

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 794 837**

51 Int. Cl.:

C11D 3/386 (2006.01)

C12N 9/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.09.2016 PCT/EP2016/071801**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.03.2017 WO17046232**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.09.2016 E 16766002 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020 EP 3350303**

54 Título: **Composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen actividad degradante de xantano**

30 Prioridad:

17.09.2015 EP 15185640

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

19.11.2020

73 Titular/es:

**HENKEL AG & CO. KGAA (100.0%)
Henkelstrasse 67
40589 Düsseldorf, DE**

72 Inventor/es:

**O'CONNELL, TIMOTHY;
TONDERA, SUSANNE;
MUSSMANN, NINA;
HERBST, DANIELA;
RAVENTOS, DOROTEA R.S.;
ANDERSON, LARS;
PALMÉN, LORENA;
CHRISTIANSEN, LIV;
HALLIN, PETER;
MURPHY, LEIGH;
OVERGAARD, METTE LOUISE DISSING y
MONRAD, RUNE NYGAARD**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 794 837 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

Composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen actividad degradante de xantano

5 Referencia a un listado de secuencias

La presente solicitud contiene un listado de secuencias en forma legible por ordenador, que se incorpora en el presente documento por referencia.

10 Antecedentes de la invención

Campo de la invención

15 La presente invención se refiere a composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen actividad degradante de xantano. En particular, la invención se refiere a tales composiciones detergentes que comprenden polipéptidos dentro de la familia de glucosil hidrolasa 5 (GH5) que tienen actividad degradante de xantano. La invención también se refiere a métodos para producir dichas composiciones detergentes y al uso de dichas composiciones detergentes en aplicaciones de limpieza.

20 Descripción de la técnica relacionada

25 La goma de xantano es un polisacárido secretado por la bacteria *Xanthomonas campestris*. Es producida por la fermentación de glucosa, sacarosa o lactosa en un medio de crecimiento acuoso por *X. campestris*. Después de un periodo de fermentación, el polisacárido se precipita del medio de cultivo con alcohol isopropílico, se seca y se muele en un polvo fino. Posteriormente, el polvo se añade a un medio líquido para formar la goma.

30 El xantano está compuesto por subunidades de pentasacáridos, que forman una cadena principal de celulosa con cadenas laterales de trisacáridos compuestas de manosa-(beta1,4)-ácido glucurónico-(beta1,2)-manosa unida a restos de glucosa alternos en la cadena principal por enlaces alfa1,3. Este biopolímero es de gran importancia comercial debido a su pseudoplasticidad, tixotropía y viscosidad superiores.

35 En los últimos años, la goma de xantano se ha usado ampliamente como ingrediente en muchos productos de consumo, incluyendo alimentos (p. ej., como agente espesante en aliños de ensalada y productos lácteos) y cosméticos (p. ej., como estabilizante y espesante en pasta de dientes y maquillaje para evitar que los ingredientes se separen) y cosméticos (p. ej., cremas solares).

40 Además, se ha utilizado goma de xantano en la industria petrolera, donde se usa goma de xantano en grandes cantidades para espesar el lodo de perforación. Estos líquidos sirven para transportar los sólidos cortados por la broca de regreso a la superficie. Cuando la circulación se detiene, los sólidos aún permanecen suspendidos en el líquido de perforación. El uso generalizado de perforación horizontal ha conducido a la expansión de su uso. También se añade goma de xantano al hormigón autocompactable, incluyendo hormigón vertido bajo el agua, para aumentar su viscosidad.

45 El uso generalizado de goma de xantano ha conducido al deseo de poder degradar soluciones o geles de goma de xantano. La degradación enzimática completa de goma de xantano ha requerido hasta ahora varias actividades enzimáticas, incluyendo actividad xantano liasa y actividad endo-beta-1,4-glucanasa. Las xantanases son enzimas que escinden el enlace de beta-D-manosilalfabeta-D-1,4-glucuronosilo de xantano y se han descrito en la bibliografía. Son conocidas en la técnica enzimas degradantes de xantano, p. ej., dos xantano liasas aisladas de *Paenibacillus*

50 *alginolyticus* XL-1. Las glucosil hidrolasas son enzimas que catalizan la hidrólisis del enlace de glucosilo para liberar azúcares más pequeños. Se han clasificado más de 100 clases de glucosil hidrolasas. La familia de glucosil hidrolasa 5 (GH5) incluye endo-glucanasas (EC 3.2.1.4), endo-beta-1,4-xilanasas (EC 3.2.1.8); beta-glucosidasa (EC 3.2.1.21); beta-manosidasa (EC 3.2.1.25). Sin embargo, hasta ahora, no se ha informado de la identificación de enzimas degradantes de xantano en la familia de glucosil hidrolasa 5.

55 El péptido maduro en la SEQ ID NO: 2 es 45 % idéntico y el péptido maduro en la SEQ ID NO: 4 es 57 % idéntico a una endoglucanasa predicha del genoma de *Echinicola vietnamensis* (UNIPROT: L0FVA9).

60 El péptido maduro en la SEQ ID NO: 6 es 47 % idéntico a una proteína no caracterizada del genoma de *Barnesiella intestinhominis* (UNIPROT: K0WXE1).

65 El péptido maduro en la SEQ ID NO: 8 es 100 % idéntico a una proteína no caracterizada del genoma de *Pseudomonas stutzeri* (UNIPROT: M2V1S3).

El documento WO 2015/001017 A2 desvela composiciones detergentes que comprenden enzimas degradantes de

xantano y, en particular, composiciones que comprenden combinaciones de xantanasa y endonucleasas.

El documento WO 2013/167581 A1 desvela endonucleasas GH9 que actúan sobre xantano, en particular cuando el xantano se trata previamente con xantano liasa.

H. Nankai *et al.* (Microbial System for Polysaccharide Depolymerization: Enzymatic Route for Xanthan Depolymerization by Bacillus sp. Strain GL1, Applied and Environmental Microbiology 65, 6, 1999, págs. 2520-2526) desvela una ruta de degradación microbiana de xantano, que implica actividad sinérgica de una xantano liasa, una β -D-glucanasa, una β -D-glucosidasa, una glucuronil hidrolasa insaturada y una α -D-manosidasa.

Sumario de la invención

La invención proporciona composiciones detergentes nuevas y mejoradas que comprenden enzimas para la degradación de goma de xantano y métodos para producir dichas composiciones detergentes y para el uso de dichas composiciones detergentes en aplicaciones de limpieza.

Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente un nuevo grupo de enzimas que tienen actividad degradante de xantano, y que no pertenecen a ninguna familia de glucosil hidrolasa conocida previamente que comprenda esta actividad enzimática. Las enzimas no tienen similitud de secuencia significativa con ninguna enzima conocida que tenga actividad degradante de xantano.

La presente invención proporciona composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen actividad degradante de xantano, es decir, que tienen actividad sobre goma de xantano y/o que tienen actividad sobre goma de xantano pretratada con xantano liasa.

En consecuencia, la presente invención proporciona una composición detergente que comprende un polipéptido de la familia de glucosil hidrolasa 5 que tiene actividad degradante de xantano, en donde el polipéptido se selecciona del grupo que consiste en:

- (a) un polipéptido que tiene al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 81 %, al menos 82 %, al menos 83 %, al menos 84 %, al menos 85 %, al menos 86 %, al menos 87 %, al menos 88 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de la SEQ ID NO: 6;
- (b) un polipéptido codificado por un polinucleótido que tiene al menos 85 %, al menos 86 %, al menos 87 %, al menos 88 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de la SEQ ID NO: 5;
- (c) una variante del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 6 que comprende una sustitución, supresión y/o inserción, en donde el número de sustituciones, supresiones y/o inserciones de aminoácidos introducidas en el polipéptido maduro de la SEQ ID NO: 6 es hasta 10, p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10;
- (d) un fragmento del polipéptido de (a), (b) o (c) que tiene actividad degradante de xantano; y
- (e) un polipéptido que comprende el polipéptido de (a), (b), (c) o (d) y un marcador His N-terminal y/o C-terminal;
- (f) un polipéptido que tiene al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 81 %, al menos 82 %, al menos 83 %, al menos 84 %, al menos 85 %, al menos 86 %, al menos 87 %, al menos 88 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 8;
- (g) un polipéptido codificado por un polinucleótido que tiene al menos 85 %, al menos 86 %, al menos 87 %, al menos 88 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 7;
- (h) una variante del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 8 que comprende una sustitución, supresión y/o inserción en una o más posiciones, en donde el número de sustituciones, supresiones y/o inserciones de aminoácidos introducidas en el polipéptido maduro de las SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 8 es hasta 10, p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10;
- (i) un fragmento del polipéptido de (f), (g) o (h) que tiene actividad degradante de xantano; y
- (j) un polipéptido que comprende el polipéptido de (f), (g), (h) o (i) y un marcador His N-terminal y/o C-terminal.

La presente invención también se refiere a métodos para degradar goma de xantano usando la composición detergente que comprende los polipéptidos.

Visión general del listado de secuencias

La SEQ ID NO: 1 es la secuencia de ADN del gen de EXa aislado de un *Opiritaceae* sp.

La SEQ ID NO: 2 es la secuencia de aminoácidos del polipéptido EXa GH5 deducida a partir de la SEQ ID NO: 1.
 La SEQ ID NO: 3 es la secuencia de ADN del gen de EXab aislado de una muestra ambiental.
 La SEQ ID NO: 4 es la secuencia de aminoácidos del polipéptido EXb GH5 deducida a partir de la SEQ ID NO: 3.
 La SEQ ID NO: 5 es la secuencia de ADN del gen de EXc aislado de una muestra ambiental.
 5 La SEQ ID NO: 6 es la secuencia de aminoácidos del polipéptido EXc GH5 deducida a partir de la SEQ ID NO: 5.
 La SEQ ID NO: 7 es la secuencia de ADN del gen de EXd obtenida de una base de datos pública (UNIPROT M2V1S3, que se origina a partir de una cepa de *Pseudomonas stutzeri* recogida de una chimenea hidrotermal de la falla de las Galápagos, Ecuador).
 La SEQ ID NO: 8 es la secuencia de aminoácidos del polipéptido EXd GH5 deducida a partir de la SEQ ID NO: 7.
 10 La SEQ ID NO: 9 es ADN sintético con codones optimizados que codifica el polipéptido EXa GH5.
 La SEQ ID NO: 10 es ADN sintético con codones optimizados que codifica el polipéptido EXb GH5.
 La SEQ ID NO: 11 es ADN sintético con codones optimizados que codifica el polipéptido EXc GH5.
 La SEQ ID NO: 12 es ADN sintético con codones optimizados que codifica el polipéptido EXd GH5.
 La SEQ ID NO: 13 es el polipéptido EXa GH5 + marcador de afinidad de His expresado en *E. coli*.
 15 La SEQ ID NO: 14 es el polipéptido EXb GH5 + marcador de afinidad de His expresado en *E. coli*.
 La SEQ ID NO: 15 es el polipéptido EXc GH5 + marcador de afinidad de His expresado en *E. coli*.
 La SEQ ID NO: 16 es el polipéptido EXb GH5 + marcador de afinidad de His expresado en *B. subtilis*.
 La SEQ ID NO: 17 es el polipéptido EXc GH5 + marcador de afinidad de His expresado en *B. subtilis*.
 La SEQ ID NO: 18 es el polipéptido EXd GH5 + marcador de afinidad de His expresado en *B. subtilis*.
 20 La SEQ ID NO: 19 es la secuencia del marcador de afinidad de His.
 La SEQ ID NO: 20 es la secuencia de aminoácidos de la señal de secreción de *Bacillus clausii*.
 La SEQ ID NO: 21 es la secuencia de aminoácidos de una xantana liasa XLa de un *Paenibacillus* sp (SEQ ID NO: 8 del documento WO2013167581).
 La SEQ ID NO: 22 es la secuencia de aminoácidos de una xantana liasa XLb de un *Paenibacillus* sp (SEQ ID NO: 66 del documento WO2013167581).
 25 La SEQ ID NO: 23 es la secuencia de aminoácidos de una xantana liasa XLc de un *Paenibacillus* sp (SEQ ID NO: 68 del documento WO2013167581).
 La SEQ ID NO: 24 es la secuencia de aminoácidos de una xantana liasa XLd de un *Paenibacillus* sp (SEQ ID NO: 120 del documento WO2013167581).

30

Matriz de identidad para péptidos maduros				
	SEQ ID NO: 2 EXa	SEQ ID NO: 4 EXb	SEQ ID NO: 6 EXc	SEQ ID NO: 8 EXd
SEQ ID NO: 2 EXa		50	71	27
SEQ ID NO: 4 EXb			47	31
SEQ ID NO: 6 EXc				27
SEQ ID NO: 8 EXd				

Descripción detallada de la invención

35 La presente invención proporciona una composición detergente que comprende polipéptidos GH5 que tienen actividad degradante de xantano. Los polipéptidos no pertenecen a una familia de GH que se sabe que comprende enzimas, que degradan xantano. Además, la composición detergente que comprende una combinación de xantano liasa y una enzima de la invención que tiene actividad degradante de xantano muestra un rendimiento de lavado sinérgico mejorado con respecto al uso de una composición detergente que comprende una xantano liasa o un polipéptido GH5 solo que tiene actividad degradante de xantano.

40 Definiciones

45 Secuencia codificante: La expresión "secuencia codificante" significa un polinucleótido, que especifica directamente la secuencia de aminoácidos de un polipéptido. Los límites de la secuencia codificante están determinados en general por un marco abierto de lectura, que comienza con un codón iniciador, tal como ATG, GTG o TTG y termina con un codón finalizador, tal como TAA, TAG o TGA. La secuencia codificante puede ser un ADN genómico, ADNc, ADN sintético o una combinación de los mismos.

50 Aclaración de color: Durante el lavado y el uso, se pueden acumular fibras sueltas o rotas en la superficie de las telas. Una consecuencia puede ser que los colores de la tela parecen menos brillantes o menos intensos debido a las contaminaciones de la superficie. La eliminación de las fibras sueltas o rotas del tejido restaurará en parte los colores y el aspecto original del tejido. Por la expresión "aclaración de color", como se usa en el presente documento, se entiende la restauración parcial de los colores iniciales del tejido.

55 Composición detergente:

La expresión "composición detergente", incluye, a menos que se indique otra cosa, agentes de lavado granulares o en forma de polvo para todo uso o de limpieza intensiva, especialmente detergentes de limpieza; agentes de lavado

en forma de líquido, gel o pasta para todo uso, especialmente los tipos denominados líquidos de limpieza intensiva (HDL); detergentes líquidos para telas finas; agentes para lavado manual de vajillas o agentes para lavado de vajillas de acción suave, especialmente los de tipo muy espumante; agentes para lavavajillas, incluyendo los diversos tipos de comprimidos, granulares, líquidos y abrillantadores para uso doméstico e institucional; agentes líquidos de limpieza y desinfectantes, incluyendo tipos antibacterianos de lavado manual, pastillas de limpieza, pastillas de jabón, enjuagues bucales, limpiadores de dentaduras postizas, champús para automóviles o alfombras, limpiadores de baño; champús y enjuagues capilares; geles de ducha, baños de espuma; limpiadores de metales; así como auxiliares de limpieza, tales como aditivos blanqueadores y de tipos de "barras antimanchas" o pretratamiento. Las expresiones "composición detergente" y "formulación detergente" se usan en referencia a mezclas que se pretenden usar en un medio de lavado para la limpieza de objetos sucios. En algunas realizaciones, la expresión se usa en referencia al lavado de telas y/o prendas (p. ej., "detergentes para lavado de ropa"). En realizaciones alternativas, la expresión se refiere a otros detergentes, tales como los que se usan para limpiar platos, cubiertos, etc. (p. ej., "detergentes para lavado de vajillas"). No se pretende que la presente invención se limite a ninguna formulación o composición detergente en particular. No se pretende que la expresión "composición detergente" se limite a composiciones que contengan tensioactivos. Se entiende que, además de las variantes según la invención, la expresión abarca detergentes que pueden contener, p. ej., tensioactivos, aditivos reforzantes, quelantes o agentes quelantes, sistema de blanqueo o componentes blanqueadores, polímeros, acondicionadores de telas, reforzadores de espuma, supresores de jabonaduras, tintes, perfume, inhibidores del deslustre, abrillantadores ópticos, bactericidas, fungicidas, agentes de suspensión de la suciedad, agentes anticorrosión, inhibidores enzimáticos o estabilizadores, activadores enzimáticos, transferasa(s), enzimas hidrolíticas, oxidorreductasas, agentes azulantes y tintes fluorescentes, antioxidantes y solubilizantes.

Lavado de vajillas: La expresión "lavado de vajillas" se refiere a todas las formas de lavado de vajillas, p. ej., lavado de vajillas a mano o automático. El lavado de vajillas incluye, pero sin limitación, la limpieza de todas las formas de loza, tales como platos, vasos, vidrios, tazones, todas las formas de cubiertos tales como cucharas, cuchillos, tenedores y utensilios para servir, así como cerámica, plásticos, metales, porcelana, vidrio y acrílicos.

Composición para lavado de vajillas: La expresión "composición para lavado de vajillas" se refiere a todas las formas de composiciones para limpiar superficies duras. La presente invención no está restringida a ningún tipo en particular de composición para lavado de vajillas o ningún detergente en particular.

Beneficio de la detergencia enzimática: La expresión "beneficio de la detergencia enzimática" se define en el presente documento como el efecto ventajoso que una enzima puede añadir a un detergente en comparación con el mismo detergente sin la enzima. Son importantes beneficios de la detergencia que pueden proporcionar las enzimas la eliminación de manchas sin o con muy poca suciedad visible después del lavado y la limpieza, prevención o reducción de la deposición de suciedad liberada en el proceso de lavado, un efecto que también se denomina antirredeposición, restauración total o parcial la blancura de los tejidos, que originalmente eran blancas pero después de uso y lavados repetidos han obtenido un aspecto grisáceo o amarillento, un efecto que también se denomina blanqueamiento. Los beneficios del cuidado textil, que no están directamente relacionados con la eliminación catalítica de manchas o la prevención de la redeposición de suciedad también son importantes para los beneficios de la detergencia enzimática. Son ejemplos de dichos beneficios del cuidado textil la prevención o reducción de la transferencia de tinte de una tela a otra tela u otra parte de la misma tela, un efecto que también se denomina inhibición de la transferencia de tinte o antitransferencia, eliminación de fibras sobresalientes o rotas de una superficie de tela para disminuir las tendencias a formar bolitas o eliminar las bolitas o pelusas ya existentes, un efecto que también se denomina anti-formación de bolitas, mejora de la suavidad de la tela, aclaración del color de la tela y eliminación de suciedad en partículas que está inmovilizada en las fibras de la tela o prenda. El blanqueo enzimático es un beneficio adicional de la detergencia enzimática donde la actividad catalítica se usa en general para catalizar la formación de componentes blanqueadores tales como peróxido de hidrógeno u otros peróxidos.

Fragmento: El término "fragmento" significa un polipéptido que tiene uno o más (p. ej, varios) aminoácidos ausentes del extremo amino y/o carboxilo de un polipéptido o dominio maduro; en donde el fragmento tiene actividad degradante de xantano.

Limpieza de superficies duras: La expresión "limpieza de superficies duras" se define en el presente documento como limpieza de superficies duras en donde las superficies duras pueden incluir pisos, mesas, paredes, techos, etc., así como superficies de objetos duros tales como automóviles (lavado de automóviles) y platos (lavado de vajillas). El lavado de vajillas incluye, pero sin limitación, limpieza de platos, vasos, vidrios, tazones y cubiertos tales como cucharas, cuchillos, tenedores, utensilios para servir, cerámica, plásticos, metales, porcelana, vidrio y acrílicos.

Mejora del rendimiento de lavado: La expresión "mejora del rendimiento de lavado" se define en el presente documento como una enzima (variante) (también una mezcla de enzimas, no necesariamente solo variantes sino también cadenas principales, y en combinación con determinada composición de limpieza, etc.) que presenta una alteración del rendimiento de lavado de un variante de proteasa en relación con el rendimiento de lavado de la variante de proteasa original, p. ej., mediante el aumento de la eliminación de manchas. La expresión "rendimiento de lavado" incluye el rendimiento de lavado en la ropa pero también, p. ej., en el lavado de vajillas.

Aislado: El término "aislado" significa una sustancia en una forma o entorno que no se produce en la naturaleza. Los ejemplos no limitantes de sustancias aisladas incluyen (1) cualquier sustancia de origen no natural, (2) cualquier sustancia incluyendo, pero sin limitación, cualquier enzima, variante, ácido nucleico, proteína, péptido o cofactor, que se retira al menos parcialmente de uno o más o de todos los constituyentes naturales con los que está asociada en la naturaleza; (3) cualquier sustancia modificada por la mano del hombre en relación con esa sustancia hallada en la naturaleza; o (4) cualquier sustancia modificada aumentando la cantidad de la sustancia en relación con otros componentes con los que está asociada de manera natural (p. ej., producción recombinante en una célula hospedadora; múltiples copias de un gen que codifica la sustancia; y uso de un promotor más fuerte que el promotor asociado de manera natural con el gen que codifica la sustancia). Una sustancia aislada puede estar presente en una muestra de caldo de fermentación; p. ej., una célula hospedadora puede modificarse genéticamente para expresar el polipéptido de la invención. El caldo de fermentación de esa célula hospedadora comprenderá el polipéptido aislado.

Polipéptido maduro: La expresión "polipéptido maduro" significa un polipéptido en su forma final después de la traducción y cualquier modificación postraduccional, tal como procesamiento N-terminal, truncamiento C-terminal, glucosilación, fosforilación, etc. En un aspecto, el polipéptido maduro es los aminoácidos 1 a 802 de la SEQ ID NO: 2. En un segundo aspecto, el polipéptido maduro es los aminoácidos 1 a 808 de la SEQ ID NO: 4. En un tercer aspecto, el polipéptido maduro es los aminoácidos 1 a 800 de la SEQ ID NO: 6. En un cuarto aspecto, el polipéptido maduro es los aminoácidos 1 a 657 de la SEQ ID NO: 8. Se sabe en la técnica que una célula hospedadora puede producir una mezcla de dos o más polipéptidos maduros diferentes (es decir, con un aminoácido C-terminal y/o N-terminal diferente) expresados por el mismo polinucleótido. También se sabe en la técnica que diferentes células hospedadoras procesan los polipéptidos de manera diferente y, por tanto, una célula hospedadora que expresa un polinucleótido puede producir un polipéptido maduro diferente (p. ej., que tiene un aminoácido C-terminal y/o N-terminal diferente) en comparación con otra célula hospedadora que expresa el mismo polinucleótido.

Secuencia codificante de polipéptido maduro: La expresión "secuencia codificante de polipéptido maduro" significa un polinucleótido que codifica un polipéptido maduro que tiene actividad degradante de xantano. En un aspecto, la secuencia codificante de polipéptido maduro es los nucleótidos 109 a 2514 de la SEQ ID NO: 1. Los nucleótidos 1 a 108 de la SEQ ID NO: 1 codifican un péptido señal. En un aspecto, la secuencia codificante de polipéptido maduro es los nucleótidos 112 a 2493 de la SEQ ID NO: 3. Los nucleótidos 1 a 111 de la SEQ ID NO: 3 codifican un péptido señal. En un aspecto, la secuencia codificante de polipéptido maduro es los nucleótidos 106 a 2505 de la SEQ ID NO: 5. Los nucleótidos 1 a 105 de la SEQ ID NO: 5 codifican un péptido señal. En un aspecto, la secuencia codificante de polipéptido maduro es los nucleótidos 109 a 2079 de la SEQ ID NO: 7. Los nucleótidos 1 a 108 de la SEQ ID NO: 7 codifican un péptido señal.

Construcción de ácido nucleico: La expresión "construcción de ácido nucleico" significa una molécula de ácido nucleico, bien monocatenaria o bien bicatenaria, que se aísla de un gen de origen natural o se modifica para contener segmentos de ácidos nucleicos de una manera que de otro modo no existiría en la naturaleza o que es sintética, que comprende una o más secuencias de control.

Unido operativamente: La expresión "unido operativamente" significa una configuración en la que una secuencia de control se coloca en una posición adecuada con respecto a la secuencia codificante de un polinucleótido de modo que la secuencia de control dirige la expresión de la secuencia codificante.

Identidad de secuencia: La relación entre dos secuencias de aminoácidos o entre dos secuencias de nucleótidos se describe mediante el parámetro "identidad de secuencia".

A efectos de la presente invención, la identidad de secuencia entre dos secuencias de aminoácidos se determina usando el algoritmo Needleman-Wunsch (Needleman y Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48: 443-453) como se implementó en el programa Needle del paquete EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice *et al.*, 2000, *Trends Genet.* 16: 276-277), preferentemente versión 5.0.0 o posterior. Los parámetros usados son penalización por apertura de hueco de 10, penalización por extensión de hueco de 0,5, y la matriz de sustitución EBLOSUM62 (versión EMBOSS de BLOSUM62). El resultado de Needle marcado como "identidad más larga" (obtenida usando la opción -nobrief) se usa como porcentaje de identidad y se calcula de la siguiente manera:

$$\text{(restos idénticos x 100)} / (\text{longitud de alineación} - \text{número total de huecos en la alineación})$$

A efectos de la presente invención, la identidad de secuencia entre dos secuencias de desoxirribonucleótidos se determina usando el algoritmo Needleman-Wunsch (Needleman y Wunsch, 1970, mencionado anteriormente) como se implementó en el programa Needle del paquete EMBOSS (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice *et al.*, 2000, mencionado anteriormente), preferentemente versión 5.0.0 o posterior. Los parámetros usados son penalización por apertura de hueco de 10, penalización por extensión de hueco de 0,5, y la matriz de sustitución EDNAFULL (versión EMBOSS de NCBI NUC4.4). El resultado de Needle marcado como "identidad más larga" (obtenida usando la opción -nobrief) se usa como porcentaje de identidad y se calcula de la siguiente manera:

$$\text{(desoxirribonucleótidos idénticos x 100)} / (\text{longitud de alineación} - \text{número total de huecos en la alineación})$$

Tejido: El término "tejido" significa cualquier material textil incluyendo hilos, intermedios de hilado, fibras, materiales no tejidos, materiales naturales, materiales sintéticos y cualquier otro material textil, telas hechas de estos materiales y productos hechos de telas (p. ej., prendas y otros artículos). El tejido o la tela pueden estar en forma de prendas de punto, entretejidos, vaqueros, no entretejidos, fieltros, hilos y toallas. El tejido puede ser a base de celulosa tal como celulosicos naturales, incluyendo algodón, lino, yute, ramio, sisal o fibra de coco o celulosicos artificiales (p. ej. procedentes de pasta de madera) incluyendo viscosa/rayón, ramio, fibras de acetato de celulosa (tricell), lyocell o mezclas de los mismos. El tejido o la tela también pueden ser no basados en celulosa, tales como poliamidas naturales, incluyendo lana, camello, cachemira, mohair, conejo y seda o polímero sintético tal como nailon, aramida, poliéster, acrílico, polipropileno y licra/elastano, o mezclas de los mismos, así como una mezcla de fibras a base de celulosa y no basadas en celulosa. Son ejemplos de mezclas las mezclas de algodón y/o rayón/viscosa con uno o más materiales complementarios, tales como lana, fibras sintéticas (p. ej., fibras de poliamida, fibras acrílicas, fibras de poliéster, fibras de alcohol polivinílico, fibras de cloruro de polivinilo, fibras de poliuretano, fibras de poliurea, fibras de aramida) y fibras que contienen celulosa (p. ej., rayón/viscosa, ramio, lino, yute, fibras de acetato de celulosa, lyocell). La tela puede ser ropa lavable convencional, por ejemplo, ropa doméstica manchada. Cuando se usa el término tela o prenda, se pretende que incluya también el término más general tejidos.

Beneficio del cuidado textil: Los "beneficios del cuidado textil", que no están directamente relacionados con la eliminación catalítica de manchas o la prevención de la redeposición de suciedad, también son importantes para los beneficios de la detergencia enzimática. Son ejemplos de dichos beneficios del cuidado textil la prevención o reducción de la transferencia de tinte de un tejido a otro tejido u otra parte del mismo tejido, un efecto que también se denomina inhibición de la transferencia de tinte o antitransferencia, eliminación de fibras sobresalientes o rotas de una superficie de tejido para disminuir las tendencias a formar bolitas o eliminar las bolitas o pelusas ya existentes, un efecto que también se denomina anti-formación de bolitas, mejora de la suavidad textil, aclaración del color del tejido y eliminación de suciedad en partículas que está inmovilizada en las fibras del tejido. El blanqueo enzimático es un beneficio adicional de la detergencia enzimática donde la actividad catalítica se usa en general para catalizar la formación de componentes blanqueadores tales como peróxido de hidrógeno u otros peróxidos u otras especies blanqueadoras.

Rendimiento de lavado: La expresión "rendimiento de lavado" se usa como la capacidad de una enzima para eliminar las manchas presentes en el objeto que se va a limpiar, p. ej., durante el lavado o la limpieza de superficies duras. La mejora en el rendimiento de lavado puede cuantificarse calculando el denominado valor de intensidad (Int) como se define en el "Ensayo de tensión mecánica automática (ETMA) para lavado de ropa" en el presente documento. Véase también la prueba de rendimiento de lavado en el ejemplo 18 en el presente documento.

Blancura: El término "blancura" se define en el presente documento como un término general con diferentes significados en diferentes regiones y para diferentes clientes. La pérdida de blancura puede deberse, p. ej., a la aparición de coloración gris, amarillenta o eliminación de abrillantadores ópticos/agentes de matizado. La aparición de coloración gris y amarillenta pueden deberse a la redeposición de suciedad, suciedad corporal, coloración de, p. ej., iones de hierro y cobre o transferencia de tinte. La blancura puede incluir uno o varios problemas de la lista a continuación: efectos colorantes o de tintes; eliminación incompleta de manchas (p. ej., suciedad corporal, sebo, etc.); redeposición (aparición de coloración gris, amarillenta u otras decoloraciones del objeto) (la suciedad eliminada se vuelve a asociar con otra parte del tejido, con o sin suciedad); cambios químicos en el tejido durante la aplicación; y clarificación o abrillantamiento de colores.

Xantano liasa: La expresión "xantano liasa" se define en el presente documento como una enzima que escinde los enlaces de beta-D-manosil-beta-D-1,4-glucuronosilo en goma de xantano (EC 4.2.2.12). A efectos de la presente invención, la actividad xantano liasa se determina según el procedimiento descrito en los ejemplos en el ensayo de la actividad xantano liasa.

Actividad degradante de xantano: La expresión "actividad degradante de xantano" se define en el presente documento como la capacidad para provocar la reducción de la viscosidad de una solución de xantano. La solución de xantano es muy viscosa incluso a bajas concentraciones de polímero y esta viscosidad está asociada con el grado de polímero de xantano. Por lo tanto, se puede usar la reducción de la viscosidad para controlar la degradación de xantano. La reducción de la viscosidad se puede detectar usando el ensayo de presión de viscosidad descrito en el ejemplo 6.

La actividad degradante de xantano incluye actividad hacia xantano intacto, así como actividad hacia xantano pretratado con xantano liasa (goma de xantano modificada - véase ejemplo 8).

Actividad sobre goma de xantano: La expresión "polipéptido GH5 que tiene actividad sobre goma de xantano" o un "polipéptido que tiene actividad sobre goma de xantano y que pertenece a la clase GH5 de glucosil hidrolasas" se define como un polipéptido que comprende un dominio que pertenece a la clase GH5 de glucosil hidrolasas y que tiene actividad sobre goma de xantano. En un aspecto de la invención, un polipéptido GH5 que tiene actividad sobre goma de xantano puede ser un polipéptido que tiene una secuencia seleccionada entre las SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 8.

Actividad sobre goma de xantano pretratada con xantano liasa: La expresión "polipéptido GH5 que tiene actividad

sobre goma de xantano pretratada con xantano liasa" o un "polipéptido que tiene actividad sobre goma de xantano pretratada con xantano liasa y que pertenece a la clase GH5 de glucosil hidrolasas" se define como un polipéptido que comprende un dominio que pertenece a la clase GH5 de glucosil hidrolasas y que tiene actividad significativa sobre goma de xantano pretratada con xantano liasa (goma de xantano modificada - véase ejemplo 8). En un aspecto de la invención, un polipéptido GH5 que tiene actividad sobre goma de xantano pretratada con xantano liasa puede ser un polipéptido que tiene una secuencia seleccionada entre las SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 8.

Composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen actividad degradante de xantano

En una realización, la presente invención se refiere a composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8 de al menos 60 %, p. ej., al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %, que tienen actividad degradante de xantano. En un aspecto, los polipéptidos difieren en hasta 10 aminoácidos, p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8.

En una realización particular, la invención se refiere a composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8 de al menos 60 %, p. ej., al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %, y en donde el polipéptido tiene al menos 70 % de la actividad degradante de xantano del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8.

En una realización particular, la invención se refiere a composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8 de al menos 60 %, p. ej., al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %, y en donde el polipéptido tiene al menos 75 % de la actividad degradante de xantano del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8.

En una realización particular, la invención se refiere a composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8 de al menos 60 %, p. ej., al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %, y en donde el polipéptido tiene al menos 80 % de la actividad degradante de xantano del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8.

En una realización particular, la invención se refiere a composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8 de al menos 60 %, p. ej., al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %, y en donde el polipéptido tiene al menos 85 % de la actividad degradante de xantano del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8.

En una realización particular, la invención se refiere a composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8 de al menos 60 %, p. ej., al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %, y en donde el polipéptido tiene al menos 90 % de la actividad degradante de xantano del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8.

En una realización particular, la invención se refiere a composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8 de al menos 60 %, p. ej., al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %, y en donde el polipéptido tiene al menos 95 % de la actividad degradante de xantano del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8.

En una realización particular, la invención se refiere a composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen una identidad de secuencia con el polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8 de al menos 60 %, p. ej., al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %, y en donde el polipéptido tiene al menos 100 % de la actividad degradante de xantano del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8.

En una realización, se ha aislado el polipéptido comprendido en la composición detergente de la presente invención. Un polipéptido comprende o consiste preferentemente en la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8 o una variante alélica de la misma; o es un fragmento del mismo que tiene actividad degradante de xantano. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en el polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8. En otro aspecto, el polipéptido comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 802 de la SEQ ID NO: 2, aminoácidos 1 a 808 de la SEQ ID NO: 4, aminoácidos 1 a 800 de la SEQ ID NO: 6 o aminoácidos 1 a 657 de la SEQ ID NO: 8.

En otra realización, la presente invención se refiere a composiciones detergentes que comprenden un polipéptido que tiene actividad degradante de xantano codificada por un polinucleótido que tiene una identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 3, 5 o 7 de al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %. En una realización adicional, se ha aislado el polipéptido.

En otra realización, la presente invención se refiere a composiciones detergentes que comprenden variantes del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8 que comprenden una sustitución, supresión y/o inserción en una o más (p. ej., varias) posiciones. En una realización, el número de sustituciones, supresiones y/o inserciones de aminoácidos introducidas en el polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 y 8 es hasta 10, p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Los cambios de aminoácidos pueden ser de naturaleza menor, es decir, sustituciones o inserciones conservadoras de aminoácidos que no afectan significativamente al plegamiento y/o la actividad de la proteína; pequeñas supresiones, normalmente de 1-30 aminoácidos; pequeñas extensiones amino o carboxilo terminales, tales como un resto de metionina amino terminal; un péptido conector pequeño de hasta 20-25 restos; o una pequeña extensión que facilita la purificación cambiando la carga neta u otra función, tal como un marcador de polihistidina, un epítipo antigénico o un dominio de unión. Las SEQ ID NO: 13, 14 y 15 muestran los polipéptidos de la invención (SEQ ID NO: 2, 4 y 6) con un marcador de polihistidina N-terminal (marcador de His). Las SEQ ID NO: 16, 17 y 18 muestran los polipéptidos de la invención (SEQ ID NO: 4, 6 y 8) con un marcador de polihistidina N-terminal.

Los ejemplos de sustituciones conservadoras están dentro de los grupos de aminoácidos básicos (arginina, lisina e histidina), aminoácidos ácidos (ácido glutámico y ácido aspártico), aminoácidos polares (glutamina y asparagina), aminoácidos hidrófobos (leucina, isoleucina y valina), aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina) y aminoácidos pequeños (glicina, alanina, serina, treonina y metionina). Se conocen en la técnica sustituciones de aminoácidos que no alteran en general la actividad específica y se describen, por ejemplo, en H. Neurath y R.L. Hill, 1979, en, *The Proteins*, Academic Press, Nueva York. Son sustituciones comunes Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu y Asp/Gly.

Fuentes de polipéptidos que tienen actividad degradante de xantano

Se puede obtener un polipéptido que tiene actividad degradante de xantano comprendido en la composición detergente de la presente invención a partir de microorganismos de cualquier género. A efectos de la presente invención, la expresión "obtenido de" como se usa en el presente documento en relación con una fuente dada significará que el polipéptido codificado por un polinucleótido es producido por la fuente o por una cepa en la que se ha insertado el polinucleótido de la fuente.

En un aspecto, el polipéptido es un polipéptido obtenido de una especie de *Opitutaceae*.

Polinucleótidos

La presente invención también se refiere a polinucleótidos que codifican un polipéptido, como se describe en el presente documento. En una realización, se ha aislado el polinucleótido que codifica el polipéptido de la presente invención.

Composición detergente

En una realización de la presente invención, el polipéptido de la presente invención puede añadirse a una composición detergente en una cantidad correspondiente a 0,0001-200 mg de proteína enzimática, tal como 0,0005-100 mg de proteína enzimática, preferentemente 0,001-30 mg de proteína enzimática, más preferentemente 0,005-8 mg de proteína enzimática, incluso más preferentemente 0,01-2 mg de proteína enzimática por litro de solución de lavado.

Una composición para su uso en lavado de vajillas automático (LVA), por ejemplo, puede incluir 0,0001 %-50 %, tal como 0,001 %-20 %, tal como 0,01 %-10 %, tal como 0,05 %-5 % de proteína enzimática en peso de la composición.

Una composición para su uso en polvo de lavado de ropa, por ejemplo, puede incluir 0,0001 %-50 %, tal como 0,001 %-20 %, tal como 0,01 %-10 %, tal como 0,05 %-5 % de proteína enzimática en peso de la composición.

Una composición para su uso en líquido de lavado de ropa, por ejemplo, puede incluir 0,0001 %-10 %, tal como 0,001-7 %, tal como 0,1 %-5 % de proteína enzimática en peso de la composición.

