



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105960176 A

(43)申请公布日 2016.09.21

(21)申请号 201580007414.X

(74)专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限公司 11322

(22)申请日 2015.02.06

代理人 顾小曼

(30)优先权数据

14154239.9 2014.02.07 EP

14195687.0 2014.12.01 EP

(51)Int.Cl.

A23L 29/30(2016.01)

C12C 7/04(2006.01)

C07K 14/00(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2016.08.05

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2015/052545 2015.02.06

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/118123 EN 2015.08.13

(71)申请人 诺维信公司

地址 丹麦, 鲍斯韦

(72)发明人 福山志朗 绫部圭一

权利要求书2页 说明书25页
序列表52页

(54)发明名称

用于生产葡萄糖糖浆的组合物

(57)摘要

本发明涉及从液化的淀粉制备葡萄糖糖浆的方法,该方法包括:(a)将液化的淀粉与葡糖淀粉酶、普鲁兰酶、和任选地 α -淀粉酶接触,其中表示为NPUN/gDS的普鲁兰酶剂量与表示为FAU(A)/gDS的 α -淀粉酶剂量的比是至少60、具体地是至少75、具体地是至少100、更具体地是至少150、更具体地是至少200、更具体地是至少250、更具体地是至少300、更具体地是至少400、更具体地是至少500、更具体地是至少600、更具体地是至少800,或者如果没有 α -淀粉酶存在,那么该普鲁兰酶以如下剂量存在:至少0.5、具体地是至少0.75、具体地是至少1.0、具体地是至少1.5NPUN/gDS,并且(b)糖化该液化的淀粉。

1. 一种包括 α -淀粉酶、普鲁兰酶和葡糖淀粉酶的组合物,其中该表示为NPUN/g的普鲁兰酶剂量与表示为FAU(A)/g或KNU/g的 α -淀粉酶剂量的比是至少60。

2. 根据权利要求1所述的组合物,其中该表示为NPUN/g的普鲁兰酶剂量与表示为FAU(A)/g或KNU/g的 α -淀粉酶剂量的比是至少75,具体地是至少100、更具体地是至少150、更具体地是至少200、更具体地是至少250、更具体地是至少300、更具体地是至少400、更具体地是至少500、更具体地是至少600、更具体地是至少800。

3. 根据权利要求1或2所述的组合物,其中该表示为NPUN/g的普鲁兰酶剂量与表示为FAU(A)/g或KNU/g的 α -淀粉酶剂量的比是在从60-1000的范围内,更具体地是70-800、更具体地是80-600、更具体地是90-500、更具体地是100-400。

4. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物,其中在表示为NPUN/g的普鲁兰酶和表示为AGU/g的葡糖淀粉酶之间的比是至少2、具体地是至少2.5、具体地是至少3、更具体地是至少3.5、更具体地是至少5、更具体地是至少10、甚至更具体地是至少15。

5. 根据以上权利要求中任一项所述的组合物,其中该 α -淀粉酶选自地衣芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌、黑曲霉或微小根毛霉 α -淀粉酶,该葡糖淀粉酶选自黑曲霉、埃默森篮状菌、瓣环栓菌或密粘褶菌葡糖淀粉酶,并且该普鲁兰酶选自脱支芽孢杆菌或嗜酸性普鲁兰芽孢杆菌普鲁兰酶。

6. 根据权利要求1至4中任一项所述的组合物,其中该葡糖淀粉酶包括/基本上由/由选自下组的氨基酸序列组成,该组由以下各项组成:

i) SEQ ID NO:1、4、6、7、8、9、10、11、12、13、14和15中任一项阐述的氨基酸序列或其成熟多肽;

ii) SEQ ID NO:1、4、6、7、8、9、10、11、12、13、14和15中任一项阐述的氨基酸序列的子序列或其所述成熟多肽;

iii) 氨基酸序列,其与i)和ii)中阐述的氨基酸序列中任一项具有至少70%序列一致性。

7. 根据权利要求1至4和6中任一项所述的组合物,其中该 α -淀粉酶包括/基本上由/由选自下组的氨基酸序列组成,该组由以下各项组成:

i) SEQ ID NO:2、5、19、20、21、22、23、24和25中任一项阐述的氨基酸序列或其成熟多肽;

ii) SEQ ID NO:2、5、19、20、21、22、23、24和25中任一项阐述的氨基酸序列的子序列或其所述成熟多肽;

iii) 氨基酸序列,其与i)和ii)中阐述的氨基酸序列中任一项具有至少70%序列一致性。

8. 根据权利要求1至4、6和7中任一项所述的组合物,其中该普鲁兰酶包括/基本上由/由选自下组的氨基酸序列组成,该组由以下各项组成:

i) SEQ ID NO:3、16、17和18中任一项阐述的氨基酸序列或其成熟多肽;

ii) SEQ ID NO:3、16、17和18中任一项阐述的氨基酸序列的子序列或其所述成熟多肽;

iii) 氨基酸序列,其与i)和ii)中阐述的氨基酸序列中任一项具有至少70%序列一致性。

9. 根据权利要求5至8任一项所述的组合物,其中该组合物包括一种选自如下的葡糖淀

粉酶:SEQ ID NO:1中所披露的葡糖淀粉酶或与SEQ ID NO:1的成熟多肽具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的葡糖淀粉酶,其具有葡糖淀粉酶活性;一种选自如下的 α -淀粉酶:SEQ ID NO:2中所披露的 α -淀粉酶或与SEQ ID NO:2的成熟多肽具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的 α -淀粉酶,其具有 α -淀粉酶活性;以及一种选自如下的普鲁兰酶:SEQ ID NO:3中所披露的普鲁兰酶或与SEQ ID NO:3的成熟多肽具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的普鲁兰酶,其具有普鲁兰酶活性。

10. 根据权利要求5至9任一项所述的组合物,其中该组合物包括一种选自如下的葡糖淀粉酶:SEQ ID NO:4中所披露的葡糖淀粉酶或与SEQ ID NO:4的成熟多肽具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的葡糖淀粉酶,其具有葡糖淀粉酶活性;一种选自如下的 α -淀粉酶:SEQ ID NO:5中所披露的 α -淀粉酶或与SEQ ID NO:5的成熟多肽具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的 α -淀粉酶,其具有 α -淀粉酶活性;以及一种选自如下的普鲁兰酶:SEQ ID NO:3中所披露的普鲁兰酶或与SEQ ID NO:3的成熟多肽具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的普鲁兰酶,其具有普鲁兰酶活性。

11. 一种从液化的淀粉制备葡萄糖糖浆的方法,该方法包括将该液化的淀粉与根据权利要求1-10中任一项所述的组合物接触。

12. 一种从液化的淀粉制备葡萄糖糖浆的方法,该方法包括:(a)将该液化的淀粉与葡糖淀粉酶、普鲁兰酶、和任选地 α -淀粉酶接触,其中该表示为NPUN/gDS的普鲁兰酶剂量与表示为FAU(A)/gDS或KNU/g的 α -淀粉酶剂量的比是至少60、具体地是至少75、具体地是至少100、更具体地是至少150、更具体地是至少200、更具体地是至少250、更具体地是至少300、更具体地是至少400、更具体地是至少500、更具体地是至少600、更具体地是至少800,或者没有 α -淀粉酶存在,那么该普鲁兰酶以如下剂量存在:至少0.5、具体地是至少0.75、具体地是至少1.0、具体地是至少1.5NPUN/gDS,并且(b)糖化该液化的淀粉。

13. 根据权利要求11-12中任一项所述的方法,其中该表示为AGU/gDS的葡糖淀粉酶剂量是至少0.1、具体地是至少0.15、具体地是至少0.18、具体地是至少0.2、更具体地是至少0.22、更具体地是至少0.23、更具体地是至少0.25、甚至更具体地是至少0.28。

14. 根据权利要求11-13中任一项所述的方法,其中该液化的淀粉底物中初始干固体含量(DS)是至少25%、具体地是至少30%、更具体地是至少35%、甚至更具体地是至少40%。

15. 根据权利要求11-14中任一项所述的方法,其中糖化时间是至少24hr、至少30hr、至少36hr、至少48hr、至少54hr、至少60hr、至少72hr。

用于生产葡萄糖糖浆的组合物

[0001] 序列表的引用

[0002] 本申请包括计算机可读形式的序列表,将其通过引用结合在此。

[0003] 发明背景

发明领域

[0004] 本发明涉及包括 α -淀粉酶、普鲁兰酶和葡糖淀粉酶的组合物。此外,本发明涉及产生包括高%DX的葡萄糖浆的方法。

[0005] 相关技术描述

[0006] 淀粉通常由约80%支链淀粉和20%直链淀粉组成。支链淀粉是分支多糖,其中直链 α -1,4D-葡萄糖残基由 α -1,6糖苷键连接。支链淀粉被水解1,4- α -糖苷键以产生支链和直链低聚糖的 α -淀粉酶部分地降解。

[0007] α -淀粉酶在商业上用于各种用途,如在淀粉加工(例如,液化)的初始阶段中。支链淀粉被 α -淀粉酶的延长降解导致所谓的 α -极限糊精的形成, α -极限糊精不易被 α -淀粉酶进一步水解。 α -淀粉酶(1,4- α -D-葡聚糖葡聚糖水解酶,EC 3.2.1.1)构成一组能催化淀粉和其他直链和支链1,4-葡萄糖苷寡-和多糖水解的酶。

[0008] 支链低聚糖可以被去分支酶水解为直链低聚糖。剩余的支链低聚糖可以被葡糖淀粉酶解聚为D-葡萄糖,将直链低聚糖水解为D-葡萄糖。

[0009] 可攻击支链淀粉的去分支酶被分成两类:分别是异淀粉酶(E.C.3.2.1.68)和普鲁兰酶(E.C.3.2.1.41)。异淀粉酶水解支链淀粉和 β -极限糊精中的 α -1,6-D-支链糖苷键,并可通过异淀粉酶不能攻击普鲁兰的特性以及通过它们对于 α -极限糊精的有限作用而与普鲁兰酶相区别。

[0010] 本领域众所周知在淀粉转化过程中添加异淀粉酶或普鲁兰酶。普鲁兰酶是具有普鲁兰6-葡聚糖-水解酶活性(EC3.2.1.41)的淀粉去分支酶,该酶催化普鲁兰中 α -1,6-糖苷键的水解,从而释放具有还原碳水化合物端的麦芽三糖。通常,普鲁兰酶与 α -淀粉酶和/或葡糖淀粉酶组合使用。

[0011] 普鲁兰酶在本领域中是已知的。US 6,074,854和US 5,817,498披露了来自脱支芽孢杆菌(*Bacillus deramificans*)的普鲁兰酶。WO 2009/075682披露了衍生自嗜酸性普鲁兰芽孢杆菌(*Bacillus acidopullulyticus*)的普鲁兰酶。

[0012] 葡糖淀粉酶(1,4- α -D-葡聚糖葡聚糖水解酶,EC 3.2.1.3)是催化从淀粉或相关寡糖和多糖分子的非还原端释放D-葡萄糖的一种酶。葡糖淀粉酶由若干丝状真菌和酵母产生,其中来自曲霉菌属(*Aspergillus*)、篮状菌属(*Talaromyces*)、青霉菌属(*Penicillium*)、和栓菌属(*Trametes*)的那些是在尤其商业上重要的。

[0013] 在商业上,葡糖淀粉酶被用于将已通过 α -淀粉酶和例如,普鲁兰酶,部分地水解的淀粉材料转化成糖浆形式的葡萄糖。

[0014] 在酶处理前,该淀粉材料(如全谷物)可以例如经过碾磨减少粒度,以便展开结构并且允许进一步加工。在干式研磨中,整个谷粒被研磨并且使用。湿磨使胚芽与粗粉(淀粉

颗粒和蛋白质)很好分离并且时常应用于在例如糖浆的生产中使用淀粉水解物的场所。干式和湿式碾磨两者是本领域中众所周知的淀粉加工法并且可以用于本发明的方法中。

[0015] 在研磨后,典型地将淀粉材料进行液化。在 α -淀粉酶,优选细菌 α -淀粉酶和/或酸性真菌 α -淀粉酶的存在下进行液化。

[0016] 在液化过程中, α -淀粉酶将长链淀粉降解为支链以及直链的较短单元(麦芽糊精)。液化可以作为一个三步热浆料方法进行。在70°C-95°C之间,例如80°C-90°C,例如85°C左右,将液化过程进行约10分钟至5小时,典型地是1-2小时。如此处理之后,液化的淀粉将典型地具有10-15的“右旋糖当量”(DE)。

[0017] 通常,液化和液化条件在本领域是熟知的。

[0018] 针对葡萄糖糖浆的生产,将液化的淀粉材料进行糖化。在典型糖化过程中,通过添加葡糖淀粉酶以及去分支酶,如异淀粉酶(美国专利号4,335,208)或普鲁兰酶,来将液化期间产生的麦芽糊精转化成右旋糖。添加葡糖淀粉酶以及去分支酶之前使温度降低至60°C。糖化过程进行24-72小时。在添加糖化酶之前,使pH降低至低于4.5,同时维持高温(高于95°C),以便使液化 α -淀粉酶失活。

[0019] 针对糖浆生产,所使用的酶组合物应至少包括葡糖淀粉酶和普鲁兰酶,然而,通常 α -淀粉酶活性还将存在,例如,当使用黑曲霉葡糖淀粉酶时,来自生产宿主的该黑曲霉 α -淀粉酶还将存在于该组合物中。出人意料地发现,为了达到糖浆的高%DX值,例如,约95%,存在于组合物中的 α -淀粉酶的水平应当小心控制。

[0020] 本发明提供用于生产具有约96%的%DX的高葡萄糖糖浆的组合物和方法。

[0021] 更高DX糖浆的应用如下:生产DMH(右旋糖一水合物)、发酵化学品如有机酸(如柠檬酸、乳酸、等等)或氨基酸(如L-赖氨酸、L-苏氨酸、L-色氨酸、谷氨酸一钠和L-半胱氨酸)、高果糖玉米糖浆、结晶果糖及其他特制糖浆。

[0022] 发明概述

[0023] 在第一方面,本发明涉及包括 α -淀粉酶、普鲁兰酶和葡糖淀粉酶的组合物,其中表示为NPUN/g的普鲁兰酶剂量与表示为FAU(A)/g或KNU/g的 α -淀粉酶剂量的比是至少60。

[0024] 在第二方面,本发明涉及从液化的淀粉制备葡萄糖糖浆的方法,该方法包括:(a)将液化的淀粉与葡糖淀粉酶、普鲁兰酶、和任选地 α -淀粉酶接触,其中表示为NPUN/gDS的普鲁兰酶剂量与表示为FAU(A)/gDS或KNU/gDS的 α -淀粉酶剂量的比是至少60、具体地是至少75、具体地是至少100、更具体地是至少150、更具体地是至少200、更具体地是至少250、更具体地是至少300、更具体地是至少400、更具体地是至少500、更具体地是至少600、更具体地是至少800,或者没有 α -淀粉酶存在,那么该普鲁兰酶以如下剂量存在:至少0.5、具体地是至少0.75、具体地是至少1.0、具体地是至少1.5NPUN/gDS,并且(b)糖化该液化的淀粉。

[0025] 定义

[0026] α -淀粉酶: α -淀粉酶(1,4- α -D-葡聚糖葡聚糖水解酶,E.C.3.2.1.1)是催化淀粉以及其他直链以及支链1,4糖苷键低聚糖以及多糖的水解的一组酶。根据本发明所使用的 α -淀粉酶可以从真菌或细菌来源获得。出于本发明的目的,可以使用材料与方法中所描述的 α -淀粉酶测定,将真菌 α -淀粉酶活性确定为FAU(A)。可以根据以下段落“Kilo Novo α -淀粉酶单位(KNU)(Kilo Novo alpha-amylase Units(KNU))”,将细菌 α -淀粉酶的活性确定为Kilo Novo α -淀粉酶单位(KNU)。

[0027] 酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A)):可按FAU(A)(酸性真菌 α -淀粉酶单位)来测量酸性 α -淀粉酶活性。1个FAU(A)定义为在下表“第一反应,淀粉降解”中所指定的标准条件下每小时降解5.260mg淀粉干物质所需的酶量。

[0028] 酸性 α -淀粉酶,内- α -淀粉酶(1,4- α -D-葡聚糖-葡聚糖水解酶,E.C.3.2.1.1)水解淀粉分子内部区域的 α -1,4-糖苷键以形成具有不同链长度的糊精和寡糖。与碘形成的颜色的强度跟淀粉的浓度成正比。使用反向比色法将酶活性测定为在指定的分析条件下淀粉浓度的减小。

[0029] 根据以下描述确定FAU(A),即酸性 α -淀粉酶活性。该反应的原理是基于两个步骤。在第一步中,该酶酸性 α -淀粉酶水解淀粉成不同低聚糖。在第二步中,碘与淀粉一起形成蓝色复合物,但不与其降解产物形成蓝色复合物。因此,颜色的强度与淀粉的浓度成正比。使用反向比色法在指定分析条件下确定该活性为淀粉浓度的减少。

第一反应, 淀粉降解	
[0030] 底物	淀粉, 大约0.3 g/L
缓冲液	柠檬酸盐, 大约0.05 M
	CaCl ₂ , 1.85 mM
pH	2.50 $\pm$ 0.05
[0031] 孵育温度	37°C
反应时间	180秒
酶工作范围:	0.01-0.04 FAU(A)/mL
第二反应, 淀粉碘络合物	
碘	0.0432 g/L
[0032] 孵育温度	37°C
反应时间	60秒
波长	600 nm

[0033] Kilo Novo α -淀粉酶单位(KNU)

[0034] 可采用马铃薯淀粉作为底物来确定细菌 α -淀粉酶活性。该方法基于溶液中的淀粉通过淀粉酶的分解以及在碘存在下淀粉给出蓝黑色颜色。当酶反应进行时,提取该反应的等分试样并且针对其淀粉含量通过与碘溶液混合来分析。当淀粉分解时,在碘存在下,蓝黑色颜色变淡并且逐渐变成红褐色颜色。将其与有色的玻璃标准相比较。当该颜色匹配玻璃标准时,到达终点。

[0035] 将一个Kilo Novo α -淀粉酶单位(KNU)定义为在如下“KNU”表中定义的标准条件下(即,在37°C $\pm$ 0.05;0.0003M Ca²⁺;和pH 5.6下)糊精化5260mg/小时淀粉干物质,例如,Merck可溶性淀粉的酶量。

[0036]	KNU	
	温度	37°C ± 0.05°C
	pH	5.6
	底物浓度	4.63 mg 干重/mL
	反应时间	7-20 min, 长达1 hr
	Ca ²⁺ 浓度	针对包含2 mL样品溶液的反应混合物, 约0.0003 M

[0037] 普鲁兰酶: 术语“普鲁兰酶”意指是具有支链淀粉6-葡聚糖-水解酶活性(EC 3.2.1.41)的淀粉去分支酶, 该酶催化支链淀粉中 α -1,6-糖苷键的水解, 从而释放具有还原碳水化合物端的麦芽三糖。出于本发明的目的, 根据材料与方法中和以下段落中所述的程序, 将普鲁兰酶活性确定为NPUN。

[0038] 普鲁兰酶活性(NPUN): 该NPUN(诺维信新普鲁兰酶单位(New Pullulanase Unit Novozymes))是在以下程序中所测量的内切普鲁兰酶活性的单位。

[0039] 1NPUN=一个普鲁兰酶单位(NPUN)定义为酶量, 该酶量在下表“第一反应, 普鲁兰降解”中所指定的标准条件下每分钟释放相当于0.35 μ mol葡萄糖还原端。

[0040] 在第一反应中, 该底物在主要样品和空白样品中同样存在。然而, 在pH5.0下进行主要样品的反应, 同时在pH 9.6下在空白样品中不存在反应, 其中普鲁兰酶或淀粉葡糖苷酶(葡糖淀粉酶)都不具有酶活性。

[0041]

第一反应, 普鲁兰降解

底物	BH4还原的普鲁兰, 5.3 g/L
缓冲液 (主要)	乙酸盐, 大约0.1 M EDTA, 5.3 mM 阿卡波糖, 0.018% (如果样品包含葡糖淀粉酶)
pH (主要)	5.0
缓冲液 (空白)	CHES, 42 mM 乙酸盐, 17 mM EDTA, 5.3 mM
pH (空白)	9.6
孵育温度	50°C
反应时间	540秒
酶工作范围:	0.03-0.15 NPUN/mL

[0042] 在第二反应中, 将该pH调整到约9.6, 并且将样品中的葡萄糖通过葡糖激酶磷酸化成非还原的D-葡萄糖-6-磷酸盐, 其在这个范围具有最佳的活性和稳定性并且在pH 9下对葡萄糖具有特异性(参考高厄德(Goward), 生物化学杂志(Biochem.J.)1986, 237, 第415-420页)。该步骤取决于主要样品和空白样品中的相同pH, 以在二者中去除等量的葡萄糖。

[0043]

第二反应，背景葡萄糖消除

底物	样品中的葡萄糖，在第一反应后
缓冲液	CHES, 58 mM (主要) 或76 mM (空白) 乙酸盐, 43 mM (主要) 或7.2 mM (空白) EDTA, 2.2 mM ATP, 1.11 mg/ml MgCl ₂ , 4.4 mM
葡糖激酶	0.11 U/ml
pH	约9.6
孵育温度	50°C

[0044]

反应时间 720秒

[0045] 葡糖淀粉酶:(1,4- α -D-葡聚糖葡萄糖水解酶, EC 3.2.1.3)被定义为催化D-葡萄糖从淀粉或相关寡糖和多糖分子的非还原端释放的一种酶。出于本发明的目的,根据材料与方法中和以下段落中所述的程序,将葡糖淀粉酶活性确定为AGU。

[0046] 葡糖淀粉酶活性(AGU):将该葡糖淀粉酶单位(AGU)定义为酶的量,该酶的量每分钟在0.1M乙酸盐缓冲液中,在37°C孵育温度、4.3的pH、100mM的麦芽糖起始浓度、以及6分钟的反应时间下,水解1微摩尔麦芽糖,从而产生 α -D-葡萄糖。该定义适用于0.5-4.0AGU/mL的酶工作范围。

