

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 708 199**

51 Int. Cl.:

**C12N 9/10** (2006.01)

**C12P 19/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.07.2013 PCT/EP2013/064024**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.01.2014 WO14006088**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.07.2013 E 13734062 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.10.2018 EP 2870239**

54 Título: **Microorganismos genéticamente modificados capaces de producir beta-glucanos y procedimientos para producir beta-glucanos**

30 Prioridad:

**04.07.2012 EP 12174882**

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

**09.04.2019**

73 Titular/es:

**WINTERSHALL HOLDING GMBH (50.0%)  
Friedrich-Ebert-Strasse 160  
34119 Kassel, DE y  
BASF SE (50.0%)**

72 Inventor/es:

**BROCKMANN, BEATA;  
HEROLD, ANDREA;  
ZELDER, OSKAR;  
HAEFNER, STEFAN;  
FLECK, CHRISTIAN;  
SCHRÖDER, HARTWIG;  
GRANSTRÖM, MARI y  
SCHMIDT, JULIA, KRISTIANE**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 708 199 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

Microorganismos genéticamente modificados capaces de producir beta-glucanos y procedimientos para producir beta-glucanos

5 La presente invención se refiere a microorganismos genéticamente modificados capaces de producir beta-glucanos (también denominados en el presente documento,  $\beta$ -glucanos), caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa. Actividad D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

15 La presente invención también se refiere al uso de tales microorganismos para producir tales  $\beta$ -glucanos. Además, la presente invención se refiere a procedimientos para producir tales  $\beta$ -glucanos que comprenden la introducción de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en un microorganismo capaz de sintetizar  $\beta$ -glucanos. En el ámbito de la presente invención, el término " $\beta$ -glucanos" comprende particularmente polímeros que consisten en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3.

20 Los  $\beta$ -glucanos son componentes bien conservados conocidos de las paredes celulares en varios microorganismos, particularmente en hongos y levaduras (Novak, Endocrine, Metabol & Immune Disorders - Drug Targets (2009), 9: 67-75). Bioquímicamente, los  $\beta$ -glucanos comprenden polímeros no celulósicos de  $\beta$ -glucosa unidos a través de enlaces  $\beta$ (1-3) glucosídicos que muestran un cierto patrón de ramificación con moléculas de glucosa  $\beta$  (1-6) unidas (Novak, *loc cit*). Un gran número de  $\beta$ -glucanos estrechamente relacionados muestran un patrón de ramificación similar, tal como el esquizofilano, escleroglucano, pendulano, cineriano, laminarina, lentinano y pleurano, todos ellos muestran una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo con una sola unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3 (Novak, *loc cit*; EP-B1 463540; Stahmann, Appl Environ Microbiol (1992), 58: 3347-3354; Kim, Biotechnol Letters (2006), 28: 439-446; Nikitina, Food Technol Biotechnol (2007), 45: 230-237). Aunque estos  $\beta$ -glucanos están estrechamente relacionados estructuralmente, sus respectivos productores microbianos no lo están. Ejemplos de microorganismos que producen estos  $\beta$ -glucanos estrechamente relacionados estructuralmente son *Schizophyllum commune* (para esquizofilano; Martin, Biomacromolecules (2000), 1: 49-60; Rau, Methods in Biotechnol (1999), 10: 43-55, DOI: 10.1007/978-1-59259-261-6\_4); *Sclerotium rolfii*, *Sclerotium glucanicum* y *Sclerotium delphinii* (para escleroglucano; Survase, Food Technol Biotechnol (2007), 107-118); *Porodisculus pendulus* (para pendulano; EP-B1 463540); *Botrytis cinerea* (para cineriano; Stahmann, *loc cit*) especies de *Laminaria* (para laminarina; Kim, *loc cit*); y *Lentinula edoles* (para lentinano; Nikitina, *loc cit*). Al menos dos de dichos  $\beta$ -glucanos - esquizofilano y escleroglucano - incluso comparten una estructura idéntica y difieren solo ligeramente en su masa molecular, es decir, en su longitud de cadena (Survase, *loc cit*).

35 Dichos  $\beta$ -glucanos se utilizan ampliamente como espesantes y se aplican en varias aplicaciones tal como la industria alimentaria y en particular la industria del petróleo (recuperación mejorada de petróleo, EOR) (Survase, *loc cit*). Asimismo, dichos  $\beta$ -glucanos se utilizan en la industria farmacéutica en formulaciones de comprimidos y excipientes, así como en inmunoterapia como agentes antivirales (Survase, *loc cit*).

45 La producción industrial de  $\beta$ -glucanos se realiza principalmente mediante procesos de fermentación utilizando sus productores microbianos naturales. Las formas clásicas de mejorar la síntesis de  $\beta$ -glucanos, por ejemplo, de esquizofilano se basan en la manipulación del desarrollo de *S. commune* (Rau, Habilitation, Braunschweig 1997). El enfoque más común es convertir células dicarióticas a través de la generación de protoplastos en células monocarióticas (Rau, Habilitation, Braunschweig 1997). Otro enfoque es cruzar diferentes células monocarióticas para formar una nueva célula dicariótica (Rau, Habilitation, Braunschweig 1997). Otros posibles enfoques comprenden, por ejemplo, una mutagénesis clásica basada en el azar usando radiación UV, mutagénesis de transposón o usando productos químicos adecuados (por ejemplo, nitrosoguanidina (NTG o N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina), 2-aminofluoreno (2-AF), 4-nitro-o-fenilendiamina (NPD), 2-metoxi-6-cloro-9- (3- (2-cloroetil) aminopropilamino) acridina x 2HCl (ICR-191), 4-nitroquinolona-N-óxido (NQNO), benzo [ $\alpha$ ] pireno (B[ $\alpha$ ]p) o azida de sodio (SA)) (Czyz, J Appl Genet (2002), 43(3): 377-389). Debido a la reorganización del material genético dentro del evento de cruce, es posible seleccionar cepas que muestran una mayor productividad de  $\beta$ -glucanos (esquizofilano).

55 Sin embargo, todos estos enfoques no están dirigidos y no permiten la modificación dirigida de los microorganismos productores de  $\beta$ -glucanos. De hecho, los resultados y la eficacia de tales enfoques no son predecibles y la identificación y selección de cepas mejoradas es laboriosa y costosa.

Este problema técnico se ha resuelto mediante los medios y procedimientos descritos en el presente documento a continuación y como se define en las reivindicaciones.

En particular, como se ha encontrado sorprendentemente en contexto con la presente invención, la sobreexpresión de la 1,3-β-D-glucano sintasa en un microorganismo productor de β-glucanos tal como, por ejemplo, *S. commune* o *S. rolfssii* conduce a rendimientos significativamente más altos del respectivo β-glucano. Este hallazgo fue realmente inesperado dado el hecho de que la ruta biosintética de la síntesis de β-glucanos era poco conocida y, además, para la mayoría de los microorganismos productores de β-glucanos (como *Schizophyllum commune*), no había propuesta ninguna ruta de biosíntesis de β-glucanos disponible en absoluto. Además, en el contexto de aquellos microorganismos cuya ruta de biosíntesis de β-glucanos se investigó al menos (como *Pediococcus parvulus*), se asumió que enzimas como la α-fosfoglucomutasa (α-PGM) y particularmente UDP-glucosa pirofosforilasa (UGP) representan un cuello de botella en la síntesis de β-glucanos (Velasco, Int J Food Microbiol (2007), 115: 325-354).

En consecuencia, se suponía que la sobreexpresión de estas enzimas aumentaba los rendimientos de la síntesis de β-glucanos (Velasco, *loc cit*). Sin embargo, como se ha encontrado en contexto con la presente invención, la sobreexpresión de UGP en *S. commune* no dio como resultado un aumento del rendimiento del β-glucano esquizofilano. En agudo contraste, como se describe adicionalmente en el presente documento y en los Ejemplos, se ha encontrado en el contexto de la presente invención que *S. commune* posee dos copias de la 1,3-β-D-glucano sintasa (secuencia del genoma conocida de Ohm, Nature Biotech (2010), 28: 957-963) y, de forma sorprendente, la sobreexpresión de cualquiera de las dos copias de la 1,3-β-D-glucano sintasa en *S. commune* conduce a rendimientos significativamente más altos en la producción de esquizofilano. Dado que el esquizofilano tiene una estructura que está estrechamente relacionada con otros β-glucanos como el escleroglucano, pendulano, cineriano, laminarina, lentinano y pleurano (todos ellos son polímeros que consisten en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3) -glucopiranosilo con una sola unidad β-D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3), parece probable que la sobreexpresión de polipéptidos que tienen actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en microorganismos correspondientes, como también se describe en el presente documento, puede dar como resultado rendimientos más altos de esos β-glucanos.

En consecuencia, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3) -glucopiranosilo que tienen una sola unidad β-D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*. Dicho polinucleótido puede ser endógeno o exógeno. Por ejemplo, en contexto con la presente invención, la sobreexpresión de dicho polinucleótido puede ser el resultado de la introducción de un promotor fuerte (por ejemplo, constitutivo o inducible) cadena arriba de dicho polinucleótido, aumentando, de este modo, el nivel de expresión de dicho polinucleótido o, preferentemente, de la introducción de al menos una copia de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa. En una realización, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3) -glucopiranosilo que tienen una sola unidad β-D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, y en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*. Dicho microorganismo genéticamente modificado es preferentemente capaz de mantener y expresar de manera estable el polinucleótido adicional que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa. Dicho microorganismo genéticamente modificado puede originarse a partir de un microorganismo no modificado correspondiente que preferentemente contiene *per se*, es decir, naturalmente, un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa. Asimismo, dicho microorganismo genéticamente modificado es preferentemente *per se*, es decir, antes de la modificación, capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad β-D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3 como se describe en el presente documento. En dicho microorganismo genéticamente modificado, se puede haber introducido un promotor fuerte o al menos un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa. Ejemplos no limitantes de medios y procedimientos para la introducción de una secuencia promotora en un microorganismo pueden comprender, *inter alia*, recombinación homóloga como se conoce en la técnica (Ohm, World J Microbiol Biotechnol (2010), 26: 1919-1923). Asimismo, en contexto con la presente invención, el microorganismo se puede haber modificado de modo que se exprese más polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, por ejemplo, insertando un promotor fuerte como se describe en el presente documento, agregando intrones en un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, adaptando el uso del codón, mejorando el sitio de unión al ribosoma para una mejor iniciación de la traducción, introduciendo elementos en el ARNm que lo estabilizan, o insertando un polinucleótido con un mayor nivel de transcripción que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en el microorganismo (cf. Ohm, *loc cit*).

En contexto con la presente invención, el promotor puede introducirse en dicho microorganismo cadena arriba de un

polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa y de tal manera que dicho promotor aumenta o potencia la expresión de dicho polinucleótido. Ejemplos no limitantes de medios y procedimientos para la introducción de un polinucleótido en un microorganismo pueden comprender transformación, transducción y transfección como se conoce comúnmente en la técnica y también se ejemplifica en el presente documento (Sambrook y Russell (2001), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, CSH Press, Cold Spring Harbor, NY, USA; Current Protocols in Molecular Biology, Actualización del 9 de mayo de 2012, Print ISSN: 1934-3639, Online ISSN: 1934-3647; Methods in Yeast Genetics, A Laboratory Course Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1990; van Peer, *Applied Environ Microbiol* (2009), 75: 1243-1247; Schmid, "Genetics of Scleroglucan Production by *Sclerotium rolfsii*", dissertation Technische Universität Berlin, D83 (2008)). Ejemplos no limitantes de medios y procedimientos para la introducción de una secuencia promotora en un microorganismo pueden comprender, *inter alia*, recombinación homóloga como se conoce en la técnica (Ohm, *World J Microbiol Biotechnol* (2010), 26: 1919-1923). Los promotores fuertes a introducir cadena arriba de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en contexto con la presente invención pueden comprender, *inter alia*, promotores constitutivos tales como, por ejemplo, promotor *tef1* (factor de traducción y elongación 1a, *S. commune*, *A. niger*), promotor *gpdA* (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, *S. commune*, *A. niger*; Schuren, *Cur Genet* (1998), 33: 151-156), promotor *trpC* (biosíntesis de triptófano, *Aspergillus nidulans*) o promotores inducibles tales como, por ejemplo, promotor *glaA* (glucoamilasa, *A. niger*), *alcA* (alcohol deshidrogenasa, *A. nidulans*) *cbhl* (celobiohidrolasa I, *Trichoderma reesei*; Knabe, disertación "Untersuchung von Signalkomponenten der sexuellen Entwicklung bei dem Basidiomyceten *Schizophyllum commune*" (2008)) *thiA* (biosíntesis de tiamina, *Aspergillus oryzae*) (Moore, *Biotechnology*, Vol. III, Genetic Engineering of Fungal Cells, Encyclopedia of Life Support Systems (2007)). En contexto con la presente invención, los promotores preferidos comprenden *tef1* y *gpdA*.

En general, en contexto con la presente invención, el polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa puede introducirse en el microorganismo en cualquier forma adecuada, por ejemplo, comprendido en un vector, un plásmido, o como ácido nucleico desnudo como se describe y ejemplifica adicionalmente en el presente documento. El polinucleótido introducido en el microorganismo puede, por lo tanto, ser exógeno, en un vector/plásmido dentro del microorganismo (es decir, fuera del (de los) cromosoma(s) microbiano(s), o puede incorporarse en el (los) cromosoma(s) microbiano(s) mediante, por ejemplo, recombinación aleatoria (ectópica) u homóloga o cualquier otro procedimiento adecuado como se conoce en la técnica. En contexto con la presente invención, el polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa que se ha introducido en el microorganismo (es decir, la copia adicional al polinucleótido endógeno natural que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa de una cepa no modificada correspondiente) no necesariamente tiene que tener la misma secuencia de nucleótidos que el polinucleótido endógeno natural que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa de una cepa no modificada correspondiente, siempre que tenga actividad 1,3-β-D-glucano sintasa como se describe en el presente documento.

En una realización de la presente invención, el microorganismo genéticamente modificado es capaz de producir al menos 1,5 veces, más preferentemente al menos 1,8 veces más, más preferentemente al menos 2,0 veces más y lo más preferentemente al menos 2,2 veces más polímero de β-glucano en comparación con el correspondiente microorganismo control no modificado. En este contexto, la producción de, por ejemplo, 1,5 veces "más" polímero de β-glucano puede significar que un microorganismo genéticamente modificado produce una cantidad de polímero de β-glucano que es 1,5 veces mayor en comparación con la cantidad de polímero de β-glucano producida al mismo tiempo en las mismas condiciones por un correspondiente microorganismo de control no modificado. Como alternativa, la producción de, por ejemplo, 1,5 veces más "polímero" de β-glucano puede significar que un microorganismo genéticamente modificado produce la misma cantidad de polímero de β-glucano que un organismo control no modificado correspondiente en las mismas condiciones, sin embargo, 1,5 veces más rápido. La cantidad de polímero de β-glucano producido se puede medir por procedimientos conocidos en la técnica y como también se describen en el presente documento.

Además, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado como se describe en el presente documento para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad β-D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3.

Además, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tiene una sola unidad β-D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- 55 (a) introducir en un microorganismo capaz de sintetizar dicho polímero
  - (i) un promotor fuerte (por ejemplo, constitutivo o inducible) cadena arriba de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, aumentando, de este modo, la expresión de dicho polinucleótido o, preferentemente,
  - (ii) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa;
- 60 (b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo

produzca dicho polímero; y

(c) opcionalmente recuperar dicho polímero del medio, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

5 Con respecto a la etapa (c) del procedimiento descrito y proporcionado en el presente documento, se observa que en algunos casos (por ejemplo, cuando se usan  $\beta$ -glucanos como el esquizofilano para fines de perforación petrolera), el caldo de cultivo también se puede usar directamente (por ejemplo, bombeado en el orificio de perforación), sin recuperación previa del  $\beta$ -glucano puro. Como tal, el paso de recuperación (c) es opcional. Los promotores fuertes a introducir cadena arriba de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en contexto con la presente invención pueden comprender, *inter alia*, promotores constitutivos tales como, por ejemplo, promotor *tef1* (factor de traducción y elongación 1a, *S. commune*, *A. niger*), promotor *gpdA* (gliceraldehído-3-fosfato, *S. commune*, *A. niger*), promotor *trpC* (biosíntesis de triptófano, *Aspergillus nidulans*) o promotores inducibles tales como, por ejemplo, promotor *glaA* (glucoamilasa, *A. niger*), *alcA* (alcohol deshidrogenasa, *A. nidulans*) *cbhl* (celobiohidrolasa I, *Trichoderma reesei*) *thiA* (biosíntesis de tiamina, *Aspergillus oryzae*), siendo promotores preferidos *tef1* y *gpdA*. En contexto con la presente invención, el promotor se introduce preferentemente en dicho microorganismo cadena arriba de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa y de tal manera que dicho promotor aumenta o potencia la expresión de dicho polinucleótido. Dicho promotor o dicho polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa puede introducirse en dicho microorganismo por cualquier medio y procedimiento conocido en la técnica. Preferentemente de una manera que después de la introducción el promotor pueda aumentar la expresión de dicho polinucleótido o que dicho polinucleótido pueda mantenerse y expresarse de manera estable por el microorganismo, respectivamente. Los ejemplos no limitantes de medios y procedimientos para la introducción de una secuencia promotora en un microorganismo pueden comprender, *inter alia*, homología recombinante como se conoce en la técnica (Ohm, *loc cit*). Ejemplos no limitantes de tales procedimientos para la introducción de un polinucleótido en un microorganismo pueden comprender transformación, transducción y transfección como se conoce comúnmente en la técnica y también se ejemplifica en el presente documento (Sambrook y Russell (2001), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, CSH Press, Cold Spring Harbor, NY, USA; Current Protocols in Molecular Biology, Actualización del 9 de mayo de 2012, Print ISSN: 1934-3639, Online ISSN: 1934-3647; Methods in Yeast Genetics, A Laboratory Course Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1990; van Peer, Applied Environ Microbiol (2009), 75: 1243-1247; Schmid, "Genetics of Scleroglucan Production by *Sclerotium rolfsii*", dissertation Technische Universität Berlin, D83 (2008)).

En contexto con la presente invención, el promotor fuerte introducido en un microorganismo cadena arriba de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa preferentemente aumenta el nivel de expresión de dicho polinucleótido al menos 1,5 veces, más preferentemente al menos 1,8 veces, más preferentemente al menos 2,0 veces, y lo más preferentemente al menos 2,2 veces. En este contexto, el nivel de expresión de un polinucleótido puede evaluarse fácilmente por el experto en la materia mediante procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, por RT-PCR cuantitativa, transferencia Northern (para evaluar la cantidad de niveles de ARNm expresados), transferencia de puntos, micromatriz y similares.

En general, el término "sobrexpresión", tal como se usa en el presente documento, comprende tanto la sobreexpresión de polinucleótidos (por ejemplo, a nivel transcripcional) como la sobreexpresión de polipéptidos (por ejemplo, a nivel de traducción). En consecuencia, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*. En contexto con la presente invención, un microorganismo genéticamente modificado debe considerarse como "sobrexpresión" de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa si expresa al menos 1,5 veces, más preferentemente al menos 1,8 veces, más preferentemente al menos 2,0 veces, y lo más preferentemente al menos 2,2 veces de dicho polinucleótido en comparación con un microorganismo control no modificado de la misma cepa. En este contexto, el nivel de expresión de un polinucleótido puede evaluarse fácilmente por el experto en la materia mediante procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, por RT-PCR cuantitativa (qRT-PCR), transferencia Northern (para evaluar la cantidad de niveles de ARNm expresados), transferencia de puntos, micromatriz y similares (véase, por ejemplo, Sambrook, *loc cit*; Current Protocols in Molecular Biology, Actualización del 9 de mayo de 2012, Print ISSN: 1934-3639, Online ISSN: 1934-3647). Preferentemente, la cantidad de polinucleótido expresado se mide por qRT-PCR. Además, en contexto con la presente invención, un microorganismo genéticamente modificado debe considerarse como "sobrexpresión" de un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa si expresa al menos 1,5 veces, más preferentemente al menos 1,8 veces, más preferentemente al menos 2,0 veces, y lo más preferentemente al menos 2,2 veces de dicho polipéptido en comparación con un microorganismo control no modificado de la misma cepa. En este contexto, el nivel de expresión de un polipéptido puede evaluarse fácilmente por el experto en la materia mediante procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, por transferencia Western, ELISA, EIA, RIA o similares (véase,

por ejemplo, Sambrook, loc cit; Current Protocols in Molecular Biology, Actualización del 9 de mayo de 2012, Print ISSN: 1934-3639, Online ISSN: 1934-3647). Preferentemente, la cantidad de polipéptido expresado se mide por transferencia Western.

5 En general, en contexto con la presente invención, el polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa puede introducirse en el microorganismo en cualquier forma adecuada, por ejemplo, comprendido en un vector, un plásmido o un ácido nucleico desnudo. El polinucleótido introducido en el microorganismo puede ser exógeno (por ejemplo, en un vector o un plásmido) dentro del microorganismo (es decir, fuera del (de los) cromosoma(s) microbiano(s), o puede incorporarse en el(los) cromosoma(s) microbiano(s) mediante, por ejemplo, recombinación aleatoria (ectópica) u homóloga o cualquier otro procedimiento adecuado como se conoce en la técnica. En contexto con la presente invención, el polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa que se ha introducido en el microorganismo (es decir, la copia adicional al polinucleótido endógeno natural que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa de una cepa no modificada correspondiente) no necesariamente tiene que tener la misma secuencia de nucleótidos que el polinucleótido endógeno natural que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa de una cepa no modificada correspondiente, siempre que tenga actividad 1,3-β-D-glucano sintasa como se describe en el presente documento.

Los procedimientos para cultivar microorganismos tales como procesos de fermentación son conocidos en la técnica y también se describen y ejemplifican en el presente documento (Kumari, Bioresource Technol (2008), 99: 1036-1043; Reyes, J Natural Studies (2009), 7(2), Enero-Junio). En contexto con la presente invención, tales procedimientos permiten que el microorganismo respectivo crezca y produzca el β-glucano deseado como se describe y ejemplifica en el presente documento. Los medios adecuados pueden comprender, por ejemplo, agua de coco como se describe en Reyes, loc cit. Además, tal como se conoce en la técnica, hay varios medios particularmente adecuados para microorganismos particulares. Por ejemplo, también en contexto con la presente invención, los medios adecuados para el cultivo de *S. commune* comprenden medio CYM (25 g de agar (Difco), 20 g de glucosa (Sigma), 2 g de peptona tripticasa (Roth), 2 g de extracto de levadura (Difco), 0,5 g MgSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O (Roth), 0,5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y 1 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (ambos de Riedel-de Haën) por litro de H<sub>2</sub>O) (particularmente útil para el cultivo en soporte sólido) o un medio que contiene 30 g de glucosa (Sigma), 3 g de extracto de levadura (Difco), 1 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Riedel-de Haën), 0,5 g de MgSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O (Roth) por litro de H<sub>2</sub>O (particularmente útil para cultivos líquidos) como también se describe y ejemplifica en el presente documento. Otros medios adecuados para el cultivo de *S. rolfssii* son conocidos en la técnica (Survase, Bioresource Technol (2006), 97: 989-993). El β-glucano producido de acuerdo con la presente invención puede recuperarse mediante diversos procedimientos conocidos en la técnica y descritos en el presente documento (véase también "Recommended Practices for Evaluation of Polymers Used in Enhanced Oil Recovery Operations, API Recommended Practice 63 (RP 63), 1ª Ed, American Petroleum Institute, Washington D.C., 1 de Junio de 1990; Kumari, Bioresource Technol (2008), 99: 1036-1043).

35 En contexto con la presente invención, la expresión "grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3" puede significar que, en promedio, aproximadamente 3 de las 10 unidades de β-D-(1-3) -glucopiranosilo están (1-6) unidas a una sola unidad de β-D-glucopiranosilo. En este contexto, el término "aproximadamente" puede significar que el grado de ramificación promedio puede estar dentro del intervalo de 0,1 a 0,5, preferentemente de 0,2 a 0,4, más preferentemente de 0,25 a 0,35, más preferentemente de 0,25 a 0,33, más preferentemente de 0,27 a 0,33, y lo más preferentemente de 0,3 a 0,33. Puede ser también 0,3 o 0,33. El esquizofilano, escleroglucano, pendulano, cineriano, laminarina, lentinano y pleurano tienen un grado de ramificación promedio entre 0,25 y 0,33; por ejemplo, el escleroglucano y el esquizofilano tienen un grado de ramificación promedio de 0,3 a 0,33 (Survase, loc cit; Novak, loc cit). El grado de ramificación promedio de un β-glucano se puede determinar por procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, por análisis periódico de oxidación, análisis de azúcar metilado y RMN (Brigand, Industrial Gums, Academic Press, Nueva York/Estados Unidos (1993), 461-472).

El polímero a producir se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

El microorganismo descrito en el presente documento (en lo sucesivo, también denominado "microorganismo en el contexto de la presente invención") puede ser generalmente un microorganismo *per se* (es decir, naturalmente, en un estado no modificado en contexto con la presente invención) capaz de sintetizar polímeros de β-glucanos, particularmente aquellos polímeros que consisten en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3. Es decir, tales microorganismos preferentemente poseen *per se* (es decir, naturalmente, en un estado no modificado en contexto con la presente invención) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa. Ejemplos no limitantes de microorganismos en el contexto de la presente invención son *Schizophyllum commune*, *Sclerotium rolfssii*, *Sclerotium glucanicum*, *Sclerotium delphinii*, *Porodisculus pendulus*, *Botrytis cinerea*, especies de *Laminaria*, *Lentinula edoles* y *Monilinia fructigena*. El microorganismo en contexto con la presente invención es *S. commune*.

60 El polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa como se menciona y se empleará en contexto con la presente invención (en lo sucesivo, también denominado "polinucleótido en el contexto de la presente invención") puede ser un gen de la 1,3-β-D-glucano sintasa. Por ejemplo, el polinucleótido en el

contexto de la presente invención puede comprender o puede consistir en una secuencia de ácidos nucleicos que es al menos el 70 %, preferentemente al menos el 75 %, más preferentemente al menos el 80 %, más preferentemente al menos el 85 %, más preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 %, más preferentemente al menos el 96 %, más preferentemente al menos el 97 %, más preferentemente al menos el 98 %, más preferentemente al menos el 99 %, más preferentemente al menos el 99,5 %, y lo más preferentemente al menos el 100 % idéntica a la SEQ ID NO: 1,3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, siempre que el polipéptido codificado por dicho polinucleótido tenga actividad 1,3-β-D-glucano sintasa como se describe y ejemplifica adicionalmente en el presente documento a continuación. SEQ ID NO: 1 representa la secuencia de nucleótidos del gen de la glucano sintasa I de la cepa Lu15531 de *S. commune* (obtenida de la colección de cepas de la Universidad de Jena (Alemania), Alemania, Prof. E. Kothe; Jena University internal strain name: W22). SEQ ID NO: 3 representa la secuencia de nucleótidos del gen de la glucano sintasa II de la cepa Lu15531 de *S. commune*. SEQ ID NO: 5 representa la secuencia de ADNc de la glucano sintasa I de la cepa Lu15531 de *S. commune*. SEQ ID NO: 7 representa la secuencia de ADNc de la glucano sintasa II de la cepa Lu15531 de *S. commune*. SEQ ID NO: 9 representa la secuencia de nucleótidos del gen de la glucano sintasa I de la cepa Lu15634 de *S. commune* (colección de cepas, BASF SE; cepa monocariótica que se origina a partir de la cepa *S. commune* de la colección de cepas en la Universidad Técnica de Braunschweig (Alemania), Prof. Rau; generada por aislamiento de esporas). SEQ ID NO: 11 representa la secuencia de nucleótidos del gen de la glucano sintasa II de la cepa Lu15634 de *S. commune*. SEQ ID NO: 13 representa la secuencia de ADNc de la glucano sintasa I de la cepa Lu15634 de *S. commune*. SEQ ID NO: 15 representa la secuencia de ADNc de la glucano sintasa II de la cepa Lu15634 de *S. commune*.

El polipéptido como se refiere y se usa en contexto con la presente invención y el polipéptido codificado por el polinucleótido en el contexto de la presente invención (dichos polipéptidos en lo sucesivo denominados también "polipéptido en el contexto de la presente invención") tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa. En una realización, es una 1,3-β-D-glucano sintasa. Por ejemplo, el polipéptido en el contexto de la presente invención puede comprender o puede consistir en una secuencia de aminoácidos que es al menos el 70 %, preferentemente al menos el 75 %, más preferentemente al menos el 80 %, más preferentemente al menos el 85 %, más preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 %, más preferentemente al menos el 96 %, más preferentemente al menos el 97 %, más preferentemente al menos el 98 %, más preferentemente al menos el 99 %, más preferentemente al menos el 99,5 %, y lo más preferentemente al menos el 100 % idéntica a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, siempre que el polipéptido tenga actividad 1,3-β-D-glucano sintasa. SEQ ID NO: 6 representa la secuencia de aminoácidos de la glucano sintasa I de la cepa Lu15531 de *S. commune*. SEQ ID NO: 8 representa la secuencia de aminoácidos de la glucano sintasa II de la cepa Lu15531 de *S. commune*. SEQ ID NO: 14 representa la secuencia de aminoácidos de la glucano sintasa I de la cepa Lu15634 de *S. commune*. SEQ ID NO: 16 representa la secuencia de aminoácidos de la glucano sintasa II de la cepa Lu15634 de *S. commune*.

En contexto con la presente invención, la expresión "actividad 1,3-β-D-glucano sintasa" significa que el polipéptido respectivo es capaz de catalizar la elongación de la cadena de 1,3-β-D-glucano (la cadena puede ser lineal o ramificada) usando UDP-glucosa como sustrato (véase Inoue, Eur J Biochem (1995), 231: 845-854). Por ejemplo, en contexto con la presente invención, se puede considerar que un polinucleótido codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa si una célula de *S. commune* que se transforma con dicho polinucleótido y que expresa dicho polinucleótido de forma constitutiva es capaz de producir al menos el 50 %, más preferentemente al menos el 75 %, más preferentemente al menos el 100 %, más preferentemente al menos el 120 %, más preferentemente al menos el 150 %, más preferentemente al menos el 200 %, y más preferentemente al menos el 220 % más de esquizofilano en comparación con una célula de *S. commune* que no se está transformando con dicho polinucleótido, en el que se pueden aplicar las siguientes condiciones. Los cultivos de *S. commune* respectivos con células transformadas y no transformadas, respectivamente, pueden cultivarse como sigue. Para los cultivos líquidos, se puede usar el siguiente medio (en adelante denominado "Medio Convencional"): 30 g de glucosa (Sigma), 3 g de extracto de levadura (Difco), 1 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Riedel-de Haën), 0,5 g de MgSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O (Roth) por litro de H<sub>2</sub>O. Para ambos, pre cultivos y para el cultivo principal, se pueden usar matraces agitadores de 250 ml llenos con 30 ml de medio convencional. El cultivo se puede realizar a 27 °C y 225 rpm. Antes de cada inoculación, la biomasa se puede homogeneizar durante 1 minuto a 13500 rpm utilizando T 25 digital ULTRA-TURRAX® (IKA). El primer pre cultivo puede inocularse con 50 mg de biomasa húmeda. Los cultivos se pueden incubar, a continuación, durante 72 horas. Después de 72 horas, se puede iniciar el segundo pre cultivo. La concentración de la biomasa húmeda homogeneizada del primer pre cultivo utilizado para la inoculación puede ser de 250 mg. El tiempo de cultivo puede ser de 45 horas. Después de 45 horas, el cultivo principal puede inocularse con 500 mg de biomasa húmeda homogeneizada del segundo pre cultivo y cultivarse durante otras 45 horas. Posteriormente, los cultivos se pueden tratar de la siguiente manera. Se pueden mezclar 10 ml del cultivo, 20 ml de H<sub>2</sub>O y 90 µl de Acticide BW20. La muestra se puede digerir durante 24 horas a 40 °C con β-glucanasa (0,3 ml) (Erbslöh).

Después de la incubación, la muestra se puede centrifugar (por ejemplo, 30 minutos a 3400 g) y el sobrenadante se puede analizar para determinar el contenido de glucosa usando un intercambiador de cationes HPLC (Aminex HPX-87-H, BIO-RAD) con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M (Roth) como eluyente y velocidad de flujo de 0,5 ml/min a 30 °C. La estructura de esquizofilano típica como se describe en el presente documento puede confirmarse mediante enfoques analíticos adicionales como se describe en el Ejemplo a continuación en el presente documento (por ejemplo, mediante RMN y DRX). La misma evaluación se puede realizar *mutatis mutandis* para evaluar si un polipéptido dado tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en el contexto de la presente invención. En este caso, un polinucleótido correspondiente

que codifica dicho polipéptido a evaluar se evalúa *mutatis mutandis* como se describe anteriormente. Si la expresión de un polinucleótido de este tipo que codifica dicho polipéptido a evaluar se considera que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa como se describe anteriormente, se considera que el propio polipéptido tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa.

