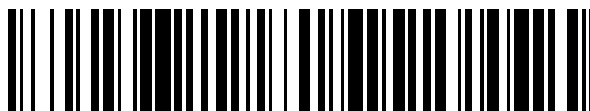


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 739 280**

51 Int. Cl.:

C07K 14/37 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.07.2014** **PCT/EP2014/064248**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.01.2015** **WO15001049**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.07.2014** **E 14734515 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2019** **EP 3016970**

54 Título: **Células fúngicas filamentosas deficientes en O-manosiltransferasa y métodos de uso de las mismas**

30 Prioridad:

04.07.2013 EP 13175141

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

30.01.2020

73 Titular/es:

GLYKOS FINLAND OY (100.0%)

Viiikinkaari 6

00790 Helsinki, FI

72 Inventor/es:

NATUNEN, JARI;

HILTUNEN, JUKKA;

HUUSKONEN, ANNE;

SALOHEIMO, MARKKU;

OSTERMEIER, CHRISTIAN;

SOMMER, BENJAMIN PATRICK y

WAHL, RAMON

74 Agente/Representante:

PADIAL MARTÍNEZ, Ana Belén

ES 2 739 280 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

Células fúngicas filamentosas deficientes en O-manosiltransferasa y métodos de uso de las mismas

5 **Campo de la invención**

La presente divulgación se refiere a composiciones y métodos útiles para la producción de proteínas heterólogas en células fúngicas filamentosas.

10 **Antecedentes**

La modificación posterior a la traducción de proteínas eucariotas, en particular proteínas terapéuticas tales como inmunoglobulinas, a menudo es necesaria para el correcto plegamiento y función de la proteína. Dado que los sistemas de expresión procarióticos convencionales carecen de la maquinaria adecuada necesaria para modificaciones de ese tipo, se tienen que usar sistemas de expresión alternativos en la producción de estas proteínas terapéuticas. Incluso cuando las proteínas eucariotas no tienen modificaciones posteriores a la traducción, los sistemas de expresión procariotas a menudo carecen de las proteínas chaperonas necesarias para un plegamiento adecuado. Las levaduras y los hongos son opciones atractivas para expresar proteínas, ya que se pueden cultivar fácilmente a gran escala en medios simples, lo que permite bajos costes de producción, y las levaduras y los hongos tienen maquinaria posterior a la traducción y chaperonas que realizan funciones similares a las de las células de mamíferos. Además, existen herramientas para manipular la estructura genética relativamente simple de las células de levadura y hongos, así como de las células eucariotas más complejas, tales como células de mamíferos o insectos (De Pourcq *et al.*, Appl Microbiol Biotechnol, 87 (5): 1617-31).

25 Sin embargo, las modificaciones posteriores a la traducción que se producen en levaduras y hongos aún pueden ser una preocupación para la producción de proteínas terapéuticas recombinantes. En particular, la O-manosilación es uno de los mayores obstáculos a superar en la producción de productos biofarmacéuticos para aplicaciones humanas en hongos. Más específicamente, las levaduras tales como *Pichia pastoris* y *Saccharomyces cerevisiae* tienden a hipermanosilar los productos biofarmacéuticos expresados de manera heteróloga, lo que desencadena efectos adversos cuando se aplican en seres humanos.

La O-manosilación para restos de serina y treonina incluye en mamíferos oligosacáridos a base de GalNAc u GlcNAc/N-acetilactosamina que comprenden glicanos de manosa unidos a O. En hongos, la O-manosilación se produce como monómeros u oligómeros de hexosa. En las levaduras, por lo general hay varias O-manosiltransferasas proteínicas (polipeptídicas), que a menudo funcionan como complejos. Parte de las desactivaciones genéticas son perjudiciales, al menos para las estructuras celulares y la estabilidad, y no todas las desactivaciones genéticas o combinaciones de levaduras son tolerados (para una revisión, véase Goto 2007, Biosci. Biotechnol. Biochem. 71 (6), 1415-1427).

40 Ha habido informes de desactivaciones de genes de O-manosiltransferasa de levadura, con el objetivo de reducir los niveles de O-manosilación, e incluso mutantes con múltiples desactivaciones genéticas que involucran dos o tres genes *pmt* en *S. cerevisiae* (documento WO/1994/004687). La desactivación genética de *Pmt1* o *pmt2* de *S. cerevisiae* redujo el nivel de O-manosilación de la glicoproteína III anticongelación para aproximadamente un 30 % de las proteínas y la proteína manosilada residual contiene numerosos restos de manosa por proteína, aparentemente también oligosacáridos (documento WO/2004/057007).

El documento WO/2010/034708 no informa de ningún nivel significativo de O-manosilación de la proteína de *Trichoderma* de hidrofobina recombinante cuando se expresa en la desactivación genética de *pmt1* de la célula hospedadora de *S. cerevisiae*. Parece que dicha O-manosilación es una glicosilación de levadura artificial de la proteína fúngica filamentosa original no manosilada.

El documento WO/2010/128143 informa además de una construcción de fusión de anticuerpo de cadena individual-albúmina en cepas con desactivación genética de *pmt1* y/o *pmt4* de la levadura *S. cerevisiae*.

55 Las desactivaciones de un solo gen, dobles y triples de *pmt1*, *pmt2*, y *pmt3* de las especies de *Aspergillus* (*Aspergillus nidulans*, *Aspergillus fumigatus*, y/o *Aspergillus awamori*) se describen en Goto *et al.*, 2009 (Eukaryotic cell 2009, 8 (10): 1465); Mouyna *et al.*, 2010 (Molecular Microbiology 2010, 76 (5), 1205-1221); Zhou *et al.*, 2007 (Eukaryotic cell 2007, 6 (12): 2260); Oka *et al.*, 2004 (Microbiology 2004, 150, 1973-1982); Kriangkripipat *et al.*, 2009; Fang *et al.*, 2010 (Glycobiology, 2010, vol. 20 pp 542-552); y Oka *et al.*, 2005 (Microbiology 2005, 151, 3657-3667).

A pesar de los numerosos informes sobre la supresión genética de homólogos de *pmt* en hongos filamentosos, no hay una descripción de una célula fúngica filamentosa con reducción de la O-manosilación y útil como célula hospedadora para la producción de glicoproteína recombinante.

65 En particular, Gorka-Niec *et al.*, (2008, Acta Biochimica Polonica, Vol. 55 N.º 2/2008, 251-259) informaron de la delección del gen *pmt1* en *Trichoderma reesei*. La proteína PMT1 mostró la identidad más elevada con Pmt4p de *S.*

cerevisiae (51 %) pero complementa funcionalmente al mutante de *pmt2Δ* de *S. cerevisiae* (Gorka-Niec *et al.*, 2007, Biochimica et Biophysica Acta 1770, 2007, 774-780). Sin embargo, los autores informaron que la interrupción del gen *pmt1* causó una disminución de la secreción de proteínas, pero no alteró la O- y N-glicosilación de la proteína secretada.

Zakrzewska *et al.*, (Curr Genet 2003 43: 11-16) informaron además que el gen *pmt1* de *Trichoderma reesei* no complementaba funcionalmente al mutante *pmt4Δ* de *S. cerevisiae*.

De hecho, parece que las deleciones de los genes PMT en levaduras u hongos filamentosos no producen ningún fenotipo o letalidad o funciones vitales de las células gravemente dañadas, que no serían adecuadas para la producción recombinante de proteínas heterólogas, especialmente glicoproteínas de mamíferos. Por este motivo, se han propuesto métodos alternativos, tales como el uso de inhibidores de *pmt*, como alternativa a las cepas con desactivación genética de *pmt* (documento WO2009/143041).

Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de células fúngicas filamentosas mejoradas, tales como células del hongo *Trichoderma*, que pueden producir de manera estable proteínas heterólogas sin O-manosilación o con esta reducida, tal como inmunoglobulinas, preferentemente a altos niveles de expresión.

SUMARIO

La presente invención se refiere a métodos mejorados para producir proteínas sin O-manosilación o con ella reducida en sistemas de expresión de hongos filamentosos y, más específicamente, glicoproteínas, tales como anticuerpos o inmunoglobulinas relacionadas o proteínas de fusión que se pueden O-manosilar cuando se producen en sistemas de expresión de hongos filamentosos.

La presente invención se basa en parte en el sorprendente descubrimiento de que las células fúngicas filamentosas, tales como las células *Trichoderma*, se pueden modificar genéticamente para reducir o suprimir la actividad de O-manosilación, sin afectar de manera adversa a la viabilidad y el rendimiento de las glicoproteínas producidas.

Por consiguiente, en un primer aspecto, la invención se refiere a una célula fúngica filamentosa deficiente en PMT que comprende

a) una primera mutación que reduce o elimina una actividad de proteasa endógena en comparación con una célula fúngica filamentosa precursora que no tiene dicha primera mutación, siendo dichas proteasas endógenas seleccionadas entre proteasas aspárticas, serina proteasas de tipo tripsina, subtilisina proteasas, proteasas glutámicas, y sedolisina proteasas, y,

b) una segunda mutación en un gen *PMT* que reduce la actividad de O-manosiltransferasa endógena en comparación con una célula fúngica filamentosa precursora que no tiene dicha segunda mutación,

en la que dicha célula fúngica filamentosa se selecciona entre el grupo que consiste en una célula de *Trichoderma*, *Neurospora*, *Myceliophthora* y *Chrysosporium*.

En una realización, dicha célula deficiente en PMT expresa además una proteína heteróloga que contiene restos de serina y/o treonina. La proteína heteróloga expresada con restos de serina y/o treonina redujo la O-manosilación debido a dicha mutación en dicho gen PMT. Por ejemplo, el nivel de O-manosilación de la proteína heteróloga expresada en una célula deficiente en PMT de la invención es al menos un 10 %, un 20 %, un 30 %, un 40 %, un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 % o al menos un % más bajo que en comparación con el nivel de O-manosilación de la proteína heteróloga cuando se expresa en la célula fúngica filamentosa precursora que no tiene dicha segunda mutación deficiente en PMT.

En otra realización, dicha segunda mutación que reduce la actividad de O-manosiltransferasa endógena es una deleción o una alteración de un gen *PMT* que codifica una actividad de proteína O-manosiltransferasa endógena.

En otra realización, dicha segunda mutación deficiente en PMT en un gen PMT puede ser una mutación (tal como una deleción o una alteración) en cualquiera de:

a) gen *PMT1* que comprende el polinucleótido de la SEQ ID NO: 1,

b) un gen homólogo del gen *PMT1*, gen homólogo que es capaz de restablecer el nivel de O-manosilación precursora mediante complementación funcional cuando se introduce en una cepa de *T. reesei* que tiene una alteración en dicho gen *PMT1*, o,

c) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene una identidad de al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 90 %, o al menos un 95 % con la SEQ ID NO: 2, teniendo dicho polipéptido actividad de O-manosiltransferasa.

En otra realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, dicha célula deficiente en PMT has una tercera mutación que reduce o elimina el nivel de expresión de un gen *ALG3* en comparación con el nivel de

expresión en una célula precursora que no tiene dicha tercera mutación. En una realización específica, dicha célula deficiente en PMT además comprende un primer polinucleótido que codifica un dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa I y un segundo polinucleótido que codifica un dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa II.

5 En otra realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, dicha célula deficiente en PMT además comprende uno o más polinucleótidos que codifican un polipéptido seleccionado entre el grupo que consiste en:

- 10 a) α 1,2 manosidasa,
b) dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa I,
c) α manosidasa II, y
d) dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa II.

15 En otra realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, dicha célula deficiente en PMT además comprende uno o más polinucleótidos que codifican una β 1,4 galactosiltransferasa y/o una fucosiltransferasa.

20 En una realización específica, dicha célula deficiente en PMT es una célula de *Trichoderma* que comprende al menos una mutación que reduce o elimina la actividad de proteína O-manosiltransferasa de pmt1 de *Trichoderma*, y, opcionalmente, que además comprende mutaciones en al menos uno u otros genes PMT más que reducen o eliminan la actividad de proteína O-manosiltransferasa seleccionadas entre el grupo que consiste en pmt2 y pmt3.

25 En una realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, las células deficientes en PMT comprenden mutaciones que reducen o eliminan la actividad de al menos dos, o al menos tres proteasas endógenas. Por lo general, dicha célula puede ser una célula de *Trichoderma* y puede comprender mutaciones que reducen o eliminan la actividad de

- 30 a) las tres proteasas endógenas pep1, tsp1 y slp1,
b) las tres proteasas endógenas gap1, slp1 y pep1,
c) tres proteasas endógenas seleccionadas entre el grupo que consiste en pep1, pep2, pep3, pep4, pep5, pep8, pep11, pep12, tsp1, slp1, slp2, slp3, slp7, gap1 y gap2,
d) de tres a seis proteasas seleccionadas entre el grupo que consiste en pep1, pep2, pep3, pep4, pep5, tsp1, slp1, slp2, slp3, gap1 y gap2, o,
35 e) de siete a diez proteasas seleccionadas entre el grupo que consiste en pep1, pep2, pep3, pep4, pep5, pep7, pep8, tsp1, slp1, slp2, slp3, slp5, slp6, slp7, slp8, tpp1, gap1 y gap2.

40 En una realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, la célula fúngica filamentosa de la invención no comprende una delección o alteración de un gen endógeno que codifica una proteína chaperona. En particular, dicha célula fúngica filamentosa de la invención expresa una proteína chaperona endógena funcional, tal como la Proteína Disulfuro Isomerasa (PDI).

En otro aspecto, la invención se refiere a un método para producir una proteína que tiene O-manosilación reducida, que comprende:

- 45 a) proporcionar una célula fúngica filamentosa deficiente en PMT como se ha descrito anteriormente, y que además comprende un polinucleótido que codifica una proteína con un resto de serina o treonina,
b) cultivar dicha célula fúngica filamentosa deficiente en PMT para producir dicha proteína con O-manosilación reducida,

50 en el que dicha célula fúngica filamentosa se selecciona entre el grupo que consiste en una célula de *Trichoderma*, *Neurospora*, *Myceliophthora* y *Chrysosporium*.

De acuerdo con una realización específica del método, dicha mutación en un gen *PMT* es una mutación, tal como una delección o alteración, en cualquiera de:

- 55 a) gen *PMT1* que comprende el polinucleótido de la SEQ ID NO: 1,
b) un gen homólogo funcional del gen *PMT1*, cuyo gen homólogo funcional es capaz de restablecer el nivel de O-manosilación precursora mediante complementación funcional cuando se introduce en una cepa de *T. reesei* que tiene una alteración en dicho gen *PMT1*, o,
60 c) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene una identidad de al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 90 %, o al menos un 95 % con la SEQ ID NO: 2, teniendo dicho polipéptido actividad de proteína O-manosiltransferasa.

65 En una realización particular del método de acuerdo con la invención, dicha célula fúngica filamentosa expresa una proteína chaperona endógena funcional, tal como PDI.

En otra realización del método, dicha célula deficiente en PMT es una célula de *Trichoderma reesei* y dicha mutación es una delección o una alteración del gen *PMT1* de *T. reesei*.

En otras realizaciones del método, dicha célula deficiente en PMT es una célula deficiente en PMT de la invención como se ha descrito anteriormente.

En una realización específica de la invención, dicho polinucleótido que codifica una proteína es un polinucleótido recombinante que codifica una proteína heteróloga. Generalmente, dicha proteína producida es una proteína de mamífero heteróloga seleccionada entre el grupo que consiste en

- a) una inmunoglobulina, tal como IgG,
- b) una cadena ligera o una cadena pesada de una inmunoglobulina,
- c) una cadena pesada o una cadena ligera de un anticuerpo,
- d) un anticuerpo de cadena individual,
- e) un anticuerpo camélido,
- f) un anticuerpo de dominio individual monomérico o multimérico,
- g) un fragmento FAb, un fragmento FAb2, y,
- h) sus fragmentos de unión a antígeno.

En una realización del método, que se puede combinar con las realizaciones precedentes, dicho polinucleótido que codifica dicha proteína además comprende un polinucleótido que codifica el dominio catalítico CBH1 y un conector como una proteína vehículo y/o el promotor *cbh1*.

En otra realización, dicho polinucleótido codifica una proteína con serina o treonina, que puede estar O-manosilada en una cepa precursora funcional de PMT, y que además comprende al menos un N-glicano.

La presente solicitud también desvela un método para producir un anticuerpo que tiene O-manosilación reducida, que comprende:

- a) proporcionar una célula fúngica filamentosa deficiente en PMT que tiene
 - i. una mutación que reduce la actividad de la proteína O-manosiltransferasa endógena en comparación con la cepa precursora que no tiene una mutación de ese tipo y
 - ii. un polinucleótido que codifica un anticuerpo de cadena ligera y un polinucleótido que codifica un anticuerpo de cadena pesada,
- b) cultivar la célula para producir dicho anticuerpo, que consiste en cadenas pesadas y ligeras, que tiene O-manosilación reducida,

en el que dicha célula fúngica filamentosa se selecciona entre el grupo que consiste en una célula de *Trichoderma*, *Neurospora*, *Myceliophthora* y *Chrysosporium*.

En un método específico para producir anticuerpos, dicha célula deficiente en PMT es una célula de *Trichoderma reesei* y dicha mutación es una delección o una alteración del gen *PMT1* de *T. reesei*.

En una realización del método para producir anticuerpos, al menos un 70 %, un 80 %, un 90 %, un 95 %, o un 100 % del anticuerpo producido no está O-manosilado.

La presente solicitud también desvela una composición de proteína o composición de anticuerpo que se puede obtener o que se obtiene con los métodos de la invención como se ha descrito anteriormente. En una realización, al menos un 70 %, un 80 %, un 90 %, un 95 %, o un 100 % de los anticuerpos tal como se obtienen o se pueden obtener con los métodos de la invención no están O-manosilados.

En una realización específica, una composición de proteína (por ejemplo, una glicoproteína) o de anticuerpo de ese tipo con O-manosilación reducida comprende, como una glicoforma principal, cualquiera de,

- Man α 3[Man α 6(Man α 3)Man α 6]Man β 4GlcNA β 4GlcNAc (glicoforma Man5);
- Man α 6(Man α 3)Man β 4GlcNAp4GlcNAc (glicoforma Man3);
- N-glicanos de tipo híbrido o complejo tales como las glicoformas seleccionadas entre el subgrupo que consiste en GlcNAcMan3, G0, glicano híbrido, o GlcNAcMan5, o derivados galactosilados, tales como GalGlcNAcMan3, G1, G2; o, glicoforma GalGlcNAcMan5.

En una realización específica, cuando el núcleo del glicano consiste en Man3, entonces la composición carece esencialmente de glicoformas Man5.

En una realización que se puede combinar con una o más de las realizaciones precedentes menos de un 0,1 %, un

0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % de los N-glicanos y/o O-glicanos de la composición de proteína comprende una estructura de Neu5Gc y/o Gala-. En una realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, menos de un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % de los N-glicanos y/o O-glicanos de la composición de anticuerpo comprende una estructura de Neu5Gc y/o Gala-.

En una realización que se puede combinar con una o más de las realizaciones precedentes, menos de un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % del N-glicano de la composición de glicoproteína comprende estructuras de núcleo de fucosa. En una realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, menos de un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % del N-glicano de la composición de anticuerpo comprende estructuras de núcleo de fucosa.

En una realización que se puede combinar con una o más de las realizaciones precedentes, menos de un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % del N-glicano de la composición de glicoproteína comprende epítomos de galactosa terminales Gal β 3/4GlcNAc. En una realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, menos de un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % del N-glicano de la composición de anticuerpo comprende epítomos de galactosa terminales Gal β 3/4GlcNAc.

En una realización que se puede combinar con una o más de las realizaciones precedentes, menos de un 1,0 %, un 0,5 %, un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % de la composición de glicoproteína comprende estructuras de glicosilación. En una realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, menos de un 1,0 %, un 0,5 %, un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % de la composición de anticuerpo comprende estructuras de glicosilación.

En otra realización que se puede combinar con una o más de las realizaciones precedentes, la composición de glicoproteína, tal como un anticuerpo, está desprovista de una, dos, tres, cuatro, cinco, o seis de las estructuras seleccionadas entre el grupo de Neu5Gc, Gala3Galp4GlcNAc terminal, Gal β 4GlcNAc terminal, Gal β 3GlcNAc terminal, fucosa unida al núcleo y estructuras de glicosilación.

La presente solicitud también desvela a un método para reducir el nivel de O-manosilación de una composición de glicoproteína recombinante producida en una célula fúngica filamentosa, por ejemplo, célula de *Trichoderma*, generalmente, *Trichoderma reesei*, consistiendo dicho método en el uso de una célula fúngica filamentosa que tiene una mutación en un gen *PMT* en la que dicho gen *PMT* es cualquiera de:

- i. gen *PMT1* que comprende el polinucleótido de la SEQ ID NO: 1,
- ii. un gen homólogo funcional del gen *PMT1*, cuyo gen homólogo funcional es capaz de restablecer el nivel de O-manosilación precursora mediante complementación funcional cuando se introduce en una cepa de *T. reesei* que tiene una alteración en dicho gen *PMT1*, o,
- iii. un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene una identidad de al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 90 %, o al menos un 95 % con la SEQ ID NO: 2, teniendo dicho polipéptido actividad de proteína O-manosiltransferasa.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 representa resultados de análisis de Southern de cepas con delección de *pmt1* de *Trichoderma reesei* expresan el anticuerpo MAB01. A) Se espera una señal de 5,7 kb de las cepas precursoras M124 y M304 con la sonda *pmt1* ORF después de digestión con *SpeI* + *XbaI*. No se espera señal de cepas puras con delección de *pmt1*. B) Se espera una señal de 3,5 kb para la sonda de flanqueo en la posición 5' de *pmt1* a partir de cepas de delección después de digestión con *SpeI* + *Ascl*. C) Se espera una señal de 1,7 kb para la sonda de flanqueo en la posición 3' de *pmt1* a partir de cepas de delección después de digestiones con *Ascl* + *XbaI*. *Ascl* no corta el locus de *pmt1* intacto en las proximidades, por lo tanto se espera señales de aproximadamente 16 kb (B) y 10 kb (C) de las cepas precursoras M124 o M304. Se espera una señal de 4,1 kb del plásmido pTTv185 digerido con *PmeI* usado como un control inhibirá acciones con ambas sondas de flanqueo (B, C).

La Figura 2 representa un espectro de la cadena ligera de la cepa M317 (pyr4- de M304) de *T. reesei* precursora cultivada en matraz (A) y el clon 26-8A de alteración de $\Delta pmt1$ (B), día 7.

La Figura 3 representa resultados para análisis de Western de la cepa M403 con delección de *pmt1* de *Trichoderma reesei* a partir de fermentación en cultivo semicontinuo. Panel superior: cadena ligera de MAB01, panel inferior: cadena pesada de MAB01. En cada calle se cargaron 0,1 μ l de sobrenadante.

La Figura 4 representa un espectro de cadena ligera de la cepa M403 de *T. reesei* cultivada en fermentador (cepa con delección de *pmt1* de anticuerpo MAB01 productor de cepa, clon 26-8A), día 7.

La Figura 5 representa una filogenia de los PMT de hongos filamentosos seleccionados.

La Figura 6 representa un alineamiento de secuencia parcial de los resultados de las búsquedas de PMT con

BLAST.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

5 Definiciones

Como se usa en el presente documento, un "sistema de expresión" o una "célula hospedadora" se refiere a la célula que está modificada genéticamente para permitir la transcripción, la traducción y el plegamiento adecuado de un polipéptido o una proteína de interés, generalmente de proteínas de mamíferos.

El término "polinucleótido" u "oligonucleótido" o "ácido nucleico", como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a un polímero de al menos dos nucleótidos unidos mediante un enlace fosfodiéster y puede consistir en ribonucleótidos o desoxinucleótidos o sus derivados que se pueden introducir en una célula hospedadora para la modificación genética de dicha célula hospedadora. Por ejemplo, un polinucleótido puede codificar una secuencia de codificación de una proteína, y/o comprender secuencias de control o reguladoras de una secuencia de codificación de una proteína, tales como secuencias potenciadoras o promotoras o terminadoras. Un polinucleótido puede, por ejemplo, comprender la secuencia de codificación nativa de un gen o sus fragmentos, o secuencias variantes que se han optimizado para la expresión génica óptima en una célula hospedadora específica (por ejemplo, para tener en cuenta el sesgo del codón).

Como se usa en el presente documento, el término "optimizado" con referencia a un polinucleótido se refiere a que un polinucleótido se ha alterado para codificar una secuencia de aminoácidos usando codones que son preferentes en la producción de una célula u organismo, por ejemplo, una célula fúngica filamentosa tal como una célula de *Trichoderma*. Las secuencias de nucleótidos heterólogas que se transfectan en una célula hospedadora se optimizan generalmente para retener completamente o lo más posible la secuencia de aminoácidos codificada originalmente por la secuencia de nucleótidos original (no optimizada). Las secuencias optimizadas en el presente documento se han modificado mediante ingeniería para que tengan codones que son preferentes en la célula u organismo de producción correspondiente, por ejemplo la célula fúngica filamentosa.

Las secuencias de aminoácidos codificadas por secuencias de nucleótidos optimizadas también se pueden denominar optimizadas.

Como se usa en el presente documento, un "péptido" o un "polipéptido" es una secuencia de aminoácidos que incluye una pluralidad de restos de aminoácido polimerizados consecutivos. El péptido o polipéptido puede incluir restos de aminoácido modificados, restos de aminoácido de origen natural no codificados por un codón y restos de aminoácido de origen no natural. Como se usa en el presente documento, una "proteína" puede hacer referencia a un péptido o un polipéptido o una combinación de más de un péptido o polipéptido ensamblados juntos mediante enlaces covalentes o no covalentes. A menos que se especifique, el término "proteína" puede incluir una o más secuencias de aminoácidos con sus modificaciones posteriores a la traducción y, en particular, con modificaciones de O-manosilación o N-glicano.

Como se usa en el presente documento, el término "glicoproteína" se refiere a una proteína que comprende al menos un glicano unido a N unido a al menos un resto de asparagina de una proteína, o al menos una manosa unida a al menos una serina o treonina dando como resultado O-manosilación.

Los términos "O-manosilación" o "actividad de O-manosiltransferasa" se usan en el presente documento para hacer referencia al enlace covalente de al menos una manosa a un aminoácido específico a través de un oxígeno (generalmente de serina o treonina). La proteína O-manosiltransferasa generalmente añade manosa a los grupos hidroxilo, tal como el hidroxilo de restos de serina o treonina.

En particular, la actividad de O-manosiltransferasa puede hacer referencia a la especificidad de la actividad de O-manosiltransferasa del gen PMT fúngico que codifica enzimas, y más específicamente con la misma especificidad de PMT1 de *T. reesei*.

Como se usa en el presente documento, "glicano" se refiere a una cadena de oligosacáridos que se puede unir a un vehículo tal como un aminoácido, péptido, polipéptido, lípido o un conjugado de extremo reductor. En ciertas realizaciones, la invención se refiere a glicanos unidos a N ("N-glicano") conjugados con un sitio de N-glicosilación de polipéptidos, tal como -Asn-Xaa-Ser/Thr- por enlace N a nitrógeno de amida de cadena lateral de resto de asparagina (Asn), en la que Xaa es cualquier resto de aminoácido excepto Pro. La invención además se puede relacionar con glicanos como parte de estructuras lipídicas precursoras de dolicol-fosfo-oligosacárido (Dol-P-P-OS), que son precursores de glicanos unidos a N en el retículo endoplásmico de células eucariotas. Los oligosacáridos precursores están unidos desde su extremo reductor a dos restos de fosfato en el lípido dolicol. Por ejemplo, la α 3-manosiltransferasa Alg3 modifica el precursor Dol-P-P-P-oligosacárido de los N-glicanos. En general, las estructuras de glicano que se describen en el presente documento son estructuras de glicano terminales, en las que los restos no reductores no son modificados por otro resto hubo restos de monosacárido.

Como se usa a lo largo de la presente divulgación, la nomenclatura de glucolípidos y carbohidratos está básicamente de acuerdo con las recomendaciones de la Comisión de Nomenclatura Bioquímica IUPAC-IUB (por ejemplo, Carbohydrate Res. 1998, 312, 167; Carbohydrate Res. 1997, 297, 1; Eur. J. Biochem. 1998, 257, 29). Se supone que Gal (galactosa), Glc (glucosa), GlcNAc (N-acetilglucosamina), GalNAc (N-acetilgalactosamina), Man (manosa), y Neu5Ac tienen la configuración D, Fuc tiene la configuración L, y todas las unidades de monosacárido están en forma de piranosa (D-Galp, D-Glcp, D-GlcpNAc, D-GalpNAc, D-Manp, L-Fucp, D-Neup5Ac). El grupo amino es tal como se define para la galactosa natural y glucosaminas en la posición 2 de GalNAc o GlcNAc. Los enlaces glicosídicos se muestran en parte en la nomenclatura más corta y en parte en la más larga, los enlaces de los restos del ácido siálico SA/Neu5X en $\alpha 3$ y $\alpha 6$ significan lo mismo que $\alpha 2-3$ y $\alpha 2-6$, respectivamente, y para los restos de los monosacáridos de hexosa $\alpha 1-3$, $\alpha 1-6$, $\beta 1-2$, $\beta 1-3$, $\beta 1-4$, y $\beta 1-6$ se pueden acortar como $\alpha 3$, $\alpha 6$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$, y $\beta 6$, respectivamente. Lactosamina se refiere a N-acetilactosamina de tipo II, Gal $\beta 4$ GlcNAc, y/o N-acetilactosamina de tipo I. Gal $\beta 3$ GlcNAc y ácido siálico (SA) se refieren al ácido N-acetilneuramínico (Neu5Ac), ácido N-glicolilneuramínico (Neu5Gc), o cualquier otro ácido siálico natural que incluya derivados de Neu5X. El ácido siálico se conoce como NeuNX o Neu5X, en los que X es preferentemente Ac o Gc. Ocasionalmente Neu5Ac/Gc/X se puede denominar NeuNAc/NeuNGc/NeuNX.

Los azúcares que generalmente constituyen los N-glicanos encontrados en glicoproteína de mamíferos, incluyen, pero no se limitan a, N-acetilglucosamina (en lo sucesivo en el presente documento abreviado como "GlcNAc"), manosa (en lo sucesivo en el presente documento abreviado como "Man"), glucosa (en lo sucesivo en el presente documento abreviado como "Glc"), galactosa (en lo sucesivo en el presente documento abreviado como "Gal"), y ácido siálico (en lo sucesivo en el presente documento abreviado como "Neu5Ac"). Los N-glicanos comparten un pentasacárido común denominado estructura "núcleo" de Man $_3$ GlcNAc $_2$ (Man $\alpha 6$ (Man $\alpha 3$)Man $\beta 4$ GlcNAc $\beta 4$ GlcNAc, denominado Man3). En algunas realizaciones el glicano Man3 o sus derivado Man $\alpha 6$ (GlcNAc $\alpha 2$ Man $\alpha 3$)Man $\beta 4$ GlcNAc $\beta 4$ GlcNAc es la glicoforma principal. Cuando una fucosa se une a la estructura de núcleo, se une preferentemente en $\alpha 6$ para reducir el extremo de GlcNAc, el N-glicano por el núcleo del N-glicano, se puede representar como Man $_3$ GlcNAc $_2$ (Fuc). En una realización el N-glicano principal es Man $\alpha 3$ [Man $\alpha 6$ (Man $\alpha 3$)Man $\alpha 6$]Man $\beta 4$ GlcNAc $\beta 4$ GlcNAc (Man5).

Los N-glicanos de tipo híbrido preferentes comprenden GlcNAc $\beta 2$ Man $\alpha 3$ [Man $\alpha 6$ (Man $\alpha 3$)Man $\alpha 6$]Man $\beta 4$ GlcNAc $\beta 4$ GlcNAc ("GlcNAcMan5"), o derivados b4-galactosilados de los mismos Gal $\beta 4$ GlcNAcMan3, G1, G2, o la glicoforma GalGlcNAcMan5.

Un "N-glicano complejo" se refiere a un N-glicano que tiene al menos un resto de GlcNAc, opcionalmente el resto de GlcNAc $\beta 2$, en la rama terminal de 1,3 manosa de la estructura de núcleo y al menos un resto de GlcNAc, opcionalmente el resto de GlcNAc $\beta 2$, en la rama terminal de 1,6 manosa de la estructura de núcleo.

Los N-glicanos complejos de ese tipo incluyen, pero no se limitan a, GlcNAc $_2$ Man $_3$ GlcNAc $_2$ (también conocido como glicoforma G0), Gal $_1$ GlcNAc $_2$ Man $_3$ GlcNAc $_2$ (también conocido como glicoforma G1), y Gal $_2$ GlcNAc $_2$ Man $_3$ GlcNAc $_2$ (también conocido como glicoforma G2), y sus glicoformas fucosiladas de núcleo FG0, FG1 y FG2, respectivamente GlcNAc $_2$ Man $_3$ GlcNAc $_2$ (Fuc), Gal $_1$ GlcNAc $_2$ Man $_3$ GlcNAc $_2$ (Fuc), y Gal $_2$ GlcNAc $_2$ Man $_3$ GlcNAc $_2$ (Fuc).

"Actividad aumentada" o "reducida de una enzima endógena": La célula fúngica filamentosa puede haber aumentado o reducido los niveles de actividad de varias enzimas endógenas. Se puede proporcionar un nivel de actividad reducido inhibiendo la actividad de la enzima endógena con un inhibidor, un anticuerpo o similar. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentosa se modifica genéticamente para aumentar o reducir la actividad de varias enzimas endógenas. "Genéticamente modificado" se refiere a cualquier método de ADN o ARN recombinante usado para crear una célula hospedadora procarionota o eucariota que expresa un polipéptido a niveles elevados, a niveles más bajos o en una forma mutada. En otras palabras, la célula hospedadora se ha transfectado, transformado o transducido con una molécula de polinucleótido recombinante, y por lo tanto se ha alterado para que la célula altere la expresión de una proteína deseada.

Las "modificaciones genéticas" que dan como resultado una disminución o deficiencia de la expresión génica, en la función del gen, o en la función del producto génico (es decir, la proteína codificada por el gen) se puede denominar inactivación (completa o parcial), desactivación, delección, alteración, interrupción, bloqueo, silenciamiento o regulación de forma negativa, o atenuación de la expresión de un gen. Por ejemplo, una modificación genética en un gen que da como resultado una disminución de la función de la proteína codificada por dicho gen, puede ser el resultado de una eliminación completa del gen (es decir, el gen no existe, y por lo tanto la proteína no existe), una mutación en el gen que da como resultado una traducción incompleta (interrupción) o nula de la proteína (por ejemplo, la proteína no se expresa), o una mutación en el gen que disminuye o anula la función natural de la proteína (por ejemplo, se expresa una proteína que tiene una actividad o acción enzimática reducida o nula). Más específicamente, la referencia a la disminución de la acción de las proteínas analizadas en el presente documento generalmente se refiere a cualquier modificación genética en la célula hospedadora en cuestión, lo que da como resultado una disminución de la expresión y/o funcionalidad (actividad biológica) de las proteínas e incluye una menor actividad de las proteínas (por ejemplo, disminución de la catálisis), aumento de la inhibición o degradación de las proteínas, así como una reducción o eliminación de la expresión de las proteínas. Por ejemplo, la acción o actividad de una proteína se puede disminuir bloqueando o reduciendo la producción de la proteína, reduciendo la

acción de la proteína o inhibiendo la acción de la proteína. También son posibles combinaciones de algunas de estas modificaciones. El bloqueo o la reducción de la producción de una proteína pueden incluir la colocación del gen que codifica la proteína bajo el control de un promotor que requiere la presencia de un compuesto inductor en el medio de crecimiento. Al establecer condiciones tales que el inductor se agote del medio, la expresión del gen que codifica la proteína (y, por lo tanto, de la síntesis de proteínas) se podría desactivar. El bloqueo o la reducción de la acción de una proteína también podría incluir el uso de un enfoque de tecnología de escisión similar al que se describe en el documento de Patente de Estados Unidos N.º 4.743.546. Para usar este enfoque, el gen que codifica la proteína de interés se clona entre secuencias genéticas específicas que permiten la escisión controlada y específica del gen del genoma. La escisión podría ser provocada, por ejemplo, por un cambio en la temperatura de cultivo del cultivo, tal como en el documento de Patente de Estados Unidos N.º 4.743.546, o por alguna otra señal física o nutricional.

En general, de acuerdo con la presente invención, un aumento o una disminución en una característica dada de una proteína mutante o modificada (por ejemplo, actividad enzimática) se realiza con referencia a la misma característica de una proteína precursora (es decir, normal, no modificada) que se obtiene a partir del mismo organismo (de la misma fuente o secuencia precursora), que se mide o establece en las mismas condiciones o equivalentes. De manera similar, un aumento o disminución en una característica de una célula hospedadora modificada genéticamente (por ejemplo, expresión y/o actividad biológica de una proteína, o producción de un producto) se hace con referencia a la misma característica de una célula hospedadora de tipo silvestre de la misma especie, y preferentemente de la misma cepa, en las mismas condiciones o equivalentes. Las condiciones de ese tipo incluyen el ensayo o las condiciones de cultivo (por ejemplo, componentes del medio, temperatura, pH, etc.) bajo los cuales se mide la actividad de la proteína (por ejemplo, expresión o actividad biológica) u otra característica de la célula hospedadora, tal como el tipo de ensayo usado, la célula hospedadora que se evalúa, etc. Como se ha discutido anteriormente, las condiciones equivalentes son condiciones (por ejemplo, condiciones de cultivo) que son similares, pero no necesariamente idénticas (por ejemplo, se pueden tolerar algunos cambios conservadores en las condiciones), y que no cambian sustancialmente el efecto sobre el crecimiento celular o la expresión enzimática o la actividad biológica comparándolo con una comparación realizada en las mismas condiciones.

Preferentemente, una célula hospedadora modificada genéticamente y que tienen una modificación genética que aumenta o disminuye (reduce) la actividad de una proteína dada (por ejemplo, una O-manosiltransferasa o proteasa) tiene un aumento o disminución, respectivamente, en la actividad o acción (por ejemplo, expresión, producción y/o actividad biológica) de la proteína, en comparación con la actividad de la proteína en una célula hospedadora precursora (que no tiene una modificación genética de ese tipo), de al menos aproximadamente un 5 %, y más preferentemente al menos aproximadamente un 10 %, un 15 %, un 20 %, un 25 %, un 30 %, un 35 %, un 40 %, un 45 %, un 50 %, un 55 %, un 60 %, un 65 %, un 70 %, un 75 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 95 %, o cualquier porcentaje, en números enteros entre un 5 % y un 100 % (por ejemplo, 6 %, 7 %, 8 %, etc.).

En otro aspecto de la invención, una célula hospedadora modificada genéticamente y que tienen una modificación genética que aumenta o disminuye (reduce) la actividad de una proteína dada (por ejemplo, una O-manosiltransferasa o proteasa) tiene un aumento o disminución, respectivamente, en la actividad o acción (por ejemplo, expresión, producción y/o actividad biológica) de la proteína, en comparación con la actividad de la proteína de tipo silvestre en una célula hospedadora precursora, de al menos aproximadamente 2 veces, y más preferentemente al menos aproximadamente 5 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 75 veces, 100 veces, 125 veces, 150 veces, o cualquier incremento de número entero comenzando desde al menos aproximadamente 2 veces (por ejemplo, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, etc.).

Como se usa en el presente documento, los términos "idéntico" o "identidad porcentual", en el contexto de dos o más secuencias de ácidos nucleicos o aminoácidos, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales. Dos secuencias son "básicamente idénticas" si dos secuencias tienen un porcentaje específico de restos de aminoácido o nucleótido que son iguales (es decir, un 29 % de identidad, opcionalmente un 30 %, un 40 %, un 45 %, un 50 %, un 55 %, un 60 %, un 65 %, un 70 %, un 75 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 95 %, un 99 % o un 100 % de identidad con respecto a una región especificada, o, cuando no se especifica, con respecto a toda la secuencia), cuando se compara y alinea para una correspondencia máxima con respecto a una ventana de comparación, o una región designada de acuerdo con lo medido usando uno de los siguientes algoritmos de comparación de secuencias o por alineamiento manual e inspección visual. Opcionalmente, la identidad existe sobre una región que tiene al menos aproximadamente 50 nucleótidos (o 10 aminoácidos) de longitud, o más preferentemente con respecto a una región que tiene una longitud de 100 a 500 o 1000 o más nucleótidos (o 20, 50, 200 o más aminoácidos).

Para la comparación de secuencias, generalmente una secuencia actúa como una secuencia de referencia, con la que se comparan las secuencias de ensayo. Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de ensayo y de referencia se introducen en un ordenador, las coordenadas de la subsecuencia se diseñan, si fuera necesario, y se diseñan los parámetros del programa de algoritmos de secuencia. Se pueden usar parámetros del programa por defecto, o se pueden diseñar parámetros alternativos. A continuación el algoritmo de comparación de secuencias calcula el porcentaje de identidad de secuencia para las secuencias de ensayo con respecto a la secuencia de referencia, en función de los parámetros del programa. Al comparar dos secuencias para la identidad, no es necesario que las secuencias sean contiguas, pero cualquier hueco podría conllevar a una

penalización que podría reducir el porcentaje de identidad general. Para blastn, los parámetros por defecto son penalización de apertura de hueco = 5 y penalización de extensión de espacio = 2. Para blastp, los parámetros por defecto son penalización de apertura de hueco = 11 y penalización de extensión de hueco = 1.

- 5 Una "ventana de comparación", como se usa en el presente documento, incluye una referencia a un segmento de una cualquiera de las posiciones contiguas que incluyen, entre otras, de 20 a 600, generalmente de aproximadamente 50 a aproximadamente 200, más generalmente de aproximadamente 100 a aproximadamente 150 en una secuencia en la que la secuencia se puede comparar con una secuencia de referencia del mismo número de posiciones contiguas después de que las dos secuencias estén alineadas de manera óptima. En la técnica se conocen bien los métodos de alineamiento de secuencias para comparación. El alineamiento óptimo de secuencias para comparación se puede realizar, por ejemplo, mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman (1981), mediante el algoritmo de alineamiento de homología de Needleman y Wunsch (1970) J Mol Biol 48 (3): 443-453, mediante el método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman (1988) Proc Natl Acad Sci USA 85 (8): 2444-2448, by mediante implementaciones informáticas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA, y TFASTA en el Paquete de Software de Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), o mediante alineamiento manual e inspección visual [véase, por ejemplo, Brent *et al.*, (2003) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc. (Ringbou Ed)].

- 20 Dos ejemplos de algoritmos que son adecuados para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y la similitud de secuencia son los algoritmos BLAST y BLAST 2.0, que se describen en Altschul *et al.*, (1997) Nucleic Acids Res 25 (17): 3389-3402 y Altschul *et al.*, (1990) J. Mol Biol 215 (3)-403-410, respectivamente. El software para realizar los análisis de BLAST está disponible al público a través del National Center for Biotechnology Information. El programa BLASTN (para secuencias de nucleótidos) usa como defectos una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) o 10, M = 5, N = -4 y una comparación de ambas hebras. Para las secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP usa como valor predeterminado una longitud de palabra de 3, y una expectativa (E) de 10, y la matriz de puntuación BLOSUM62 [véase Henikoff y Henikoff, (1992) Proc Natl Acad Sci USA 89 (22): 10915-10919] alineamientos (B) de 50, expectativa (E) de 10, M = 5, N = -4 y una comparación de ambas hebras.

- 30 El algoritmo BLAST también realiza un análisis estadístico de la similitud entre dos secuencias (véase, por ejemplo, Karlin y Altschul, (1993) Proc Natl Acad Sci USA 90 (12): 5873-5877). Una medida de similitud proporcionada por el algoritmo BLAST es la probabilidad de suma más pequeña (P(N)), que proporciona una indicación de la probabilidad por la cual una coincidencia entre dos secuencias de nucleótidos o aminoácidos se podría producir por casualidad. Por ejemplo, un ácido nucleico se considera similar a una secuencia de referencia si la probabilidad de la suma más pequeña en una comparación del ácido nucleico de ensayo con el ácido nucleico de referencia es menor que aproximadamente 0,2, más preferentemente menor que aproximadamente 0,01, y lo más preferentemente menos de aproximadamente 0,001.

- "Variante funcional" o "gen homólogo funcional" como se usa en el presente documento se refiere a una secuencia de codificación o una proteína que tiene una similitud de secuencia con una secuencia de referencia, generalmente, una identidad de al menos un 30 %, un 40 %, un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 %, un 90 % o un 95 % con la secuencia de codificación o proteína de referencia, y conservando básicamente la misma función que dicha secuencia de codificación o proteína de referencia. Una variante funcional puede conservar la misma función pero con actividad reducida o aumentada. Las variantes funcionales incluyen variantes naturales, por ejemplo, homólogos de diferentes especies o variantes artificiales, resultantes de la introducción de una mutación en la secuencia de codificación. La variante funcional puede ser una variante con solo mutaciones modificadas de manera conservativa.

- Las "mutaciones modificadas de manera conservativa" como se usan en el presente documento incluyen sustituciones, deleciones o adiciones individuales a una secuencia de aminoácidos codificada que dan como resultado la sustitución de un aminoácido con un aminoácido químicamente similar. Las tablas de sustitución conservativa que proporcionan aminoácidos funcionalmente similares se conocen bien en la técnica. Las variantes modificadas de manera conservativa de ese tipo son, además y no excluyen, variantes polimórficas, homólogos interespecies y alelos de la divulgación. Los siguientes ocho grupos contienen aminoácidos que son sustituciones conservativas entre sí: 1) alanina (A), Glicina (G); 2) Ácido aspártico (D), Ácido glutámico (E); 3) Asparagina (N), Glutamina (Q); 4) Arginina (R), Lisina (K); 5) Isoleucina (I), Leucina (L), Metionina (M), Valina (V); 6) Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptófano (W); 7) Serina (S), Treonina (T); y 8) Cisteína (C), Metionina (M) (véase, por ejemplo, Creighton, Proteins (1984)).

Células fúngicas filamentosas

- 60 Como se usa en el presente documento, "células fúngicas filamentosas" incluye células de todas las formas filamentosas de la subdivisión Eumycota y Oomycota (de acuerdo con lo definido por Hawksworth *et al.*, En, Ainsworth and Bisby's Dictionary of The Fungi, 8ª edición, 1995, CAB International, University Press, Cambridge, Reino Unido). Las células fúngicas filamentosas se caracterizan generalmente por una pared micelial formada por quitina, celulosa, glucano, quitosano, manano y otros polisacáridos complejos. El crecimiento vegetativo se produce por elongación de hifas y el catabolismo del carbono es necesariamente aeróbico. Por el contrario, el crecimiento vegetativo de las levaduras tales como *Saccharomyces cerevisiae* se debe al brote de un talo unicelular y el

catabolismo del carbono puede ser fermentativo.

Preferentemente, la célula fúngica filamentosa no se ve afectada de forma adversa por la transducción de las secuencias de ácido nucleico necesarias, la expresión posterior de las proteínas (por ejemplo, proteínas de mamíferos) o los productos intermedios resultantes. Los métodos generales para alterar genes y cultivar células fúngicas filamentosas se desvelan, por ejemplo, para *Penicillium*, en Kopke *et al.*, (2010) Appl Environ Microbiol. 76 (14): 4664-74. doi: 10.1128/AEM.00670-10, para *Aspergillus*, en Maruyama y Kitamoto (2011), Methods in Molecular Biology, vol. 765, DOI10.1007/978-1-61779-197-0_27; para *Neurospora*, en Collopy *et al.*, (2010) Methods Mol Biol. 2010; 638:33-40. doi: 10.1007/978-1-60761-611-5_3; y para *Myceliophthora* o *Chrysosporium* en los documentos PCT/NL2010/000045 y PCT/EP98/06496.

Los ejemplos de células fúngicas filamentosas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, células de una cepa de *Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Humicola*, *Mucor*, *Myceliophthora*, *Neurospora*, *Penicillium*, *Scytalidium*, *Thielavia*, *Tolypocladium*, o *Trichoderma/Hypocrea*.

En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentosa es de una cepa de *Trichoderma* sp., *Acremonium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cryptococcus*, *Chrysosporium*, *Chrysosporium lucknowense*, *Filibasidium*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Magnaporthe*, *Mucor*, *Myceliophthora*, *Myrothecium*, *Neocallimastix*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Piromyces*, *Schizophyllum*, *Talaromyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, o *Tolypocladium*.

En algunas realizaciones, la célula fúngica filamentosa es una cepa de *Myceliophthora* o *Chrysosporium*, *Neurospora* o *Trichoderma*.

Las células fúngicas de *Aspergillus* de la presente divulgación pueden incluir, pero no se limitan a, *Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus foetidus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus japonicus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, o *Aspergillus terreus*.

Las células fúngicas de *Neurospora* de la presente divulgación pueden incluir, pero no se limitan a, *Neurospora crassa*.

Las células fúngicas de *Myceliophthora* de la presente divulgación pueden incluir, pero no se limitan a, *Myceliophthora thermophila*.

En una realización preferente, la célula fúngica filamentosa es una célula fúngica de *Trichoderma*. Las células fúngicas de *Trichoderma* de la presente divulgación se pueden obtener a partir de una cepa de *Trichoderma* de tipo silvestre o un mutante de la misma. Los ejemplos de células fúngicas de *Trichoderma* incluyen, pero no se limitan a, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei*, *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma virens*, *Trichoderma viride*; y formas sexuales alternativas de las mismas (es decir, *Hypocrea*).

En una realización más preferente, la célula fúngica filamentosa es una célula de *Trichoderma reesei*, y por ejemplo, cepas obtenidas a partir de ATCC 13631 (QM 6a), ATCC 24449 (mutante de radiación 207 de QM 6a), ATCC 26921 (QM 9414; mutante de ATCC 24449), VTT-D-00775 (Selinheimo *et al.*, FEBS J., 2006, 273: 4322-4335), Rut-C30 (ATCC 56765), RL-P37 (NRRL 15709) o aislado T3 de *T. harzianum* (Wolffhechel, H., 1989).

La presente divulgación también se refiere a una célula fúngica filamentosa deficiente en PMT, por ejemplo seleccionada entre células de *Trichoderma*, *Neurospora*, *Myceliophthora* o una célula de *Chrysosporium*, tal como célula fúngica de *Trichoderma reesei*, que comprende:

- a. al menos una primera mutación que reduce o elimina una actividad de proteasa endógena en comparación con la célula fúngica filamentosa precursora que no tiene dicha primera mutación (es decir, una mutación con deficiencia de proteasa), y,
- b. al menos una segunda mutación en un gen *PMT* que reduce o elimina una actividad de O-manosiltransferasa endógena en comparación con una célula fúngica filamentosa precursora que no tiene dicha segunda mutación (es decir, una mutación con deficiencia de PMT).

Proteasas con actividad reducida

Se ha encontrado que la reducción de la actividad de la proteasa permite aumentar básicamente la producción de proteína de mamífero heteróloga. De hecho, tales proteasas encontradas en células fúngicas filamentosas que expresan una proteína heteróloga normalmente catalizan una degradación significativa de la proteína recombinante expresada. Por lo tanto, al reducir la actividad de las proteasas en las células fúngicas filamentosas que expresan una proteína heteróloga, la estabilidad de la proteína expresada aumenta, lo que da como resultado un mayor nivel de producción de la proteína y, en algunas circunstancias, mejora la calidad de la proteína producida (por ejemplo, de longitud completa en lugar de degradada).