5 La o las enzimas de la composición detergente de la invención pueden estabilizarse usando agentes estabilizantes convencionales, p. ej., un poliol, tal como propilenglicol 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, o un derivado de ácido fenilborónico tal como ácido 4-formilfenil borónico, y la composición puede formularse como se describe en, por ejemplo, los documentos WO92/19709 y WO92/19708.

10 En determinados mercados, diferentes condiciones de lavado y, como tales, se usan diferentes tipos de detergentes. Esto se desvela, p. ej., en el documento EP 1 025 240. Por ejemplo, en Asia (Japón) se usa un sistema de baja concentración de detergente, mientras que en Estados Unidos se usa un sistema de concentración de detergente media y en Europa se usa un sistema de alta concentración de detergente.

15 En una realización, la invención se refiere a composiciones detergentes que comprenden una enzima de la presente invención en combinación con uno o más componentes de composición limpiadora adicionales. La elección de componentes adicionales está dentro de la capacidad del experto en la materia e incluye ingredientes convencionales, incluyendo los componentes no limitantes ilustrativos expuestos a continuación.

20 La elección de los componentes puede incluir, para el cuidado de tejidos, la consideración del tipo de tejido para limpiar, el tipo y/o grado de suciedad, la temperatura a la que tiene lugar la limpieza y la formulación del producto detergente. Aunque los componentes mencionados a continuación se clasifican por encabezado general según una funcionalidad particular, esto no debe interpretarse como una limitación, ya que un componente puede comprender funcionalidades adicionales como apreciará el experto en la materia.

25 En una realización, la invención se refiere a una composición de LVA (lavado de vajillas automático) que comprende una enzima de la presente invención en combinación con uno o más componentes de composición de LVA adicionales. La elección de componentes adicionales está dentro de la capacidad del experto en la materia e incluye ingredientes convencionales, incluyendo los componentes no limitantes ilustrativos expuestos a continuación.

30 En una realización, la composición detergente de la presente invención comprende hasta

Tensioactivos

35 La composición detergente puede comprender uno o más tensioactivos, que pueden ser aniónicos y/o catiónicos y/o no iónicos y/o semipolares y/o zwitteriónicos, o una mezcla de los mismos. En una realización en particular, la composición detergente incluye una mezcla de uno o más tensioactivos no iónicos y uno o más tensioactivos aniónicos. El o los tensioactivos están normalmente presentes a un nivel de aproximadamente 0,1 % a 60 % en peso, tal como de aproximadamente 1 % a aproximadamente 40 %, o de aproximadamente 3 % a aproximadamente 20 %, o de aproximadamente 3 % a aproximadamente 10 %. El o los tensioactivos se eligen en función de la aplicación de limpieza deseada y pueden incluir cualquier tensioactivo convencional conocido en la técnica.

45 Cuando se incluye en el mismo, el detergente contendrá habitualmente de aproximadamente 1 % a aproximadamente 40 % en peso de un tensioactivo aniónico, tal como de aproximadamente 5 % a aproximadamente 30 %, incluyendo de aproximadamente 5 % a aproximadamente 15 %, o de aproximadamente 15 % a aproximadamente 20 %, o de aproximadamente 20 % a aproximadamente 25 % de un tensioactivo aniónico. Los ejemplos no limitantes de tensioactivos aniónicos incluyen sulfatos y sulfonatos, en particular, alquilbencenosulfonatos lineales (LAS), isómeros de LAS, alquilbencenosulfonatos ramificados (BABS), fenilalcanosulfonatos, alfa-olefinsulfonatos (AOS), sulfonatos de olefina, sulfonatos de alqueno, alcano-2,3-diilbis (sulfatos), hidroxialcanosulfonatos y disulfonatos, sulfatos de alquilo (AS) tales como dodecil sulfato de sodio (SDS), sulfatos de alcohol graso (FAS), sulfatos de alcohol primario (PAS), etersulfatos de alcohol (AES o AEO o FES, también conocidos como etoxisulfatos de alcohol o éter sulfatos de alcohol graso), alcanosulfonatos secundarios (SAS), sulfonatos de parafina (PS), sulfonatos de éster, ésteres de glicerol de ácido graso sulfonado, ésteres metílicos de ácidos grasos alfa-sulfo (alfa-SFMe o SES), incluyendo metil éster sulfonato (MES), ácido alquil o alqueniilsuccínico, ácido dodecenil/tetradecenil succínico (DTSA), derivados de ácidos grasos de aminoácidos, diésteres y monoésteres de ácido sulfosuccínico o sal de ácidos grasos (jabón), y combinaciones de los mismos.

60 Cuando se incluye en el mismo, el detergente contendrá habitualmente de aproximadamente 1 % a aproximadamente 40 % en peso de un tensioactivo catiónico, por ejemplo, de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 30 %, en particular, de aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 3 % a aproximadamente 10 %, tal como de aproximadamente 3 % a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 8 % a aproximadamente 12 % o de aproximadamente 10 % a aproximadamente 12 %. Los ejemplos no limitantes de tensioactivos catiónicos incluyen compuesto de amonio cuaternario de alquildimetiletanolamina (ADMEAQ), bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), cloruro de dimetildiestearilamonio (DSDMAC) y alquilbencildimetilamonio, compuestos de alquilamonio cuaternario, compuestos de amonio cuaternario alcoxilado (AQA), compuestos de amonio cuaternario de éster y combinaciones de los mismos.

5 Cuando se incluye en el mismo, el detergente contendrá habitualmente de aproximadamente 0,2 % a aproximadamente 40 % en peso de un tensioactivo no iónico, por ejemplo, de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 30 %, en particular, de aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 3 % a aproximadamente 10 %, tal como de aproximadamente 3 % a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 8 % a aproximadamente 12 % o de aproximadamente 10 % a aproximadamente 12 %. Los ejemplos no limitantes de tensioactivos no iónicos incluyen etoxilatos de alcohol (AE o AEO), propoxilatos de alcohol, alcoholes grasos propoxilados (PFA), ésteres de alquilo de ácido graso alcoxlado, tales como alquil ésteres de ácidos grasos etoxilados y/o propoxilados, etoxilatos de alquilfenol (APE), etoxilatos de nonilfenol (NPE), alquilpoliglucósidos (APG), aminas alcoxladas, monoetanolamidas de ácidos grasos (FAM), dietanolamidas de ácidos grasos (FADA), monoetanolamidas de ácidos grasos etoxilados (EFAM), monoetanolamidas de ácidos grasos propoxilados (PFAM), polihidroalquil amidas de ácidos grasos o N-acil N-alquil derivados de glucosamina (glucamidas, GA o glucamidas de ácidos grasos, FAGA), así como productos disponibles con los nombres comerciales SPAN y TWEEN, y combinaciones de los mismos.

15 Cuando se incluye en el mismo, el detergente contendrá habitualmente de aproximadamente 0 % a aproximadamente 10 % en peso de un tensioactivo semipolar. Los ejemplos no limitantes de tensioactivos semipolares incluyen óxidos de amina (AO) tales como óxido de alquildimetilamina, óxido de N-(alquilo de coco)-N,N-dimetilamina y óxido de N-(alquilo de sebo)-N,N-bis(2-hidroxietil)amina, , y combinaciones de los mismos.

20 Cuando se incluye en el mismo, el detergente contendrá habitualmente de aproximadamente 0 % a aproximadamente 10 % en peso de un tensioactivo zwitteriónico. Los ejemplos no limitantes de tensioactivos zwitteriónicos incluyen betaínas tales como alquildimetilbetaínas, sulfobetaínas y combinaciones de las mismas.

25 Hidrótrofos

30 Un hidrótrofo es un compuesto que solubiliza compuestos hidrófobos en soluciones acuosas (o, por el contrario, sustancias polares en un entorno no polar). Normalmente, los hidrótrofos tienen un carácter tanto hidrófilo como hidrófobo (las denominadas propiedades anfífilas que se conocen por los tensioactivos); sin embargo, la estructura molecular de los hidrótrofos no favorece en general la autoagregación espontánea, véase, p. ej., la revisión de Hodgdon y Kaler (2007), Current Opinion in Colloid & Interface Science 12: 121-128. Los hidrótrofos no muestran una concentración crítica por encima de la cual se produce autoagregación como se ha descubierto para tensioactivos y lípidos que forman mesofases micelares, lamelares u otras bien definidas. En cambio, muchos hidrótrofos muestran un proceso de agregación de tipo continuo donde los tamaños de los agregados crecen a medida que aumenta la concentración. Sin embargo, muchos hidrótrofos alteran el comportamiento de la fase, la estabilidad y propiedades coloidales de sistemas que contienen sustancias de carácter polar y no polar, incluyendo mezclas de agua, aceite, tensioactivos y polímeros. Los hidrótrofos se usan de manera clásica en todas las industrias desde la industria farmacéutica, del cuidado personal, alimentaria, a aplicaciones técnicas. El uso de hidrótrofos en composiciones detergentes permite, por ejemplo, formulaciones más concentradas de tensioactivos (como en el proceso de compactación de detergentes líquidos mediante la eliminación de agua) sin inducir fenómenos no deseados, tales como separación de fases o alta viscosidad.

45 El detergente puede contener 0-10 % en peso, por ejemplo, 0-5 % en peso, tal como de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 % o de aproximadamente 3 % a aproximadamente 5 %, de un hidrótrofo. Se puede utilizar cualquier hidrótrofo conocido en la técnica para su uso en detergentes. Los ejemplos no limitantes de hidrótrofos incluyen bencenosulfonato de sodio, p-toluenosulfonato de sodio (STS), xilenosulfonato de sodio (SXS), cumenosulfonato de sodio (SCS), cimenosulfonato de sodio, óxidos de amina, alcoholes y poliglicoléteres, hidroxinaftoato de sodio, hidroxinaftalenosulfonato de sodio, etilhexilsulfato de sodio y combinaciones de los mismos.

50 Aditivos y coaditivos reforzantes

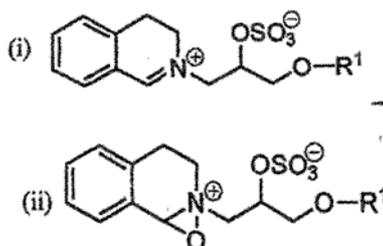
55 La composición detergente puede contener aproximadamente 0-65 % en peso, tal como de aproximadamente 5 % a aproximadamente 50 % de un aditivo o coaditivo reforzante de detergente, o una mezcla de los mismos. En un detergente para lavado de vajillas, el nivel de aditivo reforzante es normalmente de 40-65 %, en particular de 50-65 %. El aditivo y/o coaditivo reforzante pueden ser, en particular, un agente quelante que forma complejos hidrosolubles con Ca y Mg. Se puede utilizar cualquier aditivo y/o coaditivo reforzante conocido en la técnica para su uso en detergentes. Los ejemplos no limitantes de aditivos reforzantes incluyen zeolitas, difosfatos (pirofosfatos), trifosfatos tales como trifosfato de sodio (STP o STPP), carbonatos tales como carbonato de sodio, silicatos solubles tales como metasilicato de sodio, silicatos laminares (p. ej., SKS-6 de Hoechst), etanolaminas tales como 2-aminoetan-1-ol (MEA), dietanolamina (DEA, también conocida como 2,2'-iminodietan-1-ol), trietanolamina (TEA, también conocida como 2,2',2''-nitrilotrietan-1-ol) y (carboximetil)inulina (CMI), y combinaciones de los mismos.

65 La composición detergente también puede contener 0-50 % en peso, tal como de aproximadamente 5 % a aproximadamente 30 %, de un coaditivo reforzante de detergentes, . La composición detergente puede incluir un coaditivo reforzante solo, o en combinación con un aditivo reforzante, por ejemplo, un aditivo reforzante de zeolita. Los ejemplos no limitantes de coaditivos reforzantes incluyen homopolímeros de poliácridatos o copolímeros de los mismos,

tales como poli(ácido acrílico) (PAA) o copoli(ácido acrílico/ácido maleico) (PAA/PMA). Otros ejemplos no limitantes incluyen citrato, quelantes tales como aminocarboxilatos, aminopolicarboxilatos y fosfonatos, y ácido alquil o alqueniilsuccínico. Los ejemplos específicos adicionales incluyen ácido 2,2',2"-nitriлотriacético (NTA), ácido etilendiaminetetraacético (EDTA), ácido dietilentriaminapentaacético (DTPA), ácido iminodisuccínico (IDS), ácido etilendiamina-*N,N'*-disuccínico (EDDS), ácido metilglicinadiacético (MGDA), ácido glutámico-*N,N'*-ácido diacético (GLDA), ácido 1-hidroxietano-1,1-difosfónico (HEDP), etilendiaminatetra(ácido metilfosfónico) (EDTMPA), dietilentriaminapentakis(ácido metilfosfónico) (DTMPA o DTPMPA), ácido *N*-(2-hidroxiethyl)iminodiacético (EDG), ácido aspártico-*N*-ácido monoacético (ASMA), ácido aspártico-*N,N'*-ácido diacético (ASDA), ácido aspártico-*N*-ácido monopropiónico (ASMP), ácido iminodisuccínico (IDA), ácido *N*-(2-sulfometil)-aspártico (SMAS), ácido *N*-(2-sulfoetil)-aspártico (SEAS), ácido *N*-(2-sulfometil)-glutámico (SMGL), ácido *N*-(2-sulfoetil)-glutámico (SEGL), ácido *N*-metiliminodiacético (MIDA), ácido alfa-alanina-*N,N'*-diacético (α -ALDA), ácido serina-*N,N'*-diacético (SEDA), ácido isoserina-*N,N'*-diacético (ISDA), ácido fenilalanina-*N,N'*-diacético (PHDA), ácido antranílico-*N,N'*-ácido diacético (ANDA), ácido sulfanílico-*N,N'*-ácido diacético (SLDA), ácido taurina-*N,N'*-diacético (TUDA) y ácido sulfometil-*N,N'*-diacético (SMDA), ácido *N*-(2-hidroxiethyl)etilendiamina-*N,N',N''*-triacético (HEDTA), dietanolglicina (DEG), dietilentriamina penta(ácido metilfosfónico) (DTPMP), aminotris(ácido metilfosfónico) (ATMP) y combinaciones y sales de los mismos. Se describen aditivos y/o coaditivos reforzantes ilustrativos adicionales en, p. ej., los documentos WO 09/102854, US 5977053

Sistemas blanqueadores

El detergente puede contener 0-30 % en peso, tal como de aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 %, de un sistema blanqueador. Se puede utilizar cualquier sistema blanqueador conocido en la técnica por su uso en detergentes. Los componentes adecuados de sistemas blanqueadores incluyen catalizadores de blanqueo, fotoblanqueadores, activadores del blanqueo, fuentes de peróxido de hidrógeno tales como percarbonato de sodio, perboratos de sodio y peróxido de hidrógeno-urea (1:1), perácidos preformados y mezclas de los mismos. Los perácidos preformados adecuados incluyen, pero sin limitación, ácidos peroxicarboxílicos y sales, ácidos diperoxidicarboxílicos, ácidos perimídicos y sales, ácidos peroximonosulfúricos y sales, por ejemplo, Oxone (R) y mezclas de los mismos. Los ejemplos no limitantes de sistemas de blanqueo incluyen sistemas de blanqueo a base de peróxido, que pueden comprender, por ejemplo, una sal inorgánica, incluyendo sales de metales alcalinos tales como sales de sodio de perborato (habitualmente monohidrato o tetrahidrato), percarbonato, persulfato, perfosfato, sales de persilicato, en combinación con un activador de blanqueo formador de perácido. La expresión activador de blanqueo se entiende en el presente documento como un compuesto que reacciona con peróxido de hidrógeno para formar un perácido mediante perhidrólisis. El perácido formado de este modo constituye el blanqueador activado. Los activadores de blanqueo adecuados para usar en el presente documento incluyen los que pertenecen a la clase de ésteres, amidas, imidas o anhídridos. Son ejemplos adecuados son tetraacetiletilendiamina (TAED), 4-[(3,5,5-trimetilhexanoil)oxi]benceno-1-sulfonato de sodio (ISONOBS), 4-(dodecanoiloxi)benceno-1-sulfonato (LOBS), 4-(decanoiloxi)benceno-1-sulfonato, 4-(decanoiloxi)benzoato (DOBS o DOBA), 4-(nonanoiloxi)benceno-1-sulfonato (NOBS) y/o los desvelados en el documento WO98/17767. Una familia en particular de activadores de blanqueo de interés se desveló en el documento EP624154 y se prefiere en particular en esa familia el citrato de acetil trietilo (ATC). El ATC o un triglicérido de cadena corta como la triacetina tiene la ventaja de que es respetuoso con el medio ambiente. Asimismo, el citrato de acetil trietilo y la triacetina tienen buena estabilidad hidrolítica en el producto durante el almacenamiento y son activadores del blanqueo eficaces. Finalmente, ATC es multifuncional, ya que el citrato liberado en la reacción de perhidrólisis puede actuar como un aditivo reforzante. Como alternativa, el sistema de blanqueo puede comprender peroxiácidos de, por ejemplo, el tipo amida, imida o sulfona. El sistema de blanqueo también puede comprender perácidos tales como ácido 6-(ftalimido)peroxihexanoico (PAP). El sistema de blanqueo también puede incluir un catalizador de blanqueo. En algunas realizaciones, el componente blanqueador puede ser un catalizador orgánico seleccionado del grupo que consiste en catalizadores orgánicos que tienen las siguientes fórmulas:



(iii) y mezclas de los mismos;

en donde cada R^1 es de manera independiente un grupo alquilo ramificado que contiene de 9 a 24 carbonos o un grupo alquilo lineal que contiene de 11 a 24 carbonos, preferentemente cada R^1 es de manera independiente un grupo alquilo ramificado que contiene de 9 a 18 carbonos o un grupo alquilo lineal que contiene de 11 a 18 carbonos, más preferentemente cada R^1 se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en 2-propilheptilo, 2-butiloctilo, 2-pentilnonilo, 2-hexildecilo, dodecilo, tetradecilo, hexadecilo, octadecilo, isononilo, isodecilo, isotridecilo e isopentadecilo. Se describen otros sistemas de blanqueo ilustrativos, p. ej., en los documentos WO2007/087258, WO2007/087244, WO2007/087259, EP1867708 (vitamina K) y WO2007/087242. Los fotoblanqueadores adecuados

pueden ser, por ejemplo, ftalocianinas sulfonadas de cinc o aluminio.

Preferentemente, el componente blanqueador comprende una fuente de perácido además del catalizador de blanqueo, en particular catalizador de blanqueo orgánico. La fuente de perácido se puede seleccionar de (a) perácido preformado; (b) percarbonato, sal de perborato o persulfato (fuente de peróxido de hidrógeno) preferentemente en combinación con un activador de blanqueo; y (c) enzima perhidrolasa y un éster para formar perácido *in situ* en presencia de agua en una etapa de tratamiento de tejido o superficie dura.

Polímeros

El detergente puede contener 0-10 % en peso, tal como 0,5-5 %, 2-5 %, 0,5-2 % o 0,2-1 % de un polímero. Se puede utilizar cualquier polímero conocido en la técnica para su uso en detergentes. El polímero puede actuar como coaditivo reforzante como se ha mencionado anteriormente o puede proporcionar propiedades de antirredeposición, protección de fibra, liberación de suciedad, inhibición de transferencia de tinte, limpieza con grasa y/o antiespumantes. Algunos polímeros pueden tener más de una de las propiedades mencionadas anteriormente y/o más de uno de los motivos mencionados a continuación. Los polímeros ilustrativos incluyen (carboximetil)celulosa (CMC), poli(alcohol vinílico) (PVA), poli(vinilpirrolidona) (PVP), poli(etilenglicol) o poli(óxido de etileno) (PEG), poli(etilenimina) etoxilada, carboximetil inulina (CMI) y policarboxilatos tales como PAA, PAA/PMA, ácido poliaspártico y copolímeros de metacrilato de laurilo/ácido acrílico, CMC modificada hidrofóticamente (HM-CMC) y siliconas, copolímeros de ácido tereftálico y glicoles oligoméricos, copolímeros de poli(tereftalato de etileno) y poli(tereftalato de oxieteno) (PET-POET), PVP, poli(vinilimidazol) (PVI), poli(vinilpiridin-*N*-óxido) (PVPO o PVPNO) y polivinilpirrolidona-vinilimidazol (PVPVI). Polímeros ejemplares adicionales incluyen policarboxilatos sulfonados, óxido de polietileno y óxido de polipropileno (PEO-PPO) y etoxisulfato de dicuaturnio. Otros polímeros ilustrativos se desvelan en, p. ej., el documento WO 2006/130575. También se contemplan sales de los polímeros mencionados anteriormente.

Agentes de tinción de tela

Las composiciones detergentes de la presente invención también pueden incluir agentes de tinción de tela tales como tintes o pigmentos, que cuando se formulan en composiciones detergentes pueden depositarse sobre una tela cuando dicha tela se pone en contacto con una solución de lavado que comprende dichas composiciones detergentes y alterar de este modo el color de dicha tela mediante absorción/reflexión de la luz visible. Los agentes blanqueadores fluorescentes emiten al menos algo de luz visible. Por el contrario, los agentes de tinción de tela alteran el color de una superficie ya que absorben al menos una parte del espectro de luz visible. Los agentes de tinción de tela adecuados incluyen tintes y conjugados de tinte-arcilla, y también pueden incluir pigmentos. Los tintes adecuados incluyen tintes de moléculas pequeñas y tintes poliméricos. Los tintes de moléculas pequeñas adecuados incluyen tintes de moléculas pequeñas seleccionados del grupo que consiste en tintes que quedan en las clasificaciones del índice de color (IC) de Direct Blue, Direct Red, Direct Violet, Acid Blue, Acid Red, Acid Violet, Basic Blue, Basic Violet y Basic Red, o mezclas de los mismos, por ejemplo, como se describe en los documentos WO2005/03274, WO2005/03275, WO2005/03276 y EP1876226 (incorporados por la presente por referencia). La composición detergente comprende preferentemente de aproximadamente 0,00003 % en peso a aproximadamente 0,2 % en peso, de aproximadamente 0,00008 % en peso a aproximadamente 0,05 % en peso o incluso de aproximadamente 0,0001 % en peso a aproximadamente 0,04 % en peso de agente de tinción de tela. La composición puede comprender de 0,0001 % en peso a 0,2 % en peso de agente de tinción de tela, esto puede preferirse especialmente cuando la composición está en forma de una bolsa de dosis unitaria. También se desvelan agentes de tinción adecuados en, p. ej., los documentos WO 2007/087257 y WO2007/087243.

Enzimas adicionales

El aditivo detergente así como la composición detergente pueden comprender una o más enzimas adicionales tales como una proteasa, una lipasa, una cutinasa, una amilasa, una carbohidrasa, una celulasa, una pectinasa, una mananasa, una arabinasa, una galactanasa, una xilanasas, una oxidasa, p. ej., una lacasa, y/o una peroxidasa y/o una xantano liasa.

En general, las propiedades de la o las enzimas seleccionadas deberían ser compatibles con el detergente seleccionado, (es decir, pH óptimo, compatibilidad con otros ingredientes enzimáticos y no enzimáticos, etc.) y la o las enzimas deberían estar presentes en cantidades eficaces.

Celulasas

Las celulasas adecuadas incluyen las de origen bacteriano o fúngico. Se incluyen mutantes modificados químicamente o modificados por ingeniería de proteínas. Las celulasas adecuadas incluyen celulasas de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Humicola*, *Fusarium*, *Thielavia*, *Acremonium*, p. ej., las celulasas fúngicas producidas a partir de *Humicola insolens*, *Myceliophthora thermophila* y *Fusarium oxysporum* desveladas en los documentos US 4.435.307, US 5.648.263, US 5.691.178, US 5.776.757 y WO 89/09259.

Son celulasas especialmente adecuadas las celulasas alcalinas o neutras que tienen beneficios para el cuidado del

color. Son ejemplos de dichas celulasas las celulasas descritas en los documentos EP 0 495 257, EP 0 531 372, WO 96/11262, WO 96/29397, WO 98/08940. Otros ejemplos son variantes de celulasas tales como las descritas en los documentos WO 94/07998, EP 0 531 315, US 5.457.046, US 5.686.593, US 5.763.254, WO 95/24471, WO 98/12307 y WO99/001544.

Otras celulasas son la enzima endo-beta-1,4-glucanasa que tiene una secuencia de al menos 97 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de la posición 1 a la posición 773 de la SEQ ID NO: 2 del documento WO 2002/099091 o una xiloglucanasa de familia 44, que una enzima xiloglucanasa que tiene una secuencia de al menos 60 % de identidad con las posiciones 40-559 de la SEQ ID NO: 2 del documento WO 2001/062903.

Las celulasas disponibles en el mercado incluyen Celluzyme™ y Carezyme™ (Novozymes A/S) Carezyme Premium™ (Novozymes A/S), Celluclean™ (Novozymes A/S), Celluclean Classic™ (Novozymes A/S), Cellusoft™ (Novozymes A/S), Whitezyme™ (Novozymes A/S), Clazinase™, y Puradax HA™ (Genencor International Inc.) y KAC-500(B)™ (Kao Corporation).

Mananasas

Las mananasas adecuadas incluyen las de origen bacteriano o fúngico. Se incluyen mutantes modificados química o genéticamente. La mananasa puede ser una mananasa alcalina de la familia 5 o 26. Puede ser un tipo silvestre de *Bacillus* o *Humicola*, en particular *B. agaradhaerens*, *B. licheniformis*, *B. halodurans*, *B. clausii* o *H. insolens*. Se describen mananasas adecuadas en el documento WO 1999/064619. Una mananasa disponible en el mercado es Mannaway (Novozymes A/S).

Xantano liasas

Las xantano liasas adecuadas incluyen las de origen vegetal, bacteriano o fúngico. Se incluyen mutantes modificados químicamente o modificados por ingeniería de proteínas. Los ejemplos de enzimas útiles incluyen las xantano liasas desveladas en el documento WO2013167581 y mostradas en el presente documento como SEQ ID NO: 21, 22, 23 y 24.

Proteasas

Las proteasas adecuadas incluyen las de origen bacteriano, fúngico, vegetal, vírico o animal, p. ej., origen vegetal o microbiano. Se prefiere el origen microbiano. Se incluyen mutantes modificados químicamente o modificados por ingeniería de proteínas. Puede ser una proteasa alcalina, tal como una serina proteasa o una metaloproteasa. Una serina proteasa puede ser, por ejemplo, de la familia S1, tal como tripsina, o la familia S8, tal como subtilisina. Una proteasa de metaloproteasas puede ser, por ejemplo, una termolisina de, p. ej., la familia M4 u otra metaloproteasa tal como las de las familias M5, M7 o M8.

El término "subtilasas" se refiere a un subgrupo de serina proteasa según Siezen *et al.*, Protein Engng. 4 (1991) 719-737 y Siezen *et al.* Protein Science 6 (1997) 501-523. Las serina proteasas son un subgrupo de proteasas caracterizadas por tener una serina en el sitio activo, que forma un aducto covalente con el sustrato. Las subtilasas pueden dividirse en 6 subdivisiones, es decir, la familia de subtilisina, la familia de termitasa, la familia de proteinasa K, la familia de peptidasa lantibiótica, la familia de kexina y la familia de pirolisina.

Son ejemplos de subtilasas las procedentes de *Bacillus* tales como *Bacillus lentus*, *B. alkalophilus*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus* y *Bacillus gibsonii* descritos en; documentos US7262042 y WO09/021867, y *subtilisina lentus*, *subtilisina Novo*, *subtilisina Carlsberg*, *Bacillus licheniformis*, *subtilisina BPN'*, *subtilisina 309*, *subtilisina 147* y *subtilisina 168* descritas en el documento WO89/06279 y proteasa PD138 descrita en (documento WO93/18140). Otras proteasas útiles pueden ser las descritas en los documentos WO92/175177, WO01/016285, WO02/026024 y WO02/016547. Son ejemplos de proteasas de tipo tripsina la tripsina (p. ej., de origen porcino o bovino) y la proteasa de *Fusarium* descrita en los documentos WO89/06270, WO94/25583 y WO05/040372 y las proteasas de quimotripsina procedentes de *Cellumonas* descritas en los documentos WO05/052161 y WO05/052146.

Una proteasa preferida adicional es la proteasa alcalina de *Bacillus lentus* DSM 5483, como se describe, por ejemplo, en el documento WO95/23221, y variantes de los mismos que se describen en los documentos WO92/21760, WO95/23221, EP1921147 y EP1921148.

Son ejemplos de metaloproteasas la metaloproteasa neutra como se describe en el documento WO07/044993 (Genencor Int.), tal como las procedentes de *Bacillus amyloliquefaciens*.

Son ejemplos de proteasas útiles las variantes descritas en los documentos: WO92/19729, WO96/034946, WO98/20115, WO98/20116, WO99/011768, WO01/44452, WO03/006602, WO04/03186, WO04/041979, WO07/006305, WO11/036263, WO11/036264, especialmente las variantes con sustituciones en una o más de las siguientes posiciones: 3, 4, 9, 15, 27, 36, 57, 68, 76, 87, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 106, 118, 120, 123, 128, 129, 130, 160, 167, 170, 194, 195, 199, 205, 206, 217, 218, 222, 224, 232, 235, 236, 245, 248, 252 y 274

usando la numeración de BPN'. Las variantes de subtilasa más preferidas pueden comprender las mutaciones: S3T, V4I, S9R, A15T, K27R, *36D, V68A, N76D, N87S,R, *97E, A98S, S99G,D,A, S99AD, S101G,M,R S103A, V104I,Y,N, S106A, G118V,R, H120D,N, N123S, S128L, P129Q, S130A, G160D, Y167A, R170S, A194P, G195E, V199M, V205I, L217D, N218D, M222S, A232V, K235L, Q236H, Q245R, N252K, T274A (usando la numeración de BPN').

5 Las enzimas proteasas disponibles en el mercado adecuadas incluyen las comercializadas con los nombres comerciales Alcalase®, Duralase™, Durazym™, Relase®, Relase® Ultra, Savinase®, Savinase® Ultra, Primase®, Polarzyme®, Kannase®, Liquanase®, Liquanase® Ultra, Ovozyme®, Coronase®, Coronase® Ultra, Blaze®, Neutrase®, Everlase® y Esperase® (Novozymes A/S), las comercializadas con los nombres comerciales Maxatase®, Maxacal®, Maxapem®, Purafect®, Purafect Prime®, , Purafect MA®, Purafect Ox®, Purafect OxP®, Puramax®, Properase®, , FN2®, FN3®, FN4®, Excellase®, Eraser®, Opticlean® y Optimase® (Danisco/DuPont), Axapem™ (Gist-Brocades N.V.), BLAP (secuencia mostrada en la figura 29 del documento US5352604) y variantes de las mismas (Henkel AG) y KAP (subtilisina de *Bacillus alkalophilus*) de Kao.

15 Lipasas y cutinasas

Las lipasas y cutinasas adecuadas incluyen las de origen bacteriano o fúngico. Se incluyen enzimas mutantes modificadas químicamente o modificadas por ingeniería de proteínas. Los ejemplos incluyen lipasa de *Thermomyces*, p. ej., de *T. lanuginosus* (denominado anteriormente *Humicola lanuginosa*) como se describe en los documentos EP258068 y EP305216, cutinasa de *Humicola*, p. ej., *H. insolens* (documento WO96/13580), lipasa de cepas de *Pseudomonas* (algunas de estas renombradas en la actualidad a *Burkholderia*), p. ej., *P. alcaligenes* o *P. pseudoalcaligenes* (documento EP218272), *P. cepacia* (documento EP331376), *P. sp. cepa* SD705 (documentos WO95/06720 y WO96/27002), *P. wisconsinensis* (documentos WO96/12012), lipasas de *Streptomyces* de tipo GDSL (documento WO10/065455), cutinasa de *Magnaporthe grisea* (documento WO10/107560), cutinasa de *Pseudomonas mendocina* (documento US5.389.536), lipasa de *Thermobifida fusca* (documento WO11/084412), lipasa de *Geobacillus stearothermophilus* (documento WO11/084417), lipasa de *Bacillus subtilis* (documento WO11/084599) y lipasa de *Streptomyces griseus* (documento WO11/150157) y *S. pristinaespiralis* (documento WO12/137147).

Otros ejemplos son variantes de lipasa tales como las descritas en los documentos EP407225, WO92/05249, WO94/01541, WO94/25578, WO95/14783, WO95/30744, WO95/35381, WO95/22615, WO96/00292, WO97/04079, WO97/07202, WO00/34450, WO00/60063, WO01/92502, WO07/87508 y WO09/109500.

Los productos comerciales preferidos de lipasa incluyen Lipolase™, Lipex™; Lipolex™ y Lipoclean™ (Novozymes A/S), Lumafast (originalmente de Genencor) y Lipomax (originalmente de Gist-Brocades).

Otros ejemplos más son las lipasas, denominadas en ocasiones aciltransferasas o perhidrolasas, p. ej., aciltransferasas con homología con lipasa A *Candida antarctica* (documento WO10/111143), aciltransferasa de *Mycobacterium smegmatis* (documento WO05/56782), perhidrolasas de la familia CE 7 (documento WO09/67279) y variantes de la perhidrolasa de *M. esmegmatis*, en particular la variante S54V usada en el producto comercial Gentle Power Bleach de Huntsman Textile Effects Pte Ltd (documento WO10/100028).

Amilasas

Las amilasas adecuadas que pueden usarse junto con la enzima de la invención pueden ser una alfa-amilasa o una glucoamilasa y pueden ser de origen bacteriano o fúngico. Se incluyen mutantes modificados químicamente o modificados por ingeniería de proteínas. Las amilasas incluyen, por ejemplo, alfa-amilasas obtenidas de *Bacillus*, p. ej., una cepa especial de *Bacillus licheniformis*, descrito con más detalle en el documento GB 1.296.839.

Las amilasas adecuadas incluyen amilasas que tienen la SEQ ID NO: 2 en el documento WO 95/10603 o variantes que tienen 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 3 de las mismas. Se describen variantes preferidas en los documentos WO 94/02597, WO 94/18314, WO 97/43424 y SEQ ID NO: 4 del documento WO 99/019467, tales como variantes con sustituciones en una o más de las siguientes posiciones: 15, 23, 105, 106, 124, 128, 133, 154, 156, 178, 179, 181, 188, 190, 197, 201, 202, 207, 208, 209, 211, 243, 264, 304, 305, 391, 408 y 444.

Las diferentes amilasas adecuadas incluyen amilasas que tienen la SEQ ID NO: 6 en el documento WO 02/010355 o variantes de las mismas que tienen 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 6. Son variantes preferidas de la SEQ ID NO: 6 las que tienen una supresión en las posiciones 181 y 182 y una sustitución en la posición 193.

Otras amilasas que son adecuadas son la alfa-amilasa híbrida que comprende los restos 1-33 de la alfa-amilasa procedente de *B. amyloliquefaciens* mostrada en la SEQ ID NO: 6 del documento WO 2006/066594 y los restos 36-483 de la alfa-amilasa de *B. licheniformis* mostrada en la SEQ ID NO: 4 del documento WO 2006/066594 o variantes que tienen 90 % de identidad de secuencia de las mismas. Son variantes preferidas de esta alfa-amilasa híbrida las que tienen una sustitución, una supresión o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: G48, T49, G107, H156, A181, N190, M197, 1201, A209 y Q264. Son variantes más preferidas de la alfa-amilasa híbrida que comprenden los restos 1-33 de la alfa-amilasa procedente de *B. amyloliquefaciens* mostrada en la SEQ ID NO: 6 del documento WO 2006/066594 y los restos 36-483 de la SEQ ID NO: 4 las que tienen las sustituciones:

M197T;
 H156Y+A181T+N190F+A209V+Q264S; o
 G48A+T49I+G107A+H156Y+A181T+N190F+I201F+A209V+Q264S.

5 Son amilasas adicionales que son adecuadas las amilasas que tienen la SEQ ID NO: 6 en el documento WO 99/019467 o variantes de las mismas que tienen 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 6. Son variantes preferidas de la SEQ ID NO: 6 las que tienen una sustitución, una supresión o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: R181, G182, H183, G184, N195, I206, E212, E216 y K269. Son amilasas particularmente preferidas las que tienen una supresión en las posiciones R181 y G182 o las posiciones H183 y G184.

15 Son amilasas adicionales que se pueden usar las que tienen las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 7 del documento WO 96/023873 o variantes de las mismas que tienen 90 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 7. Son variantes preferidas de las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 7 las que tienen una sustitución, una supresión o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: 140, 181, 182, 183, 184, 195, 206, 212, 243, 260, 269, 304 y 476, usando la SEQ ID 2 del documento WO 96/023873 para numeración. Son variantes más preferidas las que tienen una supresión en dos posiciones seleccionadas entre 181, 182, 183 y 184, tales como 181 y 182, 182 y 183, o las posiciones 183 y 184. Son variantes de amilasa más preferidas de las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 7 las que tienen una supresión en las posiciones 183 y 184 y una sustitución en una o más de las posiciones 140, 195, 206, 243, 260, 304 y 476.

25 Otras amilasas que pueden usarse son amilasas que tienen la SEQ ID NO: 2 del documento WO 08/153815, la SEQ ID NO: 10 en el documento WO 01/66712 o variantes de los mismos que tienen 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2 del documento WO 08/153815 o 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 10 en el documento WO 01/66712. Son variantes preferidas de la SEQ ID NO: 10 en el documento WO 01/66712 las que tienen una sustitución, una supresión o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: 176, 177, 178, 179, 190, 201, 207, 211 y 264.

30 Son amilasas adicionales adecuadas las amilasas que tienen la SEQ ID NO: 2 del documento WO 09/061380 o variantes que tienen 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 2 de las mismas. Son variantes preferidas de la SEQ ID NO: 2 las que tienen un truncamiento del extremo C y/o una sustitución, una supresión o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: Q87, Q98, S125, N128, T131, T165, K178, R180, S181, T182, G183, M201, F202, N225, S243, N272, N282, Y305, R309, D319, Q320, Q359, K444 y G475. Son variantes más preferidas de la SEQ ID NO: 2 las que tienen la sustitución en una o más de las siguientes posiciones: Q87E,R, Q98R, S125A, N128C, T131I, T165I, K178L, T182G, M201L, F202Y, N225E,R, N272E,R, S243Q,A,E,D, Y305R, R309A, Q320R, Q359E, K444E y G475K y/o supresión en la posición R180 y/o S181 o de T182 y/o G183. Son variantes de amilasa más preferidas de la SEQ ID NO: 2 las que tienen las sustituciones:

40 N128C+K178L+T182G+Y305R+G475K;
 N128C+K178L+T182G+F202Y+Y305R+D319T+G475K;
 S125A+N128C+K178L+T182G+Y305R+G475K; o
 S125A+N128C+T131I+T165I+K178L+T182G+Y305R+G475K en donde las variantes están truncadas en el extremo C y opcionalmente comprenden además una sustitución en la posición 243 y/o una supresión en la posición 180 y/o la posición 181.