5 El nivel de identidad entre dos o más secuencias (por ejemplo, secuencias de ácidos nucleicos o secuencias de aminoácidos) se puede determinar fácilmente mediante procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante análisis BLAST. En general, en contexto con la presente invención, si las dos secuencias que se comparan (por ejemplo, secuencias de polinucleótidos o secuencias de aminoácidos) por, por ejemplo, comparaciones de secuencias difieren en identidad, entonces el término "identidad" puede referirse a la secuencia más corta y la parte  
10 de la secuencia más larga que coincide con dicha secuencia más corta. Por lo tanto, cuando las secuencias que se comparan no tienen la misma longitud, el grado de identidad puede referirse preferentemente al porcentaje de restos de nucleótidos en la secuencia más corta que son idénticos a los restos de nucleótidos en la secuencia más larga o al porcentaje de nucleótidos en la secuencia más larga secuencia que son idénticos a la secuencia de nucleótidos en la secuencia más corta. En este contexto, el experto en la materia está en condiciones de determinar esa parte de una secuencia más larga que coincide con la secuencia más corta. Además, como se usa en el presente documento, los niveles de identidad de las secuencias de ácido nucleico o las secuencias de aminoácidos pueden referirse a la longitud total de la secuencia respectiva y se evalúan preferentemente por pares, en los que cada hueco se cuenta como una falta de coincidencia. Estas definiciones para comparaciones de secuencias (por ejemplo, el establecimiento de valores de "identidad") deben aplicarse a todas las secuencias descritas y desveladas en el  
20 presente documento.

Además, el término "identidad" como se usa en el presente documento significa que hay una equivalencia funcional y/o estructural entre las secuencias correspondientes. Las secuencias de ácidos nucleicos/aminoácidos que tienen los niveles de identidad dados a las secuencias de ácidos nucleicos/aminoácidos particulares descritas en el presente documento pueden representar derivados/variantes de estas secuencias que, preferentemente, tienen la  
25 misma función biológica. Pueden ser variaciones de origen natural, por ejemplo, secuencias de otras variedades, especies, etc., o mutaciones, y dichas mutaciones pueden haberse formado naturalmente o pueden haber sido producidas por mutagénesis deliberada. Además, las variaciones pueden ser secuencias producidas sintéticamente. Las variantes pueden ser variantes de origen natural o variantes producidas sintéticamente o variantes producidas por técnicas de ADN recombinante. Se pueden haber producido desviaciones de las secuencias de ácidos nucleicos descritas anteriormente, por ejemplo, por delección, sustitución, adición, inserción y/o recombinación. El término "adición" se refiere a la adición de al menos un resto de ácido nucleico/aminoácido al final de la secuencia dada, mientras que la "inserción" se refiere a la inserción de al menos un resto de ácido nucleico/aminoácido dentro de una secuencia dada. El término "delección" se refiere a la delección o eliminación de al menos un resto de ácido nucleico o resto de aminoácido en una secuencia dada. El término "adición" se refiere al reemplazamiento de al menos un resto de ácido nucleico/resto de aminoácido en una secuencia dada. De nuevo, estas definiciones, como se usan aquí, se aplican, *mutatis mutandis*, para todas las secuencias proporcionadas y descritas en el presente documento.  
35

En general, como se usa en el presente documento, las expresiones "polinucleótido" y "ácido nucleico" o "molécula de ácido nucleico" deben interpretarse como sinónimos. En general, las moléculas de ácidos nucleicos pueden comprender, *inter alia*, moléculas de ADN, moléculas de ARN, tiofosfatos de oligonucleótidos, ribo oligonucleótidos  
40 sustituidos o moléculas de ANP. Además, la expresión "molécula de ácido nucleico" puede referirse a ADN o ARN o sus híbridos o cualquier modificación de la misma que sea conocida en la técnica (véase, por ejemplo, los documentos US 5525711, US 471 1955, US 5792608 o EP 302175 para ejemplos de modificaciones). La secuencia de polinucleótidos puede ser de cadena sencilla o doble, lineal o circular, natural o sintética y sin ninguna limitación de tamaño. Por ejemplo, la secuencia de polinucleótidos puede ser ADN genómico, ADNc, ADN mitocondrial, ARNm, ARN antisentido, ARN ribosómico un ADN que codifica tales ARN o quimeroplastos (Gamper, Nucleic Acids Research, 2000, 28, 4332 - 4339). Dicha secuencia de polinucleótidos puede estar en forma de un vector, plásmido o de ADN o ARN viral. En el presente documento también se describen moléculas de ácidos nucleicos que son complementarias a las moléculas de ácidos nucleicos descritas anteriormente y moléculas de ácidos nucleicos que pueden hibridar con moléculas de ácidos nucleicos descritas en el presente documento. Una molécula de ácido  
50 nucleico descrita en el presente documento también puede ser un fragmento de las moléculas de ácidos nucleicos en el contexto de la presente invención. Particularmente, dicho fragmento es un fragmento funcional. Ejemplos de tales fragmentos funcionales son moléculas de ácidos nucleicos que pueden servir como cebadores.

El término "hibridación" o "híbrida" como se usa en el presente documento en el contexto de moléculas de ácidos nucleicos/secuencias de ADN puede relacionarse con hibridaciones en condiciones rigurosas o no rigurosas. Si no se especifica adicionalmente, las condiciones son preferentemente no rigurosas. Dichas condiciones de hibridación pueden establecerse de acuerdo con los protocolos convencionales descritos, por ejemplo, en Sambrook, Russell "Molecular Cloning, A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory, N. Y. (2001); Current Protocols in Molecular Biology, Actualización del 9 de mayo de 2012, Print ISSN: 1934-3639, Online ISSN: 1934-3647; Ausubel, "Current Protocols in Molecular Biology", Green Publishing Associates and Wiley Interscience, N. Y. (1989), o Higgins y Hames (Eds.) "Nucleic acid hybridization, a practical approach" IRL Press Oxford, Washington DC, (1985). El establecimiento de condiciones está bien dentro de la habilidad del experto y puede determinarse de acuerdo con los protocolos descritos en la técnica. Por tanto, la detección de solo secuencias de hibridación específica generalmente requerirá condiciones de hibridación y lavado rigurosas como 0,1 x SSC, SDS al 0,1 % a 65 °C. Las  
60

condiciones de hibridación no rigurosas para la detección de secuencias homólogas o no exactamente complementarias se pueden establecer en 6 x SSC, SDS al 1 % a 65 °C. Como es bien conocido, la longitud de la sonda y la composición del ácido nucleico a determinar constituyen parámetros adicionales de las condiciones de hibridación. Las variaciones en las condiciones anteriores se pueden lograr mediante la inclusión y/o sustitución de reactivos de bloqueo alternativos utilizados para suprimir el fondo en experimentos de hibridación. Los reactivos de bloqueo típicos incluyen el reactivo de Denhardt, BLOTTO, heparina, ADN de esperma de salmón desnaturalizado y formulaciones patentadas disponibles comercialmente. La inclusión de reactivos de bloqueo específicos puede requerir la modificación de las condiciones de hibridación descritas anteriormente, debido a problemas de compatibilidad. De acuerdo con la invención descrita en el presente documento, las condiciones de hibridación rigurosas bajas para la detección de secuencias homólogas o no exactamente complementarias se pueden establecer, por ejemplo, en 6 x SSC, por ejemplo, SDS al 1 % a 65 °C. Como es bien conocido, la longitud de la sonda y la composición del ácido nucleico a determinar constituyen parámetros adicionales de las condiciones de hibridación.

Las moléculas de ácido nucleico que hibridan también comprenden fragmentos de las moléculas descritas anteriormente. Dichos fragmentos pueden representar moléculas de ácidos nucleicos que codifican una 1,3-β-D-glucano sintasa funcional como se describe en el presente documento o un fragmento funcional de la misma que puede servir como cebador. Además, las moléculas de ácido nucleico que hibridan con cualquiera de las moléculas de ácidos nucleicos mencionadas anteriormente también incluyen fragmentos complementarios, derivados y variantes de estas moléculas. De manera adicional, un complejo de hibridación se refiere a un complejo entre dos secuencias de ácidos nucleicos en virtud de la formación de enlaces de hidrógeno entre bases complementarias de G y C y entre bases complementarias de A y T; estos enlaces de hidrógeno pueden estabilizarse adicionalmente por las interacciones de apilamiento de bases. Las dos secuencias de ácidos nucleicos complementarias se enlazan con hidrógeno en una configuración antiparalela. Se puede formar un complejo de hibridación en solución (por ejemplo, análisis Cot o Rot) o entre una secuencia de ácido nucleico presente en solución y otra secuencia de ácido nucleico inmovilizada en un soporte sólido (por ejemplo, membranas, filtros, chips, alfileres o portaobjetos de vidrio en los cuales, por ejemplo, se han fijado las células). Los términos complementarios o complementariedad se refieren a la unión natural de polinucleótidos en condiciones de sal y temperatura permisivas por emparejamiento de bases. Por ejemplo, la secuencia "A-G-T" se une a la secuencia complementaria "T-C-A". La complementariedad entre dos moléculas de cadena sencilla puede ser "parcial", en la que solo algunos de los ácidos nucleicos se unen, o puede ser completa cuando existe una complementariedad total entre las moléculas de cadena sencilla. El grado de complementariedad entre las cadenas de ácido nucleico tiene efectos significativos sobre la eficacia y la resistencia de la hibridación entre las cadenas de ácidos nucleicos. Esto es de particular importancia en las reacciones de amplificación, que dependen de la unión entre las cadenas de ácidos nucleicos. La expresión "secuencias de hibridación" se refiere preferentemente a secuencias que muestran una identidad de secuencia de al menos el 45 %, más preferentemente al menos el 50 %, más preferentemente al menos el 55 %, más preferentemente al menos el 60 %, más preferentemente al menos el 65 %, más preferentemente al menos el 70 %, más preferentemente al menos el 75 %, más preferentemente al menos el 80 %, más preferentemente al menos el 85 %, más preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 %, más preferentemente al menos el 96 %, más preferentemente al menos el 97 %, más preferentemente al menos el 98 %, más preferentemente al menos el 99 %, más preferentemente al menos el 99,5 %, y lo más preferentemente el 100 % de identidad con una secuencia de ácido nucleico como se describe en el presente documento que codifica una 1,3-β-D-glucano sintasa.

En el presente documento también se describen vectores que contienen un polinucleótido en el contexto de la presente invención. La presente invención se refiere también a un vector que comprende el polinucleótido en el contexto de la presente invención. El término "vector" tal como se usa en el presente documento se refiere particularmente a plásmidos, cósmidos, virus, bacteriófagos y otros vectores usados comúnmente en ingeniería genética. En una realización preferida, los vectores son adecuados para la transformación, transducción y/o transfección de microorganismos como se describe en el presente documento, por ejemplo, células de hongos, células procariotas (por ejemplo, bacterias), levaduras y similares. Ejemplos específicos de microorganismos en contexto con la presente invención son *Schizophyllum commune*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotium glaucum*, *Sclerotium delphinii*, *Porodisculus pendulus*, *Botrytis cinerea*, especies de *Laminaria*, *Lentinula edoles* y *Monilinia fructigena*. En una realización particularmente preferida, dichos vectores son adecuados para la transformación estable del microorganismo, por ejemplo para expresar el polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa como se describe en el presente documento. En consecuencia, en un aspecto de la invención, el vector que se proporciona es un vector de expresión. En general, los vectores de expresión han sido ampliamente descritos en las referencias. Como norma, pueden no solo contener un gen marcador de selección y un origen de replicación que asegure la replicación en el hospedador seleccionado, sino también un promotor y en la mayoría de los casos una señal de terminación para la transcripción. Entre el promotor y la señal de terminación, hay preferentemente al menos un sitio de restricción o un poliligador que permite la inserción de una secuencia/molécula de ácido nucleico que se desea expresar.

Debe entenderse que cuando el vector proporcionado en el presente documento se genera aprovechando un vector de expresión conocido en la técnica anterior que ya comprende un promotor adecuado para ser empleado en el contexto de la presente invención, por ejemplo, la expresión de un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa como se describe en el presente documento, la construcción de ácido nucleico se inserta preferentemente en

ese vector de una manera que el vector resultante comprende solo un promotor adecuado para ser empleado en el contexto de la presente invención. El experto sabe cómo se puede poner en práctica dicha inserción. Por ejemplo, el promotor se puede escindir ya sea de la construcción de ácido nucleico o del vector de expresión antes de la unión. Un ejemplo no limitante del vector de la presente invención es pBluescript II que comprende el polinucleótido en el contexto de la presente invención. Otros ejemplos de vectores adecuados para comprender el polinucleótido en el contexto de la presente invención para formar los descritos en el presente documento son conocidos en la técnica y comprenden, por ejemplo, pDrive, pTOPO, pUC19 y pUC21.

En general, la presente invención se refiere a todas las realizaciones descritas en el presente documento así como a todas las permutaciones y combinaciones de las mismas. Los siguientes aspectos particulares de la presente invención no deben interpretarse como limitantes del ámbito de la presente invención en tales aspectos.

En un aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En un aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizophyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizophyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

En un aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1,3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, en el que dicho polímero se selecciona del grupo

que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizophyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizophyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que

consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

5 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

10 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

15 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizophyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizophyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

25 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

30 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

35 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-gluco piranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-gluco piranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

40 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-gluco piranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-gluco piranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

5 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

10 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

15 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

25 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizoyphyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

30 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizoyphyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

35 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizoyphyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir esquizofilano.

40 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizoyphyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir esquizofilano.

45 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizoyphyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir escleroglucano.

50 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizoyphyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir escleroglucano.

55 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un

polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de

5 producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

10 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

30 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

40 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

50 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

60 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir esquizofilano en el que

dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

5 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

10 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

15 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizoyphyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

25 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizoyphyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

30 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizoyphyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir esquizofilano.

35 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizoyphyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir esquizofilano.

40 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizoyphyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir esquizofilano.

45 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizoyphyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir esquizofilano.

85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir escleroglucano.

5 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizopyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir escleroglucano.

10 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir un polímero que  
15 consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir un polímero que consiste en una cadena principal  
25 lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

30 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir esquizofilano, en el  
35 que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

40 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

45 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

50 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es  
55 *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo

- 5 genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.
- 10 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que
- 15 tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de
- 20 ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.
- En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal
- 25 con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o
- 30 16, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.
- En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo
- 35 genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.
- 40 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-
- 45 glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.
- En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de β-D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que
- 50 tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.
- 55 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de
- 60

la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir esquizofilano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizophyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizophyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-

(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

5 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizopyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir esquizofilano.

10 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizopyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir esquizofilano.

15 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizopyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir escleroglucano.

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado de la especie *Schizopyllum commune*, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir escleroglucano.

25 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizopyllum commune*.

30 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unidas a una unidad de  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizopyllum commune*.

35 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizopyllum commune*.

40 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en

comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir esquizofilano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

5 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

15 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir escleroglucano, caracterizado porque dicho microorganismo genéticamente modificado contiene al menos una copia más de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16, para producir escleroglucano, en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir esquizofilano, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- (a) introducir un promotor fuerte (por ejemplo, constitutivo o inducible) cadena arriba de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, aumentando, de este modo, la expresión de dicho polinucleótido, o un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en un microorganismo es capaz de sintetizar esquizofilano;
- 25 (b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca esquizofilano; y
- (c) opcionalmente recuperar esquizofilano del medio,

en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

30 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir escleroglucano, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- (a) introducir un promotor fuerte (por ejemplo, constitutivo o inducible) cadena arriba de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, aumentando, de este modo, la expresión de dicho polinucleótido, o un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en un microorganismo es capaz de sintetizar escleroglucano;
- 35 (b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca escleroglucano; y
- (c) opcionalmente recuperar escleroglucano del medio,

en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

40 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D- (1-3)-glucopiranosilo que tiene una sola unidad β-D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- (a) introducir un promotor fuerte (por ejemplo, constitutivo o inducible) cadena arriba de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa, lo que aumenta la expresión de dicho polinucleótido, o un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en un microorganismo de la especie *Schizophyllum commune* capaz de sintetizar dicho polímero;
- 45 (b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca dicho polímero; y
- (c) opcionalmente recuperar dicho polímero del medio,

50 en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades β-D- (1-3)-glucopiranosilo que tiene una sola unidad β-D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad β-D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- 55 (a) introducir un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3-β-D-glucano sintasa en un

microorganismo capaz de sintetizar dicho polímero, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15;

- 5 (b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca dicho polímero; y  
(c) opcionalmente recuperar dicho polímero del medio,

en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

- 10 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D- (1-3)-glucopiranosilo que tiene una sola unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- 15 (a) introducir un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en un microorganismo capaz de sintetizar dicho polímero, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16;  
(b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca dicho polímero; y  
(c) opcionalmente recuperar dicho polímero del medio,

- 20 en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir esquizofilano, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- 25 (a) introducir un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en un microorganismo capaz de sintetizar esquizofilano, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15;  
(b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca esquizofilano; y  
(c) opcionalmente recuperar esquizofilano del medio,

- 30 en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir escleroglucano, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- 35 (a) introducir un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en un microorganismo capaz de sintetizar escleroglucano, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15;  
(b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca escleroglucano; y  
(c) opcionalmente recuperar escleroglucano del medio,

- 40 en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir esquizofilano, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- 45 (a) introducir un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en un microorganismo capaz de sintetizar esquizofilano, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16;  
(b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca esquizofilano; y  
(c) opcionalmente recuperar esquizofilano del medio,

en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.

- 50 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir escleroglucano, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

(a) introducir un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en un microorganismo capaz de sintetizar escleroglucano, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16;

- (b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca escleroglucano; y
- (c) opcionalmente recuperar escleroglucano del medio,

en el que el microorganismo es *Schizophyllum commune*.

- 5 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D- (1-3)-glucopiranosilo que tiene una sola unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- 10 (a) introducir un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en un microorganismo de la especie *Schizophyllum commune* que es capaz de sintetizar dicho polímero, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15;
- (b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca dicho polímero; y
- 15 (c) opcionalmente recuperar dicho polímero del medio,

en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

- En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D- (1-3)-glucopiranosilo que tiene una sola unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:
- 20

- (a) introducir un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en un microorganismo de la especie *Schizophyllum commune* que es capaz de sintetizar dicho polímero, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16;
- 25 (b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca dicho polímero; y
- (c) opcionalmente recuperar dicho polímero del medio,

en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano.

- En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir esquizofilano, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:
- 30

- (a) introducir un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en un microorganismo de la especie *Schizophyllum commune* que es capaz de sintetizar dicho polímero, en el que dicho polinucleótido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 o 15;
- 35 (b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca dicho polímero; y
- (c) opcionalmente recuperar dicho polímero del medio.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir esquizofilano, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- 40 (a) introducir un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa en un microorganismo de la especie *Schizophyllum commune* que es capaz de sintetizar dicho polímero, en el que dicho polipéptido es al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 100 % idéntico a la SEQ ID NO: 6, 8, 14 o 16;
- 45 (b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca dicho polímero; y
- (c) opcionalmente recuperar dicho polímero del medio.

Las figuras muestran:

- 50 **Figura 1 Espectro XRD de la muestra de Esquizofilano.** La triple hélice podría verse como una difracción intensiva a  $5^\circ 2\theta$  y la región amorfa del material proporciona una difracción amplia en el intervalo de  $20$ - $25^\circ 2\theta$

- Figura 2  $^1\text{H}$ -RMN de esquizofilano (50 mg de gel) en  $[\text{D}_6]$ -DMSO medido a  $50^\circ\text{C}$  (16 exploraciones, 600 MHz).** El patrón de sustitución de esquizofilano puede asignarse a partir de las integraciones del  $\text{CH}_2\text{OH}$  a 3,7 ppm y  $\text{CH}_2\text{O}$  (éter) a las señales de 4,1 ppm, se determinó que la proporción era de 3,3:1 indicando la unidad de repetición correcta.

**Figura 3 13C-NMR de esquizofilano (50 mg de gel) en [D<sub>6</sub>] -DMSO medido a 50 °C (10,000 exploraciones, 600 MHz).** Asignación de las señales, δ (ppm): 60 y 61 (C-6), 68 (C6-C β( 1 -6)), 68 (C4-OH glucosa lateral), 70 (C-2 cadena principal), 72 (C-2), 76 (C-5), 76,7 (C-3 glucosa lateral), 86 (c-§ cadena principal), 103 (C-1).

5 **Figura 4 Imagen esquemática de la unidad de repetición de esquizofilano.**

Los siguientes ejemplos ilustran la presente invención. Sin embargo, la presente invención no debe interpretarse como limitada por los siguientes Ejemplos.

**Ejemplos**

**Ejemplo 1**

10 Clonación del plásmido de expresión de β-1,3-glucano sintasa (pGS 1) y transformación en *S. commune*

En el genoma de *Schizophyllum commune*, se identificaron dos genes que codifican la β-1,3-glucano sintasa mediante el análisis BLAST (genes de consulta: secuencia de 1,3-β-glucano sintasa de *Mycosphaerellagraminicola*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*, *Schizosaccharomyces pombe*); cf. Ullman, Biochem J (1997), 326: 929-942. En el ámbito de la presente invención, se comprobó que la sobreexpresión de cualquiera de estas β-1,3-glucano sintasas en *S. commune* produce un aumento de los rendimientos de la producción de esquizofilano.

15 Se generaron dos plásmidos de expresión (pGS\_1] y (pGS\_2) (que tienen pBluescript II como cadena principal) con casete de marcadores de selección (amp<sup>R</sup>, *ura1*), promotor constitutivo fuerte (promotor Tef1), la secuencia del gen de la sintasa (secuencia genómica) y secuencia del terminador ( terminador Tef1).

20 Todas las secuencias de polinucleótidos descritas en el presente documento se originan de *Schizopyllum commune*. Los polinucleótidos representados por las SEQ ID NO 1 y 3 (genes β-1,3-glucano sintasas I y II de Lu15531, respectivamente) se sintetizaron por Eurofins MWG GmbH/Alemania (<http://www.eurofinsdna.com/de>) de acuerdo con los datos de secuencia originales obtenidos de la base de datos JGI (<http://www.jgi.doe.gov/Scommune>; gene position: scaffold 2, 1194740-1200474 and gene position: scaffold 6, 1391067-1396555). Las secuencias se administraron en plásmidos pMK (pMK\_GS\_1) y (pMK\_GS\_2) (plásmidos Eurofins que contienen kan<sup>R</sup>, origen ColE1 y secuencia genómica de las respectivas β-1,3-glucano sintasas). Los polinucleótidos se usaron adicionalmente para la clonación del plásmido de expresión completo. El plásmido (pMK\_GS\_1) contenía un polinucleótido representado por la SEQ ID NO: 1 flanqueado por los sitios de restricción SpeI 5' y Sall 3'. El plásmido (pMK\_GS\_2) contenía un polinucleótido representado por la SEQ ID NO: 3 flanqueado por los sitios de restricción de SpeI 5' y EcoRV 3', respectivamente.

30 Los elementos individuales (SEQ ID NO: 17, 18 y 33 (promotor Tef1, terminador Tef1 y *ura1*) se aislaron del ADN genómico de *Schizophyllum commune* utilizando tecnología de PCR preparada por protocolos microbiológicos establecidos (Sambrook, loc cit; Current Protocols in Molecular Biology, Actualización del 9 de mayo de 2012, Print ISSN: 1934-3639, Online ISSN: 1934-3647).

35 Todos los aislamientos de plásmidos se realizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante usando el kit HiSpeed Maxi (Qiagen/Alemania). Para este fin, se cultivaron células XL10 de *Escherichia coli* (Stratagene) que contienen el plásmido de expresión final o uno de los plásmidos interinos en medio Luria-Bertoni (LB) (Sigma-Aldrich) que contiene 50 mg/ml de ampicilina (Sigma-Aldrich).

40 Para el aislamiento de la secuencia del promotor tef1 (SEQ ID NO: 17), 50 µl de la reacción de PCR contenía 1,25 U de *PfuUltra* Hotstart Mastermix (Stratagene) y 1,25 U de Taq PCR Mastermix (Quiagen), 22 µl de H<sub>2</sub>O, 22,1 pmol de cebador directo TefP\_forw (XbaI) (SEQ ID NO: 21) y 100 pmol de cebador inverso TefP\_rev (SpeI) (SEQ ID NO: 22), y 100 ng de plantilla (ADN genómico de *Schizophyllum commune*). La reacción se llevó a cabo en el termociclador de Gene Amp® PCR System 9700 de PE Applied Biosystems. Se utilizó el siguiente programa para la amplificación: la etapa de calentamiento inicial hasta 95 °C durante 4 minutos fue seguida por 30 ciclos de 30 segundos de desnaturalización a 95 °C, etapa de hibridación de 30 segundos a 55 °C, etapa de elongación de 1 minuto a 72 °C, seguido de un ciclo a 72 °C durante 10 minutos.

45 Para la amplificación del gen sintético de la β-1,3-glucano sintasa (SEC ID NO: 1), 50 µl de la reacción de PCR contenía 1,25 U de *PfuUltra* Hotstart Mastermix (Stratagene) y 1,25 U de Taq PCR Mastermix (Quiagen), 22 µl de H<sub>2</sub>O, 100 pmol de cebador directo GS1\_forw (SpeI) (SEQ ID NO: 27) y 22 pmol de cebador inverso GS1\_rev (Sall) (SEQ ID NO: 28), 100 ng de plantilla (pMK\_GS\_1). La reacción se llevó a cabo en el termociclador de Gene Amp® PCR System 9700 de PE Applied Biosystems. Se utilizó el siguiente programa para la amplificación: una etapa de calentamiento inicial hasta 95 °C durante 4 minutos fue seguida por 30 ciclos de 30 segundos de desnaturalización a 95 °C, etapa de hibridación de 30 segundos a 55 °C, etapa de elongación de 8 minutos a 72 °C, seguido de un ciclo a 72 °C durante 10 minutos.

55 En la siguiente etapa de reacción de la PCR, se llevó a cabo la fusión de los dos primeros productos de la PCR (promotor tef1 (SEQ ID NO: 17) con el gen de la β-1,3-glucano sintasa (SEQ ID NO: 1). 50 µl de la reacción de PCR

5 contenía 1,25 U de Pwo Hotstart Mastermix (Roche) y 1,25 U de Taq PCR Mastermix (Quiagen), 22 µl de H<sub>2</sub>O, 22,1 pmol de cada cebador: Fusion TefP\_GS1\_forw (XbaI) (SEQ ID NO: 29) y Fusion TefP\_GS1\_rev (SaiI) (SEQ ID NO: 30) y 100 ng ambas plantillas. La reacción se llevó a cabo en el termociclador de Gene Amp® PCR System 9700 de PE Applied Biosystems. Se utilizó el siguiente programa para la fusión de ambas secuencias: una etapa de calentamiento inicial hasta 95 °C durante 4 minutos fue seguida por 30 ciclos de 30 segundos de desnaturalización a 95 °C, etapa de hibridación de 30 segundos a 55 °C, etapa de elongación de 8 minutos a 72 °C, seguido de un ciclo a 72 °C durante 10 minutos.

10 El producto de la PCR de fusión se trató con enzimas de restricción *SaI* y *XbaI* (Roche) de acuerdo con las instrucciones del fabricante y el vector (pBluescript 2KSP, Stratagene Cloning Systems) se hizo lineal utilizando las mismas enzimas de restricción y posteriormente se trató con fosfatasa alcalina (Roche) de acuerdo con las Instrucciones del fabricante. Ambos, el producto de la PCR digerido y el vector pBluescript 2KSP linealizado, se ligaron utilizando ADN Ligasa deT4 (New England Biolabs, Inc., Beverly, MA/USA) y se transformaron en células XL10 de *Escherichia coli* (Stratagene) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

15 Para el aislamiento de la secuencia del terminador *tef1* (SEQ ID NO: 18) se realizó la siguiente reacción de PCR: 50 µl de la reacción de PCR contenía 1,25 U de Pwo Hotstart Mastermix (Roche) y 1,25 U de Taq PCR Mastermix (Quiagen), 22 µl de H<sub>2</sub>O, 24 pmol de cebador directo TefP\_forw (SaiI) (SEQ ID NO: 23) y 21 pmol de cebador inverso TefP\_rev (SaiI) (SEQ ID NO: 24), y 100 ng de plantilla (ADN genómico de *Schizophyllum commune*). La reacción se llevó a cabo en el termociclador de Gene Amp® PCR System 9700 de PE Applied Biosystems. Se utilizó el siguiente programa: una etapa de calentamiento inicial hasta 95 °C durante 4 minutos fue seguida por 30 ciclos de 30 segundos de desnaturalización a 95 °C, etapa de hibridación de 30 segundos a 60 °C, etapa de elongación de 1 minuto a 72 °C, seguido de un ciclo a 72 °C durante 10 minutos. El producto de la PCR se trató con la enzima de restricción *SaI* (Roche) y se unió con el plásmido que contiene el promotor *tef1* y la β-1,3-glucano sintasa, que se linealizó antes con la enzima de restricción *SaI* (Roche) y se trató con fosfatasa alcalina (Roche) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después de la unión, la construcción de ADN se transformó en células XL10 de *Escherichia coli* (Stratagene) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

25 Para permitir la selección de cepas de *Schizophyllum commune* después de la transformación con la expresión de β-1,3-glucano sintasa, se introdujo un marcador de selección de plásmido (*ura1*; SEQ ID NO: 33) en el plásmido. Para ese fin, el gen *ura1* se aisló del ADN genómico de *Schizophyllum commune*. La reacción de PCR contenía 2,5 U de Pwo Hotstart Mastermix (Roche), 22 µl de H<sub>2</sub>O, 21 pmol de cebador directo Ura\_forw (NotI) (SEQ ID NO: 19) y 38 pmol de cebador inverso Ura\_rev (XbaI) (SEQ ID NO: 20) y 100 ng de la plantilla (ADN genómico de *Schizophyllum commune*). La reacción se llevó a cabo en el termociclador de Gene Amp® PCR System 9700 de PE Applied Biosystems. Se utilizó el siguiente programa: una etapa de calentamiento inicial hasta 95 °C durante 4 minutos fue seguida por 30 ciclos de 30 segundos de desnaturalización a 95 °C, etapa de hibridación de 30 segundos a 60 °C, etapa de elongación de 2 minutos a 72 °C, seguido de un ciclo a 72 °C durante 10 minutos. El producto de la PCR se digirió con las enzimas de restricción *XbaI* y *NotI* (Roche) y se unió en el sitio *XbaI/NotI* del plásmido de expresión de β-1,3-glucano sintasa (pGS\_1) utilizando la ADN ligasa de T4 (New England Biolabs, Inc., Beverly, MA/USA). El plásmido resultante que codifica la β-1,3-glucano sintasa con el promotor y terminador *tef1*, y que contiene un marcador de selección *ura1* se transformó en células XL10 de *Escherichia coli* (Stratagene) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

40 Para la transformación de *Schizophyllum commune* con el plásmido de expresión de β-1,3-glucano sintasa (pGS\_1), la preparación del plásmido se llevó a cabo de la siguiente manera. Las células XL10 de *Escherichia coli* que contienen el plásmido de expresión de β-1,3-glucano sintasa se cultivaron en medio Luria-Bertoni (LB) (Sigma-Aldrich) que contenía 50 mg/ml de ampicilina (Sigma-Aldrich) y el aislamiento del plásmido se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante utilizando el kit HiSpeed Maxi (Quiagen).

45 *Schizophyllum commune* (Lu15527; obtenido de la colección de cepas de la Universidad de Jena (Alemania), Prof. E. Kothe, Jena University internal strain name: 12-43) se transformó basándose en el procedimiento descrito por van Peer y col. (van Peer, *loc cit*) como base. El procedimiento se modificó de acuerdo a la descripción a continuación.

Para la preparación de protoplastos de *S. commune*, se inoculó cultivo fresco en una placa que contenía medio complejo (CYM). Para la incubación a 26 °C durante 2-3 días, las placas se sellaron con parafilm.