Las proteasas incluyen, pero no se limitan a, proteasas aspárticas, serina proteasas de tipo tripsina, subtilisina proteasas, proteasas glutámicas, y sedolisina proteasas. Las proteasas de ese tipo se pueden identificar y aislar de las células fúngicas filamentosas y analizarse para determinar si la reducción de su actividad afecta a la producción de un polipéptido recombinante de la célula fúngica filamentosa. En la técnica se conocen bien los métodos para identificar y aislar proteasas, e incluyen, pero no se limitan a, cromatografía por afinidad, ensayos de zimograma y electroforesis en gel. Una proteasa identificada a continuación se puede someter a ensayo mediante delección del gen que codifica la proteasa identificada a partir de una célula fúngica filamentosa que expresa un polipéptido recombinantes, tal como un polipéptido heterólogo o de mamífero, y determinando si la delección da como resultado una disminución de la actividad de la proteasa total de la célula, y un aumento del nivel de producción del polipéptido recombinante expresado. Los métodos para eliminar producir delección de genes, medir la actividad de proteasa total y medir los niveles de proteína producida se conocen bien en la técnica e incluyen los métodos que se describen en el presente documento.

Proteasas Aspárticas

Las proteasas aspárticas son enzimas que usan un resto de aspartato para la hidrólisis de los enlaces peptídicos en polipéptidos y proteínas. Por lo general, las proteasas aspárticas contienen dos restos de aspartato altamente conservados en su sitio activo que son óptimamente activos a pH ácido. Las proteasas aspárticas de organismos eucariotas tales como los hongos *Trichoderma* incluyen pepsinas, catepsinas y reninas. Estas proteasas aspárticas tienen una estructura de dos dominios, que se cree que surge de la duplicación de genes ancestrales. Coherente con un suceso de duplicación de ese tipo, el plegamiento total de cada dominio es similar, aunque las secuencias de los dos dominios han comenzado a divergir. Cada dominio contribuye con uno de los restos de aspartato catalíticos. El sitio activo se encuentra en una hendidura formada por los dos dominios de las proteasas aspárticas. Las proteasas aspárticas eucariotas incluyen además puentes disulfuro conservados, que pueden ayudar en la identificación de los polipéptidos como proteasas de ácido aspártico.

Se han identificado nueve proteasas aspárticas en células fúngicas de *Trichoderma*: *pep1* (tre74156); *pep2* (tre53961); *pep3* (tre121133); *pep4* (tre77579), *pep5* (tre81004), y *pep7* (tre58669), *pep8* (tre122076), *pep11* (121306), y *pep12* (tre119876).

Los ejemplos de proteasas aspárticas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, *pep1* de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 22), *pep2* de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 18), *pep3* de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 19); *pep4* de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 20), *pep5* de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 21) y *pep7* de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 23), EGR48424 *pep8* de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 134), EGR49498 *pep11* de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 135), EGR52517 *pep12* de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 35), y homólogos de las mismas. Los ejemplos de homólogos de proteasas *pep1*, *pep2*, *pep3*, *pep4*, *pep5*, *pep7*, *pep8*, *pep11* y *pep12* identificados en otros organismos también se describen en el documento PCT/EP/2013/050186, cuyo contenido se incorpora por referencia.

Serina Proteasas de Tipo Tripsina

Las serina proteasas de tipo tripsina son enzimas con una especificidad de sustrato similar a la de la tripsina. Las serina proteasas de tipo tripsina usan un resto de serina para la hidrólisis de los enlaces peptídicos en polipéptidos y proteínas. Normalmente, las serina proteasas de tipo tripsina escinden los enlaces peptídicos después de un resto de aminoácido con carga positiva. Las serina proteasas de tipo tripsina de organismos eucariotas tales como los hongos *Trichoderma* incluyen la tripsina 1, la tripsina 2 y la mesotripsina. Estas serinas proteasas de tipo tripsina generalmente contienen una tríada catalítica de tres restos de aminoácido (tales como histidina, aspartato y serina) que forman un relevo de carga que sirve para hacer que el sitio activo sea nucleófilo. Las serina proteasas de tipo tripsina eucariotas incluyen además un "orificio de oxianión" formado por los átomos de hidrógeno de la amida de la estructura principal de la glicina y la serina, que pueden ayudar en la identificación de los polipéptidos que son serina proteasas de tipo tripsina.

Se ha identificado una serina proteasa de tipo tripsina en células fúngicas de *Trichoderma*: *tsp1* (tre73897). Como se ha discutido en el documento PCT/EP/2013/050186, se ha demostrado que *tsp1* tiene un impacto significativo en la expresión de glicoproteínas recombinantes, tales como las inmunoglobulinas.

Los ejemplos de proteasas *tsp1* adecuadas incluyen, pero no se limitan a, *tsp1* de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 24) y homólogos de las mismas. Los ejemplos de homólogos de proteasas *tsp1* identificados en otros organismos se describen en el documento PCT/EP/2013/050186.

Subtilisina Proteasas

Las subtilisina proteasas son enzimas con especificidad de sustrato similar a la de la subtilisina. Las subtilisina proteasas usan un resto de serina para la hidrólisis de los enlaces peptídicos en polipéptidos y proteínas. En general, las subtilisina proteasas son serina proteasas que contienen una tríada catalítica de los tres aminoácidos aspartato, histidina y serina. La disposición de estos restos catalíticos se comparte con la subtilisina prototípica de

Bacillus licheniformis. Las subtilisina proteasas de organismos eucariotas tales como los hongos *Trichoderma* incluyen furina, MBTPS1 y TPP2. La serina proteasas de tipo tripsina eucariotas incluyen además un resto de ácido aspártico en el orificio de oxianión.

- 5 Se han encontrado siete subtilisina proteasas en células fúngicas de *Trichoderma*: slp1 (tre51365); slp2 (tre123244); slp3 (tre123234); slp5 (tre64719), slp6 (tre121495), slp7 (tre123865), y slp8 (tre58698). La subtilisina proteasa *slp7* también se parece a la sedolisina proteasa *tpp1*.

- 10 Los ejemplos de proteasas slp adecuadas incluyen, pero no se limitan a, slp1 (SEQ ID NO: 25), slp2 (SEQ ID NO: 26); slp3 (SEQ ID NO: 27); slp5 (SEQ ID NO: 28), slp6 (SEQ ID NO: 29), slp7 (SEQ ID NO: 30), y slp8 (SEQ ID NO: 31), de *Trichoderma reesei*, y homólogos de las mismas. Los ejemplos de homólogos de proteasas slp identificadas en otros organismos se describen en el documento PCT/EP/2013/050186.

Proteasas Glutámicas

- 15 Las proteasas glutámicas son enzimas que hidrolizan los enlaces etílicos en polipéptidos y proteínas. Las proteasas glutámicas son insensibles a la pepstatina A, y por lo tanto en ocasiones se denominan proteasas ácidas insensibles a pepstatina. Aunque las proteasas glutámicas previamente se agruparon con las proteasas aspárticas y a menudo se denominan de forma conjunta proteasas ácidas, recientemente se ha encontrado que las proteasas glutámicas
20 tienen restos de sitio activo muy diferentes a dos de las proteasas aspárticas.

Se han identificado dos proteasas glutámicas en células fúngicas de *Trichoderma*: gap1 (tre69555) y gap2 (tre106661).

- 25 Los ejemplos de proteasas gap adecuadas incluyen, pero no se limitan a, gap1 de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 32), gap2 de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 33), y homólogos de las mismas. Los ejemplos de homólogos de proteasas gap identificados otros organismos se describen en el documento PCT/EP/2013/050186.

Sedolisina Proteasas y homólogos de proteasas

- 30 Las sedolisina proteasas son enzimas que usan un resto de serina para la hidrólisis de los enlaces peptídicos en polipéptidos y proteínas. Las sedolisina proteasas generalmente contienen una tríada catalítica única de serina, glutamato y aspartato. Las sedolisina proteasas también contienen un resto de aspartato en el orificio de oxianión. Las sedolisina proteasas de organismos eucariotas tales como los hongos *Trichoderma* incluyen la tripeptidil
35 peptidasa.

Los ejemplos de proteasas tpp1 adecuadas incluyen, pero no se limitan a, tpp1 tre82623 de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 34) y homólogos de las mismas. Los ejemplos de homólogos de proteasas tpp1 identificados en otros organismos se describen en el documento PCT/EP/2013/050186.

- 40 Como se usa en referencia a la proteasa, el término "homólogo" se refiere a una proteína que tiene actividad proteasa y presenta una similitud de secuencia con una secuencia de proteasa conocida (referencia). Los homólogos se pueden identificar mediante cualquier método conocido en la técnica, preferentemente, usando la herramienta BLAST para comparar una secuencia de referencia con una segunda secuencia o fragmento de una
45 secuencia o con una base de datos de secuencias. Como se describe en la sección "Definiciones", BLAST comparará secuencias basadas en el porcentaje de identidad y similitud.

Preferentemente, una proteasa homóloga tiene una identidad de al menos un 30 % con (opcionalmente un 30 %, un 40 %, un 45 %, un 50 %, un 55 %, un 60 %, un 65 %, un 70 %, un 75 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 95 %, un 99 % o un 100 % con respecto a la región especificada, o, cuando no se especifica, con respecto a toda la secuencia), cuando se compara con una de las secuencias de proteasas que se han enumerado anteriormente, incluyendo *pep1*, *pep2*, *pep3*, *pep4*, *pep5*, *pep7*, *pep8*, *pep11*, *pep12*, *tsp1*, *slp1*, *slp2*, *slp3*, *slp5*, *slp6*, *slp7*, *slp8*, *tpp1*, *gap1* y *gap2* de *T. reesei*. Las proteasas homólogas correspondientes de *N. crassa* y *M. thermophila* se muestran en la SEQ ID NO: 136-169.

- 55 **Reducción de la actividad de proteasas en la célula fúngica filamentosa de la invención**

Las células fúngicas filamentosas de acuerdo con la invención tienen una actividad reducida de al menos una proteasa endógena, por lo general 2, 3, 4, 5 o más, para mejorar la estabilidad y la producción de la proteína con O-manosilación reducida en dicha célula fúngica filamentosa, preferentemente en una célula de *Trichoderma* deficiente en PMT.

- La actividad de las proteasas encontradas en las células fúngicas filamentosas se puede reducir mediante cualquier método conocido por los expertos en la materia. En algunas realizaciones, la actividad reducida de las proteasas se consigue reduciendo la expresión de la proteasa, por ejemplo, mediante la modificación del promotor o ARNi.

En otras realizaciones, la expresión reducida o eliminada de las proteasas es el resultado de polinucleótidos no codificantes o construcciones de ARNi que son específicas para cada uno de los genes que codifican cada una de las proteasas. En una realización, una construcción de ARNi es específica para un gen que codifica una proteasa aspártica como una proteasa de tipo pep, una serina proteasa de tipo tripsina tal como una tsp1, una proteasa glutámica tal como una proteasa de tipo gap, una subtilisina proteasa tal como una proteasa de tipo sip, o una sedolisina proteasa tal como una proteasa tpp1 o slp7. En una realización, una construcción de ARNi es específica para el gen que codifica una proteasa de tipo slp. En una realización, una construcción de ARNi es específica para el gen que codifica slp2, slp3, slp5 o slp6. En una realización, una construcción de ARNi es específica para dos o más proteasas. En una realización, dos o más proteasas son una cualquiera de las proteasas de tipo pep, una cualquiera de las serina proteasas de tipo tripsina, una cualquiera de las proteasas de tipo slp, una cualquiera de las proteasas de tipo gap y/o una cualquiera de las sedolisina proteasas. En una realización, dos o más proteasas son slp2, slp3, slp5 y/o slp6. En una realización, la construcción de ARNi comprende una cualquiera de las siguientes secuencias de ácido nucleico (véase también el documento PCT/EP/2013/050186).

Secuencia diana de ARNi	
GCACACTTTCAAGATTGGC (SEQ ID NO: 15)	
GTACGGTGTGCCAAGAAG (SEQ ID NO: 16)	
GTTGAGTACATCGAGCGCGACAGCATTGTGCACACCATGCTTCCCCTCGAGTC CAAGGACAGCATCATCGTTGAGGACTCGTGCAACGGCGAGACGGAGAAGCAG GCTCCCTGGGGTCTTGCCCGTATCTCTACCGAGAGACGCTCAACTTTGGCTC CTTCAACAAGTACCTCTACACCGCTGATGGTGGTGAGGGTGTGATGCCTATGT CATTGACACCGGCACCAACATCGAGCACGTCGACTTTGAGGGTCGTGCCAAGT GGGGCAAGACCATCCCTGCCGGCGATGAGGACGAGGACGGCAACGGCCACG GCACTCACTGCTCTGGTACCGTTGCTGGTAAGAAGTACGGTGTGCCAAGAAG GCCCACGTCTACGCCGTCAAGGTGCTCCGATCCAACGGATCCGGCACCATGTC TGACGTCGTCAAGGGCGTCGAGTACG (SEQ ID NO:17)	

En otras realizaciones, la actividad reducida de las proteasas se consigue modificando el gen que codifica la proteasa. Los ejemplos de modificaciones de ese tipo incluyen, pero no se limitan a, una mutación, tal como una delección o alteración del gen que codifica dicha actividad de proteasa endógena.

Por consiguiente, la invención se refiere a una célula de *Trichoderma* deficiente en PMT, que tiene una primera mutación que reduce o elimina al menos una actividad de proteasa endógena en comparación con una célula fúngica filamentosa precursora que no tiene una mutación deficiente en proteasa de ese tipo, siendo dichas proteasas endógenas seleccionadas entre proteasas aspárticas, serina proteasas de tipo tripsina, subtilisina proteasas, proteasas glutámicas, y sedolisina proteasas, comprendiendo dicha célula fúngica filamentosa además al menos una segunda mutación en un gen *PMT* que reduce la actividad de proteína O-manosiltransferasa endógena en comparación con una célula precursora de *Trichoderma* que no tiene dicha segunda mutación deficiente en PMT.

La mutación de delección o alteración incluye, pero no se limita a, una mutación de desactivación genética, una mutación de truncamiento, una mutación puntual, una mutación de sentido erróneo, una mutación de sustitución, una mutación de desplazamiento de marco, una mutación de inserción, una mutación de duplicación, una mutación de amplificación, una mutación de translocación o una mutación de inversión, y que da como resultado una reducción de la actividad de proteasa correspondiente. Los métodos para generar al menos una mutación en un gen que codifica una proteasa de interés son bien conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, mutagénesis aleatoria e identificación sistemática, mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis por PCR, mutagénesis por inserción, mutagénesis química e irradiación.

En ciertas realizaciones, una parte del gen que codifica la proteasa se modifica, tal como la región que codifica el dominio catalítico, la región de codificación o una secuencia de control requerida para la expresión de la región de codificación. Una secuencia de control del gen de ese tipo puede ser una secuencia promotora o una parte funcional de la misma, es decir, una parte que es suficiente para afectar la expresión del gen. Por ejemplo, una secuencia promotora se puede inactivar dando como resultado que no haya expresión o un promotor más débil se puede sustituir por la secuencia promotora nativa para reducir la expresión de la secuencia de codificación. Otras secuencias de control para la posible modificación incluyen, pero no se limitan a, una secuencia líder, una secuencia propeptídica, una secuencia señal, un terminador de transcripción y un activador de la transcripción.

Los genes que codifican proteasas que están presentes en las células fúngicas filamentosas también se pueden modificar usando técnicas de delección genética para eliminar o reducir la expresión del gen. Las técnicas de delección

genética permiten la eliminación parcial o completa del gen, eliminando de ese modo su expresión. En tales métodos, la delección del gen se puede conseguir mediante recombinación homóloga usando un plásmido que se ha construido para que contenga contiguamente las regiones en las posiciones 5' y 3' que flanquean el gen.

5 La proteasa que codifica los genes que están presentes en las células fúngicas filamentosas también se puede modificar introduciendo, sustituyendo y/o eliminando uno o más nucleótidos en el gen, o una secuencia de control de la misma requerida para la transcripción o traducción del gen. Por ejemplo, los nucleótidos se pueden insertar o eliminar para la introducción de un codón de parada, la eliminación del codón de inicio o un desplazamiento del marco en el marco de lectura abierto. Una modificación de ese tipo se puede conseguir mediante métodos conocidos en la técnica, que incluyen sin limitación, mutagénesis dirigida al sitio y mutagénesis generada por peR (véase, por ejemplo, Botstein y Shortie, 1985, Science 229: 4719; Lo *et al.*, 1985, Proceedings of the National Academy of Sciences USA 81: 2285; Higuchi *et al.*, 1988, Nucleic Acids Research 16: 7351; Shimada, 1996, Meth. Mol. Bioi. 57: 157; Ho *et al.*, 1989, Gene 77: 61; Horton *et al.*, 1989, Gene 77: 61; y Sarkar y Sommer, 1990, BioTechniques 8: 404).

15 Además, los genes que codifican proteasas que están presentes en las células fúngicas filamentosas se pueden modificar mediante técnicas de alteración génica insertando en el gen una construcción de alteración de ácido nucleico que contiene un fragmento de ácido nucleico homólogo al gen que creará una duplicación de la región de homología e incorporará una construcción de ácido nucleico entre las regiones duplicadas. Una interrupción del gen de ese tipo puede eliminar la expresión del gen si la construcción insertada separa el promotor del gen de la región de codificación o interrumpe la secuencia de codificación de tal manera que se produzca un producto génico no funcional. Una construcción de alteración puede ser simplemente un gen marcador seleccionable acompañado por las regiones en las posiciones 5' y 3' homólogas al gen. El marcador seleccionable permite la identificación de transformantes que contienen el gen alterado.

25 La proteasa que codifica los genes que están presentes en las células fúngicas filamentosas también se puede modificar mediante el proceso de conversión génica (véase, por ejemplo, Iglesias y Trautner, 1983, Molecular General Genetics 189: 5 73-76). Por ejemplo, en la conversión del gen, una secuencia de nucleótidos correspondiente al gen se somete a mutagénesis *in vitro* para producir una secuencia de nucleótidos defectuosa, que a continuación se transforma en una cepa de *Trichoderma* para producir un gen defectuoso. Por recombinación homóloga, la secuencia de nucleótidos defectuosa reemplaza al gen endógeno. Puede ser deseable que la secuencia de nucleótidos defectuosa también contenga un marcador para la selección de transformantes que contienen el gen defectuoso.

35 Los genes que codifican de proteasas de la presente divulgación que están presentes en células fúngicas filamentosas que expresan un polipéptido recombinante también se pueden modificar mediante técnicas no codificantes establecidas usando una secuencia de nucleótidos complementaria a la secuencia de nucleótidos del gen (véase, por ejemplo, Parish y Stoker, 1997, FEMS Microbiology Letters 154: 151-157). En particular, la expresión del gen por células filamentosas fúngicas se puede reducir o inactivar introduciendo una secuencia de nucleótidos complementaria a la secuencia de nucleótidos del gen, que se puede transcribir en la cepa y es capaz de hibridarse con el ARNm producido en las células. En condiciones que permiten que la secuencia de nucleótidos no codificantes complementaria se hibride con el ARNm, la cantidad de proteína traducida se reduce o elimina.

45 Los genes que codifican proteasas que están presentes en las células fúngicas filamentosas también se pueden modificar por mutagénesis aleatoria o específica usando métodos bien conocidos en la técnica, incluyendo sin limitación, mutagénesis química (véase, por ejemplo, Hopwood, The Isolation of Mutants in Methods in Microbiology (J.R. Norris y D.W. Ribbons, eds.) pp. 363-433, Academic Press, New York, 25 1970). La modificación del gen se puede realizar sometiendo las células fúngicas filamentosas a mutagénesis y seleccionando las células mutantes en las que la expresión del gen se ha reducido o inactivado. La mutagénesis, que puede ser específica o aleatoria, se puede realizar, por ejemplo, mediante el uso de un agente de mutagénesis físico o químico adecuado, el uso de un oligonucleótido adecuado, sometiendo la secuencia de ADN a mutagénesis generada por peR, o cualquier combinación de las mismas. Los ejemplos de agentes mutagénicos físicos y químicos incluyen, pero no se limitan a, irradiación ultravioleta (UV), hidroxilamina, N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG), N-metil-N'-nitrosoguanidina (NTG) O-metil hidroxilamina, ácido nitroso, etil metano sulfonato (EMS), bisulfito sódico, ácido fórmico y análogos de nucleótidos. Cuando se usan agentes de ese tipo, la mutagénesis se realiza generalmente mediante la incubación de las células fúngicas filamentosas, tales como células de *Trichoderma*, para que experimenten mutagénesis en presencia del agente de mutagénesis de elección en condiciones adecuadas, y a continuación seleccionando mutantes que muestran una expresión reducida o nula del gen.

60 En ciertas realizaciones, la al menos una mutación o modificación en un gen que codifica proteasa de la presente divulgación da como resultado una proteasa modificada que no tiene actividad proteasa detectable. En otras realizaciones, la al menos una modificación en un gen que codifica la proteasa de la presente divulgación da como resultado una proteasa modificada que tiene al menos un 25 % menos, al menos un 50 % menos, al menos un 75 % menos, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o un porcentaje más elevado de menos actividad de proteasa en comparación con una proteasa no modificada correspondiente.

Las células fúngicas filamentosas o células fúngicas de *Trichoderma* de la presente divulgación pueden tener una actividad proteasa reducida o no detectable de al menos tres, o al menos cuatro proteasas seleccionadas entre el grupo que consiste en pep1, pep2, pep3, pep4, pep5, pep8, pep11, pep12, tsp1, slp1, slp2, slp3, slp5, slp6, slp7, gap1 y gap2. En una realización preferente, una célula fúngica filamentososa de acuerdo con la invención es una

célula fúngica filamentososa deficiente en PMT que tiene una delección o alteración en al menos 3 o 4 proteasas endógenas, dando como resultado una actividad no detectable para tales proteasas endógenas eliminadas o interrumpidas y que además comprende otra mutación en un gen *PMT* que reduce actividad de proteína O-manosiltransferasa endógena en comparación con una célula precursora de *Trichoderma* que no tiene dicha mutación.

En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en pep1, tsp1, y slp1. En otras realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en gap1, slp1, y pep1. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en slp2, pep1 y gap1. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en slp2, pep1, gap1 y pep4. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en slp2, pep1, gap1, pep4 y slp1. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en slp2, pep1, gap1, pep4, slp1, y slp3. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en slp2, pep1, gap1, pep4, slp1, slp3, y pep3. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en slp2, pep1, gap1, pep4, slp1, slp3, pep3 y pep2. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en slp2, pep1, gap1, pep4, slp1, slp3, pep3, pep2 y pep5. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en slp2, pep1, gap1, pep4, slp1, slp3, pep3, pep2, pep5 y tsp1. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en slp2, pep1, gap1, pep4, slp1, slp3, pep3, pep2, pep5, tsp1 y slp7. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en slp2, pep1, gap1, pep4, slp1, slp3, pep3, pep2, pep5, tsp1, slp7 y slp8. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en slp2, pep1, gap1, pep4, slp1, slp3, pep3, pep2, pep5, tsp1, slp7, slp8 y gap2. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en al menos tres proteasas endógenas seleccionadas entre el grupo que consiste en pep1, pep2, pep3, pep4, pep5, pep8, pep11, pep12, tsp1, slp2, slp3, slp7, gap1 y gap2. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en al menos tres a seis proteasas endógenas seleccionadas entre el grupo que consiste en pep1, pep2, pep3, pep4, pep5, tsp1, slp1, slp2, slp3, gap1 y gap2. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentososa deficiente en PMT o célula de *Trichoderma*, tiene una actividad de proteasa reducida o no detectable en al menos siete a diez proteasas endógenas seleccionadas entre el grupo que consiste en pep1, pep2, pep3, pep4, pep5, pep7, pep8, tsp1, slp1, slp2, slp3, slp5, slp6, slp7, slp8, tpp1, gap1 y gap2.

En una realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, la célula fúngica filamentososa de la invención no comprende una delección o alteración de un gen endógeno que codifica una proteína chaperona. En una realización particular de la presente invención, dicha célula fúngica filamentososa de la invención expresa una proteína chaperona endógena funcional, la Proteína Disulfuro Isomerasa (PDI).

O-manosiltransferasa endógena en células fúngicas filamentosas

Las O-manosiltransferasas están codificadas por genes *pmt* en levaduras y hongos filamentosos, que se pueden dividir en tres subfamilias, basándose en homologías de secuencias: PMT1, PMT2 y PMT4.

Por ejemplo, en la levadura *S. cerevisiae*, se han caracterizado 7 PMT diferentes: ScPMT1, ScPMT5 y ScPMT7 pertenecen a la subfamilia PMT1. ScPMT2, ScPMT3 y ScPMT6 pertenecen a la subfamilia PMT2 y ScPMT4 pertenece a la subfamilia PMT4. Las O-manosiltransferasas de ese tipo y sus secuencias de codificación se pueden identificar y aislar a partir de células fúngicas filamentosas y se pueden someter a ensayo para determinar si la reducción de su actividad permite la reducción de la O-manosilación en la proteína recombinante O-manosilada secretada que preferentemente no influye en la producción de un polipéptido recombinante de ese tipo a partir de la célula fúngica filamentososa. Los métodos para identificar y aislar las PMT se conocen bien en la técnica. A continuación una O-manosiltransferasa identificada se puede someter a ensayo mediante delección del gen que codifica la O-manosiltransferasa identificada a partir de una célula fúngica filamentososa que expresa una proteína O-manosilada recombinante, tal como una proteína O-manosilada heteróloga o de mamífero, y determinando si la the delección da como resultado una disminución de la actividad de O-manosiltransferasa total de la célula, no influyendo preferentemente en el nivel de producción de la proteína recombinante expresada. Los métodos para producir una delección de genes y medir los niveles de proteína producida se conocen bien la técnica que incluyen los métodos

que se describen en el presente documento.

Se han identificado tres O-manosiltransferasas en células fúngicas de *Trichoderma*: pmt1, pmt2 y pmt3, que pertenecen respectivamente, basándose en homologías de secuencias, a la subfamilia PMT4, PMT1 y PMT2.

Los ejemplos de O-manosiltransferasas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, pmt1 de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 2), pmt2 de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 3), pmt3 de *Trichoderma reesei* (SEQ ID NO: 4) y homólogos de las mismas. La Figura 5 muestra la filogenia de homólogos de pmt en hongos filamentosos seleccionados y la figura 6 muestra un alineamiento de dominios conservados de pmt1 entre diferentes especies.

En una realización preferente, dicha célula fúngica filamentosa deficiente en PMT, por ejemplo, una célula de *Trichoderma*, tiene al menos una mutación en un gen *PMT* seleccionada entre el grupo que consiste en:

- a) gen *PMT1* que comprende el polinucleótido de la SEQ ID NO: 1,
- b) un gen homólogo funcional del gen *PMT1*, cuyo gen homólogo funcional es capaz de restablecer el nivel de O-manosilación precursora mediante complementación funcional cuando se introduce en una cepa de *T. reesei* que tiene una alteración en dicho gen *PMT1*, y,
- c) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene una identidad de al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 90 %, o al menos un 95 % con la SEQ ID NO: 2, teniendo dicho polipéptido actividad de proteína O-manosiltransferasa.

Más preferentemente, dicha célula fúngica filamentosa deficiente en PMT, por ejemplo, una célula de *Trichoderma*, tiene al menos una mutación en un gen *PMT* que

- a) tiene un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene una identidad de al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 90 %, o al menos un 95 % con la SEQ ID NO: 2, y,
- b) es capaz de restablecer, al menos un 50 %, preferentemente aproximadamente un 100 % del nivel de O-manosilación precursora mediante complementación funcional cuando se introduce en una cepa de *T. reesei* que tiene una alteración en un gen *PMT1* de *T. reesei*.

En los ejemplos que siguen a continuación se desvelan métodos para alterar el gen *PMT1* en *T. reesei*.

Las secuencias de homólogos de pmt1 en hongos filamentosos se pueden encontrar en las bases de datos usando herramientas de búsqueda de alineamiento de secuencias, tales como el algoritmo BLAST. Incluyen, pero no se limitan a, gi391865791 de *A. oryzae*, EIT75070.1 (SEQ ID NO: 5), gi317036343, XP_001398147.2 de *A. niger* (SEQ ID NO: 6), gi67522004, XP_659063.1 de *A. nidulans* (SEQ ID NO: 7), gi358379774, EHK17453.1 (de *T. virens* SEQ ID NO: 8), gi358400594, EHK49920.1 de *T. atroviride* (SEQ ID NO: 9), gi342879728, EGU80965.1 de *F. oxysporum* (SEQ ID NO: 10), gi46107450, XP_380784.1 de *G. zeae* (SEQ ID NO: 11), gi367020262, XP_003659416.1 de *M. thermophila* (SEQ ID NO: 12), gi164423013, XP_963926.2 de *N. crassa* (SEQ ID NO: 13), y gi255953619, XP_002567562.1 de *P. chrysogenum* (SEQ ID NO: 14).

Reducción de la actividad de proteína O-manosiltransferasa endógena en la célula fúngica filamentosa de la invención

Las células fúngicas filamentosas deficientes en PMT de acuerdo con la invención tienen una actividad reducida de al menos una actividad de O-manosiltransferasa, para reducir o disminuir la O-manosilación en dicha célula fúngica filamentosa, preferentemente célula de *Trichoderma*.

La actividad de dichas O-manosiltransferasas encontradas en células fúngicas filamentosas se puede reducir mediante cualquier método conocido por las personas con experiencia en la materia. En algunas realizaciones la actividad reducida de las O-manosiltransferasas se consigue reduciendo la expresión de las O-manosiltransferasas, por ejemplo, mediante modificación del promotor o ARNi.

En otras realizaciones, la actividad reducida de las O-manosiltransferasas se consigue modificando el gen que codifica la O-manosiltransferasa. Los ejemplos de modificaciones de ese tipo incluyen, pero no se limitan a, una mutación, tal como una delección o alteración del gen que codifica dicha actividad de O-manosiltransferasa endógena.

La mutación por delección o alteración se puede llevar a cabo tal como se ha descrito en las secciones mencionadas anteriormente, en particular en relación a la delección o alteración de genes que codifican proteasas. Estas incluyen, pero no se limitan a, mutación de desactivación genética, una mutación de truncamiento, una mutación puntual, una mutación de sentido erróneo, una mutación de sustitución, una mutación de desplazamiento de marco, una mutación de inserción, una mutación de duplicación, una mutación de amplificación, una mutación de translocación o una mutación de inversión, y que da como resultado una reducción de la actividad de O-manosiltransferasa correspondiente.

En ciertas realizaciones, la mutación o modificación en un gen que codifica la O-manosiltransferasa (PMT) de la presente divulgación da como resultado una O-manosiltransferasa modificada que no tiene actividad de O-manosiltransferasa detectable. En otras realizaciones, la al menos una modificación en un gen que codifica la O-manosiltransferasa de la presente divulgación da como resultado una O-manosiltransferasa modificada que tiene Al menos un 25 % menos, al menos un 50 % menos, al menos un 75 % menos, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o Un porcentaje más elevado menos de actividad de O-manosiltransferasa en comparación con una O-manosiltransferasa no modifica la correspondiente.

En una realización preferente, una mutación que reduce la actividad de proteína O-manosiltransferasa endógena en una célula fúngica filamentosa deficiente en PMT, por ejemplo, una célula de *Trichoderma*, es una célula deficiente en PMT que tiene una delección o alteración de un gen *PMT* que codifica dicha actividad de O-manosiltransferasa, dando como resultado una expresión no detectable para dicho gen PMT con delección o alteración.

Una realización específica de la presente invención es una célula de *Trichoderma reesei* deficiente en PMT, que comprende

- a. al menos una primera mutación que reduce una actividad de proteasa endógena en comparación con una célula precursora de *Trichoderma* que no tiene dicha primera mutación, y,
- b. al menos una alteración o delección del gen *PMT1* de *T. reesei*.
- c. opcionalmente, dicha célula expresa además una proteína heteróloga con serina o treonina, que ha reducido la O-manosilación debido a dicha mutación en dicho gen PMT.

La reducción (o disminución) de la actividad de O-manosiltransferasa se puede determinar comparando el nivel de O-manosilación de una proteína heteróloga en la célula fúngica filamentosa deficiente en PMT de acuerdo con la invención, con el nivel de O-manosilación de una proteína heteróloga en la célula precursora que no tiene dicha mutación deficiente en PMT.

En realizaciones específicas, la célula fúngica filamentosa deficiente en PMT de acuerdo con la invención expresa una proteína heteróloga que ha reducido la O-manosilación debida a dicha mutación en dicho gen PMT y el nivel de O-manosilación en la proteína heteróloga expresada es al menos un 20 %, un 40 %, un 50 %, un 60 %, un 70 %, un 80 %, o un 90 % más bajo que el nivel de O-manosilación de la proteína heteróloga cuando se expresa en la célula fúngica filamentosa precursora que no tiene dicha segunda mutación deficiente de PMT.

El nivel de O-manosilación también se puede determinar como el % en moles de polipéptido O-manosilado por polipéptido total producido por la célula hospedadora de la invención. Los métodos analíticos, tales como análisis MALDI TOF MS, se pueden usar para determinar el nivel de O-manosilación como se describe en detalle en el Ejemplo 1 que sigue a continuación, en la sección titulada "Análisis de las cepas M403, M404, M406 y M407 de *Dpmt1*". En resumen, un polipéptido tal como se produce por la célula fúngica filamentosa deficiente en PMT se purifica para determinar su nivel de O-manosilación. La estructura no O-manosilada, y la estructura O-manosilada del polipéptido se separan y cuantifican por análisis MALDI-TOF MS. Por ejemplo, la cuantificación del nivel de O-manosilación se puede llevar a cabo determinando los valores del área o la intensidad de los diferentes picos del espectro de MALDI-TOF MS. Un nivel de O-manosilación de un 5 % tal como se determina con dicho método, usando valores de área o intensidad, refleja que aproximadamente un 95 % (% en moles) de los polipéptidos analizados en la composición no son realizaciones específicas O-manosiladas, la célula fúngica filamentosa deficiente en PMT expresa una proteína heteróloga que ha reducido la O-manosilación debido a dicha mutación en dicho gen PMT, y el nivel de O-manosilación en la proteína heteróloga expresada (por ejemplo, tal como se ha definido anteriormente determinando los valores del área o intensidad de los picos del espectro MALDI TOF MS) se reduce a menos de un 25 %, un 20 %, un 17 %, un 15 %, un 13 %, un 12 %, un 11 %, un 10 %, un 9 %, un 8 %, un 7 %, un 6 %, un 5 %, un 4 %, un 3 %, un 2 %, o un 1 %, o un 0,5 % (como % en moles de restos de manosa por cadena polipeptídica).

En una realización, la proteína heteróloga con una reducción de la O-manosilación se selecciona entre el grupo que consiste en:

- a) una inmunoglobulina, tal como IgG,
- b) una cadena ligera o una cadena pesada de una inmunoglobulina,
- c) una cadena pesada o una cadena ligera de un anticuerpo,
- d) un anticuerpo de cadena individual,
- e) un anticuerpo camélido,
- f) un anticuerpo de dominio individual monomérico o multimérico,
- g) un fragmento FAb, un fragmento FAb2, y,
- h) sus fragmentos de unión a antígeno.

En una realización específica, una mutación que reduce la actividad de O-manosiltransferasa endógena es una delección o una alteración de un gen *PMT* que codifica dicha actividad de proteína O-manosiltransferasa endógena. Por ejemplo, en la célula de *Trichoderma*, una mutación que reduce la actividad de O-manosiltransferasa endógena

es una delección o una alteración de un gen PMT1.

Célula fúngica filamentosa para producir glicoproteínas con O-manosilación reducida y N-glicanos de tipo mamífero

5 Las células fúngicas filamentosas de acuerdo con la presente invención pueden ser útiles en particular para producir glicoproteínas heterólogas con O-manosilación reducida y N-glicanos de tipo mamífero, tal tales N-glicanos complejos.

10 Por consiguiente, en un aspecto, la célula fúngica filamentosa además se modifica genéticamente para producir un N-glicano de tipo mamífero, permitiendo de ese modo la producción de la glicoproteína *in vivo* sin O-manosilación o con ella reducida y con N-glicano de tipo mamífero como glicoformas principales.

15 En ciertas realizaciones, este aspecto incluye métodos para producir glicoproteínas con N-glicanos de tipo mamífero en una célula de *Trichoderma*.

En cierta realización, la glicoproteína comprende, como glicoforma principal, el N-glicano de tipo mamífero que tiene la fórmula $[(\text{Gal}\beta 4)_x \text{GlcNAc}\beta 2]_z \text{Man}\alpha 3 [(\text{Gal}\beta 4)_y \text{GlcNAc}\beta 2]_w \text{Man}\alpha 6 \text{Man}\{\beta 4 \text{GlcNAc}\beta \text{GlcNAc}$, en la que () define una ramificación en la estructura, en la que [] o { } definen una parte de la estructura de glicano ya sea presente o ausente en una secuencia lineal, y en la que x, y, z y w son 0 o 1, independientemente. En una realización w y z son 1.

20

En ciertas realizaciones, la glicoproteína comprende, como glicoforma principal, N-glicano de tipo mamífero seleccionado entre el grupo que consiste en:

25

- i. $\text{Man}\alpha 3 [\text{Man}\alpha 6 (\text{Man}\alpha 3) \text{Man}\alpha 6] \text{Man}\beta 4 \text{GlcNAc}\beta 4 \text{GlcNAc}$ (glicoforma Man5);
- ii. $\text{GlcNAc}\beta 2 \text{Man}\alpha 3 [\text{Man}\alpha 6 (\text{Man}\alpha 3) \text{Man}\alpha 6] \text{Man}\beta 4 \text{GlcNAc}\beta 4 \text{GlcNAc}$ (glicoforma GlcNAcMan5);
- iii. $\text{Man}\alpha 6 (\text{Man}\alpha 3) \text{Man}\beta 4 \text{GlcNAc}\beta 4 \text{GlcNAc}$ (glicoforma Man3);
- iv. $\text{Man}\alpha 6 (\text{GlcNAc}\beta 2 \text{Man}\alpha 3) \text{Man}\beta 4 \text{GlcNAc}\beta 4 \text{GlcNAc}$ (GlcNAcMan3) o,
- 30 v. N-glicanos de tipo complejo seleccionados entre la glicoforma G0, G1, o G2.

En una realización, la composición de glicoproteína con N-glicanos de tipo mamífero, producida preferentemente con una cepa con desactivación del gen *alg3*, incluye glicoformas que básicamente carecen o están desprovistas de glicanos $\text{Man}\alpha 3 [\text{Man}\alpha 6 (\text{Man}\alpha 3) \text{Man}\alpha 6] \text{Man}\beta 4 \text{GlcNAc}\beta 4 \text{GlcNAc}$ (Man5). En realizaciones específicas, la célula fúngica filamentosa produce glicoproteínas con, como glicoforma principal, la estructura de trimanosil N-glicano $\text{Man}\alpha 3 [\text{Man}\alpha 6] \text{Man}\beta 4 \text{GlcNAc}\beta 4 \text{GlcNAc}$. En otras realizaciones, la célula fúngica filamentosa produce glicoproteínas con, como glicoforma principal, la estructura de N-glicano G0 $\text{GlcNAc}\beta 2 \text{Man}\alpha 3 [\text{GlcNAc}\beta 2 \text{Man}\alpha 6] \text{Man}\beta 4 \text{GlcNAc}\beta 4 \text{GlcNAc}$.

35

40 En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentosa deficiente en PMT una composición de glicoproteínas con una mezcla de diferentes N-glicanos.

En algunas realizaciones, el N-glicano $\text{Man}\alpha 3 \text{GlcNAc}\beta 2$ (es decir, $\text{Man}\alpha 3 [\text{Man}\alpha 6] \text{Man}\beta 4 \text{GlcNAc}\beta 4 \text{GlcNAc}$) representa al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más de N-glicanos neutros totales (% en moles) de una proteína heteróloga con O-manosilación reducida, como se expresa en las células fúngicas filamentosas de la invención.

45

En otras realizaciones, el N-glicano $\text{GlcNAc}\beta 2 \text{Man}\alpha 3$ (por ejemplo G0 $\text{GlcNAc}\beta 2 \text{Man}\alpha 3 [\text{GlcNAc}\beta 2 \text{Man}\alpha 6] \text{Man}\beta 4 \text{GlcNAc}\beta 4 \text{GlcNAc}$) representa al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más de N-glicanos neutros totales (% en moles) de una proteína heteróloga con O-manosilación reducida, como se expresa en las células fúngicas filamentosas de la invención.

50

En otras realizaciones, el N-glicano $\text{GalGlcNAc}\beta 2 \text{Man}\alpha 3 \text{GlcNAc}\beta 2$ (por ejemplo N-glicano G1) representa al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más de N-glicanos neutros totales (% en moles) de una proteína heteróloga con O-manosilación reducida, como se expresa en las células fúngicas filamentosas de la invención.

55

En otras realizaciones, el N-glicano $\text{Gal}\beta 2 \text{GlcNAc}\beta 2 \text{Man}\alpha 3 \text{GlcNAc}\beta 2$ (por ejemplo N-glicano G2) representa al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más de N-glicanos neutros totales (% en moles) de una proteína heteróloga con O-manosilación reducida, como se expresa en las células fúngicas filamentosas de la invención.

60

En otras realizaciones, el N-glicano de tipo complejo representa al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más de N-glicanos neutros totales (% en moles) de una proteína heteróloga con O-manosilación reducida, como se expresa en las células fúngicas filamentosas de la invención.

65

90 % o más de N-glicanos neutros totales (% en moles) de una proteína heteróloga con O-manosilación reducida, como se expresa en las células fúngicas filamentosas de la invención.

5 En otras realizaciones, el N-glicano de tipo híbrido representa al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más de N-glicanos neutros totales (% en moles) de una proteína heteróloga con O-manosilación reducida, como se expresa en las células fúngicas filamentosas de la invención.

10 En otras realizaciones, menos de un 0,5 %, un 0,1 %, un 0,05 %, o menos de un 0,01 % del N-glicano de la composición de glicoproteína producido por la célula hospedadora de la invención, comprende galactosa. En ciertas realizaciones, ninguno de los N-glicanos comprende galactosa.

15 Las estructuras de Neu5Gc y Gala- (Gal α 3Gal β 4GlcNAc terminal de extremo no reductor) son modificaciones de anticuerpos xenoantigénicas (obtenidas a partir de animales) conocidas que son producidas en células animales tales como células CHO. Las estructuras pueden ser antigénicas y, por lo tanto, perjudiciales incluso a bajas concentraciones. Los hongos filamentosos de la presente invención carecen de rutas de biosíntesis para producir las estructuras de Neu5Gc y Gala- terminales. En una realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes menos de un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % de los N-glicanos y/o O-glicanos de la composición de glicoproteína comprende una estructura de Neu5Gc y/o Gala-. En una realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, menos de un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % de los N-glicanos y/o O-glicanos de la composición de anticuerpo comprende una estructura de Neu5Gc y/o Gala-.

25 Las células fúngicas filamentosas de la presente invención carecen de genes para producir proteínas heterólogas fucosiladas. En una realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, menos de un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % del N-glicano de la composición de glicoproteína comprende estructuras de núcleo de fucosa. En una realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, menos de un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % del N-glicano de la composición de anticuerpo comprende estructuras de núcleo de fucosa.

30 La estructura de Gal β 4GlcNAc terminal del N-glicano de glicanos producidos por células de mamífero influye en la bioactividad de los anticuerpos y Gal β 3GlcNAc puede ser una estructura xenoantigénica de proteínas producidas a partir de células vegetales. En una realización que se puede combinar con una o más de las realizaciones precedentes, menos de un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % del N-glicano de la composición de glicoproteína comprende epítomos de galactosa terminales Gal β 3/4GlcNAc. En una realización que se puede combinar con una o más de las realizaciones precedentes, menos de un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % del N-glicano de la composición de anticuerpo comprende epítomos de galactosa terminales Gal β 3/4GlcNAc.

40 La glicación es una modificación de proteínas posterior a la producción común, que resulta de la reacción química entre azúcares reductores tales como glucosa y los grupos amino primario en la proteína. La glicación se produce generalmente a pH neutro o ligeramente alcalino en condiciones de cultivos celulares, por ejemplo, cuando se producen anticuerpos en células CHO y analizándolos (véase, por ejemplo, Zhang *et al.*, (2008) Unveiling a glycation hot spot in a recombinant humanized monoclonal antibody. Anal Chem. 80 (7): 2379-2390). Dado que los hongos filamentosos de la presente invención generalmente se cultivan en pH ácido, la aparición de glicación se reduce. En una realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, menos de un 1,0 %, un 0,5 %, un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % de la composición de glicoproteína comprende estructuras de glicación. En una realización que se puede combinar con las realizaciones precedentes, menos de un 1,0 %, un 0,5 %, un 0,1 %, un 0,01 %, un 0,001 %, o un 0 % de la composición de anticuerpo comprende estructuras de glicación.

50 En una realización, la composición de glicoproteína, tal como un anticuerpo, está desprovista de uno, dos, tres, cuatro, cinco, o seis de las estructuras seleccionadas entre el grupo de Neu5Gc, Gal α 3Gal β 4GlcNAc terminal, Gal β 4GlcNAc terminal, Gal β 3GlcNAc terminal, fucosa unida a núcleo y estructuras de glicación.

55 En ciertas realizaciones, una proteína de tipo glicoproteínas con N-glicano de tipo mamífero y O-manosilación reducida, tal como se produce en la célula fúngica filamentosa de la invención, es una proteína terapéutica. Las proteínas terapéuticas pueden incluir inmunoglobulina, o una proteína de fusión que comprende un fragmento Fc u otras glicoproteínas terapéuticas, tales como anticuerpos, eritropoyetinas, interferones, hormonas de crecimiento, albúminas o albúmina de suero, enzimas, o factores de coagulación sanguínea y pueden ser útiles en el tratamiento de seres humanos o animales. Por ejemplo, las glicoproteínas con N-glicano de tipo mamífero y O-manosilación reducida tal como se producen mediante la célula fúngica filamentosa de acuerdo con la invención pueden ser glicoproteínas terapéuticas tales como rituximab.

Los métodos para producir glicoproteínas con N-glicanos de tipo mamífero en células fúngicas filamentosas también se describen por ejemplo en el documento WO2012/069593.

65 En un aspecto, la célula fúngica filamentosa de acuerdo con la invención como se ha descrito anteriormente, se modifica además genéticamente para imitar la ruta tradicional de las células de mamíferos, a partir de N-glicanos

Man5 como sustrato aceptor para GnTI, y seguida de forma secuencial por GnT1, y etapas de reacción de manosidasa II y GnTII (en lo sucesivo denominada "ruta tradicional" para producir glicofomas G0). En una variante, se usa una única enzima recombinante que comprende los dominios catalíticos de GnTI y GnTII.

Alternativamente, en un segundo aspecto, la célula fúngica filamentosa de acuerdo con la invención como se ha descrito anteriormente se modifica genéticamente para que tenga una expresión reducida de *alg3*, permitiendo la producción del núcleo de N-glicanos Man3GlcNAc2, como sustrato aceptor para las reacciones posteriores de GnTI y GnTII y evitando la necesidad de manosidasa α 1,2 o enzimas manosidasa II (la ruta reducida de "*alg3*"). En una variante, se usa una única enzima recombinante que comprende los dominios catalíticos de GnTI y GnTII.

En dichas realizaciones para imitar la ruta tradicional para producir glicoproteínas con N-glicanos de tipo mamífero, una célula fúngica filamentosa que expresa Man5, tal como cepa de *T. reesei*, se puede transformar con una GnTI o una enzima de fusión GnTII/GnTI usando integración aleatoria o por integración dirigida a un sitio conocido que no influye en la glicosilación de Man5. Se seleccionan cepas que sintetizan N-glicano GlcNAcMan5 para la producción de proteínas con glicano o glicanos de tipo híbrido. Las cepas seleccionadas se transforman adicionalmente con un dominio catalítico de una manosidasa de tipo manosidasa II capaz de escindir las estructuras de Man5 para generar GlcNAcMan3 para la producción de proteínas que tienen la glicofoma GlcNAcMan3 correspondiente o su(s) derivado(s). En ciertas realizaciones, las enzimas de tipo manosidasa II pertenecen a la familia 38 de glicosido hidrolasa (cazy.org/GH38_all.html). Las enzimas caracterizadas incluyen las enzimas enumeradas en cazy.org/GH38_characterized.html. Las enzimas especialmente útiles son las enzimas de tipo Golgi que escinden glicoproteínas, tales como las de la subfamilia α -manosidasa II α -manosidasa II (Man2A1; ManA2). Los ejemplos de enzimas de ese tipo incluyen la enzima humana AAC50302, enzima de *D. melanogaster* (Van den Elsen J.M. *et al.*, (2001) EMBO J. 20: 3008-3017), las que tienen la estructura 3D de acuerdo con 1HTY de referencia PDB, y otras que se mencionan con el dominio catalítico en PDB. Para la expresión citoplásmica, el dominio catalítico de la manosidasa se fusiona generalmente con un péptido de direccionamiento N-terminal (por ejemplo, como se ha desvelado en la Sección mencionada anteriormente) o se expresa con estructuras de direccionamiento de Golgi de animales o plantas endógenas de enzimas manosidasa II de animales o plantas. Después de la transformación con el dominio catalítico de una manosidasa de tipo II, se seleccionan cepas que producen GlcNAcMan3 (si se expresa GnTI) o cepas que producen GlcNAc2Man3 de manera eficaz (si se expresa una fusión de GnTI y GnTII). Para las cepas que producen GlcNAcMan3, las cepas de serotipo se transforman además con un polinucleótido que codifica un dominio catalítico de GnTII y se seleccionan cepas transformantes que son capaces de producir GlcNAc2Man3GlcNAc2.

En una realización de ese tipo para imitar la ruta tradicional, la célula fúngica filamentosa es una célula fúngica filamentosa deficiente en PMT como se ha definido en las secciones anteriores, y que además comprende uno o más polinucleótidos que codifican un polipéptido seleccionado entre el grupo que consiste en:

- i) α 1,2 manosidasa,
- ii) dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa I,
- iii) α manosidasa II,
- iv) dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa II,
- v) β 1,4 galactosiltransferasa, y,
- vi) fucosiltransferasa.

En realizaciones que usan la ruta de *alg3* reducida, la célula fúngica filamentosa, tal como una célula de *Trichoderma*, tiene un nivel de actividad reducido de una doliquil-P-Man:Man(5)GlcNAc(2)-PP-doliquil manosiltransferasa en comparación con el nivel de actividad en una célula hospedadora precursora. La doliquil-P-Man:Man(5)GlcNAc(2)-PP-doliquil manosiltransferasa (EC 2.4.1.130) transfiere un resto de alfa-D-manosilo de doliquil-fosfato D-manosa en un oligosacárido unido a lípidos de membrana. Por lo general, la enzima doliquil-P-Man:Man(5)GlcNAc(2)-PP-doliquil manosiltransferasa está codificada por un gen *alg3*. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentosa para producir glicoproteínas con N-glicanos de tipo mamífero tiene un nivel reducido de expresión de un gen *alg3* en comparación con el nivel de expresión en una cepa precursora.