[0047] 在孵育后,该反应可以使用NaOH来停止,并且使用以下两步显色反应方法测量葡萄糖的量:在由己糖激酶催化的反应中,葡萄糖是通过ATP进行磷酸化。形成的葡萄糖-6-磷酸被葡萄糖-6-磷酸脱氢酶氧化成6-磷酸葡萄糖酸。在这个相同的反应中,等摩尔量的NAD⁺被还原成NADH,导致在340nm处的吸光度增加。

[0048] 反应条件如下表中所指定的:

[0049]	显色反应	
	Tris	约35 mM
	ATP	0.7 mM
	NAD ⁺	0.7 mM
	Mg ²⁺	1.8 mM
	己糖激酶	> 850 U/L
	葡萄糖-6-P-DH	> 850 U/L
	pH	约7.8
	温度	37.0°C $\pm$ 1.0°C
	反应时间	420秒
	波长	340 nm

[0050] 聚合度(DP):DP是指给出的糖中脱水吡喃葡萄糖单元的数量。DP1的实例是单糖,

如葡萄糖和果糖。DP2是二糖,如麦芽糖和蔗糖。

[0051] 宿主细胞:术语“宿主细胞”意指易于用包括本发明的多核苷酸的核酸构建体或表达载体转化、转染、转导等的任何细胞类型。术语“宿主细胞”涵盖由于复制期间发生的突变而与亲本细胞不同的亲本细胞的任何后代。

[0052] 成熟多肽:术语“成熟多肽”意指在翻译和任何翻译后修饰如N-末端加工、C-末端截短、糖基化作用、磷酸化作用等之后处于其最终形式的多肽。根据一些实施例,SEQ ID NO:6的成熟多肽基本上由SEQ ID NO:6的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:7的成熟多肽基本上由SEQ ID NO:7的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:8的成熟多肽基本上由SEQ ID NO:8的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:5的成熟多肽基本上由SEQ ID NO:9的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:10的成熟多肽基本上由SEQ ID NO:10的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:11的成熟多肽基本上由SEQ ID NO:11的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:12的成熟多肽基本上由SEQ ID NO:12的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:13的成熟多肽基本上由SEQ ID NO:13的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:14的成熟多肽基本上由SEQ ID NO:14的氨基酸18至573组成。

[0053] 具体地而言,SEQ ID NO:6的成熟多肽可以由SEQ ID NO:6的氨基酸18至573组成。

[0054] SEQ ID NO:7的成熟多肽可以由SEQ ID NO:7的氨基酸18至573组成。

[0055] SEQ ID NO:8的成熟多肽可以由SEQ ID NO:8的氨基酸18至573组成。

[0056] SEQ ID NO:9的成熟多肽可以由SEQ ID NO:9的氨基酸18至573组成。

[0057] SEQ ID NO:10的成熟多肽可以由SEQ ID NO:10的氨基酸18至573组成。

[0058] SEQ ID NO:11的成熟多肽可以由SEQ ID NO:11的氨基酸18至573组成。

[0059] SEQ ID NO:12的成熟多肽可以由SEQ ID NO:12的氨基酸18至573组成。

[0060] SEQ ID NO:13的成熟多肽可以由SEQ ID NO:13的氨基酸18至576组成。

[0061] SEQ ID NO:14的成熟多肽可以由SEQ ID NO:14的氨基酸18至576组成。

[0062] 在另外的实施例中,SEQ ID NO:6的成熟多肽由SEQ ID NO:6的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:7的成熟多肽由SEQ ID NO:7的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:8的成熟多肽由SEQ ID NO:8的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:9的成熟多肽由SEQ ID NO:9的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:10的成熟多肽由SEQ ID NO:10的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:11的成熟多肽由SEQ ID NO:11的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:12的成熟多肽由SEQ ID NO:12的氨基酸18至573组成,SEQ ID NO:13的成熟多肽由SEQ ID NO:13的氨基酸18至573组成,并且SEQ ID NO:14的成熟多肽由SEQ ID NO:14的氨基酸18至573组成。

[0063] 成熟多肽序列的预测可以基于SignalP程序(尼耳森(Nielsen)等人,1997,蛋白质工程(Protein Engineering)10:1-6),该程序预测SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的氨基酸1至17是信号肽。由SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、或SEQ ID NO:12的氨基酸19至474(具体地19至471)或者SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14的氨基酸19至471所定义的序列是催化结构域。由SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、或SEQ ID NO:12的氨基酸480至573或者SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14的氨基酸483至576所定义的序列是淀粉结合结构域。

[0064] 根据其他实施例,SEQ ID NO:18的成熟多肽是由SEQ ID NO:18的氨基酸22至450所定义的。

[0065] 在另外的实施例中,SEQ ID NO:19的成熟多肽是由SEQ ID NO:19的氨基酸22-471所定义的,然而氨基酸1-21是信号肽。

[0066] 序列一致性:用参数“序列一致性”来描述两个氨基酸序列之间或两个核苷酸序列之间的相关性。

[0067] 出于本发明的目的,使用如在EMBOSS包(EMBOSS:欧洲分子生物学开放软件套件,赖斯(Rice)等人,2000,遗传学趋势(Trends Genet.)16:276-277)(优选5.0.0版或更新版本)的尼德尔程序中所实施的尼德尔曼-翁施算法(尼德尔曼(Needleman)和翁施(Wunsch),1970,分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)48:443-453)来确定两个氨基酸序列之间的序列一致性。所使用的参数是空位开放罚分10,空位延伸罚分0.5,以及EBLOSUM62(BLOSUM62的EMBOSS版本)取代矩阵。尼德尔标注的“最长的一致性”的输出(使用-非简化选项获得)被用作百分比一致性,并且计算如下:

[0068] $(\text{一致的残基} \times 100) / (\text{比对长度} - \text{比对中的空位总数})$

[0069] 出于本发明的目的,使用如在EMBOSS包(EMBOSS:欧洲分子生物学开放软件套件,赖斯等人,2000,同上)(优选5.0.0版或更新版本)的尼德尔程序中所实施的尼德尔曼-翁施算法(尼德尔曼和翁施,1970,同上)来确定两个脱氧核糖核苷酸序列之间的序列一致性。所使用的参数是空位开放罚分10,空位延伸罚分0.5,以及EDNAFULL(NCBI NUC4.4的EMBOSS版)取代矩阵。尼德尔标注的“最长的一致性”的输出(使用-非简化选项获得)被用作百分比一致性,并且计算如下:

[0070] $(\text{一致的脱氧核糖核苷酸} \times 100) / (\text{比对长度} - \text{比对中的空位总数})$

[0071] 本发明详细说明

[0072] 本发明涉及用于生产高葡萄糖糖浆的方法和组合物。具体地而言,葡萄糖糖浆具有高于95%的%DX(%DP1)值。

[0073] 出人意料地发现,为了达到糖浆的高%DX值,例如,约95%,存在于组合物中的 α -淀粉酶的水平应当小心控制。

[0074] 根据本发明所述的方法和组合物提供了具有较高%DX的葡萄糖糖浆,当优化 α -淀粉酶水平时,这样使得在NPUN与AGU的既定比例下,将NPUN/FAU(A)或NPUN/KNU调整为至少60,具体地是至少80。该高%DX糖浆能以工业相关的底物浓度-典型地大于30%初始干固体含量(DS)获得。

[0075] 在一个实施例中,本发明涉及从液化的淀粉制备葡萄糖糖浆的方法,该方法包括:(a)将液化的淀粉与葡糖淀粉酶、普鲁兰酶、和任选地 α -淀粉酶接触,其中表示为NPUN/gDS的普鲁兰酶剂量与表示为FAU(A)/gDS或KNU/gDS的 α -淀粉酶剂量的比是至少60、具体地是至少75、具体地是至少100、更具体地是至少150、更具体地是至少200、更具体地是至少250、更具体地是至少300、更具体地是至少400、更具体地是至少500、更具体地是至少600、更具体地是至少800,或者没有 α -淀粉酶存在,那么该普鲁兰酶以如下剂量存在:至少0.5、具体地是至少0.75、具体地是至少1.0、具体地是至少1.5NPUN/gDS,并且(b)糖化该液化的淀粉。

[0076] 在一些实施例中,该方法包括将该液化的淀粉与葡糖淀粉酶、普鲁兰酶、和任选地 α -淀粉酶接触,其中表示为NPUN/gDS的普鲁兰酶剂量与表示为FAU(A)/gDS或KNU/gDS的 α -

淀粉酶剂量的比在100-700的范围内,如在200-600的范围内,如在300-500的范围内,如在350-500的范围内,如在375-475的范围内,或如在400-450的范围内。

[0077] 根据其他实施例,该方法包括将该液化的淀粉与葡糖淀粉酶、普鲁兰酶、和任选地 α -淀粉酶接触,其中该 α -淀粉酶的剂量是在0-0.008FAU(A)/gDS的范围内,并且该普鲁兰酶的剂量是在0.5-1.5NPUN/gDS的范围内。

[0078] 在其他实施例中,该 α -淀粉酶的剂量是在0-0.007FAU(A)/g DS的范围内,并且该普鲁兰酶的剂量是在0.6-1.4NPUN/g DS的范围内。在其他实施例中,该 α -淀粉酶的剂量是在0-0.006FAU(A)/gDS的范围内,并且该普鲁兰酶的剂量是在0.7-1.3NPUN/gDS的范围内。

[0079] 在其他实施例中,该 α -淀粉酶的剂量是在0-0.005FAU(A)/gDS的范围内,并且该普鲁兰酶的剂量是在0.75-1.25NPUN/gDS的范围内。

[0080] 在其他实施例中,该 α -淀粉酶的剂量是在0-0.004FAU(A)/gDS的范围内,并且该普鲁兰酶的剂量是在0.8-1.2NPUN/gDS的范围内。

[0081] 在其他实施例中,该 α -淀粉酶的剂量是在0-0.003FAU(A)/gDS的范围内,并且该普鲁兰酶的剂量是在0.9-1.1NPUN/gDS的范围内。

[0082] 在其他实施例中,该 α -淀粉酶的剂量是在0-0.0025FAU(A)/g DS的范围内,并且该普鲁兰酶的剂量是在0.95-1NPUN/g DS的范围内。

[0083] 在表示为NPUN/gDS的普鲁兰酶和表示为AGU/gDS的葡糖淀粉酶之间的比可以具体地是在2-15的范围内,如在2-10的范围内,在2-5的范围内,在3-5的范围内或在3.5-4的范围内。

[0084] 根据其他实施例,该方法包括将该液化的淀粉与葡糖淀粉酶、普鲁兰酶、和任选地 α -淀粉酶接触,其中该普鲁兰酶的剂量是在0.5-1.5NPUN/gDS的范围内,并且该葡糖淀粉酶的剂量是在0.125-0.375AGU/gDS的范围内。

[0085] 在其他实施例中,该普鲁兰酶的剂量是在0.6-1.4NPUN/gDS的范围内,并且该葡糖淀粉酶的剂量是在0.15-0.35AGU/gDS的范围内。

[0086] 在其他实施例中,该普鲁兰酶的剂量是在0.7-1.3NPUN/gDS的范围内,并且该葡糖淀粉酶的剂量是在0.175-0.325AGU/gDS的范围内。

[0087] 在其他实施例中,该普鲁兰酶的剂量是在0.8-1.2NPUN/gDS的范围内,并且该葡糖淀粉酶的剂量是在0.2-0.3AGU/gDS的范围内。

[0088] 在低水平的葡糖淀粉酶下,可能需要更长的糖化时间。在一个实施例中,该表示为AGU/gDS的葡糖淀粉酶剂量是至少0.1、具体地是至少0.15、具体地是至少0.18、具体地是至少0.2、更具体地是至少0.22、更具体地是至少0.23、更具体地是至少0.25、甚至更具体地是至少0.28。

[0089] 使用根据本发明的方法和组合物,可以获得非常高%DX值。在一个具体的实施例中,该葡萄糖糖浆包括如下的DP1(%DX):至少95.8%、具体是至少95.9%、具体是至少96%、更具体是至少96.1%。

[0090] 糖化时间可以取决于酶剂量而变化。在一个具体实施例中,该糖化时间是至少24hr、至少30hr、至少36hr、至少48hr、至少54hr、至少60hr、至少72hr。

[0091] 在根据本发明的方法中,该淀粉水解/糖化可以具体发生在3.5-5.0范围内的pH(如在4.0-4.5范围内的pH)下、和在59℃-70℃范围内的温度(如在59℃-65℃范围内或如在

59℃-62℃范围内)下。

[0092] 针对根据本发明的糖化方法,该用作底物的液化的淀粉可以是淀粉浆料或部分地水解的淀粉(液化物或麦芽糊精)。具体地而言,该淀粉浆料或部分水解的淀粉可以具有在5-42范围内的右旋糖当量(DE),如在5-30范围内、在8-18范围内或如在9-14范围内。

[0093] 该淀粉可以来自任何来源,具体地是来自玉米、小麦或木薯。该淀粉浆料或部分水解的淀粉可以具有来自存在的液化过程的剩余的 α -淀粉酶活性,或者可以将其失活,如通过将pH降低至低于4.5,同时维持高温(高于95℃),来失活该液化的 α -淀粉酶。

[0094] 所述的淀粉浆料或部分水解的淀粉的电导率可以具体地是在0-500microS/cm/cm范围内。根据一些实施例,该钙含量对应于0-200ppm游离钙。

[0095] 在根据本发明的方法中,该淀粉水解/糖化可以具体发生在3.5-5.0范围内的pH(如在4.0-4.7范围内的pH)下、和在58℃-70℃范围内的温度(如在58℃-65℃范围内、在59℃-65℃范围内或如在59℃-62℃范围内)下。

[0096] 作为起始材料提供的包括液化的淀粉的组合物,即,包括提供于本方法步骤i)中的液化的淀粉的组合物可以包含从25%-45%干固体(%DS),如从25%-40%DS。

[0097] 根据本发明的方法在工业相关底物剂量下是适用的。在一个实施例中,该液化的淀粉底物中初始干固体含量(DS)是至少25%、具体地是至少30%、更具体地是至少35%、甚至更具体地是至少40%。

[0098] 酶组合物

[0099] 本发明还涉及包括葡糖淀粉酶、普鲁兰酶和 α -淀粉酶的组合物。

[0100] 在一个具体的实施例中,该组合物包括 α -淀粉酶、普鲁兰酶和葡糖淀粉酶,其中该表示为NPUN/g的普鲁兰酶剂量与达为FAU(A)/g或KNU/g的 α -淀粉酶剂量的比是至少60。

[0101] 更具体地,该组合物包括 α -淀粉酶、普鲁兰酶和葡糖淀粉酶,其中该表示为NPUN/g的普鲁兰酶剂量与表示为FAU(A)/g或KNU/g的 α -淀粉酶剂量的比是至少75,具体地是至少100、更具体地是至少150、更具体地是至少200、更具体地是至少250、更具体地是至少300、更具体地是至少400、更具体地是至少500、更具体地是至少600、更具体地是至少800。

[0102] 在另一个实施例中,该表示为NPUN/g的普鲁兰酶剂量与表示为FAU(A)/g或KNU/g的 α -淀粉酶剂量的比是在从60-1000的范围内,更具体地是70-800、更具体地是80-600、更具体地是90-500、更具体地是100-400。

[0103] 该表示为NPUN/g的普鲁兰酶剂量与表示为FAU(A)/g或KNU/g的 α -淀粉酶剂量的比可以具体地在100-700的范围内,如在200-600的范围内,如在300-500的范围内,如在350-500的范围内,如在375-475的范围内,或如在400-450的范围内。

[0104] 在另一方面,本发明涉及一种组合物,其中在表示为NPUN/g的普鲁兰酶和表示为AGU/g的葡糖淀粉酶之间的比是至少2、具体地是至少2.5、具体地是至少3、更具体地是至少3.5、更具体地是至少5、更具体地是至少10、甚至更具体地是至少15。

[0105] 在表示为NPUN/g的普鲁兰酶和表示为AGU/g的葡糖淀粉酶之间的比可以具体地是在2-15的范围内,如在2-10的范围内,在2-5的范围内,在3-5的范围内或在3.5-4的范围内。

[0106] 普鲁兰酶

[0107] 可以在本发明的方法中使用任何普鲁兰酶。在一个实施例中,该普鲁兰酶是一种来自脱支芽孢杆菌的普鲁兰酶,例如,US 6,074,854和US 5,817,498中所披露的,或者是衍

生自嗜酸性普鲁兰芽孢杆菌的普鲁兰酶,例如,W02009/075682中所披露的(SEQ ID 4; GENESEQP:AXB71624)。

[0108] 可商购的普鲁兰酶包括可以从诺维信公司,巴格斯瓦德,丹麦获得的Promozyme D2、Novozym 26062(诺维信公司)和Optimax L 1000(杜邦-杰能科公司)。

[0109] 葡糖淀粉酶

[0110] 根据本发明所使用的葡糖淀粉酶可以来源于任何适合的来源,例如来源于微生物或植物。优选的葡糖淀粉酶是真菌或细菌起源的,选自下组,该组由以下各项组成:曲霉属葡糖淀粉酶,特别是黑曲霉G1或G2葡糖淀粉酶(博埃尔(Boel)等人,1984,欧洲分子生物学学会杂志3(5):1097-1102),或其变体,例如披露于W0 92/00381、W0 00/04136和W0 01/04273中的那些(来自诺维信,丹麦);披露于W0 84/02921中的泡盛曲霉葡糖淀粉酶,米曲霉葡糖淀粉酶(农业、生物学与化学(Agric.Biol.Chem.),1991,55(4):941-949),或其变体或片段。其他曲霉属葡糖淀粉酶变体包括具有增强的热稳定性的变体:G137A和G139A(陈(Chen)等人,1996,蛋白质工程(Prot.Eng.)9:499-505);D257E和D293E/Q(陈等人,1995,蛋白质工程8:575-582);N182(陈等人,1994,生物化学杂志(Biochem.J.)301:275-281);二硫键,A246C(费艾洛伯(Fierobe)等人,1996,生物化学(Biochemistry)35:8698-8704);以及在位置A435和S436中引入Pro残基(李(Li)等人,1997,蛋白质工程(Protein Eng.)10:1199-1204)。

[0111] 其他葡糖淀粉酶包括罗耳阿太菌(以前命名为罗尔伏革菌)葡糖淀粉酶(参见美国专利号4,727,026和长坂(Nagasaka)等人,1998,“来自罗尔伏革菌的生淀粉降解葡糖淀粉酶的纯化和特性”(“Purification and properties of the raw-starch-degrading glucoamylases from *Corticium rolfsii*”)应用微生物学与生物技术(Appl.Microbiol.Biotechnol.)50:323-330),篮状菌属葡糖淀粉酶,特别是来源于埃默森篮状菌(W0 99/28448)、*Talaromyces leycettanus*(美国专利登记号32,153)、和*Talaromyces duponti*、以及嗜热篮状菌(美国专利号4,587,215)。

[0112] 考虑的真菌葡糖淀粉酶包括瓣环栓菌,披露于W0 2006/069289中。

[0113] 在一个实施例中,该葡糖淀粉酶来源于密孔菌属的菌株,具体地如W02011/066576中所描述的密孔菌属菌株(SEQ ID NO 2、4或6);或来源于褐褶菌属的菌株,具体地如W0 2011/068803中所描述的褐褶菌属的菌株(SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、14或16)或黑层孔属的菌株,具体地如W02012/064351中所披露的黑层孔属的菌株(SEQ ID NO:2)(所有参考文献通过引用并入本文)或青霉属菌株,具体地是W0 2011/127802(SEQ ID NO:2)或W0 2013/036526中所披露的草酸青霉菌。还考虑了以下葡糖淀粉酶,该葡糖淀粉酶展现与上述葡糖淀粉酶的任一种的高一致性,即,与上述酶序列的成熟部分中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、例如100%的一致性。

[0114] 在一个实施例中,该葡糖淀粉酶来源于木霉属的菌株,具体地是如W02009/048487、W0 2009/048488、W0 2008/045489、W0 2011/022465、W02012/001139中所描述的。

[0115] 可商购的葡糖淀粉酶组合物包括AMG 200L;AMG 300L;SANTMSUPER,SANTMEXTRA L, SPIRIZYMETMPLUS,SPIRIZYMETMFUEL,SPIRIZYMETMB4U,SPIRIZYME ULTRATM,SPIRIZYME EXCELTM和AMGTME(来自诺维信公司,丹麦);OPTIDEXTM300,GC480TM和GC147TM(来自杰能科国

际公司(Genencor Int.),美国);AMIGASE™和AMIGASE™PLUS(来自DSM);G-ZYME™G900,G-ZYME™和G990ZR(来自杜邦-杰能科公司)。

[0116] α-淀粉酶

[0117] 真菌α-淀粉酶包括来源于曲霉属的菌株的α-淀粉酶,诸如米曲霉、黑曲霉和白曲霉(*Aspergillus kawachii*)α-淀粉酶。

[0118] 优选的酸性真菌α-淀粉酶是一种真菌淀粉样(Fungamyl-like)的α-淀粉酶,该α-淀粉酶来源于米曲霉菌株。根据本发明,术语“真菌淀粉样α-淀粉酶”指与W0 96/23874中SEQ ID NO:10中示出的氨基酸序列的成熟部分呈现高一致性的α-淀粉酶,即多于70%、多于75%、多于80%、多于85%、多于90%、多于95%、多于96%、多于97%、多于98%、多于99%或甚至100%的一致性。

[0119] 另一种优选的酸性α-淀粉酶是来源于黑曲霉菌株。在一个优选实施例中,酸性真菌α-淀粉酶是来自在Swiss-prot/TrEMBL数据库中在主入藏号P56271下披露为“AMYA_ASPNG”并且在W0 89/01969(实例3)中进行描述的黑曲霉的α-淀粉酶。