50 Para la inoculación de pre cultivo líquido (50 ml de volumen de trabajo), la biomasa de la placa se maceró durante 1 minuto a 13500 rpm utilizando T25 digital ULTRA-TURRAX® (IKA), se inoculó en un matraz de agitación que contenía medio líquido CYM y se incubó a 30 °C, 220 rpm durante 3 días más. El cultivo principal se inoculó con 15 ml del pre cultivo en 200 ml de medio CYM y se incubó durante 3 días más a 30 °C a 220 rpm. Después de terminar el crecimiento del cultivo, el cultivo principal se dividió en cuatro muestras de 50 ml y se centrifugó (4000 rpm, 15 min). El sedimento obtenido se lavó dos veces con MgSO<sub>4</sub> 1 M (50 ml) (Roth). Después del lavado, se unieron cuatro muestras y se disolvieron en 50 ml de MgSO<sub>4</sub> 1M.

55 Para permitir la lisis de la pared celular, se disolvieron 100 mg de Caylase (Cayla, Toulouse, Francia) en 1 ml de MgSO<sub>4</sub> 1 M y se agregaron a la suspensión de sedimento. La muestra se incubó durante la noche a 30 °C con agitación ligera (70 rpm). Posteriormente, se añadió agua destilada a la muestra (en una proporción de 1:1), que a

continuación se incubó con agitación ligera (70 rpm) durante 5 minutos más. Después de esta etapa, las células se incubaron sin agitación durante 10 minutos y posteriormente se centrifugaron (1100 rpm, 20 min, 4 °C). Después de filtrar el sobrenadante con Miracloth-Membrane, se añadió un volumen de sorbitol 1 M frío y la muestra se dejó equilibrar durante 10 min. Posteriormente, se centrifugó la muestra (2000 rpm, 20 min, 2 °C). El sedimento se lavó resuspendiendo cuidadosamente en sorbitol 1 M y se repitió la etapa de centrifugación. Finalmente, los protoplastos se resuspendieron en sorbitol 1 M y CaCl<sub>2</sub> 50 mM a una concentración de 10<sup>8</sup> protoplastos por ml.

El ADN utilizado para la transformación fue un plásmido circular (pGS\_1) y la integración en el genoma de *S. commune* fue ectópica. Para transformar los protoplastos con el ADN, se mezclaron suavemente 100 µl de protoplastos y 10 µl de ADN (5-10 µg) y se incubaron durante 60 minutos en hielo. Posteriormente, se añadió un volumen de PEG 4000 (40 %) y la muestra se incubó durante 5 a 10 minutos en hielo. Después de agregar 2,5 ml de medio de regeneración (medio completo que contiene 0,1 µg/ml de fleomicina y MgSO<sub>4</sub> 0,5 M), la muestra se incubó a 30 °C, 70 rpm durante la noche.

Después de la transformación mediada por PEG, los protoplastos regenerados se extendieron en placas de Petri que contenían 40 ml de medio mínimo solidificado: 2 g de ácido aspártico (Roth), 20 g de glucosa (Sigma), 0,5 g de MgSO<sub>4</sub> (Roth), 0,5 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (ambos de Riedel-de Haën), 120 µg de clorhidrato de tiamina (Roth) por litro, pH 6,3 que contiene 1 % de agarosa de bajo punto de fusión (Sigma). Las placas de selección se incubaron 5 días a 30 °C.

## Ejemplo 2

### Clonación del plásmido de expresión de β-1,3-glucano sintasa [pGS 21 y transformación en *S. commune*

El plásmido de expresión para la segunda β-1,3-glucano sintasa (SEQ ID NO: 3) (pGS\_2) se preparó de manera análoga a la preparación de (pGS\_1) como se describe anteriormente en el Ejemplo 1.

Como fuente de la secuencia de promotor *tef1* (SEC ID NO: 17); se usó el mismo producto de PCR que en el Ejemplo 1.

El polinucleótido representado por la SEQ ID NO: 3 se amplificó a partir del plásmido (pMK\_GS\_2) después de la reacción de PCR: 50 µl de la reacción de PCR contenía 1,25 U de *PfuUltra* Hotstart Mastermix (Stratagene) y 1,25 U de Taq PCR Mastermix (Quiagen), 22 µl de H<sub>2</sub>O, 23 pmol de cada cebador: GS2\_forw (Spel) /SEQ ID NO: 31) y GS2\_rev (EcoRV)(SEQ ID NO: 32), 100 ng de plantilla (pMK\_GS\_2). La reacción se llevó a cabo en el termociclador de Gene Amp® PCR System 9700 de PE Applied Biosystems. Se utilizó el siguiente programa para la amplificación: una etapa de calentamiento inicial hasta 95 °C durante 4 minutos fue seguida por 30 ciclos de 30 segundos de desnaturalización a 95 °C, etapa de hibridación de 30 segundos a 53 °C, etapa de elongación de 8 minutos a 72 °C, seguido de un ciclo a 72 °C durante 10 minutos.

Para el aislamiento de la secuencia del terminador *tef1* (SEQ ID NO: 18) y la introducción de los sitios EcoRV (5') y *Apal* (3'), se llevó a cabo la siguiente reacción de PCR: 50 µl de la reacción de PCR contenía 1,25 U de Pwo Hotstart Mastermix (Roche) y 1,25 U de Taq PCR Mastermix (Quiagen), 22 µl de H<sub>2</sub>O, 37 pmol de cebador directo TefP\_forw (EcoRV) (SEQ ID NO: 25) y 25 pmol de cebador inverso TefP\_rev (*Apal*) (SEQ ID NO: 26), y 100 ng de plantilla (ADN genómico de *Schizophyllum commune*). La reacción se llevó a cabo en el termociclador de Gene Amp® PCR System 9700 de PE Applied Biosystems. Se utilizó el siguiente programa: una etapa de calentamiento inicial hasta 95 °C durante 4 minutos fue seguida por 30 ciclos de 30 segundos de desnaturalización a 95 °C, etapa de hibridación de 30 segundos a 58 °C, etapa de elongación de 1 minuto a 72 °C, seguido de un ciclo a 72 °C durante 10 minutos. El producto de la PCR se trató con la enzima de restricción EcoRV y *Apal* (Roche) y se unió con el vector (pBluescript 2KSP, Stratagene Cloning Systems), que se digirió antes con las mismas enzimas de restricción. Después de la unión, la construcción de ADN se transformó en células XL10 de *Escherichia coli* (Stratagene), de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Posteriormente, el promotor *tef1* se clonó en el plásmido. Para este fin, el producto de PCR se digirió con *XbaI* y *SpeI* (Roche) y se unió con el plásmido descrito anteriormente de acuerdo con las instrucciones del fabricante, que contenía el terminador *tef1* que se linealizó utilizando *XbaI* y *SpeI*. La unión se llevó a cabo como se describe en el Ejemplo 1 en el presente documento. Después de la unión, la construcción de ADN se transformó en células XL10 de *Escherichia coli* (Stratagene) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Posteriormente, se clonó *ura1* en el plásmido. Se usó el mismo producto de PCR que en el Ejemplo 1. Después de la digestión del producto de PCR con *NotI* y *XbaI*, el fragmento se clonó en el plásmido que lleva el polinucleótido representado por la SEQ ID NO: 7, el promotor *tef1* y las secuencias de terminación. Antes de la unión, el plásmido se linealizó por *NotI* y *XbaI*. La transformación se llevó a cabo como se describe anteriormente en el Ejemplo 1.

Finalmente, la β-1,3-glucano sintasa (SEQ ID NO: 3) se unió en el plásmido. Para este fin, El producto de PCR se trató con *SpeI* y EcoRV y se unió en el plásmido de expresión diana como se describe anteriormente. La transformación se llevó a cabo como se describe anteriormente en el Ejemplo 1.

La transformación de *Schizophyllum commune* con (pGS\_2) siguió como se describe en el Ejemplo 1.

**Ejemplo 3**Verificación de la funcionalidad de las cepas diseñadas de *S. commune*

Las cepas de *S. commune* modificadas genéticamente generadas como se describe anteriormente se probaron en matraces de agitación para aumentar la producción de esquizofilano. Para asegurar la reproducibilidad de los resultados, se aplicó un cultivo de tres etapas, que consiste en dos pre cultivos y un cultivo principal como se describe más adelante en el presente documento.

Para el cultivo de las cepas de *Schizophyllum commune* modificadas genéticamente, se utilizaron dos medios diferentes. Para el cultivo en medios sólidos, se utilizó medio CYM (25 g de agar (Difco), 20 g de glucosa (Sigma), 2 g de peptona tripticasa (Roth), 2 g de extracto de levadura (Difco), 0,5 g MgSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O (Roth), 0,5 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y 1 g de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (ambos de Riedel-de Haën) por litro de H<sub>2</sub>O). Las cepas se inocularon en placas de agar que contenían medio CYM cubierto con celofán (para evitar el crecimiento de micelio en el agar) y se incubaron durante tres a cuatro días a 26 °C.

Para los cultivos líquidos, se usó el siguiente medio (en adelante denominado "Medio Convencional"): 30 g de glucosa (Sigma), 3 g de extracto de levadura (Difco), 1 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Riedel-de Haën), 0,5 g de MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O (Roth) por litro de H<sub>2</sub>O.

Tanto para pre cultivos como para el cultivo principal, se usaron matraces agitadores de 250 ml llenos con 30 ml de medio convencional. El cultivo se realizó a 27 °C y 225 rpm. Antes de cada inoculación, la biomasa se homogeneizó durante 1 minuto a 13500 rpm utilizando T 25 digital ULTRA-TURRAX® (IKA).

El primer pre cultivo se inoculó con 50 mg de biomasa húmeda. Los cultivos se incubaron, a continuación, durante 72 horas. Después de 72 horas, se inició el segundo pre cultivo. La concentración de la biomasa húmeda homogeneizada del primer pre cultivo utilizado para la inoculación fue de 250 mg. El tiempo de cultivo fue de 45 horas. Después de 45 horas, el cultivo principal se inoculó con 500 mg de biomasa húmeda homogeneizada del segundo pre cultivo y cultivó durante otras 45 horas.

Una vez finalizado el cultivo, se aplicaron los procedimientos analíticos convencionales descritos a continuación en el presente documento para definir la concentración de biomasa, la concentración de esquizofilano, la concentración de etanol y la glucosa residual en el medio. Se estabilizaron alícuotas de 50 ml de los cultivos con 3 g/l de Acticide BW20 (Thor).

La concentración de etanol y glucosa se estimó utilizando el procedimiento por HPLC. Para este fin se centrifugaron 14 ml del cultivo (30 min, 8500 rpm). El sobrenadante se filtró de forma estéril y se inyectó 1 ml del filtrado para el análisis por HPLC (intercambiador de cationes de HPLC: Aminex HPX-87-H, BIO-RAD con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M, Roth, como eluyente y caudal de 0,5 ml/min a 30 °C).

Debido al hecho de que el esquizofilano está formado únicamente por moléculas de glucosa, la cuantificación de este polímero se puede realizar utilizando procedimientos analíticos convencionales para la glucosa. Se mezclaron 10 ml del cultivo, 20 ml de H<sub>2</sub>O y 90 µl de Acticide BW20. La muestra se digirió durante 24 horas a 40 °C con β-glucanasa (0,3 ml) (Erbslöh). Después de la incubación, la muestra se centrifugó (30 minutos a 3400 g) y el sobrenadante se analizó para determinar el contenido de glucosa y etanol usando un intercambiador de cationes HPLC (Aminex HPX-87-H, BIO-RAD) con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M (Roth) como eluyente y 0,5 ml/min de caudal a 30 °C.

Para la determinación de la biomasa, la biomasa restante en forma de sedimento (después de que la muestra de digestión con β-glucanasa se centrifugara) se lavó dos veces con 50 ml de H<sub>2</sub>O, se filtró usando Whatman-Filter (con determinación del peso del filtro antes de la filtración), se lavó dos veces con H<sub>2</sub>O y se secó en escala de secado HB43S de Mettler Toledo. El secado del filtro se llevó a cabo durante 5 a 10 minutos a 180 °C. Posteriormente, se determinó el peso del filtro seco.

La evaluación de los resultados obtenidos en matraces de agitación mostró un claro efecto de la sobreexpresión de ambas β-1,3-glucano sintetas sobre la producción de esquizofilano. Debido al hecho de que en el plásmido de expresión se integró ectópicamente en el genoma y el locus de integración tiene un efecto explícito en la expresión del gen diana, se probaron 40 clones que llevan el plásmido (pGS\_1) y 40 clones que llevan el plásmido (pGS\_2) en experimentos de matriz de agitación. El aumento de la producción de esquizofilano en las cepas modificadas genéticamente se muestra en la Tabla 1 en comparación con la cepa control de *Schizophyllum commune* no modificada. Los resultados mostrados en la Tabla 1 se refieren a la mejor cepa de cada 40 cepas analizadas. Para la clasificación de las cepas, la cantidad de esquizofilano en la muestra fue decisiva. Se mezclaron 10 ml del cultivo, 20 ml de H<sub>2</sub>O y 90 µl de Acticide BW20. La muestra se digirió durante 24 horas a 40 °C con 0,3 ml de β-glucanasa (Erbslöh). Después de la incubación, la muestra se centrifugó (30 minutos a 3400 g) y el sobrenadante se analizó para determinar el contenido de glucosa y etanol usando un intercambiador de cationes HPLC (Aminex HPX-87-H, BIO-RAD) con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M (Roth) como eluyente y 0,5 ml/min de caudal a 30 °C.

Además del aumento de los rendimientos de la producción de esquizofilano en las cepas de *S. commune* modificadas genéticamente, se observó una clara disminución en la síntesis del etanol derivado. Esto puede ser una

indicación de que la tasa de exceso de glucosa por la actividad de  $\beta$ -1,3-glucano sintasa regulada al alza se metaboliza más directamente en la ruta del esquizofilano en lugar de usarse en parte para la síntesis de etanol.

**Tabla 1:** Comparación de la cepa control de *Schizophyllum commune* con dos cepas de *S. commune* modificadas genéticamente que llevan el plásmido de expresión de glucano sintasa (pGS\_1) o (pGS\_2).

Cepa	Esquizofilano[%]	EtOH [% [%]
Cepa control de <i>S. commune</i>	100	100
<i>S. commune</i> (pGS_1)	220	9
<i>S. commune</i> (pGS_2)	215	3,6

## 5 Análisis de la estructura y conformación del producto

Para asegurar que el polímero sintetizado a través de cepas de *S. commune* modificadas genéticamente sea esquizofilano, se aplicaron los procedimientos de XRD y NMR para confirmar la estructura de la molécula de la siguiente manera.

10 La difracción de rayos X en polvo (XRD) permite un análisis rápido y no destructivo de materiales que consta de múltiples componentes. Además, la preparación de la muestra es sencilla. Los datos de la medición se presentan como un difractograma en el que la intensidad difractada (I) se muestra en función del ángulo de dispersión  $2\theta$ . La cristalinidad del material dado se puede ser determinar por esta medida. En general, los materiales cristalinos tienen patrones de reflexión de una serie de picos afilados, mientras que los materiales amorfos dan señales amplias. Muchos polímeros muestran un comportamiento semicristalino que también puede ser detectado por XRD (Hammond, The basics of chrystallography and diffraction, 3<sup>a</sup> Ed., Oxford University Press 2009).

### *Preparación de muestras a partir de solución acuosa*

La solución acuosa que contenía esquizofilano se vertió en etanol para precipitar el esquizofilano. El precipitado se filtró y se secó en un horno de vacío. La muestra seca se midió por XRD.

### *Medición de la muestra y resultados por XRD*

20 El esquizofilano muestra una estructura helicoidal triple. Esto fue evidente a partir del difractograma de la muestra de esquizofilano precipitada y seca (Figura 2). La triple hélice podría verse como una difracción intensiva a  $5^\circ 2\theta$  y la región amorfa del material proporciona una difracción amplia en el intervalo de  $20$ - $25^\circ 2\theta$  (Hisamatsu, Carbohydr Res (1997), 298: 117).

### *Medición de la muestra y resultados por NMR*

25 Los espectros de NMR se registraron en un sistema Varian VNMRS de 600 MHz equipado con una sonda criogénica mejorada con  $^{13}\text{C}$  (configuración inversa) a temperatura ambiente o a  $50^\circ\text{C}$  usando secuencias de pulso convencionales para  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .

30 Se sabe que el esquizofilano tiene una estructura helicoidal triple formada por tres cadenas de  $\beta$  (1-3) -D-glucano mantenidas juntas por enlaces de hidrógeno en el agua. Esta estructura está blindada en el campo magnético debido a la conformación rígida y ordenada. Esto significa que en el espectro de NMR, no se obtienen desplazamientos químicos para el esquizofilano (Rinaudo, Carbohydr Polym (1982), 2: 135; Vlachou, Carbohydr Polym (2001), 46: 349) (2D NMR). Con el fin de investigar la estructura molecular del esquizofilano y no la estructura macromolecular que consiste en hélices triples y además registrar los espectros de NMR exitosos con una buena relación señal-ruido, debe cambiarse la conformación de la hélice triple. También se sabe que la triple hélice de esquizofilano puede alterarse para formar una estructura de serpiente mediante la adición de DMSO. Cuando la concentración de DMSO supera ciertos valores umbral (es decir, 87 %), se produce el cambio de conformación; por lo tanto, se usó  $[\text{D}_6]$ -DMSO deuterado como disolvente para las mediciones. Es importante tener en cuenta este aspecto de la conformación cuando se realizan experimentos de NMR para el esquizofilano. Por lo tanto, la muestra se midió en  $[\text{D}_6]$ -DMSO, se pueden obtener los espectros bien resueltos (Figura 2 y 3).

## 40 *Sumario*

Las estructuras químicas de los materiales de *S. commune* (GS\_1) y *S. commune* (GS\_2) se identificaron como las correctas para la de esquizofilano. Además, los materiales muestran en las conformaciones de triple hélice suspendida en sorbitol 1 M y  $\text{CaCl}_2$  50 mM a una concentración de  $10^8$  protoplastos por ml.

45 El ADN utilizado para la transformación fue un plásmido circular (pGS\_1) y la integración en el genoma de *S. commune* fue ectópica. Para transformar los protoplastos con el ADN, se mezclaron suavemente 100  $\mu\text{l}$  de protoplastos y 10  $\mu\text{l}$  de ADN (5-10  $\mu\text{g}$ ) y se incubaron durante 60 minutos en hielo. Posteriormente, se añadió un volumen de PEG 4000 (40 %) y la muestra se incubó durante 5 a 10 minutos en hielo. Después de agregar 2,5 ml de medio de regeneración (medio completo que contiene 0,1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de fleomicina y  $\text{MgSO}_4$  0,5 M), la muestra se incubó

a 30 °C, 70 rpm durante la noche.

Después de la transformación mediada por PEG, los protoplastos regenerados se extendieron en placas de Petri que contenían 40 ml de medio mínimo solidificado: 2 g de ácido aspártico (Roth), 20 g de glucosa (Sigma), 0,5 g de MgSO<sub>4</sub> (Roth), 0,5 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (ambos de Riedel-de Haën), 120 µg de clorhidrato de tiamina (Roth) por litro, pH 6,3 que contiene 1 % de agarosa de bajo punto de fusión (Sigma). Las placas de selección se incubaron 5 días a 30 °C.

## Ejemplo 2

### Clonación del plásmido de expresión de β-1,3-glucano sintasa [pGS 2 y transformación en *S. commune*

El plásmido de expresión para la segunda β-1,3-glucano sintasa (SEQ ID NO: 3) (pGS\_2) se preparó de manera análoga a la preparación de (pGS\_1) como se describe anteriormente en el Ejemplo 1.

Como fuente de la secuencia de promotor *tef1* (SEC ID NO: 17); se usó el mismo producto de PCR que en el Ejemplo 1.

El polinucleótido representado por la SEQ ID NO: 3 se amplificó a partir del plásmido (pMK\_GS\_2) después de la reacción de PCR: 50 µl de la reacción de PCR contenía 1,25 U de *PfuUltra* Hotstart Mastermix (Stratagene) y 1,25 U de Taq PCR Mastermix (Quiagen), 22 µl de H<sub>2</sub>O, 23 pmol de cada cebador: GS2\_forw (SpeI) /SEQ ID NO: 31) y GS2\_rev (EcoRV)(SEQ ID NO: 32), 100 ng de plantilla (pMK\_GS\_2). La reacción se llevó a cabo en el termociclador de Gene Amp® PCR System 9700 de PE Applied Biosystems. Se utilizó el siguiente programa para la amplificación: una etapa de calentamiento inicial hasta 95 °C durante 4 minutos fue seguida por 30 ciclos de 30 segundos de desnaturalización a 95 °C, etapa de hibridación de 30 segundos a 53 °C, etapa de elongación de 8 minutos a 72 °C, seguido de un ciclo a 72 °C durante 10 minutos.

Para el aislamiento de la secuencia del terminador *tef1* (SEQ ID NO: 18) y la introducción de los sitios EcoRV (5') y *Apal* (3'), se llevó a cabo la siguiente reacción de PCR: 50 µl de la reacción de PCR contenía 1,25 U de Pwo Hotstart Mastermix (Roche) y 1,25 U de Taq PCR Mastermix (Quiagen), 22 µl de H<sub>2</sub>O, 37 pmol de cebador directo TefP\_forw (EcoRV) (SEQ ID NO: 25) y 25 pmol de cebador inverso TefP\_rev (*Apal*) (SEQ ID NO: 26), y 100 ng de plantilla (ADN genómico de *Schizophyllum commune*). La reacción se llevó a cabo en el termociclador de Gene Amp® PCR System 9700 de PE Applied Biosystems. Se utilizó el siguiente programa: una etapa de calentamiento inicial hasta 95 °C durante 4 minutos fue seguida por 30 ciclos de 30 segundos de desnaturalización a 95 °C, etapa de hibridación de 30 segundos a 58 °C, etapa de elongación de 1 minuto a 72 °C, seguido de un ciclo a 72 °C durante 10 minutos. El producto de la PCR se trató con la enzima de restricción EcoRV y *Apal* (Roche) y se unió con el vector (pBluescript 2KSP, Stratagene Cloning Systems), que se digirió antes con las mismas enzimas de restricción. Después de la unión, la construcción de ADN se transformó en células XL10 de *Escherichia coli* (Stratagene), de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Posteriormente, el promotor *tef1* se clonó en el plásmido. Para este fin, el producto de PCR se digirió con *XbaI* y *SpeI* (Roche) y se unió con el plásmido descrito anteriormente de acuerdo con las instrucciones del fabricante, que contiene el terminador *tef1* que se linealizó utilizando *XbaI* y *SpeI*. La unión se llevó a cabo como se describe en el Ejemplo 1 en el presente documento. Después de la unión, la construcción de ADN se transformó en células XL10 de *Escherichia coli* (Stratagene) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Posteriormente, se clonó *ura1* en el plásmido. Se usó el mismo producto de PCR que en el Ejemplo 1. Después de la digestión del producto de PCR con *NotI* y *XbaI*, el fragmento se clonó en el plásmido que lleva el polinucleótido representado por la SEQ ID NO: 7, el promotor *tef1* y las secuencias de terminación. Antes de la unión, El plásmido se linealizó por *NotI* y *XbaI*. La transformación se llevó a cabo como se describe anteriormente en el Ejemplo 1.

Finalmente, la β-1,3-glucano sintasa (SEQ ID NO: 3) se unió en el plásmido. Para este fin, El producto de PCR se trató con *SpeI* y EcoRV y se unió en el plásmido de expresión diana como se describe anteriormente. La transformación se llevó a cabo como se describe anteriormente en el Ejemplo 1.

La transformación de *Schizophyllum commune* con (pGS\_2) siguió como se describe en el Ejemplo 1.

## Ejemplo 3

### Verificación de la funcionalidad de las cepas diseñadas de *S. commune*

Las cepas de *S. commune* modificadas genéticamente generadas como se describe anteriormente se probaron en matraces de agitación para aumentar la producción de esquizofilano. Para asegurar la reproducibilidad de los resultados, se aplicó un cultivo de tres etapas, que consiste en dos pre cultivos y un cultivo principal como se describe más adelante en el presente documento.

Para el cultivo de las cepas de *Schizophyllum commune* modificadas genéticamente, se utilizaron dos medios diferentes. Para el cultivo en medios sólidos, se utilizó medio CYM (25 g de agar (Difco), 20 g de glucosa (Sigma), 2 g de peptona triptica (Roth), 2 g de extracto de levadura (Difco), 0,5 g MgSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O (Roth), 0,5 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y

1 g de  $K_2HPO_4$  (ambos de Riedel-de Haën) por litro de  $H_2O$ ). Las cepas se inocularon en placas de agar que contenían medio CYM cubierto con celofán (para evitar el crecimiento de micelio en el agar) y se incubaron durante tres a cuatro días a 26 °C.

5 Para los cultivos líquidos, se usó el siguiente medio (en adelante denominado "Medio Convencional"): 30 g de glucosa (Sigma), 3 g de extracto de levadura (Difco), 1 g de  $KH_2PO_4$  (Riedel-de Haën), 0,5 g de  $MgSO_4 \times 7 H_2O$  (Roth) por litro de  $H_2O$ .

Tanto para pre cultivos como para el cultivo principal, se usaron matraces agitadores de 250 ml llenos con 30 ml de medio convencional. El cultivo se realizó a 27 °C y 225 rpm.

10 Antes de cada inoculación, la biomasa se homogeneizó durante 1 minuto a 13500 rpm utilizando T 25 digital ULTRA-TURRAX® (IKA).

15 El primer pre cultivo se inoculó con 50 mg de biomasa húmeda. Los cultivos se incubaron, a continuación, durante 72 horas. Después de 72 horas, se inició el segundo pre cultivo, La concentración de la biomasa húmeda homogeneizada del primer pre cultivo utilizado para la inoculación fue de 250 mg. El tiempo de cultivo fue de 45 horas. Después de 45 horas, el cultivo principal se inoculó con 500 mg de biomasa húmeda homogeneizada del segundo pre cultivo y cultivó durante otras 45 horas.

Una vez finalizado el cultivo, se aplicaron los procedimientos analíticos convencionales descritos a continuación en el presente documento para definir la concentración de biomasa, la concentración de esquizofilano, la concentración de etanol y la glucosa residual en el medio. Se estabilizaron alícuotas de 50 ml de los cultivos con 3 g/l de Acticide BW20 (Thor).

20 La concentración de etanol y glucosa se estimó utilizando el procedimiento por HPLC. Para este fin se centrifugaron 14 ml del cultivo (30 min, 8500 rpm). El sobrenadante se filtró de forma estéril y se inyectó 1 ml del filtrado para el análisis por HPLC (intercambiador de cationes de HPLC: Aminex HPX-87-H, BIO-RAD con  $H_2SO_4$  0,5 M, Roth, como eluyente y caudal de 0,5 ml/min a 30 °C).

25 Debido al hecho de que el esquizofilano está formado únicamente por moléculas de glucosa, la cuantificación de este polímero se puede realizar utilizando procedimientos analíticos convencionales para la glucosa. Se mezclaron 10 ml del cultivo, 20 ml de  $H_2O$  y 90  $\mu$ l de Acticide BW20. La muestra se digirió durante 24 horas a 40 °C con  $\beta$ -glucanasa (0,3 ml) (Erbslöh). Después de la incubación, la muestra se centrifugó (30 minutos a 3400 g) y el sobrenadante se analizó para determinar el contenido de glucosa y etanol usando un intercambiador de cationes HPLC (Aminex HPX-87-H, BIO-RAD) con  $H_2SO_4$  0,5 M (Roth) como eluyente y 0,5 ml/min de caudal a 30 °C.

30 Para la determinación de la biomasa, la biomasa restante en forma de sedimento (después de que la muestra de digestión con  $\beta$ -glucanasa se centrifugara) se lavó dos veces con 50 ml de  $H_2O$ , se filtró usando Whatman-Filter (con determinación del peso del filtro antes de la filtración), se lavó dos veces con  $H_2O$  y se secó en escala de secado HB43S de Mettler Toledo. El secado del filtro se llevó a cabo durante 5 a 10 minutos a 180 °C. Posteriormente, se determinó el peso del filtro seco.

35 La evaluación de los resultados obtenidos en matraces de agitación mostró un claro efecto de la sobreexpresión de ambas  $\beta$ -1,3-glucano sintasas sobre la producción de esquizofilano. Debido al hecho de que en el plásmido de expresión se integró ectópicamente en el genoma y el locus de integración tiene un efecto explícito en la expresión del gen diana, se probaron 40 clones que llevan el plásmido (pGS\_1) y 40 clones que llevan el plásmido (pGS\_2) en experimentos de matraz de agitación. El aumento de la producción de esquizofilano en las cepas modificadas genéticamente se muestra en la Tabla 1 en comparación con la cepa control de *Schizophyllum commune* no modificada. Los resultados mostrados en la Tabla 1 se refieren a la mejor cepa de cada 40 cepas analizadas. Para la clasificación de las cepas, la cantidad de esquizofilano en la muestra fue decisiva. Se mezclaron 10 ml del cultivo, 20 ml de  $H_2O$  y 90  $\mu$ l de Acticide BW20. La muestra se digirió durante 24 horas a 40 °C con 0,3 ml de  $\beta$ -glucanasa (Erbslöh). Después de la incubación, la muestra se centrifugó (30 minutos a 3400 g) y el sobrenadante se analizó para determinar el contenido de glucosa y etanol usando un intercambiador de cationes HPLC (Aminex HPX-87-H, BIO-RAD) con  $H_2SO_4$  0,5 M (Roth) como eluyente y 0,5 ml/min de caudal a 30 °C.

45 Además del aumento de los rendimientos de la producción de esquizofilano en las cepas de *S. commune* modificadas genéticamente, se observó una clara disminución en la síntesis del etanol derivado. Esto puede ser una indicación de que la tasa de exceso de glucosa por la actividad de  $\beta$ -1,3-glucano sintasa regulada al alza se metaboliza más directamente en la ruta del esquizofilano en lugar de usarse en parte para la síntesis de etanol.

**Tabla 1:** Comparación de la cepa control de *Schizophyllum commune* con dos cepas de *S. commune* modificadas genéticamente que llevan el plásmido de expresión de glucano sintasa (pGS\_1) o (pGS\_2).

Cepa	Esquizofilano[%]	EtOH [% [%]
Cepa control de <i>S. commune</i>	100	100

(continuación)

Cepa	Esquizofilano[%]	EtOH [% [%]
<i>S. commune</i> (pGS_1)	220	9
<i>S. commune</i> (pGS_2)	215	3,6

Análisis de la estructura y conformación del producto

Para asegurar que el polímero sintetizado a través de cepas de *S. commune* modificadas genéticamente sea esquizofilano, se aplicaron los procedimientos de XRD y NMR para confirmar la estructura de la molécula de la siguiente manera.

- 5 La difracción de rayos X en polvo (XRD) permite un análisis rápido y no destructivo de materiales que consta de múltiples componentes. Además, la preparación de la muestra es sencilla. Los datos de la medición se presentan como un difractograma en el que la intensidad difractada (I) se muestra en función del ángulo de dispersión  $2\theta$ . La cristalinidad del material dado se puede ser determinar por esta medida. En general, los materiales cristalinos tienen patrones de reflexión de una serie de picos afilados, mientras que los materiales amorfos dan señales amplias.
- 10 Muchos polímeros muestran un comportamiento semicristalino que también puede ser detectado por XRD (Hammond, *The basics of crystallography and diffraction*, 3<sup>a</sup> Ed., Oxford University Press 2009).

*Preparación de muestras a partir de solución acuosa*

La solución acuosa que contenía esquizofilano se vertió en etanol para precipitar el esquizofilano. El precipitado se filtró y se secó en un horno de vacío. La muestra seca se midió por XRD.

15 *Medición de la muestra y resultados por XRD*

El esquizofilano muestra una estructura helicoidal triple. Esto fue evidente a partir del difractograma de la muestra de esquizofilano precipitada y seca (Figura 2). La triple hélice podría verse como una difracción intensiva a  $5^\circ 2\theta$  y la región amorfa del material proporciona una difracción amplia en el intervalo de  $20-25^\circ 2\theta$  (Hisamatsu, *Carbohydr Res* (1997), 298: 117).

20 *Medición de la muestra y resultados por NMR*

Los espectros de NMR se registraron en un sistema Varian VNMRs de 600 MHz equipado con una sonda criogénica mejorada con  $^{13}\text{C}$  (configuración inversa) a temperatura ambiente o a  $50^\circ\text{C}$  usando secuencias de pulso convencionales para  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .

- 25 Se sabe que el esquizofilano tiene una estructura helicoidal triple formada por tres cadenas de  $\beta$  (1-3) -D-glucano mantenidas juntas por enlaces de hidrógeno en el agua. Esta estructura está blindada en el campo magnético debido a la conformación rígida y ordenada. Esto significa que en el espectro de NMR, no se obtienen desplazamientos químicos para el esquizofilano (Rinaudo, *Carbohydr Polym* (1982), 2: 135; Vlachou, *Carbohydr Polym* (2001), 46: 349) (2D NMR). Con el fin de investigar la estructura molecular del esquizofilano y no la estructura macromolecular que consiste en hélices triples y además registrar los espectros de NMR exitosos con una buena relación señal-ruido, debe cambiarse la conformación de la hélice triple.
- 30 También se sabe que la triple hélice de esquizofilano puede alterarse para formar una estructura de serpentín mediante la adición de DMSO. Cuando la concentración de DMSO supera ciertos valores umbral (es decir, 87 %), se produce el cambio de conformación; por lo tanto, se usó  $[\text{D}_6]$  -DMSO deuterado como disolvente para las mediciones. Es importante tener en cuenta este aspecto de la conformación cuando se realizan experimentos de NMR para el esquizofilano. Por lo tanto, la muestra
- 35 se midió en  $[\text{D}_6]$  -DMSO, se pueden obtener los espectros bien resueltos (Figura 2 y 3).

*Sumario*

Las estructuras químicas de los materiales de *S. commune* (GS\_1) y *S. commune* (GS\_2) se identificaron como las correctas para la de esquizofilano. Además, Los materiales muestran las conformaciones de triple hélice.

**Secuencias referidas en la presente solicitud**

- 40 **Tabla 2:** Asignación de las SEQ ID NO.

SEQ ID NO:	tipo de secuencia	descripción
1	secuencia de nucleótidos	Secuencia génica* 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa I de la cepa Lu15531 de <i>S. commune</i>

ES 2 708 199 T3

(continuación)

SEQ ID NO:	tipo de secuencia	descripción
2	secuencia de aminoácidos	traducción de la SEQ ID NO: 5
3	secuencia de nucleótidos	Secuencia génica* 1,3-β-D-glucano sintasa I de la cepa Lu15531 de <i>S. commune</i>
4	secuencia de aminoácidos	traducción de la SEQ ID NO: 7
5	secuencia de nucleótidos	ADNc 1,3-β-D-glucano sintasa I de la cepa Lu15531 de <i>S. commune</i>
6	secuencia de aminoácidos	Secuencia de polipéptido 1,3-β-D-glucano sintasa I de la cepa Lu15531 de <i>S. commune</i>
7	secuencia de nucleótidos	ADNc 1,3-β-D-glucano sintasa II de la cepa Lu15531 de <i>S. commune</i>
8	secuencia de aminoácidos	Secuencia de polipéptido 1,3-β-D-glucano sintasa II de la cepa Lu15531 de <i>S. commune</i>
9	secuencia de nucleótidos	Secuencia génica * 1,3-β-D-glucano sintasa I de la cepa Lu15534 de <i>S. commune</i>
10	secuencia de aminoácidos	traducción de la SEQ ID NO: 13
11	secuencia de nucleótidos	Secuencia génica* 1,3-β-D-glucano sintasa II de la cepa Lu15634 de <i>S. commune</i>
12	secuencia de aminoácidos	traducción de la SEQ ID NO: 15
13	secuencia de nucleótidos	ADNc 1,3-β-D-glucano sintasa I de la cepa Lu15634 de <i>S. commune</i>
14	secuencia de aminoácidos	Secuencia de polipéptido 1,3-β-D-glucano sintasa I de la cepa Lu15634 de <i>S. commune</i>
15	secuencia de nucleótidos	ADNc 1,3-β-D-glucano sintasa II de la cepa Lu15634 de <i>S. commune</i>
16	secuencia de aminoácidos	Secuencia de polipéptido 1,3-β-D-glucano sintasa II de la cepa Lu15634 de <i>S. commune</i>
17	secuencia de nucleótidos	promotor <i>tef1</i> de <i>S. commune</i>
18	secuencia de nucleótidos	terminador <i>tef1</i> de <i>S. commune</i>
19	secuencia de nucleótidos	cebador Ura_forw (NotI)
20	secuencia de nucleótidos	cebador Ura_rev (XbaI)
21	secuencia de nucleótidos	cebador Tefp_forw (XbaI)
22	secuencia de nucleótidos	cebador TefP_rev (SpeI)
23	secuencia de nucleótidos	cebador TefT_forw (SalI)
24	secuencia de nucleótidos	cebador TefT_rev (SalI)
25	secuencia de nucleótidos	cebador TefT_forw (SalI)
26	secuencia de nucleótidos	cebador TefT_rev (ApaI)
27	secuencia de nucleótidos	cebador GS1_forw (SpeI)
28	secuencia de nucleótidos	cebador GS1_rev (SalI)
29	secuencia de	cebador Fusion TefP_GS1_forw (XbaI)

(continuación)

SEQ ID NO:	tipo de secuencia	descripción
	nucleótidos	
30	secuencia de nucleótidos	cebador Fusion TefP_GS1_rev (Sall)
31	secuencia de nucleótidos	cebador GS2_forw (SpeI)
32	secuencia de nucleótidos	cebador GS2_rev (EcoRV)
33	secuencia de nucleótidos	gen <i>ura</i> ( <i>S. commune</i> )
34	secuencia de aminoácidos	proteína Ura

\* La secuencia de genes incluye intrones y regiones flanqueantes. En las siguientes secuencias de genes (para las SEQ ID NO: 1, 3, 9 y 11), los exones pronosticados se muestran en mayúsculas, los intrones se muestran en minúsculas.

**SEQ ID NO: 1**Secuencia génica 1,3-β-D-glucano sintasa I de la cepa Lu15531 de *S. commune*

ADN

*S. commune*

CCCGTCCCTCAAGGCCGTTCTTTCGCTGGCGACCGACCCGGTGTTCGCGAGAA  
CCTGTTGTTTCTGACGATCATCAGCCCTTCTTCTCGTCGCTCTTAGCTCTCCC  
TAGACCGTCTTTTACTCTACTCTTCGACGACGCCATGTCCGGCCCAGGATATG  
GCAGGAATCCATTTCGACAATCCCCCGCCCAACAGAGGTCCCTATGGCCAGCAG  
CCAGGTTTCCCGGGGCCCGGCCCTCGGCCTTACGACTCGGACGCGGACATGA  
GCCAGACCTATGGCAGCACAAACCAGGCTCGCCGGCAGTGCCGGTTACAGCGA  
CAGAAACGgtgcgacgtcgctaccgtacttctcgatcgctgattcacataccatgcagGCAGCTTCGAC  
GGCGACCGCTCCTACGCGCCCTCAATTGACTCGCGCGCCAGCGTGCCCAGCAT  
ATCGCCCTTCGCGAGACCCGGGTATCGGCTCTAATGAGCCGTATCCCGCTTGGT  
CGGTTCGAACGCCAGATTCCCATGTCCACGGAGGAGATTGAGGACATCTTCCTC  
GACCTCACCCAAAAGTTTGGCTTCCAGCGCGACTCCATGCGGAATACGgtgcgta  
ataagcagcccactcgaccgcggaacagcacaattgacctgtcaccagTTCGACTTCATGATGCAC  
CTCCTCGATTCCCGTGCTCGCGCATGACGCCAACCAAGCTCTGCTCACGCTT  
CACGCCGACTACATTGGTGGCCAGCATGCCAATTACCGGAAGTGGTATTTTCGCC  
GCACAGCTCAACCTCGATGACGCGGTTCGGGCAAACCAATAACCCCGGTATCCA  
GCGCTTGAAGACCATCAAGGGCGCTACGAAGACCAAGTCGCTCGACAGCGCAC  
TCAACCGCTGGCGCAACGCGATGAACAACATGAGCCAGTACGATCGCCTCCGG  
CAAATTGCGCTCTACCTCCTCTGCTGGGGTGAAGCAGGCAACATCCGTCTGGC  
GCCCCGAGTGCTTGTGCTTCATCTTCAAGTGC GCGGACGACTACTACAGAAGTCC  
CGAGTGT CAGAACCGGATGGACCCCGTGCCGGAAGGGCTGTACCTGCAGACG  
GTCATCAAGCCGCTCTATCGCTTCCCTACGTGATCAGGCGTACGAAGTCGTTGAT  
GGGAAGCAAGTGAAGCGCGAGAAGGACCACGACCAGATTATCGGTTATGACGA  
CGTCAACCAGTTATTCTGGTATCCGGAAGGTTTGGCTAAGATCGTCATGTCCGA  
CAACGgtgctatgatcttatcggttaaaattcgctccgctcacatcttccagACACGACTTGTAGATGTAC  
CTCCGGCGCAGCGGTTTCATGAAGTTCGCCAAGATCGAGTGGAAACCGCGTCTTC  
TTCAAGACGTA CTTT GAGAAGCGCTCTACTGCCATCTCCTGGTCAACTTCAAC  
CGTATATGGATCCTCCACGTCTCGATGTACTTCTTCTACACGGCATTCAACTCTC  
CACGAGTCTACGCGCCGCACGGCAAACCTCGACCCCTCCCCTGAGATGACCTGG  
TCCGCGACTGCCCTTGGAGGCGCTGTGTCCACCATGATCATGATCCTTGCCACT  
ATCGCGGAGTACACCTACATCCCCACGACATGGAACAATGCGTCGCACCTCAC

CACGCGGCTCATTTTCCTCCTGGTCATCCTCGCGCTCACTGCTGGCCCAACATT  
CTATATCGCCATGATAGACGGACGCACGGACATCGGCCAAGTACCACTCATCGT  
GGCCATAGTGCAGTTCTTCATCTCCGTCTGCGCCACCCTCGCTTTCGCTACCAT  
CCCTTCTGGTGCATGTTTCGGCGACCGTGTGGCTGGCAAGTCAAGAAAGCACA  
TGGCATCGCAGACGTTACAGCGTCTGACCCGTCATGAAGCGGTTCATCTCGC  
GTAGCGAGTATCATGCTGTGGCTTTTGGTCTTTGGCTGCAAATACGTTCGAGTCT  
TACTTCTTCTTGACGTCCTCCTTCTCCAGCCCGATCGCGGTTCATGGCGCGTACG  
AAGGTACAGGGCTGCAACGACCGTATCTTCGGCAGCCAGCTGTGCACGAATCA  
GGTCCCGTTTCGCGCTGGCAATCATGTACGTGATGGACCTGGTACTGTTCTTCT  
GGACACGTACCTGTGGTACATCATCTGGCTGGTGTCTTCTCGATGGTGC  
CGTTCAAGCTTGGTATCTCGATCTGGACGCCCTGGAGCGAGATCTTACCCGCA  
TGCCGAAGCGTATTTACGCAAAGCTGCTGGCGACGGCCGAGATGGAGGTCAAG  
TATAAGCCCAAGGtatgctgaattcaatctggtcaggtgaattcacctcatattggttacagGTGCTCGT  
CTACAAATCTGGAACGCGGTTCATCATCTCCATGTACCGGGAGCATCTCTTGT  
CATCGAGCACGTCCAGCGCTTGTCTTACCACCAGGTTGATGGTCCCGATGGCC  
GCCGCACCCTCAGGGCACCGCGTTCTTACCAGCCAGCGAACTGCGAAGCCA  
GGCCTGTTCTTCCCTCCTGGTGGCGAGGCTGAGCGCCGCATCTCGTTCTTTGC  
CTCATCGCTGACGACCGCGCTCCCGGAGCCTCTGCCGATCGACGCCATGCCCA  
CCTTACCGGTGCTCGTTCCCCATTACTCCGAGAAGATTCTGCTCAGTCTGCGCG  
AGATTATCCGCGAGGAGGACCAGAACACCCGCGTTACCTTACTGGAGTACCTCA  
AGCAGCTCCACCCTGTGCAATGGGACAATTCGTCAAGGACACCAAGATCTTGG  
CGGAAGAGTCGGGAGACGTCCAGGACGAGAAGCGCGCGCACGGACGACTT  
GCCGTTCTATTGCATCGGGTTCAAGACCTCGTCACCAGAGTACACCCTGCGTAC  
GCGTATCTGGGCTCACTGCGCGCACAGACGCTGTACCGCACGGTCTCCGGTA  
TGATGAACTACTCCAAGGCGATTAAGCTCCTCTATCGCGTCGAGAACCCGGATG  
TCGTTTCATGCCTTCGGTGGGAACACGGAACGTCTTGAACGCGAGCTTGAGCGC  
ATGTCTCGCCGCAAGTTCAAGTTCGTTCATCTCGATGCAGCGGTACTCCAAGTTC  
AACAAAGGAGGAGCAGGAGAACGCCGAGTTCTTCTGCGCGCGTACCCGGATTT  
GCAGATCGCGTACCTCGATGAAGAGCCCGGTCCAGCAAGAGCGACGAGGTT  
GGTTGTTTTCGACACTCATCGACGGACACTCCGAGGTGGACGAGAAGACGGGC  
CGCCGCAAGCCCAAGTTCGCGATCGAGCTGCCCGGTAACCCCATCCTCGGTGA  
CGGGAAGTCGGATAACCAGAACCACGCCATCGTCTTCTACCGCGGGCGAGTACA  
TTCAGGTCATTGACGCTAACCCAGGACAATTACCTGGAAGAGTGTCTCAAGATCC  
GTAATGTCTGGGCGAGTTTGAGGAATACTCCGTGTGCGAGCCAGAGCCCGTAC  
GCGCAGTGGGGCCACAAGGAGTTCAACAAGTGCCCGTTCGCTATCCTGGGTT  
CCGCGAGTACATCTTCTCGGAGAACATCGGTATCCTCGGTGACATCGCTGCCG  
GCAAGGAACAGACGTTTCGGTACCATTACGGCGCGTGCCTTGCCTGGATCGGC  
GGCAAGCTGCATTACGGTCACCCGGATTTCTCAATGCGACGTTTCATGACGACG  
CGTGGTGGCGTGTCAAAGCGCAGAAGGGCTTGCATCTTAACGAGGATATCTTC  
GCTGGTATGACCGCGTGTCCCGCGGAGGGCGCATCAAGCACATGGAGTACTA  
CCAGTGCGGCAAAGGTCGTGATCTCGGATTCGGCACGATCTTGAACCTCCAGA  
CCAAGATCGGTACTGGTATGGGCGAGCAGCTGCTCTCGCGCGAGTACTACTAT  
CTGGGCACGCAATTGCCTATCGACCGGTTCTTGACGTTCTACTACGCGCACGCT  
GGTTCCATGTCAACAACATCCTGGTTCATCTACTCCATCCAGGTCTTCATGGTCA  
CCGtaagtgcaggccctcatgaccgcccagcaagcaggtctaacggatgtgcagTGCTGTACCTGGGC  
ACATTGAACAAGCAGCTGTTTCATCTGCAAGGTCAACTCCAATGGCCAGGTTCTT  
AGTGGACAAGCTGGGTGCTACAACCTCATCCCGGTCTTCGAGTGGATTCCGCCG  
GAGTATCATCTCCATCTTCTTGGTGTCTTCATCGCCTTCTTGCCGTTGTTCTTG  
CAAGGtatgttcacttctcatgtgccattgtcaatcgctcactgtagacagAGCTTTGCGAACGCGGA  
ACAGGAAAGGCGTTGCTGCGTCTCGGGAAGCACTTCTGTCACTGTGCCCAT

CTTCGAAGTGTCTCCACCCAAATCTACTCGCAGGCGCTCTTGAACAACATGAG  
 TTTCGGTGGTGCGCGCTACATCGCTACAGGACGCGGTTTCGCGACGAGTCGGA  
 TACCCTTCAACATCCTCTACTCGCGTTTCGCGCCGCCGAGCATCTACATGGGCA  
 TCGTAATCTGCTGCTCTTGCTGTACGCGACGATGGCCATTTGGATCCCACACC  
 TGATCTACTTCTGGTTCTCCGTCCTCTCCCTCTGCATCGCGCCATTCATGTTCAA  
 TCCGCATCAATTCTCGTACGCTGACTTCATCATCGACTACCGGGAGTTCTTGCG  
 CTGGATGTCGCGCGGTAACCTCGCGGACGAAGGCGAGTAGCTGGTACGGATATT  
 GCCGTCTGTCGCGTACCGCGATTACTGGGTACAAGAAGAAGAACTGGGACAC  
 CCGTCCGAGAAGCTGTCGGGCGATGTGCCGCGTGCGCCGTGGAGGAACGTCA  
 TCTTCTCGGAGATCCTTTGGCCCATCGGCGCGTGCATCATCTTCATCGTCGCGT  
 ACATGTTTCGTCAAATCGTTCCTGACGAGCAGGGCAACGCGCCGCCGAGCCCG  
 CTGGTCCGCATTCTGCTCATCGCGGTTGGCCCTACTGTGTGGAACGCGGGCGGT  
 GCTCATCACGCTGTTCTTCTGTCGCTCTTCTGGGCCCGATGATGGATGGCTG  
 GGTC AAGTTCGGCTCAGTCATGGCGGCACTTGCGCATGGTCTAGCGCTCATAG  
 GCATGCTCACGTTCTTCGAGTTCTTCgtacgtccttcgctgtgttggtcgagtgctttgctaacaccg  
 ccttcagTGGTTCCTCGAGCTCTGGGATGCCTCGCACGCCGTGCTCGGCGTCATC  
 GCCATTATTGCCGTTACGCGCGGGATCCAGAAGATCCTCATTGCCGTCTTCTG  
 ACGCGTGAGTACAAGCACGACGAGACGAACCGCGCGTGGTGGACAGGTAAATG  
 GTATGGACGCGGGGCTGGGTACCTCGCCATGTCCCAGCCGGCGCGGAGTTC  
 ATCGTGAAGATCGTGGAGATGTCGCTGTGGACGTCGGACTTCTGCTTGC  
 CCTGTTGCTCATCATCTTGACGGTGCCGCTACTGCTGCCGTTCTTCAACTCGAT  
 CCATTGACGATGCTTTgtgagtgattgtagtcggtggtcacggatgattgctgactcgcgtgcagTCTG  
 GTTGCGCCCTTCGAAGCAGATTAGGCAACCTCTGTTCTCCACTAAGCAGAAGCG  
 GCAACGGCGATGGATTgtaagttccttgattgctctggtaccgacctcgcctcacctgtctcagGTCATG  
 AAGTATACCGTGGTATATCTCGTGGTGGTGGCTTTCCTCGTTGCGCTCATCGCT  
 CTGCgtacgttttctgctgcgctcaccctctattttactaacggttctccagCCGCGCTCTTCCGCGAGA  
 GCATCCACTTCAACTGCGAGATCTGCCAGAGTATATAGTCATATAACGACGTCTA  
 TCGTATCGCCGGACGAGAGCCCCGTCGCCTACACACTGACATGGAATTGCTGT  
 GTATACAATCGATCTTCTGACCGCGTCCGGGGCGTTGCCGTCTTCTACTATCA  
 ACTTGCTTGTGTATCAACATTTCTTCTCTCCAAGCCTACATTGACATAGAGTAATA  
 GCCCATGTTCATACAACAATCGCATAGCATTGCATATACCAT

**SEQ ID NO: 2**

Traducción de la SEQ ID NO: 5  
 aminoácido  
*S. commune*

5

MSGPGYGRNPFDPNPPNRPYPYQPGFPGPGRPYDSDADMSQTYGSTTRLAG  
 SAGYSDRNGSFDGDRSYAPSIDSRASVPSISPFADPGIGSNEPYPAWSVERQIPMS  
 TEEIEDIFDLTQKFGFQRDSMRNTDFMMLHLLDSRASRMTPNQALLTLHADYIGGQ  
 HANYRKWYFAAQLNLDDAVGQTNNPGIQLKTIKATKTKSLDSALNRWRNAMNN  
 MSQYDRLRQIALYLLCWGEAGNIRLAPECLCFIFKCADDYRSPECQNRMDPVPEG  
 LYLQTVIKPLYRFLRDQAYEVDGKQVKREKDHQIIGYDDVNQLFWYPEGLAKIVM  
 SDNTRLVDVPPAQRFMKFAKIEWNRVFFKTYFEKRSTAHLLVNFNRIWILHVS MYFF  
 YTAFNSPRVYAPHGKLDPSPEMTWSATALGGAVSTMIMILATIAEYTYIPTTWNNAS  
 HLTRLIFLLVILALTAGPTFYIAMIDGRDIDIGQVPLIVAIVQFFISVATLAFATIPSGRM  
 FGDRVAGKSRKHMASQTFTASYPMSMKRSSRVASIMLWLLVFGCKYVESYFFLTSSF  
 SSPIAVMARTKVQGCNDRIFGSQ LCTNQPVALAIMYVMDLVLFFLDTYLWYIWLVI  
 FSMVRAFKLGISIWTPWSEIFTRMPKRIYAKLLATAEME VKYKPKVLVSQIWNVAIISM  
 YREHLLSIEHVQRLLYHQVDGPDGRRTL RAPPFFTSQRTAKPGLFFPPGGEAERRIS

FFASSLTTALPEPLPIDAMPTFTVLVPHYSEKILLSLREIIREEDQNTRVTLLEYLKLQH  
 PVEWDNFVKDTKILAEESGDVQDEKRARTDDLPHYCIGFKTSSPEYTLRTRIWASLR  
 AQTLYRTVSGMMNYSKAIKLLYRVENPDVVHAFGGNTERLERELERMSRRKFKFVI  
 SMQRYSKFNKEEQENAEFLLRAYPDLQIAYLDEEPGPSKSDEVRLFSTLIDGHSEVD  
 EKTGRRKPKFRIELPGNPILGDGKSDNQNHAIVFYRGEYIQVIDANQDNYLEECLKIR  
 NVLGEFEEYSVSSQSPYAQWGHKEFNKCPVAILGSREYIFSENIGILGDIAAGKEQTF  
 GTITARALAWIGGKLYHGHPDFLNATFMTRGGVSKAQKGLHLNEDIFAGMTAVSR  
 GGRIKHMEYYQCGKGRDLGFGTILNFQTKIGTGMGEQLLSREYYYYLGTQLPIDRFLT  
 FYYAHAGFHVNNILVIYSIQVFMVTLTYLGLTLNKQLFICKVNSNGQVLSGQAGCYNLI  
 PVFEWIRRSIISIFLVFFIAFLPLFLQELCERGTGKALLRLGKHFLSLSPIFEVSTQIYS  
 QALLNMSFGGARYIATGRGFATSRIPFNILYSRFAPPSIYMGMRNLLLLLYATMAIW  
 IPHLIYFWFSVLSLCIAPFMFNPHQFSYADFIIDYREFLRWMSRGNRSRTKASSWYGY  
 CRLSRTAITGYKKKLGHPSEKLSGDVPRAPWRNVIFSEILWPIGACIIFIVAYMFVKS  
 FPDEQGNAPPSPLVRILLIavgptvwnaavlITLFFLSLFLGPMMDGWVKFGSMAA  
 LAHGLALIGMLTFFEFFWFLELWDASHAVLGVIIVQVQGIKILIAVFLTREYKHDET  
 NRAWWTGKWYGRGLGTSAMSQPAREFIVKIVEMSLWTSDFLLAHLLLIITVPLLLP  
 FFNSIHSTMLFWLRPSKQIRQPLFSTKQKRQRWVIMKYTVVYLVVAVFLVALIALPA  
 LFRESIHFNCEICQSI

**SEQ ID NO: 3**

Secuencia génica 1,3-β-D-glucano sintasa II de la cepa Lu15531 de *S. commune*

ADN

*S. commune*

5

CTGTCCAAAGAAGAGATCGAGGACATCTTCCTCGATCTGACGCAGAAGTTTGGC  
 TTTCAGCGGGATTCCATGCGGAACATGgtacgtggcgtatgcccattgctgaggcctaa  
 acgttttccgccagTTCGACTTCACCATGCAGCTGCTTGACAGCCGAGCGTCTCGTATG  
 ACCCCCAACCAGGCGCTCCTCACCTCCACGCCGACTACATTGGTGGCCAGCA  
 TGCGAACTACCGGAAGTGGTACTTCGCGGGCGCAGCTCGACCTTGACGACGCCG  
 TGGGACAAACTCAGAATCCGGGTCTCAACCGCCTCAAGTCCACTCGCGGATCG  
 GGCAAGCGACCACGCCATGAAAAGTCGCTGAACACGGCATTGGAGCGCTGGC  
 GGCAAGCCATGAACAACATGTGCGAGTATGACCGCTTACGCCAGATCGCGCTC  
 TACCTGCTCTGCTGGGGCGAAGCGGCGCAAGTGCGATTGATGCCCCGAGTGCTT  
 GTGCTTCATCTTCAAGTGCGCCGACGACTATTATCGTTTCGCCGGAGTGCCAGAA  
 CAGGATGGAGCCGGTACCGGAGGGTCTCTACCTGAGGACGGTTCGTAAGCCG  
 CTCTACAGATTTGTCCGGGATCAAGGCTATGAGGTGGTGGAGGGAAAATTCGTA  
 CGGCGGGAACGGGATCACGACCAATCATTGGTTACGATGACGTGAATCAGCT  
 GTTCTGGTACCCGGAGGGCATTGCCCGTATCGTCTGTCCGACAAGgtaagcacctc  
 tgtgcatcttctgtacatacagggctaattgtcgagcagAGTCGTCTGGTCGACCTCCCTCCAGCA  
 CAGCGCTTCATGAAGTTCGACCGTATCGAGTGGAATCGCGTCTTCTTCAAGACG  
 TTCTACGAGACTCGATCCTTTACGCATCTTTTGGTTCGACTTCAACCGTATCTGGG  
 TCGTGCACATCGCTCTCTACTTCTTCTACACCGCATACTCCCCACGATCTA  
 CGCCATCAACGGCAACTCCGACGTCTCTGGCTTGGAGCGCGACTGCGCTCG  
 GCGGTGCGGTAGCGACAGGTATCATGATCCTCGCCACGATCGCCGAGTTCTCG  
 CACATCCCACGACATGGAACAACACCTCGCATCTGACTCGCCGCCTCGCCTTC  
 CTCTCGTACGCTCGGCCTCACATGTGGTCCGACGTTCTACGTCCGATTGCA  
 GAGAGCAACGGGAGCGGCGGCTCTTTGGCCTTGATTCTCGGCATCGTCCAGTT  
 CTTTATCTCCGTCTGATGCGACTGCGCTCTTCACTATCATGCCTTCTGGTCTGAT  
 GTTCGGCGACCGCGTTCGAGGCAAGAGTCGCAAGTATCTCGCCAGCCAGACGT  
 TCACGGCCAGCTACCCGTCTGTTGCCCAAGCACCAGCGGTTTCGCATCACTCCTG

ATGTGGTTCCTCATCTTCGGGTGCAAGTTGACGGAGAGTACTTCTTCCTGACG  
 TTGTCCTTCCGCGACCCTATTCGCGTCATGGTCGGCATGAAGATCCAGAAGTGC  
 GAGGACAAGATTTTCGGCAGCGGCCTTTGCAGGAATCACGCAGCATTACCCCT  
 CACGATCATGTACATCATGGACCTCGTCTTGTTCTTCCTCGACACCTTCCTTTGG  
 TATGTCATCTGGAACCTCGGTTTTAGTATCGCACGCTCTTCGTAAGCGTATCTAC  
 CGATCTGGACACCATGGAGGGACATCTTCAGCGTCTGCCGAAGCGTATCTAC  
 GCGAAGCTTCTAGCGACCGGCGACATGGAGGTCAAGTACAAGCCCAAGggtgtgga  
 atagctcgctgaaggttcttgattctgactcattcgagGTCTTGGTTTCGCAAATCTGGAACGCCA  
 TCATCATCTCCATGTACCGCGAGCACTTGCTCTCTATCGAGCACGTTCAAAGC  
 TCCTGTACCATCAAGTGGACACTGGCGAAGCCGGCAAGCGGAGTCTTCGCGCG  
 CCTCCGTTCTTCGTCGCGCAGGGCAGCAGCGGTGGCTCGGGCGAGTTCCTCC  
 GCCTGGTAGCGAGGCTGAGCGTCGTATCTCTTTCTTCGCGCAGTCTCTATCTAC  
 GGAGATTCCTCAGCCCATCCCGGTTGACGCCATGCCGACGTTACAGTGCTTA  
 CGCTCACTACAGCGAGAAggtgcttttctgggctcattcaacattagctgactgctgacagA  
 TCCTTCTTCGCTCCGTGAGATTATCCGCGAGGAGGACCAGAACACCCGCGTG  
 ACATTGCTTGAGTATCTCAAGCAGCTTCACCCGGTCGAGTGGGAGAACTTCGTC  
 AAGGACACCAAGATTTTGGCCGAGGAGTCCGCTATGTTCAACGGTCCAAGTCT  
 TTCGGCAACGATGAGAAGGGTCAGTCCAAGATGGACGATCTTCCTTTCTACTGC  
 ATCGGTTTCAAGAGCGCCGCGCCGAGTACACCCTCCGCACCCGTATCTGGGC  
 GTCCTTGCGCGCGCAGACCCTTACCGCACGGTCTCCGGCATGATGAACTATG  
 CGAAGGCGATTAAGCTGCTTACCGCGTCGAGAACCCCGAGGTCGTGCAGCAG  
 TTCGGCGGTAACACGGACAAGCTCGAGCGCGAGTTGGAGCGGATGGCCCGGC  
 GGAAGTTCAAGTTCCTGGTGTCCATGCAGCGCTACTCGAAGTTCAACAAGGAGG  
 AGCACGAGAACGCCGAGTTCCTGCTCCGCGCGTACCCGGACCTGCAGATCGCG  
 TACCTGGAGGAAGAGCCTCCTCGCAAGGAGGGTGGCGATCCACGCATCTTCTC  
 TGCCCTCGTCGACGGCCACAGCGACATCATCCCGGAGACCGGCAAGCGGCGC  
 CCAAGTTCGCGCATCGAGCTGCCCGGCAACCCATTCTCGGTGACGGCAAGTC  
 GGACAACCAGAACCACGCCATCGTCTTCTACCGCGGCGAGTACCTCCAGCTTAT  
 CGACGCCAACCAGGACAACCTCGAGGAGTGCTTGAAGATCCGTAACGTAC  
 TCGCCGAGTTCGAGGAGTACGACGTCTTAGCCAGAGTCCGTACGCGCAGTGG  
 AGTGTCAAGGAGTTCGAGCGCTCCCGGTGCGCATCGTCGGTGCACGCGAGTA  
 TATCTTCTCGGAGCACATCGGTATTCTCGGTGATTTGGCGGCTGGCAAGGAACA  
 GACGTTCCGTACGCTCACGGCACGCAACAACGCCTTCCTTGGCGGCAAGCTGC  
 ACTACGGTCACCCGGATTTCTCAACGCCCTCTACATGAACACGCGCGGTGGT  
 GTCTCCAAGGCGCAGAAGGGTCTCCATCTCAACGAGGATATTTACGCCGGTATG  
 AACGCGGTCCGTCCGGTGGACGCATCAAGCATAGCGAATACTACCAGTGCGG  
 CAAGGGTTCGTGACCTCGGTTTTGGCACCATCTTGAACCTCCAGACCAAGATCGG  
 TACGGGTATGGGCGAGCAGATCCTCTCGCGCGAGTACTACTACCTCGGAACCC  
 AATTGCCCATCGATCGCTTCCTCACGTTCTACTACGCGCACCCAGGTTTCCAGA  
 TCAACAACATGCTGGTTATCCTATCCGTGCAGGTCTTCATCGTTACCAgtacgttgatt  
 gcatatcgftagcctgacagcgtctgacgaattcccagTGGTCTTCCTCGGTACCTTGAAGTCTTC  
 GGTCACGATCTGCAAGTACACGTCCAGCGGTGAGTACATCGGTGGTCAATCCG  
 GTTGCTACAACCTCGTCCCGGTCTTCCAGTGGATCGAGCGCTGCATCATCAGCA  
 TCTTCTTGGTGTTCATGATCGCTTTCATGCCGCTCTTCCTGCAAGgtaagagctcgca  
 acctgctcaagggccttgcgctgatcatcatctcagAACTCGTCGAGCGCGGTACCTGGAGTGCC  
 ATCTGGCGTCTGCTCAAGCAGTTTATGTGCTGTCGCGCTGTCTTCGAGGTGTT  
 TCCACCCAGATTACAGACACACTCCGTGTTGAGCAACTTACGTTCCGGTGGTGCG  
 CGTTACATCGCTACCGGTTCGTGGGTTCCGCCACAGTCGTATCAGCTTCAGCATC  
 TTGTTCTCGCGTTTCGCGAGGCCCGAGTATCTACCTCGGCATGCGCACGCTCATT  
 ATGCTGCTCTACGTGACGTTGACGATCTGGACGCCATGGGTCAATTAATTTCTGG