Más preferentemente, la célula fúngica filamentosa comprende una mutación de *alg3*. El gen ALG3 se puede mutar por cualquier medio conocido en la técnica, tal como mutaciones puntuales o delección de todo el gen *alg3*. Por ejemplo, la función de la proteína *alg3* se reduce o elimina mediante la mutación de *alg3*. En ciertas realizaciones, el gen *alg3* se altera o sufre delección de la célula fúngica filamentosa, tal como célula de *Trichoderma*. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentosa es una célula de *T. reesei* cell. Las SEQ ID NOS: 36 y 37 proporcionan las secuencias de ácidos nucleicos y aminoácidos del gen *alg3* en *T. reesei*, respectivamente. En una realización la célula fúngica filamentosa se usa para la producción de una glicoproteína, en la que el glicano o glicanos comprenden o consisten en Man α 3[Man α 6]Man β 4GlcNAc β 4GlcNAc, y/o una variante no reductora y alargada del mismo.

En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentosa tiene un nivel reducido de actividad de una alfa-1,6-manosiltransferasa en comparación con el nivel de actividad en una cepa precursora. La alfa-1,6-manosiltransferasa (EC 2.4.1.232) transfiere un resto de alfa-D-manosilo de GDP-manosa en un oligosacárido unido a proteína,

formando una elongación que inicia el enlace alfa-(1->6)-D-manosil-D-manosa en el aparato de Golgi. Normalmente, la enzima alfa-1,6-manosiltransferasa está codificada por un gen *och1*. En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentosa h tiene un nivel reducido de expresión de un gen *och1* en comparación con el nivel de expresión en una célula filamentosa fúngica precursora. En ciertas realizaciones, el gen *och1* sufre delección de la célula fúngica filamentosa.

Las células fúngicas filamentosas usadas en los métodos de producción de glicoproteína con N-glicanos de tipo mamífero pueden contener además un polinucleótido que codifica un dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa I (GnTI) que cataliza la transferencia de N-acetilglucosamina a una Man α 3 terminal y un polinucleótido que codifica un dominio del catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa (GnTII), que cataliza la N-acetilglucosamina a un resto de Man α 6 terminal de un glicano aceptor para producir un N-glicano complejo. En una realización, dichos polinucleótidos que codifican GnTI y GnTII se unen para producir una fusión de proteína única que comprende ambos dominios catalíticos de GnTI y GnTII.

Como se desvela en el presente documento, la N-acetilglucosaminiltransferasa I (GlcNAc-TI; GnTI; EC 2.4.1.101) cataliza la reacción $\text{UDP-N-acetil-D-glucosamina} + 3\text{-(alfa-D-manosil)-beta-D-manosil-R} \rightleftharpoons \text{UDP} + 3\text{-(2-(N-acetil-beta-D-glucosaminil)-alfa-D-manosil)-beta-D-manosil-R}$, en la que R representa el resto del oligosacárido unido a N en el aceptor de glicano. Un dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa I es cualquier parte de una enzima N-acetilglucosaminiltransferasa I que es capaz de catalizar esta reacción. Las enzimas GnTI se enumeran en la base de datos CAZy en la familia 13 de glicosiltransferasa (cazy.org/GT13_all). Las especies caracterizadas enzimáticamente incluyen AAR78757.1 de *A. thaliana* (US6 653 459), AAD03023.1 de *C. elegans* (Chen S. *et al.*, J. Biol. Chem 1999; 274 (1): 288-97), AAF57454.1 de *D. melanogaster* (Sarkar y Schachter Biol Chem. Feb de 2001; 382 (2): 209-17); AAC52872.1 de *C. griseus* (Puthalakath H. *et al.*, J. Biol. Chem 1996 271 (44): 27818-22); AAA52563.1 de *H. sapiens* (Kumar R. *et al.*, Proc Natl Acad Sci U S A. Dic de 1990; 87 (24): 9948-52); AAD04130.1 de *M. auratus* (Opat As *et al.*, Biochem J. 15 de Dic de 1998; 336 (Pt 3): 593-8), (incluyendo un ejemplo de mutante desactivante), Conejo, AAA31493.1 de *O. cuniculus* (Sarkar M *et al.*, Proc Natl Acad Sci U S A. 1 de Ene 1991; 88 (1): 234-8). Las secuencias de aminoácidos para las enzimas N-acetilglucosaminiltransferasa I de diversos organismos se describen por ejemplo en el documento PCT/EP2011/070956. Los ejemplos adicionales de enzimas activas caracterizadas se pueden encontrar en cazy.org/GT13_characterized. La estructura 3D del dominio catalítico de GnTI de conejo se definió mediante cristalografía de rayos X en Unligil UM *et al.*, EMBO J. 16 de Oct de 2000; 19 (20): 5269-80. Las estructuras del Protein Data Bank (PDB) para GnTI son 1FO8, 1FO9, 1FOA, 2AM3, 2AM4, 2AM5, y 2APC. En ciertas realizaciones, el dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa I es de la enzima N-acetilglucosaminiltransferasa I humana (SEQ ID NO: 38) o variantes de la misma. En ciertas realizaciones, el dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa I contiene una secuencia que es al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 %, o un 100 % idéntica a los restos de aminoácido 84-445 de la SEQ ID NO: 38. En algunas realizaciones, como dominio catalítico se puede usar una secuencia más corta (por ejemplo, los restos de aminoácido 105-445 de la enzima humana o los restos de aminoácido 107-447 de la enzima de conejo; Sarkar *et al.*, (1998) Glycoconjugate J 15: 193-197). Las secuencias adicionales que se pueden usar como el dominio catalítico GnTI incluyen restos de aminoácido desde aproximadamente el aminoácido 30 a 445 de la enzima humana o cualquier dominio del tallo C-terminal que comienza entre el resto de aminoácido 30 a 105 y continúa hasta aproximadamente el aminoácido 445 de la enzima humana, o secuencia homóloga correspondiente de otra GnTI o una variante catalíticamente activa o mutante de la misma. El dominio catalítico puede incluir partes N-terminales de la enzima tales como la totalidad o parte del dominio de tallo, el dominio transmembrana o el dominio citoplásmico.

Como se desvela en el presente documento, la N-acetilglucosaminiltransferasa II (GlcNAc-TII; GnTII; EC 2.4.1.143) cataliza la reacción $\text{UDP-N-acetil-D-glucosamina} + 6\text{-(alfa-D-manosil)-beta-D-manosil-R} \rightleftharpoons \text{UDP} + 6\text{-(2-(N-acetil-beta-D-glucosaminil)-alfa-D-manosil)-beta-D-manosil-R}$, en la que R representa el resto del oligosacárido unido a N en el aceptor glicano. Un dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa II es cualquier parte de una enzima N-acetilglucosaminiltransferasa II que sea capaz de catalizar esta reacción. Las secuencias de aminoácidos para las enzimas N-acetilglucosaminiltransferasa II de diversos organismos se enumeran en el documento WO2012069593. En ciertas realizaciones, el dominio catalítico de la N-acetilglucosaminiltransferasa II es del enzima N-acetilglucosaminiltransferasa II humana (SEQ ID NO: 39) o variantes de la misma. Las especies adicionales de GnTII se enumeran en la base de datos CAZy en la familia 16 de glicosiltransferasa (cazy.org/GT16_all). Las especies caracterizadas enzimáticamente incluyen GnTII de *C. elegans*, *D. melanogaster*, *Homo sapiens* (NP_002399.1), *Rattus norvegicus*, *Sus scrofa* (cazy.org/GT16_characterized). En ciertas realizaciones, el dominio catalítico de la N-acetilglucosaminiltransferasa II contiene una secuencia que es al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, al menos un 99 %, o un 100 % idéntica a los restos de aminoácido de aproximadamente 30 a aproximadamente 447 de la SEQ ID NO: 39. El dominio catalítico puede incluir partes N-terminales de la enzima tales como todo o parte del dominio de tallo, el dominio transmembrana o el dominio citoplásmico.

En realizaciones en las que la célula fúngica filamentosa contiene una proteína de fusión de la invención, la proteína de fusión puede contener además un espaciador entre el dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa I y el dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa II. En ciertas realizaciones, el espaciador es un espaciador

EGIV, un espaciador 2xG4S, un espaciador 3xG4S o un espaciador CBHI. En otras realizaciones, el espaciador contiene una secuencia de un dominio de tallo.

Para la expresión de RE/Golgi, la N-acetilglucosaminiltransferasa I y/o el dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa II se fusionan generalmente con un péptido de direccionamiento o una parte de un RE o una proteína de Golgi temprana, o se expresan con una estructura de direccionamiento a RE endógena de una enzima N-acetilglucosaminiltransferasa I y/o dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa II contiene cualquiera de los péptidos de direccionamiento de la invención como se describe en la sección titulada "Secuencias de direccionamiento". Preferentemente, el péptido de direccionamiento está unido al extremo N-terminal del dominio catalítico. En algunas realizaciones, el péptido de direccionamiento contiene cualquiera de los dominios de tallo de la invención como se describe en la sección titulada "Secuencias de direccionamiento". En ciertas realizaciones preferentes, el péptido de direccionamiento es un péptido de direccionamiento Kre2/Mnt1. En otras realizaciones, el péptido de direccionamiento contiene además un dominio transmembrana unido al extremo N-terminal del dominio de tallo o un dominio citoplásmico unido al extremo N-terminal del dominio de tallo. En realizaciones en las que el péptido de direccionamiento además contiene un dominio transmembrana, el péptido de direccionamiento puede contener además un dominio citoplásmico unido al extremo N-terminal del dominio transmembrana.

Las células fúngicas filamentosas también puede contener un polinucleótido que codifica un transportador UDP-GlcNAc. El polinucleótido que codifica el transportador UDP-GlcNAc puede ser endógeno (es decir, naturalmente presente) en la célula hospedadora, o puede ser heterólogo para la célula fúngica filamentosa.

En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentosa puede contener además un polinucleótido que codifica una α -1,2-manosidasa. El polinucleótido que codifica la α -1,2-manosidasa puede ser endógeno en la célula hospedadora, o puede ser heterólogo para la célula hospedadora. Los polinucleótidos heterólogos son especialmente útiles para una célula hospedadora que expresa glicanos de alta manosa transferidos desde el aparato de Golgi al RE sin una escisión eficaz de exo- α -2-manosidasa. La α -1,2-manosidasa puede ser una enzima de tipo manosidasa I perteneciente a la familia 47 de las glucósido hidrolasas (cazy.org/GH47_all.html). En ciertas realizaciones la α -1,2-manosidasa es una enzima enumerada en cazy.org/GH47_characterized.html. En particular, la α -1,2-manosidasa puede ser una enzima de tipo RE que escinde glicoproteínas tales como las enzimas en la subfamilia de las enzimas EC 3.2.1.113 de RE α -manosidasa I. Los ejemplos de enzimas de ese tipo incluyen α -2-manosidasa 1B humana (AAC26169), una combinación de RE manosidasas de mamífero, o una enzima fúngica filamentosa tal como α -1,2-manosidasa (MDS1) (AAF34579 de *T. reesei*; Maras M *et al.*, J Biotech. 77, 2000, 255, o Trire 45717). Para la expresión de RE, el dominio catalítico de la manosidasa por lo general se fusiona con un péptido de direccionamiento, tal como HDEL, KDEL, o parte de un RE o proteína de Golgi temprana, o se expresa con una estructura de direccionamiento de RE endógena de una enzima manosidasa I animal o vegetal.

En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentosa también puede contener además un polinucleótido que codifica una β -1,4-galactosiltransferasa. Generalmente, las β -1,4-galactosiltransferasas pertenecen a la familia 7 de glicosiltransferasa CAZy (cazy.org/GT7_all.html) e incluyen β -N-acetilglucosaminilglicopéptido β -1,4-galactosiltransferasa (EC 2.4.1.38), que también se conoce como N-acetilactosamina sintasa (EC 2.4.1.90). Las subfamilias útiles incluyen β 4-GalT1, β 4-GalT-II, -III, -IV, -V, y -VI, tales como 134-GalT1, 134-GalTII, o 134-GalTIII son especialmente útiles para la galactosilación de las estructuras de GlcNAc β 2 terminal en N-glicanos tales como GlcNAcMan3, GlcNAc2Man3, o GlcNAcMan5 (Guo S. *et al.*, Glycobiology 2001, 11: 813-20). La estructura tridimensional de la región catalítica se conoce (por ejemplo, (2006) J. Mol. Biol. 357: 1619-1633), y la estructura se ha representado una base de datos de PDB con el código 2FYD. La base de datos de CAZy incluye ejemplos de ciertas enzimas. Las enzimas caracterizadas también se enumeran en la base de datos de CAZy en cazy.org/GT7_characterized.html. Los ejemplos de enzimas β 4GalT útiles incluyen β 4GalT1, por ejemplo la enzima AAA30534.1 bovina de *Bos taurus* (Shaper N.L. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83 (6), 1573-1577 (1986)), enzima humana (Guo S. *et al.*, Glycobiology 2001, 11: 813-20), y la enzima AAA37297 de *Mus musculus* (Shaper, N.L. *et al.*, 1998 J. Biol. Chem. 263 (21), 10420-10428); las enzimas β 4GalTII tales como β 4GalTII BAA75819.1 humana, AAM77195 de *Cricetulus griseus* de hámster chino, la enzima BAA34385 de *Mus musculus*, y la enzima BAH36754 de *Oryzias latipes* del pescado Medaka japonés; y enzimas β 4GalTIII tales como β 4GalTIII BAA75820.1 humana, AAM77196 de *Cricetulus griseus* de hámster chino y la enzima AAF22221 de *Mus musculus*.

La galactosiltransferasa se puede expresar en la membrana plasmática de la célula hospedadora. Se puede usar un péptido de direccionamiento heterólogo, tal como un péptido Kre2 descrito en Schwientek J. Biol. Chem 1996 3398. Los promotores que se pueden usar para la expresión de la galactosiltransferasa incluyen promotores constitutivos tales como gpd, promotores de enzimas de glicosilación endógenas y glicosiltransferasas tales como las manosiltransferasas que sintetizan N-glicanos en el aparato de Golgi o RE, y promotores inducibles de proteínas endógenas de alto rendimiento tales como el promotor cbh1.

En ciertas realizaciones de la invención en las que la célula fúngica filamentosa contiene un polinucleótido que codifica una β -1,4-galactosiltransferasa, la célula fúngica filamentosa también contiene un polinucleótido que codifica una UDP-Gal 4 epimerasa y/o transportador de UDP-Gal. En ciertas realizaciones de la invención en las que la

célula fúngica filamentosa contiene un polinucleótido que codifica una β -1,4-galactosiltransferasa, la lactosa se puede usar como fuente de carbono en lugar de glucosa cuando se cultiva la célula hospedadora. El medio de cultivo puede estar entre pH 4,5 y 7,0 o entre 5,0 y 6,5. En ciertas realizaciones de la invención en las que la célula fúngica filamentosa contiene un polinucleótido que codifica una β -1,4-galactosiltransferasa y un polinucleótido que codifica una UDP-Gal 4 epimerasa y/o transportador de UDP-Gal, un catión divalente tal como Mn^{2+} , Ca^{2+} o Mg^{2+} se puede añadir al medio de cultivo celular.

Por consiguiente, en ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentosa de la presente divulgación, por ejemplo, seleccionada entre células de *Neurospora*, *Trichoderma*, *Myceliophthora* o *Chrysosporium*, y más preferentemente una célula de *Trichoderma reesei*, puede comprender las siguientes características:

- a) una mutación en al menos una proteasa endógena que reduce o elimina la actividad de dicha proteasa endógena, preferentemente la actividad proteasa de dos o tres o más proteasas endógenas se reduce, por ejemplo, las proteasas pep1, tsp1, gap1 y/o slp1, con el fin de mejorar la producción o estabilidad de una proteína heteróloga que se va a producir,
- b) una mutación en un gen *PMT*, por ejemplo gen pmt1 de *T. reesei*, que reduce o elimina la actividad endógena de O-manosiltransferasa en comparación con una célula precursora de *Trichoderma* que no tiene dicha segunda mutación,
- c) un polinucleótido que codifica una proteína que tiene al menos una serina o treonina, preferentemente una glicoproteína heteróloga, tal como una inmunoglobulina, un anticuerpo o una fusión de proteínas que comprende el fragmento Fc de una inmunoglobulina.
- d) opcionalmente, una delección o alteración del gen alg3,
- e) opcionalmente, un polinucleótido que codifica un dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa I y un polinucleótido que codifica un dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa II,
- f) opcionalmente, un polinucleótido que codifica β 1,4 galactosiltransferasa,
- g) opcionalmente, un polinucleótido o polinucleótidos que codifican la epimerasa y/o transportador de UDP-Gal 4.

Secuencias de direccionamiento

En ciertas realizaciones, las enzimas recombinantes, tales como α 1,2 manosidasas, GnTI u otras glicosiltransferasas introducidas en las células fúngicas filamentosas, incluyen un péptido de direccionamiento unido a los dominios catalíticos. El término "unido" como se usa en el presente documento se refiere a que dos polímeros de restos de aminoácido en el caso de un polipéptido o dos polímeros de nucleótidos en el caso de un polinucleótido están acoplados directamente adyacentes entre sí o están dentro del mismo polipéptido o polinucleótido pero están separados por restos de aminoácido o nucleótido intermedios. Un "péptido de direccionamiento", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier número de restos de aminoácidos consecutivos de la proteína recombinante que son capaces de localizar la proteína recombinante en el retículo endoplásmico (RE) o aparato de Golgi (Golgi) dentro de la célula hospedadora. El péptido de direccionamiento puede ser N-terminal o C-terminal a los dominios catalíticos. En ciertas realizaciones, el péptido de direccionamiento es N-terminal a los dominios catalíticos. En ciertas realizaciones, el péptido de direccionamiento proporciona unión a un componente del RE o de Golgi, tal como con respecto a una enzima manosidasa II. En otras realizaciones, el péptido de direccionamiento proporciona una unión directa a la membrana del RE o Golgi.

Los componentes del péptido de direccionamiento pueden provenir de una enzima que normalmente reside en el RE o el aparato de Golgi. Las enzimas de séptico incluyen manosidasas, manosiltransferasas, glicosiltransferasas, proteínas de Golgi de Tipo 2, y las enzimas MNN2, MNN4, MNN6, MNN9, MNN10, MNS1, KRE2, VAN1, y OCH1. Las enzimas de ese tipo pueden provenir de una especie de levadura o fúngica tales como las de *Acremonium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cryptococcus*, *Chrysosporium*, *Chrysosporium lucknowense*, *Filobasidium*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Humicola*, *Magnaporthe*, *Mucor*, *Myceliophthora*, *Myrothecium*, *Neocallimastix*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Piromyces*, *Schizophyllum*, *Talaromyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, *Tolypocladium*, y *Trichoderma*. Las secuencias para las enzimas de ese tipo se pueden encontrar en la base de datos de secuencias de GenBank.

En ciertas realizaciones el péptido de direccionamiento proviene de la misma enzima y organismo que uno de los dominios catalíticos de la proteína recombinante. Por ejemplo, si la proteína recombinante incluye un dominio catalítico GnTII humano, el péptido de direccionamiento de la proteína recombinante es de la enzima GnTII humana. En otras realizaciones, el péptido de direccionamiento puede provenir de una enzima y/o organismo diferente como los dominios catalíticos de la proteína recombinante.

Los ejemplos de diversos péptidos de direccionamiento para su uso en proteínas de direccionamiento para el RE o aparato de Golgi que se pueden usar para direccionamiento de las enzimas recombinantes, incluyen: péptido N-terminal Kre2/Mnt1 fusionado a galactosiltransferasa (Schwientek, JBC 1996, 3398), HDEL a la localización de manosidasa para el RE de células de levadura para producir Man5 (Chiba, JBC 1998, 26298-304; Callewaert, FEBS Lett 2001, 173-178), péptido de direccionamiento OCH1 fusionado al dominio catalítico GnTI (Yoshida *et al.*, Glycobiology 1999, 53-8), péptido N-terminal de levadura de Mns1 fusionado a α 2-manosidasa (Martinet *et al.*, Biotech Lett 1998, 1171), parte N-terminal de Kre2 unida al dominio catalítico de GnTI o β 4GalT (Vervecken, Appl.

Environ Microb 2004, 2639-46), diversos enfoques revisados en Wildt y Gerngross (Nature Rev Biotech 2005, 119), GntI de longitud completa en *Aspergillus nidulans* (Kalsner *et al.*, Glycocon. J 1995, 360-370), GntI de longitud completa en *Aspergillus oryzae* (Kasajima *et al.*, Biosci Biotech Biochem 2006, 2662-8), parte de la estructura de localización de Sec12 de levadura fusionada a GntI de *C. elegans* en *Aspergillus* (Kainz *et al.*, 2008), parte N-terminal de Mnn9 de levadura fusionada a GntI humana en *Aspergillus* (Kainz *et al.*, 2008), parte N-terminal de Mnn10 de *Aspergillus* fusionada GntI humana (Kainz *et al.*, Appl. Environ Microb 2008, 1076-86), y GntI humana de longitud completa en *T. reesei* (Maras *et al.*, FEBS Lett 1999, 365-70).

En ciertas realizaciones el péptido de direccionamiento es una parte N-terminal del péptido de direccionamiento de Mnt1/Kre2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40 (por ejemplo codificada por el polinucleótido de la SEQ ID NO: 41). En ciertas realizaciones, el péptido de direccionamiento se seleccionan entre GNT2 humano, KRE2, de tipo KRE2, Och1, Anp1, Van1 como se muestra en la Tabla 1 que sigue a continuación:

Tabla 1: Secuencia de aminoácidos de péptidos de direccionamiento

Proteína	TrelD	Secuencia de aminoácidos
GNT2 humana	-	MRFRYIKRKVLILTLVVAACGFVLWSSNGRQR KNEALAPPLDAEPARGAGGRGGDHP (SEQ ID NO:42)
KRE2	21576	MASTNARYVRYLLIAFFTILVFYFVSNKYEGV DLNKGFTFTAPDSTKTPK (SEQ ID NO:43)
tipo KRE2	69211	MAIARPVRALGGLAAILWCFFLYQLLRPSSSY NSPGDRYINFERDPNLDPTG (SEQ ID NO:44)
Och1	65646	MLNPRRALIAAAFILTVFFLISRSHNSEASTS (SEQ ID NO:45)
Anp1	82551	MMPRHHSSGFSNGYPRADTFEISPHRFQPR TLPPHRKRKRTAIRVGIAVVVLVLVWFGQPR SVASLISLGILSGYDDLKLE (SEQ ID NO:46)
Van1	81211	MLLPKGGLDWRSAQAIPPTRALWNAVTRTR FILLVGITGLILLWLVSTASE (SEQ ID NO:47)

Los ejemplos adicionales de secuencias que se pueden usar para péptidos de direccionamiento incluyen las secuencias de direccionamiento como se describe en el documento WO2012/069593.

Las secuencias no caracterizadas se pueden someter a ensayo para su uso como péptidos de direccionamiento expresando enzimas de la ruta de glicosilación en una célula hospedadora, en la que una de las enzimas contiene la secuencia no caracterizada como el único péptido de direccionamiento y midiendo los glicanos producidos a la vista de localización citoplásmica de la biosíntesis de glicano (por ejemplo, en Schwientek JBC 1996 3398), o mediante la expresión de una proteína indicadora fluorescente fusionada con el péptido de direccionamiento, y el análisis de la localización de la proteína en el Golgi por inmunofluorescencia o fraccionando las membranas citoplasmáticas del aparato de Golgi y midiendo la localización de la proteína.

Métodos para producir una proteína que tiene O-manosilación reducida

Las células fúngicas filamentosas como se ha descrito anteriormente son útiles en métodos para producir una proteína que tiene O-manosilación reducida.

Por consiguiente, en otro aspecto, la invención se refiere a un método para producir una proteína que tiene O-manosilación reducida, que comprende:

- proporcionar una célula de *Trichoderma* deficiente en PMT que tiene una mutación en un gen *PMT* que reduce la actividad de proteína O-manosiltransferasa endógena en comparación con la cepa precursora que no tiene una mutación de ese tipo, y que además comprende un polinucleótido que codifica una proteína con serina o treonina, que puede estar O-manosilada,
- cultivar dicha célula de *Trichoderma* deficiente en PMT para producir dicha proteína que tiene O-manosilación reducida.

En dicho método, la proteína producida tiene una O-manosilación reducida debido a dicha mutación en dicho gen PMT como se ha descrito en las secciones anteriores. La célula de célula de *Trichoderma* deficiente en PMT puede haber reducido opcionalmente la actividad de proteasa endógena como se ha descrito en las secciones anteriores.

Las células fúngicas filamentosas y los métodos de la invención son útiles para la producción de proteínas con serina o treonina que pueden estar O-manosiladas. Por ejemplo, es particularmente útil para la producción de proteínas que están O-manosiladas cuando se producen en una célula hospedadora fúngica filamentosa con funcionalidad de PMT precursora, por ejemplo, en al menos una célula de célula de *Trichoderma* que es de tipo silvestre para el gen PMT1, tal como la SEQ ID NO: 1.

En los métodos de la invención, ciertos medios de crecimiento incluyen, por ejemplo, medios comunes preparados en el mercado tales como caldo de cultivo de Luria-Bertani (LB), caldo de cultivo de Sabouraud Dextrosa (SD) o caldo de cultivo de medio de Levadura (YM). También se pueden usar otros medios de crecimiento definidos o sintéticos, y alguien con experiencia en el campo de la microbiología o ciencia de la fermentación conocerá el medio apropiado para el crecimiento de la célula hospedadora particular. El medio de cultivo generalmente tiene el medio mínimo de *Trichoderma reesei* (Penttilä *et al.*, 1987, Gene 61, 155-164) como base, suplementado con sustancias que inducen el promotor de producción tal como lactosa, celulosa, grano agotado o soforosa. En la técnica se conocen los intervalos de temperatura y otras condiciones adecuadas para el crecimiento (véase, por ejemplo, Bailey y Ollis 1986). En ciertas realizaciones el pH del cultivo celular está entre 3,5 y 7, 5, entre 4,0 y 7,0, entre 4,5 y 6,5, entre 5 y 5,5, o a 5,5. En ciertas realizaciones, para producir un anticuerpo la célula fúngica filamentosa o célula fúngica de *Trichoderma* se cultiva en un intervalo de pH seleccionado de 4,7 a 6,5; pH de 4,8 a 6,0; pH de 4,9 a 5,9; y pH de 5,0 a 5,8.

En algunas realizaciones, la proteína que puede estar O-manosilada es una proteína heteróloga, preferentemente una proteína de mamífero. En otras realizaciones, la proteína heteróloga es una proteína que no es de mamífero.

En ciertas realizaciones, la proteína que puede estar O-manosilada es una glicoproteína con modificaciones de N-glicano posteriores a la traducción.

En ciertas realizaciones, una proteína de mamífero que puede estar O-manosilada se selecciona entre una inmunoglobulina, cadena pesada o ligera de inmunoglobulina o anticuerpo, un anticuerpo monoclonal, un fragmento Fab, un fragmento de anticuerpo F(ab')₂, un anticuerpo de cadena individual, un anticuerpo de dominio individual monomérico o multimérico, un anticuerpo camélido, o sus fragmentos de unión a antígeno.

Un fragmento de una proteína, como se usa en el presente documento, consiste en al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 aminoácidos consecutivos de una proteína de referencia.

Como se usa en el presente documento, una "inmunoglobulina" se refiere a una proteína multimérica que contiene una cadena pesada y una cadena ligera unidas mediante enlace covalente y capaces de combinarse específicamente con el antígeno. Las moléculas de inmunoglobulina son una gran familia de moléculas que incluyen varios tipos de moléculas tales como IgM, IgD, IgG, IgA e IgE.

Como se usa en el presente documento, un "anticuerpo" se refiere a moléculas de inmunoglobulina intactas, así como a fragmentos de las mismas que son capaces de unirse a un antígeno. Estas incluyen moléculas de anticuerpos híbridos (quiméricos) (véase, por ejemplo, Winter *et al.*, Nature 349: 293-99225, 1991; y documento de Patente de Estados Unidos N.º 4.816.567 226); moléculas de F(ab')₂; heterodímeros no covalentes; construcciones de fragmentos de anticuerpos diméricos y triméricos; moléculas de anticuerpos humanizados (véase por ejemplo, Riechmann *et al.*, Nature 332, 323-27, 1988; Verhoeyan *et al.*, Science 239, 1534-36, 1988; y documento de patente GB 2.276.169); y cualquier fragmento funcional obtenido a partir de tales moléculas, así como anticuerpos obtenidos mediante procesos no convencionales, tales como presentación de fagos o ratones transgénicos. Preferentemente, los anticuerpos son anticuerpos clásicos con región Fc. Los métodos de preparación de anticuerpos se conocen bien en la técnica.

En otras realizaciones, el rendimiento de la glicoproteína de mamífero es de al menos 0,5, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4 o al menos 5 gramos por litro.

En ciertas realizaciones, la glicoproteína de mamífero es un anticuerpo, opcionalmente, IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4. En realizaciones adicionales, el rendimiento del anticuerpo es de al menos 0,5, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4 o al menos 5 gramos por litro. En otras realizaciones, la glicoproteína de mamífero es un anticuerpo, y el anticuerpo contiene al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o al menos un 98 % de un extremo C-terminal y N-terminal del anticuerpo natural y sin restos de aminoácido adicionales. En otras realizaciones, la glicoproteína de mamífero es un anticuerpo, y el anticuerpo contiene al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o al menos un 98 % de un extremo C-terminal y N-terminal del anticuerpo natural que no carece de ningún resto de aminoácido C-terminal o N-terminal.

En ciertas realizaciones cuando la glicoproteína de mamífero se purifica a partir del cultivo celular, el cultivo que

contiene la glicoproteína de mamífero contiene fragmentos de polipéptidos que constituyen un porcentaje de masa inferior a un 50 %, inferior a un 40 %, inferior a un 30 %, inferior a un 20 %, o inferior a un 10 % de la masa de los polipéptidos producidos. En ciertas realizaciones preferentes, la glicoproteína de mamífero es un anticuerpo, y los fragmentos de polipéptidos son fragmentos de cadena pesada y/o fragmentos de cadena ligera. En otras realizaciones, cuando la glicoproteína de mamífero es un anticuerpo y el anticuerpo se purifica a partir del cultivo celular, el cultivo que contiene el anticuerpo contiene cadenas pesadas libres y/o cadenas ligeras libres que constituyen un porcentaje de masa inferior a un 50 %, inferior a un 40 %, inferior a un 30 %, inferior a un 20 %, o inferior a un 10 % de la masa del anticuerpo producido. Los métodos para determinar el porcentaje de masa de fragmentos de polipéptidos se conocen bien en la técnica e incluyen, medir la intensidad de la señal de un gel de SDS.

En ciertas realizaciones, cuando la proteína con O-manosilación reducida, por ejemplo, un anticuerpo, se purifica a partir del cultivo celular, el cultivo contiene al menos un 70 %, un 80 %, un 90 %, un 95 % o un 100 % de las proteínas que no están O-manosiladas (% en moles, tal como se determina por ejemplo mediante análisis de MALDI TOF MS, y midiendo el área o intensidad de los picos como se describe en el Ejemplo 1 que sigue a continuación).

En ciertas realizaciones cuando la proteína con al menos un resto de serina o treonina que puede estar O-manosilado se purifica a partir del cultivo celular, y cuando la cepa es una célula de *Trichoderma* modificada mediante ingeniería genética para producir N-glicanos complejos, el cultivo además comprende al menos un 5 %, un 10 %, un 15 %, un 20 %, un 25 %, un 30 % de neutros complejos N-glicanos secretados (% en moles) en comparación con los N-glicanos neutros secretados totales (tal como se mide por ejemplo como se describe en el documento WO2012069593).

En otras realizaciones, la proteína heteróloga con O-manosilación reducida, por ejemplo, el anticuerpo, comprende la estructura de trimanosil N-glicano Man α 3[Man α 6]Man β 4GlcNAc β 4GlcNAc. En algunas realizaciones, la estructura Man α 3[Man α 6]Man β 4GlcNAc β 4GlcNAc representa al menos un 20 %, un 30 %; un 40 %, un 50 %; un 60 %, un 70 %, un 80 % (% en moles) o más, de los N-glicanos totales de la proteína heteróloga con O-manosilación reducida. En otras realizaciones, la proteína heteróloga con O-manosilación reducida comprende la estructura de N-glicano G0 GlcNAc β 2Man α 3[GlcNAc β 2Man α 6]Man β 4GlcNAc β 4GlcNAc. En otras realizaciones, la estructura de la glicoforma G0 no fucosilada representa al menos un 20 %, un 30 %; un 40 %, un 50 %; un 60 %, un 70 %, un 80 % (% en moles) o más, de los N-glicanos totales de la proteína heteróloga con O-manosilación reducida. En otras realizaciones, los N-glicanos galactosilados representan menos (% en moles) de un 0,5 %, un 0,1 %, un 0,05 %, un 0,01 % de los N-glicanos totales del cultivo, y/o de la proteína heteróloga con O-manosilación reducida, por ejemplo un anticuerpo. En ciertas realizaciones, el cultivo o la proteína heteróloga, por ejemplo un anticuerpo, no comprende N-glicanos galactosilados.

En ciertas realizaciones, la proteína heteróloga (purificada) es un anticuerpo, un anticuerpo de cadena ligera, un anticuerpo de cadena pesada o un Fab, que comprende estructura de N-glicano Man3, GlcNAcMan3, Man5, GlcNAcMan5, G0, G0 de núcleo, G1, o G2 como glicoforma principal y menos de un 35 %, un 20 %, un 17 %, un 15 %, un 13 %, un 12 %, un 11 %, un 10 %, un 9 %, un 8 %, un 7 %, un 6 %, un 5 %, un 4 %, un 3 %, un 2 %, o un 1 %, o menos de un 0,5 % de nivel de O-manosilación (como % en molesta como se determina por ejemplo mediante análisis MALDI TOF MS, y midiendo el área o la intensidad de los picos como se describe en el Ejemplo 1).

La presente solicitud también se refiere a un método para producir un anticuerpo que tiene O-manosilación reducida, que comprende:

a. proporcionar una célula de *Trichoderma* deficiente en PMT que tiene

- i. una mutación que reduce la actividad de proteína O-manosiltransferasa endógena en comparación con la cepa precursora que no tiene una mutación de ese tipo y
- ii. un polinucleótido que codifica un anticuerpo de cadena ligera y un polinucleótido que codifica un anticuerpo de cadena pesada,

b. cultivar la célula para producir dicho anticuerpo, que consiste en cadenas pesadas y ligeras, que tiene O-manosilación reducida.

En realizaciones específicas de ese tipo de los métodos relacionados con la producción de anticuerpos, al menos un 70 %, un 80 %, un 90 %, un 95 %, un 97 %, un 98 %, un 99 % o un 100 % el anticuerpo producido no está O-manosilado (% en moles, tal como se determina por ejemplo mediante análisis MALDI TOF MS, inhibiendo el área o la intensidad de los picos como se describe en el Ejemplo 1).

En ciertas realizaciones de cualquiera de los métodos que se desvelan, el método incluye la etapa adicional de proporcionar uno o más, dos o más, tres o más, cuatro o más, o cinco o más inhibidores de proteasa. En ciertas realizaciones, los inhibidores de proteasa son péptidos que se expresan de forma conjunta con el polipéptido de mamífero. En otras realizaciones, los inhibidores inhiben al menos dos, al menos tres, o al menos cuatro proteasas

de una familia de proteasas seleccionadas entre proteasas aspárticas, serina proteasas de tipo tripsina, subtilisina proteasas, y proteasas glutámicas.

En ciertas realizaciones de cualquiera de los métodos que se desvelan, la célula fúngica filamentosa o célula fúngica de *Trichoderma* también contiene una proteína vehículo. Como se usa en el presente documento, una "proteína vehículo" es una parte de una proteína que es endógena y que es secretada altamente por una célula fúngica filamentosa o célula fúngica de *Trichoderma*. Las proteínas vehículo adecuadas incluyen, pero no se limitan a, mananasa I de *T. reesei* (Man5A, o MANI), celobiohidrolasa II de *T. reesei* (Cel6A, o CBHII) (véase, por ejemplo, Paloheimo *et al.*, Appl. Environ. Microbiol. Diciembre de 2003; 69 (12): 7073-7082) o celobiohidrolasa I de *T. reesei* (CBHI). En algunas realizaciones, la proteína vehículo es CBH1. En otras realizaciones, la proteína vehículo es una proteína CBH1 de *T. reesei* truncada que incluye la región núcleo de CBH1 y parte de la región conectora de CBH1. En algunas realizaciones, un vehículo tal como una celobiohidrolasa o su fragmento se fusiona a una cadena ligera de anticuerpo y/o una cadena pesada de anticuerpo. En algunas realizaciones, un polipéptido de fusión de vehículo-anticuerpo comprende un sitio de escisión Kex2. En ciertas realizaciones, Kex2, u otra enzima de escisión de vehículo, es endógena para una célula fúngica filamentosa. En ciertas realizaciones, la proteasa de escisión de vehículo es heteróloga para la célula fúngica filamentosa, por ejemplo, otra proteína de Kex2 obtenida a partir de levadura o una proteasa TEV. En ciertas realizaciones, la enzima de escisión de vehículo está sobre expresada. En ciertas realizaciones, el vehículo consiste en aproximadamente 469 a 478 aminoácidos de la parte N-terminal de la proteína CBH1 de *T. reesei* con el de acceso en GenBank N.º EGR44817.1.

En ciertas realizaciones, la célula fúngica filamentosa de la invención sobre expresa la proteasa KEX2. En una realización la proteína heteróloga se expresa como una construcción de fusión que comprende un polipéptido fúngico endógeno, un sitio de proteasa tal como un sitio de escisión de Kex2, y la proteína heteróloga tal como una cadena pesada y/o ligera de anticuerpo antibody. Las combinaciones de 2-7 aminoácidos útiles que preceden al sitio de escisión de Kex2 se han descrito, por ejemplo, en Mikosch *et al.*, (1996) J. Biotechnol. 52: 97-106; Goller *et al.*, (1998) Appl Environ Microbiol. 64: 3202-3208; Spencer *et al.*, (1998) Eur. J. Biochem. 258: 107-112; Jalving *et al.*, (2000) Appl. Environ. Microbiol. 66: 363-368; Ward *et al.*, (2004) Appl. Environ. Microbiol. 70: 2567-2576; Ahn *et al.*, (2004) Appl. Microbiol. Biotechnol. 64: 833-839; Paloheimo *et al.*, (2007) Appl Environ Microbiol. 73: 3215-3224; Paloheimo *et al.*, (2003) Appl Environ Microbiol. 69: 7073-7082; y Margolles-Clark *et al.*, (1996) Eur J Biochem. 237: 553-560.

La presente divulgación se refiere además a la composición de proteína, por ejemplo la composición de anticuerpo, que se puede obtener o que se obtiene con el método como se ha desvelado anteriormente.

En realizaciones específicas, una composición de anticuerpo de ese tipo que se puede obtener o que se obtiene con los métodos de la divulgación, comprende al menos un 70 %, un 80 %, un 90 %, un 95 %, o un 100 % de los anticuerpos que no están O-manosilados (% en moles, tal como se determina por ejemplo mediante análisis MALDI TOF MS, y midiendo el área o la intensidad de los picos como se describe en el Ejemplo 1). En otras realizaciones específicas, una composición de anticuerpo de ese tipo además comprende un 50 %, un 60 %, un 70 % o un 80 % (% en moles de N-glicano neutro), de la siguiente glicoforma:

- (i) Man α 3[Man α 6(Man α 3)Man α 6]Man β 4GlcNA β 4GlcNAc (glicoforma Man5);
- (ii) GlcNAc β 2Man α 3[Man α 6(Man α 3)Man α 6]Man β 4GlcNA β 4GlcNAc, o variante β 4-galactosilada de la misma;
- (iii) Man α 6(Man α 3)Man β 4GlcNA β 4GlcNAc;
- (iv) Man α 6(GlcNAc β 2Man α 3)Man β 4GlcNA β 4GlcNAc, o variante β 4-galactosilada de la misma; o,
- (v) N-glicanos de tipo complejo seleccionados entre las glicoformas G0, G1 o G2.

En algunas realizaciones la glicoforma de N-glicano de acuerdo con iii-v comprende menos de un 15 %, un 10 %, un 7 %, un 5 %, un 3 %, un 1 % o un 0,5 % cuesta desprovista de glicano Man5 como se ha definido en i) anteriormente.

La presente divulgación también se refiere a un método para reducir el nivel de O-manosilación de una composición de glicoproteína recombinante producida en una célula de *Trichoderma*, consistiendo dicho método en el uso de una célula de *Trichoderma* que tiene una mutación en un gen *PMT* en la que dicho gen *PMT* es cualquiera de:

- a. un gen *PMT1* que comprende el polinucleótido de la SEQ ID NO: 1,
- b. un gen homólogo funcional del gen *PMT1*, cuyo gen es capaz de restablecer el nivel de O-manosilación precursora mediante complementación funcional cuando se introduce en una cepa de *T. reesei* que tiene una alteración en dicho gen *PMT1*, o,
- c. un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene una identidad de al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 90 %, o al menos un 95 % con la SEQ ID NO: 2, teniendo dicho polipéptido actividad de proteína O-manosiltransferasa.

En una realización específica de un método de ese tipo, dicha célula de *Trichoderma* es *Trichoderma reesei*.

En otra realización específica de un método de ese tipo, dicha glicoproteína recombinante comprende al menos un

anticuerpo de cadena ligera o sus fragmentos que comprenden al menos un resto de serina o treonina y con al menos un N-glicano.

EJEMPLOS

Como se ejemplificó más específicamente en el Ejemplo 2, después de la delección de *pmt1*, casi un 95 % del mAb purificado y un 70 % de las moléculas Fab ya no contenían ningún resto de O-manosa. Por el contrario, como se ejemplifica en los Ejemplos 3 a 4, el análisis del nivel de O-manosilación realizado en las cepas de delección *pmt2* y *pmt3* no mostró ninguna reducción observable en la O-manosilación. Junto con el análisis de títulos y crecimiento que se ha expuesto en el Ejemplo 2, estos resultados demuestran que las células fúngicas filamentosas, tales como las células de *Trichoderma*, se pueden modificar genéticamente para reducir o suprimir la actividad de O-manosilación, sin afectar adversamente la viabilidad y el rendimiento de las glicoproteínas producidas. Como tal, se identifica a *pmt1* como una diana valiosa para reducir la O-manosilación de proteínas secretadas y para mejorar la calidad del producto de los productos biofarmacéuticos producidos por *Trichoderma reesei*.

Ejemplo 1: delección de *pmt1* en una cepa de *Trichoderma reesei*

Este ejemplo demuestra que *pmt1* es una diana valiosa para reducir la O-manosilación de proteínas secretadas y para mejorar la calidad del producto de los productos biofarmacéuticos producidos por *Trichoderma reesei*.

Generación de plásmidos de delección de *pmt1*.

Se construyeron tres plásmidos de delección diferentes (*pTTv36*, *pTTv124*, *pTTv185*) para la delección del gen *pmt1* de la proteína O-manosiltransferasa (TreID75421). Todos los plásmidos contienen las mismas regiones de flanco en las posiciones 5' y 3' para una correcta integración en el locus de *pmt1*. La diferencia entre los tres plásmidos es el marcador usado en la selección; *pTTv36* contiene un gen que codifica acetamidasa de *Aspergillus nidulans* (*amdS*), *pTTv124* contiene una versión de área circular (casete blaster) del marcador *amdS* y *pTTv185* una versión de área circular (casete de blaster) de un gen que codifica orotidina-5'-monofosfato (OMP) descarboxilasa de *T. reesei* (*pyr4*).

La tercera construcción de delección, *pTTv185*, para el gen *pmt1* de la proteína O-manosiltransferasa (TreID75421) se diseñó para permitir la eliminación del marcador de selección del genoma de *Trichoderma reesei* después de la integración satisfactoria y de ese modo para reciclar el marcador de selección para las transformaciones posteriores. En este enfoque, el reciclaje del marcador, es decir, la eliminación del gen *pyr4* de la construcción de delección, se parece a los llamados casetes de blaster desarrollados para levaduras (Hartl, L. y Seiboth, B., 2005, Curr Genet 48: 204-211; y Alani, E. *et al.*, 1987, Genetics 116: 541-545). También se han desarrollado casetes de blaster similares para hongos filamentosos que incluyen *Hypocrea jecorina* (anamorfo: *T. reesei*) (Hartl, L. y Seiboth, B., 2005, Curr Genet 48: 204-211).

El número TreID se refiere al número de identificación de un gen de proteasa en particular de la base de datos del genoma del Joint Genome Institute para *Trichoderma reesei* v2.0. Los cebadores para la construcción de plásmidos de delección se diseñaron manualmente o usando el software Primer3 (sitio web de Primer3, Rozen y Skaletsky (2000) Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology. Humana Press, Totowa, NJ, pp 365-386).

El principio del casete desintegrador que usa *pyr4* como gen marcador es el siguiente: *pyr4*, que codifica orotidina-5'-monofosfato (OMP) descarboxilasa de *T. reesei* (Smith, J.L., *et al.*, 1991, Current Genetics 19: 27-33) es necesaria para la síntesis de uridina. Las cepas con deficiencia para la actividad de la OMP descarboxilasa no pueden crecer en un medio mínimo sin la suplementación con uridina (es decir, son auxótrofos de uridina). El uso de ácido 5-fluoroorótico (5-FOA) en la generación de cepas mutantes que carecen de actividad de OMP descarboxilasa (cepas *pyr4*⁻) se basa en la conversión de 5-FOA en un 5-fluoro-UMP intermedio tóxico por la OMP descarboxilasa. Por lo tanto, las células que tienen un gen *pyr4* mutado son resistentes al 5-FOA, pero además también son auxotróficas para la uridina. En principio, la resistencia al 5-FOA también puede resultar de una mutación en otro gen (*pyr2*, orotato fosforribosiltransferasa), y por lo tanto los mutantes espontáneos obtenidos con esta selección se deben verificar para el genotipo *pyr4*⁻ complementando el mutante con el gen *pyr4*. Una vez mutado, el gen *pyr4* se puede usar como un marcador de selección auxotrófico en *T. reesei*. En el casete blaster de los investigadores *pyr4* va seguido de una repetición directa de 310 pb de la región no traducida de *pyr4* 5' (5'UTR) y está rodeado por las regiones de flanco en las posiciones 5' y 3' del gen que se someterá a delección. La integración de delección se selecciona mediante la función de *pyr4*. La eliminación del marcador *pyr4* a continuación se fuerza en presencia de 5-FOA por recombinación entre las dos regiones homólogas (repetición directa de 5'UTR) dando como resultado un bucle fuera del marcador de selección y que permite el uso del mismo casete blaster (versión de área circular de *pyr4*) en rondas sucesivas de delecciones genéticas. Después de realizar un bucle, en el locus solo permanece la secuencia de 310 pb de 5'UTR.

Por lo tanto, el marcador de selección *pyr4* y el fragmento de repetición directa (DR) en la posición 5' (310 pb de 5'UTR de *pyr4*) se produjeron mediante PCR usando un plásmido que contenía una copia genómica de *pyr4* de *T.*

reesei como molde. Ambos fragmentos contenían secuencias superpuestas de 40 pb necesarias para clonar el plásmido con el casete de área circular en bucle usando una recombinación homóloga en levadura (véase a continuación). Para permitir las posibles etapas de clonación adicionales, se colocó un sitio de digestión *Ascl* entre el marcador *pyr4* y los sitios de repetición directa en la posición 5' y *NotI* para rodear el casete blaster completo.

Se seleccionaron 1100 pb de las regiones de flaqueo en la posición 5' y 1000 pb de regiones de flaqueo en la posición 3' como la base de los plásmidos de delección de *pmt1*. Los fragmentos de la región de flaqueo se produjeron mediante PCR usando una cepa QM6a de tipo silvestre de *T. reesei* (ATCC13631) como molde. Para el sistema de recombinación homóloga de levadura usado en la clonación (véase a continuación), las secuencias solapan que es para el vector y el marcador de selección se colocaron en los cebadores de PCR apropiados. Para permitir el cambio de marcador en la construcción, se introdujeron sitios de restricción *NotI* entre las regiones de flaqueo y el marcador de selección. Los sitios de restricción *PmeI* se colocaron entre el vector y las regiones de flaqueo para la eliminación de la secuencia del vector antes de la transformación en *T. reesei*. La estructura principal del vector pRS426 se digirió con enzimas de restricción (*EcoRI* y *XhoI*).

El primer plásmido de delección para *pmt1* (plásmido pTTv36, Tabla 2) usó *amdS*, un gen que codifica acetamidasa de *Aspergillus nidulans*, como marcador. El casete marcador se digirió a partir de un plásmido existente pHHO1 con *NotI*. Todos los fragmentos usados en la clonación se separaron con electroforesis en gel de agarosa y los fragmentos correctos se aislaron del gel con un kit de extracción en gel (Qiagen) usando métodos de laboratorio convencionales.

Para construir el primer plásmido de delección pTTv36, la estructura principal del vector y el marcador apropiado y los fragmentos de las regiones de flaqueo se transformaron en *Saccharomyces cerevisiae* (cepa H3488/FY834). El protocolo de transformación de la levadura se basó en el método de recombinación homóloga de la levadura que se describe en el material de trabajo de desactivaciones genéticas de *Neurospora* de Colot y Collopy, (sitio web de protocolos del genoma de Dartmouth *Neurospora*), en el protocolo de laboratorio Gietz (University of Manitoba, sitio web del laboratorio Gietz). El ADN plasmídico de los transformantes de levadura se rescató mediante transformación en *Escherichia coli*. Se cultivaron unos pocos clones, el plásmido de ADN se aisló y se digirió para detectar la recombinación correcta usando métodos de laboratorio convencionales. Se secuenciaron y almacenaron algunos clones con tamaños de inserción correctos.

Para clonar el segundo plásmido de delección de *pmt1* (pTTv124, Tabla 2), se eliminó el marcador *amdS* del plásmido de eliminación pTTv36 con digestión con *NotI* y se reemplazó por otra variante del casete de blaster, casete de área circular *amdS* que contiene el gen marcador de selección *amdS*, seguido de sitio de restricción *Ascl* y una repetición directa de 300 pb de 5'UTR de *amdS*. El casete blaster de *amdS* funciona de manera similar al casete blaster de *pyr4*. Los clones que contienen el casete blaster de *amdS* pueden crecer en acetamida como única fuente de nitrógeno. En un medio que contiene 5-fluoroacetamida (5-FAA), un gen funcional *amdS* convertirá 5-FAA en un fluoroacetato tóxico y, por lo tanto, en presencia de 5-FAA, la eliminación del gen *amdS* es beneficiosa para el hongo. La eliminación del casete blaster de *amdS* se mejora a través de los DR de 300 pb en el casete, como en el casete blaster de *pyr4*, lo que permite que el gen *amdS* se extienda a través de un solo cruce entre los dos DR. Los clones resultantes son resistentes a 5-FAA y no pueden crecer con acetamida como única fuente de nitrógeno.

Los fragmentos necesarios para el casete blaster de *amdS* se produjeron mediante PCR usando un plásmido p3SR2 (Hynes M.J. *et al.*, 1983, Mol. Cell. Biol. 3: 1430-1439) que contiene una copia genómica del gen *c amdS* como molde. Para el sistema de recombinación homóloga de levadura usado en la clonación (véase anteriormente), las secuencias solapantes se colocaron en los cebadores de PCR apropiados. Para permitir el cambio de marcador en la construcción, los sitios de restricción *NotI* se mantuvieron entre las regiones de flaqueo y el casete blaster. Los sitios de restricción adicionales *FseI* y *AsiSI* se introdujeron en el extremo 5' de *amdS* y un sitio *Ascl* entre el 5'DR de *amdS* y *amdS*. El plásmido pTTv124 se construyó usando el sistema de recombinación de levadura que se ha descrito anteriormente. El plásmido de ADN de los transformantes de levadura se rescató mediante transformación en *Escherichia coli*. Se cultivaron unos pocos clones, el plásmido de ADN se aisló y se digirió para detectar la recombinación correcta usando métodos de laboratorio convencionales. Se secuenciaron y almacenaron algunos clones con tamaños de inserción correctos.