50 Son amilasas adecuadas adicionales las amilasas que tienen la SEQ ID NO: 1 del documento WO13184577 o variantes que tienen 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 1 de las mismas. Son variantes preferidas de la SEQ ID NO: 1 las que tienen una sustitución, una supresión o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: K176, R178, G179, T180, G181, E187, N192, M199, I203, S241, R458, T459, D460, G476 y G477. Son variantes más preferidas de la SEQ ID NO: 1 las que tienen la sustitución en una o más de las siguientes posiciones: K176L, E187P, N192FYH, M199L, I203YF, S241QADN, R458N, T459S, D460T, G476K y G477K y/o supresión en la posición R178 y/o S179 o de T180 y/o G181. Son variantes de amilasa más preferidas de la SEQ ID NO: 1 las que tienen las sustituciones:

55 E187P+I203Y+G476K
 E187P+I203Y+R458N+ T459S+D460T +G476K
 en donde las variantes opcionalmente comprenden además una sustitución en la posición 241 y/o una supresión en la posición 178 y/o la posición 179.

60 Son amilasas adecuadas adicionales las amilasas que tienen la SEQ ID NO: 1 del documento WO10104675 o variantes que tienen 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 1 de las mismas. Son variantes preferidas de la SEQ ID NO: 1 las que tienen una sustitución, una supresión o una inserción en una o más de las siguientes posiciones: N21, D97, V128 K177, R179, S180, I181, G182, M200, L204, E242, G477 y G478. Son variantes más preferidas de la SEQ ID NO: 1 las que tienen la sustitución en una o más de las siguientes posiciones: N21D, D97N, V128I K177L, M200L, L204YF, E242QA, G477K y G478K y/o supresión en la posición R179 y/o S180 o de I181 y/o

G182. Son variantes de amilasa más preferidas de la SEQ ID NO: 1 las que tienen las sustituciones: N21D+D97N+V128I

en donde las variantes opcionalmente comprenden además una sustitución en la posición 200 y/o una supresión en la posición 180 y/o la posición 181.

5 Otras amilasas adecuadas son la alfa-amilasa que tiene la SEQ ID NO: 12 en el documento WO01/66712 o una variante que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 12. Son variantes de amilasa preferidas las que tienen una sustitución, una supresión o una inserción en una o más de las siguientes posiciones de la SEQ ID NO: 12 en el documento WO01/66712: R28, R118, N174; R181, G182, D183, G184, G186, W189, N195, M202, Y298, N299, K302, S303, N306, R310, N314; R320, H324, E345, Y396, R400, W439, R444, N445, K446, Q449, R458, N471, N484. Las amilasas preferidas en particular incluyen variantes que tienen una supresión de D183 y G184 y que tienen las sustituciones R118K, N195F, R320K y R458K, y una variante que tiene además sustituciones en una o más posiciones seleccionadas del grupo: M9, G149, G182, G186, M202, T257, Y295, N299, M323, E345 y A339, más preferentemente una variante que tiene adicionalmente sustituciones en todas estas posiciones.

15 Otros ejemplos son variantes de amilasa tales como las descritas en los documentos WO2011/098531, WO2013/001078 y WO2013/001087.

20 Son amilasas disponibles en el mercado Duramyl™, Termamyl™, Fungamyl™, Stainzyme™, Stainzyme Plus™, Natalase™, Liquozyme X y BAN™ (de Novozymes A/S) y Rapidase™, Purastar™/Effectenz™, Powerase, Preferenz S1000, Preferenz S100 y Preferenz S110 (de Genencor International Inc./DuPont).

Peroxidasas/oxidadas

25 Una peroxidasa según la invención es una enzima peroxidasa comprendida por la clasificación enzimática EC 1.11.1.7, según lo establecido por el Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (IUBMB), o cualquier fragmento derivado de la misma, que presenta actividad peroxidasa.

30 Las peroxidadas adecuadas incluyen las de origen vegetal, bacteriano o fúngico. Se incluyen mutantes modificados químicamente o modificados por ingeniería de proteínas. Los ejemplos de peroxidadas útiles incluyen peroxidadas de *Coprinopsis*, p. ej., de *C. cinerea* (documento EP 179.486), y variantes de las mismas tales como las descritas en los documentos WO 93/24618, WO 95/10602 y WO 98/15257.

35 Una peroxidada según la invención también incluye una enzima haloperoxidada, tal como cloroperoxidada, bromoperoxidada y compuestos que presentan actividad cloroperoxidada o bromoperoxidada. Las haloperoxidasas se clasifican según su especificidad para iones de haluro. Las cloroperoxidasas (E.C. 1.11.1.10) catalizan la formación de hipoclorito a partir de iones cloruro.

40 En una realización, la haloperoxidada de la invención es una cloroperoxidada. Preferentemente, la haloperoxidada es una haloperoxidada de vanadio, es decir, una haloperoxidada que contiene vanadato. En un método preferido de la presente invención, la haloperoxidada que contiene vanadato se combina con una fuente de ion cloruro.

45 Se han aislado haloperoxidasas de muchos hongos diferentes, en particular del grupo de hongos hifomicetos dematiáceos, tales como *Caldariomyces*, p. ej., *C. fumago*, *Alternaria*, *Curvularia*, p. ej., *C. verruculosa* y *C. inaequalis*, *Drechslera*, *Ulocladium* y *Botrytis*.

Las haloperoxidasas también se han aislado de bacterias tales como *Pseudomonas*, p. ej., *P. pyrrocinia* y *Streptomyces*, p. ej., *S. aureofaciens*.

50 En una realización preferida, la haloperoxidada puede obtenerse de *Curvularia* sp., en particular *Curvularia verruculosa* o *Curvularia inaequalis*, tales como *C. inaequalis* CBS 102.42 como se describe en el documento WO 95/27046; o *C. verruculosa* CBS 147.63 o *C. verruculosa* CBS 444.70 como se describe en el documento WO 97/04102; o de *Drechslera hartlebii* como se describe en el documento WO 01/79459, *Dendryphiella salina* como se describe en el documento WO 01/79458, *Phaeotrichoconis crotalarie* como se describe en el documento WO 01/79461, o *Geniculosporium* sp. como se describe en el documento WO 01/79460.

60 Una oxidada según la invención incluye, en particular, cualquier enzima lacasa compuesta por la clasificación enzimática EC 1.10.3.2, o cualquier fragmento procedente de la misma que presente actividad lacasa, o un compuesto que presente una actividad similar, tal como una catecol oxidada (EC 1.10.3.1), una o-aminofenol oxidada (EC 1.10.3.4) o una bilirrubina oxidada (EC 1.3.3.5).

Son enzimas lacasas preferidas las enzimas de origen microbiano. Las enzimas pueden obtenerse de plantas, bacterias u hongos (incluyendo hongos filamentosos y levaduras).

65 Los ejemplos adecuados de hongos incluyen una lacasa que puede obtenerse de una cepa de *Aspergillus*, *Neurospora*, p. ej., *N. crassa*, *Podospora*, *Botrytis*, *Collybia*, *Fomes*, *Lentinus*, *Pleurotus*, *Trametes*, p. ej., *T. villosa* y

T. versicolor, *Rhizoctonia*, p. ej., *R. solani*, *Coprinopsis*, p. ej., *C. cinerea*, *C. comatus*, *C. friesii* y *C. plicatilis*, *Psathyrella*, p. ej., *P. condelleana*, *Panaeolus*, p. ej., *P. papilionaceus*, *Myceliophthora*, p. ej., *M. thermophila*, *Schytalidium*, p. ej., *S. thermophilum*, *Polyporus*, p. ej., *P. pinsitus*, *Phlebia*, p. ej., *P. radiata* (documento WO 92/01046) o *Coriolus*, p. ej., *C. hirsutus* (documento JP 2238885).

5 Los ejemplos adecuados de bacteria incluyen una lacasa que puede obtenerse de una cepa de *Bacillus*.

Se prefiere una lacasa procedente de *Coprinopsis* o *Myceliophthora*; en particular una lacasa procedente de *Coprinopsis cinerea*, como se desvela en el documento WO 97/08325; o de *Myceliophthora thermophila*, como se desvela en el documento WO 95/33836.

La o las enzimas detergentes pueden incluirse en una composición detergente mediante la adición de aditivos separados que contengan una o más enzimas o mediante la adición de un aditivo combinado que comprenda todas estas enzimas. Un aditivo detergente de la invención, es decir, un aditivo separado o un aditivo combinado, puede formularse, por ejemplo, como un granulado, líquido, suspensión, etc. Son formulaciones de aditivos detergentes preferidas los granulados, en particular granulados no espolvoreados, líquidos, en particular líquidos estabilizados, o suspensiones.

Se pueden producir granulados no espolvoreados, p. ej., como se desvela en los documentos US 4.106.991 y 4.661.452 y opcionalmente pueden recubrirse mediante métodos conocidos en la técnica. Son ejemplos de materiales de recubrimiento ceroso el polietilenglicol (PEG) con pesos molares medios de 1000 a 20000; nonilfenoles etoxilados que tienen de 16 a 50 unidades de óxido de etileno; alcoholes grasos etoxilados en los que el alcohol contiene de 12 a 20 átomos de carbono y en los que hay de 15 a 80 unidades de óxido de etileno; alcoholes grasos; ácidos grasos; y mono y di y triglicéridos de ácidos grasos. En el documento GB 1483591 se proporcionan ejemplos de materiales de recubrimiento formadores de película adecuados para su aplicación mediante técnicas de lecho fluido. Las preparaciones de enzimas líquidas pueden estabilizarse, por ejemplo, añadiendo un poliol tal como propilenglicol, un azúcar o alcohol de azúcar, ácido láctico o ácido bórico según los métodos establecidos. Se pueden preparar enzimas protegidas según el método desvelado en el documento EP 238.216.

30 Materiales adjuntos

También se puede utilizar cualquier componente blanqueador conocido en la técnica por su uso en detergentes. Otros componentes detergentes opcionales incluyen agentes anticorrosivos, agentes antiencogimiento, agentes antirredeposición de suciedad, agentes antiarrugas, bactericidas, aglutinantes, inhibidores de la corrosión, disgregantes/agentes de disgregación, tintes, estabilizadores enzimáticos (incluyendo ácido bórico, boratos, CMC y/o polioles tales como propilenglicol), acondicionadores de tela, incluyendo arcillas, cargas/adyuvantes de procesamiento, agentes blanqueadores fluorescentes/abrilantadores ópticos, reforzadores de espuma, reguladores de espuma (jabonaduras), perfumes, agentes de suspensión de la suciedad, suavizantes, supresores de jabonaduras, inhibidores del deslustre y agentes absorbentes, ya sea solos o en combinación. Se puede utilizar cualquier ingrediente conocido en la técnica para su uso en detergentes. La elección de dichos ingredientes está dentro de la experiencia del experto en la materia.

Dispersantes

45 Las composiciones detergentes de la presente invención también pueden contener dispersantes. En particular, los detergentes en polvo pueden comprender dispersantes. Los materiales orgánicos hidrosolubles adecuados incluyen los ácidos homo- o copoliméricos o sus sales, en los que el ácido policarboxílico comprende al menos dos radicales carboxilo separados entre sí por no más de dos átomos de carbono. Se describen dispersantes adecuados, por ejemplo, en Powdered Detergents, Surfactant science series volumen 71, Marcel Dekker, Inc.

50 Agentes inhibidores de la transferencia de tintes

Las composiciones detergentes de la presente invención también pueden incluir uno o más agentes inhibidores de la transferencia de tintes. Los agentes inhibidores de la transferencia de tintes poliméricos adecuados incluyen, pero sin limitación, polímeros de polivinilpirrolidona, polímeros de N-óxido de poliamina, copolímeros de N-vinilpirrolidona y N-vinilimidazol, poliviniloxazolidonas y polivinilimidazoles o mezclas de los mismos. Cuando estén presentes en una composición objeto, los agentes inhibidores de la transferencia de tintes pueden estar presentes a niveles de aproximadamente 0,0001 % a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 5 % o incluso de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 3 % en peso de la composición.

60 Agente de blanqueamiento fluorescente

Las composiciones detergentes de la presente invención también contendrán preferentemente componentes adicionales que pueden teñir artículos que se limpian, tales como agentes blanqueadores fluorescentes o abrilantadores ópticos. Cuando esté presente, el abrilantador está preferentemente a un nivel de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 0,5 %. Cualquier agente blanqueador fluorescente adecuado para su uso en una

composición de detergente para lavado de ropa se puede usar en la composición de la presente invención. Los agentes blanqueadores fluorescentes usados más habitualmente son los que pertenecen a las clases de derivados de ácido diaminoestilbenosulfónico, derivados de diarilpirazolina y derivados de bisfenil-distirilo. Los ejemplos del tipo de derivado del ácido diaminoestilbenosulfónico de agentes blanqueadores fluorescentes incluyen las sales de sodio de:

5 4,4'-bis-(2-dietanolamino-4-anilino-s-triazin-6-ilamino)estilbeno-2,2'-disulfonato, 4,4'-bis-(2,4-dianilino-s-triazin-6-ilamino)estilbeno-2,2'-disulfonato, 4,4'-bis-(2-anilino-4-(N-metil-N-2-hidroxi-etilamino)-s-triazin-6-ilamino)estilbeno-2,2'-disulfonato, 4,4'-bis-(4-fenil-1,2,3-triazol-2-il)estilbeno-2,2'-disulfonato y 5-(2H-nafto[1,2-d][1, 2,3]triazol-2-il)-2-[(E)-2-fenilvinil]bencenosulfonato de sodio. Son agentes blanqueadores fluorescentes preferidos Tinopal DMS y Tinopal CBS disponibles de Ciba-Geigy AG, Basilea, Suiza. Tinopal DMS es la sal disódica de 4,4'-bis-(2-morfolino-4-anilino-s-triazin-6-ilamino)estilbeno-2,2'-disulfonato. Tinopal CBS es la sal disódica de 2,2'-bis-(fenil-estiril)-disulfonato.

10 También es un agente de blanqueamiento fluorescente preferido Parawhite KX disponible en el mercado, suministrado por Paramount Minerals and Chemicals, Mumbai, India. Otros fluorescentes adecuados para su uso en la invención incluyen las 1-3-diaril pirazolinas y las 7-alquilaminocumarinas.

15 Los niveles adecuados de abrillantador fluorescente incluyen niveles menores desde aproximadamente 0,01, desde 0,05, desde aproximadamente 0,1 o incluso desde aproximadamente 0,2 % en peso a niveles superiores de 0,5 o incluso 0,75 % en peso.

20 Polímeros de liberación de suciedad

Las composiciones detergentes de la presente invención también pueden incluir uno o más polímeros de liberación de suciedad que ayudan a la eliminación de suciedad de telas tales como telas a base de algodón y poliéster, en particular la eliminación de suciedades hidrófobas de telas a base de poliéster. Los polímeros de liberación de suciedad pueden ser, por ejemplo, polímeros a base de tereftalato no iónico o aniónico, polivinil caprolactama y copolímeros relacionados, copolímeros de injerto de vinilo, poliamidas de poliéster, véase, por ejemplo, capítulo 7 en Powdered Detergents, Surfactant science series volumen 71, Marcel Dekker, Inc. Otro tipo de polímeros de liberación de suciedad son polímeros de limpieza de grasa alcoxilados anfífilicos que comprenden una estructura central y una pluralidad de grupos alcoxilato unidos a esa estructura central. La estructura central puede comprender una estructura de polialquilenimina o una estructura de polialcanolamina como se describe en detalle en el documento WO 2009/087523 (incorporado por la presente como referencia). Asimismo, los copolímeros de injerto aleatorios son polímeros de liberación de suciedad adecuados. Se describen copolímeros de injerto adecuados con más detalle en los documentos WO 2007/138054, WO 2006/108856 y WO 2006/113314 (incorporados por la presente por referencia). Otros polímeros de liberación de suciedad son estructuras de polisacáridos sustituidos, especialmente estructuras celulósicas sustituidas, tales como derivados de celulosa modificada, tales como los descritos en los documentos EP 1867808 o WO 2003/040279 (ambos se incorporan por la presente por referencia). Los polímeros celulósicos adecuados incluyen celulosa, éteres de celulosa, ésteres de celulosa, amidas de celulosa y mezclas de los mismos. Los polímeros celulósicos adecuados incluyen celulosa modificada aniómicamente, celulosa no modificada iómicamente, celulosa modificada catiónicamente, celulosa modificada con iones dipolares y mezclas de las mismas. Los polímeros celulósicos adecuados incluyen metilcelulosa, carboximetilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxilpropilmetilcelulosa, éster de carboximetilcelulosa y mezclas de las mismas.

Agentes antirredeposición

45 Las composiciones detergentes de la presente invención también pueden incluir uno o más agentes antirredeposición tales como carboximetilcelulosa (CMC), alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), polioxietileno y/o polietilenglicol (PEG), homopolímeros de ácido acrílico, copolímeros de ácido acrílico y ácido maleico, y polietileniminas etoxiladas. Los polímeros a base de celulosa descritos anteriormente en los polímeros de liberación de suciedad también pueden actuar como agentes antirredeposición.

50 Modificadores reológicos

Las composiciones detergentes de la presente invención también pueden incluir uno o más modificadores reológicos, estructurantes o espesantes, a diferencia de los agentes reductores de la viscosidad. Los modificadores reológicos se seleccionan del grupo que consiste en materiales hidroxifuncionales, cristalinos no poliméricos, modificadores reológicos poliméricos que transmiten características de pseudoplasticidad a la matriz líquida acuosa de una composición detergente líquida. La reología y la viscosidad del detergente pueden modificarse y ajustarse mediante métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, como se muestra en el documento EP 2169040.

60 Formulación de productos detergentes

La composición detergente de la invención puede estar en cualquier forma conveniente, p. ej., una pastilla, un comprimido homogéneo, un comprimido que tiene dos o más capas, una bolsa que tiene uno o más compartimentos, un polvo regular o compacto, un gránulo, una pasta, un gel o un líquido regular, compacto o concentrado.

65 Las bolsas se pueden configurar como compartimentos individuales o múltiples. Puede ser de cualquier forma, aspecto y material que sea adecuado para contener la composición, p. ej., sin permitir la liberación de la composición para

liberar la composición de la bolsa antes del contacto con el agua. La bolsa está hecha de una película hidrosoluble que delimita un volumen interno. Dicho volumen interno puede dividirse en compartimentos de la bolsa. Son películas preferidas materiales poliméricos, preferentemente polímeros que se moldean en una película o lámina. Son polímeros, copolímeros o derivados de los mismos preferidos poliácridatos seleccionados y copolímeros de acrilato hidrosolubles, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, dextrina de sodio, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, maltodextrina, polimetacrilatos, más preferentemente copolímeros de alcohol polivinílico e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC). Preferentemente, el nivel de polímero en la película, por ejemplo, PVA, es de al menos aproximadamente 60 %. El peso molecular promedio preferido será normalmente de aproximadamente 20.000 a aproximadamente 150.000. Las películas también pueden ser de composiciones combinadas que comprenden combinaciones de polímeros hidrolíticamente degradables e hidrosolubles, tales como polilactida y alcohol polivinílico (conocido con la referencia comercial M8630 comercializada por MonoSol LLC, Indiana, EE. UU.) más plastificantes como glicerol, etilenglicerol, propilenglicerol, sorbitol y mezclas de los mismos. Las bolsas pueden comprender una composición limpiadora sólida de lavado de ropa o componentes parciales y/o una composición limpiadora líquida o componentes parciales separados por la película hidrosoluble. El compartimento para componentes líquidos puede ser diferente en su composición que los compartimentos que contienen sólidos: documento US2009/0011970 A1.

Los ingredientes detergentes pueden separarse físicamente entre sí mediante compartimentos en bolsas hidrosolubles o en diferentes capas de comprimidos. De este modo, se puede evitar la interacción de almacenamiento negativa entre los componentes. Los diferentes perfiles de disolución de cada uno de los compartimentos también pueden dar lugar a una disolución retardada de componentes seleccionados en la solución de lavado.

Un detergente líquido o en gel, que no se dosifica en unidades, puede ser acuoso, que contiene normalmente al menos 20 % en peso y hasta 95 % de agua, tal como hasta aproximadamente 70 % de agua, hasta aproximadamente 65 % de agua, hasta aproximadamente 55 % de agua, hasta aproximadamente 45 % de agua, hasta aproximadamente 35 % de agua. Otros tipos de líquidos, incluyendo, sin limitación, alcanoles, aminas, dioles, éteres y polioles pueden incluirse en un líquido o gel acuoso. Un detergente líquido o en gel acuoso puede contener de 0 a 30 % de disolvente orgánico.

Un detergente líquido o en gel puede no ser acuoso.

Pastillas de jabón para lavado de ropa

Las enzimas de la invención pueden añadirse a pastillas de jabón para lavado de ropa y usarse para lavado a mano de ropa, telas y/o tejidos. La expresión pastilla de jabón para lavado de ropa incluye pastillas de lavandería, pastillas de jabón, pastillas combinadas, pastillas de detergente sintético y pastillas de detergente. Los tipos de pastilla generalmente difieren en el tipo de tensioactivo que contienen y el término pastilla de jabón para lavado de ropa incluye las que contienen jabones de ácidos grasos y/o jabones sintéticos. La pastilla de jabón para lavado de ropa tiene una forma física que es sólida y no líquida, gel o polvo a temperatura ambiente. El término sólido se define como una forma física que no cambia significativamente a lo largo del tiempo, es decir, si se coloca un objeto sólido (p. ej., una pastilla de jabón para lavado de ropa) dentro de un recipiente, el objeto sólido no cambia para llenar el contenedor en el que está colocado. La pastilla es un sólido normalmente en forma de barra, pero puede tener otras formas sólidas, tales como redonda u ovalada.

La pastilla de jabón de lavandería puede contener una o más enzimas adicionales, inhibidores de la proteasa tales como aldehídos peptídicos (o aducto de hidrosulfito o aducto hemiacetal), ácido bórico, borato, bórax y/o derivados del ácido fenilborónico tales como ácido 4-formilfenilborónico, uno o más jabones o tensioactivos sintéticos, polioles, tales como glicerina, compuestos que controlan el pH, tales como ácidos grasos, ácido cítrico, ácido acético y/o ácido fórmico, y/o una sal de un catión monovalente y un anión orgánico en donde el catión monovalente puede ser, por ejemplo, Na⁺, K⁺ o NH₄⁺ y el anión orgánico puede ser, por ejemplo, formiato, acetato, citrato o lactato de manera que la sal de un catión monovalente y un anión orgánico puede ser, por ejemplo, formiato de sodio.

La pastilla de jabón para lavado de ropa también puede contener agentes formadores de complejos como EDTA y HEDP, perfumes y/o diferentes tipos de cargas, tensioactivos, p. ej., tensioactivos sintéticos aniónicos, aditivos reforzantes, agentes poliméricos de liberación de suciedad, quelantes de detergente, agentes estabilizantes, cargas, tintes, colorantes, inhibidores de la transferencia de tintes, policarbonatos alcoxilados, supresores de jabonaduras, estructurantes, aglutinantes, agentes de lixiviación, activadores del blanqueo, agentes para eliminar suciedad de arcilla, agentes antirredeposición, agentes dispersantes poliméricos, abrillantadores, suavizantes de telas, perfumes y/u otros compuestos conocidos en la técnica.

La pastilla de jabón para lavado de ropa se puede procesar en equipos convencionales de fabricación de pastillas de jabón de para lavado de ropa, tales como, pero sin limitación: mezcladoras, compresoras, p. ej., una compresora de vacío de dos etapas, extrusoras, cortadoras, estampadoras de logotipos, túneles de refrigeración y envasadoras. La invención no se limita a preparar las pastillas de jabón para lavado de ropa por ningún método individual. La premezcla de la invención puede añadirse al jabón en diferentes etapas del proceso. Por ejemplo, se pueden preparar la premezcla que contiene un jabón, la enzima de la invención, opcionalmente una o más enzimas adicionales, un inhibidor de la proteasa y una sal de un catión monovalente y un anión orgánico y después se comprime la mezcla. La

enzima de la invención y las enzimas adicionales opcionales se pueden añadir al mismo tiempo que el inhibidor de la proteasa, por ejemplo, en forma líquida. Además de la etapa de mezcla y la etapa de compresión, el proceso puede comprender además las etapas de molienda, extrusión, corte, estampado, enfriamiento y/o envasado.

5 Formulación de enzima en cogránulo

La enzima comprendida en las composiciones detergentes de la invención puede formularse como un gránulo, por ejemplo, como un cogránulo que combina una o más enzimas. Cada enzima estará presente en más gránulos, lo que garantiza una distribución más uniforme de enzimas en el detergente. Esto también reduce la segregación física de diferentes enzimas debido a diferentes tamaños de partículas. Se desvelan métodos para producir cogranulados multienzimáticos para la industria de los detergentes en la divulgación de IP.com IPCOM000200739D.

Otro ejemplo de formulación de enzimas mediante el uso de cogranulados se desvela en el documento WO 2013/188331, que se refiere a una composición detergente que comprende (a) un co-gránulo multienzimático; (b) menos de 10 % en peso de zeolita (base anhidra); y (c) menos de 10 % en peso de sal de fosfato (base anhidra), en donde dicho cogránulo enzimático comprende de 10 a 98 % en peso de componente de sumidero de humedad y la composición comprende adicionalmente de 20 a 80 % en peso de componente de sumidero de humedad de detergente. El documento WO 2013/188331 también se refiere a un método para tratar y/o limpiar una superficie, preferentemente una superficie de tela que comprende las etapas de (i) poner en contacto dicha superficie con la composición detergente como se reivindica y describe en el presente documento en una solución acuosa de lavado, (ii) aclarar y/o secar la superficie.

El cogránulo multienzimático puede comprender una enzima de la invención y (a) una o más enzimas seleccionadas del grupo que consiste en lipasas de primer lavado, celulasas de limpieza, xiloglucanasas, perhidrolasas, peroxidadas, lipoxigenasas, lacasas y mezclas de las mismas; y (b) una o más enzimas seleccionadas del grupo que consiste en hemicelulasas, proteasas, celulasas de cuidados, celobiosa deshidrogenasas, xilanasas, fosfolipasas, esteradas, cutinasas, pectinasas, mananasas, pectato liasas, queratinasas, reductasas, oxidasas, fenoloxidasas, ligninasas, pululanasas, tanasas, pentosanasas, liquenasas glucanasas, arabinosidasas, hialuronidasa, condroitinasa, amilasas y mezclas de las mismas.

30 Uso en goma de xantano degradante

La goma de xantano se usa como ingrediente en muchos productos de consumo, incluyendo alimentos y cosméticos, así como en la industria petrolera y de perforación. Por lo tanto, pueden aplicarse enzimas que tienen actividad degradante de xantano en procesos de limpieza mejorados, tales como la eliminación más fácil de manchas que contienen goma de xantano, así como la degradación de la goma de xantano, que se usa con frecuencia en la industria petrolera y de perforación. Por tanto, la presente invención se refiere al uso de la composición detergente de la invención para degradar goma de xantano. La composición detergente de la presente invención también puede comprender una combinación de una enzima como se describe en el presente documento y una xantano liasa. También se contempla el uso de dicha composición detergente para degradar goma de xantano.

La degradación de goma de xantano se puede medir usando el ensayo de reducción de la viscosidad como se describe en el presente documento en la goma de xantano. La actividad degradante de xantano se puede medir como alternativa como extremos reductores en la goma de xantano usando el ensayo colorimétrico desarrollado por Lever (1972), Anal. Biochem. 47: 273-279, 1972.

Uso en detergentes

La presente invención se refiere al uso de las composiciones detergentes de la invención en procesos de limpieza tales como el lavado de tejidos y telas (p. ej., lavado de ropa doméstica y lavado de ropa industrial), así como limpieza doméstica e industrial de superficies duras, tal como lavado de vajillas.

Una realización es el uso de una composición detergente que comprende una combinación de las enzimas como se describe en el presente documento junto con xantano liasas en procesos de limpieza tales como el lavado de tejidos y telas (p. ej., lavado de ropa doméstica y lavado de ropa industrial), así como limpieza doméstica e industrial de superficies duras, tal como lavado de vajillas.

La invención también se refiere a métodos para degradar goma de xantano en la superficie de un tejido o una superficie dura, tal como lavado de vajillas, que comprenden aplicar una composición detergente que comprende una o más enzimas como se describe en este documento a goma de xantano. La invención se refiere además a métodos para degradar goma de xantano en la superficie de un tejido o una superficie dura, tal como lavado de vajillas, que comprende aplicar una composición detergente que comprende una o más xantano liasas a goma de xantano. Una realización es un método para degradar goma de xantano en la superficie de un tejido o una superficie dura, tal como lavado de vajillas, que comprende aplicar una composición detergente que comprende una o más enzimas como se describe en el presente documento junto con una o más xantano liasas a goma de xantano. Una realización es la composición detergente que comprende uno o más componentes detergentes como se ha descrito anteriormente.

Ejemplos

Ensayos de actividad

5

Ensayo de actividad xantano liasa

10

Se mezclaron 0,8 ml de tampón HEPES 100 mM, pH 6,0 con 0,2 ml de goma de xantano (5 mg/ml) disuelta en agua en una cubeta de 1 ml de 1 cm. La cubeta se insertó en un espectrofotómetro (Agilent G1103A 8453A, CA, EE. UU.) con control de temperatura ajustada a 40 °C. La solución se incubó previamente durante 10 minutos y se añadió una muestra de 0,1 ml y la solución se mezcló aspirando y dispensando la solución durante al menos 5 veces usando una pipeta. El volumen total de reacción fue de 1,1 ml. Se recogió la absorbancia a 235 nm durante 10 minutos usando un intervalo de medición de 30 segundos. La actividad inicial se calculó usando el software (UV-Visible Chemstation Rev A.10,01 [81], Agilent).

15

Ejemplo 1: Cepa y ADN

20

El ADN en la SEQ ID NO: 1 que codifica el polipéptido GH5 EXa de la SEQ ID NO: 2 se obtuvo de una especie de *Opitutaceae* aislada de una muestra de suelo ambiental recogida en Dinamarca.

El ADN de la SEQ ID NO: 3 que codifica el polipéptido GH5 EXb de la SEQ ID NO: 4 se aisló de una muestra ambiental recogida en Dinamarca.

25

El ADN de la SEQ ID NO: 5 que codifica el polipéptido GH5 EXc de la SEQ ID NO: 6 se aisló de una muestra ambiental recogida en Dinamarca.

30

El DNA de la SEQ ID NO: 7 que codifica el polipéptido GH5 EXd de la SEQ ID NO: 8 se obtuvo de la base de datos pública (UNIPROT M2V1S3) pero se origina a partir de una cepa de *Pseudomonas stutzeri* recogida de una chimenea hidrotermal de la falla de las Galápagos, Ecuador.

Se preparó ADN sintético con codones optimizados que codificaba las secuencias peptídicas maduras de los cuatro polipéptidos (SEQ ID NO: 9; SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11; SEQ ID NO: 12).

35

Ejemplo 2: Clonación y expresión de polipéptidos GH5

Los genes que codifican GH5 se clonaron mediante técnicas convencionales de las cepas indicadas anteriormente o del ADN sintético y se insertaron en un plásmido adecuado como se describe a continuación.

40

Ejemplo 2a: Clonación y expresión de polipéptidos GH5 en *E. coli*

45

La parte codificante del péptido maduro de los genes de la endoglucanasa GH5, SEQ ID NO: 1, 3, 5 y 7 se insertó con un marcador de polihistidina N-terminal con prolina y arginina adicionales (HHHHHPR) (SEQ ID NO: 19) después de la metionina en el vector pET-32a (+) de *E. coli* de Novagen con técnicas recombinantes convencionales. El plásmido de expresión que contiene el inserto se purificó de un transformante de *E. coli* que alberga el plásmido y se transformó en células hospedadoras *E. coli* Xjb (DE3) (de Zymo Research). Un nuevo clon de *E. coli* Xjb (DE3) que contiene el vector pET32-GH5, se cultivó durante una noche en caldo de cultivo Terrific que contenía ampicilina 100 µg/ml. Al día siguiente, se inoculó un nuevo cultivo de 500 ml con 1 ml de cultivo durante una noche y las células se cultivaron (37 °C, 250 rpm) hasta una densidad óptica (DO600) entre 6-8. Se indujo expresión de proteínas por isopropiltio-D-galactosidasa 1 mM (IPTG) y arabinosa 6 mM durante 4,5 horas a 20 °C. Después de cultivo continuado, las células se recogieron por centrifugación y se lisaron mediante Bugbuster® (Novagen). La fracción soluble se usó para purificación de marcadores de polihistidina de los polipéptidos GH5 SEQ ID NO: 13, 14 y 15 como se describe en el ejemplo 4.

55

Ejemplo 2b: Clonación y expresión de polipéptidos GH5 en *Bacillus subtilis*

60

Los genes con codones optimizados sintéticos SEQ ID NO: 10, 11 y 12 se clonaron en el vector de expresión de *Bacillus* descrito en el documento WO 2012/025577. Los genes se expresaron reemplazando la secuencia señal de secreción nativa con la señal de secreción de *Bacillus clausii* MKKPLGKIVASTALLISVAFSSSIASA (SEQ ID NO: 20) con una secuencia marcadora de afinidad adicional (HHHHHPR) (SEQ ID NO: 19) en el extremo C del péptido señal, para facilitar el proceso de purificación. Esto dio como resultado un polipéptido maduro recombinante con un marcador de His en la parte delantera del extremo N de la secuencia de tipo silvestre madura (SEQ ID NO: 16, 17 y 18).

65

Se seleccionó un clon con la secuencia génica recombinante correcta y el plásmido correspondiente se integró mediante recombinación homóloga en el genoma de célula hospedadora de *Bacillus subtilis* (locus de pectato liasa) y la construcción génica se expresó bajo el control de un sistema promotor triple como se describe en el documento WO99/43835. El gen que codifica la cloranfenicol acetiltransferasa se usó como marcador (como se describe en

Diderichsen *et al.*, 1993, Plasmid 30:312-315).

Los transformantes resistentes a cloranfenicol se analizaron mediante PCR para verificar el tamaño correcto del fragmento amplificado. Se seleccionó un clon recombinante de *B. subtilis* que contenía la construcción de expresión integrada y se cultivó en una mesa rotatoria de agitación en matraces Erlenmeyer con deflectores de 500 ml, cada uno de los cuales contenía 100 ml de medio a base de extracto de levadura. El clon se cultivó durante 5 días a 30 °C. Los sobrenadantes que contenían enzimas se recogieron y la enzima se purificó como se describe en el ejemplo 5.

Ejemplo 3: Purificación del polipéptido GH5 de tipo silvestre de la cepa de *Opitutaceae* natural

La cepa de *Opitutaceae* se cultivó en una mesa rotatoria de agitación en matraces Erlenmeyer con deflectores de 500 ml, cada uno de los cuales contenía 100 ml de solución mineral con goma de xantano al 0,5 %. La cepa se cultivó durante 20 días a 30 °C. Se recogió un total de 2,0 l de sobrenadante mediante centrifugación y se filtró usando un filtro superior de frasco de 0,2 µm (Nalgene Nunc). El caldo de cultivo se concentró a 300 ml usando ultrafiltración (Sartorius) con punto de corte de 30 kDa. Se añadió lentamente un volumen igual de sulfato de amonio 3,2 M en Tris-HCl 40 mM, pH 7,9, con agitación continua. La muestra se filtró utilizando filtros de vidrio Whatman (1,7 µm - 0,7 µm) para eliminar partículas mayores. La muestra se aplicó en una columna de 20 ml de fenilsepharose de alto rendimiento (GE Healthcare) preequilibrada con sulfato de amonio 1,6 M en Tris-HCl 20 mM, pH 7,9 (tampón de equilibrio). La proteína sin unir se eluyó mediante dos volúmenes de columna de tampón de equilibrio. Se realizó elución mediante un gradiente lineal de 12 volúmenes de columna de sulfato de amonio 1,6 M a 0,0 M en Tris-HCl 20 mM, pH 7,9. Se usó una última etapa de elución de 4 volúmenes de columna con tampón de equilibrio para eluir la proteína fuertemente unida. Se registró la absorbancia a 280 nm durante toda la purificación. Las fracciones que contenían proteínas identificadas por la absorbancia a 280 nm en el cromatograma se analizaron mediante SDS-PAGE (NuPAGE, Invitrogen). Se agruparon las fracciones consideradas puras. La muestra se concentró de 30 a 4 ml usando un dispositivo de ultrafiltración Macrosep con punto de corte de 3 kDa (Pall). La concentración de proteína se determinó midiendo la absorbancia a 280 nm usando el coeficiente de extinción calculado donde 1 mg/ml equivalía a 1,89 unidades de absorbancia.

Ejemplo 4: Purificación del polipéptido GH5 recombinante producido en *E. coli*

Se filtraron 200 ml de células lisadas (cultivadas como en el ejemplo 2a) a través de filtros de parte superior de frasco Fast PES de 0,2 µm para eliminar residuos y células intactas. Se añadieron 200 ml de tampón de equilibrio (Tris-HCl 20 mM, pH 7,5 + NaCl 500 mM) a la solución de proteína en bruto. Una columna HisPrep de 20 ml cargada con Ni²⁺ se equilibró con tampón de equilibrio hasta que se obtuvo un valor de referencia UV estable. La absorbancia a 280 nm se supervisó continuamente durante toda la purificación. Se cargó proteína en bruto en la columna usando un caudal de 4 ml/min. La proteína sin unir se eliminó lavando la columna con tampón de equilibrio hasta que se obtuvo un valor de referencia UV estable. Se llevó a cabo elución mediante un gradiente lineal de dos etapas usando Tris-HCl 20 mM, pH 7,5 + NaCl 500 mM + Imidazol 500 mM (tampón de elución). El primer gradiente de elución fue de 10 volúmenes de columna de 0 a 40 % de tampón de elución seguido de 4 volúmenes de columna de 40 % a 100 %. Los picos que absorbían a 280 nm se analizaron mediante SDS-PAGE (NuPAGE, Invitrogen). Se agruparon fracciones que contenían proteína con el peso molecular aparente correcto. El grupo se desaló y se cambió el tampón usando una columna de desalinización súper fina Sephadex G-25 equilibrada con Tris-HCl 20 mM, pH 8,0. El grupo se aplicó en una columna Source15Q de 20 ml preequilibrada con Tris-HCl 20 mM, pH 8,0. La proteína sin unir se retiró por lavado con Tris-HCl 20 mM, pH 8,0 hasta que se obtuvo valor de referencia UV estable. Se realizó elución mediante un gradiente lineal de NaCl de 10 volúmenes de columna de NaCl 0 a 500 mM en Tris-HCl 20 mM, pH 8,0. Se analizaron las fracciones que contenían proteínas mediante SDS-PAGE y se agruparon las fracciones consideradas puras. Se midió la concentración de proteína usando absorbancia a 280 nm usando un coeficiente de extinción calculado donde 1 mg/ml correspondía a 1,86 unidades de absorbancia.