[0120] 其他考虑到的野生型α-淀粉酶包括那些来源于根毛霉属和多孔菌属(*Meripilus*)的菌株,优选微小根毛霉(通过引用并入的W0 2004/055178)或大型多孔菌(*Meripilus giganteus*)的菌株。

[0121] 在一个优选实施例中,α-淀粉酶是来源于白曲霉并且是由金子(Kaneko)等人,1996,发酵与生物工程杂志(J.Ferment.Bioeng.)81:292-298:“编码来自白曲霉的酸稳定的α-淀粉酶的一种基因的核苷酸序列的分子克隆和测定(Molecular-cloning and determination of the nucleotide-sequence of a gene encoding an acid-stable alpha-amylase from *Aspergillus kawachii*)”所披露;并且进一步被披露为EMBL:#AB008370。

[0122] 该真菌α-淀粉酶还可以是一种包含淀粉结合结构域(SBD)和α-淀粉酶催化结构域的野生型酶(即,非杂合体)或其变体。在一个实施例中,该野生型α-淀粉酶来源于一种白曲霉菌株。

[0123] 真菌杂合α-淀粉酶

[0124] 在一个优选的实施例中,该α-淀粉酶是真菌酸性α-淀粉酶是杂合α-淀粉酶。真菌杂合α-淀粉酶的优选的实例包括W0 2005/003311或美国申请公开案号2005/0054071(诺维信公司)或美国申请号60/638,614(诺维信公司)(特此通过引用结合)中所披露的α-淀粉酶。杂合α-淀粉酶可以包括α-淀粉酶催化结构域(CD)和糖结合域/模块(CBM),例如淀粉结合域和任选的接头。

[0125] 考虑的杂合α-淀粉酶的具体实例包括披露于美国申请号60/638,614中的实例的表1至5中的那些,包括具有催化结构域JA118和罗耳阿太菌(*Athelia rolfsii*)SBD的真菌淀粉酶变体(US 60/638,614中的SEQ ID NO:100)、具有罗耳阿太菌AMG接头和SBD的微小根毛霉α-淀粉酶(US 60/638,614中的SEQ ID NO:101)、具有黑曲霉葡糖淀粉酶接头和SBD的微小根毛霉α-淀粉酶(将其在美国申请号11/316,535的表5中披露为氨基酸序列SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:72和SEQ ID NO:96的组合)或作为W0 2006/069290的表5中的V039、以及具有罗耳阿太菌葡糖淀粉酶接头和SBD的大型亚灰树花菌α-淀粉酶(美国申请号60/638,614中的SEQ ID NO:102)。其他确切考虑的杂合α-淀粉酶是列于美国申请号11/316,535和

WO 2006/069290(通过引用结合在此)中的实例4中的表3、4、5和6中的任何 α -淀粉酶。

[0126] 考虑的杂合 α -淀粉酶的其他具体实例包括披露于美国专利申请号2005/0054071中的那些,包括披露于15页表3中的那些,例如具有白曲霉接头和淀粉结合域的黑曲霉 α -淀粉酶。

[0127] 还考虑了 α -淀粉酶,其呈现出与以上提及的 α -淀粉酶的高一致性,即,与成熟酶序列的大于70%、大于75%、大于80%、大于85%、大于90%、大于95%、大于96%、大于97%、大于98%、大于99%或甚至100%一致性。

[0128] 细菌 α -淀粉酶

[0129] 根据本发明所述的方法中有用的细菌 α -淀粉酶包括源自芽胞杆菌属的菌株的 α -淀粉酶,如地衣芽胞杆菌和嗜热脂肪芽胞杆菌。

[0130] 商用 α -淀粉酶产品

[0131] 包括 α -淀粉酶的优选的商用组合物包括MYCOLASETM(DSM)、BANTM、TERMAMYLTMSC、FUNGAMYLTM、LIQUOZYMETMX、LIQUOZYMETMSC和SANTMSUPER、SANTMEXTRA L(诺维信公司)以及CLARASETML-40,000、DEX-LOTM、SPEZYMETMFRED、SPEZYMETMAA、SPEZYMETMALPHA、SPEZYMETMDELTA AA、GC358、GC980、SPEZYMETMCL和SPEZYMETMRSL(杜邦-杰能科公司)、FUELZYMETM(来自范恩尼姆公司(Verenium Corp),美国)。

[0132] 在一个具体的实施例中,根据本发明的组合物包括 α -淀粉酶、葡糖淀粉酶(AMG)、和普鲁兰酶,并且其中该 α -淀粉酶选自黑曲霉或微小根毛霉 α -淀粉酶、或其变体,该葡糖淀粉酶选自黑曲霉、埃默森篮状菌、瓣环栓菌或密粘褶菌葡糖淀粉酶、或其变体,并且该普鲁兰酶选自脱支芽胞杆菌或嗜酸性普鲁兰芽胞杆菌普鲁兰酶、或其杂合体和/或变体。

[0133] 在另外具体实施例中,根据本发明的组合物包括葡糖淀粉酶,该葡糖淀粉酶包括/基本上由/由选自下组的氨基酸序列组成,该组由以下各项组成:

[0134] i)SEQ ID NO:1、4、6、7、8、9、10、11、12、13、14和15中任一项阐述的氨基酸序列或其成熟多肽;

[0135] ii)SEQ ID NO:1、4、6、7、8、9、10、11、12、13、14和15中任一项阐述的氨基酸序列的子序列或其所述成熟多肽;

[0136] iii)氨基酸序列,其与i)和ii)中阐述的氨基酸序列中任一项具有至少70%,如至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%,如至少99.5%序列一致性。

[0137] 当该葡糖淀粉酶包括ii)中定义的子序列或iii)中定义的氨基酸序列时,它优选地具有i)中所定义的各氨基酸的至少75%,如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的葡糖淀粉酶活性,其中它是子序列或变体,当相对于“葡糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的来测试时。

[0138] 在其他实施例中,根据本发明的组合物包括 α -淀粉酶,该 α -淀粉酶包括/基本上由/由选自下组的氨基酸序列组成,该组由以下各项组成:

[0139] i)SEQ ID NO:2、5、19、20、21、22、23、24和25中任一项阐述的氨基酸序列或其成熟多肽;

[0140] ii)SEQ ID NO:2、5、19、20、21、22、23、24和25中任一项阐述的氨基酸序列的子序列或其所述成熟多肽;

[0141] iii)变体氨基酸序列,其与i)和ii)中阐述的氨基酸序列中任一项具有至少70%,如至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%,如至少99.5%序列一致性。

[0142] 当以上定义的 α -淀粉酶是子序列或变体时,它优选地具有选自SEQ ID NO:2、5、19、20、21、22、23、24和25或其成熟多肽的各 α -淀粉酶的至少75%,如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的 α -淀粉酶活性,其中它是子序列或变体,当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”或“Kilo Novo α -淀粉酶单位(KNU)”的定义如以上所阐述而测试时。在本上下文中, α -淀粉酶(包括选自下组的氨基酸序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:2、5和19或其成熟多肽)被认为是真菌 α -淀粉酶,并且活性如相对于“酸性 α -淀粉酶单元(FAU(A))”的以上定义所提供的来进行测试。 α -淀粉酶(包括选自下组的氨基酸序列,该组由以下各项组成:SEQ ID NO:20-25或其成熟多肽)被认为是细菌 α -淀粉酶,并且活性如相对于“Kilo Novo α -淀粉酶单元(KNU)”的以上定义所提供的来进行测试。

[0143] 在具体实施例中,包括或由iii)中所定义的氨基酸序列组成的 α -淀粉酶是一种 α -淀粉酶的变体,该变体包括或由SEQ ID NO:20中定义的氨基酸序列或其成熟多肽组成,其中已做出以下突变:I181*/G182*/N193F(使用SEQ ID NO:20中的氨基酸编号)。

[0144] 根据其他实施例,包括或由iii)中所定义的氨基酸序列组成的 α -淀粉酶是一种 α -淀粉酶的变体,该变体包括或由SEQ ID NO:23中定义的氨基酸序列或其成熟多肽组成,其中已做出以下突变:H156Y+A181T+N190F+A209V+Q264S(使用SEQ ID NO:21中的氨基酸编号)。

[0145] 在甚至另外实施例中,包括或由iii)中所定义的氨基酸序列组成的 α -淀粉酶是一种 α -淀粉酶的变体,该变体包括或由SEQ ID NO:23中定义的氨基酸序列或其成熟多肽组成,其中已做出以下突变:G48A+T49I+G107A+H156Y+A181T+N190F+I201F+A209V+Q264S(使用SEQ ID NO:21中的编号)。

[0146] 在仍其他实施例中,根据本发明的组合物包括普鲁兰酶,该普鲁兰酶包括/基本上由/由选自下组的氨基酸序列组成,该组由以下各项组成:

[0147] i)SEQ ID NO:3、16、17和18中任一项阐述的氨基酸序列或其成熟多肽;

[0148] ii)SEQ ID NO:3、16、17和18中任一项阐述的氨基酸序列的子序列或其所述成熟多肽;

[0149] iii)氨基酸序列,其与i)和ii)中阐述的氨基酸序列中任一项具有至少70%,如至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%,如至少99.5%序列一致性。

[0150] 当该普鲁兰酶包括ii)中定义的子序列或iii)中定义的变体氨基酸序列时,它优选地具有i)中所定义的各氨基酸的至少75%,如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的普鲁兰酶活性,其中它是子序列或变体,当相对于“普鲁兰酶活性(NPUN)”定义如以上所阐述的来测试时。

[0151] 本发明范围内是多个实施例,其中该葡糖淀粉酶包括或由选自下组的氨基酸序列组成,该组由以下各项组成:

[0152] i)SEQ ID NO:4中阐述的氨基酸序列或其成熟多肽;

[0153] ii)SEQ ID NO:4中阐述的氨基酸序列的或其所属成熟多肽的子序列;及

[0154] iii)变体氨基酸序列,其与i)和ii)中阐述的氨基酸序列中任一项具有至少70%,如至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%,如至少99.5%序列一致性;

[0155] 其中该普鲁兰酶包括或由选自下组的氨基酸序列组成,该组由以下各项组成:

[0156] iv)SEQ ID NO:3、16、17和18中任一项阐述的氨基酸序列或其成熟多肽;

[0157] v)SEQ ID NO:3、16、17和18中任一项阐述的氨基酸序列的子序列或其所述成熟多肽;及

[0158] vi)变体氨基酸序列,其与iv)和v)中阐述的氨基酸序列中任一项具有至少70%,如至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%,如至少99.5%序列一致性;并且

[0159] 其中该 α -淀粉酶包括或由选自下组的氨基酸序列组成,该组由以下各项组成:

[0160] vii)SEQ ID NO:5中阐述的氨基酸序列或其成熟多肽;

[0161] viii)SEQ ID NO:5中阐述的氨基酸序列的或其所属成熟多肽的子序列;及

[0162] ix)变体氨基酸序列,其与vii)和viii)中阐述的氨基酸序列中任一项具有至少70%,如至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%,如至少99.5%序列一致性。

[0163] 当所述葡萄糖淀粉酶是如以上定义的子序列或变体氨基酸序列时,它优选具有各氨基酸序列的至少75%,如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的葡萄糖淀粉酶活性(例如,SEQ ID NO:4中所阐述的氨基酸序列或其成熟多肽),其中它是子序列或变体,当相对于“葡萄糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的而测试时。

[0164] 当所述普鲁兰酶是如以上定义的子序列或变体氨基酸序列时,它优选具有各氨基酸序列的至少75%,如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的普鲁兰酶活性(例如,SEQ ID NO:3、16、17和18任一项中所阐述的氨基酸序列或其成熟多肽),其中它是子序列或变体,当相对于“普鲁兰酶活性(NPUN)”的定义如以上所阐述的而测试时。

[0165] 当以上定义的 α -淀粉酶是子序列或变体时,它优选地具有选自SEQ ID NO:5或其成熟多肽的各 α -淀粉酶的至少75%,如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的 α -淀粉酶活性,其中它是子序列或变体,当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”的定义如以上所阐述而测试时。

[0166] 在一个具体的实施例中,该葡萄糖淀粉酶选自SEQ ID NO:1中披露的葡萄糖淀粉酶的或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:1的多肽或其成熟多肽至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的葡萄糖淀粉酶,其具有葡萄糖淀粉酶活性;例如,当相对于“葡萄糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少75%,如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的SEQ ID NO:1中所披露的葡萄糖淀粉酶或其成熟多肽的葡萄糖淀粉酶活性。

[0167] 在另一个具体的实施例中,该葡萄糖淀粉酶选自SEQ ID NO:4中所披露的葡萄糖淀粉酶的或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:4的成熟多肽或其成熟多肽至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的葡萄糖淀粉酶,其具有葡

糖淀粉酶活性；例如，当相对于“葡糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的来进行测试时，至少75%，如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的SEQ ID NO:4中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽的葡糖淀粉酶活性。

[0168] 在一个具体实施例中，该 α -淀粉酶选自SEQ ID NO:2中所披露的 α -淀粉酶或与SEQ ID NO:2的多肽或其成熟多肽具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的 α -淀粉酶，其具有 α -淀粉酶活性；例如，当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”的定义如以上阐述来测试时，至少75%，如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的SEQ ID NO:2中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽的 α -淀粉酶活性。在另一个具体实施例中，该 α -淀粉酶选自SEQ ID NO:5中所披露的 α -淀粉酶或与SEQ ID NO:5的多肽或其成熟多肽具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%序列一致性的 α -淀粉酶，其具有 α -淀粉酶活性；例如，当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”的定义如以上阐述来测试时，至少75%，如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的SEQ ID NO:5中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽的 α -淀粉酶活性。

[0169] 在一个具体的实施例中，该普鲁兰酶选自SEQ ID NO:3中所披露的普鲁兰酶的或其成熟多肽，以及具有与SEQ ID NO:3的多肽或其成熟多肽至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的普鲁兰酶，其具有普鲁兰酶活性；例如，当相对于“普鲁兰酶活性(NPUN)”的定义如以上所阐述的来进行测试时，至少75%，如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的SEQ ID NO:3中所阐述的氨基酸序列或其成熟多肽的普鲁兰酶活性。

[0170] 在一个另外具体的实施例中，该组合物包括

[0171] i) 葡糖淀粉酶，其选自SEQ ID NO:1中所披露的葡糖淀粉酶的或其成熟多肽，以及具有与SEQ ID NO:1的成熟多肽至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的葡糖淀粉酶，其具有葡糖淀粉酶活性；例如，当相对于“葡糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的来进行测试时，至少75%，如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的SEQ ID NO:1中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽的葡糖淀粉酶活性；

[0172] ii) α -淀粉酶，其选自SEQ ID NO:2中所披露的 α -淀粉酶的或其成熟多肽，以及具有与SEQ ID NO:2的成熟多肽至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的 α -淀粉酶，其具有 α -淀粉酶活性；例如，当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”的定义如以上所阐述的来进行测试，至少75%，如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的SEQ ID NO:2中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽的 α -淀粉酶活性；及

[0173] iii) 普鲁兰酶，其选自SEQ ID NO:3中所披露的普鲁兰酶的或其成熟多肽，以及具有与SEQ ID NO:3的成熟多肽至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、

或100%的序列一致性的普鲁兰酶,其具有普鲁兰酶活性;例如,当相对于“普鲁兰酶活性(NPUN)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少75%,如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的SEQ ID NO:3中所阐述的氨基酸序列或其成熟多肽的普鲁兰酶活性。

[0174] 具体地,该组合物可以包括:

[0175] i) 葡糖淀粉酶,其选自SEQ ID NO:1中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:1的成熟多肽的至少90%一致性的葡糖淀粉酶或其成熟多肽,其具有葡糖淀粉酶活性;例如,当相对于“葡糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少90%的SEQ ID NO:1中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽的葡糖淀粉酶活性;

[0176] ii) α -淀粉酶,其选自SEQ ID NO:2中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:2的成熟多肽的至少90%一致性的 α -淀粉酶或其成熟多肽,其具有 α -淀粉酶活性;例如,当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少90%的SEQ ID NO:2中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽的 α -淀粉酶活性;及

[0177] iii) 普鲁兰酶,其选自SEQ ID NO:3中所披露的普鲁兰酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:3的成熟多肽的至少90%一致性的普鲁兰酶或其成熟多肽,其具有普鲁兰酶活性;例如,当相对于“普鲁兰酶活性(NPUN)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少90%的SEQ ID NO:3中所阐述的氨基酸序列或其成熟多肽的普鲁兰酶活性。

[0178] 具体地,该组合物可以包括:

[0179] i) 葡糖淀粉酶,其选自SEQ ID NO:1中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:1的葡糖淀粉酶的至少95%一致性的葡糖淀粉酶或其成熟多肽,其具有葡糖淀粉酶活性;例如,当相对于“葡糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:1中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽的葡糖淀粉酶活性;

[0180] ii) α -淀粉酶,其选自SEQ ID NO:2中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:2的成熟多肽的至少95%一致性的 α -淀粉酶,其具有 α -淀粉酶活性;例如,当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:2中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽的 α -淀粉酶活性;

[0181] iii) 和普鲁兰酶,其选自SEQ ID NO:3中所披露的普鲁兰酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:3的成熟多肽的至少95%一致性的普鲁兰酶,其具有普鲁兰酶活性;例如,当相对于“普鲁兰酶活性(NPUN)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:3中所阐述的氨基酸序列或其成熟多肽的普鲁兰酶活性。

[0182] 具体地,该组合物可以包括:

[0183] i) 葡糖淀粉酶,其选自SEQ ID NO:1中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:1的成熟多肽的至少97%一致性的葡糖淀粉酶,其具有葡糖淀粉酶活性;例如,当相对于“葡糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:1中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽的葡糖淀粉酶活性;

[0184] ii) α -淀粉酶,其选自SEQ ID NO:2中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:2的成熟多肽的至少97%一致性的 α -淀粉酶,其具有 α -淀粉酶活性;例如,当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:2中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽的 α -淀粉酶活性;

[0185] iii) 和普鲁兰酶,其选自SEQ ID NO:3中所披露的普鲁兰酶或其成熟多肽,以及具

有与SEQ ID NO:3的成熟多肽的至少97%一致性的普鲁兰酶,其具有普鲁兰酶活性;例如,当相对于“普鲁兰酶活性(NPUN)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:3中所阐述的氨基酸序列或其成熟多肽的普鲁兰酶活性。

[0186] 具体地,该组合物可以包括:

[0187] i) 葡糖淀粉酶,其选自SEQ ID NO:1中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:1的成熟多肽的至少99%一致性的葡糖淀粉酶,其具有葡糖淀粉酶活性;例如,当相对于“葡糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:1中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽的葡糖淀粉酶活性;

[0188] ii) α -淀粉酶,其选自SEQ ID NO:2中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:2的成熟多肽的至少99%一致性的 α -淀粉酶,其具有 α -淀粉酶活性;例如,当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:2中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽的 α -淀粉酶活性;

[0189] iii) 和普鲁兰酶,其选自SEQ ID NO:3中所披露的普鲁兰酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:3的成熟多肽的至少99%一致性的普鲁兰酶,其具有普鲁兰酶活性;例如,当相对于“普鲁兰酶活性(NPUN)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:3中所阐述的氨基酸序列或其成熟多肽的普鲁兰酶活性。

[0190] 在一个另外具体的实施例中,该组合物包括:

[0191] i) 葡糖淀粉酶,其选自SEQ ID NO:4中所披露的葡糖淀粉酶的或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:4的成熟多肽至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的葡糖淀粉酶,其具有葡糖淀粉酶活性;例如,当相对于“葡糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少75%,如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的SEQ ID NO:4中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽的葡糖淀粉酶活性;

[0192] ii) α -淀粉酶,其选自SEQ ID NO:5中所披露的 α -淀粉酶的或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:5的成熟多肽至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的 α -淀粉酶,其具有 α -淀粉酶活性;例如,当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”的定义如以上所阐述的来进行测试,至少75%,如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的SEQ ID NO:5中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽的 α -淀粉酶活性,及

[0193] iii) 普鲁兰酶,其选自SEQ ID NO:3中所披露的普鲁兰酶的或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:3的成熟多肽至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%的序列一致性的普鲁兰酶,其具有普鲁兰酶活性;例如,当相对于“普鲁兰酶活性(NPUN)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少75%,如至少80%、至少85%、至少90%或如至少95%的SEQ ID NO:3中所阐述的氨基酸序列或其成熟多肽的普鲁兰酶活性。

[0194] 具体地,该组合物可以包括:

[0195] i) 葡糖淀粉酶,其选自SEQ ID NO:4中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:4的成熟多肽的至少90%一致性的葡糖淀粉酶,其具有葡糖淀粉酶活性;例

如,当相对于“葡糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少90%的SEQ ID NO:4中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽的葡糖淀粉酶活性;

[0196] ii) α -淀粉酶,其选自SEQ ID NO:5中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:5的成熟多肽的至少90%一致性的 α -淀粉酶,其具有 α -淀粉酶活性;例如,当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:5中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽的 α -淀粉酶活性;及

[0197] iii) 普鲁兰酶,其选自SEQ ID NO:3中所披露的普鲁兰酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:3的成熟多肽的至少90%一致性的普鲁兰酶,其具有普鲁兰酶活性;例如,当相对于“普鲁兰酶活性(NPUN)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少90%的SEQ ID NO:3中所阐述的氨基酸序列或其成熟多肽的普鲁兰酶活性。

[0198] 具体地,该组合物可以包括:

[0199] i) 葡糖淀粉酶,其选自SEQ ID NO:4中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:4的成熟多肽的至少95%一致性的葡糖淀粉酶,其具有葡糖淀粉酶活性;例如,当相对于“葡糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:4中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽的葡糖淀粉酶活性;

[0200] ii) α -淀粉酶,其选自SEQ ID NO:5中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:5的成熟多肽的至少95%一致性的 α -淀粉酶,其具有 α -淀粉酶活性;例如,当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:5中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽的 α -淀粉酶活性;及

