

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 613 539**

51 Int. Cl.:

C12N 15/52 (2006.01)

C12P 7/16 (2006.01)

C12N 9/04 (2006.01)

C12N 9/88 (2006.01)

C12N 9/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.02.2009 PCT/EP2009/001191**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.08.2009 WO2009103533**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.02.2009 E 09713531 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.11.2016 EP 2255007**

54 Título: **Producción fermentativa de isobutanol con levaduras**

30 Prioridad:

20.02.2008 DE 102008010121

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

24.05.2017

73 Titular/es:

**BUTALCO GMBH (100.0%)
C/o Gewerbe-Treuhand AG Achereggstrasse 10
6362 Stansstad, CH**

72 Inventor/es:

**FESTEL, GUNTER;
BOLES, ECKHARD;
WEBER, CHRISTIAN y
BRAT, DAWID**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 613 539 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

Producción fermentativa de isobutanol con levaduras

La invención se refiere a una vía fermentativa para la producción de isobutanol a partir de azúcares.

5 El isobutanol tiene extraordinarias propiedades como combustible. Además de ello, también es un interesante producto químico, p. ej., como producto químico base para la producción de otros productos químicos o como disolvente. Hoy en día, el isobutanol se prepara preferentemente por vía petroquímica a partir de fuentes fósiles. Esencialmente más prometedora sería, por el contrario, su preparación a partir de fuentes renovables tales como, p. ej., azúcares vegetales o residuos vegetales. Recientemente se presentaron dos procedimientos microbianos, no fermentativos, con los que se puede preparar isobutanol a partir de azúcares (Atsumi et al., 2008; solicitud de patente US 2007/0092957). En ambos procedimientos se hizo que células huésped mediante la introducción de ADN heterólogo, produjeran a partir del compuesto intermedio metabólico piruvato, el cual se forma mediante la degradación de azúcares, isobutanol y también otros alcoholes de cadena ramificada. Ambos procedimientos descritos tienen, sin embargo, en común que no discurren de forma fermentativa, es decir, que sus equilibrios redox no están compensados en la degradación de los azúcares con respecto al isobutanol. Por lo tanto, sólo pueden ocurrir en medios complejos, mediante la reacción simultánea de co-sustratos, mediante la formación de productos secundarios o bajo condiciones aerobias. Esto limita fuertemente la viabilidad de los procedimientos o bien les hace industrialmente no atractivos.

20 En Villa K. D. et al. (J. Am. Soc. Brew. Chem. 53(2): 49-53, 1995) se describe la amplificación del gen *ILV3* o del gen *ILV5* o de ambos genes en común en levaduras de cerveza, llevándose a cabo la amplificación mediante la transmisión de un plásmido, que es de origen bacteriano y en el que se clonaron el gen *ILV3* o el gen *ILV5* o ambos genes en común. Además, se describe una célula de levadura, en la que los genes *ILV3* o *ILV5* o ambos genes en común están sobre-expresados. Con ello, en la célula de levadura se ha de aumentar el flujo metabólico de sustancias a través de la vía de biosíntesis de isoleucina-valina, con el fin de reducir la producción de dicetonas vecinales y compuestos precursores de las mismas.

25 Una salida sería el desarrollo de un proceso microbiano fermentativo que podría ocurrir en medios mínimos, sin co-sustratos y también bajo condiciones anaerobias o limitadas en oxígeno. Para ello, se ofrecerían como microorganismos, en particular, levaduras y en este caso, en particular, aquellas del género *Saccharomyces* tales como, p. ej., *Saccharomyces cerevisiae*. De manera interesante, las levaduras poseen ya todas las enzimas que son necesarias para la formación de isobutanol a partir de azúcares. No obstante, estas enzimas están localizadas en diferentes compartimientos de las células de levadura (citósol y mitocondrias), utilizan diferentes co-factores que no pueden ser transferidos uno en otro o no de forma efectiva (NAD^+/NADH y $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$), y las enzimas son expresadas sólo débilmente o bajo condiciones especiales o bien poseen una actividad enzimática baja. Con el fin de alcanzar una producción efectiva de isobutanol a partir de azúcares, las presentes vías de metabolismo deberían modificarse de manera que con su ayuda pudiera producirse isobutanol de manera neutra en cuanto a redox y con recuperación de energía en forma de ATP, y esto también bajo condiciones anaerobias o limitadas en oxígeno. El desarrollo de una vía fermentativa de este tipo para la producción de isobutanol a partir de azúcares es misión y objetivo de esta invención.

40 Azúcares tales como, p. ej., glucosa, son degradados en células huésped tales como, p. ej., levaduras, preferentemente mediante la vía metabólica de la glicólisis para formar piruvato. En este caso, a partir de una molécula de glucosa se forman dos moléculas de piruvato. Adicionalmente, en este caso resultan dos compuestos ricos en energía en forma de ATP, y se reducen dos moléculas de NAD^+ en $\text{NADH}+\text{H}^+$. El piruvato se transforma entonces normalmente mediante las piruvato descarboxilasas y alcohol deshidrogenasas en etanol o es transportado a las mitocondrias y allí es transformado por la piruvato deshidrogenasa en acetil-CoA y, en última instancia, es inyectado en el ciclo del ácido cítrico. El piruvato puede hacerse reaccionar, además de ello, también todavía en algunas otras reacciones. Una de estas vías de reacción es la vía de la biosíntesis para formar el aminoácido valina. Por otra parte, valina puede ser, sin embargo, también degradada, a saber, entre otros, para formar el producto isobutanol. Si se consiguiera entonces cortocircuitar la vía de la biosíntesis y la vía de la degradación de la valina, entonces se podría producir isobutanol directamente a partir de azúcares a través del piruvato. Una vía metabólica de este tipo combina las enzimas que participan en la biosíntesis de valina (de piruvato a α -cetoisovalerato) con las que participan en la degradación de valina (de α -cetoisovalerato para formar isobutanol). La levadura *Saccharomyces cerevisiae* posee por sí misma todos los genes necesarios para ello. En este caso, *ILV2* (*YMR108W*) (SEQ. ID. No. 1) codifica la acetolactato sintasa, la cual transforma dos moléculas piruvato en acetolactato. La enzima *Ilv2* (SEQ. ID. No. 2) es activada por la proteína *Ilv6* (= *YCL009C*) (SEQ. ID. No. 4). *ILV5* (*YLR355C*) (SEQ. ID. No. 5) codifica el acetohidroxiácido reductoisomerasa la cual hace reaccionar acetolactato para dar 2,3-dihidroxiisovalerato. *ILV3* (*YJR016C*) (SEQ. ID. No.7) codifica la dihidroxiácido deshidratasa, la cual hace reaccionar 2,3-dihidroxiisovalerato para dar 2-cetoisovalerato. 2-cetoisovalerato se transamina entonces normalmente para formar valina mediante las transaminasas *Bat1* (SEQ. ID. No. 10) y *Bat2* (SEQ. ID. No. 12). Si se evita o reduce esta reacción, entonces 2-cetoisovalerato también podría hacerse reaccionar mediante diferentes 2-cetoácido descarboxilasas para formar isobutiraldehído, p. ej., mediante las enzimas *Pdc1* (SEQ. ID. No. 14), *Pdc5*

(SEQ. ID. No. 16), Pdc6 (SEQ. ID. No. 18), Aro10 (SEQ. ID. No. 20), Thi3 (SEQ. ID. No. 22) (Dickinson et al., 1998; 2003). Esta transformación directa se impide normalmente, entre otros, mediante la diferente compartimentación de las enzimas (mitocondrias, citosol). Isobutiraldehído puede entonces reducirse finalmente en el isobutanol mediante diferentes alcohol deshidrogenasas (Dickinson et al., 2003). A ellas perteneces, entre otras, Adh 1-7 (SEQ. ID. No. 24), (SEQ. ID. No. 26), (SEQ. ID. No. 28), (SEQ. ID. No. 30), (SEQ. ID. No. 32), (SEQ. ID. No. 34), (SEQ. ID. No. 36), Sfa 1 (SEQ. ID. No. 38), Ypr1 (SEQ. ID. No. 40).

La mayoría de las enzimas mencionadas no se expresan lo suficientemente de manera intensa o bien presentan bajas actividades enzimáticas, sin embargo, para una producción eficiente de isobutanol a partir de piruvato o bien azúcares. Otro problema es la especificidad del co-factor y el balance redox. En el caso de la reducción de las dos moléculas procedentes de la glicolisis piruvato en isobutanol se requieren una molécula de NADPH del acetohidroxiácido reductoisomerasa y una molécula de NADH o NADPH de las alcohol deshidrogenasas de cadena ramificada. Sin embargo, en la glicolisis, a partir de una molécula de glucosa se producen dos moléculas de NADH en la reacción de gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. Por lo tanto, existe un déficit de NADPH y un exceso de NADH. Sin embargo, NADH no se puede transformar sin más en NADPH. Por otra parte, las enzimas Ilv2/Ilv6, Ilv5 (SEQ. ID. No. 6) e Ilv3 (SEQ. ID. No. 8) se encuentran, al menos principalmente en las mitocondrias de las células de levadura. Por lo tanto, primeramente debe transportarse el piruvato a las mitocondrias y, en última instancia, el 2-cetoisovalerato debe retirarse de las mitocondrias al citosol. Dado que el transporte a través de membranas puede actuar a menudo de forma limitante sobre los flujos de sustancias, sería por lo tanto deseable, trasladar todas las reacciones al citosol. Asimismo desventajoso para una producción eficiente de isobutanol es que algunos compuestos intermedios son separados en la vía del azúcar para formar el producto para otras reacciones metabólicas. Esto es válido, ante todo, para el piruvato que en una gran parte es transformado en etanol mediante las piruvato descarboxilasas y alcohol deshidrogenasas. Por lo tanto, para una producción más eficiente de isobutanol es importante reducir o bien excluir por completo estas reacciones secundarias. Misión y objetivo de esta invención es, por lo tanto, proporcionar una vía fermentativa para la producción de isobutanol a partir de azúcares, en la que (i) se utilice la propia dotación de la enzima de las levaduras para la vía metabólica de piruvato para formar isobutanol, aumentando su expresión o bien actividades, es decir, sin que tengan que introducirse genes heterólogos en la levadura, (ii)a) la especificidad del co-factor de la acetilhidroxiácido reductoisomerasa se modifica de manera que esta enzima utiliza preferentemente NADH en lugar de NADPH como co-factor, o (ii)b) la especificidad del co-factor de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa se modifica de manera que esta enzima utiliza preferiblemente NADP^+ en lugar de NAD^+ como co-factor o bien se expresa en las células de levadura una NADP-gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa heteróloga, (iii) se minimiza la formación de productos secundarios tales como, p. ej., etanol y (iv) en la que en la medida de lo posible todas las enzimas participantes estén localizadas en el citosol de las células de levadura.

El problema se resuelve, de acuerdo con la invención, mediante la sobre-expresión de las actividades enzimáticas de Ilv2 con o sin su activador Ilv6, Ilv5, Ilv3, al menos de una 2-cetoácido descarboxilasa tal como, p. ej., Aro10 y al menos una alcohol deshidrogenasa que también puede reducir isobutiraldehído (preferiblemente Adh1 o Adh6, pero también Adh2-5, Sfa1, Ypr1 u otras). Esto sucede, por una parte, mediante el intercambio de los respectivos promotores de los correspondientes genes frente a promotores más fuertes, de preferencia, pero no exclusivamente, promotores constitutivos. Preferiblemente, pero no de forma exclusiva, son secuencias de promotores elegidas de HXT7, HXT7 acortada, PFK1, FBA1, TPI1, PGK1, PMA1, ADH1, TDH3. Además, las correspondientes secuencias de ácidos nucleicos de los genes se transforman en alelos optimizados en codones. Cada uno de los aminoácidos es codificado en el plano del gen por un codón. Sin embargo, para la mayoría de los aminoácidos existen varios codones diferentes que codifican un aminoácido individual. Por consiguiente, el código genético está degenerado. La elección preferida del codón para un aminoácido correspondiente es diferente de un organismo a otro. Así, en el caso de genes expresados de forma heteróloga pueden producirse problemas cuando el organismo huésped o bien la célula huésped presenta un uso de codones muy diferente. El gen no puede ser expresado en absoluto o sólo de forma lenta. Sin embargo, también en genes de diferentes proteínas y vías metabólicas dentro de una célula se puede comprobar un uso distinto del codón. De los genes de glicolisis de *S. cerevisiae* se conoce que son expresados intensamente. Presentan un uso del codón fuertemente restrictivo que corresponde aproximadamente a las relaciones cuantitativas de los correspondientes ARNts. La adaptación del uso del codón de los genes *ILV2*, (*ILV6*) (SEQ. ID. No. 3), *ILV5*, *ILV3* de uno de los genes 2-cetoácido descarboxilasa arriba mencionados y uno de los genes alcohol deshidrogenasa arriba mencionados en el uso del codón preferido de *S. cerevisiae* conduce a una mejora de la tasa de formación de isobutanol en levaduras. El uso preferido del codón puede definirse tal como se describe en Wiedemann y Boles (2008) para los genes glicolíticos, pero no debe estar necesariamente limitado a estos ejemplos. Los genes sobre-expresados, posiblemente optimizados en codones, pueden incorporarse en las células de levadura clonados en plásmidos, pueden integrarse en el genoma de las células de levadura o pueden reemplazar genómicamente a los alelos que se presentan de forma natural.

La presente invención se refiere, por lo tanto, en una primera forma de realización, a una célula de levadura que produce isobutanol, caracterizada porque la célula presenta un flujo de sustancias metabólico incrementado de piruvato a través de acetolactato, 2,3-dihidroxiisovalerato, 2-cetoisovalerato, isobutiraldehído para formar isobutanol, en donde todos los genes que codifican las enzimas que participan en esta reacción están sobre-expresados, y

5 porque estos genes son homólogos a dicha célula de levadura, en donde *Ilv2* cataliza la reacción de acetolactato sintasa de piruvato para formar acetolactato, *ilv5* cataliza la reacción de acetohidroxiácido reductoisomerasa de acetolactato para formar 2,3-dihidroxiisovalerato, *Ilv3* cataliza la reacción de dihidroxiácido deshidratasa de 2,3-dihidroxiisovalerato para formar 2-cetoisovalerato, una 2-cetoácido descarboxilasa cataliza la reacción de 2-cetoisovalerato para formar isobutiraldehído y una alcohol deshidrogenasa cataliza la reacción de isobutiraldehído para formar isobutanol, en donde al menos uno de los promotores de estos genes es intercambiado por al menos un promotor más fuerte, o las secuencias de ácidos nucleicos de estos genes son transformadas en alelos optimizados en codones, caracterizada por que se sobre-expresan los genes *ILV2*, *ILV5* e *ILV3* sin la secuencia diana mitocondrial de las enzimas acetolactato sintasa, acetohidroxiácido reductoisomerasa y dihidroxiácido deshidratasa o se sobre-expresan con una secuencia diana mitocondrial destruida e inactivada, y caracterizada porque, adicionalmente, se reduce o bien se suprime la expresión de los genes *PCD1* con SEQ. ID. No. 13, *PDC5* con SEQ. ID. No. 15 y *PDC6* con SEQ. ID. No. 17 o bien la actividad de las enzimas codificadas.

En una forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque el al menos un promotor más fuerte es un promotor constitutivo.

15 En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque el al menos un promotor más fuerte es un promotor consistente HXT7, HXT7 acortada, PFK1, FBA1, TPI1, PGK1, PMA1, ADH1 y TDH3.

En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque la 2-cetoácido descarboxilasa se elige de al menos una de las enzimas Aro10 o Thi3.

20 En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza por que la alcohol deshidrogenasa se elige de al menos una de las enzimas Adh1 con SEQ: ID. No. 24, Adh2 con SEQ: ID. No. 26, Adh3 con SEQ: ID. No.28, Adh3 con SEQ: ID. No.30, Adh5 con SEQ: ID. No. 32, Adh6 con SEQ: ID. No. 34, Adh7 con SEQ: ID. No.36, Sfa1 con SEQ: ID. No. 38 o Ypr1 con SEQ: ID. No. 40.

25 En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque todos estos genes son sobre-expresados en variantes optimizadas en codones.

En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque se sobre-expresan todos estos genes en variantes optimizadas en codones, estando orientada la optimización en codones en el uso de codones de los genes de glicolisis altamente expresados de la levadura.

30 En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque la célula expresa una acetohidroxiácido reductoisomerasa que presenta una especificidad elevada para NADH con respecto a NADPH.

En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque esta acetohidroxiácido reductoisomerasa que prefiere NADH es una variante mutada de la enzima *Ilv5* de la levadura.

35 En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque se sobre-expresan al mismo tiempo una alcohol deshidrogenasa que prefiere NADH de la levadura que transforma isobutiraldehído en isobutanol.

En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque la célula expresa adicionalmente una glicerinaldehído-3-fosfato deshidrogenasa fosforilante que presenta una especificidad incrementada para NADP^+ frente a NAD^+ .

40 En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque esta glicerinaldehído-3-fosfato deshidrogenasa que prefiere NADP es heteróloga con respecto a la célula de levadura.

45 En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque esta NADP-glicerinaldehído-3-fosfato deshidrogenasa es codificada por alelos mutados de uno, dos o de los tres genes *THD1-3* (SEQ. ID. No. 41), (SEQ. ID. No. 43), (SEQ. ID. No. 45) de la levadura. En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque esta NADP-glicerinaldehído-3-fosfato deshidrogenasa se expresa en una célula de levadura que no presenta o presenta una expresión o actividad reducida de la NAD-glicerinaldehído-3-fosfato deshidrogenasa.

50 En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque al mismo tiempo se sobre-expresa un alcohol deshidrogenasa que prefiere NADPH, que transforma isobutiraldehído en isobutanol.

En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque se sobre-expresa adicionalmente la proteína *Ilv6* en el mismo compartimiento de la célula que *Ilv2*.

En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque mutaciones adicionales aumentan la producción de isobutanol. En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque mutaciones adicionales aumentan la resistencia frente a concentraciones tóxicas de isobutanol.

- 5 En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque la célula se elige del siguiente grupo: *Pichia*, *Candida*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Yarrowia* y *Saccharomyces*.

En otra forma de realización preferida, la célula de levadura de acuerdo con la invención se caracteriza porque la célula huésped es *Saccharomyces cerevisiae*.

10 En otra forma de realización preferida de la invención (véase la Fig. 1), la enzima Ilv5 (acetohidroxiácido reductoisomerasa) se modifica de manera que utiliza preferiblemente NADH en lugar de NADPH como co-factor. Al mismo tiempo, se prefiere, pero no necesariamente, sobre-expresar una alcohol deshidrogenasa que también utilice NADH como co-factor (p. ej., Adh1 o Adh2-5 o Sfa1). Ilv5 cataliza la reducción de acetolactato en 2,3-dihidroxiisovalerato, con oxidación simultánea de NADPH+H⁺ en NADP⁺. Mediante la degradación glicolítica de azúcares no se forma, sin embargo, o sólo lo hace en pequeñas cantidades NADPH. Sin embargo, se forma NADH.

15 Sin embargo, NADH no se puede transformar sin más en NADPH (Boles et al., 1993). Por lo tanto, sería deseable modificar la especificidad del co-factor de la acetohidroxiácido reductoisomerasa de manera que esta enzima prefiera NADH en lugar de NADPH. Esto puede alcanzarse reemplazando determinados aminoácidos de Ilv5 que se requieren para el uso exclusivo de NADPH, por otros que permitan también o que prefieran un uso de NADH. Aminoácidos de este tipo son preferiblemente, pero no de forma exclusiva, los aminoácidos Arg108, Gly111, Ala112 y/o Ser113 de la enzima precursora no procesada que se puede derivar mediante una comparación de la enzima Ilv5 de levadura con la estructura de la acetohidroxiácido reductoisomerasa de la espinaca (Biou et al., 1997). Arg108 puede transformarse en este caso, preferiblemente pero no de forma exclusiva, en Met, Trp, Phe, Glu o Asp, Gly111 preferiblemente, pero no de forma exclusiva, en Glu o Asp, Ala112 preferiblemente, pero no de forma exclusiva, en Ser o Gly y Ser113 preferiblemente, pero no de forma exclusiva, en Glu o Asp. Sin embargo, no se ha

20 de excluir que también el intercambio de aminoácidos adicionales u otros aminoácidos conduzcan a una modificación de la especificidad del co-factor de Ilv5 en favor de NADH.

En otra forma de realización posible de la invención (véase la Fig. 2), la glicerinaldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) de la levadura se modifica de modo que prefiera NADP⁺ en lugar de NAD⁺, o sea reemplazada o bien completada por una glicerinaldehído-3-fosfato deshidrogenasa que prefiera NADP⁺ frente a NAD⁺. Al mismo tiempo,

30 se prefiere, pero no necesariamente, sobre-expresar una alcohol deshidrogenasa que prefiera NADPH como co-factor (p. ej., Adh6 o Ypr1). GAPDH es codificado, p. ej., en *S. cerevisiae*, por los genes *IDH1* (SEQ. ID. No. 41), *TDH2* (SEQ. ID. No. 43) y *TDH3* (SEQ. ID. No. 45) y cataliza la oxidación de glicerinaldehído-3-fosfato con la fosforilación simultánea para dar 1,3-difosfoglicerato. En el caso de la degradación glicolítica de azúcares se utiliza en este caso normalmente NAD⁺ como co-factor y se forma NADH+H⁺. NADH no se puede transformar sin más en NADPH (Boles et al., 1993). Dado que, sin embargo, la acetohidroxiácido reductoisomerasa NADPH se utiliza como co-factor, sería deseable modificar la especificidad del co-factor de la GAPDH de manera que esta enzima prefiera NADP⁺ en lugar de NAD⁺. Una modificación de la especificidad del co-factor de la GAPDH de levadura puede alcanzarse reemplazando determinados aminoácidos de Tdh1 (SEQ. ID. No. 42), Tdh2 (SEQ. ID. No. 44) y/o Tdh3 (SEQ. ID. No. 46), que se requieren para el uso exclusivo de NAD⁺ por otros que también permitan o prefieran un uso de NADP⁺. Aminoácidos de este tipo son preferiblemente, pero no de forma exclusiva, los aminoácidos Asp33 y/o Gly188-Pro189 que se pueden derivar mediante una comparación de las enzimas GAPDH de levadura con la estructura de GAPDH que prefiere NADP⁺ (Fillinger et al., 2000). Asp33 puede en este caso preferiblemente, pero no de forma exclusiva, transformarse en Asn, Gly, Ala o Ser, Gly188-Pro189 preferiblemente, pero no de forma exclusiva, en Ala-Ser, Val-Arg, Asn-Pro o Thr-Lys. Sin embargo, no se excluye que también el intercambio de

40 aminoácidos adicionales u otros aminoácidos conduzca a una modificación de la especificidad del co-factor de Tdh1-3 en favor de NADP⁺. Alternativamente una GAPDH heteróloga podría ser sobre-expresada en levaduras que utilizan preferiblemente NADP⁺, p. ej., pero no exclusivamente Gdp1 (SEQ. ID. No. 48), de *Kluyveromyces lactis* (Verho et al., 2002) o GapB (SEQ. ID. No. 50) de *Bacillus subtilis* (Fillinger et al., 2000). La NADP-GAPDH puede sobre-expresarse de forma optimizada en codones en una forma de realización preferida. Las NADP-GAPDHs mutadas o heterólogas pueden expresarse en este caso adicionalmente a las NAD-GAPDHs presentes o, en una realización preferida, en mutantes de levaduras con la expresión o actividad de NAD-GAPDH reducida o suprimida.