Ejemplo 5: Purificación del polipéptido GH5 recombinante producido en *B. subtilis*

Todas las enzimas marcadas con His se purificaron mediante cromatografía de metal inmovilizado (IMAC) usando Ni²⁺ como el ion metálico en columnas HisTrap Excel de 5 ml (GE Healthcare Life Sciences). La purificación se realizó a pH 8 y las proteínas unidas se eluyeron con imidazol. La pureza de las enzimas purificadas se verificó mediante SDS-PAGE y la concentración de cada enzima se determinó mediante Abs a 280 nm después de un intercambio de tampón.

Ejemplo 6: Actividad degradante de xantano del polipéptido GH5 y la xantano liasa en goma de xantano mediante medición de reducción de la viscosidad

Las mediciones de reducción de la viscosidad se realizaron usando el ensayo de presión de viscosidad descrito en el documento WO2011/107472 y siguiendo el método descrito en el documento WO2013167581. Los resultados presentados son el promedio de tres mediciones y se muestran en las tablas 1 y 2 a continuación.

Se usó un tamaño de muestra de 400 µl. Las condiciones de hidrólisis fueron las siguientes: 30 °C, goma de xantano (GX) al 0,25 % o 0,5 % en tampón MES 50 mM + triton x-100 0,01 % pH 7,0 o tampón CHES 100 mM + triton x-100

0,01 % pH 10. Se añadió enzima tras el equilibrio térmico. Antes de usar todas las enzimas, el tampón se cambió al tampón MES usando columnas de NAP 5 (GE Healthcare).

Las preparaciones enzimáticas purificadas del ejemplo 5 se usaron para el análisis a una concentración de 31,25 mg/l.

5

Tabla 1: Mediciones de viscosidad (Pa) de EXa (SEQ ID NO: 13) y/o xantano liasa (SEQ ID NO: 21) en goma de xantano al 0,5 % a pH 7.

	T = 0 minutos	T = 30 minutos	T = 1 hora	T = 2 horas	T = 3 horas	T = 4 horas
Agua (control)	430 ± 44	504 ± 50	470 ± 75	483 ± 86	466 ± 60	504 ± 82
Goma de xantano (control)	1703 ± 132	1738 ± 26	1837 ± 122	1803 ± 64	1739 ± 84	1757 ± 21
Goma de xantano + EXa SEQ ID NO: 13	1586 ± 101	1154 ± 38	1270 ± 67	1230 ± 36	1156 ± 49	1184 ± 44
Goma de xantano + XLa SEQ ID NO: 21	1963 ± 93	1884 ± 67	1890 ± 84	1840 ± 131	1886 ± 50	1950 ± 25
Goma de xantano + EXa SEQ ID NO: 13 + XLa SEQ ID NO: 21	1370 ± 197	861 ± 23	973 ± 59	840 ± 62	916 ± 47	904 ± 79

Los resultados presentados anteriormente muestran que el polipéptido GH5 solo y en combinación con xantano liasa puede degradar la goma de xantano presente en el medio a pH 7, conduciendo de este modo a la reducción de la viscosidad. Se obtiene un efecto sinérgico con la combinación de GH5 y xantano liasa.

10

Tabla 2: Mediciones de viscosidad (Pa) de EXa (SEQ ID NO: 13) y/o xantano liasa (SEQ ID NO: 23) en goma de xantano al 0,5 % a pH 10

	T = 0	T = 0,5 horas	T = 1 hora	T = 2 horas	T = 3,5 horas
Agua	370 ± 10	454 ± 15	519 ± 60	411 ± 29	554 ± 180
Control de goma de xantano (GX)	1740 ± 151	1734 ± 21	1819 ± 67	1795 ± 29	1898 ± 75
GX + EXa SEQ ID NO: 13	1676 ± 50	1324 ± 58	1223 ± 12	1251 ± 31	1318 ± 62
GX + XLc SEQ ID NO: 23	2046 ± 112	1811 ± 82	1773 ± 64	1781 ± 92	1704 ± 67
GX + EXa SEQ ID NO: 13 + XLc SEQ ID NO: 23	1573 ± 227	1057 ± 21	1153 ± 12	1161 ± 40	1188 ± 89

Los resultados presentados anteriormente muestran que el polipéptido GH5 solo o en combinación con xantano liasa puede degradar la goma de xantano presente en el medio a pH 10, conduciendo de este modo a la reducción de la viscosidad.

15

Tabla 3: Mediciones de la viscosidad (Pa) de EXa (SEQ ID NO: 13), EXd (SEQ ID NO: 18) y/o xantano liasa (XLa, SEQ ID NO: 21) en goma de xantano al 0,5 % a pH 7.

	T = 0	T = 0,5 horas	T = 1 hora	T = 2 horas	T = 3 horas
Control de agua	440	410	333	413	469
Control de goma de xantano (GX)	1626	1590	1546	1566	1659

(continuación)

Tabla 3: Mediciones de la viscosidad (Pa) de EXa (SEQ ID NO: 13), EXd (SEQ ID NO: 18) y/o xantano liasa (XLa, SEQ ID NO: 21) en goma de xantano al 0,5 % a pH 7.

	T = 0	T = 0,5 horas	T = 1 hora	T = 2 horas	T = 3 horas
GX + EXa SEQ ID NO: 13	1220	1080	1046	1040	1079
GX + EXa SEQ ID NO: 13 + XLa SEQ ID NO: 21	1263	850	786	793	815
GX + EXd SEQ ID NO: 18	1476	1406	1313	1283	1245
GX + EXd SEQ ID NO: 18 + XLa SEQ ID NO: 21	1490	1056	1023	933	912

Los resultados presentados anteriormente muestran que el polipéptido GH5 solo y en combinación con xantano liasa puede degradar la goma de xantano presente en el medio a pH 7, conduciendo de este modo a la reducción de la viscosidad.

20

Tabla 4: Mediciones de viscosidad (Pa) de EXa, EXb, Exc expresados de manera recombinante en *E. coli* (SEQ ID NO: 13; SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15) y/o xantano liasa (XLb, SEQ ID NO: 22) en goma de xantano al 0,5 % a pH 7. T = 00 es antes de la adición de enzima y T = 0 es justo después.

	T = 00	T = 0	T = 30 min	T = 1 h	T = 2 h	T = 3 h	T = 4 h
agua	541 ± 21	544 ± 119	519 ± 142	545 ± 70	399 ± 80	422 ± 114	326 ± 25
Control de goma de xantano	1878 ± 20	1444 ± 15	1599 ± 91	1571 ± 64	1605 ± 38	1586 ± 40	1566 ± 32
GX + XLb SEQ ID NO: 22	1898 ± 26	1511 ± 12	1522 ± 56	1505 ± 20	1579 ± 80	1516 ± 21	1559 ± 38
GX + EXb SEQ ID NO: 14	1884 ± 31	1281 ± 55	1202 ± 120	1145 ± 52	1132 ± 70	1096 ± 60	1116 ± 114
GX + EXc SEQ ID NO: 15	1931 ± 45	1444 ± 80	1122 ± 36	1108 ± 42	1105 ± 45	1019 ± 10	1059 ± 15
GX + EXa SEQ ID NO: 13	1891 ± 12	1441 ± 38	1102 ± 17	1051 ± 25	1005 ± 6	969 ± 26	1036 ± 25
GX + EXb SEQ ID NO: 14 + XLb SEQ ID NO: 22	1918 ± 61	1121 ± 6	862 ± 17	731 ± 31	689 ± 25	652 ± 40	576 ± 40
GX + EXc SEQ ID NO: 15 + XLb SEQ ID NO: 22	1911 ±	1111 ±	935 ±	848 ±	832 ±	822 ±	789 ±
GX + EXa SEQ ID NO: 13 + XLb SEQ ID NO: 22	1934 ± 31	1198 ± 36	855 ± 40	831 ± 40	785 ± 23	909 ± 26	819 ± 64

Los resultados presentados anteriormente muestran que los polipéptidos GH5 EXa, EXb y EXc solos y en combinación con xantano liasa pueden degradar la goma de xantano presente en el medio a pH 7, conduciendo de este modo a la reducción de la viscosidad. Se obtiene un efecto sinérgico con la combinación de polipéptido GH5 y xantano liasa.

Tabla 5: Mediciones de viscosidad (Pa) de EXa, expresado de manera recombinante en *E. coli* (SEQ ID NO: 13) y EXb y EXc expresados de manera recombinante en *B. subtilis* (SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17) y/o xantano liasa (XLb, SEQ ID NO: 22) en goma de xantano al 0,5 % a pH 7. T = 00 es antes de la adición de enzima y T = 0 es justo después.

	T = 00	T = 0	T = 30 min	T = 1 hora	T = 2 horas	T = 3 horas	T = 4 horas
Agua	441 ± 25	421 ± 40	646 ± 44	535 ± 59	599 ± 74	492 ± 15	494 ± 32
Goma de xantano (GX)	2027 ± 23	1707 ± 35	1949 ± 59	1785 ± 116	1746 ± 75	1726 ± 10	1867 ± 6
GX + EXa SEQ ID NO: 13	2054 ± 44	1514 ± 17	1299 ± 21	1112 ± 57	1089 ± 45	1046 ± 0	1027 ± 6
GX + EXb SEQ ID NO: 16	2067 ± 15	1527 ± 81	1393 ± 12	1229 ± 53	1159 ± 12	1136 ± 0	1134 ± 6

(continuación)

Tabla 5: Mediciones de viscosidad (Pa) de EXa, expresado de manera recombinante en *E. coli* (SEQ ID NO: 13) y EXb y EXc expresados de manera recombinante en *B. subtilis* (SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17) y/o xantano liasa (XLb, SEQ ID NO: 22) en goma de xantano al 0,5 % a pH 7. T = 00 es antes de la adición de enzima y T = 0 es justo después.

	T = 00	T = 0	T = 30 min	T = 1 hora	T = 2 horas	T = 3 horas	T = 4 horas
GX + EXc SEQ ID NO: 17	2061 ± 31	1501 ± 55	1416 ± 44	1175 ± 6	1183 ± 78	1169 ± 40	1147 ± 15
GX + EXa SEQ ID NO: 13 + XLb SEQ ID NO: 22	2061 ± 6	1274 ± 17	1063 ± 47	812 ± 59	769 ± 46	729 ± 15	671 ± 26
GX + EXb SEQ ID NO: 20 + XLb SEQ ID NO: 22	2074 ± 26	1411 ± 65	1079 ± 15	945 ± 92	809 ± 12	796 ± 10	781 ± 10
GX + EXc SEQ ID NO: 17 + XLb SEQ ID NO: 22	2094 ± 30	1491 ± 25	1166 ± 0	959 ± 46	889 ± 40	846 ± 0	847 ± 57
GX + XLb SEQ ID NO: 22	2097 ± 49	1794 ± 62	1863 ± 23	1685 ± 15	1653 ± 10	1679 ± 6	1667 ± 29
GX + EXa SEQ ID NO: 13 + XLa SEQ ID NO: 21	2131 ± 15	1227 ± 81	1143 ± 81	789 ± 62	739 ± 25	716 ± 44	677 ± 55
GX + EXb SEQ ID NO: 16 + XLa SEQ ID NO: 21	2104 ± 79	1324 ± 17	1096 ± 44	795 ± 31	803 ± 26	792 ± 21	767 ± 12
GX + EXc SEQ ID NO: 17 + XLa SEQ ID NO: 21	2107 ± 12	1241 ± 50	1163 ± 32	802 ± 15	826 ± 15	846 ± 0	894 ± 15
GX + XLa SEQ ID NO: 21	2134 ± 20	1741 ± 57	1933 ± 29	1639 ± 30	1659 ± 23	1666 ± 17	1637 ± 12

Los resultados presentados anteriormente muestran que los polipéptidos GH5 EXa, EXb y EXc solos y en combinación con xantano liasa pueden degradar la goma de xantano presente en el medio a pH 7, conduciendo de este modo a la reducción de la viscosidad. Se obtiene un efecto sinérgico con la combinación de polipéptido GH5 y xantano liasa.

5

Tabla 6: Mediciones de viscosidad (Pa) de EXa, EXb, Exc expresados de manera recombinante en *E. coli* (SEQ ID NO: 13; SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 15) y/o xantano liasa (XLc, SEQ ID NO: 23 o SEQ ID NO: 24) en goma de xantano al 0,5 % a pH 10. T = 00 es antes de la adición de enzima y T = 0 es justo después.

	T = 00	T = 0	T = 30'	T = 1 h	T = 2 h	T = 3 h
Agua	429 ± 66	502 ± 110	504 ± 50	434 ± 29	478 ± 42	479 ± 26
Goma de xantano (GX)	1932 ± 31	1485 ± 81	1678 ± 12	1641 ± 70	1642 ± 38	1592 ± 92
GX + EXa SEQ ID NO: 13	1992 ± 138	1332 ± 6	1254 ± 21	1147 ± 51	1192 ± 35	1215 ± 31
GX + EXb SEQ ID NO: 14	1989 ± 85	1415 ± 50	1351 ± 66	1321 ± 17	1358 ± 51	1252 ± 21
GX + EXc SEQ ID NO: 17	1892 ± 45	1442 ± 100	1408 ± 21	1341 ± 50	1332 ± 31	1262 ± 51
GX + EXa SEQ ID NO: 13 + XLc SEQ ID NO: 23	1899 ± 69	1429 ± 62	1084 ± 76	1131 ± 17	1092 ± 25	1112 ± 40
GX + EXb SEQ ID NO: 14 + XLc SEQ ID NO: 23	2019 ± 62	1465 ± 132	1144 ± 23	1121 ± 53	1108 ± 81	1012 ± 59
GX + EXc SEQ ID NO: 15 + XLc SEQ ID NO: 23	2085 ± 80	1602 ± 38	1344 ± 15	1321 ± 10	1262 ± 55	1319 ± 10
GX + XLc SEQ ID NO: 23	2005 ± 47	1702 ± 75	1588 ± 6	1524 ± 67	1588 ± 60	1569 ± 36
GX + EXa SEQ ID NO: 13 + XLd SEQ ID NO: 24	1959 ± 72	1462 ± 110	1158 ± 38	1144 ± 40	1148 ± 72	1005 ± 45
GX + EXb SEQ ID NO: 14 + XLd SEQ ID NO: 24	1975 ± 25	1442 ± 35	1211 ± 26	1177 ± 15	1192 ± 72	1182 ± 67
GX + EXc SEQ ID NO: 15 + XLd SEQ ID NO: 24	1925 ± 133	1422 ± 95	1238 ± 12	1274 ± 58	1208 ± 81	1215 ± 67

(continuación)

Tabla 6: Mediciones de viscosidad (Pa) de EXa, EXb, Exc expresados de manera recombinante en <i>E. coli</i> (SEQ ID NO: 13; SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 15) y/o xantano liasa (XLc, SEQ ID NO: 23 o SEQ ID NO: 24) en goma de xantano al 0,5 % a pH 10. T = 00 es antes de la adición de enzima y T = 0 es justo después.						
	T = 00	T = 0	T = 30'	T = 1 h	T = 2 h	T = 3 h
GX + XLd SEQ ID NO: 24	1839 ± 40	1525 ± 61	1488 ± 21	1447 ± 42	1432 ± 15	1425 ± 76

Los resultados presentados anteriormente muestran que los polipéptidos GH5 GH5, EXb y EXc en combinación con xantano liasa pueden degradar la goma de xantano presente en el medio a pH 10, conduciendo de este modo a la reducción de la viscosidad.

5

Tabla 7: Mediciones de viscosidad (Pa) del polipéptido GH5 purificado del sobrenadante de la cepa de <i>Opitutaceae</i> sp y/o xantano liasa (XLa, SEQ ID NO: 21) en goma de xantano al 0,25 % a pH 7					
	T = 0	T = 0,5 horas	T = 1 hora	T = 2 horas	T = 3 horas
Agua	471 ± 99	390 ± 46	423 ± 61	433 ± 64	438 ± 36
Goma de xantano (GX)	898 ± 12	880 ± 40	900 ± 17	820 ± 40	908 ± 50
GX + EXa SEQ ID NO: 1	856 ± 34	743 ± 46	723 ± 34	672 ± 38	644 ± 55
GX + XLa SEQ ID NO: 21	908 ± 29	865 ± 22	860 ± 35	857 ± 32	856 ± 61
GX + EXa SEQ ID NO: 1 + XLa SEQ ID NO: 21	800 ± 28	597 ± 30	612 ± 31	577 ± 45	648 ± 89

Ejemplo 8: Actividad degradante de xantano del polipéptido GH5 y la xantano liasa en goma de xantano mediante medición de reducción de la viscosidad

10

Las mediciones de viscosidad se realizaron usando el ensayo de presión de viscosidad descrito en el documento WO2011/107472. El tamaño de la muestra fue de 150 µl de cada 1 ml de hidrólisis o control. Los resultados presentados son el promedio de cuatro mediciones y se muestran en las tablas 8 y 9 a continuación.

15

Se preparó goma de xantano modificada mediante una adaptación de Nankai *et al.* 1999. "Microbial system for polysaccharide depolymerization: enzymatic route for xanthan depolymerization by *Bacillus* sp strain GL1." *Applied and Environmental Microbiology* 65(6): 2520-2526.

20

Se humedecieron 2,5 g de goma de xantano (CP Kelco) con 5 ml de etanol al 96 % en un vaso de precipitados de 2 l. Se añadieron 500 ml de tampón ACES 100 mM pH 7,00 y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadieron 250 µl de xantano liasa (*Bacillus* sp., Megazyme) y la solución se incubó durante 20 h a 50 °C. La muestra se enfrió después colocando el vaso de precipitados en hielo. Después de la hidrólisis se añadieron 1400 ml de etanol helado al 96 % a la muestra de 500 ml, con agitación. Se produce precipitación y, después de aproximadamente 5 minutos, se decantó el etanol eliminando los restos de manosa con piruvato. La muestra se filtró al vacío y se transfirió a una placa de vidrio. Los vidrios se secaron a 50 °C durante 20 h. La muestra se recogió, se pesó y se molió.

25

Las condiciones de hidrólisis fueron las siguientes: 40 °C, goma de xantano (GX) al 0,35 % en tampón HEPES 50 mM + Triton X-100 0,01 % pH 7,0. El polvo de goma de xantano modificado (GXm) se preparó como se ha descrito anteriormente y se preparó una solución al 0,7 % usando el mismo procedimiento descrito para GX. Se añadió enzima tras el equilibrio térmico. La viscosidad inicial se mide antes de la adición de la enzima, después del equilibrio térmico. Los controles son iguales con tampón añadido en lugar de enzima. Se supervisó el tampón para determinar el punto final último de una hidrólisis total.

30

Tabla 8. Mediciones de viscosidad (Pa). EXc SEQ ID NO: 17 y XLb (SEQ ID NO: 22). Cada enzima dosificada en 1,5 ppm. pH 7,0							
Tiempo (minutos)	0	15	30	45	60	75	90
Control de tampón HEPES 50 mM	645	610	521	502	620	632	600
Goma de xantano + control de tampón	2140	2075	1948	2092	2033	2077	2005
Goma de xantano + EXc	2120	1295	991	957	935	1112	917
Goma de xantano + EXc + xantano liasa	1977	808	811	837	773	807	777
Goma de xantano + xantano liasa	1972	1853	1838	1802	1750	1737	1677
Goma de xantano modificada + control de tampón	2262	2100	2143	2134	2118	2150	2097
Goma de xantano modificada + EXc	2217	1225	1173	1157	1130	1155	1130

Ejemplo 9: Rendimiento de lavado del polipéptido GH5 y xantano liasa

El rendimiento de lavado de la enzima GH5 se evaluó en experimentos de lavado de ropa usando un ensayo de lavado Mini, que es un método de prueba en el que el tejido sucio se levanta y se baja continuamente en la solución de prueba y después se aclara. El experimento de lavado se realizó en las condiciones experimentales especificadas en la tabla 10.

5 Posteriormente, los tejidos se secaron al aire y el rendimiento del lavado se midió como el brillo del color de los tejidos. El brillo se puede expresar como la remisión (R), que es una medida de la luz reflejada o emitida por el material de prueba cuando se ilumina con luz blanca. La remisión (R) de los tejidos se midió a 460 nm usando un espectrofotómetro Zeiss MCS 521 VIS. Las mediciones se realizaron según el protocolo del fabricante. El rendimiento de la nueva enzima (combinación) se comparó con el rendimiento de detergente solo (blanco). Se considera que una enzima (combinación) presenta rendimiento de lavado mejorado, si rinde mejor que el detergente solo (es decir, $R_{ENZIMA} > R_{BLANCO}$) (véanse tablas 13 y 14).

Detergente	Detergente de modelo líquido A o detergente modelo T (véanse tablas 11 y 12)
Dosis de detergente	3,33 g/l
pH	"tal cual" en la solución de detergente actual y no se ajustó
Dureza del agua	16 °dH, ajustado añadiendo $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y NaHCO_3 (5:1:3) a agua milli-Q.
Enzimas	EXc (SEQ ID NO: 17), xantano liasa (XLb, SEQ ID NO: 22 o XLc SEQ ID NO: 23)
Dosis enzimática	Dosis de GH5: 0,05 mg de EP/I (proteína enzimática), 0,10 mg de EP/I, 0,2 mg de EP/I, 0,5 mg de EP/I, 1,0 mg de EP/I; se realizaron experimentos con combinaciones de GH5 y XL con una concentración fija de 1,0 mg de EP/I XL
Volumen de solución de prueba	50 ml
Material de prueba	Goma de xantano con muestras textiles DN-31D negro de carbón (23x3 cm). El material de prueba se obtuvo del Center for Testmaterials BV, apartado de correos 120, 3133 KT Vlaardingen, Países Bajos y WFK Testgewebe GmbH, Christenfeld 10, D-41379 Brüggen, Alemania
Temperatura	40 °C
Tiempo de lavado	30 min
Tiempo aclarado	5 min
Sistema de prueba	Tejidos sucios levantados y bajados continuamente en las soluciones de prueba, 50 veces por minuto (tiempo arriba 0,4 s, tiempo abajo 0,4 s, tiempo de elevación 0,4 s). Las soluciones de prueba se mantienen en vasos de precipitados de vidrio de 125 ml. Después del lavado de los tejidos se levantan y se bajan continuamente en agua corriente, 50 veces por minuto (tiempo arriba 0,4 s, tiempo abajo 0,4 s, tiempo de elevación 0,4 s).

Ingredientes de detergentes	% en peso
Ácido alquilbencenosulfónico lineal (LAS) (Marlon AS3)	13
Alquil(C12)éter sulfato de sodio (AEOS) (STEOL CS-370 E)	10
Jabón de coco (Radiacid 631)	2,75
Jabón de soja (Edenor SJ)	2,75
Alcohol etoxilato (AEO) (Bio-Soft N25-7)	11
Hidróxido de sodio	2
Etanol	3
Propano-1,2-diol (MPG)	6
Glicerol	2
Trietanolamina (TEA)	3
Formiato de sodio	1
Citrato de sodio	2

(continuación)

Ingredientes de detergentes	% en peso
Dietiltri Aminapentakis (ácido metilfosfónico) (DTMPA)	0,2
Polímero de policarboxilato (PCA) (Sokalan CP-5)	0,2
Agua	Hasta 100

¹⁾El pH del detergente se ajustó a pH 8 con hidróxido de sodio o ácido cítrico.

Ingredientes de detergentes	% en peso
LAS, sal sódica	11,72
AS, sal sódica	2,0
Jabón, sal sódica	2,15
AEO	3,0
Ceniza de sosa	14,98
Silicato de sodio hidratado	3,12
Zeolita A	18,75
HEDP-Na4	0,15
Citrato de sodio	2,0
PCA, copoli(ácido acrílico/ácido maleico), sal sódica	1,65
SRP	0,5
Sulfato de sodio	13,53
Percarbonato de sodio	22,20
TAED	3,25
Regulador de espuma	1,0

Tabla 13: Valores de remisión (R) obtenidos en lavado Mini usando EXc con y sin xantano liasa (XLb) en detergente líquido modelo A

Dosis enzimática	Sin enzima	EXc	EXc + xantano liasa
0,05 mg de EP/l	29,5	32,8	35,1
0,1 mg de EP/l	29,5	33,6	35,4
0,2 mg de EP/l	29,5	34,3	35,9
0,5 mg de EP/l	29,5	35,1	36,7
1,0 mg de EP/l	29,5	35,4	37,3

5

Tabla 14 Valores de remisión (R) obtenidos en lavado Mini con EXc con y sin xantano liasa (XLc) en detergente en polvo modelo T

Dosis enzimática	Sin enzima	EXc	EXc + xantano liasa
0,05 mg de EP/l	29,8	29,7	29,7
0,1 mg de EP/l	29,8	29,8	29,8
0,2 mg de EP/l	29,8	30,0	30,0
0,5 mg de EP/l	29,8	30,6	30,9
1,0 mg de EP/l	29,8	31,0	31,2

Ejemplo 10: El rendimiento de lavado de combinaciones de un polipéptido GH5 y xantano liasa se probó en manchas específicas

10 El rendimiento de lavado de las variantes en detergentes líquidos y en polvo se determinó usando las siguientes manchas estandarizadas, todas disponibles de CFT (Center for Testmaterials) B.V., Vlaardingen, Países Bajos:

A: Maquillaje líquido: producto n.º PCS17

B: Maquillaje líquido: producto n.º CS17

15

Para las pruebas en detergentes líquidos, se usó un agente de lavado líquido con la siguiente composición como formulación base (todos los valores en porcentaje en peso): de 0 a 0,5 % de goma de xantano, de 0,2 a 0,4 % de agente antiespumante, de 6 a 7 % de glicerol, de 0,3 a 0,5 % de etanol, de 0 a 7 % de FAEOS (sulfato de éter de alcohol graso), de 10 a 28 % de tensioactivos no iónicos, 0,5-1 % de ácido bórico, de 1 a 2 % de citrato de sodio (dihidrato), de 2 a 4 % de sosa, de 0 a 16 % de ácido graso de coco, 0,5 % de HEDP (1-hidroxietano-(ácido 1,1-difosfónico)), de 0 a 0,4 % de PVP (polivinilpirrolidona), de 0 a 0,05 % de abrillantadores ópticos, de 0 a 0,001 % de tinte, resto de agua desionizada.

Basándose en esta formulación base, se preparó detergente añadiendo la combinación enzimática respectiva como se indica en la tabla 15. Como referencia, se usó la composición detergente sin adición de las combinaciones enzimáticas.

La relación de dosificación del agente de lavado líquido fue de 4,7 gramos por litro de solución de lavado y el procedimiento de lavado se realizó durante 60 minutos a una temperatura de 40 °C, teniendo el agua una dureza de agua entre 15,5 y 16,5 ° (grados de dureza alemanes).

Para las pruebas en detergentes sólidos, se usó un detergente europeo de alta calidad como formulación base.

La blancura, es decir, el aclaramiento de las manchas, se determinó fotométricamente como una indicación del rendimiento del lavado. Se usó un dispositivo espectrómetro Minolta CM508d, que se calibró de antemano usando un patrón blanco proporcionado con la unidad.

Los resultados obtenidos son los valores de diferencia entre las unidades de remisión obtenidas con los detergentes y las unidades de remisión obtenidas con el detergente que contiene las combinaciones de enzimas. Por lo tanto, un valor positivo indica un rendimiento de lavado mejorado debido a las combinaciones de enzimas presentes en el detergente. Resulta evidente a partir de la tabla 15 que las combinaciones de enzimas según la invención muestran rendimiento de lavado mejorado.

Tabla 15: Rendimiento de lavado en detergente líquido

Combinación de enzimas		A	B
XLb SEQ ID NO: 22 + EXc SEQ ID NO: 17	Dif	3,3	6,4
	HSD	2,4	1,2

Tabla 16: Rendimiento de lavado en detergente sólido

Combinación de enzimas		B
XLb SEQ ID NO: 22 + EXc SEQ ID NO: 17	Dif	1,9
	HSD	1,2

Ejemplo 11: Rendimiento de lavado de polipéptidos GH5 con y sin xantano liasa

En este ejemplo, se evaluó el rendimiento de lavado de los polipéptidos GH5 en un detergente líquido modelo A lavado en el Ensayo de tensión mecánica automática (ETMA) a 20 °C o 40 °C. El rendimiento de lavado de las enzimas se evaluó solo o en combinación con una xantano liasa. Las condiciones de lavado usadas se especifican en la tabla 17 a continuación.

Tabla 17. Condiciones de lavado usadas en el ejemplo 11:

Detergente	Detergente líquido modelo A
Con. de detergente	3,3 g/l
pH	"tal cual" en la solución de detergente actual y no se ajustó
Temperatura	20 °C o 40 °C
Dosis en placa de ETMA	140 µl de detergente por ranura; 20 µl de enzima por ranura
Dureza del agua	16 °dH, ajustado añadiendo CaCl ₂ *2H ₂ O, MgCl ₂ *6H ₂ O y NaHCO ₃ (5:1:3) a agua milli-Q
Enzimas	EXb (SEQ ID NO: 16); EXc (SEQ ID NO: 17), xantano liasa (XLb, SEQ ID NO: 22)
Dosis enzimática	Concentraciones de EXb y EXc: 0,7, 1,5, 20, 125 ppb de concentración de XLb: 400 ppb
Volumen de solución de prueba	160 microl
Tiempo de lavado	20 minutos
Mancha/muestra	Mayonesa con negro de carbón CS-05 S de CFT, Center for Testmaterials BV.

La enzima y el líquido de lavado se dosificaron en la placa de ETMA y se lavaron según las condiciones enumeradas en la tabla 17. Después del lavado, la tela se irrigó con agua corriente y se secó al aire. El rendimiento de la enzima se midió posteriormente como el brillo del color de las muestras textiles. El brillo se midió como la intensidad de la luz reflejada por la muestra textil cuando se iluminó con luz blanca. La intensidad se midió con un escáner plano profesional EPSON EXPRESSION 10000XL con un software de diseño especial que extrajo el valor de intensidad de la imagen escaneada a través de cálculos vectoriales convencionales.

El rendimiento de la enzima (o combinación de enzimas) se comparó con el rendimiento del detergente solo (blanco) o detergente con la xantano liasa (XL). Se consideró que una enzima (o combinación de enzimas) presentaba rendimiento de lavado mejorado si rindió mejor que el detergente solo (es decir, $R_{ENZIMA} > R_{BLANCO}$) (véanse tablas 18, 19, 20 y 21).

Tabla 18. Intensidad e intensidad delta de los polipéptidos GH5 EXb (SEQ ID NO: 16) y EXc (SEQ ID NO: 17) probados en ETMA a 20 °C en el detergente modelo A.

Concentración [ppb]	Intensidad				Intensidad Delta			
	0,7	1,5	20	125	0,7	1,5	20	125
Blanco	210,4	210,4	210,4	210,4				
EXb (SEQ ID NO: 16)	210,8	212,8	217,2	217,8	0,4	2,4	6,8	7,5
EXc (SEQ ID NO: 17)	212,0	214,4	216,5	218,4	1,6	4,1	6,2	8,0

Tabla 19. Intensidad e intensidad delta de los polipéptidos GH5 EXb (SEQ ID NO: 16) y EXc (SEQ ID NO: 17) probados en ETMA a 40 °C en el detergente modelo A.

Concentración [ppb]	Intensidad				Intensidad Delta			
	0,7	1,5	20	125	0,7	1,5	20	125
Blanco	220,0	220,0	220,0	220,0				
EXb (SEQ ID NO: 16)	221,9	222,9	229,4	230,2	1,9	3,0	9,4	10,2
EXc (SEQ ID NO: 17)	223,2	225,4	228,3	229,0	3,3	5,4	8,3	9,0

Tabla 20. Intensidad e intensidad delta de los polipéptidos GH5 EXb (SEQ ID NO: 16) y EXc (SEQ ID NO: 17) con xantano liasa (XLb (SEQ ID NO: 22) probado en ETMA a 20 °C en detergente modelo A.

Concentración [ppb]	Intensidad				Intensidad Delta			
	0,7	1,5	20	125	0,7	1,5	20	125
Blanco con XLb (SEQ ID NO: 22)	214,0	214,0	214,0	214,0				
EXb (SEQ ID NO: 16 con XLb (SEQ ID NO: 22)	213,0	215,3	220,4	223,7	-1,0	1,3	6,4	9,7
EXc (SEQ ID NO: 17) con XLb (SEQ ID NO: 22)	212,4	215,1	220,2	221,4	-1,6	1,1	6,2	7,4

Tabla 21. Intensidad e intensidad delta de los polipéptidos GH5 EXb (SEQ ID NO: 16) y EXc (SEQ ID NO: 17) con xantano liasa (XLb (SEQ ID NO: 22) probado en ETMA a 40 °C en detergente modelo A.

Concentración [ppb]	Intensidad				Intensidad Delta			
	0,7	1,5	20	125	0,7	1,5	20	125
Blanco con XLb (SEQ ID NO: 22)	220,6	220,6	220,6	220,6				
EXb (SEQ ID NO: 16 con XLb (SEQ ID NO: 22)	222,0	225,0	231,0	232,6	1,3	4,4	10,3	12,0
EXc (SEQ ID NO: 17) con XLb (SEQ ID NO: 22)	222,3	223,9	230,1	231,5	1,7	3,2	9,5	10,9

Los resultados en las tablas anteriores muestran que los polipéptidos GH5, p. ej., EXb y EXc, tienen un rendimiento de lavado mejorado cuando se evalúan solos o en combinación con la xantano liasa, p. ej., XLb.

