

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 784 327**

51 Int. Cl.:

C08B 37/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.11.2015 PCT/US2015/059261**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.05.2016 WO16073732**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.11.2015 E 15798600 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2020 EP 3215543**

54 Título: **Dextranos de gelificación polimerizados enzimáticamente**

30 Prioridad:

05.11.2014 US 201462075460 P

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

24.09.2020

73 Titular/es:

**DUPONT INDUSTRIAL BIOSCIENCES USA, LLC
(100.0%)
Chestnut Run Plaza, 4 Centre Road, P.O. Box
2915
Wilmington, Delaware 19805, US**

72 Inventor/es:

**NAMBIAR, RAKESH;
GUAN, RONG;
CHENG, QIONG;
DICOSIMO, ROBERT;
PAULLIN, JAYME L.;
LIANG, YUANFENG;
POWLEY, CHARLES R. y
BRUN, YEFIM**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 784 327 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

Dextranos de gelificación polimerizados enzimáticamente

- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de EE.UU. nº 62/075.460 (presentada el 5 de noviembre de 2014), que se incorpora a la presente memoria en su totalidad a modo de referencia.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

- 10 La presente descripción se encuentra en el campo de los polisacáridos. Por ejemplo, la descripción pertenece a determinados polímeros de dextrano, a reacciones que comprenden enzimas glucosiltransferasa que sintetizan dichos polímeros, y al uso de los polímeros en diversas aplicaciones.

REFERENCIA AL LISTADO DE SECUENCIAS PRESENTADO ELECTRÓNICAMENTE

- 15 La copia oficial del listado de secuencias se presenta electrónicamente vía EFS-Web como listado de secuencias en formato ASCII con un archivo denominado 20151105_CL6294USPN_SequenceListing.txt creado el 5 de noviembre de 2015 y que tiene un tamaño de 164 kilobytes, y se presenta concurrentemente con la especificación. El listado de secuencias contenido en el documento en formato ASCII es parte de la especificación y se incorpora a la presente memoria en su totalidad a modo de referencia.

20 ANTECEDENTES

- Guiados por el deseo de encontrar nuevos polisacáridos estructurales empleando síntesis enzimáticas o modificación genética de microorganismos, los investigadores han descubierto polisacáridos que son biodegradables y que pueden fabricarse de forma económica a partir de materias primas renovables. Una de dichas familias de polisacáridos son los alfa-glucanos, que son polímeros que comprenden monómeros de glucosa unidos mediante enlaces alfa-glicosídicos.

- Los dextranos representan una familia de alfa-glucanos ramificados complejos que generalmente comprenden cadenas de monómeros de glucosa con uniones alfa-1,6, con cadenas laterales periódicas (ramificaciones) unidas a las cadenas lineales mediante enlace alfa-1,3 (Ioan et al., *Macromolecules* 33: 5730-5739). La producción de dextranos se realiza típicamente mediante fermentación de sacarosa con bacterias (p.ej., las especies *Leuconostoc* o *Streptococcus*), donde la sacarosa actúa como fuente de glucosa para la polimerización de dextrano (Naessens et al., *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 80: 845-860; Sarwat et al., *Int. J. Biol. Sci.* 4: 379-386; Onilude et al., *Int. Food Res. J.* 20: 1645-1651). Aunque los dextranos se usan en aplicaciones diversas dada su alta solubilidad en agua (p.ej., adyuvantes, estabilizantes), dicha alta solubilidad puede afectar negativamente a su utilidad general como agentes espesantes en aplicaciones de hidrocoloides.

- Por tanto, existe interés en desarrollar nuevos polímeros de dextrano de mayor viscosidad que sean mejores en aplicaciones de viscosidad. A su vez, también existe interés en identificar enzimas glucosiltransferasa que puedan sintetizar dichos polímeros de dextrano.

40 SUMARIO DE LA INVENCIÓN

En una realización, la descripción se refiere a una composición que comprende dextrano que comprende:

- 45 (i) aproximadamente 87-93 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 6;
 (ii) aproximadamente 0,1-1,2 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 3;
 (iii) aproximadamente 0,1-0,7 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 4;
 (iv) aproximadamente 7,7-8,6 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1, 3 y 6; y
 (v) aproximadamente 0,4-1,7 %p/p de glucosa unida en:
 50 (a) las posiciones 1, 2 y 6, o
 (b) las posiciones 1, 4 y 6;

- en donde el peso molecular promedio en peso (Mw) del dextrano es de aproximadamente 50-200 millones de Daltons, el radio de giro promedio-z del dextrano es de aproximadamente 200-280 nm, y el dextrano opcionalmente no es un producto de enzima glucosiltransferasa de *Leuconostoc mesenteroides*.

- En otra realización, el dextrano comprende: (i) aproximadamente 89,5-90,5 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 6; (ii) aproximadamente 0,4-0,9 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 3; (iii) aproximadamente 0,3-0,5 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 4; (iv) aproximadamente 8,0-8,3 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1, 3 y 6; y (v) aproximadamente 0,7-1,4 %p/p de glucosa unida en: (a) las posiciones 1, 2 y 6, o (b) las posiciones 1, 4 y 6.

- En otra realización, el dextrano comprende cadenas (cadenas largas) unidas unas a otras dentro de una estructura ramificada, en donde dichas cadenas son similares en longitud y comprenden sustancialmente enlaces alfa-1,6-glicosídicos. La longitud promedio de las cadenas es de aproximadamente 10-50 unidades monoméricas en otra realización.

En otra realización, el dextrano es un producto de una enzima glucosiltransferasa que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con respecto a SEQ ID: 1, SEQ ID: 2, SEQ ID: 5, SEQ ID: 9, SEQ ID: 13, o SEQ ID: 17.

5 En otra realización, la composición es una composición acuosa que tiene una viscosidad de al menos aproximadamente 0,025 Kg/m·s (25 cPs).

En otra realización, el Mw del dextrano es de aproximadamente 80-120 millones de Daltons.

10 En otra realización, el radio de giro promedio-z del dextrano es de aproximadamente 230-250 nm.

En otra realización, la composición está en la forma de un producto alimentario, un producto de cuidado personal, un producto farmacéutico, un producto doméstico, o un producto industrial. En otra realización, la composición está en la forma de un producto de pastelería.

15 En otra realización, la descripción se refiere a un método para aumentar la viscosidad de una composición acuosa. Dicho método comprende poner en contacto al menos un compuesto de dextrano como se describe en la presente memoria con una composición acuosa. La etapa de contacto de este método da como resultado un incremento de la viscosidad de la composición acuosa, con respecto a la viscosidad de la composición acuosa antes de la etapa de contacto.

20 En otra realización, la descripción se refiere a un método de tratamiento de un material. Dicho método comprende poner en contacto un material con una composición acuosa que comprende al menos un compuesto de dextrano descrito en la presente memoria.

25 En otra realización, la descripción se refiere a una reacción enzimática que comprende agua, sacarosa y una enzima glucosiltransferasa que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a SEQ ID: 1, SEQ ID: 2, SEQ ID: 5, SEQ ID: 9, SEQ ID: 13, o SEQ ID: 17, en donde la enzima glucosiltransferasa sintetiza un compuesto de dextrano como el descrito en la presente memoria.

30 En otra realización, la descripción se refiere a un método de producción de dextrano que comprende la etapa de poner en contacto al menos agua, sacarosa y una enzima glucosiltransferasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos un 90% idéntica a SEQ ID: 1, SEQ ID: 2, SEQ ID: 5, SEQ ID: 9, SEQ ID: 13, o SEQ ID: 17, produciendo de este modo un dextrano como se describe en la presente memoria. Opcionalmente, dicho dextrano puede aislarse.

35 En otra realización, la viscosidad del dextrano producido en el método aumenta disminuyendo la cantidad de sacarosa de la etapa (a).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS Y SECUENCIAS

40 La Figura 1: análisis de HPLC del consumo de sacarosa en una reacción de glucosiltransferasa que comprende 100 g/L de sacarosa y un 0768 gtf (SEQ ID NO: 1). Se refiere al Ejemplo 2.

La Figura 2A: mapa del plásmido pZZHB583 usado para expresar 2919 gtf (SEQ ID NO: 5) en *B. subtilis*. Se refiere al Ejemplo 3.

45 La Figura 2B: mapa del plásmido pZZHB582 usado para expresar 2918 gtf (SEQ ID NO: 9) en *B. subtilis*. Se refiere al Ejemplo 4.

La Figura 2C: mapa del plásmido pZZHB584 usado para expresar 2920 gtf (SEQ ID NO: 13) en *B. subtilis*. Se refiere al Ejemplo 5.

La Figura 2D: mapa del plásmido pZZHB585 usado para expresar 2921 gtf (SEQ ID NO: 17) en *B. subtilis*. Se refiere al Ejemplo 6.

50 La Figura 3: análisis de HPLC del consumo de sacarosa en una reacción que comprende una sacarasa de dextrano disponible comercialmente. Se refiere al Ejemplo 7.

Tabla 1. Sumario de números de SEQ ID de ácidos nucleicos y proteínas

Descripción	SEQ ID NO de ácido nucleico	SEQ ID NO de proteína
"0768 gtf", <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> . Forma madura de GENBANK nº identificación 497964659.		1 (1447 aa)
"0768 gtf", <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> . Forma madura de GENBANK nº identificación 497964659, pero incluyendo una metionina de inicio y aminoácidos adicionales N- y C-terminales.		2 (1457 aa)
WciGtf1, <i>Weissella cibaria</i> . Forma de longitud completa que comprende la secuencia señal. Nº de acceso GENBANK ZP_08417432 (secuencia de aminoácidos).	3 (4347 bases)	4 (1448 aa)
"2919 gtf", <i>Weissella cibaria</i> . Forma madura del Nº de identificación GENBANK ZP_08417432.		5 (1422 aa)
"2919 gtf", <i>Weissella cibaria</i> . Secuencia optimizada para la expresión en <i>B. subtilis</i> . Codifica 2919 gtf con una secuencia señal heteróloga y aminoácidos adicionales N-terminales.	6 (4269 bases)	
LfeGtf1, <i>Lactobacillus fermentum</i> . Forma de longitud completa que comprende la secuencia señal. Nº de acceso GENBANK AAU08008 (secuencia de aminoácidos).	7 (4392 bases)	8 (1463 aa)
"2918 gtf", <i>Lactobacillus fermentum</i> . Forma madura del Nº de identificación GENBANK AAU08008.		9 (1463 aa)
"2918 gtf", <i>Lactobacillus fermentum</i> . Secuencia optimizada para la expresión en <i>B. subtilis</i> . Codifica 2918 gtf con una secuencia señal heteróloga y aminoácidos adicionales N-terminales	10 (4281 bases)	
SsoGtf4, <i>Streptococcus sobrinus</i> . Forma de longitud completa que comprende la secuencia señal. Nº de acceso GENBANK AAX76986 (secuencia de aminoácidos)	11 (4521 bases)	12 (1506 aa)
"2920 gtf", <i>Streptococcus sobrinus</i> . Forma madura del Nº de identificación GENBANK AAX76986.		13 (1465 aa)
"2920 gtf", <i>Streptococcus sobrinus</i> . Secuencia optimizada para la expresión en <i>B. subtilis</i> . Codifica 2920 gtf con una secuencia señal heteróloga y aminoácidos adicionales N-terminales	14 (4398 bases)	
SdoGtf7, <i>Streptococcus downei</i> . Forma de longitud completa que comprende la secuencia señal. Nº de acceso GENBANK ZP_08549987.1 (secuencia de aminoácido)	15 (4360 bases)	16 (1453 aa)
"2921 gtf", <i>Streptococcus downei</i> . Forma madura del Nº de identificación GENBANK ZP_08549987.1.		17 (1409 aa)
"2921 gtf", <i>Streptococcus downei</i> . Secuencia optimizada para la expresión en <i>B. subtilis</i> . Codifica 2921 gtf con una secuencia señal heteróloga y aminoácidos adicionales N-terminales	18 (4230 bases)	

DESCRIPCIÓN DETALLADA

5 A menos que se describa de otro modo, los términos "un" y "una" se usan en la presente memoria para abarcar uno o más (por ejemplo, al menos uno) de una característica referida.

10 El término "glucano" en la presente memoria se refiere a un polisacárido de monómeros de D-glucosa que se unen mediante enlaces glucosídicos, que son un tipo de enlace glicosídico. Un "alfa-glucano" en la presente memoria se refiere a un glucano en el que los monómeros de D-glucosa constituyentes son monómeros de alfa-D-glucosa.

15 Los términos "dextrano", "polímero de dextrano", "compuesto de dextrano" y similares se usan en la presente memoria de forma intercambiable y se refieren a alfa-glucanos ramificados complejos que generalmente comprenden cadenas sustancialmente (mayoritariamente) de monómeros de glucosa con enlaces alfa-1,6, con cadenas laterales (ramificaciones) unidas principalmente mediante enlaces alfa-1,3. El término "dextrano de gelificación" en la presente memoria se refiere a la capacidad de uno o más dextranos descritos en la presente memoria para formar una disolución viscosa o composición de tipo gel (i) durante la síntesis de dextrano enzimática y, opcionalmente, (ii) cuando dicho dextrano sintetizado es aislado (p.ej., >90% puro) y colocado después en una composición acuosa.

20 Las "cadenas largas" de dextrano en la presente memoria pueden comprender "enlaces sustancialmente [o mayoritariamente] alfa-1,6-glucosídicos", lo que significa que pueden presentar al menos aproximadamente un 98,0% de enlaces alfa-1,6-glucosídicos en algunos aspectos. En la presente memoria el dextrano puede comprender una "estructura ramificante" (estructura ramificada) en algunos aspectos. Se contempla que en dicha estructura, se ramifiquen cadenas largas a partir de otras cadenas largas, probablemente de un modo iterativo (p.ej., una cadena
25 larga puede ser una ramificación de otra cadena larga, que a su vez puede ella misma ser una ramificación de otra

cadena larga, etcétera). Se contempla que las cadenas largas de dicha estructura pueden ser “de longitud similar”, lo que significa que la longitud (el DP [grado de polimerización] de la menos el 70% de todas las cadenas largas de una estructura ramificada se encuentra en el intervalo de más/menos 30% de la longitud media de todas las cadenas largas de la estructura ramificada.

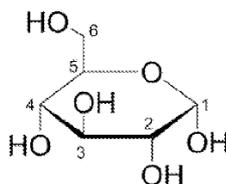
El dextrano en algunas realizaciones también puede comprender “cadenas cortas” que se ramifican desde cadenas largas, presentando típicamente una longitud de uno a tres monómeros de glucosa, y que comprenden menos de aproximadamente el 10% de los monómeros de glucosa de un polímero de dextrano. Dichas cadenas cortas típicamente comprenden enlaces alfa-1,2-, alfa-1,3-, y/o alfa-1,4-glucosídicos (se cree que también puede haber un pequeño porcentaje de enlaces que no sean alfa-1,6 en las cadenas largas en algunos aspectos).

Los términos “enlace glicosídico” y “unión glicosídica” se usan de forma intercambiable en la presente memoria y se refieren al enlace covalente que une una molécula de carbohidrato con otra molécula de carbohidrato. Los términos “enlace glucosídico” y “unión glucosídica” se usan de forma intercambiable en la presente memoria y se refieren a un enlace glicosídico entre dos moléculas de glucosa. El término “enlace alfa-1,6-glucosídico” tal como se usa en la presente memoria se refiere al enlace covalente que une moléculas de alfa-D-glucosa unas con otras a través de los carbonos 1 y 6 de anillos de alfa-D-glucosa adyacentes. El término “enlace alfa-1,3-glucosídico” tal como se usa en la presente memoria se refiere al enlace covalente que une moléculas de alfa-D-glucosa unas con otras a través de los carbonos 1 y 3 de anillos de alfa-D-glucosa adyacentes. El término “enlace alfa-1,2-glucosídico” tal como se usa en la presente memoria se refiere al enlace covalente que une moléculas de alfa-D-glucosa unas con otras a través de los carbonos 1 y 2 de anillos de alfa-D-glucosa adyacentes. El término “enlace alfa-1,4-glucosídico” tal como se usa en la presente memoria se refiere al enlace covalente que une moléculas de alfa-D-glucosa unas con otras a través de los carbonos 1 y 4 de anillos de alfa-D-glucosa adyacentes. En la presente memoria, “alfa-D-glucosa” se referirá como “glucosa”. Todos los enlaces glucosídicos en la presente memoria son enlaces alfa-glucosídicos, excepto que se especifique de otro modo.

“Glucosa (monómeros de glucosa) unida en las posiciones 1 y 6” en la presente memoria se refiere a un monómero de glucosa de dextrano en el que solo los carbonos 1 y 6 del monómero de glucosa están implicados en los respectivos enlaces glucosídicos con dos monómeros de glucosa adyacentes. Esta definición se aplica igualmente a glucosa (i) “unida en las posiciones 1 y 3”, y (ii) “unida en las posiciones 1 y 4”, teniendo en cuenta, consecuentemente, las diferentes posiciones de carbono en cada respectivo enlace.

“Glucosa (monómeros de glucosa) unida en las posiciones 1, 3 y 6” en la presente memoria se refiere a un monómero de glucosa de dextrano en el que los carbonos de las posiciones 1, 3 y 6 del monómero de glucosa están implicados en los respectivos enlaces glucosídicos con tres monómeros de glucosa adyacentes. Una glucosa unida solo en las posiciones 1, 3 y 6 es un punto de ramificación. Esta definición se aplica igualmente a glucosa unida en (i) las posiciones 1, 2 y 6, y (ii) las posiciones 1, 4 y 6, pero teniendo en cuenta, consecuentemente, las diferentes posiciones de carbono implicadas en cada respectivo enlace.

Las posiciones de glucosa (posiciones de carbonos en la glucosa) 1, 2, 3, 4 y 6 en la presente memoria son como es conocido en la técnica (mostradas en la siguiente estructura):



El perfil de enlaces glicosídicos de un dextrano en la presente memoria puede determinarse usando cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, se puede determinar el perfil de enlaces usando métodos que emplean espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) (p.ej., RMN de ^{13}C o RMN de ^1H). Éstos y otros métodos que pueden usarse se describen en *Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications* (S. W. Cui, Ed., Capítulo 3, S. W. Cui, Structural Analysis of Polysaccharides, Taylor & Francis Group LLC, Boca Raton, FL, 2005), que se incorpora a la presente memoria a modo de referencia.

El término “sacarosa” en la presente memoria se refiere a un disacárido no reductor compuesto por una molécula de alfa-D-glucosa y una molécula de beta-D-fructosa unidas mediante un enlace alfa-1,2-glicosídico. La sacarosa se conoce comúnmente como azúcar de mesa.

El “peso molecular” del dextrano en la presente memoria se puede representar como un peso molecular promedio en número (Mn) o como un peso molecular promedio en peso (Mw), cuyas unidades son Daltons o gramos/mol. Alternativamente, el peso molecular puede representarse como DPw (grado de polimerización promedio en peso) o DPn (grado de polimerización promedio en número). En la técnica se conocen varios medios para realizar la medición

de dichos pesos moleculares, tal como cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC), cromatografía de exclusión de tamaño (SEC), o cromatografía de permeación de gel (GPC).

El término "radio de giro" (Rg) en la presente memoria se refiere al radio medio del dextrano, y se calcula como la distancia de raíz cuadrada media de los componentes (átomos) de la molécula de dextrano respecto al centro de gravedad de la molécula. Rg puede proporcionarse en unidades de Angstroms o nanómetros (nm), por ejemplo. El "radio de giro promedio-z" del dextrano se refiere en la presente memoria al Rg de dextrano medido usando dispersión de luz (p.ej., MALS). Los métodos para medir el Rg promedio-z son conocidos y pueden usarse en la presente memoria, consecuentemente. Por ejemplo, el Rg promedio-z puede medirse como se describe en la Patente de EE.UU. nº 7531073, las Publicaciones de Solicitud de Patente de EE.UU. nº 2010/0003515 y 2009/0046274, Wyatt (*Anal. Chim. Acta* 272: 1-40), y Mori y Barth (*Size Exclusion Chromatography*, Springer-Verlag, Berlín, 1999), todos los cuales se incorporan a la presente memoria a modo de referencia.

Los términos "enzima glucosiltransferasa", "enzima gtf", "catalizador enzimático gtf", "gtf", "glucansacarasa" y similares, se usan en la presente memoria de forma intercambiable. La actividad de una enzima gtf en la presente memoria cataliza la reacción de la sacarosa sustrato para fabricar los productos glucano y fructosa. Una enzima gtf que produce un dextrano (un tipo de glucano) también puede referirse como dextrantransferasa. Otros productos (subproductos) de una reacción gtf pueden incluir glucosa (donde la glucosa es hidrolizada a partir del complejo intermedio de glucosil-enzima gtf), y diversos oligosacáridos solubles (p.ej., DP2-DP7) tales como la leucrosa. Las formas silvestres de las enzimas glucosiltransferasas generalmente contienen (en la dirección N-terminal o C-terminal) un péptido señal, un dominio variable, un dominio catalítico, y un dominio de unión a glucano. En la presente memoria un gtf se clasifica según la familia de glicosido hidrolasa 70 (GH70) según la base de datos CAZy (*Carbohydrate-Active EnZymes*) (Cantarel et al., *Nucleic Acids Res.* 37: D233-238, 2009).

Los términos "dominio catalítico de glucosiltransferasa" y "dominio catalítico" se usan de forma intercambiable en la presente memoria y se refieren al dominio de una enzima glucosiltransferasa que proporciona actividad productora de glucano a la enzima glucosiltransferasa.

Los términos "reacción gtf", "disolución de reacción gtf", "reacción de glucosiltransferasa", "reacción enzimática", "reacción de síntesis de dextrano", "reacción de dextrano" y similares, se usan de forma intercambiable en la presente memoria y se refieren a una reacción que es llevada a cabo por una enzima glucosiltransferasa. Una reacción gtf tal como se usa en la presente memoria generalmente se refiere a una reacción que comprende inicialmente al menos una enzima glucosiltransferasa activa en una disolución que comprende sacarosa y agua, y opcionalmente otros componentes. Otros componentes que pueden estar presentes en una reacción gtf después de que haya comenzado incluyen fructosa, glucosa, oligosacáridos solubles (p.ej., DP2-DP7) tales como leucrosa, y productos de dextrano. Es en una reacción gtf donde se lleva a cabo la etapa de poner en contacto agua, sacarosa y una enzima glucosiltransferasa. El término "condiciones de reacción gtf adecuadas" tal como se usa en la presente memoria, se refiere a las condiciones de reacción gtf que promueven la conversión de sacarosa en dextrano a través de una actividad de enzima glucosiltransferasa. En la presente memoria, una reacción gtf no se produce de forma natural.

Una reacción gtf de "control", tal como se usa en la presente memoria, se puede referir a una reacción que usa una glucosiltransferasa que no comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos un 90% a SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 13, o SEQ ID NO: 17. Todas las otras características (p.ej., concentración de sacarosa, temperatura, pH, tiempo) de una disolución de reacción de control pueden ser las mismas que la reacción con la que se está comparando.

El "porcentaje de sólido seco" de una reacción gtf se refiere al % p/p de todos los azúcares de una reacción gtf. El porcentaje de sólido seco se puede calcular, por ejemplo, en base a la cantidad de sacarosa usada para preparar la reacción.

El "rendimiento" de dextrano obtenido en una reacción gtf en la presente memoria representa el peso de producto de dextrano expresado como porcentaje del peso de sustrato de sacarosa que es convertido en la reacción. Por ejemplo, si en una disolución de reacción se convierten 100 g de sustrato de sacarosa en productos, y 10 g de los productos son dextrano, el rendimiento de dextrano sería del 10%. Este cálculo de rendimiento se puede considerar como una medida de la selectividad de la reacción hacia dextrano.

Los términos "porcentaje en volumen", "volumen porcentual", "% vol", "% v/v" y similares se usan de forma intercambiable en la presente memoria. El porcentaje en volumen de un soluto en una disolución puede determinarse usando la fórmula: [(volumen de soluto)/(volumen de disolución)] x 100%.

Los términos "porcentaje en peso", "peso porcentual (% p)", "porcentaje peso-peso (% p/p)" y similares se usan de forma intercambiable en la presente memoria. El porcentaje en peso se refiere al porcentaje de un material en base másica, que está comprendido en una composición, mezcla o disolución.

El término "aumento" tal como se usa en la presente memoria se puede referir a una cantidad o actividad que es al menos aproximadamente 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%,

19%, 20%, 50%, 100%, o 200% mayor que la cantidad o actividad con la cual se compara la cantidad o actividad aumentada. Los términos “aumentado”, “elevado”, “potenciado”, “mayor que”, “mejorado” y similares se usan de forma intercambiable en la presente memoria.

5 Los términos “polinucleótido”, “secuencia de polinucleótido” y “secuencia de ácido nucleico” se usan de forma intercambiable en la presente memoria. Dichos términos abarcan secuencias de nucleótidos y similares. Un polinucleótido puede ser un polímero de ADN o ARN que es de cadena sencilla o de cadena doble, que opcionalmente contiene bases de nucleótido sintéticas, no naturales o alteradas. Un polinucleótido puede comprender uno o más segmentos de ADNc, ADN genómico, ADN sintético, o mezclas de los mismos.

10 El término “gen” tal como se usa en la presente memoria se refiere a una secuencia de polinucleótido de ADN que expresa un ARN (el ARN se transcribe a partir de la secuencia de polinucleótido de ADN) de una región codificadora (secuencia codificadora), ARN que puede ser ARN mensajero (que codifica una proteína) o ARN que no codifica una proteína. Un gen puede referirse a la región codificadora solo, o puede incluir secuencias reguladoras por encima y/o por debajo de la región codificadora (p.ej., promotores, regiones 5' no traducidas, regiones de terminador de la transcripción 3'). Una región codificadora que codifica una proteína puede referirse alternativamente en la presente memoria como “marco de lectura abierto” (ORF). Un gen que es “nativo” o “endógeno” se refiere a un gen tal cual se encuentra en la naturaleza con sus propias secuencias reguladoras; dicho gen se localiza en su ubicación natural en el genoma de una célula hospedante. Un gen “quimérico” se refiere a cualquier gen que no es un gen nativo, que comprende secuencias reguladoras y codificadoras que no se encuentran juntas en la naturaleza (es decir, las regiones reguladoras y codificadoras son heterólogas unas con las otras). Por consiguiente, un gen quimérico puede comprender secuencias reguladoras y secuencias codificadoras derivadas de la misma fuente, pero dispuestas de un modo diferente al que se da en la naturaleza. Un gen “extraño” o “heterólogo” se refiere a un gen que se introduce en un organismo hospedante mediante transferencia génica. Los genes extraños pueden comprender genes nativos insertados en un organismo no nativo, genes nativos introducidos en una nueva localización dentro del hospedante nativo, o genes quiméricos. Las secuencias de polinucleótido de determinadas realizaciones descritas en la presente memoria son heterólogas. Un “transgen” es un gen que ha sido introducido en el genoma mediante un procedimiento de transformación. Un marco de lectura abierto “optimizado para codón” tiene su frecuencia de uso de codón designada para imitar la frecuencia del uso de codón preferido de la célula hospedante.

30 El término “recombinante” o “heterólogo” tal como se usa en la presente memoria se refiere a una combinación artificial de dos segmentos de secuencia que de otro modo estarían separados, p.ej., mediante síntesis química o mediante la manipulación de segmentos aislados de ácidos nucleicos mediante técnicas de ingeniería genética. Los términos “recombinante”, “transgénico”, “transformado”, “diseñado” o “modificado para expresión génica exógena” se usan de forma intercambiable en la presente memoria.

Una secuencia de aminoácidos o una secuencia de polinucleótidos nativa existe de forma natural, mientras que una secuencia de aminoácidos no nativa o una secuencia de polinucleótidos no nativa no existe en la naturaleza.

40 “Secuencias reguladoras” tal como se usa en la presente memoria se refiere a secuencias de nucleótido localizadas aguas arriba de un sitio de inicio de la transcripción génica (p.ej., un promotor), regiones no traducidas 5', y regiones no codificadoras 3', y que pueden influir en la transcripción, procesado o estabilidad, o en la traducción de un ARN transcrito a partir del gen. Las secuencias reguladoras en la presente memoria pueden incluir promotores, potenciadores, silenciadores, secuencias líder no traducidas 5', intrones, secuencias de reconocimiento de poliadenilación, sitios de procesamiento de ARN, sitios de unión de efectores, estructuras tallo-bucle, y otros elementos implicados en la regulación de la expresión génica. En la presente memoria uno o más elementos reguladores pueden ser heterólogos con respecto a una región codificadora de la presente memoria.

50 Los métodos para preparar construcciones/vectores recombinantes en la presente memoria pueden seguir técnicas de ADN recombinante y de clonación molecular estándares, como las descritas por J. Sambrook y D. Russell (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3ª Edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001); T.J. Silhavy et al. (*Experiments with Gene Fusions*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1984); y F.M. Ausubel et al. (*Short Protocols in Molecular Biology*, 5ª Ed. Current Protocols, John Wiley and Sons, Inc., NY, 2002).

55 Los términos “identidad de secuencia” o “identidad” tal como se usan en la presente memoria con respecto a secuencias de polinucleótido o polipéptido se refieren a las bases de ácido nucleico o residuos de aminoácido en dos secuencias que son la misma cuando sea alinean para una máxima correspondencia sobre una ventana de comparación especificada. De esta manera, “porcentaje de identidad de secuencia” o “porcentaje de identidad” se refiere al valor determinado comparando dos secuencias alineadas de forma óptima sobre una ventana de comparación, en donde la porción de la secuencia de polinucleótido o polipéptido en la ventana de comparación puede comprender adiciones o eliminaciones (es decir, huecos) en comparación con la secuencia de referencia (que no comprenden adiciones o eliminaciones) para un alineamiento óptimo de las dos secuencias. El porcentaje se calcula determinando el número de posiciones en las cuales la base de ácido nucleico idéntica o el residuo de aminoácido idéntico aparece en ambas secuencias, para dar lugar al número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones de la ventana de comparación y multiplicando los resultados por 100 para dar lugar al

porcentaje de identidad de secuencia. Cabe destacar que, cuando se calcula la identidad de secuencia entre una secuencia de ADN y una secuencia de ARN, los residuos de T de la secuencia de ADN se alinean, y pueden considerarse "idénticos", con los residuos de U de la secuencia de ARN. Para los propósitos de la determinación de la complementariedad porcentual del primer y segundo polinucleótidos, uno puede obtener ésta determinando (i) el porcentaje de identidad entre el primer polinucleótido y la secuencia de complemento del segundo polinucleótido (o viceversa), por ejemplo, y/o (ii) el porcentaje de bases entre el primer y el segundo polinucleótidos que crearían pares de bases canónicas de Watson y Crick.

Por ejemplo, puede usarse el algoritmo "Basic Local Alignment Search Tool" (BLAST), que se encuentra disponible online en la página web del "National Center for Biotechnology Information" (NCBI), para medir el porcentaje de identidad entre dos o más de las secuencias de polinucleótidos (algoritmo BLASTN) o secuencias de polipéptido (algoritmo BLASTP) descritas en la presente memoria. Alternativamente, el porcentaje de identidad entre secuencias se puede obtener usando un algoritmo Clustal (p.ej., ClustalW, ClustalV o Clustal-Omega). Para alineamientos múltiples que usan un método Clustal de alineamiento, los valores por defecto pueden corresponder a una GAP PENALTY = 10 y una GAP LENGTH PENALTY = 10. Los parámetros por defecto para los alineamientos por pares y el cálculo del porcentaje de identidad de secuencias de proteína usando un método Clustal pueden ser KTUPLE = 1, GAP PENALTY = 3, WINDOW = 5 y DIAGONALS SAVED = 5. Para ácidos nucleicos, estos parámetros pueden ser KTUPLE = 2, GAP PENALTY = 5, WINDOW = 4 y DIAGONALS SAVED = 4. De forma alternativa, el porcentaje de identidad entre secuencias se puede obtener usando un algoritmo EMBOSS (p.ej., aguja) con parámetros tales como GAP OPEN = 10, GAP EXTEND = 0.5, END GAP PENALTY = false, END GAP OPEN = 10, END GAP EXTEND = 0.5 usando una matriz BLOSUM (p.ej., BLOSUM62).

En la presente memoria se describen varias secuencias de aminoácido de polipéptido y secuencias de polinucleótido como características de determinadas realizaciones. Se puede usar variantes de dichas secuencias que tienen una identidad de al menos aproximadamente 70-85%, 85-90% o 90%-95% con respecto a las secuencias descritas en la presente memoria. Alternativamente, una variante de secuencia de aminoácido o de secuencia de polinucleótido puede presentar una identidad de al menos 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99%, con respecto a una secuencia descrita en la presente memoria. La secuencia de aminoácido variante o la secuencia de polinucleótido variante puede presentar la misma función/actividad que la secuencia descrita, o al menos aproximadamente un 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de la función/actividad de la secuencia descrita. Cualquier secuencia de aminoácido de polipéptido descrita en la presente memoria que no comience con una metionina puede comprender además típicamente al menos una metionina de inicio en el extremo N de la secuencia de aminoácidos. Cualquier secuencia de aminoácido de polipéptido descrita en la presente memoria que comience con una metionina opcionalmente puede considerarse sin dicho residuo de metionina (es decir, una secuencia de polipéptido puede referirse en referencia al residuo de la posición 2 respecto al residuo C-terminal de la secuencia).

El término "aislado" tal como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier componente celular que ha sido purificado completa o parcialmente a partir de su fuente nativa (p.ej., una molécula de polinucleótido o polipéptido aislada). En algunos casos, una molécula de polinucleótido o polipéptido aislada es parte de una composición más grande, un sistema tampón o una mezcla de reactivos. Por ejemplo, una molécula de polinucleótido o polipéptido aislada puede estar comprendida en una célula u organismo de un modo heterólogo. Otro ejemplo es una enzima o reacción de glucosiltransferasa aislada. "Aislado" en la presente memoria también puede caracterizar un compuesto de dextrano. Como tal, los compuestos de dextrano de la presente descripción son compuestos sintéticos, preparados por el hombre, y/o exhiben propiedades que no se cree que existan de forma natural.

Una "disolución acuosa" en la presente memoria tiene un componente líquido que comprende al menos aproximadamente un 10% p/p de agua, por ejemplo. Los ejemplos de composiciones acuosas incluyen mezclas, disoluciones, dispersiones (p.ej., dispersiones coloidales), suspensiones y emulsiones, por ejemplo. Las composiciones acuosas en determinadas realizaciones comprenden dextrano que se disuelve en la composición acuosa (es decir, en disolución, y que típicamente presenta viscosidad).

Tal como se usa en la presente memoria, el término "dispersión coloidal" se refiere a un sistema heterogéneo que tiene una fase dispersa y un medio de dispersión, es decir, partículas insolubles dispersas microscópicamente son suspendidas en otra sustancia (p.ej., una composición acuosa tal como agua o una disolución acuosa). Un ejemplo de una dispersión coloidal en la presente memoria es un hidrocoloide. Todas las partículas, o una porción, de una dispersión coloidal tal como un hidrocoloide pueden comprender determinados compuestos de dextrano de la presente descripción. Los términos "dispersante" y "agente de dispersión" se usan en la presente memoria de forma intercambiable para referirse a un material que promueve la formación y/o estabilización de una dispersión.

Los términos "hidrocoloide" e "hidrogel" se usan en la presente memoria de forma intercambiable. Un hidrocoloide se refiere a un sistema de coloide en el que el medio de dispersión es agua.

El término "disolución acuosa" en la presente memoria se refiere a una disolución en la que el disolvente comprende agua. Una disolución acuosa puede servir como dispersante en determinados aspectos de la presente memoria. Los

compuestos de dextrano de determinadas realizaciones pueden disolverse, dispersarse, o mezclarse con una disolución acuosa.

5 Los términos “dispersante”, “agente de dispersión” y similares se usan en la presente memoria de forma intercambiable para referirse a un material que promueve la formación y la estabilización de una dispersión de una sustancia en otra. Una “dispersión” en la presente memoria se refiere a una composición acuosa que comprende una o más partículas (p.ej., cualquier ingrediente de un producto de cuidado personal, producto farmacéutico, producto alimentario, producto doméstico, o producto industrial descrito en la presente memoria) que están dispersas, o dispersas uniformemente, por toda la composición acuosa.

10 El término “viscosidad” tal como se usa en la presente memoria se refiere a la medida del grado en el que un fluido o una composición acuosa tal como un hidrocoloide resiste una fuerza que tiende a hacerlo fluir. Las diversas unidades de viscosidad que pueden usarse en la presente memoria incluyen el centipoise (cPs) y Pascal-segundo (Pa·s). Un centipoise es la centésima parte de un poise; un poise es igual a $0,100 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$. Por tanto, los términos “modificador de la viscosidad”, “agente modificador de viscosidad” y similares tal como se usan en la presente memoria se refieren a cualquier cosa que pueda alterar/modificar la viscosidad de un fluido o composición acuosa.

15 El término “comportamiento de aligeramiento a cizalla” tal como se usa en la presente memoria se refiere a una disminución de la viscosidad de una composición acuosa al aumentar la tensión rasante. El término “comportamiento de espesamiento a cizalla” tal como se usa en la presente memoria se refiere a un aumento de la viscosidad de una composición acuosa al aumentar la tensión rasante. “Tensión rasante” en la presente memoria se refiere a la velocidad a la que se aplica una deformación de cizalla progresiva a una composición acuosa. Una deformación de cizalla puede aplicarse rotacionalmente.

20 El término “poner en contacto” tal como se usa en la presente memoria en relación a los métodos de aumento de la viscosidad de una composición acuosa se refiere a cualquier acción que dé como resultado la unión de una composición acuosa y un dextrano. La puesta en contacto se puede llevar a cabo mediante cualquier medio conocido en la técnica, tal como disolución, mezcla, agitación, u homogeneización, por ejemplo.

25 Los términos “pastelería”, “dulce”, “caramelos”, “golosinas” y similares se usan de forma intercambiable en la presente memoria. Un producto de pastelería se refiere a cualquier producto alimentario aromatizado que presenta un sabor dulce, cuya consistencia puede ser dura o blanda, que es consumido típicamente chupando y/o masticando en la cavidad oral. Un producto de pastelería puede contener azúcar o también puede ser sin azúcar.

30 Los términos “tela”, “textil”, “pañó” y similares se usan de forma intercambiable en la presente memoria para referirse a un material tejido que presenta un entramado de fibras naturales y/o artificiales. Dichas fibras pueden hilo, por ejemplo.

35 Una “composición de cuidado de tela” en la presente memoria es cualquier composición adecuada para tratar tela en algún modo. Los ejemplos de dicha composición incluyen detergentes de lavandería y suavizantes de tejido.

40 Los términos “detergente industrial”, “detergente para todo” y similares se usan de forma intercambiable en la presente memoria para referirse a un detergente útil para el lavado regular de textiles blancos y de color a cualquier temperatura. Los términos “detergente delicado” o “detergente para tejidos finos” se usan de forma intercambiable en la presente memoria para referirse a un detergente útil en el cuidado de tejidos delicados tales como viscosa, lana, seda, microfibras u otros tejidos que requieran un cuidado especial. “Cuidado especial” puede incluir condiciones de uso de exceso de agua, baja agitación y/o sin lejía, por ejemplo.

45 Una “composición detergente” en la presente memoria típicamente comprende al menos un tensioactivo (compuesto detergente) y/o al menos un vehículo. Un “tensioactivo” en la presente memoria se refiere a una sustancia que tiende a reducir la tensión superficial de un líquido en el que se disuelve la sustancia. Un tensioactivo puede actuar como detergente, agente humectante, emulsionante, agente espumante y/o dispersante, por ejemplo.

50 Los términos “agente anti-redeposición”, “agente anti-redeposición de manchas”, “agente anti-engrisecimiento” y similares en la presente memoria se refieren a agentes que ayudan a evitar que se redepositen manchas en la ropa en el agua de lavado de colada una vez que dichas manchas han sido eliminadas, evitando por tanto el engrisecimiento/decoloración de la colada. Los agentes anti-redeposición pueden actuar ayudando a mantener las manchas dispersas en el agua de lavado y/o bloqueando la unión de las manchas sobre las superficies de tejidos.

55 Una “composición de cuidado oral” en la presente memoria es cualquier composición adecuada para tratar una superficie blanda o dura en la cavidad oral, tal como superficies dentales (dientes) y/o superficies de las encías.

60 El término “adsorción” en la presente memoria se refiere a la adhesión de un compuesto (p.ej., en la presente memoria dextrano) a la superficie de un material.

65

Los términos “celulasa”, “enzima celulasa” y similares se usan de forma intercambiable en la presente memoria para referirse a una enzima que hidroliza enlaces beta-1,4-D-glicosídicos de la celulosa, degradando parcial o totalmente de este modo la celulosa. Alternativamente, la celulasa se puede referir como “beta-1,4-glucanasa”, por ejemplo, y puede presentar actividad de endocelulasa (EC 3.2.1.4), actividad de exocelulasa (EC 3.2.1.91), o actividad de celobiasa (EC 3.2.1.21). “Celulosa” se refiere a un polisacárido insoluble que tiene una cadena lineal de unidades monoméricas de D-glucosa unidas mediante enlace beta-1,4.

Existe interés por desarrollar nuevos polímeros de dextrano de alta viscosidad, que sean más susceptibles a aplicaciones de gelificación. A su vez, también existe interés en identificar enzimas glucosiltransferasa que pueden sintetizar dichos polímeros de dextrano.

Las realizaciones de la presente descripción se refieren a una composición que comprende:

- (i) aproximadamente 87-93 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 6;
- (ii) aproximadamente 0,1-1,2 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 3;
- (iii) aproximadamente 0,1-0,7 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 4;
- (iv) aproximadamente 7,7-8,6 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1, 3 y 6; y
- (v) aproximadamente 0,4-1,7 %p/p de glucosa unida en: (a) las posiciones 1, 2 y 6, o (b) las posiciones 1, 4 y 6.

El peso molecular promedio en peso (Mw) y el radio de giro promedio-z de dicho dextrano es de aproximadamente 50-200 millones de Daltons, y de aproximadamente 200-280 nm, respectivamente. Asimismo, dicho dextrano opcionalmente no es un producto de enzima glucosiltransferasa de *Leuconostoc mesenteroides*.

Un ejemplo de dicha composición es una reacción de glucosiltransferasa en la que se sintetiza un dextrano con las anteriores características de enlace, peso y perfil de tamaño. De forma significativa, dicho dextrano exhibe una elevada viscosidad en composiciones acuosas, incluso a concentraciones relativamente bajas del dextrano. Se cree que este perfil de viscosidad elevado es único en comparación con los perfiles de viscosidad de polímeros de dextrano descritos previamente.

En la presente memoria dicho dextrano puede comprender (i) aproximadamente 87-93 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 6; (ii) aproximadamente 0,1-1,2 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 3; (iii) aproximadamente 0,1-0,7 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 4; (iv) aproximadamente 7,7-8,6 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1, 3 y 6; y (v) aproximadamente 0,4-1,7 % p/p de glucosa unida solo en: (a) las posiciones 1, 2 y 6, o (b) las posiciones 1, 4 y 6. En determinadas realizaciones, un dextrano puede comprender (i) aproximadamente 89,5-90,5 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 6; (ii) aproximadamente 0,4-0,9 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 3; (iii) aproximadamente 0,3-0,5 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 4; (iv) aproximadamente 8,0-8,3 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1, 3 y 6; y (v) aproximadamente 0,7-1,4 % p/p de glucosa unida solo en: (a) las posiciones 1, 2 y 6, o (b) las posiciones 1, 4 y 6.

En algunos aspectos de la presente descripción un dextrano puede comprender aproximadamente 87, 87,5, 88, 88,5, 89, 89,5, 90, 90,5, 91, 91,5, 92, 92,5, o 93 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 6. Puede haber aproximadamente 87-92,5, 87-92, 87-91,5, 87- 91, 87-90,5, 87-90, 87,5-92,5, 87,5-92, 87,5-91,5, 87,5-91, 87,5-90,5, 87,5-90, 88-92,5, 88-92, 88-91,5, 88-91, 88-90,5, 88-90, 88,5-92,5, 88,5-92, 88,5-91,5, 88,5-91, 88,5-90,5, 88,5-90, 89-92,5, 89-92, 89-91,5, 89-91, 89-90,5, 89-90, 89,5-92,5, 89,5-92, 89,5-91,5, 89,5-91, o 89,5-90,5 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 6, en algunos casos.

En algunos aspectos un dextrano puede comprender aproximadamente 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, o 1,2 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 3. Puede haber aproximadamente 0,1-1,2, 0,1-1,0, 0,1-0,8, 0,3-1,2, 0,3-1,0, 0,3-0,8, 0,4-1,2, 0,4-1,0, 0,4-0,8, 0,5-1,2, 0,5-1,0, 0,5-0,8, 0,6-1,2, 0,6-1,0, o 0,6-0,8 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 3, en algunos casos.

En algunos aspectos un dextrano puede comprender aproximadamente 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, o 0,7 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 4. Puede haber aproximadamente 0,1-0,7, 0,1-0,6, 0,1-0,5, 0,1-0,4, 0,2-0,7, 0,2-0,6, 0,2-0,5, 0,2-0,4, 0,3-0,7, 0,3-0,6, 0,3- 0,5, o 0,3-0,4 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 4, en algunos casos.

En algunos aspectos un dextrano puede comprender aproximadamente 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, o 8,6 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1, 3 y 6. Puede haber aproximadamente 7,7-8,6, 7,7-8,5, 7,7-8,4, 7,7-8,3, 7,7-8,2, 7,8-8,6, 7,8-8,5, 7,8-8,4, 7,8- 8,3, 7,8-8,2, 7,9-8,6, 7,9-8,5, 7,9-8,4, 7,9-8,3, 7,9-8,2, 8,0-8,6, 8,0-8,5, 8,0-8,4, 8,0-8,3, 8,0-8,2, 8,1-8,6, 8,1-8,5, 8,1-8,1, 8,1-8,3, o 8,1-8,2 % p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1, 3 y 6, en algunos casos.

En algunos aspectos un dextrano puede comprender aproximadamente 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, o 1,7 % p/p de glucosa unida solo en (a) las posiciones 1, 2 y 6, o (b) las posiciones 1, 4 y 6. Puede haber aproximadamente 0,4-1,7, 0,4-1,6, 0,4-1,5, 0,4-1,4, 0,4-1,3, 0,5-1,7, 0,5-1,6, 0,5-1,5, 0,5-1,4, 0,5-1,3, 0,6-1,7, 0,6-1,6,

0,6-1,5, 0,6-1,4, 0,6-1,3, 0,7-1,7, 0,7-1,6, 0,7-1,5, 0,7-1,4, 0,7-1,3, 0,8-1,7, 0,8-1,6, 0,8-1,5, 0,8-1,4, 0,8-1,3 % p/p de glucosa unida solo en (a) las posiciones 1, 2 y 6, o (b) las posiciones 1, 4 y 6, en algunos casos.

5 El perfil de enlaces glucosídicos de dextrano se puede determinar usando dextrano producido según cualquiera protocolo descrito en la presente memoria. Un ejemplo de un protocolo de determinación de enlace adecuado puede ser similar, o igual, al protocolo descrito en el Ejemplo 9: Por ejemplo, una reacción de enzima 0768 gtf que ha sido desactivada calentando la reacción a aproximadamente 70-90 °C (p.ej., 80 °C) durante aproximadamente 5-30 minutos (p.ej., 10 minutos) se coloca en un tubo de diálisis (p.ej., fabricado con celulosa regenerada) con un MWCO de 12-14 kDa (p.ej., Spectra/Por® 4 Dialysis Tubing, Parte nº 132706, Spectrum Laboratories, Inc.). La reacción desactivada se
10 analiza a continuación contra un volumen grande de agua (p.ej., 3-5 L) a aproximadamente 20-25 °C (temperatura ambiente) a lo largo de aproximadamente 4-10 días (p.ej., 7 días); esta agua puede intercambiarse todos los días durante la diálisis. El producto dextrano a continuación es (i) precipitado mezclando la reacción desactivada dializada con aproximadamente 1-2x (1,5x) de volumen de reacción de 100% metanol, (ii) lavado al menos dos veces con el mismo volumen de metanol 100%, y (iii) secado a aproximadamente 40-50 °C (p.ej., 45 °C) (opcionalmente a vacío).
15 Una cantidad soluble de dextrano seco es disuelta en dimetil sulfoxido (DMSO) o DMSO/5% de LiCl, tras lo cual todos los grupos hidroxilo libres son metilados (p.ej., mediante adición secuencial de una suspensión de NaOH/DMSO con iodometano). El dextrano metilado es extraído a continuación (p.ej., en cloruro de metileno) e hidrolizado en las unidades monoméricas usando ácido trifluoroacético acuoso (TFA) a aproximadamente 110-125 °C (p.ej., 120 °C). A continuación, el TFA es evaporado y se realiza la apertura de anillo reductiva usando borodeuteruro sódico. Los grupos hidroxilo creados al hidrolizar los enlaces glicosídicos son acetilados a continuación mediante tratamiento con cloruro de acetilo y TFA a una temperatura de aproximadamente 40-60 °C (p.ej., 50 °C). A continuación, los agentes derivatizantes son evaporados y los monómeros metilados/acetilados resultantes son reconstituídos en acetonitrilo; dicha preparación es analizada a continuación mediante GC/MS usando una columna apropiada (p.ej., biscianopropil cianopropilfenil polisiloxano). El posicionamiento relativo de las funcionalidades de metilo y acetilo proporciona
20 especies con índices de tiempo de retención y espectros de masas distintivos, que pueden compararse con bases de datos publicadas. De este modo, los derivados de las unidades monoméricas indican cómo se unió originalmente cada monómero del polímero de dextrano.

30 Se cree que el dextrano en la presente memoria puede ser una estructura ramificada en la que hay cadenas largas (que contienen principalmente, o únicamente, enlaces alfa-1,6) que se ramifican iterativamente de una a otra (p.ej., una cadena larga puede ser una ramificación de otra cadena larga, que a su vez puede ser ella misma una ramificación de otra cadena larga, etcétera). La estructura ramificada también puede comprender ramificaciones cortas en las cadenas largas; se cree que dichas cadenas cortas están constituidas mayoritariamente por enlaces alfa-1,3 y alfa-1,4, por ejemplo. Los puntos de ramificación del dextrano, tanto de una cadena larga que se ramifica desde otra
35 cadena larga, como de una cadena corta que se ramifica desde una cadena larga, parecen comprender enlaces alfa-1,3, -1,4 o -1,2 desde una glucosa implicada en un enlace alfa-1,6. De media, aproximadamente el 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 15-35%, 15-30%, 15-25%, 15-20%, 20-35%, 20-30%, 20-25%, 25-35%, o 25-30% de todos los puntos de ramificación del dextrano en algunas realizaciones se ramifican en cadenas largas. La mayoría (>98% o 99%) o todos los puntos de ramificación se ramifican en cadenas cortas.

40 Las cadenas largas de una estructura ramificada de dextrano pueden tener una longitud similar en algunos aspectos. Al ser similares en longitud, significa que la longitud (DP) de al menos el 70%, 75%, 80%, 85% o 90% de todas las cadenas largas de una estructura ramificada se encuentra en el intervalo de más/menos 15% (o 10%, 5%) de la longitud media de todas las cadenas largas de la estructura ramificada. En algunos aspectos, la longitud media (longitud promedio) de las cadenas largas es de aproximadamente 10-50 DP (es decir, 10-50 monómeros de glucosa). Por ejemplo, la longitud individual media de las cadenas largas puede ser de aproximadamente 10, 15, 16, 17, 18, 19,
45 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 10-50, 10-40, 10-30, 10-25, 10-20, 15-50, 15-40, 15-30, 15-25, 15-20, 20-50, 20-40, 20-30, o 20-25 DP.

50 Las cadenas largas de dextrano en determinadas realizaciones pueden comprender enlaces sustancialmente alfa-1,6-glucosídicos y una pequeña cantidad (inferior al 2,0%) de enlaces alfa-1,3- y/o alfa-1,4-glucosídicos. Por ejemplo, las cadenas largas de dextrano pueden comprender aproximadamente, o al menos aproximadamente, 98%, 98,25%, 98,5%, 98,75%, 99%, 99,25%, 99,5%, 99,75%, o 99,9% de enlaces alfa-1,6-glucosídicos. Una cadena larga de dextrano en determinadas realizaciones no comprende enlaces alfa-1,4-glucosídicos (es decir, dicha cadena larga
55 presenta principalmente enlaces alfa-1,6 y una pequeña cantidad de enlaces alfa-1,3). Inversamente, una cadena larga de dextrano en algunas realizaciones no comprende enlaces alfa-1,3-glucosídicos (es decir, dicha cadena larga presenta principalmente enlaces alfa-1,6 y una pequeña cantidad de enlaces alfa-1,4). Cualquier cadena larga de dextrano de las anteriores realizaciones puede no comprender además enlaces alfa-1,2-glucosídicos, por ejemplo. En otros aspectos adicionales, una cadena larga de dextrano puede comprender enlaces 100% alfa-1,6-glucosídicos (exceptuando el enlace usado por dicha cadena larga para ramificarse desde otra cadena larga).
60

Las cadenas cortas de una molécula de dextrano en algunos aspectos tienen una longitud de uno a tres monómeros de glucosa y comprenden menos de aproximadamente el 5-10% de todos los monómeros de glucosa del polímero de dextrano. Al menos aproximadamente el 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o todas las cadenas cortas de la presente memoria presentan una longitud de 1-3 monómeros de glucosa. Las cadenas cortas de una
65

molécula de dextrano pueden comprender menos de aproximadamente 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, o 1 % de todos los monómeros de glucosa de la molécula de dextrano, por ejemplo.

Las cadenas cortas de una molécula de dextrano en algunos aspectos pueden comprender enlaces alfa-1,2-, alfa-1,3- y/o alfa-1,4-glucosídicos. Las cadenas cortas, cuando se consideran en conjunto (no individualmente) pueden comprender (i) los tres enlaces mencionados, o (ii) enlaces alfa-1,3- y alfa-1,4-glucosídicos, por ejemplo. Se cree que las cadenas cortas de una molécula de dextrano en la presente memoria pueden ser heterogéneas (es decir, que muestren alguna variación en el perfil de enlaces) u homogéneas (es decir, que compartan un perfil de enlaces similar o igual) con respecto a las otras cadenas cortas del dextrano.

El dextrano en determinadas realizaciones puede tener un Mw de aproximadamente, o de al menos aproximadamente, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, o 200 millones (o cualquier número entero entre 50 y 200 millones) (o cualquier rango entre dos de dichos valores). El Mw del dextrano puede ser de aproximadamente 50-200, 60-200, 70-200, 80-200, 90-200, 100-200, 110-200, 120-200, 50-180, 60-180, 70-180, 80-180, 90-180, 100-180, 110-180, 120-180, 50-160, 60-160, 70-160, 80-160, 90-160, 100-160, 110-160, 120-160, 50-140, 60-140, 70-140, 80-140, 90-140, 100-140, 110-140, 120-140, 50-120, 60-120, 70-120, 80-120, 90-120, 100-120, 110-120, 50-110, 60-110, 70-110, 80-110, 90-110, 100-110, 50-100, 60-100, 70-100, 80-100, 90-100, o 95-105 millones, por ejemplo. Cualquiera de estos Mw's se puede representar en DPw, si se desea, dividiendo el Mw entre 162,14.

El radio de giro promedio-z de un dextrano en la presente memoria puede ser de aproximadamente 200-280 nm. Por ejemplo, el Rg promedio-z puede ser de aproximadamente 205, 210, 215, 220, 225, 230, 235, 240, 245, 250, 255, 260, 265, 270, 275, o 280 nm (o cualquier número entero entre 200-280 nm). Como ejemplos adicionales, el Rg promedio-z puede ser de aproximadamente 200-280, 200-270, 200-260, 200-250, 200-240, 200-230, 220-280, 220-270, 220-260, 220-250, 220-240, 220-230, 230-280, 230-270, 230-260, 230-250, 230-240, 240-280, 240-270, 240-260, 240-250, 250-280, 250-270, o 250-260 nm.

El Mw y/o el Rg promedio-z del dextrano en algunos aspectos pueden medirse siguiendo un protocolo similar, o igual, al protocolo descrito en el Ejemplo 9. Por ejemplo, un Mw y/o Rg promedio-z en la presente memoria pueden medirse disolviendo primero el dextrano producido por una 0768 gtf a 0,4-0,6 mg/mL (p.ej., ~0,5 mg/mL) en tampón de Tris(hidroximetil)-aminometano 0,05-1,0 M (p.ej., ~0,075 M) con 150-250 ppm (p.ej., ~200 ppm) de NaN₃. La solvatación de dextrano seco puede lograrse agitando durante 12-18 horas a 45-55 °C (p.ej., ~50 °C). La disolución de dextrano resultante puede introducirse en un aparato cromatográfico de inyección de flujo adecuado que comprende un módulo de separación (p.ej., el módulo de separación Alliance™ 2695 de Waters Corporation, Milford, MA) acoplado a tres detectores en línea: un refractómetro diferencial (p.ej., detector de índice de refracción Waters 2414), un fotómetro de dispersión de luz multiángulo (MALS) (p.ej., fotómetro MALS multiángulo de 18 ángulos Heleos™-2) equipado con un detector de dispersión de luz cuasielástico (QELS) (p.ej., detector QELS de Wyatt Technologies, Santa Barbara, CA), y un viscosímetro capilar diferencial (p.ej., viscosímetro capilar diferencial ViscoStar™ de Wyatt). Se pueden usar dos columnas de exclusión de tamaño adecuadas (p.ej., las columnas AQUAGEL-OH GUARD de Agilent Technologies, Santa Clara, CA) se puede usar para separar el pico del polímero de dextrano del pico de inyección, donde la fase móvil puede ser la misma que el disolvente de la muestra (ver anterior), el caudal puede ser de aproximadamente 0,2 mL/min, los volúmenes de inyección pueden ser de aproximadamente 0,1 mL, y la temperatura de columna puede ser de aproximadamente 30°C. Se puede usar el software adecuado para la adquisición de datos (p.ej., el software Empower™ versión 3 de Waters) y para la reducción de datos multidetector (software Astra™ versión 6 de Wyatt). Los datos MALS pueden proporcionar el peso molecular promedio en peso (Mw) y el radio de giro promedio-z (Rg), y los datos QELS pueden proporcionar el radio hidrodinámico promedio-z, por ejemplo.