Proteínas que son transportadas a la matriz mitocondrial se sintetizan como proteínas precursoras en el citosol y luego son transportadas a través de translocasas a la matriz mitocondrial. La pre-secuencias N-terminales son disociadas por una peptidasa mitocondrial durante la translocación. En el marco de la invención, se sobre-expresan los genes *ILV2*, (*ILV6*), *ILV5* o bien *ILV5*^(NADHmut.) e *ILV3* sin la secuencia diana mitocondrial de las proteínas correspondientes o con una secuencia diana mitocondrial destruida e inactivada, de modo que las proteínas producidas se localizan preferiblemente en el citosol de las células de levadura (Pang y Duggleby, 1999; Omura, 2008). Esto puede suceder con los alelos naturales u optimizados en codones.

El piruvato puede hacerse reaccionar ulteriormente en diferentes vías de reacción. La vía de reacción cuantitativamente más potente es su reacción para formar etanol. En este caso, el piruvato es descarboxilado por piruvato descarboxilasas (Pdc) para formar acetaldehído y es hecho reaccionar adicionalmente para formar etanol. En este caso, el piruvato se pierde para la producción de isobutanol. En una forma de realización preferida de la invención, pero no necesariamente, se bloquea o bien reduce, por lo tanto, el flujo del piruvato para formar etanol mediante la desconexión o bien reducción de la expresión o las actividades de piruvato descarboxilasa. Esto sucede, p. ej., mediante delección o bien reducción de la expresión de los genes *PDC1*, *PDC5* y/o *PDC6*. Dado que, sin embargo, la levadura necesita la acetil-CoA producida a partir de acetaldehído en el citosol, ésta ha de proporcionarse adicionalmente en el caso de una desconexión completa de las piruvato descarboxilasas. Esto sucede (i) mediante una desconexión no completa de la expresión o actividad de las piruvato descarboxilasas, (ii) mediante la expresión de una piruvato-formiato-licasa heteróloga con su enzima activante, incluida la sobre-expresión de una formiato deshidrogenasa, (iii) mediante la expresión heteróloga de un soporte de carnitina mitocondrial reversible o (iv) mediante la introducción de mutaciones espontáneas de supresores. Además de ello, se mantiene la reducción o desconexión de otras reacciones metabólicas, con el fin de potenciar el flujo de los metabolitos intermedios para formar isobutanol.

Además, la producción de isobutanol así como la resistencia frente a concentraciones tóxicas de isobutanol en las células de levadura recombinantes puede aumentarse todavía mediante mutagénesis al azar o los métodos de "Evolutionary Engineerings" o de la "Directed Evolution" (Sauer, 2001).

La presente invención se refiere, además, a un procedimiento para la producción de isobutanol con células de levadura, que comprende proporcionar una célula de levadura tal como se define precedentemente, así como la puesta en contacto de la célula de levadura con una fuente de carbono fermentable.

En una forma de realización preferida, el procedimiento de acuerdo con la invención se caracteriza porque la fuente de carbono fermentable es una fuente de carbono C3 – C6.

En otra forma de realización preferida, el procedimiento de acuerdo con la invención se caracteriza porque la fuente de carbono pertenece al grupo consistente en monosacáridos, oligosacáridos o polisacáridos.

En otra forma de realización preferida, el procedimiento de acuerdo con la invención se caracteriza porque la fuente de carbono pertenece al grupo consistente en glucosa, fructosa, manosa, galactosa, sacarosa, maltosa, xilosa o arabinosa.

En otra forma de realización preferida, el procedimiento de acuerdo con la invención se caracteriza porque la célula huésped se pone en contacto con la fuente de carbono en el medio de cultivo.

Métodos

1. Cepas y medios

1.1 Bacterias

- *E. coli* SURE (Stratagene)
- 35 - *E. coli* DH5α (Stratagene)

Medio completo LB triptófano 1%, extracto de levadura 0,5%, NaCl 0,5%, pH 7,5 (véase Maniatis, 1982). Para la selección a una resistencia a antibióticos codificada por plásmidos al medio se añadieron después de someterlo a autoclave 40 µg/ml de ampicilina. Medios nutricios sólidos contenían adicionalmente 2% de agar. El cultivo tuvo lugar a 37°C.

40 1.2 Levaduras

Cepas de la serie CEN.PK, cepas industriales

- medio selectivo completo sintético SC:
0,67% de base nitrogenada de levaduras sin aminoácidos, pH 6,3, disolución de aminoácido/nucleobase, fuente de carbono en la concentración en cada caso indicada
- 45 - medio selectivo mínimo sintético SM:
0,16% de base nitrogenada de levadura sin aminoácidos y sulfato de amonio, sulfato de amonio 0,5%, dihidrógeno-fosfato de potasio 20 mM, pH 6,3, fuente de carbono en la concentración en cada caso indicada
- medio de fermentación sintético (medio mineral) SFM: (Verduyn *et al.*, 1992), pH 5,5

Sales: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 5 g/l; KH_2PO_4 , 3 g/l; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g/l

Oligoelementos: EDTA, 15 mg/l; $\text{ZnSO}_4 \cdot 4,5$ mg/l; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,1 mg/l; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,3 mg/l; CuSO_4 , 0,192 mg/l; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,4 mg/l; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 4,5 mg/l; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3 mg/l; H_3BO_3 , 1 mg/l; KI, 0,1 mg/l

5 Vitaminas: biotina, 0,05 mg/l; ácido p-aminobenzoico, 0,2 mg/l; ácido nicotínico, 1 mg/l; pantotenato de calcio 1 mg/l; piridoxina-HCl, 1 mg/l; tiamina-HCl, 1 mg/l; inositol 25 mg/l

Concentración de los aminoácidos y nucleobases en el medio completo sintético (según Zimmermann, 1975): adenina (0,08 mM), arginina (0,22 mM), histidina (0,25 mM), isoleucina (0,44 mM), leucina (0,44 mM), lisina (0,35 mM), metionina (0,26 mM), fenilalanina (0,29 mM), triptófano (0,19 mM), treonina (0,48 mM), tirosina (0,34 mM), uracilo (0,44 mM), valina (0,49 mM). Como fuente de carbono se emplearon L-arabinosa y D-glucosa.

10 Medios completos y selectivos sólidos contenían, adicionalmente, 1,8% de agar. El cultivo de las células de levadura tuvo lugar a 30°C. El medio mineral sintético empleado para las fermentaciones contenía sales, metales traza y vitaminas en las concentraciones arriba enumeradas y L-arabinosa como fuente de carbono. De los metales traza y de las vitaminas se empleó una disolución patrón. Ambas disoluciones se filtraron en condiciones estériles. Ambas se almacenaron a 4°C. Para la preparación de la disolución de metales traza, el valor del pH jugaba un papel decisivo. Los distintos oligoelementos debieron ser disueltos por completo en agua sucesivamente en la secuencia anterior. Después de cada una de las adiciones, el valor del pH tuvo que ajustarse con KOH a 6,0 antes de poder añadir el oligoelemento siguiente. Al final, el valor del pH se ajustó con HCl a 4,0. Con el fin de evitar la formación de espuma, se añadieron al medio 200 µl de agente antiespumante (Antifoam 2004, Sigma). Dado que los ensayos se llevaron a cabo bajo condiciones anaerobias, hubieron de añadirse al medio, después de someterlo a autoclave, todavía 2,5 ml/l de una disolución de Tween80-ergosterol. Ésta se compone de 16,8 g de Tween80 y 0,4 g de ergosterol que se completa con etanol hasta 50 ml, y se disolvieron en la misma. La disolución se filtró en condiciones estériles. Las sales y el agente antiespumante se sometieron a autoclave conjuntamente con el fermentador completo. La arabinosa se sometió a autoclave separadamente del medio restante. Después del enfriamiento del medio, se agregaron los oligoelementos así como las vitaminas.

25 2. Transformación

2.1 Transformación de *E. coli*

La transformación de las células de *E. coli* tuvo lugar mediante el método de electroporación según Dower et al. (1988) y Wirth (1993) mediante un aparato Easyject prima (EQUIBO).

2.2 Transformación de *S. cerevisiae*

30 La transformación de cepas de *S. cerevisiae* con ADN de plásmido o bien fragmentos de ADN tuvo lugar según el método de acetato de litio de Gietz y Woods (1994).

3. Preparación de ADN

3.1 Aislamiento de ADN del plásmido de *E. coli*

35 El aislamiento de ADN del plásmido de *E. coli* tuvo lugar según el método de la lisis alcalina de Birboim y Doly (1979) modificado según Maniatis et al. (1982) o, alternativamente, con el kit "QIAprep Spin Miniprep Kit" de la razón social Qiagen. ADN de plásmido muy puro para las secuenciaciones se preparó con el kit "Plasmid Mini Kit" de la razón social Qiagen según los datos del fabricante.

3.2 Aislamiento de ADN del plásmido de *S. cerevisiae*

40 Las células de un cultivo de levadura estacionario (5 ml) se cultivaron mediante centrifugación, se lavaron y se resuspendieron en 400 µl de tampón P1 (Plasmid Mini Kit, razón social Qiagen). Después de la adición de 400 µl de tampón P2 y 2/3 volumen de perlas de vidrio (Ø 0,45 mm) tuvo lugar la disgregación de la célula mediante sacudimiento durante 5 minutos en un aparato Vibrax (Vibrax-VXR de Janke & Kunkel o IKA). El sobrenadante se mezcló con 1/2 de volumen de tampón P3, se mezcló y se incubó en hielo durante 10 min. Después de una centrifugación durante 10 minutos a 13000 rpm, mediante la adición de 0,75 ml de isopropanol al sobrenadante se precipitó el ADN del plásmido a temperatura ambiente. El ADN sedimentado mediante centrifugación durante 30 min a 13000 rpm se lavó con etanol al 70%, se secó y se resuspendió en 20 µl de agua. 1 µl del ADN se empleó para la transformación en *E. coli*.

3.3 Determinación de la concentración de ADN

50 La concentración de ADN se midió por fotometría espectral en un intervalo de longitudes de onda de 240-300 nm. Si la pureza del ADN, determinada mediante el cociente $E_{260 \text{ nm}}/E_{280 \text{ nm}}$, se encuentra en 1,8, entonces la extinción $E_{280} = 1,0$ corresponde a una concentración de ADN de 50 µg de ADNs/ml (Maniatis et al., 1982).

3.4 Amplificación de ADN mediante PCR

Uso del sistema Phusion™ High Fidelity

5 La reacción en cadena de la polimerasa tuvo lugar en un volumen total de 50 µl con el sistema “Phusion™ High Fidelity PCR System” de la razón social Finnzymes según los datos del fabricante. Cada una de las tandas consistía en 1-10 ng de ADN o 1-2 colonias de levadura como carga previa de síntesis, mezcla de dNTP 0,2 mM, 1x tampón 2 (contiene MgCl₂ 1,5 mM), 1 U de polimerasa y en cada caso 100 pmol del cebador de oligonucleótidos correspondiente. La reacción PCR se llevó a cabo en un termociclador de la razón social Techne y las condiciones de PCR se eligieron, según demanda, como sigue:

	1 x	30 s, 98°C	desnaturalización del ADN
10	2 30x	10 s, 98°C	desnaturalización del ADN
		30 s, 56-62°C	reasociación/unión de los oligonucleótidos al ADN
		0,5-1 min, 72°C	síntesis/elongación del ADN
	3 1x	7 min, 72°C	síntesis/elongación del ADN

15 Después de la primera etapa de desnaturalización, se añadió la polimerasa (“hot start PCR”). El número de las etapas de síntesis, la temperatura de reasociación y el tiempo de elongación se adaptaron a las temperaturas de fusión específicas de los oligonucleótidos utilizados o bien al tamaño del producto esperado. Los productos de la PCR se examinaron mediante electroforesis en gel de agarosa y a continuación se purificaron.

3.5 Purificación de ADN de productos de la PCR

20 La purificación de los productos de la PCR tuvo lugar con el kit “QIAquick PCR Purification Kit” de la razón social Qiagen según los datos del fabricante.

3.6 Separación por electroforesis en gel de fragmentos de ADN

25 La separación de fragmentos de ADN con un tamaño de 0,15-20 kb tuvo lugar en geles de agarosa al 0,5-1% con 0,5 µg/ml de bromuro de etidio. Como tampón de gel y de elución se utilizó tampón 1xTAE (Tris 40 mM, ácido acético 40 mM, EDTA 2 mM) (Maniatis et al., 1982). Como patrón de magnitud servía un ADN de fagos lambda cortado con las endonucleasas de restricción EcoRI y HindIII. Las muestras de ADN se mezclaron antes de la aplicación con 1/10 de volumen de marcador azul (tampón 1xTAE, 10% de glicerol, 0,004% de azul bromofenol) y después de la separación se visualizó mediante radiación con luz UV (254 nm).

3.7 Aislamiento de fragmentos de ADN a partir de geles de agarosa

30 El fragmento de ADN deseado se cortó a partir del gel de TAE-agarosa bajo luz UV de onda larga (366 nm) y se aisló con el kit “QIAquick Gel Extraction Kit” de la razón social Qiagen según los datos del fabricante.

4. Modificación enzimática de ADN

4.1 Restricción de ADN

La disociación específica para la secuencia del ADN con endonucleasas de restricción se llevó a cabo bajo las condiciones de incubación aconsejadas por el fabricante durante 1 hora con 2-5 U de enzima por µg de ADN.

35 Otros vectores de expresión posibles son los de la serie pRS303X, p3RS305X y p3RS306X. En este caso, se trata de vectores integrativos que poseen un marcador de antibióticos dominante. Datos más precisos con respecto a estos vectores se encuentran en Taxis y Knop (2006).

5. Clonación de fragmentos de ADN mediante recombinación in vivo

40 Para un clonación *in vivo* de fragmentos de ADN en *S. cerevisiae* se sintetizó primeramente el gen o bien la secuencia de ADN correspondiente mediante una reacción PCR. Los oligonucleótidos empleados en este caso contenían en cada caso en la zona 5', colgantes específicos que comprendían 36-39 nucleótidos que son homólogos a las secuencias flanqueantes 5' o bien 3' de la zona de integración en el vector diana. En la zona 3', los oligonucleótidos contienen 20-22 bases con homología con respecto a los extremos 3' o bien 5' del gen a amplificar. El producto de la PCR resultante se transformó en levadura junto con el vector linealizado mediante restricción en la zona de integración y purificado. Las células se sembraron en medio selectivo sintético del que faltaba el correspondiente aminoácido o bien base de nucleótidos para la selección al marcador de auxotrofia del vector. De este modo, se obtuvieron sólo aquellos transformantes que, en virtud de una recombinación más homóloga del

fragmento de ADN, habían formado de nuevo en el vector linealizado un plásmido estable y circular. Los plásmidos se aislaron, se amplificaron en *E. coli* y se examinaron mediante subsiguiente análisis de restricción o mediante secuenciación.

6. Intercambio de integración en ADN genómico

5 Éste se llevó a cabo tal como se describe en Becker y Boles (2003) y Wiczorke et al. (1999).

Bibliografía:

Atsumi S, Hanai T y Liao JC (2008) Non-fermentative pathway for synthesis of branched-chain higher alcohols as biofuels. *Nature* 451, 86-90.

Bailey JE (1993) Host-vector interactions in *Escherichia coli*. *Adv. Biochem Eng.* 48, 29-52

10 Becker J, Boles E (2003) A modified *Saccharomyces cerevisiae* strain that consumes L-Arabinose and produces ethanol. *Appl Environ Microbiol.* 69, 4144-4150.

Biou V, Dumas R, Cohen-Addad C, Douce R, Job D y Pebay-Peyroula E (1997) The crystal structure of plant acetohydroxy acid isomeroreductase complexed with NADPH, two magnesium ions and a herbicidal transition state analog determined at 1.65 Å resolution. *EMBO J.* 16, 3405-3415.

15 Birnboim HC, Doly J (1979) A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucl. Acids Res.* 7, 1513-1523

Boles E, Lehnert W y Zimmermann FK (1993) The role of the NAD-dependent glutamate dehydrogenase in restoring growth on glucose of a *Saccharomyces cerevisiae* phosphoglucose isomerase mutant. *Eur. J. Biochem.* 217, 469-477.

20 Dickinson JR, Harrison SJ y Hewlins MJE (1998) An investigation of the metabolism of valine to isobutyl alcohol in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 273, 25751-25756.

Dickinson JR, Salgado LEJ y Hewlins MJE (2003) The catabolism of amino acids to long chain and complex alcohols in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 278, 8028-8034.

25 Dower WJ, Miller JF, Ragsdale CW (1988) High efficiency transformation of *E. coli* by high voltage electroporation. *Nucl. Acids Res.* 16, 6127-6145

Fillinger S, Boschi-Muller S, Azza S, Dervyn E, Branlant G y Aymerich S (2000) Two glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases with opposite physiological roles in a nonphotosynthetic bacterium. *J. Biol. Chem.* 275, 14031-14037.

30 Gietz RD, Woods RA (1994) High efficiency transformation in yeast. In: *Molecular Genetics of Yeast: Practical Approaches*, J.A. Johnston (Comp.). Oxford University Press págs. 121-134

Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J (1982) *Molecular cloning. A laboratory manual.* Cold Spring Harbor Laboratory, Nueva York.

Omura F (2008) Targeting of mitochondrial *Saccharomyces cerevisiae* Ilv5p to the cytosol and its effect on vicinal diketone formation in brewing. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (DOI 10.1007/s00253-007-1333-x)

35 Pang SS y Duggleby RG (1999) Expression, purification, characterization, and reconstitution of the large and small subunits of yeast acetohydroxyacid synthase. *Biochemistry* 38, 5222-5231

Solicitud de patente US 2007/0092957 A1 (Fermentive production of four carbon alcohols)

Sauer U (2001) Evolutionary engineering of industrially important microbial phenotypes. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 73, 129-169.

40 Taxis C, Knop M (2006) System of centromeric, episomal, and integrative vectors based on drug resistance markers for *Saccharomyces cerevisiae*. *BioTechniques* 40, No. 1

Verduyn C, Postma E, Scheffers WA, Van Dijken JP (1992) Effect of benzoic acid on metabolic fluxes in yeasts: a continuous-culture study on the regulation of respiration and alcoholic fermentation. *Yeast* 8, 501-17

45 Verho R, Richard P, Jonson PH, Sundqvist L, Londesborough J y Penttilä M (2002) Identification of the first fungal NADP-GAPDH from *Kluyveromyces lactis*. *Biochemistry* 41, 13833-13838.

Wieczorke R, Krampe S, Weierstall T, Freidel K, Hollenberg CP, Boles E (1999) Concurrent knock-out of at least 20 transporter genes is required to block uptake of hexoses in *Saccharomyces cerevisiae*. FEBS Lett 464, 123-128.

Wiedemann B und Boles E (2008), Codon-optimized bacterial genes improve L-arabinose fermentation in recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. Appl. Environ. Microbiol. 74, 2043-2050.

5 Wirth R (1993) Elektroporation: Eine alternative Methode zur Transformation von Bakterien mit Plasmid-DNA. Forum Mikrobiologie 11, 507-515.

Zimmermann FK (1975) Procedures used in the induction of mitotic recombination and mutation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Mutation Res. 31, 71-81.

