(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 667 725**

(51) Int. Cl.:

C12N 9/02 (2006.01)
C12N 15/53 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.04.2015** **PCT/EP2015/058230**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **22.10.2015** **WO15158803**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2015** **E 15716530 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.01.2018** **EP 3132027**

(54) Título: **Variantes de lacasa con propiedades mejoradas**

(30) Prioridad:

16.04.2014 EP 14165007

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.05.2018

(73) Titular/es:

METGEN OY (100.0%)
Rakentajantie 26
20780 Kaarina, FI

(72) Inventor/es:

BIRIKH, KLARA

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 667 725 T3

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

DESCRIPCIÓN

Variantes de lacasa con propiedades mejoradas

Campo de la invención

La presente invención se refiere a variantes de lacasa y a usos de las mismas como biocatalizadores respetuosos con el medioambiente en diversos procesos industriales.

Antecedentes de la invención

Las lacasas (EC 1.10.3.2) son enzimas que tienen una amplia distribución taxonómica y que pertenecen al grupo de las oxidasas multicobre. Las lacasas son catalizadores respetuosos con el medioambiente, que usan oxígeno molecular del aire para oxidar diversos compuestos relacionados con lignina fenólicos y no fenólicos, además de Estos catalizadores "verdes" naturales se usan para diversas aplicaciones industriales que incluyen la desintoxicación de efluentes industriales, principalmente de las industrias del papel y la pulpa, textiles y petroquímicas, se usan como agente de biorremediación para limpiar herbicidas, pesticidas y ciertos explosivos en la tierra. Las lacasas también se usan como agentes de limpieza para ciertos sistemas de purificación de agua. Además, su capacidad para eliminar sustancias xenobióticas y producir productos poliméricos hace que sean una herramienta útil para fines de biorremediación. Otra gran área de aplicación de las lacasas es el pretratamiento de biomasa en la industria del biocombustible y la pulpa y el papel.

Las moléculas de lacasa son normalmente monómeros que consisten en tres dominios de tipo cupredoxina consecutivamente conectados enrollados en un apretado glóbulo. El sitio activo de las lacasas contiene cuatro iones cobre: un ión cobre "azul" mononuclear (sitio T1) y una agrupación de tres cobres nucleares (sitio T2/T3) que consiste en un ión cobre T2 y dos iones cobre T3.

Las lacasas pueden aislarse de diferentes fuentes tales como plantas, hongos o bacterias y son muy diversas en las secuencias primarias. Sin embargo, tienen algunas regiones conservadas en las secuencias y ciertas características comunes en sus estructuras tridimensionales. Una comparación de secuencias de más de 100 lacasas ha revelado cuatro regiones conservativas cortas (no más de 10 aa cada una) que son específicas para todas las lacasas [7, 8]. Una cisteína y diez restos de histidina forman un entorno de ligando de iones cobre del sitio activo de lacasa presente en estas cuatro secuencias de aminoácidos conservativas.

La lacasa bacteriana mejor estudiada es la lacasa CotA. CotA es un componente de las capas de envoltura externas de endosporas de bacilo. Es una proteína de 65 kDa codificada por el gen CotA [1].

CotA pertenece a un diverso grupo de oxidasas "azules" multi-cobre que incluye las lacasas. Esta proteína demuestra alta termoestabilidad, y resistencia a diversos elementos peligrosos según las capacidades de supervivencia de la endospora.

La expresión recombinante de proteínas en hospedadores fácilmente cultivables puede permitir productividad más alta en tiempo más corto y reducir los costes de producción. Las posibilidades de versatilidad y aumento de escala de la producción de proteínas recombinantes abrieron nuevas oportunidades comerciales para sus usos industriales. Además, la producción de proteínas de especies productoras de patógenos o toxinas puede aprovecharse de hospedadores microbianos GRAS (considerados seguros) más seguros o uniformes. Además, puede emplearse ingeniería de proteínas para mejorar la estabilidad, actividad y/o especificidad de una enzima, así pueden producirse enzimas confeccionadas a medida para adecuarse a los requisito de los usuarios o del proceso.

Puede aumentarse la productividad de las enzimas usando múltiples copias génicas, promotores fuertes y secuencias señal eficientes, apropiadamente diseñadas para dirigir las proteínas al medio extracelular, simplificando así el procesamiento aguas abajo.

El rendimiento de las proteínas recombinantes en hospedadores bacterianos está frecuentemente limitado por la incapacidad de la proteína para plegarse en una estructura 3D correcta tras la biosíntesis de la cadena de polipéptidos. Esto puede producir la exposición de parches hidrófobos sobre la superficie del glóbulo de proteína y producir la agregación de proteínas. Los mecanismos de plegamiento heterólogo de proteínas *in vivo* son poco entendidos, y es impredecible la capacidad de plegamiento de diferentes proteínas en bacterias.

El rendimiento de proteína activa soluble puede ser algunas veces mejorado cambiando las condiciones de cultivo. Además, hay ejemplos cuando el rendimiento de proteínas mejoró introduciendo mutaciones puntuales individuales en la secuencia de proteínas. Sin embargo, no se ha identificado fundamento tras el hallazgo de mutaciones adecuadas. Se ha mostrado que la sustitución de un solo aminoácido potencia la expresión funcional de una lacasa bacteriana [9]. Se ha usado frecuentemente la expresión heteróloga de lacasa en *Escherichia coli* como una estrategia para sortear el problema de obtener lacasas que no son fácilmente producibles en hospedadores naturales. La expresión recombinante de CotA de *Bacillus subtilis* en *E. coli* ha permitido su profunda caracterización, resolución de estructura y evolución funcional [1, 2, 3]. Sin embargo, muy frecuentemente, el rendimiento de producción es bajo, debido a una fuerte tendencia de esta enzima a formar agregados que convierten

la proteína en irreversiblemente inactiva [4]. Esta tendencia ha sido atribuida al hecho que en la naturaleza la lacasa COTA se integra en una estructura de la envoltura de la espora mediante la interacción con otros componentes de proteína, y es probable que el correcto plegamiento de la lacasa se potencie por la interacción con otras proteínas. Cuando esta lacasa se expresa recombinantemente como un polipéptido individual, faltan aquellas interacciones complementarias y muchas proteínas erróneamente plegadas forman agregados en células bacterianas. Cuando se expresan en microorganismos superiores tales como levadura, las moléculas de lacasa erróneamente plegadas son degradadas en gran parte.

Existe una necesidad en la materia de medios y métodos de mejora del rendimiento de las lacasas en sistemas de expresión heteróloga. Esto es particularmente cierto para lacasas bacterianas, tales como las lacasas cotA.

Sumario de la invención

La presente invención trata esta necesidad proporcionando lacasas de variante con propiedades mejoradas. Más en particular, la invención se refiere a un polipéptido con actividad de lacasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es más del 80 % idéntica a la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1, en la que el polipéptido comprende un resto de aminoácido no polar, preferentemente un aminoácido no polar pequeño seleccionado del grupo que consiste en prolina, alanina, glicina y valina en una posición de aminoácido correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1

Un resto de prolina en una posición correspondiente al aminoácido 113 de SEQ ID NO: 1 es el más preferido.

Además, la invención proporciona ácidos nucleicos, vectores y composiciones mejorados que codifican las enzimas de lacasa de variante según la invención.

La invención también proporciona sistemas de expresión heteróloga recombinantes tales como células hospedadoras que comprenden un ácido nucleico, un vector o una composición según la invención.

También se proporcionan en el presente documento métodos de producción de un polipéptido según la invención, que comprenden las etapas de:

a. cultivar una célula hospedadora recombinante que comprende un polinucleótido según la invención en condiciones adecuadas para la producción del polipéptido, y

b. recuperar el polipéptido obtenido, y

c. opcionalmente purificar dicho polipéptido.

La invención también se refiere al uso de un polipéptido según la invención en una aplicación seleccionada del grupo que consiste en deslignificación de pasta, degradación o disminución de la integridad estructural de material lignocelulósico, blanqueamiento de tintes textiles, destoxificación de aguas residuales, destoxificación xenobiótica, producción de un azúcar a partir de un material lignocelulósico y recuperación de celulosa de una biomasa.

La invención también se refiere a un método de mejora del rendimiento de un polipéptido con actividad de lacasa en un sistema de expresión heteróloga que comprende la etapa de alterar el aminoácido de ese polipéptido en una posición correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1 a un resto de aminoácido no polar, preferentemente un aminoácido no polar pequeño.

Realizaciones preferidas de estos aspectos se describirán más abajo en más detalle. Con el fin de claridad y una descripción concisa, las características se describen en el presente documento como parte de las mismas realizaciones o realizaciones separadas, sin embargo, se apreciará que el alcance de la invención puede incluir realizaciones que tienen combinaciones de todas o algunas de las características descritas.

Descripción detallada de la invención.

La presente invención se basa en la observación de los presentes inventores de que una sustitución de un único aminoácido en diferentes lacasas mejora el rendimiento de esa lacasa al menos el 50 % cuando se expresa en procariotas, además de en eucariotas. Los presentes inventores también encontraron que la lacasa de variante sigue siendo activa.

El término "sustitución de aminoácidos" se usa en el presente documento de la misma forma que se usa comúnmente, es decir, el término se refiere a una sustitución de uno o más aminoácidos en una proteína con otros. Sustituciones de aminoácidos artificiales también pueden denominarse mutaciones.

El término "aminoácido no polar", como se usa en el presente documento, pretende cubrir el grupo de los aminoácidos naturales con la excepción de los aminoácidos polares tirosina, triptófano, histidina, treonina, cisteína, lisina, arginina, asparagina, ácido glutámico, ácido aspártico, glutamina y serina. En otras palabras, el grupo de los aminoácidos no polares incluye los aminoácidos metionina, leucina, isoleucina, valina, alanina, prolina y glicina, y fenilalanina.

El término "aminoácido no polar pequeño", como se usa en el presente documento, pretende cubrir un grupo de aminoácidos seleccionado del grupo de s no polares, que son normalmente considerados aminoácidos pequeños o minúsculos. Este grupo está limitado a los aminoácidos prolina, alanina, glicina y valina.

SEQ ID NO: 1 es una lacasa CotA de *Bacillus subtilis* recientemente desvelada en el presente documento, mientras que SEQ ID NO: 2 es una lacasa CotA que ha sido previamente desvelada en el documento WO 2013/038062. Los presentes inventores encontraron que las variantes de lacasa que tienen un resto de aminoácido no polar en una posición de aminoácido correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1 proporcionaron un rendimiento más alto cuando se expresaron en un sistema de expresión heteróloga. Esto se ilustra en la sección de ejemplos en la que aminoácidos no polares seleccionados del grupo que consiste en prolina, alanina, glicina y valina se introdujeron en la secuencia de varias lacasas. Todas estas variantes mostraron un rendimiento mejorado de lacasa soluble cuando se expresa en un sistema de expresión heteróloga.

Variantes que llevan un resto de prolina (Pro o P) en una posición de aminoácido correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1 son los más preferidos, ya que produjeron el mayor rendimiento de lacasa recombinantemente expresada.

SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4 desvelan proteínas de la envoltura de esporas de *B. subtilis* con actividad de lacasa (lacasa CotA), que llevan una mutación 113P. En realidad, SEQ ID NO: 3 es una variante de SEQ ID NO: 1 en la que un resto de ácido aspártico en la posición 113 se ha sustituido por un resto de prolina. SEQ ID NO: 4 es una variante de SEQ ID NO: 2 en la que un resto de ácido aspártico en la posición 113 se ha sustituido por un resto de prolina.

Los presentes inventores realizaron una búsqueda de homología de proteínas homólogas a SEQ ID NO: 1 usando SEQ ID NO: 1 como la secuencia de búsqueda en el software "Standard protein BLAST", disponible en http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastp&PAGE_TYPE=BlastSearch&LI NK_LOC=biasthome. Más información sobre las versiones de software y de base de datos está disponible en el centro Nacional para Información Biotecnológica en la Biblioteca Nacional de Medicina en la página web del Instituto Nacional de Salud www.ncbi.nlm.nih.gov. En ella, se encuentran varias herramientas de biología molecular que incluyen BLAST (Basic Logical Alignment Search Tool). BLAST hace uso de las siguientes bases de datos: Todas las traducciones de CDS de GenBank no redundantes+PDB+SwissProt+PIR+PRF excluyendo muestras ambientales de proyectos de WGS. La búsqueda como se informó en el presente documento se realizó en línea el 19 de febrero de 2014 y empleó la versión de BLASTP 2.2.29+.

La búsqueda reveló 31 secuencias con más del 80 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1 (Tabla 1). Estas secuencias se proporcionan en el presente documento como SEQ ID NO: 31 a 61.