La invención descrita y reivindicada en el presente documento no está limitada en su alcance por los aspectos específicos desvelados en el presente documento, ya que se entiende que estos aspectos son ilustraciones de varios aspectos de la invención. Se entiende que cualquier aspecto equivalente está dentro del alcance de la presente invención. De hecho, diversas modificaciones de la invención, además de las mostradas y descritas en el presente documento, resultarán evidentes para los expertos en la materia a partir de la descripción anterior. También se pretenden que dichas modificaciones estén dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. En caso de conflicto, prevalecerá la presente divulgación, incluyendo las definiciones.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Henkel AG & Co. KGaA

5 <120> Composiciones detergentes que comprenden polipéptidos que tienen actividad degradante de xantano

<130> PT033160PCT

10 <150> 15185640.8
<151> 17/09/2015

<160> 25

15 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 2517
<212> ADN
<213> *Opitutaceae* sp

20 <220>
<221> CDS
<222> (1)..(2514)

25 <220>
<221> sig_peptide
<222> (1)..(108)

30 <220>
<221> mat_peptide
<222> (109)..(2514)

<400> 1

atg caa tca tca agc tca aat tcg gtc gta tcc gct tcc cgg ata ctc 48
Met Gln Ser Ser Ser Ser Asn Ser Val Val Ser Ala Ser Arg Ile Leu
-35 -30 -25

cga cgc ttc tcc ctc ccg ctg ctc gcc gcc gcg ctg ggc ctc gcc gcg 96
Arg Arg Phe Ser Leu Pro Leu Leu Ala Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala
-20 -15 -10 -5

ccc gcc cgc gcc gcc gac tat tac ctg aag gcc agc caa ggc gca tcc 144
Pro Ala Arg Ala Ala Asp Tyr Tyr Leu Lys Ala Ser Gln Gly Ala Ser
-1 1 5 10

aac cac tgg tcc tcc cat ctc acc gac tgg acc gcc aac gcc gac ggc 192
Asn His Trp Ser Ser His Leu Thr Asp Trp Thr Ala Asn Ala Asp Gly
15 20 25

acc gcc gcc aac ccg acg gtc atc ggc ctg gcc gac acc ttc gac acc 240
Thr Gly Ala Asn Pro Thr Val Ile Gly Leu Ala Asp Thr Phe Asp Thr
30 35 40

aac aac cgc acg ctt cgc act ccc gcc gtc aac gcc acc acc acc tac 288
Asn Asn Arg Thr Leu Arg Thr Pro Ala Val Asn Ala Thr Thr Thr Tyr
45 50 55 60

ccg gcc gcc gtg ctc cgc ctt tcc ggc gcc gcc gcc gtc atc gcc atg 336
Pro Gly Gly Val Leu Arg Leu Ser Gly Gly Ala Gly Val Ile Gly Met
65 70 75

ES 2 794 837 T3

aag act ggc ggc acc gcc gtc gcc atc gtg ccc aag ctc gtc tcc acc	384
Lys Thr Gly Gly Thr Ala Val Ala Ile Val Pro Lys Leu Val Ser Thr	
80 85 90	
gcc ggc acc gtg gac gcc tgg cac acc ggc acc caa tac ttc cgc gcc	432
Ala Gly Thr Val Asp Ala Trp His Thr Gly Thr Gln Tyr Phe Arg Ala	
95 100 105	
gac gac tgg gag aac ctc gcc tcc ggc acc ggg ttc acc gcg ctc aag	480
Asp Asp Trp Glu Asn Leu Ala Ser Gly Thr Gly Phe Thr Ala Leu Lys	
110 115 120	
gcc gtc gcc ggc cgc acg ctc aag gtc agc gtc gcc aag ctc acc gcc	528
Ala Val Ala Gly Arg Thr Leu Lys Val Ser Val Gly Lys Leu Thr Gly	
125 130 135 140	
tcc ggc gag acc cgt ctt cac ggc ggc ggc gcc gtc cgc ctc gac gtc	576
Ser Gly Glu Thr Arg Leu His Gly Gly Gly Ala Val Arg Leu Asp Val	
145 150 155	
acc gac ggc gaa cgc tac ctc gcc gtc gtc cgc gtc tcc tcc gcc gcg	624
Thr Asp Gly Glu Arg Tyr Leu Gly Val Val Arg Val Ser Ser Gly Ala	
160 165 170	
gcc gac ttc gac aac aac gtg ttc gtc tcc ggc ccg ctc gtg atc gag	672
Ala Asp Phe Asp Asn Asn Val Phe Val Ser Gly Pro Leu Val Ile Glu	
175 180 185	
acc ggc gcg acc gtc gtg ctc gac cag gcc gtc tcc ttc gcc gcc ctg	720
Thr Gly Ala Thr Val Val Leu Asp Gln Ala Val Ser Phe Ala Gly Leu	
190 195 200	
acc gtc gcc ggc acc gag tat tcg ccc ggc aac tac acc ttc gcc gcg	768
Thr Val Ala Gly Thr Glu Tyr Ser Pro Gly Asn Tyr Thr Phe Ala Ala	
205 210 215 220	
ctc cag gcc gcg cat cct acg gtg ttc acc tcc ggc acc gcc gcc gcc	816
Leu Gln Ala Ala His Pro Thr Val Phe Thr Ser Gly Thr Ala Gly Gly	
225 230 235	
tcg atc acc gtc cgc gcc ccg cgc acc tgg tat ctc acc gtg aat cag	864
Ser Ile Thr Val Arg Ala Pro Arg Thr Trp Tyr Leu Thr Val Asn Gln	
240 245 250	
ggc ggc gtg cag aac tgg acc gag acc tac ctt tcg aac tgg aac tcc	912
Gly Gly Val Gln Asn Trp Thr Glu Thr Tyr Leu Ser Asn Trp Asn Ser	
255 260 265	
gcc gcc aat ggc tcc gcc gtc gcg ccg act tcg atc aac gcc tac gac	960
Ala Ala Asn Gly Ser Gly Val Ala Pro Thr Ser Ile Asn Gly Tyr Asp	
270 275 280	
ttc tac atc gat cag gtc tcc aac cgc gag atc cgc acg ccc tcc acc	1008
Phe Tyr Ile Asp Gln Val Ser Asn Arg Glu Ile Arg Thr Pro Ser Thr	
285 290 295 300	
gcc tcc acc ttc ggc gcc gcc gcg ctc gcc ctc gcc agc gcc gcc aag	1056
Ala Ser Thr Phe Gly Gly Gly Ala Leu Ala Leu Ala Ser Gly Ala Lys	
305 310 315	
ctc acc ctc aag agt tcg ccc gcc gtc gtc agc acc atc ccg gcg ttc	1104
Leu Thr Leu Lys Ser Ser Pro Gly Val Val Ser Thr Ile Pro Ala Phe	
320 325 330	

ES 2 794 837 T3

gtg aac acg aac tcc ccg atc atc gtg aac ggc ggc ggt agc ttc cgc	1152
Val Asn Thr Asn Ser Pro Ile Ile Val Asn Gly Gly Gly Ser Phe Arg	
335 340 345	
caa agt ctc gcc ctc ggt gac tgg gag atc gcc tcc ggc atc acc aag	1200
Gln Ser Leu Ala Leu Gly Asp Trp Glu Ile Ala Ser Gly Ile Thr Lys	
350 355 360	
ctc tcc gcc ggc tcc ggt cgc agc ctc ggc ttc gac atc gac tac ctc	1248
Leu Ser Ala Gly Ser Gly Arg Ser Leu Gly Phe Asp Ile Asp Tyr Leu	
365 370 375 380	
ggc ggc gcg ggt ggc ctt gtc acc caa aac ggc ggc tct tac ttc ctc	1296
Gly Gly Ala Gly Gly Leu Val Thr Gln Asn Gly Gly Ser Tyr Phe Leu	
385 390 395	
agc ctc gac gac ggc tcc ggc tac acc ggc acg ctc aac cac gcg tcc	1344
Ser Leu Asp Asp Gly Ser Gly Tyr Thr Gly Thr Leu Asn His Ala Ser	
400 405 410	
ggc gcg ctc cgc ttc gag tcc gtc ttc tcc acc gag ggc gcg ctc acc	1392
Gly Ala Leu Arg Phe Glu Ser Val Phe Ser Thr Glu Gly Ala Leu Thr	
415 420 425	
atc ggc tcc tcg gcg acc gtc cac ctc gac caa cag gtt tac gtc acg	1440
Ile Gly Ser Ser Ala Thr Val His Leu Asp Gln Gln Val Tyr Val Thr	
430 435 440	
tcg ttc tcc gtc gcc ggt gtc gcc aag gcc gcc ggc atc cac acc tac	1488
Ser Phe Ser Val Ala Gly Val Ala Lys Ala Ala Gly Ile His Thr Tyr	
445 450 455 460	
gcc tcg ctg aac gcc gcg cat ccc gca cag ttc acc gcc ggc gcc gcg	1536
Ala Ser Leu Asn Ala Ala His Pro Ala Gln Phe Thr Ala Gly Ala Ala	
465 470 475	
ccc gga ctc gtc gct gtt tac acg ccc gac acc gcc ggc ccc gtc cgc	1584
Pro Gly Leu Val Ala Val Tyr Thr Pro Asp Thr Ala Gly Pro Val Arg	
480 485 490	
atg aac ggc gtc aat atc tcc ggc ccc gag agc aac acc gcc aac ctc	1632
Met Asn Gly Val Asn Ile Ser Gly Pro Glu Ser Asn Thr Ala Asn Leu	
495 500 505	
ccc ggc acc tac ggc tac aac tac gtt tac ccc acc gag gcc gac ttc	1680
Pro Gly Thr Tyr Gly Tyr Asn Tyr Val Tyr Pro Thr Glu Ala Asp Phe	
510 515 520	
gac tac tac gcc tcc aag ggc ctc aac ctc atc cgc att ccc ttc cgc	1728
Asp Tyr Tyr Ala Ser Lys Gly Leu Asn Leu Ile Arg Ile Pro Phe Arg	
525 530 535 540	
tgg gag cgc atg cag cac ggc ctg aac gtt ccg ctc aac acc gcc cag	1776
Trp Glu Arg Met Gln His Gly Leu Asn Val Pro Leu Asn Thr Ala Gln	
545 550 555	
ctc ggc tac atg gac acc gcc gtc gcc cgc gcc tcc gcg cgc ggc atg	1824
Leu Gly Tyr Met Asp Thr Ala Val Ala Arg Ala Ser Ala Arg Gly Met	
560 565 570	
aag gtc atc ctc gat atg cac aac tac gcc cgc tgc aaa gtc ggc gga	1872
Lys Val Ile Leu Asp Met His Asn Tyr Ala Arg Cys Lys Val Gly Gly	

ES 2 794 837 T3

575					580					585						
gtc	acc	tac	aag	ttc	ggc	gac	gcg	cag	ctc	ccc	gcc	tcg	gcc	tac	gcc	1920
Val	Thr	Tyr	Lys	Phe	Gly	Asp	Ala	Gln	Leu	Pro	Ala	Ser	Ala	Tyr	Ala	
	590					595					600					
gac	gtc	tgg	cgc	cgt	ctc	gcc	gac	cac	tac	aaa	aac	gag	ccc	gcc	atc	1968
Asp	Val	Trp	Arg	Arg	Leu	Ala	Asp	His	Tyr	Lys	Asn	Glu	Pro	Ala	Ile	
605					610					615					620	
tac	ggc	ttc	gac	atc	atg	aac	gag	ccc	aac	ggc	ctc	tcc	ggc	ggc	gtc	2016
Tyr	Gly	Phe	Asp	Ile	Met	Asn	Glu	Pro	Asn	Gly	Leu	Ser	Gly	Gly	Val	
				625					630						635	
tgg	ccc	gcc	tac	gcc	cag	gcc	gcg	gtc	aac	gcc	atc	cgc	gag	gtc	aat	2064
Trp	Pro	Ala	Tyr	Ala	Gln	Ala	Ala	Val	Asn	Ala	Ile	Arg	Glu	Val	Asn	
			640					645							650	
ctg	tcc	acc	tgg	gtc	atc	gtc	gag	ggc	gag	ttt	tgg	gcc	aac	gct	tgg	2112
Leu	Ser	Thr	Trp	Val	Ile	Val	Glu	Gly	Glu	Phe	Trp	Ala	Asn	Ala	Trp	
		655					660								665	
ggc	ttc	gag	acc	aag	aac	ccg	tat	ctg	cac	aac	gtc	cgc	gat	ccc	gtc	2160
Gly	Phe	Glu	Thr	Lys	Asn	Pro	Tyr	Leu	His	Asn	Val	Arg	Asp	Pro	Val	
	670					675									680	
ggc	cgc	ctc	atg	ttc	tcc	gcc	cac	tcc	tac	tgg	agc	gac	gcc	ggc	acc	2208
Gly	Arg	Leu	Met	Phe	Ser	Ala	His	Ser	Tyr	Trp	Ser	Asp	Ala	Gly	Thr	
685					690					695					700	
gat	gtt	tac	aag	acc	tac	gac	gaa	gag	ggc	gcc	tat	ccc	gag	atg	ggc	2256
Asp	Val	Tyr	Lys	Thr	Tyr	Asp	Glu	Glu	Gly	Ala	Tyr	Pro	Glu	Met	Gly	
				705					710						715	
gtg	aac	aac	gtg	aag	ccc	ttc	atc	gac	tgg	ctg	aag	aag	cac	gac	gcc	2304
Val	Asn	Asn	Val	Lys	Pro	Phe	Ile	Asp	Trp	Leu	Lys	Lys	His	Asp	Ala	
			720					725							730	
aag	ggc	ttc	gtc	ggc	gaa	tac	ggc	gtg	ccc	aac	aac	gac	ccg	cgc	tgg	2352
Lys	Gly	Phe	Val	Gly	Glu	Tyr	Gly	Val	Pro	Asn	Asn	Asp	Pro	Arg	Trp	
		735					740								745	
ctc	gtc	gtg	ctg	gac	aac	ttc	ctc	gcc	tac	ctc	gcg	gcc	gag	ggc	gtg	2400
Leu	Val	Val	Leu	Asp	Asn	Phe	Leu	Ala	Tyr	Leu	Ala	Ala	Glu	Gly	Val	
	750					755									760	
agc	ggc	acc	tac	tgg	gcc	ggc	ggc	gcc	tgg	tat	tcg	ggc	agc	ccg	atc	2448
Ser	Gly	Thr	Tyr	Trp	Ala	Gly	Gly	Ala	Trp	Tyr	Ser	Gly	Ser	Pro	Ile	
765					770					775					780	
agc	tgc	cac	ccg	tcc	tcc	aac	tac	acc	gtg	gat	cgc	gcc	gtc	atg	agc	2496
Ser	Cys	His	Pro	Ser	Ser	Asn	Tyr	Thr	Val	Asp	Arg	Ala	Val	Met	Ser	
				785					790						795	
gtg	ctc	gaa	gac	cat	cca	tga										2517
Val	Leu	Glu	Asp	His	Pro											
			800													

<210> 2
 <211> 838
 <212> PRT
 <213> *Opitutaceae* sp

ES 2 794 837 T3

<400> 2

Met Gln Ser Ser Ser Ser Asn Ser Val Val Ser Ala Ser Arg Ile Leu
 -35 -30 -25

Arg Arg Phe Ser Leu Pro Leu Leu Ala Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ala
 -20 -15 -10 -5

Pro Ala Arg Ala Ala Asp Tyr Tyr Leu Lys Ala Ser Gln Gly Ala Ser
 -1 1 5 10

Asn His Trp Ser Ser His Leu Thr Asp Trp Thr Ala Asn Ala Asp Gly
 15 20 25

Thr Gly Ala Asn Pro Thr Val Ile Gly Leu Ala Asp Thr Phe Asp Thr
 30 35 40

Asn Asn Arg Thr Leu Arg Thr Pro Ala Val Asn Ala Thr Thr Thr Tyr
 45 50 55 60

Pro Gly Gly Val Leu Arg Leu Ser Gly Gly Ala Gly Val Ile Gly Met
 65 70 75

Lys Thr Gly Gly Thr Ala Val Ala Ile Val Pro Lys Leu Val Ser Thr
 80 85 90

Ala Gly Thr Val Asp Ala Trp His Thr Gly Thr Gln Tyr Phe Arg Ala
 95 100 105

Asp Asp Trp Glu Asn Leu Ala Ser Gly Thr Gly Phe Thr Ala Leu Lys
 110 115 120

Ala Val Ala Gly Arg Thr Leu Lys Val Ser Val Gly Lys Leu Thr Gly
 125 130 135 140

Ser Gly Glu Thr Arg Leu His Gly Gly Gly Ala Val Arg Leu Asp Val
 145 150 155

Thr Asp Gly Glu Arg Tyr Leu Gly Val Val Arg Val Ser Ser Gly Ala
 160 165 170

Ala Asp Phe Asp Asn Asn Val Phe Val Ser Gly Pro Leu Val Ile Glu
 175 180 185

Thr Gly Ala Thr Val Val Leu Asp Gln Ala Val Ser Phe Ala Gly Leu
 190 195 200

ES 2 794 837 T3

Thr Val Ala Gly Thr Glu Tyr Ser Pro Gly Asn Tyr Thr Phe Ala Ala
 205 210 215 220
 Leu Gln Ala Ala His Pro Thr Val Phe Thr Ser Gly Thr Ala Gly Gly
 225 230 235
 Ser Ile Thr Val Arg Ala Pro Arg Thr Trp Tyr Leu Thr Val Asn Gln
 240 245 250
 Gly Gly Val Gln Asn Trp Thr Glu Thr Tyr Leu Ser Asn Trp Asn Ser
 255 260 265
 Ala Ala Asn Gly Ser Gly Val Ala Pro Thr Ser Ile Asn Gly Tyr Asp
 270 275 280
 Phe Tyr Ile Asp Gln Val Ser Asn Arg Glu Ile Arg Thr Pro Ser Thr
 285 290 295 300
 Ala Ser Thr Phe Gly Gly Gly Ala Leu Ala Leu Ala Ser Gly Ala Lys
 305 310 315
 Leu Thr Leu Lys Ser Ser Pro Gly Val Val Ser Thr Ile Pro Ala Phe
 320 325 330
 Val Asn Thr Asn Ser Pro Ile Ile Val Asn Gly Gly Gly Ser Phe Arg
 335 340 345
 Gln Ser Leu Ala Leu Gly Asp Trp Glu Ile Ala Ser Gly Ile Thr Lys
 350 355 360
 Leu Ser Ala Gly Ser Gly Arg Ser Leu Gly Phe Asp Ile Asp Tyr Leu
 365 370 375 380
 Gly Gly Ala Gly Gly Leu Val Thr Gln Asn Gly Gly Ser Tyr Phe Leu
 385 390 395
 Ser Leu Asp Asp Gly Ser Gly Tyr Thr Gly Thr Leu Asn His Ala Ser
 400 405 410
 Gly Ala Leu Arg Phe Glu Ser Val Phe Ser Thr Glu Gly Ala Leu Thr
 415 420 425
 Ile Gly Ser Ser Ala Thr Val His Leu Asp Gln Gln Val Tyr Val Thr
 430 435 440
 Ser Phe Ser Val Ala Gly Val Ala Lys Ala Ala Gly Ile His Thr Tyr
 445 450 455 460

ES 2 794 837 T3

Ala Ser Leu Asn Ala Ala His Pro Ala Gln Phe Thr Ala Gly Ala Ala
465 470 475

Pro Gly Leu Val Ala Val Tyr Thr Pro Asp Thr Ala Gly Pro Val Arg
480 485 490

Met Asn Gly Val Asn Ile Ser Gly Pro Glu Ser Asn Thr Ala Asn Leu
495 500 505

Pro Gly Thr Tyr Gly Tyr Asn Tyr Val Tyr Pro Thr Glu Ala Asp Phe
510 515 520

Asp Tyr Tyr Ala Ser Lys Gly Leu Asn Leu Ile Arg Ile Pro Phe Arg
525 530 535 540

Trp Glu Arg Met Gln His Gly Leu Asn Val Pro Leu Asn Thr Ala Gln
545 550 555

Leu Gly Tyr Met Asp Thr Ala Val Ala Arg Ala Ser Ala Arg Gly Met
560 565 570

Lys Val Ile Leu Asp Met His Asn Tyr Ala Arg Cys Lys Val Gly Gly
575 580 585

Val Thr Tyr Lys Phe Gly Asp Ala Gln Leu Pro Ala Ser Ala Tyr Ala
590 595 600

Asp Val Trp Arg Arg Leu Ala Asp His Tyr Lys Asn Glu Pro Ala Ile
605 610 615 620

Tyr Gly Phe Asp Ile Met Asn Glu Pro Asn Gly Leu Ser Gly Gly Val
625 630 635

Trp Pro Ala Tyr Ala Gln Ala Ala Val Asn Ala Ile Arg Glu Val Asn
640 645 650

Leu Ser Thr Trp Val Ile Val Glu Gly Glu Phe Trp Ala Asn Ala Trp
655 660 665

Gly Phe Glu Thr Lys Asn Pro Tyr Leu His Asn Val Arg Asp Pro Val
670 675 680

Gly Arg Leu Met Phe Ser Ala His Ser Tyr Trp Ser Asp Ala Gly Thr
685 690 695 700

Asp Val Tyr Lys Thr Tyr Asp Glu Glu Gly Ala Tyr Pro Glu Met Gly
705 710 715

ES 2 794 837 T3

Val Asn Asn Val Lys Pro Phe Ile Asp Trp Leu Lys Lys His Asp Ala
 720 725 730

Lys Gly Phe Val Gly Glu Tyr Gly Val Pro Asn Asn Asp Pro Arg Trp
 735 740 745

Leu Val Val Leu Asp Asn Phe Leu Ala Tyr Leu Ala Ala Glu Gly Val
 750 755 760

Ser Gly Thr Tyr Trp Ala Gly Gly Ala Trp Tyr Ser Gly Ser Pro Ile
 765 770 775 780

Ser Cys His Pro Ser Ser Asn Tyr Thr Val Asp Arg Ala Val Met Ser
 785 790 795

Val Leu Glu Asp His Pro
 800

5 <210> 3
 <211> 2496
 <212> ADN
 <213> Desconocido

10 <220>
 <223> Muestra ambiental

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(2493)

15 <220>
 <221> sig_peptide
 <222> (1)..(111)

20 <220>
 <221> mat_peptide
 <222> (112)..(2493)

<400> 3

atg aac acc aca cca caa ccc acc ccc gcc cgc cgg acg cct cga cgc 48
 Met Asn Thr Thr Pro Gln Pro Thr Pro Ala Arg Arg Thr Pro Arg Arg
 -35 -30 -25

ccg ttc ctc gcc acc ctc gct acc atc ctc ggc ctc gcc gcc tcc gtc 96
 Pro Phe Leu Ala Thr Leu Ala Thr Ile Leu Gly Leu Ala Ala Ser Val
 -20 -15 -10

tcc tcc gtc tcc gcc gcc gac tgg tat ctc gat aaa aac cag gcc cgc 144
 Ser Ser Val Ser Ala Ala Asp Trp Tyr Leu Asp Lys Asn Gln Ala Arg
 -5 -1 1 5 10

tac gcc agc tgg gac acc ctc gcc gac tgg aaa ccc aac ccc gac ggc 192
 Tyr Ala Ser Trp Asp Thr Leu Ala Asp Trp Lys Pro Asn Pro Asp Gly
 15 20 25

ES 2 794 837 T3

agc ggc tcc aac ccc tcc gcc ctc tcc ccc tcc gac acc tac cac ctc 240
 Ser Gly Ser Asn Pro Ser Ala Leu Ser Pro Ser Asp Thr Tyr His Leu
 30 35 40

aac ggc ttc atg ctc cgc acc ccc gag ggc ggc tcc acc tac acc ttc 288
 Asn Gly Phe Met Leu Arg Thr Pro Glu Gly Gly Ser Thr Tyr Thr Phe
 45 50 55

acc ggc ggc ctc ctc agc ctc gcc aac aac gcc gac aac ttc gcc ctc 336
 Thr Gly Gly Leu Leu Ser Leu Ala Asn Asn Ala Asp Asn Phe Ala Leu
 60 65 70 75

aag acc acc ggc tcc ggc gtc tcc atc atc ccc gcc ctg cgc acc acc 384
 Lys Thr Thr Gly Ser Gly Val Ser Ile Ile Pro Ala Leu Arg Thr Thr
 80 85 90

gcc ggc ctc gtc caa aac gtc ggc tcc ggc acg caa aac ctc cag gtt 432
 Ala Gly Leu Val Gln Asn Val Gly Ser Gly Thr Gln Asn Leu Gln Val
 95 100 105

ggc cac tac caa aac ctc tcc ggc acg acc tcc tac tac gcc cag acc 480
 Gly His Tyr Gln Asn Leu Ser Gly Thr Thr Ser Tyr Tyr Ala Gln Thr
 110 115 120

ggg cgc ggc ctc aac ctc gcc atc acc acc ctc gtg ggc tcc ggc cag 528
 Gly Arg Gly Leu Asn Leu Ala Ile Thr Thr Leu Val Gly Ser Gly Gln
 125 130 135

ttc cgc ttc tac ggc ggc ggc acc tac tac ctc tcc ctc gcc aac tcc 576
 Phe Arg Phe Tyr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Leu Ser Leu Ala Asn Ser
 140 145 150 155

ccg acc tac gac ggc gac atc tac gtc caa tcc ggc acc atc gat ttc 624
 Pro Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Tyr Val Gln Ser Gly Thr Ile Asp Phe
 160 165 170

aac aac gac ctc gcc acc gcc ggc act ctc acc gtc aac acc ggt gcc 672
 Asn Asn Asp Leu Ala Thr Ala Gly Thr Leu Thr Val Asn Thr Gly Ala
 175 180 185

aag gtc gcc ctc gac cag gcc gtc acc ttc acc ggc ctc acc ata gcc 720
 Lys Val Ala Leu Asp Gln Ala Val Thr Phe Thr Gly Leu Thr Ile Ala
 190 195 200

ggc aca gcg tat cca gtt gga aac tac agc tac gcc gcg ctt cag gcc 768
 Gly Thr Ala Tyr Pro Val Gly Asn Tyr Ser Tyr Ala Ala Leu Gln Ala
 205 210 215

gcc cac ccc gcc gtt ttc gtc tcc ggc acc tcc ggc gga gcc atc aac 816
 Ala His Pro Ala Val Phe Val Ser Gly Thr Ser Gly Gly Ala Ile Asn
 220 225 230 235

gtc cgc gcc ccg cgc aac tgg tat ctc tcc acc cac caa ccc gtc ggc 864
 Val Arg Ala Pro Arg Asn Trp Tyr Leu Ser Thr His Gln Pro Val Gly
 240 245 250

gcc agc tgg aac acc ctc gcc cat tgg cgc gcc aac ccc gac ggc acc 912
 Ala Ser Trp Asn Thr Leu Ala His Trp Arg Ala Asn Pro Asp Gly Thr
 255 260 265

ggc gcc acc gcc gac tcc atc aac tcc ttc gac aac tac atc aac caa 960
 Gly Ala Thr Ala Asp Ser Ile Asn Ser Phe Asp Asn Tyr Ile Asn Gln

ES 2 794 837 T3

270					275					280						
gtc	tcc	ggc	cgc	acc	ctg	cgc	acc	ccc	gaa	acc	acc	gcc	acc	ttc	gcc	1008
Val	Ser	Gly	Arg	Thr	Leu	Arg	Thr	Pro	Glu	Thr	Thr	Ala	Thr	Phe	Ala	
	285					290					295					
ggc	ggt	tcc	ctc	gtc	ctc	gcc	gac	ggc	ggc	aac	ctc	tcg	ctc	aag	gcc	1056
Gly	Gly	Ser	Leu	Val	Leu	Ala	Asp	Gly	Gly	Asn	Leu	Ser	Leu	Lys	Ala	
300					305					310				315		
ccc	gcc	ggc	cac	tcc	agc	acc	atc	ccc	gcc	ttc	gcc	aca	tcg	gga	tcg	1104
Pro	Ala	Gly	His	Ser	Ser	Thr	Ile	Pro	Ala	Phe	Ala	Thr	Ser	Gly	Ser	
				320					325					330		
att	tcc	atc	acc	aac	ggc	ttc	agc	agc	atc	acc	cag	ccc	ctc	gtc	atc	1152
Ile	Ser	Ile	Thr	Asn	Gly	Phe	Ser	Ser	Ile	Thr	Gln	Pro	Leu	Val	Ile	
			335				340						345			
ggc	gac	tgg	cac	ctc	ggc	gcc	ggc	acc	gcc	caa	gtc	tcc	gtg	cca	agc	1200
Gly	Asp	Trp	His	Leu	Gly	Ala	Gly	Thr	Ala	Gln	Val	Ser	Val	Pro	Ser	
		350					355					360				
acc	agc	acc	gtg	cag	ctc	acc	gtc	gat	aaa	ctc	tcc	ggc	gac	ggc	acc	1248
Thr	Ser	Thr	Val	Gln	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Leu	Ser	Gly	Asp	Gly	Thr	
	365					370					375					
ctc	cag	ttc	cag	aac	ggc	ggc	aaa	tac	acc	ctc	aac	atc	cgc	ggc	gcg	1296
Leu	Gln	Phe	Gln	Asn	Gly	Gly	Lys	Tyr	Thr	Leu	Asn	Ile	Arg	Gly	Ala	
380					385					390					395	
tcc	gcc	ttc	acc	ggc	acc	ctc	cgc	cac	ctc	tcc	ggc	acg	ctc	acc	gta	1344
Ser	Ala	Phe	Thr	Gly	Thr	Leu	Arg	His	Leu	Ser	Gly	Thr	Leu	Thr	Val	
				400					405					410		
gcc	tcc	cag	atc	ggc	acc	ggc	ggc	acc	ctc	gtc	gtc	gaa	tcc	acc	ggc	1392
Ala	Ser	Gln	Ile	Gly	Thr	Gly	Gly	Thr	Leu	Val	Val	Glu	Ser	Thr	Gly	
			415					420					425			
gcg	gtg	aaa	ctc	gac	cac	ccc	ggc	ttc	ttc	acc	ggc	gtc	acc	gtc	gcc	1440
Ala	Val	Lys	Leu	Asp	His	Pro	Gly	Phe	Phe	Thr	Gly	Val	Thr	Val	Ala	
		430					435					440				
ggc	acg	ccc	ctc	gcc	ccc	ggc	tac	cac	acc	tac	gcc	gcg	ctc	aaa	gcc	1488
Gly	Thr	Pro	Leu	Ala	Pro	Gly	Tyr	His	Thr	Tyr	Ala	Ala	Leu	Lys	Ala	
	445					450					455					
gcc	cac	ccc	gcg	cgc	ttc	ccc	acc	ggc	tcc	acc	aac	gcc	ttc	ctc	gcc	1536
Ala	His	Pro	Ala	Arg	Phe	Pro	Thr	Gly	Ser	Thr	Asn	Ala	Phe	Leu	Ala	
460					465					470					475	
gtc	tat	ccg	ccc	gac	acc	acc	ggc	ccc	gcc	cac	atg	ttc	ggc	gtc	aac	1584
Val	Tyr	Pro	Pro	Asp	Thr	Thr	Gly	Pro	Ala	His	Met	Phe	Gly	Val	Asn	
				480					485					490		
ctc	gcc	ggc	ggc	gaa	ttc	ggc	acc	ccg	atg	ccc	ggc	ggt	tac	ggc	acc	1632
Leu	Ala	Gly	Gly	Glu	Phe	Gly	Thr	Pro	Met	Pro	Gly	Val	Tyr	Gly	Thr	
			495					500					505			
gac	tac	atc	tac	ccg	agc	gcc	gcc	gcc	ttc	gat	tac	tac	cac	ggc	aaa	1680
Asp	Tyr	Ile	Tyr	Pro	Ser	Ala	Ala	Ala	Phe	Asp	Tyr	Tyr	His	Gly	Lys	
		510					515					520				
ggc	ctc	aaa	ctc	atc	cgc	ctc	ccc	ttt	aag	tgg	gaa	cgc	ctc	cag	cac	1728

ES 2 794 837 T3

Gly	Leu	Lys	Leu	Ile	Arg	Leu	Pro	Phe	Lys	Trp	Glu	Arg	Leu	Gln	His	
	525					530					535					
acc	ctc	aac	gcc	ccc	ctc	aac	gcc	gcc	gag	ctc	gcc	cgc	atc	gac	acc	1776
Thr	Leu	Asn	Ala	Pro	Leu	Asn	Ala	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg	Ile	Asp	Thr	
	540				545					550					555	
gtc	gtc	ggc	tac	gcc	tcc	gcg	cgc	ggc	atg	aag	gtc	gtc	ctc	gac	atg	1824
Val	Val	Gly	Tyr	Ala	Ser	Ala	Arg	Gly	Met	Lys	Val	Val	Leu	Asp	Met	
				560					565					570		
cac	aac	tac	gcc	cgc	cgc	aaa	gaa	agc	ggc	acc	acc	tac	ctc	atc	ggc	1872
His	Asn	Tyr	Ala	Arg	Arg	Lys	Glu	Ser	Gly	Thr	Thr	Tyr	Leu	Ile	Gly	
			575					580						585		
acc	ggc	ccc	gtc	acc	atg	gac	gcc	ttc	ggc	gac	gtc	tgg	cgt	cgc	atc	1920
Thr	Gly	Pro	Val	Thr	Met	Asp	Ala	Phe	Gly	Asp	Val	Trp	Arg	Arg	Ile	
		590					595				600					
gcc	gat	cac	tac	aag	ggc	aac	ccc	gcc	atc	tac	ggc	tac	ggc	atc	atg	1968
Ala	Asp	His	Tyr	Lys	Gly	Asn	Pro	Ala	Ile	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Ile	Met	
	605					610					615					
aac	gag	ccc	tac	tcc	acc	aac	acc	acc	tgg	ccc	cag	atg	gcc	cag	acc	2016
Asn	Glu	Pro	Tyr	Ser	Thr	Asn	Thr	Thr	Trp	Pro	Gln	Met	Ala	Gln	Thr	
	620				625					630					635	
gcc	gtc	aac	gcc	atc	cgc	acc	gtt	gac	ctc	acc	acc	cac	gtc	atc	gtc	2064
Ala	Val	Asn	Ala	Ile	Arg	Thr	Val	Asp	Leu	Thr	Thr	His	Val	Ile	Val	
				640					645					650		
gcc	ggc	gac	ggc	tgg	tcc	aac	gcc	acc	ggc	tgg	cgc	tcc	aag	aac	ccc	2112
Ala	Gly	Asp	Gly	Trp	Ser	Asn	Ala	Thr	Gly	Trp	Arg	Ser	Lys	Asn	Pro	
			655					660					665			
aac	ctc	gac	acc	cag	gac	ccc	gtc	ggc	cgc	ctc	atc	tac	gaa	gcc	cac	2160
Asn	Leu	Asp	Thr	Gln	Asp	Pro	Val	Gly	Arg	Leu	Ile	Tyr	Glu	Ala	His	
		670					675					680				
tgc	tac	ttc	gat	tcc	aac	ctc	tcc	ggc	acc	tac	acc	caa	agc	tac	gat	2208
Cys	Tyr	Phe	Asp	Ser	Asn	Leu	Ser	Gly	Thr	Tyr	Thr	Gln	Ser	Tyr	Asp	
	685					690					695					
gcc	gcc	ggc	gcc	cac	ccc	atg	atc	ggc	gtg	gac	cgc	gtg	cgc	gaa	ttc	2256
Ala	Ala	Gly	Ala	His	Pro	Met	Ile	Gly	Val	Asp	Arg	Val	Arg	Glu	Phe	
	700				705					710					715	
gtc	gag	tgg	ctt	cag	gaa	acc	ggc	aac	aaa	ggc	ttc	atc	ggc	gaa	tac	2304
Val	Glu	Trp	Leu	Gln	Glu	Thr	Gly	Asn	Lys	Gly	Phe	Ile	Gly	Glu	Tyr	
				720					725					730		
ggc	gtc	ccc	ggc	aac	gac	ccc	cgc	tgg	ctc	gtc	gtg	ctc	gac	aac	ttc	2352
Gly	Val	Pro	Gly	Asn	Asp	Pro	Arg	Trp	Leu	Val	Val	Leu	Asp	Asn	Phe	
			735					740					745			
ctc	gcc	tac	ctc	gac	gcc	aac	ggc	gtc	tcc	ggc	acc	tac	tgg	gcc	ggc	2400
Leu	Ala	Tyr	Leu	Asp	Ala	Asn	Gly	Val	Ser	Gly	Thr	Tyr	Trp	Ala	Gly	
		750					755					760				
ggt	cct	tgg	tgg	ggc	aac	tac	ccg	ctc	agc	tgc	gaa	ccc	acc	tcc	aac	2448
Gly	Pro	Trp	Trp	Gly	Asn	Tyr	Pro	Leu	Ser	Cys	Glu	Pro	Thr	Ser	Asn	
	765					770					775					

ES 2 794 837 T3

tac acc gtg gac aaa ccc cag atg agc gtc ctc gaa aac tac aac tga 2496
 Tyr Thr Val Asp Lys Pro Gln Met Ser Val Leu Glu Asn Tyr Asn
 780 785 790

5 <210> 4
 <211> 831
 <212> PRT
 <213> Desconocido

10 <220>
 <223> Construcción sintética

<400> 4

Met Asn Thr Thr Pro Gln Pro Thr Pro Ala Arg Arg Thr Pro Arg Arg
 -35 -30 -25

Pro Phe Leu Ala Thr Leu Ala Thr Ile Leu Gly Leu Ala Ala Ser Val
 -20 -15 -10

Ser Ser Val Ser Ala Ala Asp Trp Tyr Leu Asp Lys Asn Gln Ala Arg
 -5 -1 1 5 10

Tyr Ala Ser Trp Asp Thr Leu Ala Asp Trp Lys Pro Asn Pro Asp Gly
 15 20 25

Ser Gly Ser Asn Pro Ser Ala Leu Ser Pro Ser Asp Thr Tyr His Leu
 30 35 40

Asn Gly Phe Met Leu Arg Thr Pro Glu Gly Gly Ser Thr Tyr Thr Phe
 45 50 55

Thr Gly Gly Leu Leu Ser Leu Ala Asn Asn Ala Asp Asn Phe Ala Leu
 60 65 70 75

Lys Thr Thr Gly Ser Gly Val Ser Ile Ile Pro Ala Leu Arg Thr Thr
 80 85 90

Ala Gly Leu Val Gln Asn Val Gly Ser Gly Thr Gln Asn Leu Gln Val
 95 100 105

Gly His Tyr Gln Asn Leu Ser Gly Thr Thr Ser Tyr Tyr Ala Gln Thr
 110 115 120

Gly Arg Gly Leu Asn Leu Ala Ile Thr Thr Leu Val Gly Ser Gly Gln
 125 130 135

Phe Arg Phe Tyr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Leu Ser Leu Ala Asn Ser
 140 145 150 155

ES 2 794 837 T3

Pro Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Tyr Val Gln Ser Gly Thr Ile Asp Phe
160 165 170

Asn Asn Asp Leu Ala Thr Ala Gly Thr Leu Thr Val Asn Thr Gly Ala
175 180 185

Lys Val Ala Leu Asp Gln Ala Val Thr Phe Thr Gly Leu Thr Ile Ala
190 195 200

Gly Thr Ala Tyr Pro Val Gly Asn Tyr Ser Tyr Ala Ala Leu Gln Ala
205 210 215

Ala His Pro Ala Val Phe Val Ser Gly Thr Ser Gly Gly Ala Ile Asn
220 225 230 235

Val Arg Ala Pro Arg Asn Trp Tyr Leu Ser Thr His Gln Pro Val Gly
240 245 250

Ala Ser Trp Asn Thr Leu Ala His Trp Arg Ala Asn Pro Asp Gly Thr
255 260 265

Gly Ala Thr Ala Asp Ser Ile Asn Ser Phe Asp Asn Tyr Ile Asn Gln
270 275 280

Val Ser Gly Arg Thr Leu Arg Thr Pro Glu Thr Thr Ala Thr Phe Ala
285 290 295

Gly Gly Ser Leu Val Leu Ala Asp Gly Gly Asn Leu Ser Leu Lys Ala
300 305 310 315

Pro Ala Gly His Ser Ser Thr Ile Pro Ala Phe Ala Thr Ser Gly Ser
320 325 330

Ile Ser Ile Thr Asn Gly Phe Ser Ser Ile Thr Gln Pro Leu Val Ile
335 340 345

Gly Asp Trp His Leu Gly Ala Gly Thr Ala Gln Val Ser Val Pro Ser
350 355 360

Thr Ser Thr Val Gln Leu Thr Val Asp Lys Leu Ser Gly Asp Gly Thr
365 370 375

Leu Gln Phe Gln Asn Gly Gly Lys Tyr Thr Leu Asn Ile Arg Gly Ala
380 385 390 395

Ser Ala Phe Thr Gly Thr Leu Arg His Leu Ser Gly Thr Leu Thr Val
400 405 410

ES 2 794 837 T3

Ala Ser Gln Ile Gly Thr Gly Gly Thr Leu Val Val Glu Ser Thr Gly
 415 420 425

Ala Val Lys Leu Asp His Pro Gly Phe Phe Thr Gly Val Thr Val Ala
 430 435 440

Gly Thr Pro Leu Ala Pro Gly Tyr His Thr Tyr Ala Ala Leu Lys Ala
 445 450 455

Ala His Pro Ala Arg Phe Pro Thr Gly Ser Thr Asn Ala Phe Leu Ala
 460 465 470 475

Val Tyr Pro Pro Asp Thr Thr Gly Pro Ala His Met Phe Gly Val Asn
 480 485 490

Leu Ala Gly Gly Glu Phe Gly Thr Pro Met Pro Gly Val Tyr Gly Thr
 495 500 505

Asp Tyr Ile Tyr Pro Ser Ala Ala Ala Phe Asp Tyr Tyr His Gly Lys
 510 515 520

Gly Leu Lys Leu Ile Arg Leu Pro Phe Lys Trp Glu Arg Leu Gln His
 525 530 535

Thr Leu Asn Ala Pro Leu Asn Ala Ala Glu Leu Ala Arg Ile Asp Thr
 540 545 550 555

Val Val Gly Tyr Ala Ser Ala Arg Gly Met Lys Val Val Leu Asp Met
 560 565 570

His Asn Tyr Ala Arg Arg Lys Glu Ser Gly Thr Thr Tyr Leu Ile Gly
 575 580 585

Thr Gly Pro Val Thr Met Asp Ala Phe Gly Asp Val Trp Arg Arg Ile
 590 595 600

Ala Asp His Tyr Lys Gly Asn Pro Ala Ile Tyr Gly Tyr Gly Ile Met
 605 610 615

Asn Glu Pro Tyr Ser Thr Asn Thr Thr Trp Pro Gln Met Ala Gln Thr
 620 625 630 635

Ala Val Asn Ala Ile Arg Thr Val Asp Leu Thr Thr His Val Ile Val
 640 645 650

Ala Gly Asp Gly Trp Ser Asn Ala Thr Gly Trp Arg Ser Lys Asn Pro
 655 660 665

ES 2 794 837 T3

Asn Leu Asp Thr Gln Asp Pro Val Gly Arg Leu Ile Tyr Glu Ala His
670 675 680

Cys Tyr Phe Asp Ser Asn Leu Ser Gly Thr Tyr Thr Gln Ser Tyr Asp
685 690 695

Ala Ala Gly Ala His Pro Met Ile Gly Val Asp Arg Val Arg Glu Phe
700 705 710 715

Val Glu Trp Leu Gln Glu Thr Gly Asn Lys Gly Phe Ile Gly Glu Tyr
720 725 730

Gly Val Pro Gly Asn Asp Pro Arg Trp Leu Val Val Leu Asp Asn Phe
735 740 745

Leu Ala Tyr Leu Asp Ala Asn Gly Val Ser Gly Thr Tyr Trp Ala Gly
750 755 760

Gly Pro Trp Trp Gly Asn Tyr Pro Leu Ser Cys Glu Pro Thr Ser Asn
765 770 775

Tyr Thr Val Asp Lys Pro Gln Met Ser Val Leu Glu Asn Tyr Asn
780 785 790

5 <210> 5
<211> 2508
<212> ADN
<213> Desconocido

10 <220>
<223> Muestra ambiental

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(2505)