Listado de secuencias

10

<110> BUTALCO GmbH

<120> Producción fermentativa de isobutanol con levaduras

15

<130> 33847-BUT-P-WO

<150> 10 2008 010 121.4

<151> 20.02.2008

20

<160> 50

<210> 1

<211> 2064

<212> ADN

25

<213> *Saccharomyces Cerevisiae*

<400> 1

```

atgatcagac aatctacgct aaaaaacttc gctattaagc gttgctttca acatatagca      60
taccgcaaca cacctgccat gagatcagta gctctcgcgc agcgctttta tagttcgtct      120
tcccgttatt acagtgcgtc tccattacca gcctctaaaa ggccagagcc tgctccaagt      180
ttcaatgttg atccattaga acagcccgct gaaccttcaa aattggctaa gaaactacgc      240
gctgagcctg acatggatac ctctttcgtc ggtttaactg gtggtcaaat atttaacgaa      300
atgatgtcca gacaaaacgt tgatactgta tttggttadc caggtggtgc tatcctacct      360
gtttacgatg ccattcataa cagtgataaa ttcaacttcg ttcttccaaa acacgaacaa      420
ggtgccggtc acatggcaga aggctacgcc agagcttctg gtaaaccagg tgtgtcttg      480
gttacttctg gggcaggtgc caccaatgct gttactccaa tggcagatgc ctttcagac      540
gggattccaa tggttgtctt tacagggcaa gtcccaacta gtgctatcgg tactgatgct      600
ttccaagagg ctgacgtcgt tggattttct agatcttgta cgaaatggaa tgcacatggtc      660
aagtccgtgg aagaattgcc attgctgatt aacgaggctt ttgaaattgc cacgagcgg      720
agaccgggac cagtcttggc cgatttacca aaggatgta cagcagctat cttagaagaat      780
ccaattccaa caaaaacaac tcttccatca aacgcactaa accaattaac cagtcgcgca      840
caagatgaat ttgtcatgca aagatcaat aaagcagcag atttgatcaa cttggcaaag      900
aaacctgtct tatacgtcgg tgctggtatt ttaaaccatg cagatggtcc aagattacta      960
aaagaattaa gtgaccgtgc tcaaatacct gtcaccacta ctttacaagg tttaggttca     1020
ttcgaccaag aagatccaaa atcattggat atgcttggtg tgcacggttg tgctactgcc     1080
aacctggcag tgcaaaatgc cgacttgata attgcagttg gtgctagatt cgacgaccgt     1140
gtcactggta atatttctaa attcgctcca gaagctcgtc gtgcagctgc cgagggtaga     1200
gggtgttata ttcatttcga ggttagtcca aaaaacataa acaaggttgt tcaactcaa     1260
atagcagtgg aaggtgatgc tacgaccaat ctgggcaaaa tgatgtcaaa gatcttccca     1320
gttaaggaga ggtctgaatg gtttgcctca ataataaat ggaagaagga ataccctac     1380

```

ES 2 613 539 T3

gcttatatgg aggagactcc aggatctaaa attaaaccac agacggttat aaagaaacta 1440
 tccaaggttg ccaacgacac aggaagacat gtcattgta caacgggtgt ggggcaacat 1500
 caaatgtggg ctgctcaaca ctggacatgg agaaatccac atactttcat cacatcaggt 1560
 ggtttaggta cgatgggta cggctccct gccgccatcg gtgctcaagt tgcaaagcca 1620
 gaatctttgg ttattgacat tgatggtgac gcatccttta acatgactct aacggaattg 1680
 agttctgccg ttcaagctgg tactccagtg aagattttga ttttgaacaa tgaagagcaa 1740
 ggtatggta ctcaatggca atccctgttc tacgaacatc gttattccca cacacatcaa 1800
 ttgaaccctg atttcataaa actagcggag gctatgggtt taaaaggttt aagagtcaag 1860
 aagcaagagg aattggacgc taagttgaaa gaattcgttt ctaccaaggg cccagttttg 1920
 cttgaagtgg aagttgataa aaaagtctct gttttgcaa tggtagcagg tgtagcgg 1980
 ctagcagagt tcataaattt tgaccagaa gttgaaagac aacagactga attacgtcat 2040
 aagcgtacag gcgtaagca ctga 2064

<210> 2
 <211> 687
 <212> PRT
 <213> Saccharomyces Cerevisiae

<400> 2

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

ES 2 613 539 T3

Met Ala Glu Gly Tyr Ala Arg Ala Ser Gly Lys Pro Gly Val Val Leu
 145 150 155 160

Val Thr Ser Gly Pro Gly Ala Thr Asn Val Val Thr Pro Met Ala Asp
 165 170 175

Ala Phe Ala Asp Gly Ile Pro Met Val Val Phe Thr Gly Gln Val Pro
 180 185 190

Thr Ser Ala Ile Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Ala Asp Val Val Gly
 195 200 205

Ile Ser Arg Ser Cys Thr Lys Trp Asn Val Met Val Lys Ser Val Glu
 210 215 220

Glu Leu Pro Leu Arg Ile Asn Glu Ala Phe Glu Ile Ala Thr Ser Gly
 225 230 235 240

Arg Pro Gly Pro Val Leu Val Asp Leu Pro Lys Asp Val Thr Ala Ala
 245 250 255

Ile Leu Arg Asn Pro Ile Pro Thr Lys Thr Thr Leu Pro Ser Asn Ala
 260 265 270

Leu Asn Gln Leu Thr Ser Arg Ala Gln Asp Glu Phe Val Met Gln Ser
 275 280 285

Ile Asn Lys Ala Ala Asp Leu Ile Asn Leu Ala Lys Lys Pro Val Leu
 290 295 300

Tyr Val Gly Ala Gly Ile Leu Asn His Ala Asp Gly Pro Arg Leu Leu
 305 310 315 320

Lys Glu Leu Ser Asp Arg Ala Gln Ile Pro Val Thr Thr Thr Leu Gln
 325 330 335

Gly Leu Gly Ser Phe Asp Gln Glu Asp Pro Lys Ser Leu Asp Met Leu
 340 345 350

Gly Met His Gly Cys Ala Thr Ala Asn Leu Ala Val Gln Asn Ala Asp
 355 360 365

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

Ile Ser Lys Phe Ala Pro Glu Ala Arg Arg Ala Ala Ala Glu Gly Arg
 385 390 395 400

Gly Gly Ile Ile His Phe Glu Val Ser Pro Lys Asn Ile Asn Lys Val
 405 410 415

ES 2 613 539 T3

Val Gln Thr Gln Ile Ala Val Glu Gly Asp Ala Thr Thr Asn Leu Gly
 420 425 430

Lys Met Met Ser Lys Ile Phe Pro Val Lys Glu Arg Ser Glu Trp Phe
 435 440 445

Ala Gln Ile Asn Lys Trp Lys Lys Glu Tyr Pro Tyr Ala Tyr Met Glu
 450 455 460

Glu Thr Pro Gly Ser Lys Ile Lys Pro Gln Thr Val Ile Lys Lys Leu
 465 470 475 480

Ser Lys Val Ala Asn Asp Thr Gly Arg His Val Ile Val Thr Thr Gly
 485 490 495

Val Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln His Trp Thr Trp Arg Asn
 500 505 510

Pro His Thr Phe Ile Thr Ser Gly Gly Leu Gly Thr Met Gly Tyr Gly
 515 520 525

Leu Pro Ala Ala Ile Gly Ala Gln Val Ala Lys Pro Glu Ser Leu Val
 530 535 540

Ile Asp Ile Asp Gly Asp Ala Ser Phe Asn Met Thr Leu Thr Glu Leu
 545 550 555 560

Ser Ser Ala Val Gln Ala Gly Thr Pro Val Lys Ile Leu Ile Leu Asn
 565 570 575

Asn Glu Glu Gln Gly Met Val Thr Gln Trp Gln Ser Leu Phe Tyr Glu
 580 585 590

His Arg Tyr Ser His Thr His Gln Leu Asn Pro Asp Phe Ile Lys Leu
 595 600 605

Ala Glu Ala Met Gly Leu Lys Gly Leu Arg Val Lys Lys Gln Glu Glu
 610 615 620

Leu Asp Ala Lys Leu Lys Glu Phe Val Ser Thr Lys Gly Pro Val Leu
 625 630 635 640

Leu Glu Val Glu Val Asp Lys Lys Val Pro Val Leu Pro Met Val Ala
 645 650 655

Gly Gly Ser Gly Leu Asp Glu Phe Ile Asn Phe Asp Pro Glu Val Glu
 660 665 670

Arg Gln Gln Thr Glu Leu Arg His Lys Arg Thr Gly Gly Lys His
 675 680 685

<210> 3
 <211> 930
 <212> ADN
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

5

<400> 3

ES 2 613 539 T3

atgctgagat cgttattgca aagcggccac cgcagggtag ttgcttcttc atgtgctacc 60
atggtgcggt gcagttcctc gtcgacctcc gcgttggcgt acaagcagat gcacagacac 120
gcaacaagac ctcccttgcc cacactagac actccttctt ggaatgccaa cagtgccggt 180
tcacccatca ttacgaaac accagcgcct tctcgtcaac caagaaaaca gcatgtcttg 240
aactgtttgg tgcaaaacga acccgggtgc ttgtccagag tctcgggtac gttagctgcc 300
agaggcttta acatcgattc gttggtcgtg tgcaacaccg aggtcaaaga cctaagtaga 360
atgaccattg ttttgcaagg gcaagatggc gtatgcgaac aagcacgcag acaaatcgaa 420
gacttggtcc ccgtctacgc cgtcctagac tataccaatt ctgagatcat caaaagagag 480
ctagtgatgg ccagaatctc tctattgggt actgaatact tcgaagacct actattgcac 540
caccacactt ccaccaatgc tggcgcgcct gactcccaag aattggctgc cgaaatcaga 600
gaaaagcaat tccaccctgc caacttgccc gccagtgagg tattaagggt gaagcacgag 660
catttgaacg atatcaccaa cttgaccaac aactttggag gtcgtgctgt cgacatcagc 720
gaaacaagct gtattgtgga gttgtctgca aaaccacac gtatctctgc cttcttgaag 780
ttggtcgagc cattcgggtg cctagagtgt gcaagaagcg gtatgatggc attgccaaga 840
actcctttga agacaagcac cgaggaagct gccgacgaag acgaaaagat cagcgaatc 900
gtcgacattt cccaactacc acctgggttag 930

<210> 4

<211> 309

5 <212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 4

Met Leu Arg Ser Leu Leu Gln Ser Gly His Arg Arg Val Val Ala Ser
1 5 10 15

Ser Cys Ala Thr Met Val Arg Cys Ser Ser Ser Ser Thr Ser Ala Leu
20 25 30

Ala Tyr Lys Gln Met His Arg His Ala Thr Arg Pro Pro Leu Pro Thr
35 40 45

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

Tyr Glu Thr Pro Ala Pro Ser Arg Gln Pro Arg Lys Gln His Val Leu
65 70 75 80

10 Asn Cys Leu Val Gln Asn Glu Pro Gly Val Leu Ser Arg Val Ser Gly

ES 2 613 539 T3

85 90 95

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

Thr Glu Val Lys Asp Leu Ser Arg Met Thr Ile Val Leu Gln Gly Gln
 115 120 125

Asp Gly Val Val Glu Gln Ala Arg Arg Gln Ile Glu Asp Leu Val Pro
 130 135 140

Val Tyr Ala Val Leu Asp Tyr Thr Asn Ser Glu Ile Ile Lys Arg Glu
 145 150 155 160

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

Leu Leu Leu His His His Thr Ser Thr Asn Ala Gly Ala Ala Asp Ser
 180 185 190

Gln Glu Leu Val Ala Glu Ile Arg Glu Lys Gln Phe His Pro Ala Asn
 195 200 205

Leu Pro Ala Ser Glu Val Leu Arg Leu Lys His Glu His Leu Asn Asp
 210 215 220

Ile Thr Asn Leu Thr Asn Asn Phe Gly Gly Arg Val Val Asp Ile Ser
 225 230 235 240

Glu Thr Ser Cys Ile Val Glu Leu Ser Ala Lys Pro Thr Arg Ile Ser
 245 250 255

Ala Phe Leu Lys Leu Val Glu Pro Phe Gly Val Leu Glu Cys Ala Arg
 260 265 270

Ser Gly Met Met Ala Leu Pro Arg Thr Pro Leu Lys Thr Ser Thr Glu
 275 280 285

Glu Ala Ala Asp Glu Asp Glu Lys Ile Ser Glu Ile Val Asp Ile Ser
 290 295 300

Gln Leu Pro Pro Gly
 305

<210> 5
 <211> 1188
 <212> ADN
 <213> Saccharomyces cerevisiae

<400> 5

atgttgagaa ctcaagccgc cagattgata tgcaactccc gtgtcatcac tgctaagaga 60
 acctttgctt tggccacccg tgctgctgct tacagcagac cagctgcccg tttcgtaaag 120

ES 2 613 539 T3

ccaatgatca ctaccctggg tttgaagcaa atcaacttcg gtggtactgt tgaaacccgtc 180
 tacgaaagag ctgactggcc aagagaaaag ttgttggact acttcaagaa cgacactttt 240
 gctttgatcg gttacggttc ccaaggttac ggtcaaggtt tgaacttgag agacaacggt 300
 ttgaacgtta tcattgggtg ccgtaaagat ggtgcttctt ggaaggctgc catcgaagac 360
 ggttgggttc caggcaagaa cttgttccact gttgaagatg ctatcaagag aggtagttac 420
 gttatgaact tgttgtccga tgccgctcaa tcagaaacct ggcctgctat caagccattg 480
 ttgaccaagg gtaagacttt gtacttctcc cacggtttct cccagctctt caaggacttg 540
 actcacgttg aaccaccaa ggacttagat gttatcttgg ttgctccaaa gggttccggt 600
 agaactgtca gatctttggt caaggaaggc cgtggtatta actcttctta cgccgtctgg 660
 aacgatgtca ccggaaggc tcacgaaaag gcccaagctt tggccgttgc cattggttcc 720
 ggttacgttt accaaaccac tttcgaaga gaagtcaact ctgacttgta cggtgaaaga 780
 ggttgtttaa tgggtggtat ccacggtatg ttcttggctc aatacgacgt cttgagagaa 840
 aacggctact ccccatctga agctttcaac gaaaccgtcg aagaagctac ccaatctcta 900
 taccattga tcggaagta cggtatggat tacatgtacg atgcttggtc caccaccgcc 960
 agaagagggt ctttggactg gtacccaatc ttcaagaatg ctttgaagcc tgttttccaa 1020
 gacttgtagc aatctacca gaacggtagc gaaaccaaga gatctttgga attcaactct 1080
 caactgact acagagaaaa gctagaaaag gaattagaca ccatcagaaa catggaatc 1140
 tggaaagggtg gtaaggaagt cagaaagttg agaccagaaa accaataa 1188

<210> 6
 <211> 395
 <212> PRT
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

5

<400> 6

Met Leu Arg Thr Gln Ala Ala Arg Leu Ile Cys Asn Ser Arg Val Ile
 1 5 10 15
 Thr Ala Lys Arg Thr Phe Ala Leu Ala Thr Arg Ala Ala Ala Tyr Ser
 20 25 30
 Arg Pro Ala Ala Arg Phe Val Lys Pro Met Ile Thr Thr Arg Gly Leu
 35 40 45
 Lys Gln Ile Asn Phe Gly Gly Thr Val Glu Thr Val Tyr Glu Arg Ala
 50 55 60
 Asp Trp Pro Arg Glu Lys Leu Leu Asp Tyr Phe Lys Asn Asp Thr Phe
 65 70 75 80
 Ala Leu Ile Gly Tyr Gly Ser Gln Gly Tyr Gly Gln Gly Leu Asn Leu
 85 90 95

10

ES 2 613 539 T3

Arg Asp Asn Gly Leu Asn Val Ile Ile Gly Val Arg Lys Asp Gly Ala
100 105 110

Ser Trp Lys Ala Ala Ile Glu Asp Gly Trp Val Pro Gly Lys Asn Leu
115 120 125

Phe Thr Val Glu Asp Ala Ile Lys Arg Gly Ser Tyr Val Met Asn Leu
130 135 140

Leu Ser Asp Ala Ala Gln Ser Glu Thr Trp Pro Ala Ile Lys Pro Leu
145 150 155 160

Leu Thr Lys Gly Lys Thr Leu Tyr Phe Ser His Gly Phe Ser Pro Val
165 170 175

Phe Lys Asp Leu Thr His Val Glu Pro Pro Lys Asp Leu Asp Val Ile
180 185 190

Leu Val Ala Pro Lys Gly Ser Gly Arg Thr Val Arg Ser Leu Phe Lys
195 200 205

Glu Gly Arg Gly Ile Asn Ser Ser Tyr Ala Val Trp Asn Asp Val Thr
210 215 220

Gly Lys Ala His Glu Lys Ala Gln Ala Leu Ala Val Ala Ile Gly Ser
225 230 235 240

Gly Tyr Val Tyr Gln Thr Thr Phe Glu Arg Glu Val Asn Ser Asp Leu
245 250 255

Tyr Gly Glu Arg Gly Cys Leu Met Gly Gly Ile His Gly Met Phe Leu
260 265 270

Ala Gln Tyr Asp Val Leu Arg Glu Asn Gly His Ser Pro Ser Glu Ala
275 280 285

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

Gly Lys Tyr Gly Met Asp Tyr Met Tyr Asp Ala Cys Ser Thr Thr Ala
305 310 315 320

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

Pro Val Phe Gln Asp Leu Tyr Glu Ser Thr Lys Asn Gly Thr Glu Thr
340 345 350

Lys Arg Ser Leu Glu Phe Asn Ser Gln Pro Asp Tyr Arg Glu Lys Leu
355 360 365

Glu Lys Glu Leu Asp Thr Ile Arg Asn Met Glu Ile Trp Lys Val Gly
370 375 380

Lys Glu Val Arg Lys Leu Arg Pro Glu Asn Gln
385 390 395

ES 2 613 539 T3

<211> 1758
 <212> ADN
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

5 <400> 7

atgggcttgt taacgaaagt tgctacatct agacaattct ctacaacgag atgcgttgca 60
 aagaagctca acaagtactc gtatatcatc actgaaccta agggccaagg tgcgtcccag 120
 gccatgcttt atgccaccgg tttcaagaag gaagatttca agaagcctca agtcgggggtt 180
 ggttcctggt ggtggtccgg taacccatgt aacatgcatc tattggactt gaataacaga 240
 tgtttcfaat ccattgaaaa agcggggttg aaagctatgc agttcaacac catcgggtgtt 300
 tcagacggta tctctatggg tactaaaggt atgagatact cgttaciaag tagagaaatc 360
 attgcagact cctttgaaac catcatgatg gcacaacact acgatgctaa catcgccatc 420
 ccatcatggt acaaaaaacat gcccgggtgc atgatggcca tgggtagaca taacagacct 480
 tccatcatgg tatatggtgg tactatcttg cccggtcac caacatgtgg ttcttcgaag 540
 atctctaaaa acatcgatat cgtctctgcg ttccaatcct acgggtaata tatttccaag 600
 caattcactg aagaagaaag agaagatggt gtggaacatg catgcccagg tcctggttct 660
 tgtggtggtg tgtatactgc caacacaatg gcttctgccc ctgaagtgct aggtttgacc 720
 attccaaact cctcttctt cccagccgtt tccaaggaga agttagctga gtgtgacaac 780
 attggtgaat acatcaagaa gacaatggaa ttgggtatth tacctcgtga tatectcaca 840
 aaagaggctt ttgaaaacgc cactacttat gtcggtgcaa ccggtgggtc cactaatgct 900
 gttttgcatt tgggtgctgt tgctcactct gcgggtgtca agttgtcacc agatgatttc 960
 caaagaatca gtgatactac accattgatc ggtgacttca aaccttctgg taaatacgtc 1020
 atggccgatt tgattaacgt tgggtgtacc caatctgtga ttaagtatct atatgaaaac 1080
 aacatgttgc acggtaacac aatgactggt accggtgaca ctttggcaga acgtgcaaag 1140
 aaagcaccaa gcctacctga aggacaagag attattaagc cactctcca cccaatcaag 1200
 gccaacggtc acttgcaaat tctgtacggt tcattggcac cagggtggagc tgtgggtaaa 1260
 attaccggtg aggaaggtac ttacttcaag ggtagagcac gtgtgttcga agaggaaggt 1320
 gcctttattg aagccttggg aagaggtgaa atcaagaagg gtgaaaaaac cgttgttgtt 1380
 atcagatatg aagggtccaag aggtgcacca ggtatgcctg aaatgctaaa gccttctctt 1440
 gctctgatgg gttacggttt gggtaaagat gttgcattgt tgactgatgg tagattctct 1500
 ggtggttctc acgggttctt aatcggccac attggtcccg aagccgctga aggtggtcct 1560
 atcgggttgg tcagagacgg cgatgagatt atcattgatg ctgataataa caagattgac 1620
 ctattagtct ctgataagga aatggctcaa cgtaaaaaa gttgggttgc acctccacct 1680
 cgttacaaa gaggtactct atccaagtat gctaagttgg tttccaacgc ttccaacggt 1740
 tgtgttttag atgcttga 1758

10

<210> 8
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

15

<400> 8

ES 2 613 539 T3

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

Arg Cys Val Ala Lys Lys Leu Asn Lys Tyr Ser Tyr Ile Ile Thr Glu
 20 25 30

Pro Lys Gly Gln Gly Ala Ser Gln Ala Met Leu Tyr Ala Thr Gly Phe
 35 40 45

Lys Lys Glu Asp Phe Lys Lys Pro Gln Val Gly Val Gly Ser Cys Trp
 50 55 60

Trp Ser Gly Asn Pro Cys Asn Met His Leu Leu Asp Leu Asn Asn Arg
 65 70 75 80

Cys Ser Gln Ser Ile Glu Lys Ala Gly Leu Lys Ala Met Gln Phe Asn
 85 90 95

Thr Ile Gly Val Ser Asp Gly Ile Ser Met Gly Thr Lys Gly Met Arg
 100 105 110

Tyr Ser Leu Gln Ser Arg Glu Ile Ile Ala Asp Ser Phe Glu Thr Ile
 115 120 125

Met Met Ala Gln His Tyr Asp Ala Asn Ile Ala Ile Pro Ser Cys Asp
 130 135 140

Lys Asn Met Pro Gly Val Met Met Ala Met Gly Arg His Asn Arg Pro
 145 150 155 160

Ser Ile Met Val Tyr Gly Gly Thr Ile Leu Pro Gly His Pro Thr Cys
 165 170 175

Gly Ser Ser Lys Ile Ser Lys Asn Ile Asp Ile Val Ser Ala Phe Gln
 180 185 190

Ser Tyr Gly Glu Tyr Ile Ser Lys Gln Phe Thr Glu Glu Glu Arg Glu
 195 200 205

Asp Val Val Glu His Ala Cys Pro Gly Pro Gly Ser Cys Gly Gly Met

ES 2 613 539 T3

210 215 220

Tyr Thr Ala Asn Thr Met Ala Ser Ala Ala Glu Val Leu Gly Leu Thr
225 230 235 240

Ile Pro Asn Ser Ser Ser Phe Pro Ala Val Ser Lys Glu Lys Leu Ala
245 250 255

Glu Cys Asp Asn Ile Gly Glu Tyr Ile Lys Lys Thr Met Glu Leu Gly
260 265 270

Ile Leu Pro Arg Asp Ile Leu Thr Lys Glu Ala Phe Glu Asn Ala Ile
275 280 285

Thr Tyr Val Val Ala Thr Gly Gly Ser Thr Asn Ala Val Leu His Leu
290 295 300

Val Ala val Ala His Ser Ala Gly Val Lys Leu Ser Pro Asp Asp Phe
305 310 315 320

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

Gly Lys Tyr Val Met Ala Asp Leu Ile Asn Val Gly Gly Thr Gln Ser
340 345 350

Val Ile Lys Tyr Leu Tyr Glu Asn Asn Met Leu His Gly Asn Thr Met
355 360 365

Thr Val Thr Gly Asp Thr Leu Ala Glu Arg Ala Lys Lys Ala Pro Ser
370 375 380

Leu Pro Glu Gly Gln Glu Ile Ile Lys Pro Leu Ser His Pro Ile Lys
385 390 395 400

Ala Asn Gly His Leu Gln Ile Leu Tyr Gly Ser Leu Ala Pro Gly Gly
405 410 415

Ala Val Gly Lys Ile Thr Gly Lys Glu Gly Thr Tyr Phe Lys Gly Arg
420 425 430

Ala Arg Val Phe Glu Glu Glu Gly Ala Phe Ile Glu Ala Leu Glu Arg
435 440 445

Gly Glu Ile Lys Lys Gly Glu Lys Thr Val Val Val Ile Arg Tyr Glu
450 455 460

Gly Pro Arg Gly Ala Pro Gly Met Pro Glu Met Leu Lys Pro Ser Ser
465 470 475 480

Ala Leu Met Gly Tyr Gly Leu Gly Lys Asp Val Ala Leu Leu Thr Asp

ES 2 613 539 T3

	485		490		495	
Gly Arg Phe	Ser 500	Gly Gly Ser His	Gly 505	Phe Leu Ile	Gly His 510	Ile Val
Pro Glu Ala	Ala 515	Glu Gly Gly	Pro 520	Ile Gly Leu Val	Arg 525	Asp Gly Asp
Glu Ile Ile	Ile 530	Asp Ala Asp	Asn 535	Asn Lys Ile	Asp 540	Leu Leu Val Ser
Asp Lys Glu	Met Ala 545	Gln Arg Lys	Gln 550	Ser Trp Val	Ala 555	Pro Pro Pro 560
Arg Tyr Thr	Arg 565	Gly Thr Leu	Ser Lys 570	Tyr Ala Lys	Leu Val 575	Ser Asn
Ala Ser Asn	Gly 580	Cys Val Leu	Asp Ala 585			

