Arg Ala Ala Asn Gln Lys
180 185 190

Gly Ala Asn Pro Pro Tyr Ala Gly Ile Phe Val Val Tyr Asp Leu Pro
195 200 205

Asp Arg Asp Cys Ala Ala Ala Ala Ser Asn Gly Glu Phe Ser Ile Ala
210 215 220

Asn Asn Gly Ala Ala Asn Tyr Lys Thr Tyr Ile Asp Ala Ile Arg Ser

<211> 1593
 <212> ADN
 <213> *Chaetomium thermophilum*

5 <400> 45

```

atgatgtaca agaagttcgc cgctctcgcc gccctcgtgg ctggcgccgc cgcccagcag      60
gottgtccc  tcaccaatga gaaccaaccc agactcaatt ggaagogctg cacctctggc      120
ggcaactgct cgacogtgaa cggcgccgtc accatogatg ccaactggcg ctggactcac      180
actgtttccg gctcgacca  ctgctacacc ggcaacgagt gggatacctc cstctgctct      240
gatggcaaga gotgogocaa gaactgctgc gtogacggcg ctgactactc ttogacctat      300
ggtatcacc  ccagcgggtga ctccctgaac ctcaagtctg tcaccaagca ccagcacggc      360
accaatgtcg gctctcgtgt ctacctgatg gagaacgaca ccaagtacca gatgttcgag      420
ctcctcggca acgagttcac cttogatgtc gatgtctctc acctgggctg cggctctcac      480
ggcgccctct acttcgtctc catggacgct gatggtggtc tgagcaagta ctctggcaac      540
aaggctggcg ccaagtacgg tacccgctac tgcgatgctc agtgcccgcg cgaccttaag      600
ttcatcaacg gcgaggccaa cattgagaac tggacccctt cgaccaatga tgccaacgcc      660
ggtttcggcc gctatggcag ctgctgctct gagatggata tctgggatgc caacaacatg      720
gctactgect tcaactcctca cccttgcaac attatcggcc agagccgctg cgagggcaac      780
agctgcggty gcacctacag ctctgagcgc tatgtggtg tttgcgatac tgatggctgc      840
gacttcaacg cctaacggca ggggagcaag aacttotag  gcaagggcat gacogtogac      900
accaocaaga agatgaccgt cgtcacccag ttocacaaga actoggotgg cgtcctcagc      960
gagatcaagc gcttctacgt tcaggacggc aagatcattg ccaacgccga gtccaagatc     1020
cccgcaacc  ccggcaactc catcacccag gagtggtgcg atgcccagaa ggtcgccttc     1080
ggtgacatcg atgacttcaa ccgcaagggc ggtatggctc agatgagcaa ggccctcgag     1140
ggccctatgg tcctggctat gtcogtctgg gatgaccact acgccaacat gatctggctc     1200
gactcgacct accccattga caaggccggc acccccggcg ccgagcgcgg tgcttgcccg     1260
accacctccg gtgtccctgc cgagattgag gcccaagtcc ccaacagcaa cgttatcttc     1320
tccaacatcc gcttcggccc catogggctg accgtccctg gcctcgacgg cagcaccccc     1380
agcaaccgca ccggccacgt tgctccctcc acttctacca ccaccagcgt gagaagcagc     1440
actactcaga tttccacccc gactagccag cccggcggtc gcaccacca gaagtggggc     1500
cagtgcggty gtatcggcta cacoggtctc actaactgcg ttgctggcac tacctgcact     1560
gagctcaacc cctggtacag ccagtgcctg taa                                     1593
    
```

<210> 46
 <211> 530

10

<212> PRT

<213> *Chaetomium thermophilum*

<400> 46

Met Met Tyr Lys Lys Phe Ala Ala Leu Ala Ala Leu Val Ala Gly Ala
 1 5 10 15

Ala Ala Gln Gln Ala Cys Ser Leu Thr Thr Glu Thr His Pro Arg Leu
 20 25 30

Thr Trp Lys Arg Cys Thr Ser Gly Gly Asn Cys Ser Thr Val Asn Gly
 35 40 45

Ala Val Thr Ile Asp Ala Asn Trp Arg Trp Thr His Thr Val Ser Gly
 50 55 60

Ser Thr Asn Cys Tyr Thr Gly Asn Glu Trp Asp Thr Ser Ile Cys Ser
 65 70 75 80

Asp Gly Lys Ser Cys Ala Gln Thr Cys Cys Val Asp Gly Ala Asp Tyr
 85 90 95

Ser Ser Thr Tyr Gly Ile Thr Thr Ser Gly Asp Ser Leu Asn Leu Lys
 100 105 110

Phe Val Thr Lys His Gln His Gly Thr Asn Val Gly Ser Arg Val Tyr
 115 120 125

Leu Met Glu Asn Asp Thr Lys Tyr Gln Met Phe Glu Leu Leu Gly Asn
 130 135 140

Glu Phe Thr Phe Asp Val Asp Val Ser Asn Leu Gly Cys Gly Leu Asn
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Tyr Phe Val Ser Met Asp Ala Asp Gly Gly Met Ser Lys
 165 170 175

Tyr Ser Gly Asn Lys Ala Gly Ala Lys Tyr Gly Thr Gly Tyr Cys Asp
 180 185 190

Ala Gln Cys Pro Arg Asp Leu Lys Phe Ile Asn Gly Glu Ala Asn Ile
 195 200 205

Glu Asn Trp Thr Pro Ser Thr Asn Asp Ala Asn Ala Gly Phe Gly Arg
 210 215 220

Tyr Gly Ser Cys Cys Ser Glu Met Asp Ile Trp Asp Ala Asn Asn Met
 225 230 235 240

Ala Thr Ala Phe Thr Pro His Pro Cys Thr Ile Ile Gly Gln Ser Arg
 245 250 255

Cys Glu Gly Asn Ser Cys Gly Gly Thr Tyr Ser Ser Glu Arg Tyr Ala
 260 265 270

Gly Val Cys Asp Pro Asp Gly Cys Asp Phe Asn Ala Tyr Arg Gln Gly
 275 280 285

Asp Lys Thr Phe Tyr Gly Lys Gly Met Thr Val Asp Thr Thr Lys Lys
 290 295 300

Met Thr Val Val Thr Gln Phe His Lys Asn Ser Ala Gly Val Leu Ser
 305 310 315 320

Glu Ile Lys Arg Phe Tyr Val Gln Asp Gly Lys Ile Ile Ala Asn Ala
 325 330 335

Glu Ser Lys Ile Pro Gly Asn Pro Gly Asn Ser Ile Thr Gln Glu Trp
 340 345 350

Cys Asp Ala Gln Lys Val Ala Phe Gly Asp Ile Asp Asp Phe Asn Arg
 355 360 365

Lys Gly Gly Met Ala Gln Met Ser Lys Ala Leu Glu Gly Pro Met Val
 370 375 380

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

Asp Ser Thr Tyr Pro Ile Asp Lys Ala Gly Thr Pro Gly Ala Glu Arg
 405 410 415

Gly Ala Cys Pro Thr Thr Ser Gly Val Pro Ala Glu Ile Glu Ala Gln
 420 425 430

Val Pro Asn Ser Asn Val Ile Phe Ser Asn Ile Arg Phe Gly Pro Ile
 435 440 445

Gly Ser Thr Val Pro Gly Leu Asp Gly Ser Thr Pro Ser Asn Pro Thr
 450 455 460

Ala Thr Val Ala Pro Pro Thr Ser Thr Thr Thr Ser Val Arg Ser Ser
 465 470 475 480

Thr Thr Gln Ile Ser Thr Pro Thr Ser Gln Pro Gly Gly Cys Thr Thr
 485 490 495

Gln Lys Trp Gly Gln Cys Gly Gly Ile Gly Tyr Thr Gly Cys Thr Asn

ES 2 563 209 T3

500

505

510

Cys Val Ala Gly Thr Thr Cys Thr Glu Leu Asn Pro Trp Tyr Ser Gln
515 520 525

Cys Leu
530

<210> 47

<211> 1434

<212> ADN

<213> *Chaetomium thermophilum*

<400> 47

5

ES 2 563 209 T3

atggctaagc agctgctgct caactgcccgt cttgcggcca ettcgctggc tgcccctctc	60
cttgaggagc gccagagctg ctctcccgtc tggggtcaat gcggtggcat caattacaac	120
ggcccgacct gctgcccagtc cggcagtggt tgcacttaac tgaatgactg gtacagccag	180
tgcattcccg gtcaggctca gccccggcacg actagcacca cggctcggac caccagcacc	240
agcaccacca gcaacttogtc ggtccgcccg accacctcga ataccctgt gacgactgct	300
cccccgacga ccaccatccc gggcggcgcc tcgagcacgg ccagctacaa cggcaacccg	360
ttttcgggtg ttcaactttg ggcaaacacc taactactgt ccgaggtgca caotttggcc	420
atccccagct tgtotootga gatggctgac aaggccgcaa aggtogatga ggttcccaga	480
ttccagtggc tcgacccgaa tgtgactggt gaaactctct tctccggcag tattgcccga	540
atcccgcccg ccaaccagcg cgggtgcccac ccgccttatg ccggcatttt cgtggtttat	600
gacttaccag accgtgattg ccgggctgct gcttcgcaag gcgagtggtc tatcgccaac	660
aatggtgcca acaactacaa gcgctacatc gaccggatcc gtgagctcct tatccagtac	720
tccgatatcc gcactattct ggtcattgaa cctgattccc tggccaacat ggtcaccac	780
atgaacgtcc agaagtgttc gaaogctgac tcaacttaac aggagcttac tgtotatgac	840
ctcaaacagc tcaatcttcc tcacgctgac atgtacatgg atgctggcca cgtctggctgg	900
cttggctggc ccgccaacat ccagcctgct gctgagctct ttgctcaaat ctaccgagc	960
gotggcaggo ccgctgctgt ccggggtctt ggcaccaaag ttgcaacta caatgottgg	1020
tcgatagcca gccctccgtc ctacaactct cctaaccgca actaacgaga gaagcactat	1080
attgaggcct ttgctcctct tctccgcaac cagggtcttg acgcaagtt catcgtcagc	1140
accggccgta accgcaagca gcccaactggc cagcttgaat ggggtcactg gtgcaatgtc	1200
aagggaaactg gcttcggtgt ggcacctact gctaacaactg ggcatagaact tgttgatgct	1260
ttcgtgtggg tcaagcccgg tggcaggtcc gacggcacca gtgcggacac cagcgtgct	1320
cgttatgact atcaactgccc cctttccgac gcactgactc cggcgcctga ggctggccaa	1380
tggttccagg cttatttcga acagctgctc atcaatgcca accctccgct ctga	1434

<210> 48

<211> 477

<212> PRT

<213> *Chaetomium thermophilum*

5

<400> 48

ES 2 563 209 T3

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

Ala Ala Pro Leu Leu Glu Glu Arg Gln Ser Cys Ser Ser Val Trp Gly
20 25 30

Gln Cys Gly Gly Ile Asn Tyr Asn Gly Pro Thr Cys Cys Gln Ser Gly
35 40 45

Ser Val Cys Thr Tyr Leu Asn Asp Trp Tyr Ser Gln Cys Ile Pro Gly
50 55 60

Gln Ala Gln Pro Gly Thr Thr Ser Thr Thr Ala Arg Thr Thr Ser Thr
65 70 75 80

Ser Thr Thr Ser Thr Ser Ser Val Arg Pro Thr Thr Ser Asn Thr Pro
85 90 95

Val Thr Thr Ala Pro Pro Thr Thr Thr Ile Pro Gly Gly Ala Ser Ser
100 105 110

Thr Ala Ser Tyr Asn Gly Asn Pro Phe Ser Gly Val Gln Leu Trp Ala
115 120 125

Asn Thr Tyr Tyr Ser Ser Glu Val His Thr Leu Ala Ile Pro Ser Leu
130 135 140

Ser Pro Glu Leu Ala Ala Lys Ala Ala Lys Val Ala Glu Val Pro Ser
145 150 155 160

Phe Gln Trp Leu Asp Arg Asn Val Thr Val Asp Thr Leu Phe Ser Gly
165 170 175

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

Tyr Ala Gly Ile Phe Val Val Tyr Asp Leu Pro Asp Arg Asp Cys Ala
195 200 205

Ala Ala Ala Ser Asn Gly Glu Trp Ser Ile Ala Asn Asn Gly Ala Asn
210 215 220

Asn Tyr Lys Arg Tyr Ile Asp Arg Ile Arg Glu Leu Leu Ile Gln Tyr

225					230						235					240
Ser	Asp	Ile	Arg	Thr	Ile	Leu	Val	Ile	Glu	Pro	Asp	Ser	Leu	Ala	Asn	
				243					250					255		
Met	Val	Thr	Asn	Met	Asn	Val	Gln	Lys	Cys	Ser	Asn	Ala	Ala	Ser	Thr	
			260					265					270			
Tyr	Lys	Glu	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala	Leu	Lys	Gln	Leu	Asn	Leu	Pro	His	
		275					280					285				
Val	Ala	Met	Tyr	Met	Asp	Ala	Gly	His	Ala	Gly	Trp	Leu	Gly	Trp	Pro	
	290					295					300					
Ala	Asn	Ile	Gln	Pro	Ala	Ala	Glu	Leu	Phe	Ala	Gln	Ile	Tyr	Arg	Asp	
305					310					315					320	
Ala	Gly	Arg	Pro	Ala	Ala	Val	Arg	Gly	Leu	Ala	Thr	Asn	Val	Ala	Asn	
				325					330					335		
Tyr	Asn	Ala	Trp	Ser	Ile	Ala	Ser	Pro	Pro	Ser	Tyr	Thr	Ser	Pro	Asn	
			340					345					350			
Pro	Asn	Tyr	Asp	Glu	Lys	His	Tyr	Ile	Glu	Ala	Phe	Ala	Pro	Leu	Leu	
		355					360					365				
Arg	Asn	Gln	Gly	Phe	Asp	Ala	Lys	Phe	Ile	Val	Asp	Thr	Gly	Arg	Asn	
370						375					380					
Gly	Lys	Gln	Pro	Thr	Gly	Gln	Leu	Glu	Trp	Gly	His	Trp	Cys	Asn	Val	
385					390					395					400	
Lys	Gly	Thr	Gly	Phe	Gly	Val	Arg	Pro	Thr	Ala	Asn	Thr	Gly	His	Glu	
			405						410					415		
Leu	Val	Asp	Ala	Phe	Val	Trp	Val	Lys	Pro	Gly	Gly	Glu	Ser	Asp	Gly	
			420					425					430			
Thr	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Ala	Ala	Arg	Tyr	Asp	Tyr	His	Cys	Gly	Leu	
		435					440					445				
Ser	Asp	Ala	Leu	Thr	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Gly	Gln	Trp	Phe	Gln	Ala	
	450					455					460					
Tyr	Phe	Glu	Gln	Leu	Leu	Ile	Asn	Ala	Asn	Pro	Pro	Leu				
465					470					475						

<211> 1599
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*

5 <400> 49

```

atgctggcct ccaccttctc ctaccgcatg tacaagaccg cgtcatcct ggccgcctt      60
ctgggetctg gccaggetca gcaggctcgt acttcccagg cggaggtgca tccgtccatg      120
acctggcaga gctgcacggc tggcggcagc tgcaccacca acaacggcaa ggtggtcatc      180
gacgcgaact ggcgttgggt gcacaaagt cggcactaca ccaactgcta ccccggcaac      240
acctgggaca cgaactatct cctgacgat gcgacctgag catccaact cgccttgag      300
ggtgccaaact acgaatccac ctatggtgtg accgccagcg gcaattccct cggcctcaac      360
ttcgtcacca ccagccagca gaagaacatt ggtcgcgtc tgtacatgat gaaggacgac      420
tcgacctacg agatgtttaa gctgctgaac caggagtcca ccttcgatgt cgtgtctcc      480
aacctcccct gcggtctcaa cgggtgctctg tactttgtcg ccattggacgc cgcggtggc      540
atgtccaagt acccaaccas caaggccggt gccaaagtac gtactggata ctgtgactcg      600
cagtgccttc gcgacctcaa gttcatcaac ggtcaggcca aogtcgaagg gtggcagccc      660
tccctcaacg atgccaatgc gggtaacggc aaccaagggt cctgctgogc ggagatggat      720
atctgggagg ccaacagcat ctccacggcc ttcaccccc atccgtgoga cacgcccggc      780
caggtgatgt gcacccgtga tgcctgoggt ggcacctaca gtcogaacg ctacggoggc      840
acctgogacc ccgaaggatg tgatttcaac tccctcogcc agggcaacaa gaacctctac      900
ggcctggca tgacctcga caccaagagc aagtttaccg tcgtcaccca gttcatcacc      960
gacgaaggca cctcagcgg cacccctcaag gagatcaagc gottotaagt gcagaacggc      1020
aaggtgatcc ccaactcgga gtgcacctg accgqctca gcggcaactc cctcaccacc      1080
gagtaotgca ccgccagaa gagcctgttc caggacaga aogtcttoga aaagcaoggc      1140
ggcctogagg gcattgggtg tgcctcogcc cagggtatgg ttctogtcat gtccctgtgg      1200
gatgatcact cggccaacat gctctggtc gacagcaact acccgaccac tgccctctcc      1260
accactccg gcgtcgccc tggtacctgc gacatctcct ccggcgtccc tcgggatgtc      1320
gaggcgaacc accccgacgc ctacgtcgtc tactccaaca tcaaggtcgg ccccatcggc      1380
tcgaccttca acagcgggtg ctggaacccc ggtgqcgaa ccaccacgac aactaccacc      1440
cagctacta ccaccacgac cacggctgga aacctggcg gcaccggagt cgcacagcac      1500
tatggccagt gtggtggaat cggatggacc ggaaccacaa cctgtgccag cctttatacc      1560
tgccagaagc tgaatgatta ttactctcag tgccctgtag      1599
    
```

<210> 50
 <211> 532

10

<212> PRT

<213> *Aspergillus fumigatus*

<400> 50

Met Leu Ala Ser Thr Phe Ser Tyr Arg Met Tyr Lys Thr Ala Leu Ile
1 5 10 15

Leu Ala Ala Leu Leu Gly Ser Gly Gln Ala Gln Gln Val Gly Thr Ser
20 25 30

Gln Ala Glu Val His Pro Ser Met Thr Trp Gln Ser Cys Thr Ala Gly
35 40 45

Gly Ser Cys Thr Thr Asn Asn Gly Lys Val Val Ile Asp Ala Asn Trp
50 55 60

Arg Trp Val His Lys Val Gly Asp Tyr Thr Asn Cys Tyr Thr Gly Asn
65 70 75 80

Thr Trp Asp Thr Thr Ile Cys Pro Asp Asp Ala Thr Cys Ala Ser Asn
85 90 95

Cys Ala Leu Glu Gly Ala Asn Tyr Glu Ser Thr Tyr Gly Val Thr Ala
100 105 110

Ser Gly Asn Ser Leu Arg Leu Asn Phe Val Thr Thr Ser Gln Gln Lys
115 120 125

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

Met Phe Lys Leu Leu Asn Gln Glu Phe Thr Phe Asp Val Asp Val Ser
145 150 155 160

Asn Leu Pro Cys Gly Leu Asn Gly Ala Leu Tyr Phe Val Ala Met Asp
165 170 175

Ala Asp Gly Gly Met Ser Lys Tyr Pro Thr Asn Lys Ala Gly Ala Lys
180 185 190

Tyr Gly Thr Gly Tyr Cys Asp Ser Gln Cys Pro Arg Asp Leu Lys Phe
195 200 205

Ile Asn Gly Gln Ala Asn Val Glu Gly Trp Gln Pro Ser Ser Asn Asp
210 215 220

Ala Asn Ala Gly Thr Gly Asn His Gly Ser Cys Cys Ala Glu Met Asp
225 230 235 240

Ile Trp Glu Ala Asn Ser Ile Ser Thr Ala Phe Thr Pro His Pro Cys
245 250 255

Asp Thr Pro Gly Gln Val Met Cys Thr Gly Asp Ala Cys Gly Gly Thr
 260 265 270
 Tyr Ser Ser Asp Arg Tyr Gly Gly Thr Cys Asp Pro Asp Gly Cys Asp
 275 280 285
 Phe Asn Ser Phe Arg Gln Gly Asn Lys Thr Phe Tyr Gly Pro Gly Met
 290 295 300
 Thr Val Asp Thr Lys Ser Lys Phe Thr Val Val Thr Gln Phe Ile Thr
 305 310 315 320
 Asp Asp Gly Thr Ser Ser Gly Thr Leu Lys Glu Ile Lys Arg Phe Tyr
 325 330 335
 Val Gln Asn Gly Lys Val Ile Pro Asn Ser Glu Ser Thr Trp Thr Gly
 340 345 350
 Val Ser Gly Asn Ser Ile Thr Thr Glu Tyr Cys Thr Ala Gln Lys Ser
 355 360 365
 Leu Phe Gln Asp Gln Asn Val Phe Glu Lys His Gly Gly Leu Glu Gly
 370 375 380
 Met Gly Ala Ala Leu Ala Gln Gly Met Val Leu Val Met Ser Leu Trp
 385 390 395 400
 Asp Asp His Ser Ala Asn Met Leu Trp Leu Asp Ser Asn Tyr Pro Thr
 405 410 415
 Thr Ala Ser Ser Thr Thr Pro Gly Val Ala Arg Gly Thr Cys Asp Ile
 420 425 430
 Ser Ser Gly Val Pro Ala Asp Val Glu Ala Asn His Pro Asp Ala Tyr
 435 440 445
 Val Val Tyr Ser Asn Ile Lys Val Gly Pro Ile Gly Ser Thr Phe Asn
 450 455 460
 Ser Gly Gly Ser Asn Pro Gly Gly Gly Thr Thr Thr Thr Thr Thr
 465 470 475 480
 Gln Pro Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ala Gly Asn Pro Gly Gly Thr Gly
 485 490 495
 Val Ala Gln His Tyr Gly Gln Cys Gly Gly Ile Gly Trp Thr Gly Pro
 500 505 510
 Thr Thr Cys Ala Ser Pro Tyr Thr Cys Gln Lys Leu Asn Asp Tyr Tyr

515

520

525

Ser Gln Cys Leu
530

<210> 51

<211> 1713

<212> ADN

<213> *Aspergillus fumigatus*

<400> 51

5

atgaagcacc ttgcatcttc catcgcattg actctactgt tgcctgccgt gcaggcccag 60
 cagacogtat ggggccaatg tatgtttotgg ctgtcaactgg aataagactg tatcaactgc 120
 tgatatgott ctagggtggog gccaaggotg gtotggccog aogagotgtg ttgcogggog 180
 agcctgtagc acactgaatc cctgttatgtt agatatacgtc ctgagtgag acttatactg 240
 aottcaottag actaogotca gtgtatccog ggagccacog cgaogtccac caacctcaog 300
 adgacgacgg cggcgaogac gacatcccag accaccacca aacctaccac gactgggtca 360
 actacatccg caccaccogt gaccgcaccc ggtaaccctt tcagcggcta ccagctgtat 420
 gccaacccct actactcctc cgaaggtccat actctggcca tgccttctct gcccagctcg 480
 ctgcagccca aggctagtgc tgttgctgaa gtgccctcat ttgtttggct gtaagtggcc 540
 ttatcccact actgagacca actctctgac agtcgtagcg acgttgccgc caaggtgccc 600
 actatgggaa cctacctggc cgaacttcag gcccaagaca aggcoggggc caacctcct 660
 atcgtctgta tcttcgtggt ctacgacttg ccggaccgtg actgcgcgc tctggccagt 720
 aatggcaggt actcaattgc caacsacggt gtggccaact acaaggcgtc cattgacgcc 780
 atcgtgtctc agctggtgaa gtactctgac gttcacacca tcctcgtcat cggtaggccg 840
 tacacctccg ttgcgcgcog cctttctctg acatcttgca gaacctgaca gcttggccaa 900
 cctggtgacc aacctcaagc togccaatg cggcaatgog cagagcgcct acctgagtg 960
 tgtcgactat gctctgaagc agctcaacct gcccaacgtc gccatgtacc togacgcagg 1020
 tatgcctcac ttcccgcatt ctgtatccct tcagacact aactcatcag gccatgcggg 1080
 ctggctcggc tggcccgcga acttgggccc cggcgaaca ctcttcgcca aagtctacac 1140
 cgacgcgggt tccccgcgg ctgttcgtgg cctggccacc aacgtcgcga actacaacgc 1200
 ctggtogoto agtaacotgac cctcaatcac ccaggggagac cccaactgog aogagaagaa 1260
 gtacatcaac gccatggogc ctcttatcaa ggaagccggc ttogatgccc acttcatcat 1320
 ggatacctgt aagtgcctat tccaatcgc gatgtgtgcc gactaatcaa tgtttcagcc 1380
 cggaatggcg tccagcccac gaagcaaac gcctgggggtg actggtgcaa cgtcatcggc 1440
 aocggattcg gtgttogccc ctogaactaac aocggogato cgotccagga tgcotttgtg 1500
 tggatcaagc ccgggtggaga gagtgatggc acgtccaact cgacttcccc ccggtatgac 1560
 gcgcactgcg gatatagtga tgcctctgac cctgctcctg aggctggtac ttggttccag 1620
 gtatgtcatc cattagccag atgagggata agtgactgac ggacctaggc ctactttgag 1680
 cagcttctga ccaacgctaa ccogtccctt taa 1713

- <210> 52
- <211> 454
- <212> PRT
- <213> *Aspergillus fumigatus*
- <400> 52

ES 2 563 209 T3

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

Val Gln Ala Gln Gln Thr Val Trp Gly Gln Cys Gly Gly Gln Gly Trp
 20 25 30

Ser Gly Pro Thr Ser Cys Val Ala Gly Ala Ala Cys Ser Thr Leu Asn
 35 40 45

Pro Tyr Tyr Ala Gln Cys Ile Pro Gly Ala Thr Ala Thr Ser Thr Thr
 50 55 60

Leu Thr Thr Thr Thr Ala Ala Thr Thr Thr Ser Gln Thr Thr Thr Lys
 65 70 75 80

Pro Thr Thr Thr Gly Pro Thr Thr Ser Ala Pro Thr Val Thr Ala Ser
 85 90 95

Gly Asn Pro Phe Ser Gly Tyr Gln Leu Tyr Ala Asn Pro Tyr Tyr Ser
 100 105 110

Ser Glu Val His Thr Leu Ala Met Pro Ser Leu Pro Ser Ser Leu Gln
 115 120 125

Pro Lys Ala Ser Ala Val Ala Glu Val Pro Ser Phe Val Trp Leu Asp
 130 135 140

Val Ala Ala Lys Val Pro Thr Met Gly Thr Tyr Leu Ala Asp Ile Gln
 145 150 155 160

Ala Lys Asn Lys Ala Gly Ala Asn Pro Pro Ile Ala Gly Ile Phe Val
 165 170 175

Val Tyr Asp Leu Pro Asp Arg Asp Cys Ala Ala Leu Ala Ser Asn Gly
 180 185 190

Glu Tyr Ser Ile Ala Asn Asn Gly Val Ala Asn Tyr Lys Ala Tyr Ile
 195 200 205

Asp Ala Ile Arg Ala Gln Leu Val Lys Tyr Ser Asp Val His Thr Ile
 210 215 220

Leu Val Ile Glu Pro Asp Ser Leu Ala Asn Leu Val Thr Asn Leu Asn
 225 230 235 240

Val Ala Lys Cys Ala Asn Ala Gln Ser Ala Tyr Leu Glu Cys Val Asp
 245 250 255

Tyr Ala Leu Lys Gln Leu Asn Leu Pro Asn Val Ala Met Tyr Leu Asp
 260 265 270

Ala Gly His Ala Gly Trp Leu Gly Trp Pro Ala Asn Leu Gly Pro Ala
 275 280 285

Ala Thr Leu Phe Ala Lys Val Tyr Thr Asp Ala Gly Ser Pro Ala Ala
 290 295 300

Val Arg Gly Leu Ala Thr Asn Val Ala Asn Tyr Asn Ala Trp Ser Leu
 305 310 315 320

Ser Thr Cys Pro Ser Tyr Thr Gln Gly Asp Pro Asn Cys Asp Glu Lys
 325 330 335

Lys Tyr Ile Asn Ala Met Ala Pro Leu Leu Lys Glu Ala Gly Phe Asp
 340 345 350

Ala His Phe Ile Met Asp Thr Ser Arg Asn Gly Val Gln Pro Thr Lys
 355 360 365

Gln Asn Ala Trp Gly Asp Trp Cys Asn Val Ile Gly Thr Gly Phe Gly
 370 375 380

Val Arg Pro Ser Thr Asn Thr Gly Asp Pro Leu Gln Asp Ala Phe Val
 385 390 395 400

Trp Ile Lys Pro Gly Gly Glu Ser Asp Gly Thr Ser Asn Ser Thr Ser
 405 410 415

Pro Arg Tyr Asp Ala His Cys Gly Tyr Ser Asp Ala Leu Gln Pro Ala
 420 425 430

Pro Glu Ala Gly Thr Trp Phe Gln Ala Tyr Phe Glu Gln Leu Leu Thr
 435 440 445

Asn Ala Asn Pro Ser Phe
 450

<211> 2586
<212> ADN
<213> *Aspergillus oryzae*

5 <400> 53

atgaagcttg gttggatcga ggtggccgca ttggcggctg cctcagtagt cagtgccaaq 60
 gatgatctcg cgtactcccc tcctttctac ccttccccat gggcagatgg tcagggtgaa 120
 tggggoggaag tatacaaaacg cgctgtagac atagtttccc agatgaogtt gacagagaaa 180
 gtcaacttas cgactggaac aggatggcaa ctagagaggt gtgttgaca aactggcagt 240
 gttcccagac tcaacatccc cagcttggtg ttgcaggata gtctcttgg tattegtttc 300
 toggactaca attcagcttt cctgoggggt gttaatgtog ctgcacactg ggacaagacg 360
 ctgcctacc ttogtggta ggcaatgggt gaggagttca gtgataaggg tattgacggt 420
 cagctgggtc ctgctgctgg cctctctggg gctcatccgg atggcggtag aaactgggaa 480
 ggttttctac cagatccagc cctcacoggt gtaacttttg oggagaogat taagggtatt 540
 caagatgctg gtgtcattgc gacagctaag cattatatca tgaacgaaca agagcatttc 600
 cgccaacaac ccgaggctgc gggttacgga ttcaacgtaa gcgacagttt gsgttccaac 660
 gttgatgaca agactatgca tgaattgtac ctctggcctc tcgccgatgc agtacgcgct 720
 ggagtcggty ctgtcatgtg ctcttacaac caaatcaaca acagctacgg ttgcgagast 780
 agcgaaaactc tgaacaagct tttgaaggcg gagcttggtt tccaaggctt cgtcatgagt 840
 gattggaccg ctcatcacag cggcgtaggc gctgctttag caggtctgga tatgtcgatg 900
 cccggtgatg ttaccttoga tagtggtacg tctttctggg gtgcaactt gacggctcgg 960
 gtccttaacg gtacaatccc ccaatggcgt gttgatgaca tggctgtccg tatcatggcc 1020
 gcttattaca aggttggccg cgacacccaa tacaccctc ccaacttcag ctctggacc 1080
 agggacgat atggtttgc gcataaccat gtttcggaag gtgcttacga gagggtcasc 1140
 gaattcgtgg acgtgcaacg cgtatcatgc gacctaacc gtgcctacgg ccgcgagagc 1200
 actgttctgc tgaagaacaa ggggtgcctg ccttgagcc gcaaggaaaa gctggtcgcc 1260
 cttctgggag aggatgocgg ttccaactcg tggggcgcta acggctgtga tgaccgtggt 1320
 tgcgataacg gtaccottgc catggcctgg ggtagcggta ctgcgaattt cccatacctc 1380
 gtgacaccag agcagggcgt tcagaaagaa gttcttcagg gccgtggtas tgtcttcgcc 1440
 gtgaccgaca gttggggcgt cgacaagatc gctgcggctg cccgccaggc cagcgtatct 1500
 ctctgttctg tcaactccga ctcaggagaa ggctatctta gtgtggatgg aatgagggc 1560
 gatcgttaaca acatcactct gtggaagaac ggcgacaatg tggtaagac ccgagcgast 1620
 aactgtaaca acaccgttgt catcatccac tccgtcggac cagttttgat cgatgaatgg 1680
 tatgaccacc ccaatgtcac tggatattctc tgggctggtc tgccaggcca ggagctcgtt 1740
 aactccattg ccgatgtgct gtacggctgt gtcacccctg gcgccaagtc tcctttcact 1800

