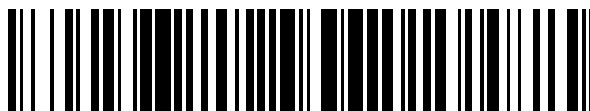


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 689 939**

51 Int. Cl.:

C12N 9/42

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.02.2011** **PCT/EP2011/052023**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.08.2011** **WO11098551**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.02.2011** **E 11706777 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.07.2018** **EP 2534245**

54 Título: **Enzimas celulasas optimizadas**

30 Prioridad:

11.02.2010 EP 10153355

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

16.11.2018

73 Titular/es:

SÜD-CHEMIE IP GMBH & CO. KG (100.0%)
Arabellastrasse 4a
81925 München, DE

72 Inventor/es:

KETTLING, ULRICH;
REISINGER, CHRISTOPH;
BRÜCK, THOMAS;
KOLTERMANN, ANDRE;
GERLACH, JOCHEN;
UNTERSTRASSER, ISABEL;
RÖCHER, LUTZ;
RARBACH, MARKUS;
CLAREN, JÖRG;
KOHL, ANDREAS;
PIECK, JAN CARSTEN y
SCHLOSSER, DOMINIK

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 689 939 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

Enzimas celulasas optimizadas

Campo de la invención

La invención divulga enzimas celulasas con propiedades optimizadas para procesar sustratos que contienen celulosa y lignocelulosa. Particularmente, se divulgan enzimas celobiohidrolasas con las características preferidas. La presente invención proporciona variantes de fusión, inserción, delección y/o sustitución de tales enzimas. Las variantes de las enzimas han mejorado la termoestabilidad, la estabilidad proteolítica, la actividad específica y/o la estabilidad a pH extremo. Las moléculas de ácidos nucleicos que codifican dichas enzimas, una composición que comprende dichas enzimas, un procedimiento para la preparación, y se divulgan el uso para el procesamiento de celulosa y/o para la producción de biocombustibles.

Antecedentes de la invención

El desarrollo de procesos de producción basados en recursos renovables es altamente deseado, por ejemplo, para la generación de etanol a partir de materiales celulósicos y lignocelulósicos.

El material de celulosa en forma pura o conjuntamente con hemicelulosa y/o lignina es una materia prima valiosa y fácilmente disponible para la producción de productos químicos y combustibles. Una etapa clave en el procesamiento de celulosa y lignocelulosa es la hidrólisis de la celulosa con polímero de glucosa ligada en la posición beta-1,4 y la liberación posterior de monómeros de glucosa y oligómeros cortos de glucosa como celobiosa, celotriosa, etc. Las enzimas que catalizan esta reacción se encuentran en diversos organismos, especialmente hongos filamentosos y bacterias, que son capaces de degradar e hidrolizar la celulosa.

Se conocen los procesos continuos para transformar la biomasa lignocelulósica sólida en productos fuel combustibles. El tratamiento para preparar sustratos celulósicos más susceptibles a la degradación enzimática comprende la molienda, el procesamiento químico y/o el procesamiento hidrotérmico. Los ejemplos son oxidación húmeda y/o explosión del vapor. Estos tratamientos aumentan la accesibilidad de fibras de celulosa y las separan de la hemicelulosa y la lignina.

En la documentación se conocen diversas mezclas de enzimas por hidrólisis de biomasa tratada. Típicamente se requiere una mezcla de enzimas endoglucanasa, exoglucanasa y beta-glucosidasa para la degradación de los polímeros de celulosa. Entre estas enzimas celobiohidrolasas (CBH) y, más específicamente, las enzimas celobiohidrolasa I (CBHI), desempeñan una función clave en la etapa de hidrólisis, a medida que proporcionan la actividad enzimática más progresiva. Las enzimas CBHI catalizan la liberación hidrolítica progresiva de celobiosa a partir del terminal reductor de los polímeros de celulosa (Lynd L.R., Weimer P.J., van Zyl W.H., Pretorius IS. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2002 Sep; 66 (3): 506-77).

Los materiales celulósicos hidrolizados contienen varias moléculas valiosas de carbohidrato que se pueden aislar de las mezclas. Los hidrolizados de materiales celulósicos que contienen azúcares se pueden utilizar para la producción microbiana de diversos productos de química fina o de biopolímeros, tales como ácidos orgánicos, etanol o alcoholes superiores (también dioles o polioles) o polihidroxialcanoatos (PHA). Uno de los principales usos de los hidrolizados azúcares es la producción de biocombustibles.

Kurabi y col. (2005) describe las preparaciones de celulasas a partir de *Trichoderma reesei* y otros hongos, tales como *Penicillium* sp. El rendimiento se ha analizado en abeto Douglas con explosión de vapor y pretratado con organosolv con etanol. Un rendimiento mejorado de las mezclas de enzimas parece ser el resultado de propiedades mejoradas de las enzimas de un solo componente, así como el efecto de cada compuesto en la mezcla, especialmente la presencia de beta-glucosidasa (Kurabi A., Berlín A., Gilkes N., Kilburn D., Bura R., Robinson J., Markov A., Skomarovsky A., Gusakov A., Okunev O., Sinityn A., Gregg D., Xie D., Saddler J. (2005) Enzymatic hydrolysis of steam-exploded and ethanol organosolv-pretreated Douglas-fir by novel and commercial fungal cellulases. Appl. Biochem. Biotechnol. 121-124: 219-30).

Las secuencias de celobiohidrolasas de la glucohidrolasa de clase 7 (cel7) se conocen en la técnica a partir de varias fuentes fúngicas. Se conoce la celobiohidrolasa Cel7 de *Talaromyces emersonii* y la expresión se informó en *Escherichia coli* (Grassick A., Murray P.G., Thompson R., Collins C.M., Byrnes L., Birrane G., Higgins T.M., Tuohy M.G. Three-dimensional Structure of a thermostable native cellobiohydrolase, CBH IB, and molecular Characterization of the cel7 gene from the filamentous fungus, *Talaromyces emersonii*. Eur J Biochem. 2004 Nov; 271 (22): 4495-506) y *Saccharomyces cerevisiae* (Voutilainen S.P., Murray P.G., Tuohy M.G., Koivula A. Expression of *Talaromyces emersonii* cellobiohydrolase Cel7A in *Saccharomyces cerevisiae* y rational mutagenesis to improve its thermostability and activity. Protein. Eng. Des. Sel. 2010 Feb; 23 (2): 69-79), sin embargo la proteína fue producida en forma inactiva o en rendimientos más bien bajos (menos o igual a 5 mg/l). Celobiohidrolasa I *Hypocrea jecorina* puede ser producida a partir de cepas de tipo salvaje o de ingeniería genética del género *Hypocrea* o *Trichoderma* a altos rendimientos. Las secuencias mejoradas de Cel7A *Hypocrea jecorina* se divulgan en US7459299B2, US7452707B2, WO2005/030926, WO01/04284A1 o US2009/0162916 A1.

- Las posiciones que conducen a mejoras fueron deducidas de los alineamientos con las secuencias de las enzimas termoestables divulgadas, sugeridas de la información estructural y del barajado de las posiciones identificadas seguidas por registros limitados. Los registros de bibliotecas más grandes en organismos transformables tales como *Saccharomyces cerevisiae* se informó por la aplicación de sustratos fluorescentes muy sensibles, que se asemejan a sustratos nativos de una manera muy restringida (Percival Zhang Y.H., Himmel M.E., Mielenz J.R. Outlook for cellulase improvement: screening and selection strategies. *Biotechnol Adv.* 2006 Sep-Oct; 24 (5): 452-81).
- Se informó de la producción de celobiohidrolasas a partir de otros sistemas fúngicos tales como *Thermoascus aurantiacus*, *Chrysosporium lucknowense* o *Phanerochaete chrysosporium*. Se informó de la expresión a partir de celobiohidrolasa Cel7 de levaduras, pero las producciones enzimáticas o las propiedades de las enzimas permanecen no satisfactorias (Penttilä M.E., André L., Lehtovaara P., Bailey M., Teeri T.T., Knowles J.K. Efficient secretion of two fungal cellobiohydrolases by *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene.* 1988; 63 (1): 103-12).
- El documento WO03/000941 divulga numerosas CBH y sus secuencias génicas correspondientes. Sin embargo, las propiedades fisiológicas y las aplicaciones no se divulgaron. La fusión de los dominios de unión a celulosa con subunidades catalíticas de celobiohidrolasas se informa para mejorar las propiedades hidrolíticas de proteínas sin un dominio nativo.
- El documento US 2009042266 (A1) divulga de las fusiones de *Thermoascus aurantiacus* Cel7A con los dominios de unión a celulosa a partir de celobiohidrolasa I de *Chaetomium thermophilus* e *Hypocrea jecorina*.
- El documento US5686593 informa de la fusión de regiones enlazadoras especialmente diseñadas y dominios de unión a celobiohidrolasas.
- Hong y col. (2003) describen la producción de CBHI *Thermoascus aurantiacus* en levadura y su caracterización (Hong J., Tamaki H., Yamamoto K., Kumagai H. Cloning of a gene encoding thermostable cellobiohydrolase from *Thermoascus aurantiacus* and its expression in yeast. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2003 Nov.; 63 (1): 42-50).
- Tuohy y col. (2002) informa de la expresión y caracterización de CBH *Talaromyces emersonii* (Tuohy M.G., Walsh D.J., Murray P.G., Claeysens M., Cuffe M.M., Savage A.V., Coughlan M.P.: Kinetic parameters and mode of action of the cellobiohydrolases produced by *Talaromyces emersonii*. *Biochim Biophys Acta.* 2002 Abr 29; 1596 (2): 366-80).
- Nevoigt y col. (2008) informa sobre la expresión de enzimas celulolíticas en levaduras (Nevoigt E. Progress in metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2008 Sep; 72 (3): 379-412).
- Fujita y col. (2004) informa sobre una cepa *Saccharomyces cerevisiae* que expresa una combinación de una endoglucanasa, una beta glucosidasa y una CBHII presentada en la superficie de la célula. Celobiohidrolasa I (Cel7) no se usó en esta configuración (Fujita Y., Ito J., Ueda M., Fukuda H., Kondo A. Synergistic saccharification, and direct fermentation to ethanol, of amorphous cellulose by use of an engineered yeast strain codisplaying three types of cellulolytic enzyme. *Appl Environ Microbiol.* 2004 Feb; 70 (2): 1207-12).
- Boer H. y col. (2000) describe la expresión de enzimas clasificadas GH7 en diferentes anfitrionas de levadura, pero los niveles de proteína expresados eran bajos (Boer H., Teeri T.T., Koivula A. Characterization of *Trichoderma reesei* cellobiohydrolase Cel7A secreted from *Pichia pastoris* using two different promoters. *Biotechnol Bioeng.* 2000 Sep 5; 69 (5): 486-94).
- Godbole y col. (1999) y Hong y col. (2003) encontraron que las proteínas de esta clase enzimática expresadas de levadura eran a menudo desdobladas e hiperglicosiladas, y las capacidades hidrolíticas disminuyeron en comparación con la proteína expresada de la anfitriona homóloga (Godbole S., Decker S.R., Nieves R.A., Adney W.S., Vinzant T.B., Baker J.O., Thomas S.R., Himmel M.E. Cloning and expression of *Trichoderma reesei* cellobiohydrolase I in *Pichia pastoris*. *Biotechnol Prog.* 1999 Sep-Oct; 15 (5): 828-33).
- Kanokratana y col. (2008), Li y col. (2009) así como CN01757710 describen la expresión eficiente de enzimas CBH I Cel7, sin embargo estas proteínas carecen de dominios de unión de celulosa requeridos para el procesamiento eficiente del sustrato (Kanokratana P., Chantasingh D., Champreda V., Tanapongpipat S., Pootanakit K., Eurwilaichitr L. Identification and expression of cellobiohydrolase (CBHI) gene from an endophytic fungus, *Fusicoccum* sp. (BCC4124) in *Pichia pastoris*. *LProtein Expr Purif.* 2008 Mar; 58 (1): 148-53. Epub 2007 Sep 19; Li Y.L., Li H., Li A.N., Li D.C. Cloning of a gene encoding thermostable cellobiohydrolase from the thermophilic fungus *Chaetomium thermophilum* and its expression in *Pichia pastoris*. *J. Appl Microbiol.* 2009 Jun; 106 (6): 1867-75).
- Voutilainen (2008) y Viikari (2007) divulgan enzimas Cel7 que comprenden celobiohidrolasas termoestables, sin embargo con solo niveles de expresión baja a moderada a partir de *Trichoderma reesei* (Voutilainen S.P., Puranen T., Siika-Aho M., Lappalainen A., Alapuranen M., Kallio J., Hooman S., Viikari L., Vehmaanperä J., Koivula A. Cloning, expression and characterization of novel thermostable family 7 cellobiohydrolases. *Biotechnol Bioeng.* 2008 Oct 15; 101 (3): 515-28. PubMed PMID: 18512263; Viikari L., Alapuranen M., Puranen T., Vehmaanperä J., Siika-Aho M. Thermostable enzymes in lignocellulose hydrolysis. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2007; 108:121-45).

Grassick y col. (2004) divulgan la expresión desdoblada de Celobiohidrolasa I a partir de *Talaromyces emersonii* in *Escherichia coli* pero no en levadura (Grassick A., Murray P.G., Thompson R., Collins C.M., Byrnes L., Birrane G., Higgins T.M., Tuohy M.G. Three-dimensional structure of a thermostable native cellobiohydrolase, CBH IB, and molecular characterization of the cel7 gene from the filamentous fungus, *Talaromyces emersonii*. Eur J Biochem. 2004 Nov; 271 (22): 4495-506).

Por lo tanto, hay una necesidad de enzimas de celulosa con mejores características para su uso en los procesos técnicos para la hidrólisis de la celulosa. Particularmente hay una necesidad de enzimas CBH con una mayor actividad catalítica y/o una estabilidad superior en las condiciones de proceso. Además, existe la necesidad de enzimas CBH con mayor productividad en los sistemas de expresión y secreción de hongos y/o levaduras.

Compendio de la invención

La presente invención proporciona un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa. La invención proporciona un polipéptido termoestable que tiene actividad celobiohidrolasa. Es decir, el polipéptido mantiene el 50% de su máxima capacidad de transformación del sustrato cuando la transformación se realiza durante 60 minutos a 62°C o más. Este polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos con una identidad de secuencia de al menos 90% con la SEQ ID NO: 5. También se ha divulgado un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos con una identidad de secuencia de al menos 85% con la SEQ ID NO: 2.

Además, la presente invención divulga un ácido nucleico que codifica el polipéptido de la presente invención, que tiene preferiblemente identidad de al menos 95% con la SEQ ID NO: 1, un vector que comprende este ácido nucleico y un anfitrión transformado con dicho vector.

La presente invención proporciona además un procedimiento de producir una proteína celobiohidrolasa codificada por un vector de la presente invención, un procedimiento para identificar polipéptidos que tienen actividad celobiohidrolasa, y un procedimiento de preparación de tales polipéptidos que tienen actividad celobiohidrolasa. También proporciona un procedimiento para identificar tales polipéptidos que mantienen 50% o más de máxima capacidad de transformación del sustrato a temperaturas elevadas tales como a 60°C o más.

También se divulga un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa, en donde el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 85% con la SEQ ID NO: 2 en donde uno o más residuos de aminoácidos específicos de la secuencia definida por la SEQ ID NO: 2 se modifican mediante mutantes por sustitución o delección, así como inserción. Los ejemplos de tales mutantes incluyen Q1, G4, A6, T15, Q28, W40, D64, E65, A72, S86, K92, V130, V152, Y155, K159, D181, E183, N194, D202, P224, T243, Y244, I277, K304, N310, S311, N318, D320, T335, T344, D346, Q349, A358, Y374, A375, T392, T393, D410, Y422, P442, N445, R446, T456, S460, P462, G463, H468 y/o V482 de aminoácidos 1 a 500 de la SEQ ID NO: 2, pero la invención no se limita de ninguna manera a éstos. A continuación se indican posiciones específicas adicionales.

Por otra parte, la presente invención proporciona un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa, que puede obtenerse por el procedimiento de preparación de un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa según la presente invención, y un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa, en donde el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 90% con la SEQ ID NO: 5, en donde uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos de la secuencia definida por la SEQ ID NO: 5 se modifican mediante mutantes por sustitución o delección, así como inserción. Los ejemplos de tales mutantes incluyen Q1, G4, A6, T15, Q28, W40, D64, E65, A72, S86, K92, V130, V152, Y155, K159, D181, E183, N194, D202, P224, T243, Y244, I277, K304, N310, S311, N318, D320, T335, T344, D346, Q349, A358, Y374, A375, T392, T393, D410 y/o Y422 de aminoácidos 1 a 440 de la SEQ ID NO: 5, pero la invención no se limita de ninguna manera a estas. A continuación se indican posiciones específicas adicionales.

La presente invención proporciona además un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene identidad de secuencia de al menos 85% con la SEQ ID NO: 12 en donde uno o más de los siguientes residuos del aminoácido de la secuencia definida por la SEQ ID NO: 12 se modifican mediante mutantes por sustitución o delección, así como inserción. Los ejemplos de tales mutantes incluyen Q1, T15, Q28, W40, C72, V133, V155, Y158, T162, Y247, N307, G308, E317, S341, D345, Y370, T389, Q406, N441, R442, T452, S456, P458, G459, H464 y/o V478, pero la invención no se limita de ninguna manera a éstos. A continuación se indican posiciones específicas adicionales.

La presente invención proporciona además el uso de un polipéptido o la composición de la presente invención para la degradación enzimática de biomasa lignocelulósica, y/o para el procesamiento de textiles y/o como ingrediente en detergentes y/o como ingrediente en alimentos o composiciones alimenticias.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: Mapas de restricción de pV1 para expresión constitutiva de Proteínas en *Pichia pastoris*: pUC19-ori: Origen de replicación en *E. coli*; KanR: Resistencia Kanamicina/G418 con secuencias de los promotores TEF1 y EMZ para selección en *Pichia pastoris* y *E. coli*, respectivamente; 5'-GAP: región del promotor gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa; 3'-GAP: región del terminador; SP MF-alfa: secuencia de señal del factor alfa de apareamiento con

Saccharomyces cerevisiae; MCS: sitio de clonación múltiple.

Figura 2: SDS-PAGE de tinción con Coomassie de sobrenadantes concentrados 10 veces de cultivos de matraces agitados de plásmidos de expresión que contienen CBS 7435 de *Pichia pastoris* con secuencias codificantes para las proteínas CBHI maduras de *Trichoderma viride* (CBH-f; carril 1), *Humicola grisea* (CBH-d; carril 2), *Talaromyces emersonii* (CBH-b; carril 3), *Thermoascus aurantiacus* (CBH-e; carril 4), así como la fusión de CBHI-CBD de *Talaromyces emersonii* (CBH-a; carril 6) y la fusión de CBD *Humicola grisea* (CBH-g; carril 7) en la fusión N-terminal con el péptido señal del factor alfa de apareamiento con *Saccharomyces cerevisiae* bajo control del promotor de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa *Pichia pastoris*.

Figura 3: Mapa del plásmido de expresión pV3 para la expresión de proteínas en *Pichia pastoris*. Replicones: pUC19-ori: Origen de la replicación en *E. coli*; ZeoR: gen de resistencia Zeocine con secuencias promotoras de los promotores TEF1 y EM7 para expresión en *Pichia pastoris* y *E. coli*, respectivamente; promotor AOX I: Región promotora del gen alcohol oxidasa I *Pichia pastoris*; terminador transcripcional AOX 1: región del terminador; SP MF-alfa: la secuencia de señal alfa del factor de apareamiento de *Saccharomyces cerevisiae*; MCS: sitio de clonación múltiple.

Figura 4: Análisis de SDS-PAGE de muestras de sobrenadante de cultivo tomadas de la fermentación de una cepa *Pichia pastoris* con una integración genómica de una casete de expresión AOXI, que expresan el péptido de fusión CBHI *Talaromyces emersonii*/CBD *Trichoderma reesei* (CBH-a) en un biorreactor 7l durante la inducción con metanol. Las muestras P1-P7 fueron tomadas al principio de la inducción del metanol y después de 20, 45, 119,5, 142,5, 145,5 y 167 horas, respectivamente.

Figura 5: Mapa del plásmido de expresión pV4 para la expresión del péptido de fusión de CBHI *Talaromyces emersonii*/CBD *Trichoderma reesei* (CBH-ah) en *Trichoderma reesei*. Replicón: pUC19 para replicación en *E. coli*. cbh1 5': región promotora 5' del gen *Trichoderma* CBHI; péptido de señal de CBHI: Secuencia codificante del péptido líder de *Trichoderma reesei* CBHI; CBH-a: péptido de fusión de *Talaromyces emersonii* CBH-a/CBD *Trichoderma reesei*; región codificante de la SEQ ID NO: 18; Terminador cbh1: región de terminación 3' del locus de *Trichoderma reesei* CBHI; resistencia a la higromicina: región codificante de la higromicina fosfotransferasa bajo control de un promotor fosfoglicerato cinasa de *Trichoderma reesei*; 3' cbh1: secuencia de homología con la región de terminación del locus CBHI de *Trichoderma reesei* para los acontecimientos de doble cruce.

Figura 6: SDS-PAGE de los sobrenadantes del cultivo de *Trichoderma reesei*. El carril 1 muestra el patrón de expresión de una cepa de sustitución que lleva una fusión de CBHI *Talaromyces emersonii*/CBD *Trichoderma reesei* (CBH-ah) en lugar del gen CBHI nativo. En comparación, el carril 2 muestra el patrón de la cepa no modificada en las mismas condiciones. M: marcador de tamaño molecular.

Figura 7: determinación de los valores IT50 de los gráficos de Capacidad de transformación del sustrato frente a temperatura después de la normalización. Para la etapa de normalización, los valores máximo y mínimo de la fluorescencia para la temperatura seleccionada se correlacionan con 1 o 0, respectivamente. La interpolación lineal para $F'(T) = 0,5$ entre los dos puntos de temperatura más cercanos con valores normalizados próximos a 0,5 da como resultado la temperatura IT50 definida.

Figura 8: Gráficos de Capacidad de transformación normalizada frente a temperatura de fusiones de CBHI *Talaromyces emersonii*/CBD *Trichoderma reesei* de los tipos "wt (abreviatura de "tipo salvaje")" (CBH-ah: SEQ ID NO: 18 = SEQ ID NO: 2 + Etiqueta 6x His) y mutantes basados en los resultados de hidrólisis de 4-metilumbeliferil- β -D-lactósido evaluados a varias temperaturas. Los valores de fluorescencia se normalizaron según la figura 8 a lo largo del intervalo de temperaturas de 55°C a 75°C

- A... wt;
- B... G4C, A72C;
- C... G4C, A72C, Q349K;
- D... G4C, A72C, D181N, Q349K;
- E... Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R;
- F... Q1L, G4C, A72C, S86T, D181N, E183K, D320V, Q349R;
- G... G4C, A72C, E183K, D202Y, N310D, Q349R;
- H... Q1L, G4C, A72C, A145T, H203R, Q349K, T403K;
- I... Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, S192S, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
- J... Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, L119L, D181N, E183M, S192S, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E,

Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T

K... Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, L119L, D181N, E183M, S192S, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I

5 L... Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, G151GCGRSG, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I

M... Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K159KCGRNK, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I

10 Figura 9: Rendimientos de glucosa de hidrólisis de la paja pretratada con proteína de fusión CBHI *Talaromyces emersonii*/CBD *Trichoderma reesei* de los tipos wt y mutadas (CBH-ah) después de hidrólisis durante 48 horas en presencia de β -glicosidasa. Las variantes se caracterizan por las mutaciones siguientes con respecto a la SEQ ID NO: 18 y fueron expresadas a partir de *Pichia pastoris* en cultivos en matraces con agitación y aisladas del sobrenadante por cromatografía de afinidad utilizando Ni-NTA.

A: wt

B: G4C, A72C

15 C: G4C, A72C, Q349R

D: Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R

E: Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I

20 F: Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, G151GCGRSG, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I

Figura 10: Alineamiento de la SEQ ID NO: 2 con la CBHI *Trichoderma reesei*. Para crear el alineamiento se utilizó la matriz de alineamiento blosum62mt2 con la penalización por apertura de hueco de 10 y la penalización por extensión del hueco de 0,1.

Descripción detallada de la invención

25 La presente invención proporciona polipéptidos que tienen actividad celobiohidrolasa. En una realización preferida, la invención proporciona un polipéptido termoestable que tiene actividad celobiohidrolasa. En un aspecto preferido, la invención divulga variantes de la proteína que muestran una alta actividad a alta temperatura durante un período prolongado de tiempo. Preferiblemente, el polipéptido de la presente invención mantiene 50% de su máxima capacidad de transformación de sustrato cuando la transformación se realiza durante 60 minutos a una temperatura de 62°C o superior. La temperatura respectiva también se conoce como el valor IT50. En otras palabras, el valor IT50 es 62°C o superior. Es decir, en esta realización, el polipéptido mantiene el 50% de su máxima capacidad de transformación del sustrato cuando la transformación se realiza durante 60 minutos a 62°C o superior. Además, los polipéptidos de la presente invención tienen preferiblemente un valor IT50 en el intervalo de 62 a 80°C, más preferiblemente de 65 a 75°C.

35 "Capacidad de Transformación de Sustrato" de una enzima se define, en el presente documento, como el grado de transformación de sustrato catalizado por una cantidad de enzima dentro de un cierto período de tiempo en condiciones definidas (concentración de sustrato, valor de pH y concentración de tampón, y temperatura), como se puede determinar por evaluación de los criterios de valoración de la reacción enzimática en dichas condiciones. "Máxima Capacidad de Transformación de Sustrato" de una enzima se define, en el presente documento, como el máximo en la Capacidad de Transformación de Sustrato encontrada para la enzima dentro de un número de mediciones realizadas como se ha descrito anteriormente, cuando se variaba sólo un parámetro, p. ej., la temperatura, dentro de un intervalo definido. Según la presente invención, la evaluación descrita en el ejemplo 8 se utiliza para determinar estos parámetros.

45 Este polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos con una identidad de secuencia de al menos 90% con la SEQ ID NO: 5. El término "identidad a lo largo de una longitud de secuencia de y residuos" (en donde y es cualquier número entero, tal como, como ejemplo ilustrativo, 200, 255, 256, 300, 400, 437 y 500) significa que y es una parte, preferiblemente continua, de la secuencia parental (en este caso particular la SEQ ID NO: 5, pero lo mismo es cierto a lo largo de esta aplicación, también con respecto a otras secuencias parentales específicamente indicadas con las que las secuencias de esta invención pueden ser comparadas) que se utiliza como base para la comparación de identidad de secuencia. Así pues, para la comparación de la identidad de la secuencia (alineamiento de la secuencia), se toman en consideración preferiblemente 200 o más, más preferiblemente 300 o más, incluso más preferiblemente 400 o más, y lo más preferiblemente 437 posiciones de la secuencia parental dadas en la SEQ ID NO: 5. A continuación se indican los detalles de cómo se calculan los porcentajes de identidades de secuencia. También debe tenerse en cuenta que, a menos que se especifique expresamente lo contrario en esta memoria

descriptiva, la secuencia completa de la secuencia parental (como, en este caso particular, la SEQ ID NO: 5) (es decir, del primero al último residuo de aminoácido) se utilizará como secuencia padre.

El polipéptido capaz de mantener el 50% de su máxima capacidad de transformación de sustrato cuando la transformación se realiza durante 60 minutos a 62°C o superior, es un polipéptido que difiere de la SEQ ID NO: 5 en al menos una mutación, en el cual la mutación puede ser una inserción, delección o sustitución de uno o más residuos de aminoácidos. También se prefieren al menos dos de tales mutaciones, tales como al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 y al menos 10 de tales mutaciones con respecto al polipéptido dado en la SEQ ID NO: 5.

"Celobiohidrolasa" o "CBH" se refiere a las enzimas que escinden la celulosa del extremo de la cadena de glucosa y producen celobiosa como producto principal. Los nombres alternativos son 1,4-beta-D-glucano celobiohidrolasas o celulosa 1,4-beta-celobiosidasas. Las CBH hidrolizan los enlaces 1,4-beta-D-glucosídicos de los extremos reductor o no reductor de un polímero que contiene dichos enlaces. "Celobiohidrolasa I" o "CBH I" actúa desde el extremo reductor de la fibra de celulosa. "Celobiohidrolasa II" o "CBH II" actúa desde el extremo no reductor de la fibra de celulosa. Las celobiohidrolasas tienen típicamente una estructura que consiste en un dominio catalítico y uno o más "dominios de unión a celulosa" o "CBD". Tales dominios se pueden ubicar en el N- o C-terminal del dominio catalítico. Los CBD tienen actividad de unión a carbohidrato y median la unión de la celulosa con la celulosa cristalina y se sabe que la presencia o ausencia de dominios de unión tienen un impacto importante en la capacidad de procesamiento de una enzima especialmente en sustratos poliméricos.

Este polipéptido se caracteriza además por comprender una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 90% con la SEQ ID NO: 5, y preferiblemente una identidad de secuencia de al menos 95% con la SEQ ID NO: 5.

El polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa, definido antes, en una realización incluso más preferida, se caracteriza además como sigue: Es el polipéptido definido antes, en donde uno o más de los residuos de aminoácidos de la secuencia definida por la SEQ ID NO: 5 se modifican por sustitución o delección en una o más posiciones que se seleccionan preferiblemente de

Q1, Q2, G4, A6, T7, A8, N10, P12, T15, A21, G23, S24, T26, T27, Q28, N29, G30, A31, V32, N37, W40, V41, G46, Y47, T48, N49, C50, T52, N54, D57, T59, Y60, D64, E65, A68, Q69, A72, V84, S86, S89, S90, K92, S99, Q109, D110, D111, I116, F117, K118, L119, L120, D129, V130, G139, A145, M146, V152, K154, Y155, N157, N158, K159, K163, G167, Q172, F179, I180, D181, E183, E187, G188, Q190, S192, S193, N194, I200, D202, H203, D211, V212, A221, P224, D228, T229, G231, T233, M234, S236, T243, Y244, S245, N246, D247, G251, F260, G266, K275, I276, I277, T280, L290, D293, G294, T295, T297, T299, S301, K304, F306, N310, S311, V313, I314, N318, D320, I321, T325, N327, T335, A340, F341, D343, T344, D345, D346, Q349, H350, A354, K355, A358, Q361, Q362, G363, M364, V367, D373, Y374, A375, A376, P386, T387, D390, T392, T393, P394, T400, P402, T403, D404, D410, N417, S418, T421, Y422 y/o una o más inserciones después de las posiciones G151, K159,

y en una realización más preferida se modifican mediante sustitución o delección en una o más posiciones seleccionadas de Q1, Q2, G4, A6, T7, A8, N10, A21, S24, T26, T27, Q28, N29, G30, W40, Y47, D64, E65, A68, Q69, A72, S86, K92, K118, Y155, D181, E183, Q190, S192, N194, D202, H203, P224, T229, G231, M234, S236, T243, D247, S311, N318, D320, T335, A340, T344, D346, Q349, K355, Y374, A375, T387, D390, T392, T393, Y422 y/o una o más inserciones de 1-8 aminoácidos después de las posiciones G151, K159

y en una realización incluso más preferida se modifican por sustitución o delección en una o más posiciones seleccionadas de Q1, Q2, G4, A6, T7, A8, N10, Q28, E65, A72, S86, D181, E183, D202, P224, S311, N318, D320, T335, D346, Q349, T392, T393, Y422 y/o inserciones en una o más después de las posiciones y/o una o más inserciones de 5 aminoácidos después de las posiciones G151, K159

de los aminoácidos 1 a 437 de la SEQ ID NO: 5.

También se prefieren las realizaciones en donde la mutación o mutaciones respectivas dadas antes se introducen en el polipéptido dado en la SEQ ID NO: 2, como se indica a continuación.

La persona experta comprenderá que varias de estas mutaciones dadas se pueden combinar entre sí, es decir, que un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa, donde, por ejemplo, Q69 y T232 se sustituyen por otros residuos de aminoácidos, está comprendida en esta realización. La expresión "inserción después de la posición o posiciones x" debe comprenderse que la inserción puede estar en cualquier posición que esté en el lado del C-terminal (más cerca del C-terminal) de la posición x; sin embargo, las inserciones inmediatamente después de la posición x son fuertemente preferidas (donde x es cualquier posición).

También se divulga un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa, que comprende una secuencia de aminoácidos con una identidad de secuencia de al menos el 85% con la SEQ ID NO: 2. Se prefiere que este polipéptido con una identidad de secuencia de al menos 85% con la SEQ ID NO: 2 sea un polipéptido que tenga también un grado de identidad con la SEQ ID NO: 5 nombrada anteriormente, como de que tenga una identidad de secuencia de al menos 60% (o más, véase antes) con el polipéptido dado en la SEQ ID NO: 5, y/o una cualquiera o más de las realizaciones de identidad más particulares de identidad porcentual con la SEQ ID NO: 5 como se indica

en detalle anteriormente. Así, el polipéptido que tiene al menos 85% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2 es una realización que está comprendida en la invención que se relaciona con un polipéptido que tiene al menos 60% de identidad de secuencia con el polipéptido dado en la SEQ ID NO: 5. La persona experta reconocerá fácilmente el concepto inventivo común que inspira las variantes termoestables de las SEQ ID NO: 2 y SEQ ID NO: 5.

Equivalente a lo que se ha dicho anteriormente para la SEQ ID NO: 5, para el alineamiento de secuencia de la SEQ ID NO: 2 tal como se define en el presente documento, preferiblemente 200 o más, más preferiblemente 300 o más, incluso más preferiblemente 400 o más, y lo más preferiblemente 437 posiciones de la SEQ ID NO: 5 se toman en consideración. A continuación, se indican los detalles de cómo se calculan los porcentajes de identidad de secuencia. En una realización más preferida, el polipéptido respectivo comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 85% con la SEQ ID NO: 2 a lo largo de una longitud de secuencia de 500 residuos de aminoácidos. Incluso más preferiblemente, la presente invención comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, o incluso más preferiblemente al menos 95% o 98% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2 a lo largo de una longitud de la secuencia de 500 residuos de aminoácidos.

La secuencia parental se da en la SEQ ID NO: 2. La secuencia deriva de la fusión en el C-terminal del dominio enlazador y del dominio de unión a celulosa de CBHI *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 4) con el dominio catalítico de CBHI *Talaromyces emersonii* (SEQ ID NO: 5). La invención comprende además otras proteínas de fusión que comprenden cualquier dominio de unión a celulosa y un derivado del dominio catalítico de CBHI *Talaromyces emersonii* (SEQ ID NO: 5), preferiblemente con las características de estabilidad de temperatura dadas anteriormente. El dominio de unión a celulosa puede ser de cualquier fuente. Los polipéptidos según la invención pueden llevar además una etiqueta de hexahistidina. Así, por medio de la ilustración, variantes de uno cualquiera de los polipéptidos mostrados en las SEQ ID NO: 42, 44, 46, 48 o 50 se incluyen en esta invención. Las variantes son preferiblemente tales que los polipéptidos exhiben estabilidad a la temperatura, según lo descrito y definido anteriormente.

El polipéptido de la presente invención comprende preferentemente una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95%, más preferiblemente al menos 99% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2. Además, se prefiere particularmente que la secuencia de aminoácidos del polipéptido tenga la secuencia definida por la SEQ ID NO: 2, o una secuencia tal como se define en la SEQ ID NO: 2 en donde 1 a 75, más preferiblemente 1 a 35 residuos de aminoácidos sean sustituidos, eliminados o insertados.

Particularmente preferidas son las variantes de las proteínas de la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 12. "Variantes de proteínas" son polipéptidos cuya secuencia de aminoácidos difiere en una o más posiciones de su proteína parental, por lo que las diferencias pueden ser sustituciones de un aminoácido por otro, deleciones de uno o varios aminoácidos, o la inserción de aminoácidos adicionales o tramos de aminoácidos en la secuencia parental. Por definición, las variantes del polipéptido parental se distinguirán de otros polipéptidos por comparación de la identidad de secuencia (alineamientos) utilizando el algoritmo ClustalW (Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J. y Higgins D.G. (2007) ClustalW y ClustalX versión 2. Bioinformatics 2007 23(21): 2947-2948). Los procedimientos para la generación de tales variantes de las proteínas incluyen la mutagénesis al azar o dirigida al sitio, mutagénesis por saturación del sitio, montaje de fragmento basado en la PCR, barajamiento del ADN, recombinación homóloga *in vitro* o *in vivo*, y procedimientos de síntesis de genes.

La nomenclatura de aminoácidos, péptidos, nucleótidos y ácidos nucleicos se realiza según las sugerencias de la IUPAC. En general, dentro de este documento, los aminoácidos se nombran según el código de una letra.

Los intercambios de aminoácidos individuales se describen nombrando el código de una sola letra del aminoácido original seguido por su número de posición y el código de una sola letra del aminoácido que sustituye, es decir, el cambio de glutamina en la posición uno por una leucina en esta posición se describe como "Q1L". Para las deleciones de posiciones individuales de la secuencia se sustituye el símbolo del aminoácido que sustituye por la abreviatura de tres letras "del" (de la palabra "delección") así la delección de alanina en la posición 3 sería referida como "A3del". Los aminoácidos adicionales insertados reciben el número de la posición precedente ampliado por una letra pequeña en orden alfabético relativo a su distancia a su punto de la inserción. Así, la inserción de dos triptófanos después de la posición 3 se refiere como "3aW, 3bW" o simplemente como A3AWW (es decir, sustitución formal de "A" en la posición 3 por los residuos de aminoácidos "AWW"). La introducción de codones TAA, TGA y TAG no traducidos, en la secuencia de ácido nucleico se indica como "*" en la secuencia de aminoácidos, así la introducción de un codón de terminación en la posición 4 de la secuencia de aminoácidos se refiere como "G4*".

Las mutaciones múltiples están separadas mediante un signo más o una barra inclinada o una coma. Por ejemplo, dos mutaciones en las posiciones 20 y 21 que sustituyen alanina y ácido glutámico por glicina y serina, respectivamente, se indican como "A20G+E21S" o "A20G/E21S" o "A20G,E21S".

Cuando un residuo de aminoácido en una posición determinada se sustituye por dos o más residuos de aminoácidos alternativos, estos residuos se separan mediante una coma o una barra inclinada. Por ejemplo, la sustitución de alanina en la posición 30 por glicina o ácido glutámico se indica como "A20G,E" o "A20G/E" o "A20G,A20E".

Cuando una posición adecuada para modificación se identifica en el presente documento sin que se sugiera ninguna modificación específica, debe entenderse que cualquier residuo de aminoácido sustituir al residuo de aminoácido presente en la posición. Así, por ejemplo, cuando una modificación de una alanina en la posición 20 se menciona, pero no se especifica, debe entenderse que la alanina puede ser eliminada o sustituida por cualquier otro residuo de aminoácido (es decir, uno cualquiera de R, N, D, C, Q, E, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y y V).

Las expresiones "mutación similar" o "sustitución similar" se refieren a una mutación de aminoácidos que una persona experta en la técnica consideraría similar a una primera mutación. Similar en este contexto significa un aminoácido que tiene características químicas similares. Si, por ejemplo, una mutación en una posición específica conduce a una sustitución de un residuo de aminoácido no alifático (p. ej., Ser) con un residuo de aminoácido alifático (p. ej., Leu), entonces una sustitución en la misma posición con un aminoácido alifático diferente (p. ej., Ile o Val) se conoce como una mutación similar. Otras características del aminoácido incluyen el tamaño del residuo, hidrofobicidad, polaridad, carga, valor de pK, y otras características del aminoácido conocidas en la técnica. Por consiguiente, una mutación similar puede incluir la sustitución tal como básico por básico, ácido por ácido, polar por polar, etc. Los conjuntos de aminoácidos así derivados probablemente deberán conservarse por razones estructurales. Estos conjuntos se pueden describir bajo la forma de un diagrama de Venn (Livingstone, C.D. y Barton G.J. (1993) "Protein sequence alignments: a strategy for the hierarchical analysis of residue conservation" Comput. Appl. Biosci. 9: 745-756; Taylor W.R. (1986) "The classification of amino acid conservation" J. Theor. Biol. 119: 205-218). Se pueden hacer sustituciones similares, por ejemplo, según la siguiente agrupación de aminoácidos: Hidrofóbicos: F W Y H K M I L V A G; Aromáticos: F W Y H; Alifáticos: I L V; Polares: W Y H K R E D C S T N; Cargados H K R E D; Cargados positivamente: H K R; Cargados negativamente: E D.

Como convenio para la numeración de aminoácidos y designación de las variantes de las proteínas, para la descripción de las variantes de las proteínas, la primera glutamina (Q) de la secuencia de aminoácidos QQAGTA dentro de la secuencia de la proteína parental dada en la SEQ ID NO: 2 se refiere como número de posición 1 o Q1 o glutamina 1. La numeración de todos los aminoácidos será según su posición en la secuencia parental dada en la SEQ ID NO: 2 relativa a este número de posición 1.

También se divulgan variantes específicas de los polipéptidos de la presente invención como se indica anteriormente, tales como variantes de la SEQ ID NO: 2, con cambios de su secuencia en una o más de las posiciones dadas en adelante. Es decir, la invención proporciona, en una realización particular, el polipéptido como antes, en donde uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos de la secuencia definida por la SEQ ID NO: 2 se modifican preferiblemente por sustitución o delección en las posiciones Q1, Q2, G4, A6, T7, A8, N10, P12, T15, A21, G23, S24, T26, T27, Q28, N29, G30, A31, V32, N37, W40, V41, G46, Y47, T48, N49, C50, T52, N54, D57, T59, Y60, D64, E65, A68, Q69, A72, V84, S86, S89, S90, K92, S99, Q109, D110, D111, I116, F117, K118, L119, L120, D129, V130, G139, A145, M146, V152, K154, Y155, N157, N158, K159, K163, G167, Q172, F179, I180, D181, E183, E187, G188, Q190, S192, S193, N194, I200, D202, H203, D211, V212, A221, P224, D228, T229, G231, T233, M234, S236, T243, Y244, S245, N246, D247, G251, F260, G266, K275, I276, I277, T280, L290, D293, G294, T295, T297, T299, S301, K304, F306, N310, S311, V313, I314, N318, D320, I321, T325, N327, T335, A340, F341, D343, T344, D345, D346, Q349, H350, A354, K355, A358, Q361, Q362, G363, M364, V367, D373, Y374, A375, A376, P386, T387, D390, T392, T393, P394, T400, P402, T403, D404, D410, N417, S418, T421, Y422, F427, P429, I430, G431, T433, G434, N435, P436, S437, G439, N440, P441, P442, G443, N445, R446, T448, T449, T450, T451, R453, P454, A455, T456, T457, G459, S460, S461, P462, G463, P464, T465, S467, H468, G470, C472, G474, G476, Y477, S478, P480, V482, C483, S485, G486, T488, C489, Q490, V491, L492, N493, Y495, Y496, Q498, C499, L500 y/o por una o más inserciones después de las posiciones G151, K159, G434, A455 o P464, de aminoácidos 1 a 500 de la SEQ ID NO: 2.

También se divulgan los siguientes residuos de aminoácidos de la secuencia definida por la SEQ ID NO: 2 se modifican preferiblemente por sustitución o delección en las posiciones seleccionadas de Q1, Q2, G4, A6, T7, A8, N10, A21, S24, T26, T27, Q28, N29, G30, W40, Y47, D64, E65, A68, Q69, A72, S86, K92, K118, Y155, D181, E183, Q190, S192, N194, D202, H203, P224, T229, G231, M234, S236, T243, D247, S311, N318, D320, T335, A340, T344, D346, Q349, K355, Y374, A375, T387, D390, T392, T393, Y422, P436, P442, N445, R446, T448, T451, R453, P462, G463, H468, P480, V482, S485, y/o por una o más inserciones de 1-8 aminoácidos después de las posiciones G151, K159, G434, A455 o P464, y en una realización incluso más preferida son modificados por sustitución o delección en una o más posiciones seleccionadas de Q1, Q2, G4, A6, T7, A8, N10, Q28, E65, A72, S86, D181, E183, D202, P224, S311, N318, D320, T335, D346, Q349, T392, T393, Y422, P442, N445, R446, H468, V482, y/o por inserciones en una o más después de las posiciones y/o una o más inserciones de 5 aminoácidos después de las posiciones G151, K159, G434, A455 o P464 de aminoácidos 1 a 500 de la SEQ ID NO: 2.

También se divulgan las mutaciones respectivas en una cualquiera o más de las mutaciones especificadas 1 a 430 de la SEQ ID NO: 5. La persona experta reconocerá que los residuos 1 a 430 de la SEQ ID NO: 5 son equivalentes a las posiciones 1 a 430 de la SEQ ID NO: 2, y por lo tanto pueden transferir fácilmente la enseñanza detallada dada en lo que antecede y en lo sucesivo para las modificaciones preferidas de la SEQ ID NO: 2 para una cualquiera o más de las posiciones 1 a 430 con las respectivas una o más posiciones (1 a 430) de la SEQ ID NO: 5. Como ejemplo ilustrativo y no limitativo, es evidente para la persona experta que, puesto que D390 es una posición particular en la que se prefiere una modificación en la SEQ ID NO: 2, del mismo modo D390 es una posición en la que se prefiere una modificación en la SEQ ID NO: 5.

5 En una realización preferida, la variante del polipéptido de la presente divulgación es un polipéptido como el descrito anteriormente, en donde específicamente uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos de la secuencia definida por la SEQ ID NO: 2 se modifican como se muestra en la Tabla 1. Se muestran las modificaciones preferidas, más preferidas y las más preferidas. Cualesquiera de estas mutaciones pueden combinarse entre sí. Sin embargo, en una realización particular se prefiere que las mutaciones se seleccionen sólo entre las realizaciones más preferidas y las más preferidas que se muestran en la Tabla 1. Incluso más preferiblemente, sólo se eligen las modificaciones indicadas como las más preferidas. La persona experta será consciente de que cualesquiera de las diferentes mutaciones pueden combinarse entre sí.