GTTTCCATTCTCTCGCTCTGCATCGCGCCGTTCTTGTTC AATCCGCATCAATTCG  
TCTTCTCGGATTTCTCATCGACTACAGgtacgtcggacgagcgctgtccgacgtaagctgac  
cggttatacagGGAATACCTCCGGTGGATGTCGCGTGGTAACTCGCGCTCGCACAAAC  
AACTCCTGGATTGGGTA CTGCCGTTGTCCCGCACGATGATCACTGGGTACAA  
GAAGAAGAAGCTGGGCCACCCGTCCGAGAAGCTTTCCGGCGACGTTCTCTCGTG  
CAGGCTGGCGCGCCGTCTTATTCTCGGAGATCATCTTCCCGGCATGCATGGCC  
ATCCTCTTCATCATCGCGTACATGTTGTCGAAGTCGTTCCCTCTCGACGGCAAG  
CAGCCTCCCTCCGGCCCTCGTTCGCATCGCCGTGCTGTCTATCGGCCCCATCGT  
GTGGAACGCCGCCATCCTGTTGACGCTCTTCTTGTGTCGTTGTTCTCTCGGCC  
CATGCTCGACCCGGTCTTCCCCCTCTTCGGTTCGTTATGGCCTTCATCGCGCA  
TTTCTCGGCACAATCGGAATGATTGGGTTCTTCGAGTTCCTGgtatgtgccataccttt  
cattcgtcttcaactatctaacagattcatagTGGTTCCTCGAGTCTTGGGAGGCGTCGCATGCC  
GTGCTGGGTCTCATCGCCGTCATCTCCATCCAGCGCGCCATTCACAAAATTCTT  
ATCGCCGTTTTCTCAGTCGCGAGTTCAAGCACGACGAGACGAACAGGGCTTG  
GTGGACTGGTCGCTGGTATGGCCGTGGCCTCGGCACGCACGCCATGTGCGCAG  
CCGGCGCGTGAGTTCGTGTCGAAGATCATCGAGTTGTCGCTCTGGAGCTCGGA  
TCTCATACTCGGCCACATCCTGCTGTTTACTGCTTACTCCGGCTGTCCTCATCCC  
GTACTTCGACCGTCTGCACGCCATGATGCTCTgtacgtcgtgtctcattgtttgttggtcatactct  
taccctctcttagTCTGGCTGCGCCCCTCAAAGCAAATCCGCGCGCCTCTGTACTCAAT  
CAAGCAGAAGAGGCAAAGACGCTGGATTgtcagtggtcagtccttattctatcagctcttactgacgt  
cttcatagATCATGAAGTACGGTACTGTATACGTTACCGTCATCGCGATCTTCGTCG  
CGCTCATCGCGCTTCgtgagtacccttgctatctttctacctgagcgtcgtgaccttcccagCCCTC  
GTCTTCCGACACACTCTAAAGGTCGAGTGCTCCCTTTGCGACAGCTTGTAATAT  
CGGACTCGTATATATCTAGACTTCTCCGCACCATGTGTAGCTGACGCTTGGGTA  
TACTTCGCGGTGCCGAGCTAATTGTCGACGGACATTCTCCATCGTTGAGTGCAG  
CGACATCGGGTGGTTTACGACACGGACACTTTTTCATTGTACCCTCTACGAATGC  
AAGA ACTCTCTTACGACCAGTACCTATGTGCTAAGCCGTCGCCTGTT CAGGATC  
ATACATAACATACGTTTCTAGATACCTTACAGTTAGGCCTATTCAGGGAGAGTCTG  
CATAAAA

**SEQ ID NO: 4**

Traducción de la SEQ ID NO: 7

aminoácido

*S. commune*

5

MRNMFDFTMQLLDSRASRMTPNQALLTLHADYIGGQHANYRKWYFAAQLDLDDAV  
GQTQNPGLNRLKSTRGSGKRPRHEKSLNTALERWRQAMNNMSQYDRLRQIALYLL  
CWGEAAQVRFMPECLCFIFKCADDYRSPECQNRMEPVPEGLYLRTVVKPLYRFV  
RDQGYEVVEGKFVRRERDHDQIIGYDDVNQLFWYPEGIARIVLSDKSRLVDLPPAQ  
RFMKFDRIEWNRVFFKTFYETRSFTHLLVDFNRIWVHIALYFFYTAYNSPTIYAING  
NTPTSLAWSATALGGAVATGIMILATIAEF SHIPTTWNNTSHLTRRLAFLLVTLGLTCG  
PTFYVAIAESNGSGSLALILGIVQFFISVVATALFTIMP SGRMFGDRVAGKSRKYLA  
SQTFTASYPSLPKHQRFASLLMWFLIFGCKLTESYFFLTL SFRDPIRVMVGMKIQNC  
EDKIFGSGLCRNHAAFTLTIMYIMDLVFFLD TFLWYVIWNSVFSIARSFVLGLSIWTP  
WRDIFQRLPKRIYAKLLATGDMEVKYKPKVLVSQIWNAIIISMYREHLLSIEHVQKLLY  
HQVDTGEAGKRSLRAPFFVAQSSGSGSEFFPPGSEAERRISFFA QSLSTEIPQPI  
PVDAMPTFTVLTPHYSEKILLSLREIIREEDQNTRVTLLEYL KQLHPVEWENFVKDTKI  
LAEESAMFNGPSFGNDEKGGQSKMDDL PFYCIGFKSAAPEYTLRTRIWASLRAQTL  
YRTVSGMMNYAKAIKLLYRVENPEVVQQFGGNTDKLERELERMARRKFKFLVSMQ  
RYSKFNKEEHENA EFLLRAYPDLQIAYLEEEPPRKEGGDPRIFSALVDGHSDIIPETG

KRRPKFRIELPGNPILGDGKSDNQNHAI VFYRGEYLQLIDANQDNYLEECLKIRNVLA  
 EFEEYDVSSQSPYAQWSVKEFKRSPVAIVGAREYIFSEHIGILGDLAAGKEQTFGTL  
 TARNNAFLGGKLHYGHPDFLNALYMNTRGGVSKAQKGLHLNEDIYAGMNAVGRGG  
 RIKHSEYYQCGKGRDLGFGTILNFQTKIGTGMGEQILSREYYLGTQLPIDRFLTFYY  
 AHPGFQINMLVILSVQVFIVTMVFLGTLKSSVTICKYTSSGQYIGGQSGCYNLVPVF  
 QWIERCIISIFLVFMIAFMPLFLQELVERGTWSAIWRLLKQFMSLSPVFEVSTQIQTH  
 SVLSNLTFGGARYIATGRGFATSRISFSILFSRFAGPSIYLGMRITLIMLLYVTLTIWTP  
 WWIYFWVSILSLCIAPFLFNPHQFVFSDFLIDYREYLRWMSRGNRSRSHNNSWIGYCR  
 LSRTMITGYKKKKLGHPSSEKLSGDVPRAGWRAVLFSEIIFPACMAILFIIAYMFVKSFP  
 LDGKQPPSGLVRIAVVSIPIVWNAAILLTLFLVSLFLGPMLDPVFPFLFGSVMAFIAHF  
 LGTIGMIGFFEFWFLESWEASHAVLGLIAVISIQRAIHKILIAVFLSREFKHDETNRW  
 WTGRWYGRGLGTHAMSQPAREFVVKIIELSLWSSDLILGHILLFMLTPAVLIPYFDRL  
 HAMMLFWLRPSKQIRAPLYSIKQKRQRRIIMKYGTVYVTVIAIFVALIALPLVFRHTL  
 KVECSL CDSL

**SEQ ID NO: 5**

ADNc 1,3-β-D-glucano sintasa I de la cepa Lu15531 de *S. commune*

ADN

*S. commune*

5

ATGTCCGGCCCAGGATATGGCAGGAATCCATTCGACAATCCCCGCCCCAACAG  
 AGGTCCCTATGGCCAGCAGCCAGGTTTCCCGGGGCCCGGCCCTCGGCCTTAC  
 GACTCGGACGCGGACATGAGCCAGACCTATGGCAGCACAACCAGGCTCGCCG  
 GCAGTGCCGGTTACAGCGACAGAAACGGCAGCTTCGACGGCGACCGCTCCTAC  
 GCGCCCTCAATTGACTCGCGCGCCAGCGTGCCAGCATATCGCCCTTCGCAGA  
 CCCGGGTATCGGCTCTAATGAGCCGTATCCCGCTTGGTCGGTTCGAACGCCAGA  
 TTCCCATGTCCACGGAGGAGATTGAGGACATCTTCCTCGACCTACCCAAAAGT  
 TTGGCTTCCAGCGCGACTCCATGCGGAATACGTTGACTTCATGATGCACCTCC  
 TCGATTCCCGTGCCTCGCGCATGACGCCCAACCAAGCTCTGCTCACGCTTAC  
 GCCGACTACATTGGTGGCCAGCATGCCAATTACCGGAAGTGGTATTTGCCCGC  
 ACAGCTCAACCTCGATGACGCGGTCCGGCAAACCAATAACCCCGGTATCCAGC  
 GCTTGAAGACCATCAAGGGCGCTACGAAGACCAAGTCGCTCGACAGCGCACTC  
 AACCGCTGGCGCAACGCGATGAACAACATGAGCCAGTACGATCGCCTCCGGCA  
 AATTGCGCTCTACCTCCTCTGCTGGGGTGAAGCAGGCAACATCCGTCTGGCGC  
 CCGAGTGCTTGTGCTTCATCTTCAAGTGCGCGGACGACTACTACAGAAGTCCCG  
 AGTGTGAGAACCGGATGGACCCCGTGCCGGAAGGGCTGTACCTGCAGACGGT  
 CATCAAGCCGCTCTATCGCTTCTACGTGATCAGGCGTACGAAGTCGTTGATGG  
 GAAGCAAGTGAAGCGCGAGAAGGACCACGACCAGATTATCGGTTATGACGACG  
 TCAACCAGTTATTCTGGTATCCGGAAGGTTTGGCTAAGATCGTCATGTCGGACA  
 ACACACGACTTGTAGATGTACCTCCGGCGCAGCGGTTTCATGAAGTTCGCCAAGA  
 TCGAGTGAACCGCGTCTTCTTCAAGACGTA TTTGAGAAGCGCTCTACTGCC  
 ATCTCCTGGTCAACTTCAACCGTATATGGATCCTCCACGTCTCGATGTA TTTCTT  
 CTACACGGCATTCAACTCTCCACGAGTCTACGCGCCGCACGGCAA ACTCGACC  
 CCTCCCCTGAGATGACCTGGTCCGCGACTGCCCTTGGAGGCGCTGTGTCCACC  
 ATGATCATGATCCTTGCCACTATCGCGGAGTACACCTACATCCCCACGACATGG  
 AACAAATGCGTGCACCTCACCACGCGGCTCATTTTCTCCTGGTCATCCTCGCG  
 CTCACTGCTGGCCCAACATTCTATATCGCCATGATAGACGGACGCACGGACATC  
 GGCCAAGTACCACTCATCGTGGCCATAGTGCAGTTCTTCATCTCCGTGCTCGCC  
 ACCCTCGCTTTTCGCTACCATCCCTTCTGGTTCGCATGTTCCGGCGACCGTGTGGCT  
 GGCAAGTCAAGAAAGCACATGGCATCGCAGACGTTACAGCGTCGTACCCGTC

CATGAAGCGGTCATCTCGCGTAGCGAGTATCATGCTGTGGCTTTTGGTCTTTGG  
 CTGCAAATACGTGAGTCTTACTTCTTCTTGACGTCCTCCTTCTCCAGCCCGATC  
 GCGGTCATGGCGCGTACGAAGGTACAGGGCTGCAACGACCGTATCTTCGGCAG  
 CCAGCTGTGCACGAATCAGGTCCCCTTCGCGCTGGCAATCATGTACGTGATGG  
 ACCTGGTACTGTTCTTCTGGACACGTACCTGTGGTACATCATCTGGCTGGTGA  
 TCTTCTCGATGGTGCGCGCGTTCAAGCTTGGTATCTCGATCTGGACGCCCTGGA  
 GCGAGATCTTACCCGCATGCCGAAGCGTATTTACGCAAAGCTGCTGGCGACG  
 GCCGAGATGGAGGTCAAGTATAAGCCCAAGGTGCTCGTCTCACAAATCTGGAA  
 CGCGGTCATCATCTCCATGTACCGGGAGCATCTTGTCCATCGAGCACGTCCA  
 GCGCTTGCTTTACCACCAGGTTGATGGTCCCAGTGGCCGCCGCACCCTCAGGG  
 CACCGCCGTTCTTACCAGCCAGCGAACTGCGAAGCCAGGCCTGTTCTTCCCT  
 CCTGGTGGCGAGGCTGAGCGCCGCATCTCGTTCTTTGCCTCATCGCTGACGAC  
 CGCGCTCCCGGAGCCTCTGCCGATCGACGCCATGCCACCTTACCCTGCTCG  
 TTCCCATTACTCCGAGAAGATTCTGCTCAGTCTGCGCGAGATTATCCGCGAGG  
 AGGACCAGAACACCCGCGTTACCTTACTGGAGTACCTCAAGCAGCTCCACCCT  
 GTCGAATGGGACAATTTTCGTCAAGGACACCAAGATCTTGGCGGAAGAGTCGGG  
 AGACGTCCAGGACGAGAAGCGCGCGCGCACGGACGACTTGCCGTTCTATTGCA  
 TCGGGTTCAAGACCTCGTCACCAGAGTACACCCTGCGTACGCGTATCTGGGCC  
 TCACTGCGCGCACAGACGCTGTACCGCACGGTCTCCGGTATGATGAACTACTC  
 CAAGGCGATTAAGCTCCTCTATCGCGTCGAGAACCCGGATGTCGTTTATGCCTT  
 CGGTGGGAACACGGAACGTCTTGAACGCGAGCTTGAAGCGCATGTCTCGCCGCA  
 AGTTCAAGTTCGTTCATCTCGATGCAGCGGTACTCCAAGTTCAACAAGGAGGAGC  
 AGGAGAACGCCGAGTTCCTTCTGCGCGCGTACCCGGATTTGCAGATCGCGTAC  
 CTCGATGAAGAGCCCGGTCCCAGCAAGAGCGACGAGGTTCCGTTGTTTTCGAC  
 ACTCATCGACGGACACTCCGAGGTGGACGAGAAGACGGGGCCGCCGCAAGCCC  
 AAGTTCGCGATCGAGCTGCCCGGTAACCCCATCCTCGGTGACGGGAAGTCGGA  
 TAACCAGAACCACGCCATCGTCTTCTACCGCGGGCAGTACATTCAGGTCATTGA  
 CGCTAACCAGGACAATTACCTGGAAGAGTGTCTCAAGATCCGTAATGTCTGGG  
 CGAGTTTGAGGAATACTCCGTGTGAGCCAGAGCCCGTACGCGCAGTGGGGCC  
 ACAAGGAGTTCAACAAGTGCCCCGTGCTATCCTGGGTTCCCGCGAGTACATCT  
 TCTCGGAGAACATCGGTATCCTCGGTGACATCGCTGCCGGCAAGGAACAGACG  
 TTCGGTACCATTACGGCGCGTGCCTTGCCTGGATCGGCGGCAAGCTGCATTA  
 CGGTACCCGGATTTCTCAATGCGACGTTTATGACGACGCGTGGTGGCGTGT  
 CAAAAGCGCAGAAGGGCTTGCATCTTAACGAGGATATCTTCGCTGGTATGACCG  
 CCGTGTCCCGCGGAGGGCGCATCAAGCACATGGAGTACTACCAGTGCGGGAAA  
 GGTGCTGATCTCGGATTCGGCACGATCTTGAACCTCCAGACCAAGATCGGTACT  
 GGTATGGGCGAGCAGCTGCTCTCGCGCGAGTACTACTATCTGGGCACGCAATT  
 GCCTATCGACCGTTCCTTACGTTCTACTACGCGCACGCTGGTTTCCATGTCAA  
 CAACATCCTGGTTCATCTACTCCATCCAGGTCTTTCATGGTACCCTGCTGTACCT  
 GGGCACATTGAACAAGCAGCTGTTTATCTGCAAGGTCAACTCCAATGGCCAGGT  
 TCTTAGTGGACAAGCTGGGTGCTACAACCTCATCCCGGTCTTCGAGTGGATTCC  
 CCGGAGTATCATCTCCATCTTCTTGGTGTCTTTCATCGCCTTCTTGCCGTTGTTT  
 TTGCAAGAGCTTTGCGAACGCGGAACAGGAAAGGCGTTGCTGCGTCTCGGGAA  
 GCACTTCTGTCACTGTCGCCATCTTTCGAAGTGTCTCCACCCAAATCTACTC  
 GCAGGCGCTCTTGAACAACATGAGTTTCGGTGGTGCGCGCTACATCGCTACAG  
 GACGCGGTTTCGCGACGAGTCGGATACCCTTCAACATCCTTACTCGCGTTTTCG  
 CGCCGCCGAGCATCTACATGGGCATGCGTAATCTGCTGCTCTTGGTGTACGCG  
 ACGATGGCCATTTGGATCCACACCTGATCTACTTCTGGTTCTCCGTCTCTCC  
 CTCTGCATCGCGCCATTCATGTTCAATCCGCATCAATTCTCGTACGCTGACTTCA  
 TCATCGACTACCGGGAGTTCCTGCGCTGGATGTCGCGCGGTAACCTCGCGGACG

AAGGCGAGTAGCTGGTACGGATATTGCCGTCTGTGCGGTACCGCGATTACTGG  
 GTACAAGAAGAAGAACTGGGACACCCGTGCGAGAAGCTGTCGGGCGATGTGC  
 CGCGTGCGCCGTGGAGGAACGTCATCTTCTCGGAGATCCTTTGGCCCATCGGC  
 GCGTGATCATCTTCATCGTTCGCGTACATGTTTCGTCAAATCGTTCCCTGACGAG  
 CAGGGCAACGCGCCGCCGAGCCCGCTGGTCCGCATTCTGCTCATCGCGGTTG  
 GCCCTACTGTGTGGAACGCGGCGGTGCTCATCACGCTGTTCTTCTGTCGCTCT  
 TCCTGGGCCCGATGATGGATGGCTGGGTCAAGTTCGGCTCAGTCATGGCGGCA  
 CTTGCGCATGGTCTAGCGCTCATAGGCATGCTCACGTTCTTCGAGTTCTTCTGG  
 TTCCTCGAGCTCTGGGATGCCTCGCACGCCGTGCTCGGCGTCATCGCCATTATT  
 GCCGTTACAGCGCGGGATCCAGAAGATCCTCATTGCCGTCTTCTGACGCGTGA  
 GTACAAGCACGACGAGACGAACCGCGCGTGGTGGACAGGTAATGGTATGGAC  
 GCGGGCTGGGTACCTCGGCCATGTCCCAGCCGGCGCGCGAGTTCATCGTGAA  
 GATCGTGGAGATGTGCTGTGGACGTCGGACTTCTGCTTGCACACCTGTTGC  
 TCATCATCTTGACGGTGCCGCTACTGCTGCCGTTCTTCAACTCGATCCATTGA  
 CGATGCTTTTCTGGTTGCGCCCTTCGAAGCAGATTAGGCAACCTCTGTTCTCCA  
 CTAAGCAGAAGCGGCAACGGCGATGGATTGTCATGAAGTATACCGTGGTATATC  
 TCGTGGTGGTGGCTTCTCGTTGCGCTCATCGCTCTGCCCGCGCTCTTCCGC  
 GAGAGCATCCACTTCAACTGCGAGATCTGCCAGAGTATATAG

**SEQ ID NO: 6**

Secuencia de polipéptido 1,3-β-D-glucano sintasa I de la cepa Lu15531 de *S. commune*  
 aminoácido  
*S. commune*

5

MSGPGYGRNPFDPNPPNRPYPYGGQPGFPGGPRPYDSADMSQTYGSTTRLAG  
 SAGYSDRNGSFDGDRSYAPSIDSRASVPSISPFADPGIGSNEPYPAWSVERQIPMS  
 TEEIEDIFDLTQKFGFQRDSMRNTDFMMHLLDSRASRMTPNQALLTLHADYIGGQ  
 HANYRKWYFAAQLNLDDAVGQTNNPGIQLKTIKATKTKSLDSALNRWRNAMNN  
 MSQYDRLRQIALYLLCWGEAGNIRLAPECLCFIFKCADDYRSPECQNRMDPVPEG  
 LYLQTVIKPLYRFLRDQAYEVDGKQVKREKDHQIIIGYDDVNQLFWYPEGLAKIVM  
 SDNTRLVDVPPAQRFMKFAKIEWNRVFFKTYFEKRSTAHLLVNFNRIWILHVS MYFF  
 YTAFNSPRVYAPHGKLDPSPEMTWSATALGGAVSTMIMILATIAEYTYIPTWNNAS  
 HLTRLIFLLVILALTAGPTFYIAMIDGRTDIGQVPLIVAIVQFFISVVATLAFATIPSGRM  
 FGDRVAGKSRKHMASQTFTASYPMSMKRSSRVASIMLWLLVFGCKYVESYFFLTSSF  
 SSPIAVMARTKVQGCNDRIFGSQ LCTNQPVALAIMYVMDLVLFFLDTYLWYIWLVI  
 FSMVRAFKLGISIWTPWSEIFTRMPKRIYAKLLATAEME VKYKPKVLVSQIWNVAIISM  
 YREHLLSIEHVQRLLYHQVDGPDGRRTL RAPPFFTSQRTAKPGLFFPPGGEAERRIS  
 FFASLTALPEPLPIDAMPTFTVLVPHYSEKILLSLREIIREEDQNTRVTLLEYLQQLH  
 PVEWDFVFKDKILAEESGDVQDEKRARTDDLPFYCIGFKTSSPEYTLRTRI WASLR  
 AQTLYRTVSGMMNYSKAIKLLYRVENPDVVHAFGGNTERLERELERMSRRKFKFVI  
 SMQRYSKFNKEEQENAEFLLRAYPDLQIAYLDEEPGPSKSDEVRLFSTLIDGHSEVD  
 EKTGRRKPKFRIELPGNPILGDGKSDNQNHAI VFYRGEYIQVIDANQDNYLEECLKIR  
 NVLGEFEEYSVSSQSPYAQWGHKEFNKCPVAILGSREYIFSENIGILGDIAAGKEQTF  
 GTITARALAWIGGKLHYGHPDFLNATFMTTRGGVSKAQKGLHLNEDIFAGMTAVSR  
 GGRIKHMEYYQCGKGRDLGFGTILNFQTKIGTGMGEQLLSREYYLGTQLPIDRFLT  
 FYYAHAGFHVNNILVIYSIQVFMVTL LYLGLTLNKQLFICKVNSNGQVLSGQAGCYNLI  
 PVFEWIRRSIISIFLVFFIAFLPLFLQELCERGTGKALLRLGKHFLSLSPIFEVFSTQIYS  
 QALLNNMSFGGARYIATGRGFATSRIPFNILYSRFAPPSIYMGMRNLLLLLYATMAIW  
 IPHLIYFWFSVLSLCIAPFMFNPHQFSYADFIIDYREFLRWMSRGNRSRTKASSWYGY  
 CRLSRTAITGYKKKKLGHHPSEKLSGDVPRAPWRNVIFSEILWPIGACIIFIVAYMFVKS

FPDEQGNAPPSPLVRILLIIVGPTVWNAAVLITLFFLSLFLGPMMDGWVKFGSVMMAA  
 LAHGLALIGMLTFFEFFWFLELWDASHAVLGVIAIIAVQRGIQKILIAVFLTREYKHDET  
 NRAWWTGKWYGRGLGTSAMSQPAREFIVKIVEMSLWTSDFLLAHLIIIILTVPLLLP  
 FFNSIHSTMLFWLRPSKQIRQPLFSTKQKRQRRWIVMKYTVVYLVVVAFLVALIALPA  
 LFRESIHFNCEICQSI

**SEQ ID NO: 7**

ADNc 1,3-β-D-glucano sintasa II de la cepa Lu15531 de *S. commune*

ADN

*S. commune*

5

ATGCGGAACATGTTGACTTCACCATGCAGCTGCTTGACAGCCGAGCGTCTCGT  
 ATGACCCCAACCAGGCGCTCCTCACCTCCACGCCACTACATTGGTGGCCA  
 GCATGCGAACTACCGGAAGTGGTACTTCGCGGCGCAGCTCGACCTTGACGACG  
 CCGTGGGACAACTCAGAATCCGGGTCTCAACCGCCTCAAGTCCACTCGCGGA  
 TCGGGCAAGCGACCACGCCATGAAAAGTCGCTGAACACGGCATTGGAGCGCTG  
 GCGGCAAGCCATGAACAACATGTCGCAGTATGACCGCTTACGCCAGATCGCGC  
 TCTACCTGCTCTGCTGGGGCGAAGCGGCGCAAGTGCATTGATGCCCGAGTGC  
 TTGTGCTTCATCTTCAAGTGCGCCGACGACTATTATCGTTCGCCGGAGTGCCAG  
 AACAGGATGGAGCCGGTACCGGAGGGTCTCTACCTGAGGACGGTCGTAAAGCC  
 GCTCTACAGATTTGTCCGGGATCAAGGCTATGAGGTGGTGGAGGGAAAATTTCG  
 ACGGCGGGAACGGGATCACGACCAATCATTGGTTACGATGACGTGAATCAGC  
 TGTTCTGGTACCCGGAGGGCATTGCCCGTATCGTCCTGTCGGACAAGAGTCGT  
 CTGGTCGACCTCCCTCCAGCACAGCGCTTCATGAAGTTCGACCGTATCGAGTG  
 GAATCGCGTCTTCTTCAAGACGTTCTACGAGACTCGATCCTTTACGCATCTTTTG  
 GTCGACTTCAACCGTATCTGGGTCGTGCACATCGCTCTCTACTTCTTCTACACC  
 GCATACAACTCCCCACGATCTACGCCATCAACGGCAACACTCCGACGTCTCTG  
 GCTTGGAGCGCGACTGCGCTCGGCGGTGCGGTAGCGACAGGTATCATGATCCT  
 CGCCACGATCGCCGAGTTCTCGCACATCCCCACGACATGGAACAACACCTCGC  
 ATCTGACTCGCCGCTCGCCTTCTCCTCGTACGCTCGGCCTCACATGTGGTC  
 CGACGTTCTACGTCGCGATTGCAGAGAGCAACGGGAGCGGCGGCTCTTTGGCC  
 TTGATTCTCGGCATCGTCCAGTTCTTCATCTCCGTGCGTAGCGACTGCGCTCTTC  
 ACTATCATGCCTTCTGGTCGTATGTTTCGGCGACCGCGTTCGCAGGCAAGAGTCG  
 CAAGTATCTCGCCAGCCAGACGTTACGGCCAGCTACCCGTGCTTGCCCAAGC  
 ACCAGCGGTTTCGCATCACTCCTGATGTGGTTCCTCATCTTCGGGTGCAAGTTGA  
 CGGAGAGTTACTTCTTCTGACGTTGTCTTCCGCGACCCTATTCGCGTCATGG  
 TCGGCATGAAGATCCAGAACTGCGAGGACAAGATTTTCGGCAGCGGCCTTTGC  
 AGGAATCACGCAGCATTACCCTCACGATCATGTACATCATGGACCTCGTCTTG  
 TTCTTCTCGACACCTTCTTTGGTATGTCATCTGGAACCTCGGTTTTAGATATCG  
 CACGCTCTTTCGTACTCGGCCTTTCGATCTGGACACCATGGAGGGACATCTTCC  
 AGCGTCTGCCGAAGCGTATCTACGCGAAGCTTCTAGCGACCGGCGACATGGAG  
 GTCAAGTACAAGCCCAAGGTCTTGGTTTCGCAAATCTGGAACGCCATCATCATC  
 TCCATGTACCGCGAGCACTTGCTCTCTATCGAGCACGTTCAAAGCTCCTGTAC  
 CATCAAGTGGACACTGGCGAAGCCGGCAAGCGGAGTCTTCGCGCGCCTCCGTT  
 CTTTCGTCGCGCAGGGCAGCAGCGGTGGCTCGGGCGAGTTCTTCCCGCCTGGT  
 AGCGAGGCTGAGCGTCGTATCTTCTTTCGCGCAGTCTCTATCTACGGAGATT  
 CCTCAGCCCATCCCGGTTGACGCCATGCCGACGTTACAGTGCTTACGCCTCA

CTACAGCGAGAAGATCCTTCTTTTCGCTCCGTGAGATTATCCGCGAGGAGGACCA  
 GAACACCCGCGTGACATTGCTTGAGTATCTCAAGCAGCTTCACCCGGTTCGAGTG  
 GGAGAACTTCGTCAAGGACACCAAGATTTTGGCCGAGGAGTCCGCTATGTTCAA  
 CGGTCCAAGTCCTTTTCGGCAACGATGAGAAGGGTCAGTCCAAGATGGACGATC  
 TTCCTTTCTACTGCATCGGTTTCAAGAGCGCCGCGCCCGAGTACACCCTCCGCA  
 CCCGTATCTGGGCGTCCTTGCGCGCGCAGACCCTCTACCGCACGGTCTCCGGC  
 ATGATGAACTATGCGAAGGCGATTAAGCTGCTCTACCGCGTCGAGAACCCCGA  
 GGTTCGTGCAGCAGTTCGGCGGTAACACGGACAAGCTCGAGCGCGAGTTGGAG  
 CGGATGGCCCGGCGGAAGTTCAAGTTCCTGGTGTCCATGCAGCGCTACTCGAA  
 GTTCAACAAGGAGGAGCACGAGAACGCCGAGTTCCTTGCTCCGCGCGTACCCGG  
 ACCTGCAGATCGCGTACCTGGAGGAAGAGCCTCCTCGCAAGGAGGGTGGCGAT  
 CCACGCATCTTCTCTGCCCTCGTCGACGGCCACAGCGACATCATCCCGGAGAC  
 CGGCAAGCGGCGCCCAAGTTCGCGCATCGAGCTGCCCGGCAACCCCAATTCTCG  
 GTGACGGCAAGTCGGACAACCAGAACCACGCCATCGTCTTCTACCGCGGCGAG  
 TACCTCCAGCTTATCGACGCCAACCAGGACAACCTACCTCGAGGAGTGCTTGAAG  
 ATCCGTAACGTA CTGCGGAGTTCGAGGAGTACGACGTCTCTAGCCAGAGTCC  
 GTACGCGCAGTGGAGTGTCAAGGAGTTC AAGCGCTCCCGGTTCGCCATCGTCG  
 GTGCACGCGAGTATATCTTCTCGGAGCACATCGGTATTCTCGGTGATTTGGCGG  
 CTGGCAAGGAACAGACGTTTCGGTACGCTCACGGCACGCAACAACGCCTTCTT  
 GCGGGCAAGCTGCACTACGGTCAACCGGATTTCTCAACGCCCTCTACATGAA  
 CACGCGCGGTGGTGTCTCCAAGGCGCAGAAGGGTCTCCATCTCAACGAGGATA  
 TTTACGCCGGTATGAACGCGGTTCGGTTCGCGGTGGACGCATCAAGCATAGCGAA  
 TACTACCAGTGCGGCAAGGGTTCGTGACCTCGGTTTTGGCACCATCTTGAAC TTC  
 CAGACCAAGATCGGTACGGGTATGGGCGAGCAGATCCTCTCGCGCGAGTACTA  
 CTACCTCGGAACCCAATTGCCCATCGATCGCTTCTCAGCTTCTACTACGCGCA  
 CCCAGGTTTCCAGATCAACAACATGCTGGTTATCCTATCCGTGCAGGTCTTCAT  
 CGTTACCATGGTCTTCTCGGTACCTTGAAGTCTTTCGGTTCACGATCTGCAAGTA  
 CACGTCCAGCGGTTCAGTACATCGGTGGTCAATCCGGTTGCTACAACCTCGTCC  
 CGGTCTTCCAGTGGATCGAGCGCTGCATCATCAGCATCTTCTTGGTGTTCATGA  
 TCGCTTTCATGCCGCTCTTCTGCAAGAACTCGTCGAGCGCGGTACCTGGAGT  
 GCCATCTGGCGTCTGCTCAAGCAGTTTATGTGCTGTGCGCTGTCTTCGAGGTG  
 TTCTCCACCCAGATTCAGACACACTCCGTGTTGAGCAACTTGACGTTTCGGTGGT  
 GCGCGTTACATCGCTACCGGTTCGTGGGTTCCGCCACCAGTCGTATCAGCTTCAG  
 CATCTTGTTCGCGTTTTCGCAGGCCCGAGTATCTACCTCGGCATGCGCACGCT  
 CATTATGCTGCTCTACGTGACGTTGACGATCTGGACGCCATGGGTCAATTA CT  
 CTGGGTTTCCATTCTCTCGCTCTGCATCGCGCCGTTCTTGTTC AATCCGCATCAA  
 TTCGTCTTCTCGGATTTCTCATCGACTACAGGGAATACCTCCGGTGGATGTCG  
 CGTGGTAACTCGCGCTCGCACAACAACCTCCTGGATTGGGTACTGCCGGTTGTC  
 CCGCACGATGATCACTGGGTACAAGAAGAAGAAGCTGGGCCACCCGTTCGGAGA  
 AGCTTTCCGGCGACGTTCTCGTGCAGGCTGGCGCGCCGTCTTATTCTCGGAG  
 ATCATCTTCCCGGCATGCATGGCCATCCTCTTCATCATCGCGTACATGTTTCGTCA  
 AGTCGTTCCCTCTCGACGGCAAGCAGCCTCCCTCCGGCCTCGTTCGCATCGCC  
 GTCGTGTCTATCGGCCCATCGTGTGGAACGCCGCCATCCTGTTGACGCTCTTC  
 CTTGTGTGCTTGTTCCTCGGCCCATGCTCGACCCGGTCTTCCCCCTCTTCGGT  
 TCCGTTATGGCCTTCATCGCGCATTTCCTCGGCACAATCGGAATGATTGGGTTTC  
 TTCGAGTTCCTGTGGTTCCTCGAGTCTGGGAGGCGTTCGCATGCCGTGCTGGG  
 TCTCATCGCCGTTCATCTCCATCCAGCGCGCCATTCACAAAATTCTTATCGCCGTT  
 TTCCTCAGTCGCGAGTTC AAGCACGACGAGACGAACAGGGCTTGGTGGACTGG  
 TCGCTGGTATGGCCGTGGCCTCGGCACGCACGCCATGTGCGAGCCGGCGCGT  
 GAGTTCGTTCGTC AAGATCATCGAGTTGTGCTCTGGAGCTCGGATCTCATACTC