<210> 9
 <211> 1182
 5 <212> ADN
 <213> Saccharomyces cerevisiae

<400> 9

atgttgcaga	gacattcctt	gaagtgggg	aaattctcca	tcagaacact	cgctactggt	60
gccccattag	atgcatcaa	actaaaaatt	actagaaacc	caaatccatc	caagccaaga	120
ccaaatgaag	aattagtgtt	cggccagaca	ttcaccgatc	atatgttgac	cattccttgg	180
tcagccaaag	aaggggtggg	cactccacac	atcaagcctt	acggtaatct	ttctcttgac	240
ccatctgctt	gtgtattcca	ttatgcattt	gaattatttg	aaggtttgaa	agcctacaga	300
actcctcaaa	atactatcac	catgttccgt	ccggataaga	acatggcccg	tatgaacaag	360
tctgccgcta	gaatttgttt	gccaaacttc	gaatctgaag	aattgatcaa	acttaccggg	420
aaattgatcg	aacaagataa	acacttggtt	cctcaaggta	atggttactc	attatacatc	480
agaccaacaa	tgatttgtac	atccaagggt	ttaggtgttg	gcactccctc	cgaggctctt	540
ctttatgtta	ttacttctcc	agtcggctct	tattataaga	ctggtttcaa	agccgtacgt	600
cttgaagcaa	cagactatgc	tacaagagct	tggccaggtg	gtgttggcga	caaaaaattg	660
ggtgctaact	atgccccatg	catcttacct	caactacaag	ctgccaaaag	agggtacca	720
caaaatctat	ggttgttcgg	cccagaaaag	aacatcactg	aggttggtac	tatgaacgtg	780
ttcttcgttt	tcctcaacaa	agtcactggc	aagaaggaa	tggttaccgc	tccattagat	840
ggtaccattt	tagaagggtg	taccagagac	tctgttttaa	cattggctcg	tgacaaacta	900
gatcctcaag	aatgggacat	caacgagcgt	tattacacta	ttactgaagt	cgccactaga	960
gcaaaaacaa	gtgaactatt	agaagccttc	ggttctggta	ctgctgctgt	cgtttcacct	1020
atcaaggaaa	ttggctggaa	caacgaagat	attcatgttc	cactattgcc	tggtgaacaa	1080

tgtggtgcat	tgaccaagca	agttgctcaa	tggattgctg	atatccaata	cggtagagtc	1140
aattatggta	actggcmeta	aactggtgcc	gacttgaact	aa		1182

10

ES 2 613 539 T3

<210> 10
 <211> 393
 <212> PRT
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

5

<400> 10

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

ES 2 613 539 T3

Ala Pro Cys Ile Leu Pro Gln Leu Gln Ala Ala Lys Arg Gly Tyr Gln
 225 230 235 240

Gln Asn Leu Trp Leu Phe Gly Pro Glu Lys Asn Ile Thr Glu Val Gly
 245 250 255

Thr Met Asn Val Phe Phe Val Phe Leu Asn Lys Val Thr Gly Lys Lys
 260 265 270

Glu Leu Val Thr Ala Pro Leu Asp Gly Thr Ile Leu Glu Gly Val Thr
 275 280 285

Arg Asp Ser Val Leu Thr Leu Ala Arg Asp Lys Leu Asp Pro Gln Glu
 290 295 300

Trp Asp Ile Asn Glu Arg Tyr Tyr Thr Ile Thr Glu Val Ala Thr Arg
 305 310 315 320

Ala Lys Gln Gly Glu Leu Leu Glu Ala Phe Gly Ser Gly Thr Ala Ala
 325 330 335

Val Val Ser Pro Ile Lys Glu Ile Gly Trp Asn Asn Glu Asp Ile His
 340 345 350

Val Pro Leu Leu Pro Gly Glu Gln Cys Gly Ala Leu Thr Lys Gln Val
 355 360 365

Ala Gln Trp Ile Ala Asp Ile Gln Tyr Gly Arg Val Asn Tyr Gly Asn
 370 375 380

Trp Ser Lys Thr Val Ala Asp Leu Asn
 385 390

<210> 11

<211> 1131

5 <212> ADN

<213> Saccharomyces cerevisiae

<400> 11

atgaccttg	cacccctaga	cgctccaaa	gttaagataa	ctaccacaca	acatgcatct	60
aagccaaaac	cgaacagtga	gtagtggtt	ggcaagagct	tcacggacca	catgttaact	120
gcggaatgga	cagctgaaaa	agggtgggt	accccagaga	ttaaacctta	tcaaatctg	180
tctttagacc	ctccgcggt	ggtttccat	tatgctttg	agctattcga	agggatgaag	240
gcttacagaa	cggtggacaa	caaaattaca	atgtttcgtc	cagatatgaa	tatgaagcgc	300
atgaataagt	ctgctcagag	aatctgtttg	ccaacgttcg	accagaaga	gttgattacc	360
ctaattggga	aactgatcca	gcaagataag	tgcttagttc	ctgaaggaaa	aggttactct	420
ttatatatca	ggctacatt	aatcggcact	acggccggtt	taggggtttc	cacgcctgat	480
agagccttgc	tatatgtcat	ttgctgcctt	gtgggtcctt	attacaaaac	tggatttaag	540

10

ES 2 613 539 T3

gcggtcagac tggaagccac tgattatgcc acaagagcctt ggccaggagg ctgtggtgac 600
 aagaactag gtgcaacta cgccccctgc gtcctgccac aattgcaagc tgcttcaagg 660
 ggttaccaac aaaatttatg gctatttggc ccaataaca acattactga agtcggcacc 720
 atgaatgctt ttttcgtggt taaagatagt aaaacgggca agaaggaact agttactgct 780
 ccactagacg gtaccattht ggaaggtggt actagggatt ccattttaa tcttgctaaa 840
 gaaagactcg aaccaagtga atggaccatt agtgaacgct acttcactat aggcgaagtt 900
 actgagagat ccaagaacgg tgaactactt gaagcctttg gttctggtac tgctgcgatt 960
 gtttctccca ttaaggaaat cggctggaaa ggcaacaaa ttaatatcc gttgttgccc 1020
 ggcaacaaa ccggtccatt ggccaaagaa gttgcacaat ggattaatgg aatccaatat 1080
 ggcgagactg agcatggcaa ttggtcaagg gttgttactg atttgaactg a 1131

<210> 12

<211> 376

5 <212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 12

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

10

ES 2 613 539 T3

Arg Ala Leu Leu Tyr Val Ile Cys Cys Pro Val Gly Pro Tyr Tyr Lys
 165 170 175
 Thr Gly Phe Lys Ala Val Arg Leu Glu Ala Thr Asp Tyr Ala Thr Arg
 180 185 190
 Ala Trp Pro Gly Gly Cys Gly Asp Lys Lys Leu Gly Ala Asn Tyr Ala
 195 200 205
 Pro Cys Val Leu Pro Gln Leu Gln Ala Ala Ser Arg Gly Tyr Gln Gln
 210 215 220
 Asn Leu Trp Leu Phe Gly Pro Asn Asn Asn Ile Thr Glu Val Gly Thr
 225 230 235 240
 Met Asn Ala Phe Phe Val Phe Lys Asp Ser Lys Thr Gly Lys Lys Glu
 245 250 255
 Leu Val Thr Ala Pro Leu Asp Gly Thr Ile Leu Glu Gly Val Thr Arg
 260 265 270
 Asp Ser Ile Leu Asn Leu Ala Lys Glu Arg Leu Glu Pro Ser Glu Trp
 275 280 285
 Thr Ile Ser Glu Arg Tyr Phe Thr Ile Gly Glu Val Thr Glu Arg Ser
 290 295 300
 Lys Asn Gly Glu Leu Leu Glu Ala Phe Gly Ser Gly Thr Ala Ala Ile
 305 310 315 320
 Val Ser Pro Ile Lys Glu Ile Gly Trp Lys Gly Glu Gln Ile Asn Ile
 325 330 335
 Pro Leu Leu Pro Gly Glu Gln Thr Gly Pro Leu Ala Lys Glu Val Ala
 340 345 350
 Gln Trp Ile Asn Gly Ile Gln Tyr Gly Glu Thr Glu His Gly Asn Trp
 355 360 365
 Ser Arg Val Val Thr Asp Leu Asn
 370 375

<210> 13

<211> 1692

5 <212> ADN

<213> Saccharomyces cerevisiae

<400> 13

	atgtctgaaa	ttactttggg	taaataatttg	ttcgaaagat	taaagcaagt	caacgttaac	60
	accgttttcg	gtttgccagg	tgacttcaac	ttgtccttgt	tggacaagat	ctacgaagtt	120
10	gaaggtatga	gatgggctgg	taacgccaac	gaattgaacg	ctgcttacgc	cgctgatggt	180

ES 2 613 539 T3

tacgctcgta tcaagggtat gtcttgatc atcaccacct tcggtgctcg tgaattgtct 240
gctttgaacg gtattgccgg ttcttacgct gaacacgctg gtgttttgca cgttgttggt 300
gtcccatcca tctctgctca agctaagcaa ttgttgttgc accacacctt gggtaacggt 360
gacttcaactg ttttccacag aatgtctgcc aacatttctg aaaccactgc tatgatcact 420
gacattgcta ccgccccagc tgaattgac agatgtatca gaaccactta cgtcacccaa 480
agaccagtct acttagggtt gccagctaac ttggtcgact tgaacgtccc agctaagttg 540
ttgcaaacctc caattgacat gtctttgaa ccaaacgatg ctgaatccga aaaggaagtc 600
attgacacca tcttggtctt ggtcaaggat gctaagaacc cagttatctt ggctgatgct 660
tgttgttcca gacacgacgt caaggctgaa actaagaagt tgattgactt gactcaattc 720
ccagctttcg tcaccccaat gggtaagggt tccattgacg aacaacaccc aagatacggg 780
gggtgtttacg tcggtacctt gtccaagcca gaagttaagg aagccgttga atctgctgac 840
ttgattttgt ctgctgggtc tttgttgtct gatttcaaca ccggttcttt ctcttactct 900
tacaagacca agaacattgt cgaattccac tccgaccaca tgaagatcag aaacgccact 960
ttcccagggtg tccaaatgaa attcgttttg caaaagttgt tgaccactat tgctgacgcc 1020
gctaagggtt acaagccagt tgctgtccca gctagaactc cagctaacgc tgctgtccca 1080
gcttctaccc cattgaagca agaattggatg tggaaaccaat tgggtaactt cttgcaagaa 1140
gggtgatggtg tcattgctga aaccggtacc tccgctttcg gtatcaacca aaccactttc 1200
ccaaacaaca cctacggtat ctctcaagtc ttatgggggt ccattgggtt caccactggt 1260
gctaccttgg gtgctgcttt cgctgctgaa gaaattgatc caaagaagag agttatctta 1320
ttcattgggtg acggttcttt gcaattgact gttcaagaaa tctccaccat gatcagatgg 1380
ggcttgaagc catacttgtt cgtcttgaac aacgatgggt acaccattga aaagttgatt 1440
cacggtccaa aggctcaata caacgaaatt caaggttggg accacctatc cttgttgcca 1500
actttcgggtg ctaaggacta tgaaacccac agagtcgcta ccaccggtga atgggacaag 1560
ttgacccaag acaagtcttt caacgacaac tctaagatca gaatgattga aatcatggtg 1620
ccagctttcg atgctccaca aaacttggtt gaacaagcta agttgactgc tgctaccaac 1680
gctaagcaat aa 1692

<210> 14

<211> 563

5 <212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 14

Met Ser Glu Ile Thr Leu Gly Lys Tyr Leu Phe Glu Arg Leu Lys Gln
1 5 10 15

10 Val Asn Val Asn Thr Val Phe Gly Leu Pro Gly Asp Phe Asn Leu Ser
20 25 30

ES 2 613 539 T3

Leu Leu Asp Lys Ile Tyr Glu Val Glu Gly Met Arg Trp Ala Gly Asn
 35 40 45
 Ala Asn Glu Leu Asn Ala Ala Tyr Ala Ala Asp Gly Tyr Ala Arg Ile
 50 55 60
 Lys Gly Met Ser Cys Ile Ile Thr Thr Phe Gly Val Gly Glu Leu Ser
 65 70 75 80
 Ala Leu Asn Gly Ile Ala Gly Ser Tyr Ala Glu His Val Gly Val Leu
 85 90 95
 His Val Val Gly Val Pro Ser Ile Ser Ala Gln Ala Lys Gln Leu Leu
 100 105 110
 Leu His His Thr Leu Gly Asn Gly Asp Phe Thr Val Phe His Arg Met
 115 120 125
 Ser Ala Asn Ile Ser Glu Thr Thr Ala Met Ile Thr Asp Ile Ala Thr
 130 135 140
 Ala Pro Ala Glu Ile Asp Arg Cys Ile Arg Thr Thr Tyr Val Thr Gln
 145 150 155 160
 Arg Pro Val Tyr Leu Gly Leu Pro Ala Asn Leu Val Asp Leu Asn Val
 165 170 175
 Pro Ala Lys Leu Leu Gln Thr Pro Ile Asp Met Ser Leu Lys Pro Asn
 180 185 190
 Asp Ala Glu Ser Glu Lys Glu Val Ile Asp Thr Ile Leu Ala Leu Val
 195 200 205
 Lys Asp Ala Lys Asn Pro Val Ile Leu Ala Asp Ala Cys Cys Ser Arg
 210 215 220
 His Asp Val Lys Ala Glu Thr Lys Lys Leu Ile Asp Leu Thr Gln Phe
 225 230 235 240
 Pro Ala Phe Val Thr Pro Met Gly Lys Gly Ser Ile Asp Glu Gln His
 245 250 255
 Pro Arg Tyr Gly Gly Val Tyr Val Gly Thr Leu Ser Lys Pro Glu Val
 260 265 270
 Lys Glu Ala Val Glu Ser Ala Asp Leu Ile Leu Ser Val Gly Ala Leu
 275 280 285
 Leu Ser Asp Phe Asn Thr Gly Ser Phe Ser Tyr Ser Tyr Lys Thr Lys
 290 295 300

ES 2 613 539 T3

Asn Ile Val Glu Phe His Ser Asp His Met Lys Ile Arg Asn Ala Thr
 305 310 315 320
 Phe Pro Gly Val Gln Met Lys Phe Val Leu Gln Lys Leu Leu Thr Thr
 325 330 335
 Ile Ala Asp Ala Ala Lys Gly Tyr Lys Pro Val Ala Val Pro Ala Arg
 340 345 350
 Thr Pro Ala Asn Ala Ala Val Pro Ala Ser Thr Pro Leu Lys Gln Glu
 355 360 365
 Trp Met Trp Asn Gln Leu Gly Asn Phe Leu Gln Glu Gly Asp Val Val
 370 375 380
 Ile Ala Glu Thr Gly Thr Ser Ala Phe Gly Ile Asn Gln Thr Thr Phe
 385 390 395 400
 Pro Asn Asn Thr Tyr Gly Ile Ser Gln Val Leu Trp Gly Ser Ile Gly
 405 410 415
 Phe Thr Thr Gly Ala Thr Leu Gly Ala Ala Phe Ala Ala Glu Glu Ile
 420 425 430
 Asp Pro Lys Lys Arg Val Ile Leu Phe Ile Gly Asp Gly Ser Leu Gln
 435 440 445
 Leu Thr Val Gln Glu Ile Ser Thr Met Ile Arg Trp Gly Leu Lys Pro
 450 455 460
 Tyr Leu Phe Val Leu Asn Asn Asp Gly Tyr Thr Ile Glu Lys Leu Ile
 465 470 475 480
 His Gly Pro Lys Ala Gln Tyr Asn Glu Ile Gln Gly Trp Asp His Leu
 485 490 495
 Ser Leu Leu Pro Thr Phe Gly Ala Lys Asp Tyr Glu Thr His Arg Val
 500 505 510
 Ala Thr Thr Gly Glu Trp Asp Lys Leu Thr Gln Asp Lys Ser Phe Asn
 515 520 525
 Asp Asn Ser Lys Ile Arg Met Ile Glu Ile Met Leu Pro Val Phe Asp
 530 535 540
 Ala Pro Gln Asn Leu Val Glu Gln Ala Lys Leu Thr Ala Ala Thr Asn
 545 550 555 560
 Ala Lys Gln

<210> 15

<211> 1692

5 <212> ADN

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 15

ES 2 613 539 T3

atgtctgaaa taaccttagg taaatattta tttgaaagat tgagccaagt caactgtaac 60
 accgtcttcg gtttgccagg tgactttaac ttgtctcttt tggataagct ttatgaagtc 120
 aaaggatga gatgggctgg taacgctaac gaattgaacg ctgcctatgc tgctgatggt 180
 tacgctcgta tcaagggtat gtcctgtatt attaccacct tcggtgttgg tgaattgtct 240
 gctttgaaatg gtattgccgg ttcttacgct gaacatgtcg gtgttttgca cgttgttgg 300
 gttccatcca tctcttctca agctaagcaa ttggtgttgc atcatacctt gggtaacgg 360
 gacttcactg ttttccacag aatgtctgcc aacatttctg aaaccactgc catgatcact 420
 gatattgcta acgctccagc tgaattgac agatgtatca gaaccaccta cactacccaa 480
 agaccagtct acttggggtt gccagctaac ttggttgact tgaacgtccc agccaagtta 540
 ttgaaactc caattgactt gtctttgaag ccaaacgacg ctgaagctga agctgaagtt 600
 gttagaactg ttgttgaatt gatcaaggat gctaagaacc cagtatctt ggctgatgct 660
 tgtgcttcta gacatgatgt caaggctgaa actaagaagt tgatggactt gactcaattc 720
 ccagtttacg tcaccccaat gggtaagggg gctattgacg aacaacacc aagatacgg 780
 ggtgtttacg ttggtacctt gtctagacca gaagttaaga aggctgtaga atctgctgat 840
 ttgatattgt ctatcgggtc tttgttgtct gatttcaata ccggttcttt ctcttactcc 900
 tacaagacca aaaatatcgt tgaattccac tctgaccaca tcaagatcag aaacgccacc 960
 ttcccagggtg ttcaaatgaa atttgccttg caaaaattgt tggatgctat tccagaagtc 1020
 gtcaaggact acaaacctgt tgctgtccca gctagagttc caattaccaa gtctactcca 1080
 gctaacactc caatgaagca agaatggatg ttggaaccatt tgggtaactt cttgagagaa 1140
 ggtgatattg ttattgctga aaccggactt tccgccttcg gtattaacca aactactttc 1200
 ccaacagatg tatacgtat cgtccaagtc ttgtggggtt ccattgggtt cacagtcggc 1260
 gctctattgg gtgctactat ggccgctgaa gaacttgatc caagaagag agttatttta 1320
 ttcatgggtg acggttctct acaattgact gttcaagaaa tctctacat gattagatgg 1380
 ggtttgaagc catacatttt tgtcttgaat aacaacgggt acaccattga aaaattgatt 1440
 cacggtctc atgccgaata taatgaaatt caaggttggg accacttggc cttattgcca 1500
 acttttggtg ctagaaacta cgaaaccac agagttgcta cactgggtga atgggaaaag 1560
 ttgactcaag acaaggactt ccaagacaac tctaagatta gaatgattga agttatgttg 1620
 ccagtccttg atgctccaca aaacttgggt aaacaagctc aattgactgc cgctactaac 1680
 gctaaacaat aa 1692