Tabla 1 Secuencias obtenidas de una búsqueda de BLAST que desvela 31 secuencias con más del 80 % de identidad con SEQ ID NO: 1

SEQ ID NO:	**BLAST N.º:**	**Descripción**	**N.º de acceso:**	**Identidad global (1)**	**AA N.º corr. a la pos 113 (2)**	**AA en la pos corr. a AA 113 (3)**
1	1	CotA de lacasa de *B. subtilis* (secuencia de búsqueda)		100 %	113	Asp
31	2	lacasa [Bacillus subtilis]	AGZ16504.1	98 %	113	Asp
32	3	lacasa dependiente de cobre de espora (envoltura externa) [Bacillus subtilis subsp. spizizenii str. W23] >ref|WP_003219376.1| oxidasa de cobre [Bacillus subtilis] >gb|EFG93543.1| lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus subtilis subsp. spizizenii ATCC 6633] >gb|ADM36695.1| lacasa dependiente de cobre de espora (envoltura externa) [Bacillus subtilis subsp. spizizenii str. W23]	YP_003865004.1	98 %	113	Asp
33	4	lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus subtilis]	WP_004397739.1	96 %	113	Asp

SEQ ID NO:	BLAST N.º:	Descripción	N.º de acceso:	Identidad global (1)	AA N.º corr. a la pos 113 (2)	AA en la pos corr. a AA 113 (3)
		>gb|ELS60660.1| lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus subtilis subsp. inaquosorum KCTC 13429]				
34	5	oxidasa de cobre [Bacillus subtilis]	WP_019713492.1	96 %	113	Asp
35	6	lacasa [Bacillus vallismortis]	AGR50961.1	95 %	113	Asp
36	7	proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus subtilis XF-1] >ref|WP_015382982.1| proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus] >gb|AGE62493.1| proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus subtilis XF-1] >gb|ERI42893.1| oxidasa de cobre [Bacillus sp. EGD-AK10]	YP_007425830.1	96 %	113	Asp
37	8	lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus subtilis BSn5] >ref|YP_005559844.1| proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus subtilis subsp. natto BEST195] >ref|YP_007210655.1| Proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus subtilis subsp. subtilis str. BSP1] >ref|WP_014479048.1| oxidasa de cobre [Bacillus subtilis] >dbj|BAI84141.1| proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus subtilis subsp. natto BEST195] >gb|ADV95614.1| lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus subtilis BSn5] >gb|ADZ57279.1| lacasa [Bacillus sp. LS02] >gb|ADZ57280.1| lacasa [Bacillus sp. LS03] >gb|ADZ57283.1| lacasa [Bacillus sp. WN01] >gb|ADZ57284.1| lacasa [Bacillus subtilis] >gb|AGA20638.1| Proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus subtilis subsp. subtilis str. BSP1]	YP_004206641.1	96 %	113	Asp
38	9	CotA [Bacillus sp. JS] >ref|WP_014663045.1| oxidasa de cobre [Bacillus sp. JS] >gb|AFI27241.1| CotA [Bacillus sp. JS]	YP_006230497.1	95 %	113	Asp
39	10	oxidasa de cobre [Bacillus subtilis QH-1]	EXF51833.1	95 %	113	Asp
40	11	oxidasa de cobre [Bacillus subtilis] >gb|EHA29133.1| espora lacasa dependiente de cobre [Bacillus subtilis subsp. subtilis str. SC-8]	WP_003234000.1	95 %	115	Asp

SEQ ID NO:	BLAST N.º:	Descripción	N.º de acceso:	Identidad global (1)	AA N.º corr. a la pos 113 (2)	AA en la pos corr. a AA 113 (3)
41	12	lacasa dependiente de cobre de la envoltura externa de la espora [Bacillus subtilis QB928] >ref|WP_011306195.1| oxidasa de cobre [Bacillus subtilis] >dbj|BAA22774.1| proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus subtilis] >gb|AFQ56549.1| lacasa dependiente de cobre de la envoltura externa de la espora [Bacillus subtilis QB928]	YP_006628799.1	95 %	115	Asp
42	13	proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus subtilis subsp. subtilis str. 168]	NP_388511.1	95 %	113	Asp
43	14	proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus subtilis subsp. subtilis str. BAB-1] >ref|WP_015482891.1| proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus subtilis] >gb|AGI27890.1| proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus subtilis subsp. subtilis str. BAB-1]	YP_007661398.1	95 %	113	Asp
44	15	Cadena A, mutaciones en la vecindad del sitio trinuclear de lacasa Cota: mutante E498d	4AKQ_A	95 %	113	Asp
45	16	Cadena A, mutaciones en la vecindad del sitio trinuclear de lacasa Cota: mutante D116n	4A68_A	95 %	113	Asp
46	17	Cadena A, mutaciones en la vecindad del sitio trinuclear de lacasa Cota: mutante D116a	4A66_A	95 %	113	Asp
47	18	proteína de la envoltura de la espora [Bacillus subtilis]	ACS44284.1	95 %	113	Asp
48	19	proteína de la envoltura de la espora [Bacillus subtilis]	AGK12417.1	95 %	113	Asp
49	20	Cadena A, estructura cristalina de Cota reconstituida	2X87_A	95 %	113	Asp
50	21	lacasa [Bacillus sp. ZW2531-1]	AFN66123.1	95 %	113	Asp
51	22	Cadena A, mutaciones en la vecindad del sitio trinuclear de lacasa cotA: mutante D116e	4A67_A	95 %	113	Asp
52	23	Cadena A, mutaciones proximales en el sitio de Cu de tipo 1 de la lacasa Cota: mutante I494a	2WSD_A	95 %	113	Asp
53	24	Cadena A, mutaciones en la vecindad del sitio trinuclear de lacasa cotA: mutante e498t	4AKP_A	95 %	113	Asp
54	25	lacasa [Bacillus sp. HR03]	ACM46021.1	94 %	113	Asp

SEQ ID NO:	BLAST N.º:	Descripción	N.º de acceso:	Identidad global (1)	AA N.º corr. a la pos 113 (2)	AA en la pos corr. a AA 113 (3)
55	26	oxidasa de cobre [Bacillus vallismortis]	WP_010329056.1	94 %	113	Glu
56	27	lacasa [Bacillus subtilis]	AEK80414.1	92 %	113	Asp
57	28	oxidasa de cobre [Bacillus mojavensis]	WP_010333230.1	91 %	113	Asp
58	29	Cadena A, mutaciones en la vecindad del sitio trinuclear de lacasa cotA: mutante E498I	4AKO_A	94 %	109	Asp
59	30	CotA [Bacillus subtilis]	AAB62305.1	89 %	113	Asp
60	31	lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus atrophaeus 1942] >ref|WP_003328493.1| oxidasa de cobre [Bacillus atrophaeus] >gb|ADP31092.1| lacasa dependiente de cobre de espora (envoltura externa) [Bacillus atrophaeus 1942] >gb|EIM09308.1| lacasa dependiente de cobre de espora [Bacillus atrophaeus C89]	YP_003972023.1	81 %	113	Tyr
61	32	Proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus atrophaeus] >gb|EOB38473.1| Proteína A de la envoltura de la espora [Bacillus atrophaeus UCMB-5137]	WP_010787813.1	81 %	113	Tyr

(1): Identidad global de la secuencia seleccionada con SEQ ID NO: 1, la secuencia de búsqueda

(2) Número de posición de la secuencia seleccionada que se corresponde con la posición 113 en SEQ ID NO: 1.

(3) Aminoácido en una posición de la secuencia seleccionada que se corresponde con la posición 113 en SEQ ID NO: 1

El análisis de las proteínas homólogas reveló que todas las proteínas con más del 80 % de identidad de secuencias con SEQ ID NO: 1 pertenecen a la especie de *Bacillus*. Todas fueron oxidasas dependientes de cobre (lacasas) y la mayoría de ellas fueron anotadas como proteínas de la envoltura de la espora. Así, los presentes inventores llegaron a la conclusión de que esas secuencias con este grado (más del 80 %) de identidad con SEQ ID NO: 1 representan un grupo de proteínas funcionalmente y estructuralmente altamente relacionado que es probable que tenga rasgos estructurales similares y vías de plegamiento.

Los presentes inventores realizaron varias sustituciones de aminoácidos en una variedad de lacasas en una posición correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1 y encontraron que el rendimiento de la proteína lacasa recombinante soluble podría mejorarse cuando el aminoácido polar original (Asp, Glu o Tyr) que se produce en esa posición se sustituyó con un resto de aminoácido no polar, preferentemente un aminoácido pequeño o minúsculo seleccionado del grupo que consiste en prolina, alanina, glicina y valina.

En otras palabras, la invención se refiere a un polipéptido de envoltura de la espora con actividad de lacasa en la que el polipéptido comprende un resto de aminoácido seleccionado del grupo que consiste en prolina, alanina, glicina y valina, en una posición de aminoácido correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1

Aunque se observaron algunas diferencias en el rendimiento entre las variantes que llevan los diferentes aminoácidos, variantes que llevan un resto de prolina en la posición 113 mostraron el rendimiento más alto. En una realización preferida, la invención, por tanto, se refiere a una proteína con actividad de lacasa como se ha descrito anteriormente con un resto de prolina en una posición correspondiente al aminoácido 113 de SEQ ID NO: 1.

En una realización preferida adicional, el polipéptido según la invención es un polipéptido, mutado como se ha descrito anteriormente, en el que la secuencia natural está codificada por el genoma de una especie de *Bacillus*, tal como *Bacillus subtilis*.

Ninguna de las 32 lacasas de la Tabla 1 (31 secuencias de la búsqueda más SEQ ID NO: 1 usadas como la secuencia de búsqueda) tiene un aminoácido no polar o un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en prolina, alanina, glicina y valina en una posición correspondiente a la posición 113 de SEQ ID NO: 1. Así, puede llegarse a la conclusión de que una lacasa con más del 80 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1 que comprende un aminoácido no polar o un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en prolina, alanina, glicina y valina en una posición correspondiente a la posición 113 de SEQ ID NO: 1 todavía no ha sido descrita en el estado de la técnica.

Es sorprendente que el aminoácido correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1 esté bastante bien conservado dentro del grupo de las 32 secuencias de la Tabla 1. Se produce un resto de ácido aspártico (Asp o D) en esa posición en 29 de los 32 casos (91 %). Pareció que dos secuencias tenían un resto de tirosina en esa posición (6 %), mientras que solo una secuencia tiene un resto de ácido glutámico en esa posición (3 %).

La introducción de una mutación específica en un gen recombinante está entre las habilidades rutinarias de un biólogo molecular. Puede obtenerse orientación específica de Methods in Molecular Biology Vol 182, "In vitro mutagenesis protocols", Eds Jeff Braman, Humana Press 2002. Están comercialmente disponibles kits para realizar la mutagénesis dirigida al sitio (por ejemplo, kit de mutagénesis dirigida al sitio QuikChange II XL, Cat N.º de Agilent Technologies 200521).

Los presentes inventores prepararon polipéptidos de variante 113P de 4 lacasas diferentes de la Tabla 1. Una variante D113P de SEQ ID NO: 1 se muestra como SEQ ID NO: 3, una variante D113P de SEQ ID NO: 2 se muestra como SEQ ID NO:4, una variante E113P de SEQ ID NO: 5 (correspondiente a SEQ ID NO: 55 de la búsqueda de BLAST) se muestra como SEQ ID NO: 6 y una variante Y113P de SEQ ID NO: 7 (correspondiente a SEQ ID NO: 60 de la búsqueda de BLAST) se muestra como SEQ ID NO: 8.

Cuando se expresa en *E. coli*, las 4 variantes mostraron un elevado rendimiento de enzima activa de entre el 200 y el 260 %, respectivamente (Figura 1). En otras palabras, la actividad volumétrica de las cuatro variantes aumentó a al menos el 200 %.

Como un experimento de control, los presentes inventores determinaron si la actividad volumétrica mejorada podría ser atribuible a una elevada actividad específica de la enzima. Esto no pareció ser el caso. El aumento en la cantidad de enzima mutada (113P) en la fracción soluble de lisado celular fue proporcional al aumento en la actividad volumétrica, por lo que tuvo que llegarse a la conclusión de que se ha recuperado más enzima de variante, representando así completamente el aumento en la actividad volumétrica. Por tanto, el rendimiento de la enzima lacasa es elevado en vez de su actividad específica.

Los aminoácidos que existen de forma natural D, E e Y en una posición correspondiente a la posición 113 de SEQ ID NO: 1 podrían también sustituirse con otros aminoácidos. Los presentes inventores prepararon variantes de lacasas representativas de la Tabla 1; SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 7. Los presentes inventores sustituyeron el ácido aspártico que existe de forma natural en SEQ ID NO: 1 y la tirosina que existe de forma natural en la posición 113 de SEQ ID NO: 7 con cualquiera de un resto de prolina, alanina, glicina o valina. Las variantes de SEQ ID NO: 1 se representan por SEQ ID NO: 3, 9, 10 y 11, respectivamente, mientras que las variantes de SEQ ID NO: 7 se representan por SEQ ID NO: 8, 12, 13 y 14, respectivamente (Tabla 2 y 3).

Secuencias de SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 14 se muestran en la Tabla 5.

Cada una de estas variantes presentaron un rendimiento mejorado de al menos el 50 % cuando se expresaron en un sistema de expresión heteróloga (Figura 2).

Las variantes según SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4 también se expresaron en *Pichia pastoris*. Según los datos obtenidos en un sistema de expresión en procariota (*E. coli*, véase anteriormente), la expresión en eucariota también mostró un elevado rendimiento. El rendimiento mejoró a al menos el 200 % cuando la expresión de las secuencias de variante se comparó con sus SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2 naturales, respectivamente (Figura 3).

Por consiguiente, la invención se refiere a un polipéptido con actividad de lacasa que consiste en una secuencia de aminoácidos que es más del 80 % idéntica a la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1, en la que el polipéptido comprende un resto de aminoácido no polar en una posición de aminoácido correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1.

En una realización preferida, la invención se refiere a un polipéptido con actividad de lacasa que comprende o que consiste en una secuencia de aminoácidos que es más del 80 % idéntica a la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1, en la que el polipéptido comprende un resto de aminoácido no polar en una posición de aminoácido correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1.

En una realización preferida adicional, la invención se refiere a un polipéptido con actividad de lacasa que comprende o que consiste en una secuencia de aminoácidos que es más del 80 % idéntica a la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1, en la que el polipéptido comprende un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en prolina, alanina, glicina y valina, en una posición correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1.

En una realización preferida adicional, la invención se refiere a un polipéptido con actividad de lacasa que comprende o que consiste en una secuencia de aminoácidos que es más del 80 % idéntica a la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1, en la que el polipéptido comprende un resto de prolina en una posición correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1.

Esta lacasa de variante también se denomina en el presente documento variante de aminoácido 113Pro o 113P. En una realización preferida adicional, el polipéptido se aísla.

El hallazgo anterior de que las proteínas de la envoltura de la espora se producen en un grupo altamente conservado permite definir la invención en otra forma más, tal como la relación estructural entre el polipéptido según la invención y los polipéptidos de referencia según las secuencias proporcionadas en el presente documento. Por tanto, la invención también se refiere a un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 94 % idéntica a la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 31 - 61.

El término al menos el 94 % se usa en el presente documento para incluir al menos el 95 %, tal como el 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o incluso el 100 %.

El término "variante de aminoácido", "variante de lacasa" o "variante de secuencia" o equivalente tiene un significado bien reconocido en la materia y se usa, por consiguiente, en el presente documento para indicar una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una diferencia de aminoácidos en comparación con otra secuencia de aminoácidos, tal como la secuencia de aminoácidos de la que derivó.

El término más del 80 % se usa en el presente documento para incluir al menos el 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 88 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 % o más, tal como el 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 99 %, 97 %, 98 %, 99 %, o incluso el 100 %.

El término "actividad de lacasa" se usa en el presente documento para significar la propiedad de un polipéptido para actuar de enzima lacasa, que puede expresarse como la máxima velocidad inicial de la reacción de oxidación específica. La actividad de lacasa puede determinarse por ensayos de oxidación convencionales conocidos en la técnica que incluyen tales como, por ejemplo, por medición de la oxidación de siringaldazina, según el protocolo en línea de Sigma, o según Cantarella et al. 2003 [7].

Un ejemplo de determinación de la actividad de lacasa relativa se presenta en el Ejemplo 4. Puede usarse cualquier sustrato adecuado para la enzima en cuestión en las mediciones de actividad. Un ejemplo no limitante de un sustrato adecuado para su uso en evaluar la actividad enzimática de variantes de lacasa es ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico). Las lacasas son capaces de oxidar este sustrato.

Como se usa en el presente documento, el término "actividad de lacasa específica elevada (o mejorada)" se refiere a una actividad de lacasa superior a la de una enzima lacasa no mutada correspondiente en las mismas condiciones.