Tabla 1: Intercambios preferidos y mutaciones similares

Posición	Preferidos	Más preferidos	Los más preferidos
Q1	L	L	L
Q2	P, S	P, S	S
G4	C	C	C
A6	G, L, V	G, L, V	L
T7	Q	Q	Q
A8	S	S	S
N10	T, D	T, D	T, D
P12	Q		
T15	S		
A21	S, T, C	S, T, C	
G23	A, D, N		
S24	T, C, N	T, C, N	
T26	I, N	I, N	
T27	S, Q	S, Q	
Q28	L, K, R, N	L, K, R, N	K, R
N29	T, Y	T, Y	
G30	A	A	
A31	S		
V32	G		
N37	S		
W40	R	R	
V41	T		
G46	S		
Y47	S, F	S, F	
T48	A		
N49	S		

ES 2 689 939 T3

Posición	Preferidos	Más preferidos	Los más preferidos
C50	S		
T52	D		
N54	S		
D57	S		
T59	M		
Y60	H		
D64	N	N	
E65	V, M, K	V, M, K	V, M, K
A68	T	T	
Q69	K, R	K, R	
A72	V, C	V, C	C
V84	A		
S86	T	T	T
S89	N		
S90	T, F		
K92	R	R	
S99	T		
Q109	R		
D110	G, S, N		
D111	H, E		
I116	V, K, E		
F117	Y		
K118	A, T, Q	A, T, Q	
L119	L, I		
L120	P, M		
D129	N		
V130	I		
G139	S		
A145	T		
M146	C		
G151	GCGRSG	GCGRSG	GCGRSG

ES 2 689 939 T3

Posición	Preferidos	Más preferidos	Los más preferidos
V152	A, E		
K154	R		
Y155	S, C, H	S, C, H	
N157	S		
N158	D		
K159	E, KCGRNK	KCGRNK	KCGRNK
K163	C		
G167	C		
Q172	Q		
F179	I		
I180	N		
D181	N	N	N
E183	V, M, K	V, M, K	V, M, K
E187	K		
G188	C		
Q190	L, K	L, K	
S192	L, I, P, T, M	L, I, P, T, M	
S193	L, P, T		
N194	G, L, I, V, S, C, K, R, D, Q, Y	G, L, I, V, S, C, K, R, D, Q, Y	
I200	N, F		
D202	G, I, V, N, F, Y	G, I, V, N, F, Y	G, I, V, N, F, Y
H203	R	R	
D211	G		
V212	L		
A221	V		
P224	L	L	L
D228	N		
T229	A, S, M	A, S, M	
G231	D	D	
T233	S		
M234	L, I, V, T, K	L, I, V, T, K	

ES 2 689 939 T3

Posición	Preferidos	Más preferidos	Los más preferidos
S236	F, Y	F, Y	
T243	G, A, L, I, V, P, S, C, M, R, D, Q, F, Y, W	G, A, L, I, V, P, S, C, M, R, D, Q, F, Y, W	
Y244	H, F		
S245	T		
N246	S, K, D		
D247	N	N	
G251	R		
F260	C		
G266	S		
K275	E		
I276	V		
I277	V		
T280	A		
L290	H		
D293	R, H		
G294	A		
T295	S		
T297	N		
T299	I, S		
S301	C		
K304	R		
F306	L, Y		
N310	D, E		
S311	G, D, N	G, D, N	G, D, N
V313	I		
I314	F		
N318	I, H, D, Y	I, H, D, Y	I, D, Y
D320	I, V, E, N	I, V, E, N	I, V, N
I321	N		
T325	A, I		
N327	Y		

ES 2 689 939 T3

Posición	Preferidos	Más preferidos	Los más preferidos
T335	I	I	I
A340	G, S, T	G, S, T	
F341	C		
D343	A		
T344	M	M	
D345	E		
D346	G, A, V, E	G, A, V, E	G, A, V, E
Q349	K, R	K, R	K, R
H350	Y		
A354	T		
K355	Q	Q	
A358	E		
Q361	R		
Q362	G, R, H		
G363	P		
M364	L, S		
V367	A		
D373	E		
Y374	A, P, S, C, R, H, D	A, P, S, C, R, H, D	
A375	G, L, V, T, C, M, R, D, E, N, O, Y	G, L, V, T, C, M, R, D, E, N, Q, Y	
A376	T		
P386	L, S		
T387	A, S	A, S	
D390	G, E	G, E	
T392	S, M, K	S, M, K	M
T393	A, I, V, S	A, I, V, S	A, I, V
P394	C		
T400	S		
P402	S		
T403	K		
D404	N		

ES 2 689 939 T3

Posición	Preferidos	Más preferidos	Los más preferidos
D410	G		
N417	Y		
S418	P		
T421	I		
Y422	F	F	F
F427	Y		
P429	C		
I430	L		
G431	D		
T433	S, E		
G434	S, GAAATG	GAAATG	GAAATG
N435	Q		
P436	S	S	
S437	P		
G439	V, D		
N440	E		
P441	A, L, S		
P442	S, Q, del	S, Q	S
G443	D		
N445	S, D	S, D	D
R446	G, S	G, S	G, S
T448	A	A	
T449	A		
T450	I		
T451	A, S	A, S	
R453	G, S, K	G, S, K	
P454	S		
A455	V, T, AAAAPA	AAAAPA	AAAAPA
T456	A, I		
T457	P		
G459	D		

ES 2 689 939 T3

Posición	Preferidos	Más preferidos	Los más preferidos
S460	P		
S461	R		
P462	L, del	L	
G463	V, D	V, D	
P464	L, Q, PTHAAA	PTHAAA	PTHAAA
T465	I, S		
S467	T		
H468	L, R, Q	L, R, Q	L, R, Q
G470	D		
C472	R		
G474	S		
G476	D		
Y477	Y		
S478	Y		
P480	S	S	
V482	A, I, T	A, I, T	A, I, T
C483	R		
S485	T	T	
G486	S, D		
T488	i		
C489	R		
Q490	L		
V491	I		
L492	Q		
N493	D		
Y495	C		
Y496	F		
Q498	K		
C499	G		
L500	I		

Los autores de las presentes invenciones encontraron, sorprendentemente, que la introducción de estas modificaciones puede producir polipéptidos que tienen actividad celobiohidrolasa con valores IT50 elevados, que la persona experta puede aprender de los siguientes ejemplos, en particular del ejemplo 8.

Incluso más preferiblemente, la variante de los polipéptidos de la presente invención como se ha definido generalmente antes comprende, en una realización particular, una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias con mutaciones con respecto a la SEQ ID NO: 2, opcionalmente fusionadas con un C-terminal etiquetado con 6x His, listado en la siguiente Tabla 2.

5 Tabla 2: Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 2:

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
1	G4C, A72C, Q349K
2	G4C, A72C, T344M, Q349K
3	G4C, A72C, T344M, D346G, Q349R
4	G4C, A72C, D320V, Q349K
5	G4C, A72C, P224L, F306Y, Q349R
6	G4C, A72C
7	A72V, D346A, T393A
8	G4C, A72C, Q349R, R446S, T456A
9	G4C, W40R, A72C, T344M, Q349K
10	A72V, D320V, D346A
11	G4C, A72C, N194Y, T243L, Q349R, Y374S, A375R
12	G4C, A72C, Q349K, T448A, T449A
13	G4C, E65V, A72C, Y244H, Q349R
14	G4C, A72C, D202G, D320N, Q349H, A358E
15	G4C, A72C, D320V, Q349R
16	G4C, A72C, Q349K, S86T
17	A72V, T335I, D346A, T393A, P436S
18	G4C, A72C, E183V, K304R, Q349K
19	G4C, A72C, T243G, Q349R, Y374P, A375M
20	G4C, A72C, Q349R, T465I
21	G4C, A72C, Q349R
22	G4C, A72C, N194V, T243M, Q349R, Y374A, A375T
23	G4C, D64N, A72C, Q349R, A358E, P464Q
24	G4C, A72C, Q349K, Q28R, S193T, Q490L
25	G4C, A72C, E183K, Q349K
26	G4C, A72C, S311N, Q349K, A455T

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
27	G4C, A72C, N194K, Q349R, Y374P, A375Q
28	G4C, A72C, D181N, Q349K
29	W40R, D320V, Q349K, T393A, N445D
30	W40R, T335I, D346A, T393A
31	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, N327Y, Q349R
32	A72C, L119L, T335I, Q349R, G486D
33	G4C, A72C, N194K, T243P, Q349H, Y374H, A375E
34	G4C, A72V, Q349R, P462del
35	G4C, A72C, S236Y, Q349R
36	G4C, A72C, S311G, Q349K
37	A72V, D320V, T335I, D346A, T393A, N445D
38	G4C, A72C, S86T, M234V, Q349K
39	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K159KCGRNK, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T457TAAATT, H468L, V482I
40	G4C, A72C, G251R, Q349R
41	G4C, A72C, Q349K, D320V
42	A72V, T335I, D346A, T393A
43	G4C, A72C, E183K, Q349R
44	Q1L, G4C, A72C, H203R, Q349K, P442S
45	G4C, A72C, Q349K, G434S, G470D
46	G4C, W40R, A72C, Q349K
47	G4C, A72C, Q349R, V367A
48	Q1L, G4C, A6V, C50S, A72C, I180N, D181N, E183K, Q349R, T457P, C472R, C499G
49	G4C, A72C, S311G, D320V, Q349K
50	W40R, T335I, D346A, T393A, P436S
51	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T243S, Q349R, P386S
52	A72V, D346A, T393A, N445D
53	Q1L, G4C, A72C, K154R, Q349K, T393I
54	G4C, A72C, N194G, T243F, Q349R, Y374P, A375R

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
55	A72V, D320V, D346A, T393A, N445D
56	A72C, L119L, Q172Q, Q349K, T488I
57	G4C, A72C, E183V, Q349K
58	G4C, A72C, E183K, N318Y, Q349K
59	W40R, A221V, T449A, C483R
60	G4C, A72C, K92R, Q349K, N493D
61	Q1L, G4C, A72C, S90T, D181N, E183K, Q349R
62	G4C, A72C, Q349R, G459D
63	G4C, A72C, Q349R, Y422F
64	G4C, T48A, A72C, Q349R, P480S
65	E187K, D320V, P442del
66	G4C, S24N, E65K, A72C, Q349R, I430L, G439D
67	A72V, D320V, T335I, D346A, T393A, P436S
68	Q1L, G4C, A72C, S193P, Q349K, V482I
69	G4C, A72C, D320V, Q349K, G443D, L492Q
70	Q1L, G4C, A72C, DV152-K159, D181N, E183K, Q349R
71	Q1L, G4C, A72C, Q349K
72	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, M234L, V313I, Q349R, H468R
73	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, I200N, Q349R
74	G4C, A72C, N194K, T243Y, Q349R, A375N
75	Q1L, G4C, Q28R, A72C, Q349K, H468L
76	G4C, E65V, A72C, G349R
77	D320V, Q349K
78	Q1L, G4C, A72C, S311G, Q349K, H468R
79	G4C, A72C, T243Q, Q349R, Y374P, A375M
80	Q1L, G4C, A72C, D320V, Q349R
81	Q1L, G4C, T15S, A72C, Y244F, Q349K
82	G4C, A72C, E183K, D346E, Q349R
83	Q1L, G4C, A72C, Q349K, T392M

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
84	G4C, A72C, D202N, S311N, Q349R, N493D
85	G4C, A72C, N194D, T243A, Q349R, Y374P, A375Y
86	G4C, A72C, N194Y, T243V, Q349R, Y374P
87	Q1L, G4C, A72C, Q349R
88	G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D202N, H203R, S311N, D320I, A340G, D346A, Q349K, T393A, Y422F, P442S, R446S, H468L, V482A
89	G4C, A72C, D202N, Q349R
90	G4C, A72C, P224L, Q349R
91	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T229M, A340T, Q349R, V491I
92	Q1L, G4C, A72C, D181N, Q349R
93	G4C, A72C, D320V, D346V, Q349K
94	Q1L, G4C, A72C, V152A, Q349K
95	Q1L, G4C, Q28R, A72C, Q349K
96	Q1L, G4C, A72C, Q349K, Y422F
97	G4C, A72C, D202V, D320V, Q349K
98	Q1L, G4C, A72C, Y155S, D181N, E183K, Q349R
99	Q1L, G4C, A72C, D181N, D247N, Q349K
100	Q1L, G4C, A68T, A72C, Q349K, G439D, R453S
101	Q1L, G4C, A72C, Q349K, H468R
102	G1L, G4C, D64N, A72C, Q349K
103	G4C, A72C, E183K, Q349R, P464L
104	G4C, A72C, D181N, P224L, Q349K
105	G4C, A72C, N194I, T243Y, Q349R, Y374P, A375R
106	Q1L, G4C, A72C, Q349K, P462L
107	Q1L, G4C, A72C, E183K, Q349R
108	G4C, A72C, S311G, Q349R
109	Q1L, G4C, A72C, S311N, Q349K, G463D
110	Q1L, G4C, A72C, S86T, Q349R
111	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, G231D, Q349R
112	Q1L, G4C, A72C, S89N, D181N, E183K, Q349R

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
113	Q1L, G4C, E65K, A72C, Q349K
114	Q1L, Q2P, G4C, W40R, E65M, A72C, S86T, S192L, D202N, H203R, S311D, D320I, T335I, D346G, Q349K, T392M, Y422F, R446G
115	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
116	G4C, A72C, E183K, D202Y, N310D, Q349R
117	G4C, A72C, N194I, T243D, Q349R, Y374P, A375Y
118	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, G349R, T456I
119	G4C, Q28R, A72C, S86T, E183K, P224L, S311N, N318Y, T335I, D346G, Q349R, T393I, P441A, P442S, R446G, H468L, V482I
120	Q1L, G4C, A72C, D181N, Q349K, T451S
121	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T243I, N246D, Q349R, T488I
122	Q1L, G4C, G23N, A72C, D110G, I116V, L119I, D181N, E183K, D211G, D293R, N310D, Q349R, Q362R, G363P, M364S
123	G439V, N440E, P441S, P442Q
124	G431D, S431V, T433E, G434S, N435Q
125	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
126	Q1L, G4C, A72C, S86T, D181N, E183K, Q349R, T393S
127	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, S485T
128	Q1L, G4C, G23N, A72C, V84A, D110G, D111H, I116E, F117Y, K118A, D181N, E183K, D293R, T295S, Q349R, M364L
129	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, R453K
130	Q1L, G4C, A72C, A145T, H203R, Q349K, T403K
131	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, N445S
132	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, M234I, Q349R
133	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, T465S
134	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T297N, Q349R
135	Q1L, G4C, A72C, S311G, Q349K
136	G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, E183K, S192I, H203R, S311N, D346E, Q349K, T392M, T393A, Y422F, N445D, R446S
137	Q1L, G4C, A72C, D202N, Q349K, G486D

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
138	Q1L, G4C, A72C, S99T, D181N, E183K, Q349R, T450I
139	Q1L, G4C, A72C, I200F, Q349K, L500I
140	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, G434S
141	Q1L, G4C, A31S, A72C, D181N, E183K, Q349R
142	Q1L, G4C, Q28L, A72C, D181N, E183K, Q349R
143	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, P436S
144	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T233S, Q349R
145	Q1L, G4C, A72C, D202N, Q349K
146	Q1L, G4C, A68T, A72C, Q349K
147	Q1L, G4C, A21T, A72C, D181N, E183K, Q349R, P454S
148	Q1L, G4C, A72C, D346V, G349K
149	Q1L, G4C, Y47F, A72C, D181N, E183K, Q349R, P436S, S461R
150	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, M234T, Q349R
151	Q1L, G4C, A72C, N157S, D181N, E183K, Q349R
152	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R
153	G4C, A72C, N194Q, T243V, Q349H, Y374P, A375Y
154	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, I314F, Q349R, N445D
155	Q1L, G4C, A72C, Q349K, T392K
156	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, T451A
157	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, M234V, Q349R
158	Q1L, G4C, A21S, A72C, D181N, E183K, Q349R
159	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, N493D
160	Q1L, G4C, A72C, S311N, Q349K
161	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183V, D228N, S311N, N318Y, D346E, Q349R, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T
162	G4C, A72C, N194C, Q349R, Y374C
163	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, A455V
164	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, T400S
165	Q1L, G4C, T26I, A72C, D181N, E183K, Q349R
166	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, N310D, Q349R, T392S, G463D

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
167	Q1L, G4C, A72C, D129N, D181N, E183K, Q190L, G266S, I276V, Q349R, P386L, F427Y
168	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, D202N, Q349R
169	Q1L, G4C, A72C, Y155C, D181N, E183K, Q349R
170	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P454PATAAA, H468L, V482I
171	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K159KCGRNK, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
172	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, N246K, Q349R
173	G4C, W40R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, D202I, H203R, S311D, D320N, D346V, Q349R, T392M, T393A, Y422F, P442S, H468Q, V482A
174	Q1L, G4C, A72C, Y155C, Q349K
175	Q1L G4C, A68T, A72C, D181N, E183K, Q349R
176	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, Y47F, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, P224L, T229M, G231D, M234T, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T448A, R453G, H468L, P480S, V482I
177	Q1L, G4C, W40R, E65M, A72C, S86T, S192L, D202N, H203R, S311D, D320I, T335I, D346G, Q349K, T392M, Y422F, R446G
178	Q1L, G4C, A72C, S86T, D181N, E183K, D320V, Q349R
179	G4C, Q28K, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320N, D346A, Q349R, T392M, T393I, P442S, H468L, V482I
180	Q1L, Q2P, G4C, Q28R, W40R, E65K, A72C, D181N, S192L, D202I, H203R, P224L, S311G, D320I, D343A, D346A, Q349K, P442S, N445D, R446G, V482A
181	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, D202I, P224L, D320N, D346V, Q349K, T392M, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T
182	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, E183K, D202V, S311G, N318Y, D320I, D346G, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446S, H468Q, V482T
183	Q1L, G4C, W40R, E65M, A72C, D181N, E183K, S192P, D202N, P224L, S311D, N318Y, D320V, D346G, Q349K, T392M, N445D, R446G, H468L, V482T
184	Q1L, G4C, E65V, A72C, D181N, E183K, P224L, S311G, D320N, D346G, Q349R, T392M, T393I, R446G, H468L, V482I
185	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, G151GCGRSG, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
186	Q1L, G4C, E65M, A72C, D181N, E183M, D202Y, P224L, S311D, N318Y, D320I, T335I, D346A, Q349K, T392M, T393I, N445D, R446G, T448A, H468Q, V482A
187	Q1L, G4C, G23A, A72C, D110S, D111H, I116V, F117Y, K118A, L120M, D181N, E183K, D293H, G294A, N310E, Q349R, Q362G, M364S

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
188	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, T421I, G439D
189	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, V152A, D181N, E183V, S192L, D202N, S311N, D320N, D346E, Q349R, T387A, T392M, T393I, Y422F, P442S, R446S, H468L, G476D, V482I
190	Q1L, G4C, W40R, E65V, A72C, S86T, E183V, G188C, S192T, D202Y, H203R, P224L, S311N, D320V, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
191	Q1L, G4C, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, T335I, D346G, Q349K, T392M, T393A, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482A
192	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, P480S, V482I
193	G4C, W40R, A72C
194	Q1L, G4C, W40R, E65K, A72C, S86T, E183K, S192L, D202Y, P224L, D320I, D346E, Q349R, P442S, R446G, H468R, V482T
195	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, R453G, H468Q, P480S, V482I
196	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
197	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P464PTHAAA, H468L, V482I
198	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
199	Q1L, G4C, T7Q, A8S, N10T, S24T, T27Q, Q28R, N29T, V41T, G46S, Y47S, T52D, D57S, D64N, E65V, Q69K, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
200	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K159KCGRNK, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T457TAAATT, H468L, V482I
201	Q1L, G4C, Q28K, W40R, E65V, A72C, D181N, E183V, S192P, D202V, H203R, S311G, D320N, D346E, Q349K, T392M, T393A, Y422F, V482I
202	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, G139S, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
203	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I
204	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, S311N, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
205	Q1L, G4C, W40R, A72C, S192L, D202N, H203R, P224L, S311N, D320I, T335I, D346V, Q349R, T393I, N445D, R446G, H468Q, V482T
206	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, E183M, D202N, P224L, T229S, S311G, D320I, T335I, D346V, Q349R, T393V, H468Q, V482A

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
207	Q1L, G4C, Q28R, G30A, E65M, A72C, D181N, D202N, P224L, S311D, N318Y, D346E, Q349K, T392M, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446S
208	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S68T, E183M, S311N, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T
209	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, D202N, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
210	T243C, A375C, N194C, Y374C
211	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, E183M, S311G, D346V, Q349R, T392M, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, S478Y, V482I
212	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
213	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, D202N, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
214	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, E183K, D202N, P224L, S311G, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T
215	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, L120P, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
216	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, E183M, S311N, N318H, D320V, D346V, Q349K, T392M, T393A, R446S, H468L, V482I
217	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D202N, H203R, S311G, T335I, D346V, Q349K, T393A, P442S, R446G, H468L, V482I
218	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
219	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, D202N, H203R, P224L, S311D, D346G, Q349K, P442S, R446S, H468Q, V482T
220	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D181N, E183M, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T
221	Q1L, G4C, T27S, Q28R, E65V, Q69R, A72C, L120P, D181N, E183M, D202N, D247N, S311G, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, Y422F, N445D, R446G, T451S, G463V, H468Q, V482T, S485T
222	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183V, S192T, D202N, S311G, D320V, D346A, Q349K, P442S, N445D, R446G, H468R, V482A
223	Q1L, G4C, W40R, E65V, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, D320V, D346E, Q349R, T393I, P442S, R446G, H468R, V482I
224	Q1L, G4C, Q28N, E65K, A72C, D181N, E183M, D202N, H203R, S311G, N318Y, D320N, Q349R, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
225	Q1L, G4C, Q28R, V41T, G46S, Y47S, T52D, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
226	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
227	Q1L, G4C, Q28R, W40R, A72C, S86T, D181N, S192T, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346E, Q349K, T392M, T393I, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
228	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, Q190K, D202N, P224L, T229M, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, R453G, H468Q, V482I
229	Q1L, G4C, Q28K, W40R, A72C, S86T, D181N, E183M, S192I, D202Y, T299S, S311N, N318Y, D320I, D346V, Q349R, T393I, P442S, H468L
230	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, T229M, G231D, M234T, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
231	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, P224L, T229M, G231D, M234T, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T448A, R453G, H468L, P480S, V482I
232	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, G463V, H468L, V482I
233	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, P224L, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
234	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T
235	Q1L, G4C, Q28R, W40R, E65V, A72C, S86T, S192T, D202V, H203R, S311N, N318Y, D346A, Q349K, T392M, T393A, Y422F, P442S, N445D, V482A
236	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K159KCGRNK, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, G434GAAATG, P442S, N445D, R446G, T457TAAATT, H468L, V482I
237	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, H203R, P224L, S311G, D320V, D346G, Q349K, T392M, T393I, P442S, N445D, R446G, H468L, V482A
238	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
239	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D181N, E183M, S311G, N31BY, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
240	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183K, D202I, P224L, S311G, D320I, Q349K, T393V, P442S, N445D, R446S, H468L, V482I
241	Q1L, G4C, Q28K, A72C, S86T, D181N, E183V, S192T, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346G, Q349R, T392M, Y422F, P442S, N445D, R446S, H468L, V482A
242	G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D181N, E183M, S192L, D202N, H203R, P224L, S311D, D346E, Q349R, T392M, T393A, Y422F, P442S, N445D, R446G, P462L, H468L, V482T

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
243	Q1L, G4C, W40R, E65K, A72C, Q109R, D181N, E183M, S192I, D202I, H203R, S245T, D346A, Q349R, T393A, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468R, V482A
244	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, D181N, D202N, S311N, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
245	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, Q69R, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349R, T393V, N417Y, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
246	Q1L, G4C, Q28R, W40R, E65V, A72C, D202Y, H203R, P224L, T299I, N318Y, D320V, D346A, Q349K, T392M, T393A, P442S, N445D, R446G, H468R, V482T
247	G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346G, Q349K, T392M, Y422F, R446G, H468Q
248	Q1L, G4C, Q28K, A72C, S86T, E183K, S311G, D320V, D346A, Q349R, T392M, T393I, Y422F, P442S, R446S, H468Q
249	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D181N, P224L, S311N, D320N, T335I, D346E, Q349K, T392M, Y422F, N445D, R446S, H468L, V482T
250	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, D202N, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
251	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I
252	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
253	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
254	Q1L, G4C, W40R, E65V, A72C, S86T, D181N, S192T, D202N, H203R, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346G, Q349K, T392M, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q
255	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T
256	Q1L, G4C, T7Q, A8S, N10T, Q28R, D57S, D64N, E65V, Q69K, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
257	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, D346A, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T
258	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, Q69R, A72C, K92R, K118Q, D181N, E183M, D202N, T280A, S311G, T335I, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, D404N, Y422F, N445D, R446G, P462L, G463V, H468Q, V482I, S485T
259	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, E183M, D202N, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
260	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, E183M, D202N, S311D, D320V, T335I, D346G, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, H468L, V482I,
261	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, P224L, S311N, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
262	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T
263	G4C, E65K, A72C, S86T, E183M, D202I, P224L, S311N, N318Y, D320N, T335I, D346V, Q349R, T393V, Y422F, P442S, R446S, H468L
264	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D202N, S311N, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T
265	Q1L, G4C, E65V, A72C, D181N, E183K, D202G, Q349R
266	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
267	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, F306L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
268	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
269	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, E183K, S192P, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346E, Q349R, T392M, T393I, Y422F, P442S, H468Q
270	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, E163M, H203R, S311D, D320V, T335I, D346E, Q349R, T393A, N445D, R446G, H468Q, V482A
271	Q1L, G4C, Q28R, A72C, D181N, E183V, D202I, H203R, P224L, S311D, D320V, D346V, Q349R, T392M, T393I, N445D, H468L
272	Q1L, G4C, Q28K, W40R, E65K, A72C, S86T, D181N, E183K, S192L, D202I, H203R, S311N, D320N, D346V, Q349K, T392M, T393A, Y422F, N445D, R446S
273	G4C, E65V, A72C, S86T, Y155H, D181N, E183V, Q190K, P224L, S311N, D320V, D346V, Q349K, T392M, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482A
274	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, S311D, N318Y, D320N, T335I, D346A, Q349R, T392M, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482A
275	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T
276	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D181N, D202N, S311G, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I
277	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, D202N, S311N, N318Y, D320I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T
278	Q1L, G4C, T7Q, A8S, N10T, S24T, T27Q, Q28R, N29T, D57S, D64N, E65V, Q69K, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
279	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D202N, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I
280	Q1L, G4C, Q28R, A72C, D181N, S311G, N318Y, D320V, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
281	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
282	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
283	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
284	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
285	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, D202N, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
286	Q1L, G4C, E65M, A72C, S86T, E183K, D202Y, S311G, D320N, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, R446G, H468Q, V482T
287	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311N, D320I, T335I, A340S, D346A, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
288	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, D181N, E183M, H203R, P224L, S311D, D320I, D346E, Q349R, T392M, Y422F, R446G, H468L
289	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
290	Q1L, G4C, Q28K, N29Y, E65K, A72C, D181N, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
291	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T
292	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, D202N, S311N, N318Y, D320N, T335I, D346A, Q349K, T392M, T393V, P442S, N445D, R446G, H468Q
293	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
294	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183V, S192T, D202N, S311G, D320V, D346A, Q349K, T393V, P442S, N445D, H468L, V482A
295	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T
296	Q1L, G4C, S24T, Q28R, E65K, A72C, D202N, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
297	Q1L, G4C, A72C, S86T, D181N, S192L, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, T335I, D346G, Q349K, T393I, R446G, H468Q
298	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
299	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, D346A, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T
300	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, E183V, S192I, D202V, D320I, T335I, D346V, Q349K, T392M, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468R, V482A

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
301	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
302	Q1L, G4C, Q28K, A72C, D181N, D202I, S311D, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T392M, Y422F, R446G, H468L
303	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320N, D346E, Q349K, T393V, Y422F, T433S, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
304	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
305	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, D202N, S311G, N318Y, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
306	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, E183M, D202N, D320I, T335I, D346A, Q349K, T392M, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T
307	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, H468Q, V482I
308	Q1L, G4C, E65M, A72C, S86T, E183V, S192L, D202I, H203R, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346A, Q349K, P442S, N445D, R446G, H468R, V482A
309	Q1L, G4C, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
310	Q1L, G4C, E65K, A72C, S86T, D202V, S311N, D320V, T335I, D346V, Q349R, T392M, Y422F, N445D, R446G, H468L
311	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
312	Q1L, G4C, Q28R, D57S, D64N, E65V, Q69K, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
313	Q1L, G4C, Q28R, A72C, S86T, E183M, S192T, D202N, H203R, P224L, S311N, T335I, D346V, Q349R, T392M, T393V, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482A
314	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, D202N, S311N, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
315	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I, S485T
316	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
317	G434GAAATG, T457TAAATT, Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
318	G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, D202Y, P224L, S311N, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446S, H468Q, V482A
319	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
320	Q1L, G4C, T27S, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
321	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, P224L, S311G, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T
322	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
323	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
324	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, E183M, D202N, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
325	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, P224L, S311N, N318Y, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I
326	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S90F, D181N, P224L, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
327	G4C, Q28R, A72C, S86T, D181N, E183V, S192L, D202V, N246S, S311D, N318Y, D320V, D346A, Q349K, T393V, P442S, N445D, H468L, V482A
328	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
329	Q1L, G4C, Q28R, A72C, S86T, E183M, S192L, H203R, S311D, D320V, T335I, D346V, Q349K, N445D, H468Q, V482A
330	Q1L, G4C, Q28R, T59M, E65K, A68T, A72C, S86T, D181N, S192L, D202N, H203R, S311D, D320V, T335I, Q349R, T393A, P442S, N445D, R446G, H468L, V482A
331	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
332	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, K355Q, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
333	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T
334	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T448A, R453G, H468L, V482I
335	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
336	Q1L, G4C, E65M, A72C, E183M, D202I, P224L, S311D, N318Y, D320V, T335I, D346A, Q349K, T393A, Y422F, P442S, N445D, R446G, R453G, H468Q, V482I
337	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
338	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, S311G, N318Y, D346A, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
339	Q1L, G4C, S24T, T27Q, Q28R, N29T, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
340	Q1L, G4C, E65V, A72C, D181N, E183M, S192T, P224L, S311G, D320V, T335I, D346G, Q349K, T393A, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T
341	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
342	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202F, S311G, N318Y, T335I, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q
343	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, D181N, D202N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349R, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468R
344	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, D202N, S311N, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
345	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
346	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
347	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, S311N, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T
348	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, E183M, P224L, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T
349	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, Q190K, D202N, T229M, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, P480S, V482I
350	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, D181N, E183M, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T
351	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, D404N, Y422F, P442S, N445D, R446G, T451S, H468L, V482I
352	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P462L, H468L, V482I
353	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I
354	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, T280A, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
355	Q1L, G4C, Q28R, E65V, Q69R, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
356	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, K275E, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
357	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, E183K, D202N, P224L, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
358	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, E183M, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
359	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, A455AAAAAPA, H468L, V482I
360	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
361	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, E183M, S311G, D320I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
362	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, S311G, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
363	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
364	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, E183M, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
365	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T
366	Q1L, G4C, S24C, Q28R, G30A, E65V, A72C, Y155C, D181N, Q190K, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, N445D, R446G, R453G, H468Q, P480S, V482I
367	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, P402S, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
368	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, D202N, P224L, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
369	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, N29Y, E65V, A72C, Y155C, D181N, D202N, P224L, M234T, S311G, D320I, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, N445D, R446G, R453G, H468Q, V482I
370	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D202N, P224L, S311D, D320N, T335I, D346V, Q349K, T392M, T393V, Y422F, P442S, R446S, H468L
371	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, E183K, D202N, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
372	Q1L, G4C, W40R, E65M, A72C, S86T, E183V, S192L, D202I, H203R, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346A, Q349K, P442S, N445D, R446G, H468R, V482A
373	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
374	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, G434GAAATG, P442S, N445D, R446G, T457TAAATT, H468L, V482I
375	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K118Q, D181N, E183M, P224L, D247N, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
376	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
377	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T
378	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, D181N, E183M, D202N, S311G, N318Y, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T
379	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P454PVRPQP, H468L, V482I
380	Q1L, G4C, Q28R, A72C, D181N, E183V, S192M, D202N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346E, Q349R, T393V, Y422F, P442S, R446G, H468L, P480S
381	Q1L, G4C, Q28R, A72C, S86T, D181N, S192L, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, T335I, D345E, D346A, Q349K, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, H505Q
382	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, P224L, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
383	Q1L, G4C, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, T448A, R453G, H468Q, V482I
384	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K92R, L120P, D181N, E183M, D202N, S236F, T280A, S311G, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, P402S, D404N, Y422F, N445D, R446G, T451S, G463V, H468Q, V482I, S485T
385	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, D202N, S236F, S311G, T335I, D346E, Q349K, T387S, T393V, Y422F, N445D, R446G, G463V, H468Q, V482I, S485T
386	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D181N, E183K, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
387	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, D202N, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, T448A, H468Q, V482I
388	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, D202N, S311G, T335I, D346A, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
389	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, D247N, S311G, D320I, D346E, Q349K, T387S, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
390	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, D202N, P224L, S311G, D346A, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I
391	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K92R, K118Q, D181N, E183M, D202N, S236F, S311N, N318I, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, D404N, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
392	Q1L, G4C, T27S, Q28R, E65V, Q69R, A72C, K118Q, D181N, E183M, D202N, D247N, I277V, S311G, T335I, D346E, Q349K, K355Q, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
393	Q1L, G4C, Q28R, G30A, E65V, A72C, Y155C, D181N, E183M, D202N, M234T, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, T448A, R453G, H468Q, V482T

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
394	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, G434GAAATG, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
395	Q1L, G4C, Q28R, E65V, Q69R, A72C, K92R, D181N, D202N, D247N, I277V, S311G, N318D, T335I, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, Y422F, N445D, R446G, G463V, H468Q, V482I
396	Q1L, G4C, T27S, Q28R, E65V, Q69R, A72C, D181N, D202N, S236F, I277V, S311G, T335I, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, Y422F, N445D, R446G, G463V, H468Q, V482I
397	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, Q69R, A72C, K92R, K118Q, D181N, E183M, D202N, S311G, T335I, D346E, Q349K, T387S, T393V, Y422F, N445D, R446G, P462L, H468Q, V482T, S485T
398	Q1L, G4C, A21T, Q28R, G30A, E65V, A72C, Y155C, D181N, E183M, D202N, M234T, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, R453G, H468Q, V482T
399	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T457TAAATT, H468L, V482I
400	Q1L, G4C, T26I, Q28R, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, Q190K, D202N, P224L, M234T, S311G, D320I, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, N445D, R446G, R453G, H468Q, V482I
401	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, E183K, S192L, D202N, D320N, T335I, D346A, Q349R, T393A, Y422F, P442S, R446G, H468R, V482A
402	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S236F, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
403	Q1L, G4C, T26I, Q28R, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, D202N, M234T, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
404	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, N29Y, E65V, A72C, Y155C, D181N, E183M, D202N, P224L, M234T, S311G, D320I, T335I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, N445D, R446G, T448A, R453G, H468Q, P480S, V482I
405	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D202I, P224L, S311G, N318Y, D320V, T335I, D346A, Q349R, T392M, T393A, N445D, R446G, H468L
406	Q1L, G4C, E65M, A72C, S86T, E183V, D202I, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346A, Q349K, P442S, N445D, R446G, H468L, V482A
407	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, A72C, K92R, D181N, E183M, D202N, S311G, D346E, Q349K, T387S, T393V, Y422F, N445D, R446G, T451S, P462L, H468Q, V482T
408	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, D320I, T335I, (DelecciónS437-P441), D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
409	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
410	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K92R, D181N, E183M, P224L, I277V, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
411	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
412	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P454PVRPQP, H468L, V482I
413	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P464THAAA, H468L, V482I
414	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P464PTHAAA, H468L, V482I
415	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, G151GCGRSG, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
416	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, K159KCGRNK, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
417	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P454ATAAA, H468L, V482I
418	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28K, E65K, A72C, E183M, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
419	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28K, E65V, A72C, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
420	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65M, A72C, S86T, E183M, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
421	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65M, A72C, E183M, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
422	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
423	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T
424	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I
425	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65K, A72C, S311N, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F, (Delección en G439-G444), N445D, R446G, H468Q, V482I
426	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28K, N29Y, E65K, A72C, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
427	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A68T, A72C, E183M, Q190K, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
428	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, Y47F, E65V, A68T, A72C, E183M, Q190K, P224L, T229M, G231D, M234T, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, N445D, R446G, T448A, R453G, H468L, P480S, V482I, Y422F, P442S
429	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, K159KCGRNK, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T457TAAATT, H468L, V482I
430	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T457TAAATT, H468L, V482I
431	Q1L, G4C, A72C, S86T, D181N, E163K, D202V, P224L, S311G, D320V, D346E, Q349R, T393A, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L
432	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K159CGRNKE183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
433	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, S24T, Q28R, E65K, A72C, D202N, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
434	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65M, A72C, E183K, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
435	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, (S437-P441), N445D, R446G, H468Q, V482T
436	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
437	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T457TAAATT, H468L, V482I
438	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P454PVRPQP, H468L, V482I
439	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P464THAAA, H468L, V482I
440	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P454PATAAA, H468L, V482I
441	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, G434GAAATG, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
442	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I, Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
443	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, G151GCGRSG, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
444	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P454ATAAAA, H468L, V482I
445	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S311N, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F, (DG439-G444)N445D, R446G, H468Q, V482I

ES 2 689 939 T3

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
446	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A68T, A72C, E183M, Q190K, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
447	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, Y47F, E65V, A68T, A72C, E183M, Q190K, P224L, T229M, G231D, M234T, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, N445D, R446G, T448A, R453G, H468L, P480S, V482I, Y422F, P442S
448	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A68T, A72C, D181N, Q190K, D202N, T229M, M234T, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, N445D, R446G, T448A, H468Q, V482I
449	Q1L, G4C, N10D, T27S, Q28R, E65V, A72C, K92R, K118Q, D181N, D202N, S236F, I277V, S311G, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, D404N, N417Y, Y422F, N445D, R446G, P462L, H468Q, V482I, S485T
450	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, Q190K, D202N, P224L, T229M, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, R453G, H468Q, V482I
451	Q1L, G4C, N10D, T27S, Q28R, E65V, A72C, K92R, K118Q, D181N, E183M, D202N, D247N, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
452	Q1L, G4C, T26I, Q28R, G30A, E65V, A72C, Y155C, D181N, D202N, T229M, G231D, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, T448A, R453G, H468Q, V482T
453	Q1L, G4C, S24R, T26I, Q28R, G30A, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311N, T335I, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T
454	Q1L, G4C, N10D, T27S, Q28R, E65V, Q69R, A72C, D181N, E183M, D202N, S236F, D247N, I277V, S311N, T335I, D346E, Q349K, T387S, T393V, N417Y, Y422F, T433S, N445D, R446G, P462L, H468Q, V482I
455	Q1L, G4C, A21T, Q28R, E65V, A72C, Y155C, D181N, D202N, P224L, S311G, N318Y, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, N445D, R446G, T448A, H468Q, V482I
456	Q1L, G4C, T26I, Q28R, N29Y, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, D202N, P224L, M234T, S311N, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, T448A, R453G, H468Q, V482I
457	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, N29Y, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, D202N, P224L, T229M, M234T, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, R453G, H468Q, V482I
458	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, A72C, K92R, K118Q, D181N, E183M, D202N, P224L, S236F, D247N, F306L, S311G, D346E, Q349K, K355Q, T393V, D404N, N417Y, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I, S485T
459	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, A72C, K92R, K118Q, D181N, E183M, D202N, S236F, D247N, S311G, N318I, T335I, D346E, Q349K, K355Q, T393V, Y422F, T433S, N445D, R446G, T451S, G463V, H468Q, V482I
460	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, G151GCGRSG, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I

Numero consecutivo	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 2
461	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, K159KCGRNK, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
462	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, G151GCGRSG, K159KCGRNK, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I
463	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, G151GCGRSG, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T457TAAATT, H468L, V482I
464	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, K159KCGRNK, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T457TAAATT, H468L, V482I
465	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, G151GCGRSG, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, G434GAAATG, P442S, N445D, R446G, T457TAAATT, H468L, V482I
466	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, K159KCGRNK, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, G434GAAATG, P442S, N445D, R446G, T457TAAATT, H468L, V482I
467	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, G151GCGRSG, K159KCGRNK, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, G434GAAATG, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I, T457TAAATT,
468	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
469	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, S192L, D202V, S311G, D320I, D346V, Q349R, T393A, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I
470	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, D202N, P224L, S311N, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T
471	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, D181N, E183M, D202N, T229M, S311G, A340S, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T

En un aspecto, adicional la presente invención divulga un ácido nucleico que codifica el polipéptido de la presente invención. El ácido nucleico es una secuencia de polinucleótidos (ADN o ARN) que, cuando se establece bajo control de un promotor apropiado y se transfiere a un anfitrión biológico o entorno químico adecuados, es procesado con el polipéptido codificado, por lo que el proceso también incluye todas las etapas necesarias después de la traducción y después de la transcripción. La secuencia codificante se puede adaptar fácilmente por la variación de tripletes de base degenerados, alteración de las secuencias de señal, o por introducción de intrones, sin afectar a las propiedades moleculares de la proteína codificada. El ácido nucleico de la presente invención tiene preferiblemente al menos 95%, más preferiblemente al menos 97%, y lo más preferiblemente 100% de identidad con la SEQ ID NO: 1. La presente invención proporciona también un vector que comprende este ácido nucleico y un anfitrión transformado con dicho vector.

La presente invención divulga también procedimientos para la producción de polipéptidos de la presente invención y variantes de los mismos en varias células anfitrionas, incluyendo levadura y anfitriones fúngicos. También se divulga el uso de las cepas resultantes para la mejora de las propiedades de las proteínas por variación de la secuencia. Además, la presente invención divulga procedimientos para la aplicación de tales polipéptidos en la hidrólisis de celulosa.

Otro aspecto de la divulgación describe vectores y procedimientos para la producción de las variantes de las proteínas de la SEQ ID NO: 2, expresándolas en levadura y probando su actividad sobre el material celulósico midiendo las moléculas de monómeros y/u oligómeros de azúcar liberadas

La presente invención se refiere además a un procedimiento de producir una proteína celobiohidrolasa, que comprende las etapas:

- a. obtención de una célula anfitriona, que se ha transformado con un vector que comprende el ácido nucleico de la presente invención;
- b. cultivo de la célula anfitriona en condiciones bajo las cuales se expresa la proteína celobiohidrolasa; y
- c. recuperación de la proteína celobiohidrolasa.

En una realización particular, este procedimiento de producir una proteína celobiohidrolasa se limita a un procedimiento para la producción de una proteína celobiohidrolasa según lo proporcionado por esta invención, tal como tener el valor IT50 dado anteriormente, y/o ser una de las variantes específicas de la SEQ ID NO: 2 o de la SEQ ID NO: 5 según se estipula en esta aplicación y se describe en detalle en otras partes de esta memoria descriptiva.

En una realización más preferida, la célula anfitriona se deriva del grupo que consiste en *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Candida* y *Yarrowina*. La célula anfitriona es preferiblemente capaz de producir etanol, en donde las levaduras más preferidas incluyen *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia stipitis*, *Pachysolen tannophilus*, o una levadura metilotrófica, preferiblemente derivada del grupo de células anfitrionas que comprenden *Pichia methanolica*, *Pichi pastoris*, *Pichia angusta* y *Hansenula polymorpha*.

Sorprendentemente, se ha encontrado que el polipéptido según la presente invención y las variantes del mismo se puede expresar a partir de levadura a niveles altos. "Levadura" se referirá en el presente documento a todos los organismos eucariotas inferiores que muestren un estado vegetativo unicelular en su ciclo de vida. Esto incluye especialmente organismos de la clase *Saccharomycetes*, en particular del género *Saccharomyces*, *Pachysolen*, *Pichia*, *Candida*, *Yarrowina*, *Debaromyces*, *Klyveromyces* y *Zygosaccharomyces*.

Así, un aspecto de la divulgación se refiere a la expresión del polipéptido reivindicado y variantes de éste en levadura. La expresión eficiente de esta proteína de fusión (SEQ ID NO: 2) y las variantes de las proteínas derivadas de la SEQ ID NO: 2 a partir de levadura se puede lograr por inserción de la molécula de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 1 partiendo de la posición de nucleótido 1 en un vector de expresión bajo control de al menos una secuencia promotora apropiada y fusión de la molécula del nucleótido con un péptido de señal apropiado, por ejemplo, con el péptido de señal del factor alfa de apareamiento de *Saccharomyces cerevisiae*.

En una realización preferida, el polipéptido de la presente invención y las variantes de éste se expresan y secretan a un nivel de más de 100 mg/l, más preferiblemente de más de 200 mg/l, de forma particularmente preferible de más de 500 mg/l, o lo más preferiblemente de más de 1 g/l en el sobrenadante después de la introducción de un ácido nucleico que codifica un polipéptido que tiene una secuencia del aminoácido con identidad de secuencia de al menos 85% con la SEQ ID NO: 2 en una levadura. Para determinar el nivel de expresión en levadura, el cultivo y el aislamiento del sobrenadante puede llevarse a cabo como se describe en el Ejemplo 3.

En otro aspecto, la invención divulga procedimientos para la producción de un polipéptido según la presente invención en un hongo filamentoso, preferiblemente en un hongo del género *Aspergillus* o *Trichoderma*, más preferiblemente en un hongo del género *Trichoderma*, lo más preferiblemente en *Trichoderma reesei*. "Hongos filamentosos" u "hongos" se referirá, en el presente documento, a todos los organismos eucariotas inferiores que muestran crecimiento de la hifa durante al menos un estado en su ciclo de vida. Esto incluye especialmente los organismos del filum *Ascomycota* y *Basidiomycota*, en particular del género *Trichoderma*, *Talaromyces*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Chrysosporium*, *Phanerochaete*, *Thermoascus*, *Agaricus*, *Pleutrus* e *Irpep*. El polipéptido se expresa por fusión de la región codificante de una secuencia de señal compatible con la molécula de ácido nucleico partiendo de la posición del nucleótido 52 de la SEQ ID NO: 3, como se hizo en la SEQ ID NO: 3 con la secuencia de señal de CBHI *Trichoderma reesei*, y el posicionamiento del péptido de fusión bajo control de un promotor suficientemente fuerte seguido por la transferencia de la construcción genética a la célula anfitriona. En la técnica se han descrito ejemplos de tales promotores y secuencias de señal, así como las técnicas para una transferencia eficiente.