GGCCACATCCTGCTGTTTCATGCTTACTCCGGCTGTCCTCATCCCGTACTTCGAC  
CGTCTGCACGCCATGATGCTCTTCTGGCTGCGCCCCTCAAAGCAAATCCGCGC  
GCCTCTGTACTIONCAATCAAGCAGAAGAGGCAAAGACGCTGGATTATCATGAAGTA  
CGGTACTIONGTATACGTTACCGTCATCGCGATCTTCGTCGCGCTCATCGCGCTTCC  
CCTCGTCTTCCGACACACTCTAAAGGTGAGTGCTCCCTTTGCGACAGCTTGTA  
A

**SEQ ID NO: 8**

secuencia de polipéptido 1,3-β-D-glucano sintasa II de la cepa Lu15531 de *S. commune*  
aminoácido  
*S. commune*

5

MRNMFDFTMQLLDSRASRMTPNQALLTLHADYIGGQHANYRKWYFAAQLDLDLDAV  
GQTQNPGLNRLKSTRGSGKRPRHEKSLNTALERWRQAMNNMSQYDRLRQIALYLL  
CWGEAAQVRFMPECLCFIFKCADDYIRSPECQNRMEPVPEGLYLRTVVKPLYRFV  
RDQGYEVVEGKFRVRRERDHDQIIIGYDDVNQLFWYPEGIARIVLSDKSRLVDLPPAQ  
RFMKFDRIEWNRVFFKTFYETRSFTHLLVDFNRIWVHIALYFFYTAYNSPTIYAING  
NTPTSLAWSATALGGAVATGIMILATIAEFSHIPTTWNNNTSHLTRRLAFLLVTLGLTCG  
PTFYVAIAESNGSGGSLALILGIVQFFISVVATALFTIMP SGRMFGDRVAGKSRKYLA  
SQTFTASYPSLPKHQRFASLLMWFLIFGCKLTESYFFLTL SFRDPIRVMVGMKIQNC  
EDKIFGSGLCRNHAAFTLTIMYIMDLVLFLLDTFLWYVIWNSVFSIARSFVLGLSIWTP  
WRDIFQRLPKRIYAKLLATGDMEVKYKPKVLVSQIWNAAIIISMYREHLLSIEHVQKLLY  
HQVDTGEAGKRSLRAPPFFVAQGGSSGGSGEFFPPGSEAERRISFFAQLSTEIPQPI  
PVDAMPTFTVLTPHYSEKILLSLREIIEEDQNTRVTLLEYLKLHPVEWENFVKDTKI  
LAEESAMFNGPSFPGNDEKGGQSKMDDLFPYFCIGFKSAAPEYTLRTRIWASLRAQTL  
YRTVSGMMNYAKAIKLLYRVENPEVVQQFGGNTDKLERELERMARRKFKFLVSMQ  
RYSKFNKEEHENA EFLLRAYPDLQIAYLEEEPPRKEGGDPRIFSALVDGHSIIPETG  
KRRPKFRIELPGNPILGDGKSDNQNHAI VFYRGEYLQLIDANQDNYLEECLKIRNVLA  
EFEEYDVSSQSPYAQWSVKEFKRSPVAIVGAREYIFSEHIGILGDLAAGKEQTFGTL  
TARNNAFLGGKLYHGHPDFLNALYMNTRGGVSKAQKGLHLNEDIYAGMNAVGRGG  
RIKHSEYYQCCKGRDLGFGTILNFQTKIGTGMGEQILSREYYLGTQLPIDRFLTFY  
AHPGFQINMLVILSVQVFIVTMVFLGTLKSSVTICKYTSSGQYIGGQSGCYNLVPVF  
QWIERCIISIFLVFMIAFMPLFLQELVERGTWSAIWRLKQFMSLSPVFEVSTQIQTH  
SVLSNLTFGGARYIATGRGFATSRSISILFSRFAGPSIYLGMR TLIMLLYVTLTIWTP  
WVIYFWWSILSLCIAPFLFNPHQVFVSDFLIDYREYLRWMSRGNRSRSHNNSWIGYCR  
LSRTMITGYKKKKLGHPSKLSGDVPRAGWRVAVLFSEIIFPACMAILFIIAYMFVKSFP  
LDGKQPPSGLVRIAVVSIPIVWNAAILLTLFLVSLFLGPMLDPVFPFLFGSVMAFIAHF  
LGTIGMIGFFEFWLFLESWEASHAVLGLIAVISIQRAIHKILIAVFLSREFKHDETNRW  
WTGRWYGRGLGTHAMSQPAREFVVKIIELSLWSSDLILGHILLFMLTPAVLIPYFDRL  
HAMMLFWLRPSKQIRAPLYSIKQKRQRRIIMKYGTVYVTVIAIFVALIALPLVFRHTL  
KVECSL CDSL

**SEQ ID NO: 9**

Secuencia génica 1,3-β-D-glucano sintasa I de la cepa Lu15634 de *S. commune*  
ADN  
*S. commune*

10

CCGTCCCTCAAGGCCGTTCTTTCGCTGGCGACCGACCCGGTGTTCGCGAGAA  
 CCTGTTGTTTCTGACGATCATCAACCCTTCTTCTCGTCGCTCTTLAGCTCTCCC  
 TAGACCGTCTTTTACTCTACTCTTCGACGCACGCCATGTCCGGTCCAGGATATG  
 GCAGGAATCCATTGACAATCCCCCGCCAAACAGAGGTCCCTATGGCCAGCAG  
 CCAGGTTTCCCGGGGCCCGGCCCTCGGCCCTTACGACTCGGACGCGGACATGA  
 GCCAGACCTATGGCAGCACAACCAGGCTCGCCGGCAGTGCCGGTTACAGCGA  
 CAGAAACGgtgcgaacgtcgctaccgtacttccctcgatcgctgactcacatatcacgcagGCAGCTTCGA  
 CGGCGACCGCTCCTACGCGCCCTCAATTGACTCGCGCGCCAGCGTGCCCGAGC  
 ATATCGCCCTTCGCAGACCCGGGTATCGGCTCTAATGAGCCGTATCCCGCTTG  
 GTCGGTTCGAACGCCAGATCCCCATGTCCACGGAGGAGATTGAGGATATCTTCC  
 TCGACCTCACCCAAAAGTTTGGCTTCCAGCGCGACTCCATGCGGAATACGgtgcgt  
 gaataagcagcccactcgaccgcggaacagctcaattgacctgtcaccagTTCGACTTCATGATGCA  
 CCTCCTTGATTCCCGTGCCCTCGCGCATGACGCCAAACCAAGCTCTGCTCACGCT  
 TCACGCCGACTACATTGGTGGCCAGCACGCCAACTATAGGAAGTGGTATTTCCG  
 CGCTCAGCTCAACCTCGATGACGCGGTCCGGCAAACCAATAACCCCGGTATCC  
 AGCGCTTGAAGACCATCAAGGGCGCTACGAAGACCAAGTCGCTCGACAGCGCA  
 CTCAACCGCTGGCGCAATGCGATGAACAACATGAGCCAGTACGATCGCCTCCG  
 GCAAATTGCGCTCTATCTCCTCTGCTGGGGAGAAGCAGGCAACATCCGTCTGG  
 CGCCCGAGTGCTTGTGCTTCATCTTCAAGTGCGCGGACGACTACTACAGAAGTC  
 CCGAGTGTGAGAACC GGATGGACCCCGTGCCGGAAGGGCTGTACCTCCAGAC  
 GGTCATCAAGCCGCTCTATCGCTTCCCTACGTGATCAGGCGTACGAAGTCGTTGA  
 TGGGAAGCAAGTGAAGCGCGAGAAGGACCACGACCAGATTATCGGTTATGACG  
 ACGTCAACCAGTTATTCTGGTATCCGGAAGGTTTGGCTAAGATCGTCATGTCCG  
 ACAACGgtgcgtatgatcttatcggtfacaattcgctccgctcacatctttccagACACGACTTGTAGATGTAC  
 CTCCGGCGCAGCGGTTTCATGAAGTTCGCCAAGATCGAGTGAACCGCGTCTTC  
 TTCAAGACGTACTTTGAGAAGCGCTCTACTGCCCATCTCCTGGTCAACTTCAAC  
 CGTATATGGATCCTCCACGTCTCGATGTACTTCTTCTACACGGCATTCAACTCTC  
 CACGAGTCTACGCGCCGCACGGCAAACCTCGACCCCTCCCCTGAGATGACCTGG  
 TCCGCGACTGCCCTTGGAGGCGCTGTGTCCACCATGATCATGATCCTTGCCACT  
 ATCGCGGAGTACACCTACATCCCCACGACATGGAACAATGCGTTCGCACCTCAC  
 CACGCGGCTCATTTCCTCCTGGTTCATCCTCGCGCTCACTGCTGGACCAACATT  
 CTATATCGCCATGATAGACGGACGCACGGACATCGGCCAAGTACCACTCATCGT  
 GGCCATAGTGCAGTTCTTCATCTCCGTGCTCGCCACCCTCGCTTTCGCTACCAT  
 CCCTTCTGGTTCGATGTTTCGGCGACCGTGTGGCTGGCAAGTCAAGAAAGCACA  
 TGGCATCGCAGACGTTACAGCGTTCGTACCCGTCCATGAAGCGGTCATCTCGC  
 GTAGCGAGTATCATGCTGTGGCTTTTGGTCTTTGGCTGCAAATACGTGAGTCT  
 TACTTCTTCTTGACGTCCTCCTTCTCCAGCCCGATCGCGGTCATGGCGCGTACG  
 AAGGTACAGGGCTGCAACGACCGTATCTTCGGCAGCCAGCTGTGCACGAATCA  
 GGTCCCCTTCGCGCTGGCAATCATGTACGTGATGGACCTGGTACTGTTCTTCT  
 GGACACGTACCTGTGGTACATCATCTGGCTGGTGTATCTTCTCGATGGTGCGCG  
 CGTTCAAGCTTGGTATCTCGATCTGGACGCCCTGGAGCGAGATCTTACCCGCA  
 TGCCGAAGCGTATCTACGCGAAGCTGCTGGCGACGGCCGAGATGGAGGTCAA  
 GTATAAGCCCAAGgtatgctgaatgcaatcgggtcaggtgaattcacctcatattggtgagGTGCTCG  
 TCTCGCAAATCTGGAACGCGGTCATCATCTCCATGTACCGGGAGCATCTCTTGT  
 CCATCGAGCACGTCCAGCGCCTGCTATAACCACAGGTTGATGGTCCAGACGGT  
 CGCCGCACCCTCAGGGCACCGCCGTTCTTACCAGCCAGCGAACTGCGAAGCC  
 AGGCCTGTTCTTCCCTCCTGGTGGCGAGGCTGAGCGCCGTATCTCGTTCTTTGC  
 CTCATCGCTGACGACCGCGCTCCCTGAGCCTCTGCCGATCGACGCCATGCCCA  
 CCTTACCCTGCTCGTTCCCCATTACTCGGAGAAGATTCTGCTCAGTCTGCGCG

AGATTATTCGCGAGGAGGACCAGAACACCCGCGTCACCTTGCTGGAGTACCTC  
 AAGCAGCTCCACCCTGTGAATGGGACAACCTTCGTCAAGGACACCAAGATCTTG  
 GCGGAAGAGTCGGGCGACGTCCAGGACGAGAAGCGCGCGCACGGACGACT  
 TGCCGTTCTACTGCATCGGGTTCAAGACCTCGTCACCAGAGTACACCCTGCGTA  
 CGCGTATCTGGGCTTCACTGCGCGCACAGACGCTGTACCGCACGGTCTCCGGT  
 ATGATGAACTACTCCAAGGCGATCAAGCTCCTCTATCGCGTTCGAGAACCCGGAT  
 GTCGTTTCATGCCTTCGGTGGGAACACGGAACGTCTTGAACGCGAGCTTGAGCG  
 CATGTCTCGCCGCAAGTTCAAGTTTCGTTCATCTCGATGCAGCGGTACTCTAAGTT  
 CAACAAGGAGGAGCAAGAGAACGCCGAATTCCTTCTGCGCGCGTACCCGGATT  
 TGCAGATCGCGTACCTCGATGAAGAGCCCGGTCCCAGCAAGAGCGACGAGGTT  
 CGGTTGTTTTCGACACTCATCGATGGACACTCCGAGGTGGATGAGAAGACCGG  
 CCGCCGCAAGCCCAAGTTCCGCATTGAGCTGCCCGGTAACCCCATCCTCGGTG  
 ACGGGAAGTCGGATAACCAGAACCACGCCATTGTCTTCTACCGCGGCGAGTAC  
 ATCCAGGTCATCGACGCTAACCAGGACAATTACCTGGAAGAGTGTCTCAAGATC  
 CGTAACGTCCTGGGCGAGTTTGGGAATACTCCGTGTGCGAGCCAGAGCCCGTA  
 CGCACAGTGGGGCCACAAGGAGTTCAACAAGTGCCCCGTGCTATCCTGGGTT  
 CTCGCGAGTACATCTTCTCGGAGAACATCGGTATCCTCGGTGACATCGCCGCC  
 GGCAAGGAACAGACGTTCCGTACCATTACGGCGCGTGCCTTGCCTGGATCGG  
 CGGCAAGCTGCATTACGGTACCCGGATTTCTCAATGCGACGTTTCATGACGAC  
 GCGTGGTGGCGTGTCAAAGCGCAGAAGGGCTTGCATCTCAACGAGGATATCT  
 TCGCTGGTATGACCGCCGTGTCCCGCGGAGGGCGCATCAAGCACATGGAGTAC  
 TACCAGTGCGGCAAAGGTCGTGATCTCGGTTTCGGCACGATCTTGAACCTCCAG  
 ACGAAGATCGGTACTGGTATGGGCGAGCAGCTCCTCTCGCGCGAGTACTACTA  
 CCTGGGCACGCAATTGCCTATCGACCGGTTCTTGACGTTCTACTACGCGCACGC  
 TGGTTTCCACGTCAACAACATCCTGGTTCATCTACTCCATCCAGGTCTTCATGGTC  
 ACCTgtaagtgcaggcgtcatgaccgcccgagaacgtagtctgacggatgtgcagTGCTGTACCTGGG  
 CACATTGAACAAGCAGCTGTTTCATCTGCAAGGTCAACTCCAATGGCCAGGTTCT  
 TAGTGGACAAGCTGGGTGCTACAACCTCATCCCGGTCTTCGAGTGGATTCCGC  
 GGAGTATCATCTCCATCTTCTTGGTGTCTTCATCGCCTTCTTGCCTCTATTCTT  
 GCAAGgtatgttcactttccatgtgtcatccgfttagccgctcaccatacgacagAGCTGTGCGAGCGCGG  
 AACGGGAAAGGCGTTGCTGCGTCTCGGGAAGCACTTCTTGTCACTGTGCGCCA  
 TTTTCGAAGTGTTCTCCACCCAGATTTACTCGCAGGCGCTCTTGAACAACATGA  
 GCTTCGGTGGTGCAGCGCTACATCGCCACAGGTTCGTGGTTTCGCGACTAGTCGC  
 ATACCTTCAACATCCTCTACTCGGTTTCGCGCCGCAAGCATCTACATGGGC  
 ATGCGTAACCTGCTGCTCCTGCTGTACGCGACGATGGCCATTTGGATCCCGCA  
 CCTGATCTACTTCTGGTTCTCCGTCCTCTCCCTCTGCATCGCGCCATTCATGTTT  
 AATCCGCATCAATTCTCGTACGCCGACTTCATCATCGACTACCGGGAGTTCTTG  
 CGCTGGATGTGCGCGGTAACCTCGCGAACGAAGGCGAGCAGCTGGTACGGAT  
 ACTGCCGTCTGTGCGGTACCGCGATTACTGGGTACAAGAAGAAGAAGCTGGGA  
 CACCCGTCGAGAAAGCTGTGCGGCGACGTACCGCGTGCGCCGTGGAGGAACG  
 TTATCTTCTCGGAGATCCTGTGGCCCATCGGCGCGTGCATCATCTTCATCGTCG  
 CGTACATGTTTCGTCAAGTCGTTCCCCGACGAGCAGGGCAACGCGCCGCCGAGC  
 CCGCTGGTCCGGATTCTGCTCATCGCGGTTGGCCCTACTGTGTGGAACGCGGC  
 GGTGCTCATAACGCTGTTCTTCTGTCGCTCTTCTGGGCCCGATGATGGATGG  
 CTGGGTCAAGTTCGGCTCGGTCATGGCGGCCCTTGCATGGCCTGGCGCTTA  
 TAGGCATGCTCACGTTCTTTGAGTTCTTTCgtacgtccttcgcggtgtgtcgtaagtgtctgtaacg  
 ccgtcttcagTGGTTCCTTGAGCTCTGGGATGCCTCGCACGCCGTGCTCGGCGTCAT  
 CGCTATCATTGCCGTTTCAGCGCGGGATCCAGAAGATCCTCATTGCCGTCTTCT  
 GACGCGTGAGTACAAGCACGACGAGACGAACCGCGCGTGGTGGACAGGTAAT  
 GGTATGGACGCGGGGCTGGGTACCTCGGCCATGTCCCAGCCGGCGCGGAGTT

CATCGTGAAGATCGTGGAGATGTCGTTGTGGACGTCGGACTTCCTGCTTGCGC  
 ACCTGTTGCTCATCATCTTGACGGTGCCGCTACTGCTGCCGTTCTTCAACTCAAT  
 TCATTCGACGATGCTTTgtgagtggtttagctggttgatgattctgactcgctgagTCTGG  
 TTGCGCCCTTCGAAGCAGATTAGGCAACCTCTGTTCTCCACCAAGCAGAAGCGG  
 CAACGGCGATGGATTgtgagttcctttagtctggttaccgacctcgctcaccttcttagGTCATGAA  
 GTATACCGTGGTATATCTCGTGGTGGTGGCTTTCTCGTCGCGCTCATCGCTCT  
 GCgtacgtttccctcgcgctcacctgtatttcaactaacgtttcctccagCCGCCCTCTTCCGCGAGAGC  
 ATCCACTTCAACTGCGAGATCTGCCAGAGTATATAGTCATATAACGACGTCTATC  
 GTATCGCCGGACGAGAGCCCCGTGCGCTACACACTGACATGGAATCGCTGTGT  
 ATACAATCGATCTTCTGACCGCGTCGGGGGCGTTGCCGTCTTCTACTATCAAT  
 TTGCTTGTGTATCAACATTTCTTCTCTCCAAGCCTACATTGACATAGAGTAATAG  
 CCCATGTTCATAACAATCGCATAGCATTGCATATAACCAT

**SEQ ID NO: 10**

traducción de la SEQ ID NO: 13  
 aminoácido  
*S. commune*

5

MSGPGYGRNPFDPNPPNRPYGGQPGFPGPRPYDSDADMSQTYGSTTRLAG  
 SAGYSDRNGSFDGDRSYAPSIDSRASVPSISPFADPGIGSNEPYPAWSVERQIPMS  
 TEEIEDIFDLTQKFGFQRDSMRNTDFDMMHLLDSRASRMTPNQALLTLHADIYGGQ  
 HANYRKWYFAAQLNLDDAVGQTNNPGIQLKTIKATKTKSLDSALNRWRNAMNN  
 MSQYDRLRQIALYLLCWGEAGNIRLAPECLCFIFKCADDYRSPECQNRMDPVPEG  
 LYLQTVIKPLYRFLRDQAYEVVDGKQVKREKDHQIIGYDDVNQLFWYPEGLAKIVM  
 SDNTRLVDVPPAQRFMKFAKIEWNRVFFKTYFEKRSTAHLLVNFNRIWILHVSMYFF  
 YTAFNSPRVYAPHGKLDPSPEMTWSATALGGAVSTMIMILATIAEYTYIPTTWNNAS  
 HLTTRLIFLLVILALTAGPTFYIAMIDGRDIDIGQVPLIVAIQFFISVVATLAFATIPSGRM  
 FGDRVAGKSRKHMASQTFTASYPMSKRSSRVASIMLWLLVFGCKYVESYFFLTSSF  
 SSPIAVMARTKVQGCNDRIFGSQCTNQVPFALAIMYVMDLVLFFLDTYLWYIWLVI  
 FSMVRAFKLGISIWTPWSEIFTRMPKRIYAKLLATAEMEVKYKPKVLVSQIWNVAIISM  
 YREHLLSIEHVQRLLYHQVDGPDGRRTLAPPFFTSQRTAKPGLFFPPGGEAERRIS  
 FFASLTALPEPLPIDAMPTFTVLVPHYSEKILLSLREIIEEDQNTRVTLLEYLQKLH  
 PVEWDNFVKDTKILAEESGDVQDEKRARTDDLPHYCIGFKTSSPEYTLRTRIWASLR  
 AQTLYRTVSGMMNYSKAIKLLYRVENPDVWHAFGGNTERLERELERMSRRKFKFVI  
 SMQRYSKFNKEEQENAEFLLRAYPDLQIAYLDEEPGPSKSDEVRLFSTLIDGHSEVD  
 EKTGRRKPKFRIELPGNPILGDGKSDNQNHAIYFYRGEYIQVIDANQDNYLEECLKIR  
 NVLGEFEEYSVSSQSPYAQWGHKEFNKCPVAILGSREYIFSENIGILGDIAAGKEQTF  
 GTITARALAWIGGKLHYGHPDFLNATFMTRGGVSKAQKGLHLNEDIFAGMTAVSR  
 GGRIKHMEYYQCGKGRDLGFGTILNFQTKIGTGMGEQLLSREYYLGTQLPIDRFLT  
 FYYAHAGFHVNNILVIYSIQVFMVTLTYLGLTLNKQLFICKVNSNGQVLSGQAGCYNLI  
 PVFEWIRRSIISIFLVFFIAFLPLFLQELCERGTGKALLRLGKHFLSLSPIFEVFTQIYS  
 QALLNMSFGGARYIATGRGFATSRIPIFYRSFAPPSIYMGMRNLLLLLYATMAIW  
 IPHLIYFVFSVLSLCIAPFMFNPHQFSYADFIIDYREFLRWMSRGNRSRTKASSWYGY  
 CRLSRTAITGYKKKKLGHPSKLSGDVPRAPWRNVIFSEILWPIGACIIFIVAYMFVKS  
 FPDEQGNAPPSPLVRILLIIVGPTVWNAAVLITLFFLSLFLGPMMDGWVKFGSVMMAA  
 LAHGLALIGMLTFFEFFWFLELWDASHAVLGVIAIIAVQRGIQKILIAVFLTRKQYGRG  
 LGTSAMSQPAREFIVKIVEMSLWTSDFLLAHLIIIILTVPLLLPFFNSIHSTMLFWLRPS  
 KQIRQPLFSTKQKRQRWVIMKYTVVYLVVAVFLVALIALPALFRESIHFNCEICQSI

**SEQ ID NO: 11**

Secuencia génica 1,3-β-D-glucano sintasa II de la cepa Lu15634 de *S. commune*  
 ADN

*S. commune*

CTGTCCAAGGAGGAGATCGAGGACATCTTCCTCGATTTGACGCAGAAGTTTGGC  
 TTTCAGCGGGATTCCATGCGGAATATGgtacgtggcgtgtgcccattgtgcggcgttctgaggcctaa  
 cgttttccgccagTTCGACTTCACCATGCAGCTGCTTGACAGCCGAGCGTCTCGTATG  
 ACCCCAACCAGGCGCTCCTCACCTCCACGCCGACTACATTGGTGGCCAGCA  
 TGCGAACTACCGGAAGTGGTACTTCGCGGGCGCAGCTCGACCTTGACGACGCCG  
 TGGGACAAACTCAGAATCCGGGTCTCAACCGCCTCAAGTCCACTCGCGGATCG  
 GGCAAGCGACCACGCCATGAAAAGTCGCTGAACACGGCATTGGAGCGCTGGC  
 GGCAAGCCATGAACAACATGTGCGAGTATGACCGCTTACGCCAGATCGCGCTC  
 TACCTGCTCTGCTGGGGCGAAGCGGGCGCAAGTGCATTGATGCCCGAGTGCTT  
 GTGCTTCATCTTCAAGTGCGCCGACGACTACTATCGTTGCGCCGAGTGCCAGAA  
 CAGGATGGAGCCGGTACCGGAGGGTCTCTACCTGAGGACGGTCGTAAAGCCG  
 CTCTACAGATTTGTCCGGGATCAAGGCTATGAGGTGGTGGAGGGAAAATTCGTA  
 CGGCGGGAACGGGATCACGACCAAATCATTGGTTACGATGACGTGAATCAGCT  
 GTTCTGGTACCCGGAGGGAATTGCCCGTATCGTCCTGTGCGGACAAGgtaagcacctc  
 tgtgcatctctgtgacatacagggctaattgtcgagcagAGTCGTCTAGTCGACCTCCCCCAGCA  
 CAGCGCTTCATGAAGTTCGACCGTATCGAGTGGAATCGCGTCTTCTTCAAGACG  
 TTTTACGAGACTCGATCCTTCACGCATCTTTTGGTTCGACTTCAACCGTATCTGGG  
 TCGTGCACATCGCTCTACTTCTTCTACACTGCATACTCCCCACGATCTA  
 CGCCATCAACGGCAACACACCCGACGTCTCTGGCTTGGAGCGCGACTGCGCTCG  
 GCGGTGCGGTAGCGACAGGTATCATGATCCTCGCCACGATCGCCGAGTTCTCG  
 CACATCCCCACGACATGGAACAACACCTCGCATCTGACTCGCCGCCTCGCCTTC  
 CTCCTCGTCACGCTCGGCCTCACATGTGGTCCGACGTTCTACGTGCGGATTGCA  
 GAGAGCAACGGGAGCGGGCGGCTCTTTGGCCTTGATTCTCGGTATCGTCCAGTT  
 CTTTCATCTCCGTCGTGGCAACTGCGCTCTTCACTATCATGCCTTCTGGTTCGAT  
 GTTCGGCGACCGTGTGCGCAGGCAAGAGTCGCAAGTATCTCGCCAGCCAGACGT  
 TCACGGCCAGCTACCCGTCGTTGCCCAAGCACCAGCGGTTGCGCTCACTCCTG  
 ATGTGGTTCCTCATCTTCGGGTGCAAGTTGACGGAGAGTTACTTCTTTCTGACG  
 CTGTCTTCCGCGACCCTATCCGCGTCATGGTTCGGCATGAAGATCCAGAACTG  
 CGAGGACAAGATTTTCGGCAGCGGCCTTTGCAGGAATCACGCAGCATTACCCC  
 TCACGATCATGTACATCATGGACCTCGTCTTGTCTTCTCCTCGACACCTTCCTTTG  
 GTATGTCATCTGGAACCTCGGTTTTAGTATCGCACGCTCTTTCGTACTCGGCCTT  
 TCGATCTGGACACCGTGGAGAGACATCTTCCAGCGTCTGCCGAAGCGGATCTA  
 CGCGAAGCTTCTGGCGACTGGCGACATGGAGGTCAAGTACAAGCCCAAGgtatgc  
 gttgagctcgccgtaaatccacttaaggctaacacgttcgcagGTCTTGGTCTCGCAAATCTGGAAC  
 GCCATCATCATCTCCATGTACCGCGAGCACTTGCTCTCTATTGAGCACGTCCAG  
 AAGCTCCTGTACCACCAAGTGGACACTGGCGAAGCCGGCAAGCGGAGTCTTCG  
 CGCGCCTCCGTTCTTCGTGCGCGCAGGGCAGCAGCGGTGGCTCGGGCGAGTTC  
 TTCCCGCCTGGCAGCGAGGCCGAGCGTTCGTATCTCTTTCTTCGCGCAGTTCGCT  
 TTCTACGGAGATTCTCAGCCATCCCGGTTCGACGCCATGCCGACGTTACGG  
 TGCTTACGCCTCACTACAGCGAGAAGgtacatgctcccctgtagccatgatgacatcagctgactgct  
 gtgcacagATCCTTCTCTCTCTCCGTGAAATTATCCGCGAGGAGGACCAGAACACT  
 CGCGTTACGTTGCTCGAGTACCTGAAGCAGCTGCATCCGGTTCGAGTGGGAGAA  
 TTTCGTCAAGGACACTAAAATTTTGGCCGAGGAGTCCGCTATGTTAACGGTCC  
 GAGTCTTTTCGGCAACGACGAGAAGGGTTCAGTCCAAGATGGACGATCTACCGT  
 TCTACTGCATCGGTTTTCAAGAGCGCCGCGCCCGAGTACACCCTCCGCACCCGT