El término "rendimiento elevado" o equivalente significa que el rendimiento de la enzima activa del mismo volumen de cultivo obtenido en un protocolo de purificación o recuperación convencional mejora al menos el 50 % o un factor de 1,5. El aumento puede ser incluso más, tal como un factor de 2, 2,5, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 10, 11, 12, 13, 14, 15 o más.

La recuperación de una variante de lacasa producida por una célula hospedadora puede realizarse por cualquier técnica conocida para aquellos expertos en la materia. Posibles técnicas incluyen, pero no se limitan a, secreción de la proteína en el medio de expresión, y purificación de la proteína de biomasa celular. El método de producción puede comprender además una etapa de purificar la variante de lacasa obtenida. Para lacasas termoestables, ejemplos no limitantes de tales métodos incluyen calentar las células desintegradas y eliminar proteínas termolábiles coaguladas de la disolución. Para proteínas secretadas, ejemplos no limitantes de tales métodos incluyen cromatografía de intercambio iónico, y ultra-filtración del medio de expresión. Es importante que el método de purificación de elección sea tal que la proteína purificada retenga su actividad, preferentemente su actividad de lacasa.

Las variantes de lacasa según la presente invención pueden usarse en un amplio intervalo de diferentes procesos y aplicaciones industriales, tales como recuperación de celulosa a partir de biomasa lignocelulósica, disminución de la energía de refinado en el refinado de madera y preparación de pasta, en deslignificación de pasta, blanqueamiento de tintes textiles, destoxificación de aguas residuales, destoxificación xenobiótica y fabricación de detergentes.

Pueden introducirse variaciones de aminoácidos como se describe en el presente documento en cualquiera de las secuencias de aminoácidos desveladas en el presente documento, u otras secuencias homólogas, por métodos

convencionales conocidos en la técnica, tales como mutagénesis dirigida al sitio. De esta forma, puede mejorarse el rendimiento de las lacasas de un sistema de expresión heteróloga.

Kits para realizar la mutagénesis dirigida al sitio están comercialmente disponibles en la materia (por ejemplo, kit de mutagénesis dirigida al sitio QuikChange® II XL por Agilent Technologies). Métodos adecuados adicionales para introducir las mutaciones anteriores en un gen recombinante se desvelan, por ejemplo, en Methods in Molecular Biology, 2002 [8].

Así, algunas realizaciones de la presente invención se refieren a variantes de lacasa o mutantes que comprenden un resto de aminoácido no polar, preferentemente resto no polar pequeño tal como un resto de prolina (Pro) en una posición que se corresponde con la posición 113 de la secuencia de aminoácidos representada en SEQ ID NO: 1, y tienen un elevado rendimiento en comparación con el de un control no mutado correspondiente cuando se expresa en un sistema de expresión heteróloga.

El término "sistema de expresión heteróloga" o equivalente significa un sistema para expresar una secuencia de ADN de un organismo hospedador en un organismo receptor de una especie o género diferente del organismo hospedador. Normalmente se eligen receptores más prevalentes, conocidos como sistemas de expresión heteróloga, debido a que son fáciles de transferir en ADN o debido a que permiten una evaluación más simple de la función de proteínas. También se usan sistemas de expresión heteróloga, preferentemente debido a que permiten el aumento de escala de la producción de una proteína codificada por la secuencia de ADN en un proceso industrial. Organismos receptores preferidos para su uso como sistemas de expresión heteróloga incluyen organismos bacterianos, fúngicos y de levadura, tales como, por ejemplo, *Escherichia coli*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica*, hongos filamentosos y muchos más sistemas muy conocidos en la técnica.

Como se usa en el presente documento, el grado de identidad entre dos o más secuencias de aminoácidos es equivalente a una función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias (es decir, % de identidad = número de posiciones idénticas dividido entre el número total de posiciones x 100), excluyendo huecos, que necesitan ser introducidos para el alineamiento óptimo de las dos secuencias, y nucleótidos protuberantes. La comparación de secuencias y la determinación del porcentaje de identidad entre dos o más secuencias pueden llevarse a cabo usando métodos convencionales conocidos en la técnica. Por ejemplo, un programa gratuito convencionalmente usado para este fin es la herramienta "Align" en el recurso de NCBI http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&BLAST_SPEC=blast2seq&LINK_LOC=align2seq

En una realización preferida, el alineamiento de dos secuencias va a realizarse a lo largo de la longitud completa de los polipéptidos.

Los presentes polipéptidos o proteínas de lacasa pueden fusionarse con secuencias adicionales, por unión o inserción, que incluyen, pero no se limitan a, marcas de afinidad, que facilitan la purificación de proteínas (S-tag, dominio de unión a maltosa, dominio de unión a quitina), dominios o secuencias que ayudan en el plegamiento (tales como dominio de tioredoxina, proteína SUMO), secuencias que afectan la localización de proteínas (señales de localización periplásmica, etc.), proteínas que llevan función adicional, tales como proteína verde fluorescente (GFP), o secuencias que representan otra actividad enzimática. Otros componentes de fusión adecuados para las presentes lacasas son conocidos para aquellos expertos en la materia.

La presente invención también se refiere a polinucleótidos que codifican cualquiera de las variantes de lacasa desveladas en el presente documento. Medios y métodos para clonar y aislar tales polinucleótidos son muy conocidos en la técnica.

Además, la presente invención se refiere a un vector que comprende un polinucleótido según la invención, opcionalmente operativamente unido a una o más secuencias de control. Secuencias de control adecuados están fácilmente disponibles en la materia e incluyen, pero no se limitan a, secuencias de promotor, conductor, poliadenilación y señal.

Las variantes de lacasa según diversas realizaciones de la presente invención pueden obtenerse por métodos recombinantes convencionales conocidos en la técnica. Brevemente, un método tal puede comprender las etapas de i) cultivar una célula hospedadora recombinante deseada en condiciones adecuadas para la producción de una presente variante de polipéptido de lacasa, y ii) recuperar la variante de polipéptido obtenida. El polipéptido puede entonces opcionalmente purificarse adicionalmente.

Puede usarse un gran número de sistemas de vector-hospedador conocidos en la técnica para la producción recombinante de variantes de lacasa. Posibles vectores incluyen, pero no se limitan a, plásmidos o virus modificados que se mantienen en la célula hospedadora como molécula de ADN autónoma o se integran en ADN genómico. El sistema de vector debe ser compatible con la célula hospedadora usada como es muy conocido en la técnica. Ejemplos no limitantes de células hospedadoras adecuadas incluyen bacterias (por ejemplo, *E. coli*, bacilos), levadura (por ejemplo, *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*), hongos (por ejemplo, hongos filamentosos), células de insecto (por ejemplo, Sf9).

Un polipéptido según la invención puede ser ventajosamente usado en una aplicación seleccionada del grupo que consiste en deslignificación de pasta, degradación o disminución de la integridad estructural de material lignocelulósico, blanqueamiento de tintes textiles, destoxificación de aguas residuales, destoxificación xenobiótica, producción de un azúcar a partir de un material lignocelulósico y recuperación de celulosa de una biomasa.

En todavía otros términos, la invención se refiere a un método de mejora del rendimiento de un polipéptido con actividad de lacasa en un sistema de expresión heteróloga que comprende la etapa de alterar el aminoácido en una posición correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1 a un resto no polar tal como un aminoácido no polar pequeño, tal como prolina.

En una realización preferida adicional, la invención se refiere a un método de mejora del rendimiento de un polipéptido con actividad de lacasa en un sistema de expresión heteróloga, en la que el polipéptido consiste en una secuencia de aminoácidos que es más del 80 % idéntica a la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1, comprendiendo el método la etapa de alterar la secuencia de aminoácidos del polipéptido en una posición correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1 a un resto no polar tal como un aminoácido no polar pequeño, tal como prolina.

En una realización preferida adicional, la invención se refiere a un método como se ha descrito anteriormente, en la que el polipéptido con actividad de lacasa es una proteína de la envoltura de la espora, preferentemente codificado por una especie de *Bacillus*, más preferentemente *Bacillus subtilis*.

Leyenda de las figuras

Figura 1: Aumento relativo de la actividad volumétrica.

Gráfico que muestra el aumento relativo de la actividad volumétrica en cultivos paralelos en *E. coli* de lacasas naturales (no mutadas) frente a de variante según SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 7. La abreviatura SEQ seguida de un número se refiere a SEQ ID NO: del número respectivo; SEQ1 se refiere a SEQ ID NO: 1. SEQ 1 113P se refiere al polipéptido según SEQ ID NO: 1, en el que el aminoácido correspondiente a la posición 113 está sustituido por P (Pro o prolina).

Figura 2: Aumento relativo de la actividad volumétrica.

Gráfico que muestra el aumento relativo de la actividad volumétrica en cultivos paralelos en *E. coli* de lacasas naturales (no mutadas) frente a de variante según SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 7. La abreviatura SEQ seguida de un número se refiere a SEQ ID NO: del número respectivo; SEQ1 se refiere a SEQ ID NO: 1. SEQ 1 113P se refiere al polipéptido según SEQ ID NO: 1, en el que el aminoácido correspondiente a la posición 113 está sustituido por P (Pro o prolina).

Figura 3: Aumento relativo de la actividad volumétrica.

Gráfico que muestra el aumento relativo de la actividad volumétrica en cultivos paralelos en *Pichia pastoris* de lacasas naturales (no mutadas) frente a de variante según SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2. La abreviatura SEQ seguida de un número se refiere a SEQ ID NO: del número respectivo; SEQ1 se refiere a SEQ ID NO: 1. SEQ 1 113P se refiere al polipéptido según SEQ ID NO: 1, en el que el aminoácido correspondiente a la posición 113 está sustituido por P (Pro o prolina).

Ejemplos

Ejemplo 1: Construcción de lacasas con propiedades mejoradas.

Se introdujeron mutaciones como se describe en el presente documento en diversos genes recombinantes por mutagénesis dirigida al sitio convencional esencialmente como se describe en el documento WO 2013/038062. En más detalle: Para introducir la mutación 113P en el gen de SEQ ID NO: 1, los presentes inventores llevaron a cabo dos PCR separadas:

(1) con los cebadores Cebador 1 GAAATTAATACGACTCACTATAGG (SEQ ID NO: 15) y Cebador 2 (Seq1) TGGCGTGACGCCTCCGTGTAAATGAACGAC (SEQ ID NO: 16),

(2) con Cebador 3 (Seq1)

TACACGGAGGCGTCACGCCAccgGATAGTGACGG (SEQ ID NO: 17) y Cebador 4 GGTTATGCTAGTTATTGCTCAGCGGTG (SEQ ID NO: 18).

En ambas reacciones, se usó gen recombinante sin la mutación como molde. Los Cebadores 1 y 4 se unen dentro de la secuencia de vector y no son específicos para el gen recombinante. Los Cebadores 2 y 3 se unen dentro del gen recombinante y solapan sus sitios de unión. El sitio de unión del Cebador 3 contiene el sitio de mutación. El Cebador 3 representa la secuencia mutada (deseada), que no es el 100 % coincidente con el molde (fuente en minúscula en la secuencia de cebador indica los nucleótidos incompatibles), sin embargo, el cebador tiene afinidad y

especificidad suficientes por el sitio de unión para producir el producto de PCR deseado. Se combinaron productos de PCR purificados de las reacciones (1) y (2) y se usaron como molde para la reacción de PCR con el Cebador 1 y Cebador 4. El producto de esta reacción, que contiene la secuencia mutante del gen, se clonó en un vector plasmídico para la expresión en *E. coli*.

Para introducir las mutaciones D113A, D113G y D113V en SEQ D NO: 1, los presentes inventores usaron los siguientes Cebadores 3:

Tabla 2: Cebadores 3 específicos usados para introducir mutaciones en SEQ ID NO: 1

Cebador 3 específico usado para introducir variaciones		**Variante obtenida**	
Secuencia de Cebador 3	**SEQ ID NO:**	**Cambio de AA introducido en la posición 113**	**SEQ ID NO:**
TACACGGAGGCGTCACGCCAccgGATAGTGACGG	17	Pro	3
TACACGGAGGCGTCACGCCAGcgGATAGTGACGG	19	Ala	9
TACACGGAGGCGTCACGCCAGgcGATAGTGACGG	20	Gly	10
TACACGGAGGCGTCACGCCAGtgGATAGTGACGG	21	Val	11

Similarmente, para introducir una mutación 113P en una lacasa según SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 7, los presentes inventores usaron los mismos Cebador 1 y Cebador 4, mientras que el Cebador 2 fue específico para cada lacasa y el Cebador 3 contuvo la mutación deseada.

En el polipéptido que comprende la secuencia según SEQ ID NO: 2, hay un ácido aspártico en la posición 113, la posición correspondiente al aminoácido 113 en SEQ ID NO: 1. Para introducir la mutación D113P en el polipéptido que comprende la secuencia según SEQ ID NO: 2, se usaron los siguientes Cebadores 3 y 2:

Cebador 3 TACACGGAGGCGTCACGCCTccgGATAGTGACGG (SEQ ID NO: 22)

Cebador 2 AGGCGTGACGCCTCCGTGTAAATGAACAAC (SEQ ID NO: 23).

En el polipéptido que comprende la secuencia según SEQ ID NO: 5, hay un ácido glutámico (Glu o E) en la posición 113, la posición correspondiente al aminoácido 113 en SEQ ID NO: 1. Para introducir la mutación E113P en el polipéptido que comprende la secuencia según SEQ ID NO: 5, se usaron los siguientes Cebadores 3 y 2:

Cebador 3 TTTACACGGAGGCGTCACGCCAccGGATAGCGACG (SEQ ID NO: 24)

Cebador 2 TGGCGTGACGCCTCCGTGTAAATGAACGACG (SEQ ID NO: 25).

En el polipéptido que comprende la secuencia según SEQ ID NO: 7, hay una tirosina (Tyr o Y) en la posición 113, la posición correspondiente al aminoácido 113 en SEQ ID NO: 1. Para introducir las mutaciones Y113P, Y113A, Y113G y Y113V en el polipéptido que comprende la secuencia según SEQ ID NO: 7, se usó el siguiente Cebador 2 en combinación con los Cebadores 3 como se enumera en la Tabla 3.

Cebador 2 AGGCGTGGCGCCGCCATGTAAATGAACAAC (SEQ ID NO: 26).

Tabla 3: Cebadores 3 específicos usados para introducir mutaciones en SEQ ID NO: 7

Cebador 3 específico usado para introducir variaciones		**Variante obtenida**	
Secuencia de Cebador 3	**SEQ ID NO:**	**Cambio de AA introducido en la posición 113**	**SEQ ID NO:**
TACACGGAGGCGTCACGCCAccgGATAGTGACGG	27	Pro	8
TACACGGAGGCGTCACGCCAGcgGATAGTGACGG	28	Ala	12
TACACGGAGGCGTCACGCCAGgcGATAGTGACGG	29	Gly	13
TACACGGAGGCGTCACGCCAGtgGATAGTGACGG	30	Val	14

Ejemplo 2: Expresión heteróloga de lacasas de variante y no mutadas.