En otro aspecto, la presente divulgación se relaciona además con un procedimiento para identificar un polipéptido o polipéptidos que tienen actividad celobiohidrolasa, que comprende las etapas de:

- a. Generación de una biblioteca de genes mutantes que codifican proteínas mutantes por mutagénesis de un ácido nucleico según la reivindicación 9 o un ácido nucleico que tiene la secuencia definida por la SEQ ID NO: 6 (que codifica la SEQ ID NO: 5), que tiene preferiblemente la secuencia definida por la SEQ ID NO: 1;
- b. Inserción de cada gen mutante en un vector de expresión;
- c. Transformación de las células de levadura con cada vector de expresión para proporcionar una biblioteca de transformantes de levadura;

- d. Cultivo de cada transformante de levadura en condiciones bajo las cuales se expresa y secreta la proteína mutada;
- e. Incubación de la proteína mutante expresada con un sustrato;
- f. Determinación de la actividad catalítica de la proteína mutada;
- 5 g. Selección de una proteína mutante según la actividad catalítica determinada.

En concreto, la etapa d. puede realizarse utilizando un formato de placa de pocillos. Este formato permite preferentemente el alto rendimiento de producción del procedimiento de identificación de polipéptidos que tienen actividad celobiohidrolasa.

- 10 En una realización preferida, este procedimiento para identificar polipéptidos que tienen actividad celobiohidrolasa se limita a un procedimiento, en donde el polipéptido o polipéptidos que tienen actividad celobiohidrolasa es uno o más polipéptidos según lo proporcionado por esta invención, tal como tener el valor IT50 indicado anteriormente, y/o ser una de las variantes específicas de la SEQ ID NO: 2 o de la SEQ ID NO: 5 como se indica a continuación.

Preferiblemente, las etapas de la e. a la g. del procedimiento para identificar polipéptidos que tienen actividad celobiohidrolasa se realizan de la siguiente manera:

- 15 e. Incubar la proteína mutante expresada con el material celulósico;
- f. Determinar la cantidad de azúcar liberado;
- g. Seleccionar una proteína mutante según la cantidad de azúcar liberado.

En otra realización, el procedimiento para identificar polipéptidos que tienen actividad celobiohidrolasa comprende las etapas adicionales de:

- 20 h. Secuenciar el gen o proteína mutante seleccionada;
- i. Identificar la modificación o modificaciones de aminoácidos comparando la secuencia de la proteína mutante seleccionada con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2.

- 25 En una realización particular, el procedimiento se caracteriza además por medir el valor IT50 del polipéptido obtenido. El valor IT50 puede medirse como se describe en los ejemplos siguientes. Opcionalmente, esto puede ser seguido por una etapa de selección de los polipéptidos, que muestran el valor IT50 deseado, tal como al menos 60°C, al menos 62°C y similares. Así, en esta realización particular, el procedimiento es adecuado para identificar polipéptidos que exhiben actividad celobiohidrolasa y un valor IT50 elevado, es decir, polipéptidos termoestables con actividad celobiohidrolasa.

- 30 La presente divulgación proporciona además un procedimiento de preparación de un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa, que comprende las etapas:

- 35 a. Proporcionar un polipéptido que tenga actividad celobiohidrolasa que comprenda una secuencia amino que tenga una identidad de secuencia de al menos un 54% con el dominio catalítico de la SEQ ID NO: 2 (SEQ ID NO: 5) (tal como preferiblemente, al menos 60%, al menos 62%, al menos 64%, al menos 66%, al menos 68% o al menos 70%, por lo que al menos el 68% o al menos el 70% son las realizaciones más preferidas);
- b. Identificar los aminoácidos de este polipéptido que corresponden a los aminoácidos que se modifican con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, como se identifica en la etapa i. del procedimiento de identificación de polipéptidos que tienen actividad celobiohidrolasa; y
- 40 c. Preparación de un polipéptido mutante del polipéptido proporcionado en la etapa a. llevando a cabo la modificación o modificaciones de aminoácidos identificados en la etapa b. a través de mutagénesis dirigida al sitio.

En una realización, preferiblemente, el polipéptido proporcionado en la etapa a. del procedimiento de preparación de un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa es una celobiohidrolasa de tipo salvaje derivada de *Trichoderma reesei*.

- 45 La presente invención proporciona además polipéptidos que tienen actividad celobiohidrolasa, que pueden obtenerse por el procedimiento de preparar un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa según la presente invención.

- 50 Además, la presente invención proporciona una composición que comprende un polipéptido y/o sus variantes de la presente invención y una o más celulasas, p. ej., una o más endoglucanasas y/o una o más beta-glucosidasas y/o una o más celobiohidrolasas adicionales y/o una o más xilanasas. "Celulasas" o "enzimas celulolíticas" se definen

como enzimas capaces de hidrolizar sustratos o derivados celulósicos o materias primas mixtas que comprenden polímeros celulósicos. Tales enzimas se refieren como de tener "actividad celulolítica", siendo así siendo capaces de hidrolizar las moléculas de celulosa de tal material en oligo- o monosacáridos más pequeños. Las enzimas celulolíticas incluyen celulasas y hemicelulasas, en particular incluyen celobiohidrolasas (CBH), endoglucanasas (EG) y beta-glucosidasas (BGL).

La presente invención proporciona además un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa, en donde el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95%, más preferiblemente al menos 98%, incluso más preferiblemente al menos 99%, y lo más preferiblemente 99,6% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 5. Particularmente, se prefiere que un polipéptido de este tipo es un polipéptido en donde uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos de la secuencia definida por la SEQ ID NO: 5 se modifican por sustitución o por delección de: Q1, Q2, G4, A6, T7, A8, N10, P12, T15, A21, G23, S24, T26, T27, Q28, N29, G30, A31, V32, N37, W40, V41, G46, Y47, T48, N49, C50, T52, N54, D57, T59, Y60, D64, E65, A68, Q69, A72, V84, S86, S89, S90, K92, S99, Q109, D110, D111, I116, F117, K118, L119, L120, D129, V130, G139, A145, M146, V152, K154, Y155, N157, N158, K159, K163, G167, Q172, F179, I180, D181, E183, E187, G188, Q190, S192, S193, N194, I200, D202, H203, D211, V212, A221, P224, D228, T229, G231, T233, M234, S236, T243, Y244, S245, N246, D247, G251, F260, G266, K275, I276, I277, T280, L290, D293, G294, T295, T297, T299, S301, K304, F306, N310, S311, V313, I314, N318, D320, I321, T325, N327, T335, A340, F341, D343, T344, D345, D346, Q349, H350, A354, K355, A358, Q361, Q362, G363, M364, V367, D373, Y374, A375, A376, P386, T387, D390, T392, T393, P394, T400, P402, T403, D404, D410, N417, S418, T421, Y422 y/o una o más inserciones después de las posiciones G151 y K159.

En una realización preferida, el polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa con una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 5 comprende uno o más residuos de aminoácidos modificados de la secuencia definida por la SEQ ID NO: 5. Así, el polipéptido dado en la SEQ ID NO: 5 puede, por medio del ejemplo, ser modificado como sigue: Q1L, G4, A6G/V, T15S, Q28Q/R, W40R, D64N, E65K/V, A72V, S86T, K92K/R, V130I/V, V152A/E, Y155C, K159E, D181N, E183V/K, N194C/R/Y/D/K/I/L/G/Q/S/V, D202Y/N/G, P224L, T243I/R/Y/A/F/Q/P/D/V/W/L/M, Y244F/H, I277V, K304R, N310D, S311G/N, N318Y, D320V/E/N, T335I, T344M, D346G/A/E/V, Q349R/K, A358E, Y374C/P/R/H/S/A, A375D/N/Y/R/Q/L/V/E/G/T/M, T392C/D/K, T393A, D410G e Y422F.

Más preferiblemente, el polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa comprende uno o más residuos de aminoácidos modificados de la secuencia definida por la SEQ ID NO: 5, como se indica en la Tabla 3 siguiente. Como se ha dicho anteriormente, para las modificaciones específicas de la SEQ ID NO: 2, se pueden combinar entre sí dos o más de estas modificaciones específicas, tal como preferiblemente dos o más de las modificaciones más preferidas o de las más preferidas pueden combinarse entre sí, y lo que es particularmente preferido, pueden combinarse entre sí dos o más de las más preferidas modificaciones según la Tabla 3.

Tabla 3: Mutaciones con respecto a la SEQ ID NO: 5

Posición	Preferidas	Más preferidas	Las más preferidas
Q1	L	L	L
Q2	P, S	P, S	S
G4	C	C	C
A6	G, L, V	G, L, V	L
T7	Q	Q	Q
A8	S	S	S
N10	T, D	T, D	T, D
P12	Q		
T15	S		
A21	S, T, C	S, T, C	
G23	A, D, N		
S24	T, C, N	T, C, N	

ES 2 689 939 T3

Posición	Preferidas	Más preferidas	Las más preferidas
T26	I, N	I, N	
T27	S, Q	S, Q	
Q28	L, K, R, N	L, K, R, N	K, R
N29	T, Y	T, Y	
G30	A	A	
A31	S		
V32	G		
N37	S		
W40	R	R	
V41	T		
G46	S		
Y47	S, F	S, F	
T48	A		
N49	S		
C50	S		
T52	D		
N54	S		
D57	S		
T59	M		
Y60	H		
D64	N	N	
E65	V, M, K	V, M, K	V, M, K
A68	T	T	
Q69	K, R	K, R	
A72	V, C	V, C	C
V84	A		
S86	T	T	T
S89	N		
S90	T, F		
K92	R	R	
S99	T		

ES 2 689 939 T3

Posición	Preferidas	Más preferidas	Las más preferidas
Q109	R		
D110	G, S, N		
D111	H, E		
I116	V, K, E		
F117	Y		
K118	A, T, Q	A, T, Q	
L119	L, I		
L120	P, M		
D129	N		
V130	I		
G139	S		
A145	T		
M146	C		
G151	GCGRSG	GCGRSG	GCGRSG
V152	A, E		
K154	R		
Y155	S, C, H	S, C, H	
N157	S		
N158	D		
K159	E, KCGRNK	KCGRNK	KCGRNK
K163	C		
G167	C		
Q172	Q		
F179	I		
I180	N		
D181	N	N	N
E183	V, M, K	V, M, K	V, M, K
E187	K		
G188	C		
Q190	L, K	L, K	
S192	L, I, P, T, M	L, I, P, T, M	

ES 2 689 939 T3

Posición	Preferidas	Más preferidas	Las más preferidas
S193	L, P, T		
N194	G, L, I, V, S, C, K, R, D, Q, Y	G, L, I, V, S, C, K, R, D, Q, Y	
I200	N, F		
D202	G, I, V, N, F, Y	G, I, V, N, F, Y	G, I, V, N, F, Y
H203	R	R	
D211	G		
V212	L		
A221	V		
P224	L	L	L
D228	N		
T229	A, S, M	A, S, M	
G231	D	D	
T233	S		
M234	L, I, V, T, K	L, I, V, T, K	
S236	F, Y	F, Y	
T243	G, A, L, I, V, P, S, C, M, R, D, Q, F, Y, W	G, A, L, I, V, P, S, C, M, R, D, Q, F, Y, W	
Y244	H, F		
S245	T		
N246	S, K, D		
D247	N	N	
G251	R		
F260	C		
G266	S		
K275	E		
I276	V		
I277	V		
T280	A		
L290	H		
D293	R, H		
G294	A		
T295	S		

ES 2 689 939 T3

Posición	Preferidas	Más preferidas	Las más preferidas
T297	N		
T299	I, S		
S301	C		
K304	R		
F306	L, Y		
N310	D, E		
S311	G, D, N	G, D, N	G, D, N
V313	I		
I314	F		
N318	I, H, D, Y	I, H, D, Y	I, D, Y
D320	I, V, E, N	I, V, E, N	I, V, N
I321	N		
T325	A, I		
N327	Y		
T335	I	I	I
A340	G, S, T	G, S, T	
F341	C		
D343	A		
T344	M	M	
D345	E		
D346	G, A, V, E	G, A, V, E	G, A, V, E
Q349	K, R	K, R	K, R
H350	Y		
A354	T		
K355	Q	Q	
A358	E		
Q361	R		
Q362	G, R, H		
G363	P		
M364	L, S		
V367	A		

ES 2 689 939 T3

Posición	Preferidas	Más preferidas	Las más preferidas
D373	E		
Y374	A, P, S, C, R, H, D	A, P, S, C, R, H, D	
A375	G, L, V, T, C, M, R, D, E, N, Q, Y	G, L, V, T, C, M, R, D, E, N, Q, Y	
A376	T		
P386	L, S		
T387	A, S	A, S	
D390	G, E	G, E	
T392	S, M, K	S, M, K	M
T393	A, I, V, S	A, I, V, S	A, I, V
P394	C		
T400	S		
P402	S		
T403	K		
D404	N		
D410	G		
N417	Y		
S418	P		
T421	I		
Y422	F	F	F

Particularmente, se prefiere un polipéptido como el anteriormente definido, caracterizado además por comprender una modificación de la SEQ ID NO: 5, que es una modificación específica como se indica en la Tabla 3A siguiente. Cada uno de estos polipéptidos define una versión mutada del polipéptido dado en la SEQ ID NO: 5.

5 Tabla 3a: Mutantes específicos con respecto a la SEQ ID NO: 5:

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
1	G4C, A72C, Q349K
2	G4C, A72C, T344M, Q349K
3	G4C, A72C, T344M, D346G, Q349R
4	G4C, A72C, D320V, Q349K
5	G4C, A72C, P224L, F306Y, Q349R
6	G4C, A72C
7	A72V, D346A, T393A

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
8	G4C, A72C, Q349R
9	G4C, W40R, A72C, T344M, Q349K
10	A72V, D320V, D346A
11	G4C, A72C, N194Y, T243L, Q349R, Y374S, A375R
12	G4C, E65V, A72C, Y244H, Q349R
13	G4C, A72C, D202G, D320N, Q349R, A358E
14	G4C, A72C, D320V, Q349R
15	G4C, A72C, Q349K, S86T
16	A72V, T335I, D346A, T393A
17	G4C, A72C, E183V, K304R, Q349K
18	G4C, A72C, T243G, Q349R, Y374P, A375M
19	G4C, A72C, N194V, T243M, Q349R, Y374A, A375T
20	G4C, D64N, A72C, Q349R, A358E
21	G4C, A72C, Q349K, Q28R, S193T
22	G4C, A72C, E183K, Q349K
23	G4C, A72C, S311N, Q349K
24	G4C, A72C, N194K, Q349R, Y374P, A375Q
25	G4C, A72C, D181N, Q349K
26	W40R, D320V, Q349K, T393A
27	W40R, T335I, D346A, T393A
28	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, N327Y, Q349R
29	A72C, T335I, Q349R
30	G4C, A72C, N194K, T243P, Q349R, Y374H, A375E
31	G4C, A72V, Q349R, P462del
32	G4C, A72C, S236Y, Q349R
33	G4C, A72C, S311G, Q349K
34	A72V, D320V, T335I, D346A, T393A
35	G4C, A72C, S86T, M234V, Q349K
36	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K159KCGRNK, D181N, E183M, P224L, S311G, D320f, D346E, Q349K, T393V, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
37	G4C, A72C, G251R, Q349R
38	G4C, A72C, Q349K, D320V
39	G4C, A72C, E183K, Q349R
40	Q1L, G4C, A72C, H203R, Q349K
41	G4C, W40R, A72C, Q349K
42	G4C, A72C, Q349R, V367A
43	Q1L, G4C, A6V, C50S, A72C, I180N, D181N, E183K, Q349R
44	G4C, A72C, S311G, D320V, Q349K
45	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T243S, Q349R, P386S
46	Q1L, G4C, A72C, K154R, Q349K, T393I
47	G4C, A72C, N194G, T243F, Q349R, Y374P, A375R
48	A72V, D320V, D346A, T393A
49	A72C, Q349K
50	G4C, A72C, E183V, Q349K
51	G4C, A72C, E183K, N318Y, Q349K
52	W40R, A221V
53	G4C, A72C, K92R, Q349K
54	Q1L, G4C, A72C, S90T, D181N, E183K, Q349R
55	G4C, A72C, Q349R, Y422F
56	G4C, T48A, A72C, Q349R
57	E187K, D320V
58	G4C, S24N, E65K, A72C, Q349R
59	Q1L, G4C, A72C, S193P, Q349K
60	Q1L, G4C, A72C, delV152-K159, D181N, E183K, Q349R
61	Q1L, G4C, A72C, Q349K
62	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, M234L, V313I, Q349R
63	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, I200N, Q349R
64	G4C, A72C, N194K, T243Y, Q349R, A375N
65	Q1L, G4C, Q28R, A72C, Q349K

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
66	G4C, E65V, A72C, Q349R
67	D320V, Q349K
68	Q1L, G4C, A72C, S311G, Q349K
69	G4C, A72C, T243Q, Q349R, Y374P, A375M
70	Q1L, G4C, A72C, D320V, Q349R
71	Q1L, G4C, T15S, A72C, Y244F, Q349K
72	G4C, A72C, E183K, D346E, Q349R
73	Q1L, G4C, A72C, Q349K, T392M
74	G4C, A72C, D202N, S311N, Q349R
75	G4C, A72C, N194D, T243A, Q349R, Y374P, A375Y
76	G4C, A72C, N194Y, T243V, Q349R, Y374P
77	Q1L, G4C, A72C, Q349R
78	G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D202N, H203R, S311N, D320I, A340G, D346A, Q349K, T393A, Y422F
79	G4C, A72C, D202N, Q349R
80	G4C, A72C, P224L, Q349R
81	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T229M, A340T, Q349R
82	Q1L, G4C, A72C, D181N, Q349R
83	G4C, A72C, D320V, D346V, Q349K
84	Q1L, G4C, A72C, V152A, Q349K
85	Q1L, G4C, A72C, Q349K, Y422F
86	G4C, A72C, D202V, D320V, Q349K
87	Q1L, G4C, A72C, Y155S, D181N, E183K, Q349R
88	Q1L, G4C, A72C, D181N, D247N, Q349K
89	Q1L, G4C, A68T, A72C, Q349K
90	Q1L, G4C, D64N, A72C, Q349K
91	G4C, A72C, D181N, P224L, Q349K
92	G4C, A72C, N194I, T243Y, Q349R, Y374P, A375R
93	Q1L, G4C, A72C, E183K, Q349R
94	G4C, A72C, S311G, Q349R

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
95	Q1L, G4C, A72C, S311N, Q349K
96	Q1L, G4C, A72C, S86T, Q349R
97	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, G231D, Q349R
98	Q1L, G4C, A72C, S89N, D181N, E183K, Q349R
99	Q1L, G4C, E65K, A72C, Q349K
100	Q1L, Q2P, G4C, W40R, E65M, A72C, S86T, S192L, D202N, H203R, S311D, D320I, T335I, D346G, Q349K, T392M, Y422F
101	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
102	G4C, A72C, E183K, D202Y, N310D, Q349R
103	G4C, A72C, N194I, T243D, Q349R, Y374P, A375Y
104	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R
105	G4C, Q28R, A72C, S86T, E183K, P224L, S311N, N318Y, T335I, D346G, Q349R, T393I
106	Q1L, G4C, A72C, D181N, Q349K
107	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T243I, N246D, Q349R
108	Q1L, G4C, G23N, A72C, D110G, I116V, L119I, D181N, E183K, D211G, D293R, N310D, Q349R, Q362R, G363P, M364S
109	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
110	Q1L, G4C, A72C, S86T, D181N, E183K, Q349R, T393S
111	Q1L, G4C, G23N, A72C, V84A, D110G, D111H, I116E, F117Y, K118A, D181N, E183K, D293R, T295S, Q349H, M364L
112	Q1L, G4C, A72C, A145T, H203R, Q349K, T403K
113	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, M234I, Q349R
114	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T297N, Q349R
115	G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, E183K, S192I, H203R, S311N, D346E, Q349K, T392M, T393A, Y422F
116	Q1L, G4C, A72C, D202N, Q349K
117	Q1L, G4C, A72C, S99T, D181N, E183K, Q349R
118	Q1L, G4C, A72C, I200F, G349K
119	Q1L, G4C, A31S, A72C, D181N, E183K, Q349R
120	Q1L, G4C, Q28L, A72C; D181N, E183K, Q349R

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
121	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T233S, Q349R
122	Q1L, G4C, A21T, A72C, D181N, E183K, Q349R
123	Q1L, G4C, A72C, D346V, Q349K
124	Q1L, G4C, Y47F, A72C, D181N, E183K, Q349R
125	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, M234T, Q349R
126	Q1L, G4C, A72C, N157S, D181N, E183K, Q349R
127	G4C, A72C, N194Q, T243V, Q349R, Y374P, A375Y
128	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, I314F, Q349R
129	Q1L, G4C, A72C, Q349K, T392K
130	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, M234V, Q349R
131	Q1L, G4C, A21S, A72C, D181N, E183K, Q349R
132	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183V, D228N, S311N, N318Y, D346E, Q349R, Y422F
133	G4C, A72C, N194C, Q349R, Y374C
134	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, T400S
135	Q1L, G4C, T26I, A72C, D181N, E183K, Q349R
136	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, N310D, Q349R, T392S
137	Q1L, G4C, A72C, D129N, D181N, E183K, Q190L, G266S, I276V, Q349R, P386L
138	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, D202N, Q349R
139	Q1L, G4C, A72C, Y155C, D181N, E183K, Q349R
140	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
141	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, N246K, Q349R
142	G4C, W40R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, D202I, H203R, S311D, D320N, D346V, Q349R, T392M, T393A, Y422F
143	Q1L, G4C, A72C, Y155C, Q349K
144	Q1L, G4C, A68T, A72C, D181N, E183K, Q349R
145	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, Y47F, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, P224L, T229M, G231D, M234T, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F
146	Q1L, G4C, W40R, E65M, A72C, S86T, S192L, D202N, H203R, S311D, D320I, T335I, D346G, Q349K, T392M, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
147	Q1L, G4C, A72C, S86T, D181N, E183K, D320V, Q349R
148	G4C, Q28K, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320N, D346A, Q349R, T392M, T393I
149	Q1L, Q2P, G4C, Q28R, W40R, E65K, A72C, D181N, S192L, D202I, H203R, P224L, S311G, D320I, D343A, D346A, Q349K
150	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, D202I, P224L, D320N, D346V, Q349K, T392M, T393V, Y422F
151	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, E183K, D202V, S311G, N318Y, D320I, D346G, Q349K, T393V, Y422F
152	Q1L, G4C, W40R, E65M, A72C, D181N, E183K, S192P, D202N, P224L, S311D, N318Y, D320V, D346G, Q349K, T392M
153	Q1L, G4C, E65V, A72C, D181N, E183K, P224L, S311G, D320N, D346G, Q349R, T392M, T393I
154	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, G151GCGRSG, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
155	Q1L, G4C, E65M, A72C, D181N, E183M, D202Y, P224L, S311D, N318Y, D320I, T335I, D346A, Q349K, T392M, T393I
156	Q1L, G4C, G23A, A72C, D110S, D111H, I116V, F117Y, K118A, L120M, D181N, E183K, D293H, G294A, N310E, Q349R, Q362G, M364S
157	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, T421I
158	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, V152A, D181N, E183V, S192L, D202N, S311N, D320N, D346E, Q349R, T387A, T392M, T393I, Y422F
159	Q1L, G4C, W40R, E65V, A72C, S86T, E183V, G188C, S192T, D202Y, H203R, P224L, S311N, D320V, D346E, Q349K, T393V, Y422F
160	Q1L, G4C, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, T335I, D346G, Q349K, T392M, T393A
161	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F
162	G4C, W40R, A72C
163	Q1L, G4C, W40R, E65K, A72C, S86T, E183K, S192L, D202Y, P224L, D320I, D346E, Q349R
164	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
165	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
166	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F
167	Q1L, G4C, T7Q, A8S, N10T, S24T, T27Q, Q28R, N29T, V41T, G46S, Y47S, T52D, D57S, D64N, E65V, Q69K, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
168	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K159KCGRNL, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
169	Q1L, G4C, Q28K, W40R, E65V, A72C, D181N, E183V, S192P, D202V, H203R, S311G, D320N, D346E, Q349K, T392M, T393A, Y422F
170	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, G139S, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
171	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
172	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, S311N, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F
173	Q1L, G4C, W40R, A72C, S192L, D202N, H203R, P224L, S311N, D320I, T335I, D346V, Q349R, T393I
174	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, E183M, D202N, P224L, T229S, S311G, D320I, T335I, D346V, Q349R, T393V
175	Q1L, G4C, Q28R, G30A, E65M, A72C, D181N, D202N, P224L, S311D, N318Y, D346E, Q349K, T392M, T393V, Y422F
176	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, E183M, S311N, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
177	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, D202N, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
178	T243C, A375C, N194C, Y374C
179	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, E183M, S311G, D346V, Q349R, T392M, T393V, Y422F
180	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F
181	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, D202N, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F
182	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, E183K, D202N, P224L, S311G, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F
183	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, L120P, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
184	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, E183M, S311N, N318H, D320V, D346V, Q349K, T392M, T393A
185	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D202N, H203R, S311G, T335I, D346V, Q349K, T393A
186	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
187	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, D202N, H203R, P224L, S311D, D346G, Q349K
188	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D181N, E183M, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F
189	Q1L, G4C, T27S, Q28R, E65V, Q69R, A72C, L120P, D181N, E183M, D202N, D247N, S311G, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
190	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183V, S192T, D202N, S311G, D320V, D346A, Q349K
191	Q1L, G4C, W40R, E65V, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, D320V, D346E, Q349R, T393I
192	Q1L, G4C, Q28N, E65K, A72C, D181N, E183M, D202N, H203R, S311G, N318Y, D320N, Q349R, T393V, Y422F
193	Q1L, G4C, Q28R, V41T, G46S, Y47S, T52D, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F
194	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
195	Q1L, G4C, Q28R, W40R, A72C, S86T, D181N, S192T, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346E, Q349K, T392M, T393I
196	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, Q190K, D202N, P224L, T229M, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
197	Q1L, G4C, Q28K, W40R, A72C, S86T, D181N, E183M, S192I, D202Y,
	T299S, S311N, N318Y, D320I, D346V, Q349R, T393I
198	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, T229M, G231D, M234T, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
199	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, P224L, T229M, G231D, M234T, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F
200	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, P224L, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F
201	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F
202	Q1L, G4C, Q28H, W40R, E65V, A72C, S86T, S192T, D202V, H203R, S311N, N318Y, D346A, Q349K, T392M, T393A, Y422F
203	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, H203R, P224L, S311G, D320V, D346G, Q349K, T392M, T393I
204	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F
205	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D181N, E183M, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F
206	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183K, D202I, P224L, S311G, D320I, Q349K, T393V
207	Q1L, G4C, Q28K, A72C, S86T, D181N, E183V, S192T, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346G, Q349R, T392M, Y422F
208	G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D181N, E183M, S192L, D202N, H203R, P224L, S311D, D346E, Q349R, T392M, T393A, Y422F
209	Q1L, G4C, W40R, E65K, A72C, G109R, D181N, E183M, S192I, D202I, H203R, S245T, D346A, Q349R, T393A, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
210	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, D181N, D202N, S311N, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F
211	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, Q69R, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349R, T393V, N417Y, Y422F
212	Q1L, G4C, Q28R, W40R, E65V, A72C, D202Y, H203R, P224L, T299I, N318Y, D320V, D346A, Q349K, T392M, T393A
213	G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346G, Q349K, T392M, Y422F
214	Q1L, G4C, Q28K, A72C, S86T, E183K, S311G, D320V, D346A, Q349R, T392M, T393I, Y422F
215	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D181N, P224L, S311N, D320N, T335I, D346E, Q349K, T392M, Y422F
216	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, D202N, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
217	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
218	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
219	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
220	Q1L, G4C, W40R, E65V, A72C, S86T, D181N, S192T, D202N, H203R, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346G, Q349K, T392M, T393V, Y422F
221	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393I, Y422F
222	Q1L, G4C, T7Q, A8S, N10T, Q28R, D57S, D64N, E65V, Q69K, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F
223	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, D346A, Q349K, T393I, Y422F
224	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, Q69R, A72C, K92R, K118Q, D181N, E183M, D202N, T280A, S311G, T335I, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, D404N, Y422F
225	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, E183M, D202N, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F
226	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, E183M, D202N, S311D, D320V, T335I, D346G, Q349K, T393I, Y422F
227	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, P224L, S311N, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
228	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
229	G4C, E65K, A72C, S86T, E183M, D202I, P224L, S311N, N318Y, D320N, T335I, D346V, Q349R, T393V, Y422F
230	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D202N, S311N, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
231	Q1L, G4C, E65V, A72C, D181N, E183K, D202G, Q349R
232	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
233	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, F306L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
234	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393I, Y422F
235	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, E183K, S192P, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346E, Q349R, T392M, T393I, Y422F
236	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, H203R, S311D, D320V, T335I, D346E, Q349R, T393A
237	Q1L, G4C, Q28R, A72C, D181N, E183V, D202I, H203R, P224L, S311D, D320V, D346V, Q349R, T392M, T393I
238	Q1L, G4C, Q28K, W40R, E65K, A72C, S86T, D181N, E183K, S192L, D202I, H203R, S311N, D320N, D346V, Q349K, T392M, T393A, Y422F
239	G4C, E65V, A72C, S86T, Y155H, D181N, E183V, Q190K, P224L, S311N, D320V, D346V, Q349K, T392M, T393V, Y422F
240	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, S311D, N318Y, D320N, T335I, D346A, Q349R, T392M, T393I, Y422F
241	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
242	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D181N, D202N, S311G, D346E, Q349K, T393I, Y422F
243	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, D202N, S311N, N318Y, D320I, D346E, Q349K, T393I, Y422F
244	Q1L, G4C, T7Q, A8S, N10T, S24T, T27Q, Q28R, N29T, D57S, D64N, E65V, Q69K, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F
245	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D202N, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393I, Y422F
246	Q1L, G4C, Q28R, A72C, D181N, S311G, N318Y, D320V, D346E, Q349K, T393I, Y422F
247	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
248	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F
249	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
250	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
251	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, D202N, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
252	Q1L, G4C, E65M, A72C, S86T, E183K, D202Y, S311G, D320N, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F
253	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311N, D320I, T335I, A340S, D346A, Q349K, T393V, Y422F
254	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, D181N, E183M, H203R, P224L, S311D, D320I, D346E, Q349R, T392M, Y422F
255	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
256	Q1L, G4C, Q28K, N29Y, E65K, A72C, D181N, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
257	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F
258	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, D202N, S311N, N318Y, D320N, T335I, D346A, Q349K, T392M, T393V
259	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F
260	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183V, S192T, D202N, S311G, D320V, D346A, Q349K, T393V
261	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
262	Q1L, G4C, S24T, Q28R, E65K, A72C, D202N, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F
263	G1L, G4C, A72C, S86T, D181N, S192L, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, T335I, D346G, Q349K, T393I
264	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F
265	G1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, D346A, Q349K, T393I, Y422F
266	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, E183V, S192I, D202V, D320I, T335I, D346V, Q349K, T392M, T393I, Y422F
267	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
268	Q1L, G4C, Q28K, A72C, D181N, D202I, S311D, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T392M, Y422F
269	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320N, D346E, Q349K, T393V, Y422F
270	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393I, Y422F
271	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, D202N, S311G, N318Y, D346A, Q349K, T393I, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
272	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, E183M, D202N, D320I, T335I, D346A, Q349K, T392M, Y422F
273	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F
274	Q1L, G4C, E65M, A72C, S86T, E183V, S192L, D202I, H203R, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346A, Q349K
275	Q1L, G4C, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F
276	Q1L, G4C, E65K, A72C, S86T, D202V, S311N, D320V, T335I, D346V, Q349R, T392M, Y422F
277	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F
278	Q1L, G4C, Q28R, D57S, D64N, E65V, Q69K, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F
279	Q1L, G4C, Q28R, A72C, S86T, E183M, S192T, D202N, H203R, P224L, S311N, T335I, D346V, Q349R, T392M, T393V
280	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, D202N, S311N, D346A, Q349K, T393I, Y422F
281	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
282	G434GAAATG, T457TAAATT, Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
283	G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, D202Y, P224L, S311N, D346A, Q349K, T393I, Y422F
284	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393I, Y422F
285	Q1L, G4C, T27S, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
286	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, P224L, S311G, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F
287	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F
288	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
289	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, E183M, D202N, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
290	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, P224L, S311N, N318Y, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
291	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S90F, D181N, P224L, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393I, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
292	G4C, Q28R, A72C, S86T, D181N, E183V, S192L, D202V, N246S, S311D, N318Y, D320V, D346A, Q349K, T393V
293	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346A, Q349K, T393I, Y422F
294	Q1L, G4C, Q28R, A72C, S86T, E183M, S192L, H203R, S311D, D320V, T335I, D346V, Q349K
295	Q1L, G4C, Q28R, T59M, E65K, A68T, A72C, S86T, D181N, S192L, D202N, H203R, S311D, D320V, T335I, Q349R, T393A
296	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
297	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, K355Q, T393V, Y422F
298	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F
299	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
300	Q1L, G4C, E65M, A72C, E183M, D202I, P224L, S311D, N318Y, D320V, T335I, D346A, Q349K, T393A, Y422F
301	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F
302	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, S311G, N318Y, D346A, Q349K, T393V, Y422F
303	Q1L, G4C, S24T, T27Q, Q28R, N29T, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F
304	Q1L, G4C, E65V, A72C, D181N, E183M, S192T, P224L, S311G, D320V, T335I, D346G, Q349K, T393A, Y422F
305	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202F, S311G, N318Y, T335I, Q349K, T393V, Y422F
306	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, D181N, D202N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349R, T392M, T393I, Y422F
307	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, D202N, S311N, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
308	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
309	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
310	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, S311N, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F
311	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, E183M, P224L, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
312	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, Q190K, D202N, T229M, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
313	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, D181N, E183M, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
314	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, D404N, Y422F
315	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
316	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, T280A, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
317	Q1L, G4C, Q28R, E65V, Q69R, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
318	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, K275E, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
319	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, E183K, D202N, P224L, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
320	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, E183M, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393I, Y422F
321	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
322	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, E183M, S311G, D320I, D346A, Q349K, T393V, Y422F
323	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, S311G, D346E, Q349K, T393I, Y422F
324	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
325	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, E183M, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
326	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
327	Q1L, G4C, S24C, Q28R, G30A, E65V, A72C, Y155C, D181N, Q190K, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F
328	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, P402S, Y422F
329	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, D202N, P224L, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
330	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, N29Y, E65V, A72C, Y155C, D181N, D202N, P224L, M234T, S311G, D320I, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F
331	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D202N, P224L, S311D, D320N, T335I, D346V, Q349K, T392M, T393V, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
332	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, E183K, D202N, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393V, Y422F
333	Q1L, G4C, W40R, E65M, A72C, S86T, E183V, S192L, D202I, H203R, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346A, Q349K
334	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F
335	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K118Q, D181N, E183M, P224L, D247N, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
336	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
337	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
338	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, D181N, E183M, D202N, S311G, N318Y, D346A, Q349K, T393V, Y422F
339	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P454PVRPQP
340	Q1L, G4C, Q28R, A72C, D181N, E183V, S192M, D202N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346E, Q349R, T393V, Y422F
341	Q1L, G4C, Q28R, A72C, S86T, D181N, S192L, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, T335I, D345E, D346A, Q349K, Y422F
342	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, P224L, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393V, Y422F
343	Q1L, G4C, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, D346E, Q349K, T393V, Y422F
344	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K92R, L120P, D181N, E183M, D202N, S236F, T280A, S311G, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, P402S, D404N, Y422F
345	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, D202N, S236F, S311G, T335I, D346E, Q349K, T387S, T393V, Y422F
346	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D181N, E183K, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
347	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, D202N, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
348	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, D202N, S311G, T335I, D346A, Q349K, T393I, Y422F
349	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, D247N, S311G, D320I, D346E, Q349K, T387S, T393V, Y422F
350	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, D202N, P224L, S311G, D346A, Q349K, T393V, Y422F
351	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K92R, K118Q, D181N, E183M, D202N, S236F, S311N, N318I, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, D404N, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
352	Q1L, G4C, T27S, Q28R, E65V, Q69R, A72C, K118Q, D181N, E183M, D202N, D247N, I277V, S311G, T335I, D346E, Q349K, K355Q, T393V, Y422F
353	Q1L, G4C, Q28R, G30A, E65V, A72C, Y155C, D181N, E183M, D202N, M234T, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F
354	Q1L, G4C, Q28R, E65V, Q69R, A72C, K92R, D181N, D202N, D247N, I277V, S311G, N318D, T335I, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, Y422F
355	Q1L, G4C, T27S, Q28R, E65V, Q69R, A72C, D181N, D202N, S236F, I277V, S311G, T335I, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, Y422F
356	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, Q69R, A72C, K92R, K118Q, D181N, E183M, D202N, S311G, T335I, D346E, Q349K, T387S, T393V, Y422F
357	Q1L, G4C, A21T, Q28R, G30A, E65V, A72C, Y155C, D181N, E183M, D202N, M234T, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
358	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, T457TAAATT
359	Q1L, G4C, T26I, Q28R, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, Q190K, D202N, P224L, M234T, S311G, D320I, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422 F
360	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, E183K, S192L, D202N, D320N, T335I, D346A, Q349R, T393A, Y422F
361	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S236F, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
362	Q1L, G4C, T26I, Q28R, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, D202N, M234T, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
363	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, N29Y, E65V, A72C, Y155C, D181N, E183M, D202N, P224L, M234T, S311G, D320I, T335I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F
364	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D202I, P224L, S311G, N318Y, D320V, T335I, D346A, Q349R, T392M, T393A
365	Q1L, G4C, E65M, A72C, S86T, E183V, D202I, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346A, Q349K
366	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, A72C, K92R, D181N, E183M, D202N, S311G, D346E, Q349K, T387S, T393V, Y422F
367	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
368	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
369	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K92R, D181N, E183M, P224L, I277V, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
370	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
371	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, G151GCGRSG, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
372	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, K159KCGRNNK, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
373	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28K, E65K, A72C, E183M, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
374	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28K, E65V, A72C, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
375	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65M, A72C, S86T, E183M, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
376	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65M, A72C, E183M, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F
377	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
378	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F
379	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F
380	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65K, A72C, S311N, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F
381	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28K, N29Y, E65K, A72C, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
382	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A68T, A72C, E183M, Q190K, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
383	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, Y47F, E65V, A68T, A72C, E183M, Q190K, P224L, T229M, G231D, M234T, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F
384	Q1L, G4C, A72C, S86T, D181N, E183K, D202V, P224L, S311G, D320V, D346E, Q349R, T393A, Y422F
385	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K159CGRNKE183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
386	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, S24T, Q28R, E65K, A72C, D202N, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F
387	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28R, E65M, A72C, E183K, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
388	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
389	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
390	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F

ES 2 689 939 T3

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
391	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, G151GCGRSG, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
392	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S311N, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F
393	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A68T, A72C, E183M, Q190K, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
394	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, Y47F, E65V, A68T, A72C, E183M, Q190K, P224L, T229M, G231D, M234T, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F
395	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A68T, A72C, D181N, Q190K, D202N, T229M, M234T, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F
396	Q1L, G4C, N10D, T27S, Q28R, E65V, A72C, K92R, K118Q, D181N, D202N, S236F, I277V, S311G, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, D404N, N417Y, Y422F
397	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, Q190K, D202N, P224L, T229M, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
398	Q1L, G4C, N10D, T27S, Q28R, E65V, A72C, K92R, K118Q, D181N, E183M, D202N, D247N, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
399	Q1L, G4C, T26I, Q28R, G30A, E65V, A72C, Y155C, D181N, D202N, T229M, G231D, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
400	Q1L, G4C, S24R, T26I, Q28R, G30A, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311N, T335I, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F
401	Q1L, G4C, N10D, T27S, Q28R, E65V, Q69R, A72C, D181N, E183M, D202N, S236F, D247N, I277V, S311N, T335I, D346E, Q349K, T387S, T393V, N417Y, Y422F
402	Q1L, G4C, A21T, Q28R, E65V, A72C, Y155C, D181N, D202N, P224L, S311G, N318Y, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F
403	Q1L, G4C, T26I, Q28R, N29Y, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, D202N, P224L, M234T, S311N, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F
404	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, N29Y, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, D202N, P224L, T229M, M234T, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F
405	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, A72C, K92R, K118Q, D181N, E183M, D202N, P224L, S236F, D247N, F306L, S311G, D346E, Q349K, K355Q, T393V, D404N, N417Y, Y422F
406	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, A72C, K92R, K118Q, D181N, E183M, D202N, S236F, D247N, S311G, N318I, T335I, D346E, Q349K, K355Q, T393V, Y422F
407	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, G151GCGRSG, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
408	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, K159KCGRNK, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
409	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, G151GCGRSG, K159KCGRNK, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F
410	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F

Número del mutante	Mutantes con respecto a la SEQ ID NO: 5
411	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, S192L, D202V, S311G, D320I, D346V, Q349R, T393A, Y422F
412	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, D202N, P224L, S311N, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393V, Y422F
413	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, D181N, E183M, D202N, T229M, S311G, A340S, D346E, Q349K, T393V, Y422F

Además, la presente divulgación proporciona un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene identidad de secuencia de al menos 85%, preferiblemente al menos 95%, más preferiblemente al menos 98%, incluso más preferiblemente al menos 99%, y lo más preferiblemente 100% con la SEQ ID NO: 12 en donde uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos de la secuencia definida por la SEQ ID NO: 12 se modifiquen mediante sustitución o delección: Q1, S2, P12, T15, S21, G23, T26, Q28, T29, G30, V32, N37, W40, T48, C50, N54, L60, E65, K69, V84, S90, D114, E119, F120, T121, L122, L123, D132, V133, G142, S148, M149, V155, Y158, N161, T162, K166, G170, Q175, F182, I183, G191, I203, D214, I215, A224, T231, G234, I237, S248, G254, W263, G269, L282, T285, G298, Y303, N307, G308, T310, E317, L318, S322, N324, G340, S341, D345, S357, M360, V363, D369, A372, P382, S388, T389, P390, T399, S400, Q406, N413, F423, P425, I426, G427, T429, P432, G435, N436, P437, G439, N441, R442, T444, T445, T446, T447, R449, P450, A451, T452, T453, S456, S457, P458, G463, P464, S467, H459, C468, G470, G472, S474, P476, V478, C479, S481, G482, T484, V487, L488, N489, Y491, Y492, Q494, C495, L496. Preferiblemente, este polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos con una identidad de secuencia de al menos 54%, preferiblemente al menos 56%, más preferiblemente al menos 58%, de forma particularmente preferible al menos el 60%, tal como al menos el 62%, en particular al menos el 64%, tal como al menos el 66%, y más preferiblemente al menos el 68% con la SEQ ID NO: 5. Este polipéptido también se encuentra preferiblemente dentro de la realización como se ha definido anteriormente, en donde el polipéptido es estable a la temperatura, es decir, tiene un alto valor IT50, tal como se define anteriormente, por ejemplo 62°C o más, como se ha descrito anteriormente (para más realizaciones, véase anteriormente, en relación con la definición de variantes de la SEQ ID NO: 5). La persona experta reconocerá que la SEQ ID NO: 12 tiene aproximadamente el 68% de identidad con la SEQ ID NO: 5. Por lo tanto, un polipéptido derivado del polipéptido definido por la SEQ ID NO: 12, que se diferencia del polipéptido definido por la SEQ ID NO: 12, por ejemplo, por intercambio de un aminoácido por otro, como Q1A, por ejemplo, es un polipéptido que también tiene un grado significativo de identidad con la SEQ ID NO: 5, es decir, al menos el 66% o más, como se ha definido anteriormente. Así, la persona experta puede reconocer fácilmente el concepto inventivo común de esta invención, en particular al tomar en consideración la estabilidad a la temperatura de los polipéptidos de esta invención.

En una realización preferida, el polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos 85% con la SEQ ID NO: 12, en donde el polipéptido tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12 en donde uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos se modifican por la sustitución o delección: Q1, S2, P12, T15, S21, G23, T26, Q28, T29, G30, V32, N37, W40, T48, C50, N54, L60, E65, K69, V84, S90, D114, E119, F120, T121, L122, L123, D132, V133, G142, S148, M149, V155, Y158, N161, T162, K166, G170, Q175, F182, I183, G191, I203, D214, I215, A224, T231, G234, I237, S248, G254, W263, G269, L282, T285, G298, Y303, N307, G308, T310, E317, L318, S322, N324, G340, S341, D345, S357, M360, V363, D369, A372, P382, S388, T389, P390, T399, S400, Q406, N413, F423, P425, I426, G427, T429, P432, G435, N436, P437, G439, N441, R442, T444, T445, T446, T447, R449, P450, A451, T452, T453, S456, S457, P458, G463, P464, S467, H459, C468, G470, G472, S474, P476, V478, C479, S481, G482, T484, V487, L488, N489, Y491, Y492, Q494, C495, L496

	Intercambio con respecto a la SEQ ID NO: 12
1	Q1L
2	T15S
3	Q28R
4	W40R
5	C72V

	Intercambio con respecto a la SEQ ID NO: 12
6	V133I
7	V155A,E
8	Y158C
9	T162E
10	Y247F,H
11	N307D
12	G308N
13	E317V,N
14	S341M
15	D345R,K
16	Y370P,R,H,S,A
17	T389A
18	Q406G
19	N441D
20	R442S,G
21	T452A
22	S456L,P
23	P458L,del
24	G459D
25	H464L,Q,R
26	V478A,I

Otro aspecto de la invención se refiere a la aplicación de los polipéptidos aislados y sus variantes de la presente invención para la hidrólisis completa o parcial de material celulósico. El material celulósico puede ser de naturaleza natural, procesada o artificial. "Material celulósico" se definirá en el presente documento como todos los tipos de material puro, no puro, mixto, mezclado o compuesto de otro modo que contenga al menos una fracción de polímeros D-glucosilo ligados en β -1,4 de al menos 7 subunidades consecutivas. Los ejemplos prominentes de materiales celulósicos son todo tipo de materiales vegetales que contienen celulosa como madera (blanda y dura), paja, granos, hierba elefante, heno, hojas, algodón y materiales procesados desde allí o de corrientes residuales derivadas de tales procesos. El material celulósico utilizado en una reacción enzimática se conoce también en el presente documento como sustrato celulósico.