[0201] iii) 普鲁兰酶,其选自SEQ ID NO:3中所披露的普鲁兰酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:3的成熟多肽的至少95%一致性的普鲁兰酶,其具有普鲁兰酶活性;例如,当相对于“普鲁兰酶活性(NPUN)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:3中所阐述的氨基酸序列或其成熟多肽的普鲁兰酶活性。

[0202] 具体地,该组合物可以包括:

[0203] i) 葡糖淀粉酶,其选自SEQ ID NO:4中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:4的成熟多肽的至少97%一致性的葡糖淀粉酶,其具有葡糖淀粉酶活性;例如,当相对于“葡糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:4中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽的葡糖淀粉酶活性;

[0204] ii) α -淀粉酶,其选自SEQ ID NO:5中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:5的成熟多肽的至少97%一致性的 α -淀粉酶,其具有 α -淀粉酶活性;例如,当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:5中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽的 α -淀粉酶活性;及

[0205] iii) 普鲁兰酶,其选自SEQ ID NO:3中所披露的普鲁兰酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:3的成熟多肽的至少97%一致性的普鲁兰酶,其具有普鲁兰酶活性;例如,当相对于“普鲁兰酶活性(NPUN)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:3中所阐述的氨基酸序列或其成熟多肽的普鲁兰酶活性。

[0206] 具体地,该组合物可以包括:

[0207] i) 葡糖淀粉酶,其选自SEQ ID NO:4中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:4的成熟多肽的至少99%一致性的葡糖淀粉酶,其具有葡糖淀粉酶活性;例

如,当相对于“葡糖淀粉酶活性(AGU)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:4中所披露的葡糖淀粉酶或其成熟多肽的葡糖淀粉酶活性;

[0208] ii) α -淀粉酶,其选自SEQ ID NO:5中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:5的成熟多肽的至少99%一致性的 α -淀粉酶,其具有 α -淀粉酶活性;例如,当相对于“酸性 α -淀粉酶单位(FAU(A))”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:5中所披露的 α -淀粉酶或其成熟多肽的 α -淀粉酶活性;

[0209] iii) 和普鲁兰酶,其选自SEQ ID NO:3中所披露的普鲁兰酶或其成熟多肽,以及具有与SEQ ID NO:3的成熟多肽的至少99%一致性的普鲁兰酶,其具有普鲁兰酶活性;例如,当相对于“普鲁兰酶活性(NPUN)”的定义如以上所阐述的来进行测试时,至少95%的SEQ ID NO:3中所阐述的氨基酸序列或其成熟多肽的普鲁兰酶活性。

[0210] 该组合物可以根据本领域已知的方法制备,并可以是液体或干燥组合物的形式。可以根据本领域中已知的方法稳定这些组合物。

[0211] 用途

[0212] 根据本发明的组合物可以用于产生葡萄糖糖浆的糖化方法中。因此,在另一方面,本发明涉及从液化的淀粉制备葡萄糖糖浆的方法,其包括将液化的淀粉与根据本发明的组合物接触。

[0213] 通过以下实例进一步描述本发明,但不应将其理解为对本发明范围的限制。

[0214] 实例

[0215] 材料与方法

[0216] 葡糖淀粉酶活性

[0217] 葡糖淀粉酶活性(AGU)

[0218] 葡糖淀粉酶单位(AGU)被定义为在标准条件下(37℃,pH 4.3,底物:100mM麦芽糖,缓冲液:乙酸盐0.1M,反应时间:6分钟,如以下葡糖淀粉酶孵育中所说明的)每分钟水解1微摩尔麦芽糖由此产生葡萄糖的酶的量。

[0219]

葡糖淀粉酶孵育	
底物:	麦芽糖100mM
缓冲液:	乙酸盐0.1M
pH:	4.30±0.05
孵育温度:	37℃±1
反应时间:	6分钟
酶工作范围:	0.5-4.0AGU/mL

[0220] 通过3个反应步骤描述分析原理:

[0221] 步骤1是一个酶反应:

[0222] 葡糖淀粉酶(AMG)EC 3.2.1.3(外- α -1,4-葡聚糖-葡糖淀粉酶)水解麦芽糖以形成 α -D-葡萄糖。孵育之后,用NaOH来停止该反应。

[0223] 步骤2和步骤3引起一个终点反应:

[0224] 在由己糖激酶催化的一个反应中,葡萄糖被ATP磷酸化。形成的葡萄糖-6-磷酸被葡萄糖-6-磷酸脱氢酶氧化成6-磷酸葡萄糖酸。在这个相同的反应中,等摩尔量的NAD⁺被还

原成NADH,导致在340nm处的吸光度增加。可以使用自动分析仪系统例如KoneLab 30分析仪(赛默飞世尔科技公司(Thermo Fisher Scientific))。

[0225]	显色反应	
	Tris	约35 mM
	ATP	0.7 mM
	NAD ⁺	0.7 mM
[0226]	Mg ²⁺	1.8 mM
	己糖激酶	> 850 U/L
	葡萄糖-6-P-DH	> 850 U/L
	pH	约7.8
	温度	37.0°C ± 1.0°C
	反应时间	420秒
	波长	340 nm

[0227] 酸性 α -淀粉酶活性

[0228] 当根据本发明应用时,任何酸性 α -淀粉酶活性能以FAU(A)(酸性真菌 α -淀粉酶单位)测定。

[0229] 酸性 α -淀粉酶活性(FAU(A))

[0230] 可按FAU(A)(酸性真菌 α -淀粉酶单位)来测量酸性 α -淀粉酶活性。将1FAU(A)定义为在标准条件下每小时降解5.260mg淀粉干物质的酶量。

[0231] 酸性 α -淀粉酶,内- α -淀粉酶(1,4- α -D-葡聚糖-葡聚糖水解酶,E.C.3.2.1.1)水解淀粉分子内部区域的 α -1,4-糖苷键以形成具有不同链长度的糊精和寡糖。与碘形成的颜色的强度跟淀粉的浓度成正比。使用反向比色法将酶活性测定为在指定的分析条件下淀粉浓度的减小。

[0232] FAU(A),即酸性 α -淀粉酶活性是根据以下描述来确定的,并且相对于诺维信标准品进行测量,该标准品可以从丹麦的诺维信公司索取得到。该反应的原理是基于两个步骤。在第一步中,该酶酸性 α -淀粉酶水解淀粉成不同低聚糖。在第二步中,碘与淀粉一起形成蓝色复合物,但不与其降解产物形成蓝色复合物。

[0233] 因此,颜色的强度与淀粉的浓度成正比。使用反向比色法在指定分析条件下确定该活性为淀粉浓度的减少。

[0234]

第一反应，淀粉降解	
底物	淀粉，大约0.3 g/L
缓冲液	柠檬酸盐，大约0.05 M
	CaCl ₂ ，1.85 mM
pH	2.50 ± 0.05
孵育温度	37°C
反应时间	180秒
酶工作范围：	0.01-0.04 FAU(A)/mL

[0235]	第二反应，淀粉碘络合物	
	碘	0.0432 g/L
[0236]	孵育温度	37°C
	反应时间	60秒
	波长	600 nm

[0237] 如果优选其他细节，那么这些可以在从丹麦的诺维信公司索取得到的EB-SM-0510.02中发现，并且通过引用并入。

[0238] 普鲁兰酶活性

[0239] 内切普鲁兰酶水解普鲁兰中的 α -1,6-糖苷键(-BH₄还原以减少背景还原糖)，释放麦芽三糖单元并且还原碳水化合物端。普鲁兰酶是酶分类编号支E.C.3.2.1.41的普鲁兰6-葡聚糖-水解酶。

[0240] 该NPUN(诺维信新普鲁兰酶单位)是在以下程序中所测量的内切普鲁兰酶活性的单位，并且相对于从丹麦的诺维信公司索取得到的诺维信标准品进行测量。

[0241] 1NPUN=一个普鲁兰酶单位(NPUN)定义为酶量，该酶量标准条件下每分钟释放相当于0.35 μ mol葡萄糖还原端。

[0242] 在第一反应中，该底物在主要样品和空白样品中同样存在。然而，在pH5.0下进行主要样品的反应，同时在pH 9.6下在空白样品中不存在反应，其中普鲁兰酶或淀粉葡萄糖苷酶(葡糖淀粉酶)都不具有酶活性。

[0243]

第一反应，普鲁兰降解

底物	BH ₄ 还原的普鲁兰，5.3 g/L
缓冲液 (主要)	乙酸盐，大约0.1 M EDTA，5.3 mM 阿卡波糖，0.018% (如果样品包含葡糖淀粉酶)
pH (主要)	5.0
缓冲液 (空白)	CHES，42 mM 乙酸盐，17 mM EDTA，5.3 mM
pH (空白)	9.6
孵育温度	50°C
反应时间	540秒
酶工作范围：	0.03-0.15 NPUN/mL

[0244] 在第二反应中，将该pH调整到约9.6，并且将样品中的葡萄糖通过葡糖激酶磷酸化成非还原的D-葡萄糖-6-磷酸盐，其在这个范围具有最佳的活性和稳定性并且在pH 9下对葡萄糖具有特异性(参考高厄德(Goward)，生物化学杂志(Biochem.J.)1986,237,第415-420页)。该步骤取决于主要样品和空白样品中的相同pH，以在二者中去除等量的葡萄糖。

[0245]

第二反应，背景葡萄糖消除

底物	样品中的葡萄糖，在第一反应后
缓冲液	CHES, 58 mM (主要) 或76 mM (空白) 乙酸盐, 43 mM (主要) 或7.2 mM (空白) EDTA, 2.2 mM ATP, 1.11 mg/ml MgCl ₂ , 4.4 mM
葡糖激酶	0.11 U/ml
pH	约9.6
孵育温度	50°C
反应时间	720秒

[0246] 将该第二反应通过包含PAHBAH(对羟基苯甲酸酰肼)的碱性试剂(>pH 11)和铋来停止,与还原糖复合以产生在405nm下检测的颜色。所产生的颜色与普鲁兰酶活性成比例。

第三反应，PAHBAH-Bi反应

底物	在第二反应后，由普鲁兰酶形成的麦芽三糖
PAHBAH	56 mM
酒石酸盐	75 mM
Bi³⁺	6.0 mM
NaOH	195 mM
pH	碱性
孵育温度	50°C
反应时间	1000秒
波长	405 nm

[0248] 如果优选其他细节,那么这些可以在从丹麦的诺维信公司索取得到的2010-28835-02中发现,并且通过引用并入。

[0249] 实例1:

[0250] 使用玉米淀粉从常规淀粉液化方法中制备右旋糖当量(DE)被调整至11的麦芽糊精,并且对于此实验,进行喷雾干燥。将麦芽糊精粉末溶解于milliQ水中,并且在60°C下通过HCl/NaOH将pH调节至4.3,并且然后通过测量糖浆的屈光指数(RI)将固体调节至33%干固体(DS)。通过将18g麦芽糊精溶液和包含不同剂量的黑曲霉葡糖淀粉酶(SEQ ID NO:1)、普鲁兰酶(PromozymeD2®)(SEQ ID NO:3)、和黑曲霉酸性α-淀粉酶(SEQ ID NO:2)的2ml酶混合物混合来开始糖化。在60°C搅拌下孵育样品并且以不同时间间隔进行取样用于确定糖成分。表1中示出DP1馏分最大化的时间点处酶剂量和DP1-DP4+组合物。

[0251]

黑曲霉葡 糖淀粉酶 (SEQ ID NO: 1)	黑曲霉 α -淀粉酶 (SEQ ID NO: 2)	Promoz yme D2® (SEQ ID NO: 3)		峰值 时间	DP1	DP2	DP3	DP4 +	注释
AGU/gD S	FAU(A)/ gDS	NPUN/ gDS	NPU N/FA U(A)	hr	%	%	%	%	
0.18	0.045	0.34	7.56	48	95.6	2.4	0.5	1.4	Dext rozy me DX®
0.18	0.011	0.34	30.22	72	95.3	2.8	0.4	1.5	
0.18	0.023	0.34	15.11	60	95.4	2.6	0.5	1.5	
0.18	0.045	0.34	7.56	48	95.5	2.4	0.6	1.5	
0.18	0.09	0.34	3.78	48	95.4	2.4	0.7	1.5	
0.18	0.18	0.34	1.89	48	95.4	2.4	0.7	1.5	
0.18	0.011	1.01	89.78	36	95.9	2.1	0.6	1.4	
0.18	0.023	1.01	44.89	48	95.8	2.4	0.6	1.3	
0.18	0.045	1.01	22.44	36	95.6	2.2	0.8	1.5	
0.18	0.09	1.01	11.22	60	95.5	2.6	0.6	1.3	
0.18	0.18	1.01	5.61	48	95.5	2.4	0.8	1.4	

[0252] 表1显示出具有高于44.89的NPUN/FAU(A)比率的酶共混物显示出比Dextrozyme DX®更高的DP1馏分。即使处于比Dextrozyme DX高出3倍NPUN活性(1.01NPUN/gDS),该峰值DP1并不高于处于比0.045更高FAU(A)活性的Dextrozyme DX。

[0253] 实例2:

[0254] 使用不同的酶共混物的糖化

[0255] 将来自玉米淀粉液化的麦芽糊精粉末溶解于水中,同时加热使浆料处于34.4%干固体。使用显示1.39271的折射指数度量来测量浆料的固体含量。使用1M盐酸溶液将浆料调节至pH为4.3。将该浆料的18g等分试样添加到具有血清帽闭合的18个玻璃反应闪烁管中,并且插入加热器中来将温度加热到61℃。每个管给出基于下表的酶剂量,并且将额外的水添加到各管中以达到33%的目标干固体。该酶共混物包括源自密粘褶菌的葡糖淀粉酶(SEQ ID NO:4)、源自微小根毛霉的 α -淀粉酶(SED ID NO:5)和源自脱支芽孢杆菌的普鲁兰酶(SEQ ID NO:3)。在不同时间点(36小时、42小时、48小时、54小时和60小时)从各管中经由针通过隔膜取1.5mL样品,并且在105℃下失活5分钟。将1mL的各失活样品用4mL去离子水进行稀释。使用HPLC方法DP1-4评估稀释的样品,用于测量右旋糖纯度(%DP1或%DX)。

[0256] 来自表2的结果显示出NPUN/FAU(A)比率越高,右旋糖百分比越高。

[0257] 表2.

[0258]

GA SEQ ID NO: 4 剂 量 (AGU/ g DS)	AA SEQ ID NO: 5 剂 量 (FAU(A)/g DS)	PUL SEQ ID NO: 3 剂 量 (NPUN/ g DS)	NPUN/ FAU(A) 比	%D X 36 hr	%D X 42 hr	%D X 48 hr	%D X 54 hr	%D X 60 hr
0.18	0	0.72	N/A	92.2	93.5	94.6	95.3	95.8
0.18	0	1.08	N/A	93.5	94.8	95.6	96.1	96.5
0.18	0.008	0.9	112.5	94.1	95.2	95.5	95.8	95.8
0.18	0.008	0.9	112.5	94.4	95.3	95.7	95.9	96.0
0.18	0.015	0.72	48	93.6	94.8	95.3	95.5	95.6
0.18	0.015	1.08	72	94.0	94.9	95.3	95.5	95.6
0.23	0	0.9	N/A	94.1	95.0	95.6	96.0	96.3
0.23	0.008	0.72	90	95.5	95.8	96.0	96.0	96.0
0.23	0.008	0.9	112.5	95.5	95.8	95.9	96.0	96.0
0.23	0.008	1.08	135	95.7	96.0	96.0	96.0	96.1
0.23	0.008	1.08	135	95.7	95.9	96.0	96.1	96.0
0.23	0.015	0.9	60	95.3	95.7	95.8	95.8	95.9
0.23	0.015	0.9	60	95.0	95.5	95.6	95.8	95.7
0.28	0	0.72	N/A	94.6	95.5	95.8	96.1	96.1
0.28	0	1.08	N/A	95.7	96.3	96.3	96.6	96.4
0.28	0.008	0.9	112.5	95.9	96.0	96.0	96.0	96.0
0.28	0.015	0.72	48	95.8	95.9	95.9	95.9	95.9
0.28	0.015	1.08	72	95.7	95.7	95.8	95.9	95.8

[0259] 在根据与以上相同的程序进行的不同实验中,结果示于表3中。

[0260] 表3.

[0261]

AA SEQ ID NO: 5 AA 剂量 (AFAU/g DS)	PUL SEQ ID NO: 3 剂 量 (NPUN/g DS)	GA SEQ ID NO: 4 AMG 剂量 (AGU/gD S)	NPUN/AF AU 比	在 36 hr 处 的 % DX	在 42 hr 处 的 %D X	在 48 hr 处 的 % DX	在 60 hr 处 的 % DX
0.0	0.96	0.25	N/A	96.2	96.6	96.7	96.8
0.001	0.96	0.25	960	96.8	96.7	96.7	96.6
0.002	0.96	0.25	480	96.6	96.6	96.6	96.5

[0262]

0.003	0.96	0.25	320	96.3	96.4	96.5	96.3
0.005	0.96	0.25	191	96.2	96.3	96.2	96.2

[0263] 在此描述并且要求保护的本发明不限于在此披露的特定方面的范围,因为这些方面旨在作为本发明若干方面的说明。预期任何等效方面都处于本发明的范围内。实际上,除在此所示和描述的那些之外,本发明的不同修改对于本领域普通技术人员而言从前述描述将变得清楚。此类修改也旨在落入所附权利要求书的范围内。在有冲突的情况下,以包括定

义的本披露为准。

序列表

<110> 诺维信公司(Novozymes A/S)

<120> 用于生产葡萄糖糖浆的组合物

<130> 12581-WO-PCT

<160> 25

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 616

<212> PRT

<213> 黑曲霉

<400> 1

Ala Thr Leu Asp Ser Trp Leu Ser Asn Glu Ala Thr Val Ala Arg Thr
1 5 10 15

Ala Ile Leu Asn Asn Ile Gly Ala Asp Gly Ala Trp Val Ser Gly Ala
20 25 30

Asp Ser Gly Ile Val Val Ala Ser Pro Ser Thr Asp Asn Pro Asp Tyr
35 40 45

Phe Tyr Thr Trp Thr Arg Asp Ser Gly Leu Val Leu Lys Thr Leu Val
50 55 60

Asp Leu Phe Arg Asn Gly Asp Thr Ser Leu Leu Ser Thr Ile Glu Asn
65 70 75 80

[0001]

Tyr Ile Ser Ala Gln Ala Ile Val Gln Gly Ile Ser Asn Pro Ser Gly
85 90 95

Asp Leu Ser Ser Gly Ala Gly Leu Gly Glu Pro Lys Phe Asn Val Asp
100 105 110

Glu Thr Ala Tyr Thr Gly Ser Trp Gly Arg Pro Gln Arg Asp Gly Pro
115 120 125

Ala Leu Arg Ala Thr Ala Met Ile Gly Phe Gly Gln Trp Leu Leu Asp
130 135 140

Asn Gly Tyr Thr Ser Thr Ala Thr Asp Ile Val Trp Pro Leu Val Arg
145 150 155 160

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

Leu Trp Glu Glu Val Asn Gly Ser Ser Phe Phe Thr Ile Ala Val Gln
180 185 190

His Arg Ala Leu Val Glu Gly Ser Ala Phe Ala Thr Ala Val Gly Ser
195 200 205

Ser Cys Ser Trp Cys Asp Ser Gln Ala Pro Glu Ile Leu Cys Tyr Leu
210 215 220

Gln Ser Phe Trp Thr Gly Ser Phe Ile Leu Ala Asn Phe Asp Ser Ser
225 230 235 240

Arg Ser Gly Lys Asp Ala Asn Thr Leu Leu Gly Ser Ile His Thr Phe	245	250	255	
Asp Pro Glu Ala Ala Cys Asp Asp Ser Thr Phe Gln Pro Cys Ser Pro	260	265	270	
Arg Ala Leu Ala Asn His Lys Glu Val Val Asp Ser Phe Arg Ser Ile	275	280	285	
Tyr Thr Leu Asn Asp Gly Leu Ser Asp Ser Glu Ala Val Ala Val Gly	290	295	300	
Arg Tyr Pro Glu Asp Thr Tyr Tyr Asn Gly Asn Pro Trp Phe Leu Cys	305	310	315	320
Thr Leu Ala Ala Ala Glu Gln Leu Tyr Asp Ala Leu Tyr Gln Trp Asp	325	330	335	
Lys Gln Gly Ser Leu Glu Val Thr Asp Val Ser Leu Asp Phe Phe Lys	340	345	350	
Ala Leu Tyr Ser Asp Ala Ala Thr Gly Thr Tyr Ser Ser Ser Ser	355	360	365	
Thr Tyr Ser Ser Ile Val Asp Ala Val Lys Thr Phe Ala Asp Gly Phe	370	375	380	
Val Ser Ile Val Glu Thr His Ala Ala Ser Asn Gly Ser Met Ser Glu	385	390	395	400
Gln Tyr Asp Lys Ser Asp Gly Glu Gln Leu Ser Ala Arg Asp Leu Thr	405	410	415	
Trp Ser Tyr Ala Ala Leu Leu Thr Ala Asn Asn Arg Arg Asn Ser Val	420	425	430	
Val Pro Ala Ser Trp Gly Glu Thr Ser Ala Ser Ser Val Pro Gly Thr	435	440	445	
Cys Ala Ala Thr Ser Ala Ile Gly Thr Tyr Ser Ser Val Thr Val Thr	450	455	460	
Ser Trp Pro Ser Ile Val Ala Thr Gly Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr	465	470	475	480
Pro Thr Gly Ser Gly Ser Val Thr Ser Thr Ser Lys Thr Thr Ala Thr	485	490	495	
Ala Ser Lys Thr Ser Thr Ser Thr Ser Ser Thr Ser Cys Thr Thr Pro	500	505	510	
Thr Ala Val Ala Val Thr Phe Asp Leu Thr Ala Thr Thr Thr Tyr Gly	515	520	525	
Glu Asn Ile Tyr Leu Val Gly Ser Ile Ser Gln Leu Gly Asp Trp Glu	530	535	540	