Para clonar el tercer plásmido de delección *pmt1* (pTTv185, Tabla 2), el marcador *amdS* se eliminó del plásmido de delección pTTv36 con digestión con *NotI* y se reemplazó por el casete blaster de *pyr4* que se ha descrito anteriormente. El casete blaster de *pyr4* se obtuvo a partir de otro plásmido con digestión con *NotI*, se ligó a *NotI* cortado con pTTv36 y se transformó en *E. coli* usando métodos de laboratorio convencionales. Se cultivaron unos pocos transformantes, el ADN plasmídico se aisló y se digirió a identificar sistemáticamente la ligadura y orientación correctas del casete blaster de *pyr4* usando métodos de laboratorio convencionales. Un clon con un tamaño de inserción y orientación correctos se secuenció y almacenó.

Estos plásmidos de delección para *pmt1* (pTTv36, pTTv124 y pTTv185) dan como resultado una delección de 2465 pb en el locus de *pmt1* y cubren la secuencia de codificación completa de *PMT1*.

Tabla 2. Cebadores para generar los plásmidos deleción pTTv36, pTTv124 y pTTv185 para proteína O-manosiltransferasa 1 (*pmt1*, TreID75421)

Plásmido de deleción pTTv36 para <i>pmt1</i> (TreID75421), estructura principal de vector pRS426	
Cebador	Secuencia
75421_5'F	CGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCCAGTCACGACGGTTT AAACGCTGCAGGGCGTACAGAACT (SEQ ID NO:48)
75421_5'R	ATCTCTCAAAGGAAGAATCCCTTCAGGGTTGCGTTTCCAGTGCGG CCGCGGCTCTAAAATGCTTCACAG (SEQ ID NO:49)
75421_3'F	CGGTTCTCATCTGGGCTTGCTCGGTCCTGGCGTAGATCTAGCGG CCGCACGATGATGATGACAGCCAG (SEQ ID NO:50)
75421_3'R	GTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCGTTT AAACCGTCCAGCTCCCGCAGCGCC (SEQ ID NO:51)
Plásmido de deleción pTTv124 para <i>pmt1</i> (TreID75421), estructura principal de vector pTTv36	
T282_75421_amds_5for	ATCGCTAACTGCTTTCTCTTCTGTGAAGCATTTTATAGAGCCGCGGC CGCGGCCGCGCGGATCGCCTAGATCTACGCCAGGACCG (SEQ ID NO:52)
T283_amds_3rev_loop	CGGTCCTGGCGTAGATCTAGGGCGCGCCACTGGAAACGCAACC CTGAA (SEQ ID NO:53)
T284_amds_loop_5for	TTCAGGGTTGCGTTTCCAGTGCGCGGCCCTAGATCTACGCCAGG ACCG (SEQ ID NO:54)
T287_75421_loop_3rev	AGCATCATGACCGCCCCCTTCTGGCTGTCATCATCATCGTGCGG CCGCGATTATTGCACAAGCAGCGA (SEQ ID NO:55)
Plásmido de deleción pTTv185 para <i>pmt1</i> (TreID75421), estructura principal de vector pTTv36	
Cebador	Secuencia
sin nuevos cebadores, pTTv36 digerido con NotI y ligado con fragmento de bucle de <i>pyr4</i> obtenido a partir de otro plásmido	

Generación de cepas M403, M404, M406 y M407 de deleción de pmt1

5 Para generar una cepa diana negativa para *pyr4* adecuada para la deleción de *pmt1* usando el plásmido pTTv185, la cepa M304 productora del anticuerpo MAB01 se sometió a selección en presencia de ácido 5-fluoroorótico para seleccionar cepas que contienen genes *pyr4* alterados. La generación de la cepa M304 se describe en la Solicitud de Patente Internacional N.º PCT/EP2013/05012. La cepa M304 de *T. reesei* comprende la cadena ligera de MAB01 fusionada al vehículo de CBH1 truncado de *T. reesei* con la secuencia de escisión de Kex2 NVISKR, cadena pesada de MAB01 fusionada al vehículo de CBH1 truncado de *T. reesei* con la secuencia de escisión de Kex2 AXE1 [DGETVVKR], $\Delta pep1\Delta tsp1\Delta slp1$, y sobreexpresa KEX2 de *T. reesei*.

15 Las esporas de M304 se diseminaron en placas de medio mínimo que contenían 20 g/l de glucosa, 2 g/l de proteína peptona, uridina 5 mM y 1,5 g/l de 5-FOA, pH 4,8. Algunas colonias resistentes a 5-FOA se sembraron después de 5-7 días en las placas que se han descrito anteriormente con 1 ml/l de suplemento con Triton X-100. Además se purificaron algunos clones para formar clones de células individuales mediante placas de purificación consecutivas: se seleccionó un pequeño trozo de micelio para obtener NaCl al 0,8 % - Tween 20 al 0,025 % - glicerol al 20 %, se suspendió completamente mediante agitación vortical y se filtró a través de una punta de pipeta llena de algodón.

20 Los clones purificados se esporularon en placas que contenían 39 g/l de agarosa de dextrosa de patata. Estos clones se analizaron para determinar la auxotrofia de uridina colocando esporas en placas de medio mínimo (20 g/l de glucosa, 1 ml/l de Triton X-100, pH 4,8) con y sin suplementos de uridina 5 mM. No se observó crecimiento en las placas sin uridina, lo que indica que los clones seleccionados *pyr4*⁻ supuestos. Los clones se almacenaron para un uso futuro y uno de ellos se designó con el número de cepa M317.

25 *Pmt1* se sometió a deleción de M317 (*pyr4*⁻ de la cepa M304) usando el casete de deleción de *pmt1* del plásmido

pTTv185 que se ha descrito anteriormente. Para eliminar la secuencia del vector, el plásmido pTTv185 ($\Delta pmt1-pyr4$) se digirió con *PmeI* + *XbaI* y el fragmento correcto se purificó a partir de un gel de agarosa usando el kit de extracción en gel QIAquick (Qiagen). Aproximadamente 5 µg del casete de delección de *pmt1* se usaron para transformar la cepa M317. La preparación de protoplastos y la transformación para selección de *pyr4* se llevó a cabo básicamente de acuerdo con los métodos de Penttilä *et al.*, (1987, Gene 61:155-164) y Gruber *et al.*, (1990, Curr. Genet. 18:71-76).

Se seleccionaron 100 colonias como estrías selectivas. 40 transformantes se identificaron sistemáticamente por PCR usando los cebadores de la Tabla 3 para la integración correcta del casete de delección usando métodos de laboratorio convencionales. 12 clones de delección supuestos se purificaron a clones de células individuales. Los clones purificados se volvieron a identificar sistemáticamente para la integración y para la delección del ORF de *pmt1* usando cebadores de la Tabla 5. Cuatro clones (por duplicado) eran interruptores puros (es decir, sin señal con cebadores del ORF).

Tabla 3. Cebadores para identificación sistemática de integración de casete de delección pTTv185 y para delección de la proteína O-manosiltransferasa 1 (*pmt1*, TreID75421) de M317.

Cebador	Secuencia
T296_75421_5int	TATGGCTTTAGATGGGGACA (SEQ ID NO:56)
T027_Pyr4_orf_start_rev	TGCGTCGCCGTCTCGCTCCT (SEQ ID NO:57)
T061_pyr4_orf_screen_2F	TTAGGCGACCTCTTTTCCA (SEQ ID NO:58)
T297_75421_3int	CCTGTATCGTCCTGTTCC (SEQ ID NO:59)
T359_pmt1_orf_for	GCGCCTGTCGAGTCGGCATT (SEQ ID NO:60)
T360_pmt1_orf_rev	CACCGGCCATGCTCTTGCCA (SEQ ID NO:61)
T756_pmt1_orf_for2	CAAGGTGCCCTATGTCGC (SEQ ID NO:62)
T757_pmt1_orf_rev2	GATCGGGTCAGGACGGAA (SEQ ID NO:63)

La delección de *pmt1* se verificó mediante análisis de Southern. El ADN para los análisis de Southern se extrajo con el kit Easy-DNA para el aislamiento del ADN genómico (Invitrogen) básicamente de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Los análisis de Southern se realizaron básicamente de acuerdo con el protocolo para hibridaciones homólogas en Sambrook *et al.*, (1989, Molecular Cloning: A laboratory manual. 2ª Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press) usando marcado radioactivo (³²P-dCTP) y el kit DecaLabel Plus (Fermentas). Los esquemas de digestión de Southern se diseñaron usando el software Geneious Pro (sitio web de Geneious). Los fragmentos para las sondas se produjeron mediante PCR usando los cebadores enumerados en la Tabla 4 usando una cepa QM6a de tipo silvestre de *T. reesei* (ATCC13631) como molde. Los productos de PCR se separaron con electroforesis en gel de agarosa y los fragmentos correctos se aislaron del gel con un kit de extracción en gel (Qiagen) usando métodos de laboratorio convencionales.

Tabla 4. Cebadores para producción de fragmentos de sonda usados en análisis de Southern de cepas de delección de proteína O-manosiltransferasa 1 (*pmt1*, TreID75421)

Cebador	Secuencia
T635_pmt1_5f_for	AGCCTGTCTGAGGGACGG (SEQ ID NO:64)
T636_pmt1_5f_rev	CAAGGTCGAGATTTCGGCA (SEQ ID NO:65)
T637_pmt1_3f_for	CAGAAGGGGGCGGTCAT (SEQ ID NO:66)
T638_pmt1_3f_rev	GTCCCAGCTCCCGCTCT (SEQ ID NO:67)
T359_pmt1_orf_for	GCGCCTGTCGAGTCGGCATT (SEQ ID NO:68)
T360_pmt1_orf_rev	CACCGGCCATGCTCTTGCCA (SEQ ID NO:69)

Ninguno de los clones se hibridó con la sonda del ORF de *pmt1* (Figura 1A) indicando una delección satisfactoria de *pmt1*. Los análisis que usaron sondas flanco en las posiciones 5' y 3' revelaron que cuatro de los clones eran integrantes individuales (Figura 1B y 1C; 26-8A y B, 26-21A y B). Cuatro clones dieron señales adicionales y por lo tanto esto indicó una integración múltiple del casete de delección. Cuatro clones puros (con y sin copias adicionales del casete de delección) se han almacenado *para uso futuro* (M403; 26-8A, M404; 26-19A, M406; 26-16B y M407; 26-19B).

Ejemplo 2 Análisis de las cepas M403, M404, M406 y M407 de $\Delta pmt1$

El cultivo en matraz de agitación de la cepa M304 de *T. reesei* y ocho cepas de delección de *pmt1* (26-8A (M403), 26-8B, 26-16A, 26-16B (M406), 26-19A (M404), 26-19B (M407), 26-21A, 26-21B) se llevó a cabo en un medio mínimo de *Trichoderma* con 40 g/l de lactosa, 20 g/l de extracto de grano agotado, PIPPS 100 mM, 9 g/l de casaminoácidos, pH 5,5 a +28 °C, 200 rpm. Las muestras se recogieron los días 3, 5, 7 y 10 mediante filtración en vacío. Las muestras de sobrenadantes se almacenaron a -20 °C (análisis de anticuerpo y glicano) o se usaron en determinaciones de pH. Los micelios para determinaciones de peso seco celular se aclararon una vez con DDIW y se secaron a +100 °C durante 20-24 h. Los micelios para extracción de ADN genómico se aclararon una vez con DDIW y se almacenaron a -20 °C.

El análisis del estado de O-manosilación se llevó a cabo para cultivos en el matraz de agitación de la cepa M304 de *T. reesei*, ocho interruptores de *pmt1* (pTTv185: 26-8A, 26-8B, 26-16A, 26-16B, 26-19A, 26-19B, 26-21A, 26-21B). Todos se cultivaron en TrMM - 40 g/l de lactosa - 20 g/l de SGE - PIPPS 100 mM - 9 g/l de casaminoácidos, pH 5,5 a +28 °C y las muestras se extrajeron en los días de los puntos temporales 3, 5, 7 y 10.

El anticuerpo MAB01 de cada muestra del día 7 se purificó a partir de los sobrenadantes usando la placa de 96 pocillos ProteT G HP MultiTrap (GE Healthcare) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El anticuerpo se eluyó con tampón citrato 0,1 M, pH 2,6 y se neutralizó con Tris 2 M, pH 9. La concentración se determinó mediante la absorbancia de UV en un espectrofotómetro frente a la curva patrón de MAB01. Para el análisis de O-manosilación, se incubaron 10 µg de proteína en HCl de Guanidinio 6 M durante 30 minutos a +60 °C, después de lo cual se añadieron 5 µl de DTT 0,1 M reciente y se incubaron nuevamente como se ha indicado anteriormente. Las muestras se purificaron usando una placa Poros R1 de 96 pocillos y las cadenas ligeras resultantes se analizaron usando MALDI-TOF MS. Todos los análisis se realizaron como duplicados.

En cultivos de matraz, el estado de O-manosilación en los interruptores de *pmt1* se modificó notablemente; todos los interruptores de $\Delta pmt1$ parecían iguales - de O-manosilación casi completa pérdida en MAB01 LC (Figura 2: Espectros de la cadena ligera de la cepa M317 precursora de *T. reesei* cultivada en matraz (pyr4⁻ de M304) (A) y el clon 26-8A interruptor de $\Delta pmt1$ (B), día 7).

Fermentación de la cepa M403 de $\Delta pmt1$

La fermentación se llevó a cabo con la cepa M403 de $\Delta pmt1$ (clon 26-8A; pTTv185 en M317). El medio de cultivo de fermentación contenía 30 g/l de glucosa, 60 g/l de lactosa, 60 g/l de grano agotado completo a pH 5,5. La alimentación con lactosa se inició después del agotamiento de la glucosa. La temperatura de crecimiento se desplazó de +28 °C a +22 °C después del agotamiento de la glucosa. Las muestras se recogieron mediante filtración en vacío. Las muestras de sobrenadantes se almacenaron a -20 °C.

En la Figura 3 se muestran los análisis de Western de muestras de sobrenadante. Las cadenas pesadas y ligeras de MAB01 se detectaron a partir de sobrenadante después del día tres. A pesar de la delección de *pmt1*, que también podría reducir la O-manosilación del conector y por lo tanto ayudar en la escisión de KEX2, una cantidad sustancial de cadena ligera permanece unida al vehículo en los primeros días de la fermentación. En etapas posteriores, la escisión es más completa, pero el rendimiento se puede ver afectado por la degradación de la cadena pesada. Los resultados sobre los títulos de anticuerpos (Tabla 7 que sigue a continuación) indican una expresión bastante estable entre los días 7 y 10. En esta fermentación, la cepa de delección de *pmt1* delección produjo niveles de anticuerpos aproximadamente iguales a los de la cepa precursora. Se obtuvieron títulos más altos cuando la misma cepa se fermentó usando un fermentador diferente.

M403 (clon 26-8A) se cultivó en un fermentador en TrMM, 30 g/l de glucosa, 60 g/l de lactosa, 60 g/l de grano agotado, pH 5,5 con alimentación de lactosa. Las muestras se recolectaron los días 2, 3 y 5 - 11. Se llevó a cabo un análisis del nivel de O-manosilación con respecto a los cultivos en matraz. El estado de O-manosilación también disminuyó considerablemente en el cultivo en fermentador (Figura 4, Tabla 5).

El nivel de O-manosilación se calculó a partir del promedio de área e intensidad (Tabla 5). El área (Tabla 6) parece dar con mayor frecuencia una tasa más alta de LC no O-glicosilado que la intensidad (Tabla 7). En todos los puntos temporales, el nivel de O-manosilación fue inferior a un 5 %.

Tabla 5. Estado de O-manosilación de la cepa M403 de T. reesei (cepa de delección de pmt1 de cepa productora de anticuerpo MAB01, clon 26-8A) del cultivo en fermentador.

Porcentajes calculados a partir de área e intensidad de señales cargadas individuales. En el punto temporal d 9 ambas muestras dieron un 100 % para LC, estando LC + Hex1 prácticamente ausente.																
	3 d		5 d		6 d		7 d		D 8	D 9	d 10		d 11			
	Promedio	Estd	Promedio	Estd	Promedio	Estd	Promedio	Estd	Promedio	Promedio	Promedio	Estd	Promedio	Estd		
LC	95,8	0,30	96,8	0,30	97,5	0,29	97,4	0,36	97,3	100,0	96,6	0,2	95,5	0,11		
LC+Hex	4,2	0,30	3,2	0,30	2,5	0,29	2,6	0,36	2,7	0,0	3,4	0,2	4,5	0,11		

Tabla 6. Porcentajes de valores del área de tres muestras paralelas de M403 cultivada en fermentador del día 7.

	Promedio de área	Estd
LC	98,5	0,15
LC + Hex	1,5	0,15

Tabla 7. Porcentajes de valores de intensidad de tres muestras paralelas de M403 cultivada en fermentador del día 7.

	Promedio de intensidad	Estd
LC	96,3	0,57
LC + Hex	3,7	0,57

5

No se observaron efectos negativos de la característica del crecimiento de la cepa y capacidad de secreción. La cepa M403 creció bien y produjo un aumento de la cantidad de anticuerpo en función del tiempo en cultivo en fermentador. El mejor título se obtuvo desde el día 10 (Tabla 8). El día 11 el título disminuye.

10 Tabla 8: Títulos de MAB01 cultivada en fermentador que produce la cepa M403. El anticuerpo se purificó usando una placa de 96 pocillos con Proteína G.

Punto Temporal	Días cultivado	Título g/l
54:30 horas	2	0,04
71:50 horas	3	0,04
77:45 horas	3	0,07
126:20 horas	5	0,91
148:20 horas	6	1,23
168:20 horas	7	1,47
192:00 horas	8	1,50
217:15 horas	9	1,35
241:00 horas	10	1,52
275:20 horas	11	1,06

La delección de *pmt1* disminuyó drásticamente la O-manosilación de MAB01; la cantidad de LC O-manosilada fue ~ 61 % en la cepa precursora, un 3 % en el mejor clon de $\Delta pmt1$ en el cultivo en matraz de agitación y prácticamente un 0 % en el cultivo en fermentador en el punto temporal el día 9.

15

Delección de pmt1 en un Fab que expresa la Cepa de Trichoderma reesei

El casete de interrupción de *pmt1* (*pmt1 amdS*) se liberó de su troncal pTTv124 de la estructura principal que se ha descrito anteriormente mediante digestión de restricción y se purificó mediante extracción en gel. Usando la transformación de protoplastos, el casete de delección se introdujo en las cepas de *T. reesei*, M304 (cepa de delección de proteasa que expresa MAB01 3 veces) y M307 (cepas $\Delta pep1 \Delta tsp1 \Delta slp1 \Delta gap1$ de delección de proteasa 4 veces, también descrita en el documento PCT/EP2013/050126 que se ha transformado para expresar un Fab). Los transformantes se sembraron en placas en medio selectivo de acetamidasa (medio mínimo que contiene acetamida como única fuente de carbono).

25

Los transformantes se identificaron sistemáticamente por PCR para la integración homóloga del marcador de acetamidasa en el locus de *pmt1* usando un cebador directo fuera del fragmento de la región de flanco en la posición 5' de la construcción y el cebador inverso dentro del marcador de selección *AmdS* (integración en 5'), así como un cebador directo dentro del marcador de selección *AmdS* y un cebador inverso fuera del fragmento de la región de flanco en la posición 3' (integración en 3'). Se seleccionaron tres transformantes independientes de cada transformación (cepas que expresaban MAB01 y Fab), que dieron resultados de PCR que mostraban la integración correcta de la construcción en el locus de *pmt1* para la purificación de esporas individuales para obtener clones uninucleares. La integración adecuada del casete de alteración se volvió a confirmar mediante PCR usando las mismas combinaciones de cebadores que se han descrito anteriormente y la ausencia del gen *pmt1* se verificó mediante el uso de una combinación de cebadores dirigida al marco de lectura abierto de *pmt1*. La integración correcta del casete de alteración también se verificó para todos los clones que aplican la hibridación de Southern. El ADN genómico digerido de los tres clones, así como la cepa precursora, se sometieron a ensayo frente de los

30

35

flancos en las posiciones 5' y 3' del gen *pmt1* para confirmar la modificación del locus de *pmt1* como se esperaba. Además, el ADN de transferencia se hibridó con una sonda específica para el marco de lectura abierto de *pmt1* con el fin de verificar la ausencia de *pmt1*.

5 Expresión de MAB01 y Fab para análisis de O-manosilación

Para evaluar el impacto de la delección de *pmt1* en los niveles de O-manosilación de moléculas de mAb y Fab, las cepas se cultivaron en fermentaciones discontinuas durante 7 días, en medios que contenían un 2 % de extracto de levadura, un 4 % de celulosa, un 4 % de celobiosa, un 2 % de sorbosa, 5 g/l de KH_2PO_4 , y 5 g/l de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. El pH del cultivo se controló a pH 5,5 (ajustado con NH_4OH). La temperatura de partida fue 30 °C, que se desplazó a 22 °C después de 48 horas. Las fermentaciones de mAb (cepas M304, M403, M406 y M407) se llevaron a cabo en 4 recipientes de reactor de vidrio de 2 l en paralelo (DASGIP) con un volumen de cultivo de 1 l y la fermentación de Fab (TR090 N.º 5) se realizó en un reactor de tanque de acero de 15 l (Infors) con un volumen de cultivo de 6 l. Las cepas de Fab (TR090 N.º 5, TR090 N.º 3, TR090 N.º 17) se cultivaron además en matraces de agitación durante 4 días a 28 °C. Los componentes principales de los medios fueron extracto de levadura al 1 %, celobiosa al 2 %, sorbosa al 1 %, 15 g/l de KH_2PO_4 , y 5 g/l de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y el pH no se controló (el pH disminuye de 5,5 a < 3 durante un periodo de tiempo de cultivo). Se tomaron muestras de sobrenadante de cultivo durante el transcurso de los ensayos y se almacenaron a -20 °C. Las muestras se recogieron diariamente de todo el transcurso de estos cultivos, y los niveles de producción se analizaron mediante cromatografía líquida de afinidad. Las muestras con niveles de producción máximos se sometieron a purificación y además a un análisis de O-manosilación.

Análisis de O-manosilación en Fab y mAb

La O-manosilación se analizó en moléculas de mAb y Fab expresadas a partir de la delección de *pmt1* y las cepas precursoras. El mAb y el Fab se purificaron a partir de sobrenadantes de cultivo usando la resina de cromatografía de afinidad Lambda Select Sure y CaptureSelect Fab Lambda (BAC), respectivamente, aplicando las condiciones descritas por los protocolos de los fabricantes. Ambas moléculas purificadas, incluyendo el mAb y el Fab purificados, se sometieron a RP-LC-QTOF-MS como muestras intactas y/o reducidas/alquiladas.

Para análisis intactos, un equivalente de 20 µg de proteína se inyectó en la columna. Para análisis de mAb reducidos/alquilados, un equivalente de 100 µg de proteína se desglicosiló usando la enzima PNGasa-F, que se reduce usando DTT y se alquila usando yodoacetamida antes del análisis de LC-MS. Para los análisis de Fab reducidos/alquilados, un equivalente de 100 µg de proteína se redujo con DTT y se alquiló con yodoacetamida antes del análisis de LC-MS. 6 µg de la muestra reducida/alquilada se inyectaron en la columna. La separación mediante cromatografía en fase inversa se llevó a cabo en una columna Zorbax C3 de 2,1 x 150 mm empaquetada con partículas de 5 µm, tamaño de poro de 300 Å, los eluyente les fueron: eluyente A TFA al 0,1 % en agua y eluyente B TFA al 0,1 % en IPA al 70 %, ACN al 20 %, agua al 10 %. La columna se calentó a 75 °C y el caudal fue de 200 µl/min. El gradiente usado para la separación de la muestra se presenta en Tabla 9.

40 **Tabla 9: gradiente de HPLC usado para muestras intactas y reducidas/alquiladas**

Tiempo	% de B	Flujo (ml/min)
0	10	0,1
0,1	10	0,2
2	10	0,2
4	28	0,2
30	36,4	0,2
31	100	0,2
34	100	0,2
35	10	0,2
40	10	0,2

La HPLC se acopló directamente con un espectrómetro de masas Q-TOF Ultima (Waters, Manchester, Reino Unido). El espectrómetro de masas ESI-TOF sea justo para desarrollarse en modo ion positivo. La evaluación de los datos de los análisis de muestras intactas y reducidas/alquiladas se llevó a cabo usando el software de análisis MassLynx (Waters, Manchester, Reino Unido). La deconvolución de los espectros de masas promediados a partir de las señales de UV principales se llevó a cabo usando el algoritmo MaxEnt, una parte del software de análisis MassLynx (Waters, Manchester, Reino Unido). Los parámetros de deconvolución fueron los siguientes: los "números máximos de iteraciones" son 8; la resolución es 0,1 Da/canal; Gaussiana Uniforme - el ancho a la altura media es 1 Da para las cadenas intactas y 0,5 para las cadenas reducidas y las proporciones de intensidad mínima son izquierda a un 30 % y derecha un 30 %. El nivel calculado de O-manosilación (%) se determinó usando la altura de la señal del pico

después de la deconvolución. Los niveles de O-manosilación observados (%) de los mAb y los Fab de las cepas de delección de *pmt1* independientes se comparan con los de las cepas de tipo silvestre precursoras respectivas en las Tablas 10 y 11.

5

Tabla 10: Nivel de O-manosilación [%] de los Fab de diferentes cepas

	Cepa			
Muestra	M307 Precursora	TR090 N.º 5	TR090 N.º 3	TR090 N.º 17
Fab Intacto	70,1	34,2	34,3	34,7
LC	58,8	10,4	10,1	10,8
HC	42,9	26,1	25,9	25,8

Tabla 11: Nivel de O-manosilación [%] de MAB01 de diferentes cepas M403, M406 y M407 deficientes en *pmt1*. La cepa precursora es M304

	Cepa en medio de extracto de levadura			
Muestra	Precursora	M403	M406	M407
LC	50,7	5,7	5,8	5,8
HC	4,8	No detectada	No detectada	No detectada

10 Se encontró que el nivel de O-manosilación era de un 70 % en el Fab intacto obtenido a partir de la cepa precursora y se redujo a ~34 % en las tres cepas de delección de *pmt1*. La transferencia de manosas disminuyó de manera más eficaz en las cadenas ligeras de Fab (10 % de O-manosilación residual en las cadenas ligeras obtenidas a partir de las cepas de delección de *pmt1* con respecto a un 59 % para la cepa precursora), en comparación con las cadenas pesadas, para las cuales disminuyó de un 43 % a ~26 %.

15

Se encontró que el nivel de O-manosilación era de un 50 % en la cadena ligera del mAb obtenido a partir de las cepas precursoras y se redujo a un 5,7-5,8 % en las tres cepas de delección de *pmt1*. Se encontró que el nivel de O-manosilación era de un 4,8 % en la cadena pesada del mAb obtenido a partir de las cepas y se redujo completamente (por debajo del límite de detección por LC-MS) en las tres cepas de delección de *pmt1*.

20

En conclusión, después de la delección de *pmt1*, casi un 95 % del mAb purificado y un 70 % de las moléculas de Fab ya no contenían ningún resto de O-manosa. Por lo tanto, *pmt1* es una diana valiosa para reducir la O-manosilación de proteínas secretadas y para mejorar la calidad del producto de los productos biofarmacéuticos producidos por *Trichoderma reesei*.

25

Ejemplo 3: delección de *pmt2* en una cepa de *Trichoderma reesei*

*Generación de plásmidos de delección de *pmt2**

30 Se construyeron tres plásmidos de delección diferentes (pTTv34, pTTv122, pTTv186) para la delección del gen *pmt2* de la proteína O-manosiltransferasa (TreID22005). Todos los plásmidos contienen las mismas regiones de flaqueo en las posiciones 5' y 3' para una correcta integración en el locus de *pmt2*. La diferencia entre los tres plásmidos es el marcador usado en la selección; pTTv34 contiene un gen que codifica acetamidasa de *Aspergillus nidulans* (*amdS*), pTTv122 contiene una versión de bucle (casete blaster) del marcador *amdS* y pTTv186 una versión de bucle (casete blaster) de un gen que codifica orotidina-5'-mono-fosfato (OMP) descarboxilasa de *T. reesei* (*pyr4*).

35

Se seleccionaron 1100 pb de las regiones de flaqueo en la posición 5' y 1000 pb en la posición 3' como la base del segundo gen de la proteína O-manosiltransferasa, *pmt2* (TreID22005), plásmidos de delección. La construcción del primer plásmido para este gen se llevó a cabo básicamente como se ha descrito para *pmt1* en el Ejemplo 1. En cuanto a *pmt1*, el primer plásmido de delección para *pmt2* (plásmido pTTv34, Tabla 12) usó *amdS*, un gen que codifica acetamidasa de *Aspergillus nidulans*, como el marcador de selección.

40

Al igual que para *pmt1* en el Ejemplo 1, para clonar el segundo plásmido de delección, pTTv122 (Tabla 12), el marcador *amdS* se eliminó del plásmido de delección pTTv34 con digestión con *NotI* y se reemplazó por el casete blaster de *amdS* para el cual los fragmentos se produjeron por PCR (véase el Ejemplo 1 mencionado anteriormente para detalles). El plásmido pTTv122 se construyó usando el sistema de recombinación de levadura que se ha descrito en el Ejemplo 1. El plásmido de ADN de los transformantes de levadura se rescató mediante transformación en *Escherichia coli*. Se cultivaron unos pocos clones, el plásmido de ADN se aisló y se digirió para identificar sistemáticamente la recombinación correcta usando métodos de laboratorio convencionales. Se secuenciaron y almacenaron algunos clones con tamaños de inserción correctos.

45

50

El tercer plásmido de delección para *pmt2*, pTTv186 (Tabla 12) se clonó como el tercer plásmido para *pmt1*; el casete blaster de *amdS* se retiró del plásmido de delección pTTv122 con digestión con *NotI* y se reemplazó por el casete blaster de *pyr4* que se ha descrito en el Ejemplo 1. El casete blaster de *pyr4* se obtuvo a partir de otro plásmido con digestión con *NotI*, se ligó a pTTv122 cortado con *NotI* y se transformó en *E. coli* usando métodos de laboratorio convencionales. Se cultivaron unos pocos transformantes, el plásmido de ADN se aisló y se digirió para identificar sistemáticamente la ligadura y orientación correctas del casete blaster de *pyr4* usando métodos de laboratorio convencionales. Un clon con un tamaño de inserción y orientación correctos se secuenció y almacenó. Estos plásmidos de delección para *pmt2* (pTTv34, pTTv122 y pTTv186, Tabla 12) dan como resultado una delección de 3186 pb en el locus de *pmt2* y cubren la secuencia de codificación completa de PMT2.

Tabla 12. Cebadores para generar los plásmidos delección pTTv34, pTTv122 y pTTv186 para proteína O-manosiltransferasa 2 (*pmt2*, TreID22005).

Plásmido de delección pTTv34 para <i>pmt2</i> (TreID22005), estructura principal de vector pRS426	
Cebador	Secuencia
22005_5'F	CGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTCCCAGTCACGACGGT TTAAACGTTTCAGGTACCAACACCTG (SEQ ID NO:70)
22005_5'R	ATCTCTCAAAGGAAGAATCCCTTCAGGGTTGCGTTTCCAGTGC GGCCGCGGCGAAGAGTCTGGCGGGGA (SEQ ID NO:71)
22005_3'F	CGGTTCTCATCTGGGCTTGCTCGGTCCTGGCGTAGATCTAGCG GCCGCAAGAGGATGGGGGTAAAGCT (SEQ ID NO:72)
22005_3'R	GTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCGT TTAAACGAGGAGGACTCGTGAGTTAT (SEQ ID NO:73)
Plásmido de delección pTTv122 for <i>pmt2</i> (TreID22005), estructura principal de vector pTTv34	
T280_22005_amds_5for	GCGCCCTTCCGCCTCGACAATCCCCGCCAGACTCTTCGCCGC GGCCGCGGCGCGGCCGCGATCGCCTAGATCTACGCCAGGACC G (SEQ ID NO:74)
T283_amds_3rev_loop	CGGTCCTGGCGTAGATCTAGGGCGCGCCACTGGAAACGCAAC CCTGAA (SEQ ID NO:75)
T284_amds_loop_5for	TTCAGGGTTGCGTTTCCAGTGCGCGGCCCTAGATCTACGCCAG GACCG (SEQ ID NO:76)
T285_22005_loop_3rev	GAGCTGGCCAGAAAAGACCAAGCTTTACCCCCATCCTCTTGCG GCCGCGATTATTGCACAAGCAGCGA (SEQ ID NO:77)
Plásmido de delección pTTv186 for <i>pmt2</i> (TreID22005), estructura principal de vector pTTv122	
Cebador	Secuencia
sin nuevos cebadores, pTTv122 digerido con <i>NotI</i> y ligado con fragmento de bucle de <i>pyr4</i> de otro plásmido	

15 Generación de las cepas de delección M338, M339 y M340 de *pmt2*

Para eliminar la secuencia del vector, el plásmido pTTv122 ($\Delta pmt2$ -*amdS*) se digirió con *PmeI*+*XbaI* y el fragmento de 5,2 kb se purificó del gel de agarosa usando el kit de extracción en gel QIAquick (Qiagen). Se usaron aproximadamente 5 µg del casete de delección de *pmt2* para transformar la cepa M124 (la cepa M124 se describe en el documento WO2012/069593). La preparación y transformación de protoplastos se llevaron a cabo básicamente de acuerdo con Penttilä *et al.*, 1987, Gene 61: 155-164 y Gruber *et al.*, 1990, Current Genetics 18: 71-76 para la selección de *amdS*.

Se seleccionaron 120 colonias como estrías selectivas. 10 transformantes se identificaron sistemáticamente por PCR usando los cebadores de la Tabla 13 para la integración correcta del casete de delección usando métodos de laboratorio convencionales. Cinco clones de delección supuestos se purificaron a clones de células individuales. Los clones purificados (dos en paralelo de cada uno) se volvieron a identificar sistemáticamente para la integración y

para la delección del ORF de *pmt2* (cebadores en la Tabla 13). Cinco clones se seleccionaron para análisis de Southern.

Tabla 13. Cebadores para identificación sistemática de integración de casete de delección pTTv122 y para delección de la proteína O-manosiltransferasa 2 (*pmt2*, TreID22005) de M124.

Cebador	Secuencia
T288_22005_5int	ACGAGTTGTTTCGTGTACCG (SEQ ID NO:78)
T020_Amds_rev2	CTTTCCATTCATCAGGGATGG (SEQ ID NO:79)
T021_amds_end_fwd	GGAGACTCAGTGAAGAGAGG (SEQ ID NO:80)
T289_22005_3int	ATGTTGCAGTTGCGAAAG (SEQ ID NO:81)
T290_22005_5orf	CCCTCGTCGCAGAAAAGATG (SEQ ID NO:82)
T291_22005_3orf	AGCCTCCTTGGGAACCTCAG (SEQ ID NO:83)

La delección de *pmt2* se verificó mediante análisis de Southern. El ADN para los análisis de Southern se extrajo con el kit Easy-DNA para el aislamiento del ADN genómico (Invitrogen) básicamente de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Los análisis de Southern se realizaron básicamente como se ha descrito en el Ejemplo 1. Los fragmentos para las sondas se produjeron mediante PCR usando los cebadores que se enumeran en la Tabla 14 usando una cepa M124 de *T. reesei* como molde para la sonda de ORF y el plásmido pTTv122 para las sondas de flanqueo en las posiciones 5' y 3'. Los productos de PCR se separaron por electroforesis en gel de agarosa y los fragmentos correctos se aislaron del gel con un kit de extracción en gel (Qiagen) usando métodos de laboratorio convencionales.

Tabla 14. Cebadores para producción de fragmentos de sonda usados en análisis de Southern de cepas de delección de proteína O-manosiltransferasa 2 (*pmt2*, TreID22005).

Cebador	Secuencia
T639_22005 sonda de flanqueo F en la posición 5'	CTTAGTGCGGCTGGAGGGCG (SEQ ID NO:84)
T640_22005 sonda de flanqueo R en la posición 5'	GGCCGGTTCGTGCAACTGGA (SEQ ID NO:85)
T641_22005 sonda de flanqueo F en la posición 3'	GGCCGCAAGAGGATGGGGGT (SEQ ID NO:86)
T642_22005 sonda de flanqueo R en la posición 3'	TCGGGCCAGCTGAAGCACAAC (SEQ ID NO:87)
T643_22005 sonda en la posición 5' de orf	TTGAGGAACGGCTGCCTGCG (SEQ ID NO:88)
T644_22005 sonda en la posición 3' de orf	CGATGGCTCCGTCATCCGCC (SEQ ID NO:89)

Tres de los clones no se hibridaron con la sonda de ORF de *pmt2* (los datos no se muestran) lo que indica una delección de *pmt2* satisfactoria. Los análisis que usaron sondas de flanqueo en las posiciones 5' y 3' revelaron que los mismos tres clones eran integrantes individuales (los datos no se muestran). Los otros dos clones (19-35A y 19-40B) dieron señales correspondientes a la cepa precursora M124. Tres clones puros se han almacenado para uso futuro (M338; 19-7B, M339; 19-22B y M340; 19-39B).

Análisis de las cepas M338, M339 y M340 de $\Delta pmt2$

El cultivo en matraz de agitación de la cepa M124 de *T. reesei* y las cepas de delección de *pmt2* (19-7B/M338, 19-22B/M339 y 19-39B/M340) se llevó a cabo en medio mínimo de *Trichoderma* con 40 g/l de lactosa, 20 g/l de extracto de grano agotado, PIPPS 100 mM, pH 5,5 con y sin sorbitol 1 M como estabilizador osmótico a +28 °C, 200 rpm. Las muestras se recogieron los días 3, 5 y 7 mediante filtración en vacío. Las muestras de sobrenadantes se almacenaron a -20 °C (análisis de anticuerpo y glicano) o se usaron en determinaciones de pH. Los micelios para determinaciones de peso seco celular se aclararon una vez con DDIW y se secaron a +100 °C durante 20-24 h. Los micelios para extracción de ADN genómico se aclararon una vez con DDIW y se almacenaron a -20 °C.

Generación de las cepas M452, M453 y M454 de delección de *pmt2*

La generación de M317 se describe en el Ejemplo 1 que se ha mencionado anteriormente.

Para eliminar la secuencia del vector, el plásmido pTTv186 ($\Delta pmt2$ -pyr4) se digirió con *PmeI* + *XbaI* y el fragmento de 4,1 kb se purificó a partir de gel de agarosa usando el kit de extracción en gel QIAquick (Qiagen). Para transformar la cepa M317 se usaron aproximadamente 5 µg del casete de delección de *pmt2*.

La preparación y transformación de protoplastos se llevaron a cabo básicamente de acuerdo con Penttilä *et al.*, 1987, Gene 61: 155-164 y Gruber *et al.*, 1990, Current Genetics 18:71-76 para la selección de *pyr4*.

Se seleccionaron 100 colonias como estrías selectivas. 20 transformantes se identificaron sistemáticamente por PCR usando los cebadores de la Tabla 15 para la integración correcta del casete de delección usando métodos de laboratorio convencionales. Nueve clones de delección supuestos se purificaron a clones de células individuales. Los clones purificados se volvieron a identificar sistemáticamente para integración en la posición 5' y para delección del ORF de *pmt2* (cebadores en la Tabla 14). Tres clones eran agentes de delección puros (es decir, sin señal con los cebadores de ORF).

Tabla 15. Cebadores para identificación sistemática de integración de casete de delección pTTv186 y para delección de la proteína O-manosiltransferasa 2 (*pmt2*, TreID22005) de M317.

Cebador	Secuencia
T288_22005_5int	ACGAGTTGTTTCGTGTACCG (SEQ ID NO:90)
T027_Pyr4_orf_start_rev	TGCGTCGCCGTCTCGCTCCT (SEQ ID NO:91)
T061_pyr4_orf_screen_2 F	TTAGGCGACCTCTTTTCCA (SEQ ID NO:92)
T289_22005_3int	ATGTTGCAGTTGCGAAAG (SEQ ID NO:93)
T290_22005_5orf	CCCTCGTCGCAGAAAAGATG (SEQ ID NO:94)
T291_22005_3orf	AGCCTCCTTGGGAACCTCAG (SEQ ID NO:95)

La delección de *pmt2* se verificó mediante análisis de Southern. El ADN para los análisis de Southern se extrajo con el kit Easy-DNA para el aislamiento del ADN genómico (Invitrogen) básicamente de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Los análisis de Southern se realizaron básicamente como se ha descrito en el Ejemplo 1. Los fragmentos para las sondas se produjeron mediante PCR usando los cebadores que se enumeran en la Tabla 16 usando una cepa QM6a de tipo silvestre de *T. reesei* (ATCC13631) como el molde para la sonda de ORF de *pmt2* y el plásmido pTTv186 para las sondas de flaqueo en las posiciones 5' y 3'. Los productos de PCR se separaron por electroforesis en gel de agarosa y los fragmentos correctos se aislaron del gel con un kit de extracción en gel (Qiagen) usando métodos de laboratorio convencionales.

Tabla 16. Cebadores para producción de fragmentos de sonda usados en análisis de Southern de clones de delección de proteína O-manosiltransferasa 2 (*pmt2*, TreID22005).

Cebador	Secuencia
T639_22005 sonda de flaqueo F en la posición 5'	CTTAGTGCGGCTGGAGGGCG (SEQ ID NO: 96)
T640_22005 sonda de flaqueo R en la posición 5'	GGCCGGTTCGTGCAACTGGA (SEQ ID NO: 97)
T641_22005 sonda de flaqueo F en la posición 3'	GGCCGCAAGAGGATGGGGGT (SEQ ID NO: 98)
T642_22005 sonda de flaqueo R en la posición 3'	TCGGGCCAGCTGAAGCACAAAC (SEQ ID NO: 99)
T290_22005_5orf	CCCTCGTCGCAGAAAAGATG (SEQ ID NO: 100)
T291_22005_3orf	AGCCTCCTTGGGAACCTCAG (SEQ ID NO: 101)

Ninguno de los clones se hibridó con la sonda del ORF de *pmt2* (los datos no se muestran) indicando una delección satisfactoria de *pmt2*. Los análisis que usaron sondas flaqueo en las posiciones 5' y 3' revelaron que dos de los

clones eran integrantes individuales (los datos no se muestran). Un clon dio una señal adicional desde la sonda de franqueo en la posición 3' (los datos no se muestran) y por lo tanto esto indicó una integración múltiple del casete de delección. Tres clones puros (con y sin copias adicionales del casete de delección) se han almacenado para uso futuro (M452; 27-10A, M453; 27-17A y M454: 27-18B).

5 *Análisis de las cepas M452, M453 y M454 de $\Delta pmt2$*

Se llevó a cabo el cultivo en matraz de agitación de la cepa M304 de *T. reesei* y tres cepas de delección de *pmt2* (27-10A/M452, 27-17A/M453 y 27-18B/M454) en medio mínimo de *Trichoderma* con 40 g/l de lactosa, 20 g/l de extracto de grano agotado, PIPPS 100 mM, 9 g/l de casaminoácidos, pH 5,5 a +28 °C, 200 rpm. Las muestras se recogieron los días 3, 5, 7 y 10 mediante filtración en vacío. Las muestras de sobrenadantes se almacenaron a -20 °C (análisis de anticuerpo y glicano) o se usaron en determinaciones de pH. Los micelios para determinaciones de peso seco celular se aclararon una vez con DDIW y se secaron a +100 °C durante 20-24 h. Los micelios para extracción de ADN genómico se aclararon una vez con DDIW y se almacenaron a -20 °C.

El nivel de O-manosilación se llevó a cabo para cepas de delección de *pmt2* con respecto a cultivos en matraz de cepas de delección de *pmt1*. No se observó diferencia en la O-manosilación en comparación con la cepa precursora M304.

20 **Ejemplo 4: delección de *pmt3* en una cepa de *Trichoderma reesei***

*Generación de plásmidos de delección de *pmt3**

Tres plásmidos de delección diferentes (pTTv35, pTTv123, pTTv187) se construyeron para delección del gen *pmt3* de la proteína O-manosiltransferasa (TreID22527). Todos los plásmidos contienen las mismas regiones de flanco en las posiciones 5' y 3' para la integración correcta al locus de *pmt3*. La diferencia entre los tres plásmidos es el marcador usado en la selección; pTTv35 contiene un gen que codifica acetamidasa de *Aspergillus nidulans* (*amdS*), pTTv123 contiene una versión de bucle (casete blaster) del marcador *amdS* y pTTv187 una versión de bucle (casete blaster) de un gen que codifica orotidina-5'-mono-fosfato (OMP) descarboxilasa de *T. reesei* (*pyr4*).

Se seleccionaron regiones de flanco de 1100 pb de la posición 5' y de 1000 pb de la posición 3' como la base del tercer gen, *pmt3*, de la proteína O-manosiltransferasa (TreID22527), plásmidos de delección. La construcción del primer plásmido para este gen se llevó a cabo básicamente como se ha descrito para *pmt1* en el Ejemplo 1. En cuanto a *pmt1*, el primer plásmido de delección para *pmt3* (plásmido pTTv35, Tabla 17) usó *amdS*, un gen que codifica acetamidasa de *Aspergillus nidulans*, como el marcador de selección.

Al igual que para *pmt1* en el Ejemplo 1, para clonar el segundo plásmido de delección, pTTv123 (Tabla 16), el marcador *amdS* se eliminó del plásmido de delección del plásmido de delección pTTv35 con digestión con *NotI* y se reemplazó por el casete blaster de *amdS* para el cual los fragmentos se produjeron por PCR (véase el Ejemplo 1 mencionado anteriormente para detalles). El plásmido pTTv123 se construyó usando el sistema de recombinación de levadura que se ha descrito en el Ejemplo 1. El plásmido de ADN de los transformantes de levadura se rescató mediante transformación en *Escherichia coli*. Se cultivaron unos pocos clones, el plásmido de ADN se aisló y se digirió para identificar sistemáticamente la recombinación correcta usando métodos de laboratorio convencionales. Se secuenciaron y almacenaron algunos clones con tamaños de inserción correctos.

El tercer plásmido de delección para *pmt3*, pTTv187 (Tabla 17) se clonó como el tercer plásmido para *pmt1*; el casete blaster de *amdS* se retiró del plásmido de delección pTTv123 con digestión con *NotI* y se reemplazó por el casete blaster de *pyr4* que se ha descrito en el Ejemplo 1. El casete blaster de *pyr4* se obtuvo a partir de otro plásmido con digestión con *NotI*, se ligó a pTTv123 cortado con *NotI* y se transformó en *E. coli* usando métodos de laboratorio convencionales. Se cultivaron unos pocos transformantes, el plásmido de ADN se aisló y se digirió para identificar sistemáticamente la ligadura y orientación correctas del casete blaster de *pyr4* usando métodos de laboratorio convencionales. Un clon con un tamaño de inserción y orientación correctos se secuenció y almacenó. Estos plásmidos de delección para *pmt3* (pTTv35, pTTv123 y pTTv187, Tabla 17) dan como resultado una delección de 2495 pb en el locus de *pmt3* y cubren la secuencia de codificación completa de PMT3.

Tabla 17. Cebadores para generar los plásmidos delección pTTv35, pTTv123 y pTTv187 para proteína O-manosiltransferasa 3 (*pmt3*, TreID22527).

Plásmido de delección pTTv35 para <i>pmt3</i> (TreID22527), estructura principal de vector pRS426	
Cebador	Secuencia
22527_5'F	CGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCAGTCACGAC GGTTTAAACGTGTTTAAATTTGATGAGGC (SEQ ID NO:102)

22527_5'R	ATCTCTCAAAGGAAGAATCCCTTCAGGGTTGCGTTTCCAGT GCGGCCGCGGTCTCAGAGACAGCCTTCT (SEQ ID NO:103)
22527_3'F	CGGTTCTCATCTGGGCTTGCTCGGTCCTGGCGTAGATCTA GCGGCCGCACTCGGCTTCTTTGTCCGAG (SEQ ID NO:104)
22527_3'R	GTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAG CGTTTAACTCCTCGTCGGCAACAAGGCC (SEQ ID NO:105)
Plásmido de delección pTTv123 para <i>pmt3</i> (TreID22527), estructura principal de vector pTTv35	
T281_22527_amds_5for	GCAGATCTGGGGGAGGAATCAGAAGGCTGTCTCTGAGACC GCGGCCGCGGCCGCGCGATCGCCTAGATCTACGCCAG GACCG (SEQ ID NO:106)
T283_amds_3rev_loop	CGGTCCTGGCGTAGATCTAGGGCGCGCCACTGGAAACGC AACCCTGAA (SEQ ID NO:107)
T284_amds_loop_5for	TTCAGGGTTGCGTTTCCAGTGGCGCGCCCTAGATCTACGC CAGGACCG (SEQ ID NO:108)
Plásmido de delección pTTv123 para <i>pmt3</i> (TreID22527), estructura principal de vector pTTv35	
T286_22527_loop_3rev	AAAGTGGGCGAGCTGAGATACTCGGACAAAGAAGCCGAGT GCGGCCGCGATTATTGCACAAGCAGCGA (SEQ ID NO:109)
Plásmido de delección pTTv187 para <i>pmt3</i> (TreID22527), estructura principal de vector pTTv123	
Cebador	Secuencia
sin nuevos cebadores, pTTv123 digerido con NotI y ligado con fragmento de bucle de pyr4 de otro plásmido.	

Generación de las cepas M341 y M342 de delección de *pmt3*

- 5 Para eliminar la secuencia del vector, el plásmido pTTv123 ($\Delta pmt3$ -amds) se digirió con *PmeI* + *XbaI* y el fragmento de 5,2 kb se purificó del gel de agarosa usando el kit de extracción en gel QIAquick (Qiagen). Se usaron aproximadamente 5 µg del casete de delección de *pmt3* para transformar la cepa M124. La preparación y transformación de protoplastos se llevaron a cabo básicamente de acuerdo con Penttilä *et al.*, 1987, Gene 61:155-164 y Gruber *et al.*, 1990, Current Genetics 18:71-76 para la selección de *amds*.
- 10 Se seleccionaron 120 colonias como estrías selectivas. 10 transformantes se identificaron sistemáticamente por PCR usando los cebadores de la Tabla 18 para la integración correcta del casete de delección usando métodos de laboratorio convencionales. Tres clones de delección supuestos se purificaron a clones de células individuales. Los clones purificados (tres en paralelo de cada uno) se volvieron a identificar sistemáticamente para la integración y para la delección del ORF de *pmt3* (cebadores en la Tabla 18). Tres clones se seleccionaron para análisis de
- 15 Southern.

Tabla 18. Cebadores para identificación sistemática de integración de casete de delección pTTv123 y para delección de la proteína O-manosiltransferasa 3 (*pmt3*, TreID22527) de M124.