ATCTGGGCGTCCCTGCGCGCGCAGACGCTGTACCGCACGGTCTCCGGCATGAT  
 GAACTATGCGAAGGCGATCAAGCTGCTCTACCGCGTTGAGAACCCGGAGGTCG  
 TACAACAGTTCGGCGGCAACACGGACAAGCTCGAGCGCGAGTTGGAGCGGATG  
 GCGCGACGGAAGTTCAAGTTCTCGTGTCCATGCAGCGCTACTCGAAGTTCAAC  
 AAGGAGGAGCACGAGAACGCCGAGTTCTTGCTCCGCGCGTACCCGGACTTGCA  
 GATCGCGTACCTCGAGGAAGAGCCCCCTCGCAAGGAGGGCGGCGATCCACGC  
 ATCTTCTCTGCCCTCGTGCACGGCCACAGCGACATCATCCCAGAGACCGGCAA  
 GCGGCGCCCAAGTTCCGTATCGAGCTGCCCGGTAACCCCATTTCTCGGTGACG  
 GTAAATCCGACAATCAGAACCACGCTATCGTCTTCTACCGCGGGCAGTACCTCC  
 AGCTTATCGACGCCAACCCAGGACAACCTCGAGGAGTGCTTGAAGATCCGTA  
 ACGTGCTCGCCGAGTTTGAGGAGTACGACGTCTCCAGCCAGAGCCCGTACGCG  
 CAGTGGAGTGTCAAGGAGTTCAAGCGCTCTCCGGTGCATCGTCCGGTGCACG  
 CGAGTACATCTTCTCAGAGCACATCGGTATCCTCGGTGATCTGGCGGCTGGCAA  
 GGAACAGACGTTCCGGTACGCTCACGGCACGCAACAACGCCTTCTTGGCGGCA  
 AGCTGCACTACGGTCAACCCGATTTCTCAACGCCCTCTACATGAACACGCGCG  
 GTGGTGTCTCCAAGGCGCAGAAGGGTCTCCATCTCAACGAGGATATCTACGCC  
 GGTATGAACGCGGTCCGGTCGCGGTGGACGCATTAAGCACAGCGAGTACTATCA  
 GTGCGGCAAGGGTTCGTGACCTCGGTTTCGGCACCATCTTGAACCTCCAGACCA  
 AGATCGGTACGGGTATGGGCGAGCAGATCCTCTCGCGCGAGTACTACTATCTC  
 GGAACACAACCTGCCATCGATCGCTTCTCACGTTCTACTACGCGCACCCGGGT  
 TTCCAGATCAACAACATGCTGGTCATCCTCTCCGTGCAGGTCTTCATCGTTACCA  
 gtacgtcaatgcatattgtagcctgacaacgtctgacgaattccagTGGTCTTCTCGGTACCTTGAA  
 GTCTTCCGGTACGATCTGCAAGTACACGTCCAGCGGTACGTACATCGGTGGTCA  
 ATCCGGTTGCTACAACCTCGTCCCGGTCTTCCAGTGGATCGAGCGCTGCATCAT  
 CAGCATCTTCTTGGTGTTTCATGATCGCTTTCATGCCGCTCTTCTGCAAGGtaaga  
 gctgtcaacctgctcaaggggcttgcgctgatcatcatcagAACTCGTGCAGCGCGGTACCTGGA  
 GTGCCATCTGGCGTCTGCTCAAGCAGTTTATGTGCTGTGCGCTGTCTTCGAGG  
 TGTCTCCACCCAGATTCAGACGCACTCCGTGTTGAGCAACTTGACGTTCCGGTG  
 GTGCGGTTACATCGTACCGGTCTGTTGGGTTCCGCCACCAGTCGTATCAGCTTC  
 AGCATCTTGTCTCGCGTTTCGCAGGCCCGAGTATCTACCTCGGCATGCGCACG  
 CTCATTATGCTGCTCTACGTGACGTTGACGATCTGGACGCCATGGGTCAATTTAC  
 TTCTGGGTTTCCATTCTCTCGCTCTGCATCGCGCCGTTCTTGTTC AACCCGCATC  
 AATTCGTATTCTCGGACTTCTCATCGACTACAGGtacgtcggacgagcgctgtccgcgacgt  
 aagctgaccggtatacagGGAATACCTGCGGTGGATGTGCGGTGGCAACTCGCGCTCG  
 CACAACAACCTCTGGATTGGGTAAGTCCCGGTTGTCCCGCACGATGATCACTGG  
 GTACAAGAAGAAGAAGCTGGGCCACCCGTCCGAGAAGCTTTCCGGCGACGTTCC  
 CTCGTGCAGGCTGGCGCGCCGTCTTGTCTCGGAGATCATCTTCCCGGCGTGC  
 ATGGCCATCCTCTTCATCATCGCGTACATGTTTCGTCAAGTCGTTCCCTCTCGAC  
 GGCAAGCAGCCTCCCTCCGGCCTCGTTCGCATCGCCGTCGTGTCTATCGGCC  
 CATCGTGTGGAACGCCGCCATCCTGTTGACGCTCTTCTTGTGTGCTTGTCTTCT  
 CGGCCCATGCTCGACCCGGTCTTCCCCCTCTTCGGTTCCGTTATGGCCTTCAT  
 CGCGCATTTCCTTGGCACAATCGGAATGATTGGGTTCTTCGAGTTCCTGgtatgtc  
 ccataccttcatcgaactcaactatcaacagattcatagTGGTTCCTCGAGTCTGGGAGGCGTC  
 GCATGCCGTGCTGGGTCTCATCGCCGTCTCCATCCAGCGCGCCATTCACA  
 AGATCCTTATCGCCGTTTTCTCAGTTCGCGAGTTCAAGCACGACGAGACGAACA  
 GGGCCTGGTGGACTGGTTCGCTGGTATGGCCGTGGCCTCGGCACGCACGCCAT  
 GTCGCAGCCGGCGCGTGAGTTCGTGTCGTAAGATCATCGAGTTGTGCTTTGGA  
 GCTCGGATCTCATACTCGGCCACATCCTGCTGTTTCATGCTTACTCCGGCCGTCC  
 TCATCCCGTACTTCGACCGTTTGCACGCCATGATGCTCTgtacgtcgtgtctcattgtctgtt  
 ggtcatactcttaccctctcttagTCTGGCTGCGTCCCTCGAAGCAAATCCGCGCGCCTCTG

TACTCGATCAAGCAGAAGAGGGCAAAGACGCTGGATTgtcagtggtcagtccttattctatcag  
 ctcttactaacgtcttcatagATCATGAAGTACGGTACTGTATACGTTACCGTCATCGCGAT  
 CTTCGTCGCGCTCATCGCGCTTCgtgagtttccttgctatttttcgtacctgagcgtcgctgaccctttccc  
 agCCCTCGTATTCCGACACACTCTAAAGGTCGAGTGCTCCCTTTGCGACAGCTT  
 GTAATATCGGACTCGTATATATCTAGACTTCTCCGCACCATGTGTAGCTGACGCT  
 TGGGTATACTTCGCGGTGCCGAGCTAATTGTGCGACGGACATTCTCCATCGTTGA  
 GTGCAGCGACGTCGGGTGGTTTACGACACGGACACTTTTCATTGTACCCTCTAC  
 GAATGCAAGAACTCTCTTACGACCAGTACCTATGTGCTAAGCCGTCGCCTGTTT  
 AGGATCATAACATACGTTTCTAGATACCTTACAGTTAGGCCTATTTCAGGGAG  
 AGTCTGCATAAAA

**SEQ ID NO: 12**

traducción de la SEQ ID NO: 15  
 aminoácido  
*S. commune*

5

MPRPGGTSAEGGYASSPSMETTPSPDFGTANGAPRRYYDNDSEEYGPGRRDYTA  
 SDSSNQGLTDPGYDQNGAYDPYPTGDTSDGDVYGQRYGPSAESLGTHKFGHS  
 DSSTPTFVDYSASSGGRDSYPAWTAERNIPLSKEEIEDIFLDLTQKFGFQRDSMRN  
 MFDFTMQLLDSRASRMTPNQALLTLHADYIGGQHANYRKWYFAAQLDLD DAVGQT  
 QNPGLNRLKSTRGSGKRPRHEKSLNTERWRQAMNMSQYDRLRQIALYLLCW  
 GEAAQVRFMPECLCFIFKCADDYYRSPECQNRMEPVPEGLYLRTVVKPLYRFVVD  
 QGYEVVEGKFVRRERDHDQIIGYDDVNQLFWYPEGIARIVLSDKSRLVDLPPAQR  
 MKFDRIEWNRVFFKTFYETRSTHLLVDFNRIWVHIALYFFYTAYNSPTIYAINGNT  
 PTSLAWSATALGGAVATGIMILATIAEFSHIPTTWNNTSHLTRRLAFLVTLGLTCGPT  
 FYVAIAESNGSGGSLALILGIVQFFISVVATALFTIMPGRMFGDRVAGKSRKYLASQ  
 TFTASYPSPKHKRFASLLMWFLIFGCKLTESYFFLTL SFRDPIRVMVGMKIQNCED  
 KIFGSGLCRNHAAFTLTIMYIMDLVLFLLDTFLWYVIWNSVFSIARSFVLGLSIWTPWR  
 DIFQRLPKRIYAKLLATGDMEVKYKPKVLVSQIWNAAIIISMYREHLLSIEHVQKLLYHQ  
 VDTGEAGKRSLRAPFFVAQGSSGGSGEFFPPGSEAERRISFFAQSLSTEIPQPIPV  
 DAMPTFTVLTPHYSEKILLSLREIIEEDQNTRVTLLEYLQKQHPVEWENFVKDTKILA  
 EESAMFNQSPSPFGNDEKGGQSKMDDLPHYCIGFKSAPEYTLRTRIWA SLRAQTLYR  
 TVSGMMNYAKAIKLLYRVENPEVVQQFGGNTDKLERELERMARRKFKFLVSMQRY  
 SKFNKEEHENAEFLLRAYPDLQIAYLEEEPPRKEGGDPRIFSALVDGHSIIIPETGKR  
 RPKFRIELPGNPILGDGKSDNQNHAI VFYRGEYLQLIDANQDNYLEECLKIRNVLAEF  
 EEYDVSSQSPYAQWSVKEFKRSPVAIVGAREYIFSEHIGILGDLAAGKEQTFGTLTA  
 RNN AFLGGKLHYGHPDFLNALYMNTRGGVSKAQKGLHLNEDIYAGMNAVGRGGRI  
 KHSEYYQCGKGRDLGFGTILNFQTKIGTGMGEQILSREYYLGTQLPIDRFLTFYYA  
 HPGFQINMLVILSVQVFIVTMVFLGTLKSSVTICKYTSSGQYIGGQSGCYNLVPVFQ  
 WIERCIIISIFLVFMIAFMPLFLQELVERGTWSAIWRLLKQFM SLSPVFEVFSTQIQTHS  
 VLSNLTFGGARYIATGRGFATSRI SFILSRFAGPSIYLGMR TLMIMLLYVTLTIWTPW  
 VIYFWVSILSLCIAPFLFNPHQFVFSDFLIDYREYLRWMSRGNRSRSHNNSWIGYCR  
 SRTMITGYKKKKLGHPSKLSGDVPRAGWRVAVLFSEIIFPACMAILFIIAYMFVKSFPL  
 DGKQPPSGLVRIAVVSIGPIVWNAAILLTLFLVSLFLGPM LDPVFPFLFGSVMAFIAHFL  
 GTIGMIGFFEFLWFLESWEASHAVLGLIAVISIQRAIHKILIAVFLSREFKHDETNRAW  
 WTGRWYGRGLGTHAMSQPAREFVVKIIELSLWSSDLILGHILLFMLTPAVLIPYFDRL  
 HAMMLFWLRPSKQIRAPLYSIKQKRQRWIIIMKYGT VYVTVIAIFVALIALPLVFRHTL  
 KVECSL CDSL

**SEQ ID NO: 13**

ADNc 1,3-β-D-glucano sintasa I de la cepa Lu15634 de *S. commune*  
 ADN  
*S. commune*

10

ATGTCCGGTCCAGGATATGGCAGGAATCCATTGACAATCCCCGCCCCAACAG  
 AGGTCCCTATGGCCAGCAGCCAGGTTTCCCGGGGCCCGGCCCTCGGCCTTAC  
 GACTCGGACGCGGACATGAGCCAGACCTATGGCAGCACAAACCAGGCTCGCCG  
 GCAGTGCCGGTTACAGCGACAGAAACGGCAGCTTCGACGGCGACCGCTCCTAC  
 GCGCCCTCAATTGACTCGCGCGCCAGCGTGCCCAGCATATCGCCCTTCGCAGA  
 CCCGGGTATCGGCTCTAATGAGCCGTATCCCGCTTGGTCGGTTCGAACGCCAGA  
 TCCCCATGTCCACGGAGGAGATTGAGGATATCTTCCTCGACCTCACCCAAAAGT  
 TTGGCTTCCAGCGCGACTCCATGCGGAATACGTTGACTTCATGATGCACCTCC  
 TTGATTCCCGTGCCCTCGCGCATGACGCCCAACCAAGCTCTGCTCACGCTTCACG  
 CCGACTACATTGGTGGCCAGCACGCCAACTATAGGAAGTGGTATTTCCGCCGCTC  
 AGCTCAACCTCGATGACGCGGTTCGGGCAAACCAATAACCCCGGTATCCAGCGC  
 TTGAAGACCATCAAGGGCGCTACGAAGACCAAGTCGCTCGACAGCGCACTCAA  
 CCGCTGGCGCAATGCGATGAACAACATGAGCCAGTACGATCGCCTCCGGCAA  
 TTGCGCTCTATCTCCTCTGCTGGGGAGAAGCAGGCAACATCCGTCTGGCGCCC  
 GAGTGCTTGTGCTTCATCTTCAAGTGCGCGGACGACTACTACAGAAGTCCCGAG  
 TGTCAGAACCGGATGGACCCCGTGCCGGAAGGGCTGTACCTCCAGACGGTCAT  
 CAAGCCGCTCTATCGCTTCTACGTGATCAGGCGTACGAAGTCGTTGATGGGAA  
 GCAAGTGAAGCGCGAGAAGGACCACGACCAGATTATCGGTTATGACGACGTCA  
 ACCAGTTATTCTGGTATCCGGAAGGTTTGGCTAAGATCGTCATGTCGGACAACA  
 CACGACTTGTAGATGTACCTCCGGCGCAGCGGTTTCATGAAGTTCGCCAAGATC  
 GAGTGGAACCGCGTCTTCTTCAAGACGTACTIONTGGAGAAGCGCTCTACTGCCAT  
 CTCCTGGTCAACTTCAACCGTATATGGATCCTCCACGTCTCGATGTACTTCTTCT  
 ACACGGCATTCAACTCTCCACGAGTCTACGCGCCCGCACGGCAAACCTCGACCCC  
 TCCCCTGAGATGACCTGGTCCGCGACTGCCCTTGGAGGGCGCTGTGTCCACCAT  
 GATCATGATCCTTGCCACTATCGCGGAGTACACCTACATCCCACGACATGGAA  
 CAATGCGTTCGCACCTCACCACGCGGCTCATTTCCTCCTGGTCATCCTCGCGCT  
 CACTGCTGGACCAACATTCTATATCGCCATGATAGACGGACGCACGGACATCGG  
 CCAAGTACCACTCATCGTGGCCATAGTGCAGTTCTTCATCTCCGTCGTGCCAC  
 CCTCGCTTTCGCTACCATCCCTTCTGGTCGCATGTTCCGGCGACCGTGTGGCTG  
 GCAAGTCAAGAAAGCACATGGCATCGCAGACGTTACACAGCGTCGTACCCGTCC  
 ATGAAGCGGTCATCTCGCGTAGCGAGTATCATGCTGTGGCTTTTGGTCTTTGGC  
 TGCAAATACGTGAGTCTTACTTCTTCTTGACGTCTCTCTTCTCCAGCCCGATCG  
 CGGTCATGGCGCGTACGAAGGTACAGGGCTGCAACGACCGTATCTTCGGCAGC  
 CAGCTGTGCACGAATCAGGTCCCGTTCGCGCTGGCAATCATGTACGTGATGGA  
 CCTGGTACTGTTCTTCTGACACGTACCTGTGGTACATCATCTGGCTGGTGAT  
 CTTCTCGATGGTGCGCGGTTCAAGCTTGGTATCTCGATCTGGACGCCCTGGA  
 GCGAGATCTTCAACCCGCATGCCGAAGCGTATCTACGCGAAGCTGCTGGCGACG  
 GCCGAGATGGAGGTCAAGTATAAGCCCAAGGTGCTCGTCTCGCAAATCTGGAA  
 CGCGGTCATCATCTCCATGTACCGGGAGCATCTCTTGTCCATCGAGCACGTCCA  
 GCGCCTGCTATAACCACAGGTTGATGGTCCAGACGGTCGCCGCACCCTCAGGG  
 CACCGCGTCTTCAACCAGCCAGCGAACTGCGAAGCCAGGCCTGTTCTTCCCT  
 CCTGGTGGCGAGGCTGAGCGCCGTATCTCGTTCTTTGCCTCATCGCTGACGAC  
 CGCGCTCCCTGAGCCTCTGCCGATCGACGCCATGCCACCTTACCCGTGCTCG  
 TTCCCATTACTCGGAGAAGATTCTGCTCAGTCTGCGCGAGATTATTCGCGAGG  
 AGGACCAGAACACCCGCGTCACCTTGTGGAGTACCTCAAGCAGCTCCACCCT  
 GTCGAATGGGACAACCTTCGTCAAGGACACCAAGATCTTGGCGGAAGAGTCGGG

CGACGTCCAGGACGAGAAGCGCGCGCGCACGGACGACTTGCCGTTCTACTGC  
 ATCGGGTTCAAGACCTCGTCACCAGAGTACACCCTGCGTACGCGTATCTGGGC  
 TTCACTGCGCGCACAGACGCTGTACCGCACGGTCTCCGGTATGATGAACTACTC  
 CAAGGCGATCAAGCTCCTCTATCGCGTCGAGAACCCGGATGTCGTTTCATGCCTT  
 CGGTGGGAACACGGAACGTCTTGAACGCGAGCTTGAGCGCATGTCTCGCCGCA  
 AGTTCAAGTTCGTTCATCTCGATGCAGCGGTACTCTAAGTTCAACAAGGAGGAGC  
 AAGAGAACGCCGAATTCCTTCTGCGCGCGTACCCGGATTTGCAGATCGCGTAC  
 CTCGATGAAGAGCCCCGGTCCCAGCAAGAGCGACGAGGTTCCGGTTGTTTTCGAC  
 ACTCATCGATGGACACTCCGAGGTGGATGAGAAGACCCGGCCCGCCGCAAGCCCA  
 AGTTCCGCATTGAGCTGCCCGGTAACCCCATCCTCGGTGACGGGAAGTCGGAT  
 AACCAGAACCACGCCATTGTCTTCTACCGCGGCGAGTACATCCAGGTCATCGAC  
 GCTAACCCAGGACAATTACCTGGAAGAGTGTCTCAAGATCCGTAACGTCCTGGGC  
 GAGTTTGAGGAATACTCCGTGTCGAGCCAGAGCCCGTACGCACAGTGGGGCCA  
 CAAGGAGTTCAACAAGTGCCCCGTGCTATCCTGGGTTCTCGCGAGTACATCTT  
 CTCGGAGAACATCGGTATCCTCGGTGACATCGCCGCCGGCAAGGAACAGACGT  
 TCGGTACCATTACGGCGCGTGCCTTGGTGGATCGGCGGCAAGCTGCATTAC  
 GGTACCCCGGATTTCTCAATGCGACGTTTCATGACGACGCGTGGTGGCGTGTG  
 AAAAGCGCAGAAGGGCTTGCATCTCAACGAGGATATCTTCGCTGGTATGACCGC  
 CGTGTCCCGCGGAGGGCGCATCAAGCACATGGAGTACTACCAGTGCGGCAAAG  
 GTCGTGATCTCGGTTTCGGCACGATCTTGAACCTCCAGACGAAGATCGGTACTG  
 GTATGGGCGAGCAGCTCCTCTCGCGCGAGTACTACTACCTGGGCACGCAATTG  
 CCTATCGACCGGTTCTTGACGTTCTACTACGCGCACGCTGGTTTCCACGTCAAC  
 AACATCCTGGTCATCTACTCCATCCAGGTCTTCATGGTCACCTTGCTGTACCTG  
 GGCACATTGAACAAGCAGCTGTTTCATCTGCAAGGTCAACTCCAATGGCCAGGTT  
 CTTAGTGGACAAGCTGGGTGCTACAACCTCATCCCGGTCTTCGAGTGGATTTCG  
 CGGAGTATCATCTCCATCTTCTTGGTGTTCATCGCCTTCTTGCCCTATTCTT  
 GCAAGAGCTGTGCGAGCGCGGAACGGGAAAGGCGTTGCTGCGTCTCGGGAAG  
 CACTTCTTGTCACTGTCGCCCATTTTCGAAGTGTTCCTCACCCAGATTTACTCGC  
 AGGCGCTCTTGAACAACATGAGCTTCGGTGGTGCGCGCTACATCGCCACAGGT  
 CGTGGTTTCGCGACTAGTCGCATACCCTTCAACATCCTCTACTCGCGTTTCGCG  
 CCGCCAAGCATCTACATGGGCATGCGTAACCTGCTGCTCCTGCTGTACGCGAC  
 GATGGCCATTTGGATCCCGCACCTGATCTACTTCTGGTTCTCCGTCTCTCCCT  
 CTGCATCGCGCCATTCATGTTCAATCCGCATCAATTCTCGTACGCCGACTTCATC  
 ATCGACTACCGGGAGTTCTTGCCTGGATGTCGCGCGGTAACCTCGCGAACGAA  
 GCGGAGCAGCTGGTACGGATACTGCCGTCTGTGCGGTACCGCGATTACTGGGT  
 ACAAGAAGAAGAAGCTGGGACACCCGTCCGAGAAGCTGTGCGGGCGACGTACC  
 GCGTGCGCCGTGGAGGAACGTTATCTTCTCGGAGATCCTGTGGCCCATCGGCG  
 CGTGCATCATCTTCATCGTCGCGTACATGTTTCGTCAAGTCGTTCCCCGACGAGC  
 AGGGCAACGCGCCGCCGAGCCCGCTGGTCCGGATTCTGCTCATCGCGGTTGG  
 CCCTACTGTGTGGAACGCGGGCGGTGCTCATAACGCTGTTCTTCTGTCGCTCTT  
 CCTGGGCCCGATGATGGATGGCTGGGTCAAGTTCGGCTCGGTCATGGCGGCC  
 CTTGCGCATGGCCTGGCGCTTATAGGCATGCTCACGTTCTTTGAGTTCTTCTGG  
 TTCCTTGAGCTCTGGGATGCCTCGCACGCCGTGCTCGGCGTCATCGCTATCATT  
 GCCGTTTCAGCGCGGGATCCAGAAGATCCTCATTGCCGTCTTCTGACGCGTGA  
 GTACAAGCACGACGAGACGAACCGCGCGTGGTGGACAGGTAATGGTATGGAC  
 GCGGGCTGGGTACCTCGGCCATGTCCAGCCGGCGCGCGAGTTCATCGTGAA  
 GATCGTGGAGATGTCGTTGTGGACGTCGGACTTCTGCTTGCAGCACCTGTTGCT  
 CATCATCTTGACGGTGCCGCTACTGCTGCCGTTCTTCAACTCAATTCATTGAC  
 GATGCTTTTCTGGTTGCGCCCTTCGAAGCAGATTAGGCAACCTCTGTTCTCCAC  
 CAAGCAGAAGCGGCAACGGCGATGGATTGTCATGAAGTATACCGTGGTATATCT

CGTGGTGGTGGCTTTCCTCGTCGCGCTCATCGCTCTGCCCGCCCTCTTCCGCG  
AGAGCATCCACTTCAACTGCGAGATCTGCCAGAGTATATAG

**SEQ ID NO: 14**

Secuencia de polipéptido 1,3-β-D-glucano sintasa I de la cepa Lu15634 de *S. commune*  
aminoácido  
*S. commune*

5

MSGPGYGRNPFDPNPPNRGPYGGQPGFPGPGPRPYDSDADMSQTYGSTTRLAG  
SAGYSDRNGSFDGDRSYAPSIDSRASVPSISPFADPGIGSNEPYPAWSVERQIPMS  
TEEIEDIFDLTQKFGFQRDSMRNTDFMMHLLDSRASRMTPNQALLTLHADIYGGG  
HANYRKWYFAAQLNLDDAVGQTNPNPGIQLRKTIKGATKTKSLDSALNRWRNAMNN  
MSQYDRLRQIALYLLCWGEAGNIRLAPECLCFIFKCADDYYRSPECQNRMDPVPEG  
LYLQTVIKPLYRFLRDQAYEVVDGKQVKREKDHQIIGYDDVNQLFWYPEGLAKIVM  
SDNTRLVDVPPAQRFMKFAKIEWNRVFFKTYFEKRSTAHLLVNFNRIWILHVS MYFF  
YAFNSPRVYAPHGKLDPSPEMTWSATALGGAVSTMIMILATIAEYTYIPTTWNNAS  
HLTTRLIFLLVILALTAGPTFYIAMIDGRTDIGQVPLIVAIVQFFISVATLAFATIPSGRM  
FGDRVAGKSRKHMASQTFTASYPMSMKRSSRVASIMLWLLVFGCKYVESYFFLTSSF  
SSPIAVMARTKVQGCNDRIFGSQLCTNQVPFALAIMYVMDLVLFFLDTYLWYIWLVI  
FSMVRFAKLGISIWTPWSEIFTRMPKRIYAKLLATAEMEVKYKPKVLVSQIWNVAIISM  
YREHLLSIEHVQRLLYHQVDGPDGRRTL RAPPFFTSQRTAKPGLFFPPGGEAERRIS  
FFASLTALPEPLPIDAMPTFTVLVPHYSEKILLSLREI REEDQNTRVTLLEYLQKQH  
PVEWDNFVKDTKILAEESGDVQDEKRARTDDLPHYCIGFKTSSPEYTLRTRI WASLR  
AQTYRTVSGMMNYSKAIKLLYRVENPDVVHAFGGNTERLERELERMSRRKFKFVI  
SMQRYSKFNKEEQENAEFLRAYPDLQIAYLDEEPGPKSDEVRLFSTLIDGHSEVD  
EKTGRRKPKFRIELPGNPILGDGKSDNQNHAI VFYRGEYIQVIDANQDNYLEECLKIR  
NVLGEFEEYSVSSQSPYAQWGHKEFNKCPVAILGSREYIFSENIGILGDIAAGKEQTF  
GTITARALAWIGGKLHYGHPDFLNATFMTTRGGVSKAQKGLHLNEDIFAGMTAVSR  
GGRIKHMEYYQCGKGRDLGFGTILNFQTKIGTGMGEQLLSREYYYLGTQLPIDRFLT  
FYAHAGFHVNNILVIYSIQVFMVTLTYLGLTLNKQLFICKVNSNGQVLSGQAGCYNLI  
PVFEWIRRSIISIFLVFFIAFLPLFLQELCERGTGKALLRLGKHFLSLSPIFEVFSTQIYS  
QALLNMSFGGARYIATGRGFATSRI PFNILYSRFAPPSIYMGMRNLLLLLYATMAIW  
IPHLIYFWFSVLSLCIAPFMFNPHQFSYADFIIDYREFLRWMSRGN SRTKASSWYGY  
CRLSRTAITGYKKKKLGHPSKLSGDVPRAPWRNVIFSEILWPIGACIIFIVAYMFVKS  
FPDEQGNAPPSPLVRILLI AVGPTVWNAAVLITLFFLSLFLGPMMDGWVKFGSVMMA  
LAHGLALIGMLTFFEFFWFLELWDASHAVLGVI AIIAVQRGIQKILIAVFLTREYKHDET  
NRAWWTGKWYGRGLGTSAMSQPAREFIVKIVEMSLWTSDFLLAHL LLIILTVPLLLP  
FFNSIHSTMLFWLRPSKQIRQPLFSTKQKRQR RWIVMKYTVVYLVVAVFLVALIALPA  
LFRESIHFNCEICQSI

**SEQ ID NO: 15**

ADNc 1,3-β-D-glucano sintasa II de la cepa Lu15634 de *S. commune*  
ADN  
*S. commune*

10

ATGCCGAGGCCGGGCGGCACCAGCGCAGAAGGCGGCTACGCATCATCGCCGT  
CGATGGAGACGACCCCCAGCGATCCCTTCGGAACCGCGAACGGCGCGCCCCG  
CCGCTACTACGACAATGATTCTGAGGAGTACGGACCTGGCCGTAGAGACACCT  
ACGCGTCCGACAGCAGTAATCAGGGCCTCACGGACCCGGGCTACTACGACCAG  
AATGGCGCCTATGATCCCTATCCGACCGGGGACACCGATTCCGACGGCGACGT

CTACGGCCAGCGATATGGACCCTCAGCAGAGTCGCTTGGCACCCACAAGTTCCG  
 GCCATTCCGATTTCATCCACGCCGACTTTTGTGACTACAGCGCATCCTCCGGCG  
 GGAGGGATTTCGTACCCTGCATGGACTGCCGAACGCAACATCCCGCTGTCCAAG  
 GAGGAGATCGAGGACATCTTCTCGATTTGACGCAGAAGTTTGGCTTTACGCGG  
 GATTCCATGCGGAATATGTTTCGACTTCACCATGCAGCTGCTTGACAGCCGAGCG  
 TCTCGTATGACCCCAACCAGGCGCTCCTCACCTCCACGCCGACTACATTGGT  
 GGCCAGCATGCGAACTACCGGAAGTGGTACTTCGCGGCCGACGCTCGACCTTGA  
 CGACGCCGTGGGACAACTCAGAATCCGGGTCTCAACCGCCTCAAGTCCACTC  
 GCGGATCGGGCAAGCGACCACGCCATGAAAAGTCGCTGAACACGGCATTGGAG  
 CGCTGGCGGCAAGCCATGAACAACATGTGCGAGTATGACCGCTTACGCCAGAT  
 CGCGCTCTACCTGCTCTGCTGGGGCGAAGCGGCGCAAGTGCATTTCATGCCCG  
 AGTGCTTGTGCTTCATCTTCAAGTGCGCCGACGACTACTATCGTTCGCCGGAGT  
 GCCAGAACAGGATGGAGCCGGTACCGGAGGGTCTCTACCTGAGGACGGTCGT  
 AAAGCCGCTCTACAGATTTGTCCGGGATCAAGGCTATGAGGTGGTGGAGGGAA  
 AATTCGTACGGCGGGAAACGGGATCACGACCAAATCATTGGTTACGATGACGTGA  
 ATCAGCTGTTCTGGTACCCGGAGGGAATTGCCCGTATCGTCTGTCCGACAAG  
 AGTCGTCTAGTCGACCTCCCCCAGCACAGCGCTTCATGAAGTTCGACCGTATC  
 GAGTGGAAATCGCGTCTTCTTCAAGACGTTTTACGAGACTCGATCCTTACGCAT  
 CTTTTGGTCGACTTCAACCGTATCTGGGTGCTGCACATCGCTCTACTTCTTCT  
 AACTGCATACAACTCCCCACGATCTACGCCATCAACGGCAACACACCCGACGT  
 CTCTGGCTTGGAGCGCGACTGCGCTCGGCGGTGCGGTAGCGACAGGTATCAT  
 GATCCTCGCCACGATCGCCGAGTTCTCGCACATCCCCACGACATGGAACAACA  
 CCTCGCATCTGACTCGCCGCCTCGCCTTCTCCTCGTACGCTCGGCCTCACAT  
 GTGGTCCGACGTTCTACGTGCGGATTGCAGAGAGCAACGGGAGCGGCGGCTCT  
 TTGGCCTTGATTCTCGGTATCGTCCAGTTCTTCATCTCCGTGCTGGCAACTGCG  
 CTCTTCACTATCATGCCTTCTGGTCGTATGTTCCGGCACCCTGTCGCAGGCAAG  
 AGTCGCAAGTATCTCGCCAGCCAGACGTTACCGGCCAGCTACCCGTGCTTGCC  
 CAAGCACCAGCGGTTTCGCCTCACTCCTGATGTGGTTCTCATCTTCCGGGTGCA  
 GTTGACGGAGAGTTACTTCTTCTGACGCTGTCCTTCCGCGACCCTATCCGCGT  
 CATGGTCCGCATGAAGATCCAGAAGTGCAGGACAAGATTTTCGGCAGCGGCC  
 TTTGCAGGAATCACGCAGCATTACCCTCACGATCATGTACATCATGGACCTCG  
 TCTTGTTCTTCTCGACACCTTCTTGGTATGTCATCTGGAACCTCGGTTTTAG  
 TATCGCACGCTCTTTCGTA CTGCGCCTTTCGATCTGGACACCGTGGAGAGACAT  
 CTTCCAGCGTCTGCCGAAGCGGATCTACGCGAAGCTTCTGGCGACTGGCGACA  
 TGGAGGTCAAGTACAAGCCCAAGGTCTTGGTCTCGCAAATCTGGAACGCCATCA  
 TCATCTCCATGTACCGCGAGCACTTGCTCTCTATTGAGCACGTCCAGAAGCTCC  
 TGTACCACCAAGTGGACACTGGCGAAGCCGGCAAGCGGAGTCTTCGCGCGCCT  
 CCGTTCCTCGTCGCGCAGGGCAGCAGCGGTGGCTCGGGCGAGTTCTTCCCGC  
 CTGGCAGCGAGGCCGAGCGTCGTATCTCTTCTTTCGCGCAGTCGCTTTCTACG  
 GAGATTCCTCAGCCCATCCCGGTCGACGCCATGCCGACGTTACGGTGCTTAC  
 GCCTCACTACAGCGAGAAGATCCTTCTCTCTCTCCGTGAAATTATCCGCGAGGA  
 GGACCAGAACTCGCGTTACGTTGCTCGAGTACCTGAAGCAGCTGCATCCGG  
 TCGAGTGGGAGAATTTTCGTCAAGGACACTAAAATTTTGGCCGAGGAGTCCGCTA  
 TGTTTAACGGTCCGAGTCTTTCGGCAACGACGAGAAGGGTCAGTCCAAGATG  
 GACGATCTACCGTTCTACTGCATCGGTTTCAAGAGCGCCGCGCCCGAGTACAC  
 CCTCCGCACCCGTATCTGGGCGTCCCTGCGCGCGCAGACGCTGTACCGCACG  
 GTCTCCGGCATGATGAACTATGCCAAGGCGATCAAGCTGCTCTACCGCGTTGA  
 GAACCCGGAGGTCGTACAACAGTTCGGCGGGCAACACGGACAAGCTCGAGCGC  
 GAGTTGGAGCGGATGGCGCGACGGAAGTTCAAGTTCCTCGTGTCCATGCAGCG  
 CTA CT CGAAGTTCAACAAGGAGGAGCACGAGAACGCCGAGTTCTTGCTCCGCG