Se expresaron lacasas de variante en *E. coli* y *Pichia pastoris*.

Para la expresión en *Pichia pastoris*, se clonaron genes recombinantes en un vector de expresión de *Pichia pastoris* comercial pPICZ-A disponible de Invitrogen (Life Technologies). Este vector proporciona expresión de proteínas secretadas bajo el control del promotor AOX1 inducible por metanol tras la integración de la construcción en ADN genómico de la célula de levadura.

Se introdujo ADN de plásmido linealizado en células de levadura por electroporación, y se seleccionaron clones con gen recombinante integrado en placas de medio de agar con zeocina (25 ug/ml). Se probaron diez colonias de cada construcción en cultivos líquidos pequeños (3 ml) con 72 horas de cultivo en agitador humidificado a 28 ºC según el manual del fabricante de plásmidos (http://tools.lifetechnologies.com/content/sfs/manuals/ppiczalpha_man.pdf). El medio recomendado por el fabricante se complementó con CuCl 1 mM, ya que la proteína lacasa contiene cobre como cofactor. Se midió la actividad en el medio por oxidación de ABTS (véase el Ejemplo 4), y se seleccionaron los 2 mejores clones productores para cada gen. Se cultivaron cultivos en paralelo de los clones seleccionados a escala de matraz según el manual del fabricante de plásmidos (véase anteriormente) a 28 ºC durante 105 h. Las células se eliminaron por centrifugación, se recogió el medio que contenía la proteína recombinante. Estas preparaciones se usaron para la comparación de actividades volumétricas de genes de variante y no mutados.

Para la expresión recombinante en *E. coli*, se clonaron genes recombinantes en el vector de expresión comercial pET-28 bajo el control del promotor del bacteriófago T7. La producción de proteínas se llevó a cabo en la cepa BL21(DE3) de *E. coli* según el protocolo del fabricante de plásmidos http://richsingiser.com/4402/Novagen%20pET%20system%20manual.pdf. El medio recomendado por el fabricante se complementó con CuCl 1 mM, ya que la proteína lacasa contiene cobre como cofactor. La temperatura de incubación para la producción de proteínas fue 30 ºC, que se encontró óptima para el máximo rendimiento de la proteína activa. Las células se lisaron usando tampón de lisis (Tris-HCl 50 mM a pH 7,4, 1 % de Triton X100, CuCl 1 mM) y se calentó a 70 ºC durante 20 min. Se eliminó por centrifugación el residuo de células coaguladas. La lacasa recombinante que era una proteína termoestable quedó en la fracción soluble. La actividad enzimática fue detectable solo en la fracción soluble. El análisis de fracciones solubles e insolubles por electroforesis en gel revela que más del 90 % de la proteína recombinante está presente en forma inactiva insoluble como cuerpos de inclusión (según datos de la bibliografía).

Ejemplo 3: Medición del rendimiento.

Se determinó el rendimiento relativo de lacasas solubles mutadas y no mutadas por densitometría de bandas de proteína después de la electroforesis en gel de poliacrilamida desnaturalizante. Para este fin, se analizaron muestras de proteínas solubles después del tratamiento térmico (véase el Ejemplo 2) obtenidas de cultivos en paralelo de clones mutados y no mutados por electroforesis en gel bajo condiciones desnaturalizantes (un método convencional muy conocido en la técnica de biología molecular). Después de la tinción del gel con azul brillante de Coomassie, el gel se barrió para obtener una imagen de mapa de bits, y se cuantificó la intensidad de la banda correspondiente a la lacasa recombinante por el software ImageJ (un programa gratuito público desarrollado en el Instituto Nacional de Salud y en línea disponible en http://imagej.nih.gov/ij/)

Ejemplo 4. Medición de la actividad relativa de lacasa.

Como se ha establecido anteriormente, el término "actividad de lacasa" se usa en el presente documento para significar la capacidad para actuar como una enzima lacasa, que puede expresarse como la máxima velocidad inicial de la reacción de oxidación específica. Se midió la actividad relativa por oxidación de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico). La evolución de la reacción se monitorizó por cambio en la absorbancia a 405 nM (desarrollo de color verde). Se determinó el tiempo de reacción apropiado para proporcionar velocidades iniciales de oxidación cuando el desarrollo de color es lineal con el tiempo. La concentración de sustrato (ABTS) fue 5 mM para proporcionar velocidades iniciales máximas (condiciones de saturación de sustrato).

Normalmente, se llevaron a cabo reacciones en placas de fondo plano de 96 pocillos, cada pocillo contuvo 2 ul de preparación de enzima en 200 ul de ácido succínico 100 mM a pH 5, la reacción se inició por la adición simultánea del sustrato (22 ul de ABTS 50 mM) a cada pocillo. Después de transcurrir el tiempo de reacción, se determinó la absorbancia a 405 nm de las mezclas de reacción por un lector de placas (Multiscan Go, Thermo Scientific). Con el fin de determinar la actividad relativa de la lacasa mutada, se tomó la absorbancia de la muestra de lacasa de referencia para el 100 %, y se determinó la actividad relativa como la fracción de esta absorbancia.

Ejemplo 5: Identificación de la posición de aminoácido correspondiente a la posición 113.

Con el fin de identificar la posición de aminoácido que se corresponde con la posición 113 en SEQ ID NO: 1 en una secuencia X dada, la secuencia X se alinea con la secuencia de SEQ ID NO: 1 usando software convencional disponible en la materia, en este caso la herramienta "Align" en el recurso de NCBI http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&BLAST_SPEC=blast2s eq&LINK_LOC=align2seq

Como un ejemplo, se alinearon las secuencias 31 - 61 con SEQ ID NO: 1. Solo un fragmento de ese alineamiento se muestra en la Tabla 4, es decir, el fragmento correspondiente a los aminoácidos 101 - 130 de SEQ ID NO: 1. Es

inmediatamente evidente que esta región particular está altamente conservada o es altamente homóloga, conduciendo a un alto grado de identidad en todas las secuencias examinadas. Por ejemplo, el resto de asparagina (D) en la posición 113 de SEQ ID NO: 1 se corresponde con un resto de asparagina en la posición 113 en SEQ ID NO: 31, con un resto de asparagina en la posición 115 en SEQ ID NO: 40, con un resto de asparagina en la posición 109 en SEQ ID NO: 58 y con un resto de tirosina (Y) en la posición 113 en SEQ ID NO: 60. La posición del primer y último aminoácido de cada fragmento se muestra en la Tabla 4. El aminoácido correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1 está subrayado.

Las secuencias de SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 14 se muestran en la Tabla 5.

Tabla 4: Alineamiento a lo largo de la longitud completa de SEQ ID NO: 1 con SEQ ID NO: 31 - 61, se muestran fragmentos entre los aminoácidos 101-130. El aminoácido en la posición correspondiente al aminoácido 113 en SEQ ID NO: 1 se muestra subrayado.

N.º de acceso:	**Primer AA**	**Secuencia correspondiente al aminoácido 101-130 de SEQ ID NO: 1.**	**Último AA**	**SEQ ID NO:**	**Fragmento de SEQ ID NO:**	**AA en la pos corr. a AA 113**
SEQ ID NO:1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	62	1	Asp
AGZ16504.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	63	31	Asp
YP_003865004.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	64	32	Asp
WP_004397739.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	65	33	Asp
WP_019713492.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	66	34	Asp
AGR50961.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	67	35	Asp
YP_007425830.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	68	36	Asp
YP_004206641.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	69	37	Asp
YP_006230497.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	70	38	Asp
EXF51833.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	71	39	Asp
WP_003234000.1	103	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	132	72	40	Asp
YP_006628799.1	103	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	132	73	41	Asp
NP_388511.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	74	42	Asp
YP_007661398.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	75	43	Asp
4AKQ_A	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	76	44	Asp
4A68_A	101	KTVVHLHGGVTPDDSNGYPEAWFSKDFEQT	130	77	45	Asp
4A66_A	101	KTVVHLHGGVTPDDSAGYPEAWFSKDFEQT	130	78	46	Asp
ACS44284.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	79	47	Asp
AGK12417.1	101	RTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDLEQT	130	80	48	Asp
2X87_A	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	81	49	Asp
AFN66123.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	82	50	Asp
4A67_A	101	KTVVHLHGGVTPDDSEGYPEAWFSKDFEQT	130	83	51	Asp
2WSD_A	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	84	52	Asp
4AKP_A	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	85	53	Asp

N.º de acceso:	Primer AA	Secuencia correspondiente al aminoácido 101-130 de SEQ ID NO: 1.	Último AA	SEQ ID NO:	Fragmento de SEQ ID NO:	AA en la pos corr. a AA 113
ACM46021.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	86	54	Asp
WP_010329056.1	101	KTVVHLHGGVTPEDSDGYPEAWFTKDFEQT	130	87	55	Glu
AEK80414.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	88	56	Asp
WP_010333230.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	89	57	Asp
4AKO_A	97	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	126	90	58	Asp
AAB62305.1	101	KTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQT	130	91	59	Asp
YP_003972023.1	101	KTVVHLHGGATPYDSDGYPEAWFSKGFQET	130	92	60	Tyr
WP_010787813.1	101	KTVVHLHGGATPYDSDGYPEAWFSKGFQET	130	93	61	Tyr

Tabla 5: Secuencias de SEQ ID NO: 1 - 14.

SEQ ID NO:	Nombre	Organismo	Secuencia
1	COT1	Bacillus subtilis	MTLEKFVDALPIPDTLKPVQQTTEKTYYEVTMEECAHQLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTIEVKRNENVYVKWMNNL PSEHFLPIDHTIHESDSQHEEPEVKTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQTGPYFKREVYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLVGAYIHDPKEKRLKLPSGEYDVPLLITDRTINEDGSLFYPSGPENPSPSLPKPSIVPAF CGDTILVNGKVWPYLEVEPRKYRFRVINASNTRTYNLSLDNGGEFIQIGSDGGLLPRSVKLNSFSLAPAERYDIII DFTAYEGESIILANSEGCGGDANPETDANIMQFRVTKPLAQKDESRKPKYLASYPSVQNERIQNIRTLKLAGTQDE YGRPVLLLNNKRWEDPVTEAPKAGTTEIWSIVNPTQGTHPIHLHLVSFRVLDRRPFDIARYQERGELSYTGPAVPP PPSEKGWKDTIQAHAGEVLRIAVTFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDITDPHK
2	Cot2	Bacillus subtilis	MTLEKFVDALPIPDTLKPVQQSKEKTYYEVTMEECTHQLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTIEVKRNENVYVKWMNNL PSTHFLPIDHTIHESDSQHEEPEVKTVVHLHGGVTPDDSDGYPEAWFSKDFEQTGPYFKREVYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLVGAYIHDPKEKRLKLPSEEYDVPLLITDRTINEDGSLFYPSGPENPSPSLPNPSIVPAF CGETILVNGKVWPYLEVEPRKYRFRVINASNTRTYNLSLDNGGEFIQIGSDGGLLPRSVKLTSFSLAPAERYDIII DFTAYEGQSIILANSAGCGGDVNPETDANIMQFRVTKPLAQKDESRKPKYLASYPSVQNERIQNIRTLKLAGTQDE YGRPVLLLNNKRWEDPVTEAPKAGTTEIWSIINPTRGTHPIHLHLVSFRVIDRRPFDIAHYQESGALSYTGPAVPP PPSEKGWKDTIQAHAGEVLRIAATFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDITDPHKSDPNSSSVDKLHRTRAPPP PPLRSGC
3	Cot1 113P	Bacillus subtilis	MTLEKFVDALPIPDTLKPVQQTTEKTYYEVTMEECAHQLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTIEVKRNENVYVKWMNNL PSEHFLPIDHTIHESDSQHEEPEVKTVVHLHGGVTPPDSDGYPEAWFSKDFEQTGPYFKREVYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLVGAYIHDPKEKRLKLPSGEYDVPLLITDRTINEDGSLFYPSGPENPSPSLPKPSIVPAF CGDTILVNGKVWPYLEVEPRKYRFRVINASNTRTYNLSLDNGGEFIQIGSDGGLLPRSVKLNSFSLAPAERYDIII DFTAYEGESIILANSEGCGGDANPETDANIMQFRVTKPLAQKDESRKPKYLASYPSVQNERIQNIRTLKLAGTQDE YGRPVLLLNNKRWEDPVTEAPKAGTTEIWSIVNPTQGTHPIHLHLVSFRVLDRRPFDIARYQERGELSYTGPAVPP PPSEKGWKDTIQAHAGEVLRIAVTFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDITDPHK

SEQ ID NO:	Nombre	Organismo	Secuencia
4	Cot2 113P	Bacillus subtilis	MTLEKFVDALPIPDTLKPVQQSKEKTYYEVTMEECTHQLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTIEVKRNENVYVKWMNNL PSTHFLPIDHTIHESDSQHEEPEVKTVVHLHGGVTPPDSDGYPEAWFSKDFEQTGPYFKREVYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLVGAYIIHDPKEKRLKLPSEEYDVPLLITDRTINEDGSLFYPSGPENPSPSLPNPSIVPAF CGETILVNGKVWPYLEVEPRKYRFRVINASNTRTYNLSLDNGGEFIQIGSDGGLLPRSVKLTSFSLAPAERYDIII DFTAYEGQSIILANSAGCGGDVNPETDANIMQFRVTKPLAQKDESRKPKYLASYPSVQNERIQNIRTLKLAGTQDE YGRPVLLLNNKRWHDPVTEAPKAGTTEIWSIINPTRGTHPIHLHLVSFRVIDRRPFDIAHYQESGALSYTGPAVPP PPSEKGWKDTIQAHAGEVLRIAATFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDITDPHKSDPNSSSVDKLHRTRAPPP PPLRSGC
5	Seq55 WT	Bacillus vallismortis	MTLEKFVDALPIPETLKPVQQTKEKTYYEVTMEECAHKLHRDLPPTRLWGYNCQFPGPTIEVNRNENVYVKWMNHL SSTHFLPVDHTIHESDSQHEEPEVKTVVHLHGGVTPEDSDGYPEAWFTKDFEQTGPYFKREIYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLIGAYLIHDPKEKRLKLPSGEYDVPLLITDRTINGDGSLFYPNGPENPSPSLPNPSIVPAF CGETILVNGKAWPYLEVEPRKYRFRVINASNTRTYNLSLDNDGEFIQIGSDGGLLPRSVKLNSFSLAPAERYDIII DFTAYEGQSIILANSEGCGGDANPETDANIMQFRVTKPLAQKDESRKPKYLASYPSVQNERIHNIRTLKLAGTQDE YGRPVLLLNNKRWHDPVTETPKAGTTEIWSIINPTRGTHPIHLHLVSFRVLDRRPFDIARYQERGELSYTGPAVPP PPSEKGWKDTIQAHAGEVLRIAATFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDITDPHK
6	SEQ 55 E113P	Bacillus vallismortis	MTLEKFVDALPIPETLKPVQQTKEKTYYEVTMEECAHKLHRDLPPTRLWGYNCQFPGPTIEVNRNENVYVKWMNHL SSTHFLPVDHTIHESDSQHEEPEVKTVVHLHGGVTPPDSDGYPEAWFTKDFEQTGPYFKREIYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLIGAYLIHDPKEKRLKLPSGEYDVPLLITDRTINGDGSLFYPNGPENPSPSLPNPSIVPAF CGETILVNGKAWPYLEVEPRKYRFRVINASNTRTYNLSLDNDGEFIQIGSDGGLLPRSVKLNSFSLAPAERYDIII DFTAYEGQSIILANSEGCGGDANPETDANIMQFRVTKPLAQKDESRKPKYLASYPSVQNERIHNIRTLKLAGTQDE YGRPVLLLNNKRWHDPVTETPKAGTTEIWSIINPTRGTHPIHLHLVSFRVLDRRPFDIARYQERGELSYTGPAVPP PPSEKGWKDTIQAHAGEVLRIAATFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDITDPHK
7	SEQ 60 WT	Bacillus atrophaeus	MNLEKFADMLPIPEVLKPHQQTKESTYYEVTMKEFYQKLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTIEVNRNENVQIKWMNDL PDQHFLPIDHTIHESEGHHQEPEVKTVVHLHGGATPYDSDGYPEAWFSKGFQETGPYFSREIYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLAGVYIIHDPKEKRLKLPAGEYDVPLMIMDRTINEDGSLFYPSGPENPSPTLPTPSIVPAF CGDTILVNGKAWPYMEVEPRAYRFRIVNASNTRTYNLSLDNGGEFLQVGSDGGLLPRSVKLSSISLAPAERFDIII DFAAFEGQSIVLANSEGCGGPANPESDANVMQFRVIKPLKEKDESRKPRFLTNLPPVTDEKIQNLRTLKLTGTQDE YGRPVLLLNNKRWSDPVTEAPKLGTSEIWSIINPTRGTHPIHLHLISFRVLDRRPFDTAKYAETGNVVFTGPAVPP PPSEKGWKDTVQSHAGEVIRIMAKFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDVVDPNQ

SEQ ID NO:	Nombre	Organismo	Secuencia
8	SEQ 60 Y113P	Bacillus atrophaeus	MNLEKFADMLPIPEVLKPHQQTKESTYYEVTMKEFYQKLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTIEVNRNENVQIKWMNDL PDQHFLPIDHTIHESEGHHQEPEVKTVVHLHGGATPPDSDGYPEAWFSKGFQETGPYFSREIYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLAGVYIIHDPKEKRLKLPAGEYDVPLMIMDRTINEDGSLFYPSGPENPSPILPTPSIVPAF CGDTILVNGKAWPYMEVEPRAYRFRIVNASNTRTYNLSLDNGGEFLQVGSDGGLLPRSVKLSSISLAPAERFDIII DFAAFEGQSIVLANSEGCGGPANPESDANVMQFRVIKPLKEKDESRKPRFLINLPPVTDEKIQNLRTLKLTGTQDE YGRPVLLLNNKRWSDPVTEAPKLGTSEIWSIINPTRGTHPIHLHLISFRVLDRRPFDTAKYAETGNVVFTGPAVPP PPSEKGWKDTVQSHAGEVIRIMAKFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDVVDPNQ
9	Cot1 113A	Bacillus subtilis	MTLEKFVDALPIPDTLKPVQQTTEKTYYEVTMEECAHQLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTIEVKRNENVYVKWMNNL PSEHFLPIDHTIHHSDSQHEEPEVKTVVHLHGGVTPADSDGYPEAWFSKDFEQTGPYFKREVYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLVGAYIIHDPKEKRLKLPSGEYDVPLIITDRTINEDGSLFYPSGPENPSPSLPKPSIVPAF CGDTILVNGKVWPYLEVEPRKYRFRVINASNTRTYNLSLDNGGEFIQIGSDGGLLPRSVKLNSFSLAPAERYDIII DFTAYEGESIILANSEGCGGDANPETDANIMQFRVTKPLAQKDESRKPKYLASYPSVQNERIQNIRTLKLAGTQDE YGRPVLLLNNKRWHDPVTEAPKAGTTEIWSIVNPTQGTHPIHLHLVSFRVLDRRPFDIARYQERGELSYTGPAVPP PPSEKGWKDTIQAHAGEVLRIAVTFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDITDPHK
10	Cot1 113G	Bacillus subtilis	MTLEKFVDALPIPDTLKPVQQTTEKTYYEVTMEECAHQLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTIEVKRNENVYVKWMNNL PSEHFLPIDHTIHESDSQHEEPEVKTVVHLHGGVTPGDSDGYPEAWFSKDFEQTGPYFKREVYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLVGAYIIHDPKEKRLKLPSGEYDVPLLITDRTINEDGSLFYPSGPENPSPSLPKPSIVPAF CGDTILVNGKVWPYLEVEPRKYRFRVINASNTRTYNLSLDNGGEFIQIGSDGGLLPRSVKLNSFSLAPAERYDIII DFTAYEGESIILANSEGCGGDANPETDANIMQFRVTKPLAQKDESRKPKYLASYPSVQNERIQNIRTLKLAGTQDE YGRPVLLLNNKRWHDPVTEAPKAGTTEIWSIVNPTQGTHPIHLHLVSFRVLDRRPFDIARYQERGELSYTGPAVPP PPSEKGWKDTIQAHAGEVLRIAVTFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDITDPHK
11	Cot1 113V	Bacillus subtilis	MTLEKFVDALPIPDTLKPVQQTTEKTYYEVTMEECAHQLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTIEVKRNENVYVKWMNNL PSEHFLPIDHTIHESDSQHEEPEVKTVVHLHGGVTPVDSDGYPEAWFSKDFEQTGPYFKREVYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLVGAYIIHDPKEKRLKLPSGEYDVPLLITDRTINEDGSLFYPSGPENPSPSLPKPSIVPAF CGDTILVNGKVWPYLEVEPRKYRFRVINASNTRTYNLSLDNGGEFIQIGSDGGLLPRSVKLNSFSLAPAERYDIII DFTAYEGESIILANSEGCGGDANPETDANIMQFRVTKPLAQKDESRKPKYLASYPSVQNERIQNIRTLKLAGTQDE YGRPVLLLNNKRWHDPVTEAPKAGTTEIWSIVNPTQGTHPIHLHLVSFRVLDRRPFDIARYQERGELSYTGPAVPP PPSEKGWKDTIQAHAGEVLRIAVTFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDITDPHK

SEQ ID NO:	Nombre	Organismo	Secuencia
12	SEQ 60 113A	Bacillus atrophaeus	MNLEKFADMLPIPEVLKPHQQTKESTYYEVTMKEFYQKLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTIEVNRNENVQIKWMNDL PDQHFLPIDHTIHESEGHHQEPEVKTVVHLHGGATPADSDGYPEAWFSKGFQETGPYFSREIYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLAGVYIIHDPKEKRLKLPAGEYDVPLMIMDRTINEDGSLFYPSGPENPSPTLPTPSIVPAF CGDTILVNGKAWPYMEVEPRAYRFRIVNASNTRTYNLSLDNGGEFLQVGSDGGLLPRSVKLSSISLAPAERFDIII DFAAFEGQSIVLANSEGCGGPANPESDANVMQFRVIKPLKEKDESRKPRFLTNLPPVTDEKIQNLRTLKLTGTQDE YGRPVLLLNNKRWSDPVTEAPKLGTSEIWSIINPTRGTHPIHLHLISFRVLDRRPFDTAKYAETGNVVFTGPAVPP PPSEKGWKDTVQSHAGEVIRIMAKFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDVVDPNQ
13	SEQ 60 113G	Bacillus atrophaeus	MNLEKFADMLPIPEVLKPHQQTKESTYYEVTMKEFYQKLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTIEVNRNENVQIKWMNDL PDQHFLPIDHTIHHSEGHHQEPEVKTVVHLHGGATPGDSDGYPEAWFSKGFQETGPYFSREIYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLAGVYIIHDPKEKRLKLPAGEYDVPLMIMDRTINEDGSLFYPSGPENPSPTLPTPSIVPAF CGDTILVNGKAWPYMEVEPRAYRFRIVNASNTRTYNLSLDNGGEFLQVGSDGGLLPRSVKLSSISLAPAERFDIII DFAAFEGQSIVLANSEGCGGPANPESDANVMQFRVIKPLKEKDESRKPRFLTNLPPVTDEKIQNLRTLKLTGTQDE YGRPVLLLNNKRWSDPVTEAPKLGTSEIWSIINPTRGTHPIHLHLISFRVLDRRPFDTAKYAETGNVVFTGPAVPP PPSEKGWKDTVQSHAGEVIRIMAKFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDVVDPNQ
14	SEQ 60 113V	Bacillus atrophaeus	MNLEKFADMLPIPEVLKPHQQTKESTYYEVTMKEFYQKLHRDLPPTRLWGYNGLFPGPTIEVNRNENVQIKWMNDL PDQHFLPIDHTIHESEGHHQEPEVKTVVHLHGGATPVDSDGYPEAWFSKGFQETGPYFSREIYHYPNQQRGAILWY HDHAMALTRLNVYAGLAGVYIIHDPKEKRLKLPAGEYDVPLMIMDRTINEDGSLFYPSGPENPSPTLPTPSIVPAF CGDTILVNGKAWPYMEVEPRAYRFRIVNASNTRTYNLSLDNGGEFLQVGSDGGLLPRSVKLSSISLAPAERFDIII DFAAFEGQSIVLANSEGCGGPANPESDANVMQFRVIKPLKEKDESRKPRFLTNLPPVTDEKIQNLRTLKLTGTQDE YGRPVLLLNNKRWSDPVTEAPKLGTSEIWSIINPTRGTHPIHLHLISFRVLDRRPFDTAKYAETGNVVFTGPAVPP PPSEKGWKDTVQSHAGEVIRIMAKFGPYSGRYVWHCHILEHEDYDMMRPMDVVDPNQ

Referencias

1. Martins LO, Soares CM, Pereira MM, Teixeira M, Costa T, Jones GH, et al. Molecular and biochemical characterization of a highly stable bacterial laccase that occurs as a structural component of the Bacillus subtilis endospore coat. J Biol Chem 2002; 277:18849-59.

2. Bento I, Martins LO, Gato Lopes G, Armenia Carrondo M, Lindley PF. Dioxygen reduction by multi-copper oxidases; a structural perspective. Dalton Trans 2005; 21:3507-13.

3. Brissos V, Pereira L, Munteanu FD, Cavaco-Paulo A, Martins LO. Expression system of CotA-laccase for directed evolution and high-throughput screenings for the oxidation of high-redox potential dyes. Biotechnol J 2009; 4:558-63.

4. Suzuki T, Endo K, Ito M, Tsujibo H, Miyamoto K, Inamori Y. A thermostable laccase from Streptomyces lavendulae REN-7: purification, characterization, nucleotide sequence and expression. Biosci Biotechnol Biochem 2003; 67:2167-75.

5. Kumar et al., "Combined sequence and structure analysis of the fungal laccase family", Biotechnol. Bioeng., 83, 386-394, 2003;

6. Morozova et al., "Blue laccases", Biochemistry (Moscow), 72, 1136-1150, 2007).

7. Cantarella et al., (Determination of laccase activity in mixed solvents: Comparison between two chromogens in a spectrophotometric assay", Biotechnology and Bioengineering V. 82 (4), pp 395-398, 2003).

8. Methods in Molecular Biology, Vol 182, "In vitro mutagenesis protocols", Eds Jeff Braman, Humana Press 2002).

9. Nasoohi N et al., Enhancement of catalysis and functional expression of a bacterial laccase by single amino acid replacement. Int J Biol Macromol 2013; 60:56-61

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Metgen OY

<120> VARIANTES DE LACASA CON PROPIEDADES MEJORADAS

<130> 283 WO

<160> 93

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 513

<212> PRT

<213> Bacillus subtilis

<400> 1

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

Lys Pro Val Gln Gln Thr Thr Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Ala His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Lys Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Ala Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Val Asn Pro Thr Gln
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 2

<211> 539

<212> PRT

<213> Bacillus subtilis

<400> 2

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Glu Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Gln Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Ile Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala His Tyr Gln Glu Ser Gly Ala Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys Ser Asp Pro Asn Ser Ser Ser Val Asp Lys Leu His Arg Thr Arg
515 520 525

Ala Pro Pro Pro Pro Pro Leu Arg Ser Gly Cys
530 535

<210> 3

<211> 513

<212> PRT

<213> Bacillus subtilis

<400> 3

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

Lys Pro Val Gln Gln Thr Thr Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Ala His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Pro Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Lys Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu

305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Ala Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Val Asn Pro Thr Gln
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 4

<211> 539

<212> PRT

<213> Bacillus subtilis

<400> 4

Met Thr Leu Glu Lys Phe Val Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu

1 5 10 15

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Pro Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Glu Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Gln Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Ile Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala His Tyr Gln Glu Ser Gly Ala Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys Ser Asp Pro Asn Ser Ser Ser Val Asp Lys Leu His Arg Thr Arg
515 520 525

Ala Pro Pro Pro Pro Pro Leu Arg Ser Gly Cys
530 535

<210> 5

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 5

```
Met Thr Leu Glu Lys Phe Val Asp Ala Leu Pro Ile Pro Glu Thr Leu
1               5                   10                  15

Lys Pro Val Gln Gln Thr Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
            20                  25                  30

Glu Glu Cys Ala His Lys Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
        35                  40                  45

Trp Gly Tyr Asn Cys Gln Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Asn Arg
    50                  55                  60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn His Leu Ser Ser Thr His
65                  70                  75                  80

Phe Leu Pro Val Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
                85                  90                  95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
            100                 105                 110

Glu Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Thr Lys Asp Phe Glu
        115                 120                 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Ile Tyr His Tyr Pro Asn Gln
    130                 135                 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145                 150                 155                 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Ile Gly Ala Tyr Leu Ile His Asp
                165                 170                 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
            180                 185                 190
```

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Gly Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Asn Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Gln Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Ala Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile His Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Thr
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 6

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 6

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

Lys Pro Val Gln Gln Thr Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Ala His Lys Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Cys Gln Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Asn Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn His Leu Ser Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Val Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Pro Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Thr Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Ile Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Ile Gly Ala Tyr Leu Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Gly Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Asn Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Gln Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Ala Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile His Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Thr