En la presente memoria un dextrano puede ser un producto de una enzima glucosiltransferasa que comprende, o que consiste en, una secuencia de aminoácidos que idéntica al 100%, o al menos idéntica al 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:13, o SEQ ID NO:17 (y tiene actividad gtf). Los ejemplos no limitativos de una enzima glucosiltransferasa que comprende SEQ ID NO:1 (o una secuencia relacionada) incluyen enzimas glucosiltransferasa que comprenden, o que consisten en, una secuencia de aminoácidos que es idéntica al 100%, o al menos al 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la SEQ ID NO:2 (y tiene actividad gtf). La producción de dextrano se puede lograr mediante una reacción gtf como se describe en la presente memoria, por ejemplo. El dextrano descrito en la presente descripción detallada (p.ej., peso molecular, enlace y perfil de ramificación) puede caracterizarse opcionalmente como un producto de una enzima glucosiltransferasa que comprende o que consiste en la SEQ ID NO:1 o 2 (o una secuencia relacionada de las mismas, que es al menos idéntica al 90% [ver arriba]). En algunas otras realizaciones, una enzima glucosiltransferasa comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es idéntica al 100%, o al menos al 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la porción secretada (es decir, eliminado el péptido señal) de la secuencia de aminoácido codificada por SEQ ID NO:6, 10, 14 o 18.

En la presente memoria una enzima glucosiltransferasa puede proceder de diversas fuentes microbianas, tal como una bacteria o un hongo. Los ejemplos de enzimas glucosiltransferasa bacterianas son las derivadas de la especie *Streptococcus*, la especie *Leuconostoc*, la especie *Lactobacillus*, o la especie *Weissella*. Los ejemplos de la especie

Streptococcus incluyen *S. sobrinus*, *S. downei*, *S. salivarius*, *S. dentirosetti*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. gallolyticus* y *S. sanguinis*. Los ejemplos de la especie *Leuconostoc* incluyen *L. pseudomesenteroides*, *L. mesenteroides*, *L. amelibiosum*, *L. argentinum*, *L. carnosum*, *L. citreum*, *L. cremoris*, *L. dextransicum* y *L. fructosum*. Los ejemplos de la especie *Lactobacillus* incluyen *L. fermentum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. sakei*, *L. brevis*, *L. buchneri* y *L. reuteri*. Los ejemplos de la especie *Weissella* incluyen *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. halotolerans*, *W. hellenica*, *W. kandleri*, *W. kimchii*, *W. koreensis*, *W. minor*, *W. paramesenteroides*, *W. soli* y *W. thailandensis*. Una glucosiltransferasa en algunos aspectos no procede de *L. mesenteroides*.

Los ejemplos de enzimas glucosiltransferasa en la presente memoria pueden ser cualquiera de las secuencias de aminoácido descritas en la presente memoria y que además incluyen 1-300 (o cualquier número entero entre medias [p.ej., 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50]) residuos en el extremo N y/o el extremo C. Dichos residuos adicionales pueden proceder de una secuencia silvestre correspondiente a partir de la cual se deriva la enzima glucosiltransferasa, o puede ser una secuencia heteróloga tal como una etiqueta de epítipo (en el extremo N o el C) o un péptido señal heterólogo (en el extremo N), por ejemplo.

Una enzima glucosiltransferasa usada para producir dextrano en la presente memoria típicamente está en una forma madura que carece de un péptido señal N-terminal. Un sistema de expresión para producir una enzima glucosiltransferasa madura en la presente memoria puede emplear un polinucleótido que codifica enzima que comprende además comprende una secuencia que codifica un péptido señal N-terminal para dirigir la secreción extracelular. El péptido señal en dichas realizaciones es separado de la enzima durante el proceso de secreción. El péptido señal puede ser nativo o heterólogo para la glucosiltransferasa. Un ejemplo de péptido señal útil en la presente memoria es uno procedente de una especie bacteriana (p.ej., una especie *Bacillus* tal como *B. subtilis*) o una especie fúngica. Un ejemplo de péptido señal bacteriano es un péptido señal aprE, tal como uno de *Bacillus* (p.ej., *B. subtilis*, véase Vogtentanz et al., *Protein Expr. Purif.* 55: 40-52, que se incorpora a la presente memoria a modo de referencia).

Las SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:13 y SEQ ID NO:17 son ejemplos de enzimas glucosiltransferasa maduras que carecen de un péptido señal N-terminal. Puestos que éstas y otras secuencias de aminoácido relacionadas no comienzan con un residuo de metionina, debe entenderse que preferiblemente se añade una metionina de inicio N-terminal a la secuencia (directamente o a través de una secuencia de aminoácidos heteróloga interviniente, tal como un epítipo) si expresa cualquiera de dichas enzimas sin usar un péptido señal (tal como con un sistema de expresión en el que la enzima es expresada intracelularmente y se obtiene a partir de un lisato celular).

Una enzima glucosiltransferasa en determinadas realizaciones puede producirse por cualquier medio conocido en la técnica. Por ejemplo, una enzima glucosiltransferasa puede producirse recombinantemente en un sistema de expresión heterólogo, tal como un sistema de expresión heterólogo microbiano. Los ejemplos de sistemas de expresión heterólogos incluyen sistemas de expresión bacterianos (p.ej., *E. coli* tal como TOP10, MG1655 o BL21 DE3; *Bacillus* sp. tal como *B. subtilis*) y eucarióticos (p.ej., levaduras tales como *Pichia* sp. y *Saccharomyces* sp.).

Una enzima glucosiltransferasa descrita en la presente memoria puede usarse en cualquier estado de purificación (p.ej., pura o no pura). Por ejemplo, la enzima glucosiltransferasa puede purificarse y/o aislarse antes de su uso. Los ejemplos de enzimas glucosiltransferasa que son no puras incluyen aquellos en la forma de un lisato celular. Un lisato o extracto celular puede prepararse a partir de una bacteria (p.ej., *E. coli*) usada para expresar heterológamente la enzima. Por ejemplo, la bacteria puede someterse a disrupción usando una celda de presión French. En realizaciones alternativas, las bacterias pueden homogeneizarse con un homogeneizador (p.ej., APV, Rannie, Gaulin). Una enzima glucosiltransferasa típicamente es soluble en estos tipos de preparaciones. Un lisato, extracto o homogenato celular bacteriano en la presente memoria puede usarse a aproximadamente 0,15-0,3% (v/v) en una reacción para producir dextrano a partir de sacarosa.

Un sistema de expresión génica heterólogo para expresar una enzima glucosiltransferasa en la presente memoria puede diseñarse para secreción de proteína, por ejemplo. Una enzima glucosiltransferasa típicamente comprende un péptido señal en dichas realizaciones. Una enzima glucosiltransferasa en algunas realizaciones no existe en la naturaleza; por ejemplo, en la presente memoria no se considera una enzima que sea secretada de forma natural (es decir, en forma madura) por un microbio (a partir del cual la enzima glucosiltransferasa de la presente memoria podría posiblemente haber sido derivada).

La actividad de una enzima glucosiltransferasa en la presente memoria puede determinarse usando cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, la actividad de enzima glucosiltransferasa puede determinarse midiendo la producción de azúcares reductores (fructosa y glucosa) en una reacción que contiene sacarosa (~50 g/L), dextrano T10 (~1 mg/mL) y tampón de fosfato potásico (~pH 6,5, 50 mM), donde la disolución se mantiene a ~22-25 °C durante ~24-30 horas. Los azúcares reductores pueden medirse añadiendo 0,01 mL de la reacción a una mezcla que contiene NaOH ~1 N y ~0,1% de cloruro de trifeniltetrazolio y a continuación monitorizando el aumento de la absorbancia a DO_{480nm} durante ~cinco minutos. También como ejemplo, en la presente memoria una unidad de una enzima tal como gtf 0768 (que comprende SEQ ID NO:1) puede definirse como la cantidad de enzima requerida para consumir 1 g de sacarosa en 1 hora a 26 °C, pH 6,5, y con 100 g/L de sacarosa.

Un dextrano como el aquí descrito puede ser un producto de una glucosiltransferasa comprendido en una reacción de glucosiltransferasa.

5 La temperatura de una reacción de glucosiltransferasa en la presente memoria puede controlarse, si se desea. En determinadas realizaciones, la temperatura está entre aproximadamente 5 °C y aproximadamente 50 °C. La temperatura en determinadas realizaciones adicionales está entre aproximadamente 20 °C y aproximadamente 40 °C. Alternativamente, la temperatura puede ser aproximadamente 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 °C. La temperatura de una reacción de glucosiltransferasa en la presente memoria puede
10 mantenerse usando diversos medios conocidos en la técnica. Por ejemplo, la temperatura puede mantenerse colocando el recipiente que contiene la reacción en una incubadora de aire o baño de agua fijada a la temperatura deseada.

15 La concentración inicial de sacarosa en una reacción de glucosiltransferasa en la presente memoria puede ser de aproximadamente 20 g/L a 900 g/L, 20 g/L a 400 g/L, 75 g/L a 175 g/L, o 50 g/L a 150 g/L. La concentración inicial de sacarosa puede ser de aproximadamente 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 50-150, 75-125, 90-110, 50-500, 100-500, 200-500, 300-500, 400-500, 50-400, 100-400, 200-400, 300-400, 50-300, 100-300, 200-300, 50-200, 100-200, o 50-100 g/L (o cualquier número entero entre 20 y 900 g/L), por ejemplo. "Concentración inicial de sacarosa" se refiere a la concentración de sacarosa de una reacción
20 gtf justo después de que todos los componentes de reacción hayan sido añadidos (al menos agua, sacarosa, enzima glucosiltransferasa).

25 La sacarosa usada en una reacción de glucosiltransferasa en la presente memoria puede ser altamente pura ($\geq 99,5\%$) o tener cualquier otra pureza o grado. Por ejemplo, la sacarosa puede tener una pureza de al menos 99,0%, o puede ser sacarosa de grado reactivo. Como ejemplo adicional, se puede usar sacarosa refinada de forma incompleta. En la presente memoria la sacarosa refinada incompletamente se refiere a sacarosa que no ha sido procesada como sacarosa blanca refinada. Por tanto, la sacarosa refinada incompletamente puede estar completamente no refinada o refinada parcialmente. Los ejemplos de sacarosa no refinada como "sacarosa cruda" ("azúcar crudo") y disoluciones de la misma. Los ejemplos de sacarosa parcialmente refinada no han pasado por uno, dos, tres o más etapas de
30 cristalización. La ICUMSA (*International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis*) de sacarosa incompletamente refinada puede ser superior a 150, por ejemplo. En la presente memoria la sacarosa puede derivar de cualquier fuente de azúcar renovable tal como caña de azúcar, remolacha, mandioca, sorgo dulce o maíz. Las formas adecuadas de sacarosa útiles en la presente memoria son la forma cristalina o la forma no cristalina (p.ej., jarabe, zumo de caña, zumo de remolacha), por ejemplo. Otras formas adicionales adecuadas de sacarosa refinada incompletamente se describen en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. nº 2015/0275256, que se incorpora a la presente memoria a modo de referencia.

35 Los métodos para determinar los valores ICUMSA para sacarosa son bien conocidos en la técnica y son descritos por la "*International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis*" en "*ICUMSA Methods of Sugar Analysis: Official and Tentative Methods Recommended by the International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis (ICUMSA)*" (Ed. H.C.S. de Whalley, Elsevier Pub. Co., 1964), por ejemplo, que se incorpora a la presente memoria a modo de referencia. El valor ICUMSA puede medirse, por ejemplo, mediante el Método ICUMSA GS1/3-7 como describen R.J. McCowage, R.M. Urquhart y M.L. Burge (*Determination of the Solution Colour of Raw Sugars, Brown Sugars and Coloured Syrups at pH 7.0 – Official*, Verlag Dr Albert Bartens, revisión de 2011), que se incorpora a la
45 presente memoria a modo de referencia.

40 El pH de una reacción de glucosiltransferasa en determinadas realizaciones puede estar entre aproximadamente 4,0 y aproximadamente 8,0. Alternativamente, el pH puede estar ser de aproximadamente 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5 u 8,0. El pH se puede ajustar o controlar mediante la adición o incorporación de un tampón adecuado, que incluye, aunque sin limitación: fosfato, tris, citrato o una combinación de los mismos. La concentración de tampón en una
50 reacción gtf puede ser de 0 mM a aproximadamente 100 mM, o aproximadamente 10, 20 o 50 mM, por ejemplo.

55 Una reacción de glucosiltransferasa puede ser contenida dentro de cualquier recipiente adecuado para aplicar una o más de las condiciones de reacción descritas en la presente memoria. Por ejemplo, en la presente memoria una reacción de glucosiltransferasa puede darse en un recipiente o contenedor de acero inoxidable, plástico o vidrio, adecuado para contener una reacción particular. Dicho recipiente puede estar equipado opcionalmente con un dispositivo de agitación.

60 En la presente memoria una reacción de glucosiltransferasa puede agitarse opcionalmente mediante agitación estándar u orbital, por ejemplo. Dicha agitación puede ser aproximadamente a 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 50-150, 60-140, 70-130, 80-120 o 90-110 rpm, por ejemplo.

65 La concentración de enzima glucosiltransferasa en una reacción puede ser al menos aproximadamente 15, 20, 25, 30, 35 o 40 U/L, por ejemplo. En algunas realizaciones, se pueden usar 15-35, 15-30, 15-25, 20-35, 20-30, 20-25, 25-35, 25-30 o 30-35 U/L de glucosiltransferasa.

En la presente memoria una reacción de glucosiltransferasa puede requerir aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 18-30, 20-28 o 22-26 horas para completarse. El tiempo de reacción puede depender, por ejemplo, de determinados parámetros tales como la cantidad de sacarosa y enzima glucosiltransferasa usada en la reacción.

5 Todas las características de la presente memoria que definen una reacción de glucosiltransferasa pueden ser combinadas, consecuentemente. Simplemente a modo de ejemplo, una reacción que usa una glucosiltransferasa 0768 (que comprende SEQ ID NO:1 o una secuencia relacionada de la misma) puede contener inicialmente 90-110 g/L (p.ej., ~100 g/L) de sacarosa, 10-30 mM (p.ej., ~20 mM) de tampón de fosfato sódico a pH 6,0-7,0 (p.ej., ~pH 6,5), y 10 20-30 U/L (p.ej., ~25 U/L) de enzima. Dicha reacción puede mantenerse durante aproximadamente 20-28 horas (p.ej., ~24 horas) con 50-150 rpm (p.ej., ~100 rpm) de agitación a 24-28 °C (p.ej., ~26 °C).

15 En algunas realizaciones, una reacción de glucosiltransferasa que comprende una enzima gtf 0768 (SEQ ID NO:1 o secuencias relacionadas) y cualquier cantidad de sacarosa descrita en la presente memoria puede completarse (p.ej., que se haya agotado el 95% o más de la sacarosa provista inicialmente) en menos de aproximadamente 24, 22, 20, 18 o 16 horas tras iniciar la reacción. El agotamiento de la sacarosa en dicha reacción puede ser aproximadamente, o al menos aproximadamente, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces más rápido que una reacción similar o igual, pero que comprende dextrano sacarasa de *Leuconostoc mesenteroides* en lugar de una enzima gtf 0768, por ejemplo.

20 Una composición que comprende un dextrano en la presente memoria puede ser no acuosa (p.ej., una composición seca). Los ejemplos de dichas realizaciones incluyen polvos, gránulos, microcápsulas, copos, o cualquier otra forma de materia particulada. Otros ejemplos incluyen composiciones más grandes tales como partículas, barras, granos, perlas, comprimidos, varillas u otros aglomerados. Una composición no acuosa o seca en la presente memoria típicamente tiene menos de un 3, 2, 1, 0,5 o 0,1 % p/p de agua en su contenido. La cantidad de dextrano en una 25 composición no acuosa o seca de la presente memoria puede ser de aproximadamente, o al menos de aproximadamente, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5 o 99,9 % p/p, por ejemplo. En la presente memoria una composición no acuosa puede 30 estar en la forma de un producto doméstico, un producto de cuidado personal, un producto farmacéutico, un producto industrial o un producto alimenticio, por ejemplo.

35 En determinadas realizaciones de la presente descripción, una composición que comprende un dextrano puede ser una composición acuosa que tiene una viscosidad de aproximadamente, o al menos de aproximadamente, 25 cPs (0,025 Kg/m·s). Alternativamente, una composición acuosa de la presente memoria puede tener una viscosidad de aproximadamente, o al menos de aproximadamente, 25, 50, 75, 100, 250, 500, 750, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 11000, 12000, 13000, 14000, 15000, 16000, 17000, 18000, 19000, 20000, 25000, 30000, 35000, 40000, 45000 o 50000 cPs (o cualquier número entero entre 25 y 50000 cPs), por ejemplo. Los ejemplos de composiciones acuosas incluyen hidrocoloides y disoluciones acuosas.

40 La viscosidad se puede medir con una composición acuosa de la presente memoria a cualquier temperatura entre aproximadamente 3 °C y aproximadamente 110 °C (o cualquier número entero entre 3 y 110 °C). Alternativamente, la viscosidad se puede medir a una temperatura entre aproximadamente 4 °C y 30 °C, o aproximadamente 20 °C y 25 °C, por ejemplo. La viscosidad se puede medir a presión atmosférica (aproximadamente 760 torr) o a cualquier otra 45 presión superior o inferior.

50 La viscosidad de una composición acuosa descrita en la presente memoria puede medirse usando un viscosímetro o un reómetro, o usando cualquier otro medio conocido en la técnica. Los especialistas en la técnica entenderán que se puede usar un viscosímetro o reómetro para medir la viscosidad de composiciones acuosas de la presente memoria que exhiben un comportamiento reológico (es decir, que presentan viscosidades que varían con las condiciones de flujo). La viscosidad de dichas realizaciones puede medirse para una velocidad de cizalla rotacional de aproximadamente 0,1 a 1000 rpm (revoluciones por minuto), por ejemplo. Alternativamente, la viscosidad se puede medir a una velocidad de cizalla rotacional de aproximadamente 10, 60, 150, 250 o 600 rpm.

55 En determinadas realizaciones, se puede medir la viscosidad de una composición acuosa en la que se sintetizó el constituyente de dextrano. Por ejemplo, se puede medir la viscosidad para una reacción gtf de la presente memoria que se haya completado, o que esté cerca de completarse. De este modo, se puede medir la viscosidad de una composición acuosa en la que el constituyente de dextrano no está purificado (p.ej., hay presentes otros componentes en la composición, además del agua, en más del 1, 5 o 10 % p/p); dicha composición puede contener una o más sales, 60 tampones, proteínas (p.ej., enzimas gtf), azúcares (p.ej., fructosa, glucosa, leucrosa, oligosacáridos).

65 El pH de una composición acuosa descrita en la presente memoria puede estar entre aproximadamente 2,0 y aproximadamente 12,0, por ejemplo. Alternativamente, el pH puede ser de aproximadamente 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0, 9,0, 10,0, 11,0, 12,0; o entre 5,0 y aproximadamente 12,0; o entre aproximadamente 4,0 y 8,0; o entre aproximadamente 5,0 y 8,0, por ejemplo.

En la presente memoria una composición acuosa tal como una disolución de hidrocoloide o acuosa puede comprender un disolvente que tiene aproximadamente, o al menos aproximadamente, un 10 % p/p de agua. En otras realizaciones, un disolvente tiene aproximadamente, o al menos aproximadamente, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100% p/p de agua (o cualquier valor entero entre 10 y 100 % p/p), por ejemplo.

En la presente memoria, un dextrano puede estar presente en una composición acuosa en un % p/p de aproximadamente, o al menos aproximadamente, 0,01, 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,2, 1,4, 1,6, 1,8, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89 o 90 % p/p, por ejemplo. El Ejemplo 8 incluido más adelante demuestra que el dextrano en determinadas especies proporciona una elevada viscosidad a las disoluciones acuosas a concentraciones relativamente bajas del dextrano. De este modo, determinadas realizaciones de la presente descripción están dedicadas a composiciones acuosas con menos de aproximadamente 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0,5 % p/p de dextrano en su interior.

En la presente memoria una composición acuosa puede comprender otros componentes además del dextrano. Por ejemplo, una composición acuosa puede comprender una o más sales tales como sal de sodio (p.ej., NaCl, Na₂SO₄). Otros ejemplos no limitativos de sales incluyen aquellas que presentan (i) un catión de aluminio, amonio, bario, calcio, cromo (II o III), cobre (I o II), hierro (II o III), hidrógeno, plomo (II), litio, magnesio, manganeso (II o III), mercurio (I o II), potasio, plata, estroncio sódico, estaño (II o IV), o zinc, y (ii) un anión de acetato, borato, bromato, bromuro, carbonato, clorato, cloruro, clorito, cromato, cianamida, cianuro, dicromato, dihidrógeno fosfato, cianuro ferricianuro, ferrocianuro, fluoruro, hidrógeno carbonato, hidrógeno fosfato, hidrógeno sulfato, hidrógeno sulfuro, hidrógeno sulfito, hidruro, hidróxido, hipoclorito, yodato, yodito, nitrato, nitruro, nitrito, oxalato, óxido, perclorato, permanganato, peróxido, fosfato, fosfuro, fosfito, silicato, estannato, estannito, sulfato, sulfuro, sulfito, tartrato o tiocianato. De este manera, cualquier sal que presente un catión de (i) y un anión de (ii), incluidos anteriormente, puede estar en una composición acuosa, por ejemplo. Una sal puede estar presente en una composición acuosa en la presente memoria a un % p/p de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10,00 (o cualquier incremento de centésima entre 0,01 y 10,00), por ejemplo.

En la presente memoria una composición puede contener opcionalmente una o más enzimas activas. Los ejemplos no limitativos de enzimas adecuadas incluyen proteasas, celulasas, hemicelulasas, peroxidases, enzimas lipolíticas (p.ej., enzimas metalolipolíticas), xilanasas, lipasas, fosfolipasas, esterases (p.ej., arilesterasa, poliesterasa), perhidrolasas, cutinasas, pectinasas, pectato liasas, mannanasas, queratinasas, reductasas, oxidasas (p.ej., colina oxidasa), fenoloxidasas, lipoxigenasas, ligninasas, pululaninas, tannasas, pentosaninas, malanasas, beta-glucanasas, arabinosidasas, hialuronidasas, condroitinasas, lacasas, metaloproteinasas, amadoriasas, glucoamilasas, arabinofuranosidasas, fitasas, isomerasas, transferasas y amilasas. Si una enzima(s) es incluida(s), puede estar comprendida en una composición de la presente memoria a aproximadamente 0,0001-0,1 % p/p (p.ej., 0,01-0,03 % p/p) de enzima activa (p.ej., calculada como proteína de enzima pura), por ejemplo.

En la presente memoria una celulasa puede presentar actividad de endocelulasa (EC 3.2.1.4), actividad de exocelulasa (EC 3.2.1.91), o actividad de celobiasa (EC 3.2.1.21). En la presente memoria una celulasa es una "celulasa activa" que presenta actividad en las condiciones adecuadas para mantener la actividad de celulasa; se encuentra dentro de la capacidad de la técnica determinar dichas condiciones.

En la presente memoria, una celulasa puede derivar de cualquier fuente microbiana, tal como una bacteria o un hongo. Se incluyen las celulasas modificadas químicamente o las celulasas mutantes de proteína modificada. Las celulasas adecuadas incluyen, aunque sin limitación, celulasas del género *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Trichoderma*, *Humicola*, *Fusarium*, *Thielavia* y *Acremonium*. Como ejemplos adicionales, una celulasa puede derivar de *Humicola insolens*, *Myceliophthora thermophila* o *Fusarium oxysporum*; éstas y otras celulasas se describen en las Patentes de EE.UU. n.º 4435307, 5648263, 5691178, 5776757 y 7604974, que se incorporan todas a las presente memoria a modo de referencia. Los ejemplos de celulasas de *Trichoderma reesei* se describen en las Patentes de EE.UU. n.º 4689297, 5814501, 5324649, y en las Publicaciones de Solicitud de Patente Internacional n.º WO92/06221 y WO92/06165, todas las cuales se incorporan a la presente memoria a modo de referencia. Los ejemplos de celulasas de *Bacillus* se describen en la Patente de EE.UU. n.º 6562612, que se incorpora a la presente memoria a modo de referencia. Una celulasa, tal como cualquiera de las anteriores, preferiblemente se encuentra en una forma madura que carece de un péptido señal N-terminal. Las celulasas disponibles comercialmente útiles en la presente memoria incluyen CELLUZIME® y CAREZYME® (Novozymes A/S); CLAZINASE® y PURADAX® HA (DuPont Industrial Biosciences), y KAC-500(B)® (Kao Corporation).

Alternativamente, en la presente memoria se puede producir una celulasa mediante cualquier medio conocido en la técnica, tal como se describe en las Patentes de EE.UU. n.º 4435307, 5776757 y 76004974, que se incorporan a la presente memoria a modo de referencia. Por ejemplo, una celulasa se puede producir recombinantemente en un sistema de expresión heterólogo, tal como un sistema de expresión heterólogo microbiano o fúngico. Los ejemplos de sistemas de expresión heterólogos incluyen sistemas bacterianos (p.ej., *E. coli*, *Bacillus* sp.) y eucarióticos. Los

sistemas eucarióticos pueden emplear sistemas de expresión de levadura (p.ej., *Pichia* sp., *Saccharomyces* sp.) o fúngicos (p.ej., *Trichoderma* sp. tal como *T. reesei*, especie *Aspergillus* tal como *A. niger*), por ejemplo.

Se puede añadir una o más celulasa directamente como ingrediente cuando se prepara la composición descrita en la presente memoria. Alternativamente, se puede proporcionar una o más celulasa indirectamente (inadvertidamente) en la composición descrita. Por ejemplo, se puede proporcionar celulasa en una composición de la presente memoria en virtud a que esté presente en una preparación enzimática que no sea de celulasa usada para preparar una composición. La celulasa de composiciones en las que la celulasa se proporciona indirectamente en las mismas puede estar presente en aproximadamente 0,1-10 ppb (p.ej., menos de 1 ppm), por ejemplo. Un beneficio contemplado de una composición de la presente memoria, en virtud a emplear un compuesto de dextrano, es que las preparaciones enzimáticas que no son de celulasa que podría tener algo de actividad de fondo de celulasa pueden usarse sin preocupación de no obtener los efectos deseados del dextrano por dicha actividad de fondo de celulasa.

Una celulasa en determinadas realizaciones puede ser termoestable. La termoestabilidad de la celulasa se refiere a la capacidad de la enzima para retener la actividad tras exposición a una temperatura elevada (p.ej., aproximadamente 60-70 °C) durante un periodo de tiempo (p.ej., aproximadamente 30-60 minutos). La termoestabilidad de una celulasa puede medirse por su vida media ($t_{1/2}$) dada en minutos, horas o días, periodo en el cual se pierde la mitad de la actividad de celulasa en unas condiciones definidas.

Una celulasa en determinadas realizaciones puede ser estable en un amplio rango de valores de pH (p.ej., pH neutro o alcalino tal como un pH de ~7,0 a ~11,0). Dichas enzimas pueden permanecer estables durante un periodo de tiempo predeterminado (p.ej., al menos aproximadamente 15 minutos, 30 minutos o 1 hora) en dichas condiciones de pH.

Al menos una, dos o más celulasa pueden ser incluidas en la composición. La cantidad total de celulasa en una composición de la presente memoria típicamente es una cantidad que es adecuada para el propósito de usar celulasa en la composición (una "cantidad efectiva"). Por ejemplo, una cantidad efectiva de celulasa en una composición destinada a mejorar las sensaciones y/o la apariencia de un tejido que contiene celulosa es una cantidad que produce una mejora cuantificable de la sensación del tejido (p.ej., una mejora la suavidad y/o la apariencia del tejido, la eliminación de bolitas y fibras que tienen a reducir la agudeza de apariencia del tejido). Como ejemplo adicional, una cantidad efectiva de celulasa en una composición de lavado a la piedra de tejido de la presente memoria es una cantidad tal que proporciona el efecto deseado (p.ej., producir una apariencia de usado y desgastado en las costuras o los paneles del tejido). La cantidad de celulasa en una composición de la presente memoria también depende de los parámetros del proceso en el que se empela la composición (p.ej., el equipamiento, la temperatura, el tiempo, y similares) y de la actividad de celulasa, por ejemplo. La concentración efectiva de celulasa en una composición acuosa en la que un tejido es tratado puede determinarse fácilmente por parte de un especialista. En los procesos de cuidado de tejidos, la celulasa puede estar presente en una composición acuosa (p.ej., licor de lavado) en donde un tejido es tratado en una concentración que es mínimamente de aproximadamente 0,01-0,1 ppm de proteína celulasa total, o de aproximadamente 0,1-10 ppb de proteína celulasa total (p.ej., menos de 1 ppm), y de forma máxima de aproximadamente 100, 200, 500, 1000, 2000, 3000, 4000 o 5000 ppm de proteína celulasa total, por ejemplo.

Se cree que los polímeros de dextrano proporcionados en la presente memoria son mayoritaria o completamente estables (resistentes) a la degradación por celulasa. Por ejemplo, se cree que el porcentaje de degradación de un dextrano de la presente memoria por parte de una o más celulasa es inferior a 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% o 1%, o es 0%. Dicho porcentaje de degradación puede determinarse, por ejemplo, comparando el peso molecular del polímero de dextrano antes y después del tratamiento con una celulasa durante un periodo de tiempo (p.ej., ~24 horas).

Se cree que las composiciones acuosas de determinadas realizaciones presentan un comportamiento de aligeramiento a cizalla o un comportamiento de espesamiento a cizalla. El comportamiento de aligeramiento a cizalla se observa como una reducción de la viscosidad de la composición acuosa al aumentar la velocidad de cizalla, mientras que un comportamiento de espesamiento a cizalla se observa como un aumento de la viscosidad de la composición acuosa al aumentar la velocidad de cizalla. La modificación del comportamiento de aligeramiento a cizalla o de espesamiento a cizalla de una composición acuosa de la presente memoria puede deberse a la mezcla de un dextrano en la composición acuosa. De esta manera, se puede añadir uno o más compuestos de dextrano de la presente descripción a una composición acuosa para modificar su perfil reológico (es decir, se modifican las propiedades de flujo de un líquido, disolución o mezcla acuosa). Asimismo, se puede añadir uno o más compuestos de dextrano a una composición acuosa para modificar su viscosidad.

Las propiedades reológicas de las composiciones acuosas de la presente memoria pueden observarse midiendo la viscosidad para una velocidad de cizalla rotacional creciente (p.ej., entre aproximadamente 0,1 rpm y aproximadamente 1000 rpm). Por ejemplo, el comportamiento de aligeramiento a cizalla de una composición acuosa descrita en la presente memoria puede observarse como una reducción de la viscosidad (cPs) en aproximadamente, o al menos aproximadamente, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% o 95% (o cualquier número entero entre 5% y 95%) al aumentar la velocidad de cizalla rotacional desde aproximadamente 10 rpm a 60 rpm, de 10 rpm a 150 rpm, de 10 rpm a 250 rpm, de 60 rpm a 150 rpm, de 60 rpm a 250 rpm o de 150 rpm a 250 rpm. Como ejemplo adicional, el comportamiento de espesamiento a cizalla de una

composición acuosa descrita en la presente memoria se puede observar como un aumento de la viscosidad (cPs) en aproximadamente, o al menos aproximadamente, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 125%, 150%, 175% o 200% (o cualquier número entero entre 5% y 200%) al aumentar la velocidad de cizalla rotacional desde aproximadamente 10 rpm a 60 rpm, de 10 rpm a 150 rpm, de 10 rpm a 250 rpm, de 60 rpm a 150 rpm, de 60 rpm a 250 rpm o de 150 rpm a 250 rpm.

Una composición acuosa descrita en la presente memoria puede estar en la forma de, y/o comprendida en, un producto alimenticio, un producto de cuidado personal, un producto farmacéutico, un producto doméstico, o un producto industrial, tal como cualquiera de los productos descritos más adelante. Los compuestos de dextrano de la presente memoria pueden usarse como agentes espesantes en cada uno de dichos productos. Dicho agente espesante puede usarse en conjunción con uno o más tipos adicionales de agentes espesantes si se desea, tal como los descritos en la Patente de EE.UU. n° 8541041, cuya descripción se incorpora a la presente memoria a modo de referencia en su plenitud.

Se cree que los compuestos de dextrano descritos en la presente memoria son útiles para proporcionar una o más de las siguientes propiedades físicas a un producto de cuidado personal, producto farmacéutico, producto doméstico, producto industrial, o producto alimenticio: espesamiento, estabilidad frente a congelación/descongelación, lubricidad, retención y liberación de humedad, textura, consistencia, retención de forma, emulsificación, aglomeración, suspensión, dispersión, gelificación, dureza mineral reducida, por ejemplo. Los ejemplos de una concentración o cantidad de un dextrano en un producto pueden ser cualquiera de los porcentajes en peso proporcionados en la presente memoria, por ejemplo.

Los productos de cuidado personal en la presente memoria no están particularmente limitados e incluyen, por ejemplo, composiciones de cuidado de la piel, composiciones cosméticas, composiciones antifúngicas, y composiciones antibacterianas. Los productos de cuidado personal de la presente memoria pueden estar en la forma de, por ejemplo, lociones, cremas, pastas, bálsamos, pomadas, ungüentos, geles, líquidos, combinaciones de los mismos y similares. Los productos de cuidado personal descritos en la presente memoria pueden incluir al menos un ingrediente activo, si se desea. Un ingrediente activo generalmente se reconoce como un ingrediente que produce un efecto farmacológico pretendido.

En determinadas realizaciones, un producto de cuidado de la piel puede aplicarse a la piel para abordar una lesión cutánea relacionada con la pérdida de humedad. Un producto de cuidado de la piel también puede usarse para abordar la apariencia visual de la piel (p.ej., reducir la apariencia de piel descamada, agrietada y/o roja) y/o la sensación táctil de la piel (p.ej., reducir la dureza y/o sequedad de la piel, mejorando la suavidad y sutileza de la piel). Un producto de cuidado personal típicamente puede incluir al menos un ingrediente activo para el tratamiento o prevención de problemas de la piel, proporcionando un efecto cosmético, o para proporcionar un beneficio hidratante a la piel, tal como óxido de zinc, vaselina, vaselina blanca, aceite mineral, aceite de hígado de bacalao, lanolina, dimeticona, grasa dura, vitamina A, alantoína, calamina, caolín, glicerina, o harina de avena coloidal, y combinaciones de los mismos. Un producto de cuidado de la piel puede incluir uno o más factores hidratantes naturales tal como ceramidas, ácido hialurónico, glicerina, escualeno, aminoácidos, colesterol, ácidos grasos, triglicéridos, fosfolípidos, glicoesfingolípidos, urea, ácido linoleico, glicosaminoglicanos, mucopolisacárido, lactato sódico, o carboxilato de pirrolidona sódico, por ejemplo. Otros ingredientes que pueden incluirse en un producto de cuidado de la piel incluyen, sin limitación, glicéridos, aceite de semilla de albaricque, aceite de canola, escualeno, escualeno, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de jojoba, cera de jojoba, lecitina, aceite de oliva, aceite de cártamo, aceite de sésamo, manteca de karité, aceite de palma, colesterol, ésteres de colesterol, ésteres de cera, ácidos grasos, y aceite de naranja.

En la presente memoria un producto de cuidado personal también puede estar en la forma de maquillaje, pintalabios, mascarilla, colorete, base, lápiz de ojos, lápiz de labios, brillo para labios, otros cosméticos, protector solar, bloqueante solar, brillo para uñas, acondicionador de unas, gel de baño, gel de ducha, jabón corporal, jabón facial, bálsamo de labios, acondicionador de piel, crema fría, hidratante, spray corporal, jabón, crema exfoliante, exfoliante, astringente, loción exfoliante, crema depilatoria, disolución ondulante permanente, formulación anticascpa, composición antitranspirante, desodorante, producto para afeitado, producto pre-afeitado, producto para después del afeitado, desmaquillador, gel de piel, enjuague, composición dentífrica, pasta de dientes, o lavado de boca, por ejemplo. Un ejemplo de un producto de cuidado personal (p.ej., un desmaquillador, jabón, exfoliante, cosmético) comprende un vehículo o agente exfoliante (p.ej., partículas de jojoba [perlas de éster de jojoba]) (p.ej., aproximadamente 1-10, 3-7, 4-6 o 5 % p/p); dicho agente puede estar disperso opcionalmente dentro del producto.

Un producto de cuidado personal en algunos aspectos puede ser un producto para el cuidado capilar. Los ejemplos de productos para el cuidado capilar en la presente memoria incluyen champú, acondicionador de pelo (para dejar o para aclarar), enjuague de crema, colorante capilar, producto de coloración del pelo, producto de brillo capilar, suero capilar, producto antiencrespamiento capilar, producto para reparación de puntas capilares, espuma, spray capilar, y gel fijador. Un producto de cuidado capilar puede estar en la forma de líquido, pasta, gel, sólido o polvo en algunas realizaciones. Un producto de cuidado capilar como el aquí descrito típicamente comprende uno o más de los siguientes ingredientes, que se usan generalmente para formular productos de cuidado capilar: tensioactivos aniónicos tales como sulfato sódico de éter polioxietilénlaurilo; tensioactivos catiónicos tales como cloruro de esteariltrimetilamonio y/o cloruro de diesteariltrimetilamonio; tensioactivos no iónicos tales como gliceril

monoestearato, sorbitan monopalmitato y/o éter de polioxietilencetilo; agentes humectantes tales como propilen glicol, 1,3-butilen glicol, glicerina, sorbitol, sales de ácido piroglutámico, aminoácidos y/o trimetilglicina; hidrocarburos tales como parafinas líquidas, vaselina, parafinas sólidas, escualeno y/u oligómeros de olefina; alcoholes superiores tales como alcohol de estearilo y/o alcohol de cetilo; agentes superengrasantes; agentes anticasca; desinfectantes; agentes antiinflamatorios; fármacos sin purificar; polímeros solubles en agua tales como metil celulosa, hidroxigelulosa y/o quitina parcialmente desacetilada (además de uno o más dextranos como se describe en la presente memoria); antisépticos tales como parabeno; absorbentes de luz ultra-violeta; agentes perlantes; ajustadores del pH; perfumes; y pigmentos.

En la presente memoria un producto farmacéutico puede estar en la forma de una emulsión, líquido, elixir, gel, suspensión, disolución, crema o pomada, por ejemplo, Asimismo, en la presente memoria un producto farmacéutico puede estar en la forma de cualquiera de los productos de cuidado personal descritos en la presente memoria, tal como una composición antibacteriana o antifúngica. Un producto farmacéutico puede comprender además uno o más vehículos, diluyentes farmacéuticamente aceptables, y/o sales farmacéuticamente aceptables. Un compuesto de dextrano descrito en la presente memoria también puede usarse en cápsulas, encapsulantes, recubrimientos de comprimidos, y como excipientes para medicamentos y fármacos.

Los ejemplos no limitativos de productos alimenticios en la presente memoria incluyen verduras, carne y hamburguesas de soja; marisco procesado; palitos de queso procesados; sopas de crema; salsas; aliños de ensalada; mayonesa; aros de cebolla; mermeladas, jaleas y jarabes; rellenos de pastel; productos de patata tales como patatas fritas y patatas extruidas; empanados para comidas fritas, tortitas/gofres y pasteles; piensos para perro; productos de pastelería (caramelos); bebidas; postres helados; helado; productos lácteos cultivados tales como queso fresco, yogur, quesos, y cremas agrias; glaseado de tartas; nata montada; productos horneados con levadura y sin levadura; y similares.

En determinadas realizaciones, el dextrano de la presente memoria puede estar comprendido en un alimento o cualquier otro material ingerible (p.ej., preparación farmacéutica entérica) en una cantidad que proporciona el grado deseado de espesamiento y/o dispersión. Por ejemplo, la concentración o cantidad de dextrano en un producto puede ser aproximadamente 0,1-3 %p/p, 0,1-4 %p/p, 0,1-5 %p/p, o 0,1-10 %p/p.

En la presente memoria un producto doméstico y/o industrial puede estar en la forma de compuesto para juntas y uniones de paredes; morteros; lechadas; yesos de cemento; yesos de spray; estuco de cemento; adhesivos; pastas; texturizantes de pared/techo; aglomerantes y aditivos de procesamiento para moldeo de cinta; formación por extrusión, moldeo por inyección y cerámica; adherentes de spray y aditivos de suspensión/dispersión para pesticidas, herbicidas y fertilizantes; productos de cuidado de tejidos tales como suavizantes de tejido y detergente de lavandería; limpiadores de superficies duras; ambientadores; emulsiones poliméricas; geles tales como geles basados en agua; disoluciones tensioactivas; pinturas tales como pinturas de base acuosa; recubrimientos protectores; adhesivos; sellantes y calafateos; tintas tales como tinta de base acuosa; fluidos para trabajar metal; o fluidos de limpieza de metales basados en emulsiones para electrodeposición, fosfatización, galvanizado y/u operaciones de limpieza de metales generales, por ejemplo.

Un compuesto de dextrano descrito en la presente memoria puede estar comprendido en un producto de cuidado personal, un producto farmacéutico, un producto doméstico, o un producto industrial en una cantidad que proporciona un grado deseado de espesamiento y/o dispersión, por ejemplo. Los ejemplos de una concentración o cantidad de un compuesto de dextrano en un producto pueden ser cualquiera de los porcentajes en peso proporcionados anteriormente, por ejemplo.

Una composición acuosa en algunos aspectos puede comprender aproximadamente 0,5-2,0 %p/p de dextrano de la presente memoria (p.ej., ~1,0 %p/p), aproximadamente 15-25 %p/p (p.ej., ~20 %p/p) de humectante tal como aceite (p.ej., aceite mineral), aproximadamente 4-6 %p/p (~5 %p/p) de tensioactivo/emulsionante (p.ej., uno o ambos de sorbitan monooleato o polisorbato 80, tal como ~2,6 %p/p de sorbitan monooleato y ~2,4 %p/p de polisorbato 80), opcionalmente 0,25-1,0 %p/p (p.ej., 0,5 %p/p) de conservante (p.ej., un conservante que comprende uno o más de propilen glicol, diazolidinil urea, metilparabeno, o propilparabeno [p.ej., Germaben® II]), y opcionalmente uno o más ingredientes adicionales. Dichas composiciones pueden estar en la forma de una emulsión, por ejemplo. En éstos y otros aspectos relacionados, el dextrano descrito en la presente memoria puede usarse como sustituto de compuestos (p.ej., goma xantana, polímeros de ácido poliacrílico reticulados tal como Carbopol® Ultrez 10) usados típicamente para proporcionar viscosidad a determinados productos de consumo tales como productos de cuidado personal (p.ej., lociones), alimentarios y/o farmacéuticos. En algunos aspectos adicionales la puntuación de experiencia sensorial de una composición acuosa (p.ej., artículo de cuidado personal como una loción), determinada mediante la norma ASTM E1490-3 ("Standard Practice for Descriptive Skinfeel Analysis of Creams and Lotions", ASTM International, West Conshohocken, PA, 2003, DOI: 10.1520/E1490-03, incorporada a modo de referencia a la presente memoria), puede ser inferior a aproximadamente 8, 7 o 6, donde en la evaluación se miden los parámetros de viscosidad de frotado, pegajosidad tras sensación, pequeñez de cogida y pegajosidad de cogida.

En la presente memoria un producto alimentario puede estar en la forma de un producto de pastelería, por ejemplo. En la presente memoria un producto de pastelería puede contener uno o más azúcares (p.ej., sacarosa, fructosa, dextrosa) como edulcorantes, o estar libre de azúcares.

5 Los ejemplos de productos de pastelería de la presente memoria incluyen azúcares cocinados (caramelos duros cocinados [es decir, caramelos duros]), grageas, gominolas, gomas, regaliz, masticables, caramelos, tofe, dulce de leche, chicles, gomas de pompas, turrón, pastas duras, halva, comprimidos, píldoras, glaseado, cobertura de helado, pudding y geles (p.ej., geles de fruta, postre de gelatina). Otros ejemplos de productos de pastelería incluyen productos de pastelería gasificados tales como malvaviscos y productos de pastelería cocinados.

10 Un producto de pastelería de la presente memoria opcionalmente puede prepararse con chocolate, en cualquier forma (p.ej., barras, caramelos, bombones, trufas, lentejas). Un producto de pastelería puede estar recubierto de chocolate, con azúcar, caramelizado, glaseado y/o recubierto de una película, por ejemplo. Los procesos de recubrimiento de película típicamente comprenden aplicar a la superficie de un producto de pastelería una composición líquida formadora de película que se vuelve, tras secarse, una película protectora. Este recubrimiento de película sirve, por ejemplo, para proteger los principios activos contenidos en los productos de pastelería; para proteger el propio producto de pastelería frente a la humedad, los choques y/o friabilidad; y/o para conferir al producto de pastelería propiedades visuales (p.ej., brillo, color uniforme, superficie suave).

15 En determinadas realizaciones, un producto de pastelería puede rellenarse con un relleno que es líquido, pastoso, sólido o en polvo. En la presente memoria el dextrano puede estar comprendido en dicho relleno, en cuyo caso el dextrano también está incluido opcionalmente en el componente de pastelería que esté siendo rellenado.

20 En la presente memoria un producto de pastelería opcionalmente está libre de azúcares, no comprende azúcar y típicamente en su lugar tiene uno o más edulcorantes artificiales y/o no azucarados (opcionalmente no calóricos) (p.ej., aspartame, sacarina, STEVIA, SUCRALOSE). Un producto de pastelería libre de azúcares en determinadas realizaciones puede comprender uno o más polioles (p.ej., eritritol, glicerol, lactitol, manitol, maltitol, xilitol), fibras solubles, y/o proteínas en lugar de azúcar.

25 En la presente memoria un producto alimentario puede estar en la forma de un pienso para mascotas, por ejemplo. Un pienso para mascotas puede ser un alimento para un animal domesticado tal como un perro o un gato (o cualquier otro animal de compañía), por ejemplo. Un pienso para mascotas en determinadas realizaciones proporciona a un animal doméstico uno o más de los siguientes: requerimientos dietéticos necesarios, golosinas (p.ej., galletas para perro), suplementos alimenticios. Los ejemplos de piensos para mascotas incluyen piensos para mascotas secos (p.ej., granos, alimentos equilibrados), composiciones semi-húmedas, pienso para mascotas húmedo (p.ej., pienso para mascotas en lata), o cualquier combinación de los mismos. El pienso para mascotas húmedo típicamente presenta un contenido de humedad por encima del 65%. Los piensos para mascotas semi-húmedos típicamente presenta un contenido de humedad de 20-65% y pueden incluir humectantes tales como propileno glicol, sorbato potásico, e ingredientes que previenen el crecimiento microbiano (bacterias y moho). El pienso para mascotas seco típicamente tiene un contenido de humedad inferior al 20% y su procesamiento incluye habitualmente la extrusión, secado y/o cocinado. Un pienso para mascotas opcionalmente puede estar en la forma de una salsa, yogur, polvo, suspensión, masticable, o golosina (p.ej., galletas); todas estas composiciones también pueden usarse como suplementos de pienso para mascotas, si se desea. Las golosinas para mascotas pueden ser golosinas masticables semi-húmedas; golosinas secas; huesos masticables; golosinas cocinadas, extruidas o estampadas; o golosinas dulces, por ejemplo. Los ejemplos de composiciones/formulaciones de piensos para mascotas en los que se puede añadir un dextrano de la presente memoria incluyen las descritas en las Publicaciones de Solicitud de Patente de EE.UU. nº 2013/0280352 y 2010/0159103, y en la Patente de EE.UU. nº 6977084, que se incorporan a la presente memoria todas a modo de referencia.

30 Las composiciones descritas en la presente memoria pueden estar en la forma de una composición de cuidado de tejido. Una composición de cuidado de tejido de la presente memoria puede usarse para lavado a mano, lavado a máquina y/u otros propósitos tales como empapado y/o pretratamiento de tejidos, por ejemplo. Una composición de cuidado de tejido puede adoptar la forma de, por ejemplo, un detergente de colada; acondicionador de tejidos; cualquier producto, dosis unitaria o spray, añadido para el lavado, aclarado o secado. Las composiciones de cuidado de tejido en forma líquida pueden estar en la forma de una composición acuosa como la descrita en la presente memoria. En otros aspectos, una composición de cuidado de tejidos puede estar en una forma seca tal como un detergente en grano o una lámina suavizante de tejido añadido a secadora. Otros ejemplos no limitativos de composiciones de cuidado de tejido de la presente memoria incluyen: agentes de lavado industriales o para todo en forma granular o en polvo; agentes de lavado industriales o para todo en forma de líquido, gel o pasta; detergentes líquidos o secos para tejido fino (p.ej., prendas delicadas); productos cargados de sustrato tales como trapos secos y humedecidos, compresas, o esponjas; sprays y nebulizadores.

35 En la presente memoria la composición detergente puede estar en cualquier forma útil, p.ej., como polvos, gránulos, pastas, barras, dosis unitarias o líquidos. Un detergente líquido puede ser acuoso, que contiene típicamente hasta aproximadamente 70 %p/p de agua y de 0 %p/p a aproximadamente 30 %p/p de disolvente orgánico. También puede estar en la forma de un tipo de gel compacto que contiene solo aproximadamente un 30 %p/p de agua.

En la presente memoria una composición detergente típicamente comprende uno o más tensioactivos, en donde el tensioactivo se selecciona entre tensioactivos no iónicos, tensioactivos aniónicos, tensioactivos catiónicos, tensioactivos anfólicos, tensioactivos zwitteriónicos, tensioactivos no iónicos semi-polares y mezclas de los mismos.

5 En algunas realizaciones, el tensioactivo está presente a un nivel de entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 60%, mientras que en realizaciones alternativas el nivel es de aproximadamente 1% a aproximadamente 50%, mientras que en realizaciones adicionales el nivel está entre aproximadamente 5% y aproximadamente 40%, en peso de la composición detergente. Un detergente contendrá habitualmente de 0 %p/p a aproximadamente 50 %p/p de un tensioactivo aniónico tal como alquilbencenosulfonato lineal (LAS), alfa-olefinsulfonato (AOS), alquil sulfato (sulfato de alcohol graso) (AS), etoxisulfato de alcohol (AEOS o AES), alcanosulfonatos secundarios (SAS), alfa-sulfo ésteres metílicos de ácido graso, ácido alquil- o alqueni succínico, o jabón. Adicionalmente, una composición detergente puede contener opcionalmente de 0 %p/p a aproximadamente 40 %p/p de un tensioactivo no iónico tal como etoxilato de alcohol (AEO o AE), etoxilatos de alcohol carboxilado, etoxilato de nonilfenol, alquilpoliglicósido, alquildimetilaminoóxido, monoetanolamida de ácido graso etoxilado, monoetanolamida de ácido graso, o amida de polihidroxi alquil ácido graso (tal como se describe, por ejemplo, en el documento WO92/06154, que se incorpora a la presente memoria a modo de referencia).

En la presente memoria una composición detergente típicamente comprende uno o más constituyentes de detergente o sistemas de constituyentes. Como constituyente, por ejemplo, se puede incluir uno o más compuestos de poli alfa-1,3-glucano oxidado. En algunos aspectos, el poli alfa-1,3-glucano oxidado puede incluirse como co-constituyente, en donde se usa junto con uno o más constituyentes adicionales tal como los descritos en la presente memoria. Los compuestos de poli alfa-1,3-glucano oxidado para uso en la presente memoria se describen en la Publicación de Solicitud de Patente nº 2015/0259439. En algunas realizaciones que incorporan al menos un constituyente, las composiciones de limpieza comprenden al menos aproximadamente 1%, entre aproximadamente 3% y aproximadamente 60%, o incluso entre aproximadamente 5% y aproximadamente 40%, de constituyente en peso de la composición. Los constituyentes (además del poli alfa-1,3-glucano oxidado) incluyen, aunque sin limitación, metales alcalinos, sales de polifosfatos de amonio y alcanolamónio, silicatos de metal alcalino, carbonatos de metal alcalino y alcalinotérreo, aluminosilicatos, compuestos de policarboxilato, hidroxipolicarboxilatos de éter, copolímeros de anhídrido maleico con etileno o vinil metil éter, ácido 1,3,5-trihidroxi benceno-2,4,6-trisulfónico, y ácido carboximetiloxisuccínico, diversas sales de metal alcalino, amonio y amonio sustituido de ácidos poliacéticos tales como ácido etilendiamina tetraacético y ácido nitrilotriacético, así como policarboxilatos tales como ácido melítico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido oxidisuccínico, ácido polimaleico, ácido benceno 1,3,5-tricarboxílico, ácido carboximetiloxisuccínico, y las sales solubles de los mismos. De hecho, se contempla que cualquier constituyente adecuado tenga utilidad en las diversas realizaciones de la presente descripción. Los ejemplos adicionales de un constituyente de detergente o agente acompanyante incluyen zeolitas, difosfato, trifosfato, fosfonato, citrato, ácido nitrilotriacético (NTA), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido dietilentriaminopentaacético (DTMPA), ácido alquil- o alquenil-succínico, silicatos solubles o silicatos laminados (p.ej., SKS-6 de Hoechst).

En algunas realizaciones, los constituyentes forman complejos iónicos de dureza solubles en agua (p.ej., constituyentes de secuestro), tal como citratos y polifosfatos (p.ej., tripolifosfato sódico y hexahidrato de tripolifosfato sódico, tripolifosfato potásico, y tripolifosfato sódico y potásico mixto, etc.). Se contempla que cualquier constituyente adecuado sea útil en la presente descripción, incluyendo los conocidos en la técnica (véase, p.ej., el documento EP2100949).

En algunas realizaciones, los constituyentes adecuados pueden incluir constituyentes de fosfato y constituyentes que no sean de fosfato. En algunas realizaciones, un constituyente es un constituyente de fosfato. En algunas realizaciones, un constituyente es un constituyente no de fosfato. Se puede usar un constituyente en un nivel de entre 0,1% y 80%, o entre 5% y 60%, o entre 10% y 50%, en peso de la composición. En algunas realizaciones, el producto comprende una mezcla de constituyentes de fosfato y de no fosfato. Los constituyentes de fosfato adecuados incluyen mono-fosfatos, di-fosfatos, tri-polifosfatos o polifosfatos oligoméricos, que incluyen sales de metal alcalino de dichos compuestos, incluyendo las sales de sodio. En algunas realizaciones, un constituyente puede ser tripolifosfato sódico (STPP). Adicionalmente, la composición puede comprender carbonato y/o citrato, preferiblemente citrato que ayuda a alcanzar una composición de pH neutro. Otros constituyentes no de fosfato adecuados incluyen homopolímeros y copolímeros de ácidos policarboxílicos y sus sales parcial o completamente neutralizadas, ácidos policarboxílicos monoméricos y ácidos hidroxicarboxílicos y sus sales. En algunas realizaciones, las sales de los compuestos mencionados anteriormente incluyen sales de amonio y/o metal alcalino, es decir, sales de litio, sodio y potasio, incluyendo sales sódicas. Los ácidos policarboxílicos adecuados incluyen ácidos carboxílicos acíclicos, alicíclicos, hetero-cíclicos y aromáticos, donde en algunas realizaciones, pueden contener al menos dos grupos carboxilo que están en cada caso separados uno del otro, en algunos casos, por no más de dos átomos de carbono.

En la presente memoria una composición detergente puede comprender al menos un agente quelante. Los agentes quelantes adecuados incluyen, aunque sin limitación, agentes quelantes de cobre, hierro y/o manganeso, y mezclas de los mismos. En las realizaciones en las que se usa al menos un agente quelante, la composición comprende entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 15%, o incluso entre aproximadamente 3,0% y aproximadamente 10%, de agente quelante en peso de la composición.

En la presente memoria una composición detergente puede comprender al menos un aditivo de deposición. Los aditivos de deposición adecuados incluyen, aunque sin limitación, polietilén glicol, polipropilén glicol, policarboxilato, polímeros de liberación de suciedad tales como ácido politeftálico, arcillas tales como caolinita, montmorillonita, atapulgita, illita, bentonita, halloysita, y mezclas de las mismas.