15 <220>
<221> sig_peptide
<222> (1)..(105)

20 <220>
<221> mat_peptide
<222> (106)..(2505)

<400> 5

atg aaa cac cac cac acc aca cca cac acc ccg cgt cgg acc ctg ctc 48
Met Lys His His His Thr Thr Pro His Thr Pro Arg Arg Thr Leu Leu
-35 -30 -25 -20

cgc tcg ctt gcc ggc ctg ctg gct ctc gcc acc ggc ctc gcc tcc acc 96
Arg Ser Leu Ala Gly Leu Leu Ala Leu Ala Thr Gly Leu Ala Ser Thr
-15 -10 -5

ES 2 794 837 T3

240	245	250	
acc gag gcc ttc ctc tcc aac tgg aac tcc gcc gcc aac ggc tcc ggc			912
Thr Glu Ala Phe Leu Ser Asn Trp Asn Ser Ala Ala Asn Gly Ser Gly			
255	260	265	
gtc gcc ccg aac tac atc aac ggc cac gac atc tac ctc aac cag gtg			960
Val Ala Pro Asn Tyr Ile Asn Gly His Asp Ile Tyr Leu Asn Gln Val			
270	275	280	285
aac aac cgc gag ctc cgc acg ccc tac acc gcc agc acc ttc acc ggc			1008
Asn Asn Arg Glu Leu Arg Thr Pro Tyr Thr Ala Ser Thr Phe Thr Gly			
290	295	300	
ggc acc ctc gcc ctc acc ttc ggc tcg aag ctc gtc gtc aag acc tca			1056
Gly Thr Leu Ala Leu Thr Phe Gly Ser Lys Leu Val Val Lys Thr Ser			
305	310	315	
ccc aac ctc gtc agc acc atc ccc gcc ctc gtc acc tcc ggc acc ccg			1104
Pro Asn Leu Val Ser Thr Ile Pro Ala Leu Val Thr Ser Gly Thr Pro			
320	325	330	
cag ttc gcc aac ggc agc ggc agc cgc caa aac ctc gcc atc ggc gac			1152
Gln Phe Ala Asn Gly Ser Gly Ser Arg Gln Asn Leu Ala Ile Gly Asp			
335	340	345	
tgg gac atc atc tcc ggc acc agc cgc ctc gtc gcc ggc tcc acc cgg			1200
Trp Asp Ile Ile Ser Gly Thr Ser Arg Leu Val Ala Gly Ser Thr Arg			
350	355	360	365
tcc ctc ggc ttc gac atc ggc tgg ctc acc ggc gcg ggc aac ctc cag			1248
Ser Leu Gly Phe Asp Ile Gly Trp Leu Thr Gly Ala Gly Asn Leu Gln			
370	375	380	
acc gaa ggc ggc ggc tcg ttc ttc ctc cgc ctc atc gac ggc tcc ggc			1296
Thr Glu Gly Gly Gly Ser Phe Phe Leu Arg Leu Ile Asp Gly Ser Gly			
385	390	395	
tac acc ggc gcc atc aac cac aac tcc ggc gcc ctc cgc ttc gag tcc			1344
Tyr Thr Gly Ala Ile Asn His Asn Ser Gly Ala Leu Arg Phe Glu Ser			
400	405	410	
gtc ttc tcc acc gcc ggt gcc ctc aac atc ggc gcc tcc gcg acc gtc			1392
Val Phe Ser Thr Ala Gly Ala Leu Asn Ile Gly Ala Ser Ala Thr Val			
415	420	425	
cac ctc gac aag ccc gtc tat gtc agc ggc ctc tcc gtc gcc ggc gtc			1440
His Leu Asp Lys Pro Val Tyr Val Ser Gly Leu Ser Val Ala Gly Val			
430	435	440	445
gcc aaa ccc gcc ggc atc cac acc tac gcc tcg ctg aac gcc gcg cat			1488
Ala Lys Pro Ala Gly Ile His Thr Tyr Ala Ser Leu Asn Ala Ala His			
450	455	460	465
ccc gcg cag ttc aac gcc ggc gcc gcg ccc gga ctc gtc gcc gtt tac			1536
Pro Ala Gln Phe Asn Ala Gly Ala Ala Pro Gly Leu Val Ala Val Tyr			
465	470	475	
aca ccc aac act gcc gcc ccc gtc cgc atg aac ggc gtc aac ctc tcc			1584
Thr Pro Asn Thr Ala Ala Pro Val Arg Met Asn Gly Val Asn Leu Ser			
480	485	490	
ggc ccc gaa tcc gtc ggc ggc gcc ggc acg ccc ttt ccc ggc acc tac			1632

ES 2 794 837 T3

Gly	Pro	Glu	Ser	Val	Gly	Gly	Ala	Gly	Thr	Pro	Phe	Pro	Gly	Thr	Tyr		
	495					500					505						
ggc	ttc	cag	tgg	att	tac	ccc	acc	gtc	gcc	gac	tac	gac	tac	tac	gcc		1680
Gly	Phe	Gln	Trp	Ile	Tyr	Pro	Thr	Val	Ala	Asp	Tyr	Asp	Tyr	Tyr	Ala		
510					515					520					525		
gcc	aag	ggc	ctt	aac	ctc	atc	cgc	atc	cca	ttc	cgc	tgg	gaa	cgc	atg		1728
Ala	Lys	Gly	Leu	Asn	Leu	Ile	Arg	Ile	Pro	Phe	Arg	Trp	Glu	Arg	Met		
				530					535					540			
caa	ggc	acc	ctt	aac	ggt	ccc	ctc	atc	gcc	gcc	gaa	ctc	gct	cgc	atg		1776
Gln	Gly	Thr	Leu	Asn	Gly	Pro	Leu	Ile	Ala	Ala	Glu	Leu	Ala	Arg	Met		
			545					550					555				
gac	aac	gcc	atc	gcc	ctc	gcc	tcc	gcg	cgc	ggc	atg	aag	gtc	atc	ctc		1824
Asp	Asn	Ala	Ile	Ala	Leu	Ala	Ser	Ala	Arg	Gly	Met	Lys	Val	Ile	Leu		
		560					565					570					
gat	atg	cat	aac	tac	gcg	cgc	tac	cgc	acc	ccg	acc	gcg	agc	tac	gtg		1872
Asp	Met	His	Asn	Tyr	Ala	Arg	Tyr	Arg	Thr	Pro	Thr	Ala	Ser	Tyr	Val		
	575					580					585						
ttt	ggt	gac	gcc	cag	ctc	ccc	gcc	tcc	gcc	ttc	gcc	gac	gtc	tgg	cgc		1920
Phe	Gly	Asp	Ala	Gln	Leu	Pro	Ala	Ser	Ala	Phe	Ala	Asp	Val	Trp	Arg		
590					595				600						605		
aag	ctc	gcc	gat	cac	tac	aaa	aac	gaa	ccc	gcc	atc	tac	ggt	ttc	gac		1968
Lys	Leu	Ala	Asp	His	Tyr	Lys	Asn	Glu	Pro	Ala	Ile	Tyr	Gly	Phe	Asp		
				610					615					620			
atc	atg	aac	gag	ccg	cac	agc	atg	ccc	acc	ccc	acc	acc	tgg	ccc	acc		2016
Ile	Met	Asn	Glu	Pro	His	Ser	Met	Pro	Thr	Pro	Thr	Thr	Trp	Pro	Thr		
			625					630					635				
tac	gcc	caa	gcc	gcc	gtc	cac	gcc	atc	cgc	gag	gtc	aac	ctc	gac	acc		2064
Tyr	Ala	Gln	Ala	Ala	Val	His	Ala	Ile	Arg	Glu	Val	Asn	Leu	Asp	Thr		
		640					645					650					
tgg	atc	atc	gta	gag	ggc	gag	acc	tat	gcc	aac	tcc	tgg	aaa	ttc	ggg		2112
Trp	Ile	Ile	Val	Glu	Gly	Glu	Thr	Tyr	Ala	Asn	Ser	Trp	Lys	Phe	Gly		
	655					660					665						
gaa	aaa	aat	ccc	cac	ctc	cac	aac	gtg	cgc	gac	ccc	gtc	ggc	cgc	ctc		2160
Glu	Lys	Asn	Pro	His	Leu	His	Asn	Val	Arg	Asp	Pro	Val	Gly	Arg	Leu		
670					675					680					685		
atg	ttc	tcc	gcc	cac	tcc	tac	tgg	tgc	aaa	aac	ggc	gac	gac	aga	tac		2208
Met	Phe	Ser	Ala	His	Ser	Tyr	Trp	Cys	Lys	Asn	Gly	Asp	Asp	Arg	Tyr		
				690					695					700			
ggc	acc	tac	gac	gcg	gaa	aac	ggc	cac	ccc	cag	atg	ggc	gtg	gac	agc		2256
Gly	Thr	Tyr	Asp	Ala	Glu	Asn	Gly	His	Pro	Gln	Met	Gly	Val	Asp	Ser		
			705					710					715				
ctc	aag	cac	ttc	ggt	gac	tgg	ctc	cgc	aaa	cac	aac	gcc	cac	ggc	ttc		2304
Leu	Lys	His	Phe	Val	Asp	Trp	Leu	Arg	Lys	His	Asn	Ala	His	Gly	Phe		
			720					725				730					
gtc	ggc	gaa	tac	ggc	gtc	ccc	aac	aac	gac	ccc	cgc	tgg	ctc	gaa	gtc		2352
Val	Gly	Glu	Tyr	Gly	Val	Pro	Asn	Asn	Asp	Pro	Arg	Trp	Leu	Glu	Val		
	735					740					745						

ES 2 794 837 T3

ctt gaa aac gcg ctc atc tac ctg gcg aat gaa aac atc agc ggc acc 2400
 Leu Glu Asn Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Asn Glu Asn Ile Ser Gly Thr
 750 755 760 765

tac tgg gcc ggc ggc gcc tgg ctc gcc ggc agc cac atc agc tgc cac 2448
 Tyr Trp Ala Gly Gly Ala Trp Leu Ala Gly Ser His Ile Ser Cys His
 770 775 780

ccg tcc tcc aac tac acc gtg gac cgc ccc gtc atg agc gtc ctc caa 2496
 Pro Ser Ser Asn Tyr Thr Val Asp Arg Pro Val Met Ser Val Leu Gln
 785 790 795

aac tac ccg taa 2508
 Asn Tyr Pro
 800

<210> 6
 <211> 835
 <212> PRT
 <213> Desconocido

<220>
 <223> Construcción sintética

<400> 6

Met Lys His His His Thr Thr Pro His Thr Pro Arg Arg Thr Leu Leu
 -35 -30 -25 -20

Arg Ser Leu Ala Gly Leu Leu Ala Leu Ala Thr Gly Leu Ala Ser Thr
 -15 -10 -5

Ala His Ala Ala Asp Tyr Tyr Leu Lys Val Asn Gln Pro His Pro Asn
 -1 1 5 10

Ser Trp Ala Ser Pro Val Thr Asp Trp Ala Ala Asn Pro Asp Gly Thr
 15 20 25

Gly Ala Ala Pro Ala Ala Ile Ala Ala Pro Asp Thr Phe Tyr Thr Asn
 30 35 40 45

Asn Arg Thr Leu Arg Thr Pro Ala Val Gly Val Asn Ala Thr Phe Pro
 50 55 60

Gly Gly Val Leu Gly Leu Asn Gly Gly Val Ile Gly Ile Lys Thr Gly
 65 70 75

Pro Ser Ala Phe Ser Ile Ala Pro Lys Leu Val Ser Thr Ala Gly Ala
 80 85 90

Ile Glu Ser Trp Gly Thr Pro Gln Asn Phe Arg Ala Asp Asp Trp Glu
 95 100 105

5

10

ES 2 794 837 T3

Ser Asn Ala Pro Phe Pro Thr Phe Thr Gly Leu Arg Thr Ala Ser Asn
110 115 120 125

His Thr Leu Lys Val Ser Val Gly Lys Leu Ser Gly Thr Gly Glu Ile
130 135 140

Arg Val His Gly Gly Gly Thr Val Leu Leu Asp Val Thr Asp Ala Glu
145 150 155

Asn Tyr Leu Gly Thr Leu Cys Val Ala Ser Gly Ala Leu Asn Phe Asp
160 165 170

Asn Ala Val Phe Ser Ser Gly Pro Leu Asp Ile Lys Thr Gly Ala Thr
175 180 185

Val Val Leu Asp Gln Ala Val Ser Phe Ala Gly Leu Ala Val Gly Ala
190 195 200 205

Thr Glu Tyr Pro Pro Gly Asn Tyr Thr Leu Ala Ala Leu Gln Ala Ala
210 215 220

His Pro Gly Val Phe Thr Gly Thr Ala Ala Gly Ser Ile Thr Val Arg
225 230 235

Ala Pro Arg Thr Trp Tyr Leu Thr Val Ser Gln Gly Ser Gln Asn Trp
240 245 250

Thr Glu Ala Phe Leu Ser Asn Trp Asn Ser Ala Ala Asn Gly Ser Gly
255 260 265

Val Ala Pro Asn Tyr Ile Asn Gly His Asp Ile Tyr Leu Asn Gln Val
270 275 280 285

Asn Asn Arg Glu Leu Arg Thr Pro Tyr Thr Ala Ser Thr Phe Thr Gly
290 295 300

Gly Thr Leu Ala Leu Thr Phe Gly Ser Lys Leu Val Val Lys Thr Ser
305 310 315

Pro Asn Leu Val Ser Thr Ile Pro Ala Leu Val Thr Ser Gly Thr Pro
320 325 330

Gln Phe Ala Asn Gly Ser Gly Ser Arg Gln Asn Leu Ala Ile Gly Asp
335 340 345

Trp Asp Ile Ile Ser Gly Thr Ser Arg Leu Val Ala Gly Ser Thr Arg
350 355 360 365

ES 2 794 837 T3

Ser Leu Gly Phe Asp Ile Gly Trp Leu Thr Gly Ala Gly Asn Leu Gln
 370 375 380

Thr Glu Gly Gly Gly Ser Phe Phe Leu Arg Leu Ile Asp Gly Ser Gly
 385 390 395

Tyr Thr Gly Ala Ile Asn His Asn Ser Gly Ala Leu Arg Phe Glu Ser
 400 405 410

Val Phe Ser Thr Ala Gly Ala Leu Asn Ile Gly Ala Ser Ala Thr Val
 415 420 425

His Leu Asp Lys Pro Val Tyr Val Ser Gly Leu Ser Val Ala Gly Val
 430 435 440 445

Ala Lys Pro Ala Gly Ile His Thr Tyr Ala Ser Leu Asn Ala Ala His
 450 455 460

Pro Ala Gln Phe Asn Ala Gly Ala Ala Pro Gly Leu Val Ala Val Tyr
 465 470 475

Thr Pro Asn Thr Ala Ala Pro Val Arg Met Asn Gly Val Asn Leu Ser
 480 485 490

Gly Pro Glu Ser Val Gly Gly Ala Gly Thr Pro Phe Pro Gly Thr Tyr
 495 500 505

Gly Phe Gln Trp Ile Tyr Pro Thr Val Ala Asp Tyr Asp Tyr Tyr Ala
 510 515 520 525

Ala Lys Gly Leu Asn Leu Ile Arg Ile Pro Phe Arg Trp Glu Arg Met
 530 535 540

Gln Gly Thr Leu Asn Gly Pro Leu Ile Ala Ala Glu Leu Ala Arg Met
 545 550 555

Asp Asn Ala Ile Ala Leu Ala Ser Ala Arg Gly Met Lys Val Ile Leu
 560 565 570

Asp Met His Asn Tyr Ala Arg Tyr Arg Thr Pro Thr Ala Ser Tyr Val
 575 580 585

Phe Gly Asp Ala Gln Leu Pro Ala Ser Ala Phe Ala Asp Val Trp Arg
 590 595 600 605

Lys Leu Ala Asp His Tyr Lys Asn Glu Pro Ala Ile Tyr Gly Phe Asp
 610 615 620

ES 2 794 837 T3

Ile Met Asn Glu Pro His Ser Met Pro Thr Pro Thr Thr Trp Pro Thr
 625 630 635

Tyr Ala Gln Ala Ala Val His Ala Ile Arg Glu Val Asn Leu Asp Thr
 640 645 650

Trp Ile Ile Val Glu Gly Glu Thr Tyr Ala Asn Ser Trp Lys Phe Gly
 655 660 665

Glu Lys Asn Pro His Leu His Asn Val Arg Asp Pro Val Gly Arg Leu
 670 675 680 685

Met Phe Ser Ala His Ser Tyr Trp Cys Lys Asn Gly Asp Asp Arg Tyr
 690 695 700

Gly Thr Tyr Asp Ala Glu Asn Gly His Pro Gln Met Gly Val Asp Ser
 705 710 715

Leu Lys His Phe Val Asp Trp Leu Arg Lys His Asn Ala His Gly Phe
 720 725 730

Val Gly Glu Tyr Gly Val Pro Asn Asn Asp Pro Arg Trp Leu Glu Val
 735 740 745

Leu Glu Asn Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Asn Glu Asn Ile Ser Gly Thr
 750 755 760 765

Tyr Trp Ala Gly Gly Ala Trp Leu Ala Gly Ser His Ile Ser Cys His
 770 775 780

Pro Ser Ser Asn Tyr Thr Val Asp Arg Pro Val Met Ser Val Leu Gln
 785 790 795

Asn Tyr Pro
 800

- 5 <210> 7
- <211> 2082
- <212> ADN
- <213> *Pseudomonas stutzeri*
- 10 <220>
- <221> CDS
- <222> (1)..(2079)
- 15 <220>
- <221> sig_peptide
- <222> (1)..(108)
- <220>
- <221> mat_peptide
- <222> (109)..(2079)

ES 2 794 837 T3

<400> 7

atg tcc acc aac ctg ttt tcc ggt gcc cgc aag gca ctc gtc gct tcc	48
Met Ser Thr Asn Leu Phe Ser Gly Ala Arg Lys Ala Leu Val Ala Ser	
-35 -30 -25	
atc gct gcc gct gtt ctg ctg ggt ggc gcc act gtt gta acc acg cct	96
Ile Ala Ala Ala Val Leu Leu Gly Gly Ala Thr Val Val Thr Thr Pro	
-20 -15 -10 -5	
tat gcc gct gca tcc tcg gtt gcc gct gta tcg gtt tcc gcc aag atc	144
Tyr Ala Ala Ala Ser Ser Val Ala Ala Val Ser Val Ser Ala Lys Ile	
-1 1 5 10	
aac gcg ttc acc aac agc gat tgg ctg aac ggt atc tgg cgc acc ggc	192
Asn Ala Phe Thr Asn Ser Asp Trp Leu Asn Gly Ile Trp Arg Thr Gly	
15 20 25	
gcc ggc ttc tcg atc ccc gcc acc tcc gca aac cgc gcc gcg ttc gtg	240
Ala Gly Phe Ser Ile Pro Ala Thr Ser Ala Asn Arg Ala Ala Phe Val	
30 35 40	
gcc ggc gct tcg gta cga ctg gca gac ggt cag gta cgc aag atc agc	288
Ala Gly Ala Ser Val Arg Leu Ala Asp Gly Gln Val Arg Lys Ile Ser	
45 50 55 60	
cgc gcg caa atc gtc ggc agc aac atg agc atc ttc ctg gaa ggt gca	336
Arg Ala Gln Ile Val Gly Ser Asn Met Ser Ile Phe Leu Glu Gly Ala	
65 70 75	
aag ctg gac ggc aac aag gtt ggc gca ccg caa gtg gtc acc atc ggc	384
Lys Leu Asp Gly Asn Lys Val Gly Ala Pro Gln Val Val Thr Ile Gly	
80 85 90	
agc acg gcc gta acg gcc ccg gac act tct gct ccg atc act aca ccg	432
Ser Thr Ala Val Thr Ala Pro Asp Thr Ser Ala Pro Ile Thr Thr Pro	
95 100 105	
cct acc gtt act gcg cac tcg acc agc atc aac gca ttc acc aac aat	480
Pro Thr Val Thr Ala His Ser Thr Ser Ile Asn Ala Phe Thr Asn Asn	
110 115 120	
gat tgg ctc aat ggt gta tgg cgt aag tcg ccg ggc ttc tcc att ccg	528
Asp Trp Leu Asn Gly Val Trp Arg Lys Ser Pro Gly Phe Ser Ile Pro	
125 130 135 140	
gca agc gct gcc aac aag gct gct ttc aaa gtt gga gcg aca gca aaa	576
Ala Ser Ala Ala Asn Lys Ala Ala Phe Lys Val Gly Ala Thr Ala Lys	
145 150 155	
ctg gca gat ggc cag gtt cgc aaa att acc cag gta caa gtt gtt ggc	624
Leu Ala Asp Gly Gln Val Arg Lys Ile Thr Gln Val Gln Val Val Gly	
160 165 170	
gcc aat atg agc gtc tat ctg gaa ggt gcg gca gtt aac gga agt gtc	672
Ala Asn Met Ser Val Tyr Leu Glu Gly Ala Ala Val Asn Gly Ser Val	
175 180 185	
gtc ggc gca ccc aac aag ttg gcg ctg gct aca act tcg act acc agc	720

ES 2 794 837 T3

Val	Gly	Ala	Pro	Asn	Lys	Leu	Ala	Leu	Ala	Thr	Thr	Ser	Thr	Thr	Ser		
190						195					200						
ccg	gct	ccg	act	ccg	gcg	ccc	agt	gct	ccg	acc	cct	tcg	gtc	atc	gcc		768
Pro	Ala	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Ser	Ala	Pro	Thr	Pro	Ser	Val	Ile	Ala		
205					210					215					220		
acc	agc	aac	ctg	aac	aac	tac	acc	aat	gct	caa	tgg	ctc	aac	ggg	atg		816
Thr	Ser	Asn	Leu	Asn	Asn	Tyr	Thr	Asn	Ala	Gln	Trp	Leu	Asn	Gly	Met		
				225					230					235			
tac	cgt	acc	gct	gca	ggc	ttc	tcc	atc	cag	gca	agc	agc	gcc	aac	gtg		864
Tyr	Arg	Thr	Ala	Ala	Gly	Phe	Ser	Ile	Gln	Ala	Ser	Ser	Ala	Asn	Val		
			240					245					250				
gcg	gca	ttc	aag	gct	ggc	gct	ttg	gtg	agg	ctc	gct	gat	ggg	cag	acc		912
Ala	Ala	Phe	Lys	Ala	Gly	Ala	Leu	Val	Arg	Leu	Ala	Asp	Gly	Gln	Thr		
		255					260					265					
cgc	aag	gtg	ctg	cgc	gct	cag	ctg	gtc	ggc	agc	aac	atg	agc	gtc	ttt		960
Arg	Lys	Val	Leu	Arg	Ala	Gln	Leu	Val	Gly	Ser	Asn	Met	Ser	Val	Phe		
	270					275					280						
ctt	gac	ggc	gcg	gta	atc	aac	ggg	acg	acc	ctg	ggc	tat	ccg	aag	acc		1008
Leu	Asp	Gly	Ala	Val	Ile	Asn	Gly	Thr	Thr	Leu	Gly	Tyr	Pro	Lys	Thr		
285					290					295					300		
atc	tcg	gtg	gtc	agt	acg	tcg	acc	ggc	act	cct	tcg	tct	cct	gct	ctg		1056
Ile	Ser	Val	Val	Ser	Thr	Ser	Thr	Gly	Thr	Pro	Ser	Ser	Pro	Ala	Leu		
				305					310					315			
act	acc	cca	ccg	gta	gag	cca	gca	ccg	gct	ccg	gtg	ccc	acc	gca	cct		1104
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Glu	Pro	Ala	Pro	Ala	Pro	Val	Pro	Thr	Ala	Pro		
			320					325					330				
gac	acc	acc	aat	ggc	aag	ccg	ctg	ctg	ggt	ggc	gtc	aat	ctg	tcc	ggc		1152
Asp	Thr	Thr	Asn	Gly	Lys	Pro	Leu	Leu	Val	Gly	Val	Asn	Leu	Ser	Gly		
			335				340					345					
gcc	ggc	ttc	ggg	ccc	tcg	ggt	ggt	ccc	ggc	aag	cat	ggc	acc	aac	tac		1200
Ala	Gly	Phe	Gly	Pro	Ser	Val	Val	Pro	Gly	Lys	His	Gly	Thr	Asn	Tyr		
		350				355					360						
acc	tat	cct	gcc	gag	tcg	tac	tac	aag	aag	tat	tcc	gac	ctg	ggc	atg		1248
Thr	Tyr	Pro	Ala	Glu	Ser	Tyr	Tyr	Lys	Lys	Tyr	Ser	Asp	Leu	Gly	Met		
365					370					375					380		
ccg	ctg	ggt	cgc	ctg	ccg	ttc	ctc	tgg	gag	cgt	atc	cag	ccc	aag	ctg		1296
Pro	Leu	Val	Arg	Leu	Pro	Phe	Leu	Trp	Glu	Arg	Ile	Gln	Pro	Lys	Leu		
				385					390					395			
aac	tct	ccg	ctg	aac	gcc	gag	gag	ttc	gcc	cgt	ctg	aag	cag	tcg	ctg		1344
Asn	Ser	Pro	Leu	Asn	Ala	Glu	Glu	Phe	Ala	Arg	Leu	Lys	Gln	Ser	Leu		
			400					405					410				
gat	ttc	gcg	cag	aag	cac	aac	gtc	aag	gtg	att	ctc	gac	ctg	cac	aac		1392
Asp	Phe	Ala	Gln	Lys	His	Asn	Val	Lys	Val	Ile	Leu	Asp	Leu	His	Asn		
		415					420					425					
tac	tac	cgt	tat	tac	ggc	aag	ctg	atc	ggc	tcc	aaa	gaa	gtg	ccc	atc		1440
Tyr	Tyr	Arg	Tyr	Tyr	Gly	Lys	Leu	Ile	Gly	Ser	Lys	Glu	Val	Pro	Ile		
		430				435					440						

ES 2 794 837 T3

agt tcc ttc gcc gcg gta tgg aag cag atc gtg cag caa gta gtg aac 1488
 Ser Ser Phe Ala Ala Val Trp Lys Gln Ile Val Gln Gln Val Val Asn
 445 450 455 460

cac ccg gcc gtc gaa ggc tac ggc ctg atg aac gag ccg cac tcg acc 1536
 His Pro Ala Val Glu Gly Tyr Gly Leu Met Asn Glu Pro His Ser Thr
 465 470 475

aac ggg ctc tgg ccg cag gct gcc ctg gcg gct gct cag gca atc cgc 1584
 Asn Gly Leu Trp Pro Gln Ala Ala Leu Ala Ala Ala Gln Ala Ile Arg
 480 485 490

acc gtc gac tcc aag cgc tgg atc tac gta gca ggc gat cgc tgg tcg 1632
 Thr Val Asp Ser Lys Arg Trp Ile Tyr Val Ala Gly Asp Arg Trp Ser
 495 500 505

agc gct ttc cac tgg ccg cac tac aac act cag ctg gtc acc aac ccg 1680
 Ser Ala Phe His Trp Pro His Tyr Asn Thr Gln Leu Val Thr Asn Pro
 510 515 520

tgg atg cgc gat ccg aag aac aat ctg gtt tac gaa gcg cac atg tac 1728
 Trp Met Arg Asp Pro Lys Asn Asn Leu Val Tyr Glu Ala His Met Tyr
 525 530 535 540

gtg gac aag gat ttc tcg ggc aac tac ttc gac aag gcc gag aag ttc 1776
 Val Asp Lys Asp Phe Ser Gly Asn Tyr Phe Asp Lys Ala Glu Lys Phe
 545 550 555

gac ccg atg att ggc gtc aac cgc gtc aag ccc ttc gtc gac tgg ctc 1824
 Asp Pro Met Ile Gly Val Asn Arg Val Lys Pro Phe Val Asp Trp Leu
 560 565 570

aag cag cac aaa ctg cgc ggc tac atc ggt gag cac ggc gta ccg gat 1872
 Lys Gln His Lys Leu Arg Gly Tyr Ile Gly Glu His Gly Val Pro Asp
 575 580 585

ttc tcg ccc tcg gcc atc gtc gca acc gat aac ctg ctg gcc tac ctg 1920
 Phe Ser Pro Ser Ala Ile Val Ala Thr Asp Asn Leu Leu Ala Tyr Leu
 590 595 600

cgt cag aac tgc atc ccg agc acc tat tgg gct gcc ggt ccc tgg tgg 1968
 Arg Gln Asn Cys Ile Pro Ser Thr Tyr Trp Ala Ala Gly Pro Trp Trp
 605 610 615 620

ggc gag tac gcg atg tcc ctg gac gta agc agc ggc aag cac cgt ccg 2016
 Gly Glu Tyr Ala Met Ser Leu Asp Val Ser Ser Gly Lys His Arg Pro
 625 630 635

cag ctg ccg gtt ctg cag aag cac gcc aaa acc gca aac agc tgc acc 2064
 Gln Leu Pro Val Leu Gln Lys His Ala Lys Thr Ala Asn Ser Cys Thr
 640 645 650

agc atc ggt ccg ctg taa 2082
 Ser Ile Gly Pro Leu
 655

<210> 8
 <211> 693
 <212> PRT
 <213> *Pseudomonas stutzeri*
 <400> 8

ES 2 794 837 T3

Met Ser Thr Asn Leu Phe Ser Gly Ala Arg Lys Ala Leu Val Ala Ser
-35 -30 -25

Ile Ala Ala Ala Val Leu Leu Gly Gly Ala Thr Val Val Thr Thr Pro
-20 -15 -10 -5

Tyr Ala Ala Ala Ser Ser Val Ala Ala Val Ser Val Ser Ala Lys Ile
-1 1 5 10

Asn Ala Phe Thr Asn Ser Asp Trp Leu Asn Gly Ile Trp Arg Thr Gly
15 20 25

Ala Gly Phe Ser Ile Pro Ala Thr Ser Ala Asn Arg Ala Ala Phe Val
30 35 40

Ala Gly Ala Ser Val Arg Leu Ala Asp Gly Gln Val Arg Lys Ile Ser
45 50 55 60

Arg Ala Gln Ile Val Gly Ser Asn Met Ser Ile Phe Leu Glu Gly Ala
65 70 75

Lys Leu Asp Gly Asn Lys Val Gly Ala Pro Gln Val Val Thr Ile Gly
80 85 90

Ser Thr Ala Val Thr Ala Pro Asp Thr Ser Ala Pro Ile Thr Thr Pro
95 100 105

Pro Thr Val Thr Ala His Ser Thr Ser Ile Asn Ala Phe Thr Asn Asn
110 115 120

Asp Trp Leu Asn Gly Val Trp Arg Lys Ser Pro Gly Phe Ser Ile Pro
125 130 135 140

Ala Ser Ala Ala Asn Lys Ala Ala Phe Lys Val Gly Ala Thr Ala Lys
145 150 155

Leu Ala Asp Gly Gln Val Arg Lys Ile Thr Gln Val Gln Val Val Gly
160 165 170

Ala Asn Met Ser Val Tyr Leu Glu Gly Ala Ala Val Asn Gly Ser Val
175 180 185

Val Gly Ala Pro Asn Lys Leu Ala Leu Ala Thr Thr Ser Thr Thr Ser
190 195 200

Pro Ala Pro Thr Pro Ala Pro Ser Ala Pro Thr Pro Ser Val Ile Ala
205 210 215 220

ES 2 794 837 T3

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

ES 2 794 837 T3

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

<210> 9
 <211> 2409
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Codones optimizados

10

<400> 9

ES 2 794 837 T3

gcagactatt atctgaaagc atcacaaggc gcatcaaatc attggtcac acatctgaca 60
gattggacag caaatgcaga tggcacaggc gcaaatccga cagttattgg cctggcagat 120

ES 2 794 837 T3

acatttgata	caaataatcg	cacactgaga	acaccggcag	ttaatgcaac	aacaacatat	180
cctggcggag	ttctgagact	gtcaggcggg	gcaggcggtta	ttggcatgaa	aacaggcgga	240
acagcagttg	caattgttcc	gaaactggtt	tcaacagcag	gcacagttga	tgcatggcat	300
acaggcacac	agtatttttag	agcagatgat	tgggaaaatc	ttgcatcagg	cacaggcgtt	360
acagcactga	aagcagtctc	aggcagaaca	cttaaagttt	cagttggcaa	actgacaggc	420
tcaggcgaaa	caagactgca	tggcggaggc	gcagttagac	tggatgttac	agatggcgaa	480
agatatctgg	gcgttgtag	agtttcatca	ggcgcagcag	attttgataa	taacgttttt	540
gtttcaggac	cgctggttat	tgaaacaggc	gctacagttg	ttctggatca	agcagtttca	600
tttgcaggcc	ttacagttgc	tggcacagaa	tattcaccgg	gaaattatac	atttgcagca	660
cttcaagcag	cacatccgac	ggtttttaca	agcggcacag	caggcggatc	aattacagtt	720
agagcaccga	gaacatggta	tctgacagtt	aatcaaggcg	gagtccaaaa	ttggacagaa	780
acatatctga	gcaattggaa	ttcagcagca	aatggatcag	gcgttgacc	gacatcaatt	840
aatggctatg	acttttatat	cgatcaggtc	agcaatcgcg	aaattagaac	accgtcaaca	900
gcatcaacat	ttggaggcgg	agcgtctggca	ctggcatctg	gcgcaaaact	gacactgaaa	960
tcatcacctg	gcgttgtttc	aacaattccg	gcatttgta	atacaaacag	cccgattatt	1020
gttaatggcg	gtggctcatt	tagacaatca	ctggcacttg	gcgactggga	aattgcaagc	1080
ggcattacaa	aactgtcagc	aggcagcggc	agatcactgg	gctttgatat	tgattatctt	1140
ggcggagctg	gcggactggt	tacacaaaat	ggcggatcat	actttctgtc	actggatgat	1200
ggctcaggct	atacgggcac	actgaatcat	gcgtcaggcg	cactgagatt	tgaatcagtt	1260
tttagcacag	aaggcgcact	tacaattggc	tcatcagcaa	cagttcatct	tgatcaacaa	1320
gtctatgtca	caagctttag	cgttgcaggc	gtcgcaaaag	cagcaggcat	tcatacatat	1380
gcatcactga	atgcagcgc	tccggcacaa	tttacagctg	gcgcagcacc	gggactgggt	1440
gcagtttata	caccggatac	agcaggaccg	gttagaatga	atggcgtcaa	tatttagcgga	1500
ccggaatcaa	atacagcaaa	tcttccggga	acatatggct	ataactatgt	ctatccgaca	1560
gaagcggact	ttgattatta	tgcatcaaaa	ggcctgaacc	tgattagaat	tccgtttaga	1620
tgggaaagaa	tgacagcatg	cctgaatggt	ccgctgaata	cagcacaact	gggctatatg	1680
gatacagcgg	ttgcaagagc	atcagcaaga	ggcatgaaag	ttattctgga	catgcataac	1740
tatgcacgct	gcaaagtgg	aggcgttaca	tacaaatttg	gagatgcaca	acttccggca	1800
agcgcataatg	cagatgtttg	gcgcagactt	gcagaccact	ataaaaacga	accggcaatt	1860
tatggctttg	acattatgaa	tgaaccgaat	ggcctgagcg	gaggcgtttg	gcctgcgtat	1920
gcacaagcag	cagtcaatgc	aattagagaa	gttaatctga	gcacatgggt	tattgtcgaa	1980

ES 2 794 837 T3

ggcgaat	ttt	gggcaa	atgc	atgggg	cttt	gaaacg	aaaa	atccgt	atct	gcataa	tgtg	2040	
agagat	cccg	ttggc	agact	gatgt	ttttca	gcacatt	cat	attgg	tcaga	tgcagg	cacg	2100	
gatgt	ctata	aaacata	tga	tgaaga	aggc	gcttat	cccg	aaatg	ggcgt	taataa	tgtt	2160	
aaacc	gttta	tcgatt	ggct	gaaaaa	acat	gacg	caaaag	gcttt	gttgg	cgaata	tggc	2220	
gttcc	gaata	atgat	ccgag	atggct	ggtt	gtcct	ggata	at	tttct	ggc	atatct	ggca	2280
gcaga	aggcg	tttcagg	cac	atatt	gggct	ggcgg	agcat	ggtatt	cagg	ctcacc	gatt	2340	
agctg	ccatc	cgtca	agcaa	ctata	cagtt	gataga	gcag	ttatg	agcgt	cctgga	agat	2400	
catcc	gtaa											2409	

5 <210> 10
 <211> 2452
 <212> ADN
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Codones optimizados