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

Pro Leu Trp Tyr Val Thr Val Thr Leu Pro Ala Gly Glu Ser Phe Glu
565 570 575

Tyr Lys Phe Ile Arg Ile Glu Ser Asp Asp Ser Val Glu Trp Glu Ser
580 585 590

Asp Pro Asn Arg Glu Tyr Thr Val Pro Gln Ala Cys Gly Thr Ser Thr
595 600 605

Ala Thr Val Thr Asp Thr Trp Arg
610 615

<210> 2
<211> 484
<212> PRT
<213> 黑曲霉

<400> 2

Leu Ser Ala Ala Glu Trp Arg Thr Gln Ser Ile Tyr Phe Leu Leu Thr
1 5 10 15

Asp Arg Phe Gly Arg Thr Asp Asn Ser Thr Thr Ala Thr Cys Asp Thr
20 25 30

Gly Asp Gln Ile Tyr Cys Gly Gly Ser Trp Gln Gly Ile Ile Asn His
35 40 45

[0003]

Leu Asp Tyr Ile Gln Gly Met Gly Phe Thr Ala Ile Trp Ile Ser Pro
50 55 60

Ile Thr Glu Gln Leu Pro Gln Asp Thr Ala Asp Gly Glu Ala Tyr His
65 70 75 80

Gly Tyr Trp Gln Gln Lys Ile Tyr Asp Val Asn Ser Asn Phe Gly Thr
85 90 95

Ala Asp Asp Leu Lys Ser Leu Ser Asp Ala Leu His Ala Arg Gly Met
100 105 110

Tyr Leu Met Val Asp Val Val Pro Asn His Met Gly Tyr Ala Gly Asn
115 120 125

Gly Asn Asp Val Asp Tyr Ser Val Phe Asp Pro Phe Asp Ser Ser Ser
130 135 140

Tyr Phe His Pro Tyr Cys Leu Ile Thr Asp Trp Asp Asn Leu Thr Met
145 150 155 160

Val Gln Asp Cys Trp Glu Gly Asp Thr Ile Val Ser Leu Pro Asp Leu
165 170 175

Asn Thr Thr Glu Thr Ala Val Arg Thr Ile Trp Tyr Asp Trp Val Ala
180 185 190

Asp Leu Val Ser Asn Tyr Ser Val Asp Gly Leu Arg Ile Asp Ser Val

195	200	205
Leu Glu Val Glu Pro Asp Phe Phe Pro Gly Tyr Gln Glu Ala Ala Gly 210 215 220		
Val Tyr Cys Val Gly Glu Val Asp Asn Gly Asn Pro Ala Leu Asp Cys 225 230 235 240		
Pro Tyr Gln Lys Val Leu Asp Gly Val Leu Asn Tyr Pro Ile Tyr Trp 245 250 255		
Gln Leu Leu Tyr Ala Phe Gln Ser Ser Ser Gly Ser Ile Ser Asn Leu 260 265 270		
Tyr Asn Met Ile Lys Ser Val Ala Ser Asp Cys Ser Asp Pro Thr Leu 275 280 285		
Leu Gly Asn Phe Ile Glu Asn His Asp Asn Pro Arg Phe Ala Ser Tyr 290 295 300		
Thr Ser Asp Tyr Ser Gln Ala Lys Asn Val Leu Ser Tyr Ile Phe Leu 305 310 315 320		
Ser Asp Gly Ile Pro Ile Val Tyr Ala Gly Glu Glu Gln His Tyr Ser 325 330 335		
Gly Gly Lys Val Pro Tyr Asn Arg Glu Ala Thr Trp Leu Ser Gly Tyr 340 345 350		
Asp Thr Ser Ala Glu Leu Tyr Thr Trp Ile Ala Thr Thr Asn Ala Ile 355 360 365		
Arg Lys Leu Ala Ile Ser Ala Asp Ser Ala Tyr Ile Thr Tyr Ala Asn 370 375 380		
Asp Ala Phe Tyr Thr Asp Ser Asn Thr Ile Ala Met Arg Lys Gly Thr 385 390 395 400		
Ser Gly Ser Gln Val Ile Thr Val Leu Ser Asn Lys Gly Ser Ser Gly 405 410 415		
Ser Ser Tyr Thr Leu Thr Leu Ser Gly Ser Gly Tyr Thr Ser Gly Thr 420 425 430		
Lys Leu Ile Glu Ala Tyr Thr Cys Thr Ser Val Thr Val Asp Ser Ser 435 440 445		
Gly Asp Ile Pro Val Pro Met Ala Ser Gly Leu Pro Arg Val Leu Leu 450 455 460		
Pro Ala Ser Val Val Asp Ser Ser Ser Leu Cys Gly Gly Ser Gly Arg 465 470 475 480		
Leu Tyr Val Glu		

[0004]

<210> 3
<211> 928

<212> PRT

<213> 脱支芽孢杆菌

<400> 3

Asp Gly Asn Thr Thr Thr Ile Ile Val His Tyr Phe Arg Pro Ala Gly
1 5 10 15

Asp Tyr Gln Pro Trp Ser Leu Trp Met Trp Pro Lys Asp Gly Gly Gly
20 25 30

Ala Glu Tyr Asp Phe Asn Gln Pro Ala Asp Ser Phe Gly Ala Val Ala
35 40 45

Ser Ala Asp Ile Pro Gly Asn Pro Ser Gln Val Gly Ile Ile Val Arg
50 55 60

Thr Gln Asp Trp Thr Lys Asp Val Ser Ala Asp Arg Tyr Ile Asp Leu
65 70 75 80

Ser Lys Gly Asn Glu Val Trp Leu Val Glu Gly Asn Ser Gln Ile Phe
85 90 95

Tyr Asn Glu Lys Asp Ala Glu Asp Ala Ala Lys Pro Ala Val Ser Asn
100 105 110

Ala Tyr Leu Asp Ala Ser Asn Gln Val Leu Val Lys Leu Ser Gln Pro
115 120 125

[0005] Leu Thr Leu Gly Glu Gly Ala Ser Gly Phe Thr Val His Asp Asp Thr
130 135 140

Ala Asn Lys Asp Ile Pro Val Thr Ser Val Lys Asp Ala Ser Leu Gly
145 150 155 160

Gln Asp Val Thr Ala Val Leu Ala Gly Thr Phe Gln His Ile Phe Gly
165 170 175

Gly Ser Asp Trp Ala Pro Asp Asn His Ser Thr Leu Leu Lys Lys Val
180 185 190

Thr Asn Asn Leu Tyr Gln Phe Ser Gly Asp Leu Pro Glu Gly Asn Tyr
195 200 205

Gln Tyr Lys Val Ala Leu Asn Asp Ser Trp Asn Asn Pro Ser Tyr Pro
210 215 220

Ser Asp Asn Ile Asn Leu Thr Val Pro Ala Gly Gly Ala His Val Thr
225 230 235 240

Phe Ser Tyr Ile Pro Ser Thr His Ala Val Tyr Asp Thr Ile Asn Asn
245 250 255

Pro Asn Ala Asp Leu Gln Val Glu Ser Gly Val Lys Thr Asp Leu Val
260 265 270

Thr Val Thr Leu Gly Glu Asp Pro Asp Val Ser His Thr Leu Ser Ile
275 280 285

[0006]

Gln Thr Asp Gly Tyr Gln Ala Lys Gln Val Ile Pro Arg Asn Val Leu
 290 295 300
 Asn Ser Ser Gln Tyr Tyr Tyr Ser Gly Asp Asp Leu Gly Asn Thr Tyr
 305 310 315 320
 Thr Gln Lys Ala Thr Thr Phe Lys Val Trp Ala Pro Thr Ser Thr Gln
 325 330 335
 Val Asn Val Leu Leu Tyr Asp Ser Ala Thr Gly Ser Val Thr Lys Ile
 340 345 350
 Val Pro Met Thr Ala Ser Gly His Gly Val Trp Glu Ala Thr Val Asn
 355 360 365
 Gln Asn Leu Glu Asn Trp Tyr Tyr Met Tyr Glu Val Thr Gly Gln Gly
 370 375 380
 Ser Thr Arg Thr Ala Val Asp Pro Tyr Ala Thr Ala Ile Ala Pro Asn
 385 390 395 400
 Gly Thr Arg Gly Met Ile Val Asp Leu Ala Lys Thr Asp Pro Ala Gly
 405 410 415
 Trp Asn Ser Asp Lys His Ile Thr Pro Lys Asn Ile Glu Asp Glu Val
 420 425 430
 Ile Tyr Glu Met Asp Val Arg Asp Phe Ser Ile Asp Pro Asn Ser Gly
 435 440 445
 Met Lys Asn Lys Gly Lys Tyr Leu Ala Leu Thr Glu Lys Gly Thr Lys
 450 455 460
 Gly Pro Asp Asn Val Lys Thr Gly Ile Asp Ser Leu Lys Gln Leu Gly
 465 470 475 480
 Ile Thr His Val Gln Leu Met Pro Val Phe Ala Ser Asn Ser Val Asp
 485 490 495
 Glu Thr Asp Pro Thr Gln Asp Asn Trp Gly Tyr Asp Pro Arg Asn Tyr
 500 505 510
 Asp Val Pro Glu Gly Gln Tyr Ala Thr Asn Ala Asn Gly Asn Ala Arg
 515 520 525
 Ile Lys Glu Phe Lys Glu Met Val Leu Ser Leu His Arg Glu His Ile
 530 535 540
 Gly Val Asn Met Asp Val Val Tyr Asn His Thr Phe Ala Thr Gln Ile
 545 550 555 560
 Ser Asp Phe Asp Lys Ile Val Pro Glu Tyr Tyr Tyr Arg Thr Asp Asp
 565 570 575
 Ala Gly Asn Tyr Thr Asn Gly Ser Gly Thr Gly Asn Glu Ile Ala Ala
 580 585 590
 Glu Arg Pro Met Val Gln Lys Phe Ile Ile Asp Ser Leu Lys Tyr Trp

595	600	605
Val Asn Glu Tyr His Ile Asp Gly Phe Arg Phe Asp Leu Met Ala Leu 610	615	620
Leu Gly Lys Asp Thr Met Ser Lys Ala Ala Ser Glu Leu His Ala Ile 625	630	635 640
Asn Pro Gly Ile Ala Leu Tyr Gly Glu Pro Trp Thr Gly Gly Thr Ser 645	650	655
Ala Leu Pro Asp Asp Gln Leu Leu Thr Lys Gly Ala Gln Lys Gly Met 660	665	670
Gly Val Ala Val Phe Asn Asp Asn Leu Arg Asn Ala Leu Asp Gly Asn 675	680	685
Val Phe Asp Ser Ser Ala Gln Gly Phe Ala Thr Gly Ala Thr Gly Leu 690	695	700
Thr Asp Ala Ile Lys Asn Gly Val Glu Gly Ser Ile Asn Asp Phe Thr 705	710	715 720
Ser Ser Pro Gly Glu Thr Ile Asn Tyr Val Thr Ser His Asp Asn Tyr 725	730	735
Thr Leu Trp Asp Lys Ile Ala Leu Ser Asn Pro Asn Asp Ser Glu Ala 740	745	750
[0007]		
Asp Arg Ile Lys Met Asp Glu Leu Ala Gln Ala Val Val Met Thr Ser 755	760	765
Gln Gly Val Pro Phe Met Gln Gly Gly Glu Glu Met Leu Arg Thr Lys 770	775	780
Gly Gly Asn Asp Asn Ser Tyr Asn Ala Gly Asp Ala Val Asn Glu Phe 785	790	795 800
Asp Trp Ser Arg Lys Ala Gln Tyr Pro Asp Val Phe Asn Tyr Tyr Ser 805	810	815
Gly Leu Ile His Leu Arg Leu Asp His Pro Ala Phe Arg Met Thr Thr 820	825	830
Ala Asn Glu Ile Asn Ser His Leu Gln Phe Leu Asn Ser Pro Glu Asn 835	840	845
Thr Val Ala Tyr Glu Leu Thr Asp His Val Asn Lys Asp Lys Trp Gly 850	855	860
Asn Ile Ile Val Val Tyr Asn Pro Asn Lys Thr Val Ala Thr Ile Asn 865	870	875 880
Leu Pro Ser Gly Lys Trp Ala Ile Asn Ala Thr Ser Gly Lys Val Gly 885	890	895
Glu Ser Thr Leu Gly Gln Ala Glu Gly Ser Val Gln Val Pro Gly Ile 900	905	910

Ser Met Met Ile Leu His Gln Glu Val Ser Pro Asp His Gly Lys Lys
915 920 925

<210> 4
<211> 559
<212> PRT
<213> 密粘褶菌

<400> 4

Gln Ser Val Asp Ser Tyr Val Gly Ser Glu Gly Pro Ile Ala Lys Ala
1 5 10 15

Gly Val Leu Ala Asn Ile Gly Pro Asn Gly Ser Lys Ala Ser Gly Ala
20 25 30

Ala Ala Gly Val Val Val Ala Ser Pro Ser Lys Ser Asp Pro Asp Tyr
35 40 45

Trp Tyr Thr Trp Thr Arg Asp Ser Ser Leu Val Phe Lys Ser Leu Ile
50 55 60

Asp Gln Tyr Thr Thr Gly Ile Asp Ser Thr Ser Ser Leu Arg Ser Leu
65 70 75 80

Ile Asp Ser Phe Val Ile Ala Glu Ala Asn Ile Gln Gln Val Pro Asn
85 90 95

[0008]

Pro Ser Gly Thr Leu Thr Thr Gly Gly Leu Gly Glu Pro Lys Phe Asn
100 105 110

Val Asp Glu Thr Ala Phe Thr Gly Pro Trp Gly Arg Pro Gln Arg Asp
115 120 125

Gly Pro Ala Leu Arg Ala Thr Ala Leu Ile Thr Tyr Gly Asn Trp Leu
130 135 140

Leu Ser Asn Gly Asn Thr Thr Trp Val Thr Ser Thr Leu Trp Pro Ile
145 150 155 160

Ile Gln Asn Asp Leu Asn Tyr Val Val Gln Tyr Trp Asn Gln Thr Thr
165 170 175

Phe Asp Leu Trp Gln Glu Val Asn Ser Ser Ser Phe Phe Thr Thr Ala
180 185 190

Val Gln His Arg Ala Leu Arg Glu Gly Ala Ala Phe Ala Thr Lys Ile
195 200 205

Gly Gln Thr Ser Ser Val Ser Ser Tyr Thr Thr Gln Ala Ala Asn Leu
210 215 220

Leu Cys Phe Leu Gln Ser Tyr Trp Asn Pro Thr Ser Gly Tyr Ile Thr
225 230 235 240

Ala Asn Thr Gly Gly Gly Arg Ser Gly Lys Asp Ala Asn Thr Leu Leu
245 250 255

[0009]

Ala Ser Ile His Thr Tyr Asp Pro Ser Ala Gly Cys Asp Ala Thr Thr
 260 265 270
 Phe Gln Pro Cys Ser Asp Lys Ala Leu Ser Asn Leu Lys Val Tyr Val
 275 280 285
 Asp Ser Phe Arg Ser Val Tyr Ser Ile Asn Ser Gly Ile Ala Ser Asn
 290 295 300
 Ala Ala Val Ala Thr Gly Arg Tyr Pro Glu Asp Ser Tyr Gln Gly Gly
 305 310 315 320
 Asn Pro Trp Tyr Leu Thr Thr Phe Ala Val Ala Glu Gln Leu Tyr Asp
 325 330 335
 Ala Leu Asn Val Trp Ala Ala Gln Gly Ser Leu Asn Val Thr Ser Ile
 340 345 350
 Ser Leu Pro Phe Phe Gln Gln Phe Ser Ser Ser Val Thr Ala Gly Thr
 355 360 365
 Tyr Ala Ser Ser Ser Thr Thr Tyr Thr Thr Leu Thr Ser Ala Ile Lys
 370 375 380
 Ser Phe Ala Asp Gly Phe Val Ala Ile Asn Ala Gln Tyr Thr Pro Ser
 385 390 395 400
 Asn Gly Gly Leu Ala Glu Gln Phe Ser Arg Ser Asn Gly Ala Pro Val
 405 410 415
 Ser Ala Val Asp Leu Thr Trp Ser Tyr Ala Ser Ala Leu Thr Ala Phe
 420 425 430
 Glu Ala Arg Asn Asn Thr Gln Phe Ala Gly Trp Gly Ala Val Gly Leu
 435 440 445
 Thr Val Pro Thr Ser Cys Ser Ser Asn Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser
 450 455 460
 Thr Val Ala Val Thr Phe Asn Val Asn Ala Gln Thr Val Trp Gly Glu
 465 470 475 480
 Asn Ile Tyr Ile Thr Gly Ser Val Asp Ala Leu Ser Asn Trp Ser Pro
 485 490 495
 Asp Asn Ala Leu Leu Leu Ser Ser Ala Asn Tyr Pro Thr Trp Ser Ile
 500 505 510
 Thr Val Asn Leu Pro Ala Ser Thr Ala Ile Gln Tyr Lys Tyr Ile Arg
 515 520 525
 Lys Asn Asn Gly Ala Val Thr Trp Glu Ser Asp Pro Asn Asn Ser Ile
 530 535 540
 Thr Thr Pro Ala Ser Gly Ser Val Thr Glu Asn Asp Thr Trp Arg
 545 550 555

<210> 5

<211> 583
 <212> PRT
 <213> 微小根毛霉

<400> 5

Ala Thr Ser Asp Asp Trp Lys Gly Lys Ala Ile Tyr Gln Leu Leu Thr
 1 5 10 15

Asp Arg Phe Gly Arg Ala Asp Asp Ser Thr Ser Asn Cys Ser Asn Leu
 20 25 30

Ser Asn Tyr Cys Gly Gly Thr Tyr Glu Gly Ile Thr Lys His Leu Asp
 35 40 45

Tyr Ile Ser Gly Met Gly Phe Asp Ala Ile Trp Ile Ser Pro Ile Pro
 50 55 60

Lys Asn Ser Asp Gly Gly Tyr His Gly Tyr Trp Ala Thr Asp Phe Tyr
 65 70 75 80

Gln Leu Asn Ser Asn Phe Gly Asp Glu Ser Gln Leu Lys Ala Leu Ile
 85 90 95

Gln Ala Ala His Glu Arg Asp Met Tyr Val Met Leu Asp Val Val Ala
 100 105 110

Asn His Ala Gly Pro Thr Ser Asn Gly Tyr Ser Gly Tyr Thr Phe Asp
 115 120 125

[0010]

Asp Ala Ser Leu Tyr His Pro Lys Cys Thr Ile Asp Tyr Asn Asn Gln
 130 135 140

Thr Ser Ile Glu Gln Cys Trp Val Ala Asp Glu Leu Pro Asp Ile Asp
 145 150 155 160

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

Trp Val Gly Asn Tyr Ser Phe Asp Gly Ile Arg Ile Asp Thr Val Lys
 180 185 190

His Ile Arg Lys Asp Phe Trp Thr Gly Tyr Ala Glu Ala Ala Gly Val
 195 200 205

Phe Ala Thr Gly Glu Val Phe Asn Gly Asp Pro Ala Tyr Val Gly Pro
 210 215 220

Tyr Gln Lys Tyr Leu Pro Ser Leu Ile Asn Tyr Pro Met Tyr Tyr Ala
 225 230 235 240

Leu Asn Asp Val Phe Val Ser Lys Ser Lys Gly Phe Ser Arg Ile Ser
 245 250 255

Glu Met Leu Gly Ser Asn Arg Asn Ala Phe Glu Asp Thr Ser Val Leu
 260 265 270

Thr Thr Phe Val Asp Asn His Asp Asn Pro Arg Phe Leu Asn Ser Gln
 275 280 285

	Ser Asp Lys Ala Leu Phe Lys Asn Ala Leu Thr Tyr Val Leu Leu Gly 290 295 300
	Glu Gly Ile Pro Ile Val Tyr Tyr Gly Ser Glu Gln Gly Phe Ser Gly 305 310 315 320
	Gly Ala Asp Pro Ala Asn Arg Glu Val Leu Trp Thr Thr Asn Tyr Asp 325 330 335
	Thr Ser Ser Asp Leu Tyr Gln Phe Ile Lys Thr Val Asn Ser Val Arg 340 345 350
	Met Lys Ser Asn Lys Ala Val Tyr Met Asp Ile Tyr Val Gly Asp Asn 355 360 365
	Ala Tyr Ala Phe Lys His Gly Asp Ala Leu Val Val Leu Asn Asn Tyr 370 375 380
	Gly Ser Gly Ser Thr Asn Gln Val Ser Phe Ser Val Ser Gly Lys Phe 385 390 395 400
	Asp Ser Gly Ala Ser Leu Met Asp Ile Val Ser Asn Ile Thr Thr Thr 405 410 415
	Val Ser Ser Asp Gly Thr Val Thr Phe Asn Leu Lys Asp Gly Leu Pro 420 425 430
[0011]	Ala Ile Phe Thr Ser Ala Thr Gly Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Pro 435 440 445
	Thr Gly Ser Gly Ser Val Thr Ser Thr Ser Lys Thr Thr Ala Thr Ala 450 455 460
	Ser Lys Thr Ser Thr Ser Thr Ser Ser Thr Ser Cys Thr Thr Pro Thr 465 470 475 480
	Ala Val Ala Val Thr Phe Asp Leu Thr Ala Thr Thr Thr Tyr Gly Glu 485 490 495
	Asn Ile Tyr Leu Val Gly Ser Ile Ser Gln Leu Gly Asp Trp Glu Thr 500 505 510
	Ser Asp Gly Ile Ala Leu Ser Ala Asp Lys Tyr Thr Ser Ser Asp Pro 515 520 525
	Leu Trp Tyr Val Thr Val Thr Leu Pro Ala Gly Glu Ser Phe Glu Tyr 530 535 540
	Lys Phe Ile Arg Ile Glu Ser Asp Asp Ser Val Glu Trp Glu Ser Asp 545 550 555 560
	Pro Asn Arg Glu Tyr Thr Val Pro Gln Ala Cys Gly Thr Ser Thr Ala 565 570 575
	Thr Val Thr Asp Thr Trp Arg 580