<210> 16

<211> 563

5 <212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 16

ES 2 613 539 T3

Met Ser Glu Ile Thr Leu Gly Lys Tyr Leu Phe Glu Arg Leu Ser Gln
1 5 10 15

Val Asn Cys Asn Thr Val Phe Gly Leu Pro Gly Asp Phe Asn Leu Ser
20 25 30

Leu Leu Asp Lys Leu Tyr Glu Val Lys Gly Met Arg Trp Ala Gly Asn
35 40 45

Ala Asn Glu Leu Asn Ala Ala Tyr Ala Ala Asp Gly Tyr Ala Arg Ile
50 55 60

Lys Gly Met Ser Cys Ile Ile Thr Thr Phe Gly Val Gly Glu Leu Ser
65 70 75 80

Ala Leu Asn Gly Ile Ala Gly Ser Tyr Ala Glu His Val Gly Val Leu
85 90 95

His Val Val Gly Val Pro Ser Ile Ser Ser Gln Ala Lys Gln Leu Leu
100 105 110

Leu His His Thr Leu Gly Asn Gly Asp Phe Thr Val Phe His Arg Met
115 120 125

Ser Ala Asn Ile Ser Glu Thr Thr Ala Met Ile Thr Asp Ile Ala Asn
130 135 140

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

Arg Pro Val Tyr Leu Gly Leu Pro Ala Asn Leu Val Asp Leu Asn Val
165 170 175

Pro Ala Lys Leu Leu Glu Thr Pro Ile Asp Leu Ser Leu Lys Pro Asn
180 185 190

Asp Ala Glu Ala Glu Ala Glu Val Val Arg Thr Val Val Glu Leu Ile
195 200 205

Lys Asp Ala Lys Asn Pro Val Ile Leu Ala Asp Ala Cys Ala Ser Arg
210 215 220

His Asp Val Lys Ala Glu Thr Lys Lys Leu Met Asp Leu Thr Gln Phe
225 230 235 240

Pro Val Tyr Val Thr Pro Met Gly Lys Gly Ala Ile Asp Glu Gln His
245 250 255

ES 2 613 539 T3

Pro Arg Tyr Gly Gly Val Tyr Val Gly Thr Leu Ser Arg Pro Glu Val
 260 265 270

Lys Lys Ala Val Glu Ser Ala Asp Leu Ile Leu Ser Ile Gly Ala Leu
 275 280 285

Leu Ser Asp Phe Asn Thr Gly Ser Phe Ser Tyr Ser Tyr Lys Thr Lys
 290 295 300

Asn Ile Val Glu Phe His Ser Asp His Ile Lys Ile Arg Asn Ala Thr
 305 310 315 320

Phe Pro Gly Val Gln Met Lys Phe Ala Leu Gln Lys Leu Leu Asp Ala
 325 330 335

Ile Pro Glu Val Val Lys Asp Tyr Lys Pro Val Ala Val Pro Ala Arg
 340 345 350

Val Pro Ile Thr Lys Ser Thr Pro Ala Asn Thr Pro Met Lys Gln Glu
 355 360 365

Trp Met Trp Asn His Leu Gly Asn Phe Leu Arg Glu Gly Asp Ile Val
 370 375 380

Ile Ala Glu Thr Gly Thr Ser Ala Phe Gly Ile Asn Gln Thr Thr Phe
 385 390 395 400

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

Phe Thr Val Gly Ala Leu Leu Gly Ala Thr Met Ala Ala Glu Glu Leu
 420 425 430

Asp Pro Lys Lys Arg Val Ile Leu Phe Ile Gly Asp Gly Ser Leu Gln
 435 440 445

Leu Thr Val Gln Glu Ile Ser Thr Met Ile Arg Trp Gly Leu Lys Pro
 450 455 460

Tyr Ile Phe Val Leu Asn Asn Asn Gly Tyr Thr Ile Glu Lys Leu Ile
 465 470 475 480

His Gly Pro His Ala Glu Tyr Asn Glu Ile Gln Gly Trp Asp His Leu
 485 490 495

Ala Leu Leu Pro Thr Phe Gly Ala Arg Asn Tyr Glu Thr His Arg Val
 500 505 510

Ala Thr Thr Gly Glu Trp Glu Lys Leu Thr Gln Asp Lys Asp Phe Gln
 515 520 525

Asp Asn Ser Lys Ile Arg Met Ile Glu Val Met Leu Pro Val Phe Asp
 530 535 540

Ala Pro Gln Asn Leu Val Lys Gln Ala Gln Leu Thr Ala Ala Thr Asn
 545 550 555 560

Ala Lys Gln

ES 2 613 539 T3

<210> 17
 <211> 1692
 <212> ADN
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

5

<400> 17

```

atgtctgaaa ttactcttgg aaaatactta tttgaaagat tgaagcaagt taatgttaac      60
accatttttg ggctaccagg cgacttcaac ttgtccctat tggacaagat ttacgaggtta      120
gatggattga gatgggctgg taatgcaaat gagctgaacg cgcctatgc cgccgatgg      180
tacgcacgca tcaagggttt atctgtgctg gtaactactt ttggcgtagg tgaattatcc      240
gccttgaatg gtattgcagg atcgtatgca gaacacgctg gtgtactgca tgttgttgg      300
gtccccctca tctccgctca ggctaagcaa ttgttgttgc atcatacctt gggtaacgg      360
gattttaccg tttttcacag aatgtccgcc aatatctcag aaactacatc aatgattaca      420
gacattgcta cagccccctc agaaatcgat aggttgatca ggacaacatt tataacacaa      480
aggcctagct acttgggggt gccagcgaat ttggtagatc taaaggttcc tggttctctt      540
ttggaaaaac cgattgatct atcattaaaa cctaacgatc ccgaagctga aaaggaagtt      600
attgataccg tactagaatt gatccagaat tcgaaaaacc ctgttatact atcggatgcc      660
tgtgcttcta ggcacaacgt taaaaaagaa acccagaagt taattgattt gacgcaattc      720
ccagcttttg tgacacctct aggtaaaggg tcaatagatg aacagcatcc cagatatggc      780
gggtgtttatg tgggaacgct gtccaaacaa gacgtgaaac aggccgttga gtcggctgat      840
ttgatccttt cggtcgggtc tttgctctct gattttaaca caggttcgtt ttcctactcc      900
tacaagacta aaaatgtagt ggagtttcat tccgattacg taaaggtgaa gaacgctacg      960
ttcctcggtg tacaaatgaa atttgcaact caaaacttac tgaaggttat tcccgatggt      1020
gttaagggct acaagagcgt tcccgtacca accaaaactc ccgcaaacia aggtgtacct      1080
gctagcacgc cttgaaaca agagtgggtg tggaaacgaat tgtccaaatt cttgcaagaa      1140
ggtgatgtta tcatttccga gaccggcacg tctgccttcg gtatcaatca aactatcttt      1200
cctaaggacg cctacgggat ctcgcagggt ttgtgggggt ccatcggttt tacaacagga      1260
gcaactttag gtgctgcctt tgccgctgag gagattgacc ccaacaagag agtcatctta      1320
ttcataggtg acgggtcttt gcagttaacc gtccaagaaa tctccaccat gatcagatgg      1380
gggttaaagc cgtatctttt tgtccttaac aacgacggct acactatcga aaagctgatt      1440
catgggcctc acgcagagta caacgaaatc cagacctggg atcacctcgc cctgttgccc      1500

gcatttggtg cgaaaaagta cgaaaatcac aagatcgcca ctacgggtga gtgggatgcc      1560
ttaaccactg attcagagtt ccagaaaaac tcggtgatca gactaattga actgaaactg      1620
cccgtctttg atgctccgga aagtttgatc aaacaagcgc aattgactgc cgctacaaat      1680
gccaaacaat aa                                                                1692
    
```

10

<210> 18
 <211> 563
 <212> PRT
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

15

<400> 18

ES 2 613 539 T3

Met Ser Glu Ile Thr Leu Gly Lys Tyr Leu Phe Glu Arg Leu Lys Gln
1 5 10 15

Val Asn Val Asn Thr Ile Phe Gly Leu Pro Gly Asp Phe Asn Leu Ser
20 25 30

Leu Leu Asp Lys Ile Tyr Glu Val Asp Gly Leu Arg Trp Ala Gly Asn
35 40 45

Ala Asn Glu Leu Asn Ala Ala Tyr Ala Ala Asp Gly Tyr Ala Arg Ile
50 55 60

Lys Gly Leu Ser Val Leu Val Thr Thr Phe Gly Val Gly Glu Leu Ser
65 70 75 80

Ala Leu Asn Gly Ile Ala Gly Ser Tyr Ala Glu His Val Gly Val Leu
85 90 95

His Val Val Gly Val Pro Ser Ile Ser Ala Gln Ala Lys Gln Leu Leu
100 105 110

Leu His His Thr Leu Gly Asn Gly Asp Phe Thr Val Phe His Arg Met
115 120 125

Ser Ala Asn Ile Ser Glu Thr Thr Ser Met Ile Thr Asp Ile Ala Thr
130 135 140

Ala Pro Ser Glu Ile Asp Arg Leu Ile Arg Thr Thr Phe Ile Thr Gln
145 150 155 160

Arg Pro Ser Tyr Leu Gly Leu Pro Ala Asn Leu Val Asp Leu Lys Val
165 170 175

Pro Gly Ser Leu Leu Glu Lys Pro Ile Asp Leu Ser Leu Lys Pro Asn
180 185 190

Asp Pro Glu Ala Glu Lys Glu Val Ile Asp Thr Val Leu Glu Leu Ile
195 200 205

ES 2 613 539 T3

Gln Asn Ser Lys Asn Pro Val Ile Leu Ser Asp Ala Cys Ala Ser Arg
 210 215 220

His Asn Val Lys Lys Glu Thr Gln Lys Leu Ile Asp Leu Thr Gln Phe
 225 230 235 240

Pro Ala Phe Val Thr Pro Leu Gly Lys Gly Ser Ile Asp Glu Gln His
 245 250 255

Pro Arg Tyr Gly Gly Val Tyr Val Gly Thr Leu Ser Lys Gln Asp Val
 260 265 270

Lys Gln Ala Val Glu Ser Ala Asp Leu Ile Leu Ser Val Gly Ala Leu
 275 280 285

Leu Ser Asp Phe Asn Thr Gly Ser Phe Ser Tyr Ser Tyr Lys Thr Lys
 290 295 300

Asn Val Val Glu Phe His Ser Asp Tyr Val Lys Val Lys Asn Ala Thr
 305 310 315 320

Phe Leu Gly Val Gln Met Lys Phe Ala Leu Gln Asn Leu Leu Lys Val
 325 330 335

Ile Pro Asp Val Val Lys Gly Tyr Lys Ser Val Pro Val Pro Thr Lys
 340 345 350

Thr Pro Ala Asn Lys Gly Val Pro Ala Ser Thr Pro Leu Lys Gln Glu
 355 360 365

Trp Leu Trp Asn Glu Leu Ser Lys Phe Leu Gln Glu Gly Asp Val Ile
 370 375 380

Ile Ser Glu Thr Gly Thr Ser Ala Phe Gly Ile Asn Gln Thr Ile Phe
 385 390 395 400

Pro Lys Asp Ala Tyr Gly Ile Ser Gln Val Leu Trp Gly Ser Ile Gly
 405 410 415

Phe Thr Thr Gly Ala Thr Leu Gly Ala Ala Phe Ala Ala Glu Glu Ile
 420 425 430

Asp Pro Asn Lys Arg Val Ile Leu Phe Ile Gly Asp Gly Ser Leu Gln
 435 440 445

Leu Thr Val Gln Glu Ile Ser Thr Met Ile Arg Trp Gly Leu Lys Pro
 450 455 460

Tyr Leu Phe Val Leu Asn Asn Asp Gly Tyr Thr Ile Glu Lys Leu Ile
 465 470 475 480

ES 2 613 539 T3

His Gly Pro His Ala Glu Tyr Asn Glu Ile Gln Thr Trp Asp His Leu
 485 490 495

Ala Leu Leu Pro Ala Phe Gly Ala Lys Lys Tyr Glu Asn His Lys Ile
 500 505 510

Ala Thr Thr Gly Glu Trp Asp Ala Leu Thr Thr Asp Ser Glu Phe Gln
 515 520 525

Lys Asn Ser Val Ile Arg Leu Ile Glu Leu Lys Leu Pro Val Phe Asp
 530 535 540

Ala Pro Glu Ser Leu Ile Lys Gln Ala Gln Leu Thr Ala Ala Thr Asn
 545 550 555 560

Ala Lys Gln

- <210> 19
- <211> 1908
- 5 <212> ADN
- <213> Saccharomyces cerevisiae

<400> 19

```

atggcacctg ttacaattga aaagtctgta aatcaagaag aacgacacct tgtttccaac      60
cgatcagcaa caattccggt tggatgaatac atatttaaaa gattggtgtc catcgatacg      120
aaatcagttt tcggtgttcc tggatgacttc aacttatctc tattagaata tctctattca      180
cctagtgttg aatcagctgg cctaagatgg gtcggcacgt gtaatgaact gaacgccgct      240
tatgcccggc acggatattc ccgttactct aataagattg gctgtttaat aaccacgtat      300
ggcgttggtg aattaagcgc cttgaacggt atagccggtt cgttcgctga aaatgtcaaa      360
gttttgacac ttgttggtgt ggccaagtcc atagattcgc gttcaagtaa ctttagtgat      420
cggaacctac atcatttggg cccacagcta catgattcaa attttaaagg gccaaatcat      480
aaagtatatc atgatatggt aaaagataga gtcgcttgct cggtagccta cttggaggat      540
attgaaactg catgtgacca agtcgataat gttatccgcg atatttaca gtattctaaa      600
cctggttata tttttgttcc tgcagatttt gcggatatgt ctgttacatg tgataatttg      660
gttaatgttc cacgtatata tcaacaagat tgtatagtat acccttctga aaaccaattg      720
tctgacataa tcaacaagat tactagttgg atatattcca gtaaacacc tcgcatcctt      780
ggagacgtac tgactgatag gtaggtgtg agtaactttt tgaacaagct tatctgcaaa      840
actgggattt ggaatttttc cactgttatg ggaaaatctg taattgatga gtcaaaccca      900
acttatatgg gtcaatataa tggtaaagaa ggtttaaaac aagtctatga acattttgaa      960
ctgtgcgact tggctcttca ttttggagtc gacatcaatg aaattaataa tgggcattat     1020
acttttactt ataaacaaa tgctaaaatc attcaatttc atccgaatta tattegcctt     1080
gtggacacta ggcagggcaa tgagcaaatg ttcaaaggaa tcaattttgc ccctatttta     1140
    
```

10

ES 2 613 539 T3

aaagaactat acaagcgcac tgacgtttct aaacttttct tgcaatatga ttcaaatgta 1200
 actcaatata cgaacgaaac aatgcgggta gaagatccta ccaatggaca atcaagcatt 1260
 attacacaag ttcacttaca aaagacgatg cctaaatfff tgaaccctgg tgatgttgc 1320
 gtttgtgaaa caggctcttt tcaattctct gttcgtgatt tgcggtttcc ttcgcaatta 1380
 aaatatatat cgcaaggatt tttcctttcc attggcatgg cccttctctgc cgccctaggt 1440
 gttggaattg ccatgcaaga ccaactcaaac gctcacatca atggtggcaa cgtaaaagag 1500
 gactataagc caagattaat tttgtttgaa ggtgacggg cagcacagat gacaatccaa 1560
 gaactgagca ccattctgaa gtgcaatatt ccaactagaag ttatcatttg gaacaataac 1620
 ggctacacta ttgaaagagc catcatgggc cctaccaggt cgtataacga cgttatgtct 1680
 tggaaatgga ccaactatt tgaagcattc ggagacttcg acggaaagta tactaatagc 1740
 actctcattc aatgtccctc taaattagca ctgaaattgg aggagcttaa gaattcaaac 1800
 aaaagaagcg ggatagaact tttagaagtc aaattagggc aattggattt ccccgaacag 1860
 ctaaagtgca tggttgaagc agcggcactt aaaagaaata aaaaatag 1908

<210> 20

<211> 635

5 <212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 20

Met Ala Pro Val Thr Ile Glu Lys Phe Val Asn Gln Glu Glu Arg His
 1 5 10 15

Leu Val Ser Asn Arg Ser Ala Thr Ile Pro Phe Gly Glu Tyr Ile Phe
 20 25 30

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

Asp Phe Asn Leu Ser Leu Leu Glu Tyr Leu Tyr Ser Pro Ser Val Glu
 50 55 60

Ser Ala Gly Leu Arg Trp Val Gly Thr Cys Asn Glu Leu Asn Ala Ala
 65 70 75 80

Tyr Ala Ala Asp Gly Tyr Ser Arg Tyr Ser Asn Lys Ile Gly Cys Leu
 85 90 95

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

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

10 Lys Ser Ile Asp Ser Arg Ser Ser Asn Phe Ser Asp Arg Asn Leu His

ES 2 613 539 T3

130	135	140													
His 145	Leu	Val	Pro	Gln	Leu 150	His	Asp	Ser	Asn	Phe 155	Lys	Gly	Pro	Asn	His 160
Lys	Val	Tyr	His	Asp 165	Met	Val	Lys	Asp	Arg 170	Val	Ala	Cys	Ser	Val 175	Ala
Tyr	Leu	Glu	Asp 180	Ile	Glu	Thr	Ala	Cys 185	Asp	Gln	Val	Asp	Asn 190	Val	Ile
Arg	Asp	Ile 195	Tyr	Lys	Tyr	Ser	Lys 200	Pro	Gly	Tyr	Ile	Phe 205	Val	Pro	Ala
Asp	Phe 210	Ala	Asp	Met	Ser	Val 215	Thr	Cys	Asp	Asn	Leu 220	Val	Asn	Val	Pro
Arg 225	Ile	Ser	Gln	Gln	Asp 230	Cys	Ile	Val	Tyr	Pro 235	Ser	Glu	Asn	Gln	Leu 240
Ser	Asp	Ile	Ile	Asn 245	Lys	Ile	Thr	Ser	Trp 250	Ile	Tyr	Ser	Ser	Lys 255	Thr
Pro	Ala	Ile	Leu 260	Gly	Asp	Val	Leu	Thr 265	Asp	Arg	Tyr	Gly	Val 270	Ser	Asn
Phe	Leu	Asn 275	Lys	Leu	Ile	Cys	Lys 280	Thr	Gly	Ile	Trp	Asn 285	Phe	Ser	Thr
Val 290	Met	Gly	Lys	Ser	Val	Ile 295	Asp	Glu	Ser	Asn	Pro 300	Thr	Tyr	Met	Gly
Gln 305	Tyr	Asn	Gly	Lys	Glu 310	Gly	Leu	Lys	Gln	Val 315	Tyr	Glu	His	Phe	Glu 320
Leu	Cys	Asp	Leu	Val 325	Leu	His	Phe	Gly	Val 330	Asp	Ile	Asn	Glu	Ile 335	Asn
Asn	Gly	His 340	Tyr	Thr	Phe	Thr	Tyr	Lys 345	Pro	Asn	Ala	Lys	Ile 350	Ile	Gln
Phe	His	Pro 355	Asn	Tyr	Ile	Arg	Leu 360	Val	Asp	Thr	Arg	Gln 365	Gly	Asn	Glu
Gln 370	Met	Phe	Lys	Gly	Ile	Asn 375	Phe	Ala	Pro	Ile	Leu 380	Lys	Glu	Leu	Tyr
Lys 385	Arg	Ile	Asp	Val	Ser 390	Lys	Leu	Ser	Leu	Gln 395	Tyr	Asp	Ser	Asn	Val 400
Thr	Gln	Tyr	Thr	Asn	Glu	Thr	Met	Arg	Leu	Glu	Asp	Pro	Thr	Asn	Gly

ES 2 613 539 T3

405 410 415

Gln Ser Ser Ile Ile Thr Gln Val His Leu Gln Lys Thr Met Pro Lys
420 425 430

Phe Leu Asn Pro Gly Asp Val Val Val Cys Glu Thr Gly Ser Phe Gln
435 440 445

Phe Ser Val Arg Asp Phe Ala Phe Pro Ser Gln Leu Lys Tyr Ile Ser
450 455 460

Gln Gly Phe Phe Leu Ser Ile Gly Met Ala Leu Pro Ala Ala Leu Gly
465 470 475 480

Val Gly Ile Ala Met Gln Asp His Ser Asn Ala His Ile Asn Gly Gly
485 490 495

Asn Val Lys Glu Asp Tyr Lys Pro Arg Leu Ile Leu Phe Glu Gly Asp
500 505 510

Gly Ala Ala Gln Met Thr Ile Gln Glu Leu Ser Thr Ile Leu Lys Cys
515 520 525

Asn Ile Pro Leu Glu Val Ile Ile Trp Asn Asn Asn Gly Tyr Thr Ile
530 535 540

Glu Arg Ala Ile Met Gly Pro Thr Arg Ser Tyr Asn Asp Val Met Ser
545 550 555 560

Trp Lys Trp Thr Lys Leu Phe Glu Ala Phe Gly Asp Phe Asp Gly Lys
565 570 575

Tyr Thr Asn Ser Thr Leu Ile Gln Cys Pro Ser Lys Leu Ala Leu Lys
580 585 590

Leu Glu Glu Leu Lys Asn Ser Asn Lys Arg Ser Gly Ile Glu Leu Leu
595 600 605

Glu Val Lys Leu Gly Glu Leu Asp Phe Pro Glu Gln Leu Lys Cys Met
610 615 620

Val Glu Ala Ala Ala Leu Lys Arg Asn Lys Lys
625 630 635

<210> 21

<211> 1830

5

<212> ADN

<213> Saccharomyces cerevisiae

<400> 21

atgaattcta gctatacaca gagatatgca ctgccgaagt gtatagcaat atcagattat 60

10

cttttccatc ggctcaacca gctgaacata cataccatat ttggactctc cggagaattt 120

ES 2 613 539 T3

agcatgccgt tgctggataa actatacaac attccgaact tacgatgggc cggtaattct 180
 aatgagttaa atgctgccta cgcagcagat ggatactcac gactaaaagg cttgggatgt 240
 ctcataacaa cctttggtgt aggcgaatta tcggcaatca atggcgtggc cggatcttac 300
 gctgaacatg taggaatact tcacatagtg ggtatgccgc caacaagtgc acaaacgaaa 360
 caactactac tgcatcatac tctgggcaat ggtgatttca cggattttca tagaatagcc 420
 agtgatgtag catgctatac aacattgatt attgactctg aattatgtgc cgacgaagtc 480
 gataagtga tcaaaaaggc ttggatagaa cagaggccag tatacatggg catgcctgtc 540
 aaccaggtaa atctcccgat tgaatcagca aggcctaata cacctctgga tttacaattg 600
 cataaaaacg acccagacgt agagaaaagaa gttattttctc gaatattgag ttttatatac 660
 aaaagccaga atccggcaat catcgtagat gcatgtacta gtcgacagaa tttaatcgag 720
 gagactaaag agctttgtaa taggcctaaa tttccagttt ttgttacacc tatgggtaag 780
 ggtacagtaa acgaaacaga cccgcaattt gggggcgtat tcacgggctc gatatcagcc 840
 ccagaagtaa gagaagtagt tgattttgcc gattttatca tcgctattgg ttgcatgctc 900
 tccgaattca gcacgtcaac tttccacttc caatataaaa ctaagaattg tgcgctacta 960
 tattctacat ctgtgaaatt gaaaaatgcc acatatacctg acttgagcat taaattacta 1020
 ctacagaaaa tattagcaaa tctttagtaa tctaaactgt cttaccaacc aagcgaacaa 1080
 cccagtatga tggttccaag accttaccga gcaggaaatg tcctcttgag acaagaatgg 1140
 gtctggaatg aaatatccca ttggttccaa ccaggtgaca taatcataac agaaactggt 1200
 gcttctgcat ttggagttaa ccagaccaga tttccggtaa atacactagg tatttcgcaa 1260
 gctctttggg gatctgtcgg atatacaatg ggggcgtgtc ttggggcaga atttgctggt 1320
 caagagataa acaaggataa attccccgca actaaacata gagttattct gtttatgggt 1380
 gacggtgctt tccaattgac agttcaagaa ttatccacaa ttgtaagtg gggattgaca 1440
 ccttatattt ttgtgatgaa taaccaaggt tactctgtgg acaggttttt gcatcacagg 1500
 tcagatgcta gttattacga tatccaacct tggactact tgggattatt gcgagtattt 1560
 ggttgacga actacgaaac gaaaaaaatt attactgttg gagaattcag atccatgatc 1620
 agtgacccaa actttgcgac caatgacaaa attcggatga tagagattat gctaccacca 1680
 agggatgttc cacaggctct gcttgacagg tgggtggtag aaaaagaaca gagcaacaa 1740
 gtgcaagagg agaacgaaaa ttctagcgca gtaaatacgc caactccaga attccaacca 1800
 cttctaaaaa aaaatcaagt tggatactga 1830