En la presente memoria una composición detergente puede comprender uno o más agentes de inhibición de transferencia del color. Los agentes inhibidores de la transferencia del color poliméricos adecuados incluyen, aunque sin limitación, polímeros de polivinilpirrolidona, polímeros de N-óxido poliamina, copolímeros de N-vinilpirrolidona y N-vinilimidazol, poliviniloxazolidonas y polivinilimidazoles o mezclas de los mismos. Otros agentes adicionales de inhibición de la transferencia de colorante incluyen ftalocianina de manganeso, peroxidasas, polímeros de polivinilpirrolidona, polímeros de N-óxido poliamina, copolímeros de N-vinilpirrolidona y N-vinilimidazol, poliviniloxazolidonas y polivinilimidazoles y/o mezclas de los mismos; agentes quelantes, ejemplos de los cuales incluyen ácido etilén-diamino-tetraacético (EDTA); ácido dietilén triamino penta metilén fosfónico (DTPMP); ácido hidroxí-etano difosfónico (HEDP); ácido etilendiamino N,N'-disuccínico (EDDS); ácido metil glicina diacético (HEDP); ácido etilendiamino N,N'-disuccínico (EDDS); ácido metil glicina diacético (MGDA); ácido dietilén triamino penta acético (DTPA); ácido propilén diamino tetracético (PDT A); 2-hidroxipiridina-N-óxido (HPNO); o ácido metil glicina diacético (MGDA); ácido glutámico ácido N,N-diacético (sal tetrasódica de ácido N,N-dicarboximetil glutámico (GLDA); ácido nitriloacético (NTA); ácido 4,5-dihidroxi-m-bencenodisulfónico; ácido cítrico y cualquier sal de los mismos; ácido N-hidroxi-etil etilendiaminotri-acético (HEDTA), ácido trietiléntetraaminohexaacético (TTHA), ácido N-hidroxi-etiliminodiácético (HEIDA), dihidroxietilglicina (DHEG), ácido etilendiaminotetrapropiónico (EDTP) y derivados de los mismos, que pueden usarse solos o en combinación con cualquiera de los anteriores. En las realizaciones en las que se usa un agente inhibidor de la transferencia de colorante, una composición de la presente memoria puede comprender entre aproximadamente 0,0001% y aproximadamente 10%, entre aproximadamente 0,01% y aproximadamente 5%, o incluso entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 3%, en peso de la composición.

Una composición detergente de la presente memoria puede comprender silicatos. En algunas de estas realizaciones, son de utilidad los silicatos sódicos (p.ej., disilicato sódico, metasilicato sódico y/o filosilicatos cristalinos). En algunas realizaciones, los silicatos están presentes en un nivel de entre aproximadamente 1% y aproximadamente 20% en peso de la composición. En algunas realizaciones, los silicatos están presentes a un nivel entre aproximadamente 5% y aproximadamente 15% en peso de la composición.

Una composición detergente de la presente memoria puede comprender dispersantes. Los materiales orgánicos solubles en agua adecuados incluyen, aunque sin limitación, ácidos homo- o co-poliméricos o sus sales, en donde el ácido policarboxílico comprende al menos dos radicales carboxilo separados el uno del otro por no más de dos átomos de carbono.

Una composición detergente de la presente memoria puede comprender adicionalmente una o más enzimas. Los ejemplos de enzimas incluyen proteasas, celulasas, hemicelulasas, peroxidasas, enzimas lipolíticas (p.ej., enzimas metalolipolíticas), xilanasas, lipasas, fosfolipasas, estererasas (p.ej., arilesterasa, poliesterasa), perhidrolasas, cutinasas, pectinasas, pectato liasas, mannanasas, queratinasas, reductasas, oxidasas (p.ej., colina oxidasa, fenoloxidasas), fenoloxidasas, lipoxigenasas, ligninasas, pululananas, tannasas, pentosanasas, malanasas, beta-glucanasas, arabinosidasas, hialuronidasas, condroitinasas, lacasas, metaloproteinasas, amadorinasas, glucoamilasas, alfa-amilasas, beta-amilasas, galactosidasas, galactanasas, catalasas, carrageninas, hialuronidasas, queratinasas, lactasas, ligninasas, peroxidasas, fosfatasas, poligalacturonasas, pululananas, ramnogalactouronasas, tannasas, transglutaminasas, xiloglucanasas, xilosidasas, metaloproteasas, arabinofuranosidasas, fitasas, isomerasas, transferasas y/o amilasas en cualquier combinación.

Cualquier celulosa descrita anteriormente se contempla para uso en las composiciones detergentes descritas. Las celulasas adecuadas incluyen, aunque sin limitación, celulasas de *Humicola insolens* (véase, p.ej., la Patente de EE.UU. nº 4435307). Los ejemplos de celulasas contempladas para uso en la presente memoria son aquellas que presentan un beneficio de cuidado del color para un textil. Los ejemplos de celulasas que proporcionan un beneficio de cuidado del color se describen en los documentos EP0495257, EP0531372, EP531315, WO96/11262, WO96/29397, WO94/07998; WO98/12307; WO95/24471, WO98/08940, y en las Patentes de EE.UU. nº 5457046, 5686593 y 5763254, todos los cuales se incorporan a la presente memoria a modo de referencia. Los ejemplos de celulasas disponibles comercialmente útiles en un detergente incluyen CELLUSOFT®, CELLUCLEAN®, CELLUZYME®, y CAREZYME® (Novo Nordisk A/S y Novozymes A/S); CLAZINASE®, PURADAX HA®, y REVITALENZ™ (DuPont Industrial Biosciences); BIOTOUGH® (AB Enzymes); y KAC-500(8)™ (Kao Corporation). Otras celulasas adicionales se describen, p.ej., en los documentos US7595182, US8569033, US7138263, US3844890, US4435307, US4435307 y GB2095275.

En algunas realizaciones, una composición detergente puede comprender una o más enzimas (p.ej., cualquiera descrita en la presente memoria), cada una a un nivel de entre aproximadamente 0,00001% y aproximadamente 10% en peso de la composición y el balance de materiales de limpieza adjuntos en peso de la composición. En algunas otras realizaciones, una composición detergente también puede comprender cada enzima en un nivel de aproximadamente 0,0001% a aproximadamente 10%, de aproximadamente 0,001% a aproximadamente 5%, de

aproximadamente 0,001% a aproximadamente 2%, o de aproximadamente 0,005% a aproximadamente 0,5%, en peso de la composición.

5 Las proteasas adecuadas incluyen aquellas de origen animal, vegetal o microbiano. En algunas realizaciones, se usan proteasas microbianas. En algunas realizaciones, se incluyen mutantes modificados química o genéticamente. En algunas realizaciones, la proteasa es una serina proteasa, preferiblemente una proteasa alcalina microbiana o una proteasa de tipo tripsina. Los ejemplos de proteasas alcalinas incluyen subtilisinas, especialmente las derivadas de *Bacillus* (p.ej., subtilisina, *lentus*, *amyloliquefaciens*, subtilisina Carlsberg, subtilisina 309, subtilisina 147 y subtilisina 168). Ejemplos adicionales incluyen las proteasas mutantes descritas en las Patentes de EE.UU. n° RE34606, 5955340, 5700676, 6312936 y 6482628, todas las cuales se incorporan a la presente memoria a modo de referencia. 10 Los ejemplos adicionales de proteasas incluyen, aunque sin limitación, tripsina (p.ej., de origen porcino o bovino), y la proteasa *Fusarium* descrita en el documento WO89/06270. En algunas realizaciones, las enzimas de proteasa disponibles comercialmente incluyen, aunque sin limitación, las proteasas MAXATASE®, MAXACAL™, MAXAPEM™, OPTICLEAN®, OPTIMASE®, PROPERASE®, PURAFECT®, PURAFECT® OXP, PURAMAX™, EXCELLASE™, 15 PREFERENZ™ (p.ej., P100, P110, P280), proteasas EFFECTENZ™ (p.ej., P1000, P1050, P2000), proteasas EXCELLENZ™ (p.ej., P1000), ULTIMASE® y PURAFAST™ (Genencor); ALCALASE®, SAVINASE®, PRIMASE®, DURAZYM™, POLARZYME®, OVOZYME®, KANNASE®, LIQUANASE®, NEUTRASE®, RELASE® y ESPERASE® (Novozymes); variantes BLAP™ y BLAP™ (Henkel Kornmanditgesellschaft auf Aktien, Duesseldorf, Alemania), y KAP (subtilisina de *B. alkalophilus*; Kao Corp., Tokio, Japón). Se describen diversas proteasas en los documentos 20 WO95/23221, WO92/21760, WO09/149200, WO09/149144, WO09/149145, WO11/072099, WO10/056640, WO10/056653, WO11/140364, WO12/151534, Publicación de Patente de EE.UU. n° 2008/0090747, y en las Patentes de EE.UU. n° 5801039, 5340735, 5500364, 5855625, RE34606, 5955340, 5700676, 6312936, 6482628, 8530219, y otras patentes diversas. En algunas realizaciones adicionales, las metaloproteasas neutras son útiles en la presente descripción, incluyendo, aunque sin limitación, las metaloproteasas neutras descritas en los documentos 25 WO1999014341, WO1999033960, WO1999014342, WO1999034003, WO2007044993, WO2009058303 y WO2009058661, todos los cuales se incorporan a la presente memoria a modo de referencia. Los ejemplos de metaloproteasas incluyen nprE, la forma recombinante de metaloproteasa neutra expresada en *Bacillus subtilis* (véase, p.ej., el documento WO07/044993), y PMN, la metaloproteasa neutra purificada de *Bacillus amyloliquefaciens*.

30 Las mananastas adecuadas incluyen, aunque sin limitación, aquellas de origen bacteriano o fúngico. En algunas realizaciones se incluyen mutantes modificados química o genéticamente. Se conocen varias mananastas que pueden presentar utilidad en la presente descripción (véanse, p.ej., las Patentes de EE.UU. n° 6566114, 6602842 y 6440991, todas las cuales se incorporan a la presente memoria a modo de referencia). Las mananastas disponibles comercialmente que tienen utilidad en la presente descripción incluyen, aunque sin limitación, MANNASTAR®, 35 PURABRITE™ y MANNAWAY®.

Las lipasas adecuadas incluyen aquellas de origen bacteriano o fúngico. Se incluyen mutantes químicamente modificados, proteolíticamente modificados o de proteínas diseñadas. Los ejemplos de lipasas útiles incluyen aquellos de los géneros *Humicola* (p.ej., *H. lanuginosa*, EP258068 y EP305216; *H. insolens*, WO96/13580), *Pseudomonas* (p.ej., *P. alcaligenes* o *P. pseudoalcaligenes*, EP218272; *P. cepacia*, EP331376; *P. stutzeri*, GB1372034; *P. fluorescens* y *Pseudomonas* sp. cepa SO 705, W095/06720 y W096/27002; *P. wisconsinensis*, W096/12012); y *Bacillus* (p.ej., *B. subtilis*, Dartois et al., *Biochemica et Biophysica Acta* 1131 :253-360; *B. stearothermophilus*, JP64/744992; *B. pumilus*, W091/16422). Además, una serie de lipasas clonadas presentan utilidad en algunas realizaciones de la presente descripción, incluyendo, aunque sin limitación, la lipasa de *Penicillium camembertii* (véase, Yamaguchi et al., *Gene* 103: 61-67 [1991]), lipasa de *Geotricum candidum* (véase, Schimada et al., *J. Biochem.*, 106: 383-388 [1989]), y diversas lipasas de *Rhizopus* como la lipasa de *R. delemar* (véase, Hass et al., *Gene* 109: 117-113 [1991]), una lipasa de *R. niveus* (Kugimiya et al., *Biosci. Biotech. Biochem.* 56: 716-719 [1992]) y la lipasa de *R. oryzae*. Otras lipasas adicionales útiles en la presente memoria incluyen, por ejemplo, las descritas en los documentos W092/05249, W094/01541, W095/35381, W096/00292, W095/30744, W094/25578, W095/14783, 50 W095/22615, W097/04079, W097/07202, EP407225 y EP260105. Otros tipos de enzimas de polipéptido de lipasa tales como las cutinasas también son útiles en algunas realizaciones de la presente descripción, incluyendo, aunque sin limitación, la cutinasa derivada de *Pseudomonas mendocina* (véase, W088/09367), y la cutinasa derivada de *Fusarium solani pisi* (véase, W090/09446). Los ejemplos de determinadas enzimas de lipasa disponibles comercialmente útiles en la presente memoria incluyen M1 UPASE™, LUMA FAST™, y UPOMAX™ (Genencor); 55 UPEX®, UPOLASE® y UPOLASE® ULTRA (Novozymes); y UPASE P™ "Amano" (Amano Pharmaceutical Co. Ud., Japón).

Las poliestearasas adecuadas incluyen, por ejemplo, las descritas en los documentos W001/34899, W001/14629 y en la Patente de EE.UU. n° 6933140.

60 Una composición detergente de la presente memoria también puede comprender 2,6-beta-D-fructan-hidrolasa, que es efectiva para la eliminación/limpieza de determinadas biopelículas presentes en tejidos/coladas domésticos y/o industriales.

65 Las amilasas adecuadas incluyen, aunque sin limitación, aquellas de origen bacteriano o fúngico. Se incluyen en algunas realizaciones mutantes modificados química o genéticamente. Las amilasas que presentan utilidad en la

- presente descripción incluyen, aunque sin limitación, alfa-amilasas obtenidas de *B. licheniformis* (véase, p.ej., GB1296839). Otras amilasas adecuadas adicionales incluyen las descritas en los documentos WO9510603, WO9526397, WO9623874, WO9623873, WO9741213, WO9919467, WO0060060, WO0029560, WO9923211, WO9946399, WO0060058, WO0060059, WO9942567, WO0114532, WO02092797, WO0166712, WO0188107, 5 WO0196537, WO0210355, WO9402597, WO0231124, WO9943793, WO9943794, WO2004113551, WO2005001064, WO2005003311, WO0164852, WO2006063594, WO2006066594, WO2006066596, WO2006012899, WO2008092919, WO2008000825, WO2005018336, WO2005066338, WO2009140504, WO2005019443, WO2010091221, WO2010088447, WO0134784, WO2006012902, WO2006031554, WO2006136161, WO2008101894, WO2010059413, WO2011098531, WO2011080352, WO2011080353, WO2011080354, 10 WO2011082425, WO2011082429, WO2011076123, WO2011087836, WO2011076897, WO94183314, WO9535382, WO9909183, WO9826078, WO9902702, WO9743424, WO9929876, WO9100353, WO9605295, WO9630481, WO9710342, WO2008088493, WO2009149419, WO2009061381, WO2009100102, WO2010104675, WO2010117511 y WO2010115021, todos los cuales se incorporan a la presente memoria a modo de referencia.
- 15 Las amilasas adecuadas incluyen, por ejemplo, amilasas disponibles comercialmente tales como STAINZYME[®], STAINZYME PLUS[®], NATALASE[®], DURAMYL[®], TERMAMYL[®], TERMAMYL ULTRA[®], FUNGAMYL[®] y BAN[™] (Novo Nordisk NS y Novozymes NS); RAPIDASE[®], POWERASE[®], PURASTAR[®] y PREFERENZ[™] (DuPont Industrial Biosciences).
- 20 Las peroxididasas/oxididasas adecuadas contempladas para uso en las composiciones incluyen aquellas de origen vegetal, bacteriano o fúngico. Se incluyen los mutantes modificados químicamente o de proteínas diseñadas. Los ejemplos de peroxididasas útiles en la presente memoria incluyen las del género *Coprinus* (p.ej., *C. cinereus*, WO93/24618, WO95/10602 y WO98/15257), así como las referenciadas en los documentos WO2005056782, WO2007106293, WO2008063400, WO2008106214 y WO2008106215. Las peroxididasas disponibles comercialmente 25 útiles en la presente memoria incluyen, por ejemplo, GUARDZYME[™] (Novo Nordisk A/S y Novozymes A/S).
- En algunas realizaciones, las peroxididasas se usan en combinación con peróxido de hidrógeno o una fuente del mismo (p.ej., un percarbonato, perborato o persulfato) en las composiciones de la presente descripción. En algunas realizaciones alternativas, las oxididasas se usan en combinación con oxígeno. Ambos tipos de enzimas se usan para 30 "blanqueo de disolución" (es decir, para prevenir la transferencia de un colorante textil desde un tejido teñido a otro tejido cuando los tejidos se lavan juntos en un licor de lavado), preferiblemente junto a un agente potenciador (véase, p.ej., WO94/12621 y WO95/01426). Las peroxididasas/oxididasas adecuadas incluyen, aunque sin limitación, las de origen vegetal, bacteriano o fúngico. Se incluyen los mutantes modificados química o genéticamente en algunas realizaciones. 35
- Las enzimas que pueden estar comprendidas en una composición detergente de la presente memoria pueden estabilizarse usando agentes estabilizantes convencionales, p.ej., un poliol tal como propilen glicol o glicerol; un azúcar o alcohol de azúcar; ácido láctico; ácido bórico o un derivado de ácido bórico (p.ej., un éster de borato aromático).
- 40 Una composición detergente en determinadas realizaciones puede comprender uno o más tipos de polímeros además de un dextrano como el descrito en la presente memoria. Los ejemplos de otros tipos de polímeros útiles en la presente memoria incluyen carboximetil celulosa (CMC), poli(vinilpirrolidona) (PVP), polietilen glicol (PEG), poli(vinil alcohol) (PVA), policarboxilatos tales como poliacrilatos, copolímeros de ácido maleico/acrílico y copolímeros de metacrilato/ácido acrílico. 45
- Una composición detergente de la presente memoria puede contener un sistema de blanqueo. Por ejemplo, un sistema de blanqueo puede comprender una fuente de H₂O₂ tal como perborato o percarbonato, que puede combinarse con un activante de lejía formadora de perácido tal como tetraacetiltilendiamina (TAED) o nonanoiloxibencenosulfonato (NOBS). Alternativamente, un sistema de blanqueo puede comprender peroxiácidos (p.ej., peroxiácidos de tipo amida, imida o sulfona). De forma aún más alternativa, un sistema de blanqueo puede ser un sistema de blanqueo enzimático que comprende perhidrolasa, por ejemplo, tal como el sistema descrito en el documento WO2005/056783. 50
- Una composición detergente de la presente memoria también puede contener ingredientes de detergente convencionales tales como acondicionadores de tejidos, arcillas, potenciadores de espumas, supresores de espumas, 55 agentes anti-corrosión, agentes de suspensión de la suciedad, agentes anti-redeposición de la suciedad, colorantes, bactericidas, inhibidores de deslustre, abrillantadores ópticos o perfumes. El pH de una composición detergente de la presente memoria (medido en disolución acuosa a la concentración de uso) habitualmente es neutro o alcalino (p.ej., pH de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 11,0).
- 60 Se cree que un dextrano de la presente memoria puede ser incluido como agente anti-redeposición y/o como agente de eliminación de suciedad de arcilla en una composición detergente tal como una composición de cuidado de tejidos, si se desea (tales agentes pueden caracterizarse adicionalmente como agentes de mantenimiento de la blancura en determinados aspectos). Los ejemplos de otros agentes anti-redeposición y/o de eliminación de suciedad de arcilla adecuadas en la presente memoria incluyen tensioactivos zwitteriónicos polietoxi, copolímeros solubles en agua de 65 ácido acrílico o metacrílico con condensados de ácido acrílico o metacrílico-óxido de etileno (p.ej., la Patente de EE.UU. nº 3719647), derivados de celulosa tales como carboximetilcelulosa e hidroxipropilcelulosa (p.ej., las Patentes

de EE.UU. nº 3597416 y 3523088), y mezclas que comprenden tensioactivo alquil polietoxi no iónico, tensioactivo catiónico polietoxi alquil cuaternario y tensioactivo de amida grasa (p.ej., Patente de EE.UU. nº 4228044). Los ejemplos no limitativos de otros agentes anti-redeposición adecuados y de eliminación de suciedad de arcilla se describen en las Patentes de EE.UU. nº 4597898 y 4891160, y en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional nº

5

Las formas particulares de composiciones detergentes que pueden adaptarse para los propósitos descritos en la presente memoria se describe, por ejemplo, en los documentos US20090209445A1, US20100081598A1, US7001878B2, EP1504994B1, WO2001085888A2, WO2003089562A1, WO2009098659A1, WO2009098660A1, WO2009112992A1, WO2009124160A1, WO2009152031A1, WO2010059483A1, WO2010088112A1, WO2010090915A1, WO2010135238A1, WO2011094687A1, WO2011094690A1, WO2011127102A1, WO2011163428A1, WO2008000567A1, WO2006045391A1, WO2006007911A1, WO2012027404A1, EP1740690B1, WO2012059336A1, US6730646B1, WO2008087426A1, WO2010116139A1 y WO2012104613A1, todos los cuales se incorporan a la presente memoria a modo de referencia.

10

15

Las composiciones detergentes para colada de la presente memoria opcionalmente pueden ser composiciones detergentes para colada industriales (para todos los fines). Los ejemplos de composiciones detergentes para colada industriales comprenden un tensioactivo detergente (10%-40% p/p), que incluyen un tensioactivo detergente aniónico (seleccionado de un grupo de alquil sulfatos, alquil sulfonatos, alquil sulfato alcoxlado, alquil fosfatos, alquil fosfonatos, alquil carboxilatos, y/o mezclas de los mismos, lineales o ramificados, o de cadena aleatoria, sustituidos o sin sustituir), y opcionalmente un tensioactivo no iónico (seleccionado de un grupo de alquil alcohol alcoxlado lineal o ramificado, o de cadena aleatoria, sustituido o sin sustituir, p.ej. alquil alcoholes etoxilados C8-C18 y/o alquil fenoles alcoxlados C6-C12), mientras que la proporción en peso de tensioactivo detergente aniónico (con un índice hidrofílico (Hlc) de entre 6,0 y 9) a tensioactivo detergente no iónico es superior a 1:1. Los tensioactivos detergentes adecuados también incluyen tensioactivos detergentes (seleccionados de un grupo de compuestos alquil piridinio, compuestos de alquil amonio cuaternario, compuestos de alquil fosfonio cuaternario, compuestos de alquil sulfonio terciarios, y/o mezclas de los mismos); tensioactivos detergentes zwitteriónicos y/o anfotéricos (seleccionados de un grupo de alcanolamina sulfo-betaínas); tensioactivos anfólicicos; tensioactivos no iónicos semi-polares y mezclas de los mismos.

20

25

Un detergente de la presente memoria tal como una composición detergente para colada industrial puede incluir opcionalmente un polímero de aceleración de la detergencia que consiste en polímeros de limpieza de grasa alcoxlados anfílicos (seleccionados de un grupo de polímeros alcoxlados que tienen propiedades hidrofílicas y hidrofóbicas ramificadas, tal como polialquileniminas alcoxladas en el rango de 0,05% p/p – 10% p/p) y/o polímeros de injerto aleatorio (que típicamente comprenden una cadena principal hidrofílica que comprende monómeros seleccionados del grupo que consiste en: ácidos carboxílicos C1-C6 insaturados, éteres, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, unidades de azúcares, unidades alcoxi, anhídrido maleico, polialcoholes saturados tal como glicerol, y mezclas de los mismos; y cadena(s) lateral(es) hidrofóbica(s) seleccionadas del grupo que consiste en: grupo alquilo C4-C25, polipropileno, polibutileno, éster de vinilo de un ácido monocarboxílico C1-C6 saturado, éster de alquilo C1-C6 de ácido acrílico o metacrílico, y mezclas de los mismos.

30

35

40

Un detergente de la presente memoria tal como una composición detergente para colada industrial puede incluir opcionalmente polímeros adicionales tal como polímeros de liberación de la suciedad (que incluyen poliésteres modificados en los extremos aniónicamente, por ejemplo SRP1, polímeros que comprende al menos una unidad de monómero seleccionada entre sacárido, ácido dicarboxílico, polioli y combinaciones de los mismos, en configuración aleatoria o de bloque, polímeros basados en etilen tereftalato y copolímeros de los mismos en configuración aleatoria o de bloque, por ejemplo REPEL-O-TEX SF, SF-2 y SRP6, TEXCARE SRA100, SRA300, SRN100, SRN170, SRN240, SRN300 y SRN32, MARLOQUEST SL), agente(s) anti-redeposición de la presente memoria (de 0,1 %p/p a 10% p/p), que incluyen polímeros de carboxilato, tal como polímeros que comprenden al menos un monómero seleccionado entre ácido acrílico, ácido maleico (o anhídrido maleico), ácido fumárico, ácido itacónico, ácido aconítico, ácido mesacónico, ácido citracónico, ácido metilmalónico, y cualquier mezcla de los mismos, homopolímero de vinilpirrolidona, y/o polietilen glicol, peso molecular en el rango de entre 500 y 100.000 Da); y carboxilato polimérico (tal como copolímero de maleato/acrilato aleatorio u homopolímero de poli(acrilato)).

45

50

Un detergente de la presente memoria tal como una composición detergente para colada industrial puede incluir opcionalmente ácidos grasos saturados o insaturados, preferiblemente ácidos grasos C12-C24 saturados o insaturados (de 0 %p/p a 10 %p/p); aditivos de deposición además de un compuesto de dextrano descrito en la presente memoria (los ejemplos del cual incluyen polisacáridos, polímeros celulósicos, haluros de poli dialil dimetil amonio (DADMAC), y co-polímeros de DAD MAC con vinil pirrolidona, acrilamidas, imidazoles, goma guar catiónica, almidón catiónico, poli(acilamidas) catiónicas, y mezclas de los mismos.

55

60

Un detergente de la presente memoria tal como una composición detergente para colada industrial opcionalmente puede incluir también agentes inhibidores de la transferencia de colorante, cuyos ejemplos incluyen ftalocianina de manganeso, peroxidasas, polímeros de polivinilpirrolidona, polímeros de N-óxido poliamina, copolímeros de N-vinilpirrolidona y N-vinilimidazol, poliviniloxazolidonas y polivinilimidazoles y/o mezclas de los mismos; agentes quelantes, cuyos ejemplos incluyen ácido etilen-diamin-tetraacético (EDDTA), ácido dietilen triamina penta metilén fosfónico (DTPMP), ácido hidroxietano difosfónico (HEDP), ácido etilendiamin N,N'-disuccínico (EDDS), ácido metil

65

glicina diacético (MGDA), ácido dietilen triamina penta acético (DTPA), ácido propilen diamina tetracético (PDPA), 2-hidroxipiridina-N-óxido (HPNO), o ácido metil glicina diacético (MGDA), ácido glutámico ácido N,N-diacético (sal tetrasódica de ácido N,N-dicarboximetil glutámico (GLDA), ácido nitrilotriacético (NTA), ácido 4,5-dihidroxi-m-bencenodisulfónico, ácido cítrico y cualquier sal de los mismos, ácido N-hidroxi-etilendiaminotriacético (HEDTA), ácido trietil-tetraaminohexaacético (TTHA), ácido N-hidroxi-etiliminodiacético (HEIDA), dihidroxi-etilglicina (DHEG), ácido etilendiaminotetrapropiónico (EDTP), y derivados de los mismos.

Un detergente de la presente memoria tal como una composición detergente para colada industrial opcionalmente puede incluir silicón o supresores de espumas basados en ácidos grasos; colorantes de tonalidad, cationes de calcio y magnesio, ingredientes de señalización visual, anti-espumante (de 0,001 %p/p a aproximadamente 4,0 %p/p), y/o un estructurante/espesante (de 0,01 %p/p a 5 %p/p) seleccionado del grupo que consiste en diglicéridos y triglicéridos, etilen glicol diestearato, celulosa microcristalina, microfibras de celulosa, biopolímeros, goma xantano, goma gellan, y mezclas de los mismos). Dicho estructurante/espesantes sería adicional, en determinadas realizaciones, al uno o más compuestos de dextrano comprendidos en el detergente. Un estructurante también puede denominarse agente estructural.

Un detergente de la presente memoria puede estar en la forma de una composición detergente para colada industrial seco/sólido, por ejemplo. Dicho detergente puede incluir: (i) un tensioactivo detergente, tal como un tensioactivo detergente aniónico descrito en la presente memoria, cualquier tensioactivo detergente no iónico descrito en la presente memoria, cualquier tensioactivo detergente catiónico descrito en la presente memoria, cualquier tensioactivo zwitteriónico y/o anfotérico descrito en la presente memoria, cualquier tensioactivo anfótilico, cualquier tensioactivo semi-polar no iónico, y mezclas de los mismos; (ii) un constituyente, tal como cualquier constituyente libre de fosfatos (p.ej., constituyentes zeolíticos en el rango de 0 %p/p a menos de 10 %p/p), cualquier constituyente de fosfato (p.ej., tri-polifosfato sódico en el rango de 0 %p/p a menos de 10 %p/p), ácido cítrico, sales de citrato y ácido nitrilotriacético, cualquier sal de silicato (p.ej., silicato sódico o potásico o meta-silicato sódico en el rango de 0 %p/p a menos de 10 %p/p); cualquier sal de carbonato (p.ej., carbonato sódico y/o bicarbonato sódico en el rango de 0 %p/p a menos de 80 %p/p), y mezclas de los mismos; (iii) un agente blanqueante, tal como cualquier foto-lejía (p.ej., ftalocianinas de zinc sulfonadas, ftalocianinas de aluminio sulfonadas, colorantes xantenos, y mezclas de los mismos), cualquier activador de lejía hidrofóbico o hidrofílico (p.ej., dodecanoil oxibenceno sulfonato, decanoil oxibenceno sulfonato, ácido decanoil oxibenzoico o sales de los mismos, 3,5,5-trimetil hexanoil oxibenceno sulfonato, tetraacetil etilen diamino-TAED, nonaioxibenceno sulfonato-NOBS, quats de nitrilo, y mezclas de los mismos), cualquier fuente de peróxido de hidrógeno (p.ej., sales de perhidrato inorgánicas, cuyos ejemplos incluyen sal sódica mono o tetrahidratada de perborato, percarbonato, persulfato, perfosfato o persilicato), cualquier perácido hidrofílico y/o hidrofóbico preformado (p.ej., ácidos y sales percarboxílicos, ácidos y sales percarbónicos, ácidos y sales perimidícos, ácidos y sales peroximonosulfúricos, y mezclas de los mismos); y/o (iv) cualesquier otros componentes tales como un catalizador de blanqueo (p.ej., potenciadores de lejía de imina, cuyos ejemplos incluyen cationes y poli-iones de iminio, zwitteriones de iminio, aminas modificadas, óxidos de amina modificados, N-sulfonil iminas, N-fosfonil iminas, N-acil iminas, dióxidos de tiadiazol, perfluoroiminas, cetonas de azúcar cíclicas, y mezclas de los mismos), y un catalizador de blanqueo que contiene metal (p.ej., cationes de cobre, hierro, titanio, rutenio, wolframio, molibdeno o manganeso, junto a cationes de metal auxiliar tal como zinc o aluminio y un secuestrante tal como EDTA, ácido etilendiamintetra(metilenfosfónico).

Las composiciones descritas en la presente memoria pueden estar en la forma de una composición detergente lavavajillas, por ejemplo. Los ejemplos de detergentes lavavajillas incluyen detergentes lavavajillas automáticos (usados típicamente en máquinas lavavajillas) y detergentes lavavajillas para lavado a mano. Una composición detergente lavavajillas puede estar en cualquier forma seca o líquida/acuosa tal como se describe en la presente memoria, por ejemplo. Los componentes que pueden incluirse en determinadas realizaciones de una composición detergente lavavajillas incluyen, por ejemplo, uno o más de un fosfato; agente blanqueante basado en oxígeno o cloro; tensioactivo no iónico; sal alcalina (p.ej., metasilicatos, hidróxidos de metal alcalino, carbonato sódico); cualquier enzima activa descrita en la presente memoria; agente anti-corrosión (p.ej., silicato sódico); agente anti-espumante; aditivos para frenar la eliminación de brillo y dibujos de la cerámica; perfume; agente anti-formación de torta (en detergente granular); almidón (en detergentes basados en pastillas); agente gelificante (en detergentes basados en líquido/gel); y/o arena (detergentes en polvo).

Los detergentes lavavajillas tales como un detergente de lavavajillas automático o un detergente lavavajillas líquido pueden comprender (i) un tensioactivo no iónico, que incluye cualquier tensioactivo no iónico etoxilado, tensioactivo de alcohol alcóxilado, alcohol poli(oxialquilado) modificado en los extremos con epoxi, o tensioactivo de óxido de amina presente en una cantidad de 0 a 10 %p/p; (ii) un constituyente, en el rango de aproximadamente 5-60 %p/p, que incluye cualquier constituyente de fosfato (p.ej., mono-fosfatos, di-fosfatos, tri-polifosfatos, otros polifosfatos oligoméricos, tripolifosfato sódico STPP), cualquier constituyente libre de fosfato (p.ej., compuestos basados en aminoácido que incluyen ácido metil-glicina-diacético [MGDA] y sales o derivados de los mismos, ácido glutámico-N,N-diacético [GLDA] y sales o derivados de los mismos, ácido iminodisuccínico (IDS) y sales o derivados de los mismos, carboxi metil inulina y sales o derivados de los mismos, ácido nitrilotriacético [NTA], ácido dietilen triamina penta acético [DTPA], ácido B-alaninadiacético [B-ADA] y sales de los mismos), homopolímeros y copolímeros de ácidos poli-carboxílicos y sales parcial o completamente neutralizados de los mismos, ácidos policarboxílicos monoméricos y ácidos hidroxicarboxílicos y sales de los mismos en el rango de 0,5 %p/p a 50 %p/p, o polímeros

sulfonados/carboxilados en el rango de aproximadamente 0,1 %p/p a aproximadamente 50 %p/p; (iii) un aditivo de secado en el rango de aproximadamente 0,1 %p/p a aproximadamente 10 %p/p (p.ej., poliésteres, especialmente poliésteres aniónicos, opcionalmente junto con monómeros adicionales de 3 a 6 funcionalidades – típicamente funcionalidades de ácido, alcohol o éster, que permiten la policondensación, compuestos de policarbonato, poliuretano y/o poliurea-poliorganosiloxano, o compuestos precursores de los mismos, particularmente del carbonato cíclico reactivo y de tipo urea); (iv) un silicato en el rango de entre aproximadamente 1 %p/p y aproximadamente 20 %p/p (p.ej., silicatos sódicos o potásicos tal como disilicato sódico, meta-silicato sódico y filosilicatos cristalinos); (v) una lejía inorgánica (p.ej., sales de perhidrato tales como sales de perborato, percarbonato, perfosfato, persulfato y persilicato) y/o lejía orgánica (p.ej., peroxiácidos orgánicos tales como diacil- y tetraacil-peróxidos, especialmente ácido diperoxidodecanodioico, ácido diperoxitetradecanodioico, y ácido diperoxihexadecanodioico); (vi) un activador de lejía (p.ej., precursores de perácido orgánico en el rango de entre aproximadamente 0,1 %p/p y aproximadamente 10 %p/p) y/o catalizadores de lejía (p.ej., triazaciclononano manganeso y complejos relacionados; bispiridilamina Co, Cu, Mn y Fe, y complejos relacionados; y pentamina acetato cobalto(III) y complejos relacionados); (vii) un agente de cuidado de metal en el rango de entre aproximadamente 0,1 %p/p y 5 %p/p (p.ej., benzotriazoles, sales y complejos metálicos, y/o silicatos); y/o (viii) cualquier enzima activa descrita en la presente memoria en el rango de aproximadamente 0,01 a 5,0 mg de enzima activa por gramo de composición detergente para lavavajillas automático, y un componente estabilizador de enzima (p.ej., oligosacáridos, polisacáridos y sales metálicas divalentes inorgánicas).

A continuación se describen varios ejemplos de formulaciones detergentes que comprenden al menos un dextrano de la presente memoria (1-19):

1) Una composición detergente formulada como un granulado que tiene una densidad media de al menos 600 g/L que comprende: alquilbencenosulfonato lineal (calculado como ácido) a aproximadamente 7-12 %p/p; etoxisulfato de alcohol (p.ej., alcohol C12-18, óxido de etileno 1-2 [EO]), o alquil sulfato (p.ej., C16-18) a aproximadamente 1-4 %p/p; etoxilato de alcohol (p.ej., alcohol C14-15) a aproximadamente 5-9 %p/p; carbonato sódico a aproximadamente 14-20 %p/p; silicato soluble (p.ej., $\text{Na}_2\text{O } 2\text{SiO}_2$) a aproximadamente 2-6 %p/p; zeolita (p.ej., NaAlSiO_4) a aproximadamente 15-22 %p/p; sulfato sódico a aproximadamente 0-6 %p/p; citrato sódico/ácido cítrico a aproximadamente 0-15 %p/p; perborato sódico a aproximadamente 11-18 %p/p; TAED a aproximadamente 2-6 %p/p; dextrano de la presente memoria hasta aproximadamente 2 %p/p; otros polímeros (p.ej., copolímero de ácido maleico/acrílico, PVP, PEG) a aproximadamente 0-3 %p/p; opcionalmente una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., supresores de espumas, perfumes, abrillantador óptico, foto-lejía) a aproximadamente 0-5 %p/p.

2) Una composición detergente formulada como un granulado que tiene una densidad media de al menos 600 g/L que comprende: alquilbencenosulfonato lineal (calculado como ácido) a aproximadamente 6-11 %p/p; etoxisulfato de alcohol (p.ej., alcohol C12-18, óxido de etileno 1-2 EO) o alquil sulfato (p.ej., C16-18) a aproximadamente 1-3 %p/p; etoxilato de alcohol (p.ej., alcohol C14-15) a aproximadamente 5-9 %p/p; carbonato sódico a aproximadamente 15-21 %p/p; silicato soluble (p.ej., $\text{Na}_2\text{O } 2\text{SiO}_2$) a aproximadamente 1-4 %p/p; zeolita (p.ej., NaAlSiO_4) a aproximadamente 24-34 %p/p; sulfato sódico a aproximadamente 4-10 %p/p; citrato sódico/ácido cítrico a aproximadamente 0-15 %p/p; perborato sódico a aproximadamente 11-18 %p/p; TAED a aproximadamente 2-6 %p/p; dextrano de la presente memoria hasta aproximadamente 2 %p/p; otros polímeros (p.ej., copolímero de ácido maleico/acrílico, PVP, PEG) a aproximadamente 1-6 %p/p; opcionalmente una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., supresores de espumas, perfumes, abrillantador óptico, foto-lejía) a aproximadamente 0-5 %p/p.

3) Una composición detergente formulada como un granulado que tiene una densidad media de al menos 600 g/L que comprende: alquilbencenosulfonato lineal (calculado como ácido) a aproximadamente 5-9 %p/p; etoxisulfato de alcohol (p.ej., alcohol C12-18, 7 EO) a aproximadamente 7-14 %p/p; jabón como ácido graso (p.ej., ácido graso C16-22) a aproximadamente 1-3 %p/p; carbonato sódico a aproximadamente 10-17 %p/p; silicato soluble (p.ej., $\text{Na}_2\text{O } 2\text{SiO}_2$) a aproximadamente 3-9 %p/p; zeolita (p.ej., NaAlSiO_4) a aproximadamente 23-33 %p/p; sulfato sódico a aproximadamente 0-4 %p/p; perborato sódico a aproximadamente 8-16 %p/p; TAED a aproximadamente 2-8 %p/p; fosfonato (p.ej., EDTMPA) a aproximadamente 0-1 %p/p; dextrano de la presente memoria hasta aproximadamente 2 %p/p; otros polímeros (p.ej., copolímero de ácido maleico/acrílico, PVP, PEG) a aproximadamente 0-3 %p/p; opcionalmente una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., supresores de espumas, perfumes, abrillantador óptico) a aproximadamente 0-5 %p/p.

4) Una composición detergente formulada como un granulado que tiene una densidad media de al menos 600 g/L que comprende: alquilbencenosulfonato lineal (calculado como ácido) a aproximadamente 8-12 %p/p; etoxilato de alcohol (p.ej., alcohol C12-18, 7 EO) a aproximadamente 10-25 %p/p; carbonato sódico a aproximadamente 14-22 %p/p; silicato soluble (p.ej., $\text{Na}_2\text{O } 2\text{SiO}_2$) a aproximadamente 1-5 %p/p; zeolita (p.ej., NaAlSiO_4) a aproximadamente 25-35 %p/p; sulfato sódico a aproximadamente 0-10 %p/p; perborato sódico a aproximadamente 8-16 %p/p; TAED a aproximadamente 2-8 %p/p; fosfonato (p.ej., EDTMPA) a aproximadamente 0-1 %p/p; dextrano de la presente memoria hasta aproximadamente 2 %p/p; otros polímeros (p.ej., copolímero de ácido maleico/acrílico, PVP, PEG) a aproximadamente 1-3 %p/p; opcionalmente una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., supresores de espumas, perfumes) a aproximadamente 0-5 %p/p.

- 5) Una composición detergente líquida acuosa que comprende: alquilbencenosulfonato lineal (calculado como ácido) a aproximadamente 15-21 %p/p; etoxilato de alcohol (p.ej., alcohol C12-18, 7 EO; o alcohol C12-C15, 5 EO) a aproximadamente 12-18 %p/p; jabón como ácido graso (p.ej., ácido oleico) a aproximadamente 3-13 %p/p; ácido alqueniilsuccínico (C12-C14) a aproximadamente 0-13 %p/p; aminoetanol a aproximadamente 8-18 %p/p; ácido cítrico a aproximadamente 2-8 %p/p; fosfonato a aproximadamente 0-3 %p/p; dextrano de la presente memoria a aproximadamente 2 %p/p; otros polímeros (p.ej., PVP, PEG) a aproximadamente 0-3 %p/p; borato a aproximadamente 0-2 %p/p; etanol a aproximadamente 0-3 %p/p; propilen glicol a aproximadamente 8-14 %p/p; opcionalmente una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., dispersantes, supresores de espumas, perfumes, abrillantador óptico) a aproximadamente 0-5 %p/p.
- 6) Una composición detergente líquida estructurada acuosa que comprende: alquilbencenosulfonato lineal (calculado como ácido) a aproximadamente 15-21 %p/p; etoxilato de alcohol (p.ej., alcohol C12-18, 7 EO; o alcohol C12-15, 5 EO) a aproximadamente 3-9 %p/p; jabón como ácido graso (p.ej., ácido oleico) a aproximadamente 3-10 %p/p; zeolita (p.ej., NaAlSiO₄) a aproximadamente 14-22 %p/p; citrato potásico a aproximadamente 9-18 %p/p; borato a aproximadamente 0-2 %p/p; dextrano de la presente memoria hasta aproximadamente 2 %p/p; otros polímeros (p.ej., PVP, PEG) a aproximadamente 0-3 %p/p; etanol a aproximadamente 0-3 %p/p; polímeros de anclaje (p.ej., copolímero de lauril metacrilato/ácido acrílico, ratio molar 2:1, MW 3800) a aproximadamente 0-3 %p/p; glicerol a aproximadamente 0-5 %p/p; opcionalmente una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., dispersantes, supresores de espumas, perfumes, abrillantador óptico) a aproximadamente 0-5 %p/p.
- 7) Una composición detergente formulada como un granulado que tiene una densidad media de al menos 600 g/L que comprende: sulfato de alcohol graso a aproximadamente 5-10 %p/p; monoetanolamida de ácido graso etoxilado a aproximadamente 3-9 %p/p; jabón como ácido graso a aproximadamente 0-3 %p/p; carbonato sódico a aproximadamente 5-10 %p/p; silicato soluble (p.ej., Na₂O 2SiO₂) a aproximadamente 1-4 %p/p; zeolita (NaAlSiO₄) a aproximadamente 20-40 %p/p; sulfato sódico a aproximadamente 2-8 %p/p; perborato sódico a aproximadamente 12-18 %p/p; TAED a aproximadamente 2-7 %p/p; dextrano de la presente memoria hasta aproximadamente 2 %p/p; otros polímeros (p.ej., copolímero de ácido maleico/acrílico, PEG) a aproximadamente 1-5 %p/p; opcionalmente una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., abrillantador óptico, supresores de espumas, perfumes) a aproximadamente 0-5 %p/p.
- 8) Una composición detergente formulada como un granulado que comprende: alquilbencenosulfonato lineal (calculado como ácido) a aproximadamente 8-14 %p/p; monoetanolamida de ácido graso etoxilado a aproximadamente 5-11 %p/p; jabón como ácido graso a aproximadamente 0-3 %p/p; carbonato sódico a aproximadamente 4-10 %p/p; silicato soluble (p.ej., Na₂O 2SiO₂) a aproximadamente 1-4 %p/p; zeolita (p.ej., NaAlSiO₄) a aproximadamente 30-0 %p/p; sulfato sódico a aproximadamente 3-11 %p/p; citrato sódico a aproximadamente 5-12% p/p; dextrano de la presente memoria hasta aproximadamente 2 %p/p; otros polímeros (p.ej., PVP, copolímero de ácido maleico/acrílico, PEG) a aproximadamente 1-5 %p/p; opcionalmente una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., supresores de espumas, perfumes) a aproximadamente 0-5 %p/p.
- 9) Una composición detergente formulada como un granulado que comprende: alquilbencenosulfonato lineal (calculado como ácido) a aproximadamente 6-12 %p/p; tensioactivo no iónico a aproximadamente 1-4 %p/p; jabón como ácido graso a aproximadamente 2-6 %p/p; carbonato sódico a aproximadamente 14-22 %p/p; zeolita (p.ej., NaAlSiO₄) a aproximadamente 18-32 %p/p; sulfato sódico a aproximadamente 5-20 %p/p; citrato sódico a aproximadamente 3-8 %p/p; perborato sódico a aproximadamente 4-9 %p/p; activador de blanqueado (p.ej., NOBS o TAED) a aproximadamente 1-5 %p/p; dextrano de la presente memoria hasta aproximadamente 2 %p/p; otros polímeros (p.ej., policarboxilato o PEG) a aproximadamente 1-5 %p/p; opcionalmente una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., abrillantador óptico, perfume) a aproximadamente 0-5 %p/p.
- 10) Una composición detergente líquida acuosa que comprende: alquilbencenosulfonato lineal (calculado como ácido) a aproximadamente 15-23 %p/p; etoxisulfato de alcohol (p.ej., alcohol C12-15, 2-3 EO) a aproximadamente 8-15 %p/p; etoxilato de alcohol (p.ej., alcohol C12-15, 7 EO; o alcohol C12-15, 5 EO) a aproximadamente 3-9 %p/p; jabón como ácido graso (p.ej., ácido láurico) a aproximadamente 0-3 %p/p; aminoetanol a aproximadamente 1-5 %p/p; citrato sódico a aproximadamente 5-10 %p/p; hidrotropo (p.ej., toluenosulfonato sódico) a aproximadamente 2-6 %p/p; borato a aproximadamente 0-2 %p/p; dextrano de la presente memoria hasta aproximadamente 1 %p/p; etanol a aproximadamente 1-3 %p/p; propilen glicol a aproximadamente 2-5 %p/p; opcionalmente una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., dispersantes, perfume, abrillantador óptico) a aproximadamente 0-5 %p/p.
- 11) Una composición detergente líquida acuosa que comprende: alquilbencenosulfonato lineal (calculado como ácido) a aproximadamente 20-32 %p/p; etoxilato de alcohol (p.ej., alcohol C12-15, 7 EO; o alcohol C12-15, 5 EO) a aproximadamente 6-12 %p/p; aminoetanol a aproximadamente 2-6 %p/p; ácido cítrico a aproximadamente 8-14 %p/p; borato a aproximadamente 1-3 %p/p; dextrano de la presente memoria hasta aproximadamente 2 %p/p; etanol a aproximadamente 1-3 %p/p; propilen glicol a aproximadamente 2-5 %p/p; otros polímeros (p.ej., copolímero de ácido maleico/acrílico, polímero de anclaje tal como copolímero de lauril metacrilato/ácido acrílico) a aproximadamente 0-3 %p/p; glicerol a aproximadamente 3-8 %p/p; opcionalmente

una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., hidrotropos, dispersantes, perfume, abrillantador óptico) a aproximadamente 0-5 %p/p.

12) Una composición detergente formulada como un granulado que presenta una densidad media de al menos 600 g/L que comprende: tensioactivo aniónico (p.ej., alquilbencenosulfonato lineal, alquil sulfato, alfa-olefinsulfonato, ésteres metílicos de ácido alfa-sulfo graso, alcanosulfonatos, jabón) a aproximadamente 25-40 %p/p; tensioactivo no iónico (p.ej., etoxilato de alcohol) a aproximadamente 1-10 %p/p; carbonato sódico a aproximadamente 8-25 %p/p; silicato soluble (p.ej., $\text{Na}_2\text{O} \cdot 2\text{SiO}_2$) a aproximadamente 5-15 %p/p; perborato sódico a aproximadamente 0-20 %p/p; activador de blanqueo (p.ej., TAED o NOBS) a aproximadamente 0-5 %p/p; dextrano de la presente memoria hasta aproximadamente 2 %p/p; opcionalmente una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., perfume, abrillantador óptico) a aproximadamente 0-3 %p/p.

13) Composiciones detergentes como las descritas anteriormente en (1)-(12), pero en las que parte o todo el alquilbencenosulfonato lineal es reemplazado por alquil sulfato C12-C18.

14) Una composición detergente formulada como un granulado que presenta una densidad media de al menos 600 g/L que comprende: alquil sulfato C12-C18 a aproximadamente 9-15 %p/p; etoxilato de alcohol a aproximadamente 3-6 %p/p; amida de ácido polihidroxi alquil graso a aproximadamente 1-5 %p/p; zeolita (p.ej., $\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$) a aproximadamente 10-20 %p/p; disilicato laminado (p.ej., SK56 de Hoechst) a aproximadamente 10-20 %p/p; carbonato sódico a aproximadamente 3-12 %p/p; silicato soluble (p.ej., $\text{Na}_2\text{O} \cdot 2\text{SiO}_2$) a 0-6 %p/p; citrato sódico a aproximadamente 4-8 %p/p; percarbonato sódico a aproximadamente 13-22 %p/p; TAED a aproximadamente 3-8 %p/p; dextrano de la presente memoria hasta aproximadamente 2 %p/p; otros polímeros (p.ej., policarboxilatos y PVP) a aproximadamente 0-5 %p/p; opcionalmente una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., abrillantador óptico, foto-lejía, perfume, supresores de espumas) a aproximadamente 0-5 %p/p.

15) Una composición detergente formulada como un granulado que presenta una densidad media de al menos 600 g/L que comprende: alquil sulfato C12-C18 a aproximadamente 4-8 %p/p; etoxilato de alcohol a aproximadamente 11-15 %p/p; jabón a aproximadamente 1-4 %p/p; zeolita MAP o zeolita A aproximadamente 35-45 %p/p; carbonato sódico a aproximadamente 2-8 %p/p; silicato soluble (p.ej., $\text{Na}_2\text{O} \cdot 2\text{SiO}_2$) a 0-4 %p/p; percarbonato sódico a aproximadamente 13-22 %p/p; TAED a aproximadamente 1-8 %p/p; dextrano de la presente memoria hasta aproximadamente 3 %p/p; otros polímeros (p.ej., policarboxilatos y PVP) a aproximadamente 0-3 %p/p; opcionalmente una(s) enzima(s) (calculada como proteína enzimática pura) a aproximadamente 0,0001-0,1 %p/p; e ingredientes menores (p.ej., abrillantador óptico, fosfonato, perfume) a aproximadamente 0-3 %p/p.

16) Formulaciones detergentes como las descritas anteriormente en (1)-(15), pero que contienen un perácido estabilizado o encapsulado, como componente adicional o como sustituto de un sistema(s) de blanqueo ya especificado(s).

17) Composiciones detergentes como las descritas anteriormente en (1), (3), (7), (9) y (12), pero en las que el perborato es reemplazado por percarbonato.

18) Composiciones detergentes como las descritas anteriormente en (1), (3), (7), (9), (12), (14) y (15), pero que adicionalmente contienen un catalizador de manganeso. Un catalizador de manganeso, por ejemplo, es uno de los compuestos descritos por Hage et al. (1994, *Nature* 369: 637-639), que se incorpora a la presente memoria a modo de referencia.

19) Composiciones detergentes formuladas como un líquido detergente no acuoso que comprende un tensioactivo no iónico líquido (p.ej., un alcohol primario alcoxilado lineal), un sistema constituyente (p.ej., fosfato), el dextrano de la presente memoria, opcionalmente una enzima(s), y álcali. El detergente también puede comprender un tensioactivo aniónico y/o sistema de blanqueo.

Se cree que numerosas formulaciones detergentes disponibles comercialmente pueden ser adaptadas para incluir un compuesto dextrano descrito en la presente memoria. Los ejemplos incluyen PUREX[®] UL TRAPACKS (Henkel), FINISH[®] QUANTUM (Reckitt Benckiser), CLOROX[™] 2 PACKS (Clorox), OXICLEAN MAX FORCE POWER PAKS (Church & Dwight), TIDE[®] STAIN RELEASE, CASCADE[®] ACTIONPACS, y TIDE[®] PODS[™] (Procter & Gamble).

Las composiciones descritas en la presente memoria pueden estar en la forma de una composición para el cuidado oral, por ejemplo. Los ejemplos de composiciones de cuidado oral incluyen dentífricos, pastas de dientes, enjuagues bucales, lavados bucales, goma de mascar, y tiras comestibles que proporcionan alguna forma de cuidado oral (p.ej., tratamiento o prevención de cavidades [caries dental], gingivitis, placa, sarro y/o enfermedad periodontal). Una composición de cuidado oral también puede ser para tratar una "superficie oral", que abarca cualquier superficie blanda o dura dentro de la cavidad oral, incluyendo superficies de la lengua, el paladar duro y blando, la mucosa bucal, las encías y las superficies dentales. Una "superficie dental" en la presente memoria es una superficie de un diente natural o una superficie dura de dientes artificiales, que incluyen coronas, empastes, rellenos, puentes, dentaduras, o implantes dentales, por ejemplo.

Una composición de cuidado oral de la presente memoria puede comprender aproximadamente 0,01-15,0 %p/p (p.ej., ~0,1-10 %p/p o ~0,1-5,0 %p/p, ~0,1-2,0 %p/p) de uno o más compuestos de éter de dextrano descritos en la presente memoria, por ejemplo. Uno o más compuestos de éter de dextrano comprendidos en una composición de cuidado oral a veces pueden ser proporcionados en la misma como un agente espesante y/o como un agente de dispersión, que

puede ser útil para conferir a la composición una consistencia deseada y/o una sensación en la boca. También se pueden proporcionar uno o más agentes espesantes o de dispersión adicionales en una composición de cuidado oral, tal como polímero de carboxivinilo, carragenano (p.ej., L-carragenano), goma natural (p.ej., karaya, xantana, goma arábica, tragacanto), silicato de magnesio y aluminio coloidal, o sílice coloidal, por ejemplo.

5 Una composición de cuidado oral de la presente memoria puede ser una pasta de dientes o un dentífrico, por ejemplo. Dichas composiciones, así como cualquier otra composición de cuidado oral de la presente memoria, puede comprender adicionalmente, sin limitación, uno o más de un agente anticaries, un agente antimicrobiano o antibacteriano, un agente anticálculos o de control de sarro, tensioactivo, abrasivo, agente modificador del pH,
10 modulador de espuma, humectante, aromatizante, edulcorante, pigmento/colorante, agente blanqueante, y/u otros componentes adecuados. Los ejemplos de composiciones de cuidado oral a las cuales se puede añadir uno o más compuestos de dextrano se describen en las Publicaciones de Solicitud de Patente de los EE.UU. nº 2006/0134025, 2002/0022006 y 2008/0057007, que se incorporan a la presente memoria a modo de referencia.

15 Un agente anticaries en la presente memoria puede ser cualquier fuente oralmente aceptable de iones fluoruro. Las fuentes adecuadas de iones fluoruro incluyen sales de fluoruro, monofluorofosfato y fluorosilicato, así como fluoruros de amina, que incluyen olaflur (N'-octadeciltrimetilendiamina-N,N,N'-tris(2-etanol)-dihidrofluoruro), por ejemplo. Un agente anticaries puede estar presente en una cantidad que proporcione un total de aproximadamente 100-20000 ppm, aproximadamente 200-5000 ppm o aproximadamente 500-2500 ppm de iones fluoruro a la composición, por
20 ejemplo. En composiciones de cuidado oral en las que la única fuente de iones fluoruro es fluoruro sódico, puede haber presente en la composición una cantidad de aproximadamente 0,01-5,0 %p/p, aproximadamente 0,05-1,0 %p/p, o aproximadamente 0,1-5,0 %p/p, de fluoruro sódico, por ejemplo.

25 Un agente antimicrobiano o antibacteriano adecuado para uso en una composición de cuidado oral de la presente memoria incluye, por ejemplo, compuestos fenólicos (p.ej., 4-ailcatecol; ésteres de ácido p-hidroxibenzoico tal como bencilparabeno, butilparabeno, etilparabeno, metilparabeno y propilparabeno; 2-bencilfenol; hidroxianisol butilado; hidroxitolueno butilado; capsaicina; carvacrol; creosol; eugenol; guaiacol; bisfenólicos halogenados tales como hexaclorofeno y bromoclorofeno; 4-hexilresorcinol; 8-hidroxiquinolina y sales de la misma; ésteres de ácido salicílico tales como mentil salicilato, metil salicilato y fenil salicilato; fenol; pirocatecol; salicilanilida; timol; compuestos de difeniléter halogenados tales como triclosán y monofosfato de triclosán), compuestos de cobre (II) (p.ej., cloruro, fluoruro, sulfato e hidróxido de cobre (II)), fuentes de iones zinc (p.ej., acetato, citrato, gluconato, glicinato, óxido y sulfato de zinc), ácido ftálico y sales del mismo (p.ej., ftalato monopotásico de magnesio), hexetidina, octenidina, sanguinarina, cloruro de benzalconio, bromuro de domifén, cloruros de alquilpiridinio (p.ej., cloruro de cetilpiridinio, cloruro de tetradecilpiridinio, cloruro de N-tetradecil-4-etilpiridinio), yodo, sulfonamidas, bisbiguanides (p.ej., alexidina, clorhexidina, digluconato de clorhexidina), derivados de piperidino (p.ej., delmopinol, octapinol), extracto de magnolia, extracto de semilla de uva, extracto de uva, mentol, mentol, geraniol, citral, eucaliptol, antibióticos (p.ej., augmentin, amoxicilina, tetraciclina, doxiciclina, minociclina, metronidazol, neomicina, canamicina, clindamicina), y/o cualquier agente antibacteriano descrito en la Patente de EE.UU. nº 5776435, que se incorpora a la presente memoria a modo de referencia. Puede haber presentes uno o más agentes antimicrobianos en la composición de cuidado oral descrita,
35 por ejemplo, a aproximadamente 0,01-10 %p/p (p.ej., 0,1-3 %p/p).