La hidrólisis del material celulósico puede ser un proceso secuencial después de la producción celobiohidrolasa o contemporáneo con la producción en célula de levadura (bioproceso consolidado). La expresión de enzimas celolíticas en levadura es de especial interés debido a la capacidad de muchas levaduras para fermentar los azúcares liberados (C6 o C5) a etanol u otros metabolitos de interés.

Otra realización de la divulgación se relaciona así con la aplicación de células enteras que expresan el polipéptido o variante del mismo según la presente invención para el procesamiento de materiales celulósicos.

En una realización particular, la presente invención divulga el uso de un polipéptido y variantes del mismo o la composición de la presente invención para la degradación enzimática de material celulósico, preferiblemente biomasa lignocelulósica, y/o para el procesamiento de textiles y/o como ingrediente en detergentes y/o como ingrediente en alimentos o composiciones de piensos.

5 Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación del plásmido de expresión de *Pichia pastoris*

Los plásmidos de expresión de la expresión constitutiva de proteína de las anfitrionas de *Pichia pastoris* transformadas se preparan mediante el montaje de una casete de expresión consistente en un promotor de la gliceraldehído fosfato deshidrogenasa (GAP) de *Pichia pastoris*, un SPα *Saccharomyces cerevisiae* (péptido de señal del factor alfa de apareamiento), un sitio de clonación múltiple (MCS) y la secuencia terminadora 3'-GAP. Para los fines de la selección se utiliza un gen de resistencia a la kanamicina bajo control del promotor del promotor EM7 o TEF para los fines de selección bacteriana o de levadura, respectivamente. Los vectores plásmidos resultantes se designan como pV1 (Figura 1) y pV2 (MCS alternativa). La transformación y la expresión del cultivo se hacen esencialmente como se describe por Waterham, H. R., Digan, M. E., Koutz, P. J., Lair, S. V., Cregg, J. M. (1997). Isolation of the *Pichia pastoris* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene and regulation and use of its promoter. *Gene*, 186, 37-44 y Cregg, J.M.: *Pichia* Protocols in Methods in Molecular Biology, Second Edition, Humana Press, Totowa Nueva Jersey 2007.

Ejemplo 2: Construcción de las construcciones de expresión de *Pichia pastoris* para secuencias CBHI

Genes CBHI de *Trichoderma viridis* (CBH-f), *Humicola grisea* (CBH-d), *Thermoascus aurantiacus* (CBH-e), *Talaromyces emersonii* (CBH-b), y fusiones del dominio de unión a celulosa de CBHI *Trichoderma reesei* con CBHI *Talaromyces emersonii* (CBH-a) o CBHI *Humicola grisea* (CBH-g) se amplifican utilizando pares de oligonucleótidos y los moldes (obtenidos por síntesis génica) como se indica en la Tabla 4. El gene de fusión que codifica la SEQ ID NO: 2 se genera mediante PCR de extensión de superposición utilizando los fragmentos de PCR generados a partir de las SEQ ID NO: 5 y 11. La ADN polimerasa Phusion (Finnzymes) se utiliza para la amplificación de la PCR.

25 Tabla 4: Cebadores y moldes para la amplificación de CBH-a, CBH-b, CBH-d, CBH-e, CBH-f y CBH-g

	Fragmento	Cebador directo	Cebador inverso	Molde
CBH-f	CBHI <i>Trichoderma viride</i>	GAGGCGGAAGCACCC TCTcaatctgcttgacactgca gtc	GGAGACGCAGAGCC Cttattacaggcactgcgagt agt	SEQ ID NO: 13
CBH-d	CBHI <i>Humicola grisea</i>	GAGGCGGAAGCACCC TCTcagcaggctggtactatt ctgc	GGAGACGCAGAGCC Cttacacgttcacggtagaac cgattgggc	SEQ ID NO: 7
CBH-e	CBHI <i>Thermoascus aurantiacus</i>	GAGGCGGAAGCACCC TCTcagcaggccggtaccgta accgc	GGAGACGCAGAGCC CTTAttagtggcggtgaag gtcgagt	SEQ ID NO: 9
CBH-b	CBHI <i>Talaromyces emersonii</i>	GAGGCGGAAGCACCC TCTcagcaggccggcacggc gacggc	GGAGACGCAGAGCC CTTAtcacgaagcggtaga ggtcgagt	SEQ ID NO: 5
CBH-a parte 1	Fragmento de fusión a CBH <i>Talaromyces emersonii</i> parte 1	GAGGCGGAAGCACCC TCTcagcaggccggcacggc gacggc	ATTACCTGTGCTACC gatcggaccaaacttaattg g	SEQ ID NO: 5

	Fragmento	Cebador directo	Cebador inverso	Molde
CBH-a parte 2	fragmento de fusión del dominio de unión a CBHI de <i>Trichoderma reesei</i> parte 2	AAGTTTGGTCCGATCg gtagcacaggtaatccttcagg	GGAGACGCAGAGCC CTTATTAtagacactgtga gtagtaagggt	SEQ ID NO: 11
CBH-a	Proteína de fusión a CBHI <i>Talaromyces emersonii</i>	GAGGCGGAAGCACCC TCTcagcaggccggcagggc gacggc	GGAGACGCAGAGCC CTTAtcattaatgggtggtggt gatgatgag	5a+5b SEQ ID NO: 2
CBH-g parte 1	Fragmento de fusión a CBHI de <i>Humicola grisea</i> parte 1	aggcggaagcatgctgcagc aggctggtacaattactgc	ggattacctgtaagcttccaat tggtccgaatctgatgtt	SEQ ID NO: 19
CBH-g parte 2	Fragmento de fusión del dominio de unión a CBHI de <i>Trichoderma reesei</i> parte 2	accaattggaagcttaacaggta atccttcaggiggtaatcc	atcttcaggctgacttatcatt aatgatgatgatgatggtgtgc a	SEQ ID NO: 11
CBH-g	Proteína de fusión <i>Humicola grisea</i>	aggcggaagcatgctgcagc aggctggtacaattactgc	atcttcaggctgacttatcatt aatgatgatgatgatggtgtgc a	6a+6b SEQ ID NO: 15

Los fragmentos de la PCR de longitud prevista son purificados en geles de agarosa después de la electroforesis mediante el kit de PCR SV Promega® y de purificación en gel. La concentración de los fragmentos de ADN se mide en un espectrofotómetro y 0,2 pmol de fragmentos se tratan con 9U de la T4-ADN polimerasa en presencia de 2,5 mM dATP durante 37,5 min a 22,5°C y los fragmentos tratados son apareados con la T4-ADN-polimerasa/ADN del plásmido pV1 linealizado *SmaI* tratado con dTTP y se transforman luego en células Top10 de *Escherichia coli* químicamente competentes. Desviado del procedimiento descrito, el producto generado por el par de cebadores según el carril 11 de la tabla que codifica los fragmentos de la proteína de fusión *Humicola grisea* se clonan a través del sitio *SphI* y *SalI* introducido con pV2. Los transformantes son controlados por la secuenciación del AND plásmido aislado.

Ejemplo 3: Expresión de genes CBHI en *Pichia pastoris*

Los plásmidos del Ejemplo 2 se transforman en células CBS 7435 de *Pichia pastoris* electrocompetentes y transformantes se utilizan para inocular cultivos en medio YPD que contiene 200 mg/l, que se incuban durante 5 días a 27°C en un agitador rotativo a 250 rpm. Los sobrenadantes del cultivo se separaron por centrifugación a 5000 x g durante 30 minutos en una centrifuga Sorvall Avant. Los sobrenadantes se concentraron en columnas de centrifugación con un tamaño de corte de 10 kDa. Los patrones de las proteínas de tales sobrenadantes concentrados se analizaron por SDS-PAGE (Laemmli y col.) y los geles se tiñeron con tinte azul Coomassie coloidal. La actividad enzimática se determinó mediante incubación del sobrenadante con soluciones 2 mM de p-nitrofenil-β-D-lactósido o soluciones 200 μM de 4-metil-umbeliferil-β-D-lactósido en tampón de acetato sódico 50 mM (pH 5) durante 1 hora. La reacción se detuvo por adición de volúmenes iguales de solución de carbonato sódico 1 M y determinación del p-nitrofenol o de la 4-metil-umbeliferona liberados por medición de la absorbancia a 405 nm o la fluorescencia a 360 nm/450 nm de excitación/emisión.

Ejemplo 4: Integración del genoma y expresión de la secuencia de fusión de CBHI *Talaromyces emersonii*-CBHI *T. reesei*-CBD en *Pichia pastoris*

Tabla 5

	Fragmento	Cebador directo	Cebador inverso	Molde
	Fragmento de fusión CBH de <i>Talaromyces emersonii</i> parte 1	GAGGCGGAAGCACCCCTCTc agcaggccggcagggcgacggc	ATTACCTGTGCTACCG atcggaacaaactaatgttcg	SEQ ID NO: 5
	Fragmento de fusión del dominio de unión CBHI <i>Trichoderma reesei</i> con etiqueta 6x His parte 2	AAGTTTGGTCCGATCggtagc acaggtaatccttcagg	GGAGACGCAGAGCC .Cttatcattaatggtggtggtgat gatgag	SEQ ID NO: 11
	Proteína de fusión CBHI de <i>Talaromyces emersonii</i> con etiqueta 6x His parte 2	GAGGCGGAAGCACCCCTCTc agcaggccggcagggcgacggc	GGAGACGCAGAGCC .Cttatcattaatggtggtggtgat gatgag	OE 1a+1b: SEQ ID NO: 17

Los fragmentos de ADN del gen de fusión son generados por la PCR de extensión de la superposición de 2 etapas utilizando los pares de oligonucleótidos y moldes sintéticos como se indica en la Tabla 4 (del Ejemplo 2). El fragmento de longitud completa tratado con T4-ADN polimerasa se apareó con el fragmento del pV3 lineal disminuyendo lentamente la temperatura de 75°C a 4°C. El plásmido pV3 contiene una fusión del péptido de señal del factor alfa de apareamiento con un sitio de clonación múltiple, situado aguas abajo de un promotor AOXI de *Pichia pastoris*. La transformación de la solución de apareamiento en células de *E. coli* químicamente competentes produce transformantes, que son seleccionados por su resistencia a Teocine verificada por contener plásmido de construcción esperada mediante análisis de restricción y secuenciación. Las preparaciones de plásmido pV3-CBH-a son linealizadas con SacI y aproximadamente 1 µg de fragmentos lineales de DNA se transforman en células electrocompetentes de *Pichia pastoris*. Después, se comprueban 94 transformantes de placas YPD-Zeocin para expresión por cultivo en 500 µl de cultivos en placa de 96 pocillos profundos en medio BMMY que contiene 1% de metanol y 0,5% de metanol se alimentó cada 24 h durante 5 días (350 rpm/27°C; agitador orbital humidificado con 2,5 cm de amplitud. Los sobrenadantes se ensayan en cuanto a la actividad en 4-MUL y los clones con los niveles de expresión más altos se seleccionan y de nuevo se evalúan en las mismas condiciones.

Para la fermentación en un biorreactor Multifors de Infors se selecciona la cepa que produce la más alta concentración de enzima. Un pre-cultivo de YPD-Zeocin (100 g/l) se escoge para la inoculación de medio Mineral que consiste en tampón fosfato, sulfato y cloruro de magnesio, elementos traza/biotina y glicerol, con calibración del pH utilizando amoníaco y ácido fosfórico. Después del metabolismo de glicerol por lotes se mantuvo alimentación de glicerol adicional (2%) durante 1 día antes de que la alimentación sea cambiada a metanol para cambiar a condiciones inductivas para el promotor AOXI. En estas condiciones, la fermentación se mantiene durante 5 días. Las células son separadas del líquido de fermentación por centrifugación a 5000 × g durante 30 minutos. Los sobrenadantes se analizan en cuanto a proteína total utilizando reactivo Bradford y estándares BSA (Biorad). SDS-PAGE/Tinción con azul brillante Coomassie se utiliza para analizar el patrón de la proteína en SDS-PAGE.

Ejemplo 5: Construcción de vector de expresión *Trichoderma reesei*

ADN del plásmido pSCMB100 digerido con SbfI/SwaI se transformó en SCF41 de *Trichoderma reesei* esencialmente según lo descrito por Penttilä y col. 1997. Se utilizaron 10 µg de ADN lineal para la transformación de 10⁷ protoplastos. La selección de transformantes se realizó por crecimiento de protoplastos en placas con medio Andreotti de Mandel con agar de recubrimiento, que contiene higromicina como agente selectivo (100 mg/l). Los transformantes se purificaron además por el paso sobre placas de medio de esporulación y re-selección de esporas en medio de higromicina. A partir de micelios reproducidos, se aisló ADN genómico y el episodio de sustitución se verificó por PCR. Los transformantes verificados de ser verdaderas cepas de sustitución se ensayaron además en cuanto a la secreción de proteína recombinante.

Ejemplo 6: Expresión de fusión de (CBH-ah) con la fusión de CBHI *Talaromyces emersonii*/CBD *Trichoderma reesei* con etiqueta 6x His de *Trichoderma reesei*

Expresión de cepas de sustitución de CBHI recombinante de la fusión de CBHI *Talaromyces emersonii*/CBD *Trichoderma reesei* con etiqueta 6x His en Q6A *Trichoderma reesei* (ATCC 13631) se realizó en cultivos de matraz agitado que contienen 40 ml de medio Mineral que contiene 2% de Avicel en matraces de 300 ml y cultivo a 30°C/250 rpm durante 6 días. Los sobrenadantes se recuperaron por centrifugación y se analizaron además por ensayos en SDS-PAGE y proteína de Bradford.

Ejemplo 7: Cribado de variantes de termoestabilidad

Las bibliotecas de mutagénesis al azar del gen de la fusión (con etiqueta 6x His) de CBHI *Talaromyces emersonii*/CBD *Trichoderma reesei* se generaron utilizando PCR propensa a errores aplicando tampones que contienen manganeso y concentraciones de dNTP no equilibradas en la mezcla de reacción de la ADN polimerasa Taq, usada para la amplificación por PCR, esencialmente según lo descrito por Craig y Joyce (R. Craig Cadwell y G.F. Joyce, 1995. Mutagenic PCR, in PCR Primer: a laboratory manual, ed. C. W. Dieffenbach y G. S. Dveksler, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, ME, 583-589). Como molde se escogieron el gen de fusión de tipo salvaje (SEQ ID NO: 17) o los mutantes del mismo. Los fragmentos de la PCR mutados se clonaron al plásmido pPKGMe utilizando endonucleasas *SphI* y *HindIII* y T4-ADN-ligasa.

Las bibliotecas de variantes del gen de fusión CBHI *Talaromyces emersonii*/CBD *Trichoderma reesei* (con etiqueta 6x His) se distribuyeron en placas de 1536 pocillos con el número de ocupación de pocillos cerca de 1. La enzima se expresó durante 7 días en un volumen de 4 µl de medio YPG-G418. Para la evaluación de las propiedades de las variantes se transfirieron muestras de 2 µl de sobrenadantes de cultivo a placas que contenían una suspensión de paja molida, tampón de acetato y beta-glucosidasa. Después de la incubación de las placas de reacción selladas durante 48 horas a temperaturas definidas, la concentración de glucosa se determinó utilizando Amplex rojo en presencia de GOX y HRP analizando el nivel de fluorescencia. Los resultados de mejor desempeño se volvieron a cultivar y a evaluar. Los plásmidos de las variantes CBH-ah confirmadas se recuperaron (Kit de ADN genómico de levadura ADNzol de Pierce) y se secuenciaron utilizando oligonucleótidos alfa-f (5'-TACTATTGCCAGCATTGCTGC-3') y oli740 (5'-TCAGCTATTTACATACAAATCG-3').

Ejemplo 8: Determinación de la capacidad de transformación del sustrato a diferentes temperaturas por indicación de la termoestabilidad de variantes CBH-ah utilizando 4-metilumbeliferil-β-D-lactósido (4-MUL)

Para la comparación exacta de la termoestabilidad, los sobrenadantes del cultivo que contienen las variantes celobiohidrolasa secretadas se diluyeron diez veces en el tampón de acetato de sodio (50 mM, pH 5) y muestras de 10 µl se incubaron con 90 µl de 4-MUL (en tampón) 200 µM en el gradiente de temperatura de un termociclador Eppendorff de gradiente. Un gradiente de temperatura de 20°C que alcanzaba de 55°C a 75°C se aplicó a 12 mezclas de reacción para cada muestra durante una hora. El perfil de temperatura se podía registrar después de la adición de 100 µl de solución de carbonato de sodio 1 M a cada reacción y medición de la intensidad de la fluorescencia a 360 nm/454 nm en un lector de placa M200 Infinite de Tecan. Para la comparación de la termoestabilidad, los valores se normalizaron entre 1 y 0 para el conteo máximo y mínimo de la fluorescencia (Figura 7).

Tabla 6: Lista de mutantes de la SEQ ID NO: 18 con valores de IT50 mejorados.

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
1	wt	60,4 ± 0,6
2	R446G	60,6
3	Q1L, G4C, Q28R, A72C, S86T, E183M, D202V, S311N, D320N, T335I, D346E, Q349R, P442S, N445D, R446G, H468Q	60,7
4	D346G, R453G	60,9
5	Y496F	60,9
6	T335I, D346A, T393A, D410G	61
7	T243I, T325A, V482A	61
8	N194R, T243R, Y374D, A375D	61,1
9	Q1L, G4C, Q28R, W40R, E65V, A72C, S86T, E183K, S192I, D202I, H203R, F260C, S311N, D320N, T335I, D346G, Q349K, T392M, P442S, R446G, H468L, V482A	61,1
10	E65K	61,1
11	T48A	61,2

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
12	G4C, A72C, T344M	61,2
13	T243R, A375D	61,3
14	W40R, K159E, N445D	61,3
15	T344M	61,3
16	W40R, M234K	61,3
17	Q349R, T393A, P436S, N445D	61,4
18	Q349R, A354T, D373E, N445D	61,4
19	G4C, W40R, A72C, T344M	61,4
20	G4C, A72C, N194L, T243Y, Q349R, Y374R, A375L	61,5
21	G4C, D64N, A72C, Q349K	61,5
22	Q349R, N445D	61,5 ± 0,1
23	W40R, T344M	61,5
24	W40R, D346A, T393A	61,6
25	N158D, G486S, Y495C	61,6
26	D320E	61,6
27	A72V	61,6
28	E183V	61,6
29	W40R, C489R	61,7
30	A72V, T335I, D346A, T393A, N445D	61,7
31	G4C, W40R, A72C, V313I, Q349R	61,8
32	W40R, Q349K	61,9
33	Q1L, G4C, T26N, A72C, D181N, E183K, Q349R	61,9
34	G4C, A72C, Q349K, E65V, Q349R	61,9
35	S311N	62
36	D320V, D346A, Q349R, T393A, N445D	62,1
37	T335I	62,2
38	A72V, D346A	62,2
39	D320V, D346A, T393A, N445D	62,2
40	G4C, A72C, N194S, T243W, Q349R, Y374S, A375G	62,3

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
41	E65V, Q349R	62,3
42	Q1L, G4C, A72C, F179I, D181N, E183K, L290H, S301C, Q349R, Q361R, D390G, G474S, Q498K	62,3
43	A72V, T335I, D346A, N445D	62,3
44	G4C, A72C, N194L, T243Q, Q349R, Y374P, A375V	62,3
45	Q1L, G4C, G23D, A72C, D111E, 1116V, K118A, D181N, E183K, V212L, Q349R, Q362G	62,3
46	G4C, A72C, D346G	62,3
47	W40R, T344M, Q349K	62,3
48	G4C, Y163C	62,4
49	G4C, V32G, N49S, A72C, S193L, Q349R	62,4
50	A72V, Q349R, N445D	62,4 ± 0,4
51	G4C, A72C, D346G, Q349R	62,5 ± 0,1
52	Q1L, G4C, A72C, D181N, N, E183K, I321N, Q349R	62,6
53	W40R, D320V, Q349K, P436S, N445D	62,7
54	G4C, A72C, D181N, Q349R	62,7
55	G4C, A72C, Q349K	62,7
56	G4C, A72C, T344M, Q349K	62,8
57	G4C, A72C, T344M, D346G, Q349R	62,8 ± 0,2
58	G4C, A72C, D320V, Q349K	62,8
59	G4C, A72C, P224L, F306Y, Q349R	62,9
60	G4C, A72C	62,9 ± 0,6
61	A72V, D346A, T393A	63
62	G4C, A72C, Q349R, R446S, T456A	63
63	G4C, W40R, A72C, T344M, Q349K	63
64	A72V, D320V, D346A	63,1
65	G4C, A72C, N194Y, T243L, Q349R, Y374S, A375R	63,1
66	G4C, A72C, Q349K, T448A, T449A	63,2
67	G4C, E65V, A72C, Y244H, Q349R	63,3
68	G4C, A72C, D202G, D320N, Q349R, A358E	63,4

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
69	G4C, A72C, D320V, Q349R	63,4
70	G4C, A72C, Q349K, S86T	63,4
71	A72V, T335I, D346A, T393A, P436S	63,4
72	G4C, A72C, E183V, K304R, Q349K	63,5
73	G4C, A72C, T243G, Q349R, Y374P, A375M	63,5
74	G4C, A72C, Q349R, T465I	63,6
75	G4C, A72C, Q349R	63,6 ± 0,5
76	G4C, A72C, N194V, T243M, Q349R, Y374A, A375T	63,6
77	G4C, D64N, A72C, Q349R, A358E, P464Q	63,6
78	G4C, A72C, Q349K, Q28R, S193T, Q490L	63,6
79	G4C, A72C, E183K, Q349K	63,6
80	G4C, A72C, S311N, Q349K, A455T	63,6
81	G4C, A72C, N194K, Q349R, Y374P, A375Q	63,6
82	G4C, A72C, D181N, Q349K	63,6
83	W40R, D320V, Q349K, T393A, N445D	63,7
84	W40R, T335I, D346A, T393A	63,7
85	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, N327Y, Q349R	63,7
86	A72C, L119L, T335I, Q349R, G486D	63,7
87	G4C, A72C, N194K, T243P, Q349R, Y374H, A375E	63,7
88	G4C, A72V, Q349R, P462del	63,8
89	G4C, A72C, S236Y, Q349R	63,8
90	G4C, A72C, S311G, Q349K	63,8
91	A72V, D320V, T335I, D346A, T393A, N445D	63,8
92	G4C, A72C, S86T, M234V, Q349K	63,8
93	Inserción en las posiciones K159 (CGRNK) y T457 (AAATT), Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	63,9
94	G4C, A72C, G251R, Q349R	63,9
95	G4C, A72C, Q349K, D320V	63,9 ± 0,7
96	A72V, T335I, D346A, T393A	63,9

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
97	G4C, A72C, E183K, Q349R	63,9
98	Q1L, G4C, A72C, H203R, Q349K, P442S	63,9
99	G4C, A72C, Q349K, G434S, G470D	64
100	G4C, W40R, A72C, Q349K	64
101	G4C, A72C, Q349R, V367A	64
102	Q1L, G4C, A6V, C50S, A72C, I180N, D181N, E183K, Q349R, T457P, C472R, C499G	64
103	G4C, A72C, S311G, D320V, Q349K	64
104	W40R, T335I, D346A, T393A, P436S	64
105	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T243S, Q349R, P386S	64,1
106	A72V, D346A, T393A, N445D	64,1
107	Q1L, G4C, A72C, K154R, Q349K, T393I	64,1
108	G4C, A72C, N194G, T243F, Q349R, Y374P, A375R	64,1
109	A72V, D320V, D346A, T393A, N445D	64,1
110	A72C, L119L, Q172Q, Q349K, T488I	64,1
111	G4C, A72C, E183V, Q349K	64,1
112	G4C, A72C, E183K, N318Y, Q349K	64,1
113	W40R, A221V, T449A, C483R	64,1
114	G4C, A72C, K92R, Q349K, N493D	64,1
115	M234I, G438del	64,2
116	Q1L, G4C, A72C, S90T, D181N, E183K, Q349R	64,2
117	G4C, A72C, Q349R, G459D	64,2
118	G4C, A72C, Q349R, Y422F	64,2
119	G4C, T48A, A72C, Q349R, P480S	64,2
120	E187K, D320V, P442del	64,2
121	G4C, S24N, E65K, A72C, Q349R, I430L, G439D	64,2
122	A72V, D320V, T335I, D346A, T393A, P436S	64,3
123	Q1L, G4C, A72C, S193P, Q349K, V482I	64,3
124	G4C, A72C, D320V, Q349K, G443D, L492Q	64,3
125	Q1L, G4C, A72C, DV152-K159, D181N, E183K, Q349R	64,4

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
126	Q1L, G4C, A72C, Q349K	64,4 ± 0,5
127	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, M234L, V313I, Q349R, H468R	64,4
128	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, I200N, Q349R	64,4
129	G4C, A72C, N194K, T243Y, Q349R, A375N	64,4
130	Q1L, G4C, Q28R, A72C, Q349K, H468L	64,5
131	G4C, E65V, A72C, Q349R	64,5
132	D320V, Q349K	64,5
133	Q1L, G4C, A72C, S311G, Q349K, H468R	64,5
134	G4C, A72C, T243Q, Q349R, Y374P, A375M	64,5
135	Q1L, G4C, A72C, D320V, Q349R	64,5
136	Q1L, G4C, T15S, A72C, Y244F, Q349K	64,5
137	G4C, A72C, E183K, D346E, Q349R	64,6
138	T243C, A375C	64,6
139	Q1L, G4C, A72C, Q349K, T392M	64,6
140	G4C, A72C, D202N, S311N, Q349R, N493D	64,6
141	G4C, A72C, N194D, T243A, Q349R, Y374P, A375Y	64,6
142	G4C, A72C, N194Y, T243V, Q349R, Y374P	64,7
143	Q1L, G4C, A72C, Q349R	64,7
144	G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D202N, H203R, S311N, D320I, A340G, D346A, Q349K, T393A, Y422F, P442S, R446S, H468L, V482A	64,7
145	G4C, A72C, D202N, Q349R	64,7
146	G4C, A72C, P224L, Q349R	64,7
147	N194C, Y374C	64,7
148	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T229M, A340T, Q349R, V491I	64,7
149	Q1L, G4C, A72C, D181N, Q349R	64,8
150	G4C, A72C, D320V, D346V, Q349K	64,8
151	Q1L, G4C, A72C, V152A, Q349K	64,8
152	Q1L, G4C, Q28R, A72C, Q349K	64,8
153	Q1L, G4C, A72C, Q349K, Y422F	64,8
154	G4C, A72C, D202V, D320V, Q349K	64,8

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
155	Q1L, G4C, A72C, Y155S, D181N, E183K, Q349R	64,8
156	Q1L, G4C, A72C, D181N, D247N, Q349K	64,8
157	Q1L, G4C, A68T, A72C, Q349K, G439D, R453S	64,9
158	Q1L, G4C, A72C, Q349K, H468R	64,9
159	Q1L, G4C, D64N, A72C, Q349K	64,9
160	G4C, A72C, E183K, Q349R, P464L	64,9
161	G4C, A72C, D181N, P224L, Q349K	65 ± 0,6
162	G4C, A72C, N194I, T243Y, Q349R, Y374P, A375R	65
163	Q1L, G4C, A72C, Q349K, P462L	65
164	Q1L, G4C, A72C, E183K, Q349R	65
165	G4C, A72C, S311G, Q349R	65
166	Q1L, G4C, A72C, S311N, Q349K, G463D	65,1
167	Q1L, G4C, A72C, S86T, Q349R	65,1
168	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, G231D, Q349R	65,1
169	Q1L, G4C, A72C, S89N, D181N, E183K, Q349R	65,2
170	Q1L, G4C, E65K, A72C, Q349K	65,2
171	Q1L, Q2P, G4C, W40R, E65M, A72C, S86T, S192L, D202N, H203R, S311D, D320I, T335I, D346G, Q349K, T392M, Y422F, R446G	65,2
172	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	65,2
173	G4C, A72C, E183K, D202Y, N310D, Q349R	65,3 ± 0,7
174	G4C, A72C, N194I, T243D, Q349R, Y374P, A375Y	65,3
175	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, T456I	65,3
176	G4C, Q28R, A72C, S86T, E183K, P224L, S311N, N318Y, T335I, D346G, Q349R, T393I, P441A, P442S, R446G, H468L, V482I	65,3
177	Q1L, G4C, A72C, D181N, Q349K, T451S	65,3 ± 0,1
178	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T243I, N246D, Q349R, T488I	65,4
179	Q1L, G4C, G23N, A72C, D110G, I116V, L119I, D181N, E183K, D211G, D293R, N3100, Q349R, Q362R, G363P, M364S	65,4
180	G439V, N440E, P441S, P442Q	65,4
181	G431D, S431V, T433E, G434S, N435Q	65,5

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
182	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	65,6
183	G4C, A72C, N194C, Y374C	65,6
184	Q1L, G4C, A72C, S86T, D181N, E183K, Q349R, T393S	65,6
185	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, S485T	65,7
186	Q1L, G4C, G23N, A72C, V84A, D110G, D111H, I116E, F117Y, K118A K118A, D181N, E183K, D293R, T295S, Q349R, M364L	65,7
187	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, R453K	65,8
188	Q1L, G4C, A72C, A145T, H203R, Q349K, T403K	65,8
189	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, N445S	65,8
190	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, M234I, Q349R	65,8
191	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, T465S	65,9
192	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T297N, Q349R	66
193	Q1L, G4C, A72C, S311G, Q349K	66
194	G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, E183K, S192I, H203R, S311N, D346E, Q349K, T392M, T393A, Y422F, N445D, R446S	66
195	Q1L, G4C, A72C, D202N, Q349K, G486D	66
196	Q1L, G4C, A72C, S99T, D181N, E183K, Q349R, T450I	66
197	Q1L, G4C, A72C, I200F, Q349K, L500I	66
198	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, G434S	66
199	Q1L, G4C, A31S, A72C, D181N, E183K, Q349R	66
200	Q1L, G4C, Q28L, A72C, D181N, E183K, Q349R	66
201	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, P436S	66,1
202	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, T233S, Q349R	66,1
203	Q1L, G4C, A72C, D202N, Q349K	66,1 ± 0,1
204	Q1L, G4C, A68T, A72C, Q349K	66,1
205	Q1L, G4C, A21T, A72C, D181N, E183K, Q349R, P454S	66,1 ± 0,1
206	Q1L, G4C, A72C, D346V, Q349K	66,2
207	Q1L, G4C, Y47F, A72C, D181N, E183K, Q349R, P436S, S461R	66,2
208	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, M234T, Q349R	66,3
209	Q1L, G4C, A72C, N157S, D181N, E183K, Q349R	66,3

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
210	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R	66,3 ± 0,4
211	Como 1-72 de T. reesei, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	66,3
212	G4C, A72C, N194Q, T243V, Q349R, Y374P, A375Y	66,3
213	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, I314F, Q349R, N445D	66,3
214	Q1L, G4C, A72C, Q349K, T392K	66,3
215	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K; Q349R, T451A	66,4
216	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, M234V, Q349R	66,4
217	Q1L, G4C, A21S, A72C, D181N, E183K, Q349R	66,5
218	A21C, P429C	66,5 ± 0,4
219	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, N493D	66,5
220	Q1L, G4C, A72C, S311N, Q349K	66,5
221	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183V, D228N, S311N, N318Y, D346E, Q349R, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T	66,5
222	G4C, A72C, N194C, Q349R, Y374C	66,5
223	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, A455V	66,5 ± 0,3
224	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, T400S	66,6
225	Q1L, G4C, T26I, A72C, D181N, E183K, Q349R	66,6 ± 0
226	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, N310D, Q349R, T392S, G463D	66,7
227	Q1L, G4C, A72C, D129N, D181N, E183K, Q190L, G266S, I276V, Q349R, P386L, F427Y	66,7 ± 0,2
228	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, D202N, Q349R	66,7
229	Q1L, G4C, A72C, Y155C, D181N, E183K, Q349R	66,8
230	Inserción en la posición P454 (ATAAA), Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	66,8
231	Inserción en la posición K159 (CGRNK), Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	66,8
232	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, N246K, Q349R	67 ± 0,6
233	G4C, W40R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, D202I, H203R, S311D, D320N, D346V, Q349R, T392M, T393A, Y422F, P442S, H468Q, V482A	67 ± 0,5
234	Q1L, G4C, A72C, Y155C, Q349K	67 ± 0,4

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
235	Q1L, G4C, A68T, A72C, D181N, E183K, Q349R	67 ± 0,3
236	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, Y47F, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, P224L, T229M, G231D, M234T, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T448A, R453G, H468L, P480S, V482I	67,3
237	Q1L, G4C, W40R, E65M, A72C, S86T, S192L, D202N, H203R, S311D, D320I, T335I, D346G, Q349K, T392M, Y422F, R446G	67,3
238	Q1L, G4C, A72C, S86T, D181N, E183K, D320V, Q349R	67,3 ± 0,4
239	G4C, Q28K, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320N, D346A, Q349R, T392M, T393I, P442S, H468L, V482I	67,4
240	Q1L, Q2P, G4C, Q28R, W40R, E65K, A72C, D181N, S192L, D202I, H203R, P224L, S311G, D320I, D343A, D346A, Q349K, P442S, N445D, R446G, V482A	67,4
241	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, D202I, P224L, D320N, D346V, Q349K, T392M, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T	67,4
242	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, E183K, D202V, S311G, N318Y, D320I, D346G, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446S, H468Q, V482T	67,4
243	Q1L, G4C, W40R, E65M, A72C, D181N, E183K, S192P, D202N, P224L, S311D, N318Y, D320V, D346G, Q349K, T392M, N445D, R446G, H468L, V482T	67,4
244	Q1L, G4C, E65V, A72C, D181N, E183K, P224L, S311G, D320N, D346G, Q349R, T392M, T393I, R446G, H468L, V482I	67,6
245	Inserción en la posición G151 (CGRSG), Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	67,6
246	Q1L, G4C, E65M, A72C, D181N, E183M, D202Y, P224L, S311D, N318Y, D320I, T335I, D346A, Q349K, T392M, T393I, N445D, R446G, T448A, H468Q, V482A	67,6
247	Q1L, G4C, G23A, A72C, D110S, D111H, I116V, F117Y, K118A, L120M, D181N, E183K, D293H, G294A, N310E, Q349R, Q362G, M364S	67,6
248	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R, T421I, G439D	67,7
249	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, V152A, D181N, E183V, S192L, D202N, S311N, D320N, D346E, Q349R, T387A, T392M, T393I, Y422F, P442S, R446S, H468L, G476D, V482I	67,7 ± 0,3
250	Q1L, G4C, W40R, E65V, A72C, S86T, E183V, G188C, S192T, D202Y, H203R, P224L, S311N, D320V, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	67,7
251	Q1L, G4C, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, T335I, D346G, Q349K, T392M, T393A, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482A	67,7
252	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311Q, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, P480S, V482I	67,8
253	Q1L, G4C, W40R, E65K, A72C, S86T, E183K, S192L, D202Y, P224L, D320I, D346E, Q349R, P442S, R446G, H468R, V482T	67,9 ± 0,4

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
254	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, R453G, H468Q, P480S, Y482I	67,9
255	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	68
256	Inserción en la posición P464 (THAAA), Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68
257	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68
258	Q1L, G4C, T7Q, A8S, N10T, S24T, T27Q, Q28R, N29T, V41T, G46S, Y47S, T52D, D57S, D64N, E65V, Q69K, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	68
259	Inserción en las posiciones K159 (CGRNK) y T457 (AAATT), Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,1 ± 1,9
260	Q1L, G4C, Q28K, W40R, E65V, A72C, D181N, E183V, S192P, D202V, H203R, S311G, D320N, D346E, Q349K, T392M, T393A, Y422F, V482I	68,1
261	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, G139S, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,1
262	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I	68,2
263	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, S311N, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	68,2 ± 0,7
264	Q1L, G4C, W40R, A72C, S192L, D202N, H203R, P224L, S311N, D320I, T335I, D346V, Q349R, T393I, N445D, R446G, H468Q, V482T	68,2 ± 0
265	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, E183M, D202N, P224L, T229S, S311G, D320I, T335I, D346V, Q349R, T393V, H468Q, V482A	68,2
266	Q1L, G4C, Q28R, G30A, E65M, A72C, D181N, D202N, P224L, S311D, N318Y, D346E, Q349K, T392M, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446S	68,2
267	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S68T, E183M, S311N, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T	68,2
268	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, D202N, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,3
269	T243C, A375C, N194C, Y374C	68,3
270	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, E183M, S311G, D346V, Q349R, T392M, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, S478Y, V482I	68,3
271	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,3
272	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, D202N, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	68,4

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
273	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, E183K, D202N, P224L, S311G, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T	68,4
274	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, L120P, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,4
275	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, E183M, S311N, N318H, D320V, D346V, Q349K, T392M, T393A, R446S, H468L, V482I	68,4
276	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D202N, H203R, S311G, T335I, D346V, Q349K, T393A, P442S, R446G, H468L, V482I	68,4
277	M146C, G167C	68,5
278	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,5
279	G1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, D202N, H203R, P224L, S311D, D346G, Q349K, P442S, R446S, H468Q, V482T	68,5
280	G1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D181N, E183M, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T	68,5
281	Q1L, G4C, T27S, Q28R, E65V, Q69R, A72C, L120P, D181N, E183M, D202N, D247N, S311G, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, Y422F, N445D, R446G, T451S, G463V, H468Q, V482T, S485T	68,5
282	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183V, S192T, D202N, S311G, D320V, D346A, Q349K, P442S, N445D, R446G, H468R, V482A	68,6 ± 0,6
283	Q1L, G4C, W40R, E65V, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, D320V, D346E, Q349R, T393I, P442S, R446G, H468R, V482I	68,6
284	Q1L, G4C, Q28N, E65K, A72C, D181N, E183M, D202N, H203R, S311G, N318Y, D320N, Q349R, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,6
285	Q1L, G4C, Q28R, V41T, G46S, Y47S, T52D, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	68,6
286	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,6
287	Q1L, G4C, Q28R, W40R, A72C, S86T, D181N, S192T, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346E, Q349K, T392M, T393I, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I	68,6 ± 1
288	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, Q190K, D202N, P224L, T229M, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, R453G, H468Q, V482I	68,6
289	Q1L, G4C, Q28K, W40R, A72C, S86T, D181N, E183M, S192I, D202Y, T299S, S311N, N318Y, D320I, D346V, Q349R, T393I, P442S, H468L	68,6 ± 0,4
290	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, T229M, G231D, M234T, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,6

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
291	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, E183M, Q190K, P224L, T229M, G231D, M234T, S311G, D320I, A340S, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T448A, R453G, H468L, P480S, V482I	68,7
292	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, G463V, H468L, V482I	68,7
293	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, P224L, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,7
294	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T	68,7
295	Q1L, G4C, Q28R, W40R, E65V, A72C, S86T, S192T, D202V, H203R, S311N, N318Y, D346A, Q349K, T392M, T393A, Y422F, P442S, N445D, V482A	68,7
296	Inserción en las posiciones K159 (CGRNK), G434 (AAATG) y T457 (AAATT), Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,7 ± 1,1
297	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, H203R, P224L, S311G, D320V, D346G, Q349K, T392M, T393I, P442S, N445D, R446G, H468L, V482A	68,7 ± 0
298	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,8
299	, ,	68,8 ± 0,2
300	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183K, D202I, P224L, S311G, D320I, Q349K, T393V, P442S, N445D, R446S, H468L, V482I	68,8
301	Q1L, G4C, Q28K, A72C, S86T, D181N, E183V, S192T, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346G, Q349R, T392M, Y422F, P442S, N445D, R446S, H468L, V482A	68,8
302	G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D181N, E183M, S192L, D202N, H203R, P224L, S311D, D346E, Q349R, T392M, T393A, Y422F, P442S, N445D, R446G, P462L, H468L, V482T	68,8
303	Q1L, G4C, W40R, E65K, A72C, Q109R, D181N, E183M, S192I, D202I, H203R, S245T, D346A, Q349R, T393A, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468R, V482A	68,8 ± 0,2
304	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, D181N, D202N, S311N, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I	68,9
305	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, Q69R, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349R, T393V, N417Y, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,9
306	Q1L, G4C, Q28R, W40R, E65V, A72C, D202Y, H203R, P224L, T299I, N318Y, D320V, D346A, Q349K, T392M, T393A, P442S, N445D, R446G, H468R, V482T	68,9
307	G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346G, Q349K, T392M, Y422F, R446G, H468Q	68,9
308	Q1L, G4C, Q28K, A72C, S86T, E183K, S311G, D320V, D346A, Q349R, T392M, T393I, Y422F, P442S, R446S, H468Q	68,9

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
309	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D1 81N, P224L, S311N, D320N, T335I, D346E, Q349K, T392M, Y422F, N445D, R446S, H468L, V482T	68,9
310	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, D202N, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	68,9
311	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I	68,9
312	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,9
313	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69
314	Q1L, G4C, W40R, E65V, A72C, S86T, D181N, S192T, D202N, H203R, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346G, Q349K, T392M, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q	69 ± 0,3
315	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T	69
316	Q1L, G4C, T7Q, A8S, N10T, Q28R, D57S, D64N, E65V, Q69K, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69
317	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, D346A, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T	69 ± 0,9
318	Q1L, G4C, N10D, Q28R, E65V, Q69R, A72C, K92R, K118Q, D181N, E183M, D202N, T280A, S311G, T335I, D346E, Q349K, K355Q, T387S, T393V, D404N, Y422F, N445D, R446G, P462L, G463V, H468Q, V482I, S485T	69
319	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, E183M, D202N, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69
320	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, E183M, D202N, S311D, D320V, T335I, D346G, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, H468L, V482I	69
321	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, P224L, S311N, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	69
322	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T	69
323	G4C, E65K, A72C, S86T, E183M, D202I, P224L, S311N, N318Y, D320N, T335I, D346V, Q349R, T393V, Y422F, P442S, R446S, H468L	69
324	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D202N, S311N, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T	69
325	Q1L, G4C, E65V, A72C, D181N, E183K, D202G, Q349R	69 ± 1,2
326	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69
327	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, F306L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
328	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	69
329	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, E183K, S192P, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346E, Q349R, T392M, T393I, Y422F, P442S, H468Q	69 ± 0,1
330	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, H203R, S311D, D320V, T335I, D346E, Q349R, T393A, N445D, R446G, H468Q, V482A	69
331	Q1L, G4C, Q28R, A72C, D181N, E183V, D202I, H203R, P224L, S311D, D320V, D346V, Q349R, T392M, T393I, N445D, H468L	69
332	Q1L, G4C, Q28K, W40R, E65K, A72C, S86T, D181N, E183K, S192L, D202I, H203R, S311N, D320N, D346V, Q349K, T392M, T393A, Y422F, N445D, R446S	69
333	G4C, E65V, A72C, S86T, Y155H, D181N, E183V, Q190K, P224L, S311N, D320V, D346V, Q349K, T392M, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482A	69,1
334	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, S311D, N318Y, D320N, T335I, D346A, Q349R, T392M, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482A	69,1
335	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T	69,1
336	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D181N, D202N, S311G, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I	69,1
337	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, D202N, S311N, N318Y, D320I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T	69,1 ± 0,6
338	Q1L, G4C, T7Q, A8S, N10T, S24T, T27Q, Q28R, N29T, D57S, D64N, E65V, Q69K, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, G349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,1
339	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D202N, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I	69,1
340	Q1L, G4C, Q28R, A72C, D181N, S311G, N318Y, D320V, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q	69,1
341	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,1
342	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,1
343	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	69,1
344	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,2
345	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, D202N, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,2
346	Q1L, G4C, E65M, A72C, S86T, E183K, D202Y, S311G, D320N, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, R446G, H468Q, V482T	69,2

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
347	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311N, D320I, T335I, A340S, D346A, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	69,2
348	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, D181N, E183M, H203R, P224L, S311D, D320I, D346E, Q349R, T392M, Y422F, R446G, H468L	69,2
349	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,2 ± 0,5
350	Q1L, G4C, Q28K, N29Y, E65K, A72C, D181N, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	69,2 ± 0,1
351	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, E183M, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T	69,3
352	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, D202N, S311N, N318Y, D320N, T335I, D346A, Q349K, T392M, T393V, P442S, N445D, R446G, H468Q	69,3
353	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,3
354	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183V, S192T, D202N, S311G, D320V, D346A, Q349K, T393V, P442S, N445D, H468L, V482A	69,3 ± 0,3
355	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T	69,3
356	Q1L, G4C, S24T, Q28R, E65K, A72C, D202N, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	69,3 ± 0,1
357	Q1L, G4C, A72C, S86T, D181N, S192L, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, T335I, D346G, Q349K, T393I, R446G, H468Q	69,3
358	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,4 ± 0,5
359	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, D346A, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T	69,4
360	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, E183V, S192I, D202V, D320I, T335I, D346V, Q349K, T392M, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468R, V482A	69,4 ± 0,1
361	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	69,4 ± 0,2
362	Q1L, G4C, Q28K, A72C, D181N, D202I, S311D, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T392M, Y422F, R446G, H468L	69,4
363	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320N, D346E, Q349K, T393V, Y422F, T433S, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,4
364	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,4 ± 0,2
365	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, D202N, S311G, N318Y, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	69,4 ± 0,5
366	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, E183M, D202N, D320I, T335I, D346A, Q349K, T392M, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T	69,4

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
367	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, H468Q, V482I	69,4
368	Q1L, G4C, E65M, A72C, S86T, E183V, S192L, D202I, H203R, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346A, Q349K, P442S, N445D, R446G, H468R, V482A	69,4 ± 0, 1
369	Q1L, G4C, T7Q, A8S, N1 0T, Q28R, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,4
370	Q1L, G4C, E65K, A72C, S86T, D202V, S311N, D320V, T335I, D346V, Q349R, T392M, Y422F, N445D, R446G, H468L	69,4
371	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,4
372	Q1L, G4C, Q28R, D57S, D64N, E65V, Q69K, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,4
373	Q1L, G4C, Q28R, A72C, S86T, E183M, S192T, D202N, H203R, P224L, S311N, T335I, D346V, Q349R, T392M, T393V, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482A	69,4
374	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, D202N, S311N, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,4 ± 0,8
375	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I, S485T	69,5
376	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,5
377	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, G434 (AAATG) P442S, N445D, R446G, T457 (AAATT), H468L, V482I	69,5 ± 0,4
378	G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, D202Y, P224L, S311N, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446S, H468Q, V482A	69,5
379	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T	69,5 ± 1,8
380	Q1L, G4C, T27S, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,5
381	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, P224L, S311G, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T	69,5
382	Como 1-10 de T. reesei, Q28R, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,5
383	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,5
384	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, E183M, D202N, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,6 ± 0,1
385	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D181N, P224L, S311N, N318Y, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I	69,6