<210> 22

<211> 609

5 <212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 22

10 Met Asn Ser Ser Tyr Thr Gln Arg Tyr Ala Leu Pro Lys Cys Ile Ala

ES 2 613 539 T3

1 5 10 15
 Ile Ser Asp Tyr₂₀ Leu Phe His Arg Leu₂₅ Asn Gln Leu Asn Ile₃₀ His Thr
 Ile Phe Gly₃₅ Leu Ser Gly Glu Phe₄₀ Ser Met Pro Leu Leu₄₅ Asp Lys Leu
 Tyr Asn Ile₅₀ Pro Asn Leu Arg₅₅ Trp Ala Gly Asn Ser₆₀ Asn Glu Leu Asn
 Ala Ala Tyr Ala Ala Asp₇₀ Gly Tyr Ser Arg Leu₇₅ Lys Gly Leu Gly Cys₈₀
 Leu Ile Thr Thr Phe₈₅ Gly Val Gly Glu Leu₉₀ Ser Ala Ile Asn Gly₉₅ Val
 Ala Gly Ser Tyr₁₀₀ Ala Glu His Val Gly₁₀₅ Ile Leu His Ile Val₁₁₀ Gly Met
 Pro Pro Thr₁₁₅ Ser Ala Gln Thr Lys₁₂₀ Gln Leu Leu Leu His₁₂₅ His Thr Leu
 Gly Asn Gly₁₃₀ Asp Phe Thr Val₁₃₅ Phe His Arg Ile Ala₁₄₀ Ser Asp Val Ala
 Cys Tyr Thr Thr Leu Ile₁₅₀ Ile Asp Ser Glu Leu₁₅₅ Cys Ala Asp Glu Val₁₆₀
 Asp Lys Cys Ile Lys₁₆₅ Lys Ala Trp Ile Glu Gln Arg Pro Val Tyr₁₇₅ Met
 Gly Met Pro Val₁₈₀ Asn Gln Val Asn Leu₁₈₅ Pro Ile Glu Ser Ala₁₉₀ Arg Leu
 Asn Thr Pro₁₉₅ Leu Asp Leu Gln Leu His Lys Asn Asp Pro₂₀₅ Asp Val Glu
 Lys Glu Val Ile Ser Arg Ile₂₁₅ Leu Ser Phe Ile Tyr₂₂₀ Lys Ser Gln Asn
 Pro Ala Ile Ile Val Asp₂₃₀ Ala Cys Thr Ser Arg Gln Asn Leu Ile Glu₂₄₀
 Glu Thr Lys Glu Leu₂₄₅ Cys Asn Arg Leu Lys₂₅₀ Phe Pro Val Phe Val₂₅₅ Thr
 Pro Met Gly Lys₂₆₀ Gly Thr Val Asn Glu₂₆₅ Thr Asp Pro Gln Phe₂₇₀ Gly Gly
 val Phe Thr Gly Ser Ile Ser Ala Pro Glu val Arg Glu Val val Asp

ES 2 613 539 T3

275					280					285					
Phe	Ala	Asp	Phe	Ile	Ile	Val	Ile	Gly	Cys	Met	Leu	Ser	Glu	Phe	Ser
	290					295					300				
Thr	Ser	Thr	Phe	His	Phe	Gln	Tyr	Lys	Thr	Lys	Asn	Cys	Ala	Leu	Leu
305					310					315					320
Tyr	Ser	Thr	Ser	Val	Lys	Leu	Lys	Asn	Ala	Thr	Tyr	Pro	Asp	Leu	Ser
				325					330					335	
Ile	Lys	Leu	Leu	Leu	Gln	Lys	Ile	Leu	Ala	Asn	Leu	Asp	Glu	Ser	Lys
			340					345					350		
Leu	Ser	Tyr	Gln	Pro	Ser	Glu	Gln	Pro	Ser	Met	Met	Val	Pro	Arg	Pro
		355					360					365			
Tyr	Pro	Ala	Gly	Asn	Val	Leu	Leu	Arg	Gln	Glu	Trp	Val	Trp	Asn	Glu
	370				375						380				
Ile	Ser	His	Trp	Phe	Gln	Pro	Gly	Asp	Ile	Ile	Ile	Thr	Glu	Thr	Gly
385					390					395					400
Ala	Ser	Ala	Phe	Gly	Val	Asn	Gln	Thr	Arg	Phe	Pro	Val	Asn	Thr	Leu
				405					410					415	
Gly	Ile	Ser	Gln	Ala	Leu	Trp	Gly	Ser	Val	Gly	Tyr	Thr	Met	Gly	Ala
			420					425					430		
Cys	Leu	Gly	Ala	Glu	Phe	Ala	Val	Gln	Glu	Ile	Asn	Lys	Asp	Lys	Phe
		435					440					445			
Pro	Ala	Thr	Lys	His	Arg	Val	Ile	Leu	Phe	Met	Gly	Asp	Gly	Ala	Phe
	450				455						460				
Gln	Leu	Thr	Val	Gln	Glu	Leu	Ser	Thr	Ile	Val	Lys	Trp	Gly	Leu	Thr
465					470					475					480
Pro	Tyr	Ile	Phe	Val	Met	Asn	Asn	Gln	Gly	Tyr	Ser	Val	Asp	Arg	Phe
				485					490					495	
Leu	His	His	Arg	Ser	Asp	Ala	Ser	Tyr	Tyr	Asp	Ile	Gln	Pro	Trp	Asn
			500					505					510		
Tyr	Leu	Gly	Leu	Leu	Arg	Val	Phe	Gly	Cys	Thr	Asn	Tyr	Glu	Thr	Lys
		515					520					525			
Lys	Ile	Ile	Thr	Val	Gly	Glu	Phe	Arg	Ser	Met	Ile	Ser	Asp	Pro	Asn
	530				535						540				
Phe	Ala	Thr	Asn	Asp	Lys	Ile	Arg	Met	Ile	Glu	Ile	Met	Leu	Pro	Pro

ES 2 613 539 T3

```

545          550          555          560
Arg Asp Val Pro Gln Ala Leu Leu Asp Arg Trp Val Val Glu Lys Glu
          565          570
Gln Ser Lys Gln Val Gln Glu Glu Asn Glu Asn Ser Ser Ala Val Asn
          580          585          590
Thr Pro Thr Pro Glu Phe Gln Pro Leu Leu Lys Lys Asn Gln Val Gly
          595          600          605

Tyr

```

```

<210> 23
<211> 1047
5 <212> ADN
<213> Saccharomyces cerevisiae

```

```

<400> 23
atgtctatcc cagaaactca aaaagggtgt atcttctacg aatcccacgg taagttggaa          60
tacaagata ttccagttcc aaagccaaag gccaacgaat tgttgatcaa cgtaaatac          120
tctgggtgtc gtcacactga cttgcacgct tggcacggtg actggccatt gccagttaag          180
ctaccattag tcggtggtca cgaagggtcc ggtgtcgttg tcggcatggg tgaaaacgtt          240
aagggtcggg agatcgggtga ctacgccggt atcaaatggt tgaacggttc ttgtatggcc          300
tgtgaatact gtgaattggg taacgaatcc aactgtcctc acgctgactt gtctggttac          360
accacgacg gttctttcca acaatacgtc accgctgacg ctggtcaagc cgctcacatt          420
cctcaaggta ccgacttggc ccaagtcgcc cccatcttgt gtgctggtat caccgtctac          480
aaggctttga agtctgctaa cttgatggcc ggtcactggg ttgctatctc cggtgctgct          540
ggtggtctag gttctttggc tgttcaatac gccaaaggta tgggttacag agtcttgggt          600
attgacggtg gtgaaggtaa ggaagaatta ttcagatcca tcggtggtga agtcttcatt          660
gacttcaactc aggaaaagga cattgtcggg gctgttctaa aggccactga cggtgggtgct          720
cacggtgtca tcaacgtttc cgtttccgaa gccgctattg aagcttctac cagatacgtt          780
agagctaacg gtaccaccgt tttggtcggg atgccagctg gtgccaagtg ttgttctgat          840
gtcttcaacc aagtcgtcaa gtccatctct attgttgggt cttacgtcgg taacagagct          900
gacaccagag aagctttgga cttcttcgcc agaggttggg tcaagtctcc aatcaaggtt          960
gtcggcttgt ctaccttggc agaaatttac gaaaagatgg aaaagggtca aatcgttggg          1020
10 agatacgttg ttgacacttc taaataa          1047

```

```

<210> 24
<211> 348
15 <212> PRT
<213> Saccharomyces cerevisiae

```

```

<400> 24

```

ES 2 613 539 T3

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

ES 2 613 539 T3

Ala Gly Ala Lys Cys Cys Ser Asp Val Phe Asn Gln Val Val Lys Ser
 275 280 285

Ile Ser Ile Val Gly Ser Tyr Val Gly Asn Arg Ala Asp Thr Arg Glu
 290 295 300

Ala Leu Asp Phe Phe Ala Arg Gly Leu Val Lys Ser Pro Ile Lys Val
 305 310 315 320

Val Gly Leu Ser Thr Leu Pro Glu Ile Tyr Glu Lys Met Glu Lys Gly
 325 330 335

Gln Ile Val Gly Arg Tyr Val Val Asp Thr Ser Lys
 340 345

<210> 25

<211> 1047

5 <212> ADN

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 25

```

atgtctattc cagaaactca aaaagccatt atcttctacg aatccaacgg caagttggag      60
cataaggata tcccagttcc aaagccaaag cccaacgaat tgттаатcaa cgтcaagtac      120
tctggtgtct gccacaccga tttgcacgct tggcatggtg actggccatt gccaactaag      180
ttaccattag ttggtggtca cgaaggtgcc ggtgtcgttg tcggcatggg tgaaaacgtt      240
aagggctgga agatcgggta ctacgccggt atcaaatggt tgaacggttc ttgtatggcc      300
tgtgaatact gtgaattggg taacgaatcc aactgtcctc acgctgactt gtctggttac      360
accacgacg gttctttcca agaatacgtc acccgtgacg ctgttcaagc cgctcacatt      420
cctcaaggta ctgacttggc tgaagtcgcg ccaatcttgt gtgctggtat caccgtatac      480
aaggctttga agtctgccaa cttgagagca ggccactggg cggccatttc tgggtctgct      540
ggtggtctag gttctttggc tgttcaatat gctaaggcga tgggttacag agtcttaggt      600
attgatggtg gtccaggaaa ggaagaattg tttacctcgc tcggtggtga agtattcatc      660
gacttcacca aagagaagga cattgttagc gcagtcgtta aggctaccaa cggcgggtgcc      720
cacggtatca tcaatgtttc cgtttccgaa gccgctatcg aagcttctac cagatactgt      780
agggcgaacg gtactgttgt cttggttggc ttgccagccg gtgcaaagtg ctctctgat      840
gtcttcaacc acgttgtcaa gtctatctcc attgtcggct cttacgtggg gaacagagct      900
gataccagag aagccttaga tttctttgcc agaggtctag tcaagtctcc aataaaggta      960
gttggcttat ccagtttacc agaaatttac gaaaagatgg agaaggcca aattgctggt     1020
agatacgttg ttgacacttc taaataa                                           1047
    
```

10

<210> 26

<211> 348

<212> PRT

15 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 26

ES 2 613 539 T3

Met Ser Ile Pro Glu Thr Gln Lys Ala Ile Ile Phe Tyr Glu Ser Asn
 1 5 10 15

Gly Lys Leu Glu His Lys Asp Ile Pro Val Pro Lys Pro Lys Pro Asn
 20 25 30

Glu Leu Leu Ile Asn Val Lys Tyr Ser Gly Val Cys His Thr Asp Leu
 35 40 45

His Ala Trp His Gly Asp Trp Pro Leu Pro Thr Lys Leu Pro Leu Val
 50 55 60

Gly Gly His Glu Gly Ala Gly Val Val Val Gly Met Gly Glu Asn Val
 65 70 75 80

Lys Gly Trp Lys Ile Gly Asp Tyr Ala Gly Ile Lys Trp Leu Asn Gly
 85 90 95

Ser Cys Met Ala Cys Glu Tyr Cys Glu Leu Gly Asn Glu Ser Asn Cys
 100 105 110

Pro His Ala Asp Leu Ser Gly Tyr Thr His Asp Gly Ser Phe Gln Glu
 115 120 125

Tyr Ala Thr Ala Asp Ala Val Gln Ala Ala His Ile Pro Gln Gly Thr
 130 135 140

Asp Leu Ala Glu Val Ala Pro Ile Leu Cys Ala Gly Ile Thr Val Tyr
 145 150 155 160

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

Ser Gly Ala Ala Gly Gly Leu Gly Ser Leu Ala Val Gln Tyr Ala Lys
 180 185 190

Ala Met Gly Tyr Arg Val Leu Gly Ile Asp Gly Gly Pro Gly Lys Glu
 195 200 205

Glu Leu Phe Thr Ser Leu Gly Gly Glu Val Phe Ile Asp Phe Thr Lys
 210 215 220

Glu Lys Asp Ile Val Ser Ala Val Val Lys Ala Thr Asn Gly Gly Ala
 225 230 235 240

His Gly Ile Ile Asn Val Ser Val Ser Glu Ala Ala Ile Glu Ala Ser
 245 250 255

Thr Arg Tyr Cys Arg Ala Asn Gly Thr Val Val Leu Val Gly Leu Pro

ES 2 613 539 T3

260 265 270

Ala Gly Ala Lys Cys Ser Ser Asp Val Phe Asn His Val Val Lys Ser
 275 280 285

Ile Ser Ile Val Gly Ser Tyr Val Gly Asn Arg Ala Asp Thr Arg Glu
 290 295 300

Ala Leu Asp Phe Phe Ala Arg Gly Leu Val Lys Ser Pro Ile Lys Val
 305 310 315 320

Val Gly Leu Ser Ser Leu Pro Glu Ile Tyr Glu Lys Met Glu Lys Gly
 325 330 335

Gln Ile Ala Gly Arg Tyr Val Val Asp Thr Ser Lys
 340 345

5 <210> 27
 <211> 1128
 <212> ADN
 <213> Saccharomyces cerevisiae

<400> 27

atgttgagaa cgtcaacatt gttcaccagg cgtgtccaac caagcctatt ttctagaaac 60
 attcttagat tgcaatccac agctgcaatc cctaagactc aaaaaggtgt catcttttat 120
 gagaataagg ggaagctgca ttacaaagat atcctgtgcc ccgagcctaa gccaaatgaa 180
 attttaatca acgttaaata ttctgggtga tgtcacaccg atttacatgc ttggcacggc 240
 gattggccat tacctgttaa actaccatta gtaggtggtc atgaaggtgc tgggtagtt 300
 gtcaaactag gttccaatgt caagggctgg aaagtcgggtg atttagcagg tatcaaattg 360
 ctgaacgggt cttgtatgac atgcgaattc tgtgaatcag gtcattgaatc aaattgtcca 420
 gatgctgatt tatctgggta cactcatgat ggttctttcc aacaatttgc gaccgctgat 480
 gctattcaag ccgccaaaat tcaacagggt accgacttgg ccgaagtagc cccaatatta 540
 tgtgctgggt ttactgtata taaagcacta aaagaggcag acttgaaagc tgggtgactgg 600
 gttgccatct ctgggtctgc aggtggcttg ggttccttgg ccggttcaata tgcaactgcg 660
 atgggttaca gagttctagg tattgatgca ggtgaggaaa aggaaaaact tttcaagaaa 720
 ttggggggtg aagtattcat cgactttact aaaacaaaga atatggtttc tgacattcaa 780
 gaagctacca aaggtggccc tcatgggtgc attaacgttt ccgtttctga agccgctatt 840
 tctctatcta cggaatatgt tagaccatgt ggtaccgtcg ttttggttgg tttgcccgct 900
 aacgcctacg ttaaatcaga ggtattctct catgtggtga agtccatcaa tatcaagggt 960
 tcttatgttg gtaacagagc tgatacgaga gaagccttag acttcttttag cagaggtttg 1020
 atcaaactac caatcaaaat tgttggatta tctgaattac caaaggttta tgacttgatg 1080
 gaaaagggca agattttggg tagatacgtc gtcgatacta gtaaataa 1128

10
 15 <210> 28
 <211> 375
 <212> PRT
 <213> saccharomyces cerevisiae

<400> 28

ES 2 613 539 T3

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

Phe Ser Arg Asn Ile Leu Arg Leu Gln Ser Thr Ala Ala Ile Pro Lys
20 25 30

Thr Gln Lys Gly Val Ile Phe Tyr Glu Asn Lys Gly Lys Leu His Tyr
35 40 45

Lys Asp Ile Pro Val Pro Glu Pro Lys Pro Asn Glu Ile Leu Ile Asn
50 55 60

Val Lys Tyr Ser Gly Val Cys His Thr Asp Leu His Ala Trp His Gly
65 70 75 80

Asp Trp Pro Leu Pro Val Lys Leu Pro Leu Val Gly Gly His Glu Gly
85 90 95

Ala Gly Val Val Val Lys Leu Gly Ser Asn Val Lys Gly Trp Lys Val
100 105 110

Gly Asp Leu Ala Gly Ile Lys Trp Leu Asn Gly Ser Cys Met Thr Cys
115 120 125

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

Ser Gly Tyr Thr His Asp Gly Ser Phe Gln Gln Phe Ala Thr Ala Asp
145 150 155 160

Ala Ile Gln Ala Ala Lys Ile Gln Gln Gly Thr Asp Leu Ala Glu Val
165 170 175

Ala Pro Ile Leu Cys Ala Gly Val Thr Val Tyr Lys Ala Leu Lys Glu
180 185 190

Ala Asp Leu Lys Ala Gly Asp Trp Val Ala Ile Ser Gly Ala Ala Gly
195 200 205

Gly Leu Gly Ser Leu Ala Val Gln Tyr Ala Thr Ala Met Gly Tyr Arg
210 215 220

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

Leu Gly Gly Glu Val Phe Ile Asp Phe Thr Lys Thr Lys Asn Met Val

ES 2 613 539 T3

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

<210> 29
 <211> 1149
 <212> ADN
 <213> Saccharomyces cerevisiae

<400> 29

atgtcttccg ttactggggt ttacattcca ccaatctctt tctttggtga aggtgcttta	60
gaagaaaccg ctgattacat caaaaacaag gattacaaaa aggctttgat cgttactgat	120
cctggatttg cagctattgg tctctccggt agagtccaaa agatggtgga agaacgtgac	180
ttaaacgttg ctatctatga caaaactcaa ccaaaccxaa atattgcaa tgtcacagct	240
ggtttgaagg ttttgaagga acaaaactct gaaattggtt tttccattgg tgggtggtct	300
gctcacgaca atgctaaggc cattgcttta ttggctacta acggtgggga aatcggagac	360
tatgaagggt tcaatcaatc taagaaggct gctttaccac tatttgccat caacactact	420
gctggtagct cttccgaaat gaccagattc actattatct ctaatgaaga aaagaaaatc	480
aagatggcta tcattgacaa caacgtcact ccagctggtg ctgtcaacga tccatctacc	540
atgtttggtt tgccacctgc tttgactgct gctactggtc tagatgcttt gactcactgt	600
atcgaagcct atgtttccac cgcttctaac ccaatcaccg atgcctgtgc tttgaagggt	660
attgatttga tcaatgaaag cttagtcgct gcatacaaag acggtaaaga caagaaggcc	720
agaactgaca tgtgttacgc tgaatacttg gcaggtagtg ctttcaacaa tgcttctcta	780
ggttatgttc atgcccttgc tcatcaactt ggtgggttct accacttgcc tcatgggtgt	840

10

ES 2 613 539 T3

tgtaacgctg tcttgttgcc tcatgttcaa gaggccaaca tgcaatgtcc aaaggccaag 900
 aagagattag gtgaaattgc tttgcatttc ggtgcttctc aagaagatcc agaagaaacc 960
 atcaaggctt tgcacgtttt aaacagaacc atgaacattc caagaaactt gaaagaatta 1020
 ggtgttaaaa ccgaagattt tgaaattttg gctgaacacg ccatgcatga tgcctgcat 1080
 ttgactaacc cagttcaatt caccaaagaa caagtggttg ccattatcaa gaaagcctat 1140
 gaatattaa 1149

<210> 30
 <211> 382
 <212> PRT
 <213> Saccharomyces cerevisiae

5

<400> 30

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

10

ES 2 613 539 T3

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

<210> 31
 <211> 1056
 <212> ADN
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 31

atgccttcgc aagtcattcc tgaaaaacaa aaggctattg tcttttatga gacagatgga 60
 aaattggaat ataaagacgt cacagttccg gaacctaacg ctaacgaaat tttagtccac 120
 gttaaataatt ctggtgtttg tcatagtgac ttgcacgcgt ggcacggtga ttggcattt 180
 caatgaaat ttccattaat cggtggctcac gaagggtgctg gtgttggtgt taagttggga 240
 tctaacgтта agggctggaa agtcggtgat tttgcaggtta taaaatggtt gaatgggact 300
 tgcatgtcct gtgaatattg tgaagtaggt aatgaatctc aatgtcctta tttggatggg 360
 actggcttca cacatgatgg tacttttcaa gaatacgcga ctgccgatgc cgttcaagct 420