ES 2 563 209 T3

tggggcaaga cccgggagtc gtatggttct cccttggtca aggatgccaa caatggcaac	1860
ggagagccccc agtotgattt cacccagggt gttttcatog attacggcca tttagataag	1920
ttoaatgaga cccctatcta cgagtttggc taoggottga gctacaacc acctogagctc	1980
tccgacctcc atgttcagcc cctgaacggc tcccgataca ctcccaccag tggcatgact	2040
gaagctgcaa agaactttgg tgaatttggc gatgctgctg agtacgtgta tccggagggg	2100
ctggaaagga tccatgagtt tatctatccc tggatcaact ctaccgacct gsaggcatcg	2160
totgaogatt ctaactaagg ctgggaagac tocaagtata ttcccgaagg agccacggat	2220
gggtctgccc agccccgttt gcccgtagt ggtggtgccc gaggaaaccc cggctctgtac	2280
gaggatottt tccgctctc tgtgaaggtc aagaacacgg gcaatgtcgc aggtgatgaa	2340
gttoctcago tghtaogtttc cctagggggc ccgaatgagc ccaagggtgt aotgogcaag	2400
tttgagcgtc ttaacttggc cccttggcag gaggccgtgt ggacaacgac ccttaccogt	2460
cgtgaccttg caaactggga cgtttcggct caggactgga ccgtcactcc ttaccccaag	2520
acgatctacg ttggaaactc ctcaaggaaa ctgcccctcc aggcctcgtt gacctaggcc	2580
cagtaa	2586

<210> 54

<211> 861

5 <212> PRT

<213> *Aspergillus oryzae*

<400> 54

ES 2 563 209 T3

Met Lys Leu Gly Trp Ile Glu Val Ala Ala Leu Ala Ala Ala Ser Val
 1 5 10 15

Val Ser Ala Lys Asp Asp Leu Ala Tyr Ser Pro Pro Phe Tyr Pro Ser
 20 25 30

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

Val Asp Ile Val Ser Gln Met Thr Leu Thr Glu Lys Val Asn Leu Thr
 50 55 60

Thr Gly Thr Gly Trp Gln Leu Glu Arg Cys Val Gly Gln Thr Gly Ser
 65 70 75 80

Val Pro Arg Leu Asn Ile Pro Ser Leu Cys Leu Gln Asp Ser Pro Leu
 85 90 95

Gly Ile Arg Phe Ser Asp Tyr Asn Ser Ala Phe Pro Ala Gly Val Asn
 100 105 110

Val Ala Ala Thr Trp Asp Lys Thr Leu Ala Tyr Leu Arg Gly Gln Ala
 115 120 125

Met Gly Glu Glu Phe Ser Asp Lys Gly Ile Asp Val Gln Leu Gly Pro
 130 135 140

Ala Ala Gly Pro Leu Gly Ala His Pro Asp Gly Gly Arg Asn Trp Glu
 145 150 155 160

Gly Phe Ser Pro Asp Pro Ala Leu Thr Gly Val Leu Phe Ala Glu Thr
 165 170 175

Ile Lys Gly Ile Gln Asp Ala Gly Val Ile Ala Thr Ala Lys His Tyr
 180 185 190

Ile Met Asn Glu Gln Glu His Phe Arg Gln Gln Pro Glu Ala Ala Gly
 195 200 205

Tyr Gly Phe Asn Val Ser Asp Ser Leu Ser Ser Asn Val Asp Asp Lys
 210 215 220

Thr Met His Glu Leu Tyr Leu Trp Pro Phe Ala Asp Ala Val Arg Ala
 225 230 235 240

Gly Val Gly Ala Val Met Cys Ser Tyr Asn Gln Ile Asn Asn Ser Tyr
 245 250 255

Gly Cys Glu Asn Ser Glu Thr Leu Asn Lys Leu Leu Lys Ala Glu Leu
 260 265 270

Gly Phe Gln Gly Phe Val Met Ser Asp Trp Thr Ala His His Ser Gly
 275 280 285

Val Gly Ala Ala Leu Ala Gly Leu Asp Met Ser Met Pro Gly Asp Val
 290 295 300

Thr Phe Asp Ser Gly Thr Ser Phe Trp Gly Ala Asn Leu Thr Val Gly
 305 310 315 320

Val Leu Asn Gly Thr Ile Pro Gln Trp Arg Val Asp Asp Met Ala Val
 325 330 335

Arg Ile Met Ala Ala Tyr Tyr Lys Val Gly Arg Asp Thr Lys Tyr Thr
 340 345 350

Pro Pro Asn Phe Ser Ser Trp Thr Arg Asp Glu Tyr Gly Phe Ala His
 355 360 365

Asn His Val Ser Glu Gly Ala Tyr Glu Arg Val Asn Glu Phe Val Asp

370																			
Val	Gln	Arg	Asp	His	Ala	Asp	Leu	Ile	Arg	Arg	Ile	Gly	Ala	Gln	Ser				
385					390					395					400				
Thr	Val	Leu	Leu	Lys	Asn	Lys	Gly	Ala	Leu	Pro	Leu	Ser	Arg	Lys	Glu				
				405					410					415					
Lys	Leu	Val	Ala	Leu	Leu	Gly	Glu	Asp	Ala	Gly	Ser	Asn	Ser	Trp	Gly				
			420					425					430						
Ala	Asn	Gly	Cys	Asp	Asp	Arg	Gly	Cys	Asp	Asn	Gly	Thr	Leu	Ala	Met				
		435					440					445							
Ala	Trp	Gly	Ser	Gly	Thr	Ala	Asn	Phe	Pro	Tyr	Leu	Val	Thr	Pro	Glu				
	450					455					460								
Gln	Ala	Ile	Gln	Asn	Glu	Val	Leu	Gln	Gly	Arg	Gly	Asn	Val	Phe	Ala				
465					470					475					480				
Val	Thr	Asp	Ser	Trp	Ala	Leu	Asp	Lys	Ile	Ala	Ala	Ala	Ala	Arg	Gln				
				485					490					495					
Ala	Ser	Val	Ser	Leu	Val	Phe	Val	Asn	Ser	Asp	Ser	Gly	Glu	Gly	Tyr				
			500					505					510						
Leu	Ser	Val	Asp	Gly	Asn	Glu	Gly	Asp	Arg	Asn	Asn	Ile	Thr	Leu	Trp				
		515					520					525							
Lys	Asn	Gly	Asp	Asn	Val	Val	Lys	Thr	Ala	Ala	Asn	Asn	Cys	Asn	Asn				
	530					535						540							
Thr	Val	Val	Ile	Ile	His	Ser	Val	Gly	Pro	Val	Leu	Ile	Asp	Glu	Trp				
545					550					555					560				
Tyr	Asp	His	Pro	Asn	Val	Thr	Gly	Ile	Leu	Trp	Ala	Gly	Leu	Pro	Gly				
				565					570					575					
Gln	Glu	Ser	Gly	Asn	Ser	Ile	Ala	Asp	Val	Leu	Tyr	Gly	Arg	Val	Asn				
			580					585					590						
Pro	Gly	Ala	Lys	Ser	Pro	Phe	Thr	Trp	Gly	Lys	Thr	Arg	Glu	Ser	Tyr				
		595					600						605						
Gly	Ser	Pro	Leu	Val	Lys	Asp	Ala	Asn	Asn	Gly	Asn	Gly	Ala	Pro	Gln				
	610					615						620							
Ser	Asp	Phe	Thr	Gln	Gly	Val	Phe	Ile	Asp	Tyr	Arg	His	Phe	Asp	Lys				
625					630					635					640				

Phe Asn Glu Thr Pro Ile Tyr Glu Phe Gly Tyr Gly Leu Ser Tyr Thr
 645 650 655
 Thr Phe Glu Leu Ser Asp Leu His Val Gln Pro Leu Asn Ala Ser Arg
 660 665 670
 Tyr Thr Pro Thr Ser Gly Met Thr Glu Ala Ala Lys Asn Phe Gly Glu
 675 680 685
 Ile Gly Asp Ala Ser Glu Tyr Val Tyr Pro Glu Gly Leu Glu Arg Ile
 690 695 700
 His Glu Phe Ile Tyr Pro Trp Ile Asn Ser Thr Asp Leu Lys Ala Ser
 705 710 715 720
 Ser Asp Asp Ser Asn Tyr Gly Trp Glu Asp Ser Lys Tyr Ile Pro Glu
 725 730 735
 Gly Ala Thr Asp Gly Ser Ala Gln Pro Arg Leu Pro Ala Ser Gly Gly
 740 745 750
 Ala Gly Gly Asn Pro Gly Leu Tyr Glu Asp Leu Phe Arg Val Ser Val
 755 760 765
 Lys Val Lys Asn Thr Gly Asn Val Ala Gly Asp Glu Val Pro Gln Leu
 770 775 780
 Tyr Val Ser Leu Gly Gly Pro Asn Glu Pro Lys Val Val Leu Arg Lys
 785 790 795 800
 Phe Glu Arg Ile His Leu Ala Pro Ser Gln Glu Ala Val Trp Thr Thr
 805 810 815
 Thr Leu Thr Arg Arg Asp Leu Ala Asn Trp Asp Val Ser Ala Gln Asp
 820 825 830
 Trp Thr Val Thr Pro Tyr Pro Lys Thr Ile Tyr Val Gly Asn Ser Ser
 835 840 845
 Arg Lys Leu Pro Leu Gln Ala Ser Leu Pro Lys Ala Gln
 850 855 860

<210> 55
 <211> 2800
 <212> ADN
 <213> *Penicillium brasilianum*

<400> 55

tgaaaatgca gggttctaca atctttctgg ctttcgcctc atgggcgagc caggttgctg ccattgogca gccatacag aagcacgagg ttgtttttat cttgctcatg gacgtgcttt	120	60
gacttgaacta attgttttac atadagcccg gatttctgca cgggocccaa gccatagaat	180	
cgttctcaga accgttttac ccgtcgcctt ggatgaatcc tcacgcocgag ggctgggagg	240	
ccgcatactc gaaagctcac gattttgtct cgcaactcac tatcttggag asaataaact	300	
tgaccacccg tgttgggtaa gtctctcaga ctgcttctgg gtaacgggtg gacgagccac	360	
tgactttttg aagctgggaa aatgggcccgt gtgtaggaaa cactggatca attcctcgtc	420	
toggattcaa aggattttgt acccaggatt caccacaggg tgttoggcto gcagattatt	480	
cctccgcttt cacatctagc caaatggccg ccgcaacatt tgaccgctca attctttatc	540	
aacgaggcca agccatggca caggaaacaa aggctaaggg tatcacaatt caattgggoc	600	
ctgttgccgg cctctctcgg cgcacccccg agggcggccg caactgggaa ggattctccc	660	
ctgatccgtt cttgactggc atagccatgg ctgagacaat taagggcatg caggatactg	720	
gagtgattgc ttgcgctaaa catttatatt gaaacgagca ggagcacttc cgtcaagtgg	780	
gtgaagctgc gggctcaccg tacactatct ccgatactat ttcatctaat attgacgacc	840	
gtgctatgca tgagctatac ttgtggccat ttgotgatgc cgttcgcgat ggtgtgggtt	900	
ctttcatgtg ctcaactct cagatcaaca actcctacgg atgccccaac agtcagacc	960	
tcaacaagct cctcaagagc gaattgggct tccaaggctt tgtcatgagc gattggggtg	1020	
cccctcactc tggagtgtca tgggcgctag ctggacttga tatgagcatg ccgggtgata	1080	
ccgaatttga ttctggcttg agcttctggg gctataaact caccattgca attctgaacg	1140	
gcacggttcc cgaatgggac ctggatgaca tggcgatgoc aattatggct gcatacttca	1200	
aagttggoot taatattgag gatcaaacag atgtcaactt caatgcctgg acccatgaca	1260	
cctacggata taaatacgtt tatagcaagg aagattacga gcaggctaac tggcatgtcg	1320	
atgttcgcag cgaaccacaat aagctcattc gcgagactgc ccggaagggt acagttctgc	1380	
tgaagaacaa ctttcatgtt ctccctctga agcagcccag gttcgtggcc gtcttggtc	1440	
aggatgcgg gccaaaacccc aagggcccta ccggtctgoc agaccgagga tgcgaccaag	1500	
gcactctcgc aatgggatgg ggctcagggt ctaccgaatt cccttaactg gtaactcctg	1560	
acactgctat tcagtcaaac gtccctcgaat ccgggggtcg ataccgaggt atttttgata	1620	
actatgaoga caatgctatc ttgtcgtttg tctaacagcc tgatgcaaac tgtatagttt	1680	
ttgcaaatgc cgaattccgg gaaggctaca tcaactgtca caacaactgg ggtgaccgca	1740	
acaatctgac cctctggcaa aatgcagatc aagtgattag cactgtcagc tcgcatgca	1800	
acaacacaat cgttgtttct cactctgtcg gaccagtgtt gctaaatgggt atatatgagc	1860	
accggaacat cacagctatt gtctgggcag ggatgccagg cgaagaatct ggcaatgctc	1920	
togtggatat totttggggc aatgttaacc ctgcoggtcg cactccgttc acctgggcca	1980	

ES 2 563 209 T3

aaagtcgaga	ggactatggc	actgatataa	tgtacgagcc	caacaacggc	cagcgtgcgc	2040
ctcagcagga	tttcaacgag	agcatctacc	tgcactaccg	ccatttggac	aaagctggtc	2100
togagccaat	ttacgagttt	ggattogggc	totoctatac	caocttogaa	tactctgacc	2160
tccgtgttgt	gaagaagtat	gttcaaccat	acagtcccac	gaccggcacc	ggtgctcaag	2220
caccttccat	cggaacagca	cctagccaga	acctggatac	ctacaagttc	cctgctacat	2280
acaagtacat	caaaaacctc	atztatccct	acctgaacag	cactgtctcc	ctccgcgctg	2340
cttccaagga	tcccgaatac	ggtcgtacag	actttatccc	accccacggc	cgtgatggct	2400
ccoctcaacc	totcaacccc	gctggagacc	cagtggccag	tggtggaaac	aacatgctct	2460
acgacgaact	ttacgaggtc	actgcacaga	tcaaaaacac	tggcgacgtg	gcccggcagc	2520
aagtcgtcca	gctttacgta	gatctcgggg	gtgacaaccc	gcctcgtcag	ttgagaaact	2580
ttgacaggtt	ttatctgctg	cccggtcaga	gctcaacatt	ccgggctaca	ttgacgcgcc	2640
gtgatttgag	caactgggat	attgaggogc	agaaotggog	agttacggaa	togootaaga	2700
gagtgatatg	tggaaggctg	agtogggatt	tgcogctgag	ctcacaattg	gagtaatgat	2760
catgtctacc	aatagatggt	gaatgtctgg	tgtggatatt			2800

<210> 56

<211> 878

5 <212> PRT

<213> *Penicillium brasilianum*

<400> 56

ES 2 563 209 T3

Met Gln Gly Ser Thr Ile Phe Leu Ala Phe Ala Ser Trp Ala Ser Gln
 1 5 10 15

Val Ala Ala Ile Ala Gln Pro Ile Gln Lys His Glu Pro Gly Phe Leu
 20 25 30

His Gly Pro Gln Ala Ile Glu Ser Phe Ser Glu Pro Phe Tyr Pro Ser
 35 40 45

Pro Trp Met Asn Pro His Ala Glu Gly Trp Glu Ala Ala Tyr Gln Lys
 50 55 60

Ala Gln Asp Phe Val Ser Gln Leu Thr Ile Leu Glu Lys Ile Asn Leu
 65 70 75 80

Thr Thr Gly Val Gly Trp Glu Asn Gly Pro Cys Val Gly Asn Thr Gly
 85 90 95

Ser Ile Pro Arg Leu Gly Phe Lys Gly Phe Cys Thr Gln Asp Ser Pro
 100 105 110

Gln Gly Val Arg Phe Ala Asp Tyr Ser Ser Ala Phe Thr Ser Ser Gln

ES 2 563 209 T3

	115					120						125			
Met	Ala	Ala	Ala	Thr	Phe	Asp	Arg	Ser	Ile	Leu	Tyr	Gln	Arg	Gly	Gln
	130					135					140				
Ala	Met	Ala	Gln	Glu	His	Lys	Ala	Lys	Gly	Ile	Thr	Ile	Gln	Leu	Gly
145					150					155					160
Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Leu	Gly	Arg	Ile	Pro	Glu	Gly	Gly	Arg	Asn	Trp
				165					170					175	
Glu	Gly	Phe	Ser	Pro	Asp	Pro	Val	Leu	Thr	Gly	Ile	Ala	Met	Ala	Glu
			180					185					190		
Thr	Ile	Lys	Gly	Met	Gln	Asp	Thr	Gly	Val	Ile	Ala	Cys	Ala	Lys	His
		195					200					205			
Tyr	Ile	Gly	Asn	Glu	Gln	Glu	His	Phe	Arg	Gln	Val	Gly	Glu	Ala	Ala
	210					215					220				
Gly	His	Gly	Tyr	Thr	Ile	Ser	Asp	Thr	Ile	Ser	Ser	Asn	Ile	Asp	Asp
225					230					235					240
Arg	Ala	Met	His	Glu	Leu	Tyr	Leu	Trp	Pro	Phe	Ala	Asp	Ala	Val	Arg
				245					250					255	
Ala	Gly	Val	Gly	Ser	Phe	Met	Cys	Ser	Tyr	Ser	Gln	Ile	Asn	Asn	Ser
			260					265					270		
Tyr	Gly	Cys	Gln	Asn	Ser	Gln	Thr	Leu	Asn	Lys	Leu	Leu	Lys	Ser	Glu
		275					280					285			
Leu	Gly	Phe	Gln	Gly	Phe	Val	Met	Ser	Asp	Trp	Gly	Ala	His	His	Ser
	290					295					300				
Gly	Val	Ser	Ser	Ala	Leu	Ala	Gly	Leu	Asp	Met	Ser	Met	Pro	Gly	Asp
305					310					315					320
Thr	Glu	Phe	Asp	Ser	Gly	Leu	Ser	Phe	Trp	Gly	Ser	Asn	Leu	Thr	Ile
				325					330					335	
Ala	Ile	Leu	Asn	Gly	Thr	Val	Pro	Glu	Trp	Arg	Leu	Asp	Asp	Met	Ala
			340					345					350		
Met	Arg	Ile	Met	Ala	Ala	Tyr	Phe	Lys	Val	Gly	Leu	Thr	Ile	Glu	Asp
		355					360					365			
Gln	Pro	Asp	Val	Asn	Phe	Asn	Ala	Trp	Thr	His	Asp	Thr	Tyr	Gly	Tyr
	370					375					380				

Lys Tyr Ala Tyr Ser Lys Glu Asp Tyr Glu Gln Val Asn Trp His Val
 385 390 395 400

Asp Val Arg Ser Asp His Asn Lys Leu Ile Arg Glu Thr Ala Ala Lys
 405 410 415

Gly Thr Val Leu Leu Lys Asn Asn Phe His Ala Leu Pro Leu Lys Gln
 420 425 430

Pro Arg Phe Val Ala Val Val Gly Gln Asp Ala Gly Pro Asn Pro Lys
 435 440 445

Gly Pro Asn Gly Cys Ala Asp Arg Gly Cys Asp Gln Gly Thr Leu Ala
 450 455 460

Met Gly Trp Gly Ser Gly Ser Thr Glu Phe Pro Tyr Leu Val Thr Pro
 465 470 475 480

Asp Thr Ala Ile Gln Ser Lys Val Leu Glu Tyr Gly Gly Arg Tyr Glu
 485 490 495

Ser Ile Phe Asp Asn Tyr Asp Asp Asn Ala Ile Leu Ser Leu Val Ser
 500 505 510

Gln Pro Asp Ala Thr Cys Ile Val Phe Ala Asn Ala Asp Ser Gly Glu
 515 520 525

Gly Tyr Ile Thr Val Asp Asn Asn Trp Gly Asp Arg Asn Asn Leu Thr
 530 535 540

Leu Trp Gln Asn Ala Asp Gln Val Ile Ser Thr Val Ser Ser Arg Cys
 545 550 555 560

Asn Asn Thr Ile Val Val Leu His Ser Val Gly Pro Val Leu Leu Asn
 565 570 575

Gly Ile Tyr Glu His Pro Asn Ile Thr Ala Ile Val Trp Ala Gly Met
 580 585 590

Pro Gly Glu Glu Ser Gly Asn Ala Leu Val Asp Ile Leu Trp Gly Asn
 595 600 605

Val Asn Pro Ala Gly Arg Thr Pro Phe Thr Trp Ala Lys Ser Arg Glu
 610 615 620

Asp Tyr Gly Thr Asp Ile Met Tyr Glu Pro Asn Asn Gly Gln Arg Ala
 625 630 635 640

Pro Gln Gln Asp Phe Thr Glu Ser Ile Tyr Leu Asp Tyr Arg His Phe
 645 650 655

Asp Lys Ala Gly Ile Glu Pro Ile Tyr Glu Phe Gly Phe Gly Leu Ser
 660 665 670

Tyr Thr Thr Phe Glu Tyr Ser Asp Leu Arg Val Val Lys Lys Tyr Val
 675 680 685

Gln Pro Tyr Ser Pro Thr Thr Gly Thr Gly Ala Gln Ala Pro Ser Ile
 690 695 700

Gly Gln Pro Pro Ser Gln Asn Leu Asp Thr Tyr Lys Phe Pro Ala Thr
 705 710 715 720

Tyr Lys Tyr Ile Lys Thr Phe Ile Tyr Pro Tyr Leu Asn Ser Thr Val
 725 730 735

Ser Leu Arg Ala Ala Ser Lys Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Phe
 740 745 750

Ile Pro Pro His Ala Arg Asp Gly Ser Pro Gln Pro Leu Asn Pro Ala
 755 760 765

Gly Asp Pro Val Ala Ser Gly Gly Asn Asn Met Leu Tyr Asp Glu Leu
 770 775 780

Tyr Glu Val Thr Ala Gln Ile Lys Asn Thr Gly Asp Val Ala Gly Asp
 785 790 795 800

Glu Val Val Gln Leu Tyr Val Asp Leu Gly Gly Asp Asn Pro Pro Arg
 805 810 815

Gln Leu Arg Asn Phe Asp Arg Phe Tyr Leu Leu Pro Gly Gln Ser Ser
 820 825 830

Thr Phe Arg Ala Thr Leu Thr Arg Arg Asp Leu Ser Asn Trp Asp Ile
 835 840 845

Glu Ala Gln Asn Trp Arg Val Thr Glu Ser Pro Lys Arg Val Tyr Val
 850 855 860

Gly Arg Ser Ser Arg Asp Leu Pro Leu Ser Ser Gln Leu Glu
 865 870 875

<210> 57
 <211> 2583
 <212> ADN

<213> *Aspergillus niger*

<400> 57

atgaggttca	ctttgatoga	ggcgggtggct	ctgactgccg	tctcgcctggc	cagcgcctgat	60
gaattggoot	actccccacc	gtattaccca	tcccccctggg	ccaatggcca	gggcgactgg	120
gcgcaggcat	accagcgcgc	tgttgatatt	gtctcgcaaa	tgacattgga	tgagaaggtc	180
aatctgacca	caggaactgg	atgggaattg	gaactatgtg	ttggtcagac	tggcgggtgtt	240
ccocgattgg	gagttccggg	aatgtgttta	caggatagcc	ctctgggogt	tgcgcactcc	300
gactacaact	ctgctttccc	tgccggcatg	aacgtggctg	caacctggga	caagsatctg	360
gcataccctc	gcggcaaggc	tatgggtcag	gaatttagtg	acaagggtgc	cgatatccaa	420
ttgggtccag	ctgcocggccc	tctcggtaga	agtcccagac	gtggtcgtaa	ctgggagggc	480
ttctccccag	accctgccc	aagtgggtgtg	ctcttctggc	agaccatcaa	gggtatccaa	540
gatgctggtg	tggttgcgac	ggctaagcac	tacattgctt	acgagcaaga	gcatttccgt	600
cagggcgcctg	aagcccaagg	ttttggattt	aatatttccg	agagtggaa	tgcgaacctc	660
gatgataaga	ctatgcacga	gctgtacctc	tggcccttcg	cggatgccat	ccgtgcaggt	720
gctggcgcctg	tgatgtgctc	ctacaaccag	atcaacaaca	gttatggctg	ccagsacagc	780
tacaactotga	acaagctgct	caaggccgag	ctgggcttcc	agggctttgt	catgagtgat	840
tgggctgctc	accatgctgg	tgtgagtggt	gctttggcag	gattggatat	gtctatgcca	900
ggagaogtgc	actacgacag	tggtaogtct	tactggggta	caaacctgac	cattagcgtg	960
ctcaacggaa	cggctgcccc	atggcgtggt	gatgacatgg	ctgtccgcct	catggccgcc	1020
taatacaagg	tggccogtga	cagtatgtgg	actaatccca	acttcagctc	atggaccaga	1080
gatgaatacg	gctacaagta	ctactacgtg	tcggaaggac	cgtacgagaa	ggtcaaccag	1140
tadgtgaatg	tgcacaagca	ccacagcgaa	ctgattcgcc	gcattggagc	ggacagccag	1200
gtgctccctca	agaaacgagg	cgcctctgct	ttgactggta	aggagcgcc	ggtcgcgctt	1260
atcggagag	atgcgggctc	caacccttat	ggtgcacaac	gctgcagtga	ccgtggatgc	1320
gacaatggaa	cattggcgat	gggctgggga	agtqgtactg	ccaaotcccc	atacotggtg	1380
acccccgagc	agcccatctc	aaacgaggtg	cttaagcaca	agastggtgt	attcacccgc	1440
acogataaot	gggotatoga	tcagattgag	gogottgcta	agaccgocag	tgtctctctt	1500
gtctttgtca	acgcocgactc	tggtaggggt	tacatcaatg	tggacggaaa	cctgggtgac	1560
agcaggaaoc	tgcacotgtg	gaggcaaggc	gataatgtga	tcaggctgct	tgtatgcaac	1620
tgcacaacaa	caatcgttgt	cattcaactc	gtcggaccag	tcttggttaa	cgagtgttac	1680
gacaaccccc	atgttaacgc	tatcctctgg	ggtaggtttg	ccggtcagga	gtctggcaac	1740
tctcttgcgc	acgtcctcta	tggccgtgtc	aacccccggtg	ccaagtcgcc	ctttacctgg	1800
ggcaagactc	gtgaggccta	ccaagactac	ttggtcaccc	agcccaacaa	cggcaacgga	1860
gocccotcag	aagactttgt	cgaggcgctc	ttcattgact	acogtggatt	tgacaagcgc	1920

ES 2 563 209 T3

aacgagacc	cgatctacga	gttoggctat	ggtctgagct	acaccacttt	caactactcg	1980
aacottgagg	tgcaggtgat	gagcgccoot	gcatacgaga	ctgottoggg	tgagacogag	2040
gcagcgccaa	ccttcggaga	ggttggaaat	ggtcggatt	acctctacc	csqcgattg	2100
cagagaatta	ccaagttcat	ctaccocctg	ctcaacggta	ccgatctcga	ggcatcttcc	2160
ggggatgcta	gctacgggca	ggactcctcc	gactatcttc	ccgagggagc	caccgatggc	2220
tctgcgcaac	cgatcctgcc	tgccggtgcc	ggtcctggcg	gcaaccctcg	cctgtacgac	2280
gagctcatcc	gcgtgtcagt	gaccatcaag	aacaccggca	aggttgctgg	tgatgaagtt	2340
ccccaaactgt	atgtttccot	tgggggtccc	aatgagccca	agatogtgct	gagtcgaattc	2400
gagcgcatca	cgctgcagcc	gtcggaggag	acgaagtgga	gcacgactct	gscgcgcct	2460
gaccttgcaa	actggaatgt	tgagaagcag	gactgggaga	ttacgtccta	tcccaagatg	2520
gtgtttgtcg	gaagctcctc	gaggaaactg	ccgctccggg	cgtctctgcc	tactgttcac	2580
taa						2583