CGTACCCGGACTTGCAGATCGCGTACCTCGAGGAAGAGCCCCCTCGCAAGGAG  
 GGCGGCGATCCACGCATCTTCTCTGCCCTCGTCGACGGCCACAGCGACATCAT  
 CCCGGAGACCGGCAAGCGGCGCCCCAAGTTCCGTATCGAGCTGCCCGGTAAC  
 CCCATTCTCGGTGACGGTAAATCCGACAATCAGAACCACGCTATCGTCTTCTAC  
 CGCGGCGAGTACCTCCAGCTTATCGACGCCAACCAGGACAACCTACCTCGAGGA  
 GTGCTTGAAGATCCGTAACGTGCTCGCCGAGTTTGAGGAGTACGACGTCTCCA  
 GCCAGAGCCCGTACGCGCAGTGGAGTGTCAAGGAGTTCAAGCGCTCTCCGGTC  
 GCCATCGTCGGTGCACGCGAGTACATCTTCTCAGAGCACATCGGTATCCTCGGT  
 GATCTGGCGGCTGGCAAGGAACAGACGTTCCGGTACGCTCACGGCACGCAACAA  
 CGCCTTCTTGGCGGCAAGCTGCACTACGGTCACCCCGATTTCCTCAACGCC  
 TCTACATGAACACGCGCGGTGGTGTCTCCAAGGCGCAGAAGGGTCTCCATCTC  
 AACGAGGATATCTACGCCGGTATGAACGCGGTCGGTCGCGGTGGACGCATTAA  
 GCACAGCGAGTACTATCAGTGCGGCAAGGGTCGTGACCTCGGTTTCGGCACCA  
 TCTTGAACCTCCAGACCAAGATCGGTACGGGTATGGGCGAGCAGATCCTCTCG  
 CGCGAGTACTACTATCTCGGAACACAACCTGCCATCGATCGCTTCTCACGTTT  
 TACTACGCGCACCCGGGTTTCCAGATCAACAACATGCTGGTCATCCTCTCCGTG  
 CAGGTCTTCATCGTTACCATGGTCTTCTCGGTACCTTGAAGTCTTCGGTCACG  
 ATCTGCAAGTACACGTCCAGCGGTGAGTACATCGGTGGTCAATCCGGTTGCTAC  
 AACCTCGTCCCGGTCTTCCAGTGGATCGAGCGCTGCATCATCAGCATCTTCTTG  
 GTGTTTATGATCGCTTTCATGCCGCTTCTCCTGCAAGAACTCGTCGAGCGCGGT  
 ACCTGGAGTGCCATCTGGCGTCTGCTCAAGCAGTTTATGTGCTGTGCGCCTGTC  
 TTCGAGGTGTTCTCCACCCAGATTCAGACGCACTCCGTGTTGAGCAACTTGACG  
 TTCGGTGGTGCAGGTTACATCGCTACCGGTGCTGGGTTCCGCCACCATCGTAT  
 CAGCTTCAGCATCTTGTCTCGCGTTTCGCAGGCCCGAGTATCTACCTCGGCAT  
 GCGCACGCTCATTATGCTGCTCTACGTGACGTTGACGATCTGGACGCCATGGG  
 TCATTTACTTCTGGGTTTCCATTCTCTCGCTCTGCATCGCGCCGTTCTTGTCAA  
 CCCGCATCAATTCGTATTCTCGGACTTCTCATCGACTACAGGGAATACCTGCG  
 GTGGATGTGCGGTGGCAACTCGCGCTCGCACAACTCCTGGATTGGGTACT  
 GCCGGTTGTCCCGCACGATGATCACTGGGTACAAGAAGAAGAAGCTGGGCCAC  
 CCGTCCGAGAAGCTTCCGGCGACGTTCCCTCGTGCAGGCTGGCGCGCCGTCTT  
 GTTCTCGGAGATCATCTTCCCGCGTGCATGGCCATCCTCTTCATCATCGCGTA  
 CATGTTTCGTCAAGTCGTTCCCTCTCGACGGCAAGCAGCCTCCCTCCGGCCTCG  
 TTCGCATCGCCGTCGTGTCTATCGGCCCATCGTGTGGAACGCCGCCATCCTG  
 TTGACGCTCTTCTTGTGTCGTTGTTCTCGGCCCATGCTCGACCCGGTCTTC  
 CCCCTCTTCGGTTCGGTTATGGCCTTCATCGCGCATTTCCTTGGCACAATCGGA  
 ATGATTGGGTTCTTCGAGTTCCTGTGGTTCCTCGAGTCTGGGAGGCGTCGCAT  
 GCCGTGCTGGGTCTCATCGCCGTCATCTCCATCCAGCGCGCCATTCAACAGAT  
 CCTTATCGCCGTTTTCTCAGTCGCGAGTTCAAGCACGACGAGACGAACAGGG  
 CCTGGTGGACTGGTCGCTGGTATGGCCGTGGCCTCGGCACGCACGCCATGTC  
 GCAGCCGGCGCGTGAGTTCGTGTCGTCAGATCATCGAGTTGTCGCTTTGGAGCT  
 CGGATCTCATACTCGGCCACATCCTGCTGTTTACTGCTTACTCCGGCCGTCTCA  
 TCCCGTACTTCGACCGTTTGCACGCCATGATGCTCTTCTGGCTGCGTCCCTCGA  
 AGCAAATCCGCGCGCCTCTGTAATCGATCAAGCAGAAGAGGCAAAGACGCTGG  
 ATTATCATGAAGTACGGTACTGTATACGTTACCGTCATCGCGATCTTCGTGCGG  
 CTCATCGCGCTTCCCTCGTATTCCGACACACTCTAAAGGTCGAGTGTCCCTT  
 TGCGACAGCTTGTA

**SEQ ID NO: 16**

Secuencia de polipéptido 1,3-β-D-glucano sintasa II de la cepa Lu15634 de *S. commune*  
 aminoácido  
*S. commune*

MPRPGGTS AEGGYASSPSMETTPSDPFGTANGAPRRYYDNDSEYGPGRRD TYA  
SDSSNQGLTDPGYDQNGAYDPYPTGDTSDGDVYGQRYGPSAESLGTKHFGHS  
DSSTPTFVDYSASSGGRDYPAWTAERNIPLSKEEIEDIFDLTQKFGFQRDSMRN  
MFDFTMQLLDSRASRMTPNQALLTLHADYIGGQHANYRKWYFAAQLDLD DAVGQT  
QNPGLNRLKSTRGSGKRPRHEKSLNTALERWRQAMNNMSQYDRLRQIALYLLCW  
GEAAQVRFMPECLCFIFKCADDYYRSPECQNRMEPVPEGLYLRTVVKPLYRFVRD  
QGYEVVEGKFVRRERDHDQIIGYDDVNQLFWYPEGIARIVLSDKSRLVDLPPAQR  
MKFDRIEWNRVFFKTFYETRSFTHLLVDFNRIWVWHIALYFFYTAYNSPTIYAINGNT  
PTSLAWSATALGGAVATGIMILATIAEFSHIPTTWNNTSHLTRRLAFLLVTLGLTCGPT  
FYVAIAESNGSGGSLALILGIVQFFISVATALFTIMPSSGRMFGDRVAGKSRKYLASQ  
TFTASYPSLPKHQRFA SLLMWFLIFGCKLTESYFFLTLSFRDPIRVMVGMKIQNCED  
KIFGSLCRNHAAFTLTIMYIMDLVLFLLDTFLWYVIWNSVFSIARSFVLGLSIWTPWR  
DIFQRLPKRIYAKLLATGDMEVKYKPKVLVSQIWNAAIIISMYREHLLSIEHVQKLLYHQ  
VDTGEAGKRSLRAPPFFVAQGS SGGSGEFFPPGSEAERRISFFAQSLSTEIPQPIPV  
DAMPTFTVLT PHYSEKILLSLREIIREEDQNTRVTLLEYLKQLHPVEWENFVKDTKILA  
EESAMFNGPS PFGNDEKQSKMDDLPHYCIGFKSAAPEYTLRTRIWASLRAQTLYR  
TVSGMMNYAKAIKLLYRVENPEVVQQFGGNTDKLERELERMARRKFKFLVSMQRY  
SKFNKEEHENAEFLLRAYPDLQIAYLEEEPPRKEGGDPRIFSALVDGHSDIIPETGKR  
RPKFRIELPGNPILGDGKSDNQNHAI VFYRGEYLQLIDANQDNYLEECLKIRNVLAEF  
EEYDVSSQSPYAQWSVKEFKRSPVAIVGAREYIFSEHIGILGDLAAGKEQTFGTLTA  
RNNAF LGGKLHYGHPDFLNALYMNTRGGVSKAQKGLHLNEDIYAGMNAVGRGGRI  
KHSEYYQCGKGRDLGFGTILNFQTKIGTGMGEQILSREYYLGTQLPIDRFLTFYYA  
HPGFQINMLVILSVQVFIVTMVFLGTLKSSVTICKYTS SGGQYIGGQSGCYNLVPVQ  
WIERCIISIFLVFMIAFMPLFLQELVERGTWSAIWRLLKQFM SLSPVFEVFSTQIQTHS  
VLSNLTFGGARYIATGRGFATSRISFSILFSRFAGPSIYLGMR TLIMLLYVTLTIWTPW  
VIYFWVSILSLCIAPFLFNPHQFVFSDFLIDYREYLRWMSRGNRSRSHNNSWIGYCR  
SRTMITGYKKKLGHPSEKLSGDVPRAGWRVAVL FSEIIFPACMAILFIIAYMFVKSFP  
DGKQPPSGLVRIAVVSIGPIVWNAAILLTLFLVSLFLGPMLDPVFP LFGSVMAFIAHFL  
GTIGMIGFFEFLWFLESWEASHAVLGLIAVISIQRAIHKILIAVFLSREFKHDETNRAW  
WTGRWYGRGLGTHAMSQPAREFVVKIIELSLWSSDLILGHILLFMLTPAVLIPYFDRL  
HAMMLFWLRPSKQIRAPLYSIKQKRQRRWIIMKYGT VYVTVIAIFVALIALPLVFRHTL  
KVECSL CDSL

SEQ ID NO: 17  
promotor *tef1*  
ADN  
*S. commune*

5

ATCGCCATTGTAAGCCGCAGACGGGCACGCTTCCAACCCCATCGATGGGCGC  
TCGATGTCCATCTCATCGGCGACTCATCATTGTATCTCGCGCAGTCCCATCCCT  
CGCCGCTCGCCTGTAGTTTATGCTATTTATCTTTGCACCAGTCGTTGTATTACTC  
CCTCGTCGTGTAGAAAAGTACCAGATAAAATGCATGTAATCCTAATGAAATTTGCA  
CGACACGAAGATCCGGCAGGGTTGTGGGCAAGGGGCAGCGGGAACGAATGGA  
TGGCGGGGTACAGCGAGTACCCGGCAGTGCCACAGTCAGTGTACACACAGTGA  
CTGATTGTCCATTAGCGTGACCGATAACATCGATCAAAAATTTTATTTTCAGAGGA  
CGATAAATAAGGGCCGACGGTGCGCGTCCGTCTTTCTCTCAACCCTCATCTTCC  
TCTCGTCTCTCACTCTTCCCCCTCCACCCTACCAAGTAAGTTCAAACCTCCTC  
TCATCGCCTTTGCACACATCGCCTACGCCCCATCTCTCTCCATCTGCCTCGCGA

ACGGCGCCCCATCGTCGCTTTCCCGCGGAGATCTTGTGCGATCTAGTTTACT  
GACAATCTCACCTAGAAAACATCAAA

**SEQ ID NO: 18**

terminador *tef1*

ADN

*S. commune*

ATCCAAGTCCGGTGGCAAGGTCACCAAGTCCGCCGAGAAGGCCGCCAAGAAGA  
AGTAAATGTAGATGTACATATGTATTTTCTCATTCCGTTTCCTTCCTCTTGTTGTT  
GTTTCACTGGTCCTCTCGTGCTCGCTCGCATCGCATAACAGCCATTGTTGTCACC  
ACTATAACTTCACGCATTCTGTATTTTCATGCCAGGCGACGGGGTGTTCCCTGCCA  
GGCCTGTCGCTTGTTGTAACGCTAATGAAAAGTCACGAGTAGTGGACGAACGAC  
GATGTATTTCTATGTGCTGTAGCGATTATCCATTTTCGAGTTCGCCATCGAGCTCT  
CTTCAAACCTAGGTGCGACGTTGTGAATGCAGTAGCAAGTGCAGAGTATTGCAG  
ACTCGTCCATTGATGATAACTTCAAGCTACGTCAGAGCCAGATGCTACTGAACC  
CGGGCC

5

**SEQ ID NO: 19**

cebador Ura\_forw (NotI)

ADN

artificial

10 ATAAGAATGCGGCCGCTCCAGCTCGACCTTGCGCCG

**SEQ ID NO: 20**

cebador Ura\_rev (XbaI)

ADN

artificial

15 CTAGTCTAGAGGATCCGACGTGGAGGAGCC

**SEQ ID NO.: 21**

cebador TefP\_forw (XbaI)

ADN

artificial

20 CTAGTCTAGAATCGCCATTGTAAGCCGCAG

**SEQ ID NO: 22**

cebador TefP\_rev (SpeI)

ADN

artificial

25 CTAGACTAGTTTTGATGTTTTCTAGGTGAG

**SEQ ID NO: 23**

cebador TefT\_forw (Sall)

ADN

artificial

30 ACGCGTCGACCAAGTCCGGTGGCAAGGTCA

**SEQ ID NO: 24**

cebador TefT\_rev (Sall)

ADN

artificial

35 CCGACGTCGACGGGTTTCAGTAGCATCTGGCT

**SEQ ID NO: 25**

cebador TefT\_forw (EcoRV)

ADN

artificial

40 CATGGTGATATCCAAGTCCGGTGGCAAGGTCA

**SEQ ID NO: 26**

cebador TefT\_rev (ApaI)

ADN

artificial

45 CCGTATGGGCCCGGGTTTCAGTAGCATCTGGCT

**SEQ ID NO: 27**

- cebador GS1\_forw (SpeI)  
ADN  
artificial  
CTAGACTAGTCCCGTCCCTCAAGGCCGTTG
- 5     **SEQ ID NO: 28**  
cebador GS1\_rev (Sall)  
ADN  
artificial  
AATGGCCGACGTCGACATGGTATATGCAATGCTATG
- 10    **SEQ ID NO: 29**  
cebador Fusion TefP\_GS1\_forw (XbaI)  
ADN  
artificial  
CTAGTCTAGAATCGCCATTGTAAGCCGCAG
- 15    **SEQ ID NO: 30**  
cebador Fusion TefP\_GS1\_rev (Sall)  
ADN  
artificial  
AATGGCCGACGTCGACATGGTATATGCAATGCTATG
- 20    **SEQ ID NO: 31**  
cebador GS2\_forw (SpeI)  
ADN  
artificial  
CTAGACTAGTCTGTCCAAAGAAGAGATCGA
- 25    **SEQ ID NO: 32**  
cebador GS2\_rev (EcoRV)  
ADN  
artificial  
TACATGCGATATCTTTTATGCAGACTCTCCCTG
- 30    **SEQ ID NO: 33**  
gen *ura*  
ADN  
*S. commune*

TCCAGCTCGACCTTGCGCCGCTTGGAGTAACGTTTCAGCGTCTTCGTCGTCCTCG  
 TCGCGCTCGTGTACGATGATGGGCTCAGCCATGGCAGGTATAACAAGCTCAGAG  
 TCAATGGGGGACGAGGTCTCAAGCCGTGAAAGTCGTCGTCGAACAACGTCAAG  
 TTCGAGACGGACCAGAGTTGGATTCGTGATTAGATCTACGCTCGATCACAGAA  
 TGATCAAAGAACAAGCTTGCCAAAAGGGGATCTCCCATCAACTTCAACTTGCC  
 CCAAACCATCATGACCGCCGCTCATAAGCTCACATACGGTCAGCGCGCTGCAA  
 GGTTACCAATCCC GCGGCGAAAGCCCTGCTGGAAACCATGGAGCGCAAGAAG  
 AGCAATCTATCCGTCAGCGTCGACGTCGTAAAATCCGCCGATCTGCTCGCTATT  
 GTCGATACCGTCGGGCCCTATATCTGTCTGATAAAGGCATTGCACTGTGCTTG  
 CGGTCTTGGGATGCTGCTTATACTCTATGAAGACCCATGTGGATGTTGTCGAAG  
 ACTTCGACTCGTCGCTCGTCACCAAGCTTCAGGCTCTGGCCGAGAAGCATGATT  
 TCCTCATCTTTGAGGACAGAAAATTCGCCGACATAGGTCTGTCCGTCGAATCTC  
 TATCGATGTCAACTCTGATGACTTGACAGGCAACACCGTCGCTCTGCAGTACT  
 CTAGTGGCGTGCACAAAATTGCCAGCTGGTCGCACATCACGAACGCACACCCT  
 GTTCCAGGACCGTCAATCATCAGTGGCCTCGCATCGGTAGGACAACCCCTCGG  
 TCGCGGACTCCTCCTGCTCGCAGAGATGAGCACGAAGGGCTCACTTGCGACAG  
 GCGCGTACACTGAAGCCGCGTCCAGATGGCAAGGGAGAACC GCGGCTTCGT  
 CATCGGGTTCATCGCCCAACGGCGGATGGATGGTATTGGCGCGCCTCCAGGG  
 GTGAATGTCGAGGACGAGGATTTTCTTGTCTTGACACCAGGTGTGCGACTCGAT  
 GTGAAGGGCGATGGGATGGGGCAGCAATACAGGACGCCGAAGCAAGTGGTAC  
 AGGAAGATGGGTGCGATGTAATCATCGTGGGTGCGGGGATTTATGGCAAGGAC  
 CCATCGAAGGTGGAAGAGATACGGAGGCAGGCAGAGCGTTACCAGGCTGCAG  
 GATGGGCGGCGTACATTGAGAGGGTCAACGCCTTGGTATAGCTAATCTGATCG  
 GTGTTGTCTTGTTAAGCGTCAGGCTCAATGGAACGCTTTGGACGAGCGGAGAGT  
 AACTTGAATTAGCAGTGTATACTTCGGGCAAATCAATCGTGATAAATACAAGAGC  
 ACGCTCACGCACGTCCAATCTCCCTCAAATCTCCATCTTTCTCGCCTCATTAC  
 CTTCTGAACCCAGCCGCGACATCTCGAACAGACCATGCCACCCGACAGCG  
 CACGCAGCCTATTCGAGTAGTCCAGCATCCGGCTGAGCGGGCGCCACCGCCTGC

ACCGCGCGCTTCATCTTCACGCCCGCCGCTCCCTCGCCGCAGTGCCGCCAGA  
 GGGCGACACCCACTCCGGGGGCACGTACACGCCGTCCGCAGGGTACGGCTCC  
 TCCACGTCCGATCC

SEQ ID NO: 34  
 proteína Ura  
 aminoácido  
*S. commune*

5

MTAAHKLTYGQRAARFTNPAAKALLETMERKKS NLSVSVDVVKSADLLAIVDTVGPY  
 ICLIKTHVDVVEDFDSSLVTKLQALAEKHDFLIFEDRKFADIGNTV ALQYSSGVH KIAS  
 WSHITNAHPVPGPSIISGLASVQPLGRGLLLLAEMSTKGLATGAYTEAAVQMARE  
 NRGFVIGFIAQRRMDGIGAPPGVNVEDEDFLV LTPGVGLDVKGDGMGQQYRTPKQ  
 VVQEDGCDVIIVGRGIYGKDP SKVEEIRRQAERYQAAGWAAYIERVNALV

## REIVINDICACIONES

1. Un microorganismo genéticamente modificado capaz de producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, **caracterizado porque** dicho microorganismo genéticamente modificado sobreexpresa (i) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, y/o (ii) un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, en comparación con un microorganismo control no modificado correspondiente de la misma cepa, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.
2. Uso del microorganismo genéticamente modificado de acuerdo con la reivindicación 1 para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D- (1-3)-glucopiranosilo que tiene una sola unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de aproximadamente 0,3, en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.
3. Un procedimiento para producir un polímero que consiste en una cadena principal lineal de unidades  $\beta$ -D-(1-3)-glucopiranosilo que tienen una sola unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo (1-6) unida a una unidad  $\beta$ -D-glucopiranosilo de la cadena principal lineal con un grado de ramificación promedio de alrededor de 0,3, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:
- (a) introducir en un microorganismo capaz de sintetizar dicho polímero
- (i) un promotor fuerte cadena arriba de un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa, aumentando de este modo la expresión de dicho polinucleótido, o
- (ii) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene actividad 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa;
- (b) cultivar dicho microorganismo de (a) en un medio, permitiendo, de este modo, que dicho microorganismo produzca dicho polímero; y
- (c) opcionalmente recuperar dicho polímero del medio,
- en el que dicho polímero se selecciona del grupo que consiste en esquizofilano y escleroglucano y en el que dicho microorganismo es *Schizophyllum commune*.
4. El microorganismo genéticamente modificado de acuerdo con la reivindicación 1, el uso de acuerdo con la reivindicación 2 o el procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, en el que dicho polinucleótido es un gen de la 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa.
5. El microorganismo genéticamente modificado de acuerdo con la reivindicación 1 o 4, el uso de acuerdo con la reivindicación 2 o 4 o el procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3 o 4, en el que dicho polinucleótido comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos un 70 % idéntica a la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 15.
6. El microorganismo genéticamente modificado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4 a 5, el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 o 4 a 5, o el procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en el que dicho polipéptido es una 1,3- $\beta$ -D-glucano sintasa.
7. El microorganismo genéticamente modificado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4 a 6, el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 o 4 a 6, o el procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, en el que dicho polinucleótido comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 70 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 16.
8. El microorganismo genéticamente modificado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4 a 7, en el que dicho microorganismo modificado es capaz de producir al menos 1,5 veces más de dicho polímero en comparación con dicho microorganismo control no modificado.

Figura 1

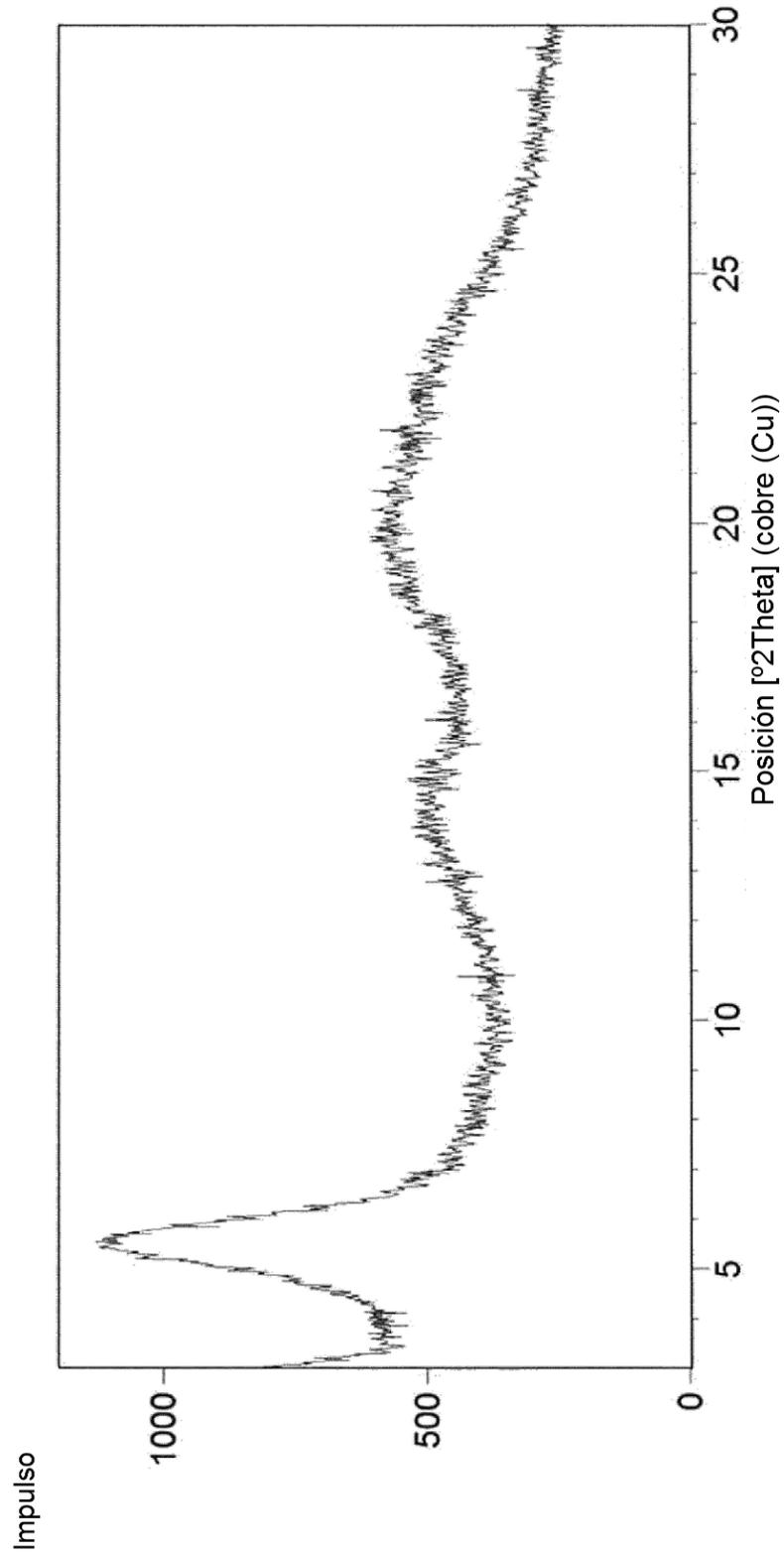


Figura 2

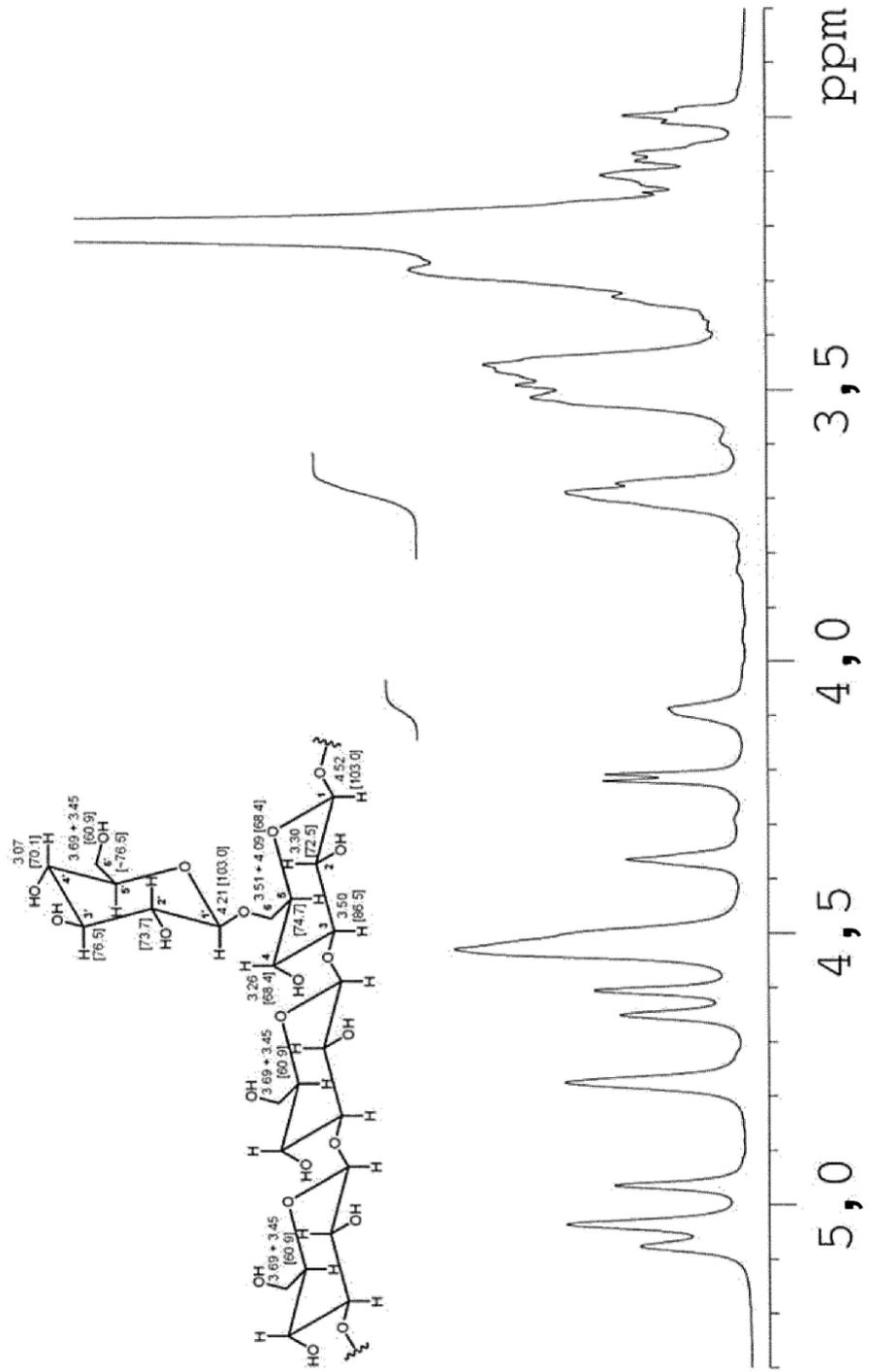


Figura 3

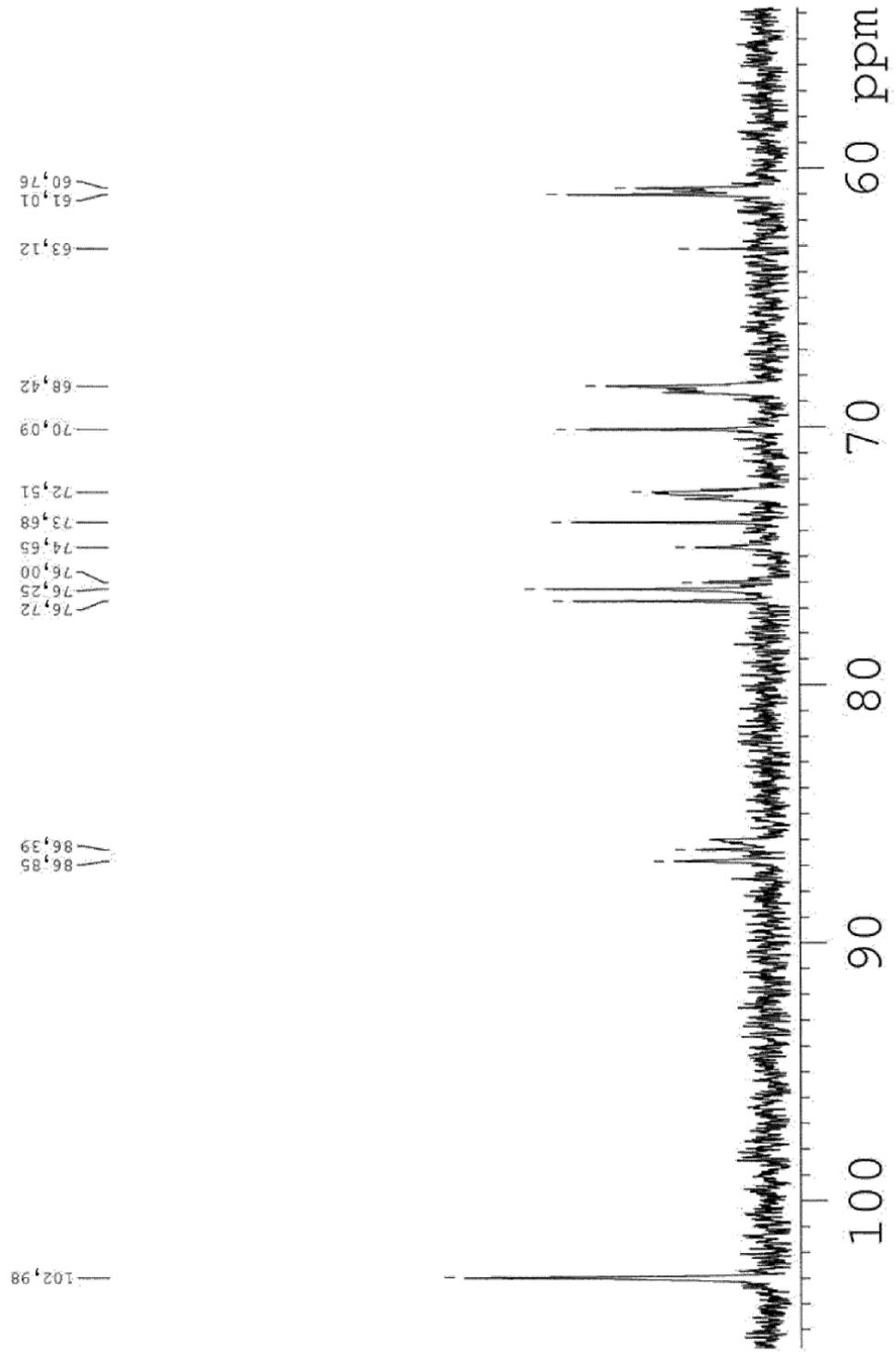


Figura 4