40 Un agente anticálculos o de control del sarro adecuado para uso en una composición de cuidado oral de la presente memoria incluye, por ejemplo, fosfatos y polifosfatos (p.ej., pirofosfatos), ácido poliaminopropanosulfónico (AMPS), trihidrato de citrato de zinc, polipéptidos (p.ej., ácidos poliaspártico y poliglutámico), sulfonatos de poliolefina, fosfatos de poliolefina, difosfonatos (p.ej., azacicloalcano-2,2-difosfonatos tales como ácido azacicloheptano-2,2-difosfónico), ácido N-metil azaciclopentano-2,3-difosfónico, ácido etano-1-hidroxi-1,1-difosfónico (EHDP), etano-1-amino-1,1-difosfonato, y/o ácidos fosfonoalcano carboxílicos y sales de los mismos (p.ej., sus sales de metal alcalino y de amonio). Las sales de fosfato y polifosfato inorgánicas útiles incluyen, por ejemplo, fosfatos sódicos monobásicos, dibásicos y tribásicos, tripolifosfato sódico, tetrapolifosfato, pirofosfatos mono-, di-, tri- y tetra-sódicos, dihidrógeno pirofosfato disódico, trimetafosfato sódico, hexametafosfato sódico, o cualquiera de éstos en los que el sodio es reemplazado por potasio o amonio. Otros agentes anticálculos útiles en determinadas realizaciones incluyen polímeros de policarboxilato aniónico (p.ej., polímeros o copolímeros de ácido acrílico, metacrílico y anhídrido maleico tal como copolímeros de polivinil metil éter/anhídrido maleico). Otros agentes anticálculos útiles adicionales incluyen agentes secuestrantes tales como ácidos hidroxicarboxílicos (p.ej., ácido cítrico, fumárico, málico, glutárico y oxálico, y las sales de los mismos) y ácidos aminopolicarboxílicos (p.ej., EDTA). El uno o más agentes anticálculos o de control de sarro pueden estar presentes a aproximadamente 0,01-50 %p/p (p.ej., aproximadamente 0,05-25 %p/p o aproximadamente 0,1-15 %p/p), por ejemplo, en la composición de cuidado oral descrita.

55 Un tensioactivo adecuado para uso en una composición de cuidado oral de la presente memoria puede ser aniónico, no iónico o anfotérico, por ejemplo. Los tensioactivos aniónicos adecuados incluyen, sin limitación, sales solubles en agua de alquil sulfatos C₈₋₂₀, monoglicéridos sulfonados de ácidos grasos C₈₋₂₀, sarcosinatos y tauratos. Los ejemplos de tensioactivos aniónicos incluyen lauril sulfato sódico, sulfonato sódico de monoglicérido de coco, lauril sarcosinato sódico, lauril isoetionato sódico, lauril carboxilato sódico y dodecil benceno sulfonato sódico. Los tensioactivos no iónicos adecuados incluyen, sin limitación, poloxámeros, ésteres de polioxietilén sorbitán, etoxilatos de alcohol graso,
60 etoxilatos de alquilfenol, óxidos de amina terciaria, óxidos de fosfina terciaria, y dialquil sulfóxidos. Los tensioactivos anfotéricos adecuados incluyen, sin limitación, derivados de aminas alifáticas C₈₋₂₀ secundarias y terciarias que tienen

un grupo aniónico tal como un carboxilato, sulfato, sulfonato, fosfato o fosfonato. Un ejemplo de un tensioactivo anfotérico adecuado es cocoamidopropil betaína. Opcionalmente hay presentes uno o más tensioactivos en una cantidad total de aproximadamente 0,01-10 %p/p (p.ej., aproximadamente 0,05-5,0 %p/p o aproximadamente 0,1-2,0 %p/p), por ejemplo, en la composición de cuidado oral descrita.

5 Un abrasivo adecuado para uso en una composición de cuidado oral de la presente memoria puede incluir, por ejemplo, sílice (p.ej., gel de sílice, sílice hidratada, sílice precipitada), alúmina, fosfatos insolubles, carbonato cálcico y abrasivos resinosos (p.ej., un producto de condensación de urea-formaldehído). Los ejemplos de fosfatos insolubles
10 útiles como abrasivos en la presente memoria son ortofosfatos, polimetafosfatos y pirofosfatos, e incluyen dihidrato de ortofosfato dicálcico, pirofosfato cálcico, pirofosfato beta-cálcico, fosfato tricálcico, polimetafosfato cálcico y polimetafosfato sódico insoluble. Opcionalmente hay presentes uno o más abrasivos en una cantidad total de aproximadamente 5-70 %p/p (p.ej., aproximadamente 10-56 %p/p o aproximadamente 15-30 %p/p), por ejemplo, en la composición de cuidado oral descrita. El tamaño de partícula medio de un abrasivo en determinadas realizaciones es de aproximadamente 0,1-30 micras (p.ej., de aproximadamente 1-20 micras o de aproximadamente 5-15 micras).

15 Una composición de cuidado oral en determinadas realizaciones puede comprender al menos un agente de modificación del pH. Dichos agentes se pueden seleccionar para acidificar, hacer más básico, o tamponar el pH de una composición en un rango de pH de aproximadamente 2-10 (p.ej., pH que oscila entre aproximadamente 2-8, 3-9, 4-8, 5-7, 6-10 o 7-9). Los ejemplos de agentes modificadores de pH útiles en la presente memoria incluyen, sin limitación, ácidos carboxílicos, fosfóricos y sulfónicos; sales ácidas (p.ej., citrato monosódico, citrato disódico, malato monosódico); hidróxidos de metal alcalino (p.ej., hidróxido sódico, carbonatos tales como carbonato sódico, bicarbonato, sesquicarbonatos); boratos; silicatos; fosfatos (p.ej., fosfato monosódico, fosfato trisódico, sales de pirofosfato); e imidazol.

25 Un modulador de espumas adecuado para uso en una composición de cuidado oral de la presente memoria puede ser, por ejemplo, un polietilén glicol (PEG). Los PEGs de alto peso molecular son adecuados, incluyendo aquellos que presentan un peso molecular medio de aproximadamente 200000-7000000 (p.ej., aproximadamente 500000-5000000 o aproximadamente 1000000-2500000), por ejemplo. Opcionalmente, hay presentes uno o más PEGs en una cantidad total de aproximadamente 0,1-10 %p/p (p.ej., aproximadamente 0,2-5,0 %p/p o aproximadamente 0,25-2,0 %p/p), por
30 ejemplo, en la composición de cuidado oral descrita.

Una composición de cuidado oral en determinadas realizaciones puede comprender al menos un humectante. Un humectante en determinadas realizaciones puede ser un alcohol polihídrico tal como glicerina, sorbitol, xilitol, o un PEG de bajo peso molecular. Los humectantes más adecuados también pueden actuar como edulcorante en la presente memoria. Opcionalmente hay presentes uno o más humectantes en una cantidad total de aproximadamente 1,0-70 %p/p (p.ej., aproximadamente 1,0-50 %p/p, aproximadamente 2-25 %p/p, o aproximadamente 5-15 %p/p), por
35 ejemplo, en la composición de cuidado oral descrita.

Opcionalmente una composición de cuidado oral de la presente memoria puede comprender un edulcorante natural o artificial. Los ejemplos de edulcorantes adecuados incluyen dextrosa, sacarosa, maltosa, dextrina, azúcar invertido, manosa, xilosa, ribosa, fructosa, levulosa, galactosa, jarabe de maíz (p.ej., jarabe de maíz alto en fructosa o sólidos de jarabe de maíz), almidón parcialmente hidrolizado, hidrolisato de almidón hidrogenado, sorbitol, manitol, xilitol, maltitol, isomaltol, aspartame, neotame, sacarina y sales de los mismos, edulcorantes intensos basados en dipéptidos, y ciclamatos. Opcionalmente hay presentes uno o más edulcorantes en una cantidad total de aproximadamente 0,005-5,0 %p/p, por ejemplo, en la composición de cuidado oral descrita.

Una composición de cuidado oral de la presente memoria puede comprender opcionalmente un aromatizante natural o artificial. Los ejemplos de aromatizantes adecuados incluyen vainillina; salvia; orégano; aceite de perejil; aceite de hierbabuena; aceite de canela; aceite de gaulteria (metilsalicilato); aceite de menta; aceite de clavo; aceite de laurel; aceite de anís; aceite de eucalipto; aceites cítricos; aceites frutales; esencias tales como las derivadas de limón, naranja, lima, pomelo, albaricoque, banana, uva, manzana, fresa, cereza o piña; aromas derivados de legumbres o frutos secos tales como café, cacao, cola, cacahuete o almendra; y aromatizantes adsorbidos y encapsulados. También se contemplan dentro de los aromatizantes de la presente memoria los ingredientes que proporcionan fragancia y/u otro efecto sensorial en la boca, incluyen los efectos de enfriamiento o de calentamiento. Dichos ingredientes incluyen, sin limitación, mentol, acetato de mentilo, lactato de mentilo, alcanfor, aceite de eucalipto, eucaliptol, anetol, eugenol, casia, oxanona, Irisone®, propenil guaïetol, timol, linalool, bezaldehído, cinamalaldehído, N-etil-p-mentan-3-carboxamina, N,2,3-trimetil-2-isopropilbutanamida, 3-(1-mentoxi)-propano-1,2-diol, cinamalaldehído glicérol acetal (CGA), y mentona glicérol acetal (MGA). Opcionalmente hay presentes uno o más aromatizantes en una cantidad total de aproximadamente 0,01-5,0 %p/p (p.ej., aproximadamente 0,1-2,5 %p/p), por ejemplo, en la
55 composición de cuidado oral descrita.

Una composición de cuidado oral en determinadas realizaciones puede comprender al menos una sal de bicarbonato. Se puede usar cualquier bicarbonato oralmente aceptable, incluyendo bicarbonatos de metal alcalino tales como bicarbonato sódico o potásico, y bicarbonato amónico, por ejemplo. Opcionalmente hay presentes uno o más sales de bicarbonato en una cantidad total de aproximadamente 0,1-50 %p/p (p.ej., aproximadamente 1-20 %p/p), por ejemplo, en la composición de cuidado oral descrita.

En determinadas realizaciones una composición de cuidado oral puede comprender al menos un agente blanqueante y/o colorante. Un agente blanqueante adecuado es un compuesto de peróxido tal como cualquiera de los descritos en la Patente de EE.UU. nº 8540971, que se incorpora a la presente memoria a modo de referencia. Los colorantes adecuados de la presente memoria incluyen pigmentos, colorantes, lacas y agentes que confieren un lustre o reflectividad particulares tal como agentes perlantes, por ejemplo. Los ejemplos específicos de colorantes útiles en la presente memoria incluyen talco; mica; carbonato magnésico; carbonato cálcico; silicato magnésico; aluminosilicato magnésico; sílice; dióxido de titanio; óxido de zinc; óxidos de hierro rojo, amarillo, marrón y negro; ferrocianuro amónico férrico; violeta de manganeso; ultramarino; mica titaniada; y oxiclورو de bismuto. Opcionalmente hay presentes uno o más colorantes en una cantidad total de aproximadamente 0,001-20 %p/p (p.ej., aproximadamente 0,01-10 %p/p o aproximadamente 0,1-5,0 %p/p), por ejemplo, en la composición de cuidado oral descrita.

Los componentes adicionales que pueden ser incluidos opcionalmente en una composición oral de la presente memoria incluyen una o más enzimas (ver antes), vitaminas, y agentes anti-adhesión, por ejemplo. Los ejemplos de vitaminas útiles en la presente memoria incluyen vitamina C, vitamina E, vitamina B5 y ácido fólico. Los ejemplos de agentes anti-adhesión adecuados incluyen solbrol, ficina e inhibidores sensoriales de quórum.

La presente descripción también se ocupa de un método para aumentar la viscosidad de una composición acuosa. Dicho método comprende poner en contacto al menos un compuesto de dextrano como los descritos en la presente con la composición acuosa. La etapa de puesta en contacto de dicho método da como resultado el aumento de la viscosidad de la composición acuosa, en comparación con la viscosidad de la composición acuosa antes de la etapa de puesta en contacto.

En la presente memoria una composición acuosa puede ser agua (p.ej., agua desionizada), una disolución acuosa, o un hidrocoloide, por ejemplo. La viscosidad de una composición acuosa antes de la etapa de puesta en contacto, medida a aproximadamente 20-25 °C, puede ser de aproximadamente 0-10000 cPs (o cualquier número entero entre 0-10000 cPs), por ejemplo. Puesto que la composición acuosa puede ser un hidrocoloide o similar en determinadas realizaciones, debería ser evidente que el método puede usarse para aumentar la viscosidad de composiciones acuosas que ya son viscosas.

La puesta en contacto del dextrano de la presente memoria con una composición acuosa aumenta la viscosidad de la composición acuosa en determinadas realizaciones. Dicho aumento de la viscosidad puede ser un aumento de al menos aproximadamente 1%, 10%, 100%, 1000%, 100000% o 1000000% (o cualquier número entero entre 1% y 1000000%), por ejemplo, comparado con la viscosidad de la composición acuosa antes de la etapa de puesta en contacto. Debería ser evidente que se puede obtener un aumento en un porcentaje muy alto de la viscosidad con el método descrito cuando la composición acuosa tiene una viscosidad baja o nula antes de la etapa de puesta en contacto. El aumento de la viscosidad se puede determinar, por ejemplo, comparando la viscosidad de la composición acuosa obtenida mediante el método (es decir, después de la etapa de puesta en contacto) con la viscosidad de la composición acuosa tal como era antes del método (es decir, antes de la etapa de puesta en contacto).

La puesta en contacto de un dextrano de la presente memoria con una composición acuosa aumenta el comportamiento de aligeramiento a cizalla o de espesamiento a cizalla de la composición acuosa en determinadas realizaciones. De esta manera, el dextrano modifica reológicamente la composición acuosa en dichas realizaciones. El aumento del comportamiento de aligeramiento a cizalla o de espesamiento a cizalla puede ser un aumento de al menos aproximadamente 1%, 10%, 100%, 1000%, 100000% o 1000000% (o cualquier número entero entre 1% y 1000000%), por ejemplo, comparado con el comportamiento de aligeramiento a cizalla o el comportamiento de espesamiento a cizalla de la composición acuosa antes de la etapa de puesta en contacto. Debería ser evidente que se pueden obtener porcentajes muy altos de aumento de modificación reológica con el método descrito cuando la composición acuosa tiene un comportamiento reológico bajo o nulo antes de la etapa de puesta en contacto.

La etapa de puesta en contacto en un método para aumentar la viscosidad de una composición acuosa puede llevarse a cabo mezclando o disolviendo cualquier dextrano como el descrito en la presente memoria en la composición acuosa por cualquier medio conocido en la técnica. Por ejemplo, el mezclado o la disolución se pueden llevar a cabo manualmente o con una máquina (p.ej., un mezclador industrial, un agitador orbital, una placa de agitación, un homogeneizador, un aparato de ultrasonidos, un molino de partículas). El mezclado o la disolución pueden comprender una etapa de homogeneización en determinadas realizaciones. La homogeneización (así como cualquier otro tipo de mezclado) se puede llevar a cabo durante aproximadamente de 5 a 60, de 5 a 30, de 10 a 60, de 10 a 30, de 5 a 15, o de 10 a 15 segundos (o cualquier número entero entre 5 y 60 segundos), o periodos de tiempo más largos según sea necesario para mezclar el dextrano con la composición acuosa. Un homogeneizador puede usarse a una velocidad de aproximadamente 5000 a 30000 rpm, 10000 a 30000 rpm, 15000 a 30000 rpm, 15000 a 25000 rpm, o 20000 rpm (o cualquier número entero entre 5000 y 30000 rpm), por ejemplo.

Una vez que el dextrano de la presente memoria ha sido mezclado o disuelto en una composición acuosa, la composición acuosa resultante puede filtrarse, o puede no filtrarse. Por ejemplo, una composición acuosa preparada con una etapa de homogeneización puede filtrarse o puede no filtrarse.

Determinadas realizaciones del método anterior pueden usarse para preparar una composición acuosa descrita en la presente memoria, tal como un producto alimenticio (p.ej., un producto de pastelería tal como un relleno de caramelo), un producto farmacéutico (p.ej., excipiente), un producto doméstico (p.ej., detergente de colada, suavizante de tejido, detergente lavavajillas), un producto de cuidado personal (p.ej., un dentífrico que contiene agua tal como pasta de dientes), o un producto industrial.

La presente descripción también se ocupa de un método de tratamiento de un material. Dicho método comprende poner en contacto un material con una composición acuosa que comprende al menos un compuesto de dextrano tal como el descrito en la presente memoria.

Un material puesto en contacto con una composición acuosa en un método de puesta en contacto de la presente memoria puede comprender un tejido en determinadas realizaciones. Un tejido de la presente memoria puede comprender fibras naturales, fibras sintéticas, fibras semi-sintéticas o cualquier combinación de las mismas. Una fibra semi-sintética en la presente memoria es producida usando material natural que ha sido derivatizado químicamente, un ejemplo del cual es el rayón. Los ejemplos no limitativos de tipos de tejido en la presente memoria incluyen tejidos fabricados con (i) fibras celulósicas tales como algodón (p.ej., velarte, lona, cambray, felpilla, zaraza, pana, cretona, damasco, tela vaquera, franela, tela a cuadros, jacquard, punto, matelasse, Oxford, percal, popelina, plisse, satén, sirsaca, tela transparente, tejido de rizo, sarga, terciopelo), rayón (p.ej., viscosa, modal, lyocell), lino, y Tencel®; (ii) fibras proteínicas tales como seda, lana y fibras de mamífero relacionadas; (iii) fibras sintéticas tales como poliéster, acrílico, nylon y similares; (iv) fibras vegetales largas de yute, lino, ramio, fibra de coco, guata, sisal, henequén, abacá, cáñamo y sunn; y (v) cualquier combinación de un tejido de (i)-(iv). Un tejido que comprende una combinación de tipos de fibras (p.ej., naturales y sintéticas) incluye aquellos con fibra de algodón y poliéster, por ejemplo. Los materiales/artículos que contienen uno o más tejidos de la presente memoria incluyen, por ejemplo, ropa, cortinas, fundas, tapizado, moqueta, ropa de cama, ropa de baño, manteles, sacos de dormir, tiendas, interiores de coche, etc. Otros materiales que comprenden fibras naturales y/o sintéticas incluyen, por ejemplo, telas no tejidas, rellenos, papel y espumas.

Una composición acuosa que se pone en contacto con un tejido puede ser, por ejemplo, una composición de cuidado de tejido (p.ej., detergente de colada, suavizante de tejido). De este modo, un método de tratamiento en determinadas realizaciones puede considerarse un método de cuidado de tejido o un método de colada si se emplea una composición de cuidado de tejido en el mismo. En la presente memoria se contempla que una composición de cuidado de tejido efectúa uno o más de los siguientes beneficios del cuidado de tejidos (es decir, efectos superficiales sustantivos): eliminación de arrugas, reducción de arrugas, resistencia a arrugas, reducción del desgaste del tejido, resistencia al desgaste del tejido, reducción de la formación de pelusas del tejido, aumento de la vida del tejido, mantenimiento del color del tejido, reducción de la pérdida de color del tejido, reducción de la transferencia de color, restauración del color del tejido, reducción de la deposición de suciedad en el tejido, liberación de suciedad del tejido, retención de la forma del tejido, potenciamiento de la suavidad del tejido, anti-redeposición de suciedad en el tejido, anti-engriscimiento de la colada, mejora del manejo/gestión del tejido, y/o reducción del encogimiento del tejido.

Los ejemplos de condiciones (p.ej., tiempo, temperatura, volúmenes de lavado/aclarado) para llevar a cabo un método de cuidado de tejido o un método de colada de la presente memoria se describen en el documento WO1997/003161 y en las Patentes de EE.UU. n.º 4794661, 4580421 y 5945394, que se incorporan a modo de referencia a la presente memoria. En otros ejemplos, se puede poner en contacto un material que comprende un tejido con una composición acuosa de la presente memoria: (i) durante al menos aproximadamente 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 o 120 minutos; (ii) a una temperatura de al menos aproximadamente 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 o 95 °C (p.ej., para lavado o aclarado de colada: una temperatura "fría" de aproximadamente 15-30 °C, una temperatura "templada" de aproximadamente 30-50 °C, una temperatura "caliente" de aproximadamente 50-95 °C); (iii) a un pH de aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 (p.ej., rango de pH de aproximadamente 2-12, o de aproximadamente 3-11); (iv) a una concentración de sal (p.ej., NaCl) de al menos aproximadamente 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5 o 4,0 %p/p; o cualquier combinación de (i)-(iv).

La etapa de puesta en contacto de un método de cuidado de tejido o de un método de colada puede comprender cualquiera de las etapas de lavado, empapado y/o aclarado, por ejemplo. La puesta en contacto de un material o tejido en realizaciones adicionales puede llevarse a cabo mediante cualquier medio conocido en la técnica, tal como disolución, mezclamiento, agitación, pulverización, tratamiento, inmersión, descarga, vertido sobre o dentro, combinación, pintura, recubrimiento, aplicación, fijación y/o comunicación de una cantidad efectiva de un compuesto de dextrano de la presente memoria con el tejido o material. En otras realizaciones adicionales, la puesta en contacto se puede usar para tratar un tejido para proporcionar un efecto superficial sustantivo. Tal como se usa en la presente memoria, el término "mano de tejido" o "manejo" se refiere a la respuesta sensorial táctil de una persona respecto al tejido, que puede ser física, fisiológica, psicológica, social o cualquier combinación de las mismas. En una realización, la mano de tejido puede medirse usando un Sistema PhabrOmeter® para medir el valor de mano relativo (disponible en Nu Cybertek, Inc. Davis, CA) (*American Association of Textile Chemists and Colorists* (AATCC método de ensayo "202-2012, Relative Hand Value of Textiles: Instrumental Method").

En determinadas realizaciones de tratamiento de un material que comprende tejido, un componente(s) de compuesto de dextrano de la composición acuosa se adsorbe en el tejido. Se cree que esta característica hace que los

compuestos de dextrano de la presente memoria sean útiles como agentes anti-redeposición y/o agentes anti-engriscimiento en las composiciones de cuidado de tejido descritas (además de su efecto modificador de la viscosidad). Un agente anti-redeposición o un agente anti-engriscimiento de la presente memoria ayuda a evitar que la suciedad se redeposite sobre la ropa en el agua de lavado después de que la suciedad ha sido eliminada. Se contempla adicionalmente que la adsorción de uno o más compuestos de dextrano de la presente memoria en un tejido potencia las propiedades mecánicas del tejido.

La adsorción de un compuesto de dextrano en un tejido de la presente memoria puede medirse usando una técnica colorimétrica (p.ej., Dubois et al., 1956, *Anal. Chem.* 28: 350-356; Zemljč et al., 2006, *Lenzinger Berichte* 85: 68-76; incorporadas ambas a la presente memoria a modo de referencia), por ejemplo, o cualquier otro método conocido en la técnica.

Otros materiales que pueden ponerse en contacto en el anterior método de tratamiento incluyen superficies que pueden ser tratadas con un detergente para vajillas (p.ej., detergente para lavavajillas automático o detergente para vajillas a mano). Los ejemplos de dichos materiales incluyen superficies de platos, vasos, cuencos, sartenes, fuentes, utensilios y material plano de cerámica, porcelana, metal, vidrio, plástico (p.ej., polietileno, polipropileno, poliestireno, etc.) y madera (referido de forma colectiva en la presente memoria como servicio de mesa.). De este modo, el método de tratamiento en determinadas realizaciones puede considerarse un método de lavado de vajilla o un método de lavado de servicio de mesa, por ejemplo. Los ejemplos de condiciones (p.ej., tiempo, temperatura, volumen de lavado) para llevar a cabo un método de lavado de vajilla o de servicio de mesa de la presente memoria se describen en la Patente de EE.UU. nº 8575083, que se incorpora a la presente memoria a modo de referencia. En otros ejemplos, un artículo de servicio de mesa se puede poner en contacto con una composición acuosa de la presente memoria en unas condiciones adecuadas, tales como las descritas anteriormente en relación a la puesta en contacto de un material que comprende tejido.

Otros materiales que pueden ponerse en contacto en el método de tratamiento anterior incluyen superficies orales tales como cualquier superficie blanda o dura de la cavidad oral, incluyendo las superficies de la lengua, el paladar duro y blando, la mucosa bucal, las encías y las superficies dentales (p.ej., dientes naturales o una superficie dura de diente artificial tal como corona, empaste, relleno, puente, dentadura o implante dental). De esta manera, un método de tratamiento en determinadas realizaciones puede considerarse un método de cuidado oral o un método de cuidado dental, por ejemplo. Las condiciones (p.ej., tiempo, temperatura) para poner en contacto una superficie oral con una composición acuosa de la presente memoria deberían ser adecuadas para el propósito pretendido de realizar dicho contacto. Otras superficies que pueden ponerse en contacto en un método de tratamiento también incluyen una superficie de un sistema integumentario tal como piel, cabello o uñas.

Por tanto, determinadas realizaciones de la presente descripción se refieren a material (p.ej., tejido) que comprende un compuesto de dextrano de la presente memoria. Dicho material puede ser producido siguiendo un método de tratamiento de material como el descrito en la presente memoria, por ejemplo. Un material puede comprender un compuesto de dextrano en determinadas realizaciones si el compuesto es adsorbido sobre, o puesto en contacto con, la superficie del material.

Determinadas realizaciones de un método de tratamiento de un material de la presente memoria comprenden además una etapa de secado, en la que un material es secado después de ser puesto en contacto con la composición acuosa. Se puede llevar a cabo una etapa de secado directamente después de la etapa de puesta en contacto, o después de una o más etapas adicionales que podrían seguir a la etapa de puesta en contacto (p.ej., secado de un tejido después de haber sido aclarado, en agua, por ejemplo, después de un lavado en una composición acuosa de la presente memoria). El secado se puede llevar a cabo mediante cualquiera de los diversos métodos conocidos en la técnica, tal como secado al aire (p.ej., ~20-25 °C), o a una temperatura de al menos aproximadamente 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 170, 175, 180 o 200 °C, por ejemplo. Un material que ha sido secado en la presente memoria típicamente tiene menos de 3, 2, 1, 0,5 o 0,1 %p/p de agua comprendida en su interior. El tejido es un material preferido para llevar a cabo una etapa de secado adicional.

Una composición acuosa usada en un método de tratamiento de la presente memoria puede ser cualquier composición acuosa descrita en la presente memoria, tal como en las realizaciones anteriores o en los Ejemplos incluidos a continuación. De esta manera, el componente(s) de dextrano de una composición acuosa puede ser cualquiera de los descritos en la presente memoria. Los ejemplos de composiciones acuosas incluyen detergentes (p.ej., detergente de colada o detergente para vajilla) y dentífricos que contienen agua tal como pasta de dientes.

La presente descripción también se refiere a una reacción enzimática que comprende agua, sacarosa y una enzima glucosiltransferasa que comprende, o que consiste en, una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos el 90% a SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:13 o SEQ ID NO:17. La enzima glucosiltransferasa sintetiza dextrano como el descrito en la presente. De forma significativa, el dextrano sintetizado en dicha reacción gtf exhibe una elevada viscosidad en composiciones acuosas, incluso a concentraciones relativamente bajas del dextrano. Se cree que dicho perfil de alta viscosidad es único en comparación con los perfiles de viscosidad de polímeros de dextrano descritos previamente.

El dextrano sintetizado en una reacción enzimática de la presente memoria puede ser como se ha caracterizado (p.ej., peso molecular, perfil de enlaces y ramificaciones) en la descripción anterior relativa al dextrano producido por una enzima glucosiltransferasa. Una enzima glucosiltransferasa en una reacción enzimática de la presente memoria puede ser como la caracterizada en la descripción anterior relativa al dextrano producido por una enzima glucosiltransferasa.

5 Se puede usar una o más enzimas glucosiltransferasa diferentes en una reacción enzimática de la presente memoria. En algunos casos se usa una única enzima glucosiltransferasa (p.ej., gtf 0768), al contrario que en situaciones en las que puede haber presentes múltiples enzimas (p.ej., una fermentación bacteriana o de levadura). Una reacción enzimática puede ser como se ha caracterizado (p.ej., concentración inicial de sacarosa y tipo de sacarosa, pH, temperatura, tiempo) en la descripción anterior relativa a dextrano producido por una enzima glucosiltransferasa. Asimismo, cualesquier características descritas en la presente memoria de un método de producción de dextrano se pueden aplicar a una reacción de glucosiltransferasa.

15 La presente descripción también se ocupa de un método para producir dextrano que comprende la etapa de poner en contacto al menos agua, sacarosa, y una enzima glucosiltransferasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos un 90% a SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:13 o SEQ ID NO:17. Dicha etapa de puesta en contacto da como resultado la producción de dextrano como el descrito en la presente memoria. El dextrano producido en la etapa de puesta en contacto opcionalmente puede ser aislado.

20 El dextrano sintetizado en un método de síntesis de la presente memoria puede ser como se ha caracterizado (p.ej., peso molecular, perfil de enlaces y ramificaciones) en la anterior descripción en relación al dextrano producido por una enzima glucosiltransferasa. Una enzima glucosiltransferasa en un método de síntesis de la presente memoria puede ser como se ha caracterizado en la descripción anterior relativa al dextrano producido por una enzima glucosiltransferasa. Cualesquier características de una reacción enzimática tal como se ha descrito anteriormente pueden aplicarse al presente método de síntesis.

30 La etapa de puesta en contacto en un método de la presente memoria de producción de dextrano comprende proporcionar una reacción enzimática que comprende agua, sacarosa y cualquier enzima glucosiltransferasa descrita en la presente memoria. La etapa de puesta en contacto del método descrito puede llevarse a cabo en una variedad de formas. Por ejemplo, la cantidad deseada de sacarosa puede disolverse primero en agua (opcionalmente, también se pueden añadir otros componentes en esta etapa de la preparación, tal como componentes tamponantes), seguido de la adición de una o más enzimas glucosiltransferasa. La disolución puede mantenerse en reposo, o agitarse mediante un sistema agitador o un agitador orbital, por ejemplo.

35 La reacción puede estar libre de células, y típicamente es así. Por tanto, un dextrano de la presente memoria no es aislado de una célula, tal como una bacteria (p.ej., *L. mesenteroides*), en algunos aspectos.

40 La finalización de una reacción glucosiltransferasa en determinadas realizaciones se puede medir, por ejemplo, determinando si la viscosidad de reacción ya no sigue aumentando y/o midiendo la cantidad de sacarosa remanente en la reacción (sacarosa residual), donde un porcentaje de consumo de sacarosa sobre aproximadamente 90% puede indicar que la reacción se ha completado. Típicamente, una reacción del proceso descrito puede necesitar aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84 o 96 horas para completarse. El tiempo de reacción puede depender, por ejemplo, de determinados parámetros tal como la cantidad de sacarosa y enzima glucosiltransferasa usadas en la reacción.

45 El rendimiento de dextrano producido en una reacción glucosiltransferasa en determinadas realizaciones puede ser de aproximadamente, o al menos de aproximadamente, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40% o 45%, en base al peso de sacarosa usada en la reacción.

50 El dextrano producido en el método descrito opcionalmente puede aislarse. Por ejemplo, el dextrano puede precipitarse con alcohol (p.ej., 90-100% de metanol, etanol o isopropanol) y a continuación separarse del sobrenadante, que puede comprender agua, fructosa, y opcionalmente uno o más de sacarosa residual y subproductos (p.ej., glucosa; leucrosa y otros oligosacáridos solubles). Dicha separación puede ser mediante centrifugación o filtración, por ejemplo. El dextrano precipitado opcionalmente puede ser lavado una o más veces (p.ej., 2-4 veces; 2, 3, 4 o más veces) con alcohol (p.ej., 70-100%, o al menos 70%, 80%, 90%, 95% o 100% de metanol, etanol o isopropanol). En otros ejemplos, el aislamiento de dextrano puede comprender usar una técnica de ultrafiltración y/o diálisis (es decir, una técnica de corte por peso molecular), tal como se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. nº 2014/0142294 y en la Patente de EE.UU. nº 6977249, que se incorporan a la presente memoria a modo de referencia. Las medidas de determinadas características del dextrano de la presente memoria (p.ej., perfil de enlaces, peso molecular) se pueden realizar con dextrano aislado como se ha indicado anteriormente, si se desea.

65 Se cree que un método de síntesis de dextrano de la presente memoria es útil para producir para producir dextrano con una viscosidad incrementada o disminuida, dependiendo de la cantidad de sacarosa usada en el método. En general, cuanto menor es la concentración de sacarosa usada en una reacción de glucosiltransferasa, mayor es la viscosidad del producto de dextrano, y viceversa. Cualquier concentración de sacarosa descrita en la presente memoria puede ser usada en una reacción de glucosiltransferasa, donde el producto de dextrano de la reacción tiene

una viscosidad que es superior a la del producto de dextrano producido en una reacción que comprende una mayor concentración de sacarosa, y viceversa. En determinados aspectos, se puede usar cualquier viscosidad descrita en la presente memoria para caracterizar realizaciones de este método, y un aumento de la viscosidad puede ser de al menos aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50, 100, 150, 200 o 250 veces más. Una enzima glucosiltransferasa en determinadas realizaciones de este método puede ser gtf 0768 (que comprende la SEQ ID NO:1 o secuencias relacionadas).

En la presente memoria se describe:

10 1. Una composición que comprende dextrano, donde el dextrano comprende:

- (i) aproximadamente 87-93 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 6;
- (ii) aproximadamente 0,1-1,2 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 3;
- (iii) aproximadamente 0,1-0,7 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 4;
- 15 (iv) aproximadamente 7,7-8,6 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1, 3 y 6; y
- (v) aproximadamente 0,4-1,7 %p/p de glucosa unida en:
 - (a) las posiciones 1, 2 y 6, o
 - (b) las posiciones 1, 4 y 6;

20 en donde el peso molecular promedio en peso (Mw) del dextrano es de aproximadamente 50-200 millones de Daltons, el radio de giro promedio-z del dextrano es de aproximadamente 200-280 nm, y el dextrano opcionalmente no es un producto de enzima glucosiltransferasa de *Leuconostoc mesenteroides*.

25 2. La composición de la realización 1, donde el dextrano comprende:

- (i) aproximadamente 89,5-90,5 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 6;
- (ii) aproximadamente 0,4-0,9 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 3;
- (iii) aproximadamente 0,3-0,5 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 4;
- 30 (iv) aproximadamente 8,0-8,3 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1, 3 y 6; y
- (v) aproximadamente 0,7-1,4 %p/p de glucosa unida en:
 - (a) las posiciones 1, 2 y 6, o
 - (b) las posiciones 1, 4 y 6;

35 3. La composición de la realización 1 o 2, donde el dextrano comprende cadenas unidas entre sí en una estructura ramificada, donde las cadenas tienen una longitud similar y comprenden sustancialmente enlaces alfa-1,6-glucosídicos.

40 4. La composición de la realización 1, 2 o 3, donde la longitud media de las cadenas es de aproximadamente 10-50 unidades monoméricas.

5. La composición de la realización 1, 2, 3 o 4, donde el dextrano es un producto de una enzima glucosiltransferasa que comprende una secuencia de aminoácido que es idéntica en al menos un 90% a SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:13 o SEQ ID NO:17.

45 6. La composición de la realización 1, 2, 3, 4 o 5, donde la composición es una composición acuosa que tiene una viscosidad de al menos aproximadamente 25 cPs ($25 \cdot 10^{-3}$ Pa·s).

7. La composición de la realización 1, 2, 3, 4, 5 o 6, donde el Mw del dextrano es de aproximadamente 80-120 millones de Daltons.

8. La composición de la realización 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7, donde el radio promedio-z de giro del dextrano es aproximadamente de 230-250 nm.

50 9. La composición de la realización 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8, donde la composición está en la forma de un producto alimenticio, un producto de cuidado personal, un producto farmacéutico, un producto doméstico o un producto industrial.

10. La composición de la realización 9, donde la composición está en la forma de un producto de pastelería.

55 11. Un método para aumentar la viscosidad de una composición acuosa, método que comprende: poner en contacto el dextrano según cualquiera de las realizaciones 1-8 con la composición acuosa, donde la viscosidad de la composición acuosa es incrementada por el dextrano con respecto a la viscosidad de la composición acuosa antes de la etapa de puesta en contacto.

12. Un método para tratar un material, comprendiendo el método: poner en contacto un material con una composición acuosa que comprende dextrano según cualquiera de las realizaciones 1-8.

60 13. Una reacción enzimática que comprende agua, sacarosa y una enzima glucosiltransferasa que comprende una secuencia de aminoácido que es idéntica en al menos un 90% a SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:13 o SEQ ID NO:17, donde la enzima glucosiltransferasa sintetiza dextrano según cualquiera de las realizaciones 1-8.

65 14. Un método para producir dextrano, método que comprende:

a) poner en contacto al menos agua, sacarosa, y una enzima glucosiltransferasa que comprende una secuencia de aminoácido que es idéntica en al menos el 90% a SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:13 o SEQ ID NO:17, mediante lo cual se produce el dextrano según cualquiera de las realizaciones 1-8; y

5 b) opcionalmente, aislar el dextrano producido en la etapa (a).

15 15. El método de la realización 14, donde la viscosidad del dextrano producido en el método aumenta disminuyendo la cantidad de sacarosa de la etapa (a).

10 EJEMPLOS

La presente descripción se define adicionalmente en los Ejemplos 1-6 y 8-11. Debería entenderse que estos Ejemplos, aunque indican determinados aspectos preferidos de la descripción, se proporcionan meramente a modo ilustrativo. A partir de la anterior discusión y de estos Ejemplos, el especialista en la técnica puede determinar las características esenciales de esta descripción, y sin distanciarse del espíritu y el alcance de la misma, puede realizar diversos cambios y modificaciones para adaptar la descripción a diferentes usos y condiciones.

15 MÉTODOS GENERALES

Clonación y expresión de enzimas glucosiltransferasas en *Bacillus subtilis*

20 Todas las glucosiltransferasas usadas en los Ejemplos 3-6 se prepararon como se indica a continuación.

Se amplificó un plásmido que codifica la enzima gtf (pZZHB582, pZZHB583, pZZHB584 o pZZHB585, lo que permite la expresión de gtf y la secreción desde *B. subtilis*; véanse las Figuras 2A-D) usando el kit de amplificación Illustra TempliPhi® 100 (GE Healthcare Life Sciences, NJ). Se transformaron células competentes de *B. subtilis* (Δ spoII_E, Δ aprE, Δ nprE, degUHy32, Δ scoC, Δ nprB, Δ vpr, Δ opr, Δ wprA, Δ mpr, Δ ispA, Δ bpr) con el producto de amplificación. Las células fueron llevadas a placa en placas de Luria Agar suplementadas con 5 ppm de cloranfenicol. Se inocularon colonias de la placa de transformación en 5 mL de medio LB y se incubaron a 37 °C durante una noche. A continuación se transfirieron alícuotas (25-50 μ L) de cada cultivo a matraces de agitación de 250 mL que contenían 30 mL de Medio de Grant II suplementado con 5 ppm de cloranfenicol y se incubó a 30 °C con agitación (280 rpm) durante 24 horas. Las células fueron recolectadas mediante centrifugación a 14000 rpm durante 1 hora. Los sobrenadantes fueron analizados mediante SDS-PAGE para determinar el producto gtf secretado y después fueron dializados tres veces contra una disolución que contenía Tris 20 mM, pH 7,5, por un total de 20 horas. Las muestras dializadas fueron divididas en alícuotas a 25 mL por tubo de centrifuga cónico de 50 mL, y los tubos fueron colocados en un ángulo a -80 °C durante aproximadamente 1 hora. Una vez congeladas las muestras, se retiró el tapón de los tubos y se reemplazó por PARAFILM que fue perforado 5-10 veces con una aguja de alta precisión. Las muestras congeladas cubiertas con PARAFILM fueron liofilizadas en un sistema FreeZone® Freeze Dry (Labconco Corp., Kansas City, MO) según las instrucciones del fabricante.

Disoluciones reserva de enzimas glucosiltransferasas

40 Se preparó una disolución reserva de enzimas para cada gtf añadiendo 10 mL de H₂O de grado molecular en cada uno de los tubos de centrífuga cónicos de 50 mL que contenía el polvo de enzima liofilizada.

EJEMPLO 1

Expresión de una glucosiltransferasa (0768) en *E. coli* y producción de lisato enzimático activo sin purificar

45 Este ejemplo describe la expresión de una enzima glucosiltransferasa (gtf) madura en *E. coli*. Se produjo un lisato celular sin purificar de una cepa de expresión de *E. coli* y mostró actividad de formación de producto de gel en presencia de sacarosa.

50 Una hidrolasa que contiene repetición YG putativa (categorizada en el GENBANK bajo el número GI 339480768, pero que actualmente tiene el número GI 497964659) con 1484 aminoácidos fue identificada a partir de la cepa de *Leuconostoc pseudomesenteroides* KCTC3652 mediante secuenciación de escopeta de genoma. Esta glucosiltransferasa putativa (designada en la presente memoria como gtf 0768) pertenece a la familia GH70 de glicosil hidrolasas que contienen un dominio de unión a glucano. El segmento N-terminal de 37 aminoácidos de la gtf 0768 fue deducido como el péptido señal de la enzima mediante el programa SIGNALP 4.0 (Petersen et al., *Nature Methods* 8: 785-786). La forma madura de la gtf 0768 se representa en la SEQ ID NO:1.

60 Para construir un plásmido para la expresión bacteriana de gtf 0768, se sintetizó una secuencia de ADN que codifica una forma madura de la gtf sin el péptido señal en GenScript USA Inc. (Piscataway, NJ). La secuencia sintetizada fue subclonada en los sitios NheI y HindIII del vector pET23D+ (NOVAGEN®; Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). La gtf 0768 (SEQ ID NO:2) codificada por esta construcción incluyó una metionina de inicio y 3 aminoácidos adicionales (Ala-Ser-Ala) en el extremo N, y 6 residuos de histidina en el extremo C, comparado con la forma madura silvestre (predicha) de la gtf 0768 (SEQ ID NO:1) (es decir, la SEQ ID NO:1 está comprendida en la SEQ ID NO:2). La construcción de plásmido fue confirmada en secuencia y transformada en células hospedantes BL21 DE3 de *E. coli* con selección de ampicilina, dando como resultado la expresión de la cepa EC0052.

65

Las células de EC0052 y una cepa de control que contiene solo vector pET23D+ vacío fueron cultivadas en medio LB con 100 µg/mL de ampicilina hasta $DO_{600} \sim 0,5$, y a continuación fueron inducidas con IPTG 1 mM a 37 °C durante 3 horas o alternativamente fueron inducidas a 23 °C durante una noche. Tras dicho periodo de inducción, las células fueron recolectadas mediante centrifugación a 4000xg durante 10 minutos y resuspendidas en tampón PBS a pH 6,8.

5 Las células fueron lisadas entonces mediante pasaje a través de una prensa French a 14.000 psi (~96,53 MPa) dos veces, tras lo cual los restos celulares fueron pelletizados mediante centrifugación a 15.000xg durante 20 minutos. Los sobrenadantes de cada lisato celular sin purificar fueron divididos en alícuotas y congelados a -80°C.

10 Se comprobó la actividad del lisato celular sin purificar procedente de células EC0052 mediante reacción con sacarosa. Se estableció una reacción de control de forma similar usando lisato celular preparado a partir de células que contenían el vector vacío. Todas las reacciones de sacarosa se fijaron usando un 10% (v/v) de lisato celular con 100 g/L de sacarosa, citrato sódico 10 mM, pH 5, y $CaCl_2$ 1 mM. Tras la incubación de las reacciones a 37 °C durante unas pocas horas, se formó un producto tipo gel, que se creyó que era un dextrano, en el tubo en el que se había añadido el lisato de células EC0052. No se formó ningún producto de tipo gel en la reacción de control. El análisis de HPLC confirmó que la sacarosa se consumió en la reacción que contenía el lisato de células EC0052, pero no en la reacción de control. Este resultado sugirió que el lisato celular sin purificar de EC0052 expresó enzima gtf 0768 activa, y que dicha gtf produjo un producto de dextrano que tenía una elevada viscosidad.

20 Por tanto, las reacciones que comprenden agua, sacarosa y una enzima que comprende SEQ ID NO:1 sintetizaron un producto gelificante, que se creyó que era un dextrano. Este resultado demostró que la gtf 0768 probablemente presenta actividad de glucosiltransferasa.

EJEMPLO 2

25 Reacción de sacarosa con gtf 0768 y análisis de un producto de reacción de dextrano gelificante

Este ejemplo describe reacciones adicionales que comprenden agua, sacarosa y gtf 0768, suplementando los resultados proporcionados en el Ejemplo 1. Asimismo, este Ejemplo proporciona un análisis de enlaces glicosídicos del producto gelificante sintetizado por la gtf 0768, que muestra que dicho producto es un tipo de dextrano.

30 Reactivos para preparar las reacciones gtf:

- Sacarosa (Sigma Prod. nº S-9378).
- Reserva de tampón de fosfato sódico (200 mM) (pH 5,5): preparar 250 mL en agua usando monohidrato monobásico de fosfato sódico (Sigma Prod. nº S9638) y heptahidrato dibásico de fosfato sódico (Sigma Prod. Nº S9390), consecuentemente.
- 35 - Solución enzimática Gtf 0768 (lisado celular preparado en el Ejemplo 1).

Condiciones de tres reacciones gtf:

40 Se preparó una reacción de 1000 mL que contenía 2,72 g de reserva de tampón de fosfato sódico (pH 5,5), 100 g/L de sacarosa y 2 mL de disolución de enzima gtf 0768. La reacción se agitó a 26 °C durante 20 horas, y se volvió viscosa. La enzima gtf se desactivó calentando la reacción a 80 °C durante 10 minutos. La reacción viscosa desactivada fue mezclada a continuación con 3 litros de metanol al 100% para precipitar el producto viscoso. Se formó un precipitado blanco, que a continuación se filtró, seguido de cuatro lavados con 120 mL de metanol al 100%. El producto sólido se secó a temperatura ambiente a vacío en un horno durante 72 horas.

50 Se preparó una reacción de 750 mL que contenía 1,97 g de tampón de fosfato sódico, 300 g/L de sacarosa y 1,45 mL de disolución de enzima gtf 0768. La reacción se agitó a 26 °C durante 20 horas, y se volvió viscosa. La enzima gtf se desactivó añadiendo metanol a la mezcla de reacción. La reacción desactivada fue mezclada a continuación con 3 litros de metanol al 100% para precipitar el producto viscoso. Se formó un precipitado blanco, que a continuación se filtró, seguido de cuatro lavados con 120 mL de metanol al 100%. El producto sólido se secó a temperatura ambiente a vacío en un horno durante 72 horas.

55 Se preparó una reacción de 200 mL que contenía 0,544 g de tampón de fosfato sódico, 400 g/L de sacarosa y 0,4 mL de disolución de enzima gtf 0768. La reacción se agitó a 26 °C durante 20 horas, y se volvió viscosa. La enzima gtf se desactivó añadiendo metanol a la mezcla de reacción. La reacción desactivada fue mezclada a continuación con 3 litros de metanol al 100% para precipitar el producto viscoso. Se formó un precipitado blanco, que a continuación se filtró, seguido de cuatro lavados con 120 mL de metanol al 100%. El producto sólido se secó a temperatura ambiente a vacío en un horno durante 72 horas.

60 Se preparó una reacción de 200 mL que contenía 0,544 g de tampón de fosfato sódico, 800 g/L de sacarosa y 0,4 mL de disolución de enzima gtf 0768. La reacción se agitó a 26 °C durante 20 horas, y se volvió viscosa. La enzima gtf se desactivó añadiendo metanol a la mezcla de reacción. La reacción desactivada fue mezclada a continuación con 3 litros de metanol al 100% para precipitar el producto viscoso. Se formó un precipitado blanco, que a continuación se filtró, seguido de cuatro lavados con 120 mL de metanol al 100%. El producto sólido se secó a temperatura ambiente a vacío en un horno durante 72 horas.

65

Se tomaron muestras (100 μ L) de cada reacción a 0, 2, 4 y 18 horas, respectivamente. La enzima gtf fue desactivada en todas las muestras calentando a 80 $^{\circ}$ C durante 10 minutos. Todas las muestras fueron diluidas a continuación 10 veces con agua y centrifugadas a 14.000 rpm durante 5 minutos, tras lo cual se usaron 200 μ L de sobrenadante para análisis HPLC para medir el consumo de sacarosa durante la reacción. Se aplicaron las siguientes condiciones de HPLC para analizar cada muestra: columna (AMINEX HPX-87C columna de carbohidratos, 300 x 7,8 mm, Bio-Rad, N $^{\circ}$ 125-0095), eluyente (agua), caudal (0,6 mL/min), temperatura (85 $^{\circ}$ C), detector de índice de refracción. El análisis de HPLC de las muestras indicó un consumo sustancial de sacarosa durante la reacción de gtf 0768 (Figura 1, reacción que comprende 100 g/L de sacarosa) (este consumo de sacarosa se produjo de forma significativamente más rápida que el consumo de sacarosa observado en una reacción usando una sacarasa de dextrano obtenida de una fuente comercial – referir al Ejemplo 7).

También se usó HPLC para analizar otros productos de la reacción que comprenden 100 g/L de sacarosa. El rendimiento de polímero se calculó por diferencia, restando la cantidad de todos los sacáridos remanentes en la reacción de la cantidad de sacarosa inicial. El número calculado por diferencia fue consistente con el análisis en peso seco de producto viscoso. La sacarosa, leucrosa, glucosa y fructosa fueron cuantificadas mediante HPLC con una columna HPX-87C (condiciones de HPLC descritas anteriormente). Los disacáridos DP2-7 fueron cuantificados mediante HPLC con las siguientes condiciones: columna (columna de carbohidratos AMINEX HPX-42A, 300 x 7,8 mm, Bio-Rad, N $^{\circ}$ 125-0097), eluyente (agua), caudal (0,6 mL/min), temperatura (85 $^{\circ}$ C), detector de índice de refracción. Dichos análisis de HPLC consistieron en un 91% de producto polimérico, 1% de glucosa, 6,5% de leucrosa y 1,5% de oligosacáridos DP2-7.

El perfil de enlaces glicosídicos del producto polimérico gelificante de la reacción que comprendía 100 g/L de sacarosa se determinó mediante RMN de 13 C. El polímero seco (25-30 mg), preparado como se ha indicado antes, fue disuelto en 1 mL de DMSO deuterado que contenía un 3 %p/p de LiCl con agitación a 50 $^{\circ}$ C. Usando una pipeta de vidrio, se transfirieron 0,8 mL de la preparación a un tubo de RMN de 5 mm. Se adquirió un espectro de RMN de 13 C cuantitativo usando un espectrómetro de RMN Bruker Avance (Billerica, MA) de 500 MHz equipado con una criosonda CPDul, a una frecuencia espectral de 125,76 MHz, usando una ventana espectral de 26041,7 Hz. Se usó una secuencia de pulso desacoplado de puerta inversa con desacoplamiento waltz, con un tiempo de adquisición de 0,629 segundos, un retraso entre pulsos de 5 segundos, y 6000 pulsos. Los datos del dominio de tiempo fueron transformados usando una multiplicación exponencial de 2,0 Hz.

Los resultados de RMN indicaron que el producto polimérico gelificante comprendía aproximadamente un 90% de enlaces alfa-1,6-glicosídicos, aproximadamente un 4-5% de enlaces alfa-1,3-glicosídicos, y aproximadamente un 5-6% de enlaces alfa-1,4 y -1,2 glicosídicos. La(s) cadena(s) principal(es) del producto polimérico resultaron comprender mayoritariamente enlaces alfa-1,6-glicosídicos, pero también una cantidad muy pequeña de enlaces alfa-1,3 y -1,4 glicosídicos. Otros enlaces alfa-1,3 y -1,4 glicosídicos, y todos los enlaces alfa-1,2-glicosídicos, resultaron estar en las ramas que salen de la(s) cadena(s) principal(es). Por tanto, el producto gelificante parece ser un dextrano gelificante.

En la presente memoria se recomienda un protocolo diferente (que no es el procedimiento de RMN de 13 C anterior) para determinar el perfil de enlaces del dextrano producido por gtf 0768. Dicho protocolo se describe a continuación en el Ejemplo 9, indicando un perfil de enlaces similar al descrito en este Ejemplo.

El peso molecular promedio en número (M_n) y el peso molecular promedio en peso (M_w) del producto de dextrano gelificante de la reacción que comprende 100 g/L de sacarosa se determinaron mediante cromatografía de exclusión de tamaño (SEC). El polímero seco preparado como se ha indicado anteriormente se disolvió en DMAc y LiCl al 5% (0,5 mg/mL) con agitación durante una noche a 100 $^{\circ}$ C. El sistema cromatográfico usado fue un módulo de separación AllianceTM 2695 de Waters Corporation (Milford, MA) acoplado a tres detectores en línea: un refractómetro diferencial 2410 de Waters, un fotómetro de dispersión de luz multiángulo HeleosTM 8+ de Wyatt Technologies (Santa Barbara, CA), y un viscosímetro capilar diferencial ViscoStarTM de Wyatt. Las columnas usadas para SEC fueron cuatro columnas de estireno-divinil benceno de Shodex (Japón) y dos columnas lineales KD-806M, KD-802 y KD-801 para mejorar la resolución en la región de bajo peso molecular de una distribución de polímero. La fase móvil fue DMAc con 0,11% de LiCl. Las condiciones cromatográficas usadas fueron 50 $^{\circ}$ C en los compartimentos de columna y detector, 40 $^{\circ}$ C en el compartimento de muestra e inyector, un caudal de 0,5 mL/min, y un volumen de inyección de 100 μ L. Los paquetes de software usados para la reducción de datos fueron EmpowerTM versión 3 de Waters (calibración con patrón de polímero de glucano amplio) y Astra[®] versión 6 de Wyatt (método de triple detección con calibración de columna). Se determinó con este procedimiento que el producto de dextrano gelificante tenía un M_n de 2229400 y un M_w de 5365700.

En la presente memoria se recomienda un protocolo diferente (no el procedimiento SEC anterior) para determinar el peso molecular del dextrano producido por la gtf 0768. Dicho protocolo se describe a continuación en el Ejemplo 9, indicando un peso molecular más de un orden de magnitud superior al peso molecular descrito en este Ejemplo.

Por tanto, las reacciones que comprenden agua, sacarosa y una enzima que comprende la SEQ ID NO:1 sintetizaron un producto de dextrano gelificante, según se determina por el perfil de enlaces alfa-1,6 glicosídicos predominante

del producto. El Ejemplo 8 incluido a continuación describe la comparación de la viscosidad de este producto frente a las viscosidades de determinados dextranos disponibles comercialmente. El Ejemplo 9 describe una producción adicional de dextrano con una enzima gtf que comprende la SEQ ID NO:1, junto con el rendimiento, peso molecular y análisis de enlace del dextrano.

EJEMPLO 3

Expresión de una glucosiltransferasa (2919) y uso de la misma para producir un producto de dextrano gelificante

Este ejemplo describe la expresión de una enzima glucosiltransferasa (gtf) madura de *Weissella cibaria* en *B. subtilis*. Asimismo, este Ejemplo muestra que dicha enzima produce un producto gelificante, probablemente un dextrano, cuando se usa en una reacción que contiene agua y sacarosa.

Se identificó un gen de glucosiltransferasa, WciGtf1, de *Weissella cibaria* KACC 11862. La secuencia de ácido nucleico de dicho gen (posiciones 23315 a 27661 del nº de acceso de GENBANK NZ_AEKT01000035.1) se establece en la SEQ ID NO:3 y codifica la secuencia de proteína de la SEQ ID NO:4 (nº de acceso de GENBANK ZP_08417432). En el extremo N de la proteína WciGtf1 (SEQ ID NO:4) hay un péptido señal de 26 aminoácidos, según predice el programa SIGNALP 4.0 (Petersen et al., Nature Methods 8: 785-786). Esto indica que WciGtf1 (SEQ ID NO:4) es una proteína secretada. La forma madura secretada de la proteína WciGtf1 se denomina en la presente memoria gtf 2919, y se establece en la SEQ ID NO:5.

La secuencia de nucleótidos que codifica la gtf 2919 se optimizó para expresión en *B. subtilis*. La secuencia optimizada (SEQ ID NO:6) fue sintetizada por Generay (Shanghai, China), y se insertó en el plásmido p2JM103BBI (Vogtentanz et al., *Protein Expr. Purif.* 55: 40-52), dando como resultado el plásmido pZZHB583 (Figura 2A). El plásmido pZZHB583 contiene un promotor aprE ligado operativamente a una secuencia que codifica (i) una secuencia señal aprE usada para dirigir la secreción de la proteína heteróloga (gtf 2919 en este caso) en *B. subtilis*, (ii) Ala-Gly-Lys para facilitar la secreción, y (iii) gtf 2919 (SEQ ID NO:5) (i-iii se fusionan juntas en la dirección amino-a-carboxi).

El plásmido pZZHB583 se transformó en células de *B. subtilis* para la expresión y purificación de gtf 2919 (ver Métodos Generales).

La actividad de la gtf 2919 (SEQ ID NO:5) se determinó en una reacción de 250 mL a temperatura ambiente que comprende 100 g/L de sacarosa, tampón de fosfato sódico 20 mM (pH 5,5), y 6,25 mL de reserva de enzima. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente con agitación (150 rpm) durante 48 horas.

Las muestras (100 µL) fueron tomadas de la reacción a los tiempos de 0, 1, 3, 5, 24 y 48 horas, respectivamente. La enzima fue desactivada calentando todas las muestras a 80 °C durante 10 minutos. Las muestras fueron diluidas 10 veces con agua y se centrifugaron a 14000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante (200 µL) se usó para análisis de HPLC.