<400> 10

ES 2 794 837 T3

gcttttagtt	catcgatagc	atcagcacat	catcatcacc	atcatccgag	agcagattgg	60
tatctggata	aaaatcaagc	aagatatgcg	agctgggata	cactggcaga	ttggaaaccg	120
aatccggatg	gctcaggctc	aaatccgtca	gcaactgtcac	cgtcagatac	atatcatctg	180
aatggcttta	tgctgagaac	accggaaggc	ggatcaacat	atacatttac	aggcggactg	240
ctgagcctgg	caaataatgc	agataatfff	gcgctgaaaa	caacaggctc	aggcgtttca	300
attattccgg	cactgagaac	aacagcaggc	ctggttcaaa	atggtggcag	cggcacacaa	360
aatctgcaag	ttggccatta	tcaaaatctg	tcaggcacaa	caagctatta	tgacaaaaca	420
ggcagaggcc	tgaatctggc	aattacaaca	ctggttggct	caggacagtt	tagattttat	480
ggcggaggca	catattatct	gtctctggca	aattcaccga	catatgatgg	cgatatttat	540
gtccaaagcg	gcacaattga	ttttaacaat	gatctggcga	cagcaggcac	actgacagtt	600
aatacaggcg	caaaagttgc	actggatcaa	gcagttacgt	ttacaggact	gacaattgca	660
ggcacagcat	atccggttgg	caattattca	tatgcagcac	tgcaagcagc	acatccggca	720
gtttttgttt	ctggcacatc	aggcggagca	attaatgtta	gagcaccgag	aaattggtac	780
ttgtcaacac	atcagccggt	tggcgcacat	tggaatacac	ttgcgcattg	gagagcaaac	840
ccggatggaa	caggcgctac	agcagattca	attaatagct	ttgacaacta	tatcaaccag	900
gtcagcggca	gaacactgcg	cacaccggaa	acaacagcga	catttgctgg	cggatcactg	960
gttctggcag	atggcggaaa	tctttcactg	aaagcaccgg	caggccattc	atcaacaatt	1020
ccggcatttg	caacatcagg	cagcatttca	attacaaacg	gctttagctc	aattacacaa	1080
ccgctggtta	ttggcgattg	gcatcttggc	gctggcacag	cacaagtttc	agttccgtca	1140

ES 2 794 837 T3

acatcaacag ttcaactgac agtcgataaa ctgagcggag atggcacact gcaatttcaa 1200
 aatggcggta aatatacgct gaacattaga ggcgcatcag cttttacagg cacattaaga 1260
 catctgagcg gaacacttac agttgcatca caaattggca caggcggaac attagttggt 1320
 gaatcaacag gcgcagttaa actggatcat ccgggatttt ttacaggtgt tacagtggct 1380
 ggcacaccgc tggcaccggg atatcataca tatgcggcac ttaaagcggc tcatcctgcg 1440
 agatttccga caggctcaac aatgcggtt cttgcagttt atcctccgga tacaacagga 1500
 ccggcacata tgtttggcgt taatctggct ggcggagaat ttggaacacc gatgcctggc 1560
 gtttatggca cagattatat ctatccgagc gcagcagcat ttgattatta tcatggcaaa 1620
 ggccttaaac tgattcgct gccgtttaa tgggaaagac tgcaacatac acttaatgca 1680
 ccgctgaatg cagcagaact ggcaagaatt gatacagttg ttggctatgc atcagcaaga 1740
 ggcattgaaag ttgttctgga tatgcataac tatgcgcgta gaaaagaatc aggcacgaca 1800
 tatctgatcg gcacaggccc tgttacaatg gatgcatttg gagatgtttg gagaagaatc 1860
 gcggatcatt ataaaggcaa tccggcaatt tatggctacg gcattatgaa tgaaccgtat 1920
 agcacaata caacgtggcc tcaaattggcg caaacagcag ttaatgcaat tagaacagtt 1980
 gatctgacaa cgcatgttat tgttgcaggc gacggctggt caaatgcaac aggctggcgc 2040
 tcaaaaaatc cgaatctgga tacacaagat ccggtcggca gactgattta tgaagcacat 2100
 tgctattttg acagcaacct ttcaggcacg tatacacaaa gctatgatgc agcaggcgca 2160
 catccgatga ttggcgttga tagagttaga gaatttgtcg aatggcttca agaaacaggc 2220
 aacaaaggct ttattggaga atatggcgtt ccgggaaatg atccgagatg gctggttgtt 2280
 cttgataatt ttctggcata tctggatgca aatggcgta gcggaacata ttgggcaggc 2340
 ggaccgtggt ggggcaatta tccgctgtca tgcgaaccga catcaaatta cacagttgat 2400
 aaaccgcaa tgagcgtcct ggaaaactac aactaaacgc gttaatcaat aa 2452

<210> 11
 <211> 2403
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Codones optimizados

10

<400> 11

gcagattatt atctgaaagt taatcaaccg catccgaatt catgggcatc accggttaca 60
 gattgggcag caaatccgga tggcacaggc gcagcaccgg cagcaattgc ggcaccggat 120
 acattttata caaataatag aacacttgc acaccggctg ttggcgtaa tgcaacattt 180
 cctggcggag ttctgggcct gaatggcggg gtcattggca ttaaacagg accgtcagca 240

ES 2 794 837 T3

ttttcaattg caccgaaact ggtttcaaca gcaggcgcaa ttgaatcatg gggcacaccg 300
 cagaatttta gagcagatga ttgggaatca aatgcaccgt ttccgacatt tacaggcctg 360
 agaacagcat caaatcatac acttaaagt agcgttggca aactgagcgg aacaggcgaa 420
 attagagttc atggcggagg cacagttctg ctggatgtta cagatgcaga aaattatctg 480
 ggcacactgt gcgttgcatc aggcgcaactg aatthttgata atgcagtttt ttcatcagga 540
 ccgctggata tcaaaacagg cgcaacagtt gttctggatc aagcagtttc atttgcaggc 600
 cttgcagttg gagcaacaga atatccgcct ggcaattata cactggcagc actgcaagca 660
 gcacatcctg gcgttttttac aggcacagca gcaggatcaa ttacagttag agcaccgaga 720
 acatggtatc tgacagtttc acaaggctca caaaattgga cagaagcatt tctgtcaaat 780
 tggaattcag cagcaaatgg ctcaggcgtc gcaccgaatt atatcaatgg acatgatatc 840
 tatctgaacc aggtcaataa tcgcgaactg agaacaccgt atacagcaag cacgtttaca 900
 ggcggaacac tggcactgac atttggctca aaactggttg ttaaaacaag cccgaatctg 960
 gttagcaciaa ttccggcact ggttacatct ggaacaccgc aatttgcgaa tggcagcggc 1020
 tcaagacaaa atctggcaat tggcgattgg gatattatct caggcacatc aagactggtt 1080
 gcaggctcaa caagatcact gggctttgat attggctggc tgacaggcgc tggcaatctg 1140
 caaacagaag gcggaggctc atthtttctg agactgattg atggatcagg ctatacaggc 1200
 gctattaacc ataattctgg cgctctgaga tttgaaagcg tttttagcac agctggcgca 1260
 cttaatattg gcgcatcagc aacagttcat cttgataaac cggctatgt ttcaggcctt 1320
 agcgttgagc gcgttgcgaa accggcaggc attcatacat atgcatcact taatgcagcg 1380
 catccggcac aatttaatgc aggcgctgct ccgggacttg ttgcagttta tacaccgaac 1440
 acagcagctc cggttagaat gaatggcgtc aatctgtcag gaccggaatc agttggcgga 1500
 gcaggtagac cttttccggg aacatatggc tttcaatgga tttatccgac agtcgaggat 1560
 tatgattatt atgcagcaaa aggcctaac ctgattagaa ttccgtttag atgggaaaga 1620
 atgcaaggca cactgaatgg accgctgatt gcagcggaac tggcaagaat ggataatgca 1680
 attgcgctgg catcagcgag aggcattgaa gttattctgg atatgcataa ctatgcacgc 1740
 tatagaacac cgacagcatc atatgttttt ggagatgcgc aacttccggc atcagcattt 1800
 gcagatgtht ggagaaaact ggcgatcac tataaaaacg aaccggcaat ttatggcttt 1860
 gacattatga atgaaccgca ttcaatgccg acaccgacaa cgtggccgac atatgcacia 1920
 gcagcagttc atgcaattag agaagtcaat ctggatacat ggattatcgt tgaaggcgaa 1980
 acatatgcga actcatggaa atttggcgaa aaaaatccgc atctgcataa tgttagagat 2040
 ccggttggca gactgatgtht ttcagcacat tcatattggt gcaaaaatgg cgacgatcgc 2100
 tatggcacgt atgatgcgga aatggccat ccgcaaatgg gcgttgattc actgaaacat 2160

ES 2 794 837 T3

tttgttgatt ggctgcgcaa acataatgca catggctttg ttggcgaata tggcgttccg 2220
aataatgatc cgagatggct ggaagttctg gaaaatgcac tgatttatct ggcgaacgaa 2280
aacattagcg gcacatattg ggcaggcgga gcatggctgg caggctcaca tatttcatgc 2340
catccgtcat ctaactatac agttgatcgt ccggttatga gcgtcctgca aaattatccg 2400
taa 2403

5 <210> 12
<211> 1974
<212> ADN
<213> Artificial

10 <220>
<223> Codones optimizados
<400> 12

tcatcagttg cagcagtttc agtttcagca aaaatcaatg cgtttacgaa tagcgattgg 60
ctgaatggca tttggagaac aggcgcaggc ttttcaattc cggcaacatc agcaaataga 120
gcagcatttg ttgcaggcgc atcagttaga ctggcagatg gccaaagttag aaaaattagc 180
agagcacaaa ttgtcggcag caacatgtca atttttctgg aaggcgcaaa actggatggc 240
aataaagttg gcgcaccgca agttgttaca attggctcaa cagcagttac agcaccggat 300
acatcagcac cgattacaac accgcctaca gtcacagcac attcaacatc aattaacgcc 360
tttacaata atgactggct taacggcgtt tggcgcaaat caccgggatt tagcattccg 420
gcatctgcag cgaataaagc ggcttttaaa gttggagcaa cagcaaaact tgcggatgga 480
caggttcgca aaattacaca agttcaagtt gttggcgcta acatgagcgt ttatcttgaa 540
ggcgcagcag tcaatggctc agttgttggg gaccggaata aactggcact ggcaacaaca 600
agcacaacat caccggcacc gacaccggct ccgtcagctc cgacaccgtc agttattgca 660
acatcaaadc tgaacaacta tacaatgcg cagtggctga acggaatgta tagaacagca 720
gcgggatttt ctattcaagc atcaagcgca aatgtcgcag catttaaagc aggcgcactg 780
gtcagacttg ctgatggcca gacaagaaaa gttctgagag cacaactggt tggctcaaat 840
atgtcagtct ttcttgatgg cgctgtcatt aatggcacia cactgggcta tccgaaaaca 900
atttcagttg ttagcacatc aacaggcaca ccgtcatctc cggcactgac aacacctccg 960
gttgaaccgg ctctgcacc ggttccgaca gcgcctgata caacaaatgg caaacccgctg 1020
ctggttggcg ttaatctgag cggagcaggc tttggaccga gcggttgtcc gggaaaacat 1080
ggcacaatt atacatatcc ggcagaaagc tactacaaaa aatactcaga tctgggcatg 1140
ccgctgggta gactgccgtt tctgtgggaa agaattcaac cgaaactgaa ttcaccgctg 1200
aatgcagaag aatttgcaag actgaaacag agcctggatt ttgcgcagaa acataacggt 1260

ES 2 794 837 T3

aaagtcattcc tggatctgca taactattat cgctattacg gcaaactgat tggcagcaaa 1320
 gaagttccga tttcaagctt tgcggcagtc tggaaacaaa ttgttcaaca agttgtcaat 1380
 catccggcag ttgaaggcta tggcctgatg aatgaaccgc atagcacaaa tggcctgtgg 1440
 cctcaagcag cactggcagc agcacaagca attagaacag ttgatagcaa acgctggatt 1500
 tatgtcgcag gcgatagatg gtcattcagca tttcattggc ctattataa cacacagctg 1560
 gttacaaatc cgtggatgag agatccgaaa aataacctgg tttatgaagc gcatatgtat 1620
 gtcgacaaaag attttagcgg caactacttt gacaaaagcgg aaaaatttga tccgatgatt 1680
 ggcgtcaatc gcgttaaacc gtttgttgat tggcttaaac agcataaact gcgtggctat 1740
 attggcgaac atggcgttcc ggatttttca ccgtcagcaa ttgttgcgac agataatctg 1800
 ctggcatatc tgagacaaaa ttgcattccg tcaacatatt gggcagcagg accgtggtgg 1860
 ggagaatatg caatgtcact ggatgtttca agcggcaaac atagaccgca acttccggtt 1920
 cttcaaaaac atgcaaaaac agcgaatagc tgcacatcaa ttggaccgct gtaa 1974

<210> 13
 <211> 811
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Con marcador de His

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(9)
 <223> Marcador de His

<400> 13

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

ES 2 794 837 T3

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

ES 2 794 837 T3

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

ES 2 794 837 T3

Cys Lys Val Gly Gly Val Thr Tyr Lys Phe Gly Asp Ala Gln Leu Pro
 595 600 605

Ala Ser Ala Tyr Ala Asp Val Trp Arg Arg Leu Ala Asp His Tyr Lys
 610 615 620

Asn Glu Pro Ala Ile Tyr Gly Phe Asp Ile Met Asn Glu Pro Asn Gly
 625 630 635 640

Leu Ser Gly Gly Val Trp Pro Ala Tyr Ala Gln Ala Ala Val Asn Ala
 645 650 655

Ile Arg Glu Val Asn Leu Ser Thr Trp Val Ile Val Glu Gly Glu Phe
 660 665 670

Trp Ala Asn Ala Trp Gly Phe Glu Thr Lys Asn Pro Tyr Leu His Asn
 675 680 685

Val Arg Asp Pro Val Gly Arg Leu Met Phe Ser Ala His Ser Tyr Trp
 690 695 700

Ser Asp Ala Gly Thr Asp Val Tyr Lys Thr Tyr Asp Glu Glu Gly Ala
 705 710 715 720

Tyr Pro Glu Met Gly Val Asn Asn Val Lys Pro Phe Ile Asp Trp Leu
 725 730 735

Lys Lys His Asp Ala Lys Gly Phe Val Gly Glu Tyr Gly Val Pro Asn
 740 745 750

Asn Asp Pro Arg Trp Leu Val Val Leu Asp Asn Phe Leu Ala Tyr Leu
 755 760 765

Ala Ala Glu Gly Val Ser Gly Thr Tyr Trp Ala Gly Gly Ala Trp Tyr
 770 775 780

Ser Gly Ser Pro Ile Ser Cys His Pro Ser Ser Asn Tyr Thr Val Asp
 785 790 795 800

Arg Ala Val Met Ser Val Leu Glu Asp His Pro
 805 810

<210> 14
 <211> 803
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>

5 <223> Con marcador de His
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(9)
<223> Marcador de His
<400> 14

ES 2 794 837 T3

Met His His His His His His Pro Arg Ala Asp Trp Tyr Leu Asp Lys
1 5 10 15

Asn Gln Ala Arg Tyr Ala Ser Trp Asp Thr Leu Ala Asp Trp Lys Pro
20 25 30

Asn Pro Asp Gly Ser Gly Ser Asn Pro Ser Ala Leu Ser Pro Ser Asp
35 40 45

Thr Tyr His Leu Asn Gly Phe Met Leu Arg Thr Pro Glu Gly Gly Ser
50 55 60

Thr Tyr Thr Phe Thr Gly Gly Leu Leu Ser Leu Ala Asn Asn Ala Asp
65 70 75 80

Asn Phe Ala Leu Lys Thr Thr Gly Ser Gly Val Ser Ile Ile Pro Ala
85 90 95

Leu Arg Thr Thr Ala Gly Leu Val Gln Asn Val Gly Ser Gly Thr Gln
100 105 110

Asn Leu Gln Val Gly His Tyr Gln Asn Leu Ser Gly Thr Thr Ser Tyr
115 120 125

Tyr Ala Gln Thr Gly Arg Gly Leu Asn Leu Ala Ile Thr Thr Leu Val
130 135 140

Gly Ser Gly Gln Phe Arg Phe Tyr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Leu Ser
145 150 155 160

Leu Ala Asn Ser Pro Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Tyr Val Gln Ser Gly
165 170 175

Thr Ile Asp Phe Asn Asn Asp Leu Ala Thr Ala Gly Thr Leu Thr Val
180 185 190

Asn Thr Gly Ala Lys Val Ala Leu Asp Gln Ala Val Thr Phe Thr Gly
195 200 205

Leu Thr Ile Ala Gly Thr Ala Tyr Pro Val Gly Asn Tyr Ser Tyr Ala
210 215 220

ES 2 794 837 T3

Ala Leu Gln Ala Ala His Pro Ala Val Phe Val Ser Gly Thr Ser Gly
 225 230 235 240

Gly Ala Ile Asn Val Arg Ala Pro Arg Asn Trp Tyr Leu Ser Thr His
 245 250 255

Gln Pro Val Gly Ala Ser Trp Asn Thr Leu Ala His Trp Arg Ala Asn
 260 265 270

Pro Asp Gly Thr Gly Ala Thr Ala Asp Ser Ile Asn Ser Phe Asp Asn
 275 280 285

Tyr Ile Asn Gln Val Ser Gly Arg Thr Leu Arg Thr Pro Glu Thr Thr
 290 295 300

Ala Thr Phe Ala Gly Gly Ser Leu Val Leu Ala Asp Gly Gly Asn Leu
 305 310 315 320

Ser Leu Lys Ala Pro Ala Gly His Ser Ser Thr Ile Pro Ala Phe Ala
 325 330 335

Thr Ser Gly Ser Ile Ser Ile Thr Asn Gly Phe Ser Ser Ile Thr Gln
 340 345 350

Pro Leu Val Ile Gly Asp Trp His Leu Gly Ala Gly Thr Ala Gln Val
 355 360 365

Ser Val Pro Ser Thr Ser Thr Val Gln Leu Thr Val Asp Lys Leu Ser
 370 375 380

Gly Asp Gly Thr Leu Gln Phe Gln Asn Gly Gly Lys Tyr Thr Leu Asn
 385 390 395 400

Ile Arg Gly Ala Ser Ala Phe Thr Gly Thr Leu Arg His Leu Ser Gly
 405 410 415

Thr Leu Thr Val Ala Ser Gln Ile Gly Thr Gly Gly Thr Leu Val Val
 420 425 430

Glu Ser Thr Gly Ala Val Lys Leu Asp His Pro Gly Phe Phe Thr Gly
 435 440 445

Val Thr Val Ala Gly Thr Pro Leu Ala Pro Gly Tyr His Thr Tyr Ala
 450 455 460

Ala Leu Lys Ala Ala His Pro Ala Arg Phe Pro Thr Gly Ser Thr Asn

ES 2 794 837 T3

Val Arg Glu Phe Val Glu Trp Leu Gln Glu Thr Gly Asn Lys Gly Phe
 725 730 735

Ile Gly Glu Tyr Gly Val Pro Gly Asn Asp Pro Arg Trp Leu Val Val
 740 745 750

Leu Asp Asn Phe Leu Ala Tyr Leu Asp Ala Asn Gly Val Ser Gly Thr
 755 760 765

Tyr Trp Ala Gly Gly Pro Trp Trp Gly Asn Tyr Pro Leu Ser Cys Glu
 770 775 780

Pro Thr Ser Asn Tyr Thr Val Asp Lys Pro Gln Met Ser Val Leu Glu
 785 790 795 800

Asn Tyr Asn

5 <210> 15
 <211> 809
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> Con marcador de His

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(9)
 <223> Marcador de His

15 <400> 15

Met His His His His His His Pro Arg Ala Asp Tyr Tyr Leu Lys Val
 1 5 10 15

Asn Gln Pro His Pro Asn Ser Trp Ala Ser Pro Val Thr Asp Trp Ala
 20 25 30

Ala Asn Pro Asp Gly Thr Gly Ala Ala Pro Ala Ala Ile Ala Ala Pro
 35 40 45

Asp Thr Phe Tyr Thr Asn Asn Arg Thr Leu Arg Thr Pro Ala Val Gly
 50 55 60

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

Ile Gly Ile Lys Thr Gly Pro Ser Ala Phe Ser Ile Ala Pro Lys Leu
 85 90 95

ES 2 794 837 T3

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

ES 2 794 837 T3

Asn Leu Ala Ile Gly Asp Trp Asp Ile Ile Ser Gly Thr Ser Arg Leu
 355 360 365

Val Ala Gly Ser Thr Arg Ser Leu Gly Phe Asp Ile Gly Trp Leu Thr
 370 375 380

Gly Ala Gly Asn Leu Gln Thr Glu Gly Gly Gly Ser Phe Phe Leu Arg
 385 390 395 400

Leu Ile Asp Gly Ser Gly Tyr Thr Gly Ala Ile Asn His Asn Ser Gly
 405 410 415

Ala Leu Arg Phe Glu Ser Val Phe Ser Thr Ala Gly Ala Leu Asn Ile
 420 425 430

Gly Ala Ser Ala Thr Val His Leu Asp Lys Pro Val Tyr Val Ser Gly
 435 440 445

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

Ser Leu Asn Ala Ala His Pro Ala Gln Phe Asn Ala Gly Ala Ala Pro
 465 470 475 480

Gly Leu Val Ala Val Tyr Thr Pro Asn Thr Ala Ala Pro Val Arg Met
 485 490 495

Asn Gly Val Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ser Val Gly Gly Ala Gly Thr
 500 505 510

Pro Phe Pro Gly Thr Tyr Gly Phe Gln Trp Ile Tyr Pro Thr Val Ala
 515 520 525

Asp Tyr Asp Tyr Tyr Ala Ala Lys Gly Leu Asn Leu Ile Arg Ile Pro
 530 535 540

Phe Arg Trp Glu Arg Met Gln Gly Thr Leu Asn Gly Pro Leu Ile Ala
 545 550 555 560

Ala Glu Leu Ala Arg Met Asp Asn Ala Ile Ala Leu Ala Ser Ala Arg
 565 570 575

Gly Met Lys Val Ile Leu Asp Met His Asn Tyr Ala Arg Tyr Arg Thr
 580 585 590

Pro Thr Ala Ser Tyr Val Phe Gly Asp Ala Gln Leu Pro Ala Ser Ala

ES 2 794 837 T3

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(8)

5 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(8)
 <223> Marcador de Has

10 <400> 16

His His His His His His Pro Arg Ala Asp Trp Tyr Leu Asp Lys Asn
 1 5 10 15

Gln Ala Arg Tyr Ala Ser Trp Asp Thr Leu Ala Asp Trp Lys Pro Asn
 20 25 30

Pro Asp Gly Ser Gly Ser Asn Pro Ser Ala Leu Ser Pro Ser Asp Thr
 35 40 45

Tyr His Leu Asn Gly Phe Met Leu Arg Thr Pro Glu Gly Gly Ser Thr
 50 55 60

Tyr Thr Phe Thr Gly Gly Leu Leu Ser Leu Ala Asn Asn Ala Asp Asn
 65 70 75 80

Phe Ala Leu Lys Thr Thr Gly Ser Gly Val Ser Ile Ile Pro Ala Leu
 85 90 95

Arg Thr Thr Ala Gly Leu Val Gln Asn Val Gly Ser Gly Thr Gln Asn
 100 105 110

Leu Gln Val Gly His Tyr Gln Asn Leu Ser Gly Thr Thr Ser Tyr Tyr
 115 120 125

Ala Gln Thr Gly Arg Gly Leu Asn Leu Ala Ile Thr Thr Leu Val Gly
 130 135 140

Ser Gly Gln Phe Arg Phe Tyr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Leu Ser Leu
 145 150 155 160

Ala Asn Ser Pro Thr Tyr Asp Gly Asp Ile Tyr Val Gln Ser Gly Thr
 165 170 175

Ile Asp Phe Asn Asn Asp Leu Ala Thr Ala Gly Thr Leu Thr Val Asn
 180 185 190

Thr Gly Ala Lys Val Ala Leu Asp Gln Ala Val Thr Phe Thr Gly Leu
 195 200 205

ES 2 794 837 T3

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

ES 2 794 837 T3

Leu Lys Ala Ala His Pro Ala Arg Phe Pro Thr Gly Ser Thr Asn Ala
 465 470 475 480

 Phe Leu Ala Val Tyr Pro Pro Asp Thr Thr Gly Pro Ala His Met Phe
 485 490 495

 Gly Val Asn Leu Ala Gly Gly Glu Phe Gly Thr Pro Met Pro Gly Val
 500 505 510

 Tyr Gly Thr Asp Tyr Ile Tyr Pro Ser Ala Ala Ala Phe Asp Tyr Tyr
 515 520 525

 His Gly Lys Gly Leu Lys Leu Ile Arg Leu Pro Phe Lys Trp Glu Arg
 530 535 540

 Leu Gln His Thr Leu Asn Ala Pro Leu Asn Ala Ala Glu Leu Ala Arg
 545 550 555 560

 Ile Asp Thr Val Val Gly Tyr Ala Ser Ala Arg Gly Met Lys Val Val
 565 570 575

 Leu Asp Met His Asn Tyr Ala Arg Arg Lys Glu Ser Gly Thr Thr Tyr
 580 585 590

 Leu Ile Gly Thr Gly Pro Val Thr Met Asp Ala Phe Gly Asp Val Trp
 595 600 605

 Arg Arg Ile Ala Asp His Tyr Lys Gly Asn Pro Ala Ile Tyr Gly Tyr
 610 615 620

 Gly Ile Met Asn Glu Pro Tyr Ser Thr Asn Thr Thr Trp Pro Gln Met
 625 630 635 640

 Ala Gln Thr Ala Val Asn Ala Ile Arg Thr Val Asp Leu Thr Thr His
 645 650 655

 Val Ile Val Ala Gly Asp Gly Trp Ser Asn Ala Thr Gly Trp Arg Ser
 660 665 670

 Lys Asn Pro Asn Leu Asp Thr Gln Asp Pro Val Gly Arg Leu Ile Tyr
 675 680 685

 Glu Ala His Cys Tyr Phe Asp Ser Asn Leu Ser Gly Thr Tyr Thr Gln
 690 695 700

 Ser Tyr Asp Ala Ala Gly Ala His Pro Met Ile Gly Val Asp Arg Val

ES 2 794 837 T3

Gly Ile Lys Thr Gly Pro Ser Ala Phe Ser Ile Ala Pro Lys Leu Val
85 90 95

Ser Thr Ala Gly Ala Ile Glu Ser Trp Gly Thr Pro Gln Asn Phe Arg
100 105 110

Ala Asp Asp Trp Glu Ser Asn Ala Pro Phe Pro Thr Phe Thr Gly Leu
115 120 125

Arg Thr Ala Ser Asn His Thr Leu Lys Val Ser Val Gly Lys Leu Ser
130 135 140

Gly Thr Gly Glu Ile Arg Val His Gly Gly Gly Thr Val Leu Leu Asp
145 150 155 160

Val Thr Asp Ala Glu Asn Tyr Leu Gly Thr Leu Cys Val Ala Ser Gly
165 170 175

Ala Leu Asn Phe Asp Asn Ala Val Phe Ser Ser Gly Pro Leu Asp Ile
180 185 190

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

Leu Ala Val Gly Ala Thr Glu Tyr Pro Pro Gly Asn Tyr Thr Leu Ala
210 215 220

Ala Leu Gln Ala Ala His Pro Gly Val Phe Thr Gly Thr Ala Ala Gly
225 230 235 240

Ser Ile Thr Val Arg Ala Pro Arg Thr Trp Tyr Leu Thr Val Ser Gln
245 250 255

Gly Ser Gln Asn Trp Thr Glu Ala Phe Leu Ser Asn Trp Asn Ser Ala
260 265 270

Ala Asn Gly Ser Gly Val Ala Pro Asn Tyr Ile Asn Gly His Asp Ile
275 280 285

Tyr Leu Asn Gln Val Asn Asn Arg Glu Leu Arg Thr Pro Tyr Thr Ala
290 295 300

Ser Thr Phe Thr Gly Gly Thr Leu Ala Leu Thr Phe Gly Ser Lys Leu
305 310 315 320

Val Val Lys Thr Ser Pro Asn Leu Val Ser Thr Ile Pro Ala Leu Val
325 330 335

ES 2 794 837 T3

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

ES 2 794 837 T3

Thr Ala Ser Tyr Val Phe Gly Asp Ala Gln Leu Pro Ala Ser Ala Phe
 595 600 605

Ala Asp Val Trp Arg Lys Leu Ala Asp His Tyr Lys Asn Glu Pro Ala
 610 615 620

Ile Tyr Gly Phe Asp Ile Met Asn Glu Pro His Ser Met Pro Thr Pro
 625 630 635 640

Thr Thr Trp Pro Thr Tyr Ala Gln Ala Ala Val His Ala Ile Arg Glu
 645 650 655

Val Asn Leu Asp Thr Trp Ile Ile Val Glu Gly Glu Thr Tyr Ala Asn
 660 665 670

Ser Trp Lys Phe Gly Glu Lys Asn Pro His Leu His Asn Val Arg Asp
 675 680 685

Pro Val Gly Arg Leu Met Phe Ser Ala His Ser Tyr Trp Cys Lys Asn
 690 695 700

Gly Asp Asp Arg Tyr Gly Thr Tyr Asp Ala Glu Asn Gly His Pro Gln
 705 710 715 720

Met Gly Val Asp Ser Leu Lys His Phe Val Asp Trp Leu Arg Lys His
 725 730 735

Asn Ala His Gly Phe Val Gly Glu Tyr Gly Val Pro Asn Asn Asp Pro
 740 745 750

Arg Trp Leu Glu Val Leu Glu Asn Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Asn Glu
 755 760 765

Asn Ile Ser Gly Thr Tyr Trp Ala Gly Gly Ala Trp Leu Ala Gly Ser
 770 775 780

His Ile Ser Cys His Pro Ser Ser Asn Tyr Thr Val Asp Arg Pro Val
 785 790 795 800

Met Ser Val Leu Gln Asn Tyr Pro
 805

<210> 18
 <211> 665
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Con marcador de Has

ES 2 794 837 T3

5 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(8)
 <223> Marcador de Has

<400> 18

His His His His His His Pro Arg Ser Ser Val Ala Ala Val Ser Val
 1 5 10 15

Ser Ala Lys Ile Asn Ala Phe Thr Asn Ser Asp Trp Leu Asn Gly Ile
 20 25 30

Trp Arg Thr Gly Ala Gly Phe Ser Ile Pro Ala Thr Ser Ala Asn Arg
 35 40 45

Ala Ala Phe Val Ala Gly Ala Ser Val Arg Leu Ala Asp Gly Gln Val
 50 55 60

Arg Lys Ile Ser Arg Ala Gln Ile Val Gly Ser Asn Met Ser Ile Phe
 65 70 75 80

Leu Glu Gly Ala Lys Leu Asp Gly Asn Lys Val Gly Ala Pro Gln Val
 85 90 95

Val Thr Ile Gly Ser Thr Ala Val Thr Ala Pro Asp Thr Ser Ala Pro
 100 105 110

Ile Thr Thr Pro Pro Thr Val Thr Ala His Ser Thr Ser Ile Asn Ala
 115 120 125

Phe Thr Asn Asn Asp Trp Leu Asn Gly Val Trp Arg Lys Ser Pro Gly
 130 135 140

Phe Ser Ile Pro Ala Ser Ala Ala Asn Lys Ala Ala Phe Lys Val Gly
 145 150 155 160

Ala Thr Ala Lys Leu Ala Asp Gly Gln Val Arg Lys Ile Thr Gln Val
 165 170 175

Gln Val Val Gly Ala Asn Met Ser Val Tyr Leu Glu Gly Ala Ala Val
 180 185 190

Asn Gly Ser Val Val Gly Ala Pro Asn Lys Leu Ala Leu Ala Thr Thr
 195 200 205

ES 2 794 837 T3

Ser Thr Thr Ser Pro Ala Pro Thr Pro Ala Pro Ser Ala Pro Thr Pro
 210 215 220

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

Leu Asn Gly Met Tyr Arg Thr Ala Ala Gly Phe Ser Ile Gln Ala Ser
 245 250 255

Ser Ala Asn Val Ala Ala Phe Lys Ala Gly Ala Leu Val Arg Leu Ala
 260 265 270

Asp Gly Gln Thr Arg Lys Val Leu Arg Ala Gln Leu Val Gly Ser Asn
 275 280 285

Met Ser Val Phe Leu Asp Gly Ala Val Ile Asn Gly Thr Thr Leu Gly
 290 295 300

Tyr Pro Lys Thr Ile Ser Val Val Ser Thr Ser Thr Gly Thr Pro Ser
 305 310 315 320

Ser Pro Ala Leu Thr Thr Pro Pro Val Glu Pro Ala Pro Ala Pro Val
 325 330 335

Pro Thr Ala Pro Asp Thr Thr Asn Gly Lys Pro Leu Leu Val Gly Val
 340 345 350

Asn Leu Ser Gly Ala Gly Phe Gly Pro Ser Val Val Pro Gly Lys His
 355 360 365

Gly Thr Asn Tyr Thr Tyr Pro Ala Glu Ser Tyr Tyr Lys Lys Tyr Ser
 370 375 380

Asp Leu Gly Met Pro Leu Val Arg Leu Pro Phe Leu Trp Glu Arg Ile
 385 390 395 400

Gln Pro Lys Leu Asn Ser Pro Leu Asn Ala Glu Glu Phe Ala Arg Leu
 405 410 415

Lys Gln Ser Leu Asp Phe Ala Gln Lys His Asn Val Lys Val Ile Leu
 420 425 430

Asp Leu His Asn Tyr Tyr Arg Tyr Tyr Gly Lys Leu Ile Gly Ser Lys
 435 440 445

Glu Val Pro Ile Ser Ser Phe Ala Ala Val Trp Lys Gln Ile Val Gln
 450 455 460

ES 2 794 837 T3

Gln Val Val Asn His Pro Ala Val Glu Gly Tyr Gly Leu Met Asn Glu
465 470 475 480

Pro His Ser Thr Asn Gly Leu Trp Pro Gln Ala Ala Leu Ala Ala Ala
485 490 495

Gln Ala Ile Arg Thr Val Asp Ser Lys Arg Trp Ile Tyr Val Ala Gly
500 505 510

Asp Arg Trp Ser Ser Ala Phe His Trp Pro His Tyr Asn Thr Gln Leu
515 520 525

Val Thr Asn Pro Trp Met Arg Asp Pro Lys Asn Asn Leu Val Tyr Glu
530 535 540

Ala His Met Tyr Val Asp Lys Asp Phe Ser Gly Asn Tyr Phe Asp Lys
545 550 555 560

Ala Glu Lys Phe Asp Pro Met Ile Gly Val Asn Arg Val Lys Pro Phe
565 570 575

Val Asp Trp Leu Lys Gln His Lys Leu Arg Gly Tyr Ile Gly Glu His
580 585 590

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

Leu Ala Tyr Leu Arg Gln Asn Cys Ile Pro Ser Thr Tyr Trp Ala Ala
610 615 620

Gly Pro Trp Trp Gly Glu Tyr Ala Met Ser Leu Asp Val Ser Ser Gly
625 630 635 640

Lys His Arg Pro Gln Leu Pro Val Leu Gln Lys His Ala Lys Thr Ala
645 650 655

Asn Ser Cys Thr Ser Ile Gly Pro Leu
660 665

<210> 19
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial

5

<220>
<223> Marcador de Has

10

<400> 19

ES 2 794 837 T3

His His His His His His Pro Arg
1 5

5
<210> 20
<211> 27
<212> PRT
<213> *Bacillus clausii*

<400> 20

Met Lys Lys Pro Leu Gly Lys Ile Val Ala Ser Thr Ala Leu Leu Ile
1 5 10 15

10 Ser Val Ala Phe Ser Ser Ser Ile Ala Ser Ala
20 25

15
<210> 21
<211> 795
<212> PRT
<213> *Paenibacillus* sp

20
<220>
<221> mat_peptide
<222> (28)..(795)

<400> 21

Met Lys Lys Pro Leu Gly Lys Ile Val Ala Ser Thr Ala Leu Leu Ile
-25 -20 -15

Ser Val Ala Phe Ser Ser Ser Ile Ala Ser Ala His His His His His
-10 -5 -1 1 5

His Pro Arg Ala Glu Ala Ser Asp Met Phe Asp Glu Leu Arg Glu Lys
10 15 20

Tyr Ala Thr Met Leu Thr Gly Gly Thr Ala Tyr Ser Leu Ser Asp Pro
25 30 35

Asp Ile Ala Ala Arg Val Ala Ser Ile Thr Thr Asn Ala Gln Thr Leu
40 45 50

Trp Thr Ser Met Lys Lys Asp Ala Asn Arg Val Arg Leu Trp Asp Asn
55 60 65

Ala Pro Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ile Thr Thr Ser Tyr Arg Gln
70 75 80 85

Leu Ala Ala Met Ala Leu Ala Tyr Arg Thr Tyr Gly Ser Ser Leu Met
90 95 100

ES 2 794 837 T3

Gly Asp Pro Asp Leu Arg Asp Asp Ile Ile Asp Gly Leu Asp Trp Ile
105 110 115

Asn Thr Phe Gln His Gly Phe Cys Glu Gly Cys Ser Met Tyr Gln Asn
120 125 130

Trp Trp His Trp Gln Ile Gly Gly Pro Ile Ala Leu Asn Glu Val Ile
135 140 145

Ala Leu Met Tyr Asp Glu Leu Thr Gln Thr Gln Ile Asp Ser Tyr Ile
150 155 160 165

Ala Ala Ile Asn Tyr Ala Gln Pro Ser Val Asn Met Thr Gly Ala Asn
170 175 180

Arg Leu Trp Glu Ser Gln Val Ile Ala Leu Ala Gly Ile Asn Gly Lys
185 190 195

Asn Gly Asp Lys Ile Ala His Ala Arg Asp Gly Leu Ser Ala Leu Leu
200 205 210

Thr Tyr Val Val Gln Gly Asp Gly Phe Tyr Glu Asp Gly Ser Phe Val
215 220 225

Gln His Ser Tyr Tyr Ser Tyr Asn Gly Gly Tyr Gly Leu Asp Leu Leu
230 235 240 245

Lys Gly Ile Ala Asp Leu Thr Tyr Leu Leu His Asp Ser Asn Trp Glu
250 255 260

Val Val Asp Pro Asn Lys Gln Asn Ile Phe Asn Trp Val Tyr Asp Ser
265 270 275

Phe Glu Pro Phe Ile Tyr Asn Gly Asn Leu Met Asp Met Val Arg Gly
280 285 290

Arg Glu Ile Ser Arg His Ala Arg Gln Ser Asn Val Val Gly Val Glu
295 300 305

Ala Val Ala Ala Ile Leu Arg Leu Ser His Val Ala Pro Pro Ala Asp
310 315 320 325

Ala Ala Ala Phe Lys Ser Met Val Lys His Trp Leu Gln Glu Gly Gly
330 335 340

Gly Ser Gln Phe Leu Gln Gln Ala Ser Ile Thr His Ile Leu Ser Ala
345 350 355

ES 2 794 837 T3

Gln Asp Val Leu Asn Asp Ser Gly Ile Val Pro Arg Gly Glu Leu Glu
360 365 370

Ala Tyr Arg Gln Phe Ala Gly Met Asp Arg Ala Leu Gln Leu Arg Gln
375 380 385

Gly Tyr Gly Phe Gly Ile Ser Met Phe Ser Ser Arg Ile Gly Gly His
390 395 400 405

Glu Ala Ile Asn Ala Glu Asn Asn Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly
410 415 420