<210> 58

<211> 860

<212> PRT

<213> *Aspergillus niger*

<400> 58

5

ES 2 563 209 T3

Met Arg Phe Thr Leu Ile Glu Ala Val Ala Leu Thr Ala Val Ser Leu
 1 5 10 15

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

Trp Ala Asn Gly Gln Gly Asp Trp Ala Gln Ala Tyr Gln Arg Ala Val
 35 40 45

Asp Ile Val Ser Gln Met Thr Leu Asp Glu Lys Val Asn Leu Thr Thr
 50 55 60

Gly Thr Gly Trp Glu Leu Glu Leu Cys Val Gly Gln Thr Gly Gly Val
 65 70 75 80

Pro Arg Leu Gly Val Pro Gly Met Cys Leu Gln Asp Ser Pro Leu Gly
 85 90 95

Val Arg Asp Ser Asp Tyr Asn Ser Ala Phe Pro Ala Gly Met Asn Val
 100 105 110

Ala Ala Thr Trp Asp Lys Asn Leu Ala Tyr Leu Arg Gly Lys Ala Met
 115 120 125

Gly Gln Glu Phe Ser Asp Lys Gly Ala Asp Ile Gln Leu Gly Pro Ala
 130 135 140

Ala Gly Pro Leu Gly Arg Ser Pro Asp Gly Gly Arg Asn Trp Glu Gly
 145 150 155 160

Phe Ser Pro Asp Pro Ala Leu Ser Gly Val Leu Phe Ala Glu Thr Ile
 165 170 175

Lys Gly Ile Gln Asp Ala Gly Val Val Ala Thr Ala Lys His Tyr Ile
 180 185 190

Ala Tyr Glu Gln Glu His Phe Arg Gln Ala Pro Glu Ala Gln Gly Phe
 195 200 205

Gly Phe Asn Ile Ser Glu Ser Gly Ser Ala Asn Leu Asp Asp Lys Thr
 210 215 220

Met His Glu Leu Tyr Leu Trp Pro Phe Ala Asp Ala Ile Arg Ala Gly
 225 230 235 240

Ala Gly Ala Val Met Cys Ser Tyr Asn Gln Ile Asn Asn Ser Tyr Gly
 245 250 255

Cys Gln Asn Ser Tyr Thr Leu Asn Lys Leu Leu Lys Ala Glu Leu Gly
 260 265 270

Phe Gln Gly Phe Val Met Ser Asp Trp Ala Ala His His Ala Gly Val
 275 280 285

Ser Gly Ala Leu Ala Gly Leu Asp Met Ser Met Pro Gly Asp Val Asp
 290 295 300

Tyr Asp Ser Gly Thr Ser Tyr Trp Gly Thr Asn Leu Thr Ile Ser Val
 305 310 315 320

Leu Asn Gly Thr Val Pro Gln Trp Arg Val Asp Asp Met Ala Val Arg
 325 330 335

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

Pro Asn Phe Ser Ser Trp Thr Arg Asp Glu Tyr Gly Tyr Lys Tyr Tyr
 355 360 365

Tyr Val Ser Glu Gly Pro Tyr Glu Lys Val Asn Gln Tyr Val Asn Val
 370 375 380

Gln Arg Asn His Ser Glu Leu Ile Arg Arg Ile Gly Ala Asp Ser Thr

Phe Asn Tyr Ser Asn Leu Glu Val Gln Val Leu Ser Ala Pro Ala Tyr
 660 665 670
 Glu Pro Ala Ser Gly Glu Thr Glu Ala Ala Pro Thr Phe Gly Glu Val
 675 680 685
 Gly Asn Ala Ser Asp Tyr Leu Tyr Pro Ser Gly Leu Gln Arg Ile Thr
 690 695 700
 Lys Phe Ile Tyr Pro Trp Leu Asn Gly Thr Asp Leu Glu Ala Ser Ser
 705 710 715 720
 Gly Asp Ala Ser Tyr Gly Gln Asp Ser Ser Asp Tyr Leu Pro Glu Gly
 725 730 735
 Ala Thr Asp Gly Ser Ala Gln Pro Ile Leu Pro Ala Gly Gly Gly Pro
 740 745 750
 Gly Gly Asn Pro Arg Leu Tyr Asp Glu Leu Ile Arg Val Ser Val Thr
 755 760 765
 Ile Lys Asn Thr Gly Lys Val Ala Gly Asp Glu Val Pro Gln Leu Tyr
 770 775 780
 Val Ser Leu Gly Gly Pro Asn Glu Pro Lys Ile Val Leu Arg Gln Phe
 785 790 795 800
 Glu Arg Ile Thr Leu Gln Pro Ser Glu Glu Thr Lys Trp Ser Thr Thr
 805 810 815
 Leu Thr Arg Arg Asp Leu Ala Asn Trp Asn Val Glu Lys Gln Asp Trp
 820 825 830
 Glu Ile Thr Ser Tyr Pro Lys Met Val Phe Val Gly Ser Ser Ser Arg
 835 840 845
 Lys Leu Pro Leu Arg Ala Ser Leu Pro Thr Val His
 850 855 860

<210> 59
 <211> 2583
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus aculeatus*
 <400> 59

5

ES 2 563 209 T3

```
atgaagctca gttggcttga ggcggctgac ttgacggctg ettcagtcgt cagcgcctgat      60
gaactggcgt totctctcc tttctacccc totccgtggg ccaatggcca gggagagtg      120
gcggaagcct accagcgtgc agtggccatt gtatcccaga tgactctgga tgagaaggtc      180
```

aacctgacca	ccggaactgg	atgggagctg	gagaagtgcg	tgggtcagac	tgggtggtgc	240
ccaagactga	acatoggtgg	catgtgtott	caggacagtc	cottgggaat	togtgatagt	300
gactacaatt	cggctttccc	tgctggtgtc	aacgttgcctg	cgacatggga	caagaacctt	360
gcttatctac	gtggtcaggc	tatgggtcaa	gagttcagtg	scaaaggaat	tgatgttcaa	420
ttgggacogg	ccgagggtcc	cotoggcagg	agooctgatg	gaggtogcaa	ctgggaaggt	480
ttctctccag	accoggctct	tactggtgtg	ctctttgcgg	agaccattaa	gggtattcaa	540
gaogotggtg	togtggcgac	agocaaagcat	tacattotca	atgagcaaga	gcatttccgc	600
caggtcgcag	aggctgcggg	ctacggattc	aatatctccg	scacgatccag	ctctaactgt	660
gatgacaaga	ccattcatga	aatgtacctc	tggcccttcg	cggatgcogt	tcgctccggc	720
gttggcgcca	tcatgtgttc	ctacaaccag	atcaacaaca	gctacggttg	ccagaacagt	780
tacaactcga	acaagcttct	gaaggccggg	ctoggcctcc	agggctttgt	gatgtctgac	840
tggggtgctc	accacagtgg	tgcttggctct	gctttggccg	gcttggatat	gtcaatgcct	900
ggcgatatca	ccttcgatcc	tgccactagt	ttctggggtc	ccaacctgac	cattgctgtg	960
ctcaacggta	cogtcccgca	gtggcggcgt	gaogacatgg	ctgtccgtat	catggctgoc	1020
tactacaagg	ttggccggcg	ccgcctgtac	cagccgccta	acttcagctc	ctggactcgc	1080
gatgaatacg	gottcaagta	ttctatcccc	caggaaagggc	cctatgagaa	ggtcaatcac	1140
tttgtcaatg	tgccagggca	ccacagcgag	gttattcgcg	agttgggggc	agacagtact	1200
gttctactga	agaacsaaca	tgccctgcgg	ctgacccggg	aggagcgcga	agttgcgata	1260
ctgggtgaag	atgctggatc	caactcgtac	ggtgccaatg	gctgctctga	ccgtggctgt	1320
gacaacggta	ctcttgctat	ggcttggggg	agcggcaatg	ccgaattccc	atatctcgtg	1380
accctcgagc	aggctattca	agccgaggtg	ctcaagcata	agggcagcgt	ctacgccatc	1440
acggacaact	gggcgctgag	ccaggtggag	accctcgtca	sacaagccag	tgtctctctt	1500
gtatttgtca	aotoggaogc	gggagagggc	tatatctccg	tggacggaaa	cgagggcgac	1560
cgcacaacc	tcacctctcg	gaagaacggc	gacacctca	tcaaggctgc	tgcaacacac	1620
tgcaacaaca	ccatogttgt	catccactcc	gttggcaatg	ttttggttga	cgagtggtat	1680
gaccaccccc	acgttactgc	catcctctgg	gcgggcttgc	ctggccagga	gtctggcaac	1740
tccttggctg	acgtgctcta	cggccggctc	aaacggggcg	ccaaatctcc	attcaactgg	1800
ggcaagaoga	gggaggcgtc	cggggattac	cttgtccgtg	agctcaacaa	cggcaacgga	1860
gctccccaa	atgatttctc	ggaaggtggt	tccattgact	acccgggatt	cgacaagcgc	1920
aatgagaccc	cgatctacga	gttcggacat	ggtctgagct	acaccacttt	caactactct	1980
ggccttcaca	tccaggttct	caacgcttcc	tccaacgctc	aagtagccac	tgagactggc	2040
gcogtccca	cottoggaca	agtoggcaat	gcctctgact	acgtgtaccc	tgagggtattg	2100

ES 2 563 209 T3

```

accagsatca gcaagttcoat ctatccctgg cttsattcca cagacctgaa ggcctcatct      2160
ggcgcaccgt actatggagt cgcacccggg gagcacgtgc ccgagggtgc tactgatggc      2220
totoogcago ccgtttotgac tgcoggtggt ggotatggtg gtaaccogog cctotaogat      2280
gagttgatcc gtgtttcggg gacagtcaag aacactggtc gtgttgccgg tgatgctgtg      2340
cctcaattgt atgtttccct tggtaggacc aatgagccca aggttgtggt gcgcaaattc      2400
gaccgcctca ccctcaagcc ctccgaggag acggtgtgga cgactaccct gscocgcgcg      2460
gatotgtata actgggagct tgoggotcag gaotgggtca tcaattotta ccogaagaag      2520
gtccatggtg gtagototto gogtcagatg cccattcaag cggagatccc gaaggtgcaa      2580
tga                                                                                   2583

```

<210> 60

<211> 860

5 <212> PRT

<213> *Aspergillus aculeatus*

<400> 60

ES 2 563 209 T3

Met Lys Leu Ser Trp Leu Glu Ala Ala Ala Leu Thr Ala Ala Ser Val
 1 5 10 15

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

Trp Ala Asn Gly Gln Gly Glu Trp Ala Glu Ala Tyr Gln Arg Ala Val
 35 40 45

Ala Ile Val Ser Gln Met Thr Leu Asp Glu Lys Val Asn Leu Thr Thr
 50 55 60

Gly Thr Gly Trp Glu Leu Glu Lys Cys Val Gly Gln Thr Gly Gly Val
 65 70 75 80

Pro Arg Leu Asn Ile Gly Gly Met Cys Leu Gln Asp Ser Pro Leu Gly
 85 90 95

Ile Arg Asp Ser Asp Tyr Asn Ser Ala Phe Pro Ala Gly Val Asn Val
 100 105 110

Ala Ala Thr Trp Asp Lys Asn Leu Ala Tyr Leu Arg Gly Gln Ala Met
 115 120 125

Gly Gln Glu Phe Ser Asp Lys Gly Ile Asp Val Gln Leu Gly Pro Ala
 130 135 140

Ala Gly Pro Leu Gly Arg Ser Pro Asp Gly Gly Arg Asn Trp Glu Gly
 145 150 155 160

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

Lys Val Ala Ile Leu Gly Glu Asp Ala Gly Ser Asn Ser Tyr Gly Ala
 420 425 430
 Asn Gly Cys Ser Asp Arg Gly Cys Asp Asn Gly Thr Leu Ala Met Ala
 435 440 445
 Trp Gly Ser Gly Thr Ala Glu Phe Pro Tyr Leu Val Thr Pro Glu Gln
 450 455 460
 Ala Ile Gln Ala Glu Val Leu Lys His Lys Gly Ser Val Tyr Ala Ile
 465 470 475 480
 Thr Asp Asn Trp Ala Leu Ser Gln Val Glu Thr Leu Ala Lys Gln Ala
 485 490 495
 Ser Val Ser Leu Val Phe Val Asn Ser Asp Ala Gly Glu Gly Tyr Ile
 500 505 510
 Ser Val Asp Gly Asn Glu Gly Asp Arg Asn Asn Leu Thr Leu Trp Lys
 515 520 525
 Asn Gly Asp Asn Leu Ile Lys Ala Ala Ala Asn Asn Cys Asn Asn Thr
 530 535 540
 Ile Val Val Ile His Ser Val Gly Pro Val Leu Val Asp Glu Trp Tyr
 545 550 555 560
 Asp His Pro Asn Val Thr Ala Ile Leu Trp Ala Gly Leu Pro Gly Gln
 565 570 575
 Glu Ser Gly Asn Ser Leu Ala Asp Val Leu Tyr Gly Arg Val Asn Pro
 580 585 590
 Gly Ala Lys Ser Pro Phe Thr Trp Gly Lys Thr Arg Glu Ala Tyr Gly
 595 600 605
 Asp Tyr Leu Val Arg Glu Leu Asn Asn Gly Asn Gly Ala Pro Gln Asp
 610 615 620
 Asp Phe Ser Glu Gly Val Phe Ile Asp Tyr Arg Gly Phe Asp Lys Arg
 625 630 635 640
 Asn Glu Thr Pro Ile Tyr Glu Phe Gly His Gly Leu Ser Tyr Thr Thr
 645 650 655
 Phe Asn Tyr Ser Gly Leu His Ile Gln Val Leu Asn Ala Ser Ser Asn
 660 665 670
 Ala Gln Val Ala Thr Glu Thr Gly Ala Ala Pro Thr Phe Gly Gln Val

675	680	685																			
Gly	Asn	Ala	Ser	Asp	Tyr	Val	Tyr	Pro	Glu	Gly	Leu	Thr	Arg	Ile	Ser						
690						695						700									
Lys	Phe	Ile	Tyr	Pro	Trp	Leu	Asn	Ser	Thr	Asp	Leu	Lys	Ala	Ser	Ser						
705						710						715									
Gly	Asp	Pro	Tyr	Tyr	Gly	Val	Asp	Thr	Ala	Glu	His	Val	Pro	Glu	Gly						
				725						730						735					
Ala	Thr	Asp	Gly	Ser	Pro	Gln	Pro	Val	Leu	Pro	Ala	Gly	Gly	Gly	Ser						
			740						745						750						
Gly	Gly	Asn	Pro	Arg	Leu	Tyr	Asp	Glu	Leu	Ile	Arg	Val	Ser	Val	Thr						
		755						760						765							
Val	Lys	Asn	Thr	Gly	Arg	Val	Ala	Gly	Asp	Ala	Val	Pro	Gln	Leu	Tyr						
		770						775						780							
Val	Ser	Leu	Gly	Gly	Pro	Asn	Glu	Pro	Lys	Val	Val	Leu	Arg	Lys	Phe						
		785						790						795							
Asp	Arg	Leu	Thr	Leu	Lys	Pro	Ser	Glu	Glu	Thr	Val	Trp	Thr	Thr	Thr						
			805						810						815						
Leu	Thr	Arg	Arg	Asp	Leu	Ser	Asn	Trp	Asp	Val	Ala	Ala	Gln	Asp	Trp						
			820						825						830						
Val	Ile	Thr	Ser	Tyr	Pro	Lys	Lys	Val	His	Val	Gly	Ser	Ser	Ser	Arg						
		835						840						845							
Gln	Leu	Pro	Leu	His	Ala	Ala	Leu	Pro	Lys	Val	Gln										
		850						855						860							

<210> 61
 <211> 3294
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus oryzae*

<400> 61

5

ES 2 563 209 T3

atgegtect	ccccctoct	ccgtccgcc	gtgtggccg	ccctgccgt	gttggcctt	60
gccgtgatg	gcaggccac	ccgtactgg	gactgctga	agccttcgt	cggtgggcc	120
aagaaggctc	ccgtgaacca	gcctgtctt	tcctgcaacg	ccaactcca	ggtatcacg	180
gacttcgacg	ccaagtccg	ctgcgagccg	ggcgggtgtg	ctactcgtg	cgccgaccg	240
acccatggg	ctgtgaacga	cgacttcgg	ctcggttttg	ctgccacctc	tattgccggc	300
agcaatgagg	cggtctggtg	ctgcgcctgc	taagagctca	ccttcacatc	cggtcctgtt	360

gctggcaaga agatggtcgt ccaqtcacc agcactggcg gtgatcttgq cagcaaccac 420
 ttogatctca acatccccgg cggcggcgta ggcattcttg acggatgcac tccccagttc 480
 ggtggtctgc cgggccagcg ctacggcggc atctcgtccc gcaacgagtg cgatcggttc 540
 ccogacgccc tcaagccccg ctgctactgg cgtctcgact ggttcaagaa cggccgacaat 600
 ccgagcttca gcttcogtca ggtccagtg cccagccgagc tctgctctcg caccggatgc 660
 cgcgcacaac agcagcgcaa ctccoctgcc gtccagatcc ccatgcgttc ctccccctc 720
 ctccgctccg ccgttctggc cgcocctgcc gtgttggccc ttgccaaagg tgatctcggc 780
 tactccctca cttctctacc ttcccctagg gcagatggtc aggggtgaatc gggcgaagta 840
 tacaaacggc ctgttagacat agtttcccag atgacgttga cagagaagt caacttaacg 900
 actggaacag gatggcaact agagaggtgt gttggacaaa ctggcagtg tcccagactc 960
 aacatcccca gcttctgttt gcaggatagt cctcttggta ttgctttctc ggaactacaat 1020
 tcagctttcc ctgcgggtgt taatgtcgtc gccacctggg acaagacgct cgcctacctt 1080
 cgtggtcagg caatgggtga ggaqttcagt gataagggta ttgacgtta gatgggtcct 1140
 gatgctggcc ctctcgggtc tcaatccggat ggcggtagaa actggyaagc tttctcaca 1200
 gatccagccc tcccgggtgt actttttcgc gagacgatta aggtattca agatgctggt 1260
 gtcattgcca cagctaagca ttatatctc aacgaacaa agcattttcc ccaacacccc 1320
 gaggtcggc gttacggatt caaogtaagc gacaqtttga gttccaaagt tgatgacaag 1380
 actatgcctg aattgtacct ctggcccttc gggatgcag tacgcgctgg agtcgggtgt 1440
 gtcattgtgt cttaacaaca aatcaacaac agctacggct gcgagaatac cgaactctg 1500
 aacaagcttt tgaaggcggc gcttggtttc caagccttcg tcatgagtga ttggaccgct 1560
 catcacagcg gcgtaggcgc tgccttagca ggtctggata tgtcagatgc cgggtgatgtt 1620
 accttagata gtggtacgtc tttctggggc gaaaacttga cggtcgggtg cottaacggt 1680
 acaatcccc aatggcgtgt tgatgacatg gctgtccgta tcatggccc ttattacaag 1740
 gttggccggc acacaaata ccccctccc aacttcagct cgtggaccag ggaacgaatc 1800
 ggtttcggc ataaocatgt ttoggaaggt gcttaagaga gggtaacaga attcgtggac 1860
 gtgcaacgcg atcatgcga cctaaccgt cgcctcggcg cgcagagcac tgttctgctg 1920
 aagaaacaag gtgctttgca cttagccgc aaggaanaag tggtcgacct tctgggagc 1980
 gatgogggtt ccaactcgtg gggcgcatac ggtctgatg accgtggttq cgataaoggt 2040
 acccttgcca tggcctgggg tagcggtact gogaatttcc cctacctcgt gaccacagc 2100
 caggcagatc agaaogaagt tctcagggc cgtggtaatc tcttcgacct gaocgacgt 2160
 tgggcgctcg acaagatcgc tgcggctgcc cgcaggcca gcgtatctct cgtgttcgtc 2220
 aactccgact caggagaagc ctatcttagt gtggatgga atgagggcga tcttaacaac 2280
 atcaotctgt ggaagaaocg cgaacatgtg gtcaagacc cagogaataa ctgtaacaac 2340

ES 2 563 209 T3

accgttgtca	tcattccactc	cgtcggacca	gttttgatcg	atgaatggta	tgaccacccc	2400
aatgtcaactg	gtattatctg	ggctggctcg	ccaggccagg	agtatggtaa	ctccattgac	2460
gatgtgctgt	accgtcctgt	caaccctggc	gccaaagtctc	ctttcacttg	gggcaagacc	2520
cgggagtogt	atggtttctc	cttggctcaag	gatgccaaca	atggcaacgg	agcgccccag	2580
tctgatttca	cccagggtgt	tttcatcgat	taccgccatt	tcgataagtt	caatgagacc	2640
cctatctacg	agtttggcta	cggcttgagc	tacaccacct	tcgagctctc	cgacctccat	2700
gttcagcccc	tgaaccgctc	ccgatacaact	cccaccagtg	gcatgactga	agctgcaag	2760
aaactttggtg	aaattggcga	tcgctcggag	tacgtgtatc	cggaggggct	ggaaaggatc	2820
catgagttha	tctatccctg	gatcaactct	accgacctga	aggcatcgtc	tgacgattct	2880
aaactacggct	gggaagactc	caagtatatt	ccggaaggcg	ccacggatgg	gtctgccag	2940
ccccgtttgc	ccgctagtgg	tggtgcaggc	ggaaaaccccg	gtctgtacga	ggatcttttc	3000
cgcgtctctg	tgaaggctca	gaaccggggc	aatgtcggcg	gtgatgaagt	tcctcagctg	3060
tacgtttccc	taggcggccc	gaatgagccc	aaggctgtac	tcgcgaagtt	tgagcgtatt	3120
cacttggccc	cttcgcagga	ggccgtgtgg	acaacgaccc	ttaccctcg	tgaccttga	3180
aaactgggacg	tttcggctca	ggactggacc	gtcaactcatt	accccaagac	gatctacgtt	3240
ggaaaactcct	caaggaaaact	gcogctccag	gcctcgtctg	ataaggacca	gtaa	3294

<210> 62

<211> 1097

<212> PRT

<213> *Aspergillus oryzae*

<400> 62

5

ES 2 563 209 T3

Met Arg Ser Ser Pro Leu Leu Arg Ser Ala Val Val Ala Ala Leu Pro
 1 5 10 15

Val Leu Ala Leu Ala Ala Asp Gly Arg Ser Thr Arg Tyr Trp Asp Cys
 20 25 30

Cys Lys Pro Ser Cys Gly Trp Ala Lys Lys Ala Pro Val Asn Gln Pro
 35 40 45

Val Phe Ser Cys Asn Ala Asn Phe Gln Arg Ile Thr Asp Phe Asp Ala
 50 55 60

Lys Ser Gly Cys Glu Pro Gly Gly Val Ala Tyr Ser Cys Ala Asp Gln
 65 70 75 80

Thr Pro Trp Ala Val Asn Asp Asp Phe Ala Leu Gly Phe Ala Ala Thr
 85 90 95

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

ES 2 563 209 T3

355							360									365
Phe	Ser	Asp	Lys	Gly	Ile	Asp	Val	Gln	Leu	Gly	Pro	Ala	Ala	Gly	Pro	
	370						375				380					
Leu	Gly	Ala	His	Pro	Asp	Gly	Gly	Arg	Asn	Trp	Glu	Gly	Phe	Ser	Pro	
385					390					395					400	
Asp	Pro	Ala	Leu	Thr	Gly	Val	Leu	Phe	Ala	Glu	Thr	Ile	Lys	Gly	Ile	
				405						410				415		
Gln	Asp	Ala	Gly	Val	Ile	Ala	Thr	Ala	Lys	His	Tyr	Ile	Met	Asn	Glu	
			420					425						430		
Gln	Glu	His	Phe	Arg	Gln	Gln	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Tyr	Gly	Phe	Asn	
		435					440					445				
Val	Ser	Asp	Ser	Leu	Ser	Ser	Asn	Val	Asp	Asp	Lys	Thr	Met	His	Glu	
	450						455				460					
Leu	Tyr	Leu	Trp	Pro	Phe	Ala	Asp	Ala	Val	Arg	Ala	Gly	Val	Gly	Ala	
465					470					475					480	
Val	Met	Cys	Ser	Tyr	Asn	Gln	Ile	Asn	Asn	Ser	Tyr	Gly	Cys	Glu	Asn	
				485					490					495		
Ser	Glu	Thr	Leu	Asn	Lys	Leu	Leu	Lys	Ala	Glu	Leu	Gly	Phe	Gln	Gly	
			500					505					510			
Phe	Val	Met	Ser	Asp	Trp	Thr	Ala	His	His	Ser	Gly	Val	Gly	Ala	Ala	
		515					520						525			
Leu	Ala	Gly	Leu	Asp	Met	Ser	Met	Pro	Gly	Asp	Val	Thr	Phe	Asp	Ser	
	530						535				540					
Gly	Thr	Ser	Phe	Trp	Gly	Ala	Asn	Leu	Thr	Val	Gly	Val	Leu	Asn	Gly	
545					550					555					560	
Thr	Ile	Pro	Gln	Trp	Arg	Val	Asp	Asp	Met	Ala	Val	Arg	Ile	Met	Ala	
				565					570					575		
Ala	Tyr	Tyr	Lys	Val	Gly	Arg	Asp	Thr	Lys	Tyr	Thr	Pro	Pro	Asn	Phe	
			580					585					590			
Ser	Ser	Trp	Thr	Arg	Asp	Glu	Tyr	Gly	Phe	Ala	His	Asn	His	Val	Ser	
		595					600						605			
Glu	Gly	Ala	Tyr	Glu	Arg	Val	Asn	Glu	Phe	Val	Asp	Val	Gln	Arg	Asp	
610						615					620					

His Ala Asp Leu Ile Arg Arg Ile Gly Ala Gln Ser Thr Val Leu Leu
 625 630 635 640
 Lys Asn Lys Gly Ala Leu Pro Leu Ser Arg Lys Glu Lys Leu Val Ala
 645 650 655
 Leu Leu Gly Glu Asp Ala Gly Ser Asn Ser Trp Gly Ala Asn Gly Cys
 660 665 670
 Asp Asp Arg Gly Cys Asp Asn Gly Thr Leu Ala Met Ala Trp Gly Ser
 675 680 685
 Gly Thr Ala Asn Phe Pro Tyr Leu Val Thr Pro Glu Gln Ala Ile Gln
 690 695 700
 Asn Glu Val Leu Gln Gly Arg Gly Asn Val Phe Ala Val Thr Asp Ser
 705 710 715 720
 Trp Ala Leu Asp Lys Ile Ala Ala Ala Ala Arg Gln Ala Ser Val Ser
 725 730 735
 Leu Val Phe Val Asn Ser Asp Ser Gly Glu Gly Tyr Leu Ser Val Asp
 740 745 750
 Gly Asn Glu Gly Asp Arg Asn Asn Ile Thr Leu Trp Lys Asn Gly Asp
 755 760 765
 Asn Val Val Lys Thr Ala Ala Asn Asn Cys Asn Asn Thr Val Val Ile
 770 775 780
 Ile His Ser Val Gly Pro Val Leu Ile Asp Glu Trp Tyr Asp His Pro
 785 790 795 800
 Asn Val Thr Gly Ile Leu Trp Ala Gly Leu Pro Gly Gln Glu Ser Gly
 805 810 815
 Asn Ser Ile Ala Asp Val Leu Tyr Gly Arg Val Asn Pro Gly Ala Lys
 820 825 830
 Ser Pro Phe Thr Trp Gly Lys Thr Arg Glu Ser Tyr Gly Ser Pro Leu
 835 840 845
 Val Lys Asp Ala Asn Asn Gly Asn Gly Ala Pro Gln Ser Asp Phe Thr
 850 855 860
 Gln Gly Val Phe Ile Asp Tyr Arg His Phe Asp Lys Phe Asn Glu Thr
 865 870 875 880

Pro Ile Tyr Glu Phe Gly Tyr Gly Leu Ser Tyr Thr Thr Phe Glu Leu
 885 890 895

Ser Asp Leu His Val Gln Pro Leu Asn Ala Ser Arg Tyr Thr Pro Thr
 900 905 910

Ser Gly Met Thr Glu Ala Ala Lys Asn Phe Gly Glu Ile Gly Asp Ala
 915 920 925

Ser Glu Tyr Val Tyr Pro Glu Gly Leu Glu Arg Ile His Glu Phe Ile
 930 935 940

Tyr Pro Trp Ile Asn Ser Thr Asp Leu Lys Ala Ser Ser Asp Asp Ser
 945 950 955 960

Asn Tyr Gly Trp Glu Asp Ser Lys Tyr Ile Pro Glu Gly Ala Thr Asp
 965 970 975

Gly Ser Ala Gln Pro Arg Leu Pro Ala Ser Gly Gly Ala Gly Gly Asn
 980 985 990

Pro Gly Leu Tyr Glu Asp Leu Phe Arg Val Ser Val Lys Val Lys Asn
 995 1000 1005

Thr Gly Asn Val Ala Gly Asp Glu Val Pro Gln Leu Tyr Val Ser
 1010 1015 1020

Leu Gly Gly Pro Asn Glu Pro Lys Val Val Leu Arg Lys Phe Glu
 1025 1030 1035

Arg Ile His Leu Ala Pro Ser Gln Glu Ala Val Trp Thr Thr Thr
 1040 1045 1050

Leu Thr Arg Arg Asp Leu Ala Asn Trp Asp Val Ser Ala Gln Asp
 1055 1060 1065

Trp Thr Val Thr Pro Tyr Pro Lys Thr Ile Tyr Val Gly Asn Ser
 1070 1075 1080

Ser Arg Lys Leu Pro Leu Gln Ala Ser Leu Pro Lys Ala Gln
 1085 1090 1095

<210> 63
 <211> 3294
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus oryzae*