385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 7

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 7

Met Asn Leu Glu Lys Phe Ala Asp Met Leu Pro Ile Pro Glu Val Leu
1 5 10 15

Lys Pro His Gln Gln Thr Lys Glu Ser Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Lys Glu Phe Tyr Gln Lys Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Asn Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Gln Ile Lys Trp Met Asn Asp Leu Pro Asp Gln His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Glu Gly His His Gln

85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Ala Thr Pro
100 105 110

Tyr Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Gly Phe Gln
115 120 125

Glu Thr Gly Pro Tyr Phe Ser Arg Glu Ile Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Ala Gly Val Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ala Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Met Ile Met Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Thr Leu Pro Thr Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Met Glu Val Glu Pro Arg Ala Tyr Arg Phe Arg Ile Val Asn
245 250 255

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

Phe Leu Gln Val Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

Leu Ser Ser Ile Ser Leu Ala Pro Ala Glu Arg Phe Asp Ile Ile Ile
290 295 300

Asp Phe Ala Ala Phe Glu Gly Gln Ser Ile Val Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Pro Ala Asn Pro Glu Ser Asp Ala Asn Val Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Ile Lys Pro Leu Lys Glu Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Arg Phe Leu Thr Asn Leu Pro Pro Val Thr Asp Glu Lys Ile Gln Asn
355 360 365

Leu Arg Thr Leu Lys Leu Thr Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp Ser Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Leu Gly Thr Ser Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Ile Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Thr Ala Lys Tyr Ala Glu Thr Gly Asn Val Val
435 440 445

Phe Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Val Gln Ser His Ala Gly Glu Val Ile Arg Ile Met Ala Lys
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Val Val Asp Pro Asn
500 505 510

Gln

<210> 8

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 8

Met Asn Leu Glu Lys Phe Ala Asp Met Leu Pro Ile Pro Glu Val Leu
1 5 10 15

Lys Pro His Gln Gln Thr Lys Glu Ser Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Lys Glu Phe Tyr Gln Lys Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Asn Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Gln Ile Lys Trp Met Asn Asp Leu Pro Asp Gln His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Glu Gly His His Gln
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Ala Thr Pro
100 105 110

Pro Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Gly Phe Gln
115 120 125

Glu Thr Gly Pro Tyr Phe Ser Arg Glu Ile Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Ala Gly Val Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ala Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Met Ile Met Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Thr Leu Pro Thr Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Met Glu Val Glu Pro Arg Ala Tyr Arg Phe Arg Ile Val Asn
245 250 255

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

Phe Leu Gln Val Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

Leu Ser Ser Ile Ser Leu Ala Pro Ala Glu Arg Phe Asp Ile Ile Ile
290 295 300

Asp Phe Ala Ala Phe Glu Gly Gln Ser Ile Val Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Pro Ala Asn Pro Glu Ser Asp Ala Asn Val Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Ile Lys Pro Leu Lys Glu Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Arg Phe Leu Thr Asn Leu Pro Pro Val Thr Asp Glu Lys Ile Gln Asn
355 360 365

Leu Arg Thr Leu Lys Leu Thr Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp Ser Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Leu Gly Thr Ser Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Ile Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Thr Ala Lys Tyr Ala Glu Thr Gly Asn Val Val
435 440 445

Phe Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Val Gln Ser His Ala Gly Glu Val Ile Arg Ile Met Ala Lys
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Val Val Asp Pro Asn
500 505 510

Gln

<210> 9

<211> 513

<212> PRT

<213> Bacillus subtilis

<400> 9

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

Lys Pro Val Gln Gln Thr Thr Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Ala His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Ala Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Lys Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Ala Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Val Asn Pro Thr Gln
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 10

<211> 513

<212> PRT

<213> Bacillus subtilis

<400> 10

```
Met Thr Leu Glu Lys Phe Val Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu
1               5                   10                  15

Lys Pro Val Gln Gln Thr Thr Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
            20                  25                  30

Glu Glu Cys Ala His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
        35                  40                  45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
    50                  55                  60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65                  70                  75                  80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
                85                  90                  95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
            100                 105                 110

Gly Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
        115                 120                 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
    130                 135                 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145                 150                 155                 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
                165                 170                 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
```

180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Lys Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Ala Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Val Asn Pro Thr Gln
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 11

<211> 513

<212> PRT

<213> Bacillus subtilis

<400> 11

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

Lys Pro Val Gln Gln Thr Thr Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Ala His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Val Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Lys Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Ala Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Val Asn Pro Thr Gln
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 12

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 12

Met Asn Leu Glu Lys Phe Ala Asp Met Leu Pro Ile Pro Glu Val Leu
1 5 10 15

Lys Pro His Gln Gln Thr Lys Glu Ser Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Lys Glu Phe Tyr Gln Lys Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Asn Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Gln Ile Lys Trp Met Asn Asp Leu Pro Asp Gln His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Glu Gly His His Gln
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Ala Thr Pro
100 105 110

Ala Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Gly Phe Gln
115 120 125

Glu Thr Gly Pro Tyr Phe Ser Arg Glu Ile Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Ala Gly Val Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ala Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Met Ile Met Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Thr Leu Pro Thr Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Met Glu Val Glu Pro Arg Ala Tyr Arg Phe Arg Ile Val Asn
245 250 255

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

Phe Leu Gln Val Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

Leu Ser Ser Ile Ser Leu Ala Pro Ala Glu Arg Phe Asp Ile Ile Ile
290 295 300

Asp Phe Ala Ala Phe Glu Gly Gln Ser Ile Val Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Pro Ala Asn Pro Glu Ser Asp Ala Asn Val Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Ile Lys Pro Leu Lys Glu Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Arg Phe Leu Thr Asn Leu Pro Pro Val Thr Asp Glu Lys Ile Gln Asn
355 360 365

Leu Arg Thr Leu Lys Leu Thr Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp Ser Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Leu Gly Thr Ser Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Ile Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Thr Ala Lys Tyr Ala Glu Thr Gly Asn Val Val
435 440 445

Phe Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Val Gln Ser His Ala Gly Glu Val Ile Arg Ile Met Ala Lys
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Val Val Asp Pro Asn
500 505 510

Gln

<210> 13

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 13

Met Asn Leu Glu Lys Phe Ala Asp Met Leu Pro Ile Pro Glu Val Leu
1 5 10 15

Lys Pro His Gln Gln Thr Lys Glu Ser Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Lys Glu Phe Tyr Gln Lys Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Asn Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Gln Ile Lys Trp Met Asn Asp Leu Pro Asp Gln His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Glu Gly His His Gln
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Ala Thr Pro
100 105 110

Gly Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Gly Phe Gln
115 120 125

Glu Thr Gly Pro Tyr Phe Ser Arg Glu Ile Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Ala Gly Val Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ala Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Met Ile Met Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Thr Leu Pro Thr Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Met Glu Val Glu Pro Arg Ala Tyr Arg Phe Arg Ile Val Asn
245 250 255

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

Phe Leu Gln Val Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys

275 280 285

Leu Ser Ser Ile Ser Leu Ala Pro Ala Glu Arg Phe Asp Ile Ile Ile
290 295 300

Asp Phe Ala Ala Phe Glu Gly Gln Ser Ile Val Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Pro Ala Asn Pro Glu Ser Asp Ala Asn Val Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Ile Lys Pro Leu Lys Glu Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Arg Phe Leu Thr Asn Leu Pro Pro Val Thr Asp Glu Lys Ile Gln Asn
355 360 365

Leu Arg Thr Leu Lys Leu Thr Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp Ser Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Leu Gly Thr Ser Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Ile Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Thr Ala Lys Tyr Ala Glu Thr Gly Asn Val Val
435 440 445

Phe Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Val Gln Ser His Ala Gly Glu Val Ile Arg Ile Met Ala Lys
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Val Val Asp Pro Asn
500 505 510

Gln

<210> 14

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 14

```
Met Asn Leu Glu Lys Phe Ala Asp Met Leu Pro Ile Pro Glu Val Leu
1               5                   10                  15

Lys Pro His Gln Gln Thr Lys Glu Ser Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
            20                  25                  30

Lys Glu Phe Tyr Gln Lys Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
        35                  40                  45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Asn Arg
    50                  55                  60

Asn Glu Asn Val Gln Ile Lys Trp Met Asn Asp Leu Pro Asp Gln His
65                  70                  75                  80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Glu Gly His His Gln
                85                  90                  95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Ala Thr Pro
            100                 105                 110

Val Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Gly Phe Gln
        115                 120                 125

Glu Thr Gly Pro Tyr Phe Ser Arg Glu Ile Tyr His Tyr Pro Asn Gln
    130                 135                 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145                 150                 155                 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Ala Gly Val Tyr Ile Ile His Asp
                165                 170                 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ala Gly Glu Tyr Asp Val Pro
            180                 185                 190

Leu Met Ile Met Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
        195                 200                 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Thr Leu Pro Thr Pro Ser Ile
    210                 215                 220
```

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Met Glu Val Glu Pro Arg Ala Tyr Arg Phe Arg Ile Val Asn
245 250 255

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

Phe Leu Gln Val Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

Leu Ser Ser Ile Ser Leu Ala Pro Ala Glu Arg Phe Asp Ile Ile Ile
290 295 300

Asp Phe Ala Ala Phe Glu Gly Gln Ser Ile Val Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Pro Ala Asn Pro Glu Ser Asp Ala Asn Val Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Ile Lys Pro Leu Lys Glu Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Arg Phe Leu Thr Asn Leu Pro Pro Val Thr Asp Glu Lys Ile Gln Asn
355 360 365

Leu Arg Thr Leu Lys Leu Thr Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp Ser Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Leu Gly Thr Ser Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Ile Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Thr Ala Lys Tyr Ala Glu Thr Gly Asn Val Val
435 440 445

Phe Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Val Gln Ser His Ala Gly Glu Val Ile Arg Ile Met Ala Lys
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Val Val Asp Pro Asn
500 505 510

Gln

<210> 15
<211> 24
<212> ADN
<213> espec de Bacillus

<400> 15
gaaattaata cgactcacta tagg 24

<210> 16
<211> 30
<212> ADN
<213> espec de Bacillus

<400> 16
tggcgtgacg cctccgtgta aatgaacgac 30

<210> 17
<211> 34
<212> ADN
<213> espec de Bacillus

<400> 17
tacacggagg cgtcacgcca ccggatagtg acgg 34

<210> 18
<211> 27
<212> ADN
<213> espec de Bacillus

<400> 18
ggttatgcta gttattgctc agcggtg 27

<210> 19
<211> 34
<212> ADN
<213> espec de Bacillus

<400> 19

tacacggagg cgtcacgcca gcggatagtg acgg 34

<210> 20

<211> 34

<212> ADN

<213> espec de Bacillus

<400> 20

tacacggagg cgtcacgcca ggcgatagtg acgg 34

<210> 21

<211> 34

<212> ADN

<213> espec de Bacillus

<400> 21

tacacggagg cgtcacgcca gtggatagtg acgg 34

<210> 22

<211> 34

<212> ADN

<213> espec de Bacillus

<400> 22

tacacggagg cgtcacgcct ccggatagtg acgg 34

<210> 23

<211> 30

<212> ADN

<213> espec de Bacillus

<400> 23

aggcgtgacg cctccgtgta aatgaacaac 30

<210> 24

<211> 35

<212> ADN

<213> espec de Bacillus

<400> 24

tttacacgga ggcgtcacgc caccggatag cgacg 35

<210> 25

<211> 31

<212> ADN

<213> espec de Bacillus

<400> 25

tggcgtgacg cctccgtgta aatgaacgac g 31

<210> 26

<211> 30

<212> ADN

<213> espec de Bacillus

<400> 26

aggcgtggcg ccgccatgta aatgaacaac 30

<210> 27

<211> 34

<212> ADN

<213> espec de Bacillus

<400> 27

tacacggagg cgtcacgcca ccggatagtg acgg 34

<210> 28

<211> 34

<212> ADN

<213> espec de Bacillus

<400> 28

tacacggagg cgtcacgcca gcggatagtg acgg 34

<210> 29

<211> 34

<212> ADN

<213> espec de Bacillus

<400> 29

tacacggagg cgtcacgcca ggcgatagtg acgg 34

<210> 30

<211> 34

<212> ADN

<213> espec de Bacillus

<400> 30

tacacggagg cgtcacgcca gtggatagtg acgg 34

<210> 31

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 31

```
Met Thr Leu Glu Lys Phe Val Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu
1               5                   10                  15

Lys Pro Val Gln Gln Thr Thr Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
            20                  25                  30

Glu Glu Cys Ala His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
        35                  40                  45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
    50                  55                  60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65                  70                  75                  80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
                85                  90                  95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
```

100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Lys Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Gln Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Ala Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Val Asn Pro Thr Gln
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 32

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 32

Met Thr Leu Glu Lys Phe Ala Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu
1 5 10 15

Lys Pro Val Gln Gln Thr Thr Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Ala His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Lys Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Gln Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Ala Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Val Asn Pro Thr Gln
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro Arg
500 505 510

Lys

<210> 33

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 33

Met Thr Leu Glu Lys Phe Ala Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu
1 5 10 15

Lys Pro Val Gln Gln Thr Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Gln Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Val Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Gln Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro Arg
500 505 510

Lys

<210> 34

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 34

```
Met Thr Leu Glu Lys Phe Val Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu
1               5                   10                  15

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
            20                  25                  30

Glu Glu Cys Ala His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
        35                  40                  45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
    50                  55                  60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65                  70                  75                  80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
                85                  90                  95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
            100                 105                 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
        115                 120                 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
    130                 135                 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145                 150                 155                 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
                165                 170                 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
            180                 185                 190

Leu Leu Leu Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
```

195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Phe Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Ala
260 265 270

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Gln Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Gly Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Lys Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

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

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Glu Pro Arg
500 505 510

Lys

<210> 35

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 35

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Val Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Val Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Lys Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Gln Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Lys Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Ile Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 36

<211> 515

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 36

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

Thr Leu Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val
20 25 30

Thr Met Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr
35 40 45

Arg Leu Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val
50 55 60

Lys Arg Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser
65 70 75 80

Thr His Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln
85 90 95

His Glu Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val
100 105 110

Thr Pro Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp
115 120 125

Phe Glu Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro
130 135 140

Asn Gln Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala
145 150 155 160

Leu Thr Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile
165 170 175

His Asp Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp
180 185 190

Val Pro Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu
195 200 205

Phe Tyr Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro
210 215 220

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

Val Trp Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val
245 250 255

Ile Asn Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly
260 265 270

Gly Glu Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser
275 280 285

Val Lys Leu Asn Ser Phe Ser Leu Ala Pro Ala Glu Arg Tyr Asp Ile
290 295 300

Ile Ile Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn
305 310 315 320

Ser Ala Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile
325 330 335

Met Gln Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg
340 345 350

Lys Pro Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile
355 360 365

Gln Asn Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly
370 375 380

Arg Pro Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr
385 390 395 400

Glu Ala Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro
405 410 415

Thr Arg Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val
420 425 430

Leu Asp Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu
435 440 445

Leu Ser Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly
450 455 460

Trp Lys Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala
465 470 475 480

Ala Thr Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile
485 490 495

Leu Glu His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp
500 505 510

Pro His Lys
515

<210> 37

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 37

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

Leu Asn Ser Phe Ser Leu Ala Pro Ala Glu Arg Tyr Asp Ile Ile Ile

290 295 300

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 38

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 38

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Ile His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Val Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Val Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Gln Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Ile Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro Asn
500 505 510