Cebador	Secuencia
T292_22527_5int	ACGGGAGATCTCGGAAAA (SEQ ID NO:110)
T020_Amds_rev2	CTTCCATTTCATCAGGGATGG (SEQ ID NO:111)
T021_amds_end_fwd	GGAGACTCAGTGAAGAGAGG (SEQ ID NO:112)
T293_22527_3int	ATGAAGCTCAGCCTGTGG (SEQ ID NO:113)
T294_22527_5orf	GGGGACGGCTTGAGGAAG (SEQ ID NO:114)

T295_22527_3orf

CTGCTTGCTGCTTCCAGTCA (SEQ ID NO:115)

La delección de *pmt3* se verificó mediante análisis de Southern. El ADN para los análisis de Southern se extrajo con el kit Easy-DNA para el aislamiento del ADN genómico (Invitrogen) básicamente de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Los análisis de Southern se realizaron básicamente como se ha descrito en el Ejemplo 1. Los fragmentos para las sondas se produjeron mediante PCR usando los cebadores que se enumeran en la Tabla 19 usando una cepa M124 de *T. reesei* como molde para la sonda de ORF y el plásmido pTTv123 para las sondas de flaqueo en las posiciones 5' y 3'. Los productos de PCR se separaron por electroforesis en gel de agarosa y los fragmentos correctos se aislaron del gel con un kit de extracción en gel (Qiagen) usando métodos de laboratorio convencionales.

Tabla 19. Cebadores para producción de fragmentos de sonda usados en análisis de Southern de cepas de delección de proteína O-manosiltransferasa 3 (*pmt3*, TrelD22527).

Cebador	Secuencia
T645_22527 sonda de flaqueo F en la posición 5'	TGGCAGATGCCGAAAGGCGG (SEQ ID NO:116)
T646_22527 sonda de flaqueo R en la posición 5'	TGGCAACCAGCTGTGGCTCC (SEQ ID NO:117)
T647_22527 sonda de flaqueo F en la posición 3'	CGGCCGCACTCGGCTTCTTT (SEQ ID NO:118)
T648_22527 sonda de flaqueo R en la posición 3'	GAGTGGGCTAGGCGCAACGG (SEQ ID NO:119)
T649_22527 sonda en la posición 5' de orf	GGATCGGCCACTGCCACCAC (SEQ ID NO:120)
T650_22527 sonda en la posición 3' de orf	GCCCCACTTCTCTGCGCGTGT (SEQ ID NO:121)

Dos de los clones no se hibridaron con la sonda del ORF de *pmt3* (los datos no se muestran) indicando una delección satisfactoria de *pmt3*. Los análisis que usaron sondas flaqueo en las posiciones 5' y 3' revelaron que los mismos dos clones eran integrantes individuales (los datos no se muestran). Un clon (20-32C) dio señales correspondientes a la cepa precursora M124. Dos clones se han almacenado para uso futuro (M341; 20-34C y M342; 20-35B).

Análisis de las cepas M341 y M342 de $\Delta pmt3$

Se llevó a cabo el cultivo en matraz de agitación de la cepa M124 de *T. reesei* y cepas de delección de *pmt3* (20-34C/M341 y 20-35B/M342) en medio mínimo de *Trichoderma* con 40 g/l de lactosa, 20 g/l de extracto de grano agotado, PIPPS 100 mM, pH 5,5 con y sin sorbitol 1 M como estabilizador osmótico a +28 °C, 200 rpm. Las muestras se recogieron los días 3, 5 y 7 mediante filtración en vacío. Las muestras de sobrenadantes se almacenaron a -20 °C (análisis de anticuerpo y glicano) o se usaron en determinaciones de pH. Los micelios para determinaciones de peso seco celular se aclararon una vez con DDIW y se secaron a +100 °C durante 20-24 h. Los micelios para extracción de ADN genómico se aclararon una vez con DDIW y se almacenaron a -20 °C.

Generación de las cepas M522 y M523 de delección de *pmt3*

La generación de M317 se describe en el Ejemplo 1 que se ha mencionado anteriormente.

Para eliminar la secuencia del vector, el plásmido pTTv187 ($\Delta pmt3$ -*pyr4*) se digirió con *PmeI* + *XbaI* y el fragmento de 4,1 kb se purificó a partir de gel de agarosa usando el kit de extracción en gel QIAquick (Qiagen). Se usaron aproximadamente 5 µg del casete de delección de *pmt3* para transformar la cepa M317. La preparación y transformación de protoplastos se llevaron a cabo básicamente de acuerdo con Penttilä *et al.*, 1987, Gene 61: 155-164 y Gruber *et al.*, 1990, Current Genetics 18: 71-76 para selección de *pyr4*.

Se seleccionaron 200 colonias como estrías selectivas. 59 transformantes se identificaron sistemáticamente por PCR usando los cebadores de la Tabla 20 para la integración correcta del casete de delección usando métodos de laboratorio convencionales. Tres clones de delección supuestos se purificaron a clones de células individuales. Los clones purificados se volvieron a identificar sistemáticamente para la integración y para la delección del ORF de *pmt3* (cebadores en la Tabla 19). Dos clones (varias paralelas) eran agentes de delección puros (es decir, sin señal de los cebadores del ORF).

Tabla 20. Cebadores para identificación sistemática de integración de casete de delección pTTv187 y para delección de la proteína O-manosiltransferasa 3 (*pmt3*, TreID22527) de M317.

Cebador	Secuencia
T292_22527_5int	ACGGGAGATCTCGGAAAA (SEQ ID NO:122)
T026_Pyr4_orf_5rev2	CCATGAGCTTGAACAGGTAA (SEQ ID NO:123)
T061_pyr4_orf_screen_2F	TTAGGCGACCTCTTTTCCA (SEQ ID NO:124)
T293_22527_3int	ATGAAGCTCAGCCTGTGG (SEQ ID NO:125)
T649_22527 sonda en la posición 3' de orf	GGATCGGCCACTGCCACCAC (SEQ ID NO:126)
T650_22527 sonda en la posición 3' de orf	GCCCACTTCTCTGCGCGTGT (SEQ ID NO:127)

La delección de *pmt3* se verificó mediante análisis de Southern. El ADN para los análisis de Southern se extrajo con el kit Easy-DNA para el aislamiento del ADN genómico (Invitrogen) básicamente de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Los análisis de Southern se realizaron básicamente como se ha descrito en el Ejemplo 1. Los fragmentos para las sondas se produjeron mediante PCR usando los cebadores que se enumeran en la Tabla 21 usando una cepa QM6a de tipo silvestre de *T. reesei* (ATCC13631) como el molde para la sonda del ORF y el plásmido pTTv187 para las sondas de flanqueo en las posiciones 5' y 3'. Los productos de PCR se separaron por electroforesis en gel de agarosa y los fragmentos correctos se aislaron del gel con un kit de extracción en gel (Qiagen) usando métodos de laboratorio convencionales.

Tabla 21. Cebadores para producción de fragmentos de sonda usados en análisis de Southern de cepas de delección de proteína O-manosiltransferasa 3 (*pmt3*, TreID22527).

Cebador	Secuencia
T645_22527 sonda de flanqueo F en la posición 5'	TGGCAGATGCCGAAAGGCGG (SEQ ID NO:128)
T646_22527 sonda de flanqueo R en la posición 5'	TGGCAACCAGCTGTGGCTCC (SEQ ID NO:129)
T647_22527 sonda de flanqueo F en la posición 3'	CGGCCGCACTCGGCTTCTTT (SEQ ID NO:130)
T648_22527 sonda de flanqueo R en la posición 3'	GAGTGGGCTAGGCGCAACGG (SEQ ID NO:131)
T874_pmt3_orf_f3	CTCTGCGCGTGTGTGG (SEQ ID NO:132)
T875_pmt3_orf_r3	TAAGGGTGCGGATTCGG (SEQ ID NO:133)

Ocho de los clones no se hibridaron con la sonda del ORF de *pmt3* (los datos no se muestran) indicando una delección satisfactoria de *pmt3*. Un clon (33-37K) se indicó con la sonda del ORF de *pmt3* aún que el tamaño de la señal no correspondía con el de las cepas precursoras lo que sugiere una reordenación en el locus de *pmt3*. Los análisis que usaron sondas flanqueo en las posiciones 5' y 3' revelaron que los ocho clones de $\Delta pmt3$ eran integrantes individuales (los datos no se muestran). Un clon (33-37K) dio señales incorrectas o adicionales lo que sugiere reordenaciones en el locus de *pmt3* y múltiples interacciones del casete de delección. Dos clones puros se han almacenado para uso futuro (M522; 33-34A y M523; 33-188A-a).

Análisis de las cepas M522 y M523 de $\Delta pmt3$

El cultivo en placa de 24 pocillos de la cepa M304 de *T. reesei* y ocho cepas de delección de *pmt3* (33-34S/M522, 33-34T, 33-34U, 33-34Ö, 33-188A-a/M523, 33-188B-a, 33-188C-a y 33-188D-a) se llevó a cabo en medio mínimo de *Trichoderma* con 40 g/l de lactosa, 20 g/l de extracto de grano agotado, PIPPS 100 mM, 9 g/l de casaminoácidos, pH 5,5 a +28 °C, 800 rpm con control de humedad. Las muestras se recogieron los días 3, 5 y 6 mediante centrifugación. Las muestras de sobrenadantes se almacenaron a -20 °C. Los micelios para determinaciones de peso seco celular se aclararon una vez con DDIW y se secaron a +100 °C durante 20-24 h. Los micelios a la extracción del ADN genómico se aclararon dos veces con DDIW y se almacenaron a -20 °C.

El nivel de O-manosilación se llevó a cabo para cepas de delección de *pmt3* con respecto a cultivos en matraz de cepas de delección de *pmt1*. No se observó diferencia en la O-manosilación en comparación con la cepa precursora M304.

5 Ejemplo 5 - Homólogos de pmt

Los homólogos de pmt de *T. reesei* se identificaron a partir de otros organismos.

10 Las búsquedas de BLAST se realizaron usando la base de datos de aminoácidos no redundantes del National Center for Biotechnology Information (NCBI) usando las secuencias de aminoácidos de PMT de *Trichoderma reesei* como consultadas. Los resultados de secuencias de las búsquedas de BLAST se alinearon usando la herramienta de alineamiento ClustalW2 proporcionada por EBI. Se generaron árboles filogenéticos usando el promedio de la distancia con BLOSUM62 después del alineamiento de las secuencias en la herramienta de alineamiento Clustal Omega.

15 Un árbol filogenético y un alineamiento de la secuencia parcial de los resultados de las búsquedas de PMT BLAST se representan en las Figuras 5 y 6, respectivamente.

LISTADO DE SECUENCIAS

20 <110> Novartis AG

<120> Células fúngicas filamentosas deficientes en O-manosiltransferasa y
Métodos de uso de las mismas

25 <130> NOVA 0006 WO

<160> 197

30 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 2322

<212> ADN

35 <213> *Trichoderma reesei*

<400> 1

atggctcgaa gtccaacgcc gcagggcagc ctgcgacagc ggaacgttgc gtccaagcag	60
gcgcctgtcg agtcggcatt cgttcccagag gtcgagctcg acaagctctc caaggccgct	120
ctgtcgtcgc gccgaaacat ccagagaggc gagctcgagc acaagcttgc cctgacgctg	180
gtgacgatcc tcggctttgt cacgcgattc tggggcatca gccaccccga cgaggctcgtc	240
tttgacgagg tgcatttttg aaagttcgcc tcctactacc tccagcgaac ctacttcttc	300
gacgtccacc cccctttcgc caagctgctc ttgcgcttcg ttggctggct ggttggctac	360
gacggtcact tccacttcga caacattggc gactcctacg tggccaacaa ggtgccctat	420
gtcgccttcc gagccttgcc cgccttcctc ggcgcatga ctgtgtcggc cacatacctc	480
atcatgtggg agtctggcta tagtgtgccg gcttgccttg tcgcgaccgg cctgatcctc	540
ctggacaatg cgcacattgg ccagaccgc ctcattctgc tcgacgccac cctggtgctc	600
gccatggcct gcagtctctt gttctacatc aagttctaca agctgcggca cgagcccttt	660
agccgcaagt ggtggaagtg gctcatcctg accggctttg cgctgtcgtg cgacatctcg	720
accaagtatg tcggtctctt tgcctttgtc accattggct ccgccgtcat cattgatctg	780
tgggatcttt tggatatcaa gcgccgtat ggagccatca gcatgccaga gtttggaag	840
cactttgcag cccgcgcctt tggcctcatc atcttgcctt tcctcttcta cctcttctgg	900
ttccagggtgc acttttccgt cctgaccoga tccgggtccg gcgacgactt catgactccc	960
gagttccagg agacgttgag cgacaacgtc atgctggcaa gcgccgtcga catccagtac	1020
tacgatacca tcaccatcag gcacaaggag accaaggcgt atcttcacag ccacaccgac	1080
acctaccctc tgcgatatga cgacggccgc atctccagcc aaggccaaca ggtcaccggc	1140
tacccccaca acgacaccaa caactactgg cagatcctcc ctgccgacaa tgaccagaag	1200
ctcggccgta acgttaagaa tcaagacttg gtgcgacttc gacacattgt cacggacaag	1260
atcctgctct cccatgatgt cgcctcgccc tactacccta ccaaccagga gttcacctgt	1320

gtgacccccg aggaagcatt cggcgagcgc caaaacgaca ctctgttcga gatccggatt	1380
gagggaggca agaccggcca ggacttcaag accgttgcca gccacttcaa gtcattcac	1440
ttccccagca aggtggccat gtggactcat accacgcccc ttcccagtg ggcctacagg	1500
cagcaggaaa tcaacggcaa caagcaaatc actcccagct ccaacgtctg gattgccgaa	1560
gacattcctt cgctcccga agacgacgct cgccgccaca aggagcagcg caaggtcaag	1620
tgcgtgccgt tcctccgcaa gtggtttgag ctgcagaggt ccatgttcta ccacaacaac	1680
aagctgacca gcagccaccc ctactccagc cagccctacc actggccatt cctcctccgc	1740
ggagtgagct tctggacgca gaatgacaca cgccagcaaa tctactttgt gggcaacccc	1800
atcggctggt ggcttgccag cagtctgctg gctgtgtttg ccggcatcat tggagctgat	1860
caggtctcgc tgcgccgagg catcgatgct ctggatcacc gcaccgctc ccgactgtac	1920
aactctaccg gcttcttctt ccttgccctgg gccaccact acttcccctt tttcctcatg	1980
ggctcgtcagc tggttcttgca tcactacttg cctgcccatt tggcgtcctg cctgggtcacg	2040
ggctccctcg tcgagttcat ctttaacacg gaccggcag acgaggagcc ttcgcgatcc	2100
aaaaacccca aggctactgg tcctcggaga cacatcacgg ctcgcgagcg gtttgctggc	2160
aagagcatgg ccggtgcctg gatcgcttgc tttgtgattc tcgctgccgc cgcggctagc	2220
tggtaacttct tcttgccgtt gacgtatggc taccgccgac tgtctgttga ggaggttctc	2280
aggagaaagt ggcttgata tgatcttcac tttgccaaagt ag	2322

<210> 2

<211> 773

<212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 2

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

Asp Ile Gln Tyr Tyr Asp Thr Ile Thr Ile Arg His Lys Glu Thr Lys
 340 345 350
 Ala Tyr Leu His Ser His Thr Asp Thr Tyr Pro Leu Arg Tyr Asp Asp
 355 360 365
 Gly Arg Ile Ser Ser Gln Gly Gln Gln Val Thr Gly Tyr Pro His Asn
 370 375 380
 Asp Thr Asn Asn Tyr Trp Gln Ile Leu Pro Ala Asp Asn Asp Gln Lys
 385 390 395 400
 Leu Gly Arg Asn Val Lys Asn Gln Asp Leu Val Arg Leu Arg His Ile
 405 410 415
 Val Thr Asp Lys Ile Leu Leu Ser His Asp Val Ala Ser Pro Tyr Tyr
 420 425 430
 Pro Thr Asn Gln Glu Phe Thr Cys Val Thr Pro Glu Glu Ala Phe Gly
 435 440 445
 Glu Arg Gln Asn Asp Thr Leu Phe Glu Ile Arg Ile Glu Gly Gly Lys
 450 455 460
 Thr Gly Gln Asp Phe Lys Thr Val Ala Ser His Phe Lys Leu Ile His
 465 470 475 480
 Phe Pro Ser Lys Val Ala Met Trp Thr His Thr Thr Pro Leu Pro Glu
 485 490 495
 Trp Ala Tyr Arg Gln Gln Glu Ile Asn Gly Asn Lys Gln Ile Thr Pro
 500 505 510
 Ser Ser Asn Val Trp Ile Ala Glu Asp Ile Pro Ser Leu Pro Glu Asp
 515 520 525
 Asp Ala Arg Arg His Lys Glu Gln Arg Lys Val Lys Ser Leu Pro Phe
 530 535 540
 Leu Arg Lys Trp Phe Glu Leu Gln Arg Ser Met Phe Tyr His Asn Asn
 545 550 555 560
 Lys Leu Thr Ser Ser His Pro Tyr Ser Ser Gln Pro Tyr His Trp Pro
 565 570 575
 Phe Leu Leu Arg Gly Val Ser Phe Trp Thr Gln Asn Asp Thr Arg Gln
 580 585 590

Gln Ile Tyr Phe Val Gly Asn Pro Ile Gly Trp Trp Leu Ala Ser Ser
595 600 605

Leu Leu Ala Val Phe Ala Gly Ile Ile Gly Ala Asp Gln Val Ser Leu
610 615 620

Arg Arg Gly Ile Asp Ala Leu Asp His Arg Thr Arg Ser Arg Leu Tyr
625 630 635 640

Asn Ser Thr Gly Phe Phe Phe Leu Ala Trp Ala Thr His Tyr Phe Pro
645 650 655

Phe Phe Leu Met Gly Arg Gln Leu Phe Leu His His Tyr Leu Pro Ala
660 665 670

His Leu Ala Ser Cys Leu Val Thr Gly Ser Leu Val Glu Phe Ile Phe
675 680 685

Asn Thr Asp Pro Ala Asp Glu Glu Pro Ser Arg Ser Lys Asn Pro Lys
690 695 700

Ala Thr Gly Pro Arg Arg His Ile Thr Ala Arg Glu Arg Phe Ala Gly
705 710 715 720

Lys Ser Met Ala Gly Ala Trp Ile Ala Cys Phe Val Ile Leu Ala Ala
725 730 735

Ala Ala Ala Ser Trp Tyr Phe Phe Leu Pro Leu Thr Tyr Gly Tyr Pro
740 745 750

Gly Leu Ser Val Glu Glu Val Leu Arg Arg Lys Trp Leu Gly Tyr Asp
755 760 765

Leu His Phe Ala Lys
770

<210> 3
<211> 944
<212> PRT
<213> *Trichoderma reesei*

<400> 3

ES 2 739 280 T3

Met	Ala	Lys	Ala	Thr	Ala	Arg	Gly	Arg	Ser	Pro	Gln	Pro	Pro	Leu	Val
1				5					10					15	
Ala	Glu	Lys	Met	Pro	Val	Ala	Val	Thr	Ala	Pro	Val	Ala	Ser	Ser	Lys
			20					25					30		

ES 2 739 280 T3

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

Met Ala Arg Val Phe Cys Leu Ile Ile Ile Pro Leu Thr Phe Tyr Leu
 290 295 300

Ser Met Phe Ala Ile His Phe Leu Cys Leu Thr Asn Pro Gly Glu Gly
 305 310 315 320

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

Met Lys Asp Val Pro Ala Asp Val Val Phe Gly Ser Arg Val Thr Ile
 340 345 350

Arg His Val Asn Thr Gln Gly Gly Tyr Leu His Ser His Pro Leu Met
 355 360 365

Tyr Pro Thr Gly Ser Leu Gln Gln Gln Ile Thr Leu Tyr Pro His Lys
 370 375 380

Asp Glu Asn Asn Ile Trp Ile Met Glu Asn Gln Thr Gln Pro Leu Gly
 385 390 395 400

Val Asp Gly Gln Pro Ile Asn Gly Thr Glu Ala Trp Asp Ala Leu Pro
 405 410 415

Glu Val His His Val Val Asp Gly Ser Val Ile Arg Leu Tyr His Lys
 420 425 430

Pro Thr Phe Arg Arg Leu His Ser His Asp Val Arg Pro Pro Val Thr
 435 440 445

Glu Ala Glu Trp Gln Asn Glu Val Ser Ala Tyr Gly Tyr Glu Gly Phe
 450 455 460

Glu Gly Asp Ala Asn Asp Leu Phe Arg Val Glu Ile Val Lys Lys Gln
 465 470 475 480

Ser Lys Gly Pro Leu Ala Lys Glu Arg Leu Arg Thr Ile Glu Thr Lys
 485 490 495

Phe Arg Leu Ile His Val Met Thr Gly Cys Ala Leu Phe Ser His Lys
 500 505 510

Val Lys Leu Pro Glu Trp Ala Ser Glu Gln Gln Glu Val Thr Cys Ala
 515 520 525

Arg Gly Gly Ser Leu Pro Asn Ser Ile Trp Tyr Ile Glu Tyr Asn Glu

ES 2 739 280 T3

530																				
His	Pro	Leu	Leu	Gly	Asp	Asp	Val	Glu	Lys	Val	Asn	Tyr	Ala	Asn	Pro					
545					550					555					560					
	Gly	Phe	Phe	Gly	Lys	Phe	Trp	Glu	Leu	His	Lys	Val	Met	Trp	Lys	Thr				
					565					570					575					
	Asn	Ala	Gly	Leu	Thr	Asp	Ser	His	Ala	Trp	Asp	Ser	Arg	Pro	Pro	Ser				
				580					585					590						
	Trp	Pro	Ile	Leu	Arg	Arg	Gly	Ile	Asn	Phe	Trp	Gly	Lys	His	His	Met				
			595					600					605							
	Gln	Val	Tyr	Leu	Leu	Gly	Asn	Pro	Phe	Ile	Trp	Trp	Ser	Ser	Thr	Ala				
		610					615					620								
	Ala	Val	Ala	Ile	Trp	Val	Ile	Phe	Lys	Gly	Val	Ala	Ile	Leu	Arg	Trp				
	625					630					635					640				
	Gln	Arg	Gly	Cys	Asn	Asp	Tyr	Ala	Ser	Ser	Thr	Phe	Lys	Arg	Phe	Asp				
					645					650					655					
	Tyr	Glu	Ile	Gly	Thr	Ser	Val	Leu	Gly	Trp	Ala	Leu	His	Tyr	Phe	Pro				
				660					665					670						
	Phe	Tyr	Leu	Met	Glu	Arg	Gln	Leu	Phe	Leu	His	His	Tyr	Phe	Pro	Ala				
			675					680					685							
	Leu	Tyr	Phe	Ala	Ile	Leu	Ala	Leu	Cys	Gln	Met	Phe	Asp	Phe	Ala	Thr				
		690					695					700								
	Val	Arg	Ile	Pro	Ala	Ala	Leu	Gly	Tyr	Arg	Ser	Thr	Leu	Ile	Asn	Arg				
	705					710					715					720				
	Val	Gly	Thr	Val	Ser	Leu	Leu	Val	Ile	Ser	Ala	Ala	Val	Phe	Thr	Leu				
					725					730					735					
	Phe	Ala	Pro	Leu	Ala	Tyr	Gly	Thr	Pro	Trp	Thr	Lys	Ala	Glu	Cys	Asn				
				740					745					750						
	Arg	Val	Lys	Leu	Phe	Asp	Lys	Trp	Asp	Phe	Asp	Cys	Asn	Thr	Phe	Leu				
			755					760					765							
	Asp	Asp	Tyr	Lys	Ser	Tyr	Thr	Leu	Thr	Ser	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Ile				
		770					775					780								

Ala Pro Ser Pro Pro Ala Ala Asn Val Pro Val Val Asn Gln Glu Gln
785 790 795 800

Lys Pro Leu Ala Lys Gln Pro Glu Pro Val Ile Ser Gln Ala Ala Val
805 810 815

Pro Gln Glu Pro Gln Ile Leu Ser Lys Glu Glu Lys Ile Glu Tyr Arg
820 825 830

Asp Gln Asp Gly Asn Leu Leu Asn Asp Glu Gln Val Lys Ala Leu Gln
835 840 845

Gly Lys Val Glu Phe Lys Thr Lys Tyr Glu Thr Lys Thr Arg Val Val
850 855 860

Asp Ala Gln Gly His Glu Ile Pro Val Pro Glu Gly Gly Trp Pro Asp
865 870 875 880

Asp Met Ile Ala Gly Val Ala Pro Pro His Pro Asp Val Glu Gly Val
885 890 895

Asp Lys Glu Thr Pro Lys Val Glu Ser Ala Glu Val Pro Lys Glu Ala
900 905 910

Ala Ala Ser Arg Asp Gly Glu Val Glu Ala Glu Asn Leu Lys Ala Lys
915 920 925

Pro Ala Ser Glu Gly Gln Glu Val Glu Ala Thr Val Gln Glu Glu Leu
930 935 940

<210> 4
<211> 740
<212> PRT
<213> *Trichoderma reesei*

<400> 4

ES 2 739 280 T3

Met Ala Ala Asp Lys Ala Ala Leu Ala Ser Gly Ala Asp Leu Gly Asp
1 5 10 15

Gly Leu Arg Lys Arg Gln Ala Ala Ser Gln Ala Val Pro Ser Phe Ile
20 25 30

Pro Ala Gln Thr Glu Asp Thr Lys Lys Leu Ala Lys Lys Asp Lys Thr
35 40 45

Phe Val Gln Val Leu Ala Asp Trp Glu Ser Val Leu Ala Pro Leu Ile
50 55 60

ES 2 739 280 T3

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

Gln Ala Asn Leu Lys Gly Thr Glu Val Gly Lys Asn Ser Pro Leu Glu
 325 330 335
 Ile Ala Leu Gly Ser Arg Ala Thr Ile Lys Asn Met Gly Tyr Gly Gly
 340 345 350
 Gly Leu Leu His Ser His Val Gln Thr Tyr Pro Glu Gly Ser Gly Gln
 355 360 365
 Gln Gln Val Thr Cys Tyr His His Lys Asp Ala Asn Asn Asp Trp Phe
 370 375 380
 Phe Tyr Pro Asn Arg His Glu Pro Asp Tyr Asp Pro Glu Gly Glu Leu
 385 390 395 400
 Arg Phe Ile Gly Asp Gly Ser Val Ile Arg Leu Ile His Ala Gln Thr
 405 410 415
 Gly Arg Asn Leu His Ser His Asp Ile Asp Ala Pro Ile Thr Lys Ser
 420 425 430
 His Arg Glu Val Ser Ser Tyr Gly Asn Leu Thr Val Gly Asp Glu Lys
 435 440 445
 Asp His Trp Lys Ile Glu Val Val Arg Asp Ala Ala Ser Arg Asp Arg
 450 455 460
 Ser Arg Ile Arg Thr Leu Thr Thr Ala Phe Arg Leu Lys His Thr Val
 465 470 475 480
 Leu Gly Cys Tyr Leu Arg Ala Gly Asn Val Asn Leu Pro Gln Trp Gly
 485 490 495
 Phe Lys Gln Ile Glu Val Thr Cys Asp Lys Gln Asn Asn Pro Arg Asp
 500 505 510
 Thr Tyr Thr His Trp Asn Val Glu Ala His Trp Asn Asp Arg Leu Pro
 515 520 525
 Pro Ser Asp Pro Gly Val Tyr Lys Ser Pro Phe Ile His Asp Phe Ile
 530 535 540
 His Leu Asn Val Ala Met Met Thr Ser Asn Asn Ala Leu Val Pro Asp
 545 550 555 560
 Pro Asp Lys Gln Asp Asp Leu Ala Ser Gln Trp Trp Gln Trp Pro Ile
 565 570 575

ES 2 739 280 T3

Leu His Val Gly Leu Arg Met Cys Ser Trp Asp Asp Asn Ile Val Lys
580 585 590

Tyr Phe Leu Leu Gly Asn Pro Phe Val Tyr Trp Ala Ser Thr Ala Ser
595 600 605

Leu Gly Ala Val Ala Leu Val Ile Ala Trp Tyr Val Val Arg Trp Gln
610 615 620

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

Ala Gly Ile Tyr Pro Val Ile Gly Trp Phe Leu His Tyr Leu Pro Phe
645 650 655

Val Ile Met Ala Arg Val Thr Tyr Val His His Tyr Tyr Pro Ala Leu
660 665 670

Tyr Phe Ala Ile Leu Ser Leu Gly Phe Leu Val Asp Trp Val Leu Arg
675 680 685

Asn Arg Ala Ala Val Val Gln Gly Val Ala Tyr Gly Ile Leu Tyr Thr
690 695 700

Val Val Ile Gly Leu Tyr Ile Leu Phe Met Pro Ile Cys Trp Gly Met
705 710 715 720

Thr Gly Ser Ser Lys Gln Tyr Ser Tyr Leu Lys Trp Phe Asp Asn Trp
725 730 735

Arg Ile Ser Asp
740

<210> 5
<211> 775
<212> PRT
<213> *Aspergillus oryzae*

<400> 5

ES 2 739 280 T3

Met Ser Gln Ser Pro Ser Pro Ser Leu Arg Lys Arg Gly Gly Lys Lys
 1 5 10 15

Glu Ala Ser Pro Gly Pro Ser Glu Val Ser Ser Pro Tyr Pro Thr Asn
 20 25 30

Gln Gly Ala Thr Pro Lys Pro Gln Ser Glu Trp Asp Tyr Arg Leu Ala
 35 40 45

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

Leu Gln Arg Ala Met Phe Phe His Asn Asn Ala Leu Thr Ser Ser His
 545 550 555 560
 Pro Tyr Ala Ser Glu Pro Phe Gln Trp Pro Phe Leu Leu Arg Gly Val
 565 570 575
 Ser Phe Trp Thr Lys Asn Asp Thr Arg Glu Gln Ile Tyr Phe Leu Gly
 580 585 590
 Asn Pro Ile Gly Trp Trp Ile Ala Ser Ser Leu Leu Ala Val Phe Ala
 595 600 605
 Gly Val Ile Gly Ala Asp Gln Leu Ser Leu Arg Arg Gly Val Asp Ala
 610 615 620
 Val Glu Glu Ile Trp Gly Pro Gly Ala Arg Ser Arg Leu Tyr Asn Ser
 625 630 635 640
 Thr Gly Phe Leu Phe Leu Cys Trp Gly Ala His Tyr Phe Pro Phe Trp
 645 650 655
 Leu Met Gly Arg Gln Arg Phe Leu His His Tyr Leu Pro Ala His Leu
 660 665 670
 Ala Ser Cys Leu Val Thr Gly Ala Leu Ile Glu Phe Ile Phe Asn Leu
 675 680 685
 Gln Pro Val Gln Ala Val Ile Asp Ser Glu Val Asp Pro Ser Gly Lys
 690 695 700
 Ser Lys Ser Ile Arg Pro Arg His Phe Val Thr Ala Lys Glu Arg Met
 705 710 715 720
 Ser Arg Lys Ser Leu Val Ala Cys Trp Ile Ala Thr Leu Ser Ile Leu
 725 730 735
 Ala Val Thr Val Trp Gly Phe Trp Phe Tyr Ala Pro Leu Thr Tyr Gly
 740 745 750
 Thr Pro Gly Leu Asp Val Ala Gly Val Asn Ala Arg Arg Trp Leu Gly
 755 760 765
 Tyr Asp Leu His Phe Ala Lys
 770 775

5 <210> 6
 <211> 775
 <212> PRT
 <213> *Aspergillus niger*

 <400> 6

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

Gly Asn Lys Asn Ile Leu Gln Thr Ser Asn Leu Trp Phe Val Glu Ser
 500 505 510
 Ile Glu Ser Leu Glu Glu Asp Ser Pro Arg Leu Val Lys Glu Glu Arg
 515 520 525
 Gln Val Lys His Leu Pro Phe Phe Arg Lys Tyr Leu Glu Leu Gln Arg
 530 535 540
 Ala Met Phe Phe His Asn Asn Ala Leu Thr Ser Ser His Pro Tyr Ala
 545 550 555 560
 Ser Glu Pro Phe Gln Trp Pro Phe Leu Leu Arg Gly Val Ser Phe Trp
 565 570 575
 Thr Lys Asn Asp Thr Arg Glu Gln Ile Tyr Phe Leu Gly Asn Pro Val
 580 585 590
 Gly Trp Trp Ile Ala Ser Ser Leu Leu Ala Val Phe Ala Gly Val Ile
 595 600 605
 Gly Ala Asp Gln Leu Ser Leu Arg Arg Gly Val Asp Ala Val Glu Glu
 610 615 620
 Ile Trp Gly Gln Gly Ser Arg Ser Arg Leu Tyr Asn Ser Met Gly Phe
 625 630 635 640
 Leu Phe Leu Cys Trp Ala Ala His Tyr Phe Pro Phe Trp Leu Met Gly
 645 650 655
 Arg Gln Arg Phe Leu His His Tyr Leu Pro Ala His Leu Ala Ser Ala
 660 665 670
 Leu Val Ala Gly Ala Leu Ile Glu Phe Ile Phe Asn Leu Glu Pro Leu
 675 680 685
 Ser Val Ile Gln Arg Val Arg Ser Glu Asp Asp Pro Ser Gly Lys Ala
 690 695 700
 Lys Ala Ser Ala Ser Val Gly Arg Phe Val Thr Ala Lys Glu Arg Met
 705 710 715 720
 Gly Thr Lys Ser Leu Leu Ala Gly Trp Ile Ala Thr Leu Val Ile Leu
 725 730 735
 Ala Gly Thr Ile Tyr Gly Phe Val Phe Tyr Ala Pro Leu Thr Tyr Gly

ES 2 739 280 T3

740

745

750

Thr Pro Gly Leu Asp Val Pro Gly Ile Leu Ala Arg Lys Trp Leu Gly
755 760 765

Tyr Asp Leu His Phe Ala Lys
770 775

<210> 7

<211> 773

<212> PRT

<213> *Aspergillus nidulans*

<400> 7

5

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

ES 2 739 280 T3

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

Val	Ser	His	Glu	Leu	Ala	Asp	Gly	Lys	Arg	His	Asn	Asp	Thr	Leu	Phe
		435					440					445			
Glu	Ile	Arg	Val	Glu	His	Gly	Lys	Ser	Lys	Gln	Glu	Phe	Arg	Thr	Leu
	450					455					460				
Ser	Ser	Gln	Phe	Lys	Leu	Val	His	Val	Pro	Thr	Lys	Val	Ala	Met	Trp
465					470					475					480
Thr	His	Thr	Thr	Pro	Leu	Pro	Asp	Trp	Ala	Tyr	Lys	Gln	Ala	Glu	Ile
				485					490					495	
Asn	Gly	Asn	Lys	Asn	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Asn	Ile	Trp	Tyr	Val	Glu
			500					505					510		
Ala	Ile	Glu	Ser	Leu	Glu	Glu	Asp	Ser	Pro	Arg	Leu	Lys	Lys	Glu	Glu
		515					520					525			
Arg	Lys	Val	Lys	His	Leu	Pro	Phe	Trp	Arg	Lys	Tyr	Ile	Glu	Leu	Gln
	530					535					540				
Arg	Ala	Met	Phe	Phe	His	Asn	Asn	Ala	Leu	Thr	Ser	Ser	His	Pro	Tyr
545					550					555					560
Ala	Ser	Glu	Pro	Phe	Gln	Trp	Pro	Phe	Leu	Leu	Arg	Gly	Val	Ser	Phe
				565					570					575	
Trp	Thr	Lys	Ser	Asp	Thr	Arg	Glu	Gln	Ile	Tyr	Phe	Leu	Gly	Asn	Pro
			580					585					590		
Val	Gly	Trp	Trp	Ile	Ser	Ser	Ser	Leu	Leu	Ala	Val	Phe	Ala	Gly	Val
		595					600					605			
Ile	Gly	Ala	Asp	Gln	Leu	Ser	Leu	Arg	Arg	Gly	Val	Asp	Ala	Val	Glu
	610					615					620				
Glu	Ile	Trp	Gly	Pro	Gly	Ser	Arg	Ser	Arg	Leu	Tyr	Asn	Ser	Thr	Gly
625					630					635					640
Phe	Leu	Phe	Leu	Cys	Trp	Ala	Ala	His	Tyr	Phe	Pro	Phe	Trp	Leu	Met
				645					650					655	
Gly	Arg	Gln	Arg	Phe	Leu	His	His	Tyr	Leu	Pro	Ala	His	Val	Ala	Ser
			660					665					670		
Ala	Leu	Val	Thr	Gly	Ala	Leu	Ile	Glu	Phe	Ile	Phe	Asn	Ile	Gln	Pro
		675					680					685			

ES 2 739 280 T3

Ile Ser Val Pro Ala Thr Ile Pro Val Ala Ala Asp Asp Pro Thr Gly
690 695 700

Lys Gly Lys Thr Arg Arg Phe Val Thr Ala Arg Glu Arg Met Gly Val
705 710 715 720

Lys Ser Ile Val Ala Gly Trp Ile Ala Ser Leu Thr Ile Leu Ala Ala
725 730 735

Thr Ile Trp Gly Phe Trp Phe Phe Ala Pro Leu Thr Tyr Gly Thr Pro
740 745 750

Gly Leu Asp Val Ala Gln Val Asn Ala Arg Lys Trp Leu Gly Tyr Asp
755 760 765

Leu His Phe Ala Lys
770

<210> 8

<211> 774

<212> PRT

<213> *Trichoderma virens*

<400> 8

ES 2 739 280 T3

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

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

ES 2 739 280 T3

Asn Asp Thr Asn Asn Tyr Trp Gln Ile Ile Pro Ala Ser Asn Asp Gln
 385 390 395 400
 Lys Leu Gly Arg Ile Val Arg Asn Gln Glu Leu Val Arg Leu Arg His
 405 410 415
 Ile Val Thr Asp Lys Ile Leu Leu Ser His Asp Val Ala Ser Pro Tyr
 420 425 430
 Tyr Pro Thr Asn Gln Glu Phe Thr Ala Val Ser Ala Glu Glu Ala Tyr
 435 440 445
 Gly Asp Arg Leu Asn Asp Thr Leu Phe Glu Ile Arg Ile Glu Gly Gly
 450 455 460
 Lys Pro Asn Gln Asp Phe Lys Thr Ile Ala Ser His Phe Lys Leu Ile
 465 470 475 480
 His Phe Pro Ser Lys Val Ala Met Trp Thr His Thr Thr Pro Leu Pro
 485 490 495
 Glu Trp Ala Tyr Arg Gln Gln Glu Ile Asn Gly Asn Lys Gln Ile Thr
 500 505 510
 Pro Ser Ser Asn Val Trp Ile Ala Glu Asp Ile Pro Ser Leu Pro Glu
 515 520 525
 Asp His Ser Arg Arg Gln Lys Glu Glu Arg Lys Val Lys Ser Leu Pro
 530 535 540
 Phe Leu Arg Lys Trp Phe Glu Leu Gln Arg Ser Met Phe Tyr His Asn
 545 550 555 560
 Asn Lys Leu Thr Ser Ser His Pro Tyr Ser Ser Gln Pro Tyr His Trp
 565 570 575
 Pro Phe Leu Leu Arg Gly Val Ser Phe Trp Thr Gln Asn Asp Thr Arg
 580 585 590
 Gln Gln Ile Tyr Phe Val Gly Asn Pro Ile Gly Trp Trp Leu Ala Ser
 595 600 605
 Gly Leu Leu Ala Val Phe Ala Gly Ile Ile Gly Ala Asp Gln Val Ser
 610 615 620
 Leu Arg Arg Gly Ile Asp Ala Leu Asp His Arg Thr Arg Ser Arg Leu

ES 2 739 280 T3

625		630		635		640
Tyr Asn Ser Thr	Gly Phe Phe Trp Leu Ala Trp Ala Thr His Tyr Phe					
	645		650			655
Pro Phe Phe Leu Met Gly Arg Gln Leu Phe Leu His His Tyr Leu Pro						
	660		665			670
Ala His Leu Ala Ser Cys Leu Val Thr Gly Ser Leu Val Glu Phe Ile						
	675		680			685
Phe Asn Thr Asp Pro Ala Asp Glu Glu Pro Ser Arg Ala Thr Asn Pro						
	690		695			700
Arg Ala Ser Gly Pro Lys Arg His Ile Thr Ala Arg Glu Arg Phe Ala						
	705		710			720
Gly Lys Ser Met Ala Gly Ala Trp Ile Ala Cys Phe Val Ile Leu Thr						
	725		730			735
Val Ala Ala Ala Ser Trp Tyr Phe Phe Leu Pro Leu Thr Tyr Gly Tyr						
	740		745			750
Pro Gly Leu Ser Val Asp Glu Val Asn Arg Arg Lys Trp Leu Gly Tyr						
	755		760			765
Asp Leu His Phe Ala Lys						
	770					

<210> 9
 <211> 771
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma atroviride*
 <400> 9

ES 2 739 280 T3

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

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

Leu Asp Lys Leu Ser Lys Ala Ala Ala Ser Ser Arg Gln Asn Val Gln
35 40 45

Arg Gly Glu Ile Glu His Lys Ile Ala Leu Thr Leu Val Thr Ile Leu
50 55 60

Gly Phe Val Thr Arg Phe Trp Gly Ile Ser His Pro Asp Glu Val Val

ES 2 739 280 T3

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

Glu Phe Gln Glu Thr Leu Ser Asp Asn Val Met Leu Ala Asn Ala Val
 325 330 335
 Asp Ile His Tyr Tyr Asp Tyr Ile Thr Ile Arg His Lys Glu Thr Lys
 340 345 350
 Ala Tyr Leu His Ser His Pro Asp Thr Tyr Pro Leu Arg Tyr Asp Asp
 355 360 365
 Gly Arg Ile Ser Ser Gln Gly Gln Gln Ile Thr Gly Tyr Pro His Asn
 370 375 380
 Asp Thr Asn Asn Tyr Trp Gln Val Leu Pro Ser Asp Asn Val His Asn
 385 390 395 400
 Thr Glu Arg Ile Val Arg Asn Phe Asp Leu Val Arg Leu Arg His Ile
 405 410 415
 Val Thr Asp Lys Ile Leu Leu Ser His Asp Val Ala Ser Pro Tyr Phe
 420 425 430
 Pro Thr Asn Gln Glu Phe Thr Ala Val Thr Ser Glu Glu Ala Phe Gly
 435 440 445
 Glu Arg Gln Asn Asp Thr Leu Phe Glu Ile Arg Val Glu Thr Ala Lys
 450 455 460
 Val Gly Ala Glu Phe Lys Thr Val Ala Ser His Phe Lys Leu Val His
 465 470 475 480
 Phe Pro Ser Lys Val Ala Met Trp Thr His Thr Thr Pro Leu Pro Glu
 485 490 495
 Trp Gly Tyr Lys Gln Gln Glu Ile Asn Gly Asn Lys Gln Val Thr Val
 500 505 510
 Ser Ser Asn Met Trp Ile Ala Glu Asp Ile Pro Ser Leu Pro Gln Asp
 515 520 525
 Asp Ala Arg Arg Gln Lys Glu Gln Arg Gln Val Lys Ser Leu Pro Phe
 530 535 540
 Leu Arg Lys Trp Phe Glu Leu Gln Arg Ser Met Phe Tyr His Asn Asn
 545 550 555 560
 Lys Leu Thr Ser Ser His Pro Tyr Ser Ser Gln Pro Tyr His Trp Pro
 565 570 575

ES 2 739 280 T3

Phe Leu Leu Arg Gly Val Ser Phe Trp Thr Gln Asn Asp Thr Arg Gln
 580 585 590
 Gln Ile Tyr Phe Val Gly Asn Pro Ile Gly Trp Trp Ile Thr Ser Ser
 595 600 605
 Leu Leu Ala Val Phe Ala Gly Ile Ile Ala Ala Asp Gln Ile Ser Leu
 610 615 620
 Arg Arg Asn Ile Asp Ala Leu Asp His Arg Thr Arg Ser Arg Leu Tyr
 625 630 635 640
 Asn Ser Thr Gly Phe Phe Trp Leu Ala Trp Ala Thr His Tyr Phe Pro
 645 650 655
 Phe Tyr Leu Met Gly Arg Gln Leu Phe Leu His His Tyr Leu Pro Ala
 660 665 670
 His Leu Ala Ser Cys Leu Val Thr Gly Ala Leu Val Glu Phe Ile Phe
 675 680 685
 Asn Ser Asp Ala Val Glu Glu Glu Ser Ser Lys Ser Gly Asn Arg Ser
 690 695 700
 Ser Pro Lys Arg His Val Thr Ala Arg Glu Arg Phe Ala Gly Lys Ser
 705 710 715 720
 Met Leu Gly Ala Trp Ile Ala Cys Gly Val Ile Leu Ser Ala Ala Ala
 725 730 735
 Ala Cys Trp Tyr Phe Phe Leu Pro Leu Thr Tyr Gly Tyr Pro Gly Leu
 740 745 750
 Ser Val Glu Glu Val Val Arg Arg Lys Trp Leu Gly Tyr Asp Leu His
 755 760 765
 Phe Ala Lys
 770

<210> 10
 <211> 770
 <212> PRT
 <213> *Fusarium oxysporum*

ES 2 739 280 T3

<400> 10

Met	Ala	Arg	Ser	Ser	Thr	Pro	Gln	Gly	Ser	Leu	Arg	Gln	Arg	Gly	Ala
1				5					10					15	

ES 2 739 280 T3

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

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

ES 2 739 280 T3

515	520	525
Arg Arg Gln Lys Pro Glu Arg Lys Val Lys Ser Leu Pro Phe Leu Gln 530 535 540		
Lys Trp Phe Glu Leu Gln Arg Ala Met Phe Tyr His Asn Ser Lys Leu 545 550 555 560		
Thr Ser Ser His Pro Tyr Ala Ser His Pro Tyr Gln Trp Pro Phe Leu 565 570 575		
Leu Arg Gly Val Ser Phe Trp Thr Gln Ser Glu Thr Arg Gln Gln Ile 580 585 590		
Tyr Phe Leu Gly Asn Pro Ile Gly Trp Trp Leu Ala Ser Ser Leu Leu 595 600 605		
Ala Val Tyr Ala Gly Ile Leu Leu Ala Asp Gln Val Ser Leu Arg Arg 610 615 620		
Gly Val Asp Ala Leu Asp Arg Arg Thr Arg Ser Arg Leu Tyr Asn Ser 625 630 635 640		
Thr Gly Phe Phe Phe Leu Ala Trp Ala Thr His Tyr Phe Pro Phe Phe 645 650 655		
Leu Met Gly Arg Gln Leu Phe Leu His His Tyr Leu Pro Ala His Leu 660 665 670		
Ala Ser Cys Leu Val Ala Gly Ala Leu Leu Glu Phe Ile Phe Asn Ser 675 680 685		
Glu Ala Pro Glu Glu Val Thr Ile Lys Asp Lys Lys Gly Pro Val Ser 690 695 700		
Pro Arg His His Val Thr Ala Arg Glu Arg Phe Ala Gly Gln Ser Met 705 710 715 720		
Leu Gly Ala Trp Ile Ala Cys Gly Val Ile Leu Ser Leu Ile Ile Ala 725 730 735		
Gly Trp Tyr Phe Phe Leu Pro Leu Thr Tyr Gly Tyr Pro Gly Leu Ser 740 745 750		
Val Asp Ala Ile Leu Arg Arg Lys Trp Leu Gly Tyr Asp Leu His Phe 755 760 765		
Ala Lys 770		

5 <210> 11
 <211> 788
 <212> PRT
 <213> *Gibberella zeae*

 <400> 11

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

Gln Asn Phe Lys Ser Val Ala Gly His Phe Lys Leu Ile His Asn Pro
 465 470 475 480
 Ser Lys Val Ala Met Trp Thr His Thr Lys Pro Leu Pro Glu Trp Gly
 485 490 495
 Tyr Lys Gln Gln Glu Ile Asn Gly Asn Lys Gln Ile Ala Pro Ser Ser
 500 505 510
 Asn Val Trp Ile Ala Glu Asp Ile Ala Ser Leu Glu Ala Asp His Pro
 515 520 525
 Arg Arg Gln Lys Pro Glu Arg Lys Val Lys Ser Leu Pro Phe Leu Gln
 530 535 540
 Lys Trp Phe Glu Leu Gln Arg Ala Met Phe Tyr His Asn Ser Lys Leu
 545 550 555 560
 Thr Ser Ser His Pro Tyr Ala Ser His Pro Tyr Gln Trp Pro Phe Leu
 565 570 575
 Leu Arg Gly Val Ser Phe Trp Thr Gln Ser Glu Thr Arg Gln Gln Ile
 580 585 590
 Tyr Phe Leu Gly Asn Pro Val Gly Trp Trp Leu Ala Ser Ser Leu Leu
 595 600 605
 Ala Val Tyr Ala Gly Ile Leu Leu Ala Asp Gln Val Ser Leu Arg Arg
 610 615 620
 Gly Ile Asp Ala Leu Asp Arg Arg Lys Leu Met Leu Gln Ser Gln Leu
 625 630 635 640
 Met Asn Pro Thr Leu Thr Asn Ser Lys Gly Thr Arg Ser Arg Leu Tyr
 645 650 655
 Asn Ser Thr Gly Phe Phe Phe Leu Ala Trp Ala Thr His Tyr Phe Pro
 660 665 670
 Phe Phe Leu Met Gly Arg Gln Leu Phe Leu His His Tyr Leu Pro Ala
 675 680 685
 His Leu Ala Ser Cys Leu Val Ala Gly Ala Leu Leu Glu Phe Ile Phe
 690 695 700
 Asn Ser Glu Pro Ala Glu Glu Ile Thr Ile Lys Asp Lys Lys Gly Pro
 705 710 715 720

ES 2 739 280 T3

Val Ser Pro Arg His His Val Thr Ala Arg Glu Arg Phe Ser Gly Gln
725 730 735

Ser Met Ala Ser Ala Trp Ile Ala Cys Gly Val Val Leu Ala Leu Val
740 745 750

Val Ala Gly Trp Tyr Phe Phe Leu Pro Leu Thr Tyr Gly Tyr Pro Gly
755 760 765

Leu Ser Val Glu Ala Ile Leu Arg Arg Lys Trp Leu Gly Tyr Asp Leu
770 775 780

His Phe Ala Lys
785

<210> 12
<211> 775
<212> PRT
<213> *Myceliophthora thermophila*
<400> 12

5

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

385		390		395		400
Gly Arg His Val	Arg Asn His Asp Leu Val	Arg Leu Arg His Leu Gly				
	405	410			415	
Thr Asp Thr Ile	Leu Leu Ser His Asp Val	Ala Ser Pro Tyr Tyr Pro				
	420	425			430	
Thr Asn Gln Glu	Phe Thr Thr Val Ser Ile	Ala Asp Ala Tyr Gly Glu				
	435	440			445	
Arg Ala Ala Asp	Thr Leu Phe Glu Ile Arg	Ile Glu His Gly Lys Asp				
	450	455			460	
Gly Gln Glu Phe	Lys Ser Val Ser Ser His	Phe Lys Leu Ile His Asn				
465	470	475			480	
Pro Ser Lys Val	Ala Met Trp Thr His	Pro Lys Pro Leu Pro Asp Trp				
	485	490			495	
Gly Tyr Lys Gln	Gln Glu Ile Asn Gly	Asn Lys Gln Ile Ala Pro Ser				
	500	505			510	
Ser Asn Val Trp	Leu Val Glu Asp Ile Val	Ser Leu Pro Pro Asp His				
	515	520			525	
Lys Arg Arg Glu	Lys Pro Glu Arg Lys Val	Lys Thr Leu Pro Phe Leu				
	530	535			540	
Arg Lys Trp Phe	Glu Leu Gln Arg Ser Met	Phe Trp His Asn Asn Gln				
545	550	555			560	
Leu Thr Ala Ser	His Pro Tyr Ala Ser	Leu Pro Tyr Gln Trp Pro Phe				
	565	570			575	
Leu Leu Arg Gly	Val Ser Phe Trp Thr	Gln Asn Glu Thr Arg Gln Gln				
	580	585			590	
Ile Tyr Phe Leu	Gly Asn Pro Val Gly	Trp Trp Ile Ala Ser Ser Val				
	595	600			605	
Leu Ala Ile Tyr	Ala Gly Ile Val Leu	Ala Asp Gln Phe Ser Leu Arg				
	610	615			620	
Arg Gly Ile Asp	Ala Leu Asp His Arg	Ser Arg Ser Arg Leu Tyr Asn				
625	630	635			640	