5

<400> 63

atgsgttcct cccccctcct csgctccgca gttgtggccg csetgscggg gttggccctt 60
 gcogctgatg gcaggtccac ccgctactgg gactgctgca agccttcgtg cggctgggac 120
 aagaaggctc ccgtgaacca gcctgtcttt tccgtgcaag ccaacttcca gcgtatccag 180
 gacttcgacg ccaagtccgg ctgogagccg ggoggtgtcg cctactcgtg cgcogaccag 240
 accccatggg ctgtgaacga cgaacttcgg ctcggttttg ctgccacctc tattgcccgc 300
 agcaatgagg cgggctggtg ctgocctgca taccgagctca ccttcacata cggctcctgtt 360
 gctggcaaga agatggtcgt ccagtccacc agcaactggcg gtgatcttgg cagcaaccac 420
 ttogatctca acatccccgg cggcggcgtc ggcatcttcc acggatgca cccccagttc 480
 ggtggtctgc cgggdcagcg ctacggcggc atctcgtccc gaaacagatg cgtatcgttc 540
 ccogacgccc tcaagccccg ctgctactgg cgttcgact ggttcaaga cgcogacaat 600
 ccgagcttca gcttccgtca ggtccagtgc ccagccgagc tctcctcctc caccggatgc 660
 cgcgcgaadg acgagggcaa cttccctgca gtccagatcc ccctgcttc ctccccctc 720
 ctccgctccg ccgttgtggc cgcctcggc gtgttggccc ttgccaaagc tgatctcggc 780
 tactccccct ctttctaccc ttccccatgg gacgatggta agggtgaatg gggggaaata 840
 tacaaaagcg ctgtagacat agtttcccaq atgaogttga cagagaaagt caacttaacg 900
 actggaaacg gatggcaact agagaggtgt gttggacaaa ctggcagtgt tcccagctc 960
 aacatcccc ccttgtgttt gcaggatagt cctcttggta ttcttttctc ggaactacaat 1020
 taagctttcc ctgocgggtg taatgtcgtt gcaacctggg acaagaagct cgcctacatt 1080
 cgtggtccag caatgggtga ggagttcagt gataagggtc ttgacgttca gctgggtcct 1140
 gatgctggcc ctctcgggtg tcaatccggat ggaggttagaa actgggaaaq tttctcacc 1200
 gatccagccc tcaccggtgt actttttcgc gagacgatta agggtattca agatgctggt 1260
 gtcattgcga cagctaagca ttatatcatg aacgaacaag agcatttccg ccaacaaccc 1320
 gaggtcgggg gttacggatt caacgtaaga gacagtttga gttccaaagt tgatgacaag 1380
 actatgcatg aattgtacct ctggcccttc gggatgcaq tacgcgctgg agtcggtgct 1440
 gttatgtgct cttacaaacc aatcaacaaq agatacgggt ggagagaatg cgaactctg 1500
 aacaagcttt tgaaggogga gcttggtttc caaggcttog tcatgagtga ttggacogct 1560
 caacacagcg gcgtaggcgc tgctttagca ggtctggata tgtcgatgcc cgggtgatgtt 1620
 accctagata gtggtacgta tttctggggg gcaaacctga cggtcggtgt ccttaacggc 1680
 acaatccccc aatggcgtgt tgatgacatg gctgtccgta tcatggcgc ttattacaag 1740
 gttggccgcg acaccaaata cccccctccc aacttcagct cgtggaccag ggaacaaat 1800
 ggtttcggc ataaccatgt ttoggaaggt gattacgaga gggtaaacga attcgtggac 1860
 gtgcaacgcg atcatgcga cctaaccgt cgcctcggcg cgcagagcac tgttctgctg 1920
 aagaacaagg gtgccttgc cttgagccgc aaggaaaagc tggtcgccc tctgggagag 1980
 gatgoggggt ccaactcgtg gggcgcataa ggtgtgtatg accgtggtt cgtataacgt 2040

ES 2 563 209 T3

accettgcca	tggcctgggg	tagcggtaact	gcgaatttc	catacctcgt	gacaccagag	2100
caggcgatto	agaacgaagt	tottcagggc	cgtagtaatg	tottogcogt	gacogacagt	2160
tgggcgctcg	acaagatcgc	tgcggctgcc	cgccaggcca	gcgtatctct	cgtgttcgtc	2220
aaactcogact	caggagaagg	ctatottagt	gtggatggaa	atgagggcga	togtaacaac	2280
atcactctgt	ggaagaacgg	cgacaatgtg	gtcaagaccg	cagcgaataa	ctgtaacaac	2340
aacgttgtoa	tcatacactc	cgtoggacaa	gttttgatog	atgaatggta	tgaccacccc	2400
aatgtcactg	gtattctctg	ggctggctctg	ccaggccagg	agtctggtaa	ctccattgcc	2460
gatgtgctgt	acggctcgtg	caaccctggc	gcccaagtctc	ctttcacttg	gggcaagacc	2520
cgggagtcgt	atggtttctc	cttggctcaag	gatgccaaaca	atggcaacgg	agcgcgccag	2580
tctgatttca	cccaggggtg	tttcatcgat	taccggcatt	togataagtt	caatgagacc	2640
cctatatacg	agtttggota	aggattgagc	tacaccacat	togagctctc	cgacctcoat	2700
gttcagcccc	tgaacggctc	cogatacaact	cccaccagtg	gcctgactga	agctgcaaaq	2760
aaactttggtg	aaattggcga	tgcctcggag	tacgtgtatc	cggaggggct	ggaaggtac	2820
catgagttta	tcataccctg	gatcaactct	accgacctga	aggcatcgtc	tgacgattct	2880
aaactaaggct	gggaagaactc	caagtatatt	ccogaaggcg	ccagggatgg	gtctgcccag	2940
ccccgtttgc	ccgctagtgg	tggctcogga	ggaaaaccccg	gtctgtacga	ggatotttto	3000
cgcgtctctg	tgaaggctca	gaacacgggc	aatgtcgcog	gtgatgaagt	tcctcagctg	3060
tacgtttccc	tagggggccc	gaatgagccc	aaggtggtac	tggcgaagtt	tgagcgtatt	3120
cacttgcccc	cttcgcagga	ggccgtgtgg	acaacgaccc	ttaccctcgt	tgaccttga	3180
aaactgggacg	tttcggctca	ggactggacc	gtcactcctt	accccaagac	gatctacgtt	3240
ggaaaactcct	caogggaaact	gcogctccag	gcctcgtctg	ataaggccca	gtaa	3294

<210> 64
 <211> 1097
 <212> PRT
 <213> *Aspergillus oryzae*
 <400> 64

5

ES 2 563 209 T3

Met Arg Ser Ser Pro Leu Leu Arg Ser Ala Val Val Ala Ala Leu Pro
1 5 10 15

Val Leu Ala Leu Ala Ala Asp Gly Arg Ser Thr Arg Tyr Trp Asp Cys
 20 25 30

Cys Lys Pro Ser Cys Gly Trp Ala Lys Lys Ala Pro Val Asn Gln Pro
 35 40 45

Val Phe Ser Cys Asn Ala Asn Phe Gln Arg Ile Thr Asp Phe Asp Ala
 50 55 60

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

Asn Ile Pro Ser Leu Cys Leu Gln Asp Ser Pro Leu Gly Ile Arg Phe
 325 330 335

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

Trp Asp Lys Thr Leu Ala Tyr Leu Arg Gly Gln Ala Met Gly Glu Glu
 355 360 365

Phe Ser Asp Lys Gly Ile Asp Val Gln Leu Gly Pro Ala Ala Gly Pro
 370 375 380

Leu Gly Ala His Pro Asp Gly Gly Arg Asn Trp Glu Ser Phe Ser Pro
 385 390 395 400

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

Gln Asp Ala Gly Val Ile Ala Thr Ala Lys His Tyr Ile Met Asn Glu
 420 425 430

Gln Glu His Phe Arg Gln Gln Pro Glu Ala Ala Gly Tyr Gly Phe Asn
 435 440 445

Val Ser Asp Ser Leu Ser Ser Asn Val Asp Asp Lys Thr Met His Glu
 450 455 460

Leu Tyr Leu Trp Pro Phe Ala Asp Ala Val Arg Ala Gly Val Gly Ala
 465 470 475 480

Val Met Cys Ser Tyr Asn Gln Ile Asn Asn Ser Tyr Gly Cys Glu Asn
 485 490 495

Ser Glu Thr Leu Asn Lys Leu Leu Lys Ala Glu Leu Gly Phe Gln Gly
 500 505 510

Phe Val Met Ser Asp Trp Thr Ala Gln His Ser Gly Val Gly Ala Ala
 515 520 525

Leu Ala Gly Leu Asp Met Ser Met Pro Gly Asp Val Thr Phe Asp Ser
 530 535 540

Gly Thr Ser Phe Trp Gly Ala Asn Leu Thr Val Gly Val Leu Asn Gly
 545 550 555 560

Thr Ile Pro Gln Trp Arg Val Asp Asp Met Ala Val Arg Ile Met Ala
 565 570 575

Ala Tyr Tyr Lys Val Gly Arg Asp Thr Lys Tyr Thr Pro Pro Asn Phe
580 585 590

Ser Ser Trp Thr Arg Asp Glu Tyr Gly Phe Ala His Asn His Val Ser
595 600 605

Glu Gly Ala Tyr Glu Arg Val Asn Glu Phe Val Asp Val Gln Arg Asp
610 615 620

His Ala Asp Leu Ile Arg Arg Ile Gly Ala Gln Ser Thr Val Leu Leu
625 630 635 640

Lys Asn Lys Gly Ala Leu Pro Leu Ser Arg Lys Glu Lys Leu Val Ala
645 650 655

Leu Leu Gly Glu Asp Ala Gly Ser Asn Ser Trp Gly Ala Asn Gly Cys
660 665 670

Asp Asp Arg Gly Cys Asp Asn Gly Thr Leu Ala Met Ala Trp Gly Ser
675 680 685

Gly Thr Ala Asn Phe Pro Tyr Leu Val Thr Pro Glu Gln Ala Ile Gln
690 695 700

Asn Glu Val Leu Gln Gly Arg Gly Asn Val Phe Ala Val Thr Asp Ser
705 710 715 720

Trp Ala Leu Asp Lys Ile Ala Ala Ala Ala Arg Gln Ala Ser Val Ser
725 730 735

Leu Val Phe Val Asn Ser Asp Ser Gly Glu Gly Tyr Leu Ser Val Asp
740 745 750

Gly Asn Glu Gly Asp Arg Asn Asn Ile Thr Leu Trp Lys Asn Gly Asp
755 760 765

Asn Val Val Lys Thr Ala Ala Asn Asn Cys Asn Asn Thr Val Val Ile
770 775 780

Ile His Ser Val Gly Pro Val Leu Ile Asp Glu Trp Tyr Asp His Pro
785 790 795 800

Asn Val Thr Gly Ile Leu Trp Ala Gly Leu Pro Gly Gln Glu Ser Gly
805 810 815

Asn Ser Ile Ala Asp Val Leu Tyr Gly Arg Val Asn Pro Gly Ala Lys
820 825 830

Ser Pro Phe Thr Trp Gly Lys Thr Arg Glu Ser Tyr Gly Ser Pro Leu

<211> 1846
<212> ADN
<213> *Thielavia terrestris*

5 <400> 65

aattgaagga gggagtggcg gagtggccac caagtcaaggc ggctgtcaac taaccaagga 60
tggaacagc tgggctogcc ttgcccaggc gcagcgttcc ctgatgggga cgaaccatgg 120
gactggggtc agctgctgta taaaagttoa aatogatgat ctctcagatg gogctgctgg 180
ggtgttctgc gcttttccat cctcgcaacc tggtatccca ctagtccagc gttcggcacc 240
atgaagtctg tcaccattgc cgccttggca gccctatggg cccaggaggc cgcgcgccac 300
gcgaccttc aggacctctg gattgatgga gtcgactacg gctcgcaatg tgtccgcctc 360
ccggcgtcca actccccgt caaccatggt gcgtccgagc ataccgatg caatgtcggc 420
acctogaggc ccaccgtcaa gtgcccggtc aaggccggct ccacggtcac gatogagatg 480
caccaggttc gcacgcctct ctgctaggc cccccagata ctatatggca ctaccacgac 540
ctccagcaac ctggcgaccc gtcttggccc aacgaggcta tggcgggcga ccactacggc 600
cccgtaatgg tgtacatgtc caaggtcgat gacgcggtga cagccgacgg ttcctcgggc 660
tggttcaagg tgttccagga cagctgggcc aagaaccctg cgggttcgac gggcgacgac 720
gactactggg gcaccaagga cctcaactcg tgcctcggca agatgaactg caagatcccc 780
gaagacatcg agccggggca ctacctgctc cgcgcggagg ttatcgcgct gcacgtggcc 840
gccagctcgg gcggcgcgca gttctacatg tcttgcctac agctgacctg gacgggctcc 900
ggcagcgcca ccccctogac cgtgaatttc ccggcgccct actcggccag cgaccggggc 960
atcctgatca acatccaagc gcccatgctg acctacgtcg tcccggggcc gacctgttac 1020
gccccgggct cgaccsaagc ggctggcagc tcttgcctcg gctgcgaggc gacctgcacg 1080
gttggttccg gccccagcgc gacactgacg cagcccacct ccaccgcgac cgcgacctcc 1140
gcccctggcg gcggcggtct cggctgcacg gcggcccaqt accagcagtg cggcggcacc 1200
ggctacactg ggtgcaccac ctgcctctga agttccctcg tgatatgcag cggaacaccg 1260
tctggactgt tttgctaact cgcgtcgtag tccgggtcta cctgcagcgc cgtctcgcct 1320
ccgtactact cgcagtgccct ctaagccggg agcgccttct cagcgggctg ctgtgaagga 1380
gctccatgtc cccatgcgc catggccgga gtaccgggct gagcgccca ttcttgtata 1440
tagttgagtt ttcccatac tgaatacata tgcatctgca tggactgttg cgtcgtcagt 1500
ctacatcctt tgctccactg aactgtgaga ccccatgtoa tccggaccat togatcggg 1560
ctcgtctctc catctcgggt gatgggtctg ggcttgagag tcactggcac gtcctcggcg 1620
gtaatgaaat gtggaggaaa gctgagctg tctgacgcac tcggcgtga tgagacgttg 1680
agcgcggccc aactggtgt tctgtaagcc agcacacaaa agsatactcc aggatggccc 1740
atagcggcaa atatacagta tcagggatgc aaaaagtgca aaagtaaggg gctcaatcgg 1800
ggatcgaacc cgagacctcg cacatgactt atttcaagtc aggggt 1846

<211> 326
<212> PRT
<213> *Thielavia terrestris*

5 <400> 66

ES 2 563 209 T3

Met Lys Ser Phe Thr Ile Ala Ala Leu Ala Ala Leu Trp Ala Gln Glu
 1 5 10 15

Ala Ala Ala His Ala Thr Phe Gln Asp Leu Trp Ile Asp Gly Val Asp
 20 25 30

Tyr Gly Ser Gln Cys Val Arg Leu Pro Ala Ser Asn Ser Pro Val Thr
 35 40 45

Asn Val Ala Ser Asp Asp Ile Arg Cys Asn Val Gly Thr Ser Arg Pro
 50 55 60

Thr Val Lys Cys Pro Val Lys Ala Gly Ser Thr Val Thr Ile Glu Met
 65 70 75 80

His Gln Gln Pro Gly Asp Arg Ser Cys Ala Asn Glu Ala Ile Gly Gly
 85 90 95

Asp His Tyr Gly Pro Val Met Val Tyr Met Ser Lys Val Asp Asp Ala
 100 105 110

Val Thr Ala Asp Gly Ser Ser Gly Trp Phe Lys Val Phe Gln Asp Ser
 115 120 125

Trp Ala Lys Asn Pro Ser Gly Ser Thr Gly Asp Asp Asp Tyr Trp Gly
 130 135 140

Thr Lys Asp Leu Asn Ser Cys Cys Gly Lys Met Asn Val Lys Ile Pro
 145 150 155 160

Glu Asp Ile Glu Pro Gly Asp Tyr Leu Leu Arg Ala Glu Val Ile Ala
 165 170 175

Leu His Val Ala Ala Ser Ser Gly Gly Ala Gln Phe Tyr Met Ser Cys
 180 185 190

Tyr Gln Leu Thr Val Thr Gly Ser Gly Ser Ala Thr Pro Ser Thr Val
 195 200 205

ES 2 563 209 T3

Asn Phe Pro Gly Ala Tyr Ser Ala Ser Asp Pro Gly Ile Leu Ile Asn
 210 215 220

Ile His Ala Pro Met Ser Thr Tyr Val Val Pro Gly Pro Thr Val Tyr
 225 230 235 240

Ala Gly Gly Ser Thr Lys Ser Ala Gly Ser Ser Cys Ser Gly Cys Glu
 245 250 255

Ala Thr Cys Thr Val Gly Ser Gly Pro Ser Ala Thr Leu Thr Gln Pro
 260 265 270

Thr Ser Thr Ala Thr Ala Thr Ser Ala Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 275 280 285

Cys Thr Ala Ala Lys Tyr Gln Gln Cys Gly Gly Thr Gly Tyr Thr Gly
 290 295 300

Cys Thr Thr Cys Ala Ser Gly Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Pro Pro
 305 310 315 320

Tyr Tyr Ser Gln Cys Leu
 325

- <210> 67
- <211> 880
- <212> ADN
- <213> *Thielavia terrestris*

5

<400> 67

ES 2 563 209 T3

accccgggat	cactgcccct	aggaaaccagc	acacctcggc	ccaatcatgc	ggttcgacgc	60
cctatcggcc	atagctattg	agcagattgt	ggatggccac	ggcgcagtga	ccagctacat	120
catcggcggc	aaaacctatc	cgggctaoga	gggattctog	cctgcctoga	gcccgcgcac	180
gatccagtac	cagtggcccg	actacaacc	gacctgagc	gtgaccgacc	cgaaatgcg	240
ctgcaacggc	ggcaacctcg	cagagctcag	cgcgcccgtc	cagggccggcg	agaacctgac	300
ggcctctctg	aagcagtgga	cccaccagca	aggcccctgc	atggtctgga	tgttcaagtg	360
ccccggcgac	ttctcgtcgt	gccaacggga	cggcaaggga	tggttcaaga	togaccagct	420
gggcctcttg	ggcaacaacc	tcaactcga	caactggggc	accgcgatcg	tctacaagac	480
cctccagtgg	agcaaaccca	tccccaaaga	cctcgcgcgc	ggcaactacc	tcatccgcca	540
cagactgctc	gcctcgaacc	aggcaaacac	gcgcagcttc	taagccagct	gcccaccagct	600
ggtcgtctcc	ggcagcggat	ccgcaactgc	ccctcaccac	taactctaca	gcataccctg	660
ctacgcgcc	cagaaccgac	ccggcatcac	cgtgagtggg	cttccgttcc	gcccgcagct	720
ctgtggaat	cttgcctgac	atgggctagg	ttgacatctc	caacggcggg	cttaacctct	780
acaccccgcc	ggcggccccc	gtctggtctg	gcttcagctt	ttagggcgc	tgagtcgggg	840
gctacgaggg	gaaggcatct	gttcgcatga	gcgtgggtac			880

- <210> 68
- <211> 239
- <212> PRT
- <213> *Thielavia terrestris*
- <400> 68

Met Arg Phe Asp Ala Leu Ser Ala Leu Ala Leu Ala Pro Leu Val Ala
 1 5 10 15

Gly His Gly Ala Val Thr Ser Tyr Ile Ile Gly Gly Lys Thr Tyr Pro
 20 25 30

Gly Tyr Glu Gly Phe Ser Pro Ala Ser Ser Pro Pro Thr Ile Gln Tyr
 35 40 45

Gln Trp Pro Asp Tyr Asn Pro Thr Leu Ser Val Thr Asp Pro Lys Met
 50 55 60

Arg Cys Asn Gly Gly Thr Ser Ala Glu Leu Ser Ala Pro Val Gln Ala
 65 70 75 80

Gly Glu Asn Val Thr Ala Val Trp Lys Gln Trp Thr His Gln Gln Gly
 85 90 95

Pro Val Met Val Trp Met Phe Lys Cys Pro Gly Asp Phe Ser Ser Ser
 100 105 110

His Gly Asp Gly Lys Gly Trp Phe Lys Ile Asp Gln Leu Gly Leu Trp
 115 120 125

Gly Asn Asn Leu Asn Ser Asn Asn Trp Gly Thr Ala Ile Val Tyr Lys
 130 135 140

Thr Leu Gln Trp Ser Asn Pro Ile Pro Lys Asn Leu Ala Pro Gly Asn
 145 150 155 160

Tyr Leu Ile Arg His Glu Leu Leu Ala Leu His Gln Ala Asn Thr Pro
 165 170 175

Gln Phe Tyr Ala Glu Cys Ala Gln Leu Val Val Ser Gly Ser Gly Ser
 180 185 190

Ala Leu Pro Pro Ser Asp Tyr Leu Tyr Ser Ile Pro Val Tyr Ala Pro
 195 200 205

Gln Asn Asp Pro Gly Ile Thr Val Asp Ile Tyr Asn Gly Gly Leu Thr
 210 215 220
 Ser Tyr Thr Pro Pro Gly Gly Pro Val Trp Ser Gly Phe Glu Phe
 225 230 235

<210> 69
 <211> 1000
 <212> ADN
 <213> *Thielavia terrestris*

5

ES 2 563 209 T3

<400> 69
ctcctgttcc tgggccaccg cttgttgoot gcaactattgg tagagttggt ctattgctag 60
agttggccat gctttctaca tcagtcctcg gctcggctgc cctgcttget agcggcgtg 120
cggcacaccg cgcctgacc agctacatca tcgccggca gaattaccg gggcgggtag 180
ctgattattg agggcgcatt caaggttoat aocgggtgtg atggotgaca aocggotggc 240
agataccaag gcttttctcc tgcgsactcg ccgaacgtca tccaatggca atggcatgac 300
tacaaccccg tcttgtcgtg cagcgcactcg aagcttcgct gcaacggcgg cacgtcggcc 360
accctgaacg ccacggccgc accggggcgc accatcaccg ccatctgggc gcagtggaag 420
cacagccagg gccccatcct ggtgtggatg tacaagtgc ogggotcctt cagctcctgt 480
gaocgctocg gcgctggctg gttcaagatc gaocgagcog gottccaagg cgaocggctc 540
aaggtcttcc tcgacaccga gaacccgtcc ggtcgggaca tcgccaaagt cgtcggcggc 600
aacaagcagt ggagcagcaa ggtcccagag ggcctcgcgc ccggcaacta cctcgtcgcg 660
cacgagttga tcgccctgca ccaggccaac aaccocgagt tctaccggga gtgcgccag 720
gtcgtcctca ccggctccgg caocggcag ccggatgoot catacaagga ggcctatccc 780
ggctactgca accagaatga cccgaacatc aaggtgagat ccagggcgtaa tgcagtctac 840
tgctggaaag aaagtggctc aagctaaacc gcgctccagg tgcccatcaa cgaccactcc 900
atccctcaga cctacaagat tcccgccoot ccogtcttca agggcaccgc cagcaagaag 960
gcccgggact tcacocgctg aagttggtga atogatggag 1000

- <210> 70
- <211> 258
- <212> PRT
- <213> *Thielavia terrestris*
- <400> 70

ES 2 563 209 T3

Met Leu Leu Thr Ser Val Leu Gly Ser Ala Ala Leu Leu Ala Ser Gly
1 5 10 15

Ala Ala Ala His Gly Ala Val Thr Ser Tyr Ile Ile Ala Gly Lys Asn
20 25 30

Tyr Pro Gly Tyr Gln Gly Phe Ser Pro Ala Asn Ser Pro Asn Val Ile
35 40 45

Gln Trp Gln Trp His Asp Tyr Asn Pro Val Leu Ser Cys Ser Asp Ser
50 55 60

Lys Leu Arg Cys Asn Gly Gly Thr Ser Ala Thr Leu Asn Ala Thr Ala
65 70 75 80

Ala Pro Gly Asp Thr Ile Thr Ala Ile Trp Ala Gln Trp Thr His Ser
85 90 95

Gln Gly Pro Ile Leu Val Trp Met Tyr Lys Cys Pro Gly Ser Phe Ser
100 105 110

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

Phe His Gly Asp Gly Val Lys Val Phe Leu Asp Thr Glu Asn Pro Ser
130 135 140

Gly Trp Asp Ile Ala Lys Leu Val Gly Gly Asn Lys Gln Trp Ser Ser
145 150 155 160

Lys Val Pro Glu Gly Leu Ala Pro Gly Asn Tyr Leu Val Arg His Glu
165 170 175

Leu Ile Ala Leu His Gln Ala Asn Asn Pro Gln Phe Tyr Pro Glu Cys
180 185 190

Ala Gln Val Val Ile Thr Gly Ser Gly Thr Ala Gln Pro Asp Ala Ser
195 200 205

Tyr Lys Ala Ala Ile Pro Gly Tyr Cys Asn Gln Asn Asp Pro Asn Ile
210 215 220

Lys Val Pro Ile Asn Asp His Ser Ile Pro Gln Thr Tyr Lys Ile Pro
225 230 235 240

Gly Pro Pro Val Phe Lys Gly Thr Ala Ser Lys Lys Ala Arg Asp Phe
245 250 255

Thr Ala

<210> 71

<211> 681

<212> ADN

<213> *Thielavia terrestris*

5

<400> 71

ES 2 563 209 T3

```

atgctcgcaa acggtgccat cgtcttccctg gccgcgcgcc tcggcgctcag tggccactac      60
acctggccac gggttaacga cggcgccgac tggcaacagc tccgtaaggc ggacaactgg      120

caggacaacg gctacgctcg ggtatgtcag tcgccacaga tccgctgttt ccaggcgacc      180

ccgtccccgg ccccatccgt cctcaacacc acggccggct cgaccgtgac ctactgggcc      240

aaccccgaag totaacacc cgggocctgt cagttttaca tggccocgct gccogatggc      300

gaggacatca actcgtggaa cggcgacggc gccgtgtggt tcaagggtga cggggaccat      360

cctacccttg gcgctcagct cacatggccc agcacgggca agagctcgtt cgcggttccc      420

atccccccgt gcatcaagtc cggctactac ctccctccgg cggagcaaat cggcctgcac      480

gtcgcccaga gcgtaggcgg agcgcaagtc tacatctcat ggcaccagct cagcgtcacc      540

ggcggcggca gcaccgagcc gcocgaacaag gtggcattcc ccggcgotta cagtgcgacg      600

gaccgcggca ttctgatcaa catctactac cctgttccc cgtcctacca gaaccccggc      660

ccggccgtct tcagctgctg a                                     681

```

- <210> 72
- <211> 226
- <212> PRT
- <213> *Thielavia terrestris*
- <400> 72

Met Leu Ala Asn Gly Ala Ile Val Phe Leu Ala Ala Ala Leu Gly Val
 1 5 10 15

Ser Gly His Tyr Thr Trp Pro Arg Val Asn Asp Gly Ala Asp Trp Gln
 20 25 30

Gln Val Arg Lys Ala Asp Asn Trp Gln Asp Asn Gly Tyr Val Gly Asp
 35 40 45

Val Thr Ser Pro Gln Ile Arg Cys Phe Gln Ala Thr Pro Ser Pro Ala
 50 55 60

Pro Ser Val Leu Asn Thr Thr Ala Gly Ser Thr Val Thr Tyr Trp Ala
 65 70 75 80

Asn Pro Asp Val Tyr His Pro Gly Pro Val Gln Phe Tyr Met Ala Arg
 85 90 95

Val Pro Asp Gly Glu Asp Ile Asn Ser Trp Asn Gly Asp Gly Ala Val
 100 105 110

Trp Phe Lys Val Tyr Glu Asp His Pro Thr Phe Gly Ala Gln Leu Thr
 115 120 125

Trp Pro Ser Thr Gly Lys Ser Ser Phe Ala Val Pro Ile Pro Pro Cys
 130 135 140
 Ile Lys Ser Gly Tyr Tyr Leu Leu Arg Ala Glu Gln Ile Gly Leu His
 145 150 155 160

Val Ala Gln Ser Val Gly Gly Gly Ala Gln Phe Tyr Ile Ser Cys Ala Gln
 165 170 175

Leu Ser Val Thr Gly Gly Gly Ser Thr Glu Pro Pro Asn Lys Val Ala
 180 185 190

Phe Pro Gly Ala Tyr Ser Ala Thr Asp Pro Gly Ile Leu Ile Asn Ile
 195 200 205

Tyr Tyr Pro Val Pro Thr Ser Tyr Gln Asn Pro Gly Pro Ala Val Phe
 210 215 220

Ser Cys
 225

<210> 73
 <211> 960
 <212> ADN
 <213> *Thielavia terrestris*

5

<400> 73
 atgaagggac ttttcagtgc cgcggccctc tccctggccg tcggccaggc ttccggcccat 60
 tacatattcc agcaactctc catcaacggg aaccagtttc oggtgtacca atatattcgc 120
 aagaacacca attataacag tcccgttacg gatctcacgt ccgacgatct tcggtgcaat 180
 gtcggggccc aggggtgotgg gacagacacc gtcaoggtga aggcgggoga ccagttcacc 240
 ttcacccttg acaccctgt ttaccaccag gggcccatct ccatctacat gtccaaggcc 300
 ccggggcggg ogtoagacta ogatggcagc ggoggtgtgt tcaagatcaa ggaactggggc 360
 ccgactttca acgcccagcg cacggccacc tgggacatgg ccggctcata cacctacaac 420
 atcccgaact gcattcccga cggcgactat ctgctccgca tccagtctct ggccatccac 480
 aacccttggc cggcgggcat cccgcagttc tacatctcct gcgccagat caccgtgacc 540
 ggcggcggca acggcaacc tggcccagcg gccctcatcc ccgggcctt caaggacacc 600
 gaccggggct acacgggtga catctaacg aacttccaca actaacgggt tccgggcccg 660
 gaggtcttca gctgcaacgg cggcggctcg aaccggccc cgcgggtgag tagcagcacg 720
 ccgcgacca cgcagctggt cacgtcgacg cgcaccacgt cctccacgtc ctccgcctcg 780
 accccggcct cgcaccggcg ctgcaccgtc gccaaagtgg gccagtgccg cggcaacggg 840
 tacacgggt gcacgacctg cgcggccggg tccacctga gcaagcagaa cgaactacta 900
 tcgcagtgct tgtaaggggag gcgcgaaagc atgaggtgtt tgaagaggag gagaggggtc 960