Se determinaron las concentraciones de leucrosa, glucosa y fructosa en la reacción gtf usando HPLC, que se llevó a cabo con un sistema de cromatografía Agilent 1260 equipado con una columna AMINEX HPX-87C (300 x 7,8 mm) colocado en un compartimento de columna termostaticado a 85 °C, y un detector de índice de refracción. La elución de HPLC se llevó a cabo con agua Milli-Q® a 0,6 mL/min. Se identificaron sacarosa, leucrosa, glucosa y fructosa por comparación con los patrones correspondientes. Sus concentraciones fueron calculadas en base a las curvas de calibrado de área de pico de patrones. La sacarosa se consumió casi completamente para el final de la reacción. Aparte de un producto de dextrano viscoso, la gtf 2919 (SEQ ID NO:5) produjo mayoritariamente fructosa (~50%), y pequeñas cantidades de leucrosa (~5%) y glucosa (~1%).

La concentración de oligosacáridos (DP2-DP7) en la reacción gtf se determinó mediante análisis HPLC, que se llevó a cabo en un sistema de cromatografía Agilent 1260 equipado con una columna AMINEX HPX-42A (300 x 7,8 mm) colocado en un compartimento de columna termostaticado a 85 °C, y un detector de índice de refracción. La elución de HPLC se llevó a cabo con agua Milli-Q® a 0,6 mL/min. La formación de los oligosacáridos se identificó por comparación con los patrones correspondientes. La concentración de oligosacáridos se calculó en base a las curvas de calibrado de área de pico de patrones. La gtf 2919 (SEQ ID NO:5) produjo una pequeña cantidad de oligosacáridos DP2-DP7 (~3%) para el final de la reacción.

Por tanto, las reacciones que comprenden agua, sacarosa y una enzima que comprende la SEQ ID NO:5 sintetizaron un producto gelificante, que se cree que es un polímero de dextrano. Los resultados experimentales demostraron que la gtf 2919 probablemente tiene actividad de glucosiltransferasa.

EJEMPLO 4

Expresión de una glucosiltransferasa (2918) y uso de la misma para producir un producto de dextrano gelificante

Este Ejemplo describe la expresión de una enzima glucosiltransferasa (gtf) de *Lactobacillus fermentum* en *B. subtilis*. Asimismo, este Ejemplo muestra que esta enzima produce un producto gelificante, probablemente un dextrano, cuando se usa en una reacción que contiene agua y sacarosa.

Se identificó un gen de glucosiltransferasa, LfeGtf1, de *Lactobacillus fermentum*. La secuencia de ácido nucleico de este gen (posiciones 618 a 5009 del nº de acceso GENBANK AY697433.1) se establece en la SEQ ID NO:7 y codifica la secuencia de proteína de la SEQ ID NO:8 (nº de acceso GENBANK AAU08008). En el extremo N de la proteína LfeGtf1 (SEQ ID NO:8) hay un péptido señal de 37 aminoácidos, según predice el programa SIGNALP 4.0. Esto indica que LfeGtf1 (SEQ ID NO:8) es una proteína secretada. La forma madura secretada de la proteína LfeGtf1 se refiere en la presente memoria como gtf 2918, y se establece en la SEQ ID NO:9.

La secuencia de nucleótidos que codifica la gtf 2918 se optimizó para expresión en *B. subtilis*. La secuencia optimizada (SEQ ID NO:10) fue sintetizada por Generay (Shanghai, China), y se insertó en el plásmido p2JM103BBI, dando como resultado el plásmido pZZHB582 (Figura 2B). El plásmido pZZHB582 contiene un promotor aprE ligado operativamente a una secuencia que codifica (i) una secuencia señal aprE usada para dirigir la secreción de la proteína heteróloga (gtf 2918 en este caso) en *B. subtilis*, (ii) Ala-Gly-Lys para facilitar la secreción, y (iii) gtf 2918 (SEQ ID NO:9) (i-iii se fusionan juntas en la dirección amino-a-carboxi).

El plásmido pZZHB582 se transformó en células de *B. subtilis* para la expresión y purificación de gtf 2918 (ver Métodos Generales).

La actividad de la gtf 2918 (SEQ ID NO:9) se determinó en una reacción de 250 mL a temperatura ambiente que comprendía 100 g/L de sacarosa, tampón de fosfato sódico 20 mM (pH 5,5), y 6,25 mL de reserva de enzima. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente con agitación (150 rpm) durante 6 días.

Las muestras (100 µL) fueron tomadas de la reacción a los tiempos de 0, 1, 3, 5, 24, 48 y 144 horas, respectivamente. La enzima fue desactivada calentando todas las muestras a 80 °C durante 10 minutos. Las muestras fueron diluidas 10 veces con agua y se centrifugaron a 14000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante (200 µL) se usó para análisis de HPLC.

Se determinaron las concentraciones de leucrosa, glucosa, fructosa y oligosacáridos en la reacción gtf usando los procedimientos de HPLC descritos en el Ejemplo 3. La sacarosa se consumió casi completamente para el final de la reacción. Aparte de un producto de dextrano viscoso, la gtf 2918 (SEQ ID NO:9) produjo mayoritariamente fructosa (~50%), y pequeñas cantidades de leucrosa (~5%) y glucosa (~1%). La gtf 2918 (SEQ ID NO:9) produjo una pequeña cantidad de oligosacáridos DP2-DP7 (~1%).

Por tanto, las reacciones que comprenden agua, sacarosa y una enzima que comprende la SEQ ID NO:9 sintetizaron un producto gelificante, que se cree que es un polímero de dextrano. Los resultados experimentales demostraron que la gtf 2920 probablemente tiene actividad de glucosiltransferasa.

EJEMPLO 5

Expresión de una glucosiltransferasa (2920) y uso de la misma para producir un producto de dextrano gelificante
Este Ejemplo describe la expresión de una enzima glucosiltransferasa (gtf) de *Streptococcus sobrinus* en *B. subtilis*. Asimismo, este Ejemplo muestra que esta enzima produce un producto gelificante, probablemente un dextrano, cuando se usa en una reacción que contiene agua y sacarosa.

Se identificó un gen de glucosiltransferasa, SsoGtf4, de *Streptococcus sobrinus*. La secuencia de ácido nucleico de este gen (posiciones 198 a 4718 del nº de acceso GENBANK AY966490) se establece en la SEQ ID NO:11 y codifica la secuencia de proteína de la SEQ ID NO:12 (nº de acceso GENBANK AAX76986). En el extremo N de la proteína SsoGtf4 (SEQ ID NO:12) hay un péptido señal de 41 aminoácidos, según predice el programa SIGNALP 4.0. Esto indica que SsoGtf4 (SEQ ID NO:12) es una proteína secretada. La forma madura secretada de la proteína SsoGtf4 se refiere en la presente memoria como gtf 2920, y se establece en la SEQ ID NO:13.

La secuencia de nucleótidos que codifica la gtf 2920 se optimizó para expresión en *B. subtilis*. La secuencia optimizada (SEQ ID NO:14) fue sintetizada por Generay (Shanghai, China), y se insertó en el plásmido p2JM103BBI, dando como resultado el plásmido pZZHB584 (Figura 2C). El plásmido pZZHB584 contiene un promotor aprE ligado operativamente a una secuencia que codifica (i) una secuencia señal aprE usada para dirigir la secreción de la proteína heteróloga (gtf 2920 en este caso) en *B. subtilis*, (ii) Ala-Gly-Lys para facilitar la secreción, y (iii) gtf 2920 (SEQ ID NO:13) (i-iii se fusionan juntas en la dirección amino-a-carboxi).

El plásmido pZZHB584 se transformó en células de *B. subtilis* para la expresión y purificación de gtf 2920 (ver Métodos Generales).

La actividad de la gtf 2920 (SEQ ID NO:13) se determinó en una reacción de 250 mL a temperatura ambiente que comprendía 100 g/L de sacarosa, tampón de fosfato sódico 20 mM (pH 5,5), y 6,25 mL de reserva de enzima. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente con agitación (150 rpm) durante 6 días.

Las muestras (100 µL) fueron tomadas de la reacción a los tiempos de 0, 1, 3, 5, 24, 48, 72 y 144 horas, respectivamente. La enzima fue desactivada calentando todas las muestras a 80 °C durante 10 minutos. Las muestras fueron diluidas 10 veces con agua y se centrifugaron a 14000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante (200 µL) se usó para análisis de HPLC.

Se determinaron las concentraciones de sacarosa, leucrosa, glucosa, fructosa y oligosacáridos (DP2-DP7) en la reacción gtf usando los procedimientos de HPLC descritos en el Ejemplo 3. La sacarosa se consumió casi completamente para el final de la reacción. Aparte de un producto de dextrano viscoso, la gtf 2920 (SEQ ID NO:13) produjo mayoritariamente fructosa (~50%), leucrosa (~20%) y una pequeña cantidad de glucosa (~3%). La gtf 2920 (SEQ ID NO:13) produjo una pequeña cantidad de oligosacáridos DP2-DP7 (~1%).

Por tanto, las reacciones que comprenden agua, sacarosa y una enzima que comprende la SEQ ID NO:13 sintetizaron un producto gelificante, que se cree que es un polímero de dextrano. Los resultados experimentales demostraron que la gtf 2920 probablemente tiene actividad de glucosiltransferasa.

EJEMPLO 6

Expresión de una glucosiltransferasa (2921) y uso de la misma para producir un producto de dextrano gelificante

Este Ejemplo describe la expresión de una enzima glucosiltransferasa (gtf) madura de *Streptococcus downei* en *B. subtilis*. Asimismo, este Ejemplo muestra que esta enzima produce un producto gelificante, probablemente un dextrano, cuando se usa en una reacción que contiene agua y sacarosa.

Se identificó un gen de glucosiltransferasa, SdoGtf7, de *Streptococcus downei* MFe28. La secuencia de ácido nucleico de este gen (posiciones 16 a 2375 del nº de acceso GENBANK AB476746) se establece en la SEQ ID NO:15 y codifica la secuencia de proteína de la SEQ ID NO:16 (nº de acceso GENBANK ZP_08549987.1). En el extremo N de la proteína SdoGtf7 (SEQ ID NO:16) hay un péptido señal de 44 aminoácidos, según predice el programa SIGNALP 4.0. Esto indica que SdoGtf7 (SEQ ID NO:16) es una proteína secretada. La forma madura secretada de la proteína SdoGtf7 se refiere en la presente memoria como gtf 2921, y se establece en la SEQ ID NO:17.

La secuencia de nucleótidos que codifica la gtf 2921 se optimizó para expresión en *B. subtilis*. La secuencia optimizada (SEQ ID NO:18) fue sintetizada por Generay (Shanghai, China), y se insertó en el plásmido p2JM103BBI, dando como resultado el plásmido pZZHB585 (Figura 2D). El plásmido pZZHB585 contiene un promotor aprE ligado operativamente a una secuencia que codifica (i) una secuencia señal aprE usada para dirigir la secreción de la proteína heteróloga (gtf 2921 en este caso) en *B. subtilis*, (ii) Ala-Gly-Lys para facilitar la secreción, y (iii) gtf 2921 (SEQ ID NO:17) (i-iii se fusionan juntas en la dirección amino-a-carboxi).

El plásmido pZZHB585 se transformó en células de *B. subtilis* para la expresión y purificación de gtf 2921 (ver Métodos Generales).

La actividad de la gtf 2921 (SEQ ID NO:17) se determinó en una reacción de 250 mL a temperatura ambiente que comprendía 100 g/L de sacarosa, tampón de fosfato sódico 20 mM (pH 5,5), y 6,25 mL de reserva de enzima. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente con agitación (150 rpm) durante 8 días.

Las muestras (100 µL) fueron tomadas de la reacción a los tiempos de 1, 2, 3, 6, 7 y 8 días, respectivamente. La enzima fue desactivada calentando todas las muestras a 80 °C durante 10 minutos. Las muestras fueron diluidas 10 veces con agua y se centrifugaron a 14000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante (200 µL) se usó para análisis de HPLC.

Se determinaron las concentraciones de sacarosa, leucrosa, glucosa, fructosa y oligosacáridos (DP2-DP7) en la reacción gtf usando los procedimientos de HPLC descritos en el Ejemplo 3. Aproximadamente un 43% de la sacarosa permanecía en el día 8 de reacción. Aparte de un producto de dextrano viscoso, la gtf 2921 (SEQ ID NO:17) produjo mayoritariamente fructosa (~31%), leucrosa (~6%) y glucosa (~3%). No se observó ninguna producción obvia de oligosacáridos DP2-DP7.

Por tanto, las reacciones que comprenden agua, sacarosa y una enzima que comprende la SEQ ID NO:17 sintetizaron un producto gelificante, que se cree que es un polímero de dextrano. Los resultados experimentales demostraron que la gtf 2921 probablemente tiene actividad de glucosiltransferasa.

EJEMPLO 7 (comparativo)

Producción de dextrano usando sacarasa de dextrano disponible comercialmente

Este Ejemplo describe la síntesis de dextrano usando una sacarasa de dextrano disponible comercialmente en reacciones que comprenden agua y sacarosa. El dextrano producido en éste se analizó en el Ejemplo 8 en comparación con los productos de dextrano sintetizados en los Ejemplos 1-6.

Reactivos para preparar la reacción de sacarasa de dextrano:

- Sacarosa (Sigma Prod. n° S-9378). Se preparó una disolución de reserva de 400 g/L.
- Reserva de tampón de fosfato sódico (200 mM) (pH 5,5): preparar 250 mL en agua usando monohidrato monobásico de fosfato sódico (Sigma Prod. n° S9638) y heptahidrato dibásico de fosfato sódico (Sigma Prod. n° S9390), consecuentemente.
- Sacarasa de dextrano, polvo liofilizado, ≥ 100 unidades/mg proteína, de *Leuconostoc mesenteroides* (Sigma Prod. n° D9909).

Se preparó una reacción de 50 mL que contenía fosfato sódico 20 mM (pH 5,5), 110 g/L de sacarosa, y 10 unidades de sacarasa de dextrano de Sigma-Aldrich. La sacarasa de dextrano se añadió al final de la preparación de la reacción. La reacción se llevó a cabo en un matraz agitado tapado de 125 mL a 26 °C con agitación (100 rpm) durante 7 días. Se tomaron muestras de la reacción (100 μ L) a las 0, 3, 6, 24, 48 y 168 horas, respectivamente. La sacarasa de dextrano se desactivó en todas las muestras calentando a 80 °C durante 10 minutos. Las muestras fueron diluidas 10 veces con agua y centrifugadas a 14.000 rpm durante 5 minutos, tras lo cual se usaron 200 μ L de sobrenadante para análisis de HPLC para medir el consumo de sacarosa durante la reacción.

Se aplicaron las siguientes condiciones de HPLC para analizar cada muestra: columna (columna de carbohidratos AMINEX HPX-87C, 300 x 7,8 mm, Bio-Rad, n° 125-009), eluyente (agua), caudal (0,6 mL/min), temperatura (85 °C), detector de índice de refracción. El análisis HPLC de las muestras indicó el consumo de sacarosa durante la reacción de sacarasa de dextrano (Fig. 3). Es destacable que el consumo de sacarosa por parte de la sacarasa de dextrano comercial fue mucho más lento que la velocidad de consumo de sacarosa de la gtf 0768 (Ejemplo 2). Específicamente, mientras que la gtf 0768 agotó la mayor parte de la sacarosa tras aproximadamente 17-18 horas de tiempo de reacción (Fig. 1), la sacarasa de dextrano comercial solo consumió aproximadamente el 20% de la sacarosa en el mismo periodo de tiempo, y requirió aproximadamente 168 horas para agotar toda, o la mayor parte de la sacarosa.

También se usó el HPLC para analizar otros productos de reacción. El rendimiento de dextrano se calculó por diferencia, restando la cantidad de todos los demás sacáridos remanentes en la reacción de la cantidad de sacarosa de partida. El número calculado por diferencia fue consistente con el análisis en peso seco de dextrano. La sacarosa, la leucrosa, la glucosa, la fructosa y los disacáridos DP2-7 fueron cuantificados mediante HPLC como se describe en el Ejemplo 2. Dichos análisis de HPLC indicaron que los productos de sacárido de la reacción de sacarasa de dextrano comercial consistían en un 49% de dextrano, un 0,3% de sacarosa, un 44% de fructosa, un 1% de glucosa, un 5% de leucrosa y un 1 de oligosacáridos DP2-7.

El dextrano producido en este Ejemplo se analizó en el Ejemplo 8 en comparación con los productos de dextrano gelificantes sintetizados en los Ejemplos 1-6.

EJEMPLO 8

Viscosidad de muestras de dextrano

Este Ejemplo describe la medida de las viscosidades de los polímeros de dextrano producidos en los Ejemplos 1-7, así como la viscosidad del dextrano obtenido de la fuente comercial. Las medidas de viscosidad se llevaron a cabo a diferentes velocidades de cizalla.

Las muestras de polímero de dextrano fueron preparadas como se ha descrito en los Ejemplos 1-7. Específicamente, se llevaron a cabo las reacciones enzimáticas, tras lo cual el polímero fue precipitado en metanol y lavado con metanol (100%) cuatro veces, y a continuación se secaron. Se prepararon disolución (2 %p/p y/o 3 %p/p) de todas las muestras añadiendo la cantidad apropiada de polímero a agua des-ionizada (DI). A continuación, las preparaciones fueron mezcladas usando un mezclador de vórtex de encimera hasta que el polímero estaba completamente disuelto. Todas estas muestras se denominan en las Tablas 2 y 3 (ver a continuación) como "Después PPT" (después de la precipitación). De forma similar se preparó una disolución al 2 %p/p de dextrano (Mw = 956978) obtenida de TCI America (Portland, OR; n° catálogo D0061); dicho dextrano se refiere a continuación como "dextrano comercial".

Para determinar la viscosidad de cada disolución de polímero a diferentes velocidades de cizalla, cada disolución fue sometida a diversas velocidades de cizalla usando un viscosímetro, y manteniendo la temperatura constante a 20 °C. Asimismo, las muestras de polímero obtenidas directamente, sin precipitación, de cada una de las reacciones enzimáticas descritas en los Ejemplos 1-7 fueron sometidas a diferentes velocidades de cizalla (referidas en las Tablas 2 y 3 como "Antes PPT"). La velocidad de cizalla fue incrementada usando un programa de gradiente que aumentó desde 0-10 rpm y la velocidad de cizalla aumentó en 0,17 (1/s) cada 30 segundos. Los resultados de este experimento se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2

Viscosidad de determinadas disoluciones de dextrano a diferentes velocidades de cizalla

Muestra de dextrano ^a	Viscosidad (cPs) @ 0,17 rpm	Viscosidad (cPs) @ 1,03 rpm	Viscosidad (cPs) @ 2,62 rpm	Viscosidad (cPs) @ 4,22 rpm
Gtf 0768 (SEQ ID NO:1) Antes PPT (Ejemplo 2, reacción de 100 g/L sacarosa)	47976,13	11376,70	12956,11	14390,76
Gtf 0768 (SEQ ID NO:1) Antes PPT – 3 %p/p (Ejemplo 2, reacción de 100 g/L sacarosa)		15778,40	6245,31 ^b	4119,58 ^b
Gtf 2918 (SEQ ID NO:9) Antes PPT (Ejemplo 4)		n/a ^b	n/a ^b	n/a ^b
Gtf 2919 (SEQ ID NO:5) Antes PPT (Ejemplo 3)		98864	38671	25580
Gtf 2920 (SEQ ID NO:13) Antes PPT (Ejemplo 5)		3874,85	4205,66	4119,58 ^b
Gtf 2920 (SEQ ID NO:13) Antes PPT – 3 %p/p (Ejemplo 5)		6168,76	3294,43	2288,24
Gtf 2921 (SEQ ID NO:17) Antes PPT (Ejemplo 6)		3533,86	2143,72	1748,95
Gtf 2921 (SEQ ID NO:17) Antes PPT – 3 %p/p (Ejemplo 7)		4634,32	2780,4	1984,89
Sacarasa de dextrano comercial Antes PPT (Ejemplo 7)	16759,42			

5 ^a Las muestras de polímero se presentan según la enzima respectiva usada para sintetizar la muestra. ^b Medida fuera de los límites de especificación del viscosímetro.

10 Las muestras de polímero también fueron sometidas a diferentes velocidades de cizalla usando un viscosímetro, y manteniendo la temperatura constante a 20 °C. La velocidad de cizalla se incrementó usando un programa de gradiente que aumentó desde 10-250 rpm y la velocidad de cizalla aumentó en 7,36 (1/s) cada 20 segundos. Los resultados de este experimento se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3

Viscosidad de determinadas disoluciones de dextrano a diferentes velocidades de cizalla

Muestra de dextrano ^a	Viscosidad (cPs) @ 14,72 rpm	Viscosidad (cPs) @ 102,9 rpm	Viscosidad (cPs) @ 250 rpm
Gtf 2918 (SEQ ID NO:9) Después PPT – 3 %p/p (Ejemplo 4)	149,95	69,68	48,97
Gtf 2919 (SEQ ID NO:) Después PPT – 3 %p/p (Ejemplo 3)	80,82	41,23	29,49
Dextrano comercial al 2 %p/p	241,41	105,28	68,88
Sacarasa de dextrano comercial Después PPT – 2 %p/p (Ejemplo 7)	11,09 ^b	10,31 ^b	8,27
	Viscosidad (cPs) @ 14,11 rpm	Viscosidad (cPs) @ 98,69 rpm	Viscosidad (cPs) @ 162,1 rpm
Gtf 0768 (SEQ ID NO:1) Después PPT – 2 %p/p (Ejemplo 2, reacción de 400 g/L de sacarosa)	49,89	23,61	18,32
Gtf 0768 (SEQ ID NO:1) Después PPT (Ejemplo 2, reacción de 800 g/L de sacarosa)	5,44	2,72	1,58

5

^a Las muestras de polímero se presentan según la enzima respectiva usada para sintetizar la muestra. Alternativamente, se analiza el dextrano obtenido de una fuente comercial (“Dextrano comercial”). ^b Medida fuera de los límites de especificación del viscosímetro.

10 Estos datos demuestran que las disoluciones del producto de dextrano de una glucosiltransferasa que comprende la SEQ ID NO:1 puede en la mayoría de los casos exhibir un aumento de viscosidad incluso tras precipitación y redisolución, en comparación con las viscosidades del dextrano obtenido comercialmente y del producto de dextrano de una sacarasa de dextrano obtenida comercialmente. Esta observación también parece ser aplicable a los
15 respectivos productos de polímero de una glucosiltransferasa que comprende las SEQ ID NO:5, 9, 13 o 17.

También cabe destacar que, en base a las Tablas 2-3, al disminuir la cantidad de sacarosa en una reacción de gtf 0768 desde 800 g/L hasta 100 g/L, la viscosidad del producto de dextrano parece aumentar. Específicamente, la Tabla 3 indica (a 14,11 rpm/2 %p/p de carga) viscosidades de 5,44 cPs y 49,89 cPs para productos de dextrano de reacciones que comprenden 800 y 400 g/L de sacarosa, respectivamente, y la Tabla 2 (gtf 0768, 2 %p/p de carga) puede indicar una viscosidad de aproximadamente 957 cPs (exponencial extrapolado a una rotación de 14,11 rpm) para el producto de dextrano de una reacción que comprende 100 g/L de sacarosa. Este resultado sugiere que la viscosidad de un producto de dextrano puede controlarse modificando el nivel de sacarosa proporcionado inicialmente a la reacción.

25 EJEMPLO 9

Producción adicional y análisis de dextrano sintetizado por gtf 0768

Este Ejemplo es adicional al Ejemplo 2, y describe otra reacción que comprende agua, sacarosa y gtf 0768. Asimismo, este Ejemplo proporciona análisis adicionales de enlaces y peso molecular del producto gelificante sintetizado por la
30 gtf 0768, que demuestran que este producto es un tipo de dextrano.

Reactivos para preparar la reacción gtf:

- Sacarosa (Sigma Prod. n° S-9378).
- Reserva de tampón de fosfato sódico (1 M, pH 6,5, Teknova n° cat. S0276).
- Disolución de enzima gtf 0768 (lisato celular preparado en el Ejemplo 1).

Condiciones de la reacción gtf:

40 Se preparó una reacción de 50 mL que contenía tampón de fosfato sódico 20 mM (el tampón se diluyó 50 veces con ddH₂O de una reserva 1 M, pH 6,5), 100 g/L de sacarosa, y 0,1 mL de disolución de enzima gtf 0768. La reacción se agitó a 100 rpm en un agitador incubador (Innova, Modelo 4000) a 26 °C durante 43 horas; la reacción se volvió viscosa después de aproximadamente 24 horas.

La enzima gtf se desactivó calentando la reacción a 80 °C durante 10 minutos. La reacción viscosa desactivada se mezcló entonces con 75 mL de metanol al 100% para precipitar el producto viscoso. Se formó un precipitado blando. Tras decantar cuidadosamente el sobrenadante, el precipitado blanco se lavó dos veces con 75 mL de metanol al 100%. El producto sólido se secó a 45 °C a vacío en un horno durante 48 horas.

Se tomaron muestras (1 mL) de la reacción a los tiempos de 0, 0,5, 1, 2 y 24 horas, respectivamente. La enzima gtf fue desactivada en todas las muestras calentando a 80 °C durante 10 minutos. Las muestras fueron diluidas entonces 10 veces con agua esterilizada. Se transfirieron 500 µL de muestra diluida a un filtro de tubo de centrifuga (SPIN-X, 0,45 µm Nylon, tubo de polipropileno de 2,0 mL, Costar nº 8170) y se centrifugaron a 12.000 rpm en una centrifuga de mesa durante 60 minutos, tras lo cual se usaron 200 µL de flujo a través para el análisis de HPLC para medir el consumo de sacarosa durante la reacción. Se aplicaron las siguientes condiciones de HPLC para analizar las muestras: columna (columna de carbohidratos AMINEX HPX-87C, 300 x 7,8 mm, Bio-Rad, nº 125-0095), eluyente (agua), caudal (0,6 mL/min), temperatura (85 °C), detector de índice de refracción. El análisis de HPLC de las muestras indicó un consumo sustancial de sacarosa durante la reacción de gtf 0768.

También se usó HPLC para analizar otros productos de la reacción. El rendimiento a polímero se calculó por diferencia restando la cantidad de todos los sacáridos remanentes en la reacción de la cantidad de sacarosa de partida. El número calculado por diferencia fue consistente con el análisis de peso seco de producto viscoso. Se cuantificó la sacarosa, la leucrosa, la glucosa y la fructosa mediante HPLC con una columna HPX-87C (condiciones de HPLC descritas anteriormente). Los oligosacáridos DP2-7 fueron cuantificados mediante HPLC con las siguientes condiciones: columna (columna de carbohidratos AMINEX HPX-42A, 300 x 7,8 mm, Bio-Rad, nº 125-0097), eluyente (agua), caudal (0,6 mL/min), temperatura (85 °C), detector de índice de refracción. Estos análisis de HPLC indicaron que los productos de sacáridos que contenían glucosilo de la reacción de gtf 0768 consistieron en 92,3% de producto de polímero, 1,3% de glucosa, 5,0% de leucrosa, y 1,4% de oligosacáridos DP2-7.

Para el análisis de peso molecular se usó una muestra de producto en polvo de dextrano seco (~0,2 g) de la reacción anterior. El peso molecular se determinó mediante un método cromatográfico de inyección de flujo usando un módulo de separación Alliance™ 2695 de Waters Corporation (Milford, MA) acoplado a tres detectores en línea: un refractómetro diferencial 2414 de Waters, un fotómetro de dispersión de luz multi-ángulo (MALS) con detector de dispersión de luz cuasielástica (QELS) de Wyatt Technologies (Santa Barbara, CA), y un viscosímetro capilar diferencial ViscoStar™ de Wyatt. El polvo de dextrano seco se disolvió a 0,5 mg/mL en tampón Tris acuoso (Tris[hidroxiometil]-aminometano) (0,075 M) que contenía 200 ppm de NaN₃. La disolución de dextrano se consiguió agitando durante una noche a 50 °C. Se usaron dos columnas AQUAGEL-OH GUARD de Agilent Technologies (Santa Clara, CA) para separar el pico del polímero de dextrano del pico de inyección. La fase móvil para este procedimiento fue la misma que el disolvente de dextrano, el caudal fue 0,2 mL/min, el volumen de inyección fue 0,1 mL, y la temperatura de columna fue 30 °C. Se usó el software Empower™ versión 3 de Waters para la adquisición de datos, y el software Astra™ versión 6 de Wyatt para la reducción de datos multidetector. En este trabajo se determinó que el producto de polímero de dextrano tenía un peso molecular promedio en peso (Mw) de 1,022 (+/- 0,025) x 10⁸ g/mol (es decir, aproximadamente 100 millones de Daltons) (del análisis MALS), un radio de giro promedio-z de 243,33 (+/- 0,42) nm (del análisis MALS), y un radio hidrodinámico promedio-z de 215 nm (del análisis QELS). También se determinó del análisis QELS que el dextrano tenía una desviación estándar en la distribución de tamaño de partícula (DTP) de aproximadamente 0,259, lo que indica que el dextrano probablemente es polidisperso en términos de tamaño hidrodinámico.

Para propósitos de análisis de enlaces glicosídicos, se preparó una reacción de gtf de 50 mL como se ha descrito previamente en este Ejemplo, excepto que el tiempo de reacción fue de 24 horas (la reacción se había vuelto viscosa). La enzima gtf fue desactivada calentando la reacción a 80 °C durante 10 minutos. La reacción viscosa desactivada fue colocada entonces en un tubo de diálisis rígido de celulosa con un corte de peso molecular (MWCO) de 12-14 kDa (tubo de diálisis Spectra/Por® 4, nº part. 132706, Spectrum Laboratories, Inc.) y se dializó contra 4 L de agua de filtro a temperatura ambiente a lo largo de una semana. El agua se cambió todos los días durante la diálisis. La reacción viscosa dializada fue precipitada a continuación y se secó como se ha descrito anteriormente en este Ejemplo. Se envió aproximadamente 0,2 g de polímero seco al análisis de enlaces mediante GC/MS.

El análisis de enlace se llevó a cabo según los métodos descritos por Pettolino et al. (*Nature Protocols* 7; 1590-1607), que se incorpora a la presente memoria a modo de referencia. Resumidamente, se disolvió una muestra de dextrano seco en dimetil sulfóxido (DMSO) o en DMSO con un 5% de cloruro de litio, a continuación todos los grupos hidroxilo libres fueron metilados mediante adición secuencial de una suspensión de hidróxido sódico/DMSO seguido de yodometano. El polímero metilado fue extraído a continuación en cloruro de metileno e hidrolizado en sus unidades monoméricas usando ácido trifluoroacético acuoso (TFA) a 120 °C. El TFA fue evaporado después de la muestra y se llevó a cabo una apertura de anillo reductiva usando borodeuteruro sódico, que también sirvió para marcar el extremo reductor con un átomo de deuterio. Los grupos hidroxilo creados mediante la hidrólisis de los enlaces glicosídicos fueron acetilados entonces tratando con cloruro de acetilo y TFA a una temperatura de 50 °C. Finalmente, los reactivos derivatizantes fueron evaporados y los monómeros metilados/acetilados resultantes fueron reconstituidos en acetonitrilo y analizados mediante cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC/MS) usando una columna de biscianopropil cianopropilfenil polisiloxano. La posición relativa de las funcionalidades metilo y acetilo,

junto con la marca de deuterio, dieron lugar a especies que presentan diferentes índices de tiempo de retención y espectros de masas que pueden compararse con bases de datos publicadas. De esta manera, los derivados de las unidades monoméricas indicaron cómo estaba unido originalmente cada monómero en el polímero de dextrano, y si el monómero era un punto de ramificación. Los resultados del análisis de estas muestras (dextrano disuelto inicialmente en DMSO o DMSO/5% de LiCl) se proporcionan en la Tabla 4.

Tabla 4

Perfil de enlaces de producto de dextrano de gtf 0768

Muestra	%p/p / %mol de monómeros de glucosa en el dextrano				
	3-glc ^a	6-glc ^b	4-glc ^c	3,6-glc ^d	2,6- + 4,6-glc ^e
DMSO	0,4	90,2	0,4	8,3	0,7
DMSO / 5% LiCl	0,9	89,3	0,4	8,0	1,4

^a Monómero de glucosa unido en las posiciones de carbono 1 y 3.

^b Monómero de glucosa unido en las posiciones de carbono 1 y 6.

^c Monómero de glucosa unido en las posiciones de carbono 1 y 4.

^d Monómero de glucosa unido en las posiciones de carbono 1, 3 y 6.

^e Monómero de glucosa unido en las posiciones de carbono 1, 2 y 6; o 1, 4 y 6.

En general, los resultados de la Tabla 4 indican que el producto de dextrano analizado anteriormente comprende:

- (i) aproximadamente 87-93 %p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 6;
- (ii) aproximadamente 0,1-1,2 %p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 3;
- (iii) aproximadamente 0,1-0,7 %p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1 y 4;
- (iv) aproximadamente 7,7-8,6 %p/p de glucosa unida solo en las posiciones 1, 3 y 6; y
- (v) aproximadamente 0,4-1,7 %p/p de glucosa unida solo en (a) las posiciones 1, 2 y 6, o (b) en las posiciones 1, 4 y 6.

En base a esta información y algunos estudios adicionales (datos no mostrados), se contempla que este producto es una estructura ramificada en la que hay cadenas largas (que contienen mayoritariamente, o totalmente, enlaces alfa-1,6) de aproximadamente 20 DP de longitud (promedio) que se ramifican iterativamente unas respecto a las otras (p.ej., una cadena larga puede ser una ramificación de otra cadena larga, que a su vez puede ser ella misma una ramificación de otra cadena larga, etcétera). La estructura ramificada también parece comprender ramificaciones cortas a partir de las cadenas largas; se cree que dichas cadenas cortas tienen una longitud de 1-3 DP y comprenden mayoritariamente enlaces alfa-1,3 y -1,4, por ejemplo. Los puntos de ramificación del dextrano, tanto si están incluidos en una ramificación de cadena larga en otra cadena larga, como si son una ramificación de cadena corta en una cadena larga, parecen comprender enlaces alfa-1,3, -1,4 o -1,2 en glucosas implicadas en un enlace alfa-1,6. Aproximadamente el 25% de todos los puntos de ramificación del dextrano se ramifican en una cadena larga.

De esta manera, las reacciones que comprenden agua, sacarosa y una enzima que comprende la SEQ ID NO:1 sintetizaron un producto de dextrano gelificante muy grande, según se determina a través del elevado Mw del producto y del perfil predominante de enlaces glucosídicos alfa-1,6.

EJEMPLO 10

Formulación que comprende dextrano sintetizado por gtf 0768

Este Ejemplo describe una formulación que comprende el producto de dextrano de la gtf 0768. Esta formulación demostró tener mejores características sensoriales (o "tacto") en comparación con formulaciones que comprenden determinados compuestos (goma xantana, Carbopol[®]) usada comúnmente para proporcionar viscosidad a determinados productos de consumo (p.ej., composiciones de cuidado personal tales como lociones).

Se prepararon tres emulsiones diferentes y se compararon unas con otras en un estudio de sensación cutánea, según se indica a continuación.

Emulsión basada en dextrano: el dextrano se produjo usando gtf 0768 (que comprende SEQ ID NO:1) en una reacción similar a la reacción descrita en el Ejemplo 9. A temperatura ambiente, se combinó el polisorbato 80, monooleato de sorbitán y aceite mineral (Fase B, Tabla 5) en un recipiente pequeño, y se mezcló a mano hasta alcanzar homogeneidad. La Fase B se añadió lentamente a agua (Fase A, Tabla 5) con una agitación de turbina moderada. La mezcla se homogeneizó a 5000-9000 rpm durante aproximadamente 5-10 minutos. A continuación, se añadió dextrano (Fase C, Tabla 5) con una agitación de turbina moderada. A continuación, se añadió Germaben[®] II (Fase D, Tabla 5) como conservante con una agitación de turbina moderada. El dextrano podía haber sido pre-hidratado opcionalmente usando una porción del agua de la fase A.

Tabla 5

Emulsión basada en dextrano

Ingredientes	% de actividad	% p/p (deseado)	% p/p (crudo)	Gramos
Fase A				
Agua Desionizada			73,50	73,50
Fase B				
Polisorbato 80	100,00	2,43	2,43	2,43
Monooleato de sorbitán	100,00	2,57	2,57	2,57
Aceite mineral	100,00	20,00	20,00	20,00
Fase C				
Dextrano	100,00	1,00	1,00	1,00
Fase D				
Germaben® II	100,00	0,50	0,50	0,50
			100,00	100,00

5 Emulsión basada en goma xantana (Control 1): a temperatura ambiente, se combinó goma xantana y agua (Fase A, Tabla 6) con una agitación de turbina moderada hasta alcanzar homogeneidad. Se combinó polisorbato 80, monooleato de sorbitán y aceite mineral (Fase B, Tabla 6) en un recipiente pequeño, y se mezcló a mano hasta homogeneidad. La Fase B se añadió lentamente a la Fase A con una agitación de turbina moderada. La mezcla se
10 homogeneizó a 5000-9000 rpm durante aproximadamente 5-10 minutos. A continuación, se añadió Germaben® II (Fase C, Tabla 6) como conservante con una agitación de turbina moderada.

Tabla 6

Emulsión basada en goma xantana

Ingredientes	% de actividad	% p/p (deseado)	% p/p (crudo)	Gramos
Fase A				
Agua Desionizada			74,00	74,00
Goma xantana	100,00	0,50	0,50	0,50
Fase B				
Polisorbato 80	100,00	2,43	2,43	2,43
Monooleato de sorbitán	100,00	2,57	2,57	2,57
Aceite mineral	100,00	20,00	20,00	20,00
Fase C				
Germaben® II	100,00	0,50	0,50	0,50
			100,00	100,00

15 Emulsión basada en Carbopol® Ultrez 10 (Control 2): a temperatura ambiente, se combinó Carbopol® Ultrez 10 y agua (Fase A, Tabla 7) con una agitación de turbina moderada hasta alcanzar homogeneidad. Se combinó polisorbato 80, monooleato de sorbitán y aceite mineral (Fase B, Tabla 7) en un recipiente pequeño, y se mezcló a mano hasta homogeneidad. La Fase B se añadió lentamente a la Fase A con una agitación de turbina moderada. La mezcla se
20 homogeneizó a 5000-9000 rpm durante aproximadamente 5-10 minutos. A continuación, se añadió Germaben® II (Fase C, Tabla 7) como conservante con una agitación de turbina moderada. Se usó una disolución al 20 %p/p de hidróxido sódico para neutralizar la emulsión a pH 5,5.
25

Tabla 7

Emulsión basada en Carbopol® Ultrez 10

Ingredientes	% de actividad	% p/p (deseado)	% p/p (crudo)	Gramos
Fase A				
Agua Desionizada			74,00	74,00
Carbopol® Ultrez 10	100,00	0,50	0,50	0,50
Fase B				
Polisorbato 80	100,00	2,43	2,43	2,43
Monooleato de sorbitán	100,00	2,57	2,57	2,57
Aceite mineral	100,00	20,00	20,00	20,00
Fase C				
Germaben® II	100,00	0,50	0,50	0,50
			100,00	100,00

5 Análisis de sensación al tacto y resultados: Se llevó a cabo un análisis de sensación al tacto, doblemente ciego, según la norma ASTM E1490-3 (*Standard Practice for Descriptive Skinfeel Analysis of Creams and Lotions*, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2003, DOI: 10.1520/E1490-03, incorporada a la presente memoria a modo de referencia) para comparar las emulsiones anteriores. Los atributos primarios evaluados en este estudio fueron viscosidad al frotar, sensación de pegajosidad, cuerda al recoger y pegajosidad al recoger. Los panelistas evaluaron los atributos en una escala entre 1-5, donde 1 representa el valor mínimo del atributo y 5 representa el valor máximo del atributo. Los resultados se presentan a continuación en la Tabla 8 como valores medios de las puntuaciones de los panelistas correspondientes a cada atributo. La suma media de dichos valores (Σ , Tabla 8) indica que la experiencia sensorial global de las emulsiones (p.ej., lociones) producidas con un dextrano como el descrito en la presente memoria excede los resultados de emulsiones similares producidas con goma xantana o con Carbopol® Ultrez 10.

Tabla 8

Emulsión basada en Carbopol® Ultrez 10

Atributo de sensación al tacto	Puntuación media		
	Dextrano	Goma xantana	Carbopol® Ultrez 10
Viscosidad al frotar	2	3	2
Sensación de pegajosidad	2	2	3
Cuerda al recoger	1	3	3
Pegajosidad al recoger	2	3	2
Σ	7	11	10

25 Cabe destacar que la emulsión que contenía el dextrano dio lugar a una mejor puntuación que las emulsiones de control en el análisis de sensación al tacto, especialmente teniendo en cuenta que había el doble de cantidad de dextrano (1 %p/p) en la emulsión en comparación con la cantidad de goma xantana (0,5 %p/p) o de Carbopol® Ultrez (0,5 %p/p) en las emulsiones de control.

Por tanto, el dextrano producido por la gtf 0768 (que comprende la SEQ ID NO:1) puede ser adecuado para su uso en composiciones en las que sea deseable un aumento de las características sensoriales, tal como en productos de cuidado personal y alimentarios, por ejemplo.

EJEMPLO 11

Limpiador que comprende dextrano con partículas suspendidas

35 Este Ejemplo describe un limpiador que comprende el producto de dextrano de la gtf 0768. Se pudo suspender partículas de éster de jojoba en dicha composición, lo que indica que el dextrano puede actuar como dispersante.

40 El dextrano fue producido usando gtf 0768 (que comprende SEQ ID NO:1) en una reacción similar a la reacción descrita en el Ejemplo 9. A temperatura ambiente se combinó agua, dextrano, glicerina, polisorbato 20, cocamidopropil betaína, PPG-2 hidroxietil cocamida y EDTA disódico según la formulación de la Tabla 9, y se mezcló a mano hasta alcanzar condiciones de homogeneidad. A continuación, se añadieron las partículas de jojoba y se continuó con la mezcla hasta que las partículas estaban dispersas homogéneamente. Opcionalmente, el dextrano podría haber sido pre-hidratado usando una porción del componente acuoso.

Tabla 9

Suspensión de partículas de jojoba basada en dextrano

Ingredientes	% de actividad	% p/p (deseado)	% p/p (crudo)	Gramos
Agua (desionizada)			22,95	22,95
Dextrano	100	5	5	5
Glicerina	100	10	10	10
Polisorbato 20	100	5,25	5,25	5,25
Cocamidopropil betaína	35,97	20	55,6	55,6
PPG-2 Hidroxietil cocamida	100	1	1	1
EDTA disódico	100	0,1	0,1	0,1
Partículas de éster de jojoba	100	0,1	0,1	0,1
			100	100

5

De esta manera, el dextrano producido por la gtf 0768 (que comprende la SEQ ID NO:1) puede usarse como dispersante en composiciones acuosas tales como determinados productos de cuidado personal.

LISTADOS DE SECUENCIAS

<110> E. I. du Pont de Nemours y Compañía Nambiar, Rakesh

5 <120> DEXTRANTES ENCIMENTANTES POLIMERIZADOS ENZIMÁTICAMENTE

<130> CL6294

<150> US 62/075,460

<151> 2014-11-05

10 <160> 18

<170> PatentIn versión 3.5

15 <210> 1

<211> 1447

<212> PRT

<213> Leuconostoc pseudomesenteroides

20 <220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1447)

<223> maduro 0768 gtf

25 <400> 1

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

ES 2 784 327 T3

Glu Ile Leu Glu Asn Gly Glu Ser Trp Arg Pro Ser Thr Ala Glu Asp
 275 280 285
 Lys Arg Pro Ile Leu Ile Thr Trp Gln Pro Asp Ile Val Thr Glu Val
 290 295 300
 Asn Tyr Leu Asn Met Met Ala Ala Asn Gly Leu Leu Ser Ile Asn Ala
 305 310 315 320
 Pro Phe Thr Thr Ala Ser Asp Leu Ala Ile Met Asn Asp Ala Val Arg
 325 330 335
 Ala Val Gln Lys Asn Ile Glu Met Arg Ile Ser Gln Glu Lys Ser Thr
 340 345 350
 Asp Trp Leu Lys Ala Leu Met Thr Gln Phe Ile Asn Thr Gln Pro Gln
 355 360 365
 Trp Asn Glu Val Ser Glu Ser Pro Ser Asn Asp His Leu Gln Gly Gly
 370 375 380
 Ala Leu Thr Tyr Val Asn Ser Pro Leu Thr Pro Asp Ala Asn Ser Asn
 385 390 395 400
 Phe Arg Leu Leu Asn Arg Thr Pro Thr Asn Gln Ser Gly Thr Thr Arg
 405 410 415
 Tyr Asp Thr Asp Lys Ser Lys Gly Gly Phe Glu Leu Leu Leu Ala Asn
 420 425 430
 Asp Val Asp Asn Ser Asn Pro Val Val Gln Ala Glu Gln Leu Asn Trp
 435 440 445
 Leu Tyr Tyr Leu Met Asn Phe Gly Ser Ile Thr Ala Asn Asp Pro Thr
 450 455 460
 Ala Asn Phe Asp Gly Ile Arg Val Asp Ala Val Asp Asn Val Asp Ala
 465 470 475 480
 Asp Leu Leu Gln Ile Ala Ser Asp Tyr Phe Lys Leu Ala Tyr Gly Thr
 485 490 495
 Ser Leu Ser Asp Thr Asn Ala Asn Gln His Leu Ser Ile Leu Glu Asp
 500 505 510
 Trp Ser Ala Asn Asp Ala Glu Tyr Met Ser Lys Thr Gly Ser Asn Gln
 515 520 525
 Leu Thr Met Asp Thr Tyr Thr Gln Gln Gln Leu Leu Phe Ser Leu Thr
 530 535 540
 Lys Gln Val Gly Asn Arg Ala Asp Met Arg Arg Phe Leu Glu Tyr Phe
 545 550 555 560
 Met Ile Asn Arg Ala Asn Asp Ser Thr Glu Asn Val Ala Thr Pro Asn
 565 570 575
 Tyr Ser Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln Thr Val Ile Ala
 580 585 590
 Thr Ile Ile Lys Asp Leu His Pro Asp Val Val Asn Ser Leu Ala Pro
 595 600 605
 Thr Gln Ala Gln Leu Glu Glu Ala Phe Ala Val Tyr Asn Ala Asp Met
 610 615 620
 Asn Arg Val Asp Lys Gln Tyr Thr Gln Tyr Asn Met Pro Ser Ala Tyr
 625 630 635 640
 Ala Met Leu Leu Thr Asn Lys Asp Thr Ile Pro Arg Val Tyr Tyr Gly
 645 650 655
 Asp Leu Tyr Thr Asp Asp Gly Glu Tyr Met Gly Thr Gln Thr Pro Tyr
 660 665 670
 Tyr Asp Ala Ile Val Asn Leu Leu Gln Ser Arg Val Lys Tyr Val Ala
 675 680 685
 Gly Gly Gln Ser Met Ala Val Asp Gln His Asp Ile Leu Thr Ser Val
 690 695 700
 Arg Tyr Gly Lys Asn Leu Ala Asp Ala Asn Ala Thr Ser Asp Asp Leu
 705 710 715 720
 Thr Ser Ile Asn Ser Gly Ile Gly Val Ile Val Ser Asn Asn Pro Asn
 725 730 735
 Leu Ser Leu Ala Ser Gly Glu Thr Val Val Leu His Met Gly Ile Ala
 740 745 750
 His Ala Asn Gln Val Tyr Arg Glu Ile Leu Glu Thr Thr Asp Asn Gly
 755 760 765
 Ile Ala Asn Asn Thr Asp Ile Phe Lys Thr Thr Asp Ser Asn Gly Asp

ES 2 784 327 T3

Ala	Ser	Asn	Gly	Gln	Gln	Ile	Lys	Gly	Gln	Ile	Val	Val	Thr	Gly
1265						1270					1275			
Asn	Gln	Lys	Ser	Tyr	Tyr	Asp	Ala	Asn	Thr	Gly	Asn	Leu	Ile	Lys
1280						1285					1290			
Asn	Asp	Phe	Leu	Thr	Pro	Asp	Gln	Gly	Lys	Thr	Trp	Tyr	Tyr	Ala
1295						1300					1305			
Asp	Gln	Asp	Gly	Asn	Leu	Val	Val	Gly	Ala	Gln	Glu	Val	Asn	Gly
1310						1315					1320			
His	Lys	Leu	Tyr	Phe	Asp	Asp	Asn	Gly	Ile	Gln	Ile	Lys	Asp	Gln
1325						1330					1335			
Ile	Ile	Ser	Asn	Asp	Gly	Gln	Gln	Tyr	Tyr	Tyr	Gln	Gly	Gly	Asn
1340						1345					1350			
Gly	Asp	Leu	Val	Thr	Asn	Arg	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Asn	Asp	Ser	Trp
1355						1360					1365			
Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ala	Thr	Gly	Val	Leu	Val	Thr	Gly	Gln	Gln	Ile
1370						1375					1380			
Ile	Asn	Gly	Glu	Thr	Gln	Tyr	Phe	Arg	Thr	Asp	Gly	Arg	Gln	Val
1385						1390					1395			
Lys	Gly	Gln	Ile	Ile	Ala	Asp	Gly	Asp	Lys	Gln	His	Tyr	Tyr	Asp
1400						1405					1410			
Ala	Asp	Ser	Gly	Asn	Leu	Val	Lys	Asn	Asn	Phe	Val	Thr	Val	Asp
1415						1420					1425			
Gln	Gly	Lys	Thr	Trp	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Gln	Asp	Gly	Asn	Leu	Ser
1430						1435					1440			
Leu	Val	Asp	Arg											
1445														

<210> 2

<211> 1457

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 0768 gtf de proteína madura con codón de inicio y otras secuencias añadidas

10

<400> 2

ES 2 784 327 T3

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

ES 2 784 327 T3

Tyr Thr Ala Val Leu Asn Gly Val Val Thr Phe Phe Asn Ser Thr Thr
 210 215 220
 Gly Glu Ala Asp Asn Thr Asp Ala Ser Thr Ile Lys Thr Gly Val Thr
 225 230 235 240
 Ile Asp Asn Ser Asp Tyr Thr Val His Asn Ala Ala Tyr Asp Asn Thr
 245 250 255
 Ala Ala Ser Phe Asp Asn Ile Asn Gly Tyr Leu Thr Ala Glu Ser Trp
 260 265 270
 Tyr Arg Pro Lys Glu Ile Leu Glu Asn Gly Glu Ser Trp Arg Pro Ser
 275 280 285
 Thr Ala Glu Asp Lys Arg Pro Ile Leu Ile Thr Trp Gln Pro Asp Ile
 290 295 300
 Val Thr Glu Val Asn Tyr Leu Asn Met Met Ala Ala Asn Gly Leu Leu
 305 310 315 320
 Ser Ile Asn Ala Pro Phe Thr Thr Ala Ser Asp Leu Ala Ile Met Asn
 325 330 335
 Asp Ala Val Arg Ala Val Gln Lys Asn Ile Glu Met Arg Ile Ser Gln
 340 345 350
 Glu Lys Ser Thr Asp Trp Leu Lys Ala Leu Met Thr Gln Phe Ile Asn
 355 360 365
 Thr Gln Pro Gln Trp Asn Glu Val Ser Glu Ser Pro Ser Asn Asp His
 370 375 380
 Leu Gln Gly Gly Ala Leu Thr Tyr Val Asn Ser Pro Leu Thr Pro Asp
 385 390 395 400
 Ala Asn Ser Asn Phe Arg Leu Leu Asn Arg Thr Pro Thr Asn Gln Ser
 405 410 415
 Gly Thr Thr Arg Tyr Asp Thr Asp Lys Ser Lys Gly Gly Phe Glu Leu
 420 425 430
 Leu Leu Ala Asn Asp Val Asp Asn Ser Asn Pro Val Val Gln Ala Glu
 435 440 445
 Gln Leu Asn Trp Leu Tyr Tyr Leu Met Asn Phe Gly Ser Ile Thr Ala
 450 455 460
 Asn Asp Pro Thr Ala Asn Phe Asp Gly Ile Arg Val Asp Ala Val Asp
 465 470 475 480
 Asn Val Asp Ala Asp Leu Leu Gln Ile Ala Ser Asp Tyr Phe Lys Leu
 485 490 495
 Ala Tyr Gly Thr Ser Leu Ser Asp Thr Asn Ala Asn Gln His Leu Ser
 500 505 510
 Ile Leu Glu Asp Trp Ser Ala Asn Asp Ala Glu Tyr Met Ser Lys Thr
 515 520 525
 Gly Ser Asn Gln Leu Thr Met Asp Thr Tyr Thr Gln Gln Gln Leu Leu
 530 535 540
 Phe Ser Leu Thr Lys Gln Val Gly Asn Arg Ala Asp Met Arg Arg Phe
 545 550 555 560
 Leu Glu Tyr Phe Met Ile Asn Arg Ala Asn Asp Ser Thr Glu Asn Val
 565 570 575
 Ala Thr Pro Asn Tyr Ser Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln
 580 585 590
 Thr Val Ile Ala Thr Ile Ile Lys Asp Leu His Pro Asp Val Val Asn
 595 600 605
 Ser Leu Ala Pro Thr Gln Ala Gln Leu Glu Glu Ala Phe Ala Val Tyr
 610 615 620
 Asn Ala Asp Met Asn Arg Val Asp Lys Gln Tyr Thr Gln Tyr Asn Met
 625 630 635 640
 Pro Ser Ala Tyr Ala Met Leu Leu Thr Asn Lys Asp Thr Ile Pro Arg
 645 650 655
 Val Tyr Tyr Gly Asp Leu Tyr Thr Asp Asp Gly Glu Tyr Met Gly Thr
 660 665 670
 Gln Thr Pro Tyr Tyr Asp Ala Ile Val Asn Leu Leu Gln Ser Arg Val
 675 680 685
 Lys Tyr Val Ala Gly Gly Gln Ser Met Ala Val Asp Gln His Asp Ile
 690 695 700
 Leu Thr Ser Val Arg Tyr Gly Lys Asn Leu Ala Asp Ala Asn Ala Thr

ES 2 784 327 T3

705					710					715					720
Ser	Asp	Asp	Leu	Thr	Ser	Ile	Asn	Ser	Gly	Ile	Gly	Val	Ile	Val	Ser
				725					730						735
Asn	Asn	Pro	Asn	Leu	Ser	Leu	Ala	Ser	Gly	Glu	Thr	Val	Val	Leu	His
			740					745					750		
Met	Gly	Ile	Ala	His	Ala	Asn	Gln	Val	Tyr	Arg	Glu	Ile	Leu	Glu	Thr
		755					760					765			
Thr	Asp	Asn	Gly	Ile	Ala	Asn	Asn	Thr	Asp	Ile	Phe	Lys	Thr	Thr	Asp
	770					775					780				
Ser	Asn	Gly	Asp	Leu	Ile	Phe	Thr	Ala	Ser	Glu	Ile	His	Gly	Tyr	Ser
785					790					795					800
Asn	Val	Gln	Val	Ser	Gly	Phe	Leu	Ser	Val	Trp	Ala	Pro	Lys	Asp	Ala
				805					810					815	
Thr	Asp	Asp	Gln	Asp	Val	Arg	Thr	Ala	Ala	Ser	Glu	Ser	Thr	Ser	Asn
			820					825					830		
Asp	Gly	Asn	Thr	Leu	His	Ser	Asn	Ala	Ala	Leu	Asp	Ser	Asn	Leu	Ile
		835					840					845			
Tyr	Glu	Gly	Phe	Ser	Asn	Phe	Gln	Ser	Thr	Pro	Gln	Ser	Glu	Ser	Glu
	850					855					860				
Phe	Ala	Asn	Val	Lys	Ile	Ala	Ala	Asn	Val	Asn	Leu	Phe	Lys	Ser	Trp
865					870					875					880
Gly	Val	Thr	Ser	Phe	Gln	Met	Ala	Pro	Gln	Tyr	Arg	Ser	Ser	Thr	Asp
				885					890					895	
Thr	Ser	Phe	Leu	Asp	Ser	Ile	Ile	Gln	Asn	Gly	Tyr	Ala	Phe	Thr	Asp
			900					905					910		
Arg	Tyr	Asp	Leu	Gly	Phe	Glu	Thr	Pro	Thr	Lys	Tyr	Gly	Thr	Asp	Gln
	915						920						925		
Gln	Leu	Arg	Asp	Ala	Ile	Lys	Ala	Leu	His	Ala	Asn	Gly	Ile	Gln	Ala
	930					935					940				
Met	Ala	Asp	Phe	Val	Pro	Asp	Gln	Ile	Tyr	Asn	Leu	Pro	Gln	Thr	Glu
945						950				955					960
Leu	Val	Ser	Val	Ser	Arg	Thr	Asp	Ser	Leu	Gly	Asn	Gln	Ser	Ala	Asn
				965					970					975	
Ser	Asn	Ala	Ala	Asn	Val	Leu	Tyr	Val	Ser	His	Thr	Val	Gly	Gly	Gly
			980					985					990		
Glu	Tyr	Gln	Ser	Lys	Tyr	Gly	Gly	Glu	Phe	Leu	Ala	Ile	Ile	Lys	Ser
		995					1000					1005			
Lys	Tyr	Pro	Ser	Leu	Phe	Lys	Thr	Ile	Gln	Val	Ser	Thr	Gly	Leu	
1010						1015						1020			
Pro	Ile	Asp	Asp	Ser	Thr	Lys	Ile	Lys	Glu	Trp	Ser	Ala	Lys	Tyr	
	1025					1030						1035			
Phe	Asn	Gly	Ser	Asn	Ile	Gln	Gly	Arg	Gly	Phe	Gly	Tyr	Val	Leu	
	1040					1045						1050			
Ser	Asp	Gly	Gly	Thr	Gln	Asn	Tyr	Phe	Lys	Val	Ile	Ser	Asn	Ser	
	1055					1060						1065			
Thr	Asp	Asp	Asp	Phe	Leu	Pro	Asn	Gln	Leu	Thr	Gly	Lys	Pro	Thr	
	1070					1075						1080			
Met	Thr	Gly	Phe	Glu	Gln	Thr	Ser	Lys	Gly	Ile	Val	Tyr	Tyr	Ser	
	1085					1090						1095			
Lys	Ser	Gly	Ile	Gln	Ala	Lys	Asn	Gln	Phe	Val	Lys	Asp	Asp	Val	
	1100					1105						1110			
Ser	Gly	Asn	Tyr	Tyr	Tyr	Phe	Asn	Lys	Asn	Gly	Leu	Met	Thr	Val	
	1115					1120						1125			
Gly	Ser	Lys	Thr	Ile	Asn	Gly	Lys	Asn	Tyr	Met	Phe	Leu	Pro	Asn	
	1130					1135						1140			
Gly	Val	Glu	Leu	Arg	Gly	Ser	Phe	Leu	Gln	Thr	Ala	Asp	Gly	Thr	
	1145					1150						1155			
Val	Asn	Tyr	Tyr	Ala	Thr	Asn	Gly	Ala	Gln	Val	Gln	Asp	Ser	Tyr	
	1160					1165						1170			
Val	Thr	Asp	Thr	Glu	Gly	Asn	Ser	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Gly	Asp	Gly	
	1175					1180						1185			
Glu	Met	Val	Thr	Gly	Thr	Tyr	Thr	Val	Asp	Gly	His	Ala	Gln	Tyr	
	1190					1195						1200			