Met Thr Tyr Leu Tyr Asn Asn Asp Leu Ser Gln Phe Asn Asp His Phe
425 430 435

Trp Pro Thr Val Asn Ser Tyr Arg Leu Pro Gly Thr Thr Val Leu Arg
440 445 450

Asp Thr Pro Gln Ala Ala Asn Thr Arg Gly Asp Arg Ser Trp Ala Gly
455 460 465

Gly Thr Asp Met Leu Gly Leu Tyr Gly Ile Thr Gly Met Glu Tyr His
470 475 480 485

Ala Ile Gly Lys Ser Leu Thr Ala Lys Lys Ser Trp Phe Met Phe Asp
490 495 500

Asp Glu Ile Val Ala Leu Gly Ala Asp Ile Thr Ser Gly Asp Gly Val
505 510 515

Ala Val Glu Thr Ile Val Glu Asn Arg Lys Leu Asn Gly Ala Gly Asp
520 525 530

Asn Ser Leu Thr Val Asn Gly Thr Ala Lys Pro Ala Thr Leu Gly Trp
535 540 545

Ser Glu Thr Met Gly Thr Thr Ser Tyr Ala His Leu Gly Gly Ser Val
550 555 560 565

Ala Asp Ser Asp Ile Gly Tyr Tyr Phe Pro Asp Gly Gly Ala Thr Leu
570 575 580

His Ala Leu Arg Glu Ala Arg Thr Gly Asn Trp Arg Gln Ile Asn Ser
585 590 595

Ala Gln Gly Ser Pro Asn Ala Pro His Thr Arg Asn Tyr Leu Thr Met
600 605 610

ES 2 794 837 T3

Trp Leu Glu His Gly Val Asn Pro Ser Asn Gly Ala Tyr Ser Tyr Val
615 620 625

Leu Leu Pro Asn Lys Thr Ser Ala Ala Thr Ala Ser Tyr Ala Ala Ser
630 635 640 645

Pro Asp Ile Thr Ile Ile Glu Asn Ser Ser Ser Ala Gln Ala Val Lys
650 655 660

Glu Asn Gly Leu Asn Met Ile Gly Val Asn Phe Trp Asn Asn Glu Arg
665 670 675

Lys Thr Ala Gly Gly Ile Thr Ser Asn Ala Lys Ala Ser Val Met Thr
680 685 690

Arg Glu Thr Ala Ser Glu Leu Asn Val Ser Val Ser Asp Pro Thr Gln
695 700 705

Ser Asn Val Gly Met Ile Tyr Ile Glu Ile Asp Lys Ser Ala Thr Gly
710 715 720 725

Leu Ile Ala Lys Asp Asp Ala Val Thr Val Leu Gln Tyr Ser Pro Thr
730 735 740

Ile Lys Phe Lys Val Asp Val Asn Lys Ala Arg Gly Lys Ser Phe Lys
745 750 755

Ala Ala Phe Ser Leu Thr Gly Ala Gln Gln Pro
760 765

<210> 22
<211> 1073
5 <212> PRT
<213> *Paenibacillus* sp

<220>
10 <221> mat_peptide
<222> (28)..(1973)

<400> 22

Met Lys Lys Pro Leu Gly Lys Ile Val Ala Ser Thr Ala Leu Leu Ile
-25 -20 -15

Ser Val Ala Phe Ser Ser Ser Ile Ala Ser Ala His His His His His
-10 -5 -1 1 5

His Pro Arg Ala Asp Glu Phe Asp Thr Leu Arg Glu Lys Tyr Lys Ala

ES 2 794 837 T3

Lys Asn Asn Val Tyr Arg Trp Ile Tyr Asp Ser Tyr Glu Pro Phe Ile
 265 270 275

Tyr Lys Gly Asn Leu Met Asp Met Val Arg Gly Arg Glu Ile Ser Arg
 280 285 290

His Gly Leu Gln Asp Asp Lys Ala Ala Val Thr Val Met Ala Ser Ile
 295 300 305

Ile Arg Leu Ser Gln Thr Ala Ala Ser Ala Asp Ala Thr Ala Phe Lys
 310 315 320 325

Arg Met Val Lys Tyr Trp Leu Leu Leu Asp Thr Asp Lys Thr Phe Leu
 330 335 340

Lys Ala Val Ser Ile Asp Leu Ile Ile Ala Ala Asn Gln Leu Val Asn
 345 350 355

Asp Ser Thr Val Thr Ser Arg Gly Glu Leu Val Lys Tyr Lys Gln Phe
 360 365 370

Ser Gly Met Asp Arg Ala Val Gln Leu Arg Pro Gly Phe Gly Phe Gly
 375 380 385

Leu Ser Met Phe Ser Ser Arg Ile Gly Asn Tyr Glu Ser Ile Asn Ala
 390 395 400 405

Glu Asn Asn Lys Gly Trp His Thr Gly Asp Gly Met Thr Tyr Leu Tyr
 410 415 420

Asn Thr Asp Leu Ser Gln Phe Asn Asp His Phe Trp Ala Thr Val Asp
 425 430 435

Asn Tyr Arg Leu Pro Gly Thr Thr Val Leu Gln Asn Thr Thr Gln Thr
 440 445 450

Ala Asn Ser Arg Ser Asp Lys Ser Trp Ala Gly Gly Thr Asp Ile Leu
 455 460 465

Gly Gln Tyr Gly Val Ser Gly Met Glu Leu His Thr Val Gly Lys Ser
 470 475 480 485

Leu Thr Ala Lys Lys Ser Trp Phe Met Phe Asp Asp Glu Ile Val Ala
 490 495 500

Leu Gly Ser Gly Ile Ala Ser Thr Asp Gly Ile Ala Thr Glu Thr Ile
 505 510 515

ES 2 794 837 T3

Val Glu Asn Arg Lys Leu Asn Ser Ser Gly Asn Asn Ala Leu Ile Val
520 525 530

Asn Gly Thr Ala Lys Pro Gly Ser Leu Gly Trp Ser Glu Thr Met Thr
535 540 545

Gly Thr Asn Tyr Ile His Leu Ala Gly Ser Val Pro Gly Ser Asp Ile
550 555 560 565

Gly Tyr Tyr Phe Pro Gly Gly Ala Ala Val Lys Gly Leu Arg Glu Ala
570 575 580

Arg Ser Gly Ser Trp Ser Ser Leu Asn Ser Ser Ala Ser Trp Lys Asp
585 590 595

Ser Thr Leu His Thr Arg Asn Phe Met Thr Leu Trp Phe Asp His Gly
600 605 610

Met Asn Pro Thr Asn Gly Ser Tyr Ser Tyr Val Leu Leu Pro Asn Lys
615 620 625

Thr Ser Ser Ala Val Ala Ser Tyr Ala Ala Thr Pro Gln Ile Ser Ile
630 635 640 645

Leu Glu Asn Ser Ser Ser Ala Gln Ala Val Lys Glu Thr Gln Leu Asn
650 655 660

Val Thr Gly Ile Asn Phe Trp Asn Asp Glu Pro Thr Thr Val Gly Leu
665 670 675

Val Thr Ser Asn Arg Lys Ala Ser Val Met Thr Lys Glu Thr Ala Ser
680 685 690

Asp Phe Glu Ile Ser Val Ser Asp Pro Thr Gln Ser Asn Val Gly Thr
695 700 705

Ile Tyr Ile Asp Val Asn Lys Ser Ala Thr Gly Leu Ile Ser Lys Asp
710 715 720 725

Asn Glu Ile Thr Val Ile Gln Tyr Tyr Pro Thr Met Lys Phe Lys Val
730 735 740

Asn Val Asn Asn Ser Gly Gly Lys Ser Tyr Lys Val Lys Phe Ser Leu
745 750 755

Thr Gly Thr Pro Gly Ser Asn Pro Ser Pro Ile Pro Ile Pro Asn Pro
760 765 770

ES 2 794 837 T3

Tyr Glu Ala Glu Ala Leu Pro Ile Asn Ala Leu Thr Asp Thr Pro Val
 775 780 785
 Val Tyr Asn Asp Ala Asn Ala Ser Gly Gly Lys Lys Leu Gly Phe Asn
 790 795 800 805
 Asn Asn Ala Val Asp Asp Tyr Val Glu Phe Ser Leu Asp Val Thr Gln
 810 815 820
 Pro Gly Thr Tyr Asp Val Lys Ser Arg Ile Met Lys Ser Thr Asn Ser
 825 830 835
 Gly Ile Tyr Gln Leu Ser Ile Asn Gly Thr Asn Val Gly Ser Ala Gln
 840 845 850
 Asp Met Phe Trp Thr Thr Ser Glu Leu Ser Lys Glu Phe Thr Met Gly
 855 860 865
 Ser Tyr Ser Phe Ser Thr Pro Gly Ser Tyr Leu Phe Arg Leu Lys Thr
 870 875 880 885
 Thr Gly Lys Asn Val Ser Ser Ser Gly Tyr Lys Leu Met Leu Asp Asn
 890 895 900
 Phe Ser Leu Val Ser Thr Gly Ile Asp Thr Thr Val Ile Val Asp Asn
 905 910 915
 Ala Asp Ala Ala Gly Val Thr Lys Val Gly Thr Trp Thr Gly Thr Asn
 920 925 930
 Thr Gln Thr Asp Arg Tyr Gly Ala Asp Tyr Ile His Asp Gly Asn Thr
 935 940 945
 Gly Lys Gly Thr Lys Ser Val Thr Phe Thr Pro Asn Val Pro Ile Ser
 950 955 960 965
 Gly Thr Tyr Gln Val Tyr Met Met Trp Ala Ala His Thr Asn Arg Ala
 970 975 980
 Thr Asn Val Pro Val Asp Val Thr His Ser Gly Gly Thr Ala Thr Leu
 985 990 995
 Asn Val Asn Gln Gln Gly Asn Gly Gly Val Trp Asn Leu Leu Gly
 1000 1005 1010
 Thr Tyr Ser Phe Asn Ala Gly Ser Thr Gly Ala Ile Lys Ile Arg

ES 2 794 837 T3

1015 1020 1025
 Thr Asp Ala Thr Asn Gly Tyr Val Val Ala Asp Ala Val Lys Leu
 1030 1035 1040
 Val Lys Val Pro
 1045

5 <210> 23
 <211> 1078
 <212> PRT
 <213> *Paenibacillus* sp

10 <220>
 <221> mat_peptide
 <222> (28)..(1078)

<400> 23

Met Lys Lys Pro Leu Gly Lys Ile Val Ala Ser Thr Ala Leu Leu Ile
 -25 -20 -15

Ser Val Ala Phe Ser Ser Ser Ile Ala Ser Ala His His His His His
 -10 -5 -1 1 5

His Pro Arg Ala Glu Ala Ser Asp Met Phe Asp Glu Leu Arg Glu Lys
 10 15 20

Tyr Ala Thr Met Leu Thr Gly Gly Thr Ala Tyr Ser Leu Ser Asp Pro
 25 30 35

Asp Ile Ala Ala Arg Val Ala Ser Ile Thr Thr Asn Ala Gln Thr Leu
 40 45 50

Trp Thr Ser Met Lys Lys Asp Ala Asn Arg Val Arg Leu Trp Asp Asn
 55 60 65

Ala Pro Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ile Thr Thr Ser Tyr Arg Gln
 70 75 80 85

Leu Ala Ala Met Ala Leu Ala Tyr Arg Thr Tyr Gly Ser Ser Leu Met
 90 95 100

Gly Asp Pro Asp Leu Arg Asp Asp Ile Ile Asp Gly Leu Asp Trp Ile
 105 110 115

Asn Thr Phe Gln His Gly Phe Cys Glu Gly Cys Ser Met Tyr Gln Asn
 120 125 130

ES 2 794 837 T3

Trp Trp His Trp Gln Ile Gly Gly Pro Ile Ala Leu Asn Glu Val Ile
 135 140 145

Ala Leu Met Tyr Asp Glu Leu Thr Gln Thr Gln Ile Asp Ser Tyr Ile
 150 155 160 165

Ala Ala Ile Asn Tyr Ala Gln Pro Ser Val Asn Met Thr Gly Ala Asn
 170 175 180

Arg Leu Trp Glu Ser Gln Val Ile Ala Leu Ala Gly Ile Asn Gly Lys
 185 190 195

Asn Gly Asp Lys Ile Ala His Ala Arg Asp Gly Leu Ser Ala Leu Leu
 200 205 210

Thr Tyr Val Val Gln Gly Asp Gly Phe Tyr Glu Asp Gly Ser Phe Val
 215 220 225

Gln His Ser Tyr Tyr Ser Tyr Asn Gly Gly Tyr Gly Leu Asp Leu Leu
 230 235 240 245

Lys Gly Ile Ala Asp Leu Thr Tyr Leu Leu His Asp Ser Asn Trp Glu
 250 255 260

Val Val Asp Pro Asn Lys Gln Asn Ile Phe Asn Trp Val Tyr Asp Ser
 265 270 275

Phe Glu Pro Phe Ile Tyr Asn Gly Asn Leu Met Asp Met Val Arg Gly
 280 285 290

Arg Glu Ile Ser Arg His Ala Arg Gln Ser Asn Val Val Gly Val Glu
 295 300 305

Ala Val Ala Ala Ile Leu Arg Leu Ser His Val Ala Pro Pro Ala Asp
 310 315 320 325

Ala Ala Ala Phe Lys Ser Met Val Lys His Trp Leu Gln Glu Gly Gly
 330 335 340

Gly Ser Gln Phe Leu Gln Gln Ala Ser Ile Thr His Ile Leu Ser Ala
 345 350 355

Gln Asp Val Leu Asn Asp Ser Gly Ile Val Pro Arg Gly Glu Leu Glu
 360 365 370

Ala Tyr Arg Gln Phe Ala Gly Met Asp Arg Ala Leu Gln Leu Arg Gln
 375 380 385

ES 2 794 837 T3

Gly Tyr Gly Phe Gly Ile Ser Met Phe Ser Ser Arg Ile Gly Gly His
 390 395 400 405

 Glu Ala Ile Asn Ala Glu Asn Asn Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly
 410 415 420

 Met Thr Tyr Leu Tyr Asn Asn Asp Leu Ser Gln Phe Asn Asp His Phe
 425 430 435

 Trp Pro Thr Val Asn Ser Tyr Arg Leu Pro Gly Thr Thr Val Leu Arg
 440 445 450

 Asp Thr Pro Gln Ala Ala Asn Thr Arg Gly Asp Arg Ser Trp Ala Gly
 455 460 465

 Gly Thr Asp Met Leu Gly Leu Tyr Gly Ile Thr Gly Met Glu Tyr His
 470 475 480 485

 Ala Ile Gly Lys Ser Leu Thr Ala Lys Lys Ser Trp Phe Met Phe Asp
 490 495 500

 Asp Glu Ile Val Ala Leu Gly Ala Asp Ile Thr Ser Gly Asp Gly Val
 505 510 515

 Ala Val Glu Thr Ile Val Glu Asn Arg Lys Leu Asn Gly Ala Gly Asp
 520 525 530

 Asn Ser Leu Thr Val Asn Gly Thr Ala Lys Pro Ala Thr Leu Gly Trp
 535 540 545

 Ser Glu Thr Met Gly Thr Thr Ser Tyr Ala His Leu Gly Gly Ser Val
 550 555 560 565

 Ala Asp Ser Asp Ile Gly Tyr Tyr Phe Pro Asp Gly Gly Ala Thr Leu
 570 575 580

 His Ala Leu Arg Glu Ala Arg Thr Gly Asn Trp Arg Gln Ile Asn Ser
 585 590 595

 Ala Gln Gly Ser Pro Asn Ala Pro His Thr Arg Asn Tyr Leu Thr Met
 600 605 610

 Trp Leu Glu His Gly Val Asn Pro Ser Asn Gly Ala Tyr Ser Tyr Val
 615 620 625

 Leu Leu Pro Asn Lys Thr Ser Ala Ala Thr Ala Ser Tyr Ala Ala Ser
 630 635 640 645

ES 2 794 837 T3

Pro Asp Ile Thr Ile Ile Glu Asn Ser Ser Ser Ala Gln Ala Val Lys
650 655 660

Glu Asn Gly Leu Asn Met Ile Gly Val Asn Phe Trp Asn Asn Glu Arg
665 670 675

Lys Thr Ala Gly Gly Ile Thr Ser Asn Ala Lys Ala Ser Val Met Thr
680 685 690

Arg Glu Thr Ala Ser Glu Leu Asn Val Ser Val Ser Asp Pro Thr Gln
695 700 705

Ser Asn Val Gly Met Ile Tyr Ile Glu Ile Asp Lys Ser Ala Thr Gly
710 715 720 725

Leu Ile Ala Lys Asp Asp Ala Val Thr Val Leu Gln Tyr Ser Pro Thr
730 735 740

Ile Lys Phe Lys Val Asp Val Asn Lys Ala Arg Gly Lys Ser Phe Lys
745 750 755

Ala Ala Phe Ser Leu Thr Gly Ala Gln Gln Pro Asn Pro Ala Pro Ile
760 765 770

Pro Ile Pro Asn Pro Tyr Glu Ala Glu Leu Leu Pro Ile Ser Ala Thr
775 780 785

Thr Lys Thr Pro Thr Leu Ser Asn Asp Ser Asn Ala Ser Gly Gly Lys
790 795 800 805

Lys Leu Gly Leu Asn Ser Ser Val Val Gly Asp Tyr Thr Glu Phe Ser
810 815 820

Leu Asp Val Thr Gln Pro Gly Thr Tyr Asp Ile Ala Ala Lys Ile Met
825 830 835

Lys Val Ser Asn Asn Gly Ile Tyr Gln Phe Ser Ile Asn Gly Glu Pro
840 845 850

Val Gly Asp Pro Val Asp Met Tyr Trp Asn Thr Ser Glu Ser Thr Lys
855 860 865

Ser Phe Ser Pro Gly Ser Tyr Thr Phe Ser Glu Pro Gly Ser Tyr Leu
870 875 880 885

Leu Arg Val Thr Val Thr Gly Lys His Pro Ser Ser Ser Gly Tyr Lys

ES 2 794 837 T3

				890						895					900
Leu	Met	Leu	Asp	His	Phe	Thr	Leu	Glu	Glu	Ile	Pro	Val	Ser	Leu	Pro
			905					910					915		
Asn	Pro	Tyr	Glu	Ala	Glu	Thr	Leu	Pro	Ile	His	His	Arg	Thr	Gln	Thr
		920					925					930			
Val	Thr	Ile	Tyr	Asn	Asp	Ser	Asn	Thr	Ser	Gly	Gly	Gln	Arg	Leu	Gly
	935					940					945				
Leu	Asn	His	Lys	Val	Val	Gly	Asp	Tyr	Thr	Glu	Phe	Ile	Leu	Asp	Val
950					955					960					965
Pro	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Asp	Ile	Thr	Ala	Arg	Val	Leu	Lys	Phe	Ser
				970					975					980	
Asp	Asn	Gly	Ile	Tyr	Gln	Phe	Ser	Ile	Asp	Gly	Asn	Pro	Val	Gly	Ala
			985					990					995		
Pro	Ile	Asp	Thr	Tyr	Trp	Asn	Thr	Ala	Gly	Tyr	Ile	Arg	Asp	Phe	
		1000					1005					1010			
Thr	Pro	Gly	Ser	Tyr	Thr	Phe	Ser	Glu	Pro	Gly	Ser	Tyr	Leu	Leu	
		1015					1020					1025			
Arg	Leu	Thr	Ala	Thr	Gly	Lys	Asn	Pro	Ser	Ala	Ser	Gly	Leu	Lys	
		1030					1035					1040			
Ile	Met	Leu	Asp	Tyr	Ile	Trp	Leu	Asp							
		1045					1050								

<210> 24
 <211> 968
 <212> PRT
 <213> *Paenibacillus* sp

5

<220>
 <221> mat_peptide
 <222> (28)..(968)

10

<400> 24

Met	Lys	Lys	Pro	Leu	Gly	Lys	Ile	Val	Ala	Ser	Thr	Ala	Leu	Leu	Ile
		-25					-20					-15			
Ser	Val	Ala	Phe	Ser	Ser	Ser	Ile	Ala	Ser	Ala	His	His	His	His	His
	-10					-5				-1	1				5

ES 2 794 837 T3

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

ES 2 794 837 T3

His Gly Asn Ile Pro Tyr Asn Gly Gly Tyr Gly Leu Asp Leu Leu Leu
 265 270 275
 Ala Val Ser Asp Leu Met Thr Leu Leu His Gly Ser Ala Trp Gln Val
 280 285 290
 Thr Asp Pro Asn Gln Ala Asn Val Trp Glu Trp Val Tyr Arg Ala Tyr
 295 300 305
 Gln Pro Leu Ile Tyr Lys Gly Ala Met Met Asp Met Val Arg Gly Arg
 310 315 320 325
 Glu Ile Ser Arg Val Tyr Arg Gln Asp His Ala Ala Gly His Ile Ala
 330 335 340
 Met Gln Gly Ile Leu Arg Leu Ser Ala Val Ala Pro Pro Ala Gln Ala
 345 350 355
 Glu Asp Phe Lys Arg Met Val Lys Gly Trp Met Val Val Asp Gly Phe
 360 365 370
 Met Arg Phe Tyr Glu Gln Ala Pro Leu Gly Leu Ile Pro Leu Ala Lys
 375 380 385
 Ala Val Glu Gly Asp Ala Ser Ile Ala Pro Ala Ser Glu Leu Ile Gln
 390 395 400 405
 Tyr Arg Gln Tyr Ala Ala Met Asp Arg Ala Val Gln Leu Arg Pro Gly
 410 415 420
 Tyr Gly Phe Gly Leu Ala Met Tyr Ser Ser Arg Ile Gly Ser Phe Glu
 425 430 435
 Ala Ile Asn Ser Glu Asn Leu Arg Gly Trp Tyr Thr Ser Ala Gly Met
 440 445 450
 Thr Ser Leu Tyr Asn Gly Asp Leu Gly His Tyr Ser Glu Asp Tyr Trp
 455 460 465
 Pro Thr Val Asn Ala Tyr Arg Leu Pro Gly Thr Thr Val Leu Ser Gly
 470 475 480 485
 Thr Ala Ala Ala Ser His Thr Ser Pro Asn Asn Trp Thr Gly Gly Thr
 490 495 500
 Asp Met Gln Gly Leu Tyr Gly Val Ser Gly Met Asp Leu Lys Tyr Ala
 505 510 515

ES 2 794 837 T3

Ser Asn Ser Leu Ala Ala Arg Lys Ser Trp Phe Met Phe Asp Asp Glu
520 525 530

Ile Val Ala Leu Gly Ala Gly Ile Ser Ser Ala Asp Gly Ile Pro Val
535 540 545

Glu Thr Ile Ile Glu Asn Arg Arg Ile Gly Gly Ala Gly Asp Asn Ala
550 555 560 565

Phe Leu Ala Asp Gly Ala Ala Met Pro Ala Glu Leu Gly Trp Ser Gly
570 575 580

Thr Leu Glu Gly Val Arg Trp Ala His Leu Thr Gly Thr Ala Ala Gly
585 590 595

Ala Asp Ile Gly Tyr Tyr Phe Pro Glu Pro Ala Ala Val His Ala Val
600 605 610

Arg Glu Ala Arg Thr Gly Asn Trp Arg Gln Ile Asn Asn Arg Pro Val
615 620 625

Thr Pro Ala Ala Ser Val Thr Arg Asn Tyr Leu Thr Phe Trp Phe Asp
630 635 640 645

His Gly Ala Asn Pro Thr Asn Ala Asp Tyr Gln Tyr Val Leu Leu Pro
650 655 660

Asn Lys Ser Gly Ala Gln Val Ala Gly Tyr Ala Ala Asn Pro Asp Val
665 670 675

Glu Val Leu Ala Asn Ser Pro Glu Val Gln Ala Val Lys Glu Ser Ser
680 685 690

Leu Gly Ile Ile Gly Ala Asn Phe Trp Ser Asp Gly Val Arg Thr Val
695 700 705

Asp Leu Ile Thr Val Asn Lys Lys Ala Ser Val Met Thr Arg Glu Thr
710 715 720 725

Pro Gly Ala Ile Leu Asp Leu Ser Val Ser Asp Pro Thr Gln Val Asn
730 735 740

Ala Gly Thr Ile Glu Ile Glu Leu Asn Arg Ala Ala Ser Gly Phe Thr
745 750 755

Ala Asp Pro Gly Val Thr Val Thr Arg Leu Ser Pro Thr Ile Lys Leu

ES 2 794 837 T3

	760		765		770														
	Thr	Val	Gln	Val	Ala	Gly	Ala	Lys	Gly	Arg	Ser	Phe	Lys	Ala	Ser	Phe			
	775						780					785							
	Glu	Leu	Gly	Glu	Ala	Ser	Gly	Pro	Gly	Pro	Asp	Pro	Gly	Pro	Gly	Pro			
	790					795					800								805
	Ser	Glu	Ile	Ile	Val	Asp	Asn	Gly	Asp	Ala	Ala	Gly	Val	Thr	Lys	Ile			
					810					815					820				
	Gly	Ser	Trp	Lys	Thr	Gly	Thr	Val	Gln	Thr	Asp	Arg	Tyr	Gly	Pro	Asp			
				825					830					835					
	Tyr	Leu	His	Asp	Asp	Asn	Thr	Gly	Lys	Gly	Gly	Lys	Ser	Val	Arg	Phe			
			840					845					850						
	Thr	Pro	Asp	Leu	Pro	Thr	Ala	Gly	Thr	Tyr	Asp	Val	Tyr	Met	Met	Trp			
	855						860					865							
	Pro	Gln	His	Phe	Asn	Arg	Ala	Thr	Asn	Ile	Pro	Val	Thr	Ile	Ala	His			
	870					875					880					885			
	Ala	Gly	Gly	Thr	Ala	Thr	Val	Thr	Ile	Asp	Gln	Thr	Val	Ser	Gly	Gly			
					890					895					900				
	Val	Trp	Asn	Tyr	Leu	Gly	Ser	Tyr	Ser	Phe	Asp	Thr	Gly	Ser	Gly	Gly			
				905					910					915					
	Ser	Val	Thr	Ile	Ser	Asn	Ala	Gly	Thr	Asn	Gly	Tyr	Val	Val	Ala	Asp			
			920					925					930						
	Ala	Val	Lys	Phe	Glu	Tyr	Val	Pro											
	935						940												

<210> 25
 <211> 1074
 <212> PRT
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Artificial

10

<400> 25

Met	Leu	Lys	Gln	Gly	Met	Lys	Arg	Trp	Thr	Ser	Val	Cys	Leu	Ala	Ile				
1				5					10					15					
Ile	Met	Phe	Ser	Leu	Thr	Phe	Leu	Asn	Ala	Gly	Thr	Val	Pro	Arg	Ala				
			20					25					30						

ES 2 794 837 T3

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

ES 2 794 837 T3

275	280	285																		
Asn	Lys	Gln	Asn	Ile	Phe	Asn	Trp	Val	Tyr	Asp	Ser	Phe	Glu	Pro	Phe					
290						295					300									
Ile	Tyr	Asn	Gly	Asn	Leu	Met	Asp	Met	Val	Arg	Gly	Arg	Glu	Ile	Ser					
305					310					315					320					
Arg	His	Ala	Arg	Gln	Ser	Asn	Val	Val	Gly	Val	Glu	Ala	Val	Ala	Ala					
				325					330					335						
Ile	Leu	Arg	Leu	Ser	His	Val	Ala	Pro	Pro	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Phe					
			340					345					350							
Lys	Ser	Met	Val	Lys	His	Trp	Leu	Gln	Glu	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Phe					
		355					360					365								
Leu	Gln	Gln	Ala	Ser	Ile	Thr	His	Ile	Leu	Ser	Ala	Gln	Asp	Val	Leu					
	370					375					380									
Asn	Asp	Ser	Gly	Ile	Val	Pro	Arg	Gly	Glu	Leu	Glu	Ala	Tyr	Arg	Gln					
385					390					395					400					
Phe	Ala	Gly	Met	Asp	Arg	Ala	Leu	Gln	Leu	Arg	Gln	Gly	Tyr	Gly	Phe					
				405					410					415						
Gly	Ile	Ser	Met	Phe	Ser	Ser	Arg	Ile	Gly	Gly	His	Glu	Ala	Ile	Asn					
			420					425					430							
Ala	Glu	Asn	Asn	Lys	Gly	Trp	His	Thr	Gly	Ala	Gly	Met	Thr	Tyr	Leu					
		435					440					445								
Tyr	Asn	Asn	Asp	Leu	Ser	Gln	Phe	Asn	Asp	His	Phe	Trp	Pro	Thr	Val					
	450					455					460									
Asn	Ser	Tyr	Arg	Leu	Pro	Gly	Thr	Thr	Val	Leu	Arg	Asp	Thr	Pro	Gln					
465					470					475					480					
Ala	Ala	Asn	Thr	Arg	Gly	Asp	Arg	Ser	Trp	Ala	Gly	Gly	Thr	Asp	Met					
				485					490					495						
Leu	Gly	Leu	Tyr	Gly	Ile	Thr	Gly	Met	Glu	Tyr	His	Ala	Ile	Gly	Lys					
		500						505					510							
Ser	Leu	Thr	Ala	Lys	Lys	Ser	Trp	Phe	Met	Phe	Asp	Asp	Glu	Ile	Val					
		515					520					525								

ES 2 794 837 T3

Ala Leu Gly Ala Asp Ile Thr Ser Gly Asp Gly Val Ala Val Glu Thr
530 535 540

Ile Val Glu Asn Arg Lys Leu Asn Gly Ala Gly Asp Asn Ser Leu Thr
545 550 555 560

Val Asn Gly Thr Ala Lys Pro Ala Thr Leu Gly Trp Ser Glu Thr Met
565 570 575

Gly Thr Thr Ser Tyr Ala His Leu Gly Gly Ser Val Ala Asp Ser Asp
580 585 590

Ile Gly Tyr Tyr Phe Pro Asp Gly Gly Ala Thr Leu His Ala Leu Arg
595 600 605

Glu Ala Arg Thr Gly Asn Trp Arg Gln Ile Asn Ser Ala Gln Gly Ser
610 615 620

Pro Asn Ala Pro His Thr Arg Asn Tyr Leu Thr Met Trp Leu Glu His
625 630 635 640

Gly Val Asn Pro Ser Asn Gly Ala Tyr Ser Tyr Val Leu Leu Pro Asn
645 650 655

Lys Thr Ser Ala Ala Thr Ala Ser Tyr Ala Ala Ser Pro Asp Ile Thr
660 665 670

Ile Ile Glu Asn Ser Ser Ser Ala Gln Ala Val Lys Glu Asn Gly Leu
675 680 685

Asn Met Ile Gly Val Asn Phe Trp Asn Asn Glu Arg Lys Thr Ala Gly
690 695 700

Gly Ile Thr Ser Asn Ala Lys Ala Ser Val Met Thr Arg Glu Thr Ala
705 710 715 720

Ser Glu Leu Asn Val Ser Val Ser Asp Pro Thr Gln Ser Asn Val Gly
725 730 735

Met Ile Tyr Ile Glu Ile Asp Lys Ser Ala Thr Gly Leu Ile Ala Lys
740 745 750

Asp Asp Ala Val Thr Val Leu Gln Tyr Ser Pro Thr Ile Lys Phe Lys
755 760 765

Val Asp Val Asn Lys Ala Arg Gly Lys Ser Phe Lys Ala Ala Phe Ser
770 775 780

ES 2 794 837 T3

Leu Thr Gly Ala Gln Gln Pro Asn Pro Ala Pro Ile Pro Ile Pro Asn
 785 790 795 800
 Pro Tyr Glu Ala Glu Leu Leu Pro Ile Ser Ala Thr Thr Lys Thr Pro
 805 810 815
 Thr Leu Ser Asn Asp Ser Asn Ala Ser Gly Gly Lys Lys Leu Gly Leu
 820 825 830
 Asn Ser Ser Val Val Gly Asp Tyr Thr Glu Phe Ser Leu Asp Val Thr
 835 840 845
 Gln Pro Gly Thr Tyr Asp Ile Ala Ala Lys Ile Met Lys Val Ser Asn
 850 855 860
 Asn Gly Ile Tyr Gln Phe Ser Ile Asn Gly Glu Pro Val Gly Asp Pro
 865 870 875 880
 Val Asp Met Tyr Trp Asn Thr Ser Glu Ser Thr Lys Ser Phe Ser Pro
 885 890 895
 Gly Ser Tyr Thr Phe Ser Glu Pro Gly Ser Tyr Leu Leu Arg Val Thr
 900 905 910
 Val Thr Gly Lys His Pro Ser Ser Ser Gly Tyr Lys Leu Met Leu Asp
 915 920 925
 His Phe Thr Leu Glu Glu Ile Pro Val Ser Leu Pro Asn Pro Tyr Glu
 930 935 940
 Ala Glu Thr Leu Pro Ile His His Arg Thr Gln Thr Val Thr Ile Tyr
 945 950 955 960
 Asn Asp Ser Asn Thr Ser Gly Gly Gln Arg Leu Gly Leu Asn His Lys
 965 970 975
 Val Val Gly Asp Tyr Thr Glu Phe Ile Leu Asp Val Pro Gln Ala Gly
 980 985 990
 Thr Tyr Asp Ile Thr Ala Arg Val Leu Lys Phe Ser Asp Asn Gly Ile
 995 1000 1005
 Tyr Gln Phe Ser Ile Asp Gly Asn Pro Val Gly Ala Pro Ile Asp
 1010 1015 1020
 Thr Tyr Trp Asn Thr Ala Gly Tyr Ile Arg Asp Phe Thr Pro Gly
 1025 1030 1035

ES 2 794 837 T3

Ser Tyr Thr Phe Ser Glu Pro Gly Ser Tyr Leu Leu Arg Leu Thr
1040 1045 1050

Ala Thr Gly Lys Asn Pro Ser Ala Ser Gly Leu Lys Ile Met Leu
1055 1060 1065

Asp Tyr Ile Trp Leu Asp
1070

REIVINDICACIONES

1. Una composición detergente que comprende un polipéptido de la familia de glucosil hidrolasa 5 que tiene actividad degradante de xantano, en donde el polipéptido se selecciona del grupo que consiste en:

(a) un polipéptido que tiene al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 81 %, al menos 82 %, al menos 83 %, al menos 84 %, al menos 85 %, al menos 86 %, al menos 87 %, al menos 88 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de la SEQ ID NO: 6;

(b) un polipéptido codificado por un polinucleótido que tiene al menos 85 %, al menos 86 %, al menos 87 %, al menos 88 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de la SEQ ID NO: 5;

(c) una variante del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 6 que comprende una sustitución, supresión y/o inserción, en donde el número de sustituciones, supresiones y/o inserciones de aminoácidos introducidas en el polipéptido maduro de la SEQ ID NO: 6 es hasta 10, p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10;

(d) un fragmento del polipéptido de (a), (b) o (c) que tiene actividad degradante de xantano; y

(e) un polipéptido que comprende el polipéptido de (a), (b), (c) o (d) y un marcador His N-terminal y/o C-terminal;

(f) un polipéptido que tiene al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 81 %, al menos 82 %, al menos 83 %, al menos 84 %, al menos 85 %, al menos 86 %, al menos 87 %, al menos 88 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 8;

(g) un polipéptido codificado por un polinucleótido que tiene al menos 85 %, al menos 86 %, al menos 87 %, al menos 88 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 7;

(h) una variante del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 8 que comprende una sustitución, supresión y/o inserción en una o más posiciones, en donde el número de sustituciones, supresiones y/o inserciones de aminoácidos introducidas en el polipéptido maduro de las SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 8 es hasta 10, p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10;

(i) un fragmento del polipéptido de (f), (g) o (h) que tiene actividad degradante de xantano; y

(j) un polipéptido que comprende el polipéptido de (f), (g), (h) o (i) y un marcador His N-terminal y/o C-terminal.

2. La composición detergente de la reivindicación 1, teniendo el polipéptido al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad de secuencia con el polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 u 8.

3. La composición detergente de la reivindicación 1 o 2, en donde el polipéptido está codificado por un polinucleótido que tiene al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia codificante del polipéptido maduro de cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 3, 5 o 7.

4. La composición detergente de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el polipéptido es un fragmento de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 4, 6 u 8, en donde el fragmento tiene actividad degradante de xantano.

5. La composición detergente de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende además un polipéptido que tiene actividad xantano liasa.

6. La composición detergente de la reivindicación 5, en donde el polipéptido que tiene actividad xantano liasa es un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21, 22, 23 o 24.

7. La composición detergente según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la composición está en forma de una pastilla, un comprimido homogéneo, un comprimido que tiene dos o más capas, una bolsa que tiene uno o más compartimentos, un polvo regular o compacto, un gránulo, una pasta, un gel o un líquido regular, compacto o concentrado.

8. La composición detergente de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, comprendiendo la composición además una o más enzimas adicionales seleccionadas entre proteasa, lipasa, cutinasa, amilasa, carbohidrasa, celulasa, pectinasa, mananasa, arabinasa, galactanasa, xilanasas, oxidasas, xantanasa, lacasa y/o peroxidasa.

9. La composición detergente de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la composición es una composición de detergente para lavado de ropa o una composición para lavado de vajillas, preferentemente una

composición para lavado de platos a máquina.

10. Uso de una composición detergente según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en un proceso de limpieza.

5 11. El uso según la reivindicación 10, en donde el proceso de limpieza es lavado de ropa.

12. El uso según la reivindicación 11, en donde el proceso de limpieza es limpieza de superficies duras tal como lavado de vajillas.

10 13. Un método para eliminar una mancha de una superficie que comprende poner en contacto la superficie con una composición detergente según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9.

14. Uso de una composición detergente según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para degradar goma de xantano, en donde la composición detergente tiene preferentemente un beneficio de detergencia enzimática.

15 15. Un método para degradar goma de xantano que comprende aplicar una composición detergente según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 a la goma de xantano, en donde la goma de xantano está preferentemente en la superficie de un tejido o de una superficie dura.