<210> 74
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

<400> 74

5

ES 2 563 209 T3

Met Lys Gly Leu Phe Ser Ala Ala Ala Leu Ser Leu Ala Val Gly Gln
1 5 10 15

Ala Ser Ala His Tyr Ile Phe Gln Gln Leu Ser Ile Asn Gly Asn Gln
20 25 30

Phe Pro Val Tyr Gln Tyr Ile Arg Lys Asn Thr Asn Tyr Asn Ser Pro
35 40 45

Val Thr Asp Leu Thr Ser Asp Asp Leu Arg Cys Asn Val Gly Ala Gln
50 55 60

Gly Ala Gly Thr Asp Thr Val Thr Val Lys Ala Gly Asp Gln Phe Thr
65 70 75 80

Phe Thr Leu Asp Thr Pro Val Tyr His Gln Gly Pro Ile Ser Ile Tyr
85 90 95

Met Ser Lys Ala Pro Gly Ala Ala Ser Asp Tyr Asp Gly Ser Gly Gly
100 105 110

Trp Phe Lys Ile Lys Asp Trp Gly Pro Thr Phe Asn Ala Asp Gly Thr
115 120 125

Ala Thr Trp Asp Met Ala Gly Ser Tyr Thr Tyr Asn Ile Pro Thr Cys
130 135 140

Ile Pro Asp Gly Asp Tyr Leu Leu Arg Ile Gln Ser Leu Ala Ile His
145 150 155 160

Asn Pro Trp Pro Ala Gly Ile Pro Gln Phe Tyr Ile Ser Cys Ala Gln
165 170 175

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

Ile Pro Gly Ala Phe Lys Asp Thr Asp Pro Gly Tyr Thr Val Asn Ile
195 200 205

Tyr Thr Asn Phe His Asn Tyr Thr Val Pro Gly Pro Glu Val Phe Ser
210 215 220

Cys Asn Gly Gly Gly Ser Asn Pro Pro Pro Pro Val Ser Ser Ser Thr
225 230 235 240

ES 2 563 209 T3

Pro Ala Thr Thr Thr Leu Val Thr Ser Thr Arg Thr Thr Ser Ser Thr
 245 250 255

Ser Ser Ala Ser Thr Pro Ala Ser Thr Gly Gly Cys Thr Val Ala Lys
 260 265 270

Trp Gly Gln Cys Gly Gly Asn Gly Tyr Thr Gly Cys Thr Thr Cys Ala
 275 280 285

Ala Gly Ser Thr Cys Ser Lys Gln Asn Asp Tyr Tyr Ser Gln Cys Leu
 290 295 300

<210> 75

<211> 954

<212> ADN

<213> *Thielavia terrestris*

5

<400> 75

atgsagggcc	tcagcctcct	cgccgctgcg	tcggcagcga	ctgctcctac	catcttcgtg	60
cagctcgagt	cagggggaac	gacctatccg	gtatcctaag	gcatccggga	ccctagctac	120
gacggtccca	tcaccgacgt	cacctccgac	tcactggctt	gcaatggtec	cccgaaaccc	180
acgagcgcgt	ccccgtacat	catcaaacgtc	acggccggca	ccaaggctgc	ggcgatctgg	240
aggcaacccc	tcacatccgg	ccccgaagat	gtcatggaag	ccagcaaaa	ggggccgacc	300
ctggcctacc	tcagaagagt	agatgatgac	ttgacagaca	agggtatcgg	cggcggtctg	360
ttcaagatcc	aggaggccgg	ttacgacaat	ggcaattggg	ctaccagcac	ggtgatcacc	420
aacggtggct	tccaatatat	tgacatcccc	gcctgcattc	ccaacggcca	gtatctgctc	480
cgcgccgaga	tgatcgcgct	ccacgcgcgc	agcacgcag	gtggtgccc	gctctacatg	540
gagtgcgcgc	agatcaacgt	ggtgggcggc	tcgggcagcg	ccagcccgca	gacgtacagc	600
atcccgggca	tctaccaggc	saccgacccg	ggcctgctga	tcaacatcta	ctccatgacg	660
cgtccagcc	agtacaccat	tcggggtccg	cccctgttca	cctgcagcgg	cagcggcaac	720
aacggcggcg	gcagcaaccc	gtcgggcggg	cagaccacga	cggcgaagcc	cacgacgacg	780
acggcggcga	agaccaactc	ctccgcagct	cctaccagca	gcccgggggg	cagcagcggg	840
tgcaacgttc	cccagtggca	gcagtgcggg	ggcaatctgt	tcacggctg	caaccaactgc	900
gaggcgggct	acaactgaaa	gtatctgaac	gactattact	agcaatgcaa	gtaa	954

10

<210> 76

<211> 317

<212> PRT

<213> *Thielavia terrestris*

15

<400> 76

Met Lys Gly Leu Ser Leu Leu Ala Ala Ala Ser Ala Ala Thr Ala His
1 5 10 15
Thr Ile Phe Val Gln Leu Glu Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Pro Val Ser
20 25 30

Tyr Gly Ile Arg Asp Pro Ser Tyr Asp Gly Pro Ile Thr Asp Val Thr
35 40 45

Ser Asp Ser Leu Ala Cys Asn Gly Pro Pro Asn Pro Thr Thr Pro Ser
50 55 60

Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Ala Gly Thr Thr Val Ala Ala Ile Trp
65 70 75 80

Arg His Thr Leu Thr Ser Gly Pro Asp Asp Val Met Asp Ala Ser His
85 90 95

Lys Gly Pro Thr Leu Ala Tyr Leu Lys Lys Val Asp Asp Ala Leu Thr
100 105 110

Asp Thr Gly Ile Gly Gly Gly Trp Phe Lys Ile Gln Glu Ala Gly Tyr
115 120 125

Asp Asn Gly Asn Trp Ala Thr Ser Thr Val Ile Thr Asn Gly Gly Phe
130 135 140

Gln Tyr Ile Asp Ile Pro Ala Cys Ile Pro Asn Gly Gln Tyr Leu Leu
145 150 155 160

Arg Ala Glu Met Ile Ala Leu His Ala Ala Ser Thr Gln Gly Gly Ala
165 170 175

Gln Leu Tyr Met Glu Cys Ala Gln Ile Asn Val Val Gly Gly Ser Gly
180 185 190

Ser Ala Ser Pro Gln Thr Tyr Ser Ile Pro Gly Ile Tyr Gln Ala Thr
195 200 205

Asp Pro Gly Leu Leu Ile Asn Ile Tyr Ser Met Thr Pro Ser Ser Gln
210 215 220

Tyr Thr Ile Pro Gly Pro Pro Leu Phe Thr Cys Ser Gly Ser Gly Asn
225 230 235 240

Asn Gly Gly Gly Ser Asn Pro Ser Gly Gly Gln Thr Thr Thr Ala Lys
245 250 255

Pro Thr Thr Thr Thr Ala Ala Thr Thr Thr Ser Ser Ala Ala Pro Thr
260 265 270

Ser Ser Gln Gly Gly Ser Ser Gly Cys Thr Val Pro Gln Trp Gln Gln
 275 280 285

Cys Gly Gly Ile Ser Phe Thr Gly Cys Thr Thr Cys Ala Ala Gly Tyr
 290 300

Thr Cys Lys Tyr Leu Asn Asp Tyr Tyr Ser Gln Cys Gln
 305 310 315

<210> 77

<211> 799

<212> ADN

<213> *Thermoascus aurantiacus*

5

<400> 77

```

atgtcctttt ccaagataat tgctactgcc ggcgttcttg cctctgcttc tctagtggct      60
ggccatggct tcgttcagaa catogtgatt gatggtaaaa agtatgtcat tgoaagaagc      120
acataagogg caacagotga caatogacag ttatggoggg tatctagtga accagtatcc      180
atacatgtcc aatcctccag aggtcatcgc ctggtctact acggcaactg atcttgatt      240
tgtggacggc actggatacc aaaccccaga tatcatctgc cataggggag ccaagcctgg      300
agcctgact gctccagtct ctccaggagg aactgttgag cttcaatgga ctccatggcc      360
tgattotoac catggcccag ttatcaacta ccttgctcag tgoaatggtg attgttccac      420
tgtggataag acccaattag aattcttcaa aattgcccag agcggctctc tcaatgatga      480
caatcctcct gggatctggg ctccagacaa totgatagca gccaacaaca gotggactgt      540
caccattoca accaacaattg caactggaaa ctatgttctg aggcattgaga ttattgctct      600
tcaactcagct cagaaccagg atggtgcccga gaactatccc cagtgcattc atctgcaggt      660
cactggaggt ggttctgata accctgctgg aactcttggc acggcactct accacgatac      720
cgatcctgga attctgatca acatctatca gaaactttcc agctatatca tccctggctc      780
tctctgtat actggttaa
    
```

<210> 78

<211> 249

<212> PRT

<213> *Thermoascus aurantiacus*

10

<400> 78

15

Met Ser Phe Ser Lys Ile Ile Ala Thr Ala Gly Val Leu Ala Ser Ala
1 5 10 15

Ser Leu Val Ala Gly His Gly Phe Val Gln Asn Ile Val Ile Asp Gly
20 25 30

Lys Tyr Tyr Gly Gly Tyr Leu Val Asn Gln Tyr Pro Tyr Met Ser Asn
35 40 45
Pro Pro Glu Val Ile Ala Trp Ser Thr Thr Ala Thr Asp Leu Gly Phe
50 55 60

Val Asp Gly Thr Gly Tyr Gln Thr Pro Asp Ile Ile Cys His Arg Gly
65 70 75 80

Ala Lys Pro Gly Ala Leu Thr Ala Pro Val Ser Pro Gly Gly Thr Val
85 90 95

Glu Leu Gln Trp Thr Pro Trp Pro Asp Ser His His Gly Pro Val Ile
100 105 110

Asn Tyr Leu Ala Pro Cys Asn Gly Asp Cys Ser Thr Val Asp Lys Thr
115 120 125

Gln Leu Glu Phe Phe Lys Ile Ala Glu Ser Gly Leu Ile Asn Asp Asp
130 135 140

Asn Pro Pro Gly Ile Trp Ala Ser Asp Asn Leu Ile Ala Ala Asn Asn
145 150 155 160

Ser Trp Thr Val Thr Ile Pro Thr Thr Ile Ala Pro Gly Asn Tyr Val
165 170 175

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

Ala Gln Asn Tyr Pro Gln Cys Ile Asn Leu Gln Val Thr Gly Gly Gly
195 200 205

Ser Asp Asn Pro Ala Gly Thr Leu Gly Thr Ala Leu Tyr His Asp Thr
210 215 220

Asp Pro Gly Ile Leu Ile Asn Ile Tyr Gln Lys Leu Ser Ser Tyr Ile
225 230 235 240

Ile Pro Gly Pro Pro Leu Tyr Thr Gly
245

ES 2 563 209 T3

<211> 1172
 <212> ADN
 <213> *Trichoderma reesei*

5 <400> 79

```

ggatctaagc cccatcgata tgaagtcctg cgccattctt gcagcccttg gctgtcttgc      60
cgggagcgtt ctcggccatg gacaagtcca aaacttcaag atcaatggac aatacaatca      120
gggtttcatt ctcgattact actatcagaa gcagaatact ggtcacttcc ccaacgttgc      180
tggctggtac gccgaggacc tagacctggg ctctctctcc cctgaccaat acaccacgcc      240
cgacattgtc tgtcacaaga scgcgggccc aggtgccatt tctgccactg cagcggccgg      300
cagcaacatc gtcttccaat gggggccctgg cgtctggcct caccctctag gtcccatcgt      360
tacctaagtg gotgagtga ggggatcgtg caagacctg aacaagaaca acctgogctg      420
ggtoaagatt caggaggcog gcataaacta taacaaccaa gtatgggogo agcaggatot      480
gatcaaccag ggcaacaagt ggactgtgaa gatccctctg agcctcaggc ccggaacta      540
tgtcttcogo catgzaotto ttgtgocaa tggtgootot agtgogaag gcatacagaa      600
ctatcctcag tgggtgaaca togcogtoac aggotcgggc acgaaagogo tccctgcogg      660
aactcctgca actcagctct acaagcccac tgacctggc atcttgttca acccttacac      720
aacaatcacg agctacaaca tccctggccc agccctgttg caaggctaga tccaggggta      780
cgggtgttggc gttcgtgaag tcggagctgt tgacaaggat atctgatgat gaacggagag      840
gactgatggg cgtgactgag tgtatatatt tttgatgac aaattgtata cgaaatcoga      900
acgcatggtg atcattgttt atccctgtag tatattgtct ccaggctget aagagcccac      960
cgggtgtatt acggcaaca agtcaggaat ttgggtggca atgaacgcag gtctccatga     1020
atgtatatgt gaagaggcat cggctggcat gggcattacc agatataggo cctgtgaaac     1080
atatagtact tgaacgtgct actggaaogg atcataagca agtoatcaac atgtgaaaaa     1140
acactacatg taaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa                                     1172
    
```

10 <210> 80
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*

15 <400> 80

Met Lys Ser Cys Ala Ile Leu Ala Ala Leu Gly Cys Leu Ala Gly Ser
 1 5 10 15

Val Leu Gly His Gly Gln Val Gln Asn Phe Thr Ile Asn Gly Gln Tyr
 20 25 30

Asn Gln Gly Phe Ile Leu Asp Tyr Tyr Tyr Gln Lys Gln Asn Thr Gly
 35 40 45

His Phe Pro Asn Val Ala Gly Trp Tyr Ala Glu Asp Leu Asp Leu Gly
 50 55 60

Phe Ile Ser Pro Asp Gln Tyr Thr Thr Pro Asp Ile Val Cys His Lys
 65 70 75 80

Asn Ala Ala Pro Gly Ala Ile Ser Ala Thr Ala Ala Ala Gly Ser Asn
 85 90
 Ile Val Phe Gln Trp Gly Pro Gly Val Trp Pro His Pro Tyr Gly Pro
 100 105 110

Ile Val Thr Tyr Val Val Glu Cys Ser Gly Ser Cys Thr Thr Val Asn
 115 120 125

Lys Asn Asn Leu Arg Trp Val Lys Ile Gln Glu Ala Gly Ile Asn Tyr
 130 135 140

Asn Thr Gln Val Trp Ala Gln Gln Asp Leu Ile Asn Gln Gly Asn Lys
 145 150 155 160

Trp Thr Val Lys Ile Pro Ser Ser Leu Arg Pro Gly Asn Tyr Val Phe
 165 170 175

Arg His Glu Leu Leu Ala Ala His Gly Ala Ser Ser Ala Asn Gly Met
 180 185 190

Gln Asn Tyr Pro Gln Cys Val Asn Ile Ala Val Thr Gly Ser Gly Thr
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Gly Thr Pro Ala Thr Gln Leu Tyr Lys Pro Thr
 210 215 220

Asp Pro Gly Ile Leu Phe Asn Pro Tyr Thr Thr Ile Thr Ser Tyr Thr
 225 230 235 240

Ile Pro Gly Pro Ala Leu Trp Gln Gly
 245

ES 2 563 209 T3

<211> 924
 <212> ADN
 <213> *Myceliophthora thermophila*

5 <400> 81

```

atgaagttca cctcgtccct cgcctgtcctg gccgctgcog gcgcccagga tcaactgttag      60
tegaccctcg aaccccaaac ccccccctccc cctttttctcc tccatctcct cggcctcact      120
tagtagccgc tgacaaagac tagatacctt ccttagggcc ggcactggtg gctcgtctc      180
tggcgagtgg gaggtggtcc gcatgaccga gaaccattac tcgcacggcc cggtcaccga      240
tgtcaccagc cccgagatga cctgctatca gtccggcgtg cagggcgcgc cccagaccgt      300
ccaggtcaag gcgggctccc sattcaacct cagcgtggat cctcagatcg gccaccccgg      360
ccctctccag ttctacatgg ctaaggctgc gtccggccag aaggccgcca cctttgaagg      420
cacgggagcc gtgtggttca agatctacca agaaggcccg aacggcctcg gcaccgacag      480
cattacctgg cccagcgcog gttcgtgact tccctcccac tcgctttttt ttttttattt      540
tttatttttt tttcttttcgg sactcaagaa tctttctctc tctctcccgt ctttggcctt      600
gsacaacact aaaactcttc cttactgtat taattaggca aaaccgaggt ctccgtcacc      660
atccccagct gcctcagatga tggcgagtac ctgctccggg tcgagcacat cgcgctccac      720
agcgcacagca gcgtgggcgg cgtccagttc tacattgact gcgcccagct ctccgtcacc      780
ggcggctccg gcaccctcaa cacgggctcg ctcgtctccc tgcccggcgc ctacaaggcc      840
aacgacccgg gcatacctctt ccagctctac tggcccctcc agaccgagta catcaacccc      900
ggcccggccc ccgtctcttg ctaa
    
```

10 <210> 82
 <211> 232
 <212> PRT
 <213> *Myceliophthora thermophila*

15 <400> 82

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

Ala His Tyr Thr Phe Pro Arg Ala Gly Thr Gly Gly Ser Leu Ser Gly
 20 25 30

Glu Trp Glu Val Val Arg Met Thr Glu Asn His Tyr Ser His Gly Pro
 35 40 45

Val Thr Asp Val Thr Ser Pro Glu Met Thr Cys Tyr Gln Ser Gly Val
 50 55 60

Gln Gly Ala Pro Gln Thr Val Gln Val Lys Ala Gly Ser Gln Phe Thr
 65 70 75 80

Phe Ser Val Asp Pro Ser Ile Gly His Pro Gly Pro Leu Gln Phe Tyr
 85 90 95

Met Ala Lys Val Pro Ser Gly Gln Thr Ala Ala Thr Phe Asp Gly Thr
 100 105 110

Gly Ala Val Trp Phe Lys Ile Tyr Gln Asp Gly Pro Asn Gly Leu Gly
 115 120 125

Thr Asp Ser Ile Thr Trp Pro Ser Ala Gly Lys Thr Glu Val Ser Val
 130 135 140

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

His Ile Ala Leu His Ser Ala Ser Ser Val Gly Gly Ala Gln Phe Tyr
 165 170 175
 Ile Ala Cys Ala Gln Leu Ser Val Thr Gly Gly Ser Gly Thr Leu Asn
 180 185 190

Thr Gly Ser Leu Val Ser Leu Pro Gly Ala Tyr Lys Ala Thr Asp Pro
 195 200 205

Gly Ile Leu Phe Gln Leu Tyr Trp Pro Ile Pro Thr Glu Tyr Ile Asn
 210 215 220

Pro Gly Pro Ala Pro Val Ser Cys
 225 230

<210> 83

<211> 854

<212> ADN

<213> *Myceliophthora thermophila*

5

ES 2 563 209 T3

<400> 83
atgaaggccc tctctctcct tggggatgcc tgggcagtct ctgagcatac catcttcgtc 60
cagctcgaag cagacggcac gaggtaccgg gtctcgtacg gcatccggga cccaagctac 120
gacggcccca tcaccgacgt cacatccaac gacggtgctt gcaacggcgg gccgaacccg 180
acgacccccct ccagcgaagt catcacctgc accgcgggca ccacgggtcaa ggccatctgg 240
aggcaaaccc tcaaatccgg ccgggaagat gtcattggaag ccagccaca gggcccgacc 300
ctggcctacc tcaagaaggt cggcgtatgcc accaaggact cgggctcgg cggctggctgg 360
ttcaagattc aggaggacgg ctacaacaac ggccagtggg gcaccagcac cgttatctcc 420
aacggcggcg agcactacat gtgagccatt cctccgagag aagaccaaga ctcttgacga 480
tctcgtctgc ccgtgcaaca agtgacatcc cggcctgcat ccccgagggt cagtacctcc 540
tccgcgccga gatgatogcc ctccacggcg ccgggtcccc cggcgggtgcc cagctctacg 600
taagcctctg ccattacccc attcattttg atogaatcgg actgcccacc cccattttcg 660
actcagacta acaccgttgc cagatggaat gtgcccagat caacatagtc ggcggatcag 720
gotcgggtgcc cagctcgaac gtcagattcc ccggcgggta cagccccaaa gaccocgggtc 780
tctctatcaa catctattcc atgtcgcctt cgaactcgtc caccatcccc ggcccggccc 840
tcttcaagtg ctag 854

- <210> 84
- <211> 235
- <212> PRT
- <213> *Myceliophthora thermophila*
- <400> 84

Met Lys Ala Leu Ser Leu Leu Ala Ala Ala Ser Ala Val Ser Ala His
 1 5 10 15
 Thr Ile Phe Val Gln Leu Glu Ala Asp Gly Thr Arg Tyr Pro Val Ser
 20 25 30

Tyr Gly Ile Arg Asp Pro Ser Tyr Asp Gly Pro Ile Thr Asp Val Thr
 35 40 45

Ser Asn Asp Val Ala Cys Asn Gly Gly Pro Asn Pro Thr Thr Pro Ser
 50 55 60

Ser Asp Val Ile Thr Val Thr Ala Gly Thr Thr Val Lys Ala Ile Trp
 65 70 75 80

Arg His Thr Leu Gln Ser Gly Pro Asp Asp Val Met Asp Ala Ser His
 85 90 95

Lys Gly Pro Thr Leu Ala Tyr Leu Lys Lys Val Gly Asp Ala Thr Lys
 100 105 110

Asp Ser Gly Val Gly Gly Gly Trp Phe Lys Ile Gln Glu Asp Gly Tyr
 115 120 125

Asn Asn Gly Gln Trp Gly Thr Ser Thr Val Ile Ser Asn Gly Gly Glu
 130 135 140

His Tyr Ile Asp Ile Pro Ala Cys Ile Pro Glu Gly Gln Tyr Leu Leu
 145 150 155 160

Arg Ala Glu Met Ile Ala Leu His Ala Ala Gly Ser Pro Gly Gly Ala
 165 170 175

Gln Leu Tyr Met Glu Cys Ala Gln Ile Asn Ile Val Gly Gly Ser Gly
 180 185 190

Ser Val Pro Ser Ser Thr Val Ser Phe Pro Gly Ala Tyr Ser Pro Asn
 195 200 205

Asp Pro Gly Leu Leu Ile Asn Ile Tyr Ser Met Ser Pro Ser Ser Ser
 210 215 220

Tyr Thr Ile Pro Gly Pro Pro Val Phe Lys Cys
 225 230 235

<210> 85
 <211> 1242
 <212> ADN
 <213> *Myceliophthora thermophila*

5

<400> 85

atgaagtccct	tgcgccctcac	cactctggcc	gccctggccg	gcaacgccgc	cgctcacgcg	60
accttccagg	ccctctgggt	cgacggcgtc	gactacggcg	cgcaagtgtgc	ccgtctgccc	120
gggtccaact	ccccggtcac	cgacgtgacc	tccaacgcga	tccgctgcas	cgccaacccg	180
tgcgccgctc	ggggcaagtg	cccggtcasg	gcccggctcga	ccgttacggt	cgagatgcat	240
caggtacgtt	ggatgaatga	aaggggaaag	gaagcagagg	cagaagggga	aggcgaaggg	300
aaagaaaaag	aaaaagaat	ggaaaaagaa	aagaaatgga	aaagaaaaag	aaaaatgaaa	360
aagaaagtgg	aaaccgtcag	actaaactggg	gctcctcccc	cccacccctc	ctttgatatc	420
agcaaacccg	tgaccggctg	tgcagcagcg	aggcgatcgg	ogggggcgca	taaggccccg	480
tcatggtgta	catgtccaag	gtgtcggacg	cggcgtcggc	ggacgggtcg	tgggctggt	540
tcaaggtgtt	cgaggcaoggc	tgggcaaga	acccgtccgg	ogggctgggc	gacgaogact	600
actggggcac	caaggacctg	aactcgtgct	gcgggaagat	gaacgtcaag	atccccgccg	660
acctgcctc	gggcgactac	ctgctccggg	ccgaggccct	cgcgctgcac	acggcgggca	720
gcgccggcgg	cgcccagttc	tacatgacgt	gctaccagct	caccgtgacg	ggctccggca	780
gcgccagccc	gcccaccgtc	tccttcccgg	gcgcctacaa	ggccaccgac	ccgggcatcc	840
tcgtcaacat	ccacgccccg	ctgtccggct	acaccgtgcc	ogggcccggc	gtctactccg	900
gcggtccacc	caagzagggc	ggcagcgcc	gcacccggctg	cgagtcacac	tgcgcogctg	960
gctccggccc	caccgccaac	gtctcccagt	cgcccggctc	caccgccaac	tccgcccccg	1020
gcggcggcgg	cggtctgcacc	gtccagaaat	accagcagtg	cggcggcgag	ggctacaccg	1080
gctgcaccaa	ctgcgcggta	cgtttttcaa	ccccgttttt	tttttccctt	ccctacctta	1140
tttggttacc	taattaatta	ctttccggct	gctgactttt	tgctttagtc	cggtcttacc	1200
tgacgcgcg	tctcgcgcgc	ctactactcg	cagtgcgtct	aa		1242

5

<210> 86

<211> 323

<212> PRT

<213> *Myceliophthora thermophila*

10

<400> 86

ES 2 563 209 T3

Met Lys Ser Phe Ala Leu Thr Thr Leu Ala Ala Leu Ala Gly Asn Ala
1 5 10 15

Ala Ala His Ala Thr Phe Gln Ala Leu Trp Val Asp Gly Val Asp Tyr
20 25 30

Gly Ala Gln Cys Ala Arg Leu Pro Ala Ser Asn Ser Pro Val Thr Asp
35 40 45

Val Thr Ser Asn Ala Ile Arg Cys Asn Ala Asn Pro Ser Pro Ala Arg
50 55 60

Gly Lys Cys Pro Val Lys Ala Gly Ser Thr Val Thr Val Glu Met His

ES 2 563 209 T3

<211> 1253
 <212> ADN
 <213> *Myceliophthora thermophila*

5 <400> 87

```

atgaagcctt ttagecctcgt cgcacctggcg accgacctga gcggccatgc cstcttccag      60
cgggtgtcgg tcaacgggca ggaccagggc cagctcaagg gggtgogggc gccgtcagac      120
aactccccga tccagaacct caacgatgcc aacatggcct gcaacgccaa cattgtgtac      180
cacgacagca ccataatcaa ggtgcocggc ggagococgg tcggcggctg gtggcagcac      240
gtcatcggcg ggcgcgaggc cgcacaacgc ccggacaacc cgatcgcggc ctcccacaag      300
ggtatgatga tcgatgatgc atctctcttc ccccgctctt gatggacagg cgatggctcc      360
caggaaacag cgtgactgac caccgaatcc aggccccatc caggtctacc tggccaaggt      420
ggacaacgcg gcgacggcgt cgcocgtcgg cctcaggtgg ttcaaggtgg ccgagcgcgg      480
cctgaacaac ggcgtgtggg ccgtcagatg gctcatcgc aacaacggct ggcactactt      540
cgacctgccg tcgtgcgtgg cccccggcca gtacctgatg cgcgtcagac tgctcgcctt      600
gcacagcgcc tcaagccccg gggcgcccca gttctaatg ggotgogcac agatcgaagg      660
tgctcagatc tttgttctcc ttccgtgtcc tctctgatcc tttctctctt ctttttcttt      720
cttttactcc ctttctctcc atcttcggag aagcaacgaa gggggaaagg gctagsagag      780
aggaatgaga gacgacgaaa gagagcattg ggaagaca agacagggaa aaaaagacaa      840
gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aacagagtga gtaacaaga accatcagtc actggctccg      900
gcaccaaactc gggctcagac tttgtctcgt tccccggcgc ctactcggcc aacgatccgg      960
gcactcttgc aagcatctac gacagctcgg gcaagcccac caacggcggg cgtctgtacc     1020
cgatccccgg cccggcctcc atctcctcgt ccggcagcgg cgacggcggc aacaacggcg     1080
gcggcggcga cgacaacaac aataacaacg gtggtggcaa caacggcggc ggcggcggcg     1140
gcagcgtccc cctgtacggg cagtgcggcg gcctcggcta cacgggcccg accacctgtg     1200
cccagggaac ttgcaaggtg togaacgaat actacagcaa gtgcctccc tag              1253
    
```

10 <210> 88
 <211> 310
 <212> PRT
 <213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 88

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

ES 2 563 209 T3

Gly Pro Thr Thr Cys Ala Gln Gly Thr Cys Lys Val Ser Asn Glu Tyr
 290 295 300

Tyr Ser Gln Cys Leu Pro
 305 310

<210> 89
 <211> 814
 <212> ADN
 <213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 89

	atgaagctct	ccctcttctc	cgtcctggcc	actgcactca	ccgtcgaggg	gcctgccctc	60
	ttccagaagg	tctccgtcaa	cggagcggac	cagggctccc	tcaacggcct	ccgcgctccc	120
	aacaacaaca	accccgctga	ggatgtcaac	agccaggaca	tgatctgggg	ccagtcggga	180
	tcgacgtcga	acactatcat	cgaggtcaag	gccggcgata	ggatcgggtc	ctggtatcag	240
	catgtcatcg	gcgggtgccc	gttccccaac	gacccagaca	acccgattgc	caagtcgcac	300
	aagggccccg	tcctggccta	cctcgccaag	gttgacaatg	ccgcaaccgc	cagcaagacg	360
	ggcctgaagt	ggtatgtatt	cccgcgccc	gagggacata	gggttgggca	agtccgagct	420
	gacggagctc	gcttctccgt	ataggttcaa	gatttgggag	gataccttta	atcccagcac	480
	caagacctgg	ggtgtogaca	acctcatcaa	taacaacggc	tgggtgtact	tcaacctccc	540
	gcagtgcatc	gcogaaggca	actaacctct	ccggctcgag	gtcctcgctc	tgcactcggc	600
	ctactctcag	ggccaggctc	agttctacaa	gtcctgggca	cagatcaacg	tatccggcgg	660
	cggtectctc	acaccgccc	cgactgtcag	cttccccggt	gcctacagcg	ccagcgcacc	720
	cggtatcctg	atcaacatct	ccggcgccac	cgccccagccc	gacaacaacg	gccagcccga	780
10	cactgccct	gggcccgcgc	ccatctctctg	ctga			814

<210> 90
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 90

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

ES 2 563 209 T3

<211> 1115
 <212> ADN
 <213> *Thermoascus aurantiacus*

5 <400> 91

```

atgtcgttct cgaagattgc tgcgatcacc ggggccaatta cctatgcgtc tctggccgcc      60
gctcaccggtt atgttacagg aatcgtagcc gatggcaact agtatgtaac gctcactgca      120
agatccgcct tgcctgtacta acaattagca gctacggggg ctatatcgtg acccaatacc      180
cctacatgto gacaacggcgg gatgtcaatg cctgggtctac caaagcaact gatottggtt      240
tcgtggatcc cagtagctat gcttcgtctg atattatctg ccacaagggt gctgagcctg      300
gtgccctgag cggcaagggt gctgctggag ggaccgtcga gctgcagtgg acggattggc      360
ctgagagtca caagggcccg gtcattgact acctcgcgcg ctgtaacggg gactgctcga      420
ctgtogacaa gaccaaacta gagttotcoa agattgatga gagtggccta attgaaggca      480
gcagcgcccc aggcacatgg gcctctgaca acttgattgc caatacaaac agctggaccg      540
tcaccatccc gagcacgatt gctcccggca actatgtcct gagacatgaa atcattgccc      600
tcactcgcgc cggaaataca aatgggtgctc agaacataccc ccagtgtatc acccttgagg      660
tcacaggcag tggcaaccgac acccctgccc gcaccctcgg aacggagctt tataaggcaa      720
cggaccctgg cattctggto aacatctaac agaccctgac cagctaacat attcccggcc      780
ctgctctgta caccgggtgt agctctggta gctctggttc ctccaacacc gccaaaggca      840
ccacttcgac ggcttcttagc tctatcgtga ccccgacgcc tggtaacaac ccaaccgta      900
ctcagactgc cgttgttgat gtcacccaga ctgtttccc gaatgctgac gtcgccacca      960
cgaactcggc ctcaactgca gttgctaacg ctgtcccaac gggaaacaa tttagotttg     1020
attogatgac ctoggatgaa ttogtaagcc tgatgcgtgc gaocgtgaat tggotgottt     1080
ctaacaagaa gcatgcccgg gatctttott actaa                                     1115
    
```