Lys

<210> 39

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 39

```
Met Thr Leu Glu Lys Phe Val Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu
1               5                   10                  15

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
            20                  25                  30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
        35                  40                  45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
    50                  55                  60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65                  70                  75                  80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
                85                  90                  95

Glu Ser Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
            100                 105                 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
        115                 120                 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
    130                 135                 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145                 150                 155                 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
                165                 170                 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
            180                 185                 190
```

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 40

<211> 515

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 40

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

Thr Leu Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val
20 25 30

Thr Met Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr
35 40 45

Arg Leu Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val
50 55 60

Lys Arg Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser
65 70 75 80

Thr His Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln
85 90 95

His Glu Glu Ser Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val
100 105 110

Thr Pro Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp
115 120 125

Phe Glu Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro
130 135 140

Asn Gln Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala
145 150 155 160

Leu Thr Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile
165 170 175

His Asp Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp
180 185 190

Val Pro Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu
195 200 205

Phe Tyr Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro
210 215 220

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

Val Trp Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val
245 250 255

Ile Asn Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly
260 265 270

Gly Glu Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser
275 280 285

Val Lys Leu Asn Ser Phe Ser Leu Ala Pro Ala Glu Arg Tyr Asp Ile
290 295 300

Ile Ile Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn
305 310 315 320

Ser Ala Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile
325 330 335

Met Gln Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg
340 345 350

Lys Pro Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile
355 360 365

Gln Asn Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly
370 375 380

Arg Pro Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr

385 390 395 400

Glu Ala Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro
405 410 415

Thr Arg Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val
420 425 430

Leu Asp Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu
435 440 445

Leu Ser Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly
450 455 460

Trp Lys Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala
465 470 475 480

Ala Thr Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile
485 490 495

Leu Glu His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp
500 505 510

Pro His Lys
515

<210> 41

<211> 515

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 41

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

Thr Leu Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val
20 25 30

Thr Met Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr
35 40 45

Arg Leu Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val
50 55 60

Lys Arg Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser
65 70 75 80

Thr His Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln

85 90 95

His Glu Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val
100 105 110

Thr Pro Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp
115 120 125

Phe Glu Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro
130 135 140

Asn Gln Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala
145 150 155 160

Leu Thr Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile
165 170 175

His Asp Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp
180 185 190

Val Pro Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu
195 200 205

Phe Tyr Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro
210 215 220

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

Val Trp Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val
245 250 255

Ile Asn Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly
260 265 270

Gly Asp Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser
275 280 285

Val Lys Leu Asn Ser Phe Ser Leu Ala Pro Ala Glu Arg Tyr Asp Ile
290 295 300

Ile Ile Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn
305 310 315 320

Ser Ala Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile
325 330 335

Met Gln Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg
340 345 350

Lys Pro Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile
355 360 365

Gln Asn Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly
370 375 380

Arg Pro Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr
385 390 395 400

Glu Thr Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro
405 410 415

Thr Arg Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val
420 425 430

Leu Asp Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu
435 440 445

Leu Ser Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly
450 455 460

Trp Lys Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala
465 470 475 480

Ala Thr Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile
485 490 495

Leu Glu His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp
500 505 510

Pro His Lys
515

<210> 42

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 42

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Asp
260 265 270

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Thr
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 43

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 43

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Leu Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ala Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 44

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 44

```
Met Thr Leu Glu Lys Phe Val Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu
1               5                   10                  15

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
            20                  25                  30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
        35                  40                  45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
    50                  55                  60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65                  70                  75                  80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
                85                  90                  95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
            100                 105                 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
        115                 120                 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
    130                 135                 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145                 150                 155                 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
                165                 170                 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
```

180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Asp
260 265 270

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Thr
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Asp Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 45

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 45

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asn Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Asp
260 265 270

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Thr
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 46

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 46

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Ala Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Asp
260 265 270

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Thr
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 47

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 47

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr Arg
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys

275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Gly Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

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

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 48

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 48

```
Met Thr Leu Glu Lys Phe Val Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu
1               5                   10                  15

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
            20                  25                  30

Glu Glu Cys Ala His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
        35                  40                  45

Trp Gly Tyr Asn Gly Glu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
    50                  55                  60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65                  70                  75                  80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
                85                  90                  95

Glu Pro Glu Val Arg Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
            100                 105                 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Leu Glu
        115                 120                 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
    130                 135                 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145                 150                 155                 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
                165                 170                 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Val Tyr Gly Val Pro
            180                 185                 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
        195                 200                 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
    210                 215                 220
```

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Phe Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Ala
260 265 270

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Gln Ser Ile Thr Leu Ala Asn Asn Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Gly Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Lys Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Asp Ala
385 390 395 400

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

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 49

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<220>

<221> característica_misc

<222> (35)..(35)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que existe de forma natural

<400> 49

```
Met Thr Leu Glu Lys Phe Val Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu
1               5                   10                  15

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
            20                  25                  30

Glu Glu Xaa Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
        35                  40                  45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
    50                  55                  60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65                  70                  75                  80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
                85                  90                  95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
            100                 105                 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
        115                 120                 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
    130                 135                 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
```

145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Asp
260 265 270

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Thr
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 50

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 50

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Asp
260 265 270

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

Leu Asn Ser Phe Ser Leu Ala Pro Ala Glu Arg Cys Asp Ile Ile Ile
290 295 300

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Thr
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Thr Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 51

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<220>

<221> característica_misc

<222> (35)..(35)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que existe de forma natural

<400> 51

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Xaa Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Glu Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Asp
260 265 270

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Thr
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 52

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<220>

<221> característica_misc

<222> (35)..(35)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que existe de forma natural

<400> 52

```
Met Thr Leu Glu Lys Phe Val Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu
1               5                   10                  15

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
            20                  25                  30

Glu Glu Xaa Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
        35                  40                  45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
    50                  55                  60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65                  70                  75                  80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
                85                  90                  95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
            100                 105                 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
        115                 120                 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
    130                 135                 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145                 150                 155                 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
                165                 170                 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
            180                 185                 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
```

195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Asp
260 265 270

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Thr
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ala Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 53

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<220>

<221> característica_misc

<222> (35)..(35)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que existe de forma natural

<400> 53

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Xaa Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Asp
260 265 270

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro

370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Thr
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Thr Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 54

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 54

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His

65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Ser Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Val Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Glu Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Gly Ala
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Glu Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Arg His
500 505 510

Lys

<210> 55

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 55

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

Lys Pro Val Gln Gln Thr Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Ala His Lys Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Cys Gln Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Asn Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn His Leu Ser Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Val Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Glu Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Thr Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Ile Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Ile Gly Ala Tyr Leu Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Gly Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Asn Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Gln Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Ala Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln Asn Glu Arg Ile His Asn
355 360 365

Ile Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Thr
385 390 395 400

Pro Lys Ala Gly Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Arg Gly Glu Leu Ser
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 56

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 56

```
Met Thr Leu Glu Lys Phe Val Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu
1               5                   10                  15

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
            20                  25                  30

Glu Glu Cys Tyr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
        35                  40                  45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Lys Ala Lys Arg
    50                  55                  60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65                  70                  75                  80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Ala
                85                  90                  95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
            100                 105                 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
        115                 120                 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
    130                 135                 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145                 150                 155                 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Ile Gly Ala Tyr Ile Ile His Glu
                165                 170                 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
            180                 185                 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
        195                 200                 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
    210                 215                 220
```

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Met Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

Leu Asn Ser Phe Ser Ile Ala Pro Ala Glu Arg Phe Asp Ile Leu Ile
290 295 300

Asp Phe Ala Ala Phe Glu Gly Gln Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Leu Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Gln Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Val Gly Ser Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Thr Ala Arg Phe Glu Glu Arg Gly Glu Leu Ala
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Val Gln Ser His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr

465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Thr Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 57

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 57

Met Thr Leu Glu Lys Phe Ala Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu
1 5 10 15

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Tyr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Ala Asn Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Glu His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Ala
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Ile Gly Ala Tyr Ile Ile Tyr Asp

165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Met Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

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

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

Leu Asn Ser Phe Ser Ile Ala Pro Ala Glu Arg Phe Asp Ile Leu Ile
290 295 300

Asp Phe Ala Ala Phe Glu Gly Gln Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Lys Tyr Leu Ala Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn
355 360 365

Leu Arg Thr Leu Lys Leu Ala Gly Thr Gln Asp Gln Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

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

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Thr Ala Arg Phe Glu Glu Arg Gly Glu Leu Phe
435 440 445

Tyr Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Val Gln Ser His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Val Thr
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Thr Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Val Ile Asp Pro His
500 505 510

Lys

<210> 58

<211> 507

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<220>

<221> característica_misc

<222> (34)..(34)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido que existe de forma natural

<400> 58

Thr Leu Glu Lys Phe Val Asp Ala Leu Pro Ile Pro Asp Thr Leu Lys
1 5 10 15

Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met Glu
20 25 30

Glu Xaa Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Glu Glu Pro Glu Val
85 90 95

Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
100 105 110

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr Gly Pro
115 120 125

Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln Gln Arg Gly Ala
130 135 140

Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr Arg Leu Asn Val
145 150 155 160

Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp Pro Lys Glu Lys
165 170 175

Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro Leu Leu Ile Thr
180 185 190

Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr Pro Ser Ala Pro
195 200 205

Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile Val Pro Ala Phe
210 215 220

Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp Pro Tyr Leu Glu
225 230 235 240

Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn Ala Ser Asn Thr
245 250 255

Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Asp Phe Ile Gln Ile
260 265 270

Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys Leu Asn Ser Phe
275 280 285

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

Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala Gly Cys Gly Gly
305 310 315 320

Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln Phe Arg Val Thr
325 330 335

Lys Pro Leu Ala Gln Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro Lys Tyr Leu Ala

340 345 350

Ser Tyr Pro Ser Val Gln His Glu Arg Ile Gln Asn Ile Arg Thr Leu
355 360 365

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

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

Thr Thr Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg Gly Thr His Pro
405 410 415

Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp Arg Arg Pro Phe
420 425 430

Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser Tyr Thr Gly Pro
435 440 445

Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys Asp Thr Ile Gln
450 455 460

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

Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu His Leu Asp Tyr
485 490 495

Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro
500 505

<210> 59

<211> 511

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 59

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

Lys Pro Val Gln Gln Ser Lys Glu Lys Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Glu Glu Cys Thr His Gln Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Lys Arg

50 55 60

Asn Glu Asn Val Tyr Val Lys Trp Met Asn Asn Leu Pro Ser Thr His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Asp Ser Gln His Glu
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro
100 105 110

Asp Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu
115 120 125

Gln Thr Gly Pro Tyr Phe Lys Arg Glu Val Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Val Gly Ala Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ser Asp Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Leu Ile Thr Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Ala Pro Glu Asn Pro Ser Pro Ser Leu Pro Asn Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Glu Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Val Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Leu Glu Val Glu Pro Arg Lys Tyr Arg Phe Arg Val Ile Asn
245 250 255

Ala Ser Asn Thr Arg Thr Tyr Asn Leu Ser Leu Asp Asn Gly Gly Asp
260 265 270

Phe Ile Gln Ile Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

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

Asp Phe Thr Ala Tyr Glu Gly Glu Ser Ile Ile Leu Ala Asn Ser Ala
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Asp Val Asn Pro Glu Thr Asp Ala Asn Ile Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Thr Lys Pro Leu Ala Gln Lys Thr Lys Ala Glu Ser Arg
340 345 350

Ser Thr Ser Pro His Thr Leu Arg Tyr Ser Met Lys Asp Thr Asn Ile
355 360 365

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

Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp His Asp Pro Val Thr Glu Thr Pro
385 390 395 400

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

His Ile Leu Ile His Leu His Leu Val Ser Phe Arg Val Leu Asp Arg
420 425 430

Arg Pro Phe Asp Ile Ala Arg Tyr Gln Glu Ser Gly Glu Leu Ser Tyr
435 440 445

Thr Val Arg Cys Pro Ala Ala Ala Ser Glu Lys Gly Trp Lys Asp Thr
450 455 460

Ile Gln Ala His Ala Gly Glu Val Leu Arg Ile Ala Ala Thr Phe Gly
465 470 475 480

Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu His Glu
485 490 495

Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Ile Thr Asp Pro His Lys
500 505 510

<210> 60

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 60

Met Asn Leu Glu Lys Phe Ala Asp Met Leu Pro Ile Pro Glu Val Leu
1 5 10 15

Lys Pro His Gln Gln Thr Lys Glu Ser Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Lys Glu Phe Tyr Gln Lys Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Gly Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Asn Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Gln Ile Lys Trp Met Asn Asp Leu Pro Asp Gln His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Glu Gly His His Gln
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Ala Thr Pro
100 105 110

Tyr Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Gly Phe Gln
115 120 125

Glu Thr Gly Pro Tyr Phe Ser Arg Glu Ile Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Ala Gly Val Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ala Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Met Ile Met Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Thr Leu Pro Thr Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Met Glu Val Glu Pro Arg Ala Tyr Arg Phe Arg Ile Val Asn
245 250 255

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

Phe Leu Gln Val Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

Leu Ser Ser Ile Ser Leu Ala Pro Ala Glu Arg Phe Asp Ile Ile Ile
290 295 300

Asp Phe Ala Ala Phe Glu Gly Gln Ser Ile Val Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Pro Ala Asn Pro Glu Ser Asp Ala Asn Val Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Ile Lys Pro Leu Lys Glu Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Arg Phe Leu Thr Asn Leu Pro Pro Val Thr Asp Glu Lys Ile Gln Asn
355 360 365

Leu Arg Thr Leu Lys Leu Thr Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp Ser Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Leu Gly Thr Ser Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Ile Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Thr Ala Lys Tyr Ala Glu Thr Gly Asn Val Val
435 440 445

Phe Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Val Gln Ser His Ala Gly Glu Val Ile Arg Ile Met Ala Lys
465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Val Val Asp Pro Asn
500 505 510

Gln

<210> 61

<211> 513

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 61

Met Asn Leu Glu Lys Phe Ala Asp Met Leu Pro Ile Pro Glu Val Leu
1 5 10 15

Lys Pro His Gln Gln Thr Lys Glu Ser Thr Tyr Tyr Glu Val Thr Met
20 25 30

Lys Glu Phe Tyr Gln Lys Leu His Arg Asp Leu Pro Pro Thr Arg Leu
35 40 45

Trp Gly Tyr Asn Ser Leu Phe Pro Gly Pro Thr Ile Glu Val Asn Arg
50 55 60

Asn Glu Asn Val Gln Ile Lys Trp Met Asn Asp Leu Pro Asp Gln His
65 70 75 80

Phe Leu Pro Ile Asp His Thr Ile His His Ser Glu Gly His His Gln
85 90 95

Glu Pro Glu Val Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Ala Thr Pro
100 105 110