5

10

ES 2 613 539 T3

gccccatattc caccaaactg caatcttgct gaagttgccc caatcttggtg tgcaggatc 480
 actgtttata aggcggttgaa aagagccaat gtgataccag gccaatgggt cactatatcc 540
 ggtgcatgcg gtggcttggg ttctctggca atccaatacg cccttgctat gggttacagg 600
 gtcattggta tcgatgggtg taatgccaag cgaaagttat ttgaacaatt aggcggagaa 660
 atattcatcg atttcacgga agaaaaagac attgttgggtg ctataataaa ggccactaat 720
 ggcggttctc atggagttat taatgtgtct gtttctgaag cagctatcga ggcttctacg 780
 aggtattgta ggcccaatgg tactgtcgtc ctggttggta tgccagctca tgcttactgc 840
 aattccgatg ttttcaatca agttgtaaaa tcaatctcca tcgttggatc ttgtgttgga 900
 aatagagctg atacaagga ggctttagat ttcttcgcca gaggtttgat caaatctccg 960
 atccacttag ctggcctatc ggatgttctt gaaatttttg caaagatgga gaagggtgaa 1020
 attgttggta gatatgttgt tgagacttct aatga 1056

<210> 32
 <211> 351
 <212> PRT
 <213> Saccharomyces cerevisiae

5

<400> 32

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

10

ES 2 613 539 T3

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

<210> 33
 <211> 1083
 <212> ADN
 <213> Saccharomyces cerevisiae

<400> 33

	atgtcttctc ctgagaaatt tgaaggtatc gctattcaat cacacgaaga ttggaaaaac	60
	ccaaagaaga caaagtatga cccaaaacca ttttacgatc atgacattga cattaagatc	120
	gaagcatgtg gtgtctgcgg tagtgatatt cattgtgcag ctggtcattg gggcaatatg	180
	aagatgccgc tagtcgttgg tcatgaaatc gttggtaaag ttgtcaagct agggccaag	240
	tcaaacagtg ggttgaaagt cggtaacgt gttggtgtag gtgctcaagt cttttcatgc	300
10	ttggaatgtg accgttgtaa gaatgataat gaaccatact gcaccaagtt tgttaccaca	360

ES 2 613 539 T3

tacagtcagc cttatgaaga cggctatgtg tcgcagggtg gctatgcaaa ctacgtcaga 420
 gttcatgaac attttgtggt gcctatccca gagaatattc catcacattt ggctgctcca 480
 ctattatgtg gtggtttgac tgtgtactct ccattggttc gtaacggttg cgggccaggt 540
 aaaaaagtgt gtatagttgg tcttgggtgt atcggcagta tgggtacatt gatttccaaa 600
 gccatggggg cagagacgta tgttatttct cgttcttcga gaaaaagaga agatgcaatg 660
 aagatgggcg ccgatcacta cattgctaca ttagaagaag gtgattgggg tgaaaagtac 720
 tttgacacct tcgacctgat tgtagtctgt gcttctctcc ttaccgacat tgacttcaac 780
 attatgccaa aggctatgaa ggttgggtgt agaattgtct caatctctat accagaacaa 840
 cacgaaatgt tatcgctaaa gccatatggc ttaaaggctg tctccatttc ttacagtgtc 900
 ttaggttcca tcaaagaatt gaaccaactc ttgaaattag tctctgaaaa agatatcaaa 960
 atttgggtgg aaacattacc tgttgggtgaa gccggcgctc atgaagcctt cgaaaggatg 1020
 gaaaagggtg acgttagata tagatttacc ttagtcggct acgacaaaga attttcagac 1080
 tag 1083

<210> 34
 <211> 360
 <212> PRT
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

5

<400> 34

Met Ser Tyr Pro Glu Lys Phe Glu Gly Ile Ala Ile Gln Ser His Glu
 1 5 10 15

Asp Trp Lys Asn Pro Lys Lys Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Pro Phe Tyr
 20 25 30

Asp His Asp Ile Asp Ile Lys Ile Glu Ala Cys Gly Val Cys Gly Ser
 35 40 45

Asp Ile His Cys Ala Ala Gly His Trp Gly Asn Met Lys Met Pro Leu
 50 55 60

Val Val Gly His Glu Ile Val Gly Lys Val Val Lys Leu Gly Pro Lys
 65 70 75 80

Ser Asn Ser Gly Leu Lys Val Gly Gln Arg Val Gly Val Gly Ala Gln
 85 90 95

Val Phe Ser Cys Leu Glu Cys Asp Arg Cys Lys Asn Asp Asn Glu Pro
 100 105 110

Tyr Cys Thr Lys Phe Val Thr Thr Tyr Ser Gln Pro Tyr Glu Asp Gly
 115 120 125

10 Tyr Val Ser Gln Gly Gly Tyr Ala Asn Tyr Val Arg Val His Glu His

ES 2 613 539 T3

130 135 140

Phe Val Val Pro Ile Pro Glu Asn Ile Pro Ser His Leu Ala Ala Pro
 145 150 160

Leu Leu Cys Gly Gly Leu Thr Val Tyr Ser Pro Leu Val Arg Asn Gly
 165 170 175

Cys Gly Pro Gly Lys Lys Val Gly Ile Val Gly Leu Gly Gly Ile Gly
 180 185 190

Ser Met Gly Thr Leu Ile Ser Lys Ala Met Gly Ala Glu Thr Tyr Val
 195 200 205

Ile Ser Arg Ser Ser Arg Lys Arg Glu Asp Ala Met Lys Met Gly Ala
 210 215 220

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

Phe Asp Thr Phe Asp Leu Ile Val Val Cys Ala Ser Ser Leu Thr Asp
 245 250 255

Ile Asp Phe Asn Ile Met Pro Lys Ala Met Lys Val Gly Gly Arg Ile
 260 265 270

Val Ser Ile Ser Ile Pro Glu Gln His Glu Met Leu Ser Leu Lys Pro
 275 280 285

Tyr Gly Leu Lys Ala Val Ser Ile Ser Tyr Ser Ala Leu Gly Ser Ile
 290 295 300

Lys Glu Leu Asn Gln Leu Leu Lys Leu Val Ser Glu Lys Asp Ile Lys
 305 310 315 320

Ile Trp Val Glu Thr Leu Pro Val Gly Glu Ala Gly Val His Glu Ala
 325 330 335

Phe Glu Arg Met Glu Lys Gly Asp Val Arg Tyr Arg Phe Thr Leu Val
 340 345 350

Gly Tyr Asp Lys Glu Phe Ser Asp
 355 360

<210> 35
 <211> 1086
 <212> ADN
 <213> Saccharomyces cerevisiae

<400> 35

5 atgctttacc cagaaaatt tcagggcatc ggtatttcca acgcaaagga ttggaagcat 60
 10 cctaaattag tgagttttga cccaaaacc tttggcgatc atgacgttga tgttgaaatt 120

ES 2 613 539 T3

gaagcctgtg gtatctgCGG atctgatttt catatagccg ttggtaattg gggTccagtc 180
 ccagaaaatc aaatccttgg acatgaaata attggcccg tggtgaaggT tggatccaag 240
 tgccacactg gggtaaaaat cggTgaccgt gttggtgttg gtgccaagc cttggcgtgt 300
 tttgagtgtg aacgttgcaa aagtgacaac gagcaatact gtaccaatga ccacgttttg 360
 actatgtgga ctcccttaca ggacggctac atttcacaag gaggccttgc ctcccacgtg 420
 aggcttcatg aacactttgc tattcaaata ccagaaaata ttccaagtcc gctagccgct 480
 ccattattgt gtggTggTat tacagttttc tctccactac taagaaatgg ctgtggTcca 540
 ggtaagaggg taggtattgt tggcatcggT ggtattgggc atatggggat tctgttggt 600
 aaagctatgg gagccgaggT ttatgcgttt tcgcgaggcc actccaagcg ggaggattct 660
 atgaaactcg gtgctgatca ctatattgct atgtTggagg ataaaggctg gacagaacaa 720
 tactctaacg ctttgacct tcttgtcgtt tgctcatcat ctttgtcgaag agttaatttt 780
 gacagtatcg ttaagattat gaagattgga ggctccatcg tttcaattgc tgctcctgaa 840
 gTtaatgaaa agcttgtttt aaaaccgttg ggcctaattg gagtatcaat ctcaagcagT 900
 gctatcggat ctaggaagga aatcgaacaa ctattgaaat tagtttccga aaagaatgTc 960
 aaaatatggg tggaaaaact tccgatcagc gaagaaggcg tcagccatgc ctttacaagg 1020
 atggaagcg gagacgtcaa atacagattt actttggTcg attatgataa gaaattccat 1080
 aaatag 1086

<210> 36

<211> 361

5 <212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 36

Met Leu Tyr Pro Glu Lys Phe Gln Gly Ile Gly Ile Ser Asn Ala Lys
 1 5 10 15

Asp Trp Lys His Pro Lys Leu Val Ser Phe Asp Pro Lys Pro Phe Gly
 20 25 30

Asp His Asp Val Asp Val Glu Ile Glu Ala Cys Gly Ile Cys Gly Ser
 35 40 45

Asp Phe His Ile Ala Val Gly Asn Trp Gly Pro Val Pro Glu Asn Gln
 50 55 60

Ile Leu Gly His Glu Ile Ile Gly Arg Val Val Lys Val Gly Ser Lys
 65 70 75 80

Cys His Thr Gly Val Lys Ile Gly Asp Arg Val Gly Val Gly Ala Gln
 85 90 95

10 Ala Leu Ala Cys Phe Glu Cys Glu Arg Cys Lys Ser Asp Asn Glu Gln

ES 2 613 539 T3

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

<210> 37

<211> 1161

5 <212> ADN

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 37

ES 2 613 539 T3

atgtccgccg ctactgttgg taaacctatt aagtgcattg ctgctgttgc gtatgatgcg 60
aagaaacctat taagtgttga agaaatcacg gtagacgccc caaaagcgca cgaagtacgt 120
atcaaaattg aatatactgc tgtatgccac actgatgcgt acactttatc aggcctctgat 180
ccagaaggac ttttccttgc cgttctgggc cacgaaggag ccggtatcgt agaattctgta 240
ggcgatgatg tcataacagt taagcctggg gatcatgtta ttgctttgta cactgctgag 300
tgtggcaaat gtaagtctcg tacttccggg aaaaccaact tatgtggtgc tggtagagct 360
actcaaggga aagggtgaat gcctgatggg accacaagat ttcataatgc gaaaggtgaa 420
gatatatacc atttcatggg ttgctctact ttttccgaat atactgtggg ggcagatgct 480
tctgtgggtg ccatcgatcc aaaagctccc ttggatgctg cctgtttact gggttgtggt 540
gttactactg gttttggggc ggctcttaag acagctaata tgcaaaaagg cgataccggt 600
gcagtatttg gctgcgggac tgtaggactc tccgttatcc aagggtgcaa gtttaagggc 660
gcttccaaga tcattgccat tgacattaac aataagaaaa aacaatattg ttctcaattt 720
gggtccacgg attttgtaa tcccaaggaa gatttgacca aagatcaaac tatcgttgaa 780
aagttaattg aatgactga tgggggtctg gattttactt ttgactgtac tgtaataacc 840
aaaattatga gagatgcttt ggaagcctgt cataaagggt ggggtcaatc tattatcatt 900
gggtgtggctg ccgctgggtg agaaatttct acaaggccgt tccagctggg cactggtaga 960
gtgtggaaag gctctgcttt tgggtggcatc aaaggtagat ctgaaatggg cggtttaatt 1020
aaagactatc aaaaagggtgc cttaaagtc gaagaattta tcactcacag gagaccattc 1080
aaagaaatca atcaagcctt tgaagatttg cataacgggt attgcttaag aaccgtcttg 1140
aagtctgatg aaataaaata g 1161

<210> 38

<211> 386

5 <212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 38

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

Ala Tyr Asp Ala Lys Lys Pro Leu Ser Val Glu Glu Ile Thr Val Asp
20 25 30

Ala Pro Lys Ala His Glu Val Arg Ile Lys Ile Glu Tyr Thr Ala Val
35 40 45

Cys His Thr Asp Ala Tyr Thr Leu Ser Gly Ser Asp Pro Glu Gly Leu
50 55 60

10

ES 2 613 539 T3

Phe Pro Cys Val Leu Gly His Glu Gly Ala Gly Ile Val Glu Ser Val
 65 70 75 80
 Gly Asp Asp Val Ile Thr Val Lys Pro Gly Asp His Val Ile Ala Leu
 85 90 95
 Tyr Thr Ala Glu Cys Gly Lys Cys Lys Phe Cys Thr Ser Gly Lys Thr
 100 105 110
 Asn Leu Cys Gly Ala Val Arg Ala Thr Gln Gly Lys Gly Val Met Pro
 115 120 125
 Asp Gly Thr Thr Arg Phe His Asn Ala Lys Gly Glu Asp Ile Tyr His
 130 135 140
 Phe Met Gly Cys Ser Thr Phe Ser Glu Tyr Thr Val Val Ala Asp Val
 145 150 155 160
 Ser Val Val Ala Ile Asp Pro Lys Ala Pro Leu Asp Ala Ala Cys Leu
 165 170 175
 Leu Gly Cys Gly Val Thr Thr Gly Phe Gly Ala Ala Leu Lys Thr Ala
 180 185 190
 Asn Val Gln Lys Gly Asp Thr Val Ala Val Phe Gly Cys Gly Thr Val
 195 200 205
 Gly Leu Ser Val Ile Gln Gly Ala Lys Leu Arg Gly Ala Ser Lys Ile
 210 215 220
 Ile Ala Ile Asp Ile Asn Asn Lys Lys Lys Gln Tyr Cys Ser Gln Phe
 225 230 235 240
 Gly Ala Thr Asp Phe Val Asn Pro Lys Glu Asp Leu Ala Lys Asp Gln
 245 250 255
 Thr Ile Val Glu Lys Leu Ile Glu Met Thr Asp Gly Gly Leu Asp Phe
 260 265 270
 Thr Phe Asp Cys Thr Gly Asn Thr Lys Ile Met Arg Asp Ala Leu Glu
 275 280 285
 Ala Cys His Lys Gly Trp Gly Gln Ser Ile Ile Ile Gly Val Ala Ala
 290 295 300
 Ala Gly Glu Glu Ile Ser Thr Arg Pro Phe Gln Leu Val Thr Gly Arg
 305 310 315 320
 Val Trp Lys Gly Ser Ala Phe Gly Gly Ile Lys Gly Arg Ser Glu Met
 325 330 335

ES 2 613 539 T3

Gly Gly Leu Ile Lys Asp Tyr Gln Lys Gly Ala Leu Lys Val Glu Glu
 340 345 350

Phe Ile Thr His Arg Arg Pro Phe Lys Glu Ile Asn Gln Ala Phe Glu
 355 360 365

Asp Leu His Asn Gly Asp Cys Leu Arg Thr Val Leu Lys Ser Asp Glu
 370 375 380

Ile Lys
 385

- <210> 39
- <211> 939
- 5 <212> ADN
- <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 39

```

atgcctgcta cgtaaagaa ttctctgct acattaaac taaatactgg tgcctccatt      60
ccagtgttg gtttcggcac ttggcgttc gttgacaata acggttacca ttctgtaatt      120
gcagcttga aagctggata cagacacatt gatgctgcgg ctatctattt gaatgaagaa      180
gaagttggca gggctattaa agattccgga gtccctcgtg aggaaatttt tattactact      240
aagctttggg gtacggaaca acgtgatccg gaagctgctc taaacaagtc ttgaaaaga      300
ctaggcttgg attatgttga cctatatctg atgcattggc cagtgccttt gaaaaccgac      360
agagttactg atggtaacgt tctgtgcatt ccaacattag aagatggcac tgttgacatc      420
gatactaagg aatggaattt tatcaagacg tgggagttga tgcaagagtt gccaaagacg      480
ggcaaaacta aagccgttgg tgtctctaatt ttttctatta acaacattaa agaattatta      540
gaatctccaa ataacaaggt ggtaccagct actaatcaaa ttgaaattca tccattgcta      600
ccacaagacg aattgattgc cttttgtaag gaaaagggta ttggtgttga agcctactca      660
ccatttggga gtgctaatgc tcctttacta aaagagcaag caattattga tatggctaaa      720
aagcacggcg ttgagccagc acagcttatt atcagttgga gtattcaaag aggctacgtt      780
gttctggcca aatcggttaa tcctgaaaga attgtatcca attttaagat tttcactctg      840
cctgaggatg atttcaagac tattagtaac ctatccaaag tgcatggtac aaagagatc      900
gttgatatga agtggggatc cttccaatt ttccaatga                               939
    
```

10

- <210> 40
- <211> 312
- <212> PRT
- 15 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 40

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

Gly Ala Ser Ile Pro Val Leu Gly Phe Gly Thr Trp Arg Ser Val Asp

20

ES 2 613 539 T3

	20					25		-----	30						
Asn	Asn	Gly	Tyr	His	Ser	Val	Ile	Ala	Ala	Leu	Lys	Ala	Gly	Tyr	Arg
		35					40					45			
His	Ile	Asp	Ala	Ala	Ala	Ile	Tyr	Leu	Asn	Glu	Glu	Glu	Val	Gly	Arg
	50					55					60				
Ala	Ile	Lys	Asp	Ser	Gly	Val	Pro	Arg	Glu	Glu	Ile	Phe	Ile	Thr	Thr
	65				70					75					80
Lys	Leu	Trp	Gly	Thr	Glu	Gln	Arg	Asp	Pro	Glu	Ala	Ala	Leu	Asn	Lys
				85					90					95	
Ser	Leu	Lys	Arg	Leu	Gly	Leu	Asp	Tyr	Val	Asp	Leu	Tyr	Leu	Met	His
			100					105						110	
Trp	Pro	Val	Pro	Leu	Lys	Thr	Asp	Arg	Val	Thr	Asp	Gly	Asn	Val	Leu
		115					120					125			
Cys	Ile	Pro	Thr	Leu	Glu	Asp	Gly	Thr	Val	Asp	Ile	Asp	Thr	Lys	Glu
	130					135					140				
Trp	Asn	Phe	Ile	Lys	Thr	Trp	Glu	Leu	Met	Gln	Glu	Leu	Pro	Lys	Thr
	145				150					155					160
Gly	Lys	Thr	Lys	Ala	Val	Gly	Val	Ser	Asn	Phe	Ser	Ile	Asn	Asn	Ile
				165					170					175	
Lys	Glu	Leu	Leu	Glu	Ser	Pro	Asn	Asn	Lys	Val	Val	Pro	Ala	Thr	Asn
			180					185					190		
Gln	Ile	Glu	Ile	His	Pro	Leu	Leu	Pro	Gln	Asp	Glu	Leu	Ile	Ala	Phe
		195				200						205			
Cys	Lys	Glu	Lys	Gly	Ile	Val	Val	Glu	Ala	Tyr	Ser	Pro	Phe	Gly	Ser
	210					215					220				
Ala	Asn	Ala	Pro	Leu	Leu	Lys	Glu	Gln	Ala	Ile	Ile	Asp	Met	Ala	Lys
	225				230					235					240
Lys	His	Gly	Val	Glu	Pro	Ala	Gln	Leu	Ile	Ile	Ser	Trp	Ser	Ile	Gln
				245					250					255	
Arg	Gly	Tyr	Val	Val	Leu	Ala	Lys	Ser	Val	Asn	Pro	Glu	Arg	Ile	Val
			260					265					270		
Ser	Asn	Phe	Lys	Ile	Phe	Thr	Leu	Pro	Glu	Asp	Asp	Phe	Lys	Thr	Ile
		275					280					285			
Ser	Asn	Leu	Ser	Lys	Val	His	Gly	Thr	Lys	Arg	Val	Val	Asp	Met	Lys
	290					295									
Trp	Gly	Ser	Phe	Pro	Ile	Phe	Gln								
	305				310										

5 <210> 41
 <211> 999

ES 2 613 539 T3

<212> ADN
 <213> Saccharomyces cerevisiae

<400> 41

5 atgatcagaa ttgctattaa cggtttcggt agaatcggta gattggtctt gagattggct 60
 ttgcaaagaa aagacattga ggttggtgct gtcaacgata catttatctc taacgattat 120
 gctgcttaca tggtaagta cgattctact catggtagat acaagggtac tgtttccat 180
 gacgacaagc acatcatcat tgatggtgtc aagatcgcta cctaccaaga aagagaccca 240
 gctaacttgc catggggttc tctaaagatc gatgtcgctg ttgactccac tgggtgtttc 300
 aaggaattgg acaccgctca aaagcacatt gacgctggg ccaagaagg tgcatacact 360
 gctccatctt ctctgctcc aatgtttggt gttggtgta accacactaa atacactcca 420
 gacaagaaga ttgtctcaa cgcttctgt accaccaact gttggctcc attggccaag 480
 gttatcaacg atgcttctcg tattgaagaa ggtttgatga ccaactgttca ctccatgacc 540
 gccactcaaa agactgttga tggccatcc cacaaggact ggagagggtg tagaaccgct 600
 tccggaaca ttatccatc ctctaccggt gctgctaagg ctgtcggtaa ggtcttgcca 660
 gaattgcaag gtaagtgtac cggtatggct ttcagagtcc caaccgtcga tgtttccggt 720
 gttgacttga ctgtcaagtt ggaaaaggaa gctacttacg accaaatcaa gaaggctggt 780
 aaggctgccg ctgaaggctc aatgaagggt gttttgggtt acaccgaaga tgccgttgct 840
 tcctctgatt tcttgggtga cactcacgct tccatctctg atgcctccgc tggatccaa 900
 ttgtctcaa agttcgtcaa gttgatttcc tggtagata acgaatacgg ttactccgcc 960
 agagttggtg acttgatcga atatgttgcc aaggcttaa 999