10 <210> 92
 <211> 354
 <212> PRT
 <213> *Thermoascus aurantiacus*

15 <400> 92

ES 2 563 209 T3

Met Ser Phe Ser Lys Ile Ala Ala Ile Thr Gly Ala Ile Thr Tyr Ala
 1 5 10 15

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

Thr Tyr Tyr Gly Gly Tyr Ile Val Thr Gln Tyr Pro Tyr Met Ser Thr
 35 40 45

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

Val Asp Pro Ser Ser Tyr Ala Ser Ser Asp Ile Ile Cys His Lys Gly
 65 70 75 80

Ala Glu Pro Gly Ala Leu Ser Ala Lys Val Ala Ala Gly Gly Thr Val
 85 90 95

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

Asp Tyr Leu Ala Ala Cys Asn Gly Asp Cys Ser Thr Val Asp Lys Thr

ES 2 563 209 T3

<211> 862
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*

5 <400> 93

```

atgactttgt ccaagatcac ttccattgct ggccttctgg cctcagcgtc tctcgtggct      60
ggccaacggct ttgtttctgg cattgttgcg gatgggaaat agtatgtgct tgaaccacac      120
aatgacagc  tgcaacagct aacttcatt ccagttacgg agggtacctt gttaaccaat      180
accctacat  gagcaacct cccgacacca ttgcctggtc caccaccgcc accgacctcg      240
gotttgtgga oggcaacggc taacagtctc oggatattat ctgcaacaga gaagcaaga      300
atggcaagt  gaacgcaaac gttgcagcgg gttcaacagat cgaattcag  tggacgaagt      360
ggccagagtc tcaccatgga ccggtacgac gccgaagaga agagaacata ttgtgaccag      420
ataggctaac atagcatagt tgattactta cctcgtctca tgcaacggcg actgtgccac      480
cgtggacaag accaccctga agtttgcga gatcgccgct caaggcttga tcgacggctc      540
caaccacact ggtgtttggg ctgatgatga aatgatgcc aaccaacca cggccacagt      600
gaccattcct gcctcctatg cccccgaaa ctacgtcctt cgcacgaga tcctcgcctt      660
tcaactctgg ggtaacctga aaggcgcgca gaactacccc cagtgtttca acatcaaat      720
caccggtggc ggcagtgctc agggatctgg caccgctggc acgtccctgt acaagaatac      780
tgatcctggc atcaagtttg scatctactc ggatctgagc ggtggatacc ctattcctgg      840
tctgcactg  ttcaacgctt aa                                     862
    
```

10 <210> 94
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> *Aspergillus fumigatus*

15 <400> 94

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

Ser Leu Val Ala Gly His Gly Phe Val Ser Gly Ile Val Ala Asp Gly
20 25 30

Lys Tyr Tyr Gly Gly Tyr Leu Val Asn Gln Tyr Pro Tyr Met Ser Asn
35 40 45

Pro Pro Asp Thr Ile Ala Trp Ser Thr Thr Ala Thr Asp Leu Gly Phe
50 55 60

Val Asp Gly Thr Gly Tyr Gln Ser Pro Asp Ile Ile Cys His Arg Asp
65 70 75 80

Ala Lys Asn Gly Lys Leu Thr Ala Thr Val Ala Ala Gly Ser Gln Ile
85 90 95
Glu Phe Gln Trp Thr Thr Trp Pro Glu Ser His His Gly Pro Leu Ile
100 105 110

Thr Tyr Leu Ala Pro Cys Asn Gly Asp Cys Ala Thr Val Asp Lys Thr
115 120 125

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

Asn Pro Pro Gly Val Trp Ala Asp Asp Glu Met Ile Ala Asn Asn Asn
145 150 155 160

Thr Ala Thr Val Thr Ile Pro Ala Ser Tyr Ala Pro Gly Asn Tyr Val
165 170 175

Leu Arg His Glu Ile Ile Ala Leu His Ser Ala Gly Asn Leu Asn Gly
180 185 190

Ala Gln Asn Tyr Pro Gln Cys Phe Asn Ile Gln Ile Thr Gly Gly Gly
195 200 205

Ser Ala Gln Gly Ser Gly Thr Ala Gly Thr Ser Leu Tyr Lys Asn Thr
210 215 220

Asp Pro Gly Ile Lys Phe Asp Ile Tyr Ser Asp Leu Ser Gly Gly Tyr
225 230 235 240

Pro Ile Pro Gly Pro Ala Leu Phe Asn Ala
245 250

ES 2 563 209 T3

<211> 1021
 <212> ADN
 <213> Penicillium pinophilum

5 <400> 95

```

atgcctteta ctaaagtgcg tgcctttctt gctgttctag ctttggcctc cacgggttgc      60
ggccatgggt ttgtgcasa cctcgtttatc gacggtasat cgtaaagcagt gatgcaccca      120
ttattaaact agaatgott acaaaaaaat cagttactct ggataccttg tgaatcagtt      180
cccctacgag tccaacccac cagctgttat tgggtgggca acaactgcaa ccgacctggg      240
attcgtcgcct cccagtgagt acaccaatgc agacattatc tgccacaaga acgccacacc      300
tggcgcgctt tctgctccag ttgctgcagg gggcaactgt gagctccagt ggactacatg      360
gcccgatagt cctcaccggtc ctgtcctcag ctacctcggc aactgcaatg gcaattgttc      420
tacogtggat aagaactaagc tagactttgt caagattgac caaggtgggt tgatogaoga      480
tactaccccc cggggtacat gggcttccga caaacttata gctgccaaca acagctggac      540
tgtaactata cctccacca togcgcctgg aaactacgtt ttgggccacg aatcattgc      600
tcttcaactcc gctggaaacg cagacgggtc ccaaaactac cctcaatgca tcaacttggc      660
gatcacccgc agcggaaacg ccgctccctc tggtaaccgt ggcgaaaagc tctacacctc      720
tactgacccc ggtatcttgg tcaatatcta ccaatccttg tgcacctacg ttattccggg      780
accaaactctg tggagcgggt ctgccaatgg cgtgtttgac actggttctg ctactgcggt      840
tgotacgact gcaactgott ctgogacggc tactcctacc acaattgta cctctgtgca      900
tcagcttca tctacctttg ccaactgctgt tgtgaccact gtcgctcctg cagtaactga      960
tgtcgtgact gtaacogatg tagttaoogt gaccacogtc atcaaccata ctgtcctttg     1020
a                                                                                   1021
    
```

10 <210> 96
 <211> 322
 <212> PRT
 <213> Penicillium pinophilum

15 <400> 96

ES 2 563 209 T3

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

Ser Thr Val Ala Gly His Gly Phe Val Gln Asn Ile Val Ile Asp Gly
 20 25 30

Lys Ser Tyr Ser Gly Tyr Leu Val Asn Gln Phe Pro Tyr Glu Ser Asn
 35 40 45

Pro Pro Ala Val Ile Gly Trp Ala Thr Thr Ala Thr Asp Leu Gly Phe
 50 55 60

Val Ala Pro Ser Glu Tyr Thr Asn Ala Asp Ile Ile Cys His Lys Asn
 65 70 75 80

Ala Thr Pro Gly Ala Leu Ser Ala Pro Val Ala Ala Gly Gly Thr Val
 85 90 95

Glu Leu Gln Trp Thr Thr Trp Pro Asp Ser His His Gly Pro Val Ile
 100 105 110

Ser Tyr Leu Ala Asn Cys Asn Gly Asn Cys Ser Thr Val Asp Lys Thr
 115 120 125

Lys Leu Asp Phe Val Lys Ile Asp Gln Gly Gly Leu Ile Asp Asp Thr
 130 135 140

Thr Pro Pro Gly Thr Trp Ala Ser Asp Lys Leu Ile Ala Ala Asn Asn
 145 150 155 160

Ser Trp Thr Val Thr Ile Pro Ser Thr Ile Ala Pro Gly Asn Tyr Val
 165 170 175

Leu Arg His Glu Ile Ile Ala Leu His Ser Ala Gly Asn Ala Asp Gly
 180 185 190

Ala Gln Asn Tyr Pro Gln Cys Ile Asn Leu Glu Ile Thr Gly Ser Gly
 195 200 205

Thr Ala Ala Pro Ser Gly Thr Ala Gly Glu Lys Leu Tyr Thr Ser Thr
 210 215 220

Asp Pro Gly Ile Leu Val Asn Ile Tyr Gln Ser Leu Ser Thr Tyr Val
 225 230 235 240

Ile Pro Gly Pro Thr Leu Trp Ser Gly Ala Ala Asn Gly Ala Val Ala
 245 250 255

Thr Gly Ser Ala Thr Ala Val Ala Thr Thr Ala Thr Ala Ser Ala Thr
 260 265 270

Ala Thr Pro Thr Thr Leu Val Thr Ser Val Ala Pro Ala Ser Ser Thr
 275 280 285

Phe Ala Thr Ala Val Val Thr Thr Val Ala Pro Ala Val Thr Asp Val
 290 295 300

Val Thr Val Thr Asp Val Val Thr Val Thr Thr Val Ile Thr Thr Thr
 305 310 315 320

Val Leu

<210> 97
 <211> 1486
 <212> ADN
 <213> *Thermoascus sp.*

<400> 97

5

atgttgtcgt	tcgctttctgc	caagtcagct	gtgctgacga	cccttctact	tcttgatcc	60
gctcaggctc	acactttgat	gaccacccctg	tttgtggatg	gcgtcaatca	gggagatggt	120
gtctgtatto	gcctgaacaa	caaoggtagt	actgcaacaa	ccatatacca	gcctgtcaag	180
agcaaggata	ttgcctgcgg	taagtacaagt	accggtccag	atatcatact	ctatttcaat	240
ccgacaacag	tcagagctgg	agagcaatgc	taaacaatccc	caggcaatca	aggogaatt	300
ggcgcgcgtc	gagctctgtcc	agccaaggct	tcctccacc	tcacgttcca	attccgagag	360
cagccatcca	accogaattc	cgctcctctc	gatccctcgc	acaaaggccc	cgctgcggtg	420
tacctgaaa	aggtagactc	cgccatcgcg	agcacaacg	ccgctggaga	cgctgggttc	480
aagatctggg	agtcctctca	cgaagagctc	acgggcaaat	ggggtacgac	caagatgata	540
gagaacaacg	ggcaacatctc	tgtcaaggtc	ccogaagata	tcgagggtgg	gtattatctc	600
gcgcgtacgg	agcttctggc	gctgcacgcg	gcgsacgaag	gggatccgca	gttctacgtt	660
ggctgcgcgc	agctgttcat	cgattcagcg	gggacagcga	aaccgcctac	tgtctctatt	720
ggagagggga	cctacgatct	gagcatgcct	gccatgacgt	acaatatcta	ccagactccg	780
ttggctctac	catacccgat	gtatgggcct	cctgtctaca	cacctggctc	tgctcgggt	840
tctggctctg	gttccgggtc	agcttctgca	acgagatctt	ctgctattcc	tactgccacc	900
gctgttacgg	actgttcttc	cgaagaggac	agggaaagact	cagtcatggc	accgggtgtt	960
cccgttgcaa	gaagcacact	cagaacctgg	gttgacagac	tgtcatggca	tggtaaaggcc	1020
cgtgagaacg	tgaaaaccagc	cgccaggaga	agggcccttg	tcagagccga	gggtctgaag	1080
ccggaaggct	gcctcttcgt	caacggcaac	tggtgcgggt	tcgaggctcc	cgattacaac	1140
gatgcggaaa	gctgctgggc	tgtacgttcc	cgtctaatta	cttaaaacga	aataaaagct	1200
aacagtactt	ttctttttct	aatcccaggc	ctccgacaac	tgttggaac	agtccgactc	1260
gtgctggaac	cagaaccagc	ccaccgggta	caacaactgc	cagatctggc	aagaccagaa	1320
atgcaagccc	atccaggact	cgtgtagcca	atccaaaccg	actggaccgc	cgaaacaagg	1380
caaggatata	actccaaagt	ggcggccct	ggagggctcg	atgaagacct	tcaccaagcg	1440
cactgtcagt	taccgtgatt	ggattatgaa	aaggaaagga	gcataa		1486

<210> 98
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> *Thermoascus sp.*

<400> 98

ES 2 563 209 T3

Met Leu Ser Phe Ala Ser Ala Lys Ser Ala Val Leu Thr Thr Leu Leu
 1 5 10 15

Leu Leu Gly Ser Ala Gln Ala His Thr Leu Met Thr Thr Leu Phe Val
 20 25 30

Asp Gly Val Asn Gln Gly Asp Gly Val Cys Ile Arg Met Asn Asn Asn
 35 40 45

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

Ala Cys Gly Ile Gln Gly Glu Ile Gly Ala Ala Arg Val Cys Pro Ala
 65 70 75 80

Lys Ala Ser Ser Thr Leu Thr Phe Gln Phe Arg Glu Gln Pro Ser Asn

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

Asp Ala Glu Ser Cys Trp Ala Ala Ser Asp Asn Cys Trp Lys Gln Ser
 355 360 365

Asp Ser Cys Trp Asn Gln Thr Gln Pro Thr Gly Tyr Asn Asn Cys Gln
 370 375 380

Ile Trp Gln Asp Gln Lys Cys Lys Pro Ile Gln Asp Ser Cys Ser Gln
 385 390 395 400

Ser Asn Pro Thr Gly Pro Pro Asn Lys Gly Lys Asp Ile Thr Pro Thr
 405 410 415

Trp Pro Pro Leu Glu Gly Ser Met Lys Thr Phe Thr Lys Arg Thr Val
 420 425 430

Ser Tyr Arg Asp Trp Ile Met Lys Arg Lys Gly Ala
 435 440

<210> 99
 <211> 835
 <212> ADN
 <213> *Penicillium sp.*

<400> 99

```

atgctgtett cgacgactcg caccctcgcc ttacacggcc ttgcgggct tctgtccgct      60
cccttggtca aggcocatgg atttgtccag ggcattgtca tgggtgacca attgtaagtc      120
cctctottgc agttotgtcg attaactgct ggactgottg ottgactccc tgotgactcc      180
caacagctac agcgggtaca tcgtcaactc gttcccctac gaatccaacc cccccccgt      240
cctcggctgg gccacgaccg ccaccgacct gggcttcgtc gacggcacag gctaccaagg      300
cccggacatc atctgccacc ggaatgcgac gcccgcgccg ctgacagccc ccgtggccgc      360
cgggggcaac gtogagotgc agtggacgca gtggccggac agcccccacg gaccogtcat      420
cacctacctg gcgccgtgca accgcaactg ctgcaccgtc gacaagacga cgtctggagt      480
cttcaagatc gaccagcagg gactgatoga agacaagaga ccgcagggca cctggggctc      540
ggacaacoto atogocaaaca acaatagctg gaccgtcaac attcccaaca gogtgcgccc      600
cggcaactac gtactgogcc acgagatcat agccctgcaac tgggcaaca acaaggacgg      660
cgcccagaac tccccccagt gcatcaacat cggagtcacg ggcggcggtt ccgacgcgcc      720
tgagggtact ctggggcagg atctctacca tgacaccgac ccgggcattc tggtcgacat      780
ttacgagccc attgcgacgt ataccattcc ggggcccgct gagccgacgt tctag      835
    
```

<210> 100
 <211> 253
 <212> PRT
 <213> *Penicillium sp.*

<400> 100

Met Leu Ser Ser Thr Thr Arg Thr Leu Ala Phe Thr Gly Leu Ala Gly
 1 5 10 15

Leu Leu Ser Ala Pro Leu Val Lys Ala His Gly Phe Val Gln Gly Ile
 20 25 30

Val Ile Gly Asp Gln Phe Tyr Ser Gly Tyr Ile Val Asn Ser Phe Pro
 35 40 45

Tyr Glu Ser Asn Pro Pro Pro Val Ile Gly Trp Ala Thr Thr Ala Thr
 50 55 60

Asp Leu Gly Phe Val Asp Gly Thr Gly Tyr Gln Gly Pro Asp Ile Ile
 65 70 75 80

Cys His Arg Asn Ala Thr Pro Ala Pro Leu Thr Ala Pro Val Ala Ala
 85 90 95

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

Gly Pro Val Ile Thr Tyr Leu Ala Pro Cys Asn Gly Asn Cys Ser Thr
 115 120 125

Val Asp Lys Thr Thr Leu Glu Phe Phe Lys Ile Asp Gln Gln Gly Leu
 130 135 140

Ile Asp Asp Thr Ser Pro Pro Gly Thr Trp Ala Ser Asp Asn Leu Ile
 145 150 155 160

Ala Asn Asn Asn Ser Trp Thr Val Thr Ile Pro Asn Ser Val Ala Pro
 165 170 175

Gly Asn Tyr Val Leu Arg His Glu Ile Ile Ala Leu His Ser Ala Asn
 180 185 190

Asn Lys Asp Gly Ala Gln Asn Tyr Pro Gln Cys Ile Asn Ile Glu Val
 195 200 205

Thr Gly Gly Gly Ser Asp Ala Pro Glu Gly Thr Leu Gly Glu Asp Leu
 210 215 220

Tyr His Asp Thr Asp Pro Gly Ile Leu Val Asp Ile Tyr Glu Pro Ile
 225 230 235 240

Ala Thr Tyr Thr Ile Pro Gly Pro Pro Glu Pro Thr Phe
 245 250

ES 2 563 209 T3

<210> 101
 <211> 977
 <212> ADN
 <213> *Thielavia terrestris*

5

<400> 101

```

atgaagctgt catcccagct cgcggccctc acgctggccg cggcctccgt gtcaggccac      60
tacatcttcg agcagattgc ccctggcggc accaagtcc caccttacga gtacatccga      120
agaaacacga actataacag ccctgtcacc agtctctcgt cgaacgacct gcgatgcaac      180
gtaggcggcg agaaggotgg caaacagacc gtccctogaog tgaaggoggg cgaactcctc      240
accttctact oggaogtggc cgtgtaccac caggggccca tctcactgtg cgtgcccogg      300
gccsaacttg atcagtccca agcggactgt ccgctcgact ggataaccac aattgactga      360
cagcccgcac agotacatgt ccaaggctcc cggctccgtc gtggactaog aaggotcogg      420
cgaactggttc aagatccacg actggggccc gaccttcaga aacggccagg cctcgtggcc      480
gctgcggggt gcgtcccttc cctttccctc ccccttcctc ccccttcctc ccccctttc      540
ccccctttc tctctggtcg cacgcccctgc tgacgtcccc gtagacaaet accagtacaa      600
catcccagcg tgcaccccga acggcgagta cctgctgcgc atccagtcgc tggcgatcca      660
caaccocggc gccacgcgc agttctacat cagctggcgg caggtcoggg tctcgggggg      720
cggcagcgc tccccctccc caacggccaa gatccccggc gcgttcaagg cgaccgatcc      780
cgggtatacc gcgaatgtga gtgccctatg ttccttgccc tccttgttcc ttgctccttg      840
ctcggcgtgc ttgaaogcta cggcctgtgg agggagggat ggatggatga ataggatgat      900
gactgatggt gggacaaccg atttaoaata acttccactc gtatacggtg cggggtcogg      960
cggctcttca gtgctag                                     977
    
```

10

<210> 102
 <211> 223
 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

15

<400> 102

ES 2 563 209 T3

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

Val Ser Gly His Tyr Ile Phe Glu Gln Ile Ala His Gly Gly Thr Lys
 20 25 30

Phe Pro Pro Tyr Glu Tyr Ile Arg Arg Asn Thr Asn Tyr Asn Ser Pro
 35 40 45

Val Thr Ser Leu Ser Ser Asn Asp Leu Arg Cys Asn Val Gly Gly Glu
 50 55 60
 Thr Ala Gly Asn Thr Thr Val Leu Asp Val Lys Ala Gly Asp Ser Phe
 65 70 75 80

Thr Phe Tyr Ser Asp Val Ala Val Tyr His Gln Gly Pro Ile Ser Leu
 85 90 95

Tyr Met Ser Lys Ala Pro Gly Ser Val Val Asp Tyr Asp Gly Ser Gly
 100 105 110

Asp Trp Phe Lys Ile His Asp Trp Gly Pro Thr Phe Ser Asn Gly Gln
 115 120 125

Ala Ser Trp Pro Leu Arg Asp Asn Tyr Gln Tyr Asn Ile Pro Thr Cys
 130 135 140

Ile Pro Asn Gly Glu Tyr Leu Leu Arg Ile Gln Ser Leu Ala Ile His
 145 150 155 160

Asn Pro Gly Ala Thr Pro Gln Phe Tyr Ile Ser Cys Ala Gln Val Arg
 165 170 175

Val Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser Pro Ser Pro Thr Ala Lys Ile Pro
 180 185 190

Gly Ala Phe Lys Ala Thr Asp Pro Gly Tyr Thr Ala Asn Ile Tyr Asn
 195 200 205

Asn Phe His Ser Tyr Thr Val Pro Gly Pro Ala Val Phe Gln Cys
 210 215 220

<210> 103

5 <211> 878

<212> ADN

<213> *Thielavia terrestris*

<400> 103

10

atgaagttct cactggtgtc totgctggct tacggcctct cggtcgagggc gcactccatc	60
ttccaggttc gtctcgccaca tcacgctcaa ctcggtctcgt ggcgtaaggg caaggattaa	120
caaggccggc agagagttct ggtcaaaggc caagaocaaag gcctgctcac cggcctccgc	180
gctccaagca acaacaacc accgtcaagat gtcaacagcc agaacatgat ttgcggccag	240
tggggtcca agtcgcagac cgttatcaac gtcaaggccg gcgacaggat cggctcgcctc	300
tggcagcatg tcctcggcgg cggccagttt tgggtgacc cggacaacc gatcgccac	360
tgcacaagg gccccgtgat ggcgtaoctt gctaaggctg acaatgcgc gtoogogago	420
caaacgggtc tgaagtggta agtagcgggc gaogctcagg ggaaggggat cgggggctg	480
ctccatccga gactaacacc gtggacaggt tcaagatctg gcaggacggg ttcgatacca	540
gcagcaagac atggggcgtc gacascctga tcaagaaaca cggctgggtg tacttccacc	600
tgccgcagtg cctcgtccg ggcagtatc tcctgcgct caggttctg gcgctgcact	660
cggcgtacca gcagggccag gccagttct accagtcctg cggccagatc aacgtctccg	720
gtccgggtc ctccagcccg tcccagcgg tcagcatcc gggcgtctac agcggcaccg	780
accgagcat cctcatcaac atctacggca gcacggggca gcccgacaac ggcggcaagg	840
cttacaacc cctggacc gccccgatct cctgctga	878

- <210> 104
- <211> 246
- <212> PRT
- <213> *Thielavia terrestris*
- <400> 104

ES 2 563 209 T3

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

ES 2 563 209 T3

<210> 105
 <211> 1253
 <212> ADN
 <213> *Thielavia terrestris*

5

<400> 105

```

atgaggacga cattcgccgc cgcgctggca gccttcgctg cgcaggaagt ggcaggccat      60
gccatattcc aacagctctg ggtggaaggc aocgaactata taogtgatcc ctttttcott      120
ttgtgtttgc ccatcctcga ttgataaccg gaggcacatcc aatgctgact cttacagcac      180
ggctcctcct gcgtccgcat gccgctgtcg aactcgcccg tcacgaacgt cggcagcagg      240
gacatgatct gcaacgccgg cacgcgcccc gtcagcggga agtgccccgt caaggccggc      300
ggcaccgtga cggttgagat gcaccaggtg ggtctgattc ctgagcgtcc tattcctccc      360
ggaagccctt tcccatacct ttgccctggc taacccctcc gccccctccc gcaacccggg      420
gatcggctgt gtaacaaoga agccatcggc ggggcacact ggggacccgt gcagggtgtc      480
ctcagcaagg tggaggacgc gagcacggcg gacgggtcga cgggctggtt caagatcttc      540
gcggacacgt ggtccaaaga ggcgggcagc tcggtggggg acgacgaca ctggggcacy      600
cgcgacctca acgctgtctg cggcaagatg caggtcaaga tcccggcggg catcccgtcg      660
ggcgactacc tgctgcgggc gtaggcgctg gcgctgcaca cggcgggcca ggtgggcggc      720
gogcagttct acatgagctg ctaccagatc aocgtgtcgg ggggoggcag cgcacgcccg      780
gocacogtca agttcccccg agcctacagc gccaaagacc cgggcatcca catcaacato      840
cacgcggccg tgtccsaacta cgtcggcgcc ggcacggccg tctattccgg cggcacgacc      900
aagggtggcc ggtccgggtg ccaaggctgc gagsacacgt gcaaggctcg ctcgtcggcc      960
acggcgacgg cgcctgtcgg caagagcggc gcgggttccg acggcggcgc tgggaccgac     1020
ggcgggtctt cgtcttcgag ccccgcacac ggcagcgcgt gcagcgtgca ggcctacggg     1080
cagtgccggc ggaacgggta ctcgggttgc aocacgtgog cggtaagtto ggggtcgtct     1140
gtcttttgta ggaacatccg agaggcttgg ctgacgaggc gttgtttag cccggctata     1200
cttgcaaggc ggtctctccg ccgtactatt cgcagtgccg cctctctct tag              1253
    
```

10

<210> 106
 <211> 334
 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

15

<400> 106

Met Arg Thr Thr Phe Ala Ala Ala Leu Ala Ala Phe Ala Ala Gln Glu
 1 5 10 15

Val Ala Gly His Ala Ile Phe Gln Gln Leu Trp His Gly Ser Ser Cys
 20 25 30

Val Arg Met Pro Leu Ser Asn Ser Pro Val Thr Asn Val Gly Ser Arg
 35 40 45

Asp Met Ile Cys Asn Ala Gly Thr Arg Pro Val Ser Gly Lys Cys Pro
 50 55 60

Val Lys Ala Gly Gly Thr Val Thr Val Glu Met His Gln Gln Pro Gly
 65 70 75 80

Asp Arg Ser Cys Asn Asn Glu Ala Ile Gly Gly Ala His Trp Gly Pro
 85 90 95

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

Ser Thr Gly Trp Phe Lys Ile Phe Ala Asp Thr Trp Ser Lys Lys Ala
 115 120 125

Gly Ser Ser Val Gly Asp Asp Asp Asn Trp Gly Thr Arg Asp Leu Asn
 130 135 140

Ala Cys Cys Gly Lys Met Gln Val Lys Ile Pro Ala Asp Ile Pro Ser
 145 150 155 160

Gly Asp Tyr Leu Leu Arg Ala Glu Ala Leu Ala Leu His Thr Ala Gly
 165 170 175

Gln Val Gly Gly Ala Gln Phe Tyr Met Ser Cys Tyr Gln Ile Thr Val
 180 185 190

Ser Gly Gly Gly Ser Ala Ser Pro Ala Thr Val Lys Phe Pro Gly Ala
 195 200 205

Tyr Ser Ala Asn Asp Pro Gly Ile His Ile Asn Ile His Ala Ala Val
 210 215 220

Ser Asn Tyr Val Ala Pro Gly Pro Ala Val Tyr Ser Gly Gly Thr Thr
 225 230 235 240

Lys Val Ala Gly Ser Gly Cys Gln Gly Cys Glu Asn Thr Cys Lys Val
 245 250 255

Gly Ser Ser Pro Thr Ala Thr Ala Pro Ser Gly Lys Ser Gly Ala Gly
 260 265 270

Ser Asp Gly Gly Ala Gly Thr Asp Gly Gly Ser Ser Ser Ser Ser Pro
 275 280 285

Asp Thr Gly Ser Ala Cys Ser Val Gln Ala Tyr Gly Gln Cys Gly Gly
 290 295 300

Asn Gly Tyr Ser Gly Cys Thr Gln Cys Ala Pro Gly Tyr Thr Cys Lys
 305 310 315 320

Ala Val Ser Pro Pro Tyr Tyr Ser Gln Cys Ala Pro Ser Ser
 325 330

<210> 107

<211> 798

<212> ADN

<213> *Thielavia terrestris*

<400> 107

```

atgaagctga gcggtgccat cgcgctgctg gcgtcggctc ttgccgaggc tcactgtgag      60
tgcategtct cactccagct actgcgaagc ttgctgacga tggccctag acaccttccc      120
cagcatcgga aacacgctg actggcagta tgtgoggatt acaacgaact accagagcaa      180
cgggcccgtg acggacgtca cctcggatca aattcggctc tacgaacggs acccaggcac      240
gggagcgcag gccatataca acgtcacccg cggccagacc atcaactaca acgcgaaggc      300
gtccatctcc caccgggggc ccattgtcct ctacattgct aaggttcccg cgggccaaac      360
cgctgcgacc tgggacggta agggggctgt gtggaccaag atctaccagg acatgcccaa      420
gttgggcagc agcctgacct ggcccacct gggtagaat tctaccctg gaaatgaacg      480
cacatttgca cagatctaac atggcctaca ggcgccaagt ctgtcccctg caccatcct      540
cgttgctctc agaacggcga ttacctctg cgagccgagc acatcgctct acacagcgcg      600
agcagcgtcg gtggcgccca gttctacctc tcgtgagcc agcttactgt cagcggcggc      660
agtggcaact ggaaccccaa gaacgggctc tcattcccag gogattaaa ggcaacagac      720
cgggcatct tgatcaacat ctactacccc gtgcgagaaa gctactgac gcccgggccg      780
cggctgaga cgtgctaa
    
```