Phe	Asp	Val	Asn	Gly	Val	Gln	Thr	Lys	Gly	Ala	Ile	Ile	Thr	Leu
	1205					1210					1215			
Gly	Gly	Val	Gln	Arg	Tyr	Tyr	Gln	Ala	Gly	Asn	Gly	Asn	Leu	Ala
	1220					1225					1230			
Thr	Asn	Gln	Tyr	Val	Ser	Tyr	Asn	Asn	Ser	Trp	Tyr	Tyr	Ala	Asn
	1235					1240					1245			
Thr	Lys	Gly	Glu	Leu	Val	Thr	Gly	Val	Gln	Ser	Ile	Asn	Gly	Asn
	1250					1255					1260			
Val	Gln	Tyr	Phe	Ala	Ser	Asn	Gly	Gln	Gln	Ile	Lys	Gly	Gln	Ile
	1265					1270					1275			
Val	Val	Thr	Gly	Asn	Gln	Lys	Ser	Tyr	Tyr	Asp	Ala	Asn	Thr	Gly
	1280					1285					1290			
Asn	Leu	Ile	Lys	Asn	Asp	Phe	Leu	Thr	Pro	Asp	Gln	Gly	Lys	Thr
	1295					1300					1305			
Trp	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Gln	Asp	Gly	Asn	Leu	Val	Val	Gly	Ala	Gln
	1310					1315					1320			
Glu	Val	Asn	Gly	His	Lys	Leu	Tyr	Phe	Asp	Asp	Asn	Gly	Ile	Gln
	1325					1330					1335			
Ile	Lys	Asp	Gln	Ile	Ile	Ser	Asn	Asp	Gly	Gln	Gln	Tyr	Tyr	Tyr
	1340					1345					1350			
Gln	Gly	Gly	Asn	Gly	Asp	Leu	Val	Thr	Asn	Arg	Tyr	Ile	Ser	Tyr
	1355					1360					1365			
Asn	Asp	Ser	Trp	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ala	Thr	Gly	Val	Leu	Val	Thr
	1370					1375					1380			
Gly	Gln	Gln	Ile	Ile	Asn	Gly	Glu	Thr	Gln	Tyr	Phe	Arg	Thr	Asp
	1385					1390					1395			
Gly	Arg	Gln	Val	Lys	Gly	Gln	Ile	Ile	Ala	Asp	Gly	Asp	Lys	Gln
	1400					1405					1410			
His	Tyr	Tyr	Asp	Ala	Asp	Ser	Gly	Asn	Leu	Val	Lys	Asn	Asn	Phe
	1415					1420					1425			
Val	Thr	Val	Asp	Gln	Gly	Lys	Thr	Trp	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Gln	Asp
	1430					1435					1440			
Gly	Asn	Leu	Ser	Leu	Val	Asp	Arg	His	His	His	His	His	His	
	1445					1450					1455			

<210> 3

5 <211> 4347

<212> ADN

<213> Weissella cibaria

<400> 3

ES 2 784 327 T3

atgtacaagt	ccggaagtt	ttgggtagct	gccggtgctt	tgtttggtgg	gctggcattc	60
gctggtaaca	cgcaggctga	tactgtatta	ccaagtgaac	aacgtgcaac	ggagacgaca	120
cagacgacac	agaccagtga	agacacgtcc	gccactaaga	cgccggcatc	ggcgtcgact	180
tcaagctcag	tcaatggtga	cacgagtga	ctgcctgaca	ggtcaagtac	ggtagttgat	240
agtacaagtg	caagtgcaag	cgtagtgagt	gatagcgtcg	ctgtgccaga	tactggatca	300
caatttacga	gttcgtcagg	gtcaatgtca	tcatcatttg	ttaagtcac	actagcggca	360
acaactagtg	atgcttctgg	cagtcagtcg	gcgccgggtga	ctagcgcgcaac	cgttagtctg	420
gtggccacga	gtagttcagc	atcttcagtg	acaacagcca	caagcgaatc	agcagtgata	480
agcagcgcgg	tgtcagatgg	ttaccatgat	gaaggtggtg	attgggtcta	ttatcgagct	540
ggaaaaaagt	tagtcggtcg	acaacgatt	gatacgtttg	cggtttactt	tgacgccgat	600
ggcaacaag	tcaagggtga	ttggcgtgaa	agtgatggta	accgtgcgta	ttatgatgga	660
caagaaggac	gagcattaac	gcaaacgcaa	gcagtcaatg	gcgttatcta	cggttttaat	720
caaagcggct	atcaaatcaa	gaatgatttc	ggccaaacag	cgaatcgaga	tacgtattat	780
ttcgacgcac	aaggtcatgt	tgtcacggga	atccaaacia	ttgcaaacia	ggtttatgat	840
tttgatgagc	aaggtcgaat	gctgaaagc	attgccacgt	cagttgatga	caagatgatg	900
tattttgatg	atcaaacagg	tgttgacaa	ccggctgac	atcctgaatt	caaccctgaa	960
acggaaccgg	ttcctgacga	caatatcaaa	cataatgcag	cacatggtac	gacaccagca	1020
gattttgatt	cgatggctgg	ctacctgacg	gctgatactt	ggtatcgccc	aaccgatatt	1080
ttggaaaatg	gtgagacgtg	gcgcgaatcg	caaccaactg	aatttcgacc	actgttagca	1140
acttggtggc	caacaaaaca	aactcaggcc	gattacgtga	actacatgaa	tcacgcatta	1200
gatatgtcaa	atgcaagtgt	gtcagctgcc	gattcagaag	ccacgctaac	tgccggcaacc	1260
gatgctattc	aagcggccgt	tgagcaccaa	attacggctg	gccaatcaac	ggcctggtta	1320

ES 2 784 327 T3

cgtgaattaa	tggccgcgctt	tgttgtgaca	cagccacagt	ggaataaaac	cagtgaagat	1380
gttaatgatg	atcatttgca	aggtggggcg	ctaacatttg	agaataacgg	cgacacagac	1440
gctaattcgg	attatcgctt	catgaatcgc	acgccaaaca	atcagactgg	tgaacgcttg	1500
tatcacattg	atgactcgct	tggcggttac	gaattattgc	tggcaaatga	cgttgacaat	1560
tcaaatccac	aagttcaggc	agaacaattg	aattggttgt	actacttgat	gcattttggg	1620
gatattacag	ctgatgatcc	ggatgcaaat	tttgatgcca	tacggattga	tgcggtcgat	1680
aatgtcgatg	ctgatttact	tcaactagca	gctcagttat	tccgtgatgc	ctatggcatg	1740
gccacgactg	acgcgacatc	aaataagcat	ctttcaatac	ttgaggattg	gagccataac	1800
gatccggcgt	atatgcaagc	acacggcaat	gatcaattaa	cgatggatga	ttatatgcac	1860
acacagttga	tttggtcatt	aaccaagcca	gaggcacaac	gtggcaccat	ggcacgcttt	1920
atggacttct	atctcaccaa	ccgtgcta	gatgatacag	aaaacacggc	gcaacctagt	1980
tactcgtttg	tgcgtgcccc	tgatagcgaa	gtgcaaacag	tcattgctga	aatcgtgacg	2040
aagctacatc	cagaagcagg	aaacggggtta	atgcctacgg	agaacaaat	ggcagaagcg	2100
tttaagattt	acaatgcgga	ccaaaagaag	gccgttaaaa	cttacacgca	ctacaatatg	2160
ccatctgcat	acgccatgct	gttaacgaac	aaggatgtta	ttccacgaat	ttactatggt	2220
gacttgtaca	tacacgatgg	gcaattcatg	gcgacaaaat	caccctattt	tgatcgattt	2280
tcggctatgt	tacaagcggc	cacgaagtat	gtagctggtg	gacaaacgat	ggcggttgac	2340
cagcacgacg	tcttgactag	cgttcggttt	ggtaagggtg	ccatgacggc	cagtgattta	2400
ggaaatgctg	agactcggac	tgagggtgtg	ggattaatta	ttagcaacaa	cccaaagttg	2460
caattgggac	aacaagataa	cgtggtgtta	cacatgggac	ttgcgacgcg	gaatcaagca	2520
ttccgagcag	ttgtactaac	gaccgcgacc	ggattaacca	tttataatga	cgatgatgct	2580
ccaattcggt	ataccgataa	taaggggtgat	ttaattttca	ataacatga	cgatatatggc	2640
gtggtgaatc	cacaagtgtc	aggcttcttg	gcaatgtggg	tgccaactgg	tgcaccagcg	2700
aaccaggatg	cgcgatctac	tgcgtcaacc	aacagttcaa	cggatggatc	cgctaccat	2760
tctaattcgg	ctttagatag	tcaagtcac	tttgaatcat	tttcgaattt	ccaggctatg	2820
ccaacaagcc	atgacacgta	caccaacggt	gtgtaggcca	atcatgctga	ccagttacac	2880
gattggggaa	taacttcggt	acagttagcg	ccacaatacc	ggtcttcaac	cgacggaacc	2940
tttttggatg	cgattattca	aatggctat	gccttactg	accgttatga	tttagggttt	3000
ggtacgccaa	ctaagtatgg	ggatgatac	gatttgcgga	acgtcatcaa	agcattgcat	3060
gcaaatggca	tgcaagtaat	ggctgatttt	gtgccggatc	aattgtatac	attaccaggt	3120
aaggaattgg	tacaagtcac	ccgaacaaac	aatatgggtg	agccagatac	acactctgac	3180
atccaacata	ttttatatgt	gacgagcact	cggggtggcg	gtgagtatca	gaaacagtac	3240
ggtggtgagt	tccttgagcg	gttacgtgcg	ctctaccctg	atatttttac	gacacgtcaa	3300
atltcaaccg	gacaaacat	tgatgattca	gtaaaaatta	aagaatggtc	agtaagtat	3360
ttgaatggta	ccgcaattca	aggccgtgga	gctggctatg	tgctacgtga	taatggtaca	3420
aatgcttatt	acaaggtgac	ggcaaatgac	ggtaatgtga	acttaccaa	gcaattactc	3480
ggacaaccag	tgatgaccgg	attctatcac	gaggcagatg	ggtatcattt	tgaaacattg	3540
agtggtagct	cgcccaaaga	tgcttctcatt	atgggtgacg	atggggcgct	gtattatttt	3600
gatgatcagg	gcgtcatggt	aacgggtaag	caacgtgtgc	accaagacca	gtatttcttc	3660
ctaccaaacg	gtattgctct	gacggatgcg	tttgtacaaa	gtgcggatgg	tcaacgtcag	3720
tactatgata	aaacaggtcg	cctggtcatt	aatcaatatg	tgactgacca	ccaagcaaat	3780
gcgttccggg	ttgatgcaga	cggtaacggt	gttcgtaac	aagctttgac	tgttgacggc	3840
catgaacaat	atctcggcac	aaacgggtgc	caagcgaag	cagtgtcat	tcgaactgac	3900
gataatcagg	cacggtacta	cgaagccaat	agtggtaatc	tcgtgaagca	acagtttatt	3960
cttgatacag	atggacattg	gttgtagccc	gatgctgcag	gagacttggc	acgcggacaa	4020
attacggttg	gccaaagcac	gttgattttt	gatgataata	atcatcaggt	aaaagatgat	4080
tttgtctatg	atactaacgg	tgtgcattat	tttaattggca	caacaggcgc	tgaatcaaaa	4140
caagattacg	cgtttcatga	tggcaaatgg	tactattttg	atgatttggg	acgaatggta	4200
accggtttgc	agcgtattaa	tggtagtat	cgctattttg	atgctaattg	tgtgcaacta	4260
aagggtggta	ccgtgaccga	tccactaacg	caccaaactg	acacttttga	tgcgcaaac	4320
ggtggttgta	cgttggtgac	gttttaa				4347

<210> 4

5 <211> 1448

<212> PRT

<213> Weissella cibaria

<400> 4

ES 2 784 327 T3

Met Tyr Lys Ser Gly Lys Phe Trp Val Ala Ala Gly Ala Leu Phe Val
1 5 10 15
Gly Leu Ala Phe Ala Gly Asn Thr Gln Ala Asp Thr Val Leu Pro Ser
20 25 30
Glu Gln Arg Ala Thr Glu Thr Thr Gln Thr Thr Gln Thr Ser Glu Asp
35 40 45
Thr Ser Ala Thr Lys Thr Pro Ala Ser Ala Ser Thr Ser Ser Ser Val
50 55 60
Asn Val Asp Thr Ser Asp Leu Pro Asp Ser Ser Ser Thr Val Val Asp
65 70 75 80
Ser Thr Ser Ala Ser Ala Ser Val Val Ser Asp Ser Val Ala Val Pro
85 90 95
Asp Thr Gly Ser Gln Phe Thr Ser Ser Ser Gly Ser Met Ser Ser Ser
100 105 110
Phe Val Lys Ser Ser Leu Ala Ala Thr Thr Ser Asp Ala Ser Gly Ser
115 120 125
Gln Ser Ala Ala Val Thr Ser Ala Thr Val Ser Ser Val Ala Thr Ser
130 135 140
Ser Ser Ala Ser Ser Val Thr Thr Ala Thr Ser Glu Ser Ala Val Ile
145 150 155 160
Ser Ser Ala Val Ser Asp Gly Tyr His Asp Glu Gly Gly Asp Trp Val
165 170 175
Tyr Tyr Arg Ala Gly Lys Lys Leu Val Gly Arg Gln Thr Ile Asp Thr
180 185 190
Phe Ala Val Tyr Phe Asp Ala Asp Gly Lys Gln Val Lys Gly Asp Trp
195 200 205
Arg Glu Ser Asp Gly Asn Arg Ala Tyr Tyr Asp Gly Gln Glu Gly Arg
210 215 220
Ala Leu Thr Gln Thr Gln Ala Val Asn Gly Val Ile Tyr Gly Phe Asn
225 230 235 240
Gln Ser Gly Tyr Gln Ile Lys Asn Asp Phe Gly Gln Thr Ala Asn Arg
245 250 255
Asp Thr Tyr Tyr Phe Asp Ala Gln Gly His Val Val Thr Gly Ile Gln
260 265 270
Thr Ile Ala Asn Lys Val Tyr Asp Phe Asp Glu Gln Gly Arg Met Leu
275 280 285
Lys Gly Ile Ala Thr Ser Val Asp Asp Lys Met Met Tyr Phe Asp Asp
290 295 300
Gln Thr Gly Val Gly Gln Pro Ala Asp His Pro Glu Phe Asn Pro Glu
305 310 315 320
Thr Glu Pro Val Pro Asp Asp Asn Ile Lys His Asn Ala Ala His Gly
325 330 335
Thr Thr Pro Ala Asp Phe Asp Ser Met Ala Gly Tyr Leu Thr Ala Asp
340 345 350
Thr Trp Tyr Arg Pro Thr Asp Ile Leu Glu Asn Gly Glu Thr Trp Arg
355 360 365
Glu Ser Gln Pro Thr Glu Phe Arg Pro Leu Leu Ala Thr Trp Trp Pro
370 375 380
Thr Lys Gln Thr Gln Ala Asp Tyr Val Asn Tyr Met Asn His Ala Leu
385 390 395 400
Asp Met Ser Asn Ala Ser Val Ser Ala Ala Asp Ser Glu Ala Thr Leu
405 410 415
Thr Ala Ala Thr Asp Ala Ile Gln Ala Ala Val Glu His Gln Ile Thr
420 425 430
Val Arg Gln Ser Thr Ala Trp Leu Arg Glu Leu Met Ala Ala Phe Val
435 440 445
Val Thr Gln Pro Gln Trp Asn Lys Thr Ser Glu Asp Val Asn Asp Asp
450 455 460
His Leu Gln Gly Gly Ala Leu Thr Phe Glu Asn Asn Gly Asp Thr Asp
465 470 475 480
Ala Asn Ser Asp Tyr Arg Leu Met Asn Arg Thr Pro Thr Asn Gln Thr
485 490 495
Gly Glu Arg Leu Tyr His Ile Asp Asp Ser Leu Gly Gly Tyr Glu Leu
500 505 510
Leu Leu Ala Asn Asp Val Asp Asn Ser Asn Pro Gln Val Gln Ala Glu
515 520 525
Gln Leu Asn Trp Leu Tyr Tyr Leu Met His Phe Gly Asp Ile Thr Ala
530 535 540

ES 2 784 327 T3

Asp Asp Pro Asp Ala Asn Phe Asp Ala Ile Arg Ile Asp Ala Val Asp
 545 550 555 560
 Asn Val Asp Ala Asp Leu Leu Gln Leu Ala Ala Gln Tyr Phe Arg Asp
 565 570 575
 Ala Tyr Gly Met Ala Thr Thr Asp Ala Thr Ser Asn Lys His Leu Ser
 580 585 590
 Ile Leu Glu Asp Trp Ser His Asn Asp Pro Ala Tyr Met Gln Ala His
 595 600 605
 Gly Asn Asp Gln Leu Thr Met Asp Asp Tyr Met His Thr Gln Leu Ile
 610 615 620
 Trp Ser Leu Thr Lys Pro Glu Ala Gln Arg Gly Thr Met Ala Arg Phe
 625 630 635 640
 Met Asp Phe Tyr Leu Thr Asn Arg Ala Asn Asp Asp Thr Glu Asn Thr
 645 650 655
 Ala Gln Pro Ser Tyr Ser Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln
 660 665 670
 Thr Val Ile Ala Glu Ile Val Thr Lys Leu His Pro Glu Ala Gly Asn
 675 680 685
 Gly Leu Met Pro Thr Glu Glu Gln Met Ala Glu Ala Phe Lys Ile Tyr
 690 695 700
 Asn Ala Asp Gln Lys Lys Ala Val Lys Thr Tyr Thr His Tyr Asn Met
 705 710 715 720
 Pro Ser Ala Tyr Ala Met Leu Leu Thr Asn Lys Asp Val Ile Pro Arg
 725 730 735
 Ile Tyr Tyr Gly Asp Leu Tyr Thr Asp Asp Gly Gln Phe Met Ala Thr
 740 745 750
 Lys Ser Pro Tyr Phe Asp Ala Ile Ser Ala Met Leu Gln Ala Arg Thr
 755 760 765
 Lys Tyr Val Ala Gly Gly Gln Thr Met Ala Val Asp Gln His Asp Val
 770 775 780
 Leu Thr Ser Val Arg Phe Gly Lys Gly Ala Met Thr Ala Ser Asp Leu
 785 790 795 800
 Gly Asn Ala Glu Thr Arg Thr Glu Gly Val Gly Leu Ile Ile Ser Asn
 805 810 815
 Asn Pro Lys Leu Gln Leu Gly Gln Gln Asp Asn Val Val Leu His Met
 820 825 830
 Gly Leu Ala His Ala Asn Gln Ala Phe Arg Ala Val Val Leu Thr Thr
 835 840 845
 Ala Thr Gly Leu Thr Ile Tyr Asn Asp Asp Asp Ala Pro Ile Arg Tyr
 850 855 860
 Thr Asp Asn Lys Gly Asp Leu Ile Phe Asn Asn His Asp Val Tyr Gly
 865 870 875 880
 Val Leu Asn Pro Gln Val Ser Gly Phe Leu Ala Met Trp Val Pro Thr
 885 890 895
 Gly Ala Pro Ala Asn Gln Asp Ala Arg Ser Thr Ala Ser Thr Asn Ser
 900 905 910
 Ser Thr Asp Gly Ser Ala Tyr His Ser Asn Ala Ala Leu Asp Ser Gln
 915 920 925
 Val Ile Phe Glu Ser Phe Ser Asn Phe Gln Ala Met Pro Thr Ser His
 930 935 940
 Asp Thr Tyr Thr Asn Val Val Leu Ala Asn His Ala Asp Gln Leu His
 945 950 955 960
 Asp Trp Gly Ile Thr Ser Val Gln Leu Ala Pro Gln Tyr Arg Ser Ser
 965 970 975
 Thr Asp Gly Thr Phe Leu Asp Ala Ile Ile Gln Asn Gly Tyr Ala Phe
 980 985 990
 Thr Asp Arg Tyr Asp Leu Gly Phe Gly Thr Pro Thr Lys Tyr Gly Asp
 995 1000 1005
 Asp Thr Asp Leu Arg Asn Val Ile Lys Ala Leu His Ala Asn Gly
 1010 1015 1020
 Met Gln Val Met Ala Asp Phe Val Pro Asp Gln Leu Tyr Thr Leu
 1025 1030 1035
 Pro Gly Lys Glu Leu Val Gln Val Thr Arg Thr Asn Asn Met Gly

1040	Glu Pro Asp Thr His Ser	1045	Asp Ile Gln His Ile	1050	Leu Tyr Val Thr
1055	Ser Thr Arg Gly Gly Gly	1060	Glu Tyr Gln Lys Gln	1065	Tyr Gly Gly Glu
1070	Phe Leu Glu Arg Leu Arg	1075	Ala Leu Tyr Pro Asp	1080	Leu Phe Thr Thr
1085	Arg Gln Ile Ser Thr Gly	1090	Gln Thr Ile Asp Asp	1095	Ser Val Lys Ile
1100	Lys Glu Trp Ser Ala Lys	1105	Tyr Leu Asn Gly Thr	1110	Ala Ile Gln Gly
1115	Arg Gly Ala Gly Tyr Val	1120	Leu Arg Asp Asn Gly	1125	Thr Asn Ala Tyr
1130	Tyr Lys Val Thr Ala Asn	1135	Asp Gly Asn Val Asn	1140	Leu Pro Lys Gln
1145	Leu Leu Gly Gln Pro Val	1150	Met Thr Gly Phe Tyr	1155	His Glu Ala Asp
1160	Gly Tyr His Phe Glu Thr	1165	Leu Ser Gly Thr Ser	1170	Ala Lys Asp Ala
1175	Phe Ile Met Gly Asp Asp	1180	Gly Ala Leu Tyr Tyr	1185	Phe Asp Asp Gln
1190	Gly Val Met Val Thr Gly	1195	Lys Gln Arg Val His	1200	Gln Asp Gln Tyr
1205	Phe Phe Leu Pro Asn Gly	1210	Ile Ala Leu Thr Asp	1215	Ala Phe Val Gln
1220	Ser Ala Asp Gly Gln Arg	1225	Gln Tyr Tyr Asp Lys	1230	Thr Gly Arg Leu
1235	Val Ile Asn Gln Tyr Val	1240	Thr Asp His Gln Ala	1245	Asn Ala Phe Arg
1250	Val Asp Ala Asp Gly Asn	1255	Val Val Arg Asn Gln	1260	Ala Leu Thr Val
1265	Asp Gly His Glu Gln Tyr	1270	Phe Gly Thr Asn Gly	1275	Val Gln Ala Lys
1280	Ala Val Leu Ile Arg Thr	1285	Asp Asp Asn Gln Ala	1290	Arg Tyr Tyr Glu
1295	Ala Asn Ser Gly Asn Leu	1300	Val Lys Gln Gln Phe	1305	Ile Leu Asp Thr
1310	Asp Gly His Trp Leu Tyr	1315	Ala Asp Ala Ala Gly	1320	Asp Leu Ala Arg
1325	Gly Gln Ile Thr Val Gly	1330	Gln Asp Thr Leu Tyr	1335	Phe Asp Asp Asn
1340	Asn His Gln Val Lys Asp	1345	Asp Phe Val Tyr Asp	1350	Thr Asn Gly Val
1355	His Tyr Phe Asn Gly Thr	1360	Thr Gly Ala Glu Ile	1365	Lys Gln Asp Tyr
1370	Ala Phe His Asp Gly Lys	1375	Trp Tyr Tyr Phe Asp	1380	Asp Leu Gly Arg
1385	Met Val Thr Gly Leu Gln	1390	Arg Ile Asn Gly Glu	1395	Tyr Arg Tyr Phe
1400	Asp Ala Asn Gly Val Gln	1405	Leu Lys Gly Gly Thr	1410	Val Thr Asp Pro
1415	Leu Thr His Gln Thr Tyr	1420	Thr Phe Asp Ala Gln	1425	Thr Gly Val Gly
1430	Thr Leu Val Thr Phe	1435		1440	
1445					

<210> 5

<211> 1422

<212> PRT

5 <213> Weissella cibaria

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1422)
<223> maduro 2919 gtf
<400> 5

ES 2 784 327 T3

Asp Thr Val Leu Pro Ser Glu Gln Arg Ala Thr Glu Thr Thr Gln Thr
 1 5 10 15
 Thr Gln Thr Ser Glu Asp Thr Ser Ala Thr Lys Thr Pro Ala Ser Ala
 20 25 30
 Ser Thr Ser Ser Ser Val Asn Val Asp Thr Ser Ala Ser Asp Leu Pro Asp Ser
 35 40 45
 Ser Ser Thr Val Val Asp Ser Thr Ser Ala Ser Ala Ser Val Val Ser
 50 55 60
 Asp Ser Val Ala Val Pro Asp Thr Gly Ser Gln Phe Thr Ser Ser Ser
 65 70 75 80
 Gly Ser Met Ser Ser Ser Phe Val Lys Ser Ser Leu Ala Ala Thr Thr
 85 90 95
 Ser Asp Ala Ser Gly Ser Gln Ser Ala Ala Val Thr Ser Ala Thr Val
 100 105 110
 Ser Ser Val Ala Thr Ser Ser Ser Ala Ser Ser Val Thr Thr Ala Thr
 115 120 125
 Ser Glu Ser Ala Val Ile Ser Ser Ala Val Ser Asp Gly Tyr His Asp
 130 135 140
 Glu Gly Gly Asp Trp Val Tyr Tyr Arg Ala Gly Lys Lys Leu Val Gly
 145 150 155 160
 Arg Gln Thr Ile Asp Thr Phe Ala Val Tyr Phe Asp Ala Asp Gly Lys
 165 170 175
 Gln Val Lys Gly Asp Trp Arg Glu Ser Asp Gly Asn Arg Ala Tyr Tyr
 180 185 190
 Asp Gly Gln Glu Gly Arg Ala Leu Thr Gln Thr Gln Ala Val Asn Gly
 195 200 205
 Val Ile Tyr Gly Phe Asn Gln Ser Gly Tyr Gln Ile Lys Asn Asp Phe
 210 215 220
 Gly Gln Thr Ala Asn Arg Asp Thr Tyr Tyr Phe Asp Ala Gln Gly His
 225 230 235 240
 Val Val Thr Gly Ile Gln Thr Ile Ala Asn Lys Val Tyr Asp Phe Asp
 245 250 255
 Glu Gln Gly Arg Met Leu Lys Gly Ile Ala Thr Ser Val Asp Asp Lys
 260 265 270
 Met Met Tyr Phe Asp Asp Gln Thr Gly Val Gly Gln Pro Ala Asp His
 275 280 285
 Pro Glu Phe Asn Pro Glu Thr Glu Pro Val Pro Asp Asp Asn Ile Lys
 290 295 300
 His Asn Ala Ala His Gly Thr Thr Pro Ala Asp Phe Asp Ser Met Ala
 305 310 315 320
 Gly Tyr Leu Thr Ala Asp Thr Trp Tyr Arg Pro Thr Asp Ile Leu Glu
 325 330 335
 Asn Gly Glu Thr Trp Arg Glu Ser Gln Pro Thr Glu Phe Arg Pro Leu
 340 345 350
 Leu Ala Thr Trp Trp Pro Thr Lys Gln Thr Gln Ala Asp Tyr Val Asn
 355 360 365
 Tyr Met Asn His Ala Leu Asp Met Ser Asn Ala Ser Val Ser Ala Ala
 370 375 380
 Asp Ser Glu Ala Thr Leu Thr Ala Ala Thr Asp Ala Ile Gln Ala Ala
 385 390 395 400
 Val Glu His Gln Ile Thr Val Arg Gln Ser Thr Ala Trp Leu Arg Glu
 405 410 415
 Leu Met Ala Ala Phe Val Val Thr Gln Pro Gln Trp Asn Lys Thr Ser
 420 425 430
 Glu Asp Val Asn Asp Asp His Leu Gln Gly Gly Ala Leu Thr Phe Glu
 435 440 445
 Asn Asn Gly Asp Thr Asp Ala Asn Ser Asp Tyr Arg Leu Met Asn Arg
 450 455 460
 Thr Pro Thr Asn Gln Thr Gly Glu Arg Leu Tyr His Ile Asp Asp Ser

465					470					475				480	
Leu	Gly	Gly	Tyr	Glu	Leu	Leu	Leu	Ala	Asn	Asp	Val	Asp	Asn	Ser	Asn
				485					490					495	
Pro	Gln	Val	Gln	Ala	Glu	Gln	Leu	Asn	Trp	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Met	His
			500					505					510		
Phe	Gly	Asp	Ile	Thr	Ala	Asp	Asp	Pro	Asp	Ala	Asn	Phe	Asp	Ala	Ile
		515					520					525			
Arg	Ile	Asp	Ala	Val	Asp	Asn	Val	Asp	Ala	Asp	Leu	Leu	Gln	Leu	Ala
	530					535					540				
Ala	Gln	Tyr	Phe	Arg	Asp	Ala	Tyr	Gly	Met	Ala	Thr	Thr	Asp	Ala	Thr
	545				550					555					560
Ser	Asn	Lys	His	Leu	Ser	Ile	Leu	Glu	Asp	Trp	Ser	His	Asn	Asp	Pro
			565						570					575	
Ala	Tyr	Met	Gln	Ala	His	Gly	Asn	Asp	Gln	Leu	Thr	Met	Asp	Asp	Tyr
			580					585					590		
Met	His	Thr	Gln	Leu	Ile	Trp	Ser	Leu	Thr	Lys	Pro	Glu	Ala	Gln	Arg
		595					600					605			
Gly	Thr	Met	Ala	Arg	Phe	Met	Asp	Phe	Tyr	Leu	Thr	Asn	Arg	Ala	Asn
	610					615						620			
Asp	Asp	Thr	Glu	Asn	Thr	Ala	Gln	Pro	Ser	Tyr	Ser	Phe	Val	Arg	Ala
	625				630					635					640
His	Asp	Ser	Glu	Val	Gln	Thr	Val	Ile	Ala	Glu	Ile	Val	Thr	Lys	Leu
			645						650					655	
His	Pro	Glu	Ala	Gly	Asn	Gly	Leu	Met	Pro	Thr	Glu	Glu	Gln	Met	Ala
			660					665					670		
Glu	Ala	Phe	Lys	Ile	Tyr	Asn	Ala	Asp	Gln	Lys	Lys	Ala	Val	Lys	Thr
		675				680						685			
Tyr	Thr	His	Tyr	Asn	Met	Pro	Ser	Ala	Tyr	Ala	Met	Leu	Leu	Thr	Asn
	690				695						700				
Lys	Asp	Val	Ile	Pro	Arg	Ile	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Leu	Tyr	Thr	Asp	Asp
	705				710					715					720
Gly	Gln	Phe	Met	Ala	Thr	Lys	Ser	Pro	Tyr	Phe	Asp	Ala	Ile	Ser	Ala
			725						730					735	
Met	Leu	Gln	Ala	Arg	Thr	Lys	Tyr	Val	Ala	Gly	Gly	Gln	Thr	Met	Ala
			740					745					750		
Val	Asp	Gln	His	Asp	Val	Leu	Thr	Ser	Val	Arg	Phe	Gly	Lys	Gly	Ala
		755					760					765			
Met	Thr	Ala	Ser	Asp	Leu	Gly	Asn	Ala	Glu	Thr	Arg	Thr	Glu	Gly	Val
	770					775					780				
Gly	Leu	Ile	Ile	Ser	Asn	Asn	Pro	Lys	Leu	Gln	Leu	Gly	Gln	Gln	Asp
	785				790					795					800
Asn	Val	Val	Leu	His	Met	Gly	Leu	Ala	His	Ala	Asn	Gln	Ala	Phe	Arg
			805						810					815	
Ala	Val	Val	Leu	Thr	Thr	Ala	Thr	Gly	Leu	Thr	Ile	Tyr	Asn	Asp	Asp
			820					825					830		
Asp	Ala	Pro	Ile	Arg	Tyr	Thr	Asp	Asn	Lys	Gly	Asp	Leu	Ile	Phe	Asn
		835					840					845			
Asn	His	Asp	Val	Tyr	Gly	Val	Leu	Asn	Pro	Gln	Val	Ser	Gly	Phe	Leu
	850					855					860				
Ala	Met	Trp	Val	Pro	Thr	Gly	Ala	Pro	Ala	Asn	Gln	Asp	Ala	Arg	Ser
	865				870					875					880
Thr	Ala	Ser	Thr	Asn	Ser	Ser	Thr	Asp	Gly	Ser	Ala	Tyr	His	Ser	Asn
			885						890					895	
Ala	Ala	Leu	Asp	Ser	Gln	Val	Ile	Phe	Glu	Ser	Phe	Ser	Asn	Phe	Gln
			900					905					910		
Ala	Met	Pro	Thr	Ser	His	Asp	Thr	Tyr	Thr	Asn	Val	Val	Gln	Leu	Ala
		915					920					925			
His	Ala	Asp	Gln	Leu	His	Asp	Trp	Gly	Ile	Thr	Ser	Val	Gln	Leu	Ala
	930					935					940				
Pro	Gln	Tyr	Arg	Ser	Ser	Thr	Asp	Gly	Thr	Phe	Leu	Asp	Ala	Ile	Ile
	945					950				955					960
Gln	Asn	Gly	Tyr	Ala	Phe	Thr	Asp	Arg	Tyr	Asp	Leu	Gly	Phe	Gly	Thr
				965					970						975

ES 2 784 327 T3

Pro	Thr	Lys	Tyr	Gly	Asp	Asp	Thr	Asp	Leu	Arg	Asn	Val	Ile	Lys	Ala
			980					985					990		
Leu	His	Ala	Asn	Gly	Met	Gln	Val	Met	Ala	Asp	Phe	Val	Pro	Asp	Gln
		995					1000						1005		
Leu	Tyr	Thr	Leu	Pro	Gly	Lys	Glu	Leu	Val	Gln	Val	Thr	Arg	Thr	
	1010					1015					1020				
Asn	Asn	Met	Gly	Glu	Pro	Asp	Thr	His	Ser	Asp	Ile	Gln	His	Ile	
	1025					1030					1035				
Leu	Tyr	Val	Thr	Ser	Thr	Arg	Gly	Gly	Gly	Glu	Tyr	Gln	Lys	Gln	
	1040					1045					1050				
Tyr	Gly	Gly	Glu	Phe	Leu	Glu	Arg	Leu	Arg	Ala	Leu	Tyr	Pro	Asp	
	1055					1060					1065				
Leu	Phe	Thr	Thr	Arg	Gln	Ile	Ser	Thr	Gly	Gln	Thr	Ile	Asp	Asp	
	1070					1075					1080				
Ser	Val	Lys	Ile	Lys	Glu	Trp	Ser	Ala	Lys	Tyr	Leu	Asn	Gly	Thr	
	1085					1090					1095				
Ala	Ile	Gln	Gly	Arg	Gly	Ala	Gly	Tyr	Val	Leu	Arg	Asp	Asn	Gly	
	1100					1105					1110				
Thr	Asn	Ala	Tyr	Tyr	Lys	Val	Thr	Ala	Asn	Asp	Gly	Asn	Val	Asn	
	1115					1120					1125				
Leu	Pro	Lys	Gln	Leu	Leu	Gly	Gln	Pro	Val	Met	Thr	Gly	Phe	Tyr	
	1130					1135					1140				
His	Glu	Ala	Asp	Gly	Tyr	His	Phe	Glu	Thr	Leu	Ser	Gly	Thr	Ser	
	1145					1150					1155				
Ala	Lys	Asp	Ala	Phe	Ile	Met	Gly	Asp	Asp	Gly	Ala	Leu	Tyr	Tyr	
	1160					1165					1170				
Phe	Asp	Asp	Gln	Gly	Val	Met	Val	Thr	Gly	Lys	Gln	Arg	Val	His	
	1175					1180					1185				
Gln	Asp	Gln	Tyr	Phe	Phe	Leu	Pro	Asn	Gly	Ile	Ala	Leu	Thr	Asp	
	1190					1195					1200				
Ala	Phe	Val	Gln	Ser	Ala	Asp	Gly	Gln	Arg	Gln	Tyr	Tyr	Asp	Lys	
	1205					1210					1215				
Thr	Gly	Arg	Leu	Val	Ile	Asn	Gln	Tyr	Val	Thr	Asp	His	Gln	Ala	
	1220					1225					1230				
Asn	Ala	Phe	Arg	Val	Asp	Ala	Asp	Gly	Asn	Val	Val	Arg	Asn	Gln	
	1235					1240					1245				
Ala	Leu	Thr	Val	Asp	Gly	His	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Thr	Asn	Gly	
	1250					1255					1260				
Val	Gln	Ala	Lys	Ala	Val	Leu	Ile	Arg	Thr	Asp	Asp	Asn	Gln	Ala	
	1265					1270					1275				
Arg	Tyr	Tyr	Glu	Ala	Asn	Ser	Gly	Asn	Leu	Val	Lys	Gln	Gln	Phe	
	1280					1285					1290				
Ile	Leu	Asp	Thr	Asp	Gly	His	Trp	Leu	Tyr	Ala	Asp	Ala	Ala	Gly	
	1295					1300					1305				
Asp	Leu	Ala	Arg	Gly	Gln	Ile	Thr	Val	Gly	Gln	Asp	Thr	Leu	Tyr	
	1310					1315					1320				
Phe	Asp	Asp	Asn	Asn	His	Gln	Val	Lys	Asp	Asp	Phe	Val	Tyr	Asp	
	1325					1330					1335				
Thr	Asn	Gly	Val	His	Tyr	Phe	Asn	Gly	Thr	Thr	Gly	Ala	Glu	Ile	
	1340					1345					1350				
Lys	Gln	Asp	Tyr	Ala	Phe	His	Asp	Gly	Lys	Trp	Tyr	Tyr	Phe	Asp	
	1355					1360					1365				
Asp	Leu	Gly	Arg	Met	Val	Thr	Gly	Leu	Gln	Arg	Ile	Asn	Gly	Glu	
	1370					1375					1380				
Tyr	Arg	Tyr	Phe	Asp	Ala	Asn	Gly	Val	Gln	Leu	Lys	Gly	Gly	Thr	
	1385					1390					1395				
Val	Thr	Asp	Pro	Leu	Thr	His	Gln	Thr	Tyr	Thr	Phe	Asp	Ala	Gln	
	1400					1405					1410				
Thr	Gly	Val	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Phe							
	1415					1420									

<210> 6
 <211> 4269
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> 2919 gtf con secuencia de señal heteróloga

<400> 6

10

gacacagtc	ttccgtcaga	acaaagagcc	acggagacga	cacagacaac	acaaacaagc	60
gaagacacaa	gcgccacaaa	gacgcctgct	agcgcctcaa	cgagcagctc	agtgacctg	120
gacacatcag	atcttccgga	cagctcaagc	acggtggtgg	attcaacgtc	agcctcagca	180
agcgtcgtgt	cagactcagt	cgctgtccct	gatacgggat	cacagttcac	atcatcaagc	240
ggcagcatgt	caagcagctt	tgttaaaagc	tactggcag	ctacgacgtc	agatgcttca	300
ggctcacaaa	gcgccgctgt	gacatcagca	acagtttcaa	gogtggcgac	gagctcatca	360
ggctcatcag	ttacaacagc	cacgagcgaa	tcagcgggta	ttagctcagc	agttagcgat	420
ggctatcacg	atgaaggagg	cgattggggt	tactacagag	ctggcaaaaa	actggttggc	480
agacaaacga	ttgatacatt	tgccgtttac	ttcgatgcag	atggaaaaca	ggtaaagga	540
gactggagag	agtcagacgg	aaacagagcg	tactatgatg	gccaagaagg	cagagccctt	600
acgcaaacac	aggcagttaa	cgagctcatc	tatggattta	atcaatcagg	ataticagatt	660
aagaacgatt	tcggccagac	ggctaacaga	gacacgtatt	actttgatgc	tcaaggacat	720
gtggttacgg	gcatccagac	aattgcaaat	aaagtttatg	atttcgatga	acaaggaaga	780
atgctgaaag	gaattgccac	gtcagtcgac	gataaaatga	tgtatttcga	cgaccaaacg	840
ggcgtggggc	aacctgccga	ccaccctgag	ttaatccgg	aaacggagcc	ggtcccggat	900
gacaacatta	aacataacgc	tgcgcacgga	acgacacctg	ctgattttga	tagcatggcc	960
ggatacctta	cgggcgatag	atggtataga	cctacagaca	ttctggagaa	tgccgaaaca	1020
tgagagagaa	gccagcctac	ggagttcaga	ccgcttcttg	ccacatggtg	gcctacgaaa	1080
caaacgcaag	cagattatgt	taattacatg	aaccatgctc	tggtatgtc	aaatgcgagc	1140
gtgagcgctg	ccgatagcga	ggcaacactt	acagccgcga	cggtatgccat	ccaagctgca	1200
gtcgaacatc	aaattacagt	gagacagtca	acggcatggc	ttagagaact	tatggcggca	1260
tttgcctgta	cgcaaccgca	gtggaataaa	acatcagagg	atgtcaacga	cgatccactg	1320
caaggaggag	cgcttacatt	cgaaaataac	ggcgatcagg	acgcaaatag	cgattacaga	1380
cttatgaata	gaacgcctac	aaaccaaaac	ggagaaagac	tttaccacat	tgacgactca	1440
cttgagggat	acgaactgct	tctggccaac	gatggtgata	acagcaatcc	tcaagtgcag	1500
gctgagcaac	ttaattggct	ttattacctg	atgcattttg	gcatatttac	agctgacgac	1560
cctgacgccca	acttcgacgc	gattagaatc	gatgcggctg	ataatgtcga	cgacgacctt	1620
cttcaactgg	ctgctcaata	tttcagagac	gcatacggaa	tggaacaac	agacgctaca	1680
agcaataaac	atctgtcaat	tcttgaagac	tggtcacata	atgatccggc	gtacatgcaa	1740
gctcatggaa	acgatcaact	tacgatggat	gactatatgc	acacacaact	tatttggctca	1800
ctgacaaaac	cgaggctca	aagaggaaca	atggctagat	ttatggactt	ttatcttaca	1860
aatagagcga	acgatgatac	agaaaatcag	gctcaacctt	catattcatt	cgttagagca	1920
catgattcag	aagttcaaac	agtgattgca	gaaattgtta	caaaactgca	tcctgaggcg	1980
ggcaatggac	tgatgccgac	agaagagcaa	atggcagaag	cctttaagat	ctataatgcc	2040
gtcagaaaaa	aagcagtga	aacatataca	cactacaata	tgccctcagc	ttatgcaatg	2100
ctgcttacga	ataaagacgt	cattcctaga	atctactatg	gagatcctta	tacagatgat	2160
ggacaattca	tggttataca	gtcaccttat	tttgacgcta	tcagcgcgat	gctgcaagcg	2220
agaacgaagt	atgtcgcagg	cgccagacg	atggcagtg	atcagcacga	cgctgttaca	2280
agcgtgagat	ttggcaaaag	cgcaatgaca	gcatacagacc	tgggcaatgc	agagacaaga	2340
acggagggag	ttggccttat	catttcaaat	aatccgaaac	tgcaactggg	ccagcaggat	2400
aacgtcgttc	ttcatatggg	cctggcgcac	gcaaaccagg	cctttagagc	agttgttctt	2460
acaacagcga	cgggcctgac	aatctacaat	gacgatgatg	caccgattag	atatacagac	2520
aataaaggcg	acctgatttt	caacaacat	gatgtctacg	gogtccgtaa	cccgcagggt	2580
tcaggcttcc	tgccatgtg	ggttcctaca	ggcgcacctg	ctaaccaaga	tgctagatca	2640
acagcaagta	caaactcatc	aacggatggc	tcagcatatc	attcaaatgc	tgogctggat	2700
tcacaagtta	ttttcgaatc	atctcaaat	ttccaagcaa	tgccgacgtc	acatgacaca	2760
tacacgaatg	tggttctggc	caaccacgcc	gaccagcttc	acgattgggg	cattacatca	2820
gtcgagctgg	caccgcagta	tagaagctca	acagacggca	cgttccctgga	tgcaattatc	2880
cagaatggct	atgccttcac	agatagatac	gatcctggct	ttggcacacc	tacaaaatac	2940
ggcgacgaca	cgatctgag	aaatgtgatt	aagcgccttc	atgccaacgg	catgcaggtt	3000
atggccgact	tcgtcccgga	ccaactttat	acacttccgg	gaaaagagct	ggtgcaagtc	3060
acgagaacga	ataacatggg	cgaacctgat	acacactcag	acattcaaca	tattctgtac	3120
gttacgtcaa	cgagagggcg	aggagaatat	caaaaacagt	atggcggcga	gtttcttgaa	3180
agactgagag	cactgtaccc	tgaccttttt	acgacaagac	aaattagcac	aggccaaaca	3240
attgactgatt	cagtgaagat	caaagagtgg	tcagctaagt	acctgaacgg	cacagctatc	3300
caaggaagag	gcgcaggcta	tgttctgaga	gataatggca	caaatgccta	ctacaaagtt	3360

ES 2 784 327 T3

acagcgaatg	atggaaatgt	caatcttcct	aaacaacttc	ttggacagcc	ggttatgacg	3420
ggcttctacc	acgaggccga	tgatatcac	ttcgagacac	tgtcaggaac	atcagccaag	3480
gatgcgttta	tcatgggaga	tgacggagcg	ctttattact	ttgatgacca	agggcgttatg	3540
gtgacaggaa	aacagagagt	tcatcaagac	cagtacttct	ttctgcctaa	cggaattgct	3600
ctgacagacg	cgttcgttca	atcagcagac	ggacaaagac	agtattatga	caaaacggga	3660
agacttgtta	tcaaccagta	tgtgacagat	caccaagcta	atgcttttag	agtcgatgct	3720
gatggcaacg	tggttagaaa	ccaagcactt	acagttgatg	gacacgaaca	atatttcgga	3780
acaaatggag	tccaggctaa	agcggttctg	attagaacag	atgataatca	agcgagatat	3840
tacgaagcta	actcaggcaa	tctggttaag	caacaattca	ttcttgacac	agatggccac	3900
tggtgttacg	ccgatgcagc	cggagatctt	gctagaggac	agattacagt	gggacaggat	3960
acactgtatt	tgcagataa	taaccaccaa	gttaaggatg	atthttgtcta	tgatacaaac	4020
ggcgttcatt	atttcaatgg	aacgacagga	gctgagatta	aacaagatta	cgcatttcac	4080
gacggcaaat	ggtactactt	cgatgatctg	ggaagaatgg	ttacaggact	gcaaagaatt	4140
aacggcgaat	atagatattt	tgacgctaata	ggcgtccaac	ttaagggagg	aacagtcacg	4200
gacctcttta	cacatcaaac	atatacattt	gatgctcaaa	caggcgttgg	aacgctggtc	4260
acgttttga						4269

<210> 7

5 <211> 4392

<212> ADN

<213> Lactobacillus fermentum

<400> 7

ES 2 784 327 T3

ttgcaagacg	agtcacagaa	gtttagaaaa	aagatgtata	agtccggaaa	gttttgggta	60
gctgccggtg	ctttgtttgt	tgggctggca	ttcgctggta	acgcgcaggc	agatactgta	120
ttaccaagtg	aacaacgtgc	aacacagacg	acacagacga	cacagaccag	tgaagacacg	180
tccgccacta	agacgccggc	atcggcgtcg	acttcaagct	cagacaatgt	tgacacgagt	240
gacctgcctg	acagtgcaag	tgcggtggtt	gatagtgcag	ttacaagtac	aagtacaagt	300
gcaagtgtag	tgagtgatag	cgtcgccgtg	ccagatactg	gatcacaatt	tatgagttcg	360
tcagcgccag	cgtcatcagc	gtttgttaaa	ccgtcactaa	cgtcaacaac	tagtggtgct	420
tccggcagtc	agtcacagc	ggtgactagc	gcaaacgata	gttcggtggc	aactagtagt	480
tcagcatctt	cagtgacaac	agccacaagt	gaatcggctg	tggttaagcag	cgccgtgtca	540
gatggttacc	atgatgaagg	tggtgattgg	gtctattatc	gagctgggaa	aaagtactc	600
ggtcgacaaa	cgattgatac	gtttgcggtt	tactttgacg	ccgatggcaa	acaagtcaag	660
ggtgattggc	gtgaaagtga	tggtaaacgt	gcgtattatg	atgggcaaga	aggacgagca	720
ttaacgcaaa	cgcaagcagt	caatggcgtt	atctacggtt	ttaatcaaag	cggctatcaa	780
atcaagaatg	atctcggcca	aacagcgaat	cgagatacgt	attatttcga	cgcacaagggt	840
catgttgctca	cgggaatcca	aacaattgca	aacaaggttt	atgattttga	tgagcaagggt	900
cgaatgctga	aaggcattgc	acagtcagtt	gatgacaaga	tgatgtattt	tgatgtatcaa	960
acagtgcttg	gacaaccggc	tgatcatcct	gaattcaacc	ctgaaacgga	accggttcct	1020
gacgacaata	tcaaacataa	tgacgacac	ggtacgacac	cagaagattt	tgattcgatg	1080
gctgactacc	tgacggctga	tacttggtat	cgcccaaccg	atattttgga	aaatggtgag	1140
acgtggcgcg	aatcgcaacc	aactgaattt	cgaccactgt	tagcaacttg	gtggccaaca	1200
aaacaaaccc	aggccgatta	cgtgaactac	atgaatcacg	cattagatat	ggcaaatgca	1260
ggtgtgtcag	ctgctgattc	agaagccacg	ttaactgocg	caaccgatgc	tattcaagcg	1320
ggtgttgagc	accaaatac	ggtgctcaa	tcaacggctt	ggttacgtga	attaatggcc	1380
gcattttgtg	tgacacagcc	acagtggaat	aaaacaagtg	aagatgtgaa	tgatgatcat	1440
ttgcaaggtg	gggcattaac	atctgaaaat	aacggcgaca	cagacgctaa	ttcggattat	1500
cgctcatga	accgcacgcc	aacaaatcag	actggcgaac	gcttgtagca	cattgatgac	1560
tcacttggtg	gttacgaatt	attgctggca	aatgacgttg	acaattcaaa	tccacaagtt	1620
caggcagaac	aattgaattg	gttgtactac	ttaatgcatt	ttggggatat	tacagctgat	1680
gatccggacg	caaattttga	tgccatacgg	attgatgcgg	tcgataatgt	cgatgctgat	1740
ttacttcaac	tagcagccca	gtatttccgg	gatgcctatg	gcatggctac	aactgacgca	1800
acatcaaata	agcatctttc	aattcttgag	gattggagcc	ataacgatcc	ggcgtatatg	1860
caagcacacg	gcaatgatca	attaacgatg	gatgattata	tgcacacaca	gttgatttgg	1920
tcattaacca	agcccagagg	acaacgcggg	accatggcac	gctttatgga	cttctatctc	1980
accaaccgtg	ctaataatga	tacagaaaac	acggcgcaac	ctagtactc	gtttgtgcgt	2040
gcccatagata	gcgaagtaca	aacagtcatt	gctgagatcg	tgacgaagct	gcatccagaa	2100
gcaggaaatg	ggttaatgcc	tacggaagaa	caaatggcag	aagcgtttaa	gatttacaat	2160
gcygacaaa	agaaggccgt	taagacttac	acacattaca	atatgccatc	tgacatcgcc	2220
atgctgttaa	cgaacaagga	tgttattcca	cgaatttact	atggtgactt	gtacactgat	2280
gatgggcaat	tcatggcgac	aaaatcacct	tattttgatg	cgatttcgac	catgttacia	2340
gcacgcacga	agtatgtagc	tggtggacag	acgatggcgg	ttgaccagca	cgacgtcttg	2400

ES 2 784 327 T3

actagcgttc	ggtttggtaa	gggggcatg	acggccaatg	atthagggga	tgctgagacc	2460
cggactgagg	gtgtgggatt	aattattagc	aacaacccaa	agttgcaatt	gggacaacaa	2520
gacaacgtgg	tgttacacat	gggacttgcg	cacgcgaatc	aggcattccg	cgcagtcgta	2580
ctaacgaccg	cgaccggatt	aaccatttat	aatgacgatg	atgctccgat	tcgttatacc	2640
gataataagg	gtgatttaat	tttactaac	catgacgat	atggcgtggt	gaatccacaa	2700
gtgtcaggct	tcttggaat	gtgggtgcca	actggtgcac	cagcgaacca	ggatgcgca	2760
tctactgogt	caaccaacat	gtcaacggat	ggatctgcct	accattctaa	tgccggctttg	2820
gatagtcaag	taatctttga	atcattttcg	aatttccagg	ctatgccaac	aagtcagac	2880
acatacacca	acgttggtg	agccaatcat	tcaaccgacg	tgcacgattg	gggaataact	2940
tcggtacagt	tagcaccaca	ataccggtct	tcaaccgacg	gtaccttttt	agacgagatt	3000
attcaaaatg	gctatgcctt	cactgaccgt	tatgatttag	ggtttggtac	gccaactaaa	3060
tacggggatg	atacggat	gcggaacgtc	atcaagcat	tgcatgcaaa	tggcatgcaa	3120
gtaatggctg	atgttggtgc	ggatcaatg	tatacattac	caggtaagga	attggtacaa	3180
gtcaccocgaa	caaacaatat	gggtgagcca	gatacgcatt	ctgacatcca	acatatttta	3240
tatgtgacga	gcactcgtgg	tgggtggtgac	tatcagaaac	agtacgggtg	tgagttcctt	3300
gcacgattgc	gtgaacgata	cccagattta	tttacgacac	gtcaaatttc	gaccggacaa	3360
acaattgatg	attcagtaaa	aattaaagaa	tggtcagcta	agtatttgaa	tggtagcga	3420
attcaaggac	gtggagctgg	ctatgtgctg	cgtgataatg	gtacaaatgc	ttattacaag	3480
gtgacagcaa	atgacggtaa	tgtgaactta	ccaaagcaat	tactcggcca	accggtgatg	3540
accggtattct	atcacgaggc	agatggttat	cattttgaaa	cattgagtgg	tacgtcggcc	3600
aaagatgcct	ttattatggg	cgacgatggg	gcactgtatt	atgttgatga	tcagggtggt	3660
atggtaacgg	gtaagcaacg	tgtgcaccaa	gatcagtatt	tcttcctgcc	aatggtatt	3720
gctttgacag	atgctttcgt	acaaactgct	gatggtcaac	gtcagtaacta	tgataaaaca	3780
ggtogtctgg	tcattaatca	atatgtgact	gaccaccaag	cgaatgcggt	ccgggttgat	3840
gcagacggta	acgttgctccg	caatcaagct	ttgactgttg	acggccatga	acaatatttc	3900
ggcacaaaacg	gtgtccaagc	gaaagcagtg	ctcattcgaa	ctgacgataa	tcaggcgcgc	3960
tactacgaag	ccaatagtgg	taatctcgtg	aagcaacagt	ttattcttga	tacagatgga	4020
cattggttgt	acgcggatgc	tcaggtgac	ttggcacgcg	gacaaattac	aattggccaa	4080
gacacgttgt	atgttgatga	taataatcac	caggtaaaag	atgatttcgt	ctatgatact	4140
aacggtgtgc	attattttaa	tggcacaaca	ggcgtgaaa	tcaaacaaga	ttacgcgttt	4200
catgatggca	aatggtacta	ttttgatgat	ttgggacgaa	tggtaacggg	cttgacgctg	4260
attaatggtg	agtatcgcta	ttttgatgct	aatggtgtgc	aactaaaggg	cggtagcgtg	4320
accgatccac	taacgcacca	aacgtacact	tttgatgcga	aaactggtgc	tggtagcgtg	4380
gtgacgattt	aa					4392