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
386	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S90F, D181N, P224L, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,6
387	G4C, Q28R, A72C, S86T, D181N, E183V, S192L, D202V, N246S, S311D, N318Y, D320V, D346A, Q349K, T393V, P442S, N445D, H468L, V482A	69,6
388	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311N, N318Y, D320I, T335I, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	69,6
389	Q1L, G4C, Q28R, A72C, S86T, E183M, S192L, H203R, S311D, D320V, T335I, D346V, Q349K, N445D, H468Q, V482A	69,6
390	Q1L, G4C, Q28R, T59M, E65K, A68T, A72C, S86T, D181N, S192L, D202N, H203R, S311D, D320V, T335I, Q349R, T393A, P442S, N445D, R446G, H468L, V482A	69,6
391	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,6
392	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, K355Q, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,6
393	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T	69,6
394	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, T448A, R453G, H468L, V482I	69,6
395	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, S86T, D181N, E183M, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,6 ± 0,5
396	Q1L, G4C, E65M, A72C, E183M, D202I, P224L, S311D, N318Y, D320V, T335I, D346A, Q349K, T393A, Y422F, P442S, N445D, R446G, R453G, H468Q, V482I	69,6
397	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,7
398	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183M, S311G, N318Y, D346A, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T	69,7 ± 1
399	Q1L, G4C, S24T, T27Q, Q28R, N29T, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,7
400	Q1L, G4C, E65V, A72C, D181N, E183M, S192T, P224L, S311G, D320V, T335I, D346G, Q349K, T393A, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T	69,7
401	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,8 ± 0,8
402	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202F, S311G, N318Y, T335I, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q	69,8
403	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, D181N, D202N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349R, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468R	69,8
404	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, D202N, S311N, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	69,8 ± 0

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
405	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	69,8
406	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,8
407	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, S311N, T335I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T	69,8
408	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, S86T, E183M, P224L, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482T	69,8
409	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, Y155C, D181N, Q190K, D202N, T229M, S311G, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, P480S, V482I	69,9
410	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, D181N, E183M, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T	69,9
411	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, D404N, Y422F, P442S, N445D, R446G, T451S, H468L, V482I	69,9
412	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P462L, H468L, V482I	69,9
413	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I	69,9
414	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, T280A, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,9
415	Q1L, G4C, Q28R, E65V, Q69R, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,9
416	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, K275E, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	69,9
417	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, E183K, D202N, P224L, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T	69,9
418	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, E183M, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	69,9 ± 0,2
419	Inserción en la posición A455 (AAAPA), Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70
420	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70
422	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, E183M, S311G, D320I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	70
423	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, S311G, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	70,1
424	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70,1

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
425	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, E183M, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	70,1 ± 0,2
426	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T	70,1
427	Q1L, G4C, S24C, Q28R, G30A, E65V, A72C, Y155C, D181N, Q190K, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, N445D, R446G, R453G, H468Q, P480S, V482I	70,1
428	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, P402S, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70,1
429	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, E183M, D202N, P224L, S311N, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I	70,1
430	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, N29Y, E65V, A72C, Y155C, D181N, D202N, P224L, M234T, S311G, D320I, D346E, Q349K, D390E, T393V, Y422F, N445D, R446G, R453G, H468Q, V482I	70,1
431	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, S86T, D202N, P224L, S311D, D320N, T335I, D346V, Q349K, T392M, T393V, Y422F, P442S, R446S, H468L	70,2
432	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, E183K, D202N, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I	70,2
433	Q1L, G4C, W40R, E65M, A72C, S86T, E183V, S192L, D202I, H203R, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346A, Q349K, P442S, N445D, R446G, H468R, V482A	70,2 ± 0,3
434	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70,2
435	Inserción en las posiciones G434 (AAATG) y T457 (AAATT), Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70,2 ± 0,2
436	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K118Q, D181N, E183M, P224L, D247N, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70,3
437	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311N, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	70,4 ± 0
438	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T	70,4 ± 0,9
439	Q1L, G4C, Q28K, E65M, A72C, D181N, E183M, D202N, S311G, N318Y, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482T	70,4 ± 0,5
440	Inserción en la posición P454 (VRPQP), Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70,5
441	Q1L, G4C, Q28R, A72C, D181N, E183V, S192M, D202N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346E, Q349R, T393V, Y422F, P442S, R446G, H468L, P480S	70,5
442	Q1L, G4C, Q28R, A72C, S86T, D181N, S192L, D202N, P224L, S311G, N318Y, D320V, T335I, D345E, D346A, Q349K, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, H505Q	70,5

ES 2 689 939 T3

	Mutaciones con respecto a SEQ ID NO: 18	Valor IT50 (4-MUL)
443	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, P224L, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70,6 ± 0
444	Q1L, G4C, Q28R, E65M, A72C, D181N, E183K, D202N, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I	70,6 ± 0,6
445	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, D202N, S311G, T335I, D346A, Q349K, T393I, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70,7 ± 0,5
446	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, D247N, S311G, D320I, D346E, Q349K, T387S, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70,7
447	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, D202N, P224L, S311G, D346A, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I	70,8 ± 0,4
448	Inserción en G434 (AAATG), Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70,9
449	Inserción en T457 (AAATT), Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70,9
450	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, E183K, S192L, D202N, D320N, T335I, D346A, Q349R, T393A, Y422F, P442S, R446G, H468R, V482A	71
451	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S236F, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	71
452	Q1L, G4C, Q28R, E65K, A72C, D202I, P224L, S311G, N318Y, D320V, T335I, D346A, Q349R, T392M, T393A, N445D, R446G, H468L	71,1
453	Q1L, G4C, E65M, A72C, S86T, E183V, D202I, P224L, S311G, N318Y, D320V, D346A, Q349K, P442S, N445D, R446G, H468L, V482A	71,1
454	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K92R, D181N, E183M, P224L, I277V, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	71,1
455	Q1L, G4C, A72C, S86T, D181N, E183K, D202V, P224L, S311G, D320V, D346E, Q349R, T393A, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L	71,1
456	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, D181N, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I	71,1 ± 0
457	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, S86T, D181N, E183K, S192L, D202V, S311G, D320I, D346V, Q349R, T393A, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V482I	71,1
458	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, D181N, D202N, P224L, S311N, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482T	71,2 ± 0
459	Q1L, G4C, A21T, T26I, Q28R, G30A, E65V, A68T, A72C, D181N, E183M, D202N, T229M, S311G, A340S, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	71,3

Ejemplo 9: Caracterización de variantes de la fusión de CBHI *Talaromyces emersonii*/CBD *Trichoderma reesei* (con etiqueta 6x His)

Hasta un volumen final de aprox. 1 ml se concentraron 80 ml de caldo de fermentación. Después de la determinación de la concentración de la proteína (reactivo de Bradford, Biorad, Alemania, el estándar es BSA de

- 5 Sigma-Aldrich, Alemania), se purificaron 1,2 mg de proteína con el kit de centrifugación Ni-NTA (Qiagen, Alemania). La fracción CBH1 purificada se ensayó posteriormente realizando una reacción de hidrólisis en la paja de trigo pretratada (pretratamiento ácido). Se mezclan 12,5 mg (masa seca) de paja de trigo pretratada con 0,0125 mg de CBH1 purificado y 40CBU Novo188 (Novozymes, Dinamarca) por mg de CBH1. Acetato del sodio 50mM (Sigma-Aldrich, Alemania) se agrega hasta 500 µl. El ensayo se mantiene a temperaturas que varían de 50°C a 65°C durante 48 horas y se analiza por HPLC para determinar el contenido de glucosa dependiente de la temperatura.

Ejemplo 10: Hidrólisis de paja con proteínas variantes de la SEQ ID NO: 2 expresadas de *Trichoderma reesei*

- 10 Las secuencias de celobiohidrolasa seleccionadas (Tabla 7) se expresan de *Trichoderma reesei* como se describe en el Ejemplo 5 por sustitución del marco de lectura de CBHI nativo con las fusiones de secuencia correspondientes al péptido de señal CBHI. Las muestras de las proteínas mutantes se aíslan del sobrenadante del cultivo y se purifican por cromatografía de afinidad Ni-NTA. La caracterización de las proteínas se realiza mediante incubación de las proteínas (E) con sustrato (S) de paja pretratada con ácido (contenido de materia seca del 2,5% y E/S = 0,1% peso/peso en la reacción) a temperaturas entre 50°C y 75°C durante 48 horas en presencia de una cantidad no limitante de beta-glucosidasa seguido de la determinación por HPLC de la concentración de glucosa liberada.
- 15 Los resultados se muestran en la Tabla 7. Como indicación del comportamiento, se tomó la liberación de glucosa después de 48 horas a 60°C y se encontró significativamente aumentada en comparación con la proteína de tipo salvaje. En la Tabla 7 se dan las temperaturas donde se alcanza todavía 50% de la máxima producción de glucosa.

Tabla 7: Comportamiento de Celobiohidrolasas expresadas de *Trichoderma* en paja

	Mutación con respecto a la SEQ ID NO:2	Temperatura [°C] de liberación óptima mitad de azúcar de paja pretratada con ácido (48 h 0,1% Relación de Enzima frente a Sustrato (40 CBU/mg de Celulasa BGL añadida)
1		59,3 ± 0,4
2	Q1L, G4C, A72C, D181N, E183K, Q349R	61,3
3	Q1L, G4C, A72C, Y155C, Q349K	64,3
4	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	73,0
5	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, Q349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	68,7
6	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D 346E, Q349K, T393V, Y422F, P442	69,3
	S, N445D, R446G, H468L, V482I	
7	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, D202N, P224L, S311G, N318Y, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468L, V482I	69,5
8	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, S86T, E183K, D202N, S311G, N318Y, D320I, D346A, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468Q, V4 82I	67,5
9	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,2
10	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	68,4

	Mutación con respecto a la SEQ ID NO:2	Temperatura [°C] de liberación óptima mitad de azúcar de paja pretratada con ácido (48 h 0,1% Relación de Enzima frente a Sustrato (40 CBU/mg de Celulasa BGL añadida)
11	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D202N, S311N, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446 G, H468Q, V482T	67,8
12	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72C, E183M, D202N, S311G, N318Y, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446 G, H468Q, V482I	68,0
13	G2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28K, E65K, A72C, E183M, S311G, N 318Y, D320I, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H46 8Q, V482T	72,0
14	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28K, E65V, A72C, E183M, D202N, P 224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R44 6G, H468Q, V482I	73,8
15	Q2S, G4C, A6LJ7Q, A8S, N10T, Q28R, E65V, A72C, P224L, S311D, N318Y, D320N, D346A, G349K, T392M, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482I	73,6
16	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, Q28K, N29Y, E65K, A72C, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482T	71,9
17	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K159KCGRNK, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, T433TGAAAT, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70,5
18	Q2S, G4C, A6L, T7Q, A8S, N10T, S24T, Q28R, E65K, A72C, D202N, S3 11G, T335I, D346E, Q349K, T393I, Y422F, N445D, R446G, H468Q, V482 T	72,2
19	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, P454PVRPQP, H468L, V482I	69,1
20	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, K15 9KCGRNK, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V 482I	68,2
21	Q1L, G4C, S24T, T26I, Q28R, N29Y, G30A, E65V, A68T, A72C, E183M, Q190K, P224L, S311G, D320I, D34 6E, Q349K, T393V, Y422F, P442S, N445D, R446G, H468L, V482I	70,2
22	SEQ ID NO: 12	58,6 ± 0,4

Ejemplo 11: Rendimiento de las variantes de la SEQ ID NO: 5 con termoestabilidad mejorada

Las técnicas de PCR se usaron para la transferencia de mutaciones seleccionadas en el esqueleto de la SEQ ID NO: 5, tal como se deduce de las mutantes cribadas de la SEQ ID NO: 2 con rendimiento superior. La proteína expresada de *Pichia pastoris* se tomó del sobrenadante del cultivo y se probó su Capacidad de Transformación del Sustrato por el procedimiento dado en el ejemplo 8. En la tabla se dan los valores IT50 calculados para el sustrato 4-MUL. En estas condiciones se encontró una estabilidad ligeramente superior de las proteínas sin CBD en comparación con las proteínas de fusión. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8: Comparación de los valores IT50 de las mutantes de la SEQ ID NO: 5 y de la SEQ ID NO: 2

	Patrón de mutación con respecto a la SEQ ID NO: 5	IT50 de la mutante de la SEQ ID NO: 5 original	IT50 de la mutante de la SEQ ID NO: 2 original
1	wt	61,3	60,4 ± 0,5
2	G4C, Q28K, E65M, A72C, S86T, E183M, D 202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349 K, T393V, Y422F	70,0	69,5
3	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E18 3M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F	72,0	69,8 ± 0,8
4	Q1L, G4C, Q28K, E65K, A72C, D181N, E18 3M, S311G, N318Y, D320I, T335I, D346E, Q 349K, T393V, Y422F	70,3	70,1 ± 0,2
5	Q1L, G4C, Q28K, E65V, A72G, D181N, E18 3M, D202N, P224L, S311G, T335I, D346E, Q349K, T393V, Y422F	71,9	71,1 ± 0
6	Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, G 151GCGR SG, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F	72,7	68,2

Ejemplo 12: Influencia de diferentes dominios de unión a celulosa sobre los valores de IT50

- 5 Para evaluar la intercambiabilidad de las CBD un mutante estabilizado de la SEQ ID NO: 5 (Q1L, G4C, Q28R, E65V, A72C, D181N, E183M, P224L, S311G, D320I, D346E, Q349K, T393V, Y422F) se conectó con una serie de dominios de unión a celulosa y regiones enlazadoras de celobiohidrolasas de diferentes fuentes por OE-PCR. Las secuencias codificantes resultantes (SEQ ID NO: 21, 23, 25, 27 y 29) se clonan con un vector de expresión de *Pichia pastoris* para la expresión de las correspondientes proteínas de fusión según las SEQ ID NO: 20, 22, 24, 26 y 28). Los valores de IT50 para las variantes se evalúan como se describió anteriormente y se enumeran en el Tabla 9.
- 10 Solamente se observaron pequeñas influencias de diferentes módulos de CBD sobre la estabilidad.

Tabla 9: Comparación del comportamiento de diferentes fusiones CBD con sus enlazadores con variantes estabilizadas y no estabilizadas de la SEQ ID NO: 5

	Listado de secuencias de ADN	Listado de secuencias de proteínas	Origen de enlazador y CBD	IT50 [°C] (ensayo 4-MUL)	Temperatura [°C] de liberación óptima mitad de azúcar de la celulosa (48 h, relación de enzima frente a sustrato del 0,1% (40 CBU/mg de BGL celulosa añadida)	Observación
1	1	2	<i>T. reesei</i>	60,4 ± 0,5	57,4 ± 0,5	Núcleo no estabilizado (tipo salvaje)
2	21	20	<i>C. thermophilum</i>	69,5 ± 0,5	65,6	
3	23	22	<i>P. chrysosporium</i>	69,3 ± 0,2	65,6	
4	25	24	<i>P. janthinellum</i>	68,4 ± 1,2	65,0	
5	27	26	<i>I. lacteus</i>	68,8 ± 0,1	65,2	
6	29	28	<i>T. reesei</i>	69,8 ± 0,8	65,0 ± 0,7	Núcleo estabilizado y región enlazadora de CBD

Tabla 10: Listados de secuencias (Perspectiva)

SEQ ID NO	Ácido nucleico [N] /Proteína [P]	Descripción	ID
SEQ ID NO 1	[N]	Secuencia codificante para la fusión CBH <i>Talaromyces emersonii</i> /CBD <i>Trichoderma reesei</i> que incluye el péptido de señal de factor alfa.	
SEQ ID NO 2	[P]	Secuencia madura de CBH <i>Talaromyces emersonii</i> /CBD <i>Trichoderma reesei</i>	CBH-a
SEQ ID NO 3	[N]	Secuencia codificante de la fusión de CBH-a con péptido de señal CBHI <i>Trichoderma reesei</i>	
SEQ ID NO 4	[P]	Dominio de unión a celulosa CBHI <i>Trichoderma reesei</i> y secuencia enlazadora	
SEQ ID NO 5	[P]	CBHI <i>Talaromyces emersonii</i>	CBH-b
SEQ ID NO 6	[N]	CBHI <i>Talaromyces emersonii</i>	
SEQ ID NO 7	[N]	CBHI <i>Humicola grisea</i>	
SEQ ID NO 8	[P]	CBHI <i>Humicola grisea</i>	CBH-d
SEQ ID NO 9	[N]	CBHI <i>Thermoascus aurantiacus</i>	
SEQ ID NO 10	[P]	CBHI <i>Thermoascus aurantiacus</i>	CBH-e
SEQ ID NO 11	[N]	CBHI <i>Trichoderma reesei</i>	
SEQ ID NO 12	[P]	CBHI <i>Trichoderma reesei</i>	CBH-c
SEQ ID NO 13	[N]	CBHI <i>Trichoderma viridae</i>	
SEQ ID NO 14	[P]	CBHI <i>Trichoderma viridae</i>	CBH-f
SEQ ID NO 15	[N]	Fusión CBHI <i>Humicola grisea</i> /CBD <i>Trichoderma reesei</i>	
SEQ ID NO 16	[P]	Fusión CBHI <i>Humicola grisea</i> /CBD <i>Trichoderma reesei</i>	CBH-g
SEQ ID NO 17	[N]	Secuencia codificante para la CBH <i>Talaromyces emersonii</i> /CBD <i>Trichoderma reesei</i> que incluye péptido de señal de factor alfa y etiqueta 6x His.	
SEQ ID NO 18	[P]	Secuencia madura de péptido de fusión de CBH <i>Talaromyces emersonii</i> /CBD <i>Trichoderma reesei</i> con etiqueta 6x His	CBH-ah
SEQ ID NO 19	[N]	CBHI <i>Humicola grisea</i> , secuencia codificante alternativa	
SEQ ID NO: 20 a 41	[N]	Cebadores de oligonucleótidos utilizados con esta invención	
SEQ ID NO 42	[P]	Mutante de CBH <i>Talaromyces emersonii</i> con CBD celobiohidrolasa I <i>Chaetomium thermophilum</i> con etiqueta 6x His	
SEQ ID NO 43	[N]	Secuencia codificante para la CBH <i>Talaromyces emersonii</i> con etiqueta 6x His Mutante de CBD celobiohidrolasa I <i>Chaetomium thermophilum</i>	

SEQ ID NO	Ácido nucleico [N] /Proteína [P]	Descripción	ID
SEQ ID NO 44	[P]	Mutante de CBH <i>Talaromyces emersonii</i> con CBD celobiohidrolasa <i>Phanerochaete chrysosporium</i> con etiqueta 6x His	
SEQ ID NO 45	[N]	Secuencia codificante para el mutante de la CBH <i>Talaromyces emersonii</i> con CBD celobiohidrolasa <i>Phanerochaete chrysosporium</i> con etiqueta 6x His	
SEQ ID NO 46	[P]	Mutante de CBH <i>Talaromyces emersonii</i> con CBD celobiohidrolasa <i>Penicillium jantinelum</i> con etiqueta 6x His	
SEQ ID NO 47	[N]	Secuencia codificante para el mutante de la CBH <i>Talaromyces emersonii</i> con CBD celobiohidrolasa <i>Penicillium jantinelum</i> con etiqueta 6x His	
SEQ ID NO 48	[P]	Mutante de CBH <i>Talaromyces emersonii</i> con CBD celobiohidrolasa <i>Irpex lacteus</i> con etiqueta 6x His	
SEQ ID NO 49	[N]	Secuencia codificante para el mutante de la CBH <i>Talaromyces emersonii</i> con CBD celobiohidrolasa <i>Irpex lacteus</i> con etiqueta 6x His	
SEQ ID NO 50	[P]	Mutante de la CBH <i>Talaromyces emersonii</i> con CBD <i>Trichoderma reesei</i> mutado con etiqueta 6x His	
SEQ ID NO51	[N]	Secuencia codificante para el mutante de la CBH <i>Talaromyces emersonii</i> con CBD <i>Trichoderma reesei</i> mutado con etiqueta 6x His	

SEQ ID NO: 1

cagcaggccggcagcggcgacggcagagaaccaccgcgcctgacatggcaggaatgcaccgcgcctgggagctgc
accaccagaaacggggcggtcggtctctgatgcgaactggcgctggggtgcacgatgtgaacggatataccaaactgc
tacacgggcaataacctgggaaccccaactgtaactgacctgacgacgaaacctggcgccagaactgtgcgctggacggc
ggggtatcacgagggcacactacggcgctgacactcgtcgggcagctccttgaaactaatctcgtcacccgggtcgaa
ctgggactccgctctctacactgctgcgagcagcatcgacatatcagatctcgaactcctgaacccgcagcttcagc
tttgactcgatgtctccaactcttcgctgggattgaacggcgctctgtactcttctgctccactggagcgcagcggc
ggcggtgtccaaagtacccgaacaacaaggctgggtgccaaagtacggaaacggggtattgcgactcccaatgccacgg
gacctcaagttcatcgacggcgagggccaacgtcgagggctggcagcgctcttcgaaccaacggccaacacoggaaatt
ggcgacacagggctcctgctgtgcggagatggatgtctgggaaggaacagcatctccaatgcggtcactccgcac
ccgtgcgacacggccaggccagacgatgtgctcgggagatgactggggtggcacatactctaacgatcgctacgg
ggaacctcgatcctgcacggctgtgacttcaaccttacggcatgggcaacactcttcttaacgggctcctggcaag
atcatcgataccaccaagcccttcaactgtcgtgacgcagttctccactgatgatggtaaggatactggaactctc
agcgagatcaagcgcttctacatccagaacagcaacgctcattccgcagcccaactcggacatcaglygcgtgac
ggcaactcgatacagacggagtctctgcaactgctcagaagcaggcctttggcgacacggacgactctctcagca
ggctggcctggccaagatgggagcgccatgcagcagggtatgggtcctggtgatgagtttgtgggaacgactacg
ggcagatgctgtggtlbgatttcgactacccagcggatggcgaccccaacgacccctgggtattgcgcgtggaac
tgtcgcagcgaactcggcgctccactcggatgtcgatgcgagaccccaactcctacgtgaactactcgaaactt
aagtttggtccgatcggtagcacagggaactccttcagggtggtaatcctccagggtggaacagagggaacaacgaca

ctagaagaccagctactacaactgggtcaagtcacaggtccaactcaatcacactacggctcaatgtgggtggtata
ggttactcgggtccactgattgtgctcttggtactacttgccaagttctgaaccttactactcacagtgtctaca
aatgataa

5 Secuencia codificante para la CBH-a (madura)

SEQ ID NO: 2

QQAGTATAENHPPLTWQECTAPGSCTTQNGAVVLDANNRWVHDVNGYTNCTGTNTWDPTPCPDDETCAQNCALDG
ADYEGTYGVTSSGSSSLKLNFTVGTGNSVGSRLYLLQDDSTYQIFKLLNREFSFDVDSNLPCCGLNGALYFVAMDADG
GVSKYPNNKAGAKYGTGYCDSQCPRDLKFIDGEANVEGWQPSNNANTGIGDHGSCCAEMDVWEANSISNAVTPH
PCDTPGQTMCSGDDCGGTYSNDRYAGTCDPDGCDNFYRMGNTSFYGPBKIIDTTKPFTVVTQFLTDGTDGTGL
SEIKRFYIQNSNVIPQPNSDISGVTGNSITTEFCTAQKQAFGDTDDFSQHGGGLAKMGAAMQQGMVLVMSLWDDYA
AQLWLWLDSDYPTDADPTTPGIARGTCPTDSGVPSDVESQSPNSYVYTSNIKFGPIGSTGNFSGGNPPGGNRGT
TRRPATTTGSSPGPTQSHYGQCGGIGYSGPTVCASGTTCCQVLNPYYSQCL

Secuencia madura de CBH-a

SEQ ID NO: 3

atgtatcgggaagttggcgcgtcatctcgccctcttggccacagctcgtgctcagcaggccggccacggcgagcgca
gagaaccacccgcccctgacatggcagggaatgcaccgccccctgggagctgcaccacccagaaacggggcggtcgtt
cttgatgcgaactggcgctgggtgcacgatgtgaacgggatacaccaactgctacacgggcaatacctgggacccc
acgtactgcccgtgacgacgaaactgcccgcagaaactgtgcccgtggacggcgaggattacgagggcacctacggc
gtgacttctgcccgcagctccttgaaactcaatttctgacacgggtcgaaacgtcggatcccgctctctacactgctg
caggacgactcgacctatcagatcttcaagctcctgaacccggaggttcagctttgacgtcgatgtctccaactctt
ccgtcgggattgaacggcgctctgtactttgtgcccattggaacccgacggcgggcgtgtccaagtaccggaacaac
aaggctgggtgccaagtacggaaacgggtattgogactcccaatgcaccgggacctcaagttcatcgacggcgag
gccaacgtcgagggctggcgccgctcttgaacaacgccaacacgggaattggcgaccacgggtcctgctgtgctg
gagatggatgtctgggaagcaaacagcatctccaatgcgggtcactccgcaccgctgacacacggccagggccagacg
atgtgctctggaagatgactcgggtggcacatactctaaccgatcggtacgggggaacctgggatcctgacggctgt
gacttcaacccctacggcatgggcaacactcttctacgggcccgggaagatcatcgataaccacaaagcccttc
actgtctgacgcagttcctcactgatgatggtaacggatactggaactctcagcgagatcaagcgcttctacac
cagaacagcaacgtcattccgcagcccactcggacatcagtgccgtgacgggcaactcgatcagcagggagttc
tgcactgctcagaagcaggcccttggcgacacgggaacgacttctcagcagcggtggcctggccaagatgggagcg
gccatgcagcaggggtatggctcctgggtgatgagtttggggacgactacgcgcgcagatgctgtgggtggattcc
gactaccgcagcgatcggaaccccaacgacccctgggtattgcccgtggaaacgtgtccgacggactcgggctccca
ccggatgtcgagtcgcagagcccccaactcctacgtgaactactcgaacattaaagtgtggtcgatcggtagcaca
ggtaactccttcaggtggtaactcctcaggtggaaacagaggaaacacgacaactagaagaacagctactacaact
ggttcaagtcaggtccaactcaatcacactacgggtcaatgggtgggtataggttactctgggtcccaactggttgt
gcttctgggtactacttgcgaagttctgaacccctactactcacagtgcttagcttctgcacatcatcaccaccac
cattaa

5 Secuencia codificante de la fusión de CBH-a con péptido de señal de CBHI *Trichoderma reesei*

SEQ ID NO: 4

GSTGNPSGGNPPGGNRGTITRRPATTTGSSPGPTQSHYGQCGGIGYSGPTVCASGTTCCQVLNPYYSQCL

Dominio de unión a celulosa CBHI *Trichoderma reesei* y secuencia enlazadora

SEQ ID NO: 5

QQAGTATAENHPPLTWQECTAPGSCTTQNGAVVLDANNRWVHDVNGYTNCTGTNTWDPTPCPDDETCAQNCALDG
ADYEGTYGVTSSGSSSLKLNFTVGTGNSVGSRLYLLQDDSTYQIFKLLNREFSFDVDSNLPCCGLNGALYFVAMDADG
GVSKYPNNKAGAKYGTGYCDSQCPRDLKFIDGEANVEGWQPSNNANTGIGDHGSCCAEMDVWEANSISNAVTPH
PCDTPGQTMCSGDDCGGTYSNDRYAGTCDPDGCDNFYRMGNTSFYGPBKIIDTTKPFTVVTQFLTDGTDGTGL

10

SEIKRFYIQNSNVIPQPNSDISGVTGNSITTEFCTAQKQAFGDTDDFSQHGGGLAKMGAAMQQGMVLVMSLWDDYA
AQLWLWLDSDYPTDADPTTPGIARGTCPTDSGVPSDVESQSPNSYVYTSNIKFGPIINSTFTAS

Secuencia CBHI *Talaromyces emersonii* (CBH-b)

SEQ ID NO: 6

atgagatttcttcaatttttactgcagttttatttcgcagcatcctccgcattagctgctccagtcacactaca
acagaagatgaaacggcacaataatccggctgaagctgtcatcggttacttagatttagaaggggatttcgatgtt
gctgttttgcattttccaaacagcacaataaaccgggttattgtttataaataactactattgcagcatttgcgt
aaagaagaaggggtatctttggataaaacgtgagggcgaagcaccctctcagcagggcggcagggcgagcagag
aaccacccggccctgacatggcaggaatgcacggccctgggagctgcaccacccagaacggggcggtcgttctt
gatgcgaactggcgttgggtgcacgatgtgaacgggatacaaccaactgctacacgggcaatacctgggacccacg
tactgcctgacgacgaaactgcggccagaactgtgcgtggacggcgaggattacgagggcaccctacggcgtg
acttcgtcgggcagctccttgaactcaatttcgtcacgggtcgaaactcggtatccgtctctacctgctgcag
gacgactcgacctatcagatctccaagcttctgaacggcgagttcagctttgacgtcgatgtctccaatcttccg
tgcggattgaacggcgctctgtactttgtgcgcatggacggcgagggcggtgccaagtacccgaacaacaag
gctgggtgccaaagtacggaaacgggtatttcgcgactcccaatgcccacgggaccccaagttcatcgacggcgagcc
aacgtcgagggctggcagcgtcttcgaacaacggccaacacgggaattggcgaccacggctcctgctgtcgggag
atggatgtctgggaagcaaacagcatctccaatggcgtcacttcgcaccccggtgcgacacggccagggcagagtg
tgcctcggagatgactgcgggtggcacaatacttaacgatcgctacgggggaacttcgcatcctgacggctgtgac
ttcaaccttaccgcatgggcaaacacttcttttcacgggctggcaagatcatcgataccaccaagcccttact
gtcgtgacggcagttcctcactgatgatggtacggatactggaactctcagcgagatcaagcgttctacatccag
aacagcaacgtcatccgcagcccaactcggacatcagtgggcgtgacgggcaactcgatcacgacgggagttctgc
actgctcagaagcaggccttggcgacacggacgaactctctcagcagcgtggcctggccaagatgggagcggcc
atgcacgagggatgggtcctgggtgatgagtttggggacgactacggcgcgagatgctgagggtggattccgac
taccgacggatgggacccacgacccctgggtattgcggcgggaacgtgtccgacggacccgggctcccatcg
gatgtcaggtcgagagcccaactcctacgtgacctactcgaacattaagttgggtcggatcaactcgaccttc
accgcttcgtgataa

Secuencia codificante de CBHI *Talaromyces emersonii* fusionado con el péptido de señal de factor alfa

SEQ ID NO: 7

QQAGTITAENHPRMTWKRCSGPGNCQTVQGEVVIDANWRWLNHNNQNCYEGNKWTSQCSSATDCAQRCALDGANY
QSTYGASTSGDSLTLKFVTKHEYGTNIGSRFYLMAQNQKYQMFTLMNNEFAFDVLDLSKVECGINSALYFVAMEED
GGMASYPSNRAGAKYGTGYCDAQCARDLKFIGGKANIEGWRPSTNDPNAGVGPMPGACCAEIDVWBSNAYAYAFETP
HACGSKRYEICEFTNCGGTYSDDRFAGYCDANGCDYNPYRMGNKDFYKGKKTVDNTRKFTVVSREERNRLSQFF
VQDGRKIEVFPPTWPLNSADITPELCDAQFRVDDRNRFAETGGFDALNEALTIPMVLVMSIWDHHSNMLWL
DSSYPPEKAGLPGDRGFCPTTSGVPAEVEAQYPDAQVWSNIRFGPIGSTVNV

5 CBHI *Humicola grisea* (CBH-d)

SEQ ID NO: 8

atgagatttcttcaatttttactgcagttttatttcgcagcatcctccgcattagctgctccagtcacactaca
acagaagatgaaacggcacaataatccggctgaagctgtcatcggttacttagatttagaaggggatttcgatgtt
gctgttttgcattttccaaacagcacaataaaccgggttattgtttataaataactactattgcagcatttgcgt
aaagaagaaggggtatctttggataaaacgtgagggcgaagcaccctctcagcagggctggtaactattactgctgag
aaccacccagaatgacctggaagagatgctctgggtccaggaaactgtcagactgttcagggcgaggttgtgatt
gacgttaattggagatgggtgcacaacaacggccagaactgttacgagggtaacaagtggacctctcagttgtct
tctgctaacgactgtgctcagagatgtgctttggacgggtgccaaactaccagttctacctaagggtgcttctacctct
gggtgactctccgacctgaagtctggttaccagcagcaggtacggaaccaacatcgggtctagattctacactgatg
gccaaacagaaacagttaccagatgttcacctgatgaacaacaggttcggcctttgacgttgacctgtctaaaggtg
gagtgcggtatcaactctgcctgtacttcgttgcattggaagaggacgggtggaatggttcttaccatctaac
agagccggtgctaaagtacggtaactggttactgtgacggccaggtgtgctagagacctgaagttcatcggtggaaag
gcaaacattgaggggtggagacatctaccaaacgacccaaacgctgggtgttgggtccaatgggagcttctgttgcg
gagattgatgtgtgggagctaaacgttaccgctacgcttttaccacacacgcttgcgggtctaaagacagatgac
cacatctgcgagaccaacaactgtggtggaacctactctgacgacagatcgcgtggataactgcgacgctaaccgt

tgtgactacaaccatcacagaatgggcaacaaggacttctacggcaagggaagaccgttgacaccaacagaaag
ttcaccggtgggtgcagatccgagagaaacagactgttcgagttcttctgacaggacggcagaaagattgaggtc
ccaccaccaaacttggccaggattgcaaaactctgcgacattaccacagagttgtgtgaogctcagttcagagtg
ttcgacgacagaaacagatttgcgtgagacgggtgggttttgacgttttgaaacgaggtctgaccttccaatgggtg
ctggtgatgtctatttgggacgacccactctaacatgttgggtggactcttcttaccacacagagaaggt
ggattgccaggtgggtgacagaggacctgtccaactacttcgggtgttcagctgaggttgaggtcagttacca
gacgtcaggttgtgtggtggaacatcagattcggcccaatcgggtctacacgtgaaactgttaa

Secuencia codificante de CBHI *Humicola grisea* fusionada con el péptido de señal de factor alfa

10 SEQ ID NO: 9

heagtvtaenhpsltwggccssggsccttngkvviidanwrwvhtssgytnctygtntwtdtsicpddvtcagncaldg
adysgtygvttsgnalrlnfvttgssgknigsrlyllqddtgygikllggcttfdvdsnlpcglingalyfvamd
adgnlskypgnkagakygtgycdsqcprdlkfingganvegwqpsandpnagvgnhgsscaemdvweansistav
tphlctppggtmcggddcggtysstryagctdtdgdcfnpyqpgnhsfygpgkivdtsskftvvtqfiddgtps
gtlctekrfyvgqkvipgsestisgvtgnsitteteyctaqaakafdnrtgffthggqlklsqalagmvlvmslwd
haanmlwldstyptddpdtpgvargtcpttsgvpadvesqnpnsyviysnikvgpinstftan

CBHI *Thermoascus auratiacus* (CBH-e)

SEQ ID NO: 10

atgagatttcccttcaatttttactgcagttttatttcgcagcatcctccgcattagctgctccagtcacacactaca
 acagaagatgaaacgggcacaaaattccggctgaagctgtcatcggttacttagatttagaaggggatttcgatgtt
 gctgttttgcatttttccaaacagcacaaaataacgggttattgtttataaataactactatttgcagcattgctgct
 aaagaagaaggggtatctttggataaaacgtgagggcgaagcaccctctcagcagggccggtacgtaaccgcagag
 aatcacccttccctgacctggcagcaatgctccagcggcggtagtgtaccacgcagaatggaaaagtctgtatc
 gatggcaactggcgtttgggtccataaccacctctggatacaccacactgctacaagggaataacgtgggacaccagt
 atctgtcccgacgacgtgacctggctcagaattgtgcttggatggagcggattacagtggtaccctatggtgtt
 acgaccagtggcacaacggccctgagactgaactttgtcaccacaagctcagggagaacattgggtcggccctgtac
 ctgctgcaggagacacacccttatcagatcttcaagctgctgggtcaggagttaaccttcgatgtcagcgtctcc
 aatctcccttggcgggtgaaacggcgccctctactttgtggccatggacgcgcagcggcaatttggccaaaataccct
 ggcaacaaggcaggcgctaatgtatggcactgggttactgcagctctcagtgccctcgggatctcaagttccatcaac
 ggtcaggcccaacgttgaaggctggcagcgtctgccaacagacccaaatgcccgcgttggtaaccacgggttccctg
 tggctgagatggatgtctgggaagcacaacagcatctctactcgggtgacgcctcaccatgacacaccccggtc
 cagaccatgtgccaggcagaacgactgtggtggaacctactccctccactcgatatgctggtaacctggacacgtgat
 ggctgcgacttcaatccttaccagccaggccaacacactcgttctacggcccccgggaagatcgtcagacactagctcc
 aaattcaccgctcgtcaccagttcatcaccgacgacgggacacccctccggcaccctgacggagatcaaacgcttc
 tacgtccagaacggcaggctgacttccccagtcggagtcagatccagcgggtccacggcgaactcaatcaccac
 gagtatttgcacggcccaagaaggcagccttcgacaacacccggctctctcaccgacggcggttcagaagatcagt
 caggctctgggtcagggtcaggtctctcgtcatgagcctgtgggaagatcaccgcgcgaacatgctctgggtggac
 agcactacccgactgatgcggacccggacacccctggcgtcggcgcggttacctgccccacgacctccggcgtc
 ccggcggaggtggagtgcgagaacccccaatcatactgttatctactccaacatcaaggtcggaccatcaactgc
 acctcaccgcgaactaa

Secuencia codificante de CBHI *Thermoascus auratiacus* fusionada con el péptido de señal de factor alfa

5 SEQ ID NO: 11

atgagatttcccttcaatttttactgcagttttatttcgcagcatcctccgcattagctgctccagtcacacactaca
 acagaagatgaaacgggcacaaaattccggctgaagctgtcatcggttacttagatttagaaggggatttcgatgtt
 gctgttttgcatttttccaaacagcacaaaataacgggttattgtttataaataactactatttgcagcattgctgct
 aaagaagaaggggtatctttggataaaacgtgagggcgaagcaccctctcagcttgtacactgcaatccgagact
 catcaccctctaacgttggcacaagggtgtagttcttggcggaacttgtactcaacagacttgtagtgctgtagat
 gctaactggagatggacacatgnaacgaactcctcaactaactgctacgatggtaaacacgtggtctctacattg
 tgtcctgacaacgaaacctgcgctaagaactgttgtcttgatggagcagcttacgcaagtaacatggtgtgact
 acctctggtaaacagcctttccattgggtttgttaaccacagtcggctcagaagaatgttgggtcgtagattgtacctg

atggcttcagacaccacataccaggagtttaccttgggtgggaacgagttctcttccagcgtagatgtgtccag
 ctaccatgtggattgaatggagccttgtactttgtctcaatggatgcagacggaggtgtttcaaagtacctact
 aacacagctggtgctaagtattggaactggatactgcatcttcaatgcccagagacctgaagttcatcaacggga
 caagctaacgttgaagggttgggaacctcttagcaacaacgcaaacactggaaattgggtggtcatggttcttgcgt
 tcagagatggacatttgggaagccaaactccatcagtggaagcttggactccacatccatgcacaactgttgggcaa
 gaaatttgcgaagggtgattggttgggtggcacttactctgataaacagatacggcggaacatgtgacccagatgga
 tgtgattggaaacccatcacagactgggttaacacttctgttttaccggacacaggttcttccctcactctagacactacg
 aagaagttgactggtggtcaccacatttgagactcttgggtgcatataaccgatactacgtgcagaacggagtact
 ttccaaacagccaaacgctgaattgggttagtactcaggcgaacgagcttaacgatgactactgcactgctgaagaa
 gcagaatttgggtggatcttcccttccggataaagggtggattgacgcagtccaagaaagctacctctgggtggaatg
 gttctagtcagtgctgtggtggaacgattactacgctaacatgcttgggtggactctacttacctacaaacgag
 actcttctactactcgtgctgtaaggaggttagctgttctacatcttctggagttccagcccaagttgagagtcac
 agtccaaatgccaaagggtcacttctccaacatcaagttcggaccaatttgtagcacaggttaactctcagggtggt
 aatctctcagggtggaaacagaggaacaacgacaactagaagaccagctactacaactggttcaagtcacaggtcca
 actcaatcacactacggtaagtgtggtggtataggttactctggtccactgtttgtgcttccggtaactacttgc
 caagttctgaacccctactactcagctgtctagcttctgcaacacatcatcatcattaatgataa

Secuencia codificante para la CBHI *Trichoderma reesei* (CBH-c), que incluye péptido de señal de factor alfa y etiqueta 6x His.

10 SEQ ID NO: 12

QSACTLQSETHPLTWQKCSGGCTCTQQTGSSVVIDANWRWTHATNSSTNCYDGNWSSSTLOPDNETCAKNCCLDG
 AAYASTYGVTTSGNSLSIGFVTQSAQKNVGARLYLMASNDTTYQEFFLLGNEFSFDVDSQLPCLNGALYFVSMD
 ADGGVSKYPTNTAGAKYGTGYCDSQCPRDLKFINGQANVEGWEPSSNNANTGIGGHGSCCESEMDIWEANSISEAL
 TPHPCTTVGQEI CBGDDGCGGTYSNRYGGTCDPDGCDWNFYRLGNTSFYGPSSFTLDTTKKLTVTYQFETSGAI
 NRYVYQNGVTFQQPNAELGYSYSGNELNDYCTAEAEAFGGSSPSDKGLTQFKKATSGGMVLMVSLWDDYYANML
 WLDSTYPTNETSSTPGAVRGSCTSSGVPAQVESQSPNAKVTFPSNFKFGPIGSTGNPSGONPPGGNRGTTTTTRFP
 ATTTGSSPGPTQSHYGQCGGIGYSGPTVCASGTTQQLNPPYYSQCL

CBHI *Trichoderma reesei* (CBH-c)

SEQ ID NO: 13

atgagacttccctcaattttactgcaggttttatctgcagcatctctccgcatltagctgctccagtgcaacactaca
acagagaagatgaaacgggcacaaattccgggtggaagctgtctatcgggttactttagaatttagaaggggatttcgatggt
gctgttttgcatttttccaacagcacaataaacgggttatgtttataaatactactattgcccagcatgtctgt
aaagaagaaggggtatctttggataaaactgaggcgggaagcactctcaatctctgtccacttgcagtttgcagttgaa
accacccaccatttgacctggcgaagagtgtttctctggcggtacttgtactcagcagacgggtcttgtgttctac
gacgccaaactggagatggactcacgctaccaactctctctaccaactgctacgacgggtaacacttgggtcgtctacc
ttgtgtccagacaacgagacctgtgcccagaactgtgtgtttggacgggtgtgcttaccgtctctactacgggtgtt
accacctctggtaactcgtgtctatcgggttccgttaaccagctctgccccagaaaaattgttggtgccagactgtac
ttgatggctcttgacacacactacacgaagtttaacctgctgggttaacagagttctcttgcagctggagctttct
caactggcatgtggactgaacgggtgcctgtactcgtttctatggagcgtgaacgggtgtgttcttaagtaacca
accaacacccgctgggtgctaaatacgggaacgggttaacggcattctcagtgcccagagacctgaagttctatcaac
ggacaggctaacgttgaaggatgggagccattctctaacaaacggccaaacacgggtatttggtggtcacgggtctctgc
tgtctctgagatggacattctgggaggccaacttacttcttgaggctctgaccccacacccatgtactacttggtggt
caagagatctgtgaggggtgatggtttgtgtggactctactcggacaacagatacgggtggtacttgtgaccagac
ctgtgtgatgtggaccacatcacgactgggttaacacctcttctacgggtccaggactctctttacctggacacc
accaagaagttgacccgttgttaccagtttgagacctctgggtccatcaacagatactactgtcagaacgggtgtt
actttccagcagccaaacgctgaactgggtacttactctggtaacggactgaacagcactactgtactgtgag
gaagctgagttcgggtggttctctctctctgacaaagggtgagctgaccacagttttaagaaggtctacctctggcgga
acgggtcgtgtttatgtctttgtgggaacgactactacgttaacatgttgggtgtgactctacctacccaataac
gagacctcttctaaccccagggtgctgttagaggattctgtctacctctctctgggtgttccagctcagggttgagctc
cagctctccaaacggccaagggtgacctctctctaaatcaagttcgggtccaatcgggtctacttggtgacccatctggt
ggtaaccaccagggtggaaaacccactctgttactaccactaccagaagaccagctaccaccactggttcttctcca
gggtccaaacccaatccactaccctcagttcagttgtgtgtggtactctctggtccaacggtttgtgctcttggaac
acctctcaagttctcaaccatactactctcagctgacctgtaa

Secuencia codificante para la CBHI *Trichoderma viride*, que incluye péptido de señal de factor alfa.