ES 2 739 280 T3

Ser Thr Gly Phe Phe Phe Leu Ala Trp Ala Thr His Tyr Phe Pro Phe
645 650 655

Tyr Val Met Gly Arg Gln Leu Phe Leu His His Tyr Leu Pro Ala His
660 665 670

Leu Ala Ser Ala Leu Val Thr Gly Ala Ile Val Glu Phe Ile Phe Ala
675 680 685

Gln Asp Ser Leu Glu His Glu Val Ala Tyr Gln Ala Ala Lys Ala Gly
690 695 700

Lys Lys Thr Gly Val Gln Lys Arg His Leu Ser Ala Arg Glu Arg Phe
705 710 715 720

Ala Gly Gln Ser Met Val Ala Ser Trp Ile Ala Thr Val Val Ile Leu
725 730 735

Ile Ala Val Ala Ala Ser Trp Tyr Phe Phe Leu Pro Leu Thr Tyr Gly
740 745 750

Tyr Pro Gly Leu Ser Val Asp Gln Val Leu Arg Arg Lys Trp Leu Gly
755 760 765

Tyr Asp Leu His Phe Ala Lys
770 775

<210> 13

<211> 774

<212> PRT

<213> *Neurospora crassa*

<400> 13

ES 2 739 280 T3

Met Ala Ser Thr Thr Ala Thr Pro Glu Ala Thr Leu Arg Gln Arg Asn
1 5 10 15

Val Pro Ala Ser Ser Lys Lys Ala Lys Asn Gly Val Ser Ser Asp Val
20 25 30

Glu Thr Asp Lys Val Pro Asp Ala Val Ala Pro Ala Lys Ser Gly Ser
35 40 45

Glu Leu Glu Tyr Lys Leu Ala Leu Ile Leu Ile Thr Gly Leu Ala Phe
50 55 60

Leu Thr Arg Phe Trp Gly Ile Ser His Pro Asp Glu Val Val Phe Asp
65 70 75 80

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

Asp Tyr Tyr Asp Thr Ile Ser Ile Arg His Lys Glu Thr Lys Ala Tyr
 340 345 350
 Leu His Ser His Pro Asp Lys Tyr Pro Leu Arg Tyr Asp Asp Gly Arg
 355 360 365
 Val Ser Ser Gln Gly Gln Gln Val Thr Gly Tyr Pro Phe Asn Asp Thr
 370 375 380
 Asn Asn Tyr Trp Gln Ile Leu Pro Pro Gly Pro Asp Asp Gln Lys Leu
 385 390 395 400
 Gly His Pro Ile Lys Asn His Asp Leu Val Arg Leu Arg His Ile Val
 405 410 415
 Thr Asp Thr Ile Leu Leu Ser His Asp Val Ala Ser Pro Tyr Tyr Pro
 420 425 430
 Thr Asn Gln Glu Phe Thr Thr Val Ser Ile Gly Asp Ala Tyr Gly Asp
 435 440 445
 Arg Ala Ala Asp Thr Leu Phe Glu Ile Arg Ile Glu His Gly Lys Ala
 450 455 460
 Asn Gln Glu Phe Lys Ser Ile Ser Ser His Phe Lys Leu Ile His Asn
 465 470 475 480
 Pro Ser Lys Val Ala Met Trp Thr His Ser Lys Pro Leu Pro Glu Trp
 485 490 495
 Gly His Lys Gln Gln Glu Ile Asn Gly Asn Lys Gln Leu Ala Gln Ser
 500 505 510
 Ser Asn Val Trp Leu Val Glu Asp Ile Val Ser Leu Pro Ala Asp His
 515 520 525
 Ala Arg Arg Glu Lys Pro Glu Lys Lys Val Lys Thr Leu Pro Phe Leu
 530 535 540
 Arg Lys Trp Phe Glu Leu Gln Arg Ser Met Phe Trp His Asn Asn Gln
 545 550 555 560
 Leu Thr Ser Ser His Pro Tyr Ala Ser Leu Pro Tyr Gln Trp Pro Phe
 565 570 575
 Leu Leu Arg Gly Val Ser Phe Trp Thr Gln Asn Asp Thr Arg Gln Gln
 580 585 590

Ile	Tyr	Phe	Leu	Gly	Asn	Pro	Ile	Gly	Trp	Trp	Leu	Ala	Ser	Ser	Val
		595					600					605			
Leu	Ala	Ile	Tyr	Ala	Gly	Ile	Ile	Leu	Ala	Asp	Gln	Phe	Ser	Leu	Arg
	610					615					620				
Arg	Gly	Leu	Asp	Ala	Met	Asp	Arg	Arg	Thr	Arg	Ser	Arg	Leu	Tyr	Asn
625					630					635					640
Ser	Thr	Gly	Phe	Phe	Phe	Leu	Ala	Trp	Ala	Thr	His	Tyr	Phe	Pro	Phe
				645					650					655	
Phe	Val	Met	Gly	Arg	Gln	Leu	Phe	Leu	His	His	Tyr	Leu	Pro	Ala	His
			660					665					670		
Leu	Ala	Ser	Ala	Leu	Val	Thr	Gly	Ser	Val	Val	Glu	Phe	Leu	Phe	Ser
		675					680					685			
Thr	Asp	Ser	Ala	Glu	Pro	Glu	Tyr	Gln	Pro	Ser	Lys	Ser	Gly	Lys	Lys
	690					695					700				
Val	Ala	Pro	Thr	Thr	Lys	Arg	Arg	Leu	Ser	Ala	Arg	Glu	Arg	Leu	Ala
705					710					715					720
Gly	Gln	Ser	Met	Ala	Gly	Ala	Trp	Ile	Ala	Thr	Ala	Val	Ile	Met	Val
				725					730					735	
Leu	Val	Ala	Phe	Gly	Trp	Tyr	Phe	Phe	Leu	Pro	Leu	Thr	Tyr	Gly	Tyr
			740					745					750		
Pro	Gly	Leu	Thr	Ala	Pro	Glu	Val	Asn	Arg	Arg	Lys	Trp	Leu	Gly	Tyr
		755					760					765			
Asp	Leu	His	Phe	Ala	Lys										
	770														

<210> 14
 <211> 776
 <212> PRT
 <213> *Penicillium chrysogenum*

<400> 14

ES 2 739 280 T3

Met Ser Ser Pro Ser Pro Ser Leu Arg Lys Arg Gly Gly Lys Lys Asp
1 5 10 15

Val Tyr Thr Ala Leu Pro Ser Asp Asp Thr Ser Thr Pro Val Ser Val
20 25 30

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

Val	Lys	Thr	Leu	Pro	Phe	Leu	Arg	Lys	Tyr	Phe	Glu	Leu	Gln	Gly	Ala	530	535	540
Met	Phe	His	His	Asn	Asn	Ala	Leu	Thr	Ser	Ser	His	Pro	Tyr	Ala	Thr	545	550	555
Glu	Pro	Phe	Gln	Trp	Pro	Phe	Leu	Leu	Arg	Gly	Val	Ser	Phe	Trp	Thr	565	570	575
Lys	Asn	Asp	Thr	Arg	Glu	Gln	Ile	Tyr	Phe	Leu	Gly	Asn	Pro	Ile	Gly	580	585	590
Trp	Trp	Ile	Ala	Ser	Ser	Ile	Leu	Ala	Val	Phe	Ala	Gly	Val	Val	Gly	595	600	605
Ala	Asp	Gln	Leu	Ser	Leu	Arg	Arg	Gly	Val	Asp	Ala	Leu	Glu	Glu	Ile	610	615	620
Trp	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Ser	Arg	Leu	Tyr	Asn	Ser	Thr	Gly	Phe	Leu	625	630	635
Phe	Leu	Cys	Trp	Ala	Ala	His	Tyr	Phe	Pro	Phe	Trp	Leu	Met	Gly	Arg	645	650	655
Gln	Arg	Phe	Leu	His	His	Tyr	Leu	Pro	Ser	His	Leu	Ala	Ser	Thr	Met	660	665	670
Val	Cys	Gly	Ala	Leu	Ile	Glu	Phe	Ile	Phe	Asn	Leu	Gln	Pro	Leu	Asp	675	680	685
Pro	Arg	Thr	Ala	Leu	Pro	Pro	Val	Asp	Asp	Pro	Ser	Gly	Lys	Ser	Lys	690	695	700
Ala	Arg	Ser	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Arg	Phe	Ile	Thr	Ala	Lys	Glu	Arg	705	710	715
Met	Gly	Cys	Arg	Ser	Leu	Ile	Ala	Gly	Trp	Ile	Ala	Thr	Leu	Ile	Ile	725	730	735
Leu	Ala	Ala	Thr	Ile	Trp	Gly	Phe	Ile	Phe	Tyr	Ala	Pro	Leu	Thr	Tyr	740	745	750
Gly	Thr	Pro	Gly	Leu	Asp	Val	Ala	Gly	Val	Asn	Ala	Arg	Lys	Trp	Leu	755	760	765
Asn	Tyr	Asp	Leu	His	Phe	Ala	Lys									770	775	

5 <210> 15
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> *Trichoderma reesei*

 <400> 15
 gcacactttc aagattggc 19

 10 <210> 16
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> *Trichoderma reesei*

 15 <400> 16
 gtacggtgtt gccaagaag 19

 20 <210> 17
 <211> 448
 <212> ADN
 <213> *Trichoderma reesei*

 <400> 17

 gttgagtaca tcgagcgcga cagcattgtg cacaccatgc ttcccctcga gtccaaggac 60
 agcatcatcg ttgaggactc gtgcaacggc gagacggaga agcaggctcc ctgggggtctt 120
 gcccgatatct ctcaccgaga gacgctcaac tttggctcct tcaacaagta cctctacacc 180
 gctgatggtg gtgaggggtg tgatgcctat gtcattgaca ccggcaccaa catcgagcac 240
 gtcgactttg agggtcgtgc caagtggggc aagaccatcc ctgccggcga tgaggacgag 300
 gacggcaacg gccacggcac tcaactgctct ggtaccgttg ctggtaagaa gtacggtgtt 360
 gccaagaagg cccacgtcta cgccgtcaag gtgctccgat ccaacggatc cggcaccatg 420
 25 tctgacgtcg tcaagggcgt cgagtacg 448

 30 <210> 18
 <211> 399
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*

 <400> 18

ES 2 739 280 T3

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

Met Ala Ala Gly Ser Val Ile Pro Ser Thr Asn Ala Asn Pro Gly Ser
 20 25 30

Phe Glu Ile Lys Arg Ser Ala Asn Lys Ala Phe Thr Gly Arg Asn Gly
 35 40 45

Pro Leu Ala Leu Ala Arg Thr Tyr Ala Lys Tyr Gly Val Glu Val Pro
 50 55 60

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

305					310					315				320
Gly	Tyr	Val	Phe	Asn	Cys	Thr	Thr	Gln	Leu	Pro	Asp	Phe	Thr	Phe
				325					330				335	
Val	Gly	Glu	Gly	Asn	Ile	Thr	Val	Pro	Gly	Thr	Leu	Ile	Asn	Tyr
			340					345					350	Ser
Glu	Ala	Gly	Asn	Gly	Gln	Cys	Phe	Gly	Gly	Ile	Gln	Pro	Ser	Gly
		355					360					365		Gly
Leu	Pro	Phe	Ala	Ile	Phe	Gly	Asp	Ile	Ala	Leu	Lys	Ala	Ala	Tyr
	370					375					380			Val
Ile	Phe	Asp	Ser	Gly	Asn	Lys	Gln	Val	Gly	Trp	Ala	Gln	Lys	Lys
385					390					395				

<210> 19
 <211> 452
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*
 <400> 19

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

Phe Val Ile Gln Pro Glu Asp Leu Ala Phe Ala Pro Ala Asp Asp Ser
385 390 395 400

Asn Trp Tyr Gly Gly Val Gln Ser Arg Gly Ser Asn Pro Phe Asp Ile
405 410 415

Leu Gly Asp Val Phe Leu Lys Ser Val Tyr Ala Ile Phe Asp Gln Gly
420 425 430

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

Gln Pro Pro Gln
450

<210> 20

<211> 395

<212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 20

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

5 <210> 21
 <211> 426
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*

 <400> 21

ES 2 739 280 T3

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

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

<210> 22
 <211> 407
 <212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 22

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

5

ES 2 739 280 T3

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

Val Gln Tyr Asn Lys Asn Tyr Val Pro His Gly Pro Thr Ala Leu Phe
 35 40 45

Lys Ala Lys Arg Lys Tyr Gly Ala Pro Ile Ser Asp Asn Leu Lys Ser
 50 55 60

Leu Val Ala Ala Arg Gln Ala Lys Gln Ala Leu Ala Lys Arg Gln Thr
 65 70 75 80

Gly Ser Ala Pro Asn His Pro Ser Asp Ser Ala Asp Ser Glu Tyr Ile
 85 90 95

Thr Ser Val Ser Ile Gly Thr Pro Ala Gln Val Leu Pro Leu Asp Phe
 100 105 110

Asp Thr Gly Ser Ser Asp Leu Trp Val Phe Ser Ser Glu Thr Pro Lys
 115 120 125

Ser Ser Ala Thr Gly His Ala Ile Tyr Thr Pro Ser Lys Ser Ser Thr
 130 135 140

Ser Lys Lys Val Ser Gly Ala Ser Trp Ser Ile Ser Tyr Gly Asp Gly
 145 150 155 160

Ser Ser Ser Ser Gly Asp Val Tyr Thr Asp Lys Val Thr Ile Gly Gly
 165 170 175

Phe Ser Val Asn Thr Gln Gly Val Glu Ser Ala Thr Arg Val Ser Thr
 180 185 190

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

Asp Ser Gly Asn Gln Val Arg Pro His Pro Gln Lys Thr Trp Phe Ser
 210 215 220

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

His Gly Gln Asn Gly Ser Tyr Asn Phe Gly Tyr Ile Asp Thr Ser Val
 245 250 255

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

ES 2 739 280 T3

Trp Glu Phe Thr Ala Ser Gly Tyr Ser Val Gly Gly Gly Lys Leu Asn
275 280 285

Arg Asn Ser Ile Asp Gly Ile Ala Asp Thr Gly Thr Thr Leu Leu Leu
290 295 300

Leu Asp Asp Asn Val Val Asp Ala Tyr Tyr Ala Asn Val Gln Ser Ala
305 310 315 320

Gln Tyr Asp Asn Gln Gln Glu Gly Val Val Phe Asp Cys Asp Glu Asp
325 330 335

Leu Pro Ser Phe Ser Phe Gly Val Gly Ser Ser Thr Ile Thr Ile Pro
340 345 350

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

Phe Gly Gly Leu Gln Ser Ser Ser Gly Ile Gly Ile Asn Ile Phe Gly
370 375 380

Asp Val Ala Leu Lys Ala Ala Leu Val Val Phe Asp Leu Gly Asn Glu
385 390 395 400

Arg Leu Gly Trp Ala Gln Lys
405

<210> 23

<211> 446

<212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 23

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

				325					330					335		
Gly	Val	Thr	Ile	Arg	Val	Pro	Tyr	Ala	Glu	Met	Ile	Arg	Gln	Val	Ser	
			340					345					350			
Thr	Leu	Pro	Pro	His	Cys	Tyr	Leu	Gly	Met	Met	Gly	Ser	Thr	Gln	Phe	
		355					360					365				
Ala	Leu	Leu	Gly	Asp	Thr	Phe	Leu	Arg	Ser	Ala	Tyr	Ala	Val	Phe	Asp	
	370					375					380					
Leu	Thr	Ser	Asn	Val	Val	His	Leu	Ala	Pro	Tyr	Ala	Asn	Cys	Gly	Thr	
385					390					395					400	
Asn	Val	Lys	Ser	Ile	Thr	Ser	Thr	Ser	Ser	Leu	Ser	Asn	Leu	Val	Gly	
				405					410					415		
Thr	Cys	Asn	Asp	Pro	Ser	Lys	Pro	Ser	Ser	Ser	Pro	Ser	Pro	Ser	Gln	
			420					425					430			
Thr	Pro	Ser	Ala	Ser	Pro	Ser	Ser	Thr	Ala	Thr	Gln	Lys	Ala			
		435					440					445				

<210> 24
<211> 259
<212> PRT
<213> *Trichoderma reesei*

<400> 24

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

100					105					110					
Thr	Asp	Phe	Asp	Val	Ala	Val	Trp	His	Leu	Ser	Ser	Pro	Ile	Arg	Glu
		115					120					125			
Ser	Ser	Thr	Ile	Gly	Tyr	Ala	Thr	Leu	Pro	Ala	Gln	Gly	Ser	Asp	Pro
	130					135					140				
Val	Ala	Gly	Ser	Thr	Val	Thr	Thr	Ala	Gly	Trp	Gly	Thr	Thr	Ser	Glu
145					150					155					160
Asn	Ser	Asn	Ser	Ile	Pro	Ser	Arg	Leu	Asn	Lys	Val	Ser	Val	Pro	Val
				165					170					175	
Val	Ala	Arg	Ser	Thr	Cys	Gln	Ala	Asp	Tyr	Arg	Ser	Gln	Gly	Leu	Ser
			180					185					190		
Val	Thr	Asn	Asn	Met	Phe	Cys	Ala	Gly	Leu	Thr	Gln	Gly	Gly	Lys	Asp
		195					200					205			
Ser	Cys	Ser	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro	Ile	Val	Asp	Ala	Asn	Gly	Val
	210					215					220				
Leu	Gln	Gly	Val	Val	Ser	Trp	Gly	Ile	Gly	Cys	Ala	Glu	Ala	Gly	Phe
225					230					235					240
Pro	Gly	Val	Tyr	Thr	Arg	Ile	Gly	Asn	Phe	Val	Asn	Tyr	Ile	Asn	Gln
				245					250					255	
Asn Leu Ala															

<210> 25

<211> 882

<212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 25

ES 2 739 280 T3

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

Val Ile Ala Arg Val Ser Gly His Gly Ser Lys Ile Val Pro Gly Ala
20 25 30

Tyr Ile Phe Glu Phe Glu Asp Ser Gln Asp Thr Ala Asp Phe Tyr Lys
35 40 45

Lys Leu Asn Gly Glu Gly Ser Thr Arg Leu Lys Phe Asp Tyr Lys Leu

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

Asn	Leu	Leu	Ala	Thr	Thr	Ala	Asn	Pro	Gln	Leu	Phe	Asn	Asp	Gly	Glu
				565					570					575	
Lys	Phe	Tyr	Asp	Phe	Leu	Ala	Pro	Val	Pro	Gln	Gln	Gly	Gly	Gly	Leu
			580					585					590		
Ile	Gln	Ala	Tyr	Asp	Ala	Ala	Phe	Ala	Thr	Thr	Leu	Leu	Ser	Pro	Ser
		595					600					605			
Ser	Leu	Ser	Phe	Asn	Asp	Thr	Asp	His	Phe	Ile	Lys	Lys	Lys	Gln	Ile
	610					615					620				
Thr	Leu	Lys	Asn	Thr	Ser	Lys	Gln	Arg	Val	Thr	Tyr	Lys	Leu	Asn	His
625					630					635					640
Val	Pro	Thr	Asn	Thr	Phe	Tyr	Thr	Leu	Ala	Pro	Gly	Asn	Gly	Tyr	Pro
				645					650					655	
Ala	Pro	Phe	Pro	Asn	Asp	Ala	Val	Ala	Ala	His	Ala	Asn	Leu	Lys	Phe
			660					665					670		
Asn	Leu	Gln	Gln	Val	Thr	Leu	Pro	Ala	Gly	Arg	Ser	Ile	Thr	Val	Asp
		675					680					685			
Val	Phe	Pro	Thr	Pro	Pro	Arg	Asp	Val	Asp	Ala	Lys	Arg	Leu	Ala	Leu
	690					695					700				
Trp	Ser	Gly	Tyr	Ile	Thr	Val	Asn	Gly	Thr	Asp	Gly	Thr	Ser	Leu	Ser
705				710						715					720
Val	Pro	Tyr	Gln	Gly	Leu	Thr	Gly	Ser	Leu	His	Lys	Gln	Lys	Val	Leu
				725					730					735	
Tyr	Pro	Glu	Asp	Ser	Trp	Ile	Ala	Asp	Ser	Thr	Asp	Glu	Ser	Leu	Ala
			740					745					750		
Pro	Val	Glu	Asn	Gly	Thr	Val	Phe	Thr	Ile	Pro	Ala	Pro	Gly	Asn	Ala
		755					760					765			
Gly	Pro	Asp	Asp	Lys	Leu	Pro	Ser	Leu	Val	Val	Ser	Pro	Ala	Leu	Gly
	770					775					780				
Ser	Arg	Tyr	Val	Arg	Val	Asp	Leu	Val	Leu	Leu	Ser	Ala	Pro	Pro	His
785					790					795					800
Gly	Thr	Lys	Leu	Lys	Thr	Val	Lys	Phe	Leu	Asp	Thr	Thr	Ser	Ile	Gly
				805					810					815	

ES 2 739 280 T3

Gln Pro Ala Gly Ser Pro Leu Leu Trp Ile Ser Arg Gly Ala Asn Pro
820 825 830

Ile Ala Trp Thr Gly Glu Leu Ser Asp Asn Lys Phe Ala Pro Pro Gly
835 840 845

Thr Tyr Lys Ala Val Phe His Ala Leu Arg Ile Phe Gly Asn Glu Lys
850 855 860

Lys Lys Glu Asp Trp Asp Val Ser Glu Ser Pro Ala Phe Thr Ile Lys
865 870 875 880

Tyr Ala

<210> 26

<211> 541

<212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 26

5

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

385		390		395		400
Cys Gly Leu Leu	Ala Tyr Tyr Leu Ser	Leu Gln Pro Ala Gly	Asp Ser			
	405	410	415			
Glu Phe Ala Val	Ala Pro Ile Thr	Pro Lys Lys Leu Lys	Glu Ser Val			
	420	425	430			
Ile Ser Val Ala	Thr Lys Asn Ala Leu Ser	Asp Leu Pro Asp	Ser Asp			
	435	440	445			
Thr Pro Asn Leu	Leu Ala Trp Asn Gly Gly Gly	Cys Ser Asn Phe Ser				
	450	455	460			
Gln Ile Val Glu	Ala Gly Ser Tyr Thr	Val Lys Pro Lys Gln Asn Lys				
465	470	475	480			
Gln Ala Lys Leu	Pro Ser Thr Ile Glu	Glu Leu Glu Glu Ala Ile Glu				
	485	490	495			
Gly Asp Phe Glu	Val Val Ser Gly Glu Ile Val Lys Gly	Ala Lys Ser				
	500	505	510			
Phe Gly Ser Lys	Ala Glu Lys Phe Ala Lys Lys Ile His Asp Leu Val					
	515	520	525			
Glu Glu Glu Ile	Glu Glu Phe Ile Ser Glu Leu Ser Glu					
530	535	540				

<210> 27

<211> 391

<212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 27

ES 2 739 280 T3

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

Pro Ala Ile Glu Lys Arg Ala Glu Pro Ala Pro Leu Leu Val Pro Thr
20 25 30

Thr Lys His Gly Leu Val Ala Asp Lys Tyr Ile Val Lys Phe Lys Asp
35 40 45

Gly Ser Ser Leu Gln Ala Val Asp Glu Ala Ile Ser Gly Leu Val Ser
50 55 60

Asn Ala Asp His Val Tyr Gln His Val Phe Arg Gly Phe Ala Ala Thr

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

Thr Trp Pro Asn Arg Gln Thr Asn Thr Ile Ser Gly Thr Ser Met Ala
325 330 335

Thr Pro His Ile Val Gly Leu Gly Ala Tyr Leu Ala Gly Leu Glu Gly
340 345 350

Phe Ser Asp Pro Gln Ala Leu Cys Ala Arg Ile Gln Ser Leu Ala Asn
355 360 365

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

Phe Asn Gly Asn Pro Ser Gly
385 390

<210> 28

<211> 387

<212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 28

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

5 <210> 29
 <211> 409
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*

 <400> 29

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

Ser Thr Ser Val Ile Leu Asp Gly Tyr Asn Trp Ala Val Asn Asp Ile
225 230 235 240

Val Ser Arg Asn Arg Ala Ser Lys Ser Ala Ile Asn Met Ser Leu Gly
245 250 255

Gly Pro Ala Ser Ser Thr Trp Ala Thr Ala Ile Asn Ala Ala Phe Asn
260 265 270

Lys Gly Val Leu Thr Ile Val Ala Ala Gly Asn Gly Asp Ala Leu Gly
275 280 285

Asn Pro Gln Pro Val Ser Ser Thr Ser Pro Ala Asn Val Pro Asn Ala
290 295 300

Ile Thr Val Ala Ala Leu Asp Ile Asn Trp Arg Thr Ala Ser Phe Thr
305 310 315 320

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

Ser Ser Trp Ile Gly Ser Asn Thr Ala Thr Asn Thr Ile Ser Gly Thr
340 345 350

Ser Met Ala Thr Pro His Val Val Gly Leu Ala Leu Tyr Leu Gln Ala
355 360 365

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

Leu Ala Thr Thr Gly Arg Val Thr Gly Ser Leu Asn Gly Ser Pro Asn
385 390 395 400

Thr Leu Ile Phe Asn Gly Asn Ser Ala
405

<210> 30
<211> 555
<212> PRT
<213> *Trichoderma reesei*

ES 2 739 280 T3

<400> 30

Met	Arg	Ala	Cys	Leu	Leu	Phe	Leu	Gly	Ile	Thr	Ala	Leu	Ala	Thr	Ala
1				5					10					15	

Ile	Pro	Ala	Leu	Lys	Pro	Pro	His	Gly	Ser	Pro	Asp	Arg	Ala	His	Thr
			20					25					30		

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

530

535

540

Leu Phe Asp Arg Met Leu Asn Leu Ser Leu Val
545 550 555

<210> 31

<211> 388

<212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 31

5

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

ES 2 739 280 T3

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

<210> 32
 <211> 256
 <212> PRT

ES 2 739 280 T3

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 32

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

Val Leu Ala Gly Val Ala Gln Asp Arg Gly Leu Ala Ala Arg Leu Ala

5

ES 2 739 280 T3

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

5 <210> 33
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*

 <400> 33

ES 2 739 280 T3

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

5 <210> 34
 <211> 612
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*

 <400> 34

ES 2 739 280 T3

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

Glu Tyr Ser Val Asp Gly Tyr Thr Pro Ser Val Lys Ser Gly Ser Arg
 225 230 235 240
 Ile Gly Phe Gly Ser Phe Leu Asn Glu Ser Ala Ser Phe Ala Asp Gln
 245 250 255
 Ala Leu Phe Glu Lys His Phe Asn Ile Pro Ser Gln Asn Phe Ser Val
 260 265 270
 Val Leu Ile Asn Gly Gly Thr Asp Leu Pro Gln Pro Pro Ser Asp Ala
 275 280 285
 Asn Asp Gly Glu Ala Asn Leu Asp Ala Gln Thr Ile Leu Thr Ile Ala
 290 295 300
 His Pro Leu Pro Ile Thr Glu Phe Ile Thr Ala Gly Ser Pro Pro Tyr
 305 310 315 320
 Phe Pro Asp Pro Val Glu Pro Ala Gly Thr Pro Asn Glu Asn Glu Pro
 325 330 335
 Tyr Leu Gln Tyr Tyr Glu Phe Leu Leu Ser Lys Ser Asn Ala Glu Ile
 340 345 350
 Pro Gln Val Ile Thr Asn Ser Tyr Gly Asp Glu Glu Gln Thr Val Pro
 355 360 365
 Arg Ser Tyr Ala Val Arg Val Cys Asn Leu Ile Gly Leu Leu Gly Leu
 370 375 380
 Arg Gly Ile Ser Val Leu His Ser Ser Gly Asp Glu Gly Val Gly Ala
 385 390 395 400
 Ser Cys Val Ala Thr Asn Ser Thr Thr Pro Gln Phe Asn Pro Ile Phe
 405 410 415
 Pro Ala Thr Cys Pro Tyr Val Thr Ser Val Gly Gly Thr Val Ser Phe
 420 425 430
 Asn Pro Glu Val Ala Trp Ala Gly Ser Ser Gly Gly Phe Ser Tyr Tyr
 435 440 445
 Phe Ser Arg Pro Trp Tyr Gln Gln Glu Ala Val Gly Thr Tyr Leu Glu
 450 455 460
 Lys Tyr Val Ser Ala Glu Thr Lys Lys Tyr Tyr Gly Pro Tyr Val Asp
 465 470 475 480

Phe Ser Gly Arg Gly Phe Pro Asp Val Ala Ala His Ser Val Ser Pro
485 490 495

Asp Tyr Pro Val Phe Gln Gly Gly Glu Leu Thr Pro Ser Gly Gly Thr
500 505 510

Ser Ala Ala Ser Pro Val Val Ala Ala Ile Val Ala Leu Leu Asn Asp
515 520 525

Ala Arg Leu Arg Glu Gly Lys Pro Thr Leu Gly Phe Leu Asn Pro Leu
530 535 540

Ile Tyr Leu His Ala Ser Lys Gly Phe Thr Asp Ile Thr Ser Gly Gln
545 550 555 560

Ser Glu Gly Cys Asn Gly Asn Asn Thr Gln Thr Gly Ser Pro Leu Pro
565 570 575

Gly Ala Gly Phe Ile Ala Gly Ala His Trp Asn Ala Thr Lys Gly Trp
580 585 590

Asp Pro Thr Thr Gly Phe Gly Val Pro Asn Leu Lys Lys Leu Leu Ala
595 600 605

Leu Val Arg Phe
610

<210> 35

<211> 477

<212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 35

ES 2 739 280 T3

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

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

Asn Pro Asp Phe Ala Pro Ser Leu Leu Arg Arg Asp Gly Ser Val Ser
35 40 45

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

Ser Val Gly Thr Pro Pro Gln Lys Leu Ser Phe Leu Leu Asp Thr Gly
65 70 75 80

ES 2 739 280 T3

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

Val	Leu	Asn	Asn	Leu	Ala	Ala	Ala	Ser	Asp	Glu	Ile	Met	Ser	Asp	Pro
			340					345					350		
Ser	Leu	Ser	Lys	Phe	Phe	Lys	Gly	Trp	Ser	Gly	Val	Cys	Thr	Phe	Gly
		355					360					365			
Met	Gly	Ser	Thr	Lys	Thr	Phe	Gly	Ile	Gln	Ser	Asp	Glu	Phe	Val	Leu
	370					375					380				
Leu	Gly	Asp	Thr	Phe	Leu	Arg	Ser	Ala	Tyr	Val	Val	Tyr	Asp	Leu	Gln
385					390					395					400
Asn	Lys	Gln	Ile	Gly	Ile	Ala	Gln	Ala	Thr	Leu	Asn	Ser	Thr	Ser	Ser
				405					410					415	
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Lys	Ala	Gly	Ser	Lys	Thr	Ile	Pro	Gly	Pro	Ala
			420					425					430		
Ser	Thr	Gly	Asp	Asp	Ser	Asp	Asp	Ser	Ser	Asp	Asp	Ser	Asp	Glu	Asp
		435					440					445			
Ser	Ala	Gly	Ala	Ala	Leu	His	Pro	Thr	Phe	Ser	Ile	Ala	Leu	Ala	Gly
	450					455					460				
Thr	Leu	Phe	Thr	Ala	Val	Ser	Met	Met	Met	Ser	Val	Leu			
465					470					475					

<210> 36
 <211> 1263
 <212> ADN
 <213> *Trichoderma reesei*
 <400> 36

atggcggtcac tcatcaaaac tgccgtggac attgccaacg gccgccatgc gctgtccaga	60
tatgtcatct ttgggctctg gcttgccgat gcggtgctgt gcgggctgat tatctggaaa	120
gtgccttata cggaatcga ctgggtcgcc tacatggagc aagtcaccca gtgcgtccac	180
ggagagcgag actaccccaa gatggagggc ggcacagggc ccctgggtgta tcccgcggcc	240
catgtgtaca tctacacagg gctctactac ctgacgaaca agggcaccga catcctgctg	300
gcgcagcagc tctttgccgt gctctacatg gctactctgg cggtcgtcat gacatgctac	360
tccaaggcca aggtcccgc gtacatcttc ccgcttctca tctctccaa aagacttcac	420
agcgtcttcg tctgagatg cttcaacgac tgcttcgccg ccttcttcct ctggctctgc	480
atcttcttct tccagaggcg agagtggacc atcggagctc tcgcatacag catcggcctg	540
ggcgtcaaaa tgctgctgct actggttctc cccgccgtgg tcatcgctct ctacctggc	600
cgcggcttca agggcgccct gcggctgctc tggctcatgg tgcaggcca gctcctctc	660
gccataccct tcatcacgac aaattggcgc ggctacctcg gccgtgcatt cgagctctcg	720
aggcagttca agtttgaatg gacagtcaat tggcgcatgc tgggcgagga tctgttcctc	780
agccggggct tctctatcac gctactggca tttcacgcca tcttcctct cgcctttatc	840
ctcggccggt ggctgaagat tagggaacgg accgtactcg ggatgatccc ctatgtcatc	900
cgattcagat cgccctttac cgagcaggaa gagcgcgcca tctccaaccg cgtcgtcacg	960
cccggctatg tcatgtccac catcttgctg gccaacgtgg tgggactgct gtttgcccgg	1020
tctctgcact accagttcta tgcatatctg gcgtgggcga cccctatct cctgtggacg	1080
gcctgccccca atcttttggg ggtggccccc ctctgggcgg cgcaagaatg ggcctggaac	1140
gtcttccccca gcacgcctct tagctcgagc gtcgtggtga gcgtgctggc cgtgacggtg	1200
gcatggcgt ttgcaggttc aaatccgcag ccacgtgaaa catcgaagcc gaagcagcac	1260
taa	1263

<210> 37
 <211> 420
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*

<400> 37

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

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

370					375					380					
Thr	Pro	Leu	Ser	Ser	Ser	Val	Val	Val	Ser	Val	Leu	Ala	Val	Thr	Val
385					390					395					400
Ala	Met	Ala	Phe	Ala	Gly	Ser	Asn	Pro	Gln	Pro	Arg	Glu	Thr	Ser	Lys
				405					410					415	
Pro	Lys	Gln	His												
			420												

<210> 38
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 38

5

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

Arg Gly Ile Val Thr Phe Gln Phe Arg Gly Arg Arg Val His Leu Ala
 420 425 430

Pro Pro Leu Thr Trp Glu Gly Tyr Asp Pro Ser Trp Asn
 435 440 445

<210> 39
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 39

5

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

ES 2 739 280 T3

Pro Arg Asp Cys Pro Arg Asp Leu Pro Lys Asn Ala Ala Leu Lys Leu
 195 200 205
 Gly Cys Ile Asn Ala Glu Tyr Pro Asp Ser Phe Gly His Tyr Arg Glu
 210 215 220
 Ala Lys Phe Ser Gln Thr Lys His His Trp Trp Trp Lys Leu His Phe
 225 230 235 240
 Val Trp Glu Arg Val Lys Ile Leu Arg Asp Tyr Ala Gly Leu Ile Leu
 245 250 255
 Phe Leu Glu Glu Asp His Tyr Leu Ala Pro Asp Phe Tyr His Val Phe
 260 265 270
 Lys Lys Met Trp Lys Leu Lys Gln Gln Glu Cys Pro Glu Cys Asp Val
 275 280 285
 Leu Ser Leu Gly Thr Tyr Ser Ala Ser Arg Ser Phe Tyr Gly Met Ala
 290 295 300
 Asp Lys Val Asp Val Lys Thr Trp Lys Ser Thr Glu His Asn Met Gly
 305 310 315 320
 Leu Ala Leu Thr Arg Asn Ala Tyr Gln Lys Leu Ile Glu Cys Thr Asp
 325 330 335
 Thr Phe Cys Thr Tyr Asp Asp Tyr Asn Trp Asp Trp Thr Leu Gln Tyr
 340 345 350
 Leu Thr Val Ser Cys Leu Pro Lys Phe Trp Lys Val Leu Val Pro Gln
 355 360 365
 Ile Pro Arg Ile Phe His Ala Gly Asp Cys Gly Met His His Lys Lys
 370 375 380
 Thr Cys Arg Pro Ser Thr Gln Ser Ala Gln Ile Glu Ser Leu Leu Asn
 385 390 395 400
 Asn Asn Lys Gln Tyr Met Phe Pro Glu Thr Leu Thr Ile Ser Glu Lys
 405 410 415
 Phe Thr Val Val Ala Ile Ser Pro Pro Arg Lys Asn Gly Gly Trp Gly
 420 425 430
 Asp Ile Arg Asp His Glu Leu Cys Lys Ser Tyr Arg Arg Leu Gln
 435 440 445

ES 2 739 280 T3

<210> 40
 <211> 85
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*

5

<400> 40

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

Phe Thr Ile Leu Val Phe Tyr Phe Val Ser Asn Ser Lys Tyr Glu Gly
 20 25 30

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

Thr Pro Lys Pro Pro Ala Thr Gly Asp Ala Lys Asp Phe Pro Leu Ala
 50 55 60

Leu Thr Pro Asn Asp Pro Gly Phe Asn Asp Leu Val Gly Ile Ala Pro
 65 70 75 80

Gly Pro Arg Met Asn
 85

10

<210> 41
 <211> 255
 <212> ADN
 <213> *Trichoderma reesei*

15

<400> 41

atggcgctcaa caaatgcgcg ctatgtgcgc tatctactaa tcgccttctt cacaatcctc 60
 gtcttctact ttgtctccaa ttcaaagtat gagggcgctcg atctcaacaa gggcaccttc 120
 acagctccgg attcgaccaa gacgacacca aagccgccag ccaactggcga tgccaaagac 180
 tttcctctgg ccctgacgcc gaacgatcca ggcttcaacg acctcgctcg catcgctccc 240
 ggccctcgaa tgaac 255

20

<210> 42
 <211> 58
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25

<400> 42

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

Val Ala Ala Cys Gly Phe Val Leu Trp Ser Ser Asn Gly Arg Gln Arg
20 25 30

Lys Asn Glu Ala Leu Ala Pro Pro Leu Leu Asp Ala Glu Pro Ala Arg
35 40 45

Gly Ala Gly Gly Arg Gly Gly Asp His Pro
50 55

<210> 43

<211> 51

<212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 43

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

Phe Thr Ile Leu Val Phe Tyr Phe Val Ser Asn Ser Lys Tyr Glu Gly
20 25 30

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

Thr Pro Lys
50

<210> 44

<211> 52

<212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 44

Met Ala Ile Ala Arg Pro Val Arg Ala Leu Gly Gly Leu Ala Ala Ile
1 5 10 15

Leu Trp Cys Phe Phe Leu Tyr Gln Leu Leu Arg Pro Ser Ser Ser Tyr
20 25 30

Asn Ser Pro Gly Asp Arg Tyr Ile Asn Phe Glu Arg Asp Pro Asn Leu
35 40 45

Asp Pro Thr Gly
50

<210> 45
<211> 33
<212> PRT
<213> *Trichoderma reesei*
<400> 45

Met Leu Asn Pro Arg Arg Ala Leu Ile Ala Ala Ala Phe Ile Leu Thr
1 5 10 15

Val Phe Phe Leu Ile Ser Arg Ser His Asn Ser Glu Ser Ala Ser Thr
20 25 30

Ser

<210> 46
<211> 84
<212> PRT
<213> *Trichoderma reesei*
<400> 46

Met Met Pro Arg His His Ser Ser Gly Phe Ser Asn Gly Tyr Pro Arg
1 5 10 15

Ala Asp Thr Phe Glu Ile Ser Pro His Arg Phe Gln Pro Arg Ala Thr
20 25 30

Leu Pro Pro His Arg Lys Arg Lys Arg Thr Ala Ile Arg Val Gly Ile
35 40 45

Ala Val Val Val Ile Leu Val Leu Val Leu Trp Phe Gly Gln Pro Arg
50 55 60

Ser Val Ala Ser Leu Ile Ser Leu Gly Ile Leu Ser Gly Tyr Asp Asp
65 70 75 80

Leu Lys Leu Glu

<210> 47

<211> 55

<212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 47

Met Leu Leu Pro Lys Gly Gly Leu Asp Trp Arg Ser Ala Arg Ala Gln
1 5 10 15

Ile Pro Pro Thr Arg Ala Leu Trp Asn Ala Val Thr Arg Thr Arg Phe
20 25 30

Ile Leu Leu Val Gly Ile Thr Gly Leu Ile Leu Leu Leu Trp Arg Gly
35 40 45

Val Ser Thr Ser Ala Ser Glu
50 55

<210> 48

<211> 69

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Cebador

<400> 48

	cgattaagtt gggtaacgcc agggttttcc cagtcacgac ggtttaaacg ctgcagggcg	60
	tacagaact	69
5	<210> 49 <211> 69 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> Cebador <400> 49	
	atctctcaaa ggaagaatcc cttcaggggtt gcgtttccag tgcggccgcg gctctaaaat	60
	gcttcacag	69
15	<210> 50 <211> 68 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> Cebador <400> 50	
	cggttctcat ctgggcttgc tcggtcctgg cgtagatcta gcggccgcac gatgatgatg	60
25	acagccag	68
30	<210> 51 <211> 69 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
	<220> <223> Cebador	
35	<400> 51	
	gtggaattgt gagcggataa caatttcaca caggaaacag cgtttaaacc gtccagctcc	60
	cgcagcgcc	69
40	<210> 52 <211> 84 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
45	<220> <223> Cebador <400> 52	
	atcgctaact gctttctctt ctgtgaagca ttttagagcc gcggccgcgg ccggccgcga	60
	tcgcctagat ctacgccagg accg	84
50	<210> 53	

<211> 48
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> Cebador

<400> 53
 cggtcctggc gtagatctag ggcgcgccac tggaaacgca accctgaa 48

10

<210> 54
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>
 <223> Cebador

<400> 54
 ttcaggggtg cgttccagt ggcgcgccct agatctacgc caggaccg 48

20

<210> 55
 <211> 68
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

25

<220>
 <223> Cebador

30

<400> 55
 agcatcatga ccgccccctt ctggctgtca tcatcatcgt gcggccgcga ttattgcaca 60
 agcagcga 68

35

<210> 56
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

40

<220>
 <223> Cebador

<400> 56
 tatggcttta gatggggaca 20

45

<210> 57
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

50

<220>
 <223> Cebador

<400> 57
 tgcgtgccg tctcgtcct 20

55

<210> 58
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

60

<220>

	<223> Cebador	
	<400> 58	
5	ttaggcgacc tcttttcca	20
	<210> 59	
	<211> 18	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador	
	<400> 59	
15	cctgtatcgt cctgttcc	18
	<210> 60	
	<211> 20	
	<212> ADN	
20	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador	
25	<400> 60	
	gcgctgtcg agtcggcatt	20
	<210> 61	
	<211> 20	
30	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador	
35	<400> 61	
	caccggccat gctcttgcca	20
	<210> 62	
40	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
45	<223> Cebador	
	<400> 62	
	caagggtgcc tatgtcgc	18
50	<210> 63	
	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
55	<220>	
	<223> Cebador	
	<400> 63	
60	gatcgggtca ggacggaa	18
	<210> 64	
	<211> 18	
	<212> ADN	

<213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Cebador
 5
 <400> 64
 agcctgtctg agggacgg 18
 <210> 65
 10 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> Cebador
 <400> 65
 caaggtcgag attcgga 18
 20 <210> 66
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> Cebador
 <400> 66
 30 cagaaggggg cggtcat 17
 <210> 67
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Cebador
 <400> 67
 40 gtcccagctc ccgctct 17
 <210> 68
 <211> 20
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 68
 50 gcgcctgtcg agtcggcatt 20
 <210> 69
 <211> 20
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Cebador
 60 <400> 69
 caccggccat gctcttgcca 20
 <210> 70

ES 2 739 280 T3

	<211> 69		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
5	<223> Cebador		
	<400> 70		
	cgattaagtt gggtaacgcc agggttttcc cagtcacgac ggtttaaacg tttcaggtac	60	
	caacacctg	69	
10	<210> 71		
	<211> 69		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
15	<220>		
	<223> Cebador		
	<400> 71		
20	atctctcaaa ggaagaatcc cttcaggggtt gcgtttccag tgcggccgcg gcgaagagtc	60	
	tggcggggga	69	
	<210> 72		
	<211> 68		
25	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Cebador		
30	<400> 72		
	cggttctcat ctgggcttgc tcggtcctgg cgtagatcta gcggccgcaa gaggatgggg	60	
	gtaaagct	68	
35	<210> 73		
	<211> 69		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
40	<220>		
	<223> Cebador		
	<400> 73		
	gtggaattgt gagcggataa caatttcaca caggaaacag cgtttaaacg aggaggactc	60	
45	gtgagttat	69	
	<210> 74		
	<211> 84		
	<212> ADN		
50	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Cebador		

	<400> 74	
	gcgccttcc gcctcgacaa tccccgccag actcttcgcc gcggccgcgg ccggccgcga	60
	tcgcctagat ctacgccagg accg	84
5	<210> 75 <211> 48 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> Cebador	
	<400> 75	
15	cggtcctggc gtagatctag ggcgcgccac tggaacgca accctgaa	48
	<210> 76 <211> 48 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> Cebador	
25	<400> 76	
	ttcagggttg cgtttccagt ggcgcgccct agatctacgc caggaccg	48
	<210> 77 <211> 68 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
30	<220> <223> Cebador	
35	<400> 77	
	gagctggcca gaaaagacca agctttaccc ccatacctctt gcggccgcga ttattgcaca	60
	agcagcga	68
40	<210> 78 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
45	<220> <223> Cebador	
	<400> 78	
	acgagttgtt tcgtgtaccg	20
50	<210> 79 <211> 21 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
55	<220> <223> Cebador	

	<400> 79	
	ctttccattc atcagggatg g	21
5	<210> 80 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> Cebador	
	<400> 80	
	ggagactcag tgaagagagg	20
15	<210> 81 <211> 18 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> Cebador	
	<400> 81	
25	atgttcagtg tgcgaaag	18
	<210> 82 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
30	<220> <223> Cebador	
	<400> 82	
35	ccctcgtcgc agaaaagatg	20
	<210> 83 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
40	<220> <223> Cebador	
	<400> 83	
45	agcctccttg ggaacctcag	20
	<210> 84 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
50	<220> <223> Cebador	
	<400> 84	
55	cttagtgagg ctggagggcg	20
	<210> 85 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
60	<220>	

	<223> Cebador	
	<400> 85	
5	ggccggttcg tgcaactgga	20
	<210> 86	
	<211> 20	
	<212> ADN	
10	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador	
	<400> 86	
15	ggccgcaaga ggatgggggt	20
	<210> 87	
	<211> 21	
	<212> ADN	
20	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador	
25	<400> 87	
	tcgggccagc tgaagcacia c	21
	<210> 88	
	<211> 20	
30	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador	
35	<400> 88	
	ttgaggaacg gctgcctgcg	20
	<210> 89	
40	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
45	<223> Cebador	
	<400> 89	
	cgatggctcc gtcacccgcc	20
50	<210> 90	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
55	<220>	
	<223> Cebador	
	<400> 90	
60	acgagttgtt tcgtgtaccg	20
	<210> 91	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	

	<220>	
	<223> Cebador	
5	<400> 91	
	tgcgctgccg tctcgctct	20
	<210> 92	
10	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
15	<223> Cebador	
	<400> 92	
	ttaggcgacc tcttttcca	20
	<210> 93	
20	<211> 18	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
25	<223> Cebador	
	<400> 93	
	atgttcagc tgcgaaag	18
30	<210> 94	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
35	<220>	
	<223> Cebador	
	<400> 94	
40	ccctcgtcgc agaaaagatg	20
	<210> 95	
	<211> 20	
	<212> ADN	
45	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador	
	<400> 95	
50	agcctccttg ggaacctcag	20
	<210> 96	
	<211> 20	
55	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador	
60	<400> 96	
	cttagtgccg ctggagggcg	20
	<210> 97	
	<211> 20	

	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
5	<220>	
	<223> Cebador	
	<400> 97	
	ggccggttcg tgcaactgga	20
10	<210> 98	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
15	<220>	
	<223> Cebador	
	<400> 98	
	ggccgcaaga ggatgggggt	20
20	<210> 99	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
25	<220>	
	<223> Cebador	
	<400> 99	
30	tcgggccagc tgaagcaca c	21
	<210> 100	
	<211> 20	
	<212> ADN	
35	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador	
40	<400> 100	
	ccctcgtcgc agaaaagatg	20
	<210> 101	
	<211> 20	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador	
50	<400> 101	
	agcctccttg ggaacctcag	20
	<210> 102	
55	<211> 69	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
60	<223> Cebador	
	<400> 102	

	cgattaagtt gggtaacgcc agggttttcc cagtcacgac ggtttaaacg tgtttaaatt	60
	tgatgaggc	69
5	<210> 103 <211> 69 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> Cebador <400> 103	
	atctctcaaa ggaagaatcc cttcagggtt gcgtttccag tgcggccgcg gtctcagaga	60
	cagccttct	69
15	<210> 104 <211> 68 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> Cebador <400> 104	
	cggttctcat ctgggcttgc tcggtcctgg cgtagatcta gcggccgcac tcggcttctt	60
25	tgtccgag	68
30	<210> 105 <211> 69 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
	<220> <223> Cebador	
35	<400> 105	
	gtggaattgt gagcggataa caatttcaca caggaaacag cgtttaaact cctcgtcggc	60
	aacaaggcc	69
40	<210> 106 <211> 84 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
45	<220> <223> Cebador <400> 106	
	gcagatctgg gggaggaatc agaaggctgt ctctgagacc gcggccgcgg ccggccgcga	60
50	tcgcctagat ctacgccagg accg	84
	<210> 107	

	<211> 48		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
5	<220>		
	<223> Cebador		
	<400> 107		
10	cggtcctggc gtagatctag ggcgcgccac tggaaacgca accctgaa	48	
	<210> 108		
	<211> 48		
	<212> ADN		
15	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Cebador		
	<400> 108		
20	ttcagggttg cgtttccagt ggcgcgccct agatctacgc caggaccg	48	
	<210> 109		
	<211> 68		
	<212> ADN		
25	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Cebador		
30	<400> 109		
	aaagtgggcg agctgagata ctccgacaaa gaagccgagt gcggccgcga ttattgcaca	60	
	agcagcga	68	
35	<210> 110		
	<211> 18		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
40	<220>		
	<223> Cebador		
	<400>		
	acgggagatc tcggaaaa	18	
45	110		
	<210> 111		
	<211> 21		
	<212> ADN		
50	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> Cebador		
	<400>		
55	ctttccattc atcagggatg g	21	
	11		
	<210> 112		
	<211> 20		
60	<212> ADN		