<210> 6
 <211> 573
 <212> PRT
 <213> 篱边粘褶菌

<400> 6

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

Ala Gln Ser Val Asp Ser Tyr Val Ser Ser Glu Gly Pro Ile Ala Lys
 20 25 30

Ala Gly Val Leu Ala Asn Ile Gly Pro Asn Gly Ser Lys Ala Ser Gly
 35 40 45

Ala Ser Ala Gly Val Val Val Ala Ser Pro Ser Thr Ser Asp Pro Asp
 50 55 60

Tyr Trp Tyr Thr Trp Thr Arg Asp Ser Ser Leu Val Phe Lys Ser Leu
 65 70 75 80

Ile Asp Gln Tyr Thr Thr Gly Ile Asp Ser Thr Ser Ser Leu Arg Thr
 85 90 95

Leu Ile Asp Asp Phe Val Thr Ala Glu Ala Asn Leu Gln Gln Val Ser
 100 105 110

Asn Pro Ser Gly Thr Leu Thr Thr Gly Gly Leu Gly Glu Pro Lys Phe
 115 120 125

[0012]

Asn Val Asp Glu Thr Ala Phe Thr Gly Ala Trp Gly Arg Pro Gln Arg
 130 135 140

Asp Gly Pro Ala Leu Arg Ser Thr Ala Leu Ile Thr Tyr Gly Asn Trp
 145 150 155 160

Leu Leu Ser Asn Gly Asn Thr Ser Tyr Val Thr Ser Asn Leu Trp Pro
 165 170 175

Ile Ile Gln Asn Asp Leu Gly Tyr Val Val Ser Tyr Trp Asn Gln Ser
 180 185 190

Thr Tyr Asp Leu Trp Glu Glu Val Asp Ser Ser Ser Phe Phe Thr Thr
 195 200 205

Ala Val Gln His Arg Ala Leu Arg Glu Gly Ala Ala Phe Ala Thr Ala
 210 215 220

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

Leu Leu Cys Phe Leu Gln Ser Tyr Trp Asn Pro Ser Gly Gly Tyr Ile
 245 250 255

Thr Ala Asn Thr Gly Gly Gly Arg Ser Gly Lys Asp Ala Asn Thr Leu
 260 265 270

Leu Ala Ser Ile His Thr Tyr Asp Pro Ser Ala Gly Cys Asp Ala Ala
 275 280 285

[0013]

$\langle 210 \rangle$	7
$\langle 211 \rangle$	573
$\langle 212 \rangle$	PRT

<213> 篱边粘褶菌

<400> 7

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

Ala Gln Ser Val Asp Ser Tyr Val Ser Ser Glu Gly Pro Ile Ala Lys
20 25 30

Ala Gly Val Leu Ala Asn Ile Gly Pro Asn Gly Ser Lys Ala Ser Gly
35 40 45

Ala Ser Ala Gly Val Val Val Ala Ser Pro Ser Thr Ser Asp Pro Asp
50 55 60

Tyr Trp Tyr Thr Trp Thr Arg Asp Ser Ser Leu Val Phe Lys Ser Leu
65 70 75 80

Ile Asp Gln Tyr Thr Thr Gly Ile Asp Ser Thr Ser Ser Leu Arg Thr
85 90 95

Leu Ile Asp Asp Phe Val Thr Ala Glu Ala Asn Leu Gln Gln Val Ser
100 105 110

Asn Pro Ser Gly Thr Leu Thr Thr Gly Gly Leu Gly Glu Pro Lys Phe
115 120 125

Asn Val Asp Glu Thr Ala Phe Thr Gly Ala Trp Gly Arg Pro Gln Arg
130 135 140

[0014]

Asp Gly Ser Ala Leu Arg Ser Thr Ala Leu Ile Thr Tyr Gly Asn Trp
145 150 155 160

Leu Leu Ser Asn Gly Asn Thr Ser Tyr Val Thr Ser Lys Leu Trp Pro
165 170 175

Ile Ile Gln Asn Asp Leu Gly Tyr Val Val Ser Tyr Trp Asn Gln Ser
180 185 190

Thr Tyr Asp Leu Trp Glu Glu Val Asp Ser Ser Ser Phe Phe Thr Thr
195 200 205

Ala Val Gln His Arg Ala Leu Arg Glu Gly Ala Ala Phe Ala Thr Ala
210 215 220

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

Leu Leu Cys Phe Leu Gln Ser Tyr Trp Asn Pro Ser Gly Gly Tyr Ile
245 250 255

Thr Ala Asn Thr Gly Gly Gly Arg Ser Gly Lys Asp Ala Asn Thr Leu
260 265 270

Leu Ala Ser Ile His Thr Tyr Asp Pro Ser Ala Gly Cys Asp Ala Ala
275 280 285

Thr Phe Gln Pro Cys Ser Asp Lys Ala Leu Ser Asn Leu Lys Val Tyr

290	295	300
Val Asp Ser Phe Arg Ser Val Tyr Ser Ile Asn Ser Gly Ile Ala Ser 305 310 315 320		
Asn Ala Ala Val Ala Thr Gly Arg Tyr Pro Glu Asp Ser Tyr Gln Gly 325 330 335		
Gly Asn Pro Trp Tyr Leu Thr Thr Phe Ala Val Ala Glu Gln Leu Tyr 340 345 350		
Asp Ala Leu Asn Val Trp Gln Ser Gln Gly Ser Leu Glu Val Thr Ser 355 360 365		
Thr Ser Leu Ala Phe Phe Gln Gln Phe Ser Ser Gly Val Thr Ala Gly 370 375 380		
Thr Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Thr Tyr Ser Thr Leu Thr Ser Ala Ile 385 390 395 400		
Lys Ser Phe Ala Asp Gly Phe Val Thr Ile Asn Ala Lys Tyr Thr Pro 405 410 415		
Ser Asn Gly Gly Leu Ala Glu Gln Tyr Ser Lys Ser Asp Gly Ser Pro 420 425 430		
Leu Ser Ala Val Asp Leu Thr Trp Ser Tyr Ala Ser Ala Leu Thr Ala 435 440 445		
Phe Glu Ala Arg Asn Asp Thr Gln Phe Ala Gly Trp Gly Ala Ala Gly 450 455 460		
Leu Thr Val Pro Ser Ser Cys Ser Gly Asn Ser Gly Gly Pro Thr Val 465 470 475 480		
Ala Val Thr Phe Asn Val Asn Ala Glu Thr Val Trp Gly Glu Asn Ile 485 490 495		
Tyr Leu Thr Gly Ser Val Asp Ala Leu Glu Asn Trp Ser Ala Asp Asn 500 505 510		
Ala Leu Leu Leu Ser Ser Ala Asn Tyr Pro Thr Trp Ser Ile Thr Val 515 520 525		
Asn Leu Pro Ala Ser Thr Ala Ile Glu Tyr Lys Tyr Ile Arg Lys Asn 530 535 540		
Asn Gly Ala Val Thr Trp Glu Ser Asp Pro Asn Asn Ser Ile Thr Thr 545 550 555 560		
Pro Ala Ser Gly Ser Thr Thr Glu Asn Asp Thr Trp Arg 565 570		
<210> 8		
<211> 573		
<212> PRT		
<213> 密粘褶菌		
<400> 8		

	Met	Tyr	Arg	Phe	Leu	Val	Cys	Ala	Leu	Gly	Leu	Ala	Ala	Thr	Val	Leu	
	1				5					10					15		
	Ala	Gln	Ser	Val	Asp	Ser	Tyr	Val	Ser	Ser	Glu	Gly	Pro	Ile	Ala	Lys	
				20					25					30			
	Ala	Gly	Val	Leu	Ala	Asn	Ile	Gly	Pro	Asn	Gly	Ser	Lys	Ala	Ser	Gly	
			35					40					45				
	Ala	Ser	Ala	Gly	Val	Val	Val	Ala	Ser	Pro	Ser	Thr	Ser	Asp	Pro	Asp	
		50					55					60					
	Tyr	Trp	Tyr	Thr	Trp	Thr	Arg	Asp	Ser	Ser	Leu	Val	Phe	Lys	Ser	Leu	
	65					70					75					80	
	Ile	Asp	Gln	Tyr	Thr	Thr	Gly	Ile	Asp	Ser	Thr	Ser	Ser	Leu	Arg	Thr	
					85				90						95		
	Leu	Ile	Asp	Asp	Phe	Val	Thr	Ala	Glu	Ala	Asn	Leu	Gln	Gln	Val	Ser	
				100					105					110			
	Asn	Pro	Ser	Gly	Thr	Leu	Thr	Thr	Gly	Gly	Leu	Gly	Glu	Pro	Lys	Phe	
			115					120					125				
	Asn	Val	Asp	Glu	Thr	Ala	Phe	Thr	Gly	Ala	Trp	Gly	Arg	Pro	Gln	Arg	
		130					135					140					
[0016]	Asp	Gly	Pro	Ala	Leu	Arg	Ser	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	Tyr	Gly	Asn	Trp	
	145					150					155					160	
	Leu	Leu	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Ser	Tyr	Val	Thr	Ser	Ile	Leu	Trp	Pro	
				165						170					175		
	Ile	Ile	Gln	Asn	Asp	Leu	Gly	Tyr	Val	Val	Ser	Tyr	Trp	Asn	Gln	Ser	
				180				185						190			
	Thr	Tyr	Asp	Leu	Trp	Glu	Glu	Val	Asp	Ser	Ser	Ser	Phe	Phe	Thr	Thr	
		195					200						205				
	Ala	Val	Gln	His	Arg	Ala	Leu	Arg	Glu	Gly	Ala	Ala	Phe	Ala	Thr	Ala	
		210					215					220					
	Ile	Gly	Gln	Thr	Ser	Gln	Val	Ser	Ser	Tyr	Thr	Thr	Gln	Ala	Asp	Asn	
	225					230					235					240	
	Leu	Leu	Cys	Phe	Leu	Gln	Ser	Tyr	Trp	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Tyr	Ile	
				245						250					255		
	Thr	Ala	Asn	Thr	Gly	Gly	Gly	Arg	Ser	Gly	Lys	Asp	Ala	Asn	Thr	Leu	
				260					265						270		
	Leu	Ala	Ser	Ile	His	Thr	Tyr	Asp	Pro	Ser	Ala	Gly	Cys	Asp	Ala	Ala	
			275					280					285				
	Thr	Phe	Gln	Pro	Cys	Ser	Asp	Lys	Ala	Leu	Ser	Asn	Leu	Lys	Val	Tyr	
		290					295						300				

Phe Asp Ser Phe Arg Ser Val Tyr Ser Ile Asn Ser Gly Val Ala Ser
 305 310 315 320
 Asn Ala Ala Val Ala Thr Gly Arg Tyr Pro Glu Asp Ser Tyr Gln Gly
 325 330 335
 Gly Asn Pro Trp Tyr Leu Thr Thr Phe Ala Val Ala Glu Gln Leu Tyr
 340 345 350
 Asp Ala Leu Asn Val Trp Glu Ser Gln Gly Ser Leu Glu Val Thr Ser
 355 360 365
 Thr Ser Leu Ala Phe Phe Gln Gln Phe Ser Ser Gly Val Thr Ala Gly
 370 375 380
 Thr Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Thr Tyr Ser Thr Leu Thr Ser Ala Ile
 385 390 395 400
 Lys Asn Phe Ala Asp Gly Phe Val Ala Ile Asn Ala Lys Tyr Thr Pro
 405 410 415
 Ser Asn Gly Gly Leu Ala Glu Gln Tyr Ser Lys Ser Asp Gly Ser Pro
 420 425 430
 Leu Ser Ala Val Asp Leu Thr Trp Ser Tyr Ala Ser Ala Leu Thr Ala
 435 440 445
 Phe Glu Ala Arg Asn Asn Thr Gln Phe Ala Gly Trp Gly Ala Ala Gly
 450 455 460
 Leu Thr Val Pro Ser Ser Cys Ser Gly Asn Ser Gly Gly Pro Thr Val
 465 470 475 480
 Ala Val Thr Phe Asn Val Asn Ala Glu Thr Val Trp Gly Glu Asn Ile
 485 490 495
 Tyr Leu Thr Gly Ser Val Asp Ala Leu Glu Asn Trp Ser Ala Asp Asn
 500 505 510
 Ala Leu Leu Leu Ser Ser Ala Asn Tyr Pro Thr Trp Ser Ile Thr Val
 515 520 525
 Asn Leu Pro Ala Ser Thr Ala Ile Glu Tyr Lys Tyr Ile Arg Lys Asn
 530 535 540
 Asn Gly Ala Val Thr Trp Glu Ser Asp Pro Asn Asn Ser Ile Thr Thr
 545 550 555 560
 Pro Ala Ser Gly Ser Thr Thr Glu Asn Asp Thr Trp Arg
 565 570
 <210> 9
 <211> 573
 <212> PRT
 <213> 篱边粘榴菌
 <400> 9
 Met Tyr Arg Phe Leu Val Cys Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ser Val Leu
 1 5 10 15

Ala Gln Ser Val Asp Ser Tyr Val Ser Ser Glu Gly Pro Ile Ala Lys
 20 25 30
 Ala Gly Val Leu Ala Asn Ile Gly Pro Asn Gly Ser Lys Ala Ser Gly
 35 40 45
 Ala Ser Ala Gly Val Val Val Ala Ser Pro Ser Thr Ser Asp Pro Asp
 50 55 60
 Tyr Trp Tyr Thr Trp Thr Arg Asp Ser Ser Leu Val Phe Lys Ser Leu
 65 70 75 80
 Ile Asp Gln Tyr Thr Thr Gly Ile Asp Ser Thr Ser Ser Leu Arg Thr
 85 90 95
 Leu Ile Asp Asp Phe Val Thr Ala Glu Ala Asn Leu Gln Gln Val Ser
 100 105 110
 Asn Pro Ser Gly Thr Leu Thr Thr Gly Gly Leu Gly Glu Pro Lys Phe
 115 120 125
 Asn Val Asp Glu Thr Ala Phe Thr Gly Ala Trp Gly Arg Pro Gln Arg
 130 135 140
 Asp Gly Pro Ala Leu Arg Ser Thr Ala Leu Ile Thr Tyr Gly Asn Trp
 145 150 155 160
 [0018] Leu Leu Ser Asn Gly Asn Thr Ser Tyr Val Thr Ser Asn Leu Trp Pro
 165 170 175
 Ile Ile Gln Asn Asp Leu Gly Tyr Val Val Ser Tyr Trp Asn Gln Ser
 180 185 190
 Thr Tyr Asp Leu Trp Gln Glu Val Asp Ser Ser Ser Phe Phe Thr Thr
 195 200 205
 Ala Val Gln His Arg Ala Leu Arg Glu Gly Ala Ala Phe Ala Thr Ala
 210 215 220
 Ile Gly Gln Thr Ser Gln Val Ser Ser Tyr Thr Thr Gln Ala Asp Asn
 225 230 235 240
 Leu Leu Cys Phe Leu Gln Ser Tyr Trp Asn Pro Ser Gly Gly Tyr Ile
 245 250 255
 Thr Ala Asn Thr Gly Gly Gly Arg Ser Gly Lys Asp Ala Asn Thr Leu
 260 265 270
 Leu Ala Ser Ile His Thr Tyr Asp Pro Ser Ala Gly Cys Asp Ala Ala
 275 280 285
 Thr Phe Gln Pro Cys Ser Asp Lys Ala Leu Ser Asn Leu Lys Val Tyr
 290 295 300
 Val Asp Ser Phe Arg Ser Val Tyr Ser Ile Asn Ser Gly Ile Ala Ser
 305 310 315 320

```

Asn Ala Ala Val Ala Thr Gly Arg Tyr Pro Glu Asp Ser Tyr Gln Gly
      325              330              335

Gly Asn Pro Trp Tyr Leu Thr Thr Phe Ala Val Ala Glu Gln Leu Tyr
      340              345              350

Asp Ala Leu Asn Val Trp Glu Leu Gln Gly Ser Leu Glu Val Thr Ser
      355              360              365

Thr Ser Leu Ala Phe Phe Gln Gln Phe Ser Ser Gly Val Thr Ala Gly
      370              375              380

Thr Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Thr Tyr Ser Thr Leu Thr Ser Ala Ile
      385              390              395              400

Lys Ser Phe Ala Asp Gly Phe Val Ala Ile Asn Ala Lys Tyr Thr Pro
      405              410              415

Ser Asn Gly Gly Leu Ala Glu Gln Tyr Ser Lys Ser Asp Gly Ser Pro
      420              425              430

Leu Ser Ala Val Asp Leu Thr Trp Ser Tyr Ala Ser Ala Leu Thr Ala
      435              440              445

Phe Glu Ala Arg Asn Asp Thr Gln Phe Ala Gly Trp Gly Ala Ala Ser
      450              455              460

Leu Thr Val Pro Ser Ser Cys Ser Gly Asn Ser Gly Gly Pro Thr Val
[0019] 465              470              475              480

Ala Val Thr Phe Asn Val Asn Ala Glu Thr Val Trp Gly Glu Asn Ile
      485              490              495

Tyr Leu Thr Gly Ser Val Asp Ala Leu Glu Asn Trp Ser Ala Asp Asn
      500              505              510

Ala Leu Leu Leu Ser Ser Ala Asn Tyr Pro Thr Trp Ser Ile Thr Val
      515              520              525

Asn Leu Pro Ala Ser Thr Ala Ile Glu Tyr Lys Tyr Ile Arg Lys Asn
      530              535              540

Asn Gly Ala Val Thr Trp Glu Ser Asp Pro Asn Asn Ser Ile Thr Thr
      545              550              555              560

Pro Ala Ser Gly Ser Thr Thr Glu Asn Asp Thr Trp Arg
      565              570

<210> 10
<211> 573
<212> PRT
<213> 篱边粘精菌

<400> 10

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

Ala Gln Ser Val Asp Ser Tyr Val Ser Ser Glu Gly Pro Val Ala Lys

```

	20	25	30
	Ala Gly Val Leu Ala Asn Ile Gly Pro Asn Gly Ser Lys Ala Ser Gly 35 40 45		
	Ala Ser Ala Gly Val Val Val Ala Ser Pro Ser Thr Ser Asp Pro Asp 50 55 60		
	Tyr Trp Tyr Thr Trp Thr Arg Asp Ser Ser Leu Val Phe Lys Ser Leu 65 70 75 80		
	Ile Asp Gln Tyr Thr Thr Gly Ile Asp Ser Thr Ser Ser Leu Arg Thr 85 90 95		
	Leu Ile Asp Asp Phe Val Thr Ala Gln Ala Asn Leu Gln Gln Val Ser 100 105 110		
	Asn Pro Ser Gly Thr Leu Thr Thr Gly Gly Leu Gly Glu Pro Lys Phe 115 120 125		
	Asn Val Asp Glu Thr Ala Phe Thr Gly Ala Trp Gly Arg Pro Gln Arg 130 135 140		
	Asp Gly Pro Ala Leu Arg Ser Thr Ala Leu Ile Thr Tyr Gly Asn Trp 145 150 155 160		
	Leu Leu Ser Asn Gly Asn Thr Ser Tyr Val Thr Ser Asn Leu Trp Pro 165 170 175		
[0020]	Ile Ile Gln Asn Asp Leu Gly Tyr Val Val Ser Tyr Trp Asn Gln Ser 180 185 190		
	Thr Tyr Asp Leu Trp Glu Glu Val Asp Ser Ser Ser Phe Phe Thr Thr 195 200 205		
	Ala Val Gln His Arg Ala Leu Arg Glu Gly Ala Ala Phe Ala Thr Ala 210 215 220		
	Ile Gly Gln Thr Ser Gln Val Ser Ser Tyr Thr Thr Gln Ala Asp Asn 225 230 235 240		
	Leu Leu Cys Phe Leu Gln Ser Tyr Trp Asn Pro Ser Gly Gly Tyr Ile 245 250 255		
	Thr Ala Asn Thr Gly Gly Gly Arg Ser Gly Lys Asp Ala Asn Thr Leu 260 265 270		
	Leu Ala Ser Ile His Thr Tyr Asp Pro Ser Ala Gly Cys Asp Ala Ala 275 280 285		
	Thr Phe Gln Pro Cys Ser Asp Lys Ala Leu Ser Asn Leu Lys Val Tyr 290 295 300		
	Val Asp Ser Phe Arg Ser Ile Tyr Ser Ile Asn Ser Gly Ile Ala Ser 305 310 315 320		
	Asn Ala Ala Val Ala Thr Gly Arg Tyr Pro Glu Asp Ser Tyr Gln Gly 325 330 335		