SEQ ID NO: 14

QSACTLQSETHPPLTWQKCSSGGTCTQQTGSGVIDANWRWTHATNSSNCYDGNWTSSSLCPDNETCAKNCCLDG
 AAYASTYQVNTTSGNSLSIGFVTVQSAQKNVGARLYLMASDPTTYEFTLLNGNEFFDVVDVCSQPCGLNGALYFVSMD
 ADGGVSKYPTNTAGAKYGTGYCDSQPRDLKFINGQANVBGWEPSNNANTGIGHGHSCESEMDIWEANSISEAL
 THPFCITVGGQEICEGDGCGGTYSNDRNYGGTCDPDGCDWDPYRLGNTSFYQPGSSFTLDPTKKLLTVTVTFETSGAI
 NRYVYVQNGVTFQSPNAELGYSYSGNGLNDYCTABEAEGFSGSFSQDKGLTQFKKATSGGMVLVMSLWDDYYANML
 WLDSTYPINETSSPTGAVRGSCSTSSGVPASQVESQPNKVFNSNIFKGPFGSTGDPSSGGNPPGCGNPPGTTTTRR
 PATTTGGSPGPTQSHYGGCGGIGSYSGPTVCASTCTCOVLNPPYSQCL

CBHI *Trichoderma viride* (CBH-f)

SEQ ID NO: 15

atgagatttccttcaatttttactgcagttttatttcgcagcatcctccgatttagctgctccaghtcaaacactaca
acagaagatgaaacccgcacaaattccgggtgaagctgtcaacgggttacttagatttagaaggggatttcgatggt
gctggttttgcattttccaacagcacaataacgggttatgtttataaaactactattgccagcatcgctgct
aaagaagaagggttatctttggataaacctgagggcggaagcatgctcgcagcaggctggtagaattactctgtgag
aacctccaagaattgactgctggaagagatgtagtgttcgaaggaaactgtcagactgttcagggtgaaggtcgtgata
gatgctaactcggagatggttgcataacaacggccagaactgctacagagggttaacaagtggaacctctcagtggtct
ctctgctaccgactggcgtcagagatgtcgtcttgatggagcaaaactaccagagtagcatatgggtgctcttacctct
ggtgacagccttaacctgaagtttctaaccaagcagagtagcggaaaccaatttcggttctagattctacctgatg
gctaaccagaacaaagtaccagatggttaccttgatgaacaacagagtctgccttcgcagctagatctgtctaaagg
gagtggtgaatcaattctgccttgtaatttctgcctatgggaaggagcaggagtaggtcttctaacctctcaaac
agagctgggtgctaagtatggaactggatactgcgatgccaaatgcgctagagacctgaagttcatcgggtggaaag
gctaacattgaagggttgagacacttctaccaacgcacccaaacgctggagttggtccaatgggtgcttgcgtgccc
gagattgacgtgtgggaatctaacgcttacgctctacgcttttactccacatgcttgcggttctaagaacagatac
cacatttgcgaaaccaacaaactgtggtggcacttactctgtatgacagagattcggtagactgtgataacggga
tgtgatttgcgaacccatacagaattgggttaacaaggacttttacggaaagggttaagactgttgacataacagaag
ttcactgtgggtctcagatttgagagaaaacagactgttcgcagttctttgtgcaggacgggaagaaagattgaggtc
ccaccaccaacttggccaggatttgcaaaactctgcgcacattaccaccagagttgtgcgaagctcagttacagagtg
tttgacgacagaacaaacatttctgagacacgggtggatttgacgctttgaacagggtctcagaccattccaatgggt
ctagttcatgagattttggagcatcaccaacttaaacatttggcgtggactcttctaacctccagagaagggt
ggattgcctgggtggtgacagagggtccatgtccaacaactctcggagttccagccgaggttgaggtcctaatacca
gacgccaggtcgtgtggtccaacatcagatttcggaccaatttgaagctttaaacaggtaatccttcagggtggtaat
ccttcagggttggaaacagaggaacagcagacaactagaagacagagctactacaactggttcgaagtcagggtccaact
caatcacactacggtcaatgtggtggtataggttactctggtccactgttctggtctctggtactacttgccaa
cttctcaacaccttactactcacagctctacactctctgcacacscatcatcatcatcattaa

Secuencia codificante para la proteína de fusión del dominio de unión a celulosa CBHI *Humicola grisea* - CBHI *Trichoderma reesei* que incluye el péptido de señal de factor alfa y etiqueta 6x His.

SEQ ID NO: 16

ggaggtitaenhprmrwkrscgpgncqtvqgevidanwrwlhnnqncvegnkwtsgcssatdcagrcaldgany
 qstygastsgdsltllkfvtkheygtnigrfylvmanqnkygmftlmnefafdvldskvecginsalyfvameed
 ggmasypsnragakyygtgydcagcarclikfiggkaniegwrpstdndpnagvgpmpgaccaeivwesnayayafp
 hacgsknryhicetnncggtyssddrfagycdangodynpymgnkdfyqkgtvdtmrkftvverfermrslsqff
 vqdgkrievppptwpglpnsaditpelodaqfrvfdrrnrfaetggfdalhealtipmvlvmsiwdhhsnmlwl
 dssyppekaglpggdrpccpttsgvpaeveaqypdagvvwsnirfgpigsitgnpsggmppggmrgtttrrpat
 ttgsspgptqshyggcggigysgptvcasgttcqvlmpyysqclasaahhhhhh

Proteína de fusión de dominio de unión a celulosa CBHI *Humicola grisea* - CBHI *Trichoderma reesei* que incluye una etiqueta 6x His (CBH-g)

5 SEQ ID NO: 17

atgagatttccttcaattttactgcagttttatttcgcagcatcctccgcattagctgctccagtcacactaca
 acagaagatgaacgggcacaaattccggctgaagctgtcatcggttacttagatttagaaggggatttcgatgtt
 gctgtttgcccattttccaacagcacaaataacgggttattgtttataaatactactattgcccagcattgctgct
 aaagaagaagggttatctttggataaaacgtgaggcgggaagcatgctcgcagcaggccggcacggcgacggcagag
 aaccaccggccctgacatggcaggaatgcaccgcccctgggagctgcaccaccagaaacggggcggtcggttctt
 gatgcgaactggcggttgggtgcacgatgtgaacggatataccaaactgctacacgggcaataacctgggacccacg
 tactgccttgacgacgaaacctgcgcccagaaactgtgcgctggacggcgccggattacgagggcactacggcggtg
 acttcgtcgggcagctccttgaaactcaatttcgtcaccgggtgcgaacgtcggatcccgctctctacctgctgcag
 gacgactcgacctatcagactctcaagctcctgaacggcgagctcagctttgacgtcgatgtctccaatcttcgg
 tgcggattgaacggcgctctgtactttgtcgccatggacggcgacggcggtgttccaagtacccgaacaacaag
 gctggtgccaaagtacgggaacgggtattgcgactcccaatgcccacgggacctcaagttcatcgacggcgaggcc
 aacgtcgagggtggtgcagccgtcttcgaacaacgccaacacgggaattggcgaccacggctcctgctgtgcggag
 atggtatgtctgggaagcaaacagcatctccaatgcgggtcactccgcaccgctgcgacacggccaggccagacgatg
 tgcctcggagatgactgcgggtggcacatactctaacgatcgtacgcgggaacctgcgatcctgcacggctgtgac
 ttcaacccttacggcatgggcaaacactctttctacgggctggcgaagatcactgataccaccaagccctcact
 gtcgtgacgcagttcctcactgatgatggtacggataactggaactctcagcgagatcaagcgcttctacatccag
 aacagcaacgtcatccgcagcccaactcggacatcagtggtgacccggcaactcgatcacgacggagttctgc
 actgctcagaagcaggcccttggcgacacggacgacttctctcagcaccgtggcctggccaagatgggagcggcc
 atgcagcagggtatggtcctggtgatgagtttggggacgactacgcgcgcagatgctgtggttggattccgac
 taccggacggatgcccgaacccacgacccctggtattgcccgtggaacgtgtccgacggactcggcgctccatcg
 gatgtcgagtcgcagagccccaactcctacgtgaacctactcgaacattaaagtttggtcgatccgtagcacaggt
 aatccttcagggtggtaatcctccagggtggaacagaggaacaacgacaaactagaagaccagctactacaactggt
 tcaagcccagggtccaaactcaactacaggtcaatgtggtggtataggttactctggtccactgcttctgtgct
 tctggtaactacttgccaagttctgaaccttactactcacagtgcttagcttctgcacatcatcaccaccacat
 taatgataa

Secuencia codificante para la fusión de CBHI *Talaromyces emersonii*/CBD *Trichoderma reesei* que incluye péptido de señal de factor alfa y etiqueta 6x His.

SEQ ID NO: 18

QQAGTATAENHPPLTWQECTAPGSCTTQNGAVVLDANWRWVHDVNGYTNCYTGNTWDPTYCPDDETCQNCALDG
 ADYEGTYGVTSSGSSSLKLNFTVGSNVGSRLLYLLQDESTYQIFKLLNREFSFDVDSNLPQGLNGALYFVAMDAG
 GVSKEYPNKAGAKYGTGYCDSQCPRDLKFIDGEANVEGWQPSNNANTGIGDHGSCCAEMDVWEANSISNAVTPH
 PCDTPQCTMCSGDDCGGTYSNDRYAGTCDPDGCFNPFYRMGNISFYGGPKI IDTTKPFVVTQFLTDDGTDGTGL
 SEIKRFYIQNSNVI PQPNSDISGVTGNSITTEFCTAQKQAFGDTDDFSQHGGGLAKMGAAQQGMVLVMSLWDDYA
 AQMLWLDSDYPTDADPTTPIARGTCPTDSGVPDVSQSPNSYVTYSNIKFGPIGTCGNPSSGNPPGCGNRGTTT
 TRRFATTTGSSPGPTQSHYQCGGIGYSGPTVCASGTTCCQVLNPFYYSQCLASARHHHHH

10

Secuencia madura de la fusión de CBHI *Talaromyces emersonii*/CBD *Trichoderma reesei* con etiqueta 6x-His (CBH-ah)

SEQ ID NO: 19

atggccagcgcgtctggcagcagcgcgtgggtacaattactgctgagaaaccatccaagaatgacgtggaagagatgt
 agtgggtccaggaaactgtcagactgttcaggggtgaggtcgatagatgctaactggagatggttgcataacaac
 ggccagaactgtcagagggttaacaagtggacctctcagtgcttctctctgctaccgactgcgctcagagatgtgct
 cttgatggagcaactaccagagtacatatgggtgcttctacctctgggtgacagccttaccctgaagtttgttaac
 aagcagcagtaacggaaccaatatcggttctagattctacctgatggcraaccagaaacagtagcagatgttacc
 ttgatgaacaacgaggttcgcttcgacgtagatctgtctaaaggtggaggtgtggaatcaattctgcttgtacttt
 gtcgctatggaagaggacggaggtatggcttcttacccttctaaccagagctgggtgctaaagtatggaactggatac
 tgcgatgcccgaatgcgctagagacctgaagttcatcggtggaaaggctaacattgaaggttggagaccttctacc
 aacgaccccaaacgctggagttgggtccaatgggtgcttggctgctgcccagagattgacgtgtgggaatctaaccgcttac
 gcctacgcttttactccacatgcttgcgggttctaagaacagataccacatttgcgaaacaaacactgtgggtggc
 acttactctgatgacagatctgctggatactgtgatgctaacggatgtgattacaacccatcacagaatgggtaac
 aaggacttttaaggaaagggttaagactgttgacactaacagaaagttcactgtgggtctcgagatttgagagaaac
 agactgtcgagcttcttctgtgcaggaacggaagaagattgaggtcccaccaccaacttggccaggattgccaac
 tctgcgacatttaccocagagtttgcgacgctcagttcagagltgttgacgacagaaacagatttgcgtgagac
 ggtgagtttgacgcttgaacgaggtctgacattccaatgggtcttagtcatgagtttgggacgataccac
 tctaaccatgcttgggtggactcttcttaccctccagagaaggctggattgctgggtgacagaggtccatgt
 ccaacaacttctggagttccagccgaggttgaggctcaataccagacgcccaggtcgtgtgggtccaacatcaga
 ttcggaccaatttggtagcacagtgatgtgggtcttgcacaccatcatcatcattga

Secuencia codificante alternativa de CBHI *Humicola grisea* con secuencia de señal

SEQ ID NO 42 [P]

LQACTATAENHPPLTWQECTAPGSCCTTRNGAVVLDANWRWVHDVNGYTNCTGNTWDPTFCPDDVTCAQNCCLDG
 ADYEGTYGVTSSGSSSLKLNFTGSGNVGSRLLYLQDDSTYQIFKLLNREFSFDVDSNLPCGLNGALYFVAMDADG
 GVSKEYPNKAGAKYGTGYCDSQCPRDLKFINGMANVEGWQPSNNANTGIGDHGSCCAEMDVWEANSISNAVTLH
 PCDTFGQTMCSGDDCGGTYSNDRYAGTCDPDGCDNFYRMGNTSFYGPCKIIDTTKPFVVTQFLTDDGTDGTL
 SEIKRFLYIQNGNVIQPPNSIISGVTGNSITTEFCTAQKQAFGDTDEFKSHGGLAKMGAAQQGMVLVMSLWDDYA
 AQMLWLDSDYPTDADFTVFGIARGTCPTDSGVPDVSQSPNSYVTFNSIKFGPINSTVFGLDGTSPSNPTATVA
 PPTSTTTSVRSTTQISTFTSQPGGCTTQKWGCQGGIGYTGCTNCVAGTTCTELNPNWYSQCLASARHHHHH

5

Mutante de CBHI *Talaromyces emersonii* con CBD celobiohidrolasa I *Chaetomium thermophilum* con etiqueta 6x His

SEQ ID NO 43 [N]

ctgcaggcctgcacggcgacggcagagaaaccacccgcccctgacatggcaggaatgcacggcccctgggagctgc
 accaccaggaaacggggcggtcgttcttgatgcgaactggcgctgggtgacagatgtgaacggatacaccaactgc
 tacacgggcaataacctgggaccccaagtaactgccttgacgacgtaacctgcgcccagaactgttgctggacggc
 gcggtatcacgaggccacctacggcgctgacttgcctggcgagctccttgaaactcaatttgcacacgggtcgaaac
 gtcggatcccgtctctacctgctgcaggacgactcgacctatcagatcttcaagcctcctgaacggcgagttcagc
 tttgaagtcgatgtctccaatcttccgtgcggattgaacggcgctctgtactttgtcgccatggacgcgcagggc
 ggctgtgccaagtacccgaacaadaaggctgggtgccaagtacggaaacgggtattgcgactcccaatgccacgg
 gacctcaagttcatcaacggcatggccaacgtcgagggtggcgagcgtcatcgaaacaacgcccaacacgggaatt
 ggcgaccacggctcctgctgcggcgagatggatgtctgggaagcaaacagcatctccaatggcgtaactctgcac
 ccgtgcgacacggccaggccagacgatgtgctctggagatgactgcggtggcacataactotaacgatcgctacggc
 ggaacctgcgatcctgacggctgtgactcaacccttaccgcatgggcaacaacttcttctacgggctggcaag
 atcatcgataccaccaagccctcactgctgtagcaggttctcactgatgatggtaacggatactgggaactctc
 agcgagatcaagcgcttctacatccagaacggcaacgtcatccgcagcccaactcgatcatcagtgggcgtaac
 ggcaactcgatcagcagggagttctgactgctcagaagcagggcctttggcgacacggaggaattctcctaagcac
 ggttgccctggccaagatgggagcgccatgcagcagggtatggctcctgggtgatgagtttctgggaacgactaacgc
 ggcgagatgctgtggttggatccgactaacgcagggatgggacccccaggtccctgggtattgcccgtggaaacg
 tgtccgacggactcgggctcccatggatgtcgagtcgcagagccccaaactcctacgtgaccttctcgaacatt
 aagtttgggtccgatacaactcgacgctccctggcctcgacggcagcaacccagcaacccgacccgacccgttgc
 cctcccaacttctaccaccacacagcgtgagaagcagcactactcagatttccaccccgactagccagccggcggc
 tgcaccaccagaagtcgggcccagtgcggtggtatcgggtacacgggctgcaactaactgcgttgcctggcactacc
 tgcactgagctcaacccctgggtacagcgagtgctgggtcttgcctcatcatcaccatcaccac

10

Secuencia codificante para el mutante de la CBHI *Talaromyces emersonii* con CBD celobiohidrolasa I *Chaetomium thermophilum* con etiqueta 6x His

SEQ ID NO 44 [P]

LQACTATAENHPPLTWQECTAPGSCCTTRNGAVVLDANWRWVHDVNGYTNCTGNTWDPTFCPDDVTCAQNCCLDG
 ADYEGTYGVTSSGSSSLKLNFTGSGNVGSRLLYLQDDSTYQIFKLLNREFSFDVDSNLPCGLNGALYFVAMDADG
 GVSKEYPNKAGAKYGTGYCDSQCPRDLKFINGMANVEGWQPSNNANTGIGDHGSCCAEMDVWEANSISNAVTLH
 PCDTFGQTMCSGDDCGGTYSNDRYAGTCDPDGCDNFYRMGNTSFYGPCKIIDTTKPFVVTQFLTDDGTDGTL
 SEIKRFLYIQNGNVIQPPNSIISGVTGNSITTEFCTAQKQAFGDTDEFKSHGGLAKMGAAQQGMVLVMSLWDDYA
 AQMLWLDSDYPTDADFTVFGIARGTCPTDSGVPDVSQSPNSYVTFNSIKFGPINSTYTGTVSSSSSVSSSSHSST'
 STSSSHSSSSTPPTQPTGTVTPQWGCQGGIGYTGSTTCASFYTCNVLPNFPYYSQCYASARHHHHH

Mutante de CBHI *Talaromyces emersonii* con CBD celobiohidrolasa *Phanerochaete chrysosporium* con etiqueta 6x

His

SEQ ID NO 45 [N]

ctgcaggcctgcaaggcgacggcagagaaaccacccgccctgacatggcaggaatgcacccgccctgggagctgc
accaccaggaacggggcggtcggtctcttgatggaactggcggtgggtgcaagatgtgaacggatacaccaactgc
tacacgggcaatacctgggacccacgtactgcccagcaagtaacctgcgccagaaactgttgccctggacggc
ggcgattacgagggcactacggcggtgacttcgtcgggcagctccttgaaactcaatttcgtcaccgggtcgaa
gtcggatcccgctctctacctgctgcaggacgactcgacctatcagatcttcaagctcctgaacccggagttcagc
tttgacgtcgatgtctccaatcttccgtgoggattgaacggcgctctgtactttgtcgccatggacggcgacggc
ggcggtgccaagtacccgaacaacaaggctggcgcaagtacggaaacgggtattgcgactcccaatgccacgg
gacctcaagttcatcaacggcatggcacaagctcgagggtggcagccgtcatcgaacaacggccaacacgggaatt
ggcgaccacggctcctgctgtgaggagatggatgtctgggaagcaaacagcatctccaatgcggtcactctgcac
ccgtgcgacacggccaggccagacgatgtgctctggagatgactggggtggcacatactctaacgatcgctacgg
ggaaacctgcgatcctgaaggctgtgacttcaaccttaccgcatgggcaaacacttcttctacgggctggcaag
atcatcgataaccaccaagccttcaactgtcgtgacgcagttctcactgatgatggtagcgatactggaaactctc
agcgagatcaagcgcttctacatccagaacggcaacgtcattccgcagcccaactcgatcatcagtgccgtgac
ggcaactcgatcacgacggagttctgcaactgctcagaagcagggccttggcgacacggacgaattctctaacgac
ggtggcctggccaagatgggagcgccatgcagcaggggtatggctcctggtgatgagttctgtgggacgactacg
gcgagatgctgtgggtggattccgactacccgacggatgoggacccacgggtccctgggtattgcccgtggaa
tgctcgacggactcgggcgtcccatcgatgtcgagtcgagagcccaactcctacgtgaccttctcgaacatt
aagtttggctcgatcaactcgacctacactggaactgtttctcactcctccgtttcactcttctcactcctcact
tctacttcactcttccattcctcactcttccactccaccaactcaaccaactggtgttactgttccacaatgggga
caatgtggtggtattgggttacactggttccactacttgtgcttcccatacacttgtcagttttgaacccatac
tactcccaatgttacgctctgctcactcatcaccatcaccacaa

5 Secuencia codificante para el mutante de la *CBHI Talaromyces emersonii* con CBD celobiohidrolasa *Phanerochaete**chrysosporium* con etiqueta 6x His

SEQ ID NO 46 [P]

lgaactataenhppltwgectapgscttrngavvlđanwrwvhdvngytncytgntwdptycpddvtcaqncldg
adyegtygvtsqsslklnfvtsnvgarlyllqddstyqifkllnrefsfddvsnlpcglngalyfvamdag
gvskypnnkagakygtgycdsgprdlkfingmanvegwpssnnantgigdhgscpaemdvweansisnavtlh
pddtpgctmcsdgcggtysndryagctdpdgcdfnpyrmgnstsfyggpkiidttkpfvvtqfltdqtdtgtl
seikrfyiqngnvipppnsiisgvtgnsittetctagkqafgdtdefskhgglakmgaaamgggmvlvmslwdya
aqmlwlđsdypdadpvtvggiargctcptdsqvpdsvesqspnsyvtfsnkfypinstftgggtssssttttsk
ststsssskttttsvttttttssgagsgagaahwaqcgngwtgpttcvspytdtkqndwysqclaeahhhhhh

Mutante de la *CBHI Talaromyces emersonii* con CBD celobiohidrolasa *Penicillium* *janthinellum* con etiqueta 6x His

SEQ ID NO 47 [N]

ctgcaggcctgcaaggcgacggcagagaaaccacccgccctgacatggcaggaatgcacccgccctgggagctgc
accaccaggaacggggcggtcggtctcttgatggaactggcggtgggtgcaagatgtgaacggatacaccaactgc
tacacgggcaatacctgggacccacgtactgcccagcaagtaacctgcgccagaaactgttgccctggacggc
ggcgattacgagggcactacggcggtgacttcgtcgggcagctccttgaaactcaatttcgtcaccgggtcgaa
gtcggatcccgctctctacctgctgcaggacgactcgacctatcagatcttcaagctcctgaacccggagttcagc
tttgacgtcgatgtctccaatcttccgtgoggattgaacggcgctctgtactttgtcgccatggacggcgacggc
ggcggtgccaagtacccgaacaacaaggctggcgcaagtacggaaacgggtattgcgactcccaatgccacgg
gacctcaagttcatcaacggcatggcacaagctcgagggtggcagccgtcatcgaacaacggccaacacgggaatt
ggcgaccacggctcctgctgtgaggagatggatgtctgggaagcaaacagcatctccaatgcggtcactctgcac
ccgtgcgacacggccaggccagacgatgtgctctggagatgactggggtggcacatactctaacgatcgctacgg
ggaaacctgcgatcctgaaggctgtgacttcaaccttaccgcatgggcaaacacttcttctacgggctggcaag
atcatcgataaccaccaagccttcaactgtcgtgacgcagttctcactgatgatggtagcgatactggaaactctc
agcgagatcaagcgcttctacatccagaacggcaacgtcattccgcagcccaactcgatcatcagtgccgtgac
ggcaactcgatcacgacggagttctgcaactgctcagaagcagggccttggcgacacgggaactctctaacgac
ggtggcctggccaagatgggagcgccatgcagcaggggtatggctcctggtgatgagttctgtgggacgactacg
gcgagatgctgtgggtggattccgactacccgacggatgoggacccacgggtccctgggtattgcccgtggaa
tgctcgacggactcgggcgtcccatcgatgtcgagtcgagagcccaactcctacgtgaccttctcgaacatt
aagtttggctcgatcaactcgacctacactgggtgggtactacttctcctcactactactactacttctcct
tccactccacttctctccaagactacaactacttccgttacaactactactacttctcctcgtgttctct
gggtactgggtgctgctcattggggtcaatgtgggtggtaatggatggactgggtccaaactacttgtgttcccatac
acttgtactaagcagaacgactgggtactctcaatgtttgggtctcgtcactcatcaccatcaccac

10 Secuencia codificante para el mutante de la *CBHI Talaromyces emersonii* con CBD celobiohidrolasa *Penicillium* *janthinellum* con etiqueta 6x His

SEQ ID NO 48 [P]

lqactataenhppltwqectapgscttrngavvldanwrwvhdvngytnctygnntwdptycpddvtcaqncoidg
 adyegtygvtsagssklfnvftgsnvgsrlyllqddstyqifklfnrefsfddvsnlpcglnqalyfvamdadg
 gvskypnnkagakygtgycdsgcprdlkfingmanvegwwpsnnantgigdhgsccaemdvweansisnavtlh
 pcdtpggtmcsqddcggtysndryagtcddpdcdfnpyrmgntsfyggpkliidttkpftvvvtqfltdddgtdgtl
 seikrfylnqgnvipqpnslisgvtqnsittetfctaqkqafgdtdefskhgglakmgaamqggmvlvmslwdya
 aqmlwldsdypddadptvpgiargtcptdsgvpsdvesqspnsyvtfsnikfcpinstftgtgstspspaggpvs
 sstsvaaqptcpaggtvaqwgqcggtgtgtptvcaspfthvvnpyysqcyasahhhhhh

Mutante de CBHI Talaromyces emersonii con CBD celobiohidrolasa Irpex lacteus con etiqueta 6x His

SEQ ID NO 49 [N]

ctgcaggcctgcacggcgacggcagagaaacacccgccccctgacatggcaggaatgcacccgccccctgggagctgc
 accaccaggaacggggcggtcggttcttgatgcgaactggcggtgggtgcacgatgtgaacgggatacaccacacgc
 tacacgggcaataacgtgggacccccacgtactgcctgcacgacgtaacctgcgccagaaactggtgctggacggc
 gcggtattacgagggcactacggcggtgacttctgctgggcagctccttgaaactcaatttctgacacgggtcgaaac
 gtcggatcccgctctctacgtgctgcaggacgactcgacctatcagatcttcaagctcctgaacccgaggttcagc
 tttgacgtcgatgctctcaatcttccgtgcggttgaaacggcgctctgtactttgtcgccatggacggcgacggc
 ggctgtgtccaaagtacccgaacaacaaggctggtgccaagtaacgaacgggtattgacgactcccaatgccacgg
 gacctcaagttcatcaacggcatggccaacgtcgagggtggcagcgtcatgaacaacggccaacacgggaatt
 ggcgaccacggctcctgctgtgaggagatggatgtctgggaagcaaacagcatctccaatggcggtcactctgcac
 ccgtggcagacacggcagggcagacgatgtgctctggagatgactggcggtggcacatactctaacgatcgctaacgg
 ggaacotggcatcctgacggctgtgacttcaacccctacccgatgggcaacacttcttctacgggctggcag
 atcatcgataaccacccaagccttcaactgtogtgaacgacttctcactgatgatggtaacggataactggaactctc
 agcgagatcaagcgcttctacatccagaacggcgaacgtcattccgcagcccaactcgatcatcagtggcggtgacc
 ggcaactcgatcacgacggagttctgcaactgctcagaacgagccttggcgacacggacgaattctctaagcac
 ggtggcctggccaagatgggagcgccatgcagcaggggtatggctcctgggtgatgagtttggggacgactacgac
 ggcagatgctgtggttggatccgactacccgacggatgggacccccacggctcctgggtattcccggtggaaacg
 tgtccgacggactcggcgctcccatcgatgtcgagtgcagagcccccaactcctacgtgaccttctcgaacatt
 aagtttggctcgatcaactcgaccttcaactggtactggttctacttctccatcttctccagctgggtccagttct
 tcttccacttccgttgccttcccaaccaactcaaccagctcaaggtactgttgcctcaatggggacaaatggtggt
 actggtttcactggcccaactggttctgcttcccatccactgtcagcttggttaaccatactactccaggtgt
 taagcttctgctcaccatcaccatccac

- 5 Secuencia codificante para el *mutante de la CBHI Talaromyces emersonii con CBD celobiohidrolasa Irpex lacteus* con etiqueta 6x His

SEQ ID NO 50 [P]

lqactataenhppltwqectapgscttrngavvldanwrwvhdvngytnctygnntwdptycpddvtcaqncoidg
 adyegtygvtsagssklfnvftgsnvgsrlyllqddstyqifklfnrefsfddvsnlpcglnqalyfvamdadg
 gvskypnnkagakygtgycdsgcprdlkfingmanvegwwpsnnantgigdhgsccaemdvweansisnavtlh
 pcdtpggtmcsqddcggtysndryagtcddpdcdfnpyrmgntsfyggpkliidttkpftvvvtqfltdddgtdgtl
 seikrfylnqgnvipqpnslisgvtqnsittetfctaqkqafgdtdefskhgglakmgaamqggmvlvmslwdya
 aqmlwldsdypddadptvpgiargtcptdsgvpsdvesqspnsyvtfsnikfcpigstgnpsggnpsggdggtt
 trrpatttgsppgtqsllygqcggygsgpticaagttcqvlnpyysqclasahhhhhh

Mutante de la CBHI Talaromyces emersonii con CBD Trichoderma reesei mutada con etiqueta 6x His

- 10 SEQ ID NO 51 [N]

ctgcaggcctgcacggcgacggcagagaaaccacccgcccctgacatggcagggaatgcacggcccctgggagctgc
accaccagggaacggggcggtcgttcttgatgggaactggcggtgggtgcacgatgtgaacgggatacaccactgc
tacacggggcaataactgggaccccacgtactgcccctgacgaogtaacctgcccagaaactgttgccctggacggc
gcggtatcagaggggacactacggcgctgacttggctggggcagctccttgaaactcaatttcgtcacggggctcgaa
gtcggatcccgtctctacctgctgcaggacgactcgacctatcagatcttcaagctcctgaacggcgagttcagc
tttgacgtcgatgtctccaatcttcgtgcggatgaacggcgctctgtactttgtcgccatggacggcgacggc
ggcgtgtccaaagtacccgaacaaacaggctgggtgcgaagtacgggaacggggtattgcgactcccaatgccacgg
gacctcaagttcatcaacggcatggccaacgtcgagggtggcagccgtcatcgaacaacggccaacacgggaatt
ggcgaccaacggctcctgctgtgcggagatggatgtctgggaagcaaacagcatctccaatggcgctactctgcac
ccgtggcgaacggccaggccagacgatgtgctctggagatgactggcggtggcacatactctaacgatcgctacgg
ggaaacctggcatcccgacggctgtgacttcaaccttacggcatgggcaacacttcttctacgggcccggcag
atcatcgataaccaccaagcccttcaactgtcgtgacgcagttcctcactgatgatggtaaggatactggaaactctc
agcgagatcaagcgctctacatccagaacggcaacgtcatctccgcagcccaactcgatccatcagtgggctgacc
ggcaactcgatcagcagcgagttctgcactgctcagaagcaggcccttggcgacacggacgaattctctaagcag
gggtggcctggccaagatgggagcggccatgcagcagggtatggctcctgggtgatgagtttggggagcactacgc
ggcagatgctgtggttggtattcgactaccggacggatgggaccccacggctcctgggtattgcccgtgggaacg
tgtccagcggactcggcgctcccatcggtatgtcgagtcgcagagccccaactcctacgtgacctctcgaacatt
aagtttgggtccgatcggtagcacaggtaactccttcagggtggtaactccttcagggtggagacggcggaacaacgaca
actagaagacagctactacaactgggttcaagtcagggtccaaactcaatcactatcagggtcaatgtgggtggtata
gggtactctggtccactatttgggtgctggtactactggcaagttctgaaccttactactcacagtggtcta
gcttctgcacatcatcaccaccaccat

Secuencia codificante para el mutante de la CBHI Talaromyces emersonii con CBD Trichoderma reesei mutada con etiqueta 6x His

Listado de secuencias

- 5 <110> Süd-Chemie AG
- <120> Enzimas de celulasa optimizadas
- 10 <130> 139 202
- <150> EP10153355
- <151> 2010-02-11
- 15 <160> 51
- <170> PatentIn version 3.4
- <210> 1
- 20 <211> 1509
- <212> ADN
- <213> Artificial
- <220>
- 25 <223> Secuencia codificante para la fusión de CBHI Talaromyces emersonii/CBD Trichoderma reesei (CBH-a madura)
- <400> 1

ES 2 689 939 T3

```

cagcaggccg gcaaggcgac ggcagagaac caccgcgccc tgacatggca ggaatgcacc 60
gcccctggga gctgcaccac ccagaacggg gcggtcggtc ttgatgcgaa ctggcggttg 120
gtgcacgatg tgaacggata caccaactgc tacacgggca atacctggga cccacgtac 180
tgccctgacg acgaaacctg cggccagaac tgtgcgctgg acggcgcgga ttacgagggc 240
acctacggcg tgacttcgtc gggcagctcc ttgaaactca atttcgtcac cgggtcgaac 300
gtcggatccc gtctctacct gctgcaggac gactcgacct atcagatctt caagctcctg 360
aaccgcgagt tcagctttga cgtcgatgtc tccaatcttc cgtgcggatt gaacggcgct 420
ctgtactttg tcgccatgga cggcagcggc ggcgtgtcca agtaccgaa caacaaggct 480
ggtgccaaagt acggaaccgg gtattgcgac tcccaatgcc cacgggacct caagttcatc 540
gacggcgagg ccaacgtcga gggctggcag ccgtcttcga acaacgcaa caccggaatt 600
ggcgaccacg gctcctgctg tgcggagatg gatgtctggg aagcaaacag catctccaat 660
gcggtcactc cgcacccgtg cgacacgcca ggccagacga tgtgctctgg agatgactgc 720
ggtggcacat actctaacga tcgtacgcg ggaacctgcg atcctgacgg ctgtgacttc 780
aacccttacc gcatgggcaa cacttctttc tacgggcctg gcaagatcat cgataccacc 840
aagcccttca ctgtcgtgac gcagttcttc actgatgatg gtacggatac tggaactctc 900
agcgagatca agcgcttcta catccagaac agcaacgtca ttccgcagcc caactcggac 960
atcagtggcg tgaccggcaa ctcgatcacg acggagtctt gcactgctca gaagcaggcc 1020
tttggcgaca cggacgactt ctctcagcac ggtggcctgg ccaagatggg agcggccatg 1080
cagcagggta tggtcctggt gatgagtttg tgggacgact acgcccgcga gatgctgtgg 1140
ttggattccg actacccgac ggatgcggac cccacgaccc ctggtattgc ccgtggaacg 1200
tgtccgacgg actcgggcgt cccatcggat gtogagtgc agagcccaa ctctacgtg 1260
acctactoga acattaagtt tggccgac ggtagcacag gtaatccttc aggtggtaat 1320
cctccagggtg gaaacagagg aacaacgaca actagaagac cagctactac aactggttca 1380
agtccaggtc caactcaatc aactacgggt caatgtggtg gtataggtta ctctgggtccc 1440
actgtttgtg cttctggtac tacttgccaa gttctgaacc cttactactc acagtgtcta 1500
taatgataa 1509

```

5 <210> 2
 <211> 500
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Secuencia madura de CBHI Talaromyces emersonii/CBD Trichoderma reesei (CBH-a madura)
 <400> 2

ES 2 689 939 T3

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

ES 2 689 939 T3

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

ES 2 689 939 T3

420

425

430

Thr Gly Asn Pro Ser Gly Gly Asn Pro Pro Gly Gly Asn Arg Gly Thr
435 440 445

Thr Thr Thr Arg Arg Pro Ala Thr Thr Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro
450 455 460

Thr Gln Ser His Tyr Gly Gln Cys Gly Gly Ile Gly Tyr Ser Gly Pro
465 470 475 480

Thr Val Cys Ala Ser Gly Thr Thr Cys Gln Val Leu Asn Pro Tyr Tyr
485 490 495

Ser Gln Cys Leu
500

<210> 3

<211> 1581

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia codificante de la fusión de CBH-a con péptido de señal CBHI Trichoderma reesei

<400> 3

atgtatcgga agttggccgt catctcggcc ttcttggcca cagctcgtgc tcagcaggcc	60
ggcacggcga cggcagagaa ccaccgccc ctgacatggc aggaatgcac cgcccctggg	120
agctgcacca ccagaaacgg ggcggtcgtt cttgatgcga actggcgttg ggtgcacgat	180
gtgaacggat acaccaactg ctacacgggc aatacctggg accccacgta ctgccctgac	240
gacgaaacct gcgccagaa ctgtgcgctg gacggcgcgg attacgaggg cacctacggc	300
gtgacttcgt cgggcagctc cttgaaactc aatttcgtca ccgggtcgaa cgtcggatcc	360
cgtctctacc tgctgcagga cgactcgacc tatcagatct tcaagctcct gaaccgcgag	420
ttcagctttg acgtcgatgt ctccaatctt ccgtgcggat tgaacggcgc tctgtacttt	480
gtcgccatgg acgccgacgg cggcgtgtcc aagtaccga acaacaaggc tggtgccaag	540
tacggaaccg ggtattgcga ctccaatgc ccacgggacc tcaagttcat cgacggcgag	600
gccaacgtcg agggctggca gccgtcttcg aacaacgcca acaccggaat tggcgaccac	660
ggctcctgct gtgcggagat ggatgtctgg gaagcaaaca gcatctccaa tgccgtcact	720
ccgcaccgtg gcgacacgcc aggccagacg atgtgctctg gagatgactg cggtggcaca	780
tactctaacg atcgctacgc gggaacctgc gatcctgacg gctgtgactt caacccttac	840
cgcatgggca acacttcttt ctacgggcct ggcaagatca tcgataccac caagcccttc	900
actgtcgtga cgcagttcct cactgatgat ggtacggata ctggaactct cagcgagatc	960

ES 2 689 939 T3

```

aagcgcttct acatccagaa cagcaacgtc attccgcagc ccaactcgga catcagtggc 1020
gtgaccggca actcgatcac gacggagttc tgcactgctc agaagcaggc ctttggcgac 1080
acggacgact tctctcagca cggtaggctg gccaaagtgg gagcggccat gcagcagggt 1140
atggtcctgg tgatgagttt gtgggacgac tacgccgcgc agatgctgtg gttggattcc 1200
gactacccga cggatgcgga cccacgacc cctggatttg cccgtggaac gtgtccgacg 1260
gactcgggcg tcccatcgga tgtcgagtcg cagagcccca actcctacgt gacctactcg 1320
aacattaagt ttggtccgat cggtagcaca ggtaatcctt caggtggtaa tcctccaggt 1380
ggaaacagag gaacaacgac aactagaaga ccagctacta caactggttc aagtccaggt 1440
ccaactcaat cacactacgg tcaatgtggt ggtataggtt actctggtcc cactgtttgt 1500
gcttctggta ctacttgcca agttctgaac cttactact cacagtgtct agcttctgca 1560
catcatcacc accaccatta a 1581

```

<210> 4

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Dominio de unión a celulosa CBHI Trichoderma reesei y secuencia enlazadora

<400> 4

Gly Ser Thr Gly Asn Pro Ser Gly Gly Asn Pro Pro Gly Gly Asn Arg
1 5 10 15

Gly Thr Thr Thr Thr Arg Arg Pro Ala Thr Thr Thr Gly Ser Ser Pro
20 25 30

Gly Pro Thr Gln Ser His Tyr Gly Gln Cys Gly Gly Ile Gly Tyr Ser
35 40 45

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

Tyr Tyr Ser Gln Cys Leu
65 70

<210> 5

<211> 437

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia CBHI Talaromyces emersonii (CBH-b)

<400> 5

Gln Gln Ala Gly Thr Ala Thr Ala Glu Asn His Pro Pro Leu Thr Trp

ES 2 689 939 T3

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

ES 2 689 939 T3

Pro Gly Lys Ile Ile Asp Thr Thr Lys Pro Phe Thr Val Val Thr Gln
275 280 285

Phe Leu Thr Asp Asp Gly Thr Asp Thr Gly Thr Leu Ser Glu Ile Lys
290 295 300

Arg Phe Tyr Ile Gln Asn Ser Asn Val Ile Pro Gln Pro Asn Ser Asp
305 310 315 320

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

Gln Lys Gln Ala Phe Gly Asp Thr Asp Asp Phe Ser Gln His Gly Gly
340 345 350

Leu Ala Lys Met Gly Ala Ala Met Gln Gln Gly Met Val Leu Val Met
355 360 365

Ser Leu Trp Asp Asp Tyr Ala Ala Gln Met Leu Trp Leu Asp Ser Asp
370 375 380

Tyr Pro Thr Asp Ala Asp Pro Thr Thr Pro Gly Ile Ala Arg Gly Thr
385 390 395 400

Cys Pro Thr Asp Ser Gly Val Pro Ser Asp Val Glu Ser Gln Ser Pro
405 410 415

Asn Ser Tyr Val Thr Tyr Ser Asn Ile Lys Phe Gly Pro Ile Asn Ser
420 425 430

Thr Phe Thr Ala Ser
435

<210> 6

<211> 1590

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia codificante de CBHI Talaromyces emersonii fusionada con el péptido de señal de factor alfa

<400> 6

atgagatttc cttcaatttt tactgcagtt ttattcgcag catcctccgc attagctgct	60
ccagtcaaca ctacaacaga agatgaaacg gcacaaattc cggctgaagc tgtcatcggt	120
tacttagatt tagaagggga ttctgatggt gctgttttgc cattttccaa cagcacaat	180
aacgggttat tgtttataaa tactactatt gccagcattg ctgctaaaga agaaggggta	240
tctttggata aacgtgaggc ggaagcacc tctcagcagg ccggcacggc gacggcagag	300

ES 2 689 939 T3

```

aaccaccogc cctgacatg gcaggaatgc accgcccctg ggagctgcac caccagaac 360
ggggcggtcg ttcttgatgc gaactggcgt tgggtgcacg atgtgaacgg atacaccaac 420
tgctacacgg gcaatacctg ggaccccacg tactgccctg acgacgaaac ctgcgcccag 480
aactgtgcgc tggacggcgc ggattacgag ggcacctacg gcgtgacttc gtcgggcagc 540
tccttgaaac tcaatttcgt caccgggtcg aacgtcggat cccgtctcta cctgctgcag 600
gacgactcga cctatcagat cttcaagctt ctgaaccgcg agttcagctt tgacgtcgat 660
gtctccaatc ttccgtgcgg attgaacggc gctctgtact ttgtcgccat ggacgccgac 720
ggcggcgtgt ccaagtaccc gaacaacaag gctggtgcc agtacggaac cgggtattgc 780
gactcccaat gccacggga cctcaagttc atcgacggcg aggccaacgt cgagggctgg 840
cagccgtctt cgaacaacgc caacaccgga attggcgacc acggctcctg ctgtgcggag 900
atggatgtct gggaagcaaa cagcatctcc aatgcggtca ctccgcaccc gtgcgacacg 960
ccagggcaga cgatgtgctc tggagatgac tgcggtggca catactctaa cgatcgctac 1020
gcgggaaact gcgatcctga cggctgtgac ttcaaccctt accgcatggg caacacttct 1080
ttctacgggc ctggcaagat catcgatacc accaagccct tcaactgtct gacgcagttc 1140
ctcactgatg atggtacgga tactggaact ctcagcgaga tcaagcgctt ctacatccag 1200
aacagcaacg tcattccgca gcccaactcg gacatcagtg gcgtgaccgg caactcgatc 1260
acgacggagt tctgcactgc tcagaagcag gcctttggcg acacggacga cttctctcag 1320
cacggtggcc tggccaagat gggagcggcc atgcagcagg gtatggctct ggtgatgagt 1380
ttgtgggacg actacgccgc gcagatgctg tggttgatt ccgactaccg gacggatgcg 1440
gaccccacga cccctggtat tgcccgtgga acgtgtccga cggactcggg cgtcccatcg 1500
gatgtcgagt cgcagagccc caactcctac gtgacctact cgaacattaa gtttgggtccg 1560
atcaactcga ccttcaccgc ttcgtgataa 1590

```

<210> 7
 <211> 429
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> CBHI *Humicola grisea* (CBH-d)

<400> 7

Gln Gln Ala Gly Thr Ile Thr Ala Glu Asn His Pro Arg Met Thr Trp
 1 5 10 15

Lys Arg Cys Ser Gly Pro Gly Asn Cys Gln Thr Val Gln Gly Glu Val
 20 25 30

Val Ile Asp Ala Asn Trp Arg Trp Leu His Asn Asn Gly Gln Asn Cys

ES 2 689 939 T3

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

ES 2 689 939 T3

Arg Lys Ile Glu Val Pro Pro Pro Thr Trp Pro Gly Leu Pro Asn Ser
305 310 315 320

Ala Asp Ile Thr Pro Glu Leu Cys Asp Ala Gln Phe Arg Val Phe Asp
325 330 335

Asp Arg Asn Arg Phe Ala Glu Thr Gly Gly Phe Asp Ala Leu Asn Glu
340 345 350

Ala Leu Thr Ile Pro Met Val Leu Val Met Ser Ile Trp Asp Asp His
355 360 365

His Ser Asn Met Leu Trp Leu Asp Ser Ser Tyr Pro Pro Glu Lys Ala
370 375 380

Gly Leu Pro Gly Gly Asp Arg Gly Pro Cys Pro Thr Thr Ser Gly Val
385 390 395 400

Pro Ala Glu Val Glu Ala Gln Tyr Pro Asp Ala Gln Val Val Trp Ser
405 410 415

Asn Ile Arg Phe Gly Pro Ile Gly Ser Thr Val Asn Val
420 425

<210> 8

<211> 1563

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia codificante de CBHI Humicola grisea fusionada con el péptido de señal de factor alfa

<400> 8

atgagatttc	cttcaatttt	tactgcagtt	ttattcgag	catcctcgc	attagctgct	60
ccagtcaaca	ctacaacaga	agatgaaacg	gcacaaattc	cggctgaagc	tgatcatcgt	120
tacttagatt	tagaagggga	tttcgatggt	gctgttttgc	cattttocaa	cagcacaat	180
aacgggttat	tgtttataaa	tactactatt	gccagcattg	ctgctaaaga	agaaggggta	240
tctttggata	aacgtgaggc	ggaagcacc	tctcagcagg	ctggtactat	tactgctgag	300
aaccacccaa	gaatgacctg	gaagagatgc	tctggtccag	gaaactgtca	gactgttcag	360
ggcgagggtg	tgattgacgc	taattggaga	tggttgaca	acaacggcca	gaactgttac	420
gagggttaaca	agtggaacctc	tcagtgttct	tctgctaccg	actgtgctca	gagatgtgct	480
ttggacgggtg	ccaactacca	gtctacctac	ggtgcttcta	cctctggtga	ctctctgacc	540
ctgaagttcg	ttaccaagca	cgagtacgga	accaacatcg	gctctagatt	ctacctgatg	600
gccaaccaga	acaagtacca	gatgttcacc	ctgatgaaca	acgagttcgc	ctttgacgtt	660

ES 2 689 939 T3

```

gacctgtcta aggtggagtg cggatatcaac tctgccctgt acttcgttgc tatggaagag 720
gacggtggaa tggcttctta cccatctaac agagccggtg ctaagtacgg tactgggttac 780
tgtgacgccc agtgtgctag agacctgaag ttcacggtg gaaaggccaa cattgagggt 840
tggagaccat ctaccaacga cccaacgct ggtgttggtc caatgggagc ttgttgtgcc 900
gagattgatg tgtgggagtc taacgcttac gcctacgctt ttaccccaca cgcttgcggt 960
tctaagaaca gataccacat ctgcgagacc aacaactgtg gtggaaccta ctctgacgac 1020
agattcgctg gatactgcga cgctaacggt tgtgactaca acccatacag aatgggcaac 1080
aaggacttct acggcaaggg aaagaccggt gacaccaaca gaaagtacac cgtggtgtcg 1140
agattcgaga gaaacagact gtcgcagttc tttgtgcagg acggcagaaa gattgaggtc 1200
ccaccaccaa cttggccagg attgccaaac tctgccgaca ttaccccaga gttgtgtgac 1260
gctcagttca gagtgttcga cgacagaaac agatttgctg agaccggtgg ttttgacgct 1320
ttgaacgagg ctctgaccat tccaatggtg ctggtgatgt ctatttgga cgaccaccac 1380
tctaacatgt tgtggctgga ctcttcttac ccaccagaga aggctggatt gccagtggt 1440
gacagaggac catgtccaac tacttcgggt gttccagctg aggttgaggc tcagtacca 1500
gacgctcagg ttgtgtggtc gaacatcaga ttcggcccaa tcggttctac cgtgaacgtg 1560
taa 1563