<210> 42
 <211> 332
 <212> PRT
 <213> Saccharomyces cerevisiae

<400> 42

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

ES 2 613 539 T3

50 55 60
 Ile Ile Ile Asp Gly Val Lys Ile Ala Thr Tyr Gln Glu Arg Asp Pro
 65 70 75 80
 Ala Asn Leu Pro Trp Gly Ser Leu Lys Ile Asp Val Ala Val Asp Ser
 85 90 95
 Thr Gly Val Phe Lys Glu Leu Asp Thr Ala Gln Lys His Ile Asp Ala
 100 105 110
 Gly Ala Lys Lys Val Val Ile Thr Ala Pro Ser Ser Ser Ala Pro Met
 115 120 125
 Phe Val Val Gly Val Asn His Thr Lys Tyr Thr Pro Asp Lys Lys Ile
 130 135 140
 Val Ser Asn Ala Ser Cys Thr Thr Asn Cys Leu Ala Pro Leu Ala Lys
 145 150 155
 Val Ile Asn Asp Ala Phe Gly Ile Glu Glu Gly Leu Met Thr Thr Val
 165 170 175
 His Ser Met Thr Ala Thr Gln Lys Thr Val Asp Gly Pro Ser His Lys
 180 185 190
 Asp Trp Arg Gly Gly Arg Thr Ala Ser Gly Asn Ile Ile Pro Ser Ser
 195 200 205
 Thr Gly Ala Ala Lys Ala Val Gly Lys Val Leu Pro Glu Leu Gln Gly
 210 215 220
 Lys Leu Thr Gly Met Ala Phe Arg Val Pro Thr Val Asp Val Ser Val
 225 230 235 240
 Val Asp Leu Thr Val Lys Leu Glu Lys Glu Ala Thr Tyr Asp Gln Ile
 245 250 255
 Lys Lys Ala Val Lys Ala Ala Ala Glu Gly Pro Met Lys Gly Val Leu
 260 265
 Gly Tyr Thr Glu Asp Ala Val Val Ser Ser Asp Phe Leu Gly Asp Thr
 275 280 285
 His Ala Ser Ile Phe Asp Ala Ser Ala Gly Ile Gln Leu Ser Pro Lys
 290 295 300
 Phe Val Lys Leu Ile Ser Trp Tyr Asp Asn Glu Tyr Gly Tyr Ser Ala
 305 310 315 320
 Arg Val Val Asp Leu Ile Glu Tyr Val Ala Lys Ala
 325 330

- 5 <210> 43
- <211> 999
- <212> ADN
- <213> *Saccharomyces cerevisiae*

ES 2 613 539 T3

<400> 43

```

atggttagag ttgctattaa cggtttcggt agaatcggta gattggttat gagaattgct      60
ttgcaaagaa agaacgtcga agttgttgct ttgaacgatc ctttcatctc taacgactac      120
tccgcttaca tgttcaagta cgactctact cacggtagat acgctggtga agtttcccac      180
gatgacaagc acatcatcgt tgatggtcac aagatcgcca ctttccaaga aagagaccca      240
gctaacttgc catgggcttc tctaaacatt gacatcgcca ttgactccac tgggtgtttc      300
aaggaattgg aactgctca aaagcacatt gacgctggtg ccaagaaggt tgatcatcact      360
gctccatctt ccaccgcccc aatgttcgtc atgggtggtta acgaagaaaa atacacttct      420
gacttgaaga ttgtttccaa cgcttcttgt accaccaact gtttggctcc attggccaag      480
gttatcaacg atgctttcgg tattgaagaa ggtttgatga ccaactgttca ctccatgacc      540
gccacccaaa agactgttga cgggtccatcc cacaaggact ggagaggtgg tagaaccgct      600
tccggtaaca tcatcccatc ctctaccggt gctgctaagg ctgtcggtaa ggtcttgcca      660
gaattgcaag gtaagttgac cggtatggct ttcagagtcc caaccgtcga tgtttccggt      720
gttgacttga ctgtcaagtt gaacaaggaa accacctacg atgaaatcaa gaaggttgct      780
aaggctgccg ctgaaggtaa gttgaagggt gtcttggggt acactgaaga cgctgttgct      840
tcctctgact tcttgggtga ctctaactct tccatcttcg atgctgccgc tggtatccaa      900
ttgtctccaa agttcgtaaa gttggtttcc tggtagaca acgaatcgg ttactctacc      960
agagttgtcg acttggttga acacgttgcc aaggcttaa      999
    
```

5 <210> 44
 <211> 332
 <212> PRT
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

10 <400> 44

```

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

ES 2 613 539 T3

65 70 75 80

Ala Asn Leu Pro Trp Ala Ser Leu Asn Ile Asp Ile Ala Ile Asp Ser
85 90 95

Thr Gly Val Phe Lys Glu Leu Asp Thr Ala Gln Lys His Ile Asp Ala
100 105 110

Gly Ala Lys Lys Val Val Ile Thr Ala Pro Ser Ser Thr Ala Pro Met
115 120 125

Phe Val Met Gly Val Asn Glu Glu Lys Tyr Thr Ser Asp Leu Lys Ile
130 135 140

Val Ser Asn Ala Ser Cys Thr Thr Asn Cys Leu Ala Pro Leu Ala Lys
145 150 155 160

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

His Ser Met Thr Ala Thr Gln Lys Thr Val Asp Gly Pro Ser His Lys
180 185 190

Asp Trp Arg Gly Gly Arg Thr Ala Ser Gly Asn Ile Ile Pro Ser Ser
195 200 205

Thr Gly Ala Ala Lys Ala Val Gly Lys Val Leu Pro Glu Leu Gln Gly
210 215 220

Lys Leu Thr Gly Met Ala Phe Arg Val Pro Thr Val Asp Val Ser Val
225 230 235 240

Val Asp Leu Thr Val Lys Leu Asn Lys Glu Thr Thr Tyr Asp Glu Ile
245 250 255

Lys Lys Val Val Lys Ala Ala Ala Glu Gly Lys Leu Lys Gly Val Leu
260 265 270

Gly Tyr Thr Glu Asp Ala Val Val Ser Ser Asp Phe Leu Gly Asp Ser
275 280 285

Asn Ser Ser Ile Phe Asp Ala Ala Ala Gly Ile Gln Leu Ser Pro Lys
290 295 300

Phe Val Lys Leu Val Ser Trp Tyr Asp Asn Glu Tyr Gly Tyr Ser Thr
305 310 315 320

Arg Val Val Asp Leu Val Glu His Val Ala Lys Ala
325 330

5 <210> 45
<211> 999
<212> ADN
<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 45

ES 2 613 539 T3

```

atggttagag ttgctattaa cggtttcggt agaatcgga gattggcat gagaattgct      60
ttgtctagac caaacgtcga agttgttgct ttgaacgacc cattcatcac caacgactac      120
gctgcttaca tgttcaagta cgactccact cacggtagat acgctgggga agtttcccac      180
gatgacaagc acatcattgt cgatggtaag aagattgcta cttaccaaga aagagacca      240
gctaacttgc catgggggttc ttccaacggt gacatcgcca ttgactccac tgggtgtttc      300
aaggaattag acactgctca aaagcacatt gacgctggg ccaagaaggt tgttatcact      360
gctccatctt ccaccgcccc aatgttcgct atgggtggtta acgaagaaaa atacacttct      420
gacttgaaga ttgtttccaa cgcttctgt accaccaact gtttggtcc attggccaag      480
gttatcaacg atgctttcgg tattgaagaa ggttgatga ccactgtcca ctctttgact      540
gctactcaaa agactgttga cgggccatcc cacaaggact ggagagggtg tagaaccgct      600
tccggtaaca tcatcccatc ctccaccggt gctgctaagg ctgtcggtaa ggtcttgcca      660
gaattgcaag gtaagttgac cggtatggct ttcagagtcc caaccgtcga tgtctccgtt      720
gttgacttga ctgcaagtt gaacaaggaa accacctag atgaaatcaa gaaggttgtt      780
aaggctgccg ctgaaggtaa gttgaagggt gttttgggtt acaccgaaga cgctgttgc      840
tcctctgact tcttgggtga ctctcactct tccatcttcg atgcttccgc tggtatccaa      900
ttgtctccaa agttcgtcaa gttggtctcc tggtagaca acgaatacgg ttactctacc      960
agagttgtcg acttggttga acacgttgcc aaggcttaa      999

```

<210> 46

<211> 332

5 <212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 46

Met Val Arg Val Ala Ile Asn Gly Phe Gly Arg Ile Gly Arg Leu Val
1 5 10 15

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

Asp Pro Phe Ile Thr Asn Asp Tyr Ala Ala Tyr Met Phe Lys Tyr Asp
35 40 45

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

Ile Ile Val Asp Gly Lys Lys Ile Ala Thr Tyr Gln Glu Arg Asp Pro
65 70 75 80

10 Ala Asn Leu Pro Trp Gly Ser Ser Asn Val Asp Ile Ala Ile Asp Ser

ES 2 613 539 T3

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

- <210> 47
- <211> 1071
- 5 <212> ADN
- <213> Kluyveromyces lactis
- <400> 47

ES 2 613 539 T3

atgcccgata tgacaaacga atcttcttct aagccagctc aaattaacat tggatatcaat 60
 ggttttgga gaatcggtag attggttcta cgtgctgctt tgacgcaccc agaagttaag 120
 gtcagattaa tcaataatcc atccacaaca ccagaatagc ctgcttattt gttcaaatac 180
 gattctactc acggcaagta tcgtggtgaa gttgaattcg acgatgaacg tatcatcatt 240
 caaaatgacc atgtttcggc tcatatccct ctatctcatt ttagggaacc agagcgtatc 300
 ccatgggctt cctacaacgt cgattatgta attgactcaa ccggtgtctt caaggaagtc 360
 gatacagcct ctagacataa aggtgtcaaa aaagttatca ttactgctcc atcaaagacc 420
 gcgccaatgt acgtctatgg tgtaaccac gttaaataca acccattgac ggatcacgtg 480
 gtctctaata cctcctgtac taccaactgt ttggtccctg tggttaaggc tttggacgat 540
 gagttcggta tcgaagaagc cttgatgaca actattcatg caactactgc ttctcaaaaag 600
 actgtcgatg gtaccagttc tgggtggtgaa gactggagag gcggtagatc ttgccagggg 660
 aatatcattc ctcatctac tgggtgcagct aaggctgtag ggaaaatctt gcctgaactt 720
 aatggtaaga tcaccgggat gtctataaga gtcccaacaa ttaatatttc cctggttgac 780
 ttgacattcc gtacagcaaa gaaaacttct tacgatgaca ttatgaaggc cctagaacaa 840
 agatctcgca gcgatatgaa ggggtgtttg ggtgttacca aagacgccgt tgtgtcctct 900
 gacttcacat ccgattcacg ttcatctatt gttgatgcca aggccgggat tgaattgaac 960
 gaccattttt tcaaggctct ttcttggatgataatgata atggttactc ttcaagagtg 1020
 gttgatattat ccattttcat ggctcaaaaag gacttcgaag ctggtgttta a 1071

<210> 48
 <211> 356
 <212> PRT
 <213> Kluyveromyces lactis

5

<400> 48

Met Pro Asp Met Thr Asn Glu Ser Ser Ser Lys Pro Ala Gln Ile Asn
 1 5 10 15
 Ile Gly Ile Asn Gly Phe Gly Arg Ile Gly Arg Leu Val Leu Arg Ala
 20 25 30
 Ala Leu Thr His Pro Glu Val Lys Val Arg Leu Ile Asn Asn Pro Ser
 35 40 45
 Thr Thr Pro Glu Tyr Ala Ala Tyr Leu Phe Lys Tyr Asp Ser Thr His
 50 55 60
 Gly Lys Tyr Arg Gly Glu Val Glu Phe Asp Asp Glu Arg Ile Ile Ile
 65 70 75 80
 Gln Asn Asp His Val Ser Ala His Ile Pro Leu Ser His Phe Arg Glu
 85 90 95

10

ES 2 613 539 T3

Pro Glu Arg Ile Pro Trp Ala Ser Tyr Asn Val Asp Tyr Val Ile Asp
100 105 110

Ser Thr Gly Val Phe Lys Glu Val Asp Thr Ala Ser Arg His Lys Gly
115 120 125

Val Lys Lys Val Ile Ile Thr Ala Pro Ser Lys Thr Ala Pro Met Tyr
130 135 140

Val Tyr Gly Val Asn His Val Lys Tyr Asn Pro Leu Thr Asp His Val
145 150 155 160

Val Ser Asn Ala Ser Cys Thr Thr Asn Cys Leu Ala Pro Leu Val Lys
165 170 175

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

His Ala Thr Thr Ala Ser Gln Lys Thr Val Asp Gly Thr Ser Ser Gly
195 200 205

Gly Lys Asp Trp Arg Gly Gly Arg Ser Cys Gln Gly Asn Ile Ile Pro
210 215 220

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

Asn Gly Lys Ile Thr Gly Met Ser Ile Arg Val Pro Thr Ile Asn Ile
245 250 255

Ser Leu Val Asp Leu Thr Phe Arg Thr Ala Lys Lys Thr Ser Tyr Asp
260 265 270

Asp Ile Met Lys Ala Leu Glu Gln Arg Ser Arg Ser Asp Met Lys Gly
275 280 285

Val Leu Gly Val Thr Lys Asp Ala Val Val Ser Ser Asp Phe Thr Ser
290 295 300

Asp Ser Arg Ser Ser Ile Val Asp Ala Lys Ala Gly Ile Glu Leu Asn
305 310 315 320

Asp His Phe Phe Lys Val Leu Ser Trp Tyr Asp Asn Glu Tyr Gly Tyr
325 330 335

Ser Ser Arg Val Val Asp Leu Ser Ile Phe Met Ala Gln Lys Asp Phe
340 345 350

Glu Ala Gly Val
355

<210> 49
<211> 1023
<212> ADN
<213> Bacillus subtilis

5

<400> 49

ES 2 613 539 T3

```

atgaaggtaa aagtagcgat caacgggttt ggaagaatcg gaagaatggt ttttagaaaa      60
gcgatgttag acgatcaaat tcaagtagtg gccattaacg ccagctattc cgcagaaacg      120
ctggctcatt taataaagta tgacacaatt cacggcagat acgacaaaga ggttgtaggct      180
ggtgaagata gcctgatcgt aatggaag aaagtgcttt tgtaaacag ccgtgatcca      240
aacagctgc cttggcggga atatgatatt gacatagtcg tcgaagcaac agggaagttt      300
aatgctaaag ataaagcgat gggccatata gaagcaggtg caaaaaagt gattttgacc      360
gctccgggaa aaaatgaaga cgttaccatt gtgatggcg taaatgagga ccaattcgac      420
gctgagcgcc atgtcattat ttcaaatgcg tcatgcacga caaattgcct tgcgcctgtt      480
gtaaaagtgc tggatgaaga gtttgccatt gagagcggc tgatgactac agttcatgag      540
tatacgaatg accaaaaaaa tattgataac ccgcacaaag atttgcgccg ggcgcgggct      600
tgcggtgaat ccatcattcc aacaacaaca ggagcggcaa aggcgctttc gcttgtagctg      660
ccgcatctga aaggaaaact tcacggcctc gccttgctg tcctgttcc gaacgtctca      720
ttggttgatc tcgtgttga tctgaaaacg gatgttacgg ctgaagaagt aaacgaggca      780
tttaaacgag ctgcaaaaac gtcgatgtac ggtgtacttg attactcaga tgaaccgctc      840
gtttcagctg attataatac gaatccgcat tcacgggtca ttgacgggct tacaacaatg      900
gtaatggaag acaggaaagt aaaggtgctg gcgtggtatg acaacgaatg gggctactcc      960
tgcagagttg ttgatctaat ccgccatgta gcggcacgaa tgaaacatcc gtctgctgta     1020
taa                                                                           1023

```

<210> 50
 <211> 340
 <212> PRT
 <213> Bacillus subtilis

5

<400> 50

```

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

```

10

ES 2 613 539 T3

65				70						75					80
Lys	Gln	Leu	Pro	Trp 85	Arg	Glu	Tyr	Asp	Ile 90	Asp	Ile	Val	Val	Glu 95	Ala
Thr	Gly	Lys	Phe 100	Asn	Ala	Lys	Asp	Lys 105	Ala	Met	Gly	His	Ile 110	Glu	Ala
Gly	Ala	Lys 115	Lys	Val	Ile	Leu	Thr 120	Ala	Pro	Gly	Lys	Asn 125	Glu	Asp	Val
Thr	Ile 130	Val	Met	Gly	Val	Asn 135	Glu	Asp	Gln	Phe	Asp 140	Ala	Glu	Arg	His
Val 145	Ile	Ile	Ser	Asn	Ala 150	Ser	Cys	Thr	Thr	Asn 155	Cys	Leu	Ala	Pro	Val 160
Val	Lys	Val	Leu	Asp 165	Glu	Glu	Phe	Gly	Ile 170	Glu	Ser	Gly	Leu	Met 175	Thr
Thr	Val	His	Ala 180	Tyr	Thr	Asn	Asp	Gln 185	Lys	Asn	Ile	Asp	Asn 190	Pro	His
Lys	Asp	Leu 195	Arg	Arg	Ala	Arg	Ala 200	Cys	Gly	Glu	Ser	Ile 205	Ile	Pro	Thr
Thr	Thr 210	Gly	Ala	Ala	Lys	Ala 215	Leu	Ser	Leu	Val	Leu 220	Pro	His	Leu	Lys
Gly 225	Lys	Leu	His	Gly	Leu 230	Ala	Leu	Arg	Val	Pro 235	Val	Pro	Asn	Val	Ser 240
Leu	Val	Asp	Leu	Val 245	Val	Asp	Leu	Lys	Thr 250	Asp	Val	Thr	Ala	Glu 255	Glu
Val	Asn	Glu	Ala 260	Phe	Lys	Arg	Ala	Ala 265	Lys	Thr	Ser	Met	Tyr 270	Gly	Val
Leu	Asp	Tyr 275	Ser	Asp	Glu	Pro	Leu 280	Val	Ser	Thr	Asp	Tyr 285	Asn	Thr	Asn
Pro	His 290	Ser	Ala	Val	Ile	Asp 295	Gly	Leu	Thr	Thr	Met 300	Val	Met	Glu	Asp
Arg 305	Lys	Val	Lys	Val	Leu 310	Ala	Trp	Tyr	Asp	Asn 315	Glu	Trp	Gly	Tyr	Ser 320
Cys	Arg	Val	Val	Asp 325	Leu	Ile	Arg	His	Val 330	Ala	Ala	Arg	Met	Lys 335	His
Pro	Ser	Ala	Val												

REIVINDICACIONES

1. Célula de levadura que produce isobutanol, caracterizada por que la célula presenta un flujo de sustancias metabólico incrementado de piruvato a través de acetolactato, 2,3-dihidroxiisovalerato, 2-cetoisovalerato, isobutiraldehído para formar isobutanol, en donde todos los genes que codifican las enzimas que participan en esta reacción están sobre-expresados, y por que estos genes son homólogos a dicha célula de levadura, en donde *Ilv2* con SEQ ID N° 2 cataliza la reacción de acetolactato sintasa de piruvato para formar acetolactato, *ilv5* con SEQ ID N° 6 cataliza la reacción de acetohidroxiácido reductoisomerasa de acetolactato para formar 2,3-dihidroxiisovalerato, *Ilv3* con SEQ ID N° 8 cataliza la reacción de dihidroxiácido deshidratasa de 2,3-dihidroxiisovalerato para formar 2-cetoisovalerato, una 2-cetoácido descarboxilasa cataliza la reacción de 2-cetoisovalerato para formar isobutiraldehído y una alcohol deshidrogenasa cataliza la reacción de isobutiraldehído para formar isobutanol, en donde al menos uno de los promotores de estos genes es intercambiado por al menos un promotor más fuerte, o las secuencias de ácidos nucleicos de estos genes son transformadas en alelos optimizados en codones,
- 5
- caracterizada por que se sobre-expresan los genes *ILV2*, *ILV5* e *ILV3* sin la secuencia diana mitocondrial de las enzimas acetolactato sintasa, acetohidroxiácido reductoisomerasa y dihidroxiácido deshidratasa o se sobre-expresan con una secuencia diana mitocondrial destruida e inactivada, y
- 10
- caracterizada porque, adicionalmente, se reduce o bien se suprime la expresión de los genes *PCD1* con SEQ. ID. No. 13, *PDC5* con SEQ. ID. No. 15 y *PDC6* con SEQ. ID. No. 17 o bien la actividad de las enzimas codificadas.
- 15
2. Célula de levadura según la reivindicación 1, caracterizada por que la 2-cetoácido descarboxilasa se elige de al menos una de las enzimas *Aro10* con SEQ ID N° 20 o *Thi3* con SEQ ID N° 22.
- 20
3. Célula de levadura según una de las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizada por que la alcohol deshidrogenasa se elige de al menos una de las enzimas *Adh1* con SEQ ID N° 24, *Adh2* con SEQ ID N° 26, *Adh3* con SEQ ID N° 28, *Adh4* con SEQ ID N° 30, *Adh5* con SEQ ID N° 32, *Adh6* con SEQ ID N° 34, *Adh7* con SEQ ID N° 36, *Sfa1* con SEQ ID N° 38 o *Ypr1* con SEQ ID N° 40.
- 25
4. Célula de levadura según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que todos estos genes se sobre-expresan en variantes optimizadas en codones.
- 30
5. Célula de levadura según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por que la célula expresa una acetohidroxiácido reductoisomerasa que presenta una especificidad incrementada para NADH frente a NADPH.
6. Célula de levadura según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por que la célula expresa adicionalmente gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa que presenta una especificidad incrementada para NADP⁺ frente a NAD⁺.
- 35
7. Célula de levadura según la reivindicación 6, caracterizada por que esta NADP-gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa se expresa en una célula de levadura que no presenta o presenta una expresión o actividad reducida de las NAD-gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasas.
8. Célula de levadura según una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada por que adicionalmente la proteína *Ilv6* con SEQ ID N° 4 se sobre-expresa en el mismo compartimiento de la célula que *Ilv2*.
9. Célula de levadura según una de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizada por que la célula se elige del siguiente grupo: *Pichia*, *Candida*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Yarrowia* y *Saccharomyces*.
10. Célula de levadura según la reivindicación 9, caracterizada por que la célula huésped es *Saccharomyces cerevisie*.
- 40
11. Procedimiento para la producción de isobutanol con células de levadura, que comprende proporcionar una célula de levadura según una de las reivindicaciones 1 a 10, así como la puesta en contacto de la célula de levadura con una fuente de carbono fermentable.