Tyr Asp Ser Asp Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Gly Phe Gln
115 120 125

Glu Thr Gly Pro Tyr Phe Ser Arg Glu Ile Tyr His Tyr Pro Asn Gln
130 135 140

Gln Arg Gly Ala Ile Leu Trp Tyr His Asp His Ala Met Ala Leu Thr
145 150 155 160

Arg Leu Asn Val Tyr Ala Gly Leu Ala Gly Val Tyr Ile Ile His Asp
165 170 175

Pro Lys Glu Lys Arg Leu Lys Leu Pro Ala Gly Glu Tyr Asp Val Pro
180 185 190

Leu Met Ile Met Asp Arg Thr Ile Asn Glu Asp Gly Ser Leu Phe Tyr
195 200 205

Pro Ser Gly Pro Glu Asn Pro Ser Pro Thr Leu Pro Thr Pro Ser Ile
210 215 220

Val Pro Ala Phe Cys Gly Asp Thr Ile Leu Val Asn Gly Lys Ala Trp
225 230 235 240

Pro Tyr Met Glu Val Glu Pro Arg Ala Tyr Arg Phe Arg Ile Val Asn
245 250 255

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

Phe Leu Gln Val Gly Ser Asp Gly Gly Leu Leu Pro Arg Ser Val Lys
275 280 285

Leu Ser Ser Ile Ser Leu Ala Pro Ala Glu Arg Phe Asp Ile Ile Ile
290 295 300

Asp Phe Ala Ala Phe Glu Gly Gln Ser Ile Val Leu Ala Asn Ser Glu
305 310 315 320

Gly Cys Gly Gly Pro Ala Asn Pro Glu Ser Asp Ala Asn Val Met Gln
325 330 335

Phe Arg Val Ile Lys Pro Leu Lys Glu Lys Asp Glu Ser Arg Lys Pro
340 345 350

Arg Phe Leu Thr Asn Leu Pro Pro Val Thr Asp Glu Lys Ile Gln Asn
355 360 365

Leu Arg Thr Leu Lys Leu Thr Gly Thr Gln Asp Glu Tyr Gly Arg Pro
370 375 380

Val Leu Leu Leu Asn Asn Lys Arg Trp Ser Asp Pro Val Thr Glu Ala
385 390 395 400

Pro Lys Leu Gly Thr Ser Glu Ile Trp Ser Ile Ile Asn Pro Thr Arg
405 410 415

Gly Thr His Pro Ile His Leu His Leu Ile Ser Phe Arg Val Leu Asp
420 425 430

Arg Arg Pro Phe Asp Thr Ala Lys Tyr Ala Glu Thr Gly Asn Val Val
435 440 445

Phe Thr Gly Pro Ala Val Pro Pro Pro Pro Ser Glu Lys Gly Trp Lys
450 455 460

Asp Thr Val Gln Ser His Ala Gly Glu Val Ile Arg Ile Met Ala Lys

465 470 475 480

Phe Gly Pro Tyr Ser Gly Arg Tyr Val Trp His Cys His Ile Leu Glu
485 490 495

His Glu Asp Tyr Asp Met Met Arg Pro Met Asp Val Val Asp Pro Asn
500 505 510

Gln

<210> 62

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 62

Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1 5 10 15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
20 25 30

<210> 63

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 63

Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1 5 10 15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
20 25 30

<210> 64

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 64

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 65

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 65

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 66

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 66

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 67

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 67

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 68

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 68

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 69

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 69

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 70

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 70

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 71

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 71

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 72

<211> 30

<212> PRT

<213> BACILLUS SPEC

<400> 72

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 73

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 73

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15
```

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
20 25 30

<210> 74

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 74

Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1 5 10 15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
20 25 30

<210> 75

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 75

Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1 5 10 15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
20 25 30

<210> 76

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 76

Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1 5 10 15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
20 25 30

<210> 77

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 77

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asn
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 78

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 78

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Ala
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 79

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 79

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 80

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 80

```
Arg Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Leu Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 81

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 81

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 82

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 82

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 83

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 83

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Glu
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 84

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 84

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 85

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 85

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 86

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 86

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 87

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 87

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Glu Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Thr Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 88

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 88

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 89

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 89

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 90

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 90

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 91

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 91

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Val Thr Pro Asp Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Asp Phe Glu Gln Thr
            20                  25                  30
```

<210> 92

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 92

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Ala Thr Pro Tyr Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Gly Phe Gln Glu Thr
            20                  25                  30
```

<210> 93

<211> 30

<212> PRT

<213> espec de Bacillus

<400> 93

```
Lys Thr Val Val His Leu His Gly Gly Ala Thr Pro Tyr Asp Ser Asp
1               5                   10                  15

Gly Tyr Pro Glu Ala Trp Phe Ser Lys Gly Phe Gln Glu Thr
            20                  25                  30
```

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido con actividad de lacasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es más del 80 % idéntica a la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 1, en el que el polipéptido comprende un resto de aminoácido no polar seleccionado del grupo que consiste en metionina, leucina, isoleucina, valina, alanina, prolina y glicina y fenilalanina en una posición de aminoácido correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1.

2. Polipéptido según la reivindicación 1 que comprende un resto de aminoácido no polar seleccionado del grupo que consiste en prolina, alanina, glicina y valina en una posición de aminoácido correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1.

3. Polipéptido según las reivindicaciones 1 o 2, en el que el resto de aminoácido no polar pequeño es un resto de prolina.

4. Polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3, en el que el polipéptido es una proteína de la envoltura de la espora, preferentemente codificada por el genoma de una especie de *Bacillus*, más preferentemente *Bacillus subtilis*.

5. Polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 4 que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 94 % idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 31 - 61.

6. Polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 5, en la que el polipéptido es un polipéptido aislado.

7. Composición que comprende un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 6.

8. Ácido nucleico que codifica un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 7.

9. Vector que comprende un ácido nucleico según la reivindicación 8.

10. Composición que comprende un ácido nucleico o un vector según las reivindicaciones 8 o 9.

11. Célula hospedadora recombinante que comprende un ácido nucleico según la reivindicación 8, un vector según la reivindicación 9 o una composición según la reivindicación 10.

12. Célula hospedadora recombinante según la reivindicación 11 seleccionada del grupo que consiste en *Escherichia coli, Bacillus, Corynebacterium, Pseudomonas, Pichia pastoris, Saccharomyces cerevisiae, Yarrowia lipolytica*, hongos filamentosos, levadura y células de insecto.

13. Método de producción de un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 6, que comprende las etapas de:

a. cultivar una célula hospedadora recombinante según la reivindicación 11 o 12 en condiciones adecuadas para la producción del polipéptido, y

b. recuperar el polipéptido obtenido, y

c. opcionalmente purificar dicho polipéptido.

14. Uso de un polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 6 en una aplicación seleccionada del grupo que consiste en deslignificación de pasta, degradación o disminución de la integridad estructural de material lignocelulósico, blanqueamiento de tintes textiles, destoxificación de aguas residuales, destoxificación xenobiótica, producción de un azúcar a partir de un material lignocelulósico y recuperación de celulosa de una biomasa.

15. Método de mejora del rendimiento de un polipéptido con actividad de lacasa en un sistema de expresión heteróloga que comprende la etapa de alterar el aminoácido en una posición correspondiente a la posición 113 en SEQ ID NO: 1 a un resto de aminoácido no polar seleccionado del grupo que consiste en metionina, leucina, isoleucina, valina, alanina, prolina y glicina y fenilalanina.

16. Método según la reivindicación 15, en el que el aminoácido no polar es un aminoácido no polar pequeño seleccionado del grupo que consiste en prolina, alanina, glicina y valina, preferentemente prolina.

Figura 1

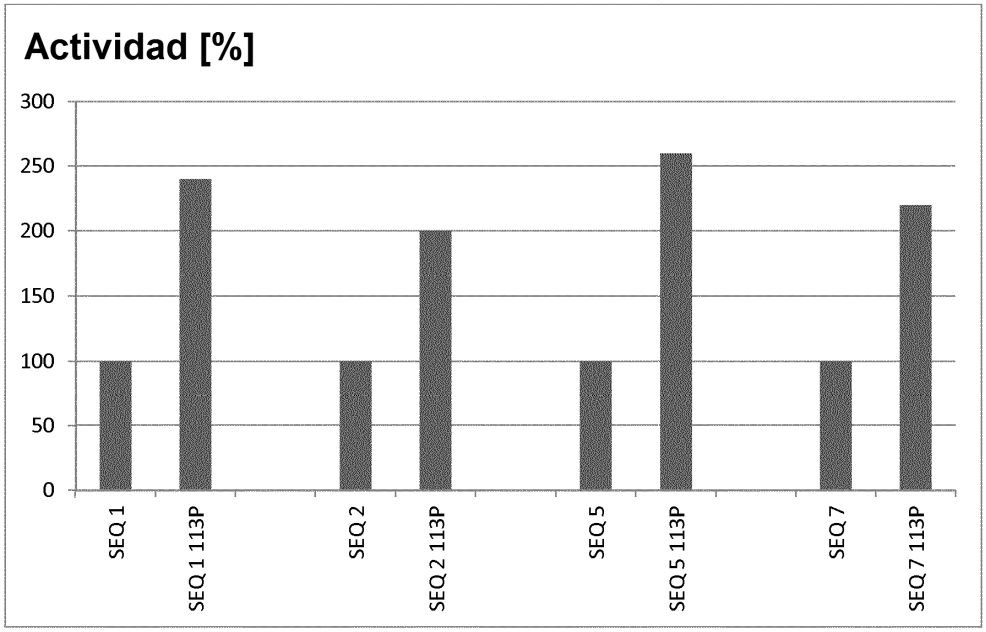
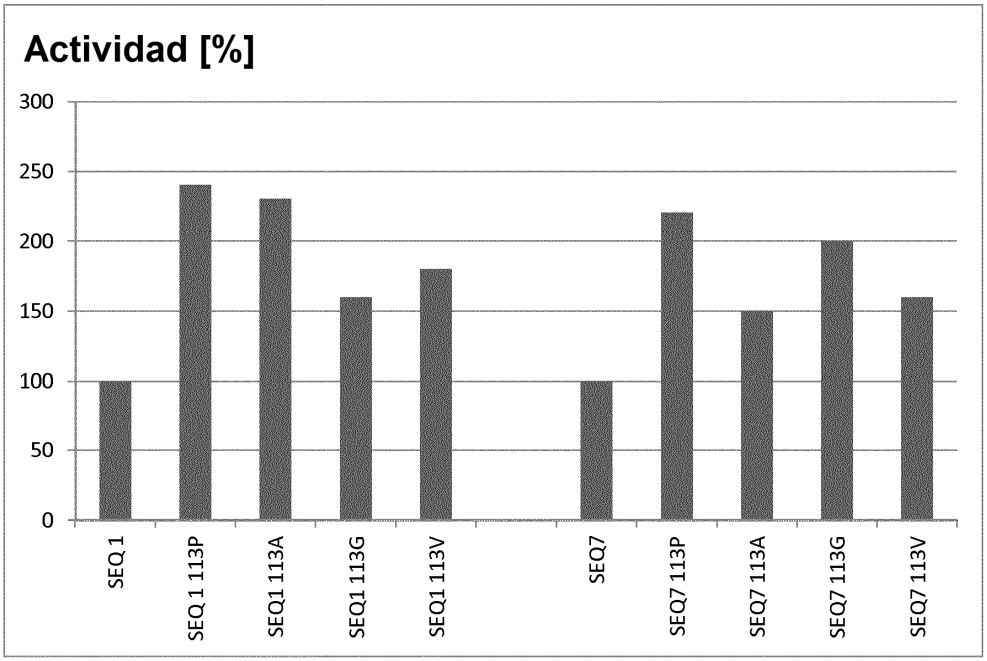

Actividad [%]
300
250
200
150
100
50
0
SEQ 1
SEQ 1 113P
SEQ 2
SEQ 2 113P
SEQ 5
SEQ 5 113P
SEQ 7
SEQ 7 113P

Figura 2


Actividad [%]
300
250
200
150
100
50
0
SEQ 1
SEQ 1 113P
SEQ1 113A
SEQ1 113G
SEQ1 113V
SEQ7
SEQ7 113P
SEQ7 113A
SEQ7 113G
SEQ7 113V

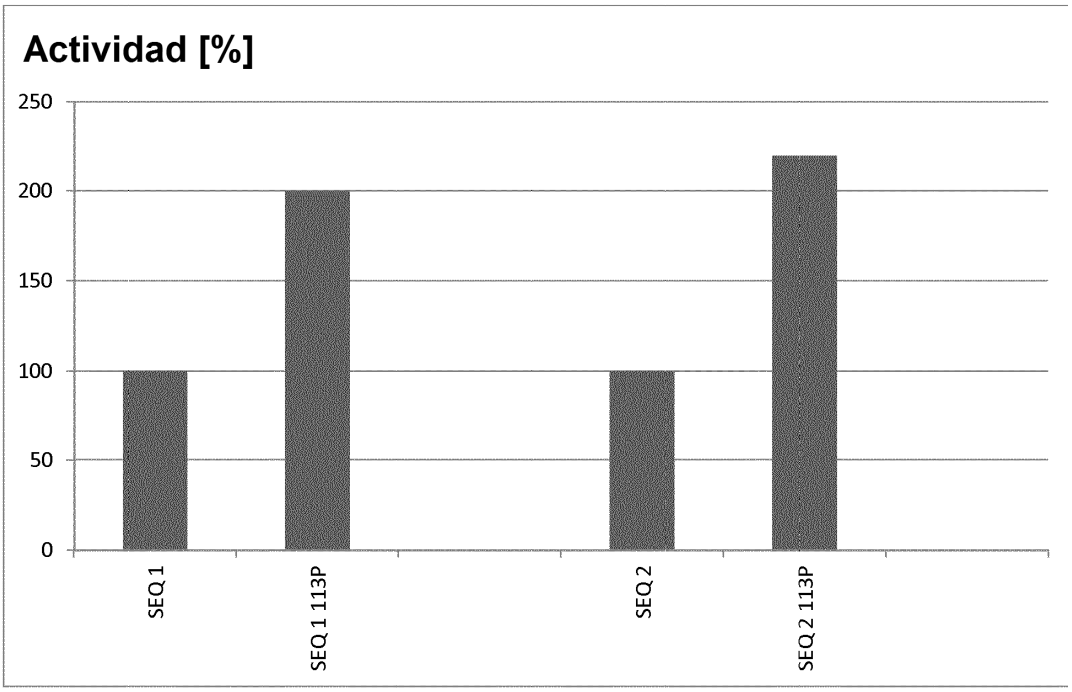



Figura 3