```

<210> 9
 <211> 439
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> CBHI Thermoascus auratiacus (CBH-e)

<400> 9

```

His Glu Ala Gly Thr Val Thr Ala Glu Asn His Pro Ser Leu Thr Trp
1          5          10          15

Gln Gln Cys Ser Ser Gly Gly Ser Cys Thr Thr Gln Asn Gly Lys Val
20          25          30

Val Ile Asp Ala Asn Trp Arg Trp Val His Thr Thr Ser Gly Tyr Thr
35          40          45

Asn Cys Tyr Thr Gly Asn Thr Trp Asp Thr Ser Ile Cys Pro Asp Asp
50          55          60

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

Thr Tyr Gly Val Thr Thr Ser Gly Asn Ala Leu Arg Leu Asn Phe Val

```

ES 2 689 939 T3

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

ES 2 689 939 T3

Gly Gly Leu Gln Lys Ile Ser Gln Ala Leu Ala Gln Gly Met Val Leu
355 360 365

Val Met Ser Leu Trp Asp Asp His Ala Ala Asn Met Leu Trp Leu Asp
370 375 380

Ser Thr Tyr Pro Thr Asp Ala Asp Pro Asp Thr Pro Gly Val Ala Arg
385 390 395 400

Gly Thr Cys Pro Thr Thr Ser Gly Val Pro Ala Asp Val Glu Ser Gln
405 410 415

Asn Pro Asn Ser Tyr Val Ile Tyr Ser Asn Ile Lys Val Gly Pro Ile
420 425 430

Asn Ser Thr Phe Thr Ala Asn
435

<210> 10

<211> 1593

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia codificante de CBHI Thermoascus auratiacus fusionada con el péptido de señal de factor alfa

<400> 10

atgagatttc	cttcaatttt	tactgcagtt	ttattcgag	catcctcgc	attagctgct	60
ccagtcaca	ctacaacaga	agatgaaacg	gcacaaattc	cggctgaagc	tgtcatcggt	120
tacttagatt	tagaaggga	tttcgatgtt	gctgttttgc	cattttccaa	cagcacaat	180
aacgggttat	tgtttataaa	tactactatt	gccagcattg	ctgctaaaga	agaaggggta	240
tctttggata	aacgtgaggc	ggaagcacc	tctcacgagg	ccggtaccgt	aaccgcagag	300
aatcacccct	ccctgacctg	gcagcaatgc	tccagcggcg	gtagttgtac	cacgcagaat	360
ggaaaagtgc	ttatcgatgc	gaactggcgt	tgggtccata	ccacctctgg	atacaccaac	420
tgctacacgg	gcaatacgtg	ggacaccagt	atctgtcccg	acgacgtgac	ctgcgctcag	480
aattgtgcct	tggatggagc	ggattacagt	ggcacctatg	gtgttacgac	cagtggcaac	540
gccctgagac	tgaactttgt	cacccaaagc	tcagggaaga	acattggctc	gcgcctgtac	600
ctgctgcagg	acgacaccac	ttatcagatc	ttcaagctgc	tgggtcagga	gtttaccttc	660
gatgtcgacg	tctccaatct	cccttgccgg	ctgaacggcg	ccctctactt	tgtggccatg	720
gacgccgacg	gcaattttgc	caaataccct	ggcaacaagg	caggcgctaa	gtatggcact	780
ggttactgcg	actotcagtg	ccctcgggat	ctcaagttca	tcaacgggtca	ggccaacggt	840
gaaggctggc	agccgtctgc	caacgaccca	aatgccggcg	ttggtaacca	cggttcctcg	900

ES 2 689 939 T3

tgcgctgaga tggatgtctg ggaagccaac agcatctcta ctgcggtgac gcctcaccca 960
tgcgacaccc ccggccagac catgtgccag ggagacgact gtggtggaac ctactcctcc 1020
actcgatatg ctggtacctg cgacactgat ggctgcgact tcaatcctta ccagccaggc 1080
aaccactcgt tctacggccc cgggaagatc gtcgacacta gctccaaatt caccgtcgtc 1140
accagttca tcaccgacga cgggacaccc tccggcacc cgcagggagat caaacgcttc 1200
tacgtccaga acggcaaggt gatccccag tcggagtcga cgtacagcgg cgtcacgggc 1260
aactcaatca ccaccgagta ttgcacggcc cagaaggcag ccttcgacaa caccggcttc 1320
ttcacgcacg ggggcttca gaagatcagt caggctctgg ctcagggcat ggtcctcgtc 1380
atgagcctgt gggacgatca cggcgaac atgctctggc tggacagcac ctacccgact 1440
gatgcggacc cggacacccc tggcgtcgcg cgcggtacct gcccacgac ctccggcgtc 1500
ccggccgacg tggagtcgca gaacccaat tcatatgtta tctactcaa catcaaggtc 1560
ggacccatca actcgacctt caccgccaac taa 1593

<210> 11
<211> 1794
5 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
10 <223> Secuencia codificante para la CBHI Trichoderma reesei (CBH-c), que incluye péptido de señal de factor alfa y etiqueta 6x His

<400> 11

atgagatttc cttcaatttt tactgcagtt ttattcgcag catcctccgc attagctgct 60
ccagtcaaca ctacaacaga agatgaaacg gcacaaattc cggctgaagc tgtcatcggc 120
tacttagatt tagaagggga ttctgatgtt gctgttttgc cattttccaa cagcacaat 180
aacgggttat tgtttataaa tactactatt gccagcattg ctgctaaaga agaaggggta 240
tctttggata aacgtgagc ggaagcacc tcttcagctt gtacactgca atccgagact 300
catccacctt taacgtggca aaagtgtagt tctggcggaa cttgtactca acagactggt 360
agtgtcgtga tagatgctaa ctggagatgg acacatgcaa cgaactctc aactaactgc 420
tacgatggta acacctggtc ttctacattg tgtcctgaca acgaaacctg cgctaagaac 480
tggtgtcttg atggagcagc ttacgcaagt acatatggtg tgactacctc tggtaacagc 540
ctttccattg gttttgtaac ccagtcggct cagaagaatg ttggtgctag attgtacctg 600
atggcttcag acaccacata ccaggagttt accttggtgg gaaacgagtt ctctttcgac 660
gtagatgtgt ctcagctacc atgtggattg aatggagcct tgtactttgt ctcaatggat 720
gcagacggag gtgtttcaaa gtacctact aacacagctg gtgctaagta tggaactgga 780
tactgcgatt ctcaatgccc aagagacctg aagttcatca acggacaagc taacgttgaa 840
ggttgggaac cttctagcaa caacgcaaac actggaattg gtggtcatgg ttcttgctgt 900

15

ES 2 689 939 T3

```

tcagagatgg acatttgga agccaactcc atcagtgaag ctttgactcc acatccatgc 960
acaactgttg ggcaagaaat ttgcgaaggt gatgggttg gtggcactta ctctgataac 1020
agatacggcg gaacatgtga tccagatgga tgtgattgga acccatacag actgggtaac 1080
acttcgtttt acggaccagg ttcttccttc actctagaca ctacgaagaa gttgactgtg 1140
gtcacccaat ttgagacttc tgggtgccatt aaccgatact acgtgcagaa cggagttact 1200
ttccaacagc caaacgctga attgggtagt tactcaggca acgagcttaa cgatgactac 1260
tgactgtctg aagaagcaga atttgggtga tcttcctttt cggataaggg tggattgacg 1320
cagttcaaga aagctacctc tgggtggaatg gttctagtca tgagtctgtg ggacgattac 1380
tacgtaaca tgctttggct ggactctact taccctacaa acgagacatc ttctactcct 1440
gggtgctgtaa gaggtagctg ttctacatct tctggagttc cagcccaagt tgagagtcaa 1500
agtccaaatg ccaaggtcac cttctccaac atcaagttcg gaccaattgg tagcacaggt 1560
aatccttcag gtggaatcc tccaggtgga aacagaggaa caacgacaac tagaagacca 1620
gctactacaa ctggttcaag tccaggtcca actcaatcac actacggtca atgtgggtgt 1680
ataggttact ctgggtccac tggttgtgct tctggtacta cttgccaagt tctgaaccct 1740
tactactcac agtgtctagc ttctgcacac catcatcatc atcattaatg ataa 1794

```

<210> 12
 <211> 496
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> CBHI Trichoderma reesei (CBH-c)

<400> 12

```

Gln Ser Ala Cys Thr Leu Gln Ser Glu Thr His Pro Pro Leu Thr Trp
1          5          10          15

Gln Lys Cys Ser Ser Gly Gly Thr Cys Thr Gln Gln Thr Gly Ser Val
20          25          30

Val Ile Asp Ala Asn Trp Arg Trp Thr His Ala Thr Asn Ser Ser Thr
35          40          45

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

Glu Thr Cys Ala Lys Asn Cys Cys Leu Asp Gly Ala Ala Tyr Ala Ser
65          70          75          80

Thr Tyr Gly Val Thr Thr Ser Gly Asn Ser Leu Ser Ile Gly Phe Val
85          90          95

```

ES 2 689 939 T3

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

ES 2 689 939 T3

Lys Lys Ala Thr Ser Gly Gly Met Val Leu Val Met Ser Leu Trp Asp
355 360 365

Asp Tyr Tyr Ala Asn Met Leu Trp Leu Asp Ser Thr Tyr Pro Thr Asn
370 375 380

Glu Thr Ser Ser Thr Pro Gly Ala Val Arg Gly Ser Cys Ser Thr Ser
385 390 395 400

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

Thr Phe Ser Asn Ile Lys Phe Gly Pro Ile Gly Ser Thr Gly Asn Pro
420 425 430

Ser Gly Gly Asn Pro Pro Gly Gly Asn Arg Gly Thr Thr Thr Thr Arg
435 440 445

Arg Pro Ala Thr Thr Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr Gln Ser His
450 455 460

Tyr Gly Gln Cys Gly Gly Ile Gly Tyr Ser Gly Pro Thr Val Cys Ala
465 470 475 480

Ser Gly Thr Thr Cys Gln Val Leu Asn Pro Tyr Tyr Ser Gln Cys Leu
485 490 495

<210> 13

<211> 1767

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia codificante para la CBHI Trichoderma viride, que incluye péptido de señal de factor alfa

<400> 13

atgagatttc cttcaatttt tactgcagtt ttattcgcag catcctccgc attagctgct	60
ccagtcaaca ctacaacaga agatgaaacg gcacaaattc cggctgaagc tgtcatcggt	120
tacttagatt tagaagggga ttctgatggt gctgttttgc cattttccaa cagcacaat	180
aacgggttat tgtttataaa tactactatt gccagcattg ctgctaaaga agaaggggta	240
tctttggata aacgtgaggc ggaagcacc tctcaatctg cttgcacctt gcagtctgaa	300
actcaccac cattgacctg gcagaagtgt tcttctggcg gtacttgtac tcagcagacc	360
ggttctgttg ttatcgacgc caactggaga tggactcacg ctaccaactc ttctaccaac	420
tgctacgacg gtaacacttg gtcgtctacc ttgtgtccag acaacgagac ctgtgccaa	480
aactgttgtt tggacgggtc tgcttacgct tctacctacg gtgttaccac ctctggtaac	540
tcgctgtcta tcgggttctg tactccagtct gccagaaaa atgttggtgc cagactgtac	600

ES 2 689 939 T3

```

ttgatggcct ctgacaccac ctaccaagag tttaccctgc tgggtaacga gttctcttct 660
gacgtggacg tttctcaact gccatgtgga ctgaacggtg ccctgtactt cgtttctatg 720
gacgtgacg gtggtgttct taagtaccca accaacaccg ctggtgctaa atacggaacc 780
ggttactgcg attctcagtg cccaagagac ctgaagttca tcaacggaca ggctaacggt 840
gaaggatggg agccatcttc taacaacgcc aacaccggtg ttggtgggtc cggttcttgc 900
tgttctgaga tggacatctg ggaggccaac tctatttctg aggctttgac cccacacca 960
tgtactactg tgggtcaaga gatctgtgag ggtgatggtt gtggtggtac ttactcggac 1020
aacagatacg gtggtacttg tgaccagac ggttgtgatt gggaccata cagactgggt 1080
aacacctctt tctacggtcc aggatcttct tttaccctgg acaccaccaa gaagttgacc 1140
gttggttacc agtttgagac ctctggtgcc atcaacagat actacgtgca gaacggtgtt 1200
actttccagc agccaaacgc tgaactggga tcttactctg gtaacggact gaacgacgac 1260
tactgtactg ctgaggaagc tgagttcggg ggttcttctt tctctgacaa ggggtgactg 1320
accagttta agaaggctac ctctggcgga atggtgctgg ttatgtcttt gtgggacgac 1380
tactacgcta acatgctgtg gcttgactct acctaccaa ctaacgagac ctcttctacc 1440
ccagtgctg ttagaggatc ttgctctacc tcttctggtg ttccagctca ggttgagtct 1500
cagtctccaa acgccaaggt gaccttctct aacatcaagt tcggtccaat cggttctact 1560
ggtgacctat ctggtggtta cccaccaggt ggaaaccac ctggtactac cactaccaga 1620
agaccagcta ccaccactgg ttcttctcca ggtccaaccc aatctcacta cggtcagtgt 1680
ggtggtattg gttactctgg tccaacogtt tgtgcttctg gaaccacctg tcaggttctg 1740
aaccatact actcgcagtg cctgtaa 1767

```

<210> 14
 <211> 497
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> CBHI Trichoderma viride (CBH-f)

<400> 14

Gln Ser Ala Cys Thr Leu Gln Ser Glu Thr His Pro Pro Leu Thr Trp
 1 5 10 15

Gln Lys Cys Ser Ser Gly Gly Thr Cys Thr Gln Gln Thr Gly Ser Val
 20 25 30

Val Ile Asp Ala Asn Trp Arg Trp Thr His Ala Thr Asn Ser Ser Thr
 35 40 45

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

ES 2 689 939 T3

50	55	60
Glu Thr Cys Ala Lys Asn Cys Cys Leu Asp Gly Ala Ala Tyr Ala Ser 65 70 75 80		
Thr Tyr Gly Val Thr Thr Ser Gly Asn Ser Leu Ser Ile Gly Phe Val 85 90 95		
Thr Gln Ser Ala Gln Lys Asn Val Gly Ala Arg Leu Tyr Leu Met Ala 100 105 110		
Ser Asp Thr Thr Tyr Gln Glu Phe Thr Leu Leu Gly Asn Glu Phe Ser 115 120 125		
Phe Asp Val Asp Val Ser Gln Leu Pro Cys Gly Leu Asn Gly Ala Leu 130 135 140		
Tyr Phe Val Ser Met Asp Ala Asp Gly Gly Val Ser Lys Tyr Pro Thr 145 150 155 160		
Asn Thr Ala Gly Ala Lys Tyr Gly Thr Gly Tyr Cys Asp Ser Gln Cys 165 170 175		
Pro Arg Asp Leu Lys Phe Ile Asn Gly Gln Ala Asn Val Glu Gly Trp 180 185 190		
Glu Pro Ser Ser Asn Asn Ala Asn Thr Gly Ile Gly Gly His Gly Ser 195 200 205		
Cys Cys Ser Glu Met Asp Ile Trp Glu Ala Asn Ser Ile Ser Glu Ala 210 215 220		
Leu Thr Pro His Pro Cys Thr Thr Val Gly Gln Glu Ile Cys Glu Gly 225 230 235 240		
Asp Gly Cys Gly Gly Thr Tyr Ser Asp Asn Arg Tyr Gly Gly Thr Cys 245 250 255		
Asp Pro Asp Gly Cys Asp Trp Asp Pro Tyr Arg Leu Gly Asn Thr Ser 260 265 270		
Phe Tyr Gly Pro Gly Ser Ser Phe Thr Leu Asp Thr Thr Lys Lys Leu 275 280 285		
Thr Val Val Thr Gln Phe Glu Thr Ser Gly Ala Ile Asn Arg Tyr Tyr 290 295 300		
Val Gln Asn Gly Val Thr Phe Gln Gln Pro Asn Ala Glu Leu Gly Ser 305 310 315 320		

ES 2 689 939 T3

Tyr Ser Gly Asn Gly Leu Asn Asp Asp Tyr Cys Thr Ala Glu Glu Ala
325 330 335

Glu Phe Gly Gly Ser Ser Phe Ser Asp Lys Gly Gly Leu Thr Gln Phe
340 345 350

Lys Lys Ala Thr Ser Gly Gly Met Val Leu Val Met Ser Leu Trp Asp
355 360 365

Asp Tyr Tyr Ala Asn Met Leu Trp Leu Asp Ser Thr Tyr Pro Thr Asn
370 375 380

Glu Thr Ser Ser Thr Pro Gly Ala Val Arg Gly Ser Cys Ser Thr Ser
385 390 395 400

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

Thr Phe Ser Asn Ile Lys Phe Gly Pro Ile Gly Ser Thr Gly Asp Pro
420 425 430

Ser Gly Gly Asn Pro Pro Gly Gly Asn Pro Pro Gly Thr Thr Thr Thr
435 440 445

Arg Arg Pro Ala Thr Thr Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr Gln Ser
450 455 460

His Tyr Gly Gln Cys Gly Gly Ile Gly Tyr Ser Gly Pro Thr Val Cys
465 470 475 480

Ala Ser Gly Thr Thr Cys Gln Val Leu Asn Pro Tyr Tyr Ser Gln Cys
485 490 495

Leu

<210> 15

<211> 1785

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia codificante de la proteína de fusión del dominio de unión a celulosa de la CBHI Humicola grisea - CBHI Trichoderma reesei que incluye péptido de señal de factor alfa y etiqueta 6x His

<400> 15

atgagatttc cttcaatttt tactgcagtt ttattcgcag catcctccgc attagctgct 60

ccagtcaaca ctacaacaga agatgaaacg gcacaaattc cggctgaagc tgtcatcggt 120

tacttagatt tagaagggga ttctgatgtt gctgttttgc cattttccaa cagcacaat 180
aacgggttat tgtttataaa tactactatt gccagcattg ctgctaaaga agaaggggta 240
tctttggata aacgtgaggc ggaagcatgc tcgcagcagg ctggtacaat tactgctgag 300
aaccatocaa gaatgacgtg gaagagatgt agtgggtccag gaaactgtca gactgttcag 360
ggtagaggtcg tgatagatgc taactggaga tgggtgcata acaacggcca gaactgctac 420
gagggtaaca agtggacctc tcagtgttct tctgctaccg actgcgctca gagatgtgct 480
cttgatggag caaactacca gagtacatat ggtgcttcta cctctggtga cagccttacc 540
ctgaagtttg taaccaagca cgagtacgga accaatatcg gttctagatt ctacctgatg 600
gctaaccaga acaagtacca gatgtttacc ttgatgaaca acgagttcgc cttcgacgta 660
gatctgtcta aggtggagtg tggaatcaat tctgccttgt actttgtcgc tatggaagag 720
gacggaggta tggtcttcta cccttctaac agagctggtg ctaagtatgg aactggatac 780
tgcgatgccc aatgcgctag agacctgaag ttcacggtg gaaaggctaa cattgaaggt 840
tgagacctt ctaccaacga cccaaacgct ggagttggtc caatgggtgc ttgctgtgcc 900
gagattgacg tgtgggaatc taacgcttac gcctacgctt ttactccaca tgcttgcggt 960
tctaagaaca gataccacat ttgcgaaacc aacaactgtg gtggcactta ctctgatgac 1020
agattcgctg gatactgtga tgctaacgga tgtgattaca acccatacag aatgggtaac 1080
aaggactttt acggaaaggg taagactgtt gacactaaca gaaagtacac tgtgggtctcg 1140
agatttgaga gaaacagact gtcgcagttc tttgtgcagg acggaagaaa gattgaggtc 1200
ccaccacca cttggccagg attgccaaac tctgccgaca ttaccccaga gttgtgcgac 1260
gctcagttca gagtgtttga cgacagaaac agatttgctg agaccggtgg atttgacgct 1320
ttgaacgagg ctctgaccat tccaatggtt ctagtcatga gtatttgga cgatcaccac 1380
tctaacatgc tttggctgga ctcttcttac cctccagaga aggtctggatt gcctggtggt 1440
gacagaggtc catgtccaac aacttctgga gttccagccg aggttgaggc tcaataacca 1500
gacgcccagg tcgtgtggtc caacatcaga ttccgaccaa ttggaagctt aacaggtaat 1560
ccttcagggtg gtaatcctcc aggtggaaac agaggaacaa cgacaactag aagaccagct 1620
actacaactg gttcaagtcc aggtccaact caatcacact acggtcaatg tgggtggtata 1680
ggttactctg gtcccactgt ttgtgcttct ggtactactt gccaaagtct gaacccttac 1740
tactcacagt gtctagcttc tgcacaccat catcatcatc attaa 1785

<210> 16
<211> 503
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Proteína de fusión del dominio de unión a celulosa CBHI Humicola grisea - CBHI Trichoderma reesei que incluye una etiqueta 6x His (CBH-g)

<400> 16

ES 2 689 939 T3

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

ES 2 689 939 T3

Ala Asn Gly Cys Asp Tyr Asn Pro Tyr Arg Met Gly Asn Lys Asp Phe
260 265 270

Tyr Gly Lys Gly Lys Thr Val Asp Thr Asn Arg Lys Phe Thr Val Val
275 280 285

Ser Arg Phe Glu Arg Asn Arg Leu Ser Gln Phe Phe Val Gln Asp Gly
290 295 300

Arg Lys Ile Glu Val Pro Pro Pro Thr Trp Pro Gly Leu Pro Asn Ser
305 310 315 320

Ala Asp Ile Thr Pro Glu Leu Cys Asp Ala Gln Phe Arg Val Phe Asp
325 330 335

Asp Arg Asn Arg Phe Ala Glu Thr Gly Gly Phe Asp Ala Leu Asn Glu
340 345 350

Ala Leu Thr Ile Pro Met Val Leu Val Met Ser Ile Trp Asp Asp His
355 360 365

His Ser Asn Met Leu Trp Leu Asp Ser Ser Tyr Pro Pro Glu Lys Ala
370 375 380

Gly Leu Pro Gly Gly Asp Arg Gly Pro Cys Pro Thr Thr Ser Gly Val
385 390 395 400

Pro Ala Glu Val Glu Ala Gln Tyr Pro Asp Ala Gln Val Val Trp Ser
405 410 415

Asn Ile Arg Phe Gly Pro Ile Gly Ser Leu Thr Gly Asn Pro Ser Gly
420 425 430

Gly Asn Pro Pro Gly Gly Asn Arg Gly Thr Thr Thr Thr Arg Arg Pro
435 440 445

Ala Thr Thr Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr Gln Ser His Tyr Gly
450 455 460

Gln Cys Gly Gly Ile Gly Tyr Ser Gly Pro Thr Val Cys Ala Ser Gly
465 470 475 480

Thr Thr Cys Gln Val Leu Asn Pro Tyr Tyr Ser Gln Cys Leu Ala Ser
485 490 495

Ala His His His His His His
500

<210> 17

<211> 1809

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia codificante para la fusión de CBHI Talaromyces emersonii/CBD Trichoderma reesei que incluye péptido de señal de factor alfa y etiqueta de 6x His

<400> 17

```

atgagatttc cttcaatttt tactgcagtt ttattcgcag catcctccgc attagctgct 60
ccagtcaaca ctacaacaga agatgaaacg gcacaaattc cggctgaagc tgtcatcggc 120
tacttagatt tagaagggga ttctgatgtt gctgttttgc cattttccaa cagcacaagt 180
aacgggttat tgttttataaa tactactatt gccagcattg ctgctaaaga agaaggggta 240
tctttggata aacgtgaggc ggaagcatgc tcgcagcagg ccggcacggc gacggcagag 300
aaccacccgc ccttgacatg gcaggaatgc accgcccctg ggagctgcac caccagaac 360
ggggcggtcg ttcttgatgc gaactggcgt tgggtgcacg atgtgaacgg atacaccaac 420
tgctacacgg gcaatacctg ggaccccacg tactgccctg acgacgaaac ctgcgccag 480
aactgtgcgc tggacggcgc ggattacgag ggcacctacg gcgtgacttc gtcgggcagc 540
tccttgaaac tcaatttcgt caccgggtcg aacgtcggat cccgtctcta cctgctgcag 600
gacgactcga cctatcagat cttcaagctc ctgaaccgcg agttcagctt tgacgtcgat 660
gtctccaatc ttccgtgcgc attgaacggc gctctgtact ttgtcgccat ggacgccgac 720
ggcgcggtgt ccaagtaccc gaacaacaag gctggtgcc agtacggaac cgggtattgc 780
gactcccaat gccacggga cctcaagttc atcgacggcg aggccaaagt cgagggctgg 840
cagccgtctt cgaacaacgc caacaccgga attggcgacc acggctcctg ctgtgcggag 900
atggatgtct gggaagcaaa cagcatctcc aatgcggtca ctccgcaccc gtgcgacacg 960
ccaggccaga cgatgtgctc tggagatgac tgcgggtggc catactctaa cgatcgctac 1020
gcgggaaact gcgacccga cggctgtgac ttcaaccctt accgcatggg caacacttct 1080
ttctacgggc ctggcaagat catcgatacc accaagccct tcaactgtct gacgcagttc 1140
ctcactgatg atggtacgga tactggaact ctcagcgaga tcaagcgctt ctacatccag 1200
aacagcaacg tcattccgca gcccaactcg gacatcagtg gcgtgaccgg caactcgatc 1260
acgacggagt tctgcactgc tcagaagcag gcctttggcg acacggacga cttctctcag 1320
cacggtggcc tggccaagat gggagcggcc atgcagcagg gtatggctct ggtgatgagt 1380
ttgtgggacg actacgccgc gcagatgctg tggttggatt ccgactaccc gacggatgcg 1440
gaccccacga cccctggtat tgcccgtgga acgtgtccga cggactcggg cgtcccatcg 1500
gatgtcgagt cgcagagccc caactcctac gtgacctact cgaacattaa gtttggctcg 1560
atcggtagca caggtaatcc ttcaggtggt aatcctccag gtggaacacg aggaacaacg 1620
acaactagaa gaccagctac tacaactggt tcaagtccag gtccaactca atcacactac 1680
ggtcaatgtg gtggtatagg ttactctggt cccactgttt gtgcttctgg tactacttgc 1740
caagtcttga acccttacta ctcacagtgt ctagcttctg cacatcatca ccaccaccat 1800
taatgataa 1809

```

5

<210> 18
<211> 509
<212> PRT
<213> Artificial

10

<220>
<223> Secuencia madura de la fusión CBHI Talaromyces emersonii/CBD Trichoderma reesei con etiqueta 6x-His (CBH-ah)

ES 2 689 939 T3

<400> 18

Gln Gln Ala Gly Thr Ala Thr Ala Glu Asn His Pro Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

Gln Glu Cys Thr Ala Pro Gly Ser Cys Thr Thr Gln Asn Gly Ala Val
20 25 30

Val Leu Asp Ala Asn Trp Arg Trp Val His Asp Val Asn Gly Tyr Thr
35 40 45

Asn Cys Tyr Thr Gly Asn Thr Trp Asp Pro Thr Tyr Cys Pro Asp Asp
50 55 60

Glu Thr Cys Ala Gln Asn Cys Ala Leu Asp Gly Ala Asp Tyr Glu Gly
65 70 75 80

Thr Tyr Gly Val Thr Ser Ser Gly Ser Ser Leu Lys Leu Asn Phe Val
85 90 95

Thr Gly Ser Asn Val Gly Ser Arg Leu Tyr Leu Leu Gln Asp Asp Ser
100 105 110

Thr Tyr Gln Ile Phe Lys Leu Leu Asn Arg Glu Phe Ser Phe Asp Val
115 120 125

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

Ala Met Asp Ala Asp Gly Gly Val Ser Lys Tyr Pro Asn Asn Lys Ala
145 150 155 160

Gly Ala Lys Tyr Gly Thr Gly Tyr Cys Asp Ser Gln Cys Pro Arg Asp
165 170 175

5

ES 2 689 939 T3

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

ES 2 689 939 T3

435

440

445

Thr Thr Thr Arg Arg Pro Ala Thr Thr Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro
450 455 460

Thr Gln Ser His Tyr Gly Gln Cys Gly Gly Ile Gly Tyr Ser Gly Pro
465 470 475 480

Thr Val Cys Ala Ser Gly Thr Thr Cys Gln Val Leu Asn Pro Tyr Tyr
485 490 495

Ser Gln Cys Leu Ala Ser Ala His His His His His His
500 505

<210> 19

<211> 1335

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia codificante alternativa de CBHI Humicola grisea con secuencia de señal

<400> 19

atggccagcg atctggcaca gcaggctggt acaattactg ctgagaacca tccaagaatg 60
acgtggaaga gatgtagtgg tccaggaaac tgtcagactg ttcagggtga ggctcgtgata 120
gatgctaact ggagatgggt gcataacaac ggccagaact gctacgaggg taacaagtgg 180
acctctcagt gttcttctgc taccgactgc gctcagagat gtgctcttga tggagcaaac 240
taccagagta catatgggtgc ttctacctct ggtgacagcc ttacctgaa gtttgtaacc 300
aagcacgagt acggaaccaa tatcggttct agattctacc tgatggctaa ccagaacaag 360
taccagatgt ttaccttgat gaacaacgag ttgcgcttcg acgtagatct gtctaagggtg 420
gagtgtggaa tcaattctgc cttgtacttt gtcgctatgg aagaggacgg aggtatggct 480
tcttaccctt ctaacagagc tgggtgctaag tatggaactg gatactgcga tgcccaatgc 540
gctagagacc tgaagttcat cgggtgaaag gctaacattg aaggttggag accttctacc 600
aacgacccaa acgctggagt tgggtccaatg ggtgcttgct gtgccgagat tgacgtgtgg 660
gaatctaacg cttacgccta cgcttttact ccacatgctt gcggttctaa gaacagatac 720
cacatttgcg aaaccaacaa ctgtggtggc acttactctg atgacagatt cgctggatac 780
tgtgatgcta acggatgtga ttacaaccca tacagaatgg gtaacaagga cttttacgga 840
aagggtgaaga ctgttgacac taacagaaag ttactgtgg tctcgagatt tgagagaaac 900
agactgtcgc agttctttgt gcaggacgga agaaagattg aggtcccacc accaacttgg 960
ccaggattgc caaactctgc cgacattacc ccagagttgt gcgacgctca gttcagagtg 1020
tttgacgaca gaaacagatt tgctgagacc ggtggatttg acgctttgaa cgaggctctg 1080

ES 2 689 939 T3

	accattccaa tggttctagt catgagtatt tgggacgac accactctaa catgctttgg	1140
	ctggactctt cttaccctcc agagaaggct ggattgcctg gtggtgacag aggtccatgt	1200
	ccaacaactt ctggagttcc agccgaggtt gaggetcaat acccagacgc ccaggtcgtg	1260
	tgggtccaaca tcagattcgg accaattggt agcacagtga atgtggcttc tgcacaccat	1320
	catcatcatc attga	1335
	<210> 20	
	<211> 41	
5	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
10	<223> Cebador directo	
	<400> 20	
	gaggcggaag caccctctca atctgctgc acctgcagt c	41
15	<210> 21	
	<211> 38	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
20	<220>	
	<223> Cebador inverso	
	<400> 21	
25	ggagacgcag agcccttatt acaggcactg cgagtagt	38
	<210> 22	
	<211> 41	
	<212>ADN	
30	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador directo	
35	<400> 22	
	gaggcggaag caccctctca gcaggctggt actattactg c	41
40	<210> 23	
	<211> 44	
	<212>ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
45	<223> Cebador inverso	
	<400> 23	
50	ggagacgcag agcccttaca cgttcacggt agaaccgatt gggc	44
	<210> 24	
	<211> 41	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
55	<220>	
	<223> Cebador directo	
	<400> 24	

gaggcggaag caccctctca cgaggccggt accgtaaccg c 41

5 <210> 25
<211> 41
<212> ADN
<213> Artificial

10 <220>
<223> Cebador inverso

<400> 25

15 ggagacgcag agcccttatt agttggcggg gaaggtcgag t 41

<210> 26
<211> 41
<212> ADN
<213> Artificial

20 <220>
<223> Cebador directo

<400> 26

25 gaggcggaag caccctctca gcaggccggc acggcgacgg c 41

<210> 27
<211> 41
<212> ADN
<213> Artificial

30 <220>
<223> Cebador inverso

35 <400> 27

ggagacgcag agcccttatc acgaagcggg gaaggtcgag t 41

40 <210> 28
<211> 41
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Cebador directo

<400> 28

50 gaggcggaag caccctctca gcaggccggc acggcgacgg c 41

<210> 29
<211> 38
<212> ADN
<213> Artificial

55 <220>
<223> Cebador inverso

60 <400> 29

attacctgtg ctaccgatcg gaccaaactt aatgttcg 38

65 <210> 30
<211> 38
<212> ADN

<213> Artificial
 <220>
 <223> Cebador directo
 5 <400> 30
 aagtttggtc cgatcggtag cacaggtaat ccttcagg 38
 10 <210> 31
 <211> 44
 <212>ADN
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> Cebador inverso
 <400> 31
 20 ggagacgcag agcccttatt atagacactg tgagtagtaa ggg 44
 <210> 32
 <211> 41
 <212>ADN
 25 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cebador directo
 30 <400> 32
 gaggcggaag caccctctca gcaggccggc acggcgacgg c 41
 <210> 33
 35 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 40 <223> Cebador inverso
 <400> 33
 ggagacgcag agcccttattc attaatggtg gtggtgatga tgag 44
 45 <210> 34
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> Cebador directo
 <400> 34
 55 aggcggaagc atgctgcgag caggctggta caattactgc 40
 <210> 35
 <211> 41
 60 <212>ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cebador inverso
 65 <400> 35

ggattacctg ttaagcttc aattgggccg aatctgatgt t 41

5 <210> 36
<211> 42
<212> ADN
<213> Artificial

10 <220>
<223> Cebador directo

<400> 36

15 accaattgga agcttaacag gtaatccttc aggtggaat cc 42

<210> 37
<211> 46
<212>ADN
<213> Artificial

20 <220>
<223> Cebador inverso

<400> 37

25 atcttcgagg tcgactatc attaatgatg atgatgatgg tgtgca 46

<210> 38
<211> 40
<212> ADN
<213> Artificial

30 <220>
<223> Cebador directo

35 <400> 38

aggcggaagc atgctcgag caggctggta caattactgc 40

40 <210> 39
<211> 46
<212> ADN
<213> Artificial

45 <220>
<223> Cebador inverso

<400> 39

50 atcttcgagg tcgactatc attaatgatg atgatgatgg tgtgca 46

<210> 40
<211> 21
<212> ADN

55 <213> Artificial

<220>
<223> Oligonucleótido alfa-f

60 <400> 40

tactattgcc agcattgctg c 21

65 <210> 41
<211> 23
<212>ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotido oli740

5

<400> 41

tcagctattt cacatacaaa tcg 23

10

<210> 42

<211> 521

<212> PRT

<213> artificial

15

<220>

<223> Mutante de CBHI Talaromyces emersonii con CBD celobiohidrolasa I Chaetomium thermophilum con etiqueta 6x His

20

<400> 42

Leu Gln Ala Cys Thr Ala Thr Ala Glu Asn His Pro Pro Leu Thr Trp
1 5 10 15

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

Val Leu Asp Ala Asn Trp Arg Trp Val His Asp Val Asn Gly Tyr Thr
35 40 45

Asn Cys Tyr Thr Gly Asn Thr Trp Asp Pro Thr Tyr Cys Pro Asp Asp
50 55 60

Val Thr Cys Ala Gln Asn Cys Cys Leu Asp Gly Ala Asp Tyr Glu Gly
65 70 75 80

Thr Tyr Gly Val Thr Ser Ser Gly Ser Ser Leu Lys Leu Asn Phe Val
85 90 95

Thr Gly Ser Asn Val Gly Ser Arg Leu Tyr Leu Leu Gln Asp Asp Ser
100 105 110

Thr Tyr Gln Ile Phe Lys Leu Leu Asn Arg Glu Phe Ser Phe Asp Val
115 120 125

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

Ala Met Asp Ala Asp Gly Gly Val Ser Lys Tyr Pro Asn Asn Lys Ala
145 150 155 160

ES 2 689 939 T3

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

ES 2 689 939 T3

Asn Ser Tyr Val Thr Phe Ser Asn Ile Lys Phe Gly Pro Ile Asn Ser
420 425 430

Thr Val Pro Gly Leu Asp Gly Ser Thr Pro Ser Asn Pro Thr Ala Thr
435 440 445

Val Ala Pro Pro Thr Ser Thr Thr Thr Ser Val Arg Ser Ser Thr Thr
450 455 460

Gln Ile Ser Thr Pro Thr Ser Gln Pro Gly Gly Cys Thr Thr Gln Lys
465 470 475 480

Trp Gly Gln Cys Gly Gly Ile Gly Tyr Thr Gly Cys Thr Asn Cys Val
485 490 495

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

Ala Ser Ala His His His His His His
515 520

<210> 43

<211> 1563

<212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia codificante para el mutante de la CBH Talaromyces emersonii con CBD celobiohidrolasa I Chaetomium thermophilum con etiqueta 6x His

<400> 43

ctgcaggcct gcacggcgac ggcagagaac caccgcggcc tgacatggca ggaatgcacc	60
gccctctggga gctgcaccac caggaacggg gcggtcgttc ttgatgcgaa ctggcggttg	120
gtgcacgatg tgaacggata caccaactgc tacacgggca atacctggga cccacgtac	180
tgccttgacg acgtaacctg cggccagaac tgttgctctg acggcgcgga ttacgagggc	240
acctacggcg tgacttcgtc gggcagctcc ttgaaactca atttcgtcac cgggtcgaac	300
gtcgggatecc gtctctacct gctgcaggac gactcgacct atcagatctt caagctcctg	360
aaccgcgagt tcagctttga cgtcgatgtc tccaatcttc cgtgcggatt gaacggcgct	420
ctgtactttg tcgccatgga cgccgacggc ggcggtgtcca agtaccgaa caacaaggct	480
ggtgccaaagt acggaaccgg gtattgacgac tcccaatgcc cacgggacct caagttcatc	540
aacggcatgg ccaacgtcga gggctggcag ccgtcatcga acaacgcaa caccggaatt	600
ggcgaccacg gctcctgctg tgcggagatg gatgtctggg aagcaaacag catctccaat	660
gcggctactc tgcacccgtg cgacacgcca ggccagacga tgtgctctgg agatgactgc	720
ggtggcacat actotaacga tcgtacacgg ggaacctgcg atcctgacgg ctgtgacttc	780
aacccttacc gcatggggca cacttctttc tacgggcctg gcaagatcat cgataccacc	840

ES 2 689 939 T3

```

aagcccttca ctgtcgtgac gcagttcctc actgatgatg gtacggatac tggaactctc   900
agcgagatca agcgcttcta catccagaac ggcaacgtca ttccgcagcc caactcgatc   960
atcagtggcg tgaccggcaa ctcgatcacg acggagttct gcactgctca gaagcaggcc  1020
tttggcgaca cggacgaatt ctctaagcac ggtggcctgg ccaagatggg agcggccatg  1080
cagcagggta tggctctggt gatgagtttg tgggacgact acgccgcgca gatgctgtgg  1140
ttggattccg actacccgac ggatgcggac cccacgggcc ctggtattgc ccgtggaacg  1200
tgtccgacgg actcgggcgt cccatcggat gtcgagtcgc agagcccaa ctctacgtg  1260
accttctcga acattaagtt tggccgatc aactcgaccg tccctggcct cgacggcagc  1320
acccccagca acccgaccgc caccgttgct cctccactt ctaccaccac cagcgtgaga  1380
agcagcacta ctcagatttc caccocgact agccagcccg gcggctgcac caccagaag  1440
tggggccagt gcggtggtat cggctacacc ggctgcacta actgcgttgc tggcactacc  1500
tgcactgagc tcaaccctg gtacagccag tgccctggctt ctgctcatca tcaccatcac  1560
cac                                                                    1563

```

<210> 44
 <211> 514
 <212> PRT
 <213> artificial

<220>

<223> Mutante de CBHI Talaromyces emersonii con CBD celobiohidrolasa Phanerochaete chrysosporium con etiqueta 6x His

<400> 44

```

Leu Gln Ala Cys Thr Ala Thr Ala Glu Asn His Pro Pro Leu Thr Trp
1          5          10          15

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

Val Leu Asp Ala Asn Trp Arg Trp Val His Asp Val Asn Gly Tyr Thr
35          40          45

Asn Cys Tyr Thr Gly Asn Thr Trp Asp Pro Thr Tyr Cys Pro Asp Asp
50          55          60

Val Thr Cys Ala Gln Asn Cys Cys Leu Asp Gly Ala Asp Tyr Glu Gly
65          70          75          80

Thr Tyr Gly Val Thr Ser Ser Gly Ser Ser Leu Lys Leu Asn Phe Val
85          90          95

Thr Gly Ser Asn Val Gly Ser Arg Leu Tyr Leu Leu Gln Asp Asp Ser
100         105         110

```

ES 2 689 939 T3

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

ES 2 689 939 T3

Ser Leu Trp Asp Asp Tyr Ala Ala Gln Met Leu Trp Leu Asp Ser Asp
370 375 380

Tyr Pro Thr Asp Ala Asp Pro Thr Val Pro Gly Ile Ala Arg Gly Thr
385 390 395 400

Cys Pro Thr Asp Ser Gly Val Pro Ser Asp Val Glu Ser Gln Ser Pro
405 410 415

Asn Ser Tyr Val Thr Phe Ser Asn Ile Lys Phe Gly Pro Ile Asn Ser
420 425 430

Thr Tyr Thr Gly Thr Val Ser Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser His Ser
435 440 445

Ser Thr Ser Thr Ser Ser Ser His Ser Ser Ser Ser Thr Pro Pro Thr
450 455 460

Gln Pro Thr Gly Val Thr Val Pro Gln Trp Gly Gln Cys Gly Gly Ile
465 470 475 480

Gly Tyr Thr Gly Ser Thr Thr Cys Ala Ser Pro Tyr Thr Cys His Val
485 490 495

Leu Asn Pro Tyr Tyr Ser Gln Cys Tyr Ala Ser Ala His His His His
500 505 510

His His

<210> 45

<211> 1545

<212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia codificante para el Mutante de la CBHI Talaromyces emersonii con CBD celobiohidrolasa Phanerochaete chrysosporium con etiqueta 6x His

<400> 45

ctgcaggcct gcacggcgac ggagagaaac caccgcccc tgacatggca ggaatgcacc	60
gcccttggga gctgcaccac caggaacggg gcggtcgttc ttgatgcgaa ctggcggttg	120
gtgcacgatg tgaacggata caccaactgc tacacgggca atacctggga cccacgtac	180
tgccctgacg acgtaacctg cggccagaaac tgttgccctg acggcgcgga ttacgagggc	240
acctacggcg tgacttcgtc gggcagctcc ttgaaactca atttcgtcac cgggtcgaac	300
gtcggatccc gtctctacct gctgcaggac gactcgacct atcagatctt caagctcctg	360
aaccgcgagt tcagctttga cgtcgatgtc tccaatcttc cgtgcggatt gaacggcgct	420

ES 2 689 939 T3

```

ctgtactttg tcgcatgga cgccgacggc ggctgtcca agtaccgaa caacaaggct 480
gggtgccaagt acggaaccgg gtattgcgac tccaatgcc cacgggacct caagttcatc 540
aacggcatgg ccaacgtcga gggctggcag ccgtcatcga acaacgcaa caccggaatt 600
ggcgaccacg gctcctgctg tgcggagatg gatgtctggg aagcaaacag catctccaat 660
gcggtcactc tgcacccgtg cgacacgcca ggccagacga tgtgctctgg agatgactgc 720
gggtggcacat actctaacga tcgtacgcg ggaacctgcg atcctgacgg ctgtgacttc 780
aaccottacc gcatgggcaa cacttctttc tacgggcctg gcaagatcat cgataccacc 840
aagcccttca ctgtcgtgac gcagttctc actgatgatg gtacggatac tggaactctc 900
agcgagatca agcgttctc catccagaac ggcaacgtca ttccgcagcc caactcgatc 960
atcagtggcg tgaccggcaa ctcgatcacg acggagttct gcactgctca gaagcaggcc 1020
tttgcgaca cggacgaatt ctctaagcac ggtggcctgg ccaagatggg agcggccatg 1080
cagcagggta tggtcctggt gatgagtttg tgggacgact acgccgcgca gatgctgtgg 1140
ttggattccg actaccgac ggatgcggac cccacggctc ctggtattgc ccgtggaacg 1200
tgtccgacgg actcgggcgt cccatcggat gtcgagtcgc agagcccaa ctctacgtg 1260
accttctcga acattaagtt tggccgatc aactcgacct aactggaac tgtttcttca 1320
tcctccgttt catcttctc ctctccact tctacttcat cttccattc ctcatcttcc 1380
actccaccaa ctcaaccaac tgggtgttact gtccacaat ggggacaatg tggtggtatt 1440
ggttacactg gttccactac ttgtgcttcc ccatacactt gtcacgtttt gaaccatac 1500
tactccaat gttacgcttc tgctcatcat caccatcacc actaa 1545

```

<210> 46
 <211> 522
 <212> PRT
 <213> artificial

<220>
 <223> Mutante de CBHI Talaromyces emersonii con CBD celobiohidrolasa Penicillium janthinellum con etiqueta 6x His