<210> 8

<211> 1463

<212> PRT

<213> Lactobacillus fermentum

<400> 8

5

ES 2 784 327 T3

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

ES 2 784 327 T3

Ser Ala Val Ser Asp Gly Tyr His Asp Glu Gly Gly Asp Trp Val Tyr
180 185 190
Tyr Arg Ala Gly Lys Lys Leu Leu Gly Arg Gln Thr Ile Asp Thr Phe
195 200 205
Ala Val Tyr Phe Asp Ala Asp Gly Lys Gln Val Lys Gly Asp Trp Arg
210 215 220
Glu Ser Asp Gly Lys Arg Ala Tyr Tyr Asp Gly Gln Glu Gly Arg Ala
225 230 235 240
Leu Thr Gln Thr Gln Ala Val Asn Gly Val Ile Tyr Gly Phe Asn Gln
245 250 255
Ser Gly Tyr Gln Ile Lys Asn Asp Phe Gly Gln Thr Ala Asn Arg Asp
260 265 270
Thr Tyr Tyr Phe Asp Ala Gln Gly His Val Val Thr Gly Ile Gln Thr
275 280 285
Ile Ala Asn Lys Val Tyr Asp Phe Asp Glu Gln Gly Arg Met Leu Lys
290 295 300
Gly Ile Ala Thr Ser Val Asp Asp Lys Met Met Tyr Phe Asp Asp Gln
305 310 315 320
Thr Gly Val Gly Gln Pro Ala Asp His Pro Glu Phe Asn Pro Glu Thr
325 330 335
Glu Pro Val Pro Asp Asp Asn Ile Lys His Asn Ala Ala His Gly Thr
340 345 350
Thr Pro Glu Asp Phe Asp Ser Met Ala Asp Tyr Leu Thr Ala Asp Thr
355 360 365
Trp Tyr Arg Pro Thr Asp Ile Leu Glu Asn Gly Glu Thr Trp Arg Glu
370 375 380
Ser Gln Pro Thr Glu Phe Arg Pro Leu Leu Ala Thr Trp Trp Pro Thr
385 390 395 400
Lys Gln Thr Gln Ala Asp Tyr Val Asn Tyr Met Asn His Ala Leu Asp
405 410 415
Met Ala Asn Ala Gly Val Ser Ala Ala Asp Ser Glu Ala Thr Leu Thr
420 425 430
Ala Ala Thr Asp Ala Ile Gln Ala Val Val Glu His Gln Ile Thr Val
435 440 445
Arg Gln Ser Thr Ala Trp Leu Arg Glu Leu Met Ala Ala Phe Val Val
450 455 460
Thr Gln Pro Gln Trp Asn Lys Thr Ser Glu Asp Val Asn Asp Asp His
465 470 475 480
Leu Gln Gly Gly Ala Leu Thr Phe Glu Asn Asn Gly Asp Thr Asp Ala
485 490 495
Asn Ser Asp Tyr Arg Leu Met Asn Arg Thr Pro Thr Asn Gln Thr Gly
500 505 510
Glu Arg Leu Tyr His Ile Asp Asp Ser Leu Gly Gly Tyr Glu Leu Leu
515 520 525
Leu Ala Asn Asp Val Asp Asn Ser Asn Pro Gln Val Gln Ala Glu Gln
530 535 540
Leu Asn Trp Leu Tyr Tyr Leu Met His Phe Gly Asp Ile Thr Ala Asp
545 550 555 560
Asp Pro Asp Ala Asn Phe Asp Ala Ile Arg Ile Asp Ala Val Asp Asn
565 570 575
Val Asp Ala Asp Leu Leu Gln Leu Ala Ala Gln Tyr Phe Arg Asp Ala
580 585 590
Tyr Gly Met Ala Thr Thr Asp Ala Thr Ser Asn Lys His Leu Ser Ile
595 600 605
Leu Glu Asp Trp Ser His Asn Asp Pro Ala Tyr Met Gln Ala His Gly
610 615 620
Asn Asp Gln Leu Thr Met Asp Asp Tyr Met His Thr Gln Leu Ile Trp
625 630 635 640
Ser Leu Thr Lys Pro Glu Ala Gln Arg Gly Thr Met Ala Arg Phe Met
645 650 655
Asp Phe Tyr Leu Thr Asn Arg Ala Asn Asp Asp Thr Glu Asn Thr Ala
660 665 670
Gln Pro Ser Tyr Ser Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln Thr

ES 2 784 327 T3

		675				680					685				
Val	Ile	Ala	Glu	Ile	Val	Thr	Lys	Leu	His	Pro	Glu	Ala	Gly	Asn	Gly
	690					695					700				
Leu	Met	Pro	Thr	Glu	Glu	Gln	Met	Ala	Glu	Ala	Phe	Lys	Ile	Tyr	Asn
705				710						715					720
Ala	Asp	Gln	Lys	Lys	Ala	Val	Lys	Thr	Tyr	Thr	His	Tyr	Asn	Met	Pro
			725						730						735
Ser	Ala	Tyr	Ala	Met	Leu	Leu	Thr	Asn	Lys	Asp	Val	Ile	Pro	Arg	Ile
			740					745					750		
Tyr	Tyr	Gly	Asp	Leu	Tyr	Thr	Asp	Asp	Gly	Gln	Phe	Met	Ala	Thr	Lys
		755					760					765			
Ser	Pro	Tyr	Phe	Asp	Ala	Ile	Ser	Thr	Met	Leu	Gln	Ala	Arg	Thr	Lys
	770					775						780			
Tyr	Val	Ala	Gly	Gly	Gln	Thr	Met	Ala	Val	Asp	Gln	His	Asp	Val	Leu
785					790					795					800
Thr	Ser	Val	Arg	Phe	Gly	Lys	Gly	Ala	Met	Thr	Ala	Asn	Asp	Leu	Gly
				805					810					815	
Asp	Ala	Glu	Thr	Arg	Thr	Glu	Gly	Val	Gly	Leu	Ile	Ile	Ser	Asn	Asn
			820					825					830		
Pro	Lys	Leu	Gln	Leu	Gly	Gln	Gln	Asp	Asn	Val	Val	Leu	His	Met	Gly
	835						840						845		
Leu	Ala	His	Ala	Asn	Gln	Ala	Phe	Arg	Ala	Val	Val	Leu	Thr	Thr	Ala
	850					855						860			
Thr	Gly	Leu	Thr	Ile	Tyr	Asn	Asp	Asp	Asp	Ala	Pro	Ile	Arg	Tyr	Thr
865				870						875					880
Asp	Asn	Lys	Gly	Asp	Leu	Ile	Phe	Thr	Asn	His	Asp	Val	Tyr	Gly	Val
			885						890					895	
Leu	Asn	Pro	Gln	Val	Ser	Gly	Phe	Leu	Ala	Met	Trp	Val	Pro	Thr	Gly
			900					905					910		
Ala	Pro	Ala	Asn	Gln	Asp	Ala	Arg	Ser	Thr	Ala	Ser	Thr	Asn	Met	Ser
		915						920					925		
Thr	Asp	Gly	Ser	Ala	Tyr	His	Ser	Asn	Ala	Ala	Leu	Asp	Ser	Gln	Val
	930					935						940			
Ile	Phe	Glu	Ser	Phe	Ser	Asn	Phe	Gln	Ala	Met	Pro	Thr	Ser	His	Asp
945				950						955					960
Thr	Tyr	Thr	Asn	Val	Val	Leu	Ala	Asn	His	Ala	Asp	Gln	Leu	His	Asp
			965						970					975	
Trp	Gly	Ile	Thr	Ser	Val	Gln	Leu	Ala	Pro	Gln	Tyr	Arg	Ser	Ser	Thr
			980					985						990	
Asp	Gly	Thr	Phe	Leu	Asp	Ala	Ile	Ile	Gln	Asn	Gly	Tyr	Ala	Phe	Thr
		995					1000					1005			
Asp	Arg	Tyr	Asp	Leu	Gly	Phe	Gly	Thr	Pro	Thr	Lys	Tyr	Gly	Asp	
	1010					1015					1020				
Asp	Thr	Asp	Leu	Arg	Asn	Val	Ile	Lys	Ala	Leu	His	Ala	Asn	Gly	
	1025					1030					1035				
Met	Gln	Val	Met	Ala	Asp	Phe	Val	Pro	Asp	Gln	Leu	Tyr	Thr	Leu	
	1040					1045					1050				
Pro	Gly	Lys	Glu	Leu	Val	Gln	Val	Thr	Arg	Thr	Asn	Asn	Met	Gly	
	1055					1060					1065				
Glu	Pro	Asp	Thr	His	Ser	Asp	Ile	Gln	His	Ile	Leu	Tyr	Val	Thr	
	1070					1075					1080				
Ser	Thr	Arg	Gly	Gly	Gly	Asp	Tyr	Gln	Lys	Gln	Tyr	Gly	Gly	Glu	
	1085					1090					1095				
Phe	Leu	Ala	Arg	Leu	Arg	Glu	Arg	Tyr	Pro	Asp	Leu	Phe	Thr	Thr	
	1100					1105					1110				
Arg	Gln	Ile	Ser	Thr	Gly	Gln	Thr	Ile	Asp	Asp	Ser	Val	Lys	Ile	
	1115					1120					1125				
Lys	Glu	Trp	Ser	Ala	Lys	Tyr	Leu	Asn	Gly	Thr	Ala	Ile	Gln	Gly	
	1130					1135					1140				
Arg	Gly	Ala	Gly	Tyr	Val	Leu	Arg	Asp	Asn	Gly	Thr	Asn	Ala	Tyr	
	1145					1150					1155				
Tyr	Lys	Val	Thr	Ala	Asn	Asp	Gly	Asn	Val	Asn	Leu	Pro	Lys	Gln	
	1160					1165					1170				

ES 2 784 327 T3

```

Leu Leu Gly Gln Pro Val Met Thr Gly Phe Tyr His Glu Ala Asp
1175 1180 1185
Gly Tyr His Phe Glu Thr Leu Ser Gly Thr Ser Ala Lys Asp Ala
1190 1195 1200
Phe Ile Met Gly Asp Asp Gly Ala Leu Tyr Tyr Phe Asp Asp Gln
1205 1210 1215
Gly Val Met Val Thr Gly Lys Gln Arg Val His Gln Asp Gln Tyr
1220 1225 1230
Phe Phe Leu Pro Asn Gly Ile Ala Leu Thr Asp Ala Phe Val Gln
1235 1240 1245
Thr Ala Asp Gly Gln Arg Gln Tyr Tyr Asp Lys Thr Gly Arg Leu
1250 1255 1260
Val Ile Asn Gln Tyr Val Thr Asp His Gln Ala Asn Ala Phe Arg
1265 1270 1275
Val Asp Ala Asp Gly Asn Val Val Arg Asn Gln Ala Leu Thr Val
1280 1285 1290
Asp Gly His Glu Gln Tyr Phe Gly Thr Asn Gly Val Gln Ala Lys
1295 1300 1305
Ala Val Leu Ile Arg Thr Asp Asp Asn Gln Ala Arg Tyr Tyr Glu
1310 1315 1320
Ala Asn Ser Gly Asn Leu Val Lys Gln Gln Phe Ile Leu Asp Thr
1325 1330 1335
Asp Gly His Trp Leu Tyr Ala Asp Ala Ala Gly Asp Leu Ala Arg
1340 1345 1350
Gly Gln Ile Thr Ile Gly Gln Asp Thr Leu Tyr Phe Asp Asp Asn
1355 1360 1365
Asn His Gln Val Lys Asp Asp Phe Val Tyr Asp Thr Asn Gly Val
1370 1375 1380
His Tyr Phe Asn Gly Thr Thr Gly Ala Glu Ile Lys Gln Asp Tyr
1385 1390 1395
Ala Phe His Asp Gly Lys Trp Tyr Tyr Phe Asp Asp Leu Gly Arg
1400 1405 1410
Met Val Thr Gly Leu Gln Arg Ile Asn Gly Glu Tyr Arg Tyr Phe
1415 1420 1425
Asp Ala Asn Gly Val Gln Leu Lys Gly Gly Thr Val Thr Asp Pro
1430 1435 1440
Leu Thr His Gln Thr Tyr Thr Phe Asp Ala Lys Thr Gly Ala Gly
1445 1450 1455
Thr Leu Val Thr Ile
1460

```

<210> 9

<211> 1426

5 <212> PRT

<213> Lactobacillus fermentum

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <222> (1)..(1426)

<223> maduro 2918 gtf

<400> 9

```

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

```

15

					85					90					95				
Thr	Ser	Thr	Thr	Ser	Gly	Ala	Ser	Gly	Ser	Gln	Ser	Ser	Ala	Val	Thr				
			100						105					110					
Ser	Ala	Asn	Asp	Ser	Ser	Val	Ala	Thr	Ser	Ser	Ser	Ala	Ser	Ser	Val				
		115					120						125						
Thr	Thr	Ala	Thr	Ser	Glu	Ser	Ala	Val	Val	Ser	Ser	Ala	Val	Ser	Asp				
		130					135						140						
Gly	Tyr	His	Asp	Glu	Gly	Gly	Asp	Trp	Val	Tyr	Tyr	Arg	Ala	Gly	Lys				
145					150					155					160				
Lys	Leu	Leu	Gly	Arg	Gln	Thr	Ile	Asp	Thr	Phe	Ala	Val	Tyr	Phe	Asp				
				165					170					175					
Ala	Asp	Gly	Lys	Gln	Val	Lys	Gly	Asp	Trp	Arg	Glu	Ser	Asp	Gly	Lys				
			180					185						190					
Arg	Ala	Tyr	Tyr	Asp	Gly	Gln	Glu	Gly	Arg	Ala	Leu	Thr	Gln	Thr	Gln				
		195					200						205						
Ala	Val	Asn	Gly	Val	Ile	Tyr	Gly	Phe	Asn	Gln	Ser	Gly	Tyr	Gln	Ile				
		210				215						220							
Lys	Asn	Asp	Phe	Gly	Gln	Thr	Ala	Asn	Arg	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Phe	Asp				
225					230					235					240				
Ala	Gln	Gly	His	Val	Val	Thr	Gly	Ile	Gln	Thr	Ile	Ala	Asn	Lys	Val				
				245					250					255					
Tyr	Asp	Phe	Asp	Glu	Gln	Gly	Arg	Met	Leu	Lys	Gly	Ile	Ala	Thr	Ser				
		260						265						270					
Val	Asp	Asp	Lys	Met	Met	Tyr	Phe	Asp	Asp	Gln	Thr	Gly	Val	Gly	Gln				
		275					280						285						
Pro	Ala	Asp	His	Pro	Glu	Phe	Asn	Pro	Glu	Thr	Glu	Pro	Val	Pro	Asp				
		290				295						300							
Asp	Asn	Ile	Lys	His	Asn	Ala	Ala	His	Gly	Thr	Thr	Pro	Glu	Asp	Phe				
305					310						315				320				
Asp	Ser	Met	Ala	Asp	Tyr	Leu	Thr	Ala	Asp	Thr	Trp	Tyr	Arg	Pro	Thr				
			325						330					335					
Asp	Ile	Leu	Glu	Asn	Gly	Glu	Thr	Trp	Arg	Glu	Ser	Gln	Pro	Thr	Glu				
			340					345					350						
Phe	Arg	Pro	Leu	Leu	Ala	Thr	Trp	Trp	Pro	Thr	Lys	Gln	Thr	Gln	Ala				
		355					360						365						
Asp	Tyr	Val	Asn	Tyr	Met	Asn	His	Ala	Leu	Asp	Met	Ala	Asn	Ala	Gly				
		370				375						380							
Val	Ser	Ala	Ala	Asp	Ser	Glu	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Ala	Thr	Asp	Ala				
385					390						395				400				
Ile	Gln	Ala	Val	Val	Glu	His	Gln	Ile	Thr	Val	Arg	Gln	Ser	Thr	Ala				
				405						410				415					
Trp	Leu	Arg	Glu	Leu	Met	Ala	Ala	Phe	Val	Val	Thr	Gln	Pro	Gln	Trp				
			420					425					430						
Asn	Lys	Thr	Ser	Glu	Asp	Val	Asn	Asp	Asp	His	Leu	Gln	Gly	Gly	Ala				
		435					440					445							
Leu	Thr	Phe	Glu	Asn	Asn	Gly	Asp	Thr	Asp	Ala	Asn	Ser	Asp	Tyr	Arg				
		450				455						460							
Leu	Met	Asn	Arg	Thr	Pro	Thr	Asn	Gln	Thr	Gly	Glu	Arg	Leu	Tyr	His				
465					470						475				480				
Ile	Asp	Asp	Ser	Leu	Gly	Gly	Tyr	Glu	Leu	Leu	Leu	Ala	Asn	Asp	Val				
				485					490					495					
Asp	Asn	Ser	Asn	Pro	Gln	Val	Gln	Ala	Glu	Gln	Leu	Asn	Trp	Leu	Tyr				
			500					505					510						
Tyr	Leu	Met	His	Phe	Gly	Asp	Ile	Thr	Ala	Asp	Asp	Pro	Asp	Ala	Asn				
		515					520						525						
Phe	Asp	Ala	Ile	Arg	Ile	Asp	Ala	Val	Asp	Asn	Val	Asp	Ala	Asp	Leu				
		530				535						540							
Leu	Gln	Leu	Ala	Ala	Gln	Tyr	Phe	Arg	Asp	Ala	Tyr	Gly	Met	Ala	Thr				
545					550						555				560				
Thr	Asp	Ala	Thr	Ser	Asn	Lys	His	Leu	Ser	Ile	Leu	Glu	Asp	Trp	Ser				
				565					570					575					
His	Asn	Asp	Pro	Ala	Tyr	Met	Gln	Ala	His	Gly	Asn	Asp	Gln	Leu	Thr				
			580					585					590						

ES 2 784 327 T3

Met Asp Asp Tyr Met His Thr Gln Leu Ile Trp Ser Leu Thr Lys Pro
595 600 605
Glu Ala Gln Arg Gly Thr Met Ala Arg Phe Met Asp Phe Tyr Leu Thr
610 615 620
Asn Arg Ala Asn Asp Asp Thr Glu Asn Thr Ala Gln Pro Ser Tyr Ser
625 630 635 640
Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln Thr Val Ile Ala Glu Ile
645 650 655
Val Thr Lys Leu His Pro Glu Ala Gly Asn Gly Leu Met Pro Thr Glu
660 665 670
Glu Gln Met Ala Glu Ala Phe Lys Ile Tyr Asn Ala Asp Gln Lys Lys
675 680 685
Ala Val Lys Thr Tyr Thr His Tyr Asn Met Pro Ser Ala Tyr Ala Met
690 695 700
Leu Leu Thr Asn Lys Asp Val Ile Pro Arg Ile Tyr Tyr Gly Asp Leu
705 710 715 720
Tyr Thr Asp Asp Gly Gln Phe Met Ala Thr Lys Ser Pro Tyr Phe Asp
725 730 735
Ala Ile Ser Thr Met Leu Gln Ala Arg Thr Lys Tyr Val Ala Gly Gly
740 745 750
Gln Thr Met Ala Val Asp Gln His Asp Val Leu Thr Ser Val Arg Phe
755 760 765
Gly Lys Gly Ala Met Thr Ala Asn Asp Leu Gly Asp Ala Glu Thr Arg
770 775 780
Thr Glu Gly Val Gly Leu Ile Ile Ser Asn Asn Pro Lys Leu Gln Leu
785 790 795 800
Gly Gln Gln Asp Asn Val Val Leu His Met Gly Leu Ala His Ala Asn
805 810 815
Gln Ala Phe Arg Ala Val Val Leu Thr Thr Ala Thr Gly Leu Thr Ile
820 825 830
Tyr Asn Asp Asp Asp Ala Pro Ile Arg Tyr Thr Asp Asn Lys Gly Asp
835 840 845
Leu Ile Phe Thr Asn His Asp Val Tyr Gly Val Leu Asn Pro Gln Val
850 855 860
Ser Gly Phe Leu Ala Met Trp Val Pro Thr Gly Ala Pro Ala Asn Gln
865 870 875 880
Asp Ala Arg Ser Thr Ala Ser Thr Asn Met Ser Thr Asp Gly Ser Ala
885 890 895
Tyr His Ser Asn Ala Ala Leu Asp Ser Gln Val Ile Phe Glu Ser Phe
900 905 910
Ser Asn Phe Gln Ala Met Pro Thr Ser His Asp Thr Tyr Thr Asn Val
915 920 925
Val Leu Ala Asn His Ala Asp Gln Leu His Asp Trp Gly Ile Thr Ser
930 935 940
Val Gln Leu Ala Pro Gln Tyr Arg Ser Ser Thr Asp Gly Thr Phe Leu
945 950 955 960
Asp Ala Ile Ile Gln Asn Gly Tyr Ala Phe Thr Asp Arg Tyr Asp Leu
965 970 975
Gly Phe Gly Thr Pro Thr Lys Tyr Gly Asp Asp Thr Asp Leu Arg Asn
980 985 990
Val Ile Lys Ala Leu His Ala Asn Gly Met Gln Val Met Ala Asp Phe
995 1000 1005
Val Pro Asp Gln Leu Tyr Thr Leu Pro Gly Lys Glu Leu Val Gln
1010 1015 1020
Val Thr Arg Thr Asn Asn Met Gly Glu Pro Asp Thr His Ser Asp
1025 1030 1035
Ile Gln His Ile Leu Tyr Val Thr Ser Thr Arg Gly Gly Gly Asp
1040 1045 1050
Tyr Gln Lys Gln Tyr Gly Gly Glu Phe Leu Ala Arg Leu Arg Glu
1055 1060 1065
Arg Tyr Pro Asp Leu Phe Thr Thr Arg Gln Ile Ser Thr Gly Gln
1070 1075 1080
Thr Ile Asp Asp Ser Val Lys Ile Lys Glu Trp Ser Ala Lys Tyr

1085	Leu Asn Gly Thr Ala Ile Gln	1090	Gly Arg Gly Ala Gly Tyr Val Leu	1095
1100	Arg Asp Asn Gly Thr Asn Ala	1105	Tyr Tyr Lys Val Thr Ala Asn Asp	1110
1115	Gly Asn Val Asn Leu Pro Lys	1120	Gln Leu Leu Gly Gln Pro Val Met	1125
1130	Thr Gly Phe Tyr His Glu Ala	1135	Asp Gly Tyr His Phe Glu Thr Leu	1140
1145	Ser Gly Thr Ser Ala Lys Asp	1150	Ala Phe Ile Met Gly Asp Asp Gly	1155
1160	Ala Leu Tyr Tyr Phe Asp Asp	1165	Gln Gly Val Met Val Thr Gly Lys	1170
1175	Gln Arg Val His Gln Asp Gln	1180	Tyr Phe Phe Leu Pro Asn Gly Ile	1185
1190	Ala Leu Thr Asp Ala Phe Val	1195	Gln Thr Ala Asp Gly Gln Arg Gln	1200
1205	Tyr Tyr Asp Lys Thr Gly Arg	1210	Leu Val Ile Asn Gln Tyr Val Thr	1215
1220	Asp His Gln Ala Asn Ala Phe	1225	Arg Val Asp Ala Asp Gly Asn Val	1230
1235	Val Arg Asn Gln Ala Leu Thr	1240	Val Asp Gly His Glu Gln Tyr Phe	1245
1250	Gly Thr Asn Gly Val Gln Ala	1255	Lys Ala Val Leu Ile Arg Thr Asp	1260
1265	Asp Asn Gln Ala Arg Tyr Tyr	1270	Glu Ala Asn Ser Gly Asn Leu Val	1275
1280	Lys Gln Gln Phe Ile Leu Asp	1285	Thr Asp Gly His Trp Leu Tyr Ala	1290
1295	Asp Ala Ala Gly Asp Leu Ala	1300	Arg Gly Gln Ile Thr Ile Gly Gln	1305
1310	Asp Thr Leu Tyr Phe Asp Asp	1315	Asn Asn His Gln Val Lys Asp Asp	1320
1325	Phe Val Tyr Asp Thr Asn Gly	1330	Val His Tyr Phe Asn Gly Thr Thr	1335
1340	Gly Ala Glu Ile Lys Gln Asp	1345	Tyr Ala Phe His Asp Gly Lys Trp	1350
1355	Tyr Tyr Phe Asp Asp Leu Gly	1360	Arg Met Val Thr Gly Leu Gln Arg	1365
1370	Ile Asn Gly Glu Tyr Arg Tyr	1375	Phe Asp Ala Asn Gly Val Gln Leu	1380
1385	Lys Gly Gly Thr Val Thr Asp	1390	Pro Leu Thr His Gln Thr Tyr Thr	1395
1400	Phe Asp Ala Lys Thr Gly Ala	1405	Gly Thr Leu Val Thr Ile	1410
1415		1420		1425

<210> 10

<211> 4281

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2918 gtf con secuencia de señal heteróloga

10

<400> 10

ES 2 784 327 T3

gatacagtgc	tgccctagcga	gcaaagagca	acacagacga	cacaaacaac	gcagacatca	60
gaggatacga	gcgcgacgaa	gacaccggca	agcgcaccaa	cgtaagcag	cgataacgtg	120
gatacgtcag	atcttccgga	tagcgccagc	gcagttgtcg	attcagcggg	tacatcaaca	180
agcacgtcag	cctcagtggg	gagcgatagc	gttgcaagtcc	cggatacggg	atcacaattt	240
atgtcatcat	cagctcctgc	gagcagcgcg	tttgttaaac	ctagccttac	gtcaacgacg	300
tcaggagcga	gcbgctcaca	gagctcagca	gtgacaagcg	ccaatgattc	aagcgtcgtc	360
acaagctcat	cagcttcac	agttacgaca	gcaacaagcg	agtcagccgt	tgtctcaagc	420
gcggctctcag	acggctatca	tgacgaagga	ggagattggg	tttactacag	agcaggaaaa	480

aaactgcttg	gaagacagac	aattgatacg	tttgctgttt	actttgatgc	tgacggaaaa	540
caagtgaag	gcgactggag	agaatcagat	ggaaagagag	cgtattatga	tggacaagaa	600
ggaagagccc	ttacgcaaac	gcaagccgtt	aatggagtga	tctatggatt	caatcaatca	660
ggataccaga	tcaaaaacga	ttttggccag	acagcgaaca	gagatacata	ctacttcgac	720
gcacaaggcc	atgtggttac	aggcatccaa	acaatcgcga	ataaagttta	tgacttcgat	780
gaacaaggca	gaatgcttaa	aggaattgcc	acatcagtcg	atgacaagat	gatgtatfff	840
gacgatcaaa	caggcgtggg	acaacctgca	gatcacctcg	agtttaaccc	ggaaacagaa	900
ccggtgcctg	acgataacat	caagcataat	gcagcccacg	gcacaacacc	tgaagatfff	960
gatagcatgg	cggactatct	gacagctgat	acatgggtata	gacctacaga	tattctggag	1020
aatggagaaa	catggagaga	gagccaaccg	acggaattta	gaccgctgct	ggcaacgtgg	1080
tggcctacaa	aacagacaca	agcagattat	gtgaactata	tgaaccacgc	acttgacatg	1140
gctaattgctg	gcgttagcgc	tgccgattca	gaggcaacac	ttacagcggc	tacggatgcc	1200
attcaggctg	ttgttgagca	ccaaattacg	gttagacaaa	gcacggcctg	gcttagagaa	1260
cttatggcgg	cttttgttgt	tacacaacct	caatggaata	agacgagcga	agatgtcaat	1320
gatgatcacc	ttcaaggagg	cgactgaca	tttgagaata	acggagacac	agatgcaaat	1380
agcgattata	gacttatgaa	tagaacaccg	acaaatcaaa	cgggcgagag	actttatcat	1440
attgatgact	cactggggag	ctacgagctg	cttcttgcaa	acgatgtgga	caactcaaac	1500
ccgcaggttc	aggcggaaaca	acttaactgg	ctttactatc	ttatgcattt	cggagatatt	1560
acagccgatg	acccggatgc	taactttgac	gcgatcagaa	ttgacgccgt	tgataatgtc	1620
gacgctgacc	tgcttcagct	tgctgcccaa	tactttagag	atgcatatgg	aatggccaca	1680
acagacgcca	cgagcaataa	acacctttca	atccttgagg	attggagcca	taacgatcct	1740
gcttatatgc	aggcacatgg	aatgaccag	cttacaatgg	atgactacat	gcacacacaa	1800
ctgatttggg	cactgacgaa	accggaagca	caaagaggaa	cgatggcaag	atthttggac	1860
ttttatctta	caaatagagc	taacgatgat	acagaaaaca	cagcgaacc	ttcatattca	1920
tttgttagag	cacacgactc	agaagtgcag	acagttattg	cagaaattgt	tacgaaactt	1980
caccocggagg	caggcaacgg	ccttatgcct	acggaggaac	agatggcaga	ggcgtttaag	2040
atctacaatg	cagaccaaaa	gaaagcggtg	aaaacatata	cacactataa	catgccttca	2100
gcctacgcta	tgctgctgac	aaataaggat	gtgattccta	gaatctacta	cggcgatcct	2160
tacacggacg	acggccagtt	catggcaaca	aagtcaccgt	atthcgatgc	aatthcaaca	2220
atgctgcaag	caagaacaaa	atatgttgca	ggcggacaaa	cgatggcggg	tgaccaacat	2280
gatgtcctga	cgagcgtgag	atthggcaaa	ggcgcgatga	cagcaaatga	ccttggagac	2340
gcggaacagc	gaacagaggg	cgtgggactg	atcatcagca	acaaccctaa	gctgcaactg	2400
ggacagcagg	ataacgtggt	ccttcatatg	ggcctggcac	acgcgaatca	ggctthcaga	2460
gcagtcgtgc	ttacaacagc	cacaggactg	acgatctaca	acgacgatga	cgctcctatt	2520
agatatacgg	acaataaggg	cgacctgatc	tttacgaaac	acgatgttta	cggcgtthctg	2580
aaccocgagg	ttagcggcctt	ccttgctatg	tgggttccga	cgggcgcacc	tgccaatcaa	2640
gacgcaagaa	gcacggcttc	aacgaatatg	tcaacggatg	gatcagctta	tcattcaaac	2700
gcagctctgg	atthcacaagt	tatctthgag	tcatttagca	actthcaagc	aatgcccaga	2760
tcacacgata	catacacgaa	tgthgtcctt	gcaaaccatg	cagaccaact	tcacgattgg	2820
ggaattacct	cagtgcaact	tgaccgcaa	tatagatcaa	gcacagacgg	aacgthctg	2880
gatgcaatta	ttcaaaatgg	atatgcttht	acagatagat	atgatcttgg	ctthtgaaca	2940
cctacgaaat	acggcgacga	cacggacctg	agaaatgtga	tcaaaagcctt	tcathgcaaac	3000
ggcatgcaag	tcathgacga	ttthgttctt	gatcaactgt	acacacttcc	gggcaaaagaa	3060
ctggthcaag	tgacaagaac	aaataacatg	ggcgaaccgg	atacacacag	cgathattcaa	3120
cacatcctgt	atgthacatc	aacaagagga	ggcggagact	atcagaaaca	atathgccc	3180
gaatthctgg	ctagacttag	agaaagatag	ccggacctth	ttacgacgag	acaaattagc	3240
acaggccaaa	caattgacga	cagcgttaag	atthaggagt	ggtcagcga	atathctgaac	3300
ggcacagcaa	ttcaaggcag	aggcgtggc	tatgthctga	gagataatgg	aacgaatgca	3360
tactataaag	ttacggccaa	tgatggaaac	gtcaactctc	ctaagcaact	gctgggcccag	3420
ccggttatga	caggcttcta	tcacgaagca	gacggctacc	actthcgagac	actgthcaggc	3480
acatcagcca	aggacgcatt	tatcatggga	gatgatggcg	cactgtacta	thctcgatgac	3540
caaggcgtga	tggthtacagg	aaaacaaaga	gthcatcagg	atcaatactt	thctctgccc	3600
aatggcatcg	ctctgacgga	cgctthctgt	caaacagctg	atggacagag	acagthactac	3660
gataaaacag	gcagactggg	tatthaccaa	tatgtgacag	accatcaggc	gaatgccttc	3720
agagthgatg	cggacggaaa	tgthcgttaga	aaaccaagcac	ttacagtgga	cggacatgaa	3780
cagthattcg	gcacgaacgg	agthcaggca	aaagcagthc	tgattagaac	ggacgataat	3840
caagcagagat	atthtgaggc	aaatthcaggc	aatctgggtg	acaacaact	thctctgac	3900
acagatggcc	actggctgta	cgcagacgca	gcagggatc	ttgctagagg	ccagthataca	3960
atcggccagg	atacgtgta	thctgathgat	aaacaatcacc	aagthaaaga	tgactthctgt	4020
tatgatacga	atggagthcca	thactthtaat	ggcacaacag	gagcagagat	thaaacaagat	4080
tacgcatthc	atgacggcaa	atgthactac	thctgacgacc	tgggaagaat	ggtcacggga	4140
ctthcaagaa	thaatggaga	gtathagatag	thctgacgcca	acggcgtcca	actgaaagga	4200
ggcacagthga	cggatcctct	gacacatcaa	acathatacat	thgatgcaaa	aacgggagcc	4260

ggcacgcttg ttacaatttg a

4281

<210> 11

<211> 4521

5 <212> ADN

<213> Streptococcus sobrinus

<400> 11

atggaagaa	aattgcatta	caaattacac	aaggtaaaaa	aacagtgggt	aacgattgcc	60
gttgcctctg	ctggtttggc	tagcattggt	ggtgctgggt	cattaagcca	aactgtttct	120
gccgatgact	tagccaagga	acaagctgcg	gctagtcaac	aaaaggcagc	agccaatcag	180
aatgaggacg	aagtggcttc	tgatgcagct	gatactgcta	gtgcaaaagc	gacttccgaa	240
aaagaagttg	tccaatcttc	tgatacaaat	tcagaaacta	accaagttga	aactaaagat	300
caagctagcg	ctaaggaag	tgctgacgca	gtagccaagc	aagcaccaca	agctggccct	360
gcaaccacta	gccaggttc	aagctcagaa	agcagctctg	tagcgcctag	caaggaagct	420
gataaggcag	ctgctggatc	agttagccaa	aatgaagaag	aagcagccct	atcgcttgcc	480
aatattaaaa	agattgatgg	taagtattac	tatgttatgg	cagacggttc	ttataagaag	540
aactttgcc	ttacagttga	tggtcaaatg	ctttactttg	atgccaaaac	aggtgccctg	600
tcttcaacct	ctacctattc	tttcagtcaa	ggtttgacac	caattgtttc	tgattttctca	660
gtcaacaaca	aggctttcga	ttcttctgaa	aagagttttg	aattggttga	tggttatttg	720
acagctgaaa	gctggtaccg	tcctgctaag	attcttgaaa	atggtaaaac	ttgggttgat	780
atgaagaaa	ctgacctacg	cccagttctg	atgagctggg	ggccaaacaa	ggatacgcga	840
gttgcctacc	ttaactacat	gagcaaggca	cttgggtggca	aggaagaatt	cacaactgaa	900
acctcccaat	tgaccttgaa	tacagccgct	gagttgattc	aagctaaaat	tgaagctcgc	960
gtttctaaag	aacaaggaac	aaagtggttg	cgtgaagcta	tggcagcctt	cgttgctacc	1020
caatctcggt	ggaataagga	cagcgaacaa	tacgataagg	ctgaccacct	gcaaggcgga	1080
gccctgctct	ataccaataa	caacttgaca	gagtgggcaa	attcaaaactg	gcgcctgctt	1140
aaccgtacc	caactcgta	agatggtaaa	acccattact	ctaaggctga	caaatacggg	1200
ggttatgaat	tcctcttggc	caacgacgtg	gataactcta	accagtcgt	tcaagcggaa	1260
atgctcaacc	aaatccacta	cctcatgaac	tggggtgaaa	ttgtgatggg	tgataagaat	1320
gccaaacttg	atggtattcg	tgctgatgcc	gtggataacg	tcaatgcaga	tactctgcaa	1380
ctctacacca	actactttaa	ttctgtttat	ggtgtcaaca	agtctgaagc	ccaagccctg	1440
gctcacatct	cagtcttgga	agcatggctc	tacaatgata	atgactataa	ccaagacacc	1500
aacggggctg	ccctggctat	ggacaatgg	ctacgctttt	ccctgcttta	taccttgacc	1560
cgctccgatca	atgaacggac	acctggtatg	tcaaccctga	ttaaatcaga	atatggtttg	1620
gactgaccga	ctaagaatga	tcaagtatga	gatacccaac	catcttatgt	ttttgttcgg	1680
gcgcatgact	cagaagtgca	aaccgttatt	gcacaaatca	tcaaggaaaa	aattgatcca	1740
acaaccgatg	gtttcacctt	caccttgac	caattgaaac	aggcctttga	aatctacaac	1800
aaggatatga	atagtgttaa	caagcactat	acccactata	atatcccagc	agcctacgct	1860
gtcatgttgt	ctaatatgga	atccgtaacc	cgggtttact	atgggtacct	cttcaccgat	1920
gatggtcaat	acatggcatc	taaactctca	tattatgatg	ccatcaacac	tctcttgccg	1980
gctcgcatc	gttacgcagc	cggtgggtcaa	attatggaa	acaattccta	caaaccatca	2040
gcagccatga	aggcagctca	tccagatgct	ggtaatgctc	ttggtaacag	cgaagtcttg	2100
gtatcggttc	gtttcggtca	ccagtgcatg	tctgccgatg	atatgactgg	tggttaagctg	2160
gctaagacct	ctggtatggt	caccctgatt	tctaacaacc	ctgaattgga	attggatgtc	2220
aatgaagaaa	tcaaggttaa	cgttggtaaa	atccatgctg	gccaaagccta	ccgtcccttg	2280
cttttgacaa	ctgataaggg	tctgcaaaag	tatctcaatg	attctgatac	caagttgacc	2340
aagattgctg	acaaggatgg	tttcattacc	ttcaagggtg	gcgaaatcaa	gggttacaaa	2400
caagtgcgaag	tcaatggtta	cctctcagtt	tgggtaccag	ttggtgctaa	ggctgaccaa	2460
gacattcggtg	tggccccttc	aacagcggct	aagggtgaaa	aggccaagac	ttacacagct	2520
agccaagctt	tggaatcgca	attaatctac	gaaggcttct	caaacttcca	agattttggt	2580
caaaaagatt	ccaatacac	caacaagaag	attgctgaaa	atactgacct	cttcaaggct	2640
tggggtgtta	cctcatttga	aatggcacca	caatcagttt	cagcaaccga	tggaaccttc	2700
ctggattcta	tcattgaaaa	cggttatgcc	ttcaccgacc	gttatgacct	tgccatgagc	2760
agaacaata	aatacggttc	taaggaagat	ttggccaacg	ccctcaaggc	ccttcacgca	2820
gctggtattc	aagccattgc	tgactgggta	ccagaccaa	tttaccact	gcctggtaag	2880
gaagttgtta	ccgctagccg	ggttgacaac	tacggtcgtg	tgaaagttga	ccaaccacta	2940
gttgaaaaac	tttatctggc	caacaccaag	agctcaggaa	aagatttcca	agctaaatac	3000
ggtggtgaat	tcttagcaga	actgcaaaag	aaatatcctg	aaatgttcac	gactaagatg	3060
atltcaactg	gtaaaaccat	tgatccatct	gtcaaatgta	agaatggctc	tgctaagtac	3120
ttcaacggaa	ccaacgtcct	tgatcgtggt	acggactata	tcctcagtga	tgaagggtact	3180
ggtaaaatact	ttaccgtcaa	tgaaaaaggt	gacttcttac	ctgcctcatt	gactggtaat	3240
aaggatgcc	agactggtt	ctacaacgat	ggttaagggca	ttgtttacta	cacaaccgcc	3300

ES 2 784 327 T3

ggtaacaagg	ctagatcagc	cttcgtaaca	gaagcaggtg	atacctatta	cttcgactac	3360
accggccata	tggtaacagg	ccctaacggt	attaacacta	aattctatta	cttcttgcca	3420
aatggtatca	tgcttaagga	tgctattaag	caggatgaaa	aaggtcgttc	cgtatactac	3480
ggtaaagactg	gtgttatgta	caagggggtc	cgcgataatg	aatggttcgc	catgacagac	3540
tctaagggtc	aatgctgttt	ccgtcacttt	gacaggtacg	gcttcatgtc	tatcggtttg	3600
gtaacctatca	accaaaatgt	tcagtattat	gatgaaaatg	gtttccaagt	taaagggtgaa	3660
tttghtaacgg	atcaggatgg	acaacccogt	tacttcgacc	aaggttcagg	taacttggtt	3720
aagggacaat	tctcaacaa	ggatggcaac	tggtactacc	ttgatgacca	agggctagtt	3780
gctaaaggag	ctcagacaat	taaaggtcaa	aagctttact	ttgacacaaa	aaccgggtgc	3840
caagttaaag	gggattttgt	aacggataaa	gatggcaata	ccttctttta	cagtggagat	3900
actggcgatt	taatccttgg	tcagttcttc	tcaactggaa	ataacgcttg	gttctatgct	3960
gatgaaaatg	gtcatgtcgc	taagggagct	aagactatca	gaggtcagaa	gctctacttt	4020
gatacaaaaa	caggtcagca	agctaagggg	cgctttatcc	gtgatgacaa	gggggttcgt	4080
tactatgatg	ctgacacagg	taccttggtg	accaacgctt	tccttgaaac	taaggctggt	4140
tctaaccaat	ggtattacat	gggagcagat	ggttatgctg	tcaaggggaa	ccagaccata	4200
aaaaatcagc	acatgtatth	tgatgctgaa	actggccaac	aagctaaggg	aattatagtg	4260
acagatgccca	atggctcga	gtatthctat	gatactthta	ctggcagtcg	tgthtgaaac	4320
caatthgtth	tggttaatgg	aaatthgtat	thctthgtth	atgatggagc	tgcahtaaca	4380
gththctatg	atataaggg	acaacacctt	tactthcaat	ccgatggaac	acagggcaaaa	4440
gggactacgg	taaaaattgg	caatcgcagc	tatacctthg	atgctcacac	tggtgagctg	4500
acatctgttc	attatggctg	a				4521

<210> 12

5 <211> 1506

<212> PRT

<213> Streptococcus sobrinus

<400> 12

ES 2 784 327 T3

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

ES 2 784 327 T3

Lys Asp Gly Phe Ile Thr Phe Lys Gly Ser Glu Ile Lys Gly Tyr Lys
 785 790 795 800
 Gln Val Glu Val Asn Gly Tyr Leu Ser Val Trp Val Pro Val Gly Ala
 805 810 815
 Lys Ala Asp Gln Asp Ile Arg Val Ala Pro Ser Thr Ala Ala Lys Gly
 820 825 830
 Glu Lys Ala Lys Thr Tyr Thr Ala Ser Gln Ala Leu Glu Ser Gln Leu
 835 840 845
 Ile Tyr Glu Gly Phe Ser Asn Phe Gln Asp Phe Val Gln Lys Asp Ser
 850 855 860
 Gln Tyr Thr Asn Lys Lys Ile Ala Glu Asn Thr Asp Leu Phe Lys Ala
 865 870 875 880
 Trp Gly Val Thr Ser Phe Glu Met Ala Pro Gln Tyr Val Ser Ala Thr
 885 890 895
 Asp Gly Thr Phe Leu Asp Ser Ile Ile Glu Asn Gly Tyr Ala Phe Thr
 900 905 910
 Asp Arg Tyr Asp Leu Ala Met Ser Lys Asn Asn Lys Tyr Gly Ser Lys
 915 920 925
 Glu Asp Leu Ala Asn Ala Leu Lys Ala Leu His Ala Ala Gly Ile Gln
 930 935 940
 Ala Ile Ala Asp Trp Val Pro Asp Gln Ile Tyr Gln Leu Pro Gly Lys
 945 950 955 960
 Glu Val Val Thr Ala Ser Arg Val Asp Asn Tyr Gly Arg Val Lys Val
 965 970 975
 Asp Gln Pro Leu Val Glu Lys Leu Tyr Leu Ala Asn Thr Lys Ser Ser
 980 985 990
 Gly Lys Asp Phe Gln Ala Lys Tyr Gly Gly Glu Phe Leu Ala Glu Leu
 995 1000 1005
 Gln Lys Lys Tyr Pro Glu Met Phe Thr Thr Lys Met Ile Ser Thr
 1010 1015 1020
 Gly Lys Thr Ile Asp Pro Ser Val Lys Leu Lys Glu Trp Ser Ala
 1025 1030 1035
 Lys Tyr Phe Asn Gly Thr Asn Val Leu Asp Arg Gly Thr Asp Tyr
 1040 1045 1050
 Ile Leu Ser Asp Glu Gly Thr Gly Lys Tyr Phe Thr Val Asn Glu
 1055 1060 1065
 Lys Gly Asp Phe Leu Pro Ala Ser Leu Thr Gly Asn Lys Asp Ala
 1070 1075 1080
 Lys Thr Gly Phe Tyr Asn Asp Gly Lys Gly Ile Val Tyr Tyr Thr
 1085 1090 1095
 Thr Ala Gly Asn Lys Ala Arg Ser Ala Phe Val Thr Glu Ala Gly
 1100 1105 1110
 Asn Thr Tyr Tyr Phe Asp Tyr Thr Gly His Met Val Thr Gly Pro
 1115 1120 1125
 Asn Val Ile Asn Thr Lys Phe Tyr Tyr Phe Leu Pro Asn Gly Ile
 1130 1135 1140
 Met Leu Lys Asp Ala Ile Lys Gln Asp Glu Lys Gly Arg Ser Val
 1145 1150 1155
 Tyr Tyr Gly Lys Thr Gly Val Met Tyr Lys Gly Gly Arg Asp Asn
 1160 1165 1170
 Glu Trp Phe Ala Met Thr Asp Ser Lys Gly Gln Met Arg Phe Arg
 1175 1180 1185
 His Phe Asp Arg Tyr Gly Phe Met Ser Ile Gly Leu Val Thr Ile
 1190 1195 1200
 Asn Gln Asn Val Gln Tyr Tyr Asp Glu Asn Gly Phe Gln Val Lys
 1205 1210 1215
 Gly Glu Phe Val Thr Asp Gln Asp Gly Gln Thr Arg Tyr Phe Asp
 1220 1225 1230
 Gln Gly Ser Gly Asn Leu Val Lys Gly Gln Phe Leu Asn Lys Asp
 1235 1240 1245
 Gly Asn Trp Tyr Tyr Leu Asp Asp Gln Gly Leu Val Ala Lys Gly
 1250 1255 1260
 Ala Gln Thr Ile Lys Gly Gln Lys Leu Tyr Phe Asp Thr Lys Thr

	1265					1270					1275			
Gly	Val	Gln	Val	Lys	Gly	Asp	Phe	Val	Thr	Asp	Lys	Asp	Gly	Asn
	1280					1285					1290			
Thr	Phe	Phe	Tyr	Ser	Gly	Asp	Thr	Gly	Asp	Leu	Ile	Leu	Gly	Gln
	1295					1300					1305			
Phe	Phe	Ser	Thr	Gly	Asn	Asn	Ala	Trp	Phe	Tyr	Ala	Asp	Glu	Asn
	1310					1315					1320			
Gly	His	Val	Ala	Lys	Gly	Ala	Lys	Thr	Ile	Arg	Gly	Gln	Lys	Leu
	1325					1330					1335			
Tyr	Phe	Asp	Thr	Lys	Thr	Gly	Gln	Gln	Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Ile
	1340					1345					1350			
Arg	Asp	Asp	Lys	Gly	Val	Arg	Tyr	Tyr	Asp	Ala	Asp	Thr	Gly	Thr
	1355					1360					1365			
Leu	Val	Thr	Asn	Ala	Phe	Leu	Glu	Thr	Lys	Ala	Gly	Ser	Asn	Gln
	1370					1375					1380			
Trp	Tyr	Tyr	Met	Gly	Ala	Asp	Gly	Tyr	Ala	Val	Lys	Gly	Asn	Gln
	1385					1390					1395			
Thr	Ile	Lys	Asn	Gln	His	Met	Tyr	Phe	Asp	Ala	Glu	Thr	Gly	Gln
	1400					1405					1410			
Gln	Ala	Lys	Gly	Ile	Ile	Val	Thr	Asp	Ala	Asn	Gly	Arg	Lys	Tyr
	1415					1420					1425			
Phe	Tyr	Asp	Thr	Phe	Thr	Gly	Ser	Arg	Val	Val	Asn	Gln	Phe	Val
	1430					1435					1440			
Leu	Val	Asn	Gly	Asn	Trp	Tyr	Phe	Phe	Gly	Tyr	Asp	Gly	Ala	Ala
	1445					1450					1455			
Val	Thr	Gly	Phe	His	Asp	Ile	Lys	Gly	Gln	His	Leu	Tyr	Phe	Asn
	1460					1465					1470			
Ser	Asp	Gly	Thr	Gln	Ala	Lys	Gly	Thr	Thr	Val	Lys	Ile	Gly	Asn
	1475					1480					1485			
Arg	Ser	Tyr	Thr	Phe	Asp	Ala	His	Thr	Gly	Glu	Leu	Thr	Ser	Val
	1490					1495					1500			
His	Tyr	Gly												
	1505													

<210> 13
 <211> 1465
 5 <212> PRT
 <213> Streptococcus sobrinus

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 10 <222> (1)..(1465)
 <223> maduro 2920 gtf

<400> 13

ES 2 784 327 T3

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

ES 2 784 327 T3

Val Asp Gly Gln Met Leu Tyr Phe Asp Ala Lys Thr Gly Ala Leu Ser
145 150 155 160
Ser Thr Ser Thr Tyr Ser Phe Ser Gln Gly Leu Thr Pro Ile Val Ser
165 170 175
Asp Phe Ser Val Asn Asn Lys Ala Phe Asp Ser Ser Glu Lys Ser Phe
180 185 190
Glu Leu Val Asp Gly Tyr Leu Thr Ala Glu Ser Trp Tyr Arg Pro Ala
195 200 205
Lys Ile Leu Glu Asn Gly Lys Thr Trp Val Asp Ser Lys Glu Thr Asp
210 215 220
Leu Arg Pro Val Leu Met Ser Trp Trp Pro Asn Lys Asp Thr Gln Val
225 230 235 240
Ala Tyr Leu Asn Tyr Met Ser Lys Ala Leu Gly Gly Lys Glu Glu Phe
245 250 255
Thr Thr Glu Thr Ser Gln Leu Thr Leu Asn Thr Ala Ala Glu Leu Ile
260 265 270
Gln Ala Lys Ile Glu Ala Arg Val Ser Lys Glu Gln Gly Thr Lys Trp
275 280 285
Leu Arg Glu Ala Met Ala Ala Phe Val Ala Thr Gln Ser Arg Trp Asn
290 295 300
Lys Asp Ser Glu Gln Tyr Asp Lys Ala Asp His Leu Gln Gly Gly Ala
305 310 315 320
Leu Leu Tyr Thr Asn Asn Asn Leu Thr Glu Trp Ala Asn Ser Asn Trp
325 330 335
Arg Leu Leu Asn Arg Thr Pro Thr Arg Gln Asp Gly Lys Thr His Tyr
340 345 350
Ser Lys Ala Asp Lys Tyr Gly Gly Tyr Glu Phe Leu Leu Ala Asn Asp
355 360 365
Val Asp Asn Ser Asn Pro Val Val Gln Ala Glu Met Leu Asn Gln Ile
370 375 380
His Tyr Leu Met Asn Trp Gly Glu Ile Val Met Gly Asp Lys Asn Ala
385 390 395 400
Asn Phe Asp Gly Ile Arg Val Asp Ala Val Asp Asn Val Asn Ala Asp
405 410 415
Thr Leu Gln Leu Tyr Thr Asn Tyr Phe Asn Ser Val Tyr Gly Val Asn
420 425 430
Lys Ser Glu Ala Gln Ala Leu Ala His Ile Ser Val Leu Glu Ala Trp
435 440 445
Ser Tyr Asn Asp Asn Asp Tyr Asn Gln Asp Thr Asn Gly Ala Ala Leu
450 455 460
Ala Met Asp Asn Gly Leu Arg Phe Ser Leu Leu Tyr Thr Leu Thr Arg
465 470 475 480
Pro Ile Asn Glu Arg Thr Pro Gly Met Ser Thr Leu Ile Lys Ser Glu
485 490 495
Tyr Gly Leu Thr Asp Arg Thr Lys Asn Asp Lys Tyr Gly Asp Thr Gln
500 505 510
Pro Ser Tyr Val Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln Thr Val
515 520 525
Ile Ala Gln Ile Ile Lys Glu Lys Ile Asp Pro Thr Thr Asp Gly Phe
530 535 540
Thr Phe Thr Leu Asp Gln Leu Lys Gln Ala Phe Glu Ile Tyr Asn Lys
545 550 555 560
Asp Met Asn Ser Val Asn Lys His Tyr Thr His Tyr Asn Ile Pro Ala
565 570 575
Ala Tyr Ala Val Met Leu Ser Asn Met Glu Ser Val Thr Arg Val Tyr
580 585 590
Tyr Gly Asp Leu Phe Thr Asp Asp Gly Gln Tyr Met Ala Ser Lys Ser
595 600 605
Pro Tyr Tyr Asp Ala Ile Asn Thr Leu Leu Arg Ala Arg Ile Arg Tyr
610 615 620
Ala Ala Gly Gly Gln Ile Met Glu His Asn Ser Tyr Lys Pro Ser Ala
625 630 635 640
Ala Met Lys Ala Ala His Pro Asp Ala Gly Asn Val Leu Gly Asn Ser

Met	Arg	Phe	Arg	His	Phe	Asp	Arg	Tyr	Gly	Phe	Met	Ser	Ile	Gly
1145						1150					1155			
Leu	Val	Thr	Ile	Asn	Gln	Asn	Val	Gln	Tyr	Tyr	Asp	Glu	Asn	Gly
1160						1165					1170			
Phe	Gln	Val	Lys	Gly	Glu	Phe	Val	Thr	Asp	Gln	Asp	Gly	Gln	Thr
1175						1180					1185			
Arg	Tyr	Phe	Asp	Gln	Gly	Ser	Gly	Asn	Leu	Val	Lys	Gly	Gln	Phe
1190						1195					1200			
Leu	Asn	Lys	Asp	Gly	Asn	Trp	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Asp	Gln	Gly	Leu
1205						1210					1215			
Val	Ala	Lys	Gly	Ala	Gln	Thr	Ile	Lys	Gly	Gln	Lys	Leu	Tyr	Phe
1220						1225					1230			
Asp	Thr	Lys	Thr	Gly	Val	Gln	Val	Lys	Gly	Asp	Phe	Val	Thr	Asp
1235						1240					1245			
Lys	Asp	Gly	Asn	Thr	Phe	Phe	Tyr	Ser	Gly	Asp	Thr	Gly	Asp	Leu
1250						1255					1260			
Ile	Leu	Gly	Gln	Phe	Phe	Ser	Thr	Gly	Asn	Asn	Ala	Trp	Phe	Tyr
1265						1270					1275			
Ala	Asp	Glu	Asn	Gly	His	Val	Ala	Lys	Gly	Ala	Lys	Thr	Ile	Arg
1280						1285					1290			
Gly	Gln	Lys	Leu	Tyr	Phe	Asp	Thr	Lys	Thr	Gly	Gln	Gln	Ala	Lys
1295						1300					1305			
Gly	Arg	Phe	Ile	Arg	Asp	Asp	Lys	Gly	Val	Arg	Tyr	Tyr	Asp	Ala
1310						1315					1320			
Asp	Thr	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Asn	Ala	Phe	Leu	Glu	Thr	Lys	Ala
1325						1330					1335			
Gly	Ser	Asn	Gln	Trp	Tyr	Tyr	Met	Gly	Ala	Asp	Gly	Tyr	Ala	Val
1340						1345					1350			
Lys	Gly	Asn	Gln	Thr	Ile	Lys	Asn	Gln	His	Met	Tyr	Phe	Asp	Ala
1355						1360					1365			
Glu	Thr	Gly	Gln	Gln	Ala	Lys	Gly	Ile	Ile	Val	Thr	Asp	Ala	Asn
1370						1375					1380			
Gly	Arg	Lys	Tyr	Phe	Tyr	Asp	Thr	Phe	Thr	Gly	Ser	Arg	Val	Val
1385						1390					1395			
Asn	Gln	Phe	Val	Leu	Val	Asn	Gly	Asn	Trp	Tyr	Phe	Phe	Gly	Tyr
1400						1405					1410			
Asp	Gly	Ala	Ala	Val	Thr	Gly	Phe	His	Asp	Ile	Lys	Gly	Gln	His
1415						1420					1425			
Leu	Tyr	Phe	Asn	Ser	Asp	Gly	Thr	Gln	Ala	Lys	Gly	Thr	Thr	Val
1430						1435					1440			
Lys	Ile	Gly	Asn	Arg	Ser	Tyr	Thr	Phe	Asp	Ala	His	Thr	Gly	Glu
1445						1450					1455			
Leu	Thr	Ser	Val	His	Tyr	Gly								
1460						1465								

<210> 14

<211> 4398

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2920 gtf con secuencia de señal heteróloga