<213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Cebador
 5
 <400> 112
 ggagactcag tgaagagagg 20
 <210> 113
 10 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 15 <223> Cebador
 <400> 113
 atgaagctca gcctgtgg 18
 20 <210> 114
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> Cebador
 <400> 114
 30 ggggacggct tgaggaag 18
 <210> 115
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Cebador
 <400> 115
 40 ctgcttgctg ctccagtca 20
 <210> 116
 <211> 20
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Cebador
 50 <400> 116
 tggcagatgc cgaaaggcgg 20
 <210> 117
 <211> 20
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Cebador
 60 <400> 117
 tggcaaccag ctgtggctcc 20

5 <210> 118
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 118
 10 **cggcgcgact cggcttctt** 20
 <210> 119
 <211> 20
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Cebador
 20 <400> 119
gagtgggcta ggcgcaacgg 20
 <210> 120
 <211> 20
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Cebador
 30 <400> 120
ggatcggcca ctgccaccac 20
 <210> 121
 <211> 20
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> Cebador
 <400> 121
gccacttct ctgcggtgt 20
 45 <210> 122
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 50 <220>
 <223> Cebador
 <400> 122
 55 **acgggagatc tcggaaaa** 18
 <210> 123
 <211> 20
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Cebador
 <400> 123

ccatgagctt gaacaggtaa 20

5 <210> 124
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Cebador

<400> 124
ttaggcgacc tcttttcca 20

15 <210> 125
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Cebador

<400> 125
atgaagctca gcctgtgg 18

25 <210> 126
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Cebador

<400> 126
ggatcggcca ctgccaccac 20

35 <210> 127
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Cebador

<400> 127
gccacttct ctgcgcgtgt 20

45 <210> 128
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

50 <220>
<223> Cebador

55 <400> 128
tggcagatgc cgaaaggcgg 20

60 <210> 129
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Cebador

	<400> 129	
	tggaaccag ctgtggctcc	20
5	<210> 130	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
10	<220>	
	<223> Cebador	
	<400> 130	
15	cggccgcact cggcttctt	20
	<210> 131	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
20	<220>	
	<223> Cebador	
	<400> 131	
25	gagtgggcta ggcgcaacgg	20
	<210> 132	
	<211> 17	
	<212> ADN	
30	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador	
35	<400> 132	
	ctctgcgcgt gttgtgg	17
	<210> 133	
	<211> 17	
40	<212> ADN	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Cebador	
45	<400> 133	
	taaggggtgcg gattcgg	17
	<210> 134	
50	<211> 488	
	<212> PRT	
	<213> <i>Trichoderma reesei</i>	
	<400> 134	

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

225		230		235		240
Phe Thr Glu Phe	Ala Val Asn Leu Tyr Ser	Val Gln Ala Thr Ser	Pro			
	245		250		255	
Ser Gly Thr Asp	Thr Leu Ser Thr Ser Glu Asp	Thr Leu Ile Ala Val				
	260		265		270	
Leu Asp Ser Gly	Thr Thr Leu Thr Tyr Leu Pro Gln Asp	Met Ala Glu				
	275		280		285	
Glu Ala Trp Asn	Glu Val Gly Ala Glu Tyr Ser	Asn Glu Leu Gly Leu				
	290		295		300	
Ala Val Val Pro	Cys Ser Val Gly Asn Thr Asn Gly Phe Phe Ser	Phe				
	305		310		315	320
Thr Phe Ala Gly	Thr Asp Gly Pro Thr Ile Asn Val Thr Leu Ser Glu					
	325		330		335	
Leu Val Leu Asp	Leu Phe Ser Gly Gly Pro Ala Pro Arg Phe Ser Ser					
	340		345		350	
Gly Pro Asn Lys	Gly Gln Ser Ile Cys Glu Phe Gly Ile Gln Asn Gly					
	355		360		365	
Thr Gly Ser Pro	Phe Leu Leu Gly Asp Thr Phe Leu Arg Ser Ala Phe					
	370		375		380	
Val Val Tyr Asp	Leu Val Asn Asn Gln Ile Ala Ile Ala Pro Thr Asn					
	385		390		395	400
Phe Asn Ser Thr	Arg Thr Asn Val Val Ala Phe Ala Ser Ser Gly Ala					
	405		410		415	
Pro Ile Pro Ser	Ala Thr Ala Ala Pro Asn Gln Ser Arg Thr Gly His					
	420		425		430	
Ser Ser Ser Thr	His Ser Gly Leu Ser Ala Ala Ser Gly Phe His Asp					
	435		440		445	
Gly Asp Asp Glu	Asn Ala Gly Ser Leu Thr Ser Val Phe Ser Gly Pro					
	450		455		460	
Gly Met Ala Val	Val Gly Met Thr Ile Cys Tyr Thr Leu Leu Gly Ser					
	465		470		475	480

Ala Ile Phe Gly Ile Gly Trp Leu
485

5
<210> 135
<211> 761
<212> PRT
<213> *Trichoderma reesei*

<400> 135

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

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

Thr 465	Ala	Pro	Ala	Thr	Thr	Gly	Leu	Leu	Pro	Thr	Thr	Ser	His	Arg	Phe 480
Ser	Asn	Gly	Thr	Ala 485	Pro	Tyr	Pro	Ile	Pro 490	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Ala 495
Ala	Ala	Ala	Gly	Ser	Ser	Thr	Val	Pro	Ser	Glu	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala 510
Ala	Ala	Ala	Gly	Thr	Thr	Ser	Ala	Ala	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser 525
Gly	Ser	Gly	Asp	Ala	Thr	Thr	Ala	Ser	Ala	Thr	Tyr	Thr	Ser	Thr	Phe 540
Thr	Thr	Thr	Asn	Val	Tyr	Thr	Val	Thr	Ser	Cys	Pro	Pro	Ser	Val	Thr 560
Asn	Cys	Pro	Val	Gly	His	Val	Thr	Thr	Glu	Val	Val	Val	Ala	Tyr	Thr 575
Thr	Trp	Cys	Pro	Val	Glu	Asn	Gly	Pro	His	Pro	Thr	Ala	Pro	Pro	Lys 590
Pro	Ala	Ala	Pro	Glu	Ile	Thr	Ala	Thr	Phe	Thr	Leu	Pro	Asn	Thr	Tyr 605
Thr	Cys	Ser	Gln	Gly	Lys	Asn	Thr	Cys	Ser	Asn	Pro	Lys	Thr	Ala	Pro 620
Asn	Val	Ile	Val	Val	Thr	Pro	Ile	Val	Thr	Gln	Thr	Ala	Pro	Val	Val 640
Ile	Pro	Gly	Ile	Ala	Ala	Pro	Thr	Pro	Thr	Pro	Ser	Val	Ala	Ala	Ser 655
Ser	Pro	Ala	Ser	Pro	Ser	Val	Val	Pro	Ser	Pro	Thr	Ala	Pro	Val	Ala 670
Thr	Ser	Pro	Ala	Gln	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Glu 685
His	Ala	Val	Ser	Thr	Pro	Val	Ala	Asn	Pro	Pro	Ala	Val	Thr	Pro	Ala 690
Pro	Ala	Pro	Phe	Pro	Ser	Gly	Gly	Leu	Thr	Thr	Val	Ile	Ala	Pro	Gly 720

ES 2 739 280 T3

Ser Thr Gly Val Pro Ser Gln Pro Ala Gln Ser Gly Leu Pro Pro Val
725 730 735

Pro Ala Gly Ala Ala Gly Phe Arg Ala Pro Ala Ala Val Ala Leu Leu
740 745 750

Ala Gly Ala Val Ala Ala Ala Leu Leu
755 760

<210> 136

<211> 439

<212> PRT

<213> *Neurospora crassa*

<400> 136

5

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

ES 2 739 280 T3

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

420

425

430

Gly Trp Ala Ser Lys Gln Leu
435

<210> 137

<211> 417

<212> PRT

<213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 137

5

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

5 <210> 138
 <211> 434
 <212> PRT
 <213> *Neurospora crassa*

 <400> 138

ES 2 739 280 T3

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

Leu Lys His Gly Thr Pro Gly Ser Phe Asn Phe Gly Tyr Ile Asp Pro
245 250 255

Ala Ala Tyr Ile Gly Asn Ile Ser Trp Thr Pro Val Asp Ser Ser Gln
260 265 270

Gly Tyr Trp Gly Phe Thr Ser Pro Gly Tyr Ala Val Gly Thr Gly Ala
275 280 285

Phe Arg Asn His Ser Ile Ser Gly Ile Ala Asp Thr Gly Thr Thr Leu
290 295 300

Leu Leu Leu Pro Lys Ser Val Val Ser Ala Tyr Tyr Lys Glu Ile Gln
305 310 315 320

Gly Ala Gln Tyr Asp Ser Asp Gln Gly Gly Tyr Ile Phe Pro Cys Ser
325 330 335

Pro Thr Pro Pro Asp Phe Val Phe Gly Val Asn Lys Gly Ile Val Thr
340 345 350

Val Pro Gly Asp Met Val Ser Tyr Ala Pro Ala Asp Ser Ala Asn Gln
355 360 365

Asn Cys Phe Gly Gly Ile Gln Thr Asp Thr Gly Ile Gly Phe Ser Ile
370 375 380

Phe Gly Asp Val Ala Leu Lys Thr Ser Phe Val His Leu His Gly Ser
385 390 395 400

Ile Val Pro Gly Tyr Tyr Ala Asp Cys Ala Met Arg Phe Asn Arg Met
405 410 415

Leu Arg Ser Tyr Ser Asn Asp Gln Leu Val Asp Phe Ser Ser Ser Gly
420 425 430

Pro Leu

ES 2 739 280 T3

<211> 466
 <212> PRT
 <213> *Myceliophthora thermophila*

5 <400> 139

Met	Asp	Ala	Leu	Phe	Glu	Thr	His	Ala	Lys	Leu	Arg	Lys	Arg	Met	Ala
1				5					10					15	

ES 2 739 280 T3

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

Ala Ser Gly Glu Glu Ile Val Trp Thr Asp Val Asp Asn Ser Glu Gly
 275 280 285

Phe Trp Met Phe Ser Ser Glu His Val Thr Ile Asp Gly Gln Gln Val
 290 295 300

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

Leu Val Ser Asp Gln Val Cys Asp Ala Leu Tyr Ala His Ile Pro Ser
 325 330 335

Ala Glu Tyr Ser Glu Glu Tyr Gln Gly Trp Thr Phe Pro Gln Glu Thr
 340 345 350

Glu Val Asp Lys Leu Pro Glu Phe Ser Ile Ala Ile Gly Asp Lys Glu
 355 360 365

Phe Val Leu Gln Lys Glu Asp Leu Ile Phe Ala Pro Ala Asp Glu Arg
 370 375 380

Val Phe Tyr Gly Ser Val Gln Ser Arg Gly Glu Asn Pro Phe Asp Ile
 385 390 395 400

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

His Lys Arg Phe Gly Ala Val Pro Lys Met Glu Ala Phe Val Pro Pro
 420 425 430

Thr Lys Tyr Asp Arg Pro Arg Leu Thr Asp Gln Asp Arg Lys Asp Leu
 435 440 445

Gly Val Thr Ile Gly Tyr Gly Asp Ile Ser Ser Thr Phe Phe Glu Lys
 450 455 460

Arg Ala
 465

ES 2 739 280 T3

<210> 140
 <211> 481
 <212> PRT
 <213> *Neurospora crassa*

5

<400> 140

Met	Gly	Ser	Met	Tyr	Gln	Val	Gln	Ser	Lys	Leu	Arg	Gln	Asp	Leu	Gly
1				5					10					15	

ES 2 739 280 T3

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

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

5 <210> 141
 <211> 397
 <212> PRT
 <213> *Myceliophthora thermophila*

 <400> 141

ES 2 739 280 T3

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

				245					250					255		
Arg	Arg	Lys	Ala	Tyr	Trp	Glu	Val	Asp	Phe	Asp	Ala	Ile	Ser	Tyr	Gly	
			260					265					270			
Asp	Asp	Thr	Ala	Glu	Leu	Glu	Asn	Thr	Gly	Ile	Ile	Leu	Asp	Thr	Gly	
		275					280					285				
Thr	Ser	Leu	Ile	Ala	Leu	Pro	Ser	Gln	Leu	Ala	Glu	Met	Leu	Asn	Ala	
	290					295					300					
Gln	Ile	Gly	Ala	Lys	Lys	Ser	Tyr	Thr	Gly	Gln	Tyr	Thr	Ile	Asp	Cys	
305					310					315					320	
Asn	Lys	Arg	Asp	Ser	Leu	Lys	Asp	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Ala	Gly	Tyr	
				325					330					335		
Asn	Phe	Thr	Leu	Gly	Pro	Tyr	Asp	Tyr	Val	Leu	Glu	Val	Gln	Gly	Ser	
			340					345					350			
Cys	Ile	Ser	Thr	Phe	Met	Gly	Met	Asp	Phe	Pro	Ala	Pro	Thr	Gly	Pro	
		355					360					365				
Leu	Ala	Ile	Leu	Gly	Asp	Ala	Phe	Leu	Arg	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Ile	Tyr	
	370					375					380					
Asp	Leu	Gly	Ala	Asp	Thr	Val	Gly	Leu	Ala	Glu	Ala	Lys				
385					390					395						

<210> 142
<211> 396
<212> PRT
<213> *Neurospora crassa*

<400> 142

ES 2 739 280 T3

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

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

Leu Glu Ser Val Pro Ile Asp Val Gln Val Gln His Leu Gly Gln Lys
35 40 45

Tyr Thr Gly Leu Arg Thr Glu Ser His Thr Gln Ala Met Phe Lys Ala
50 55 60

Thr Asp Ala Gln Val Ser Gly Asn His Pro Val Pro Ile Thr Asn Phe

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

Lys Ser Ser Leu Glu Asp Val Thr Phe Thr Leu Ala Gly Tyr Asn Phe
325 330 335

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

Ser Thr Phe Met Gly Met Asp Met Pro Ala Pro Val Gly Pro Leu Ala
355 360 365

Ile Leu Gly Asp Ala Phe Leu Arg Lys Tyr Tyr Ser Ile Tyr Asp Leu
370 375 380

Gly Ala Asp Thr Val Gly Ile Ala Thr Ala Lys Arg
385 390 395

<210> 143

<211> 454

<212> PRT

<213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 143

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

ES 2 739 280 T3

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

Val Asp Thr Asp Asp Met Asp Thr Ala Thr Val Cys Tyr Gly Gly Ile
405 410 415

Gln Ser Ala Ser Gly Met Pro Phe Ala Ile Tyr Gly Asp Ile Phe Phe
420 425 430

Lys Ala Gln Phe Thr Val Phe Asp Val Glu Asn Leu Lys Leu Gly Phe
435 440 445

Ala Pro Lys Pro Glu Leu
450

<210> 144

<211> 489

<212> PRT

<213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 144

5

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

Gly Tyr Gly Lys Gly Ile Gly Thr Gly Tyr Pro Asn Phe Val Asp Gln
 180 185 190

Leu Trp Glu Gln Asn Val Thr Arg Val Lys Ala Tyr Thr Leu Ala Leu
 195 200 205

Gly Ser Lys Asp Ser Gln Glu Gly Val Ile Val Phe Gly Gly Val Asp
 210 215 220

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

Ala Gln Ser Pro Asp Gly Val Pro Arg Phe Trp Val Glu Met Lys Ser
 245 250 255

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

Ala Met Pro Val Phe Leu Asp Ser Gly Ser Thr Met Thr Leu Leu Pro
 275 280 285

Ala Asn Leu Thr Met Ala Val Ala Arg Asp Phe Gly Ala Gln Ala Pro
 290 295 300

Asp Ala Asn Gly Phe Tyr Lys Ile Asp Cys Ala Leu Thr Ala Leu Asn
 305 310 315 320

Gly Thr Leu Asp Phe Ala Phe Asp Gly Val Thr Val Arg Val Pro Tyr
 325 330 335

Lys Glu Leu Thr Arg Glu Val Ala Ser Asn Pro Pro Ser Cys Phe Leu
 340 345 350

Gly Ile Val Ala Ser Asp Arg Phe Thr Leu Leu Gly Asp Thr Phe Leu
 355 360 365

Arg Ser Ala Tyr Thr Val Phe Asp Leu Glu Thr Asp Ser Ile Trp Met
 370 375 380

Ala Pro Ala Val Asn Cys Gly Ser Ser Pro Ala Ala Leu Ser Asn Val
 385 390 395 400

Gln Asp Leu Ser Ala Val Thr Gly Glu Cys Gly Val Arg Glu Ile Ala
 405 410 415

ES 2 739 280 T3

Glu Ser Thr Ser Ser Thr Gln Val Pro Ser Thr Gly Val Asp Asp Thr
 420 425 430

Glu Ala Gly Ala Val Pro Thr Ser Thr Thr Thr Val Val Ser Gln Pro
 435 440 445

Ser Gly Thr Thr Thr Gln Met Gly Ala Arg Pro Thr Leu Asp Asn Ala
 450 455 460

Ser Asn Pro Leu Gly Ala His Arg Leu Thr Trp Val Leu Val Ile Thr
 465 470 475 480

Ala Ala Leu His Leu Phe Thr Gly Ile
 485

<210> 145

<211> 518

<212> PRT

<213> *Neurospora crassa*

<400> 145

ES 2 739 280 T3

Met Ala Ala Phe Pro Phe Leu Ser Ala Ser Phe Val Leu Leu Gln Leu
1 5 10 15

Ala Leu Thr Cys Leu Ala Gln His Leu Asn Leu Thr Thr Gly Pro Leu
20 25 30

His Leu Thr Gly His Thr Pro Gly Asp Gly Cys Val His Leu Pro Ile
35 40 45

Ile His Ser Thr Asn Thr Asp His Phe Ala Arg Arg Gly Ile Gln Leu
50 55 60

Ala Leu Asn Asn Arg Ser Asp Val Ala Tyr Tyr Ala Gln Leu Glu Ile
65 70 75 80

Gly Thr Pro Pro Gln Thr Val Tyr Thr Gln Leu Asp Thr Gly Ser Phe
85 90 95

Glu Leu Trp Val Asn Pro Asp Cys Thr Thr Val Ser Pro Ser Asp Ser
100 105 110

Ser Phe Cys Asp His Ile Gly Phe Tyr Asn Ala Ser Leu Ser Ser Thr
115 120 125

Ser Lys Ser Leu Gly Thr Ser Lys Thr Leu Arg Tyr Gly Ile Gly Ala
130 135 140

ES 2 739 280 T3

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

385					390						395					400
Thr	Asp	Leu	Ser	Arg	Val	Val	Gly	Asn	Cys	Gln	Ile	Gln	Leu	Gly	Glu	
				405					410					415		
Lys	Glu	Ala	Val	Val	Asp	Val	Val	Ser	Glu	Thr	Ser	Ile	Ala	Pro	Pro	
			420					425					430			
Thr	Gly	Ser	Thr	Gly	Asp	Thr	Asp	Gly	Val	Thr	Gly	Thr	Gly	Gly	Asn	
		435					440					445				
Gly	Ser	Gly	Asn	Gly	Gly	Thr	Arg	Thr	Ala	Trp	Gly	Phe	Val	Thr	Thr	
	450					455					460					
Thr	Leu	Ala	Val	Pro	Met	Ala	Thr	Gly	Leu	Ala	Gly	Val	Gly	Gly	Ser	
465					470					475					480	
Gly	Ser	Gly	Ser	Met	Ser	Ala	Thr	Ala	Leu	Asp	Ser	Ser	Gly	Arg	Ser	
				485					490					495		
Met	Ala	Gly	Asp	Val	Val	Leu	Ser	Ala	Ala	Val	Ala	Val	Gly	Ala	Ala	
			500					505					510			
Val	Leu	Gly	Ser	Leu	Leu											
		515														

<210> 146
 <211> 501
 <212> PRT
 <213> *Myceliophthora thermophila*
 <400> 146

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

ES 2 739 280 T3

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

Pro Asp Gly Pro Arg Ile Thr Val Gly Met Asp Glu Leu Val Leu Asp
340 345 350

Met Thr Asp Gly Gln Ala Pro Gln Phe Leu Ser Gly Pro Tyr Lys Gly
355 360 365

Arg Asp Val Cys Gln Phe Gly Ile Gln Asn Phe Thr Ser Ala Pro Phe
370 375 380

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

Val Asn Asn Gln Ile Gly Ile Ala Ala Thr Asp Phe Asn Ser Thr Asp
405 410 415

Ser Asn Ile Val Pro Phe Pro Ser Met Gly Ala Pro Ile Pro Ser Ala
420 425 430

Thr Val Ala Ala Asn Gln Arg Glu Val Thr Arg Val Pro Thr Val Thr
435 440 445

Glu Pro Ala Tyr Ser Ala Ser Gln Gly Phe Met Glu Ser Ala Ser Gly
450 455 460

Glu Glu Ser Leu Ala Pro Gly Met Pro Ala Ala Trp Gly Met Gly Gln
465 470 475 480

Leu Leu Val Val Gly Val Thr Met Ala Leu Thr Ala Leu Gly Ser Gly
485 490 495

Leu Phe Phe Val Leu
500

<210> 147
<211> 492
<212> PRT
<213> *Neurospora crassa*

<400> 147

ES 2 739 280 T3

Met Lys Gly Tyr Thr Ser Ser Ala Leu Leu Leu Gly Pro Ala Leu Leu
1 5 10 15

Ser Gln Leu Ala Leu Ala Gln Gln Ala Pro Asn Gly Val Val His Trp
20 25 30

Gly Ile Gln Lys Arg His Ala Pro Asn Ala Pro Asn Arg Leu Leu Arg
35 40 45

ES 2 739 280 T3

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

Ile	Pro	Cys	Ser	Lys	Lys	Ser	Ser	Asn	Gly	Tyr	Phe	Ser	Phe	Gly	Phe	305	310	315	320
Ala	Gly	Pro	Asp	Gly	Pro	Arg	Ile	Thr	Val	Arg	Met	Asp	Glu	Leu	Val	325	330	335	
Leu	Asp	Leu	Thr	Ser	Gly	Asp	Pro	Pro	Lys	Tyr	Thr	Ser	Gly	Pro	Asn	340	345	350	
Lys	Gly	Gln	Asp	Val	Cys	Glu	Phe	Gly	Ile	Gln	Asn	Ser	Thr	Ser	Ala	355	360	365	
Pro	Tyr	Leu	Leu	Gly	Asp	Thr	Phe	Leu	Arg	Ser	Ala	Tyr	Val	Val	Tyr	370	375	380	
Asp	Leu	Val	Asn	Asn	Glu	Ile	Gly	Leu	Ala	Glu	Thr	Asp	Phe	Asn	Ser	385	390	395	400
Thr	Glu	Ser	Asn	Ile	Val	Ala	Phe	Ala	Ser	Met	Ser	Ala	Thr	Ile	Pro	405	410	415	
Ser	Ala	Thr	Gln	Ala	Pro	Asn	Gln	Ala	Ala	Val	Thr	Asn	Arg	Pro	Val	420	425	430	
Ala	Thr	Met	Pro	Ser	Phe	Ala	Ala	Ser	Ser	Gly	Phe	Ser	Asp	Thr	Gly	435	440	445	
Gly	Ser	Gly	Asn	Asp	Gly	Lys	Asp	Glu	Asn	Ala	Ser	Ala	Gly	Met	Pro	450	455	460	
Ser	Ala	Phe	Gly	Val	Ala	Gln	Met	Ser	Val	Met	Gly	Ile	Ala	Met	Val	465	470	475	480
Phe	Ala	Met	Val	Gly	Ser	Gly	Val	Phe	Val	Leu	Leu					485	490		

<210> 148

<211> 668

<212> PRT

<213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 148

ES 2 739 280 T3

Met Ser Phe Ala Leu Tyr Ala Ala Ala Leu Leu Pro Val Ala Val Leu
1 5 10 15

Gly Ala Gly Leu Ser Val Pro Glu Asp Asn Arg Met Val Gln Gln Asp
20 25 30

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

530		535		540											
Thr	Ile	Pro	Arg	Thr	Ile	Thr	Cys	Pro	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Asp	Asp
545					550					555					560
Cys	Pro	Pro	Gly	Ala	Thr	Arg	Thr	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Thr	Leu	Ser
				565						570				575	
Pro	Val	Gly	Pro	Thr	Asp	Arg	Thr	Thr	His	Val	Val	Pro	Gly	Val	Thr
			580					585					590		
Thr	Thr	Thr	Pro	Thr	Thr	Ile	Thr	Ala	Pro	Pro	Thr	Gly	Gln	Thr	Thr
		595					600					605			
Thr	Thr	Leu	Val	Pro	Ala	Leu	Pro	Pro	Thr	Thr	Thr	Thr	Met	Ser	Gly
	610					615					620				
His	Arg	Gly	Ile	Asn	Gly	Thr	Val	Thr	Ala	Thr	Ser	Lys	Pro	Pro	Ala
625					630					635					640
Val	Thr	Ala	Gly	Ser	Ala	Lys	Val	Gly	Leu	Val	Ser	Gly	Ala	Thr	Ala
				645					650					655	
Ile	Val	Ala	Gly	Val	Met	Ala	Val	Leu	Met	Ala	Leu				
			660					665							

<210> 149
 <211> 551
 <212> PRT
 <213> *Neurospora crassa*
 <400> 149

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

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

5 <210> 150
 <211> 529
 <212> PRT
 <213> *Neurospora crassa*

 <400> 150

ES 2 739 280 T3

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

Leu Ala Leu Thr Lys Asn Gly Lys Thr Thr Lys Ile Ile Ser Thr Asp
 260 265 270

Pro Ser Leu Ser Gln Thr Ser Thr Ile Ala Ile Leu Asp Ser Gly Thr
 275 280 285

Thr Leu Ser Tyr Leu Pro Ser Lys Ile Thr Asp Gln Ile His Thr Lys
 290 295 300

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

Cys Gln Tyr Leu Thr Ser Asn Pro Asp Leu Arg Leu Ser Phe Thr Phe
 325 330 335

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

Leu Leu Gly Glu Ser Gln Ser Glu Leu Pro Phe Lys Met Pro Phe Lys
 355 360 365

Asn Ala Cys Ile Phe Gly Ile Gln Ser Thr Ala Gly Phe Gln Glu Asp
 370 375 380

Asn Phe Asp Glu Asp Trp Ala Leu Leu Gly Glu Thr Phe Leu Arg Ser
 385 390 395 400

Ala Tyr Val Val Tyr Asp Leu Thr His His Gln Ile Gly Ile Ala Gln
 405 410 415

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

Asp Gly Gly Leu Pro Thr Gly Leu Thr Gly Val Lys Glu Gln Gln Thr
 435 440 445

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

Asp Lys Asp Gly Ala Lys Glu Thr Glu Thr Val Thr Ala Gly Ser Thr
 465 470 475 480

Ala Ala Thr Gly Thr Ala Ala Ser Gly Ala Lys Glu Thr Asp Ser Ala
 485 490 495

Ala Ala Gly Leu Ser Ala Arg Gly Gly Ala Val Gly Ala Leu Ala Val
 500 505 510

Ala Ser Leu Thr Gly Phe Leu Ala Leu Val Gly Gly Ala Val Val Ala
 515 520 525

Leu

<210> 151

<211> 566

<212> PRT

<213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 151

5

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

Tyr Ser Gln Gly Leu Ile Lys Ser Lys Ala Phe Ser Leu Tyr Leu Asn
 195 200 205

Asp Arg Arg Ala Asp Ser Gly Thr Leu Leu Phe Gly Gly Ile Asp Thr
 210 215 220

Asp Lys Phe Ile Gly Pro Leu Gly Val Leu Pro Leu His Lys Pro Pro
 225 230 235 240

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

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

Asn His Pro Ala Pro Ala Val Leu Asp Ser Gly Thr Thr Leu Ser Tyr
 275 280 285

Leu Pro Asp Glu Leu Ala Asp Pro Ile Asn Thr Ala Leu Asp Thr Phe
 290 295 300

Tyr Asp Asp Arg Leu Gln Met Thr Leu Ile Asp Cys Ser His Pro Leu
 305 310 315 320

Leu Arg Thr Asp Pro Asp Phe His Leu Ala Phe Thr Phe Thr Pro Thr
 325 330 335

Thr Ser Ile Thr Val Pro Leu Gly Asp Leu Val Leu Asp Ile Leu Pro
 340 345 350

Pro Thr Tyr Pro Gln Ser Asn Ser Asn Asn Asn Asn Glu Val Glu Asp
 355 360 365

Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Lys Val Pro Pro
 370 375 380

Ala Thr Glu Arg Arg Trp Cys Val Phe Gly Ile Gln Ser Thr Thr Arg
 385 390 395 400

Phe Ala Ala Ser Ser Gly Gln Ser Glu Ala Asn Phe Thr Leu Leu Gly
 405 410 415

Asp Thr Phe Leu Arg Ser Ala Tyr Val Val Tyr Asp Leu Ser His Tyr
 420 425 430

Gln Ile Gly Leu Ala Gln Ala Asn Leu Asn Ser Ser Ser Ser Ser Thr

435	440	445
Asn Thr Asn Thr Ile Val Glu Leu Thr Ala Asp Asn His Asp Asp Gly		
450	455	460
Ala Ser Glu Arg Gly Glu Gly Ala Gly Ala Gly Ala Asp Ala Gly Thr		
465	470	475
Arg Thr Val Ile Ala Gly Gly Leu Pro Ser Gly Leu Met Gly Val Glu		
485	490	495
Ala Gln Gln Thr Thr Phe Thr Pro Thr Ala Thr Ala Asn Gly His Pro		
500	505	510
Gly Tyr Gly Gly Gly Pro Gly Gly Ser Thr Arg Pro Gly Ser Glu Arg		
515	520	525
Asn Ala Ala Ala Gly Gly Phe Thr Ala Val Arg Thr Gly Leu Leu Gly		
530	535	540
Glu Leu Val Gly Val Ala Ala Val Thr Ala Leu Phe Ile Leu Leu Gly		
545	550	555
Gly Ala Leu Ile Ala Val		
565		

<210> 152

<211> 897

<212> PRT

<213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 152

Met Val Arg Leu Asp Trp Ala Ala Val Leu Leu Ala Ala Thr Ala Val
1 5 10 15

Ala Lys Ala Val Thr Pro His Thr Pro Ser Phe Val Pro Gly Ala Tyr
20 25 30

Ile Val Glu Tyr Glu Glu Asp Gln Asp Ser His Ala Phe Val Asn Lys
35 40 45

Leu Gly Gly Lys Ala Ser Leu Arg Lys Asp Leu Arg Phe Lys Leu Phe
50 55 60

Lys Gly Ala Ser Ile Gln Phe Lys Asp Thr Glu Thr Ala Asp Gln Met
65 70 75 80

Val Ala Lys Val Ala Glu Met Pro Lys Val Lys Ala Val Tyr Pro Val

ES 2 739 280 T3

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

Tyr	Thr	Leu	Asn	Gly	Thr	Asp	Asp	Phe	Phe	Gly	Phe	Thr	Ala	Gly	Asp	340	345	350
Pro	Gly	Ser	Trp	Asp	Asp	Val	Asn	Leu	Pro	Leu	Trp	Ala	Val	Ser	Phe	355	360	365
Asp	Thr	Thr	Asp	Pro	Ala	Asn	Gly	Cys	Asn	Pro	Tyr	Pro	Asp	Ser	Thr	370	375	380
Pro	Asp	Leu	Ser	Gly	Tyr	Ile	Val	Leu	Ile	Arg	Arg	Gly	Thr	Cys	Thr	385	390	395
Phe	Val	Glu	Lys	Ala	Ser	Tyr	Ala	Ala	Ala	Lys	Gly	Ala	Lys	Tyr	Val	405	410	415
Met	Phe	Tyr	Asn	Asn	Val	Gln	Gln	Gly	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ala	Ala	420	425	430
Glu	Ala	Lys	Gly	Ile	Glu	Gly	Val	Ala	Met	Val	Thr	Ala	Gln	Gln	Gly	435	440	445
Glu	Ala	Trp	Val	Arg	Ala	Leu	Glu	Ala	Gly	Ser	Glu	Val	Val	Leu	His	450	455	460
Met	Lys	Asp	Pro	Leu	Lys	Ala	Gly	Lys	Phe	Leu	Thr	Thr	Thr	Pro	Asn	465	470	475
Thr	Ala	Thr	Gly	Gly	Phe	Met	Ser	Asp	Tyr	Thr	Ser	Trp	Gly	Pro	Thr	485	490	495
Trp	Glu	Val	Glu	Val	Lys	Pro	Gln	Phe	Gly	Thr	Pro	Gly	Gly	Ser	Ile	500	505	510
Leu	Ser	Thr	Tyr	Pro	Arg	Ala	Leu	Gly	Ser	Tyr	Ala	Val	Leu	Ser	Gly	515	520	525
Thr	Ser	Met	Ala	Cys	Pro	Leu	Ala	Ala	Ala	Ile	Tyr	Ala	Leu	Leu	Ile	530	535	540
Asn	Thr	Arg	Gly	Thr	Lys	Asp	Pro	Lys	Thr	Leu	Glu	Asn	Leu	Ile	Ser	545	550	555
Ser	Thr	Ala	Arg	Pro	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu	Asn	Gly	Glu	Ser	Leu	Pro	565	570	575
Leu	Leu	Ala	Pro	Val	Pro	Gln	Gln	Gly	Gly	Gly	Ile	Val	Gln	Ala	Trp	580	585	590

ES 2 739 280 T3

Asp Ala Ala Gln Ala Thr Thr Leu Leu Ser Val Ser Ser Leu Ser Phe
 595 600 605
 Asn Asp Thr Asp His Phe Lys Pro Val Gln Thr Phe Thr Ile Thr Asn
 610 615 620
 Thr Gly Lys Lys Ala Val Thr Tyr Ser Leu Ser Asn Val Gly Ala Ala
 625 630 635 640
 Thr Ala Tyr Thr Phe Ala Asp Ala Lys Ser Ile Glu Pro Ala Pro Phe
 645 650 655
 Pro Asn Glu Leu Thr Ala Asp Phe Ala Ser Leu Thr Phe Val Pro Lys
 660 665 670
 Arg Leu Thr Ile Pro Ala Gly Lys Arg Gln Thr Val Thr Val Ile Ala
 675 680 685
 Lys Pro Ser Glu Gly Val Asp Ala Lys Arg Leu Pro Val Tyr Ser Gly
 690 695 700
 Tyr Ile Ala Ile Asn Gly Ser Asp Ser Ser Ala Leu Ser Leu Pro Tyr
 705 710 715 720
 Leu Gly Val Val Gly Ser Leu His Ser Ala Val Val Leu Asp Ser Asn
 725 730 735
 Gly Ala Arg Ile Ser Leu Ala Ser Asp Asp Thr Asn Lys Pro Leu Pro
 740 745 750
 Ala Asn Thr Ser Phe Val Leu Pro Pro Ala Gly Phe Pro Asn Asp Thr
 755 760 765
 Ser Tyr Ala Asn Ser Thr Asp Leu Pro Lys Leu Val Val Asp Leu Ala
 770 775 780
 Met Gly Ser Ala Leu Leu Arg Ala Asp Val Val Pro Leu Ser Gly Gly
 785 790 795 800
 Ala Ala Thr Ala Thr Ala Arg Leu Thr Arg Thr Val Phe Gly Thr Arg
 805 810 815
 Thr Ile Gly Gln Pro Tyr Gly Leu Pro Ala Arg Tyr Asn Pro Arg Gly
 820 825 830
 Thr Phe Glu Tyr Ala Trp Asp Gly Arg Leu Asp Asp Gly Ser Tyr Ala
 835 840 845

ES 2 739 280 T3

Pro Ala Gly Arg Tyr Arg Phe Ala Val Lys Ala Leu Arg Ile Phe Gly
850 855 860

Asp Ala Lys Arg Ala Arg Glu Tyr Asp Ala Ala Glu Thr Val Glu Phe
865 870 875 880

Asn Ile Glu Tyr Leu Pro Gly Pro Ser Ala Lys Phe Arg Arg Arg Leu
885 890 895

Phe

<210> 153

<211> 876

<212> PRT

<213> *Neurospora crassa*

<400> 153

5

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

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

				405					410					415			
Ile	Tyr	Tyr	Asn	Asn	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Lys	Val	Asp	Val	Ser	Ala		
			420					425					430				
Val	Ala	Asp	Val	Lys	Ala	Ala	Ala	Met	Val	Thr	Ser	Glu	Thr	Gly	Ala		
		435					440					445					
Ala	Trp	Ile	Lys	Ala	Leu	Gln	Ala	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Asn	Met		
	450					455					460						
Ala	Asp	Pro	Glu	Thr	Ala	Pro	Lys	Asn	Leu	Asn	Asn	Phe	Pro	Asn	Thr		
465					470					475					480		
Ala	Thr	Pro	Gly	Phe	Leu	Ser	Thr	Tyr	Thr	Ser	Trp	Gly	Pro	Thr	Tyr		
				485					490					495			
Glu	Val	Asp	Val	Lys	Pro	Gln	Ile	Ser	Ser	Pro	Gly	Gly	Met	Ile	Leu		
			500					505					510				
Ser	Thr	Tyr	Pro	Arg	Ala	Leu	Gly	Ser	Tyr	Ala	Val	Leu	Ser	Gly	Thr		
		515					520					525					
Ser	Met	Ala	Cys	Pro	Leu	Ala	Ala	Ala	Thr	Trp	Ala	Leu	Val	Met	Gln		
	530					535					540						
Lys	Arg	Gly	Thr	Lys	Asp	Pro	Lys	Val	Leu	Glu	Asn	Leu	Phe	Ser	Ala		
545					550					555					560		
Thr	Ala	His	Pro	Asn	Leu	Phe	Asn	Asp	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Pro	Met		
				565					570					575			
Leu	Ala	Pro	Val	Ala	Gln	Gln	Gly	Ala	Gly	Leu	Ile	Gln	Ala	Trp	Asp		
			580					585					590				
Ala	Ala	Asn	Ala	Asn	Ala	Leu	Leu	Ser	Val	Ser	Ser	Ile	Ser	Phe	Asn		
		595					600					605					
Asp	Thr	Glu	His	Phe	Lys	Pro	Leu	Gln	Ser	Phe	Glu	Val	Thr	Asn	Thr		
	610					615					620						
Gly	Lys	Lys	Ala	Val	Thr	Tyr	Gln	Leu	Gly	His	Thr	Ser	Ala	Ala	Thr		
625					630					635					640		
Ala	Tyr	Thr	Phe	Ala	Asn	Asp	Thr	Ser	Ile	Gly	Pro	Ala	Ala	Phe	Pro		
				645					650					655			

Asn	Glu	Leu	Val	Asp	Ala	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Leu	Thr	Pro	Ala	Lys	
			660					665					670			
Leu	Thr	Leu	Asn	Pro	Gly	Gln	Lys	Lys	Thr	Val	Thr	Val	Leu	Ala	Ile	
		675					680					685				
Pro	Pro	Leu	Gly	Leu	Asp	Ala	Lys	Arg	Leu	Pro	Val	Tyr	Ser	Gly	Tyr	
	690					695					700					
Ile	Thr	Leu	Asn	Gly	Thr	Asp	Ser	Thr	Gly	Tyr	Ser	Leu	Pro	Tyr	Gln	
705					710					715					720	
Gly	Val	Val	Gly	Ser	Met	Arg	Ser	Val	Thr	Val	Leu	Asp	Lys	Gln	Asn	
				725					730					735		
Ser	Tyr	Leu	Ser	Gln	Ser	Ser	Asp	Ala	Thr	Tyr	Ala	Pro	Val	Ala	Ala	
			740					745					750			
Gly	Thr	Thr	Phe	Thr	Leu	Pro	Pro	Ala	Gly	Lys	Ala	Asn	Asp	Thr	Leu	
		755					760					765				
Tyr	Ala	Thr	Thr	Val	Tyr	Pro	Thr	Ile	Val	Leu	Thr	Leu	Ser	Met	Gly	
	770					775					780					
Ser	Ala	Glu	Val	His	Ala	Asp	Val	Val	Asn	Ser	Lys	Gly	Lys	Thr	Ile	
785					790					795					800	
Gly	Gln	Val	Leu	Thr	Phe	Pro	Ala	Arg	Trp	Asn	Pro	Arg	Gly	Thr	Phe	
				805					810					815		
Glu	Trp	Asn	Trp	Asp	Gly	Ala	Leu	Ser	Asp	Gly	Thr	Tyr	Ala	Pro	Ala	
			820					825					830			
Asp	Thr	Tyr	Lys	Ile	Thr	Leu	Lys	Ala	Leu	Lys	Ile	Tyr	Gly	Asn	Ser	
		835					840					845				
Lys	Trp	Pro	Leu	Asp	Trp	Glu	Thr	Gln	Thr	Thr	Glu	Pro	Phe	Thr	Ile	
	850					855					860					
Lys	Tyr	Ala	Ala	Lys	Ser	Lys	Arg	Ala	Phe	Thr	Ala					
865					870					875						

5 <210> 154
 <211> 534
 <212> PRT
 <213> *Myceliophthora thermophila*

 <400> 154

ES 2 739 280 T3

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

Ala Asp Val Val Ala Gly Val Glu Trp Ala Ala Lys Ser His Leu Glu
 260 265 270

Gln Val Gln Ala Ala Lys Asp Gly Lys Arg Lys Gly Phe Lys Gly Ser
 275 280 285

Val Ala Asn Met Ser Leu Gly Gly Gly Lys Thr Arg Ala Leu Asp Asp
 290 295 300

Thr Val Asn Ala Ala Val Ser Val Gly Ile His Phe Ala Val Ala Ala
 305 310 315 320

Gly Asn Asp Asn Ala Asp Ala Cys Asn Tyr Ser Pro Ala Ala Ala Glu
 325 330 335

Lys Ala Val Thr Val Gly Ala Ser Ala Ile Asp Asp Ser Arg Ala Tyr
 340 345 350

Phe Ser Asn Tyr Gly Lys Cys Thr Asp Ile Phe Ala Pro Gly Leu Ser
 355 360 365

Ile Leu Ser Thr Trp Ile Gly Ser Lys Tyr Ala Thr Asn Thr Ile Ser
 370 375 380

Gly Thr Ser Met Ala Ser Pro His Ile Ala Gly Leu Leu Ala Tyr Tyr
 385 390 395 400

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

Thr Pro Glu Lys Met Lys Ser Asn Leu Leu Lys Ile Ala Thr Gln Asp
 420 425 430

Ala Leu Thr Asp Ile Pro Asp Glu Thr Pro Asn Leu Leu Ala Trp Asn
 435 440 445

Gly Gly Gly Cys Asn Asn Tyr Thr Ala Ile Val Glu Ala Gly Gly Tyr
 450 455 460

Lys Ala Lys Lys Lys Thr Thr Thr Asp Lys Val Asp Ile Gly Ala Ser
 465 470 475 480

Val Ser Glu Leu Glu Lys Leu Ile Glu His Asp Phe Glu Val Ile Ser
 485 490 495

Gly Lys Val Val Lys Gly Val Ser Ser Phe Ala Asp Lys Ala Glu Lys
 500 505 510

Phe	Ser	Glu	Lys	Ile	His	Glu	Leu	Val	Asp	Glu	Glu	Leu	Lys	Glu	Phe
		515					520					525			

Leu	Glu	Asp	Ile	Ala	Ala
	530				

5

<210> 155
 <211> 396
 <212> PRT
 <213> *Neurospora crassa*
 <400> 155

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

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

ES 2 739 280 T3

<210> 156
 <211> 392
 <212> PRT
 <213> *Myceliophthora thermophila*

5

<400> 156

Met	His	Phe	Ser	Thr	Ala	Leu	Leu	Ala	Phe	Leu	Pro	Ala	Ala	Leu	Ala
1				5					10					15	

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

260					265					270					
Asn	Gln	Asn	Ala	Ala	Asn	Ser	Ser	Pro	Ala	Ser	Glu	Ala	Ser	Ala	Cys
		275					280					285			
Thr	Val	Gly	Ala	Thr	Asp	Arg	Asn	Asp	Ala	Lys	Ala	Ser	Tyr	Ser	Asn
	290					295					300				
Tyr	Gly	Ser	Val	Val	Asp	Ile	Gln	Ala	Pro	Gly	Ser	Asn	Ile	Leu	Ser
305					310					315					320
Thr	Trp	Ile	Gly	Ser	Thr	Ser	Ala	Thr	Asn	Thr	Ile	Ser	Gly	Thr	Ser
				325					330					335	
Met	Ala	Ser	Pro	His	Ile	Ala	Gly	Leu	Gly	Ala	Tyr	Leu	Leu	Ala	Leu
			340					345					350		
Glu	Gly	Ser	Lys	Thr	Pro	Ala	Glu	Leu	Cys	Asn	Tyr	Ile	Lys	Ser	Thr
		355					360					365			
Gly	Asn	Ala	Ala	Ile	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Gly	Thr	Thr	Asn	Arg	Ile
	370					375					380				
Ala	Phe	Asn	Gly	Asn	Pro	Ser	Ala								
385					390										

<210> 157
 <211> 433
 <212> PRT
 <213> *Neurospora crassa*
 <400> 157

ES 2 739 280 T3

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

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

Asn Thr Gly Ala Thr Ala Gly Asn Ala Ala Gly Val Pro Val Ala Asn
35 40 45

Ser Asp Ile Ser Asn Ile Ile Pro Gly Arg Tyr Ile Val Val Tyr Asn
50 55 60

Asn Thr Phe Gly Glu Glu Ala Ile Asn Ala His Gln Ile Lys Val Thr
65 70 75 80

Ser Leu Val Ala Lys Arg Asn Leu Gly Lys Arg Asp Ala Lys Thr Gly

ES 2 739 280 T3

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

Asp Ala Arg Ala Ser Phe Ser Asn Phe Gly Ala Gly Val Asp Ile Phe
340 345 350

Ala Pro Gly Val Asn Val Leu Ser Val Gly Ile Lys Ser Asp Thr Asp
355 360 365

Thr Asp Thr Leu Ser Gly Thr Ser Met Ala Ser Pro His Val Ala Gly
370 375 380

Leu Ala Ala Tyr Leu Met Ala Leu Glu Gly Leu Thr Asp Val Thr Ala
385 390 395 400

Val Gly Asn Arg Ile Lys Glu Leu Ala Gln Lys Thr Gly Ala Lys Val
405 410 415

Thr Asn Asn Val Arg Gly Thr Thr Ser Leu Ile Ala Asn Asn Gly Asn
420 425 430

Leu

<210> 158

<211> 420

<212> PRT

<213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 158

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

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

Val Ala Gly Leu Ala Ala Tyr Ile Met Ser Leu Glu Asn Ile Thr Gly
370 375 380

Val Gln Ala Val Ser Asp Arg Leu Lys Glu Leu Ala Gln Ala Thr Gly
385 390 395 400

Ala Arg Ala Arg Gly Val Pro Arg Gly Thr Thr Thr Leu Ile Ala Asn
405 410 415

Asn Gly Phe Ala
420

<210> 159

<211> 421

<212> PRT

<213> *Neurospora crassa*

<400> 159

5

ES 2 739 280 T3

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

Pro Ala Ser Ile Thr Trp Ala Ala Pro Ile Ile Glu Val Glu Thr Lys
20 25 30

Pro Ile Pro Glu Lys Tyr Ile Val Leu Leu Lys Pro His Ala Asp Leu
35 40 45

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

Arg Arg Asp Thr Ala Gly Val His Lys Ala Trp Ser Val Gly Ser Lys
65 70 75 80

Phe Lys Ala Tyr Ala Gly Glu Phe Asp Glu Glu Thr Leu Lys Ile Ile
85 90 95

Gln Arg Asp Glu Arg Asn Val His Ser Ile Glu Pro Asp Lys Ser Trp
100 105 110

Arg Leu Tyr Lys Ser Asn Lys Lys Asp Asn Asp Asp Ser Asn Ser Asp
115 120 125

Asn Thr Thr Ile Ile Thr Gln Lys Gln Ala Pro Trp Gly Leu Gly Tyr
130 135 140

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

ES 2 739 280 T3

Ala Gly Thr Gly Thr Tyr Ala Tyr Val Val Asp Thr Gly Cys Trp Lys
165 170 175

Asp His Val Glu Phe Glu Gly Arg Val Gln Leu Gly Tyr Asn Ala Tyr
180 185 190

Pro Asp Ser Pro Phe Ile Asp Met Asp Gly His Gly Thr His Val Thr
195 200 205

Gly Thr Leu Ile Ser Lys Thr Tyr Gly Val Ala Lys Asn Ala Thr Val
210 215 220

Ile Cys Val Lys Val Phe His Gly Gly Gly Ser Ala Asn Thr Ile Val
225 230 235 240

Met Asp Gly Phe Glu Trp Ala Val Lys Asp Ile Ile Ala Lys Lys Arg
245 250 255

Gln Arg Asn Ser Val Ile Asn Met Ser Leu Gly Cys Asp Arg Ser Glu
260 265 270

Ala Phe Asn Ala Ile Val Asp Ala Ala Tyr Asp Gln Gly Ile Leu Thr
275 280 285

Val Val Ala Ala Gly Asn Glu Asn Gln Pro Ala Ala Leu Val Ser Pro
290 295 300

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

Thr Arg Ala Tyr Phe Ser Asn Tyr Gly Ala Ile Val Asp Ile Phe Ala
325 330 335

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

Asn Asn Arg Thr Met Thr Met Ser Gly Thr Ser Met Ala Ser Pro His
355 360 365

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

Gly Asn Ser Ser Asp Ala His Ser Gly Leu Arg Ala Leu Gly Val Pro
385 390 395 400

Asp Lys Val Trp Asp Ala Gly Glu Met Ser Pro Asn Leu Val Ala Tyr
405 410 415

ES 2 739 280 T3

Asn Gly Val Gln Gly
420

5
<210> 160
<211> 243
<212> PRT
<213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 160