	Gly	Asn	Pro	Trp	Tyr	Leu	Thr	Thr	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Gln	Leu	Tyr	
				340					345					350			
	Asp	Ala	Leu	Asn	Val	Trp	Glu	Ser	Gln	Gly	Ser	Leu	Glu	Val	Thr	Ser	
			355					360					365				
	Thr	Ser	Leu	Ala	Phe	Phe	Gln	Gln	Phe	Ser	Ser	Gly	Val	Thr	Ala	Gly	
			370				375					380					
	Thr	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Thr	Tyr	Ser	Thr	Leu	Thr	Ser	Ala	Ile	
	385					390					395					400	
	Lys	Ser	Phe	Ala	Asp	Gly	Phe	Val	Ala	Ile	Asn	Ala	Lys	Tyr	Thr	Pro	
				405						410					415		
	Ser	Asn	Gly	Gly	Leu	Ala	Glu	Gln	Tyr	Ser	Lys	Ser	Asp	Gly	Ser	Pro	
			420					425					430				
	Leu	Ser	Ala	Val	Asp	Leu	Thr	Trp	Ser	Tyr	Ala	Ser	Ala	Leu	Thr	Ala	
			435				440						445				
	Phe	Glu	Ala	Arg	Asn	Asp	Thr	Gln	Phe	Ala	Gly	Trp	Gly	Ala	Ala	Gly	
		450				455					460						
	Leu	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Cys	Ser	Gly	Asn	Ser	Gly	Gly	Pro	Thr	Val	
	465					470				475						480	
[0021]	Ala	Val	Thr	Phe	Asn	Val	Asn	Ala	Glu	Thr	Val	Trp	Gly	Glu	Asn	Ile	
				485					490					495			
	Tyr	Leu	Thr	Gly	Ser	Val	Asp	Ala	Leu	Glu	Asn	Trp	Ser	Ala	Asp	Asn	
			500					505					510				
	Ala	Leu	Leu	Leu	Ser	Ser	Ala	Asn	Tyr	Pro	Thr	Trp	Ser	Ile	Thr	Val	
		515					520					525					
	Asn	Leu	Pro	Ala	Ser	Thr	Ala	Ile	Glu	Tyr	Lys	Tyr	Ile	Arg	Lys	Asn	
		530					535				540						
	Asn	Gly	Ala	Val	Thr	Trp	Glu	Ser	Asp	Pro	Asn	Asn	Ser	Ile	Thr	Thr	
	545					550				555					560		
	Pro	Ala	Ser	Gly	Ser	Thr	Thr	Glu	Asn	Asp	Thr	Trp	Arg				
				565					570								
	<210>	11															
	<211>	573															
	<212>	PRT															
	<213>	褶菌属															
	<400>	11															
	Met	Tyr	Arg	Phe	Leu	Val	Cys	Ala	Leu	Gly	Leu	Ala	Ala	Thr	Val	Leu	
	1				5					10					15		
	Ala	Gln	Ser	Val	Asp	Ser	Tyr	Val	Ser	Ser	Glu	Gly	Pro	Val	Ala	Lys	
				20					25				30				

Ala Gly Val Leu Ala Asn Ile Gly Pro Asn Gly Ser Lys Ala Ser Gly
 35 40 45
 Ala Ser Ala Gly Val Val Val Ala Ser Pro Ser Thr Ser Asp Pro Asp
 50 55 60
 Tyr Trp Tyr Thr Trp Thr Arg Asp Ser Ser Leu Val Phe Lys Ser Leu
 65 70 75 80
 Ile Asp Gln Tyr Thr Thr Gly Ile Asp Ser Thr Ser Ser Leu Arg Thr
 85 90 95
 Leu Ile Asp Asp Phe Val Thr Ala Glu Ala Asn Leu Gln Gln Val Ser
 100 105 110
 Asn Pro Ser Gly Thr Leu Thr Thr Gly Gly Leu Gly Glu Pro Lys Phe
 115 120 125
 Asn Val Asp Glu Thr Ala Phe Thr Gly Ala Trp Gly Arg Pro Gln Arg
 130 135 140
 Asp Gly Pro Ala Leu Arg Ser Thr Ala Leu Ile Thr Tyr Gly Asn Trp
 145 150 155 160
 Leu Leu Ser Asn Gly Asn Thr Ser Tyr Val Thr Ser Asn Leu Trp Pro
 165 170 175
 Ile Ile Gln Asn Asp Leu Gly Tyr Val Val Ser Tyr Trp Asn Gln Ser
 180 185 190
 Thr Tyr Asp Leu Trp Glu Glu Val Asp Ser Ser Ser Phe Phe Thr Thr
 195 200 205
 Ala Val Gln His Arg Ala Leu Arg Glu Gly Ala Ala Phe Ala Thr Ala
 210 215 220
 Ile Gly Gln Thr Ser Gln Val Ser Ser Tyr Thr Thr Gln Ala Asp Asn
 225 230 235 240
 Leu Leu Cys Phe Leu Gln Ser Tyr Trp Asn Pro Ser Gly Gly Tyr Ile
 245 250 255
 Thr Ala Asn Thr Gly Gly Gly Arg Ser Gly Lys Asp Ala Asn Thr Leu
 260 265 270
 Leu Ala Ser Ile His Thr Tyr Asp Pro Ser Ala Gly Cys Asp Ala Ala
 275 280 285
 Thr Phe Gln Pro Cys Ser Asp Lys Ala Leu Ser Asn Leu Lys Val Tyr
 290 295 300
 Val Asp Ser Phe Arg Ser Ile Tyr Ser Ile Asn Ser Gly Ile Ala Ser
 305 310 315 320
 Asn Ala Ala Val Ala Thr Gly Arg Tyr Pro Glu Asp Ser Tyr Gln Gly
 325 330 335
 Gly Asn Pro Trp Tyr Leu Thr Thr Phe Ala Val Ala Glu Gln Leu Tyr

[0022]

340	345	350
Asp Ala Leu Asn Val Trp Glu Ser Gln Gly Ser Leu Glu Val Thr Ser 355	360	365
Thr Ser Leu Ala Phe Phe Gln Gln Phe Ser Ser Gly Val Thr Ala Gly 370	375	380
Thr Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Thr Tyr Ser Thr Leu Thr Ser Ala Ile 385	390	395
Lys Ser Phe Ala Asp Gly Phe Val Ala Ile Asn Ala Lys Tyr Thr Pro 405	410	415
Ser Asn Gly Gly Leu Ala Glu Gln Tyr Ser Lys Ser Asp Gly Ser Pro 420	425	430
Leu Ser Ala Val Asp Leu Thr Trp Ser Tyr Ala Ser Ala Leu Thr Ala 435	440	445
Phe Glu Ala Arg Asn Asp Thr Gln Phe Ala Gly Trp Gly Ala Ala Gly 450	455	460
Leu Thr Val Pro Ser Ser Cys Ser Gly Asn Ser Gly Gly Pro Thr Val 465	470	475
Ala Val Thr Phe Asn Val Asn Ala Glu Thr Val Trp Gly Glu Asn Ile 485	490	495
Tyr Leu Thr Gly Ser Val Asp Ala Leu Glu Asn Trp Ser Ala Asp Asn 500	505	510
Ala Leu Leu Leu Ser Ser Val Asn Tyr Pro Thr Trp Ser Ile Thr Val 515	520	525
Asn Leu Pro Ala Ser Thr Ala Ile Glu Tyr Lys Tyr Ile Arg Lys Asn 530	535	540
Asn Gly Ala Val Thr Trp Glu Ser Asp Pro Asn Asn Ser Ile Thr Thr 545	550	555
Pro Ala Ser Gly Ser Thr Thr Glu Asn Asp Thr Trp Arg 565	570	
<210> 12		
<211> 573		
<212> PRT		
<213> 密粘褶菌		
<400> 12		
Met Tyr Arg Phe Leu Val Cys Ala Leu Gly Leu Ala Ala Ser Val Leu 1	5	10
Ala Gln Ser Val Asp Ser Tyr Val Ser Ser Glu Gly Pro Ile Ala Lys 20	25	30
Ala Gly Val Leu Ala Asn Ile Gly Pro Asn Gly Ser Lys Ala Ser Gly 35	40	45

[0023]

[0024]

Ala	Ser	Ala	Gly	Val	Val	Val	Ala	Ser	Pro	Ser	Thr	Ser	Asp	Pro	Asp	
50						55					60					
Tyr	Trp	Tyr	Thr	Trp	Thr	Arg	Asp	Ser	Ser	Leu	Val	Phe	Lys	Ser	Leu	
65					70					75					80	
Ile	Asp	Gln	Tyr	Thr	Thr	Gly	Ile	Asp	Gly	Thr	Ser	Ser	Leu	Arg	Thr	
				85					90					95		
Leu	Ile	Asp	Asp	Phe	Val	Thr	Ala	Glu	Ala	Asn	Leu	Gln	Gln	Val	Ser	
			100					105					110			
Asn	Pro	Ser	Gly	Thr	Leu	Thr	Thr	Gly	Gly	Leu	Gly	Glu	Pro	Lys	Phe	
		115						120				125				
Asn	Val	Asp	Glu	Thr	Ala	Phe	Thr	Gly	Ala	Trp	Gly	Arg	Pro	Gln	Arg	
	130					135					140					
Asp	Gly	Pro	Ala	Leu	Arg	Ser	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	Tyr	Gly	Asn	Trp	
145					150					155					160	
Leu	Leu	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Ser	Tyr	Val	Thr	Ser	Asn	Leu	Trp	Pro	
			165						170					175		
Ile	Ile	Gln	Asn	Asp	Leu	Gly	Tyr	Val	Val	Ser	Tyr	Trp	Asn	Gln	Ser	
		180						185						190		
Thr	Tyr	Asp	Leu	Trp	Glu	Glu	Val	Asp	Ser	Ser	Ser	Phe	Phe	Thr	Thr	
		195					200					205				
Ala	Val	Gln	His	Arg	Ala	Leu	Arg	Glu	Gly	Ala	Ala	Phe	Ala	Thr	Ala	
	210					215					220					
Ile	Gly	Gln	Thr	Ser	Gln	Val	Ser	Ser	Tyr	Thr	Thr	Gln	Ala	Asp	Asn	
225					230					235					240	
Leu	Leu	Cys	Phe	Leu	Gln	Ser	Tyr	Trp	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Tyr	Ile	
			245						250					255		
Thr	Ala	Asn	Thr	Gly	Gly	Gly	Arg	Ser	Gly	Lys	Asp	Ala	Asn	Thr	Leu	
		260						265						270		
Leu	Ala	Ser	Ile	His	Thr	Tyr	Asp	Pro	Ser	Ala	Gly	Cys	Asp	Ala	Ala	
		275					280					285				
Thr	Phe	Gln	Pro	Cys	Ser	Asp	Lys	Ala	Leu	Ser	Asn	Leu	Lys	Val	Tyr	
	290					295					300					
Val	Asp	Ser	Phe	Arg	Ser	Val	Tyr	Ser	Ile	Asn	Ser	Gly	Ile	Ala	Ser	
305					310					315					320	
Asn	Ala	Ala	Val	Ala	Thr	Gly	Arg	Tyr	Pro	Glu	Asp	Ser	Tyr	Gln	Gly	
			325						330					335		
Gly	Asn	Pro	Trp	Tyr	Leu	Thr	Thr	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Gln	Leu	Tyr	
			340					345						350		

Asp Ala Leu Asn Val Trp Glu Ser Gln Gly Ser Leu Glu Val Thr Ser
 355 360 365
 Thr Ser Leu Ala Phe Phe Gln Gln Phe Ser Ser Gly Val Thr Ala Gly
 370 375 380
 Thr Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Thr Tyr Ser Thr Leu Thr Ser Ala Ile
 385 390 395 400
 Lys Ser Phe Ala Asp Gly Phe Val Ala Val Asn Ala Lys Tyr Thr Pro
 405 410 415
 Ser Asn Gly Gly Leu Ala Glu Gln Tyr Ser Lys Ser Asp Gly Ser Pro
 420 425 430
 Leu Ser Ala Val Asp Leu Thr Trp Ser Tyr Ala Ser Ala Leu Thr Ala
 435 440 445
 Phe Glu Ala Arg Asn Asn Thr Gln Phe Ala Gly Trp Gly Ala Ala Gly
 450 455 460
 Leu Thr Val Pro Ser Ser Cys Ser Gly Asn Ser Gly Gly Pro Thr Val
 465 470 475 480
 Ala Val Thr Phe Asn Val Asn Ala Glu Thr Val Trp Gly Glu Asn Ile
 485 490 495
 Tyr Leu Thr Gly Ser Val Asp Ala Leu Glu Asn Trp Ser Ala Asp Asn
 500 505 510
 Ala Leu Leu Leu Ser Ser Ala Asn Tyr Pro Thr Trp Ser Ile Thr Val
 515 520 525
 Asn Leu Pro Ala Ser Thr Ala Ile Glu Tyr Lys Tyr Ile Arg Lys Asn
 530 535 540
 Asn Gly Ala Val Thr Trp Glu Ser Asp Pro Asn Asn Ser Ile Thr Thr
 545 550 555 560
 Pro Ala Ser Gly Ser Thr Thr Glu Asn Asp Thr Trp Arg
 565 570
 <210> 13
 <211> 576
 <212> PRT
 <213> 密粘褶菌
 <400> 13
 Met Tyr Arg Phe Leu Val Cys Ala Leu Gly Leu Leu Gly Thr Val Leu
 1 5 10 15
 Ala Gln Ser Val Asp Ser Tyr Val Gly Ser Glu Gly Pro Ile Ala Lys
 20 25 30
 Ala Gly Val Leu Ala Asn Ile Gly Pro Asn Gly Ser Lys Ala Ser Gly
 35 40 45
 Ala Ala Ala Gly Val Val Val Ala Ser Pro Ser Lys Ser Asp Pro Asp
 50 55 60

[0025]

	Tyr	Trp	Tyr	Thr	Trp	Thr	Arg	Asp	Ser	Ser	Leu	Val	Phe	Lys	Ser	Leu	
	65					70					75					80	
	Ile	Asp	Gln	Tyr	Thr	Thr	Gly	Ile	Asp	Ser	Thr	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	
				85						90					95		
	Leu	Ile	Asp	Ser	Phe	Val	Ile	Ala	Glu	Ala	Asn	Ile	Gln	Gln	Val	Ser	
				100					105						110		
	Asn	Pro	Ser	Gly	Thr	Leu	Thr	Thr	Gly	Gly	Leu	Gly	Glu	Pro	Lys	Phe	
			115					120					125				
	Asn	Val	Asp	Glu	Thr	Ala	Phe	Thr	Gly	Ala	Trp	Gly	Arg	Pro	Gln	Arg	
		130					135					140					
	Asp	Gly	Pro	Ala	Leu	Arg	Ala	Thr	Ala	Leu	Ile	Thr	Tyr	Gly	Asn	Trp	
	145					150					155					160	
	Leu	Leu	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Thr	Trp	Val	Thr	Ser	Thr	Leu	Trp	Pro	
				165						170					175		
	Ile	Ile	Gln	Asn	Asp	Leu	Asn	Tyr	Val	Val	Gln	Tyr	Trp	Asn	Gln	Thr	
				180					185						190		
	Thr	Phe	Asp	Leu	Trp	Glu	Glu	Val	Asn	Ser	Ser	Ser	Phe	Phe	Thr	Thr	
			195					200					205				
[0026]	Ala	Val	Gln	His	Arg	Ala	Leu	Arg	Glu	Gly	Ala	Ala	Phe	Ala	Thr	Lys	
		210					215					220					
	Ile	Gly	Gln	Thr	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Tyr	Thr	Thr	Gln	Ala	Ala	Asn	
	225					230					235					240	
	Leu	Leu	Cys	Phe	Leu	Gln	Ser	Tyr	Trp	Asn	Pro	Thr	Ser	Gly	Tyr	Ile	
				245						250					255		
	Thr	Ala	Asn	Thr	Gly	Gly	Gly	Arg	Ser	Gly	Lys	Asp	Ala	Asn	Thr	Leu	
				260					265						270		
	Leu	Ala	Ser	Ile	His	Thr	Tyr	Asp	Pro	Ser	Ala	Gly	Cys	Asp	Ala	Thr	
			275					280					285				
	Thr	Phe	Gln	Pro	Cys	Ser	Asp	Lys	Ala	Leu	Ser	Asn	Leu	Lys	Val	Tyr	
		290					295					300					
	Val	Asp	Ser	Phe	Arg	Ser	Val	Tyr	Ser	Ile	Asn	Ser	Gly	Ile	Ala	Ser	
	305					310					315					320	
	Asn	Ala	Ala	Val	Ala	Thr	Gly	Arg	Tyr	Pro	Glu	Asp	Ser	Tyr	Gln	Gly	
				325						330					335		
	Gly	Asn	Pro	Trp	Tyr	Leu	Thr	Thr	Phe	Ala	Val	Ala	Glu	Gln	Leu	Tyr	
				340					345						350		
	Asp	Ala	Leu	Asn	Val	Trp	Ala	Ala	Gln	Gly	Ser	Leu	Asn	Val	Thr	Ser	
		355					360						365				

[0027]

```

Ile Ser Leu Pro Phe Phe Gln Gln Phe Ser Ser Ser Val Thr Ala Gly
370                               375                               380

Thr Tyr Ala Ser Ser Ser Thr Thr Tyr Thr Thr Leu Thr Ser Ala Ile
385                               390                               395                               400

Lys Ser Phe Ala Asp Gly Phe Val Ala Ile Asn Ala Gln Tyr Thr Pro
                               405                               410                               415

Ser Asn Gly Gly Leu Ala Glu Gln Phe Ser Arg Ser Asn Gly Ser Pro
                               420                               425                               430

Val Ser Ala Val Asp Leu Thr Trp Ser Tyr Ala Ser Ala Leu Thr Ala
435                               440                               445

Phe Glu Ala Arg Asn Asn Thr Gln Phe Ala Gly Trp Gly Ala Val Gly
450                               455                               460

Leu Thr Val Pro Thr Ser Cys Ser Ser Asn Ser Gly Gly Gly Gly Gly
465                               470                               475                               480

Ser Thr Val Ala Val Thr Phe Asn Val Asn Ala Gln Thr Val Trp Gly
                               485                               490                               495

Glu Asn Ile Tyr Ile Thr Gly Ser Val Asp Ala Leu Ser Asn Trp Ser
                               500                               505                               510

Pro Asp Asn Ala Leu Leu Leu Ser Ser Ala Asn Tyr Pro Thr Trp Ser
515                               520                               525

Ile Thr Val Asn Leu Pro Ala Ser Thr Ala Ile Gln Tyr Lys Tyr Ile
530                               535                               540

Arg Lys Asn Asn Gly Ala Val Thr Trp Glu Ser Asp Pro Asn Asn Ser
545                               550                               555                               560

Ile Thr Thr Pro Ala Ser Gly Ser Val Thr Glu Asn Asp Thr Trp Arg
565                               570                               575

<210> 14
<211> 576
<212> PRT
<213> 密粘褶菌

<400> 14

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

Ala Gln Ser Val Asp Ser Tyr Val Gly Ser Glu Gly Pro Ile Ala Lys
20                               25                               30

Ala Gly Val Leu Ala Asn Ile Gly Pro Asn Gly Ser Lys Ala Ser Gly
35                               40                               45

Ala Ala Ala Gly Val Val Val Ala Ser Pro Ser Lys Ser Asp Pro Asp
50                               55                               60

Tyr Trp Tyr Thr Trp Thr Arg Asp Ser Ser Leu Val Phe Lys Ser Leu

```

65	70	75	80
Ile Asp Gln Tyr Thr Thr Gly Ile Asp Ser Thr Ser Ser Leu Arg Ser	85	90	95
Leu Ile Asp Ser Phe Val Ile Ala Glu Ala Asn Ile Gln Gln Val Ser	100	105	110
Asn Pro Ser Gly Thr Leu Thr Thr Gly Gly Leu Gly Glu Pro Lys Phe	115	120	125
Asn Val Asp Glu Thr Ala Phe Thr Gly Ala Trp Gly Arg Pro Gln Arg	130	135	140
Asp Gly Pro Ala Leu Arg Ala Thr Ala Leu Ile Thr Tyr Gly Asn Trp	145	150	155
Leu Leu Ser Asn Gly Asn Thr Thr Trp Val Thr Ser Thr Leu Trp Pro	165	170	175
Ile Ile Gln Asn Asp Leu Asn Tyr Val Val Gln Tyr Trp Asn Gln Thr	180	185	190
Thr Phe Asp Leu Trp Glu Glu Val Asn Ser Ser Ser Phe Phe Thr Thr	195	200	205
Ala Val Gln His Arg Ala Leu Arg Glu Gly Ala Ala Phe Ala Thr Lys	210	215	220
Ile Gly Gln Thr Ser Ser Val Ser Ser Tyr Thr Thr Gln Ala Ala Asn	225	230	235
Leu Leu Cys Phe Leu Gln Ser Tyr Trp Asn Pro Thr Ser Gly Tyr Ile	245	250	255
Thr Ala Asn Thr Gly Gly Gly Arg Ser Gly Lys Asp Ala Asn Thr Leu	260	265	270
Leu Ala Ser Ile His Thr Tyr Asp Pro Ser Ala Gly Cys Asp Ala Thr	275	280	285
Thr Phe Gln Pro Cys Ser Asp Lys Ala Leu Ser Asn Leu Lys Val Tyr	290	295	300
Val Asp Ser Phe Arg Ser Val Tyr Ser Ile Asn Ser Gly Ile Ala Ser	305	310	315
Asn Ala Ala Val Ala Thr Gly Arg Tyr Pro Glu Asp Ser Tyr Gln Gly	325	330	335
Gly Asn Pro Trp Tyr Leu Thr Thr Phe Ala Val Ala Gln Gln Leu Tyr	340	345	350
Asp Ala Leu Asn Val Trp Ala Ala Gln Gly Ser Leu Asn Val Thr Ser	355	360	365
Ile Ser Leu Pro Phe Phe Gln Gln Phe Ser Ser Ser Val Thr Ala Gly	370	375	380

[0028]