10

<210> 108
<211> 227
<212> PRT
<213> *Thielavia terrestris*

<400> 108

5

Met Lys Leu Ser Val Ala Ile Ala Val Leu Ala Ser Ala Leu Ala Glu
 1 5 10 15

Ala His Tyr Thr Phe Pro Ser Ile Gly Asn Thr Ala Asp Trp Gln Tyr
 20 25 30

Val Arg Ile Thr Thr Asn Tyr Gln Ser Asn Gly Pro Val Thr Asp Val
 35 40 45

Thr Ser Asp Gln Ile Arg Cys Tyr Glu Arg Asn Pro Gly Thr Gly Ala
 50 55 60

Gln Gly Ile Tyr Asn Val Thr Ala Gly Gln Thr Ile Asn Tyr Asn Ala
 65 70 75 80

Lys Ala Ser Ile Ser His Pro Gly Pro Met Ser Phe Tyr Ile Ala Lys
 85 90 95

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

Trp Thr Lys Ile Tyr Gln Asp Met Pro Lys Phe Gly Ser Ser Leu Thr
 115 120 125

Trp Pro Thr Met Gly Ala Lys Ser Val Pro Val Thr Ile Pro Arg Cys
 130 135 140

Leu Gln Asn Gly Asp Tyr Leu Leu Arg Ala Glu His Ile Ala Leu His
 145 150 155 160

Ser Ala Ser Ser Val Gly Gly Ala Gln Phe Tyr Leu Ser Cys Ala Gln
 165 170 175

Leu Thr Val Ser Gly Gly Ser Gly Thr Trp Asn Pro Lys Asn Arg Val
 180 185 190

Ser Phe Pro Gly Ala Tyr Lys Ala Thr Asp Pro Gly Ile Leu Ile Asn
 195 200 205

Ile Tyr Tyr Pro Val Pro Thr Ser Tyr Ser Pro Pro Gly Pro Pro Ala
 210 215 220

Glu Thr Cys
 225

<210> 109
 <211> 1107
 <212> ADN

<213> *Thielavia terrestris*

<400> 109

```

atgecttett tgcctocaa gactatcctt tccaccctgg cgggtgcgc atccgtggcc      60
gcccacgggg acgtgtogaa catogtcato aaoggggtot cgtaccaggg ttaogatcog      120
acctccttcc ottacatgca gaaccggccc atogtggtog gotggactgc cgcogacaog      180
gacaacggct ttgttgcgcc ggatgccttc gccagtggcg atatcatctg ccacaagaac      240
gccaccacag ccaagggcca cgcctgtggtc gccgcgggag acaagatctt catccagtgg      300
aacacatggc ccgagtccca ccacggcccc gtcatcgact acctcgcgag ctgcggcagc      360
gogtcoctgog agacogtoga caagaccaag ctogagttot tcaagatoga cgaggtoggo      420
ctggtcgacg gcagctoggc gcccggtgtg tggggctcog accagctcat cgccaacaac      480
aactogtggc togtogagat ccgccccacc atogggcogg gcaactacgt catgogccac      540
gagatcatcg ogotgocacg cgcogaaaac gcogaogggg ccagaaacta cccgcagtgc      600
ttoaacctgc agatcaacgg caacggcaac gccacccccc ccggogtccc cggcaactog      660
ctctacccc cgaccgaccc gggcstcctc gtcacatct acagcgccc gatcacctac      720
accgtccggg ggcgggccc catctccggc gccgtcagca tgcgccagtc ctctccgcc      780
atcacggcct ccggcacggc cctgacoggc tctgccaccg caccggccgc cgcogctgct      840
accacaactt ccaccacca cgcgcgggt gctgtacct ctgctgctgc tgctgctggt      900
acttcacaaa ccaccaccag cgcgcgggc gtggtccaga cctcctcctc ctctcctcc      960
gccccgtcct ctgcgcgcgc cgcgcgccac accaccggcg ctgccagcgc ccgcccgacc      1020
ggctgtcct ctggcogctc caggaagcag ccgogccgac acgogggga tatggtggtt      1080
5  gogogagggg ctgaggaggc aaactga      1107

```

<210> 110

<211> 368

<212> PRT

10 <213> *Thielavia terrestris*

<400>

```

Met Pro Ser Phe Ala Ser Lys Thr Leu Leu Ser Thr Leu Ala Gly Ala
1           5           10           15

Ala Ser Val Ala Ala His Gly His Val Ser Asn Ile Val Ile Asn Gly
20           25           30

Val Ser Tyr Gln Gly Tyr Asp Pro Thr Ser Phe Pro Tyr Met Gln Asn
110         35           40           45

```

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

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

ES 2 563 209 T3

Thr Val Ala Ala Gly Ala Thr Pro Val Pro Tyr Ala Gln Gln Ser Pro
275 280 285

Ser Val Ser Thr Ala Ala Gly Thr Pro Val Val Val Thr Arg Thr Ser
290 295 300

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

Met Lys Gly Arg Gly Tyr Asp Arg Arg Gly
325 330

<210> 113

<211> 1221

5 <212> ADN

<213> *Thielavia terrestris*

<400> 113

ES 2 563 209 T3

atgaagacat tcaccgcoct cctggccgca gccggcctcg tcgcccggcca tggatatgtc 60
 gacaaagcca ccattggcgg ccagttttat caggtactct accgcttccac ccaagggtccg 120
 ctggccacaa ctctataggt gtcataaatt aacaagccac cgtcccgcag ttctatcagg 180
 tgtgotogct accgaccatg tggtoocgtc tcagcaagcc actcaccgca ccattgatccc 240
 ctagoottac gtogaccogt atttagcaac cttggcaagt agtatttatt gtcccaata 300
 ttgagotgaa ctgcaootcc ctagaatccc gagggtgata cattotttca gcccgacagg 360
 gtctctcgat ccattcccgg caacggcccg gtcacggacg tcaactctcat cgacctgcag 420
 tgcaacgcca attccacccc ggccaagctc cacgccactg ccgctgcccg ctgggacgtg 480
 attctccgct ggacgctctg gcctgagtcg cacgttggcc ccgtcatcac ctacatggcc 540
 ccgctgccccg acacgggctg ccaggactgg atgcccggca cttcgtagga gcccatcttg 600
 caccatctcc atttcaaccg gccacacgca ctgaccata tgtctgtctc cccctgcagt 660
 ggggtctggt tcaagatcaa ggagggcggc cgggacggca cttcccacac ctgggcccgc 720
 gtacgtgtac cccgtcccag agagccaaag ccccccttc acaaaagca acatctcaat 780
 agcccagacc taogcaataa cccctctcct tccccctoga aaacacagac ccogotgatg 840
 accgggcccc cctcgtacac gtacacgata cccctcctgac tgaagaaggg ctactacotg 900
 gtcggccacg agatcatcgc gctgcaagcc gactacaact accccggcgc gcagttctac 960
 cggggctgcc accagctcaa cgtcacgggc ggcgggtcca ccgtaccgtc gagcggcctg 1020
 gtggccttcc cggggcgcta caagggcagt gaccccggga ttacgtacga tgcgtataaa 1080
 ggtgggttgg ctggttggcc caggtcttgg tgatggggga atgtggtgat gaggtttatt 1140
 atttgggato ccgtgggata cgtaacocctg ggtgtagcgc aaacgtacca gattoctggg 1200
 ccgggggtct ttaottgotg a 1221

<210> 114

<211> 236

5 <212> PRT

<213> *Thielavia terrestris*

<400> 114

ES 2 563 209 T3

Met Lys Thr Phe Thr Ala Leu Leu Ala Ala Ala Gly Leu Val Ala Gly
 1 5 10 15

His Gly Tyr Val Asp Asn Ala Thr Ile Gly Gly Gln Phe Tyr Gln Asn
 20 25 30

Pro Ala Val Leu Thr Phe Phe Gln Pro Asp Arg Val Ser Arg Ser Ile
 35 40 45

Pro Gly Asn Gly Pro Val Thr Asp Val Thr Leu Ile Asp Leu Gln Cys
 50 55 60

Asn Ala Asn Ser Thr Pro Ala Lys Leu His Ala Thr Ala Ala Ala Gly
 65 70 75 80

Ser Asp Val Ile Leu Arg Trp Thr Leu Trp Pro Glu Ser His Val Gly
 85 90 95

Pro Val Ile Thr Tyr Met Ala Arg Cys Pro Asp Thr Gly Cys Gln Asp
 100 105 110

Trp Met Pro Gly Thr Ser Ala Val Trp Phe Lys Ile Lys Glu Gly Gly
 115 120 125

Arg Asp Gly Thr Ser Asn Thr Trp Ala Asp Thr Pro Leu Met Thr Ala
 130 135 140

Pro Thr Ser Tyr Thr Tyr Thr Ile Pro Ser Cys Leu Lys Lys Gly Tyr
 145 150 155 160

Tyr Leu Val Arg His Glu Ile Ile Ala Leu His Ala Ala Tyr Thr Tyr
 165 170 175

Pro Gly Ala Gln Phe Tyr Pro Gly Cys His Gln Leu Asn Val Thr Gly
 180 185 190

Gly Gly Ser Thr Val Pro Ser Ser Gly Leu Val Ala Phe Pro Gly Ala
 195 200 205

Tyr Lys Gly Ser Asp Pro Gly Ile Thr Tyr Asp Ala Tyr Lys Ala Gln
 210 215 220

Thr Tyr Gln Ile Pro Gly Pro Ala Val Phe Thr Cys
 225 230 235

<210> 115
 <211> 933
 <212> ADN

5

ES 2 563 209 T3

<213> *Thielavia terrestris*

<400> 115

atggccttgc	tgctcttggc	aggcttggcc	attctggccg	ggccggctca	tgcccacggc	60
ggcctcgcca	actacacagt	gggcaacacc	tggtataggg	ggtgcgttaq	gggggcaccg	120
acaacgcctg	cttagtaact	ccaccatttc	gagcgggcta	acaccgggcg	cagctacgac	180
cccttcaagc	aggcggccga	ccagatcggc	cagccgtgga	tgatocaaac	cgcgtgggac	240
togatogacc	cgatcttcag	cgtcaaagac	aaggcgctcg	cctgcaaac	cccgccaccg	300
ggcccgacct	cttacattcc	catccgcgcg	ggcgagaaca	tcacggccct	gtactggtac	360
tggctgcacc	cggtgggccc	catgacggcg	tggctggcgc	ggtgcgacgg	cgactgccgc	420
gacgcccagc	tcaacgaggg	ggcctggttc	aagatctggg	aggccggcct	gctcagcggg	480
ccgaaacctg	ccgagggcat	gtggtaccag	aaggcgctcc	agaactggga	ggcagcccg	540
gacctgtggc	ccgtcacgat	cccggccggg	ctgaagagcg	gcctgtacat	gatccggcac	600
gagatcttgt	cgatccacgt	cgaggataaa	ccgcagtttt	atcccagtg	tgccgatctg	660
aatgtgaccg	ggggtgggga	cctgctgccg	cctgatgagt	ttttggtgaa	gttcccgggc	720
gcttacaaag	aagatagtga	gtgaaaacgc	aagcttcggt	agccattggg	ttgcgctgat	780
ggaggttaga	cccgctogato	aagatcaata	tctaactgga	ccagtaagcc	aatacaacgg	840
tgagtgtaac	aggtcgagca	aaaccasaca	gatgccgatg	actgatgac	tcagaattac	900
5	acaattcccg	gagggccgat	atgggatggg	tga		933

<210> 116

<211> 250

<212> PRT

10 <213> *Thielavia terrestris*

<400> 116

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

ES 2 563 209 T3

<211> 1584
 <212> ADN
 <213> *Thielavia terrestris*

5 <400> 117

```

atgatgcegt cccttggttg cttctcaatg ggtctggcga ccgccttcgc ctccctgtcc      60
acagcacata ccgtcttcac cacgcttttc atcaacggcg tcgaccaagc ggacgggacc      120
tgcattccgca tggccaagaa gggcagcgtt tgcacccatc ccattgctgg tggcctcgac      180
agcccagaca tggcttctgg tatgcacctc ggccttcccc tgcgagagct ttccctcgac      240
taacccaatg ccgcggtgcc caggccgaga cggacaacaa gccgtggcat tcacctgcc      300
agccccggcg ggctccaagt tgagcttcga gttccgcctg tgggcccagc cctctcagcc      360
cggctctatc gacccatccc acctcggctc gacggcaatc tacctcaaac aagtctccaa      420
catcagctcc gactcggctg ccggccctgg ctggttcaag atctacgcgc agggctaoga      480
cacagccgcc aagaagtggg ccacagagaa gctcatcgac aacggcggcc tgctgagcat      540
cgagcttcgc cccaactatg cggcgggata ctacctcgcc cgcagcgaga tggtaacct      600
ccagaacgtc accaacgacc acgtcgacc gcagttctac gttggctgcg cacagctctt      660
cgtccagggg cctccgacca cccccacogt ccggccagac agactcgtct ccattccggg      720
ccacgtccat gcctccgacc cggggctgac cttcaacatc tggcggcagc acccctccaa      780
gacggcctac accgtcgttg gccccggccc cttctcccc accgcggccc ccacccccac      840
ctccaccaac accaacgggc agcaacaaca acaacagcaa caggcgataa agcagacgga      900
cggcgtgata cccgcgact gccagctcaa gaacgccaac tgggtcggcg ccgaggtgcc      960
cgcgtacgca gaagaggcgc gctgatgggc gtgctcggcc gactgcttg ccacagctgga     1020
cgcctgctac acgtcggcgc cggccacggg cagccggcgc tgcggctgt gggaggactg     1080
gtgcaaccggc attcagcagg gctgcgcgcg ggggcggtgg cgggggcgc cgcctttca     1140
tggggagggg gcagcagcgg aggtgtgaa cgttcgggga cgggtggcgg tgggtggtgt     1200
ggtggtggtg gcactggctc ttcttgggt tatgcacaga cggagaaggc ctctgctgga     1260
cggggggcgc caagaatagc tgcogtggcc ggtgaggag ggggacagg agacatggt     1320
gaagaggttt tctctttta ttgggacgct tgcagcggct ggcgacggag ccgtggtggt     1380
ggttcgattc ttgcgaggct tctcttcat gtcctcttc cacttttgag accgaggcga     1440
gcccctcgag tccatttact tctcttcac ctgtacctca acttctgta tccaggaacc     1500
agtggtttct ataatgcct gagcattaaa ctaggcatat ggccaagcaa aatgtgcct     1560
gatgtagcgc attacgtgaa ataa                                             1584
    
```

10 <210> 118
 <211> 478
 <212> PRT

<213> *Thielavia terrestris*

<400> 118

ES 2 563 209 T3

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

Ala Ser Leu Ser Thr Ala His Thr Val Phe Thr Thr Leu Phe Ile Asn
 20 25 30

Gly Val Asp Gln Gly Asp Gly Thr Cys Ile Arg Met Ala Lys Lys Gly
 35 40 45

Ser Val Cys Thr His Pro Ile Ala Gly Gly Leu Asp Ser Pro Asp Met
 50 55 60

Ala Cys Gly Arg Asp Gly Gln Gln Ala Val Ala Phe Thr Cys Pro Ala
65 70 75 80

Pro Ala Gly Ser Lys Leu Ser Phe Glu Phe Arg Met Trp Ala Asp Ala
85 90 95

Ser Gln Pro Gly Ser Ile Asp Pro Ser His Leu Gly Ser Thr Ala Ile
100 105 110

Tyr Leu Lys Gln Val Ser Asn Ile Ser Ser Asp Ser Ala Ala Gly Pro
115 120 125

Gly Trp Phe Lys Ile Tyr Ala Glu Gly Tyr Asp Thr Ala Ala Lys Lys
130 135 140

Trp Ala Thr Glu Lys Leu Ile Asp Asn Gly Gly Leu Leu Ser Ile Glu
145 150 155 160

Leu Pro Pro Thr Leu Pro Ala Gly Tyr Tyr Leu Ala Arg Ser Glu Ile
165 170 175

Val Thr Ile Gln Asn Val Thr Asn Asp His Val Asp Pro Gln Phe Tyr
180 185 190

Val Gly Cys Ala Gln Leu Phe Val Gln Gly Pro Pro Thr Thr Pro Thr
195 200 205

Val Pro Pro Asp Arg Leu Val Ser Ile Pro Gly His Val His Ala Ser
210 215 220

Asp Pro Gly Leu Thr Phe Asn Ile Trp Arg Asp Asp Pro Ser Lys Thr
225 230 235 240

Ala Tyr Thr Val Val Gly Pro Ala Pro Phe Ser Pro Thr Ala Ala Pro
245 250 255

Thr Pro Thr Ser Thr Asn Thr Asn Gly Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln
260 265 270

Gln Ala Ile Lys Gln Thr Asp Gly Val Ile Pro Ala Asp Cys Gln Leu
275 280 285

Lys Asn Ala Asn Trp Cys Gly Ala Glu Val Pro Ala Tyr Ala Asp Glu
290 295 300

Ala Gly Cys Trp Ala Ser Ser Ala Asp Cys Phe Ala Gln Leu Asp Ala
305 310 315 320

ES 2 563 209 T3

Cys Tyr Thr Ser Ala Pro Pro Thr Gly Ser Arg Gly Cys Arg Leu Trp
 325 330 335
 Glu Asp Trp Cys Thr Gly Ile Gln Gln Gly Cys Arg Ala Gly Arg Trp
 340 345 350
 Arg Gly Pro Pro Pro Phe His Gly Glu Gly Ala Ala Ala Glu Thr Ala
 355 360 365
 Ser Ala Gly Arg Gly Gly Ala Arg Ile Ala Ala Val Ala Gly Cys Gly
 370 375 380
 Gly Gly Thr Gly Asp Met Val Glu Glu Val Phe Leu Phe Tyr Trp Asp
 385 390 395 400
 Ala Cys Ser Gly Trp Arg Arg Ser Arg Gly Gly Gly Ser Ile Leu Ala
 405 410 415
 Arg Leu Ile Leu His Val Leu Leu Pro Leu Leu Arg Pro Arg Arg Ala
 420 425 430
 Pro Arg Val His Leu Leu Leu Phe His Leu Tyr Leu Asn Phe Cys Tyr
 435 440 445
 Pro Gly Thr Ser Gly Phe Tyr Asn Arg Leu Ser Ile Lys Leu Gly Ile
 450 455 460
 Trp Pro Ser Lys Met Ser Pro Asp Val Ala His Tyr Val Lys
 465 470 475

<210> 119

<211> 868

5 <212> ADN

<213> *Thielavia terrestris*

<400> 119

ES 2 563 209 T3

atgcagctcc	tcgtgggctt	gctgcttgc	gccgtggctg	ctcgagcaca	ttgtatttct	60
acccctttcc	gcgtgcctcc	cagcctcaag	gcaagaagac	gcacgcagca	gctaacggac	120
cctatcagac	acatttccca	gactcgtggt	aaatgggcag	cccgaggaca	aggactggtc	180
ggttacgcgc	atgaccaaga	acgcgcagag	caagcaggga	gtccaggacc	cgaccagtcc	240
cgacattcgc	tgctacaagt	cgcagacggc	gcctaacgtg	gctacggctc	ctgccggagc	300
caccgtccat	tacatataca	ctcagcagat	caaccaccgc	ggcccgcagc	agtactacct	360
cgccaaggta	ccggcggggt	cgctggccaa	gaagtgaggc	gggtcagggg	cogtctggtt	420
caagatctcg	acaaacctgc	cttaacttga	caacaacaag	cagattgtct	ggcogaatca	480
gagtaggaac	aattcccgct	ccaatcttcg	atctggcctt	gagctacggc	cgattgcatg	540
ggagagaccg	ttgactgacg	gggcsaccca	accttcctca	gacacgtaca	cgacggtcaa	600
cacgaccatc	ccgcgcgata	cgcccagtgg	ggaatacctc	ctccgggtcg	agcagatcgc	660
gctgcacctg	gcctcgcagc	ccaacggggc	tcagttctac	ctggcctgct	cgcagatcca	720
gattacgggc	ggcggcaacg	gcacgcaccg	cccgtctagc	gcgttgccgg	gggcgtacaa	780
gagcaacgac	ccgggcattt	tggtcaacat	ctactctatg	cagcccggcg	attacaagcc	840
gcccggggcg	ccggtgtgga	gtggctga				868

<210> 120
 <211> 230
 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

<400> 120

5
 10

ES 2 563 209 T3

Met Gln Leu Leu Val Gly Leu Leu Leu Ala Ala Val Ala Ala Arg Ala
 1 5 10 15

His Tyr Thr Phe Pro Arg Leu Val Val Asn Gly Gln Pro Glu Asp Lys
 20 25 30

Asp Trp Ser Val Thr Arg Met Thr Lys Asn Ala Gln Ser Lys Gln Gly
 35 40 45

Val Gln Asp Pro Thr Ser Pro Asp Ile Arg Cys Tyr Thr Ser Gln Thr
 50 55 60

Ala Pro Asn Val Ala Thr Val Pro Ala Gly Ala Thr Val His Tyr Ile
 65 70 75 80

Ser Thr Gln Gln Ile Asn His Pro Gly Pro Thr Gln Tyr Tyr Leu Ala
 85 90 95

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

Val Trp Phe Lys Ile Ser Thr Thr Met Pro Tyr Leu Asp Asn Asn Lys
 115 120 125

Gln Leu Val Trp Pro Asn Gln Asn Thr Tyr Thr Thr Val Asn Thr Thr
 130 135 140

Ile Pro Ala Asp Thr Pro Ser Gly Glu Tyr Leu Leu Arg Val Glu Gln
 145 150 155 160

Ile Ala Leu His Leu Ala Ser Gln Pro Asn Gly Ala Gln Phe Tyr Leu
 165 170 175

Ala Cys Ser Gln Ile Gln Ile Thr Gly Gly Gly Asn Gly Thr Pro Gly
 180 185 190

Pro Leu Val Ala Leu Pro Gly Ala Tyr Lys Ser Asn Asp Pro Gly Ile
 195 200 205

Leu Val Asn Ile Tyr Ser Met Gln Pro Gly Asp Tyr Lys Pro Pro Gly
 210 215 220

Pro Pro Val Trp Ser Gly
 225 230

<210> 121
 <211> 1068
 <212> ADN

5

ES 2 563 209 T3

<213> *Thielavia terrestris*

<400> 121

atgaagctgt	acctgggggc	ctttctaggc	gccgtcgcca	ccccgggagc	gttcgctcat	60
cgtaggttcc	ccgtctatct	ccctaggggt	agcaccacga	ctaatttctc	gtcgtcccc	120
tgtagaaatc	cacgggattc	tacttgtcaa	cggcaccgas	acgccggaat	ggaaatacgt	180
ccggtaatat	ctaccttgc	ctccttcttc	cacaaccagc	ctaacacatc	atcagtgcg	240
tggcctggga	gggcgcctac	gaaccggaaa	aataccccaa	caccgagttc	tttaagacgc	300
ccccgcagac	ggacatcaac	sacccgaaca	tcacctgagg	caggaacgcg	ttcgactcgg	360
ccagcaagac	tgagacggcc	gacatactgg	ccggtcaga	ggtcggcttc	cgcgtctcgt	420
gggacggcaa	cggcaagtac	ggcgtgttct	ggcatcccgg	gccggggcag	atctacctct	480
ctcgtgctcc	gaacgacgac	ctggaggact	accgcggcga	cggagactgg	ttcaagatcg	540
caaccggcgc	cgcctctctc	aataccgagt	ggctgctgtg	gaacaagcat	gacgtgagcc	600
ccaacattcc	tcgccczaatc	gatccccaac	ctggtcacca	tggcggcgtc	cgggatgcaa	660
agagactaac	tccagaggaa	cctacctagt	tcaacttcac	catccccaaq	acgacgccgc	720
cgggcaagta	cctgatgcgc	atcgagcagt	tcatgccctc	caaggtcgaa	tacagccaqt	780
ggtacgtcaa	atgogccccac	gtcaaatca	tggccccgg	cggaggcaag	cogaagggot	840
ttgcaaggtt	tcccggcaac	tacaatgttg	acgatccgg	taagccggac	ctaccggaca	900
cagaggcctc	gggatagctt	gctaaccctg	tttgcctctc	ctctttttct	ctcccacta	960
ggcatcaagg	tgccgttgaa	ccagatcgtc	aacagcggag	agttgccgca	ggaccaactg	1020
aggotgctcg	agtacaagcc	cccgggocca	gogotgtgga	atggttga		1068

5

<210> 122

<211> 257

<212> PRT

10 <213> *Thielavia terrestris*

<400> 122

Met Lys Leu Tyr Leu Ala Ala Phe Leu Gly Ala Val Ala Thr Pro Gly
 1 5 10 15

Ala Phe Ala His Gln Ile His Gly Ile Leu Leu Val Asn Gly Thr Glu
 20 25 30

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

Glu Pro Glu Lys Tyr Pro Asn Thr Glu Phe Phe Lys Thr Pro Pro Gln
 50 55 60

Thr Asp Ile Asn Asn Pro Asn Ile Thr Cys Gly Arg Asn Ala Phe Asp
 65 70 75 80

Ser Ala Ser Lys Thr Glu Thr Ala Asp Ile Leu Ala Gly Ser Glu Val
 85 90 95

Gly Phe Arg Val Ser Trp Asp Gly Asn Gly Lys Tyr Gly Val Phe Trp
 100 105 110

His Pro Gly Pro Gly Gln Ile Tyr Leu Ser Arg Ala Pro Asn Asp Asp
 115 120 125

Leu Glu Asp Tyr Arg Gly Asp Gly Asp Trp Phe Lys Ile Ala Thr Gly
 130 135 140

Ala Ala Val Ser Asn Thr Glu Trp Leu Leu Trp Asn Lys His Asp Phe
 145 150 155 160

Asn Phe Thr Ile Pro Lys Thr Thr Pro Pro Gly Lys Tyr Leu Met Arg
 165 170 175

Ile Glu Gln Phe Met Pro Ser Thr Val Glu Tyr Ser Gln Trp Tyr Val
 180 185 190

Asn Cys Ala His Val Asn Ile Ile Gly Pro Gly Gly Gly Thr Pro Thr
 195 200 205

Gly Phe Ala Arg Phe Pro Gly Thr Tyr Thr Val Asp Asp Pro Gly Ile
 210 215 220

Lys Val Pro Leu Asn Gln Ile Val Asn Ser Gly Glu Leu Pro Gln Asp
 225 230 235 240

Gln Leu Arg Leu Leu Glu Tyr Lys Pro Pro Gly Pro Ala Leu Trp Thr
 245 250 255

Gly

ES 2 563 209 T3

<211> 871
 <212> ADN
 <213> *Thermoascus crustaceus*

5 <400> 123

```

atggcctttt cccagataat ggctattacc ggcgtttttc ttgcctctgc ttccctggtg      60
gttgcccatg gctttggtca gaatatcgtg attgatggtc aaaggtacct aactacctac      120
cttactatct gatgtcattt acaagaaggc gcacagacac aagcggcaaa aaaaagaaag      180
aaagaagaa agaaagaaag ctgacaaaaa ttcaacaagt tatggcgggt acatcgtgaa      240
ccaatatoca tacatgtoag atcctcogga ggtogtoggc tggtotacca cggcaacoga      300
cctoggatto gtggaaggta cgggatacca aggaootgat atcatotgoc acaggggogc      360
caagcctgca gccctgactg cccaagtggc cgcgggagga accgtcaagc tggaatggac      420
tccatggcct gattctcacc scggcccggc gatcaactac cttgctcctt gcaacgggtg      480
ctgttcacc gtggacaaga cccaattgaa attcttcaag atcgcaccag cgggtctcat      540
cgatgacaac agtcctcctg gtatctgggc ctcaagacaat ctgatagcgg ccaacaacag      600
ctggactgtc accatoccaa ccacaactgc acctggaac tatgttctaa ggcatgagat      660
cattgctoto caotcagotg ggaaacaagga tggtgogcag aactatoccc agtgcatoaa      720
cctgaaggtc actggaaatg gttctggcaa tcctcctgct ggtgctcttg gaacggcact      780
ctacaaggat acagatocgg gaattctgat caatatctac cagaaacttt ccagctatgt      840
tattcctggt cctgctttgt scactggta g      871
    
```

10 <210> 124
 <211> 251
 <212> PRT
 <213> *Thermoascus crustaceus*

15 <400> 124

Met Ala Phe Ser Gln Ile Met Ala Ile Thr Gly Val Phe Leu Ala Ser
 1 5 10 15

Ala Ser Leu Val Ala Gly His Gly Phe Val Gln Asn Ile Val Ile Asp
 20 25 30

Gly Lys Ser Tyr Gly Gly Tyr Ile Val Asn Gln Tyr Pro Tyr Met Ser
 35 40 45

Asp Pro Pro Glu Val Val Gly Trp Ser Thr Thr Ala Thr Asp Leu Gly
 50 55 60

Phe Val Asp Gly Thr Gly Tyr Gln Gly Pro Asp Ile Ile Cys His Arg
 65 70 75 80
 Gly Ala Lys Pro Ala Leu Thr Ala Gln Val Ala Ala Gly Gly Thr
 85 90 95

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

Ile Asn Tyr Leu Ala Pro Cys Asn Gly Asp Cys Ser Thr Val Asp Lys
 115 120 125

Thr Gln Leu Lys Phe Phe Lys Ile Ala Gln Ala Gly Leu Ile Asp Asp
 130 135 140

Asn Ser Pro Pro Gly Ile Trp Ala Ser Asp Asn Leu Ile Ala Ala Asn
 145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Val Thr Ile Pro Thr Thr Thr Ala Pro Gly Asn Tyr
 165 170 175

Val Leu Arg His Glu Ile Ile Ala Leu His Ser Ala Gly Asn Lys Asp
 180 185 190

Gly Ala Gln Asn Tyr Pro Gln Cys Ile Asn Leu Lys Val Thr Gly Asn
 195 200 205

Gly Ser Gly Asn Pro Pro Ala Gly Ala Leu Gly Thr Ala Leu Tyr Lys
 210 215 220

Asp Thr Asp Pro Gly Ile Leu Ile Asn Ile Tyr Gln Lys Leu Ser Ser
 225 230 235 240

Tyr Val Ile Pro Gly Pro Ala Leu Tyr Thr Gly
 245 250

ES 2 563 209 T3

<211> 1102
 <212> ADN
 <213> *Thermoascus crustaceus*

5 <400> 125

```

atgtcattct cgaagatact tgctatcgct ggggccaatta cctacgcata ttcagctgcc      60
gctcatgggt atgtccaggg aattggtgtc gatggcagct agtatgtcac tctggatgga      120
aocctcagca ogtaactgtac taacaatcag cagctacggg ggatatatgg tgacccaata      180
tccctacacc gctcaacctc cggaaactcat cgctctgtcc actaaagcaa ccgatcttgg      240
gtttgtggac ggcagtggtc atactttctc tgatatacct tgcataaagg gtgctgagcc      300
tggtgccccag agcgccaaag tggcagctgg agggaccgtt gagctgcagt ggcaggcatg      360
gcccgagtct cacaagggcc cagttattga ctacctgcc gctgcgacg gggactgctc      420
atctgttgat aagactgcac taaagttctt taagattgac gagagtggtc tgattgacgg      480
caacggtgct ggaacatggg cctctgatac gttgatcaaa aataacaaca gctggactgt      540
caccatccca agcacaattg cttccggaaa ctacgtacta agacacgaaa taattgcgct      600
ccattctgcc ggaacaaaag atggtgctca gaactatccc cagtgtatca acctcgaggt      660
cactggtagt ggcaccgaaa accctgctgg cactctcgga acagcgcttt acacagacac      720
tgatcctggc cttctggtca acatctacca ggtctgtcc aactattcaa tccctggtcc      780
tgctctgtat agcggcaaca gtgataaocg tggttccctc aacctacca ccacgccgtc      840
aattoagaat gctgctgctg ctccctccac ttccacagca tctggtgtca ctgattotto      900
gtcagccacc cagactgcta gtgtcgccgc cacgactcca gctccactt cggctgttac      960
agcctcacca gctcccgata ctggaagoga cgtaacccaa tatctggatt cgatgagctc     1020
ggatgaggtc ctacccctgg tgcgogggac cctgtattgg atggtttcta acaagaaaca     1080
tgcgcgggat ctttctcact ga                                             1102
    
```