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

Thr Val Thr Pro Ser Gly Ala Thr Ile Ile Asp Ile Lys Gln Gly Asn
210 215 220

Glu Val Leu Thr Asn Cys Ala Thr Ser Gly Ser Asp Leu Thr Cys Ser
225 230 235 240

Tyr Thr Gly

<210> 161

<211> 288

<212> PRT

<213> *Neurospora crassa*

<400> 161

5

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

Ala Gly Asp Trp Phe Asp Ile Thr Ile Asn Thr Thr Ser Ser Thr Ala
180 185 190

Ala Thr Ile Lys Ile Met Ser Asn Arg Gly Tyr Thr Tyr Ser Val Asn
195 200 205

Ala Trp Gln Gly Ala Thr Leu Ala Arg Val Asp Ala Asp Trp Val Val
210 215 220

Glu Arg Pro Tyr Tyr Gly Ser Thr Leu Ala Gly Phe Ala Gln Phe Thr
225 230 235 240

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

Ser Leu Gly Ile Thr Gly Ala Lys Gln Tyr Gln Ile Pro Gly Gly Cys
260 265 270

Ala Ser Ala Glu Tyr Asp Asn Ser Lys Leu Tyr Ala Ala Val Ala Ala
275 280 285

<210> 162

<211> 285

<212> PRT

<213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 162

Met Trp Ser Ile Val Arg Ser Leu Ser Leu Ala Ser Leu Ile Ser Ser
1 5 10 15

Ala Cys Thr Val Thr Ala Gln Leu Ser Phe Val Ala Ser Val Lys Gln
20 25 30

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

Pro Leu Glu His Arg Trp His Ala Ser Arg Pro Arg Arg Gly Gln Asn
50 55 60

Asn Arg Thr Val Glu Arg Asp Ala Val Ser Tyr Ser Ala Asn Trp Cys
65 70 75 80

Gly Ala Ser Gln His Ala Ser Asp Ser Asp Gly Ile Lys Ser Val Leu
85 90 95

Gly Tyr Phe Thr Ala Pro Asp Leu Thr Leu Arg Pro Gly Thr Pro Ala
100 105 110

Pro	Gln	Phe	Ala	Ala	Ala	Trp	Val	Gly	Ile	Asp	Gly	Ala	Ala	Cys	Asn	
		115					120					125				
Thr	Thr	Leu	Leu	Gln	Ala	Gly	Val	Thr	Thr	Ile	Val	Asn	Ser	Asp	Gly	
	130					135					140					
Gly	Gln	Ser	Ala	Ser	Ala	Trp	Trp	Glu	Trp	Tyr	Pro	Glu	Ala	Ser	Tyr	
145					150					155					160	
Thr	Ile	Ser	Gly	Leu	Lys	Val	Lys	Ala	Gly	Glu	Trp	Met	Ser	Val	Asn	
				165					170						175	
Ile	Thr	Thr	Lys	Asp	Ala	Ser	Ser	Ala	Ile	Leu	Val	Ile	Glu	Asn	Ala	
			180					185						190		
Asp	Thr	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Leu	Glu	Leu	Asn	Asn	Gly	Pro	Gln	Leu	
		195					200					205				
Cys	Arg	Arg	Asp	Ala	Glu	Trp	Ile	Leu	Glu	Asp	Phe	Tyr	Glu	Ser	Gly	
	210					215					220					
Lys	Gln	Val	Ala	Leu	Ala	Asn	Phe	Ala	Asp	Leu	Trp	Phe	Val	Asp	Ser	
225					230					235					240	
Gly	Ala	Thr	Thr	Val	Gly	Gly	Lys	Asn	Val	Gly	Phe	Asp	Gly	Ala	Thr	
				245					250					255		
Met	Val	His	Leu	Arg	Asp	Glu	Asn	Gly	Asn	Val	Leu	Cys	Ser	Pro	Glu	
			260					265					270			
Pro	Tyr	Asp	Asn	Ser	Asn	Phe	Val	Val	Val	Ser	Lys	Pro				
		275					280					285				

<210> 163
 <211> 307
 <212> PRT
 <213> *Myceliophthora thermophila*
 <400> 163

ES 2 739 280 T3

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

Ala Ala Thr Pro Ala Ile Pro Gly Tyr Ser Pro Arg Thr Arg Gly Met
20 25 30

Asn Pro His His His Ala Pro Leu Arg Leu Leu His Thr Phe Thr Pro
35 40 45

ES 2 739 280 T3

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

290

295

300

Gly Asp Asn
305

5

<210> 164

<211> 197

<212> PRT

<213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 164

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

5 <210> 165
 <211> 621
 <212> PRT
 <213> *Myceliophthora thermophila*

 <400> 165

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

ES 2 739 280 T3

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

Gly Ser Arg Trp Lys Gly Leu Tyr Asn Pro Gln Gly Arg Gly Phe Pro
465 470 475 480

Asp Val Ser Ala Gln Gly Val Ala Tyr His Val Phe Ser Gln Asp Lys
485 490 495

Asp Ile Lys Val Ser Gly Thr Ser Ala Ser Ala Pro Leu Phe Ala Ala
500 505 510

Leu Val Ser Leu Leu Asn Asn Ala Arg Leu Ala Gln Gly Arg Pro Pro
515 520 525

Leu Gly Phe Leu Asn Pro Trp Leu Tyr Ser Glu Lys Val Gln Lys Ala
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Asp Ile Val His Gly Gly Ser Ser Gly Cys Thr Gly
545 550 555 560

Lys Asp Met Tyr Ser Gly Leu Pro Thr Pro Tyr Val Pro Tyr Ala Ser
565 570 575

Trp Asn Ala Thr Pro Gly Trp Asp Pro Val Thr Gly Leu Gly Thr Pro
580 585 590

Val Phe Asp Lys Leu Leu Glu Leu Ser Ser Pro Gly Lys Lys Leu Pro
595 600 605

His Ile Gly Gly Gly His Gly His Gly Ala Gly Gly His
610 615 620

<210> 166

<211> 587

<212> PRT

<213> *Neurospora crassa*

<400> 166

ES 2 739 280 T3

Met Leu Trp Ser Val Leu Leu Leu Ala Ala Gly Ala Ser Ala His Val
1 5 10 15

Lys Ser Ser Leu Pro Ser Val Pro Ser Gly Trp Lys Lys Val Arg Ala
20 25 30

Ala Ser Ala Asp Glu Ser Val Ser Leu Lys Ile Ala Leu Pro Ala His
35 40 45

Gln Pro Asp Ala Leu Glu Thr Ala Ile Leu Arg Val Ser Asp Pro Asn
50 55 60

ES 2 739 280 T3

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

Leu Asp Phe Phe Gln Tyr Leu Leu Ser Leu Lys Asn Ser Glu Leu Pro
 325 330 335

Ala Thr Leu Ser Thr Ser Tyr Gly Glu Glu Glu Gln Ser Val Pro Arg
 340 345 350

Glu Tyr Ala Leu Lys Val Cys Ser Met Ile Gly Gln Leu Gly Ala Arg
 355 360 365

Gly Val Ser Val Ile Phe Ser Ser Gly Asp Ser Gly Pro Gly Asp Ala
 370 375 380

Cys Ile Arg Asn Asp Gly Thr Asn Ser Thr Tyr Phe Glu Pro Thr Phe
 385 390 395 400

Pro Gly Ala Cys Pro Trp Val Thr Ser Val Gly Gly Thr Tyr Gln Thr
 405 410 415

Gly Pro Glu Lys Ala Val Asp Phe Ser Ser Gly Gly Phe Ser Met Tyr
 420 425 430

His Lys Arg Pro Val Tyr Gln Glu Arg Val Val Lys Lys Tyr Leu Asp
 435 440 445

Lys Ile Gly Asp Thr Tyr Ser Asp Phe Phe Asp Glu Gln Gly Arg Gly
 450 455 460

Phe Pro Asp Val Ser Ala Gln Ala Ser Arg Tyr Ala Val Tyr Val Asp
 465 470 475 480

Gly Arg Leu Val Gly Val Ser Gly Thr Ser Ala Ser Ala Pro Met Phe
 485 490 495

Ala Gly Leu Val Ala Leu Leu Asn Ala Ala Arg Lys Ser His Gly Leu
 500 505 510

Pro Ser Leu Gly Phe Ile Asn Pro Leu Leu Tyr Ala Ser Lys Asp Ala
 515 520 525

Phe Thr Asp Ile Val Asn Gly Ala Gly Thr Gly Cys Arg Gly Arg Pro
 530 535 540

Glu Phe Ala Gly Asp Val Gly Gly Thr Ala Lys Trp Asn Ala Thr Glu
 545 550 555 560

Gly Trp Asp Pro Val Thr Gly Leu Gly Thr Pro Lys Phe Asp Lys Leu
 565 570 575

Leu Ala Leu Ala Ala Pro Gly Val Lys Asn Ala
 580 585

5
 <210> 167
 <211> 720
 <212> PRT
 <213> *Myceliophthora thermophila*
 <400> 167

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

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

450		455		460											
Leu 465	Ala	Leu	Gln	Gly	Val 470	Thr	Val	Val	Glu	Ser 475	Ser	Gly	Asp	Phe	Gly 480
Val	Gly	Gly	Arg	Pro 485	Phe	Asp	Pro	Arg	Ala 490	Gly	Cys	Leu	Gly	Pro 495	Asp
Arg	Ala	Val	Phe 500	Ser	Pro	Arg	Val	Met 505	Ala	Asn	Cys	Pro	Tyr 510	Val	Leu
Ser	Val	Gly 515	Ala	Thr	Ala	Leu	Val 520	Asp	Pro	Glu	Gln	Glu 525	Gln	Gln	Gln
Gln 530	His	Ala	Asp	Arg	Gly	Gly 535	Ser	Gly	Lys	Glu	Pro 540	Arg	Leu	Val	Glu
Val 545	Ala	Ala	Arg	Thr	Phe 550	Ala	Ser	Gly	Gly	Gly 555	Phe	Ser	Asn	Ile	Phe 560
Gly	Arg	Pro	Lys	Trp 565	Gln	Asp	Arg	His	Val 570	Arg	Glu	Tyr	Leu	Arg 575	Lys
Thr	Asn	Leu	Ser 580	Glu	Leu	Gly	Tyr	Asp 585	Asn	Ala	Ala	Gly	Met 590	Ser	Phe
Asp	Ser	Leu 595	Arg	Pro	Pro	Pro	Ala 600	Gly	Gly	Lys	Leu	Phe 605	Asn	Arg	Leu
Gly 610	Arg	Gly	Tyr	Pro	Asp	Val 615	Ala	Ala	Val	Gly	Gln 620	Asn	Phe	Arg	Val
Val 625	Leu	Arg	Gly	Tyr	Pro 630	Asn	Arg	Met	His	Gly 635	Thr	Ser	Ala	Ala	Ala 640
Pro	Val	Trp	Ala	Ser 645	Ile	Leu	Thr	Leu	Ile 650	Asn	Glu	Glu	Arg	Arg 655	Ala
Val	Gly	Lys	Gly 660	Pro	Val	Gly	Phe	Val 665	His	Gln	Val	Leu	Tyr 670	Gln	His
Pro	Glu	Val	Phe 675	Thr	Asp	Ile	Thr 680	Val	Gly	Ser	Asn 685	Pro	Gly	Cys	Gly
Thr 690	Asp	Gly	Phe	Pro	Val	Glu 695	Glu	Gly	Trp	Asp	Pro 700	Val	Thr	Gly	Leu

Gly Ser Pro Ile Tyr Pro Lys Leu Leu Lys Leu Phe Met Ser Leu Pro
 705 710 715 720

5 <210> 168
 <211> 719
 <212> PRT
 <213> *Neurospora crassa*
 <400> 168

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

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

Trp	Val	Thr	Ser	Val	Gly	Ala	Thr	Asp	Asn	Thr	Ala	Leu	Asn	Leu	Thr	465	470	475	480
Gly	Ala	Ala	Phe	Ser	Ser	Gly	Gly	Phe	Ser	Glu	Tyr	Phe	Asp	Arg	Pro	485	490	495	
Leu	Trp	Gln	Arg	Ala	Ala	Val	Asp	Pro	Tyr	Val	Ser	Ser	Leu	Leu	Arg	500	505	510	
Ser	Arg	Ser	Ser	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Ser	Gln	Pro	Arg	Asp	Leu	Lys	515	520	525	
Gly	Val	Tyr	Phe	Ser	His	Asn	Gly	Arg	Gly	Met	Pro	Asp	Met	Ala	Ala	530	535	540	
Ile	Gly	Ser	Gly	Phe	Gln	Ile	Ile	His	Arg	Gly	Glu	Met	Val	Glu	Val	545	550	555	560
Arg	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Pro	Val	Val	Ala	Ala	Met	Val	Ala	Leu	565	570	575	
Val	Asn	Asp	Gln	Arg	Leu	Arg	Gln	Gly	Lys	Arg	Ser	Leu	Gly	Trp	Leu	580	585	590	
Asn	Gly	His	Leu	Tyr	Leu	Asp	Pro	Arg	Val	Arg	Arg	Val	Leu	Thr	Asp	595	600	605	
Val	Lys	Trp	Gly	Arg	Ser	Glu	Gly	Cys	Val	Phe	Pro	Gly	Glu	Ala	Leu	610	615	620	
Glu	Glu	Gly	Arg	Gly	Lys	Gly	Lys	Glu	Lys	Tyr	Trp	Arg	His	Ser	Val	625	630	635	640
Val	Glu	Lys	Arg	Gln	Gly	Asn	Ser	Glu	Glu	Asp	Gly	Gly	Thr	His	Gly	645	650	655	
Gly	Asp	Gly	Glu	Gly	Lys	Ala	Asp	Glu	Glu	Asp	Trp	Gly	Gly	Glu	Gly	660	665	670	
Glu	Val	Gly	Glu	Gly	Glu	Gly	Asp	Gln	Ser	Glu	Asn	Val	Ile	Leu	Gly	675	680	685	
Gly	Trp	Asp	Ala	Arg	Lys	Gly	Trp	Asp	Pro	Val	Thr	Gly	Leu	Gly	Val	690	695	700	
Pro	Gly	Asp	Phe	Gln	Glu	Met	Leu	Lys	Val	Leu	Gly	Ser	Val	Trp		705	710	715	

5 <210> 169
 <211> 454
 <212> PRT
 <213> *Neurospora crassa*

 <400> 169

ES 2 739 280 T3

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

ES 2 739 280 T3

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

<210> 170
 <211> 50
 <212> PRT
 <213> *Aspergillus niger*

<400> 170

Ile Val Thr Trp Asp Glu Ala His Phe Gly Lys Phe Gly Ser His Tyr
 1 5 10 15

Leu Lys Arg Glu Phe Tyr Phe Asp Val His Pro Pro Leu Gly Lys Met
 20 25 30

Leu Val Gly Leu Ser Gly Phe Leu Ala Gly Tyr Asn Gly Ser Phe Glu
 35 40 45

Phe Lys
 50

<210> 171
 <211> 50
 <212> PRT
 <213> *Aspergillus oryzae*

<400> 171

Ile Val Thr Trp Asp Glu Ala His Phe Gly Lys Phe Gly Ser His Tyr
 1 5 10 15

Leu Lys Arg Glu Phe Tyr Phe Asp Val His Pro Pro Leu Gly Lys Met
 20 25 30

Leu Val Gly Leu Ser Gly Tyr Leu Ala Gly Tyr Asn Gly Ser Phe Glu
 35 40 45

Phe Lys
 50

<210> 172
 <211> 50
 <212> PRT
 <213> *Aspergillus nidulans*

<400> 172

Ile Val Thr Trp Asp Glu Ala His Phe Gly Lys Phe Gly Ser His Tyr
1 5 10 15

Leu Lys Arg Glu Phe Tyr Phe Asp Val His Pro Pro Leu Gly Lys Met
20 25 30

Leu Val Gly Leu Ser Gly Leu Leu Ala Gly Tyr Asn Gly Ser Phe Glu
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 173
<211> 50
<212> PRT
<213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 173

Ile Val Thr Trp Asp Glu Ala His Phe Gly Lys Phe Gly Ser His Tyr
1 5 10 15

Leu Lys Arg Glu Phe Tyr Phe Asp Val His Pro Pro Ala Gly Lys Leu
20 25 30

Leu Val Gly Leu Ser Gly Tyr Leu Ala Gly Tyr Asn Gly Ser Phe Glu
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 174
<211> 50
<212> PRT
<213> *Neurospora crassa*

<400> 174

Ile Val Thr Trp Asp Glu Ala His Phe Gly Lys Phe Gly Ser His Tyr
1 5 10 15

Leu Lys Arg Glu Phe Tyr Phe Asp Val His Pro Pro Ala Gly Lys Leu
20 25 30

Leu Val Gly Leu Ser Gly Leu Leu Ala Gly Tyr Asn Gly Ser Phe Glu
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 175
<211> 50
<212> PRT
<213> *Trichoderma virens*
<400> 175

Ile Val Thr Trp Asp Glu Ala His Phe Gly Lys Phe Gly Ser Tyr Tyr
1 5 10 15

Ile Lys His Glu Tyr Tyr Phe Asp Val His Pro Pro Leu Gly Lys Met
20 25 30

Leu Val Gly Leu Ser Gly Val Leu Ala Gly Tyr Asn Gly Ser Phe Glu
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 176
<211> 50
<212> PRT
<213> *Trichoderma reesei*
<400> 176

Ile Val Thr Trp Asp Glu Ala His Phe Gly Lys Phe Gly Ser Tyr Tyr
1 5 10 15

Ile Lys His Glu Tyr Tyr Phe Asp Val His Pro Pro Leu Gly Lys Met
20 25 30

Leu Val Gly Leu Ser Gly Val Leu Ala Gly Tyr Asn Gly Ser Phe Glu
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 177
<211> 50
<212> PRT
<213> *Fusarium oxysporum*

<400> 177

Ile Val Thr Trp Asp Glu Ala His Phe Gly Lys Phe Gly Ser Tyr Tyr
1 5 10 15

Ile Lys His Glu Tyr Tyr Phe Asp Val His Pro Pro Leu Gly Lys Met
20 25 30

Leu Val Gly Leu Ser Gly Val Leu Ala Gly Tyr Asn Gly Thr Phe Glu
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 178
<211> 50
<212> PRT
<213> *Neurospora crassa*

<400> 178

Ser Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Gly Phe Ala Ser Lys Tyr
1 5 10 15

Ile Lys Gly Lys Phe Phe Met Asp Val His Pro Pro Leu Ala Lys Leu
20 25 30

Met Ile Thr Leu Phe Gly Trp Leu Ala Gly Phe Asp Gly Ser Phe Asp
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 179
<211> 50
<212> PRT
<213> *Myceliophthora thermophila*
<400> 179

Ser Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Gly Phe Ala Thr Lys Tyr
1 5 10 15

Ile Lys Gly Lys Phe Phe Met Asp Val His Pro Pro Leu Ala Lys Leu
20 25 30

Met Ile Thr Leu Phe Gly Trp Leu Ala Gly Phe Lys Gly Asn Phe Asp
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 180
<211> 50
<212> PRT
<213> *Trichoderma virens*
<400> 180

Ser Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Gly Phe Ala Ser Lys Tyr
1 5 10 15

Ile Lys Gly Lys Phe Phe Met Asp Val His Pro Pro Leu Ala Lys Met
20 25 30

Leu Ile Ala Leu Thr Gly Trp Leu Ala Gly Phe Asp Gly Asn Phe Asp
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 181

<211> 50

<212> PRT

<213> *Trichoderma atroviride*

<400> 181

Ser Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Gly Phe Ala Ser Lys Tyr
1 5 10 15

Ile Lys Gly Arg Phe Phe Met Asp Val His Pro Pro Leu Ala Lys Met
20 25 30

Leu Ile Ala Leu Thr Gly Trp Leu Ala Gly Phe Asp Gly Asp Phe Asp
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 182

<211> 50

<212> PRT

<213> *Trichoderma reesei*

<400> 182

Ser Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Gly Phe Ala Ser Lys Tyr
1 5 10 15

Ile Lys Gly Arg Phe Phe Met Asp Val His Pro Pro Leu Ala Lys Met
20 25 30

Leu Ile Ala Leu Thr Gly Trp Leu Ala Gly Phe Asp Gly Asn Phe Asp
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 183
<211> 50
<212> PRT
<213> *Fusarium oxysporum*
<400> 183

Ser Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Gly Phe Ala Thr Lys Tyr
1 5 10 15

Ile Lys Gly Lys Phe Phe Met Asp Val His Pro Pro Leu Ala Lys Met
20 25 30

Leu Ile Ala Leu Thr Gly Trp Leu Ala Gly Phe Asp Gly Ser Phe Asp
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 184
<211> 50
<212> PRT
<213> *Aspergillus nidulans*
<400> 184

Ser Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Gly Phe Ala Thr Lys Tyr
1 5 10 15

Ile Lys Gly Arg Phe Phe Met Asp Val His Pro Pro Leu Ala Lys Leu
20 25 30

Leu Ile Thr Leu Ala Gly Trp Leu Ala Gly Phe Lys Gly Asp Phe Asp
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 185
<211> 50
<212> PRT
<213> *Aspergillus oryzae*
<400> 185

Ser Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Gly Phe Ala Ser Lys Tyr
1 5 10 15

Ile Lys Gly Arg Phe Phe Met Asp Val His Pro Pro Leu Ala Lys Leu
20 25 30

Leu Ile Thr Leu Ala Gly Trp Leu Ala Gly Phe Asn Gly Asp Phe Asp
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 186
<211> 50
<212> PRT
<213> *Aspergillus niger*
<400> 186

Ser Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Gly Phe Ala Thr Lys Tyr
1 5 10 15

Ile Lys Gly Arg Phe Phe Met Asp Val His Pro Pro Leu Ala Lys Leu
20 25 30

Leu Ile Thr Leu Ala Gly Trp Leu Ala Gly Phe Asp Gly Glu Phe Asp
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 187
<211> 50
<212> PRT
<213> *Penicillium chrysogenum*
<400> 187

Ser Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Gly Phe Ala Ser Lys Tyr
1 5 10 15

Ile Lys Gly Lys Phe Phe Met Asp Val His Pro Pro Leu Ala Lys Leu
20 25 30

Leu Leu Thr Leu Ala Gly Trp Leu Ala Gly Phe Asp Gly Asn Phe Asp
35 40 45

Phe Lys
50

<210> 188
<211> 50
<212> PRT
<213> *Trichoderma reesei*
<400> 188

Glu Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Lys Phe Ala Ser Tyr Tyr
1 5 10 15

Leu Gln Arg Thr Tyr Phe Phe Asp Val His Pro Pro Phe Ala Lys Leu
20 25 30

Leu Phe Ala Phe Val Gly Trp Leu Val Gly Tyr Asp Gly His Phe His
35 40 45

Phe Asp
50

<210> 189
<211> 50
<212> PRT
<213> *Trichoderma virens*
<400> 189

Glu Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Lys Phe Ala Ser Tyr Tyr
1 5 10 15

Leu Gln Arg Thr Tyr Phe Phe Asp Val His Pro Pro Phe Ala Lys Leu
20 25 30

Leu Phe Ala Phe Val Gly Trp Leu Val Gly Tyr Asp Gly His Phe His
35 40 45

Phe Glu
50

<210> 190
<211> 50
<212> PRT
<213> *Fusarium oxysporum*
<400> 190

Glu Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Lys Phe Ala Ser Tyr Tyr
1 5 10 15

Leu Glu Arg Thr Tyr Phe Phe Asp Val His Pro Pro Phe Gly Lys Leu
20 25 30

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

Phe Glu
50

<210> 191
<211> 50
<212> PRT
<213> *Gibberella zeae*

<400> 191

Glu Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Lys Phe Ala Ser Tyr Tyr
1 5 10 15

Leu Glu Arg Thr Tyr Phe Phe Asp Val His Pro Pro Phe Gly Lys Leu
20 25 30

Leu Phe Ala Phe Val Gly Trp Leu Val Gly Tyr Asp Gly His Phe His
35 40 45

Phe Asp
50

<210> 192
<211> 50
<212> PRT
<213> *Myceliophthora thermophila*

<400> 192

Glu Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Lys Phe Ala Ser Tyr Tyr
1 5 10 15

Leu Glu Arg Thr Tyr Phe Phe Asp Val His Pro Pro Leu Gly Lys Leu
20 25 30

Leu Phe Ala Phe Met Gly Trp Leu Val Gly Tyr Asp Gly His Phe His
35 40 45

Phe Glu
50

<210> 193
<211> 50
<212> PRT
<213> *Neurospora crassa*

<400> 193

Glu Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Lys Phe Ala Ser Tyr Tyr
1 5 10 15

Leu Glu Arg Thr Tyr Phe Phe Asp Val His Pro Pro Phe Gly Lys Leu
20 25 30

Leu Phe Ala Phe Met Gly Trp Leu Val Gly Tyr Asp Gly His Phe His
35 40 45

Phe Glu
50

<210> 194
<211> 50
<212> PRT
<213> *Aspergillus nidulans*

<400> 194

Gln Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Lys Phe Ala Ser Tyr Tyr
1 5 10 15

Leu Arg Arg Thr Tyr Phe Phe Asp Val His Pro Pro Phe Ala Lys Leu
20 25 30

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

Phe Glu
50

<210> 195
<211> 50
<212> PRT
<213> *Aspergillus niger*
<400> 195

Glu Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Lys Phe Ala Ser Tyr Tyr
1 5 10 15

Leu Gln Arg Thr Tyr Phe Phe Asp Val His Pro Pro Phe Gly Lys Leu
20 25 30

Leu Phe Ala Phe Met Gly Trp Leu Val Gly Tyr Asp Gly His Phe Leu
35 40 45

Phe Asp
50

<210> 196
<211> 50
<212> PRT
<213> *Aspergillus oryzae*
<400> 196

Glu Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Lys Phe Ala Ser Tyr Tyr
1 5 10 15

Leu Gln Arg Thr Tyr Phe Phe Asp Val His Pro Pro Phe Gly Lys Leu
20 25 30

Leu Phe Ala Ala Val Gly Trp Leu Ile Gly Tyr Asp Gly His Phe Leu
35 40 45

Phe Glu
50

<210> 197
<211> 50
<212> PRT
<213> *Penicillium chrysogenum*

<400> 197

Glu Val Val Phe Asp Glu Val His Phe Gly Lys Phe Ala Ser Tyr Tyr
1 5 10 15

Leu Gln Arg Thr Tyr Phe Phe Asp Val His Pro Pro Phe Gly Lys Leu
20 25 30

Leu Phe Ala Leu Met Gly Trp Leu Val Gly Phe Asp Gly Ser Phe Leu
35 40 45

Phe Glu
50

REIVINDICACIONES

1. Una célula fúngica filamentosa deficiente en PMT que comprende

a) una primera mutación en un gen que codifica una proteasa endógena que reduce o elimina una actividad de proteasa endógena en comparación con una célula fúngica filamentosa precursora que no tiene dicha primera mutación, seleccionándose dichas proteasas endógenas entre proteasas aspárticas, serina proteasas de tipo tripsina, subtilisina proteasas, proteasas glutámicas y sedolisina proteasas, y

b) una segunda mutación en un gen *PMT* que reduce la actividad de O-manosiltransferasa endógena en comparación con una célula fúngica filamentosa precursora que no tiene dicha segunda mutación,

en la que dicha célula fúngica filamentosa se selecciona entre el grupo que consiste en célula de *Trichoderma*, *Neurospora*, *Myceliophthora* y *Chrysosporium*.

2. La célula fúngica filamentosa deficiente en PMT de la reivindicación 1, en la que dicha segunda mutación que reduce la actividad de O-manosiltransferasa endógena es una delección o una alteración de un gen *PMT* que codifica una actividad de proteína O-manosiltransferasa endógena.

3. La célula fúngica filamentosa deficiente en PMT de la reivindicación 1 o 2, en la que dicha segunda mutación en un gen PMT es una mutación en cualquiera de:

a) gen *PMT1* que comprende el polinucleótido de la SEQ ID NO: 1,

b) un gen homólogo del gen *PMT1*, gen homólogo que es capaz de restablecer el nivel de O-manosilación precursora mediante complementación funcional cuando se introduce en una cepa de *T. reesei* que tiene una alteración en dicho gen *PMT1*, o;

c) un polinucleótido que codifica un polipéptido que tiene una identidad de al menos un 50 % con la SEQ ID NO: 2, teniendo dicho polipéptido actividad de O-manosiltransferasa.

4. La célula fúngica filamentosa deficiente en PMT de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que dicha célula tiene una tercera mutación que reduce o elimina el nivel de expresión de un gen *ALG3* en comparación con el nivel de expresión en una célula precursora que no tiene dicha tercera mutación.

5. La célula fúngica filamentosa deficiente en PMT de la reivindicación 4, que además comprende un primer polinucleótido que codifica un dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa I y un segundo polinucleótido que codifica un dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa II.

6. La célula fúngica filamentosa deficiente en PMT de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que además comprende uno o más polinucleótidos que codifican un polipéptido seleccionado entre el grupo que consiste en:

a) α 1,2 manosidasa;

b) dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa I;

c) α manosidasa II;

d) dominio catalítico de N-acetilglucosaminiltransferasa II;

e) β 1,4 galactosiltransferasa; y,

f) fucosiltransferasa.

7. La célula fúngica filamentosa deficiente en PMT de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que dicha célula es una célula de *Trichoderma* que comprende una mutación que reduce o elimina la actividad de proteína O-manosiltransferasa de *pmt1* de *Trichoderma*.

8. La célula fúngica filamentosa deficiente en PMT de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que dicha célula es una célula de *Trichoderma*, por ejemplo *Trichoderma reesei*, y dicha célula comprende mutaciones que reducen o eliminan la actividad de

a) las tres proteasas endógenas pep1, tsp1 y slp1;

b) las tres proteasas endógenas gap1, slp1 y pep1;

c) las tres proteasas endógenas seleccionadas entre el grupo que consiste en pep1, pep2, pep3, pep4, pep5, pep8, pep11, pep12, tsp1, slp1, slp2, slp3, slp7, gap1 y gap2;

d) de tres a seis proteasas seleccionadas entre el grupo que consiste en pep1, pep2, pep3, pep4, pep5, tsp1, slp1, slp2, slp3, gap1 y gap2; o

e) de siete a diez proteasas seleccionadas entre el grupo que consiste en pep1, pep2, pep3, pep4, pep5, pep7, pep8, tsp1, slp1, slp2, slp3, slp5, slp6, slp7, slp8, tpp1, gap1 y gap2.

9. Un método para producir una proteína que tiene O-manosilación reducida, que comprende:

a) proporcionar una célula fúngica filamentosa deficiente en PMT de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, y

que además comprende un polinucleótido que codifica una proteína con un resto de serina o treonina,

b) cultivar dicha célula fúngica filamentosa deficiente en PMT para producir dicha proteína que tiene O-manosilación reducida.

5 10. El método de acuerdo con la reivindicación 9, en el que dicha célula fúngica filamentosa expresa una proteína chaperona endógena funcional, tal como Proteína Disulfuro Isomerasa (PDI).

11. El método de las reivindicaciones 9 o 10, en el que dicha proteína producida es una proteína de mamífero heteróloga seleccionada entre el grupo que consiste en

10

- a) una inmunoglobulina, tal como IgG,
- b) una cadena ligera o una cadena pesada de una inmunoglobulina,
- c) una cadena pesada o una cadena ligera de un anticuerpo,
- d) un anticuerpo de cadena individual,
- e) un anticuerpo camélido,
- f) un anticuerpo de dominio individual monomérico o multimérico,
- g) un fragmento FAb, un fragmento FAb2, y,
- h) sus fragmentos de unión a antígeno.

15

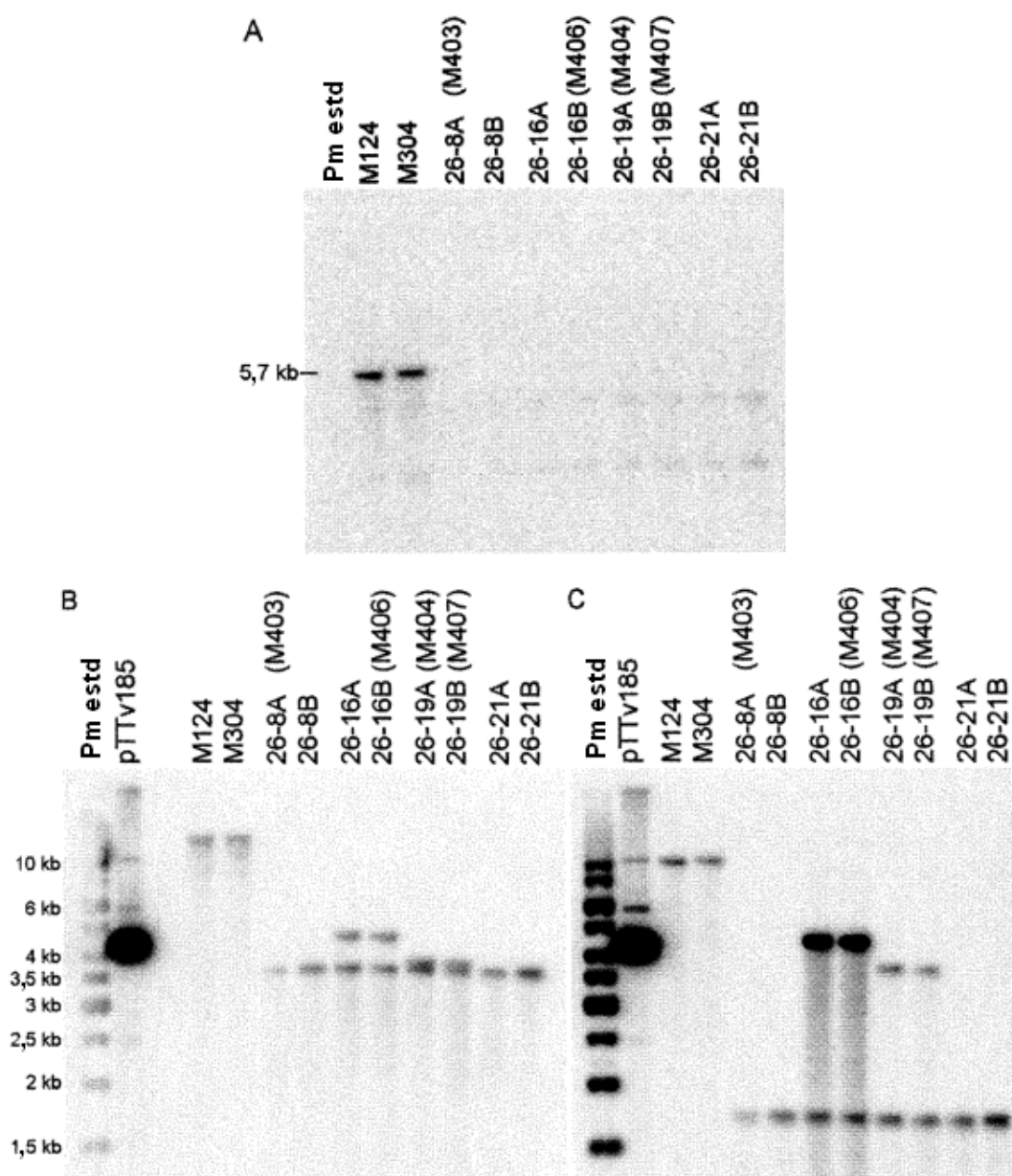


Figura 1

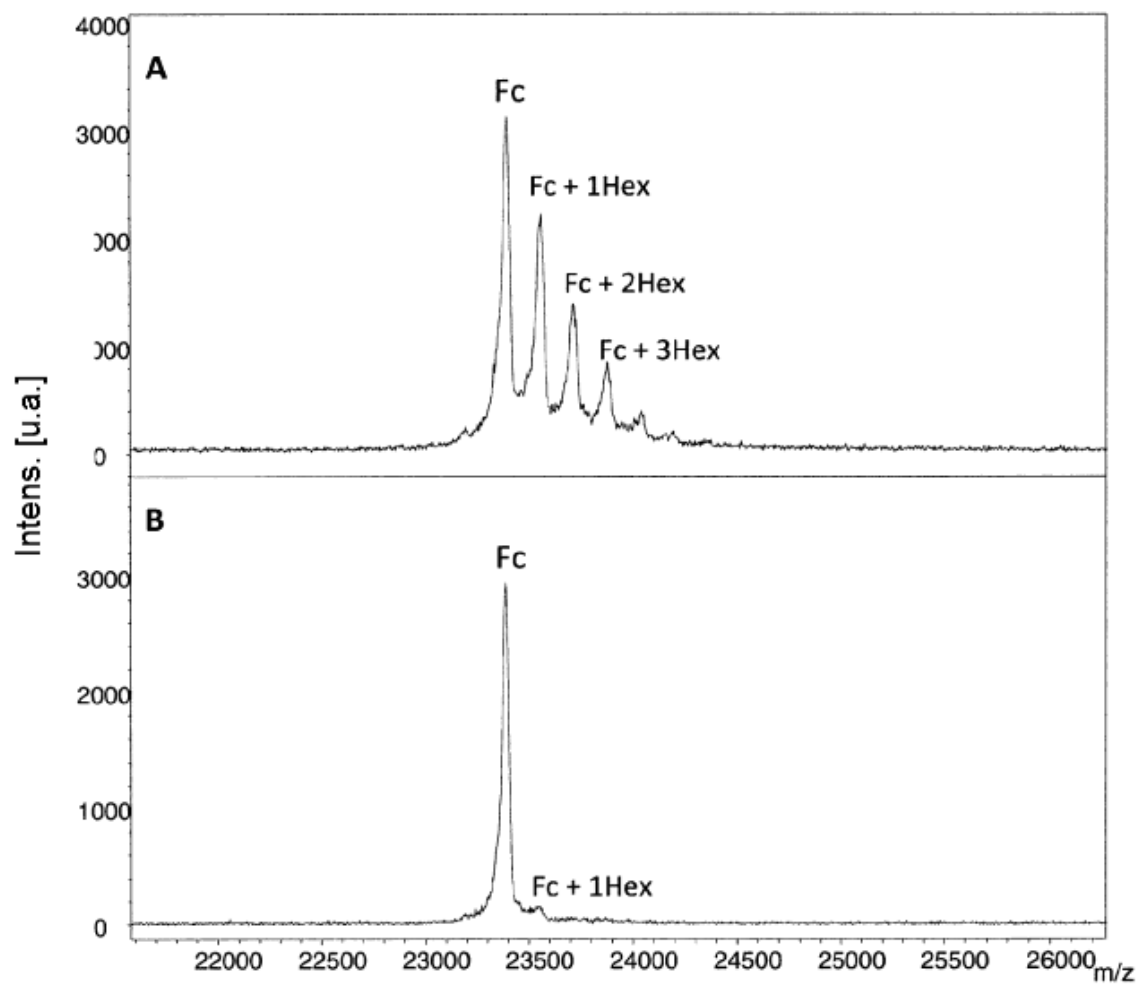


Figura 2

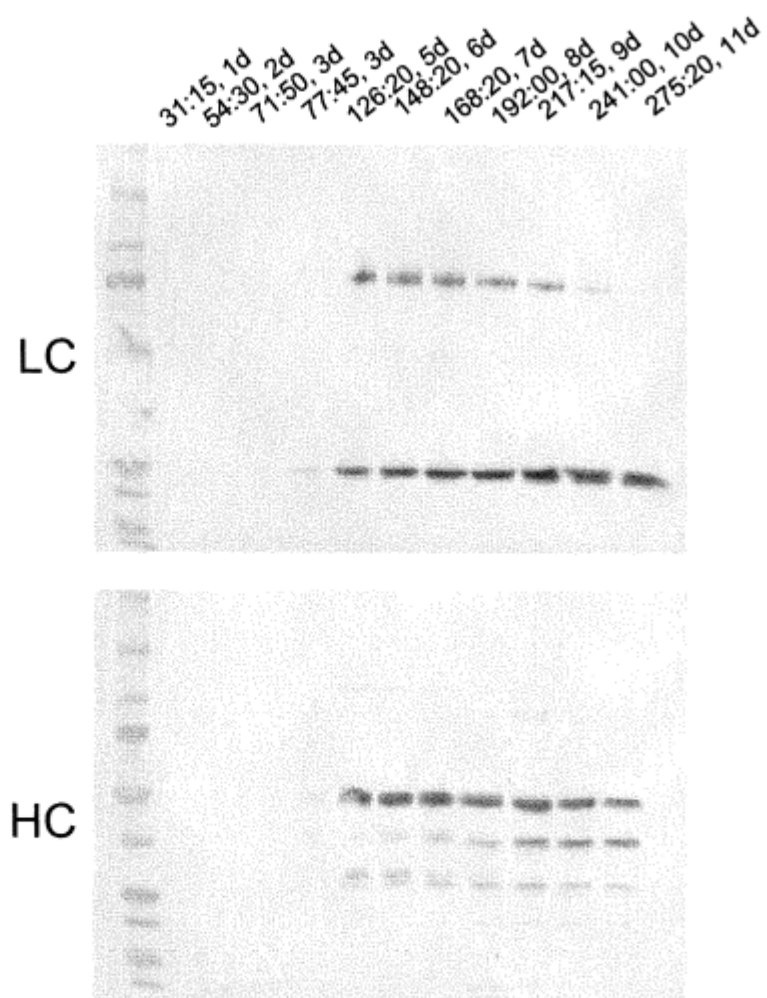


Figura 3

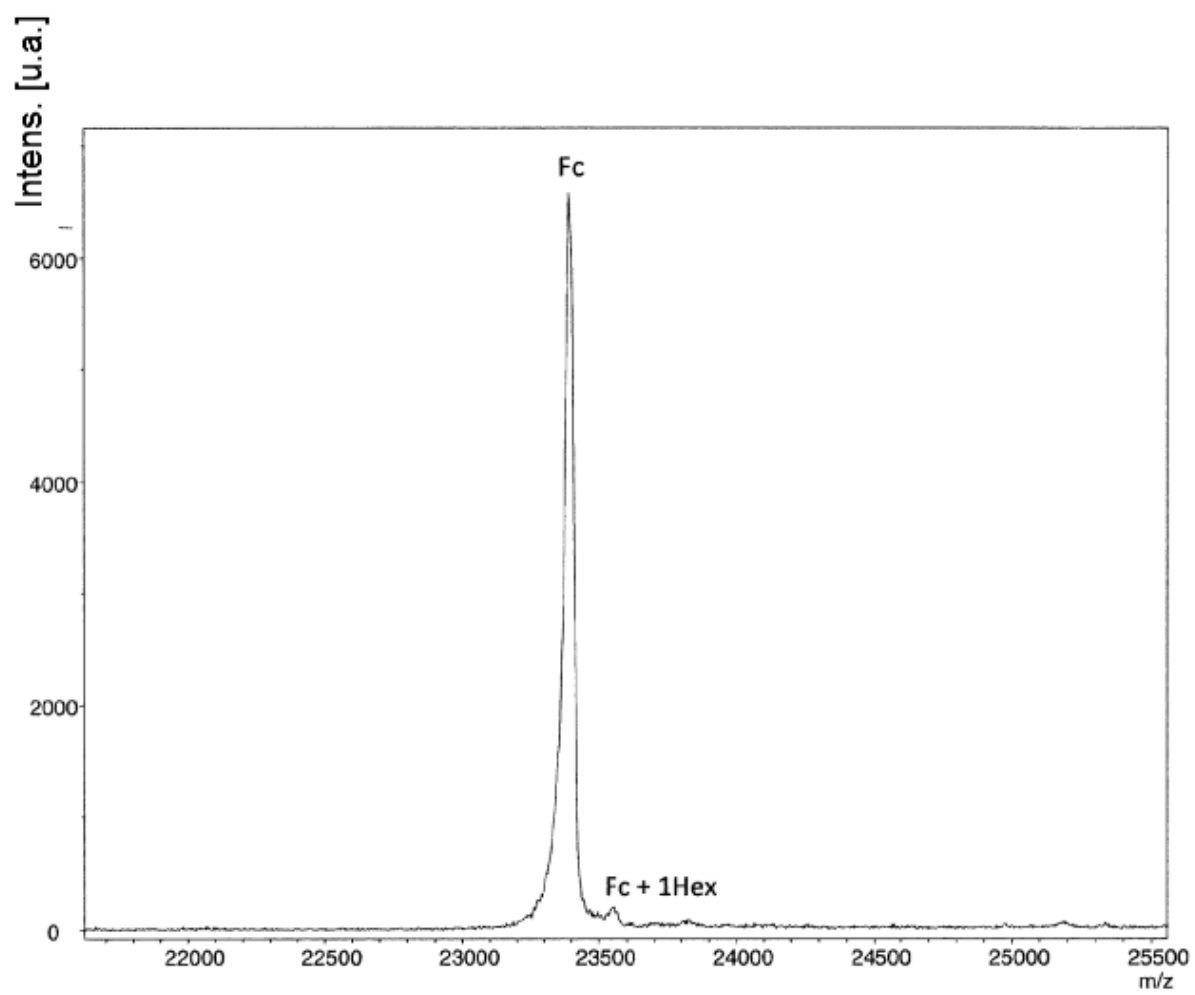


Figura 4

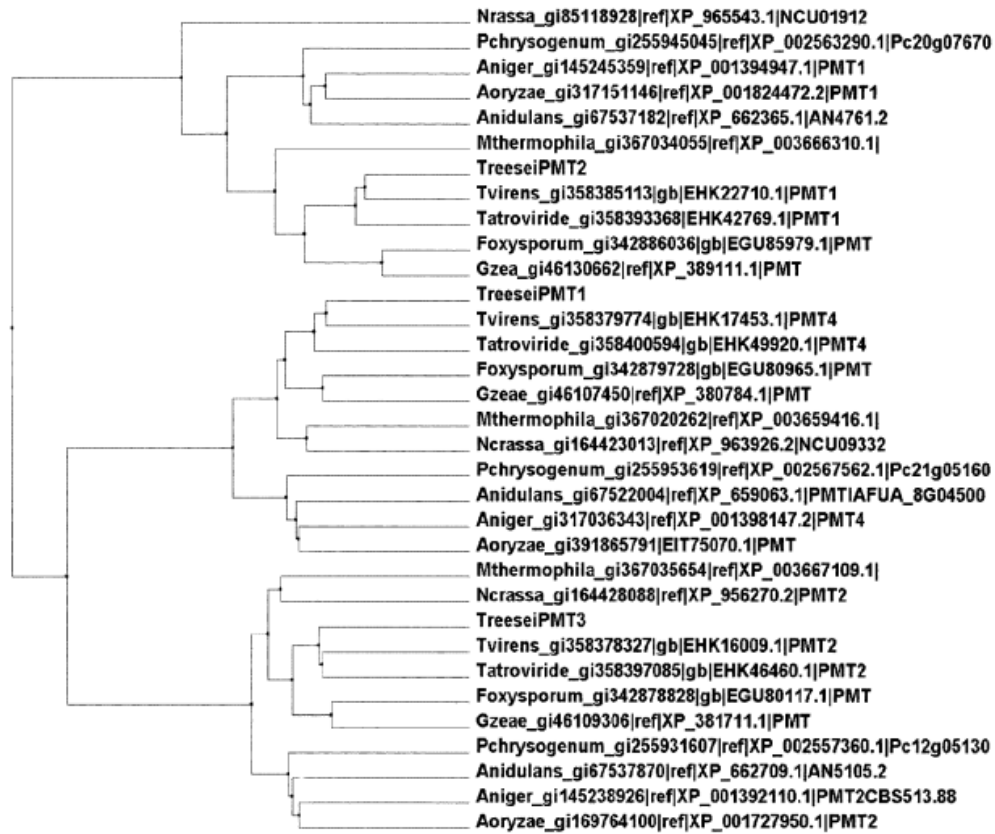


Figura 5


```

Aniger_gi145238926      IVTWDEAHFGKFGSHYLKREFYFDVHPPLGKMLVGLSGFLAGYNGSFEFK 132
Aoryzae_gi169764100     IVTWDEAHFGKFGSHYLKREFYFDVHPPLGKMLVGLSGYLAGYNGSFEFK 132
Anidulans_gi67537870    IVTWDEAHFGKFGSHYLKREFYFDVHPPLGKMLVGLSGLLAGYNGSFEFK 131
Pchrysogenum_gi255931607 IVTWDEAHFGKFGSHYLKREFYFDVHPPLGKMLVGLSGYLAGYNGSFEFK 133
Mthermophila_gi367035654 IVTWDEAHFGKFGSHYLKREFYFDVHPPLGKMLVGLSGYLAGYNGSFEFK 135
Ncrassa_gi164428088     IVTWDEAHFGKFGSHYLKREFYFDVHPPLGKMLVGLSGLLAGYNGSFEFK 140
Tvirens_gi358378327     IVTWDEAHFGKFGSYYIKHEYYFDVHPPLGKMLVGLSGVLAGYNGSFEFK 130
Tatroviride_gi358397085 IVTWDEAHFGKFGSYYIKHEYYFDVHPPLGKMLVGLSGVLAGYNGSFEFK 131
TreeseiPMT3            IVTWDEAHFGKFGSYYIKHEYYFDVHPPLGKMLVGLSGVLAGYNGSFEFK 131
Foxysporum_gi342878828 IVTWDEAHFGKFGSYYIKHEYYFDVHPPLGKMLVGLSGVLAGYNGTTEFEK 131
Gzeae_gi46109306       IVTWDEAHFGKFGSYYIKHEYYFDVHPPLGKMLVGLSGVLAGYNGTTEFEK 132
Nrassa_gi85118928      SVVFDEVHFGGFASKYIKGKFFMDVHPPLAKMLITLFGWLAGFDGSDFDK 141
Mthermophila_gi367034055 SVVFDEVHFGGFATKYIKGKFFMDVHPPLAKMLITLFGWLAGFKGNDFDK 129
Tvirens_gi358385113    SVVFDEVHFGGFASKYIKGKFFMDVHPPLAKMLIALTGWLAGFDGNDFDK 127
Tatroviride_gi358393368 SVVFDEVHFGGFASKYIKGKFFMDVHPPLAKMLIALTGWLAGFDGDFDFK 131
TreeseiPMT2            SVVFDEVHFGGFASKYIKGKFFMDVHPPLAKMLIALTGWLAGFDGNDFDK 132
Foxysporum_gi342886036 SVVFDEVHFGGFATKYIKGKFFMDVHPPLAKMLIALTGWLAGFDGSDFDK 145
Gzea_gi46130662        SVVFDEVHFGGFATKYIKGKFFMDVHPPLAKMLIALTGWLAGFDGSDFDK 142
Anidulans_gi67537182   SVVFDEVHFGGFATKYIKGKFFMDVHPPLAKLLITLAGWLAGFKGDFDFK 127
Aoryzae_gi317151146    SVVFDEVHFGGFASKYIKGKFFMDVHPPLAKLLITLAGWLAGFNGDFDFK 130
Aniger_gi145245359     SVVFDEVHFGGFATKYIKGKFFMDVHPPLAKLLITLAGWLAGFDGEFDFK 131
Pchrysogenum_gi255945045 SVVFDEVHFGGFASKYIKGKFFMDVHPPLAKLLITLAGWLAGFDGNDFDK 129
TreeseiPMT1            EVVFDEVHFGKFASYLLQRTYFFDVHPPFAKLLFAFVGWLVGYDGHFHFD 127
Tvirens_gi358379774    EVVFDEVHFGKFASYLLQRTYFFDVHPPFAKLLFAFVGWLVGYDGHFHFE 128
Tatroviride_gi358400594 EVVFDEVHFGKFASYLLQRTYFFDVHPPFAKLLFAFVGWLVGYDGHFHFE 127
Foxysporum_gi342879728 EVVFDEVHFGKFASYLLERTYFFDVHPPFGKLLFAFVGWLVGYDGNFHFE 125
Gzeae_gi46107450       EVVFDEVHFGKFASYLLERTYFFDVHPPFGKLLFAFVGWLVGYDGHFHFD 125
Mthermophila_gi367020262 EVVFDEVHFGKFASYLLERTYFFDVHPPFGKLLFAFMGWLVGVDGHFHFE 125
Ncrassa_gi164423013    EVVFDEVHFGKFASYLLERTYFFDVHPPFGKLLFAFMGWLVGVDGHFHFE 125
Anidulans_gi67522004    QVVFDEVHFGKFASYLLRRTYFFDVHPPFAKLLLAFTGWLVGVDGHFLFE 116
Aniger_gi317036343     EVVFDEVHFGKFASYLLQRTYFFDVHPPFGKLLFAFMGWLVGVDGHFLFD 115
Aoryzae_gi391865791    EVVFDEVHFGKFASYLLQRTYFFDVHPPFGKLLFAAVGWLVGYDGHFLFE 118
Pchrysogenum_gi255953619 EVVFDEVHFGKFASYLLQRTYFFDVHPPFGKLLFALMGWLVGFDGSDFLFE 115
*.:**.* ** *.: *.: :*:***** .*:.. * * *.:* * *.

```

Figura 6