<400> 46

Leu Gln Ala Cys Thr Ala Thr Ala Glu Asn His Pro Pro Leu Thr Trp
 1 5 10 15

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

Val Leu Asp Ala Asn Trp Arg Trp Val His Asp Val Asn Gly Tyr Thr
 35 40 45

Asn Cys Tyr Thr Gly Asn Thr Trp Asp Pro Thr Tyr Cys Pro Asp Asp
 50 55 60

ES 2 689 939 T3

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

ES 2 689 939 T3

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

Gln Lys Gln Ala Phe Gly Asp Thr Asp Glu Phe Ser Lys His Gly Gly
340 345 350

Leu Ala Lys Met Gly Ala Ala Met Gln Gln Gly Met Val Leu Val Met
355 360 365

Ser Leu Trp Asp Asp Tyr Ala Ala Gln Met Leu Trp Leu Asp Ser Asp
370 375 380

Tyr Pro Thr Asp Ala Asp Pro Thr Val Pro Gly Ile Ala Arg Gly Thr
385 390 395 400

Cys Pro Thr Asp Ser Gly Val Pro Ser Asp Val Glu Ser Gln Ser Pro
405 410 415

Asn Ser Tyr Val Thr Phe Ser Asn Ile Lys Phe Gly Pro Ile Asn Ser
420 425 430

Thr Phe Thr Gly Gly Thr Thr Ser Ser Ser Ser Thr Thr Thr Thr Thr
435 440 445

Ser Lys Ser Thr Ser Thr Ser Ser Ser Ser Lys Thr Thr Thr Thr Ser
450 455 460

Val Thr Thr Thr Thr Thr Ser Ser Gly Ser Ser Gly Thr Gly Ala Ala
465 470 475 480

His Trp Ala Gln Cys Gly Gly Asn Gly Trp Thr Gly Pro Thr Thr Cys
485 490 495

Val Ser Pro Tyr Thr Cys Thr Lys Gln Asn Asp Trp Tyr Ser Gln Cys
500 505 510

Leu Ala Ser Ala His His His His His His
515 520

<210> 47

<211> 1566

<212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia codificante para el Mutante de la CBHI Talaromyces emersonii con CBD celobiohidrolasa
Penicillium janthinellum con etiqueta 6x His

<400> 47

```
ctgcaggcct gcaaggcgac ggcagagaac caccgcgcc tgacatggca ggaatgcacc 60
gcccctggga gctgcaccac caggaacggg gcggtcggtc ttgatgcgaa ctggcggttg 120
```

ES 2 689 939 T3

```

gtgcacgatg tgaacggata caccaactgc tacacgggca atacctggga cccacgtac 180
tgccctgacg acgtaacctg cggccagaac tgttgccctgg acggcgggga ttacgagggc 240
acctacggcg tgacttcgtc gggcagctcc ttgaaactca atttcgtcac cgggtcgaac 300
gtcggatccc gtctctacct gctgcaggac gactcgacct atcagatctt caagctcctg 360
aaccgcgagt tcagctttga cgtcgatgtc tccaatcttc cgtgcggatt gaacggcgct 420
ctgtactttg tcgccatgga cggcagggc ggcgtgtcca agtaccgaa caacaaggct 480
gggtccaagt acggaaccgg gtattgcgac tcccaatgcc cacgggacct caagttcatc 540
aacggcatgg ccaacgtcga gggctggcag ccgtcatcga acaacgcaa caccggaatt 600
ggcgaccacg gctcctgctg tcgggagatg gatgtctggg aagcaaacag catctccaat 660
gcggtcactc tgcaccctg cgcacgcca ggccagacga tgtgctctgg agatgactgc 720
gggtggacat actctaacga tcgtacgcg ggaacctgcg atcctgacgg ctgtgacttc 780
aacccttacc gcatgggcaa cacttctttc tacgggcctg gcaagatcat cgataccacc 840
aagcccttca ctgtcgtgac gcagttctc actgatgatg gtacggatac tggaactctc 900
agcgagatca agcgcttcta catccagaac ggcaacgtca ttccgcagcc caactcgatc 960
atcagtggcg tgaccggcaa ctcgatcacg acggagttct gcactgctca gaagcaggcc 1020
tttggcgaca cggacgaatt ctctaagcac ggtggcctgg ccaagatggg agcggccatg 1080
cagcagggta tggctcctgg gatgagtttg tgggacgact acgccgcgca gatgctgtgg 1140
ttggattccg actaccgac ggatgcggac cccacggctc ctggtattgc ccgtggaacg 1200
tgtccgacgg actcgggcgt cccatcggat gtcgagtcgc agagcccaa ctctacgtg 1260
acctctctga acattaagtt tgggtccgatc aactcgacct tcactggtgg tactacttca 1320
tcctcctcca ctactactac aacttccaag tccacttcca cttcatcttc atccaagact 1380
acaactactt ccgttacaac tactactact tcctctggtt cttctggtac tgggtgctgct 1440
cattgggctc aatgtggtgg taatggatgg actgggtcaa ctacttgtgt tccccatac 1500
acttgacta agcagaacga ctggtactct caatgtttgg cttctgctca tcatcaccat 1560
caccac 1566

```

<210> 48

<211> 510

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> Mutante de CBHI Talaromyces emersonii con CBD celobiohidrolasa Irpex lacteus con etiqueta 6x His

<400> 48

Leu	Gln	Ala	Cys	Thr	Ala	Thr	Ala	Glu	Asn	His	Pro	Pro	Leu	Thr	Trp
1				5					10					15	

ES 2 689 939 T3

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

ES 2 689 939 T3

Pro Gly Lys Ile Ile Asp Thr Thr Lys Pro Phe Thr Val Val Thr Gln
275 280 285

Phe Leu Thr Asp Asp Gly Thr Asp Thr Gly Thr Leu Ser Glu Ile Lys
290 295 300

Arg Phe Tyr Ile Gln Asn Gly Asn Val Ile Pro Gln Pro Asn Ser Ile
305 310 315 320

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

Gln Lys Gln Ala Phe Gly Asp Thr Asp Glu Phe Ser Lys His Gly Gly
340 345 350

Leu Ala Lys Met Gly Ala Ala Met Gln Gln Gly Met Val Leu Val Met
355 360 365

Ser Leu Trp Asp Asp Tyr Ala Ala Gln Met Leu Trp Leu Asp Ser Asp
370 375 380

Tyr Pro Thr Asp Ala Asp Pro Thr Val Pro Gly Ile Ala Arg Gly Thr
385 390 395 400

Cys Pro Thr Asp Ser Gly Val Pro Ser Asp Val Glu Ser Gln Ser Pro
405 410 415

Asn Ser Tyr Val Thr Phe Ser Asn Ile Lys Phe Gly Pro Ile Asn Ser
420 425 430

Thr Phe Thr Gly Thr Gly Ser Thr Ser Pro Ser Ser Pro Ala Gly Pro
435 440 445

Val Ser Ser Ser Thr Ser Val Ala Ser Gln Pro Thr Gln Pro Ala Gln
450 455 460

Gly Thr Val Ala Gln Trp Gly Gln Cys Gly Gly Thr Gly Phe Thr Gly
465 470 475 480

Pro Thr Val Cys Ala Ser Pro Phe Thr Cys His Val Val Asn Pro Tyr
485 490 495

Tyr Ser Gln Cys Tyr Ala Ser Ala His His His His His His
500 505 510

<210> 49

<211> 1530

<212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia codificante para el mutante de la CBHI *Talaromyces emersonii* con CBD celobiohidrolasa *Irpe*
lacteus con etiqueta 6x His

<400> 49

ES 2 689 939 T3

```

ctgcaggcct gcaaggcgac ggcagagaac caccgcgcc tgacatggca ggaatgcacc 60
gcccctggga gctgcaccac caggaacggg gcggtcggtc ttgatgcgaa ctggcggttg 120
gtgcacgatg tgaacggata caccaactgc tacacgggca atacctggga cccacgtac 180
tgccctgacg acgtaacctg cgcccagAAC tgttgccctgg acggcgcgga ttacgagggc 240
acctacggcg tgacttcgtc gggcagctcc ttgaaactca atttcgtcac cgggtcgaac 300
gtcggatccc gtctctacct gctgcaggac gactcgacct atcagatctt caagctcctg 360
aaccgcgagt tcagctttga cgtcgatgtc tccaatcttc cgtgcggatt gaacggcgct 420
ctgtactttg tcgccatgga cgccgacggc ggcgtgtcca agtaccgaa caacaaggct 480
ggtgccaagt acggaaccgg gtattgcgac tccaatgcc cacgggacct caagttcatc 540
aacggcatgg ccaacgtcga gggctggcag ccgtcatcga acaacgcaa caccggaatt 600
ggcgaccacg gctcctgtg tgccgagatg gatgtctggg aagcaaacag catctccaat 660
gcggtcactc tgcacccgtg cgacacgcca ggcagacga tgtgctctgg agatgactgc 720
ggtggcacat actctaacga tcgtacgcg ggaacctgcg atcctgacgg ctgtgacttc 780
aacccttacc gcatgggcaa cacttctttc tacgggcctg gcaagatcat cgataccacc 840
aagcccttca ctgtcgtgac gcagttctc actgatgatg gtacggatac tggaactctc 900
agcgagatca agcgcttcta catccagaac ggcaacgtca ttccgcagcc caactcgatc 960
atcagtggcg tgaccggcaa ctcgatcacg acggagttct gcactgctca gaagcaggcc 1020
tttggcgaca cggacgaatt ctctaagcac ggtggccttg ccaagatggg agcggccatg 1080
cagcagggta tggctcctgg gatgagtttg tgggacgact acgcccgcga gatgctgtgg 1140
ttggattccg actaccgac ggatgcggac cccacggctc ctggtattgc ccgtggaacg 1200
tgtccgacgg actcgggctg cccatcggat gtcgagtcgc agagcccaa ctctacgtg 1260
accttctcga acattaagtt tggctccgac aactcgacct tcactggtac tggttctact 1320
tctccatctt ctccagctg tccagtttct tcttccactt ccgttgcttc ccaaccaact 1380
caaccagctc aagggtactgt tgctcaatgg ggacaatgtg gtggtactgg ttctactggt 1440
ccaactgttt gtgcttcccc attcacttgt cacgttggtta acccatacta ctcccagtgt 1500
tacgcttctg ctcatcatca tcaccatcac 1530

```

<210> 50

<211> 509

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> Mutante de CBHI Talaromyces emersonii con CBD Trichoderma reesei mutado con etiqueta 6x His

<400> 50

ES 2 689 939 T3

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

ES 2 689 939 T3

Gly Gly Thr Tyr Ser Asn Asp Arg Tyr Ala Gly Thr Cys Asp Pro Asp
 245 250 255
 Gly Cys Asp Phe Asn Pro Tyr Arg Met Gly Asn Thr Ser Phe Tyr Gly
 260 265 270
 Pro Gly Lys Ile Ile Asp Thr Thr Lys Pro Phe Thr Val Val Thr Gln
 275 280 285
 Phe Leu Thr Asp Asp Gly Thr Asp Thr Gly Thr Leu Ser Glu Ile Lys
 290 295 300
 Arg Phe Tyr Ile Gln Asn Gly Asn Val Ile Pro Gln Pro Asn Ser Ile
 305 310 315 320
 Ile Ser Gly Val Thr Gly Asn Ser Ile Thr Thr Glu Phe Cys Thr Ala
 325 330 335
 Gln Lys Gln Ala Phe Gly Asp Thr Asp Glu Phe Ser Lys His Gly Gly
 340 345 350
 Leu Ala Lys Met Gly Ala Ala Met Gln Gln Gly Met Val Leu Val Met
 355 360 365
 Ser Leu Trp Asp Asp Tyr Ala Ala Gln Met Leu Trp Leu Asp Ser Asp
 370 375 380
 Tyr Pro Thr Asp Ala Asp Pro Thr Val Pro Gly Ile Ala Arg Gly Thr
 385 390 395 400
 Cys Pro Thr Asp Ser Gly Val Pro Ser Asp Val Glu Ser Gln Ser Pro
 405 410 415
 Asn Ser Tyr Val Thr Phe Ser Asn Ile Lys Phe Gly Pro Ile Gly Ser
 420 425 430
 Thr Gly Asn Pro Ser Gly Gly Asn Pro Ser Gly Gly Asp Gly Gly Thr
 435 440 445
 Thr Thr Thr Arg Arg Pro Ala Thr Thr Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro
 450 455 460
 Thr Gln Ser Leu Tyr Gly Gln Cys Gly Gly Ile Gly Tyr Ser Gly Pro
 465 470 475 480
 Thr Ile Cys Ala Ser Gly Thr Thr Cys Gln Val Leu Asn Pro Tyr Tyr
 485 490 495
 Ser Gln Cys Leu Ala Ser Ala His His His His His His
 500 505

<210> 51

<211> 1527

<212> ADN

<213> artificial

<220>

<223> Secuencia codificante para el mutante de la CBHI *Talaromyces emersonii* con CBD *Trichoderma reesei* mutado con etiqueta 6x His

ES 2 689 939 T3

<400> 51

ctgcaggcct gcacggcgac ggcagagaac caccgcgcc tgacatggca ggaatgcacc	60
gcccctggga gctgcaccac caggaacggg gcggtcgttc ttgatgcgaa ctggcggttg	120
gtgcacgatg tgaacggata caccaactgc tacacgggca atacctggga cccacgtac	180
tgcctgacg acgtaacctg cggccagaac tgttgccctgg acggcgcgga ttacgagggc	240
acctacggcg tgacttcgtc gggcagctcc ttgaaactca atttcgtcac cgggtcgaac	300
gtcggatccc gtctctacct gctgcaggac gactcgacct atcagatctt caagctcctg	360
aaccgcgagt tcagctttga cgtcgatgtc tccaatcttc cgtgcggatt gaacggcgct	420
ctgtactttg tcgccatgga cggcgacggc ggcgtgtcca agtaccgaa caacaaggct	480
ggtgccaaagt acggaaccgg gtattgcgac tcccaatgcc cacgggacct caagttcatc	540
aacggcatgg ccaacgtcga gggctggcag ccgtcatcga acaacgcaa caccggaatt	600
ggcgaccacg gctcctgctg tgcggagatg gatgtctggg aagcaaacag catctccaat	660
gcggtcactc tgcacccgtg cgacacgcca ggccagacga tgtgctctgg agatgactgc	720
ggtggcacat actctaacga tcgctacgcg ggaacctgcg atcctgacgg ctgtgacttc	780
aacccttacc gcatgggcaa cacttctttc tacgggcctg gcaagatcat cgataccacc	840
aagcccttca ctgtcgtgac gcagttcctc actgatgatg gtacggatac tggaactctc	900
agcgagatca agcgcttcta catccagaac ggcaacgtca ttccgcagcc caactcgatc	960
atcagtggcg tgaccggcaa ctcgatcacg acggagttct gcactgctca gaagcaggcc	1020
tttggcgaca cggacgaatt ctctaagcac ggtggcctgg ccaagatggg agcggccatg	1080
cagcagggta tggctctggt gatgagtttg tgggacgact acgcccgcga gatgctgtgg	1140
ttggattccg actaccgac ggatgcggac cccacggctc ctggtattgc ccgtggaacg	1200
tgtccgacgg actcggcggt cccatcggtat gtcgagtcgc agagcccaa ctctacgtg	1260
accttctcga acattaagtt tggcccgatc ggtagcacag gtaatccttc aggtggtaat	1320
ccttcagggt gagacggcg aacaacgaca actagaagac cagctactac aactggttca	1380
agtccaggtc caactcaatc actatacggc caatgtggtg gtatagggtta ctctgggtccc	1440
actatttgtg cttctggtac tacttgccaa gttctgaacc ctactactc acagtgtcta	1500
gcttctgcac atcatcacca ccacat	1527

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido que tiene actividad celobiohidrolasa, en donde el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tienen una identidad de secuencia de al menos 90% con la SEQ ID NO: 5 en donde el polipéptido se modifica en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en Q1, Q2, T7, A8, N10, Q28, E65, S86, D181, E183, D202, P224, S311, N318, T335, D346, Q349, T392, T393 e Y422, y en donde el polipéptido mantiene 50% de su máxima capacidad de transformación del sustrato cuando la transformación se realiza durante 60 minutos a una temperatura de 62°C o superior.
2. El polipéptido según la reivindicación 1, que comprende además la modificación en uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos por sustitución o delección en las posiciones G4, P12, T15, A21, G23, S24, T26, T27, N29, G30, A31, V32, N37, W40, V41, G46, Y47, T48, N49, C50, T52, N54, D57, T59, Y60, D64, A68, Q69, A72, V84, S89, S90, K92, S99, Q109, D110, D111, I116, F117, K118, L119, L120, D129, V130, G139, A145, M146, V152, K154, Y155, N157, N158, K159, K163, G167, Q172, F179, I180, E187, G188, Q190, S192, S193, N194, I200, H203, D211, V212, A221, D228, T229, G231, T233, M234, S236, T243, Y244, S245, N246, D247, G251, F260, G266, K275, I276, I277, T280, L290, D293, G294, T295, T297, T299, S301, K304, F306, N310, V313, I314, D320, I321, T325, N327, A340, F341, D343, T344, D345, H350, A354, K355, A358, Q361, Q362, G363, M364, V367, D373, Y374, A375, A376, P386, T387, D390, T392, P394, T400, P402, T403, D404, D410, N417, S418, T421, F427, P429, I430, G431, T433, G434, N435, P436, S437 o una o más inserciones de 5 aminoácidos después de las posiciones G151, o K159.
3. El polipéptido según la reivindicación 2, en donde uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos son modificados como sigue:

Posición	Modificado a:
Q1	L
Q2	P, S
G4	C
A6	G, L, V
T7	Q
A8	S
N10	T, D
P12	Q
T15	S
A21	S, T, C
G23	A, D, N
S24	T, C, N
T26	I, N
T27	S, Q
Q28	L, K, R, N
N29	T, Y
G30	A
A31	S

ES 2 689 939 T3

Posición	Modificado a:
V32	G
N37	S
W40	R
V41	T
G46	S
Y47	S, F
T48	A
N49	S
C50	S
T52	D
N54	S
D57	S
T59	M
Y60	H
D64	N
E65	V, M, K
A68	T
Q69	K, R
A72	V, C
V84	A
S86	T
S89	N
S90	T, F
K92	R
S99	T
Q109	R
D110	G, S, N
D111	H, E
1116	V, K, E

ES 2 689 939 T3

Posición	Modificado a:
F117	Y
K118	A, T, Q
L119	L, I
L120	P, M
D129	N
V130	I
G139	S
A145	T
M146	C
G151	GCGRSG
V152	A, E
K154	R
Y155	S, C, H
N157	S
N158	D
K159	E, KCGRNK
K163	C
G167	C
Q172	Q
F179	I
I180	N
D181	N
E183	V, M, K
E187	K
G188	C
Q190	L, K
S192	L, I, P, T, M
S193	L, P, T
N194	G, L, I, V, S, C, K, R, D, Q, Y

ES 2 689 939 T3

Posición	Modificado a:
I200	N, F
D202	G, I, V, N, F, Y
H203	R
D211	G
V212	L
A221	V
P224	L
D228	N
T229	A, S, M
G231	D
T233	S
M234	L, I, V, T, K
S236	F, Y
T243	G, A, L, I, V, P, S, C, M, R, D, Q, F, Y, W
Y244	H, F
S245	T
N246	S, K, D
D247	N
G251	R
F260	C
G266	S
K275	E
I276	V
I277	V
T280	A
L290	H
D293	R, H
G294	A
T295	S

ES 2 689 939 T3

Posición	Modificado a:
T297	N
T299	I, S
S301	C
K304	R
F306	L, Y
N310	D, E
S311	G, D, N
V313	I
I314	F
N318	I, H, D, Y
D320	I, V, E, N
I321	N
T325	A, I
N327	Y
T335	I
A340	G, S, T
F341	C
D343	A
T344	M
D345	E
D346	G, A, V, E
Q349	K, R
H350	Y
A354	T
K355	Q
A358	E
Q361	R
Q362	G, R, H
G363	P

ES 2 689 939 T3

Posición	Modificado a:
M364	L, S
V367	A
D373	E
Y374	A, P, S, C, R, H, D
A375	G, L, V, T, C, M, R, D, E, N, Q, Y
A376	T
P386	L, S
T387	A, S
D390	G, E
T392	S, M, K
T393	A, I, V, S
P394	C
T400	S
P402	S
T403	K
D404	N
D410	G
N417	Y
S418	P
T421	I
Y422	F
F427	Y
P429	C
I430	L
G431	D
T433	S, E
G434	S, GAAATG
N435	Q
P436	S

Posición	Modificado a:
S437	P

4. Un ácido nucleico que codifica el polipéptido de una o más de las reivindicaciones 1 a 3, que tiene preferiblemente al menos 95% de identidad con la SEQ ID NO: 1.

5. Un vector que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 4.

5 6. Una célula anfitriona transformada con un vector de la reivindicación 5, en donde opcionalmente

(i) la célula anfitriona se deriva del grupo que consiste en *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Pichia*, *Hansenula*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Chrysosporium*, *Chaetomium*, *Acremonium*, *Candida* y *Yarrowina*,

y/o

10 (ii) la célula anfitriona es capaz de producir etanol, preferiblemente una levadura derivada del grupo de células anfitrionas que comprenden *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia stipitis*, *Pachysolen tannophilus*

y/o

(iii) la célula anfitriona es una levadura metilotrófica, preferentemente derivada del grupo de células anfitrionas que comprenden *Pichia methanolica*, *Pichiia pastoris*, *Pichia angusta*, *Hansenula polymorpha*

15 y/o

(iv) la célula anfitriona es un hongo filamentoso, preferiblemente seleccionado de las células anfitrionas que comprenden miembros del género *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Chrysosporium* *Penicillium* o *Acremonium*, siendo más preferiblemente seleccionados de una de las especies *Trichoderma* sp., *Trichoderma reesei*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Chaetomium thermophilum* o *Chrysosporium lucknowense*.

20

7. Un procedimiento para producir una proteína celobiohidrolasa según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende las etapas:

a. Obtención de una célula anfitriona, que se ha transformado con un vector que comprende el ácido nucleico definido en la reivindicación 4;

25 b. Cultivo de la célula anfitriona en condiciones bajo las cuales se expresa la proteína celobiohidrolasa; y

c. Recuperación de la proteína celobiohidrolasa.

8. Composición que comprende el polipéptido de una o más de las reivindicaciones 1 a 3 y uno o más endoglucanasas y/o una o más beta-glucosidasas y/o una o más celobiohidrolasas y/o una o más xilanasas.

30 9. Uso del polipéptido según una o más de las reivindicaciones 1 a 3 o de la composición de la reivindicación 8 para la degradación enzimática de la biomasa lignocelulósica, y/o para el procesamiento de textiles y/o como ingrediente en detergentes y/o como ingrediente en alimentos o composiciones de piensos.

Figura 1

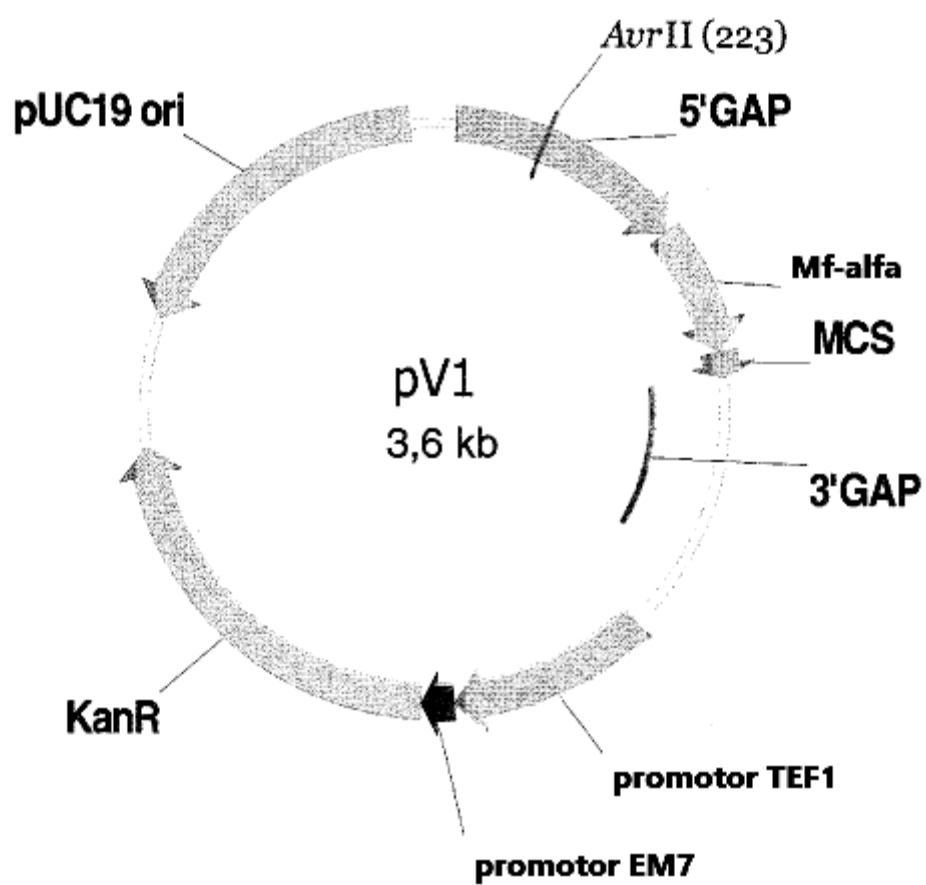


Figura 2

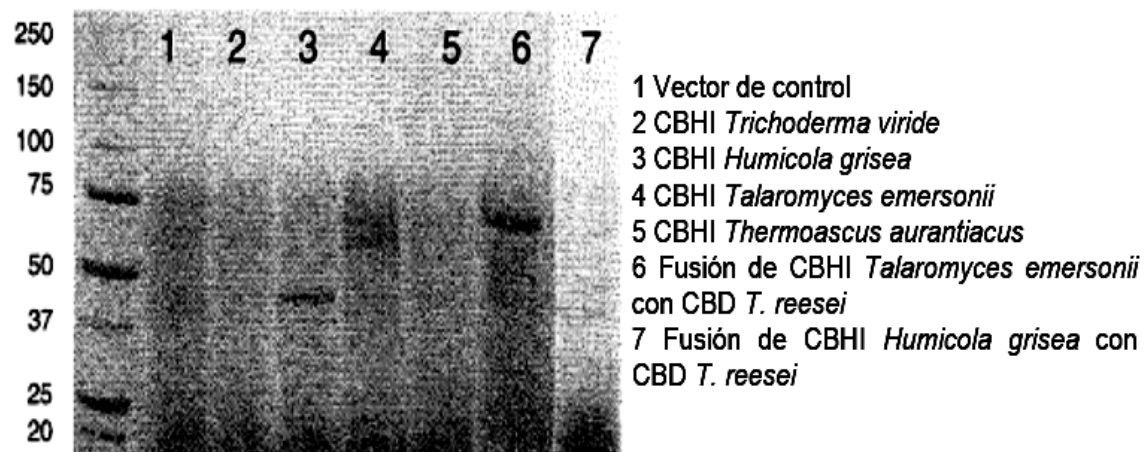


Figura 3

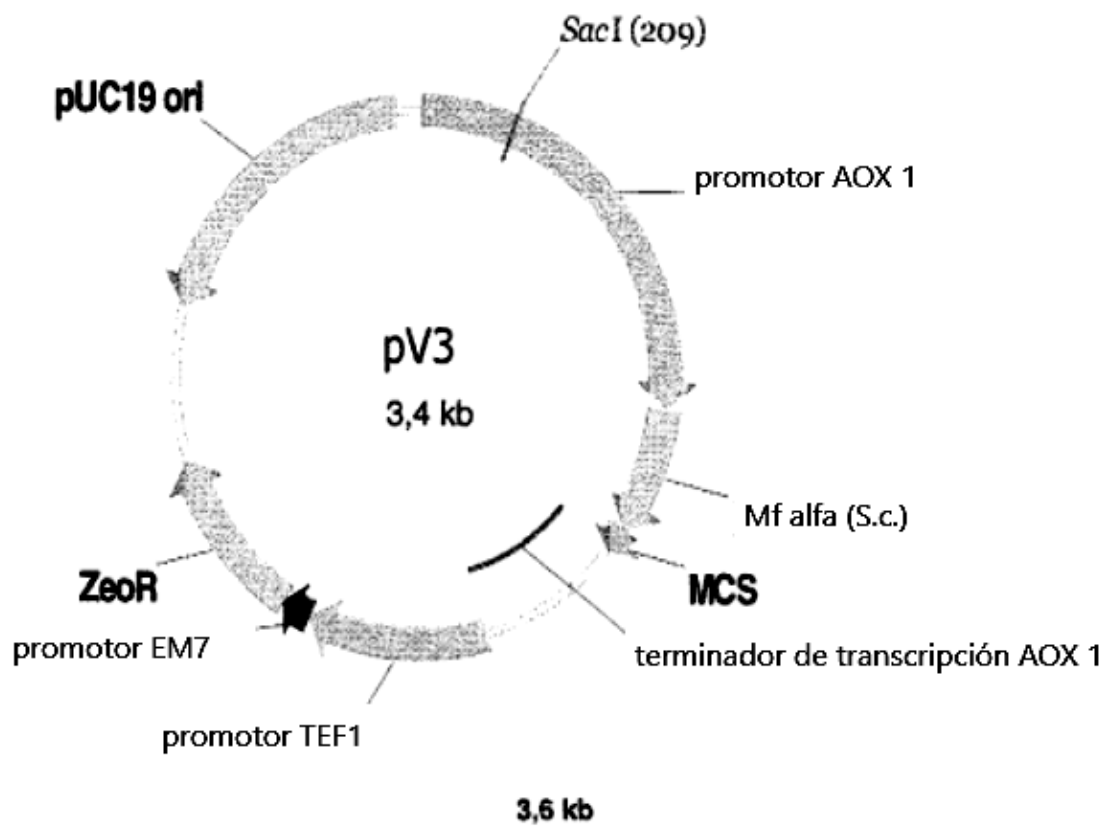


Figura 4

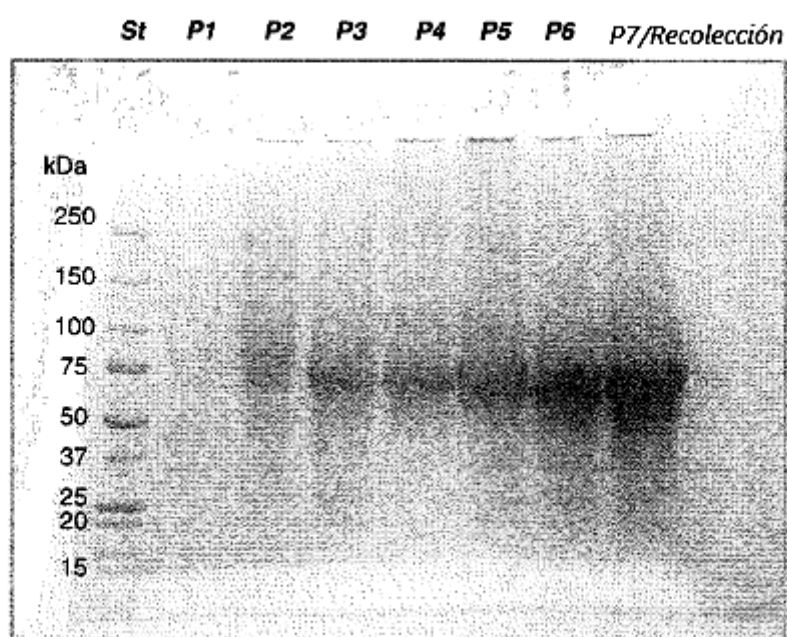


Figura 5

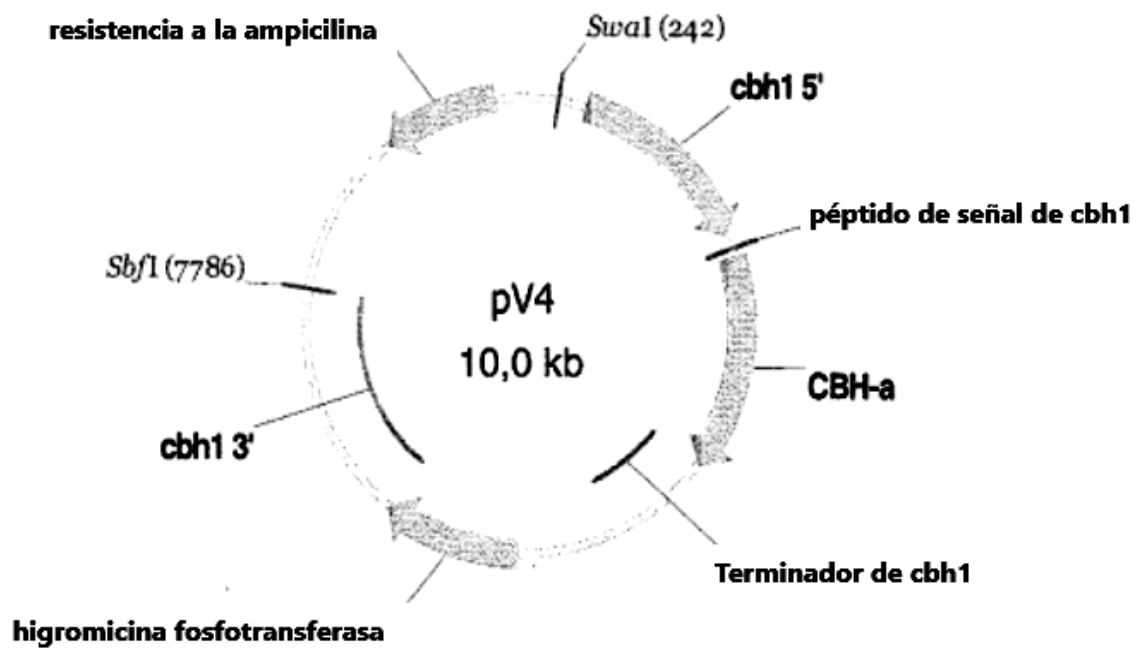


Figura 6

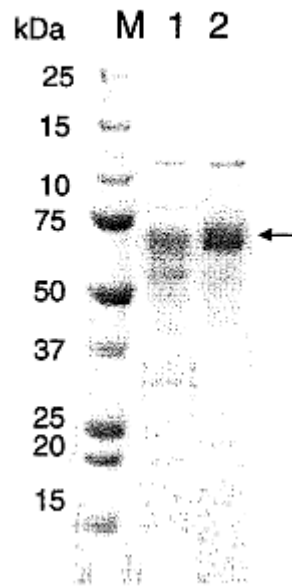


Figura 7

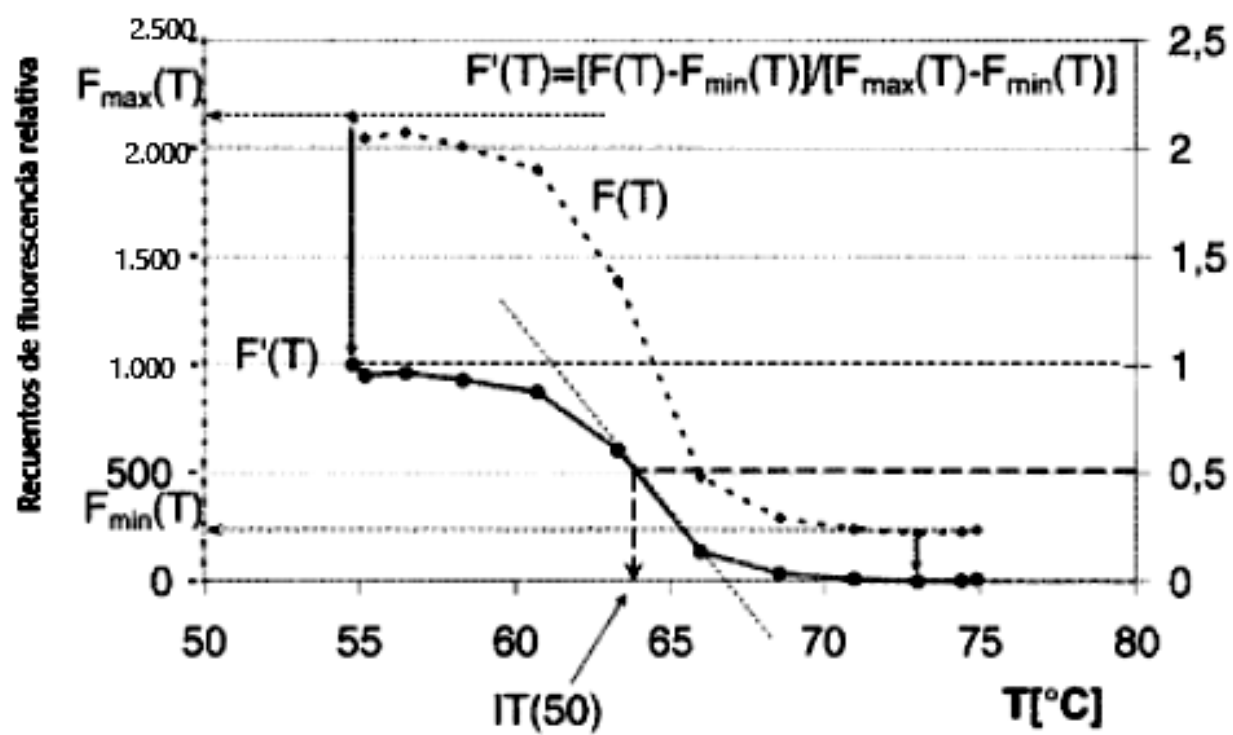


Figura 8

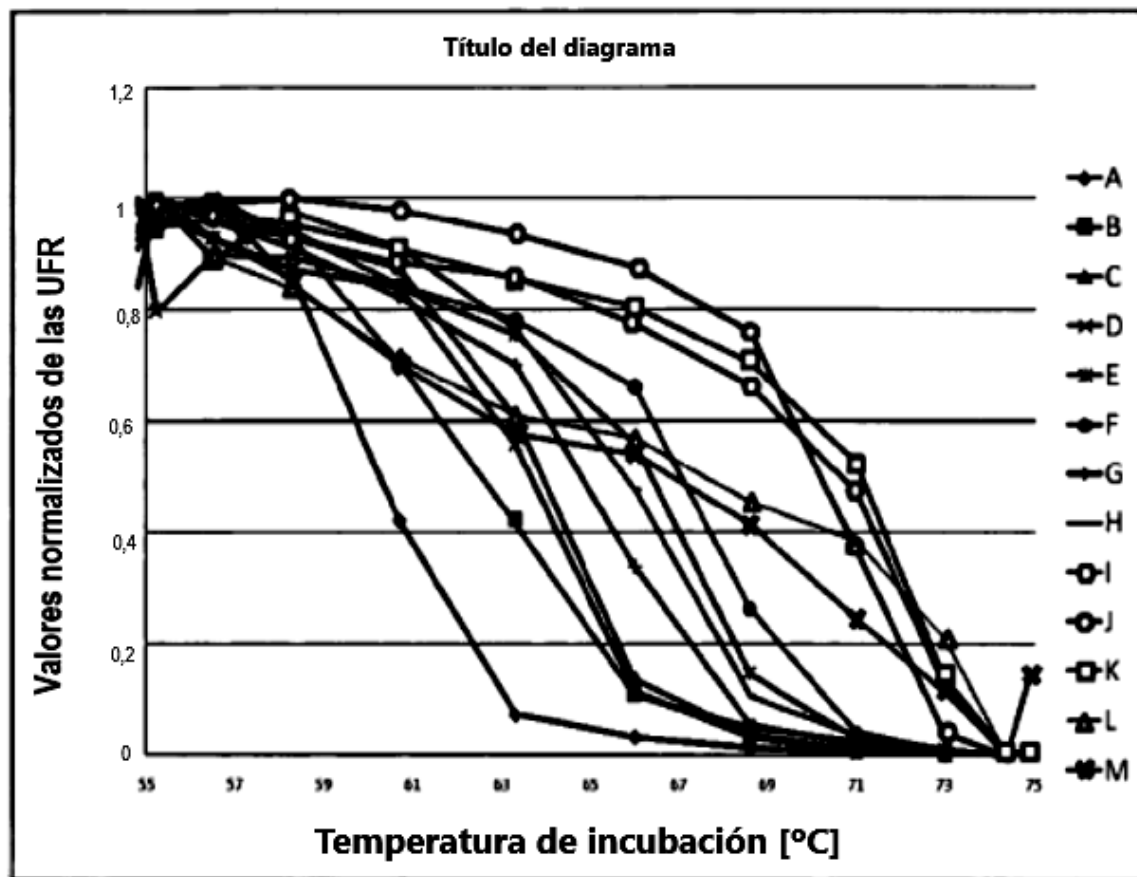


Figura 9

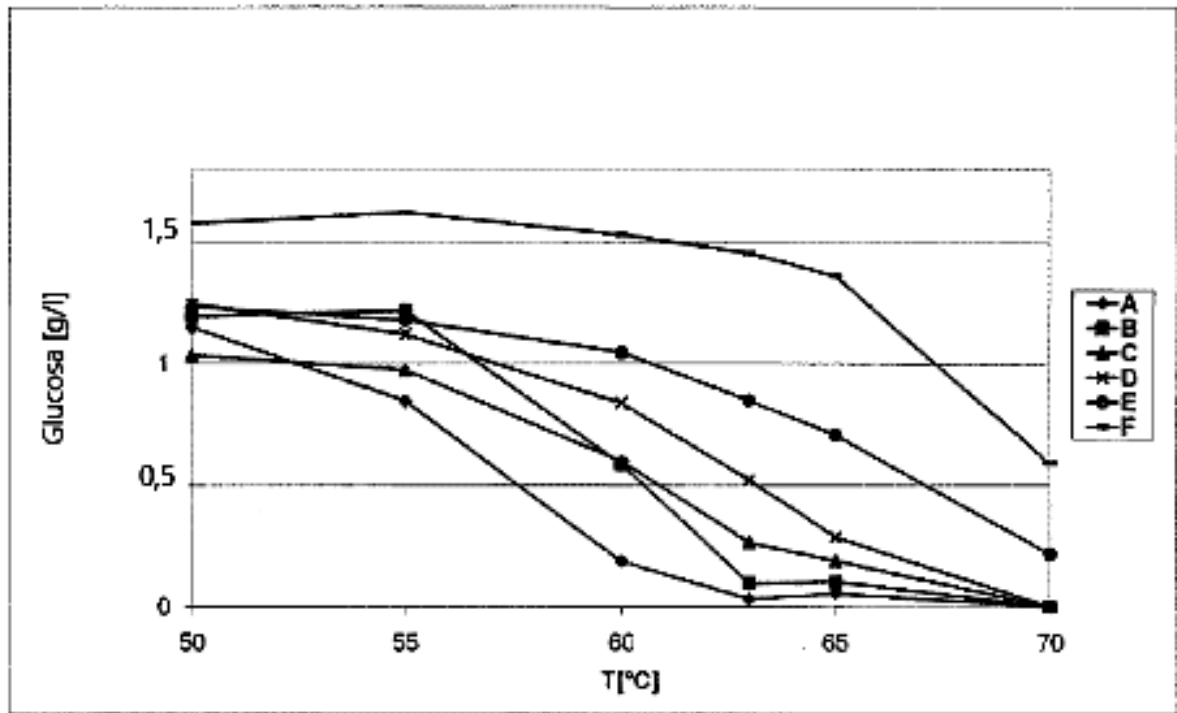


Figura 10

	1		50
T._reesei_CBHI	QSACTLQSET HPPLTWQKCS SGGTCTQQTG SVVIDANWRW THATNSSTNC		
SeqID_NO.2	QQAGTATAEN HPPLTWQECT APGSCTTQNG AVVLDANWRW VHDVNGYTNC		
	51		100
T._reesei_CBHI	YDGNTWSSL CPDNETCAKN CCLDGAAYAS TYGVTTSNGS LSIGFVTQSA		
SeqID_NO.2	YTGNTWDPTY CPDDETCAQN CALDGADYEG TYGVTSSGSS LKLNFTVTG..		
	101		150
T._reesei_CBHI	QKNVGARLYL MASDTTYQEF TLLGNEFSFD VDVSQLPCGL NGALYFVSMD		
SeqID_NO.2	.SNVGSRLYL LQDDSTYQIF KLLNREFSFD VDVSNLPCGL NGALYFVAMD		
	151		200
T._reesei_CBHI	ADGGVSKYPT NTAGAKYGTG YCDSQCPRDL KPINGQANVE GWEPSSNNAN		
SeqID_NO.2	ADGGVSKYPN NKAGAKYGTG YCDSQCPRDL KFIDGEANVE GWQPSSNNAN		
	201		250
T._reesei_CBHI	TGIGGHGSCC SEMDIWEANS ISEALTPHPC TTVGQEICEG DCGGTYSDN		
SeqID_NO.2	TGIGDHGSCC AEMDVWEANS ISNAVTPHPC DTPQQTMCSS DDCGGTYSDN		
	251		300
T._reesei_CBHI	RYGGTCDDPG CDWNPYRLGN TSFYGPGSSF TLDTTKKLTV VTQFETSG..		
SeqID_NO.2	RYAGTCDDPG CDFNPYRMGN TSFYGPGK.. IIDTTKPFTV VTQFLTDDGT		
	301		350
T._reesei_CBHI	AINR YYVQNGVTFQ QPNAELGSYS GNELNDDYCT AEEAEFGGSS		
SeqID_NO.2	DTGTLSEIKR FYIQNSNVIP QPNSDISGVT GNSITTEFCT AOKQAFGDTD		
	351		400
T._reesei_CBHI	.FSDKGGLTQ FKKATSGGMV LVMSLWDDYY ANMLWLDSTY PTNETSSTPG		
SeqID_NO.2	DFSQHGGLAK MGAAMQQGMV LVMSLWDDYA AQMLWLDSY PTDADPTTPG		
	401		450
T._reesei_CBHI	AVRGSCSTSS GVPAQVESQS FNAKVTPSNI KFGPIGSTGN PSGGNPPGGN		
SeqID_NO.2	IARGTCPTDS GVPSDVESQS PNSYVTYSNI KFGPIGSTGN PSGGNPPGGN		
	451		500
T._reesei_CBHI	RGTTTTTRPA TTTGSSPGPT QSHYGQCGI GYSGPTVCAS GTTCQVLNPY		
SeqID_NO.2	RGTTTTTRPA TTTGSSPGPT QSHYGQCGI GYSGPTVCAS GTTCQVLNPY		
	501		
T._reesei_CBHI	YSQCL		
SeqID_NO.2	YSQCL		