10 <210> 126
 <211> 349
 <212> PRT
 <213> *Thermoascus crustaceus*

15 <400> 126

ES 2 563 209 T3

Met Ser Phe Ser Lys Ile Leu Ala Ile Ala Gly Ala Ile Thr Tyr Ala
 1 5 10 15

Ser Ser Ala Ala Ala His Gly Tyr Val Gln Gly Ile Val Val Asp Gly
 20 25 30

Ser Tyr Tyr Gly Gly Tyr Met Val Thr Gln Tyr Pro Tyr Thr Ala Gln
 35 40 45

Pro Pro Glu Leu Ile Ala Trp Ser Thr Lys Ala Thr Asp Leu Gly Phe
 50 55 60

Val Asp Gly Ser Gly Tyr Thr Ser Pro Asp Ile Ile Cys His Lys Gly
 65 70 75 80

Ala Glu Pro Gly Ala Gln Ser Ala Lys Val Ala Ala Gly Gly Thr Val
 85 90 95

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

Asp Tyr Leu Ala Ala Cys Asp Gly Asp Cys Ser Ser Val Asp Lys Thr
 115 120 125

Ala Leu Lys Phe Phe Lys Ile Asp Glu Ser Gly Leu Ile Asp Gly Asn
 130 135 140

Gly Ala Gly Thr Trp Ala Ser Asp Thr Leu Ile Lys Asn Asn Asn Ser
 145 150 155 160

Trp Thr Val Thr Ile Pro Ser Thr Ile Ala Ser Gly Asn Tyr Val Leu
 165 170 175

Arg His Glu Ile Ile Ala Leu His Ser Ala Gly Asn Lys Asp Gly Ala
 180 185 190

Gln Asn Tyr Pro Gln Cys Ile Asn Leu Glu Val Thr Gly Ser Gly Thr
 195 200 205

Glu Asn Pro Ala Gly Thr Leu Gly Thr Ala Leu Tyr Thr Asp Thr Asp
 210 215 220

Pro Gly Leu Leu Val Asn Ile Tyr Gln Gly Leu Ser Asn Tyr Ser Ile
 225 230 235 240

Pro Gly Pro Ala Leu Tyr Ser Gly Asn Ser Asp Asn Ala Gly Ser Leu
 245 250 255

Asn Pro Thr Thr Thr Pro Ser Ile Gln Asn Ala Ala Ala Ala Pro Ser
 260 265 270

Thr Ser Thr Ala Ser Val Val Thr Asp Ser Ser Ser Ala Thr Gln Thr
 275 280 285

Ala Ser Val Ala Ala Thr Thr Pro Ala Ser Thr Ser Ala Val Thr Ala
 290 295 300

Ser Pro Ala Pro Asp Thr Gly Ser Asp Val Thr Lys Tyr Leu Asp Ser
 305 310 315 320

Met Ser Ser Asp Glu Val Leu Thr Leu Val Arg Gly Thr Leu Ser Trp
 325 330 335

Leu Val Ser Asn Lys Lys His Ala Arg Asp Leu Ser His
 340 345

<210> 127
 <211> 1493
 <212> ADN
 <213> *Thermoascus crustaceus*

5

<400> 127

atgtttgtcat	tcattcccac	caagtcagct	gcgctgacga	ctcttctact	tcttqgaaca	60
gctcatgctc	acactttgat	gaccaccatg	tttgtggagc	gogtcaacca	gggagatggt	120
gtctgcattc	gcataaaca	tgaaggcggg	actgcacaata	cctatatcca	gcctatcacg	180
agcaaggata	tgcctgccc	taagtaacca	gatgtcatca	tactctgcca	taacatccgt	240
catatctact	agaatoggag	caatgttaag	tatttccagg	catccaaggc	gaaatoggcg	300
cctcccagct	ctgcccagtc	aaggcatctt	ccaccctaac	cttccaattc	cgcgagcaac	360
ccaacaaccc	aaactcctcc	cctctcgatc	catcgacaca	aggccccgcc	ggggtgtacc	420
tgaasagggt	cgactccgcc	atcggcagca	acaaacggcc	cggagacagc	tggttcaaga	480
tctgggagtc	cgtctacgac	gagtcacagg	gcaaatgggg	cacgaccaag	atgatcgaga	540
acaacgggca	catctccgtc	aagggtcccc	atgatatcga	gggtgggtac	tatcttggcc	600
ggacggagct	gctggcgcta	cattctgcgg	atcaggggga	tcgcagttc	tatgttggct	660
gtgcgagct	gtttatogat	tgggatggga	cggcgaaacc	gcccactggt	tctattggag	720
aggggacgta	cgatctgagc	atgcctgcca	tgaagtataa	tatctgggag	acaaccgttg	780
ctctgcctga	tcogatgtat	gggcctcctg	totatacgcc	tggctctggt	tctggatcag	840
tcogtgcgac	gagctattat	gatgtcccta	ctgcaaccga	atcctttttt	gtagaggaaa	900
gagcaaaccc	cgtcacggca	aacagtgttt	attctgcaag	gggcaaatc	aaaacctgga	960
ttgataaact	gtcatggcgc	gggaaggctc	gtgsgaacgt	cagacaagcc	gcgggaagaa	1020
gsagcactct	cgtccagact	gtgggtctaa	agccaaaagc	ctgcctcttc	gtcaatggaa	1080
actggtgccc	cttcgaggtt	cccgaactaca	acgatgcgga	gagctgctgg	gctgtatggt	1140
cccctcctta	gcctcttaca	tcocctaagta	ctacatttga	aaacaacaaa	agaaatgta	1200
tatactaact	acgtacgctc	tactctaggc	ctccgacaac	tgctggaaac	agtccgacgc	1260
ctgctggaac	aggaccaca	ccacgggcta	caataactgc	cagatctggc	aggacaagaa	1320
atgcaaggto	atccaggatt	cctgtagcgg	acccaaaccc	catggaccac	ogaataaggg	1380
caaggatttg	actccggagt	ggcggccact	gaagggctcg	atggatacgt	tctccaagcg	1440
tactatcggc	taccgcgatt	ggattgttag	aaggagaggt	gcctgagggt	gta	1493

<210> 128

5 <211> 436

<212> PRT

<213> *Thermoascus crustaceus*

<400> 128

10

ES 2 563 209 T3

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

Leu Leu Gly Thr Ala His Ala His Thr Leu Met Thr Thr Met Phe Val
 20 25 30

Asp Gly Val Asn Gln Gly Asp Gly Val Cys Ile Arg Met Asn Asn Asp
 35 40 45

Gly Gly Thr Ala Asn Thr Tyr Ile Gln Pro Ile Thr Ser Lys Asp Ile
 50 55 60

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

Lys Ala Ser Ser Thr Leu Thr Phe Gln Phe Arg Glu Gln Pro Asn Asn
 85 90 95

Pro Asn Ser Ser Pro Leu Asp Pro Ser His Lys Gly Pro Ala Ala Val
 100 105 110

Tyr Leu Lys Lys Val Asp Ser Ala Ile Ala Ser Asn Asn Ala Ala Gly
 115 120 125

Asp Ser Trp Phe Lys Ile Trp Glu Ser Val Tyr Asp Glu Ser Thr Gly
 130 135 140

Lys Trp Gly Thr Thr Lys Met Ile Glu Asn Asn Gly His Ile Ser Val
 145 150 155 160

Lys Val Pro Asp Asp Ile Glu Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Arg Thr Glu
 165 170 175

Leu Leu Ala Leu His Ser Ala Asp Gln Gly Asp Pro Gln Phe Tyr Val
 180 185 190

Gly Cys Ala Gln Leu Phe Ile Asp Ser Asp Gly Thr Ala Lys Pro Pro
 195 200 205

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

Thr Tyr Asn Ile Trp Glu Thr Pro Leu Ala Leu Pro Tyr Pro Met Tyr
 225 230 235 240

Gly Pro Pro Val Tyr Thr Pro Gly Ser Gly Ser Gly Ser Val Arg Ala
 245 250 255

Thr Ser Ser Ser Ala Val Pro Thr Ala Thr Glu Ser Ser Phe Val Glu
 260 265 270

Glu Arg Ala Asn Pro Val Thr Ala Asn Ser Val Tyr Ser Ala Arg Gly
 275 280 285

Lys Phe Lys Thr Trp Ile Asp Lys Leu Ser Trp Arg Gly Lys Val Arg
 290 295 300

Glu Asn Val Arg Gln Ala Ala Gly Arg Arg Ser Thr Leu Val Gln Thr
 305 310 315 320

Val Gly Leu Lys Pro Lys Gly Cys Ile Phe Val Asn Gly Asn Trp Cys
 325 330 335

Gly Phe Glu Val Pro Asp Tyr Asn Asp Ala Glu Ser Cys Trp Ala Ala
 340 345 350

Ser Asp Asn Cys Trp Lys Gln Ser Asp Ala Cys Trp Asn Lys Thr Gln
 355 360 365

Pro Thr Gly Tyr Asn Asn Cys Gln Ile Trp Gln Asp Lys Lys Cys Lys
 370 375 380

Val Ile Gln Asp Ser Cys Ser Gly Pro Asn Pro His Gly Pro Pro Asn
 385 390 395 400

Lys Gly Lys Asp Leu Thr Pro Glu Trp Pro Pro Leu Lys Gly Ser Met
 405 410 415

Asp Thr Phe Ser Lys Arg Thr Ile Gly Tyr Arg Asp Trp Ile Val Arg
 420 425 430

Arg Arg Gly Ala
 435

5 <210> 129
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*

10 <400> 129
 cccttgggt atccgtgact gtgagctata cccgcg 36

<210> 130
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*

15 <400> 130
 cgatcatgagt gactggggcg ctaccacag cgggtg 35

20 <210> 131
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*

25 <400> 131
 gggtagtggg actgccgagt tcccttacct tgtcac 36

<210> 132
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*

ES 2 563 209 T3

<400> 132
 gccgactctg gagagggtta catcagtgtc gacggcaac 39

 5 <210> 133
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*

 10 <400> 133
 cgacaagggc gtggacgttt tgctggggcc tgc 33

 <210> 134
 <211> 33
 <212> ADN
 15 <213> *Aspergillus fumigatus*

 <400> 134
 gcaggcccca gaaaacgtc cacgcccttg tgc 33

 20 <210> 135
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*

 25 <400> 135
 cgacaagggc gtggacgttt tgctggggcc tgc 33

 <210> 136
 <211> 33
 <212> ADN
 30 <213> *Aspergillus fumigatus*

 <400> 136
 gcaggcccca gaaaacgtc cacgcccttg tgc 33

 35 <210> 137
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*

 40 <400> 137
 ccaagacgcg ggtgtggttg ctactgcaa gc 32

 <210> 138
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*

 45 <400> 138
 gcttgcagt agcaaccaca cccgcgtctt gg 32

 <210> 139
 <211> 47
 <212> ADN
 55 <213> *Aspergillus fumigatus*

 <400> 139
 ggtatcaact ggggtatgtg tctccaggat tccccttgg gtatccg 47

 60 <210> 140
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*

 65 <400> 140
 cggataccca aaggggaatc ctggagacac ataccctcagt tgatacc 47

<210> 141
 <211> 47
 <212> ADN
 5 <213> *Aspergillus fumigatus*

 <400> 141
 ggtatcaact ggggtatgtg tctccaggat tccccttgg gtatccg 47

 10 <210> 142
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*

 15 <400> 142
 cggataccba aaggggaatc ctggagacac ataccaccagt tgatacc 47

 <210> 143
 <211> 32
 20 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*

 <400> 143
 ccaagacgcg ggtgtggttg ctactgcaa gc 32
 25
 <210> 144
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> *Aspergillus fumigatus*
 30
 <400> 144
 gcttggcagt agcaaccaca cccgcgtctt gg 32

 <210> 145
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

 <220>
 40 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> X=I,L,M, OR V

 <220>
 45 <221> misc_feature
 <222> (3)..(6)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

 <220>
 50 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

 <220>
 55 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> X=I,L,M, OR V

 <220>
 60 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

 <220>
 65 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)

<223> Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 5 <222> (14)..(14)
 <223> X=E OR Q

<220>
 <221> misc_feature
 10 <222> (15)..(18)
 <223> Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 15 <222> (19)..(19)
 <223> X=H,N, OR Q

<400> 145

Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Tyr Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

20 **Xaa Xaa Xaa**

<210> 146
 <211> 20
 <212> PRT
 25 <213> *Thielavia terrestris*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 30 <222> (1)..(1)
 <223> X=I,L,M, OR V

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(7)
 35 <223> Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 40 <223> Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 45 <223> X=I,L,M, O V

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 50 <223> Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 55 <223> Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 60 <223> X=E OR Q

<220>

<221> misc_feature
 <222> (16)..(19)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

5

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (20)..(20)
 <223> X=H,N, OR Q

10

<400> 146

Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Tyr Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa
20

<210> 147
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

15

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

20

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(7)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

25

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> X= Y O W

30

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9).. (9)
 <223> X= A,I,L,M O V

35

<400> 147

40

His Xaa Gly Fro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 148
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

45

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

50

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(8)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

55

<220>
 <221> MISC_FEATURE

<222> (9).. (9)
 <223> X= Y O W

<220>
 5 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> X= A,I,L,M OR V

<400> 148

10 **His Xaa Xaa Gly Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa**
1 5 10

<210> 149
 <211> 11
 15 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

<220>
 20 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> X= E O Q

<220>
 25 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 30 <221> misc_feature
 <222> (4)..(5)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 35 <221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 40 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> X= E,H,Q O N

<220>
 45 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9).. (9)
 <223> X=F,I,L, O V

<220>
 50 <221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 55 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> X=I,L, O V

<400> 149

60 **Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa**
1 5 10

<210> 150
 <211> 9

<212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

<220>
 5 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 10 <221> misc_feature
 <222> (5)..(7)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 15 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> X= Y O W

<220>
 20 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9).. (9)
 <223> X= A,I,L,M O V

<400> 150
 25 **His Xaa Gly Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa**
1 5

<210> 151
 <211> 10
 30 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

<220>
 35 <221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 40 <221> misc_feature
 <222> (6)..(8)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 45 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9).. (9)
 <223> X= Y O W

<220>
 50 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> X= A,I,L,M O V

<400> 151
 55 **His Xaa Xaa Gly Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa**
1 5 10

<210> 152
 <211> 11
 60 <212> PRT
 <213> *Thielavia terrestris*

<220>
 <221> MISC_FEATURE

- <222> (1)..(1)
<223> X= E O Q
- 5 <220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*
- 10 <220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(5)
<223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*
- 15 <220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*
- 20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X= E,H,Q O N
- 25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9).. (9)
<223> X=F,I,L, O V
- 30 <220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*
- 35 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (11)..(11)
<223> X=I,L, O V
- 40 <400> 152
Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10
- 45 <210> 153
<211> 9
<212> PRT
<213> *Thielavia terrestris*
- 50 <220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*
- 55 <220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(7)
<223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*
- 60 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X= Y O W
- 65 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9).. (9)

<223> X= A,I,L,M O V

<400> 153

His Xaa Gly Fro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

5 **1 5**

<210> 154

<211> 10

<212> PRT

10 <213> *Thielavia terrestris*

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(3)

15 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(8)

20 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

25 <223> X= Y O W

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

30 <223> X= A,I,L,M O V

<400> 154

His Xaa Xaa Gly Fro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

35 **1 5 10**

<210> 155

<211> 11

<212> PRT

40 <213> *Thielavia terrestris*

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

45 <223> X= E O Q

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

50 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>

<221> misc_feature

<222> (4)..(5)

55 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>

<221> misc_feature

<222> (7)..(7)

60 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> X= E,H,Q O N

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 5 <222> (9)..(9)
 <223> X=F,I,L, O V

<220>
 <221> misc_feature
 10 <222> (10)..(10)
 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 15 <222> (11)..(11)
 <223> X=I,L, O V

<400> 155

Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 **1 5 10**

<210> 156
 <211> 9
 <212> PRT
 25 <213> *Thielavia terrestris*

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 30 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(7)
 35 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 40 <223> X= Y O W

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 45 <223> X= A,I,L,M O V

<400> 156

His Xaa Gly Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 50 **1 5**

<210> 157
 <211> 10
 <212> PRT
 55 <213> *Thielavia terrestris*

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(3)
 60 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(8)

<223> Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 5 <222> (9)..(9)
 <223> X= Y O W

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 10 <222> (10)..(10)
 <223> X= A,I,L,M O V

<400> 157

His Xaa Xaa Gly Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 15 **1 5 10**

<210> 158
 <211> 11
 <212> PRT
 20 <213> *Thielavia terrestris*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 25 <222> (1)..(1)
 <223> X= E O Q

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 30 <223> Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (4)..(5)
 35 <223> Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 40 <223> Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 45 <223> X= E,H,Q O N

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 50 <223> X=F,I,L, O V

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 55 <223> Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 60 <223> X=I,L,O V

<400> 158

Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

- 5 <210> 159
- <211> 19
- <212> PRT
- <213> *Thielavia terrestris*

- 10 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (1)..(1)
- <223> X=I,L,M O V

- 15 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (3)..(6)
- <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

- 20 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (8)..(8)
- <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

- 25 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (10)..(10)
- <223> X=I,L,M O V

- 30 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (11)..(11)
- <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

- 35 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (13)..(13)
- <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

- 40 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (14)..(14)
- <223> X= E O Q

- 45 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (15)..(17)
- <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

- 50 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (19).. (19)
- <223> X= H,N, O Q

- <400> 159

Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Tyr Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

- 55 **Xaa Ala Xaa**
- <210> 160
- <211> 20
- <212> PRT
- 60 <213> *Thielavia terrestris*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 5 <223> X=I,L,M O V

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(7)
 10 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 15 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 20 <223> X=I,L,M O V

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 25 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 30 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 35 <223> X=E O Q

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(18)
 40 <223> *Xaa puede ser un aminoácido que se produzca de forma natural*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (20)..(20)
 45 <223> X= H,N, O Q

<400> 160

Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Tyr Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Ala Xaa
20

50

REIVINDICACIONES

- 5 1. Variante de beta-glucosidasa, que comprende o consistente en una sustitución en las posiciones correspondientes a las posiciones 89, 91,140 y 186 del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2, donde la variante tiene actividad de beta-glucosidasa y donde la variante tiene al menos 80%, pero menos del 100%, de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEC ID nº: 2.
- 10 2. Variante según la reivindicación 1, donde la variante tiene al menos 90% de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEC ID nº: 2.
3. Variante según la reivindicación 1, donde la variante tiene al menos 95% de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEC ID nº: 2.
- 15 4. Variante de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que es una variante de una beta-glucosidasa original seleccionada del grupo que consiste en:
- (a) un polipéptido que tiene al menos 80% de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de SEC ID nº: 2;
 - (b) un polipéptido codificado por un polinucleótido que hibridiza bajo condiciones de astringencia altas o condiciones de astringencia altísimas con (i) la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 1, (ii) la
 - 20 secuencia de ADNc de la misma o (iii) el complemento en toda su longitud de (i) o (ii);
 - (c) un polipéptido codificado por un polinucleótido que tiene al menos 80% de identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de SEC ID nº: 1 o la secuencia de ADNc de la misma; y
 - (d) un fragmento del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2, que tiene actividad de beta-glucosidasa.
- 25 5. Variante según la reivindicación 4, que tiene al menos 80%, pero menos del 100%, de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la beta-glucosidasa original.
6. Variante de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende una o varias sustituciones seleccionadas del grupo que consiste en L89M, G91L, F100D, I140V, I186V, S283G, N456E y F512Y.
- 30 7. Variante según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde la variante comprende o consiste en las sustituciones en las posiciones correspondientes a las posiciones 89, 91, 100, 140, 186, 283, 456 y 512 del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2.
- 35 8. Variante según cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y 7, que comprende o consiste en las sustituciones L89M, G91L, F100D, I140V, I186V, S283G, N456E y F512Y.
9. Variante según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde la variante comprende o consiste en las sustituciones L89M + G91 L + I140V + I186V del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2.
- 40 10. Polinucleótido aislado que codifica la variante según cualquiera de las reivindicaciones 1-9.
11. Célula huésped que comprende el polinucleótido según la reivindicación 10.
- 45 12. Método para producir una variante, que comprende:
- (a) cultivo de la célula huésped según la reivindicación 11 bajo condiciones adecuadas para la expresión de la variante; y
 - (b) recuperación de la variante.
- 50 13. Método para obtener una variante, que comprende la introducción en una beta-glucosidasa original de una sustitución en las posiciones correspondientes a las posiciones 89, 91,140 y 186 del polipéptido maduro de SEC ID nº: 2, donde la variante tiene actividad de beta-glucosidasa; y recuperación de la variante.
14. Método para degradar o convertir un material celulósico, que comprende: tratamiento del material celulósico con una composición enzimática en presencia de la variante según cualquiera de las reivindicaciones 1-9.
- 55 15. Método según la reivindicación 14, que comprende además recuperación del material celulósico degradado.
- 60 16. Método según la reivindicación 14 o 15, donde la composición enzimática comprende una o varias enzimas seleccionadas del grupo que consiste en una celulasa, un polipéptido que tiene actividad de aumento celolítico, una hemicelulasa, una expansina, una esterasa, una lacasa, una enzima ligninolítica, una pectinasa, una peroxidasa, una proteasa y una swollenina.
- 65 17. Método para producir un producto de fermentación, que comprende:
- (a) sacarificación de un material celulósico con una composición enzimática en presencia de la variante según cualquiera de las reivindicaciones 1-9;

(b) fermentación del material celulósico sacarificado con uno o varios microorganismos fermentadores para producir el producto de fermentación; y

(c) recuperación del producto de fermentación a partir de la fermentación.

- 5 18. Método según la reivindicación 17, donde la composición enzimática comprende una o varias enzimas seleccionadas del grupo que consiste en una celulasa, un polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico, una hemicelulasa, una expansina, una esterasa, una lacasa, una enzima ligninolítica, una pectinasa, una peroxidasa, una proteasa y una swollenina.
- 10 19. Método de fermentación de un material celulósico, que comprende: fermentación del material celulósico con uno o varios microorganismos fermentadores, donde el material celulósico se sacarifica con una composición enzimática en presencia de la variante según cualquiera de las reivindicaciones 1-9.
- 15 20. Método según la reivindicación 18, donde la composición enzimática comprende una o varias enzimas seleccionadas del grupo que consiste en una celulasa, un polipéptido que tiene actividad de aumento celulolítico, una hemicelulasa, una expansina, una esterasa, una lacasa, una enzima ligninolítica, una pectinasa, una peroxidasa, una proteasa y una swollenina.
- 20 21. Método según la reivindicación 19 o 20, donde la fermentación del material celulósico produce un producto de fermentación seleccionado del grupo que consiste en combustible, etanol potable y productos químicos de plataforma.
22. Método según la reivindicación 21, que comprende además recuperación del producto de fermentación a partir de la fermentación.
- 25 23. Formulación de caldo completo o composición de cultivo celular que comprende la variante según cualquiera de las reivindicaciones 1-9.


```

agaaaaagaacggttctctgaatgaagtttttaaccattgogaacagcgtgtctttgggtgtttgtcaac 1932
                                V S L V F V N
gocgaactctggagaggggtttcatcagtgctogacggcaacgaggggtgaccgcaaaaatctcactctgtgg 2001
A D S G E G F I S V D G N E G D R K N L T L W
aagaacggcgaggccgctcattgacactggttgcagccactgcaacaacacgattgtggttattccacgt 2070
K N G E A V I D T V V S H C N N T I V V I H S
gttgggcccgtcttgatcgaccgggtggtatgataaccccgaacgtcactgccatcatctgggcccggcttg 2139
V G P V L I D R W Y D N P N V T A I I W A G L
ccoggtcaggagagtggcaactccctggctogacgtgctctatggccgctcaacccccagcgccaagacc 2208
P G Q E S G N S L V D V L Y G R V N P S A K T
ccgttcacctggggcaagactcgggagcttaccggggctcccttgctcaccgagcctaacaatggcaat 2277
P F T W G K T R E S Y G A P L L T E P N N G N
ggtgctccccaggatgattcaacgagggcgctttcattgactaccgtcactttgacaagcgcaatgag 2346
G A P Q D D F N E G V F I D Y R H F D K R N E
acccccatttatgagtttggccatggcttgagctacaccacotttggttactotcacccttcggggttcag 2415
T P I Y E F G H G L S Y T T F G Y S H L R V Q
gocctcaatagttcogagttcggcatatgtcccgactagcggagagaccaagcctgocgccaacctatggt 2484
A L N S S S S A Y V P T S G E T K P A P T Y G
gagatcggtagtgocgocgaactaacctgtatcccgggggtctcaaaagaattaccaagttttatttacct 2553
E I G S A A D Y L Y P E G L K R I T K F I Y P
tggctcaactcgaccgacctcgaggattcttctgacgaccocgaactacggctgggaggactcggagtac 2622
W L N S T D L E D S S D D P N Y G W E D S E Y
attccogaaggegetagggatgggtctcctcaacccctcctgaaggctggcgggctcctcgttggtaac 2691
I P E G A R D G S P Q P L L K A G G A P G G N
cctaccctttatcaggatcttgttaggggtgctggccaccataaccaacactggtaacgtcggcgggttat 2760
P T L Y Q D L V R V S A T I T N T G N V A G Y
gaagtcctcaattggtagtgaccccgcatgttccttgogttgcaatttggctaactcogcttctagtat 2829
E V P Q L
                                Y
gthtcattgggoggacogaacgagcctcgggtcgttctgocgaagttcgaacgaatottcctggctcct 2898
V S L G G P N E P R V V L R K F D R I F L A P
ggggagcaaaaggttggaccacgactcttaaccgtcgtgatctcggcaattgggatgtggaggtcag 2967
G E Q K V W T T T L N R R D L A N W D V E A Q
gactgggtcatcacaagtaacccaagaaagtgcacgtcggcagctcctcogogtaagctgcctctgaga 3036
D W V I T K Y P K K V H V G S S S R K L P L R
gogcctctgccccgtgtctactag 3060
A P L P R V Y .

```

Fig. 1B

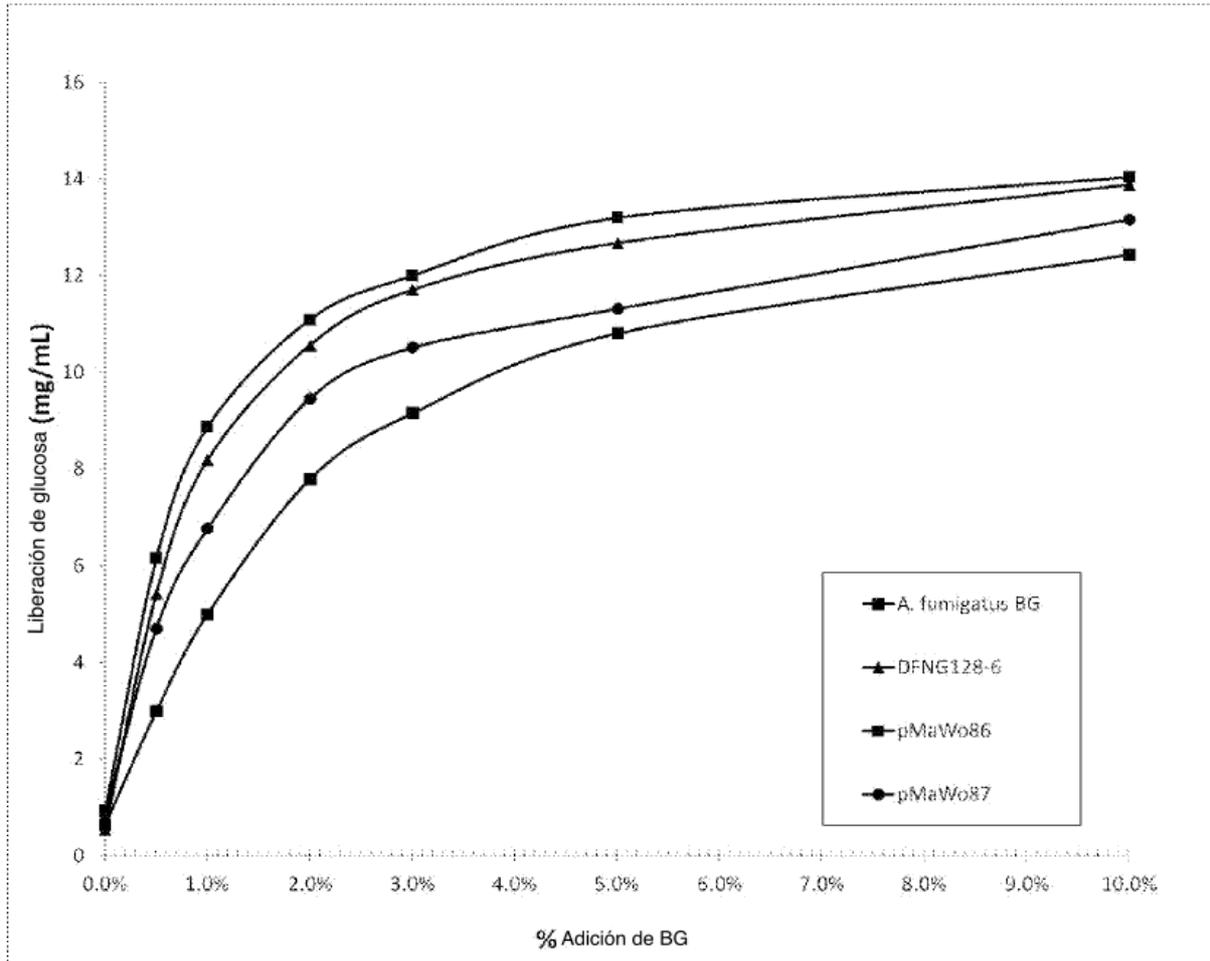


Fig. 2