10

<400> 14

ES 2 784 327 T3

gatgacctgg	cgaaggaaca	agcagccgcc	tcacagcaaa	aagcagcggc	taaccagaat	60
gaagacgaag	ttgcatcaga	tgcagccgat	acagctagcg	ccaagccac	gtcagagaaa	120
gaagtggttc	agtcaagcga	tacaaactca	gaaacaaatc	aggttgagac	gaaagaccaa	180
gcatcagcta	aggagagcgc	agacgcagtc	gcgaaacaag	ctcctcaagc	aggaccggca	240
acaacgtcac	aggtcgccag	ctcagagagc	agcagcgtgg	caccgagcaa	ggaggctgac	300
aaggctgccg	caggctcagt	ctcacagaac	gaggaggagg	cagcccttc	acttgccaac	360
atcaagaaga	ttgacggaaa	atactattac	gttatggccg	atggaagcta	caagaaaaac	420
tttgcgatta	cggttgatgg	acagatgctt	tactttgacg	caaaaacagg	cgcactttca	480
tcaacgagca	cgtatagctt	ttcacaaggc	ctgacgccga	ttgtctcaga	ctttagcgtg	540

aacaataagg	ctttcgattc	atcagaaaag	tcatttgaac	ttgtggacgg	ctacctgaca	600
gccgaaagct	ggtacagacc	ggccaaaatc	ctggaaaacg	gaaagacgtg	ggtcgactca	660
aaagaaacag	atcttagacc	tgctctgatg	tcattggtggc	cgaacaaaga	cacacaagtc	720
gcataatctga	attacatgtc	aaaagctctg	ggaggcaaag	aagagtttac	gacagagaca	780
tcacaactga	cactgaatac	agcggcagaa	cttatccagg	cgaagatcga	agctagagtg	840
agcaaagagc	agggcacaaa	atggctgaga	gaagcaatgg	cagcatttgt	ggcgacgcaa	900
tcaagatgga	ataaagattc	agagcaatat	gataaagcag	atcatcttca	aggcggagct	960
ctgctgtaca	caaacaacaa	ccttacagaa	tgggctaatt	caaattggag	actgcttaat	1020
agaacaccga	cgagacagga	tggaaaaaca	cattactcaa	aggcagataa	gtatggcggg	1080
tatgagtttc	tgctggctaa	tgatgtcgat	aactcaaate	cggttgtcca	agctgaaatg	1140
cttaacccaaa	ttcattatct	tatgaattgg	ggcgaaattg	ttatgggcca	taagaatgct	1200
aacttcgacg	gaatcagagt	tgatgcagtt	gacaacgtta	atgcagatac	actgcagctt	1260
tatacaaat	actttaatag	cgtttatgga	gtcaacaagt	cagaagcaca	ggcccttgca	1320
catatttcag	tccttgaggc	atggctcatat	aatgataacg	actataatca	ggatacgaat	1380
ggcgacgac	ttgcgatgga	taatggcctg	agattctcac	ttctgtatac	ggttacaaga	1440
ccgattaatg	aaagaacgcc	tggcatgagc	acactgatta	agagcgaata	cggactgacg	1500
gatagaacga	aaaacgacaa	gtacggcgac	acgcaacctt	gctatgtctt	cgtagagaca	1560
catgatagcg	aggttcaaac	ggttattgcc	caaattatca	aggagaaaat	cgatcctaca	1620
acagatggct	ttacatttac	gctggatcaa	ctgaagcaag	ccttcgaaat	ctataacaag	1680
gacatgaact	cagtgaataa	gcactacacg	cattacaata	ttcctgctgc	atagcgtgtt	1740
atgctgagca	acatggaaag	cgtgacaaga	gtgtactacg	gcgacctttt	tacggatgac	1800
ggccagtata	tggcaagcaa	gtcaccttat	tatgatgcta	tcaatacact	tcttagagcg	1860
agaattagat	acgccgctgg	aggacaaatc	atggaacata	attcatataa	gccgagcgcc	1920
gcaatgaaag	ctgcacaccc	ggacgcggc	aacgtcctgg	gcaattcaga	ggtcctggtc	1980
tcagtgagat	tcggccaaga	cgtgatgtca	gcagatgata	tgacaggcgg	aaaactgctg	2040
aaaacatcag	gcatgtttac	gcttattagc	aataaccggg	aactggaact	tgacgttaat	2100
gaggagatca	aagtgaatgt	gggcaaatc	catgctggac	aagcttatag	accgcttctg	2160
cttacaacag	ataagggact	tcagaagtac	cttaatgatt	cagacacaaa	actgacgaag	2220
atcgctgaca	aagacggatt	cattacattc	aaaggatcag	aaattaaggg	ctataaacia	2280
gttgagggtta	atggctacct	ttcagtttgg	gtcccggttg	gcttaaaagc	agaccaagat	2340
attagatgtt	ccccgagcac	agccgcaaaa	ggagaaaagg	ctaaaacgta	tacagatca	2400
caggctctgg	aatcacagct	tatctatgaa	ggcttctcaa	actttcaaga	ctttgtcaa	2460
aaagatagcc	aatatacgaa	taagaaaatt	gcagagaaca	cagacctggt	taaagcatgg	2520
ggagttacgt	cattcgagat	ggctcctcaa	tatgtagcgg	caacggatgg	cacattcctg	2580
gattcaatca	ttgaaaacgg	ctatgcattc	acagacagat	acgaccttgc	tatgagcaag	2640
aataacaaat	atggatcaaa	agaggatctg	gctaacgcac	ttaaggcact	tcacgcagct	2700
ggcattcaag	ctattgcgga	ttgggtgcct	gaccaaatct	accaactgcc	gggcaaaag	2760
gttgtgacag	ccagcagagt	ggataaactat	ggcagagtta	aggtggacca	gccgcttgtc	2820
gagaagctgt	atctggcgaa	tcagaaatca	tcaggaaaag	atctccaggc	taagtacggc	2880
ggagagttcc	ttgcggagct	gcagaagaaa	taccgggaga	tgctcacgac	aaaaatgatc	2940
agcacaggaa	agacaatcga	cccgtcagtg	aagctgaaag	agtggtcagc	caagtacttc	3000
aatggaacga	acgtgctgga	tagaggcaca	gactatattc	ttagcgatga	gggaacggga	3060
aagtatttca	cagtcaacga	gaagggcgat	ttcctgcctg	cgagccttac	aggcaacaag	3120
gatgccaaaa	caggctttta	caatgacgga	aaaggaattg	tttactacac	aacagctgga	3180
aacaaggcta	gaagcgcggt	cgtgacagag	gctggcaaca	catactatct	cgactatacg	3240
ggccacatgg	tgacaggacc	gaatgttatc	aacacgaagt	tctattactt	tcttcctaac	3300
ggcatcatgc	tgaaggacgc	aattaagcaa	gatgaaaagg	gaagaagcgt	ttattacggc	3360
aagacaggag	ttatgtacaa	ggcgggcaga	gataacgaat	ggtttgcaat	gacagactca	3420
aagggacaga	tgagatttag	acatttcgat	agatatggct	tcatgtcaat	tggacttggt	3480
acaatcaacc	agaatgttca	atactatgat	gagaatggct	ttcaggtgaa	aggcgaattt	3540
gtcacagatc	aggatggaca	aacgagatac	ttcgaccaag	gctcaggcaa	tcttggttaa	3600
ggacagtttc	ttaacaaaga	tggaaattgg	tattatctgg	atgatcaagg	actggttgct	3660
aaaggagctc	aaacgattaa	aggccaaaaa	ctgtatcttg	atacgaagac	gggctgacag	3720
gtaaggggag	atcttctgac	ggacaaggac	ggcaatacat	tcttctatag	cggagatacg	3780
ggagatctga	attctgtgca	attcttttca	acgggcaata	atgcatgggt	ttatgcggac	3840
gagaacggag	acgtcgccaa	aggcgcaaaa	acaatcagag	gacagaagct	ttacttcgat	3900
acaaaaacgg	gacaacaagc	caagggcaga	ttcatcagag	acgacaaggg	agtcagatac	3960
tacgatgcag	acacggggac	actggttaca	aacgcatttc	tggagacgaa	ggcgggaagc	4020
aatcagtggt	actacatggg	cgctgatgga	tatgccgtga	agggaaacca	gacgatcaag	4080
aaccagcata	tgtactttga	cgctgaaaca	ggacagcaag	ctaaggggat	catcgttacg	4140
gacgcgaacg	gcagaaaata	cttctatgac	acgtttacgg	gctcaagagt	tgttaatcaa	4200
ttcgttcttg	tgaacggaaa	ctggtacttt	tttgatacag	atggagcagc	agttacagga	4260
ttccacgata	tcaagggcca	acatctttat	ttcaactcag	acggaacgca	agcgaaggc	4320

ES 2 784 327 T3

```
acgacagtta agatcggaaa tagaagctac acattcgacg cacacacagg cgagcttaca 4380
tcagtccatt acggatga 4398
```

<210> 15

<211> 4360

5 <212> ADN

<213> Streptococcus downei

<400> 15

ES 2 784 327 T3

atgattttca	tggaaagaaa	attacattac	aaattacaca	aggtaagaaa	gcagtgggtg	60
accatcgctg	tcgcctctgc	tggtttggcc	agcgtagctg	gtgctggctc	cttgagccaa	120
accgtttctg	ctgacgatct	tgctaaggac	caagcggcag	cgactgagca	aaaggcatca	180
gccaatcagg	aaaaagaaga	agtagtttct	gatcaggttg	acacgaccag	tgccaaagca	240
acctctgaga	aggaagttgc	tcaagcttcg	gacactagtt	cagaagccaa	ccaagttcca	300
gcccagaag	aaaagaaggc	tgaaaaggca	gctgctcctg	cgacagcgac	accagctcca	360
cagactggtg	caaaaaacag	ccaaacagct	agttcagaag	caccagcgac	aagcaatcaa	420
gcaagtgaga	tcaagaagat	tgatggaaag	tattactatg	ttatggcaga	cggtcttat	480
cttgataata	tcgaagaagat	tgatggaaag	tattactatg	ttatggcaga	cggtcttat	540
aagaagaact	ttgccattac	tgttgatggg	caaatgcttt	actttgatgc	caaaacagggt	600
gccctgtctt	caacctctac	ctattctttc	agtcaagggt	tgacaccaat	tgtttctgat	660
ttctcagtca	acaataaggc	tttcgattct	tctgaaaaga	gttttgaact	ggtagatggt	720
tacctgacag	ctgaaagctg	gtaccgtcct	gctaagattc	ttgaaaatgg	caagacctgg	780
gtggactcca	aagaaactga	ccttcgtcca	gttctcatga	gctgggtggc	aaacaaggat	840
accgaagtgg	cctaacctcaa	ctatatgtcc	aaggcgcttg	gtggcaagga	agagtttaca	900
acagaaaact	ctcaaacac	cttgaatcac	gctgctgagt	tgattcaaac	caagattgaa	960
gctcgtat	ctaaggaaca	agggaccaa	tggcttcgtg	aagctatggc	tgcttttgta	1020
gcgactcagt	ctcgttggag	ttacgctagt	gagcaatttg	ataaaaacga	ccacttgcaa	1080
ggtggtgctc	tcttttatac	taataataaa	tgacccaat	gggcagattc	taactatcgt	1140
ttgcttaacc	gcaccctac	ccgacaggat	ggcaagcctc	attattctaa	agctgacgaa	1200
tacggtgggt	acgaattcct	cttggcta	gacgtggata	actccaacc	agtcgttcaa	1260
gcggaatgc	tcaaccaa	ccactacctg	atgaactggg	gctctattgt	catgaatgac	1320
aagatgcca	actttgatgg	tgccgtgtg	gatgcggtgg	ataatgtcaa	tgccgatacc	1380
ctgcaactct	acactaacta	ttttaattcg	gtttatgggt	tcaacaagtc	agaagcccaa	1440
gccctagctc	acatttcagt	attagaagct	tggtcttata	atgataatga	ctataaccaa	1500
gataccaatg	gtgoggcctt	ggctatggac	aatggctctac	gcttctccct	gctttataacc	1560
ctgacacgtc	cacttaatga	gcgactcct	ggtatgtcaa	ccttgattaa	gtcacaatat	1620
ggtttgactg	accggaccaa	ggatgacaag	tatggcgata	ctcagccatc	ctatgtcttt	1680
gttcgggtc	atgactcaga	agtgcaaacc	gttattgocg	aaatcatcaa	gaaaaaaatt	1740
gatccaacga	ctgatggcctt	taccttcacc	ttggaccaat	tgaaacaggc	ctttgacatc	1800
tacaataag	atagaaatag	tgttgataag	cactataacc	actacaatat	caccagcacc	1860
tacgctgtta	tgttgtccaa	catggaatca	gtaactcggg	tttactatgg	agacctcttt	1920
accgatgatg	gtcaatacat	ggaaaccaag	tctccttact	acgatgctat	caataccctc	1980
cttagggccc	ggattcgtta	cgccgctgg	ggtcaaacca	tggaacacaa	ttcctataag	2040
gcatcagcag	ctatgaaagc	taaaaatcct	gatagtggtg	gtgtgcttgg	caacagcgaa	2100
gttcttgtct	ctgttcgttt	tggtcaagat	gtgatgtctg	ctgacgatat	gactgggtgg	2160
aagctggcta	aaacctctgg	tatggtcagc	ctgatttcca	acaaccctga	attagaattg	2220
gatgccaatg	aagaaatcag	ggtcaatggt	ggtaaagattc	atgctgggtca	aacctaccgt	2280
ccattgcttt	tgacaaccga	taagggtctg	caaaagtacc	tcaatgattc	tgataactaag	2340
ctgaccaagg	ttgocgataa	ggatggttat	atcaccttca	agggcagtg	aatcaagggc	2400
tacaagcagg	ttgaagtcaa	tggttacctt	tctgtttggg	taccagtcgg	cgcaaaggca	2460
gatcaagata	ttcgtgtggc	agcttcaact	aagggttaatg	gtaaggatga	caagacttat	2520
acagctagtc	aagccttaga	atcacaatta	atctacgaag	gtttctcaaa	cttccaagat	2580
ttcgttaaga	aggactccca	atataccaat	aagaagattg	ctgaaaatac	cgacctcttt	2640
aaggcctggg	gcgtgacctc	atgtgaaatg	gcgccacaat	acgtttccgc	aactgatggt	2700
acctcctgg	attctattat	tgaaaatggt	tatgccttca	ccgaccgtta	tgaccttgcc	2760
atgagcaaga	acaacaagta	cggttctaag	gaagacttgg	ccaatgctct	taaggccctc	2820
cacgctgctg	gtatccaagc	tatcgcagac	tgggttccag	accaaattta	ccaactccca	2880
ggtaaggaag	tggttaactgc	aagtcgtggt	gataactatg	gccgtgttaa	gattgaccaa	2940
ccattggttg	aaaaacttta	cttggccaat	accaagagct	caggaaaaga	cttccaggct	3000
aaataggtg	gtgaattctt	agaagacctg	caaaagcaat	accctgaaat	gtttaccgct	3060
aagatgattt	caaccggtaa	aaccattgat	ccatctgtca	aattgaagga	atggtcagct	3120
aagtacttga	acggaacaaa	tgttctgggt	cgtggtacag	actatgtcct	cagcgatgaa	3180
ggaactggca	aatacttcac	tgtaatgaa	aagggtgact	tcctaccagc	agccctgaca	3240

ES 2 784 327 T3

ggtgatagg	aagccaagac	tggtttctac	aatgatggta	agggaaatgac	ctactataca	3300
acggctggta	acaaggctaa	atctgccttt	gtaaccgtag	ctggaaatac	ctattacttt	3360
gactatactg	gttatatggt	aacaggacca	aacacgatta	acagcaaatt	ctattacttc	3420
ctgccaaatg	gggtaatgct	caaggatgct	attaagcaag	atgagttggg	ccgttcgggt	3480
tactatggta	aaactggtac	catgtacaag	gcgacagata	aatctcaatg	gtttgccatg	3540
accgactcta	aggggtcaaca	acgcttcctg	cactttgacc	gcttcgggat	catgtctgta	3600
ggactgggta	ccatcaatgg	tagtgttcaa	tattacgatg	aagaaggctt	ccaagttaag	3660
ggcgaatttg	tactgataa	ggatgggtaa	acccgttact	ttgacgaagg	ttctggtaat	3720
ctggttaagg	accgcttcct	caataaggat	ggcaagtggg	actatcttga	tgataaaggc	3780
ttgctgggca	agggggctca	aaccattaag	ggtcaaaaaac	tctactttga	caccaagacc	3840
ggtgcccaag	tcaaggggta	ctttggtgcc	gacaaggatg	gcaacctgac	cttctatagt	3900
ggtgatagtg	gtcaaagtgt	tcaaagtgat	ttcttctcaa	caggaaataa	tgcttggttc	3960
tatgccgatg	aaaatggtca	tgctgctaag	ggagctaaga	ctatcagagg	tcagaagctc	4020
tactttgata	caaaaacagg	tcagcaagct	aagggacgct	ttatccgtga	tgacaagggg	4080
gttcggttact	atgatgctga	cacaggtgcc	ttggtaacca	acgctttcct	tgaaactaag	4140
gctggttcta	accaatggta	ttacatggga	gcagatggtt	atgctgtcaa	ggggaaccag	4200
accataaaaa	atcagcacat	gtatttgat	gctgaaactg	gccaacaagc	taagggaatt	4260
atagtgcag	atgccaatgg	tcgcaagtat	ttctatgata	cttttactgg	cagtcgtggt	4320
gtaaaccaat	ttgttttggg	taatggaaat	tggtatcttct			4360

<210> 16

5 <211> 1453

<212> PRT

<213> Streptococcus downei

<400> 16

ES 2 784 327 T3

Met Ile Phe Met Glu Arg Lys Leu His Tyr Lys Leu His Lys Val Lys
 1 5 10 15
 Lys Gln Trp Val Thr Ile Ala Val Ala Ser Ala Gly Leu Ala Ser Val
 20 25 30
 Val Gly Ala Gly Ser Leu Ser Gln Thr Val Ser Ala Asp Asp Leu Ala
 35 40 45
 Lys Asp Gln Ala Ala Ala Thr Glu Gln Lys Ala Ser Ala Asn Gln Glu
 50 55 60
 Lys Glu Glu Val Val Ser Asp Gln Val Asp Thr Ser Ala Lys Ala
 65 70 75 80
 Thr Ser Glu Lys Glu Val Ala Gln Ala Ser Asp Thr Ser Ser Glu Ala
 85 90 95
 Asn Gln Val Pro Ala Gln Glu Glu Lys Lys Ala Glu Lys Ala Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ala Thr Ala Thr Pro Ala Pro Gln Thr Gly Ala Lys Asn Ser Gln
 115 120 125
 Thr Ala Ser Ser Glu Ala Pro Ala Thr Ser Asn Gln Ala Ser Glu Thr
 130 135 140
 Ala Glu Thr Gly Ala Leu Ser Gln Lys Glu Glu Ala Ala Val Leu Ser
 145 150 155 160
 Leu Asp Asn Ile Lys Lys Ile Asp Gly Lys Tyr Tyr Tyr Val Met Ala
 165 170 175
 Asp Gly Ser Tyr Lys Lys Asn Phe Ala Ile Thr Val Asp Gly Gln Met
 180 185 190
 Leu Tyr Phe Asp Ala Lys Thr Gly Ala Leu Ser Ser Thr Ser Thr Tyr
 195 200 205
 Ser Phe Ser Gln Gly Leu Thr Pro Ile Val Ser Asp Phe Ser Val Asn
 210 215 220
 Asn Lys Ala Phe Asp Ser Ser Glu Lys Ser Phe Glu Leu Val Asp Gly
 225 230 235 240
 Tyr Leu Thr Ala Glu Ser Trp Tyr Arg Pro Ala Lys Ile Leu Glu Asn
 245 250 255
 Gly Lys Thr Trp Val Asp Ser Lys Glu Thr Asp Leu Arg Pro Val Leu
 260 265 270
 Met Ser Trp Trp Pro Asn Lys Asp Thr Gln Val Ala Tyr Leu Asn Tyr
 275 280 285
 Met Ser Lys Ala Leu Gly Gly Lys Glu Glu Phe Thr Thr Glu Thr Ser

ES 2 784 327 T3

	1280		1285		1290									
Gly	Asn	Leu	Thr	Phe	Tyr	Ser	Gly	Asp	Ser	Gly	Gln	Met	Val	Gln
	1295					1300					1305			
Ser	Asp	Phe	Phe	Ser	Thr	Gly	Asn	Asn	Ala	Trp	Phe	Tyr	Ala	Asp
	1310					1315					1320			
Glu	Asn	Gly	His	Val	Ala	Lys	Gly	Ala	Lys	Thr	Ile	Arg	Gly	Gln
	1325					1330					1335			
Lys	Leu	Tyr	Phe	Asp	Thr	Lys	Thr	Gly	Gln	Gln	Ala	Lys	Gly	Arg
	1340					1345					1350			
Phe	Ile	Arg	Asp	Asp	Lys	Gly	Val	Arg	Tyr	Tyr	Asp	Ala	Asp	Thr
	1355					1360					1365			
Gly	Ala	Leu	Val	Thr	Asn	Ala	Phe	Leu	Glu	Thr	Lys	Ala	Gly	Ser
	1370					1375					1380			
Asn	Gln	Trp	Tyr	Tyr	Met	Gly	Ala	Asp	Gly	Tyr	Ala	Val	Lys	Gly
	1385					1390					1395			
Asn	Gln	Thr	Ile	Lys	Asn	Gln	His	Met	Tyr	Phe	Asp	Ala	Glu	Thr
	1400					1405					1410			
Gly	Gln	Gln	Ala	Lys	Gly	Ile	Ile	Val	Thr	Asp	Ala	Asn	Gly	Arg
	1415					1420					1425			
Lys	Tyr	Phe	Tyr	Asp	Thr	Phe	Thr	Gly	Ser	Arg	Val	Val	Asn	Gln
	1430					1435					1440			
Phe	Val	Leu	Val	Asn	Gly	Asn	Trp	Tyr	Phe					
	1445					1450								

<210> 17

<211> 1409

5 <212> PRT

<213> Streptococcus downei

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <222> (1)..(1409)

<223> maduro 2921 gtf

<400> 17

ES 2 784 327 T3

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

ES 2 784 327 T3

Arg Pro Val Leu Met Ser Trp Trp Pro Asn Lys Asp Thr Gln Val Ala
 225 230 235 240
 Tyr Leu Asn Tyr Met Ser Lys Ala Leu Gly Gly Lys Glu Glu Phe Thr
 245 250 255
 Thr Glu Thr Ser Gln Thr Thr Leu Asn Thr Ala Ala Glu Leu Ile Gln
 260 265 270
 Thr Lys Ile Glu Ala Arg Ile Ser Lys Glu Gln Gly Thr Lys Trp Leu
 275 280 285
 Arg Glu Ala Met Ala Ala Phe Val Ala Thr Gln Ser Arg Trp Ser Tyr
 290 295 300
 Ala Ser Glu Gln Phe Asp Lys Asn Asp His Leu Gln Gly Gly Ala Leu
 305 310 315 320
 Leu Tyr Thr Asn Asn Lys Leu Thr Gln Trp Ala Asp Ser Asn Tyr Arg
 325 330 335
 Leu Leu Asn Arg Thr Pro Thr Arg Gln Asp Gly Lys Pro His Tyr Ser
 340 345 350
 Lys Ala Asp Glu Tyr Gly Gly Tyr Glu Phe Leu Leu Ala Asn Asp Val
 355 360 365
 Asp Asn Ser Asn Pro Val Val Gln Ala Glu Met Leu Asn Gln Ile His
 370 375 380
 Tyr Leu Met Asn Trp Gly Ser Ile Val Met Asn Asp Lys Asp Ala Asn
 385 390 395 400
 Phe Asp Gly Ile Arg Val Asp Ala Val Asp Asn Val Asn Ala Asp Thr
 405 410 415
 Leu Gln Leu Tyr Thr Asn Tyr Phe Asn Ser Val Tyr Gly Val Asn Lys
 420 425 430
 Ser Glu Ala Gln Ala Leu Ala His Ile Ser Val Leu Glu Ala Trp Ser
 435 440 445
 Tyr Asn Asp Asn Asp Tyr Asn Gln Asp Thr Asn Gly Ala Ala Leu Ala
 450 455 460
 Met Asp Asn Gly Leu Arg Phe Ser Leu Leu Tyr Thr Leu Thr Arg Pro
 465 470 475 480
 Leu Asn Glu Arg Thr Pro Gly Met Ser Thr Leu Ile Lys Ser Gln Tyr
 485 490 495
 Gly Leu Thr Asp Arg Thr Lys Asp Asp Lys Tyr Gly Asp Thr Gln Pro
 500 505 510
 Ser Tyr Val Phe Val Arg Ala His Asp Ser Glu Val Gln Thr Val Ile
 515 520 525
 Ala Gln Ile Ile Lys Lys Lys Ile Asp Pro Thr Thr Asp Gly Phe Thr
 530 535 540
 Phe Thr Leu Asp Gln Leu Lys Gln Ala Phe Asp Ile Tyr Asn Lys Asp
 545 550 555 560
 Met Asn Ser Val Asp Lys His Tyr Thr His Tyr Asn Ile Pro Ala Ala
 565 570 575 580
 Tyr Ala Val Met Leu Ser Asn Met Glu Ser Val Thr Arg Val Tyr Tyr
 580 585 590
 Gly Asp Leu Phe Thr Asp Asp Gly Gln Tyr Met Glu Thr Lys Ser Pro
 595 600 605
 Tyr Tyr Asp Ala Ile Asn Thr Leu Leu Arg Ala Arg Ile Arg Tyr Ala
 610 615 620
 Ala Gly Gly Gln Thr Met Glu His Asn Ser Tyr Lys Ala Ser Ala Ala
 625 630 635 640
 Met Lys Ala Lys Asn Pro Asp Ser Gly Ser Val Leu Gly Asn Ser Glu
 645 650 655
 Val Leu Val Ser Val Arg Phe Gly Gln Asp Val Met Ser Ala Asp Asp
 660 665 670
 Met Thr Gly Gly Lys Leu Ala Lys Thr Ser Gly Met Phe Ser Leu Ile
 675 680 685
 Ser Asn Asn Pro Glu Leu Glu Leu Asp Ala Asn Glu Glu Ile Arg Val
 690 695 700
 Asn Val Gly Lys Ile His Ala Gly Gln Thr Tyr Arg Pro Leu Leu Leu
 705 710 715 720
 Thr Thr Asp Lys Gly Leu Gln Lys Tyr Leu Asn Asp Ser Asp Thr Lys

ES 2 784 327 T3

				725						730					735
Leu	Thr	Lys	Val	Ala	Asp	Lys	Asp	Gly	Tyr	Ile	Thr	Phe	Lys	Gly	Ser
			740					745					750		
Glu	Ile	Lys	Gly	Tyr	Lys	Gln	Val	Glu	Val	Asn	Gly	Tyr	Leu	Ser	Val
		755					760					765			
Trp	Val	Pro	Val	Gly	Ala	Lys	Ala	Asp	Gln	Asp	Ile	Arg	Val	Ala	Ala
	770					775					780				
Ser	Thr	Lys	Val	Asn	Gly	Lys	Asp	Asp	Lys	Thr	Tyr	Thr	Ala	Ser	Gln
785					790					795					800
Ala	Leu	Glu	Ser	Gln	Leu	Ile	Tyr	Glu	Gly	Phe	Ser	Asn	Phe	Gln	Asp
				805					810					815	
Phe	Val	Lys	Lys	Asp	Ser	Gln	Tyr	Thr	Asn	Lys	Lys	Ile	Ala	Glu	Asn
			820					825					830		
Thr	Asp	Leu	Phe	Lys	Ala	Trp	Gly	Val	Thr	Ser	Phe	Glu	Met	Ala	Pro
		835					840					845			
Gln	Tyr	Val	Ser	Ala	Thr	Asp	Gly	Thr	Phe	Leu	Asp	Ser	Ile	Ile	Glu
	850					855					860				
Asn	Gly	Tyr	Ala	Phe	Thr	Asp	Arg	Tyr	Asp	Leu	Ala	Met	Ser	Lys	Asn
865					870				875						880
Asn	Lys	Tyr	Gly	Ser	Lys	Glu	Asp	Leu	Ala	Asn	Ala	Leu	Lys	Ala	Leu
				885					890					895	
His	Ala	Ala	Gly	Ile	Gln	Ala	Ile	Ala	Asp	Trp	Val	Pro	Asp	Gln	Ile
			900					905					910		
Tyr	Gln	Leu	Pro	Gly	Lys	Glu	Val	Val	Thr	Ala	Ser	Arg	Val	Asp	Asn
		915					920					925			
Tyr	Gly	Arg	Val	Lys	Ile	Asp	Gln	Pro	Leu	Val	Glu	Lys	Leu	Tyr	Leu
	930					935					940				
Ala	Asn	Thr	Lys	Ser	Ser	Gly	Lys	Asp	Phe	Gln	Ala	Lys	Tyr	Gly	Gly
945					950				955						960
Glu	Phe	Leu	Glu	Asp	Leu	Gln	Lys	Gln	Tyr	Pro	Glu	Met	Phe	Thr	Ala
				965					970					975	
Lys	Met	Ile	Ser	Thr	Gly	Lys	Thr	Ile	Asp	Pro	Ser	Val	Lys	Leu	Lys
			980					985					990		
Glu	Trp	Ser	Ala	Lys	Tyr	Leu	Asn	Gly	Thr	Asn	Val	Leu	Gly	Arg	Gly
		995					1000					1005			
Thr	Asp	Tyr	Val	Leu	Ser	Asp	Glu	Gly	Thr	Gly	Lys	Tyr	Phe	Thr	
	1010					1015					1020				
Val	Asn	Glu	Lys	Gly	Asp	Phe	Leu	Pro	Ala	Ala	Leu	Thr	Gly	Asp	
	1025					1030					1035				
Arg	Glu	Ala	Lys	Thr	Gly	Phe	Tyr	Asn	Asp	Gly	Lys	Gly	Met	Thr	
	1040					1045					1050				
Tyr	Tyr	Thr	Thr	Ala	Gly	Asn	Lys	Ala	Lys	Ser	Ala	Phe	Val	Thr	
	1055					1060					1065				
Val	Ala	Gly	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Thr	Gly	Tyr	Met	Val	
	1070					1075					1080				
Thr	Gly	Pro	Asn	Thr	Ile	Asn	Ser	Lys	Phe	Tyr	Tyr	Phe	Leu	Pro	
	1085					1090					1095				
Asn	Gly	Val	Met	Leu	Lys	Asp	Ala	Ile	Lys	Gln	Asp	Glu	Leu	Gly	
	1100					1105					1110				
Arg	Ser	Val	Tyr	Tyr	Gly	Lys	Thr	Gly	Thr	Met	Tyr	Lys	Ala	Thr	
	1115					1120					1125				
Asp	Lys	Ser	Gln	Trp	Phe	Ala	Met	Thr	Asp	Ser	Lys	Gly	Gln	Gln	
	1130					1135					1140				
Arg	Phe	Arg	His	Phe	Asp	Arg	Phe	Gly	Ile	Met	Ser	Val	Gly	Leu	
	1145					1150					1155				
Val	Thr	Ile	Asn	Gly	Ser	Val	Gln	Tyr	Tyr	Asp	Glu	Glu	Gly	Phe	
	1160					1165					1170				
Gln	Val	Lys	Gly	Glu	Phe	Val	Thr	Asp	Lys	Asp	Gly	Gln	Thr	Arg	
	1175					1180					1185				
Tyr	Phe	Asp	Glu	Gly	Ser	Gly	Asn	Leu	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Leu	
	1190					1195					1200				
Asn	Lys	Asp	Gly	Lys	Trp	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Asp	Lys	Gly	Leu	Leu	
	1205					1210					1215				

Val	Lys	Gly	Ala	Gln	Thr	Ile	Lys	Gly	Gln	Lys	Leu	Tyr	Phe	Asp
	1220					1225					1230			
Thr	Lys	Thr	Gly	Ala	Gln	Val	Lys	Gly	Asp	Phe	Val	Ala	Asp	Lys
	1235					1240					1245			
Asp	Gly	Asn	Leu	Thr	Phe	Tyr	Ser	Gly	Asp	Ser	Gly	Gln	Met	Val
	1250					1255					1260			
Gln	Ser	Asp	Phe	Phe	Ser	Thr	Gly	Asn	Asn	Ala	Trp	Phe	Tyr	Ala
	1265					1270					1275			
Asp	Glu	Asn	Gly	His	Val	Ala	Lys	Gly	Ala	Lys	Thr	Ile	Arg	Gly
	1280					1285					1290			
Gln	Lys	Leu	Tyr	Phe	Asp	Thr	Lys	Thr	Gly	Gln	Gln	Ala	Lys	Gly
	1295					1300					1305			
Arg	Phe	Ile	Arg	Asp	Asp	Lys	Gly	Val	Arg	Tyr	Tyr	Asp	Ala	Asp
	1310					1315					1320			
Thr	Gly	Ala	Leu	Val	Thr	Asn	Ala	Phe	Leu	Glu	Thr	Lys	Ala	Gly
	1325					1330					1335			
Ser	Asn	Gln	Trp	Tyr	Tyr	Met	Gly	Ala	Asp	Gly	Tyr	Ala	Val	Lys
	1340					1345					1350			
Gly	Asn	Gln	Thr	Ile	Lys	Asn	Gln	His	Met	Tyr	Phe	Asp	Ala	Glu
	1355					1360					1365			
Thr	Gly	Gln	Gln	Ala	Lys	Gly	Ile	Ile	Val	Thr	Asp	Ala	Asn	Gly
	1370					1375					1380			
Arg	Lys	Tyr	Phe	Tyr	Asp	Thr	Phe	Thr	Gly	Ser	Arg	Val	Val	Asn
	1385					1390					1395			
Gln	Phe	Val	Leu	Val	Asn	Gly	Asn	Trp	Tyr	Phe				
	1400					1405								

<210> 18

<211> 4230

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2921 gtf con secuencia de señal heteróloga

10

<400> 18

ES 2 784 327 T3

gatgatctgg	caaaggacca	agcggctgcc	acggaacaga	aggcatcagc	gaatcaagaa	60
aaggaggaag	ttgtttcaga	tcaagttgat	acgacaagcg	ccaaagcaac	gtcagaaaaa	120
gaggtggcac	aggctagcga	tacatcatca	gaggccaacc	aggttccggc	ccaagaggaa	180
aagaaagccg	agaaggccgc	agcacctgcg	acagctacgc	cggcaccgca	aacgggagcc	240
aaaaatagcc	aaacagcctc	aagcgaggca	ccggctacat	caaatcaagc	atcagaaacg	300
gcggaacacag	gcgcaactgtc	acaaaaggaa	gaagcagctg	tcctttcact	tgataaatatc	360
aaaaagattg	acggaaaata	ctactatggt	atggctgatg	gatcatataa	gaaaaacttt	420
gcgattacag	tcgatggcca	aatgctgtat	tttgatgcaa	aaacaggagc	tctttcaagc	480
acatcaacat	attcattttc	acaaggcctg	acaccgattg	ttagcgactt	ctcagtcaat	540
aacaaggcat	ttgatagcag	cgagaaatca	ttcgaacttg	tggatggata	tcttacggcc	600
gagagctggt	acagaccggc	aaaaattctg	gagaatggaa	agacgtgggt	tgattcaaaa	660
gagacggacc	ttagaccggt	gctgatgtca	tggtggccga	ataaggatac	gcaggttgcc	720
tacctgaact	atatgtcaaa	agcacttggc	ggcaaagagg	agtttacaac	ggagacatca	780
caaacgacac	ttaacacggc	tgctgaactt	atccagacga	agatcgaggc	aagaattagc	840
aaagaacaag	gaacgaagtg	gcttagagaa	gctatggccg	catttggtgc	tacgcagtca	900
agatggtcat	atgcgtcaga	gcagttcgat	aaaaacgatac	accttcaagg	cgggagcactt	960
ctgtacacaa	ataataagct	gacacaatgg	gctgactcaa	actatagact	gcttaacaga	1020
acgcctacga	gacaggatgg	aaaacctcat	tacagcaaag	cagacgagta	tggaggctat	1080
gagttcctgc	ttgcaaatga	cgtcgataac	tcaaataccgg	tggttcaggc	agagatgctt	1140
aatcaaatc	actatcttat	gaactggggc	tcaattgtta	tgaatgataa	ggacgcgaat	1200
ttcgatggaa	ttagagtgga	tgcggttgac	aatgttaatg	cggacacact	tcaactgtat	1260
acgaattact	ttaaactcagt	ttacggcgtt	aacaaatcag	aagctcaggc	acttgctcat	1320
atcagcgttc	ttgaagcatg	gagctacaac	gacaatgatt	acaatcagga	tacaaatggc	1380
gctgcactgg	ccatggataa	tggacttaga	ttcagccttc	tttacacact	gacaagaccg	1440
cttaacgaga	gaacacctgg	catgtcaaca	cttattaagt	cacaatatgg	ccttacagac	1500
agaacaaaag	acgataagta	cggcgacacg	caaccgtcat	acgtgtttgt	tagagctcac	1560
gacagcgaag	ttcaaacagt	tattgctcag	attattaaga	agaaaattga	tccgacaaca	1620

gacggattca	catttacact	ggaccaactt	aaacaagcct	tcgatatcta	taacaaagat	1680
atgaatagcg	ttgataaaca	ttacacgcac	tacaatattc	ctgcagcata	cgctgtcatg	1740
ctgtcaaaca	tggaatcagt	tacaagagtc	tattatggcg	acctgtttac	agatgacggc	1800
caatatatgg	aaacaaaatc	accgtactat	gacgccatta	atacactgct	gagagccaga	1860
atcagatatg	cagctggcgg	acaaacaatg	gaacacaaca	gctataaggc	gtcagctgcg	1920
atgaaggcga	aaaaccctga	tagcggctca	gtccttggca	attcagaagt	tctggttaag	1980
gtagattttg	gacaagatgt	gatgagcgc	gacgatatga	caggaggcaa	acttgctaag	2040
acgtcaggaa	tgttctcact	gatttcaaat	aatccggaac	tggaacttga	cgctaataaa	2100
gagatcagag	tgaatggttg	aaaaatccat	gccggccaaa	cgtacagacc	tcttctgctt	2160
acgcagagata	agggcctgca	aaagtatctt	aatgactcag	acacgaaact	tacgaaggtt	2220
gcagataaag	atggctatat	tacatttaag	ggctcagaga	ttaaaggcta	taaacaggtt	2280
gaagttaatg	gctacctgag	cgtctgggtg	ccggttggcg	ctaaagcaga	ccaagacatc	2340
agagtgcgag	cttcaacaaa	agtcaatgga	aaggatgata	agacgtacac	ggcaagccaa	2400
gcacttgagt	cacagcttat	ttacgagggc	ttctcaaat	tccaagattt	cgtaagaaa	2460
gattcacaat	atacaataa	gaaaatcgcg	gaaaatacag	atcttttcaa	agcatggggc	2520
gttacatcat	ttgaaatggc	gcctcagtat	gtagcgcgaa	cagatggcac	atcttggat	2580
agcattatcg	agaatggata	tgcaattacg	gatagatatg	acctggccat	gtcaaaaaac	2640
aacaaatac	gatcaaaaga	ggatcttgc	aatgcgctta	aagctctgca	cgcagctggc	2700
attcaagcca	ttgctgattg	ggttcctgat	caaatctacc	aacttcctgg	caaggaggtt	2760
gttacagcat	caagagtcga	caattacggc	agagtgaaga	tcgaccaacc	tctgggtgaa	2820
aagctgtatc	tggtcaacac	aaagagctca	ggcaaagatt	ttcaggcgaa	atatggcggg	2880
gaatttcttg	aagacctgca	gaaacagtat	cctgaaatgt	ttacagcgaa	aatgatttca	2940
acaggaaaaa	cgattgatcc	tagcgttaaa	cttaaggagt	ggtcagccaa	atacctgaat	3000
ggaacaaacg	tgctgggaag	aggcacagat	tatgttcttt	cagatgaggg	aacgggcaaa	3060
tactttacgg	tcaatgagaa	aggcgatttc	ctgccggctg	cacttacagg	cgatagagaa	3120
gcaaagacag	gattctataa	tgacggcaaa	ggcatgacgt	attacacaac	ggccggaaat	3180
aaggcgaaga	gctgcgttcgt	tacagtggcg	ggcaacacat	actactttga	ttatacggga	3240
tatatggtta	caggacctaa	tacaattaac	agcaagtttt	actatcttct	tcctaattggc	3300
gttatgctga	aggatgcaat	taagcaggat	gaacttgcaa	gatcagctca	ctatggcaaa	3360
acgggaacaa	tgtataaggc	aacggataaa	tcacagtggg	tcgccatgac	agatagcaag	3420
ggacaacaga	gattcagaca	ttttgataga	ttcggaatca	tgagcgttgg	acttgtcacg	3480
attaatggaa	gcgtccagta	ttacgacgaa	gaaggctttc	aagttaaggg	agagttcgtg	3540
acggacaaag	atggacagac	gagatatttt	gacgagggaa	gctggcaacct	ggtaaggac	3600
agattcctga	acaaggacgg	aaagtggat	taccttgacg	ataagggact	gcttgtcaag	3660
ggagctcaaa	caatcaaggg	ccagaaactt	tatttcgata	caaaaacagg	agcgcgaagt	3720
aaaggagact	ttgtggctga	taaggatgga	aacctgacgt	tttatagcgg	cgattcagga	3780
caaatggtgc	agtcagactt	ctttagcaca	ggcaacaatg	catggtttta	tgcatagtaa	3840
aacggacatg	ttgcaaaaag	cgcaagaca	atcagaggcc	aaaaactgta	cttcgcacag	3900
aagacgggac	agcaggccaa	gggcagattc	attagagatg	acaaaggcgt	gagatactat	3960
gatgcagaca	caggcgcact	ggtcacaat	gctttcctgg	aaacgaaggc	tggtcaaat	4020
cagtggact	acatgggagc	cgatggatac	gcggtgaagg	gcaaccagac	gatcaagaat	4080
cagcacatgt	actttgacgc	ggagacgggc	caacaagcta	agggcatcat	cgtcacagat	4140
gcaaatggca	gaaagtactt	ctatgacacg	ttcacgggca	gcagagttgt	taaccaattt	4200
gttctggtga	acggcaattg	gtacttttga				4230

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende dextrano, donde el dextrano comprende:
- (i) aproximadamente 87-93 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 6;
 - (ii) aproximadamente 0,1-1,2 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 3;
 - (iii) aproximadamente 0,1-0,7 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 4;
 - (iv) aproximadamente 7,7-8,6 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1, 3 y 6; y
 - (v) aproximadamente 0,4-1,7 %p/p de glucosa unida en:
 - (a) las posiciones 1, 2 y 6, o
 - (b) las posiciones 1, 4 y 6;
- 10 en donde el peso molecular promedio en peso (Mw) del dextrano es de aproximadamente 50-200 millones de Daltons, el radio de giro promedio-z del dextrano es de aproximadamente 200-280 nm.
- 15 2. La composición de la reivindicación 1, donde el dextrano comprende:
- (i) aproximadamente 89,5-90,5 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 6;
 - (ii) aproximadamente 0,4-0,9 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 3;
 - (iii) aproximadamente 0,3-0,5 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1 y 4;
 - (iv) aproximadamente 8,0-8,3 %p/p de glucosa unida en las posiciones 1, 3 y 6; y
 - (v) aproximadamente 0,7-1,4 %p/p de glucosa unida en:
 - (a) las posiciones 1, 2 y 6, o
 - (b) las posiciones 1, 4 y 6.
- 20 3. La composición de la reivindicación 1 o 2, donde el dextrano comprende cadenas unidas entre sí en una estructura ramificada, donde las cadenas tienen una longitud similar y comprenden sustancialmente enlaces alfa-1,6-glucosídicos.
- 25 4. La composición de la reivindicación 3, donde la longitud media de las cadenas es de aproximadamente 10-50 unidades monoméricas.
- 30 5. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde la composición es una composición acuosa que tiene una viscosidad de al menos aproximadamente 25 cPs ($25 \cdot 10^{-3}$ Pa-s).
- 35 6. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el Mw del dextrano es de aproximadamente 80-120 millones de Daltons y/o el radio promedio-z de giro del dextrano es aproximadamente de 230-250 nm.
- 40 7. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde la composición está en la forma de un producto alimenticio, producto de cuidado personal, producto farmacéutico, producto doméstico o producto industrial.
- 45 8. Una reacción enzimática libre de células que comprende agua, sacarosa y una enzima glucosiltransferasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos el 90% a la SEQ ID NO:1 o la SEQ ID NO:2, en donde la enzima glucosiltransferasa sintetiza dextrano según la reivindicación 1.
- 50 9. Un método para producir dextrano según la reivindicación 1, comprendiendo dicho método: poner en contacto al menos agua, sacarosa, y una enzima glucosiltransferasa en una reacción libre de células, en donde la enzima glucosiltransferasa comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en al menos el 90% a la SEQ ID NO:1 o la SEQ ID NO:2, mediante lo cual se produce el dextrano.
- 55 10. El método de la reivindicación 9 que además comprende aislar el dextrano producido en la reacción.
- 60 11. El método de la reivindicación 9 o 10, donde la viscosidad del dextrano producido en el método aumenta disminuyendo la cantidad de sacarosa de la reacción.
- 65 12. Un método para aumentar la viscosidad de una composición acuosa, método que comprende: poner en contacto un dextrano según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o 6 con la composición acuosa, donde la viscosidad de la composición acuosa es incrementada por dicho dextrano, en comparación con la viscosidad de la composición acuosa antes de la etapa de puesta en contacto.
13. Un método para tratar un material, comprendiendo dicho método: poner en contacto un material con una composición acuosa que comprende un dextrano según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o 6.

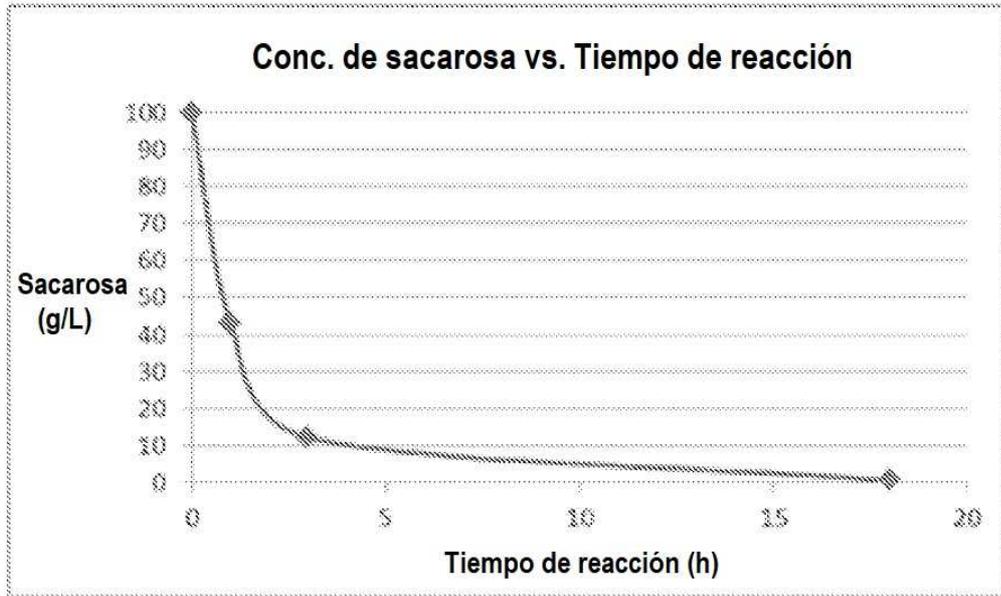


FIG. 1

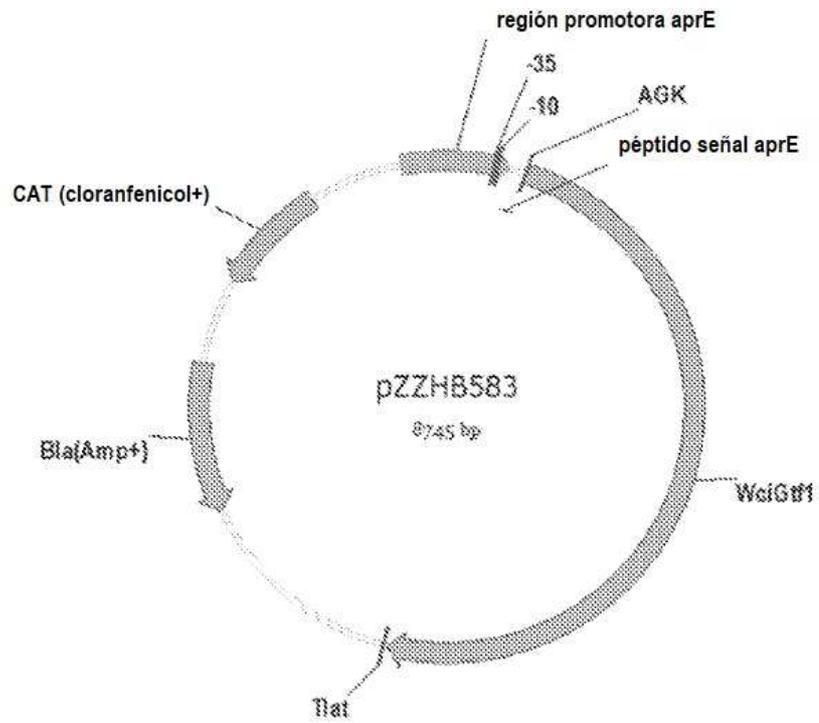


FIG. 2A

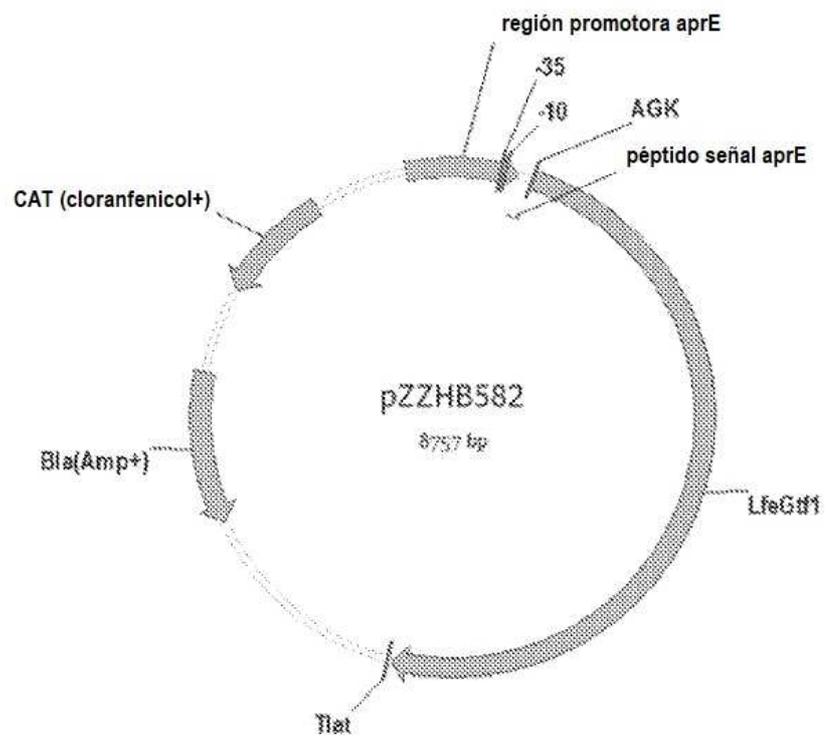


FIG. 2B

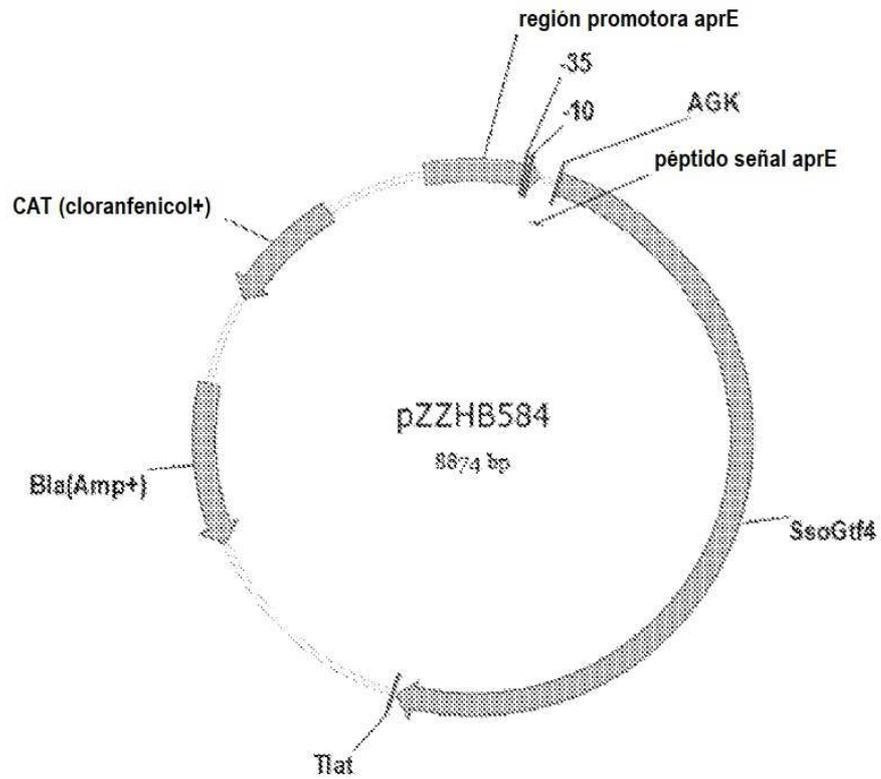


FIG. 2C

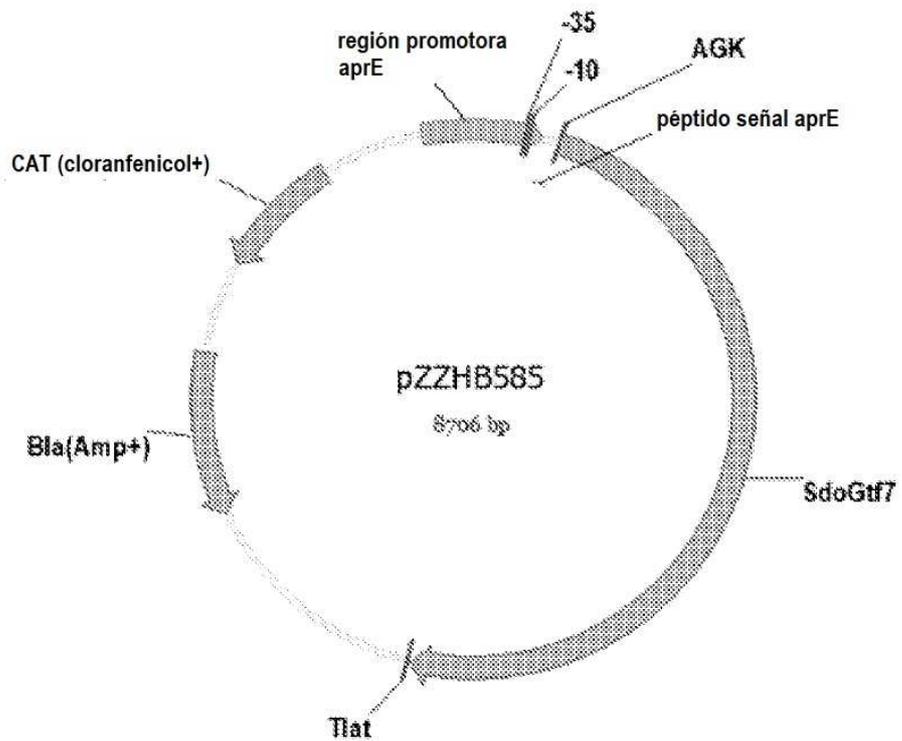


FIG. 2D

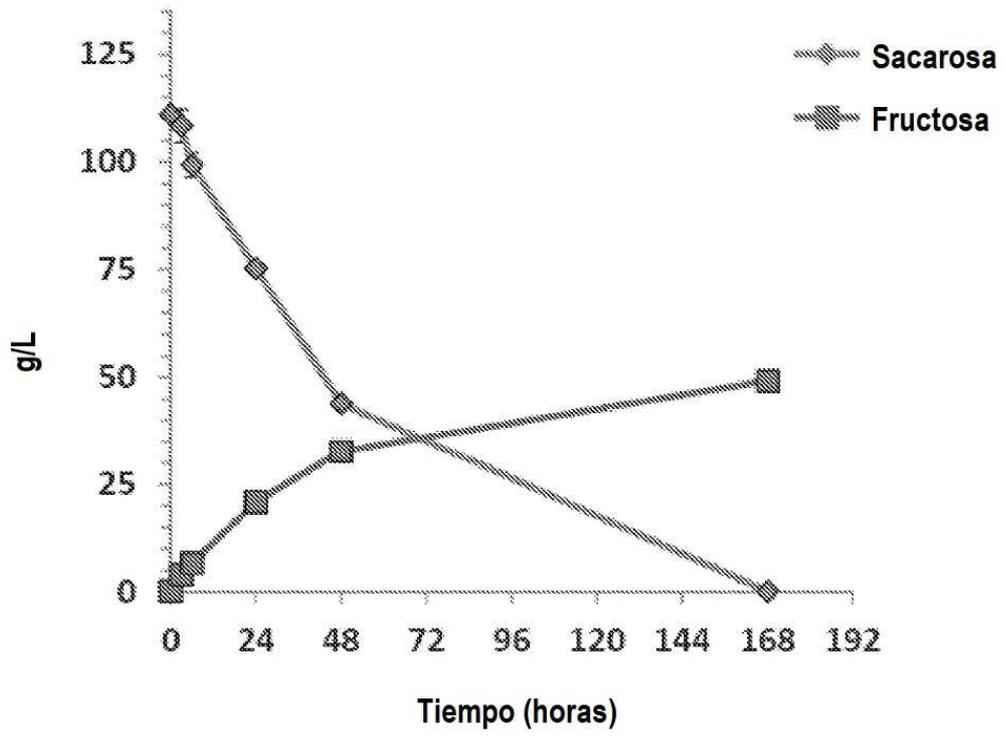


FIG. 3