Thr Tyr Ala Ser Ser Ser Thr Thr Tyr Thr Thr Leu Thr Ser Ala Ile
 385 390 395 400
 Lys Ser Phe Ala Asp Gly Phe Val Ala Ile Asn Ala Gln Tyr Thr Pro
 405 410 415
 Ser Asn Gly Gly Leu Ala Glu Gln Phe Ser Arg Ser Asn Gly Ala Pro
 420 425 430
 Val Ser Ala Val Asp Leu Thr Trp Ser Tyr Ala Ser Ala Leu Thr Ala
 435 440 445
 Phe Glu Ala Arg Asn Asn Thr Gln Phe Ala Gly Trp Gly Ala Val Gly
 450 455 460
 Leu Thr Val Pro Thr Ser Cys Ser Ser Asn Ser Gly Gly Gly Gly Gly
 465 470 475 480
 Ser Thr Val Ala Val Thr Phe Asn Val Asn Ala Gln Thr Val Trp Gly
 485 490 495
 Glu Asn Ile Tyr Ile Thr Gly Ser Val Asp Ala Leu Ser Asn Trp Ser
 500 505 510
 Pro Asp Asn Ala Leu Leu Leu Ser Ser Ala Asn Tyr Pro Thr Trp Ser
 515 520 525
 [0029] Ile Thr Val Asn Leu Pro Ala Ser Thr Ala Ile Gln Tyr Lys Tyr Ile
 530 535 540
 Arg Lys Asn Asn Gly Ala Val Thr Trp Glu Ser Asp Pro Asn Asn Ser
 545 550 555 560
 Ile Thr Thr Pro Ala Ser Gly Ser Val Thr Glu Asn Asp Thr Trp Arg
 565 570 575
 <210> 15
 <211> 618
 <212> PRT
 <213> 埃默森菌状菌
 <400> 15
 Met Ala Ser Leu Val Ala Gly Ala Leu Cys Phe Leu Gly Leu Thr Pro
 1 5 10 15
 Ala Ala Phe Ala Arg Ala Pro Val Ala Ala Arg Ala Thr Gly Ser Leu
 20 25 30
 Asp Ser Phe Leu Ala Thr Glu Thr Pro Ile Ala Leu Gln Gly Val Leu
 35 40 45
 Asn Asn Ile Gly Pro Asn Gly Ala Asp Val Ala Gly Ala Ser Ala Gly
 50 55 60
 Ile Val Val Ala Ser Pro Ser Arg Ser Asp Pro Asn Tyr Phe Tyr Ser
 65 70 75 80

[0030]

Trp Thr Arg Asp Ala Ala Leu Thr Ala Lys Tyr Leu Val Asp Ala Phe
 85 90 95
 Ile Ala Gly Asn Lys Asp Leu Glu Gln Thr Ile Gln Gln Tyr Ile Ser
 100 105 110
 Ala Gln Ala Lys Val Gln Thr Ile Ser Asn Pro Ser Gly Asp Leu Ser
 115 120 125
 Thr Gly Gly Leu Gly Glu Pro Lys Phe Asn Val Asn Glu Thr Ala Phe
 130 135 140
 Thr Gly Pro Trp Gly Arg Pro Gln Arg Asp Gly Pro Ala Leu Arg Ala
 145 150 155 160
 Thr Ala Leu Ile Ala Tyr Ala Asn Tyr Leu Ile Asp Asn Gly Glu Ala
 165 170 175
 Ser Thr Ala Asp Glu Ile Ile Trp Pro Ile Val Gln Asn Asp Leu Ser
 180 185 190
 Tyr Ile Thr Gln Tyr Trp Asn Ser Ser Thr Phe Asp Leu Trp Glu Glu
 195 200 205
 Val Glu Gly Ser Ser Phe Phe Thr Thr Ala Val Gln His Arg Ala Leu
 210 215 220
 Val Glu Gly Asn Ala Leu Ala Thr Arg Leu Asn His Thr Cys Ser Asn
 225 230 235 240
 Cys Val Ser Gln Ala Pro Gln Val Leu Cys Phe Leu Gln Ser Tyr Trp
 245 250 255
 Thr Gly Ser Tyr Val Leu Ala Asn Phe Gly Gly Ser Gly Arg Ser Gly
 260 265 270
 Lys Asp Val Asn Ser Ile Leu Gly Ser Ile His Thr Phe Asp Pro Ala
 275 280 285
 Gly Gly Cys Asp Asp Ser Thr Phe Gln Pro Cys Ser Ala Arg Ala Leu
 290 295 300
 Ala Asn His Lys Val Val Thr Asp Ser Phe Arg Ser Ile Tyr Ala Ile
 305 310 315 320
 Asn Ser Gly Ile Ala Glu Gly Ser Ala Val Ala Val Gly Arg Tyr Pro
 325 330 335
 Glu Asp Val Tyr Gln Gly Gly Asn Pro Trp Tyr Leu Ala Thr Ala Ala
 340 345 350
 Ala Ala Glu Gln Leu Tyr Asp Ala Ile Tyr Gln Trp Lys Lys Ile Gly
 355 360 365
 Ser Ile Ser Ile Thr Asp Val Ser Leu Pro Phe Phe Gln Asp Ile Tyr
 370 375 380
 Pro Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr Asn Ser Gly Ser Thr Thr Phe Asn

[0031]

385	390	395	400
Asp Ile Ile Ser Ala Val Gln Thr Tyr Gly Asp Gly Tyr Leu Ser Ile	405	410	415
Val Glu Lys Tyr Thr Pro Ser Asp Gly Ser Leu Thr Glu Gln Phe Ser	420	425	430
Arg Thr Asp Gly Thr Pro Leu Ser Ala Ser Ala Leu Thr Trp Ser Tyr	435	440	445
Ala Ser Leu Leu Thr Ala Ser Ala Arg Arg Gln Ser Val Val Pro Ala	450	455	460
Ser Trp Gly Glu Ser Ser Ala Ser Ser Val Pro Ala Val Cys Ser Ala	465	470	475
Thr Ser Ala Thr Gly Pro Tyr Ser Thr Ala Thr Asn Thr Val Trp Pro	485	490	495
Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr Thr Thr Ser Ser Ala Pro Cys Thr	500	505	510
Thr Pro Thr Ser Val Ala Val Thr Phe Asp Glu Ile Val Ser Thr Ser	515	520	525
Tyr Gly Glu Thr Ile Tyr Leu Ala Gly Ser Ile Pro Glu Leu Gly Asn	530	535	540
Trp Ser Thr Ala Ser Ala Ile Pro Leu Arg Ala Asp Ala Tyr Thr Asn	545	550	555
Ser Asn Pro Leu Trp Tyr Val Thr Val Asn Leu Pro Pro Gly Thr Ser	565	570	575
Phe Glu Tyr Lys Phe Phe Lys Asn Gln Thr Asp Gly Thr Ile Val Trp	580	585	590
Glu Asp Asp Pro Asn Arg Ser Tyr Thr Val Pro Ala Tyr Cys Gly Gln	595	600	605
Thr Thr Ala Ile Leu Asp Asp Ser Trp Gln	610	615	
<210> 16			
<211> 828			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 杂合普鲁兰酶			
<400> 16			
Asp Ser Thr Ser Thr Glu Val Ile Val His Tyr His Arg Phe Asp Ser	1	5	10
Asn Tyr Ala Asn Trp Asp Leu Trp Met Trp Pro Tyr Gln Pro Val Asn	20	25	30

[0032]

Gly Asn Gly Ala Ala Tyr Glu Phe Ser Gly Lys Asp Asp Phe Gly Val
 35 40 45
 Lys Ala Asp Val Gln Val Pro Gly Asp Asp Thr Gln Val Gly Leu Ile
 50 55 60
 Val Arg Thr Asn Asp Trp Ser Gln Lys Asn Thr Ser Asp Asp Leu His
 65 70 75 80
 Ile Asp Leu Thr Lys Gly His Glu Ile Trp Ile Val Gln Gly Asp Pro
 85 90 95
 Asn Ile Tyr Tyr Asn Leu Ser Asp Ala Gln Ala Ala Ala Thr Pro Lys
 100 105 110
 Val Ser Asn Ala Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Thr Val Leu Ala Lys Leu
 115 120 125
 Thr Asn Pro Met Thr Leu Ser Asp Gly Ser Ser Gly Phe Thr Val Thr
 130 135 140
 Asp Lys Thr Thr Gly Glu Gln Ile Pro Val Thr Ala Ala Thr Asn Ala
 145 150 155 160
 Asn Ser Ala Ser Ser Ser Glu Gln Thr Asp Leu Val Gln Leu Thr Leu
 165 170 175
 Ala Ser Ala Pro Asp Val Ser His Thr Ile Gln Val Gly Ala Ala Gly
 180 185 190
 Tyr Glu Ala Val Asn Leu Ile Pro Arg Asn Val Leu Asp Ser Ser Gln
 195 200 205
 Tyr Tyr Tyr Ser Gly Asp Asp Leu Gly Asn Thr Tyr Thr His Lys Ala
 210 215 220
 Thr Thr Phe Lys Val Trp Ala Pro Thr Ser Thr Gln Val Asn Val Leu
 225 230 235 240
 Leu Tyr Asn Ser Ala Thr Gly Ser Val Thr Lys Thr Val Pro Met Thr
 245 250 255
 Ala Ser Gly His Gly Val Trp Glu Ala Thr Val Asn Gln Asn Leu Glu
 260 265 270
 Asn Trp Tyr Tyr Met Tyr Glu Val Thr Gly Gln Gly Ser Thr Arg Thr
 275 280 285
 Ala Val Asp Pro Tyr Ala Thr Ala Ile Ala Pro Asn Gly Thr Arg Gly
 290 295 300
 Met Ile Val Asp Leu Ala Lys Thr Asp Pro Ala Gly Trp Asn Ser Asp
 305 310 315 320
 Lys His Ile Thr Pro Lys Asn Ile Gln Asp Glu Val Ile Tyr Glu Met
 325 330 335
 Asp Val Arg Asp Phe Ser Ile Asp Pro Asn Ser Gly Met Lys Asn Lys

340	345	350
Gly Lys Tyr Leu Ala Leu Thr Glu Lys Gly Thr Lys Gly Pro Asp Gly 355	360	365
Val Lys Thr Gly Ile Asp Ser Leu Lys Gln Leu Gly Ile Thr His Val 370	375	380
Gln Leu Met Pro Val Phe Ala Phe Ala Ser Val Asp Glu Thr Asp Pro 385	390	395 400
Thr Gln Asp Asn Trp Gly Tyr Asp Pro Arg Asn Tyr Asp Val Pro Glu 405	410	415
Gly Gln Tyr Ala Thr Asn Ala Asn Gly Thr Ala Arg Ile Lys Glu Phe 420	425	430
Lys Glu Met Val Leu Ser Leu His Arg Glu His Ile Gly Val Asn Met 435	440	445
Asp Val Val Tyr Asn His Thr Phe Ala Thr Gln Ile Ser Asp Phe Asp 450	455	460
Lys Ile Val Pro Glu Tyr Tyr Tyr Arg Thr Asp Asp Ala Gly Asn Tyr 465	470	475 480
Thr Asn Gly Ser Gly Thr Gly Asn Glu Ile Ala Ser Glu Arg Pro Met 485	490	495
Val Gln Lys Phe Ile Ile Asp Ser Leu Lys Tyr Trp Val Asn Glu Tyr 500	505	510
His Ile Asp Gly Phe Arg Phe Asp Leu Met Ala Leu Leu Gly Lys Asp 515	520	525
Thr Met Ser Lys Ala Ala Ser Glu Leu His Ala Ile Asn Pro Gly Ile 530	535	540
Ala Leu Tyr Gly Glu Pro Trp Thr Gly Gly Thr Ser Ala Leu Pro Glu 545	550	555 560
Asp Gln Leu Leu Thr Lys Gly Ala Gln Lys Gly Met Gly Val Ala Val 565	570	575
Phe Asn Asp Asn Leu Arg Asn Ala Leu Asp Gly Asn Val Phe Asp Ser 580	585	590
Ser Ala Gln Gly Phe Ala Thr Gly Ala Thr Gly Leu Thr Asp Ala Ile 595	600	605
Lys Asn Gly Val Glu Gly Ser Ile Asn Asp Phe Thr Ser Ser Pro Gly 610	615	620
Glu Thr Ile Asn Tyr Val Thr Ser His Asp Asn Tyr Thr Leu Trp Asp 625	630	635 640
Lys Ile Ala Leu Ser Asn Pro Asn Asp Ser Glu Ala Asp Arg Ile Lys 645	650	655

[0033]

Met Asp Glu Leu Ala Gln Ala Val Val Met Thr Ser Gln Gly Val Pro
660 665 670

Phe Met Gln Gly Gly Glu Glu Met Leu Arg Thr Lys Gly Gly Asn Asp
675 680 685

Asn Ser Tyr Asn Ala Gly Asp Thr Val Asn Glu Phe Asp Trp Ser Arg
690 695 700

Lys Ala Gln Tyr Pro Asp Val Phe Asn Tyr Tyr Ser Gly Leu Ile His
705 710 715 720

Leu Arg Leu Asp His Pro Ala Phe Arg Met Thr Thr Ala Asn Glu Ile
725 730 735

Asn Ser His Leu Gln Phe Leu Asn Ser Pro Glu Asn Thr Val Ala Tyr
740 745 750

Glu Leu Thr Asp His Val Asn Lys Asp Lys Trp Gly Asn Ile Ile Val
755 760 765

Val Tyr Asn Pro Asn Lys Thr Ala Ala Thr Ile Asn Leu Pro Ser Gly
770 775 780

Lys Trp Ala Ile Asn Ala Thr Ser Gly Lys Val Gly Glu Ser Thr Leu
785 790 795 800

[0034]

Gly Gln Ala Glu Gly Ser Val Gln Val Pro Gly Ile Ser Met Met Ile
805 810 815

Leu His Gln Glu Val Ser Pro Asp His Gly Lys Lys
820 825

<210> 17

<211> 928

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 杂合普鲁兰酶

<400> 17

Ala Ser Ser Thr Glu Val Ile Val His Tyr His Arg Phe Asp Ala Asn
1 5 10 15

Tyr Ala Asn Trp Asp Leu Trp Met Trp Pro Tyr Gln Pro Val Asn Gly
20 25 30

Asn Gly Ala Ala Tyr Glu Phe Ser Gly Thr Asp Glu Phe Gly Val Thr
35 40 45

Ala Asp Val Gln Val Pro Gly Asp Asn Thr Gln Val Gly Leu Ile Val
50 55 60

Arg Lys Asn Asp Trp Ser Gln Lys Asn Thr Pro Asp Asp Leu His Ile
65 70 75 80

Asp Leu Ser Lys Gly His Glu Val Trp Ile Asn Gln Gly Asp Pro Thr

	85	90	95
	Ile Tyr Tyr Asn Leu Asn Asp Ala Glu Ala Ala Ala Val Pro Ala Val 100 105 110		
	Ser Asn Ala Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Thr Val Leu Ala Lys Leu Ser 115 120 125		
	Ser Pro Met Thr Leu Thr Asp Gly Ala Ser Gly Phe Thr Val Thr Asp 130 135 140		
	Glu Thr Thr Gly Glu Gln Ile Pro Val Val Ser Ala Glu Ser Ala Asn 145 150 155 160		
	Pro Val Thr Ala Val Leu Val Gly Asp Phe Gln Gln Ala Leu Gly Ala 165 170 175		
	Ser Gly Asn Trp Ser Pro Asp Asp Asp His Thr Lys Leu Ser Lys Ile 180 185 190		
	Asn Ser Asn Leu Tyr Gln Phe Thr Gly Thr Leu Pro Ala Gly Thr Tyr 195 200 205		
	Gln Tyr Lys Val Ala Leu Asp His Ser Trp Ser Ala Ser Tyr Pro Asn 210 215 220		
	Asn Asn Val Asn Leu Thr Val Pro Ala Gly Gly Thr Lys Val Thr Phe 225 230 235 240		
[0035]	Thr Tyr Ile Pro Ser Thr His Gln Val Phe Asp Ser Ile Asn Asn Pro 245 250 255		
	Asp Gln Thr Phe Pro Ser Ser Ser Ala Gly Thr Gln Ser Asp Leu Val 260 265 270		
	Gln Leu Thr Leu Ala Ser Ala Pro Asp Ile Thr His Asp Leu Gln Val 275 280 285		
	Val Ala Asp Gly Tyr Lys Gly Gly Lys Ile Leu Pro Arg Asn Val Leu 290 295 300		
	Asn Leu Pro Arg Tyr Tyr Tyr Ser Gly Asn Asp Leu Gly Asn Val Tyr 305 310 315 320		
	Ser Asn Lys Ala Thr Ala Phe Arg Val Trp Ala Pro Thr Ala Ser Asp 325 330 335		
	Val Gln Leu Leu Leu Tyr Asn Ser Glu Thr Gly Pro Val Thr Lys Gln 340 345 350		
	Leu Glu Met Gln Lys Ser Asp Asn Gly Thr Trp Lys Leu Lys Val Pro 355 360 365		
	Gly Asn Leu Lys Asn Trp Tyr Tyr Leu Tyr Gln Val Thr Val Asn Gly 370 375 380		
	Lys Thr Gln Thr Ala Val Asp Pro Tyr Val Arg Ala Ile Ser Val Asn 385 390 395 400		

	Ala Thr Arg Gly Met Ile Val Asp Leu Glu Asp Thr Asn Pro Pro Gly	405	410	415
	Trp Lys Glu Asp His Gln Gln Thr Pro Ala Asn Pro Val Asp Glu Val	420	425	430
	Ile Tyr Glu Val His Val Arg Asp Phe Ser Ile Asp Ala Asn Ser Gly	435	440	445
	Met Lys Asn Lys Gly Lys Tyr Leu Ala Phe Thr Glu His Gly Thr Lys	450	455	460
	Gly Pro Asp Gly Val Lys Thr Gly Ile Asp Ser Leu Lys Glu Leu Gly	465	470	475
	Ile Asn Ala Val Gln Leu Gln Pro Ile Glu Glu Phe Ala Ser Ile Asp	485	490	495
	Glu Thr Gln Pro Asn Met Tyr Asn Trp Gly Tyr Asp Pro Arg Asn Tyr	500	505	510
	Asn Val Pro Glu Gly Ala Tyr Ala Thr Thr Pro Glu Gly Thr Ala Arg	515	520	525
	Ile Thr Glu Phe Lys Gln Leu Ile Gln Ser Ile His Lys Asp Arg Ile	530	535	540
[0036]	Ala Ile Asn Met Asp Val Val Tyr Asn His Thr Phe Ser Thr Leu Ile	545	550	555
	Ser Asp Phe Asp Lys Ile Val Pro Gln Tyr Tyr Tyr Arg Thr Asp Asp	565	570	575
	Ala Gly Asn Tyr Thr Asn Gly Ser Gly Val Gly Asn Glu Phe Ala Thr	580	585	590
	Glu His Pro Met Ala Arg Lys Phe Val Leu Asp Ser Leu Lys Tyr Trp	595	600	605
	Val Thr Gln Tyr His Ile Asp Gly Phe Arg Phe Asp Leu Met Ala Leu	610	615	620
	Leu Gly Lys Asn Thr Met Ala Glu Ala Ser Lys Glu Leu His Ala Ile	625	630	635
	Asn Pro Gly Ile Val Leu Tyr Gly Glu Pro Trp Thr Gly Gly Thr Ser	645	650	655
	Gly Ile Thr Gly Asp Gln Leu Leu Thr Lys Gly Val Gln Lys Gly Leu	660	665	670
	Gly Ile Gly Val Phe Asn Asp Asn Leu Arg Asn Ala Leu Asp Gly Asn	675	680	685
	Val Phe Asp Ser Ser Ala Gln Gly Phe Ala Thr Gly Ala Thr Gly Leu	690	695	700

Thr Asp Ala Ile Lys Arg Gly Val Glu Gly Ser Ile Asn Asp Phe Thr
705 710 715 720

Ser Ser Pro Ser Glu Thr Ile Asn Tyr Val Ser Cys His Asp Asn Tyr
725 730 735

Thr Leu Trp Asp Lys Ile Ala Leu Ser Asn Pro Asn Asp Ser Glu Ala
740 745 750

Asp Arg Ile Lys Met Asp Glu Leu Ala Gln Ala Val Val Met Thr Ser
755 760 765

Gln Gly Val Pro Phe Met Gln Gly Gly Glu Glu Met Leu Arg Thr Lys
770 775 780

Gly Gly Asn Asp Asn Ser Tyr Asn Ala Gly Asp Thr Val Asn Glu Phe
785 790 795 800

Asp Trp Ser Arg Lys Ala Gln Tyr Pro Asp Val Phe Asn Tyr Tyr Ser
805 810 815

Gly Leu Ile His Leu Arg Leu Asp His Pro Ala Phe Arg Met Thr Thr
820 825 830

Ala Asn Glu Ile Asn Ser His Leu Gln Phe Leu Asn Ser Pro Glu Asn
835 840 845

[0037]

Thr Val Ala Tyr Glu Leu Thr Asp His Val Asn Lys Asp Lys Trp Gly
850 855 860

Asn Ile Ile Val Val Tyr Asn Pro Asn Lys Thr Ala Ala Thr Ile Asn
865 870 875 880

Leu Pro Ser Gly Lys Trp Ala Ile Asn Ala Thr Ser Gly Lys Val Gly
885 890 895

Glu Ser Thr Leu Gly Gln Ala Glu Gly Ser Val Gln Val Pro Gly Ile
900 905 910

Ser Met Met Ile Leu His Gln Glu Val Ser Pro Asp His Gly Lys Lys
915 920 925

<210> 18

<211> 928

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 杂合普鲁兰酶

<400> 18

Ala Ser Ser Thr Glu Val Ile Val His Tyr His Arg Phe Asp Ala Asn
1 5 10 15

Tyr Ala Asn Trp Asp Leu Trp Met Trp Pro Tyr Gln Pro Val Asn Gly
20 25 30

Asn Gly Ala Ala Tyr Glu Phe Ser Gly Thr Asp Glu Phe Gly Val Thr
35 40 45

	Ala Asp Val Gln Val Pro Gly Asp Asn Thr Gln Val Gly Leu Ile Val	
	50 55 60	
	Arg Lys Asn Asp Trp Ser Gln Lys Asn Thr Pro Asp Asp Leu His Ile	
	65 70 75 80	
	Asp Leu Ser Lys Gly His Glu Val Trp Ile Asn Gln Gly Asp Pro Thr	
	85 90 95	
	Ile Tyr Tyr Asn Leu Asn Asp Ala Glu Ala Ala Ala Val Pro Ala Val	
	100 105 110	
	Ser Asn Ala Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Thr Val Leu Ala Lys Leu Ser	
	115 120 125	
	Ser Pro Met Thr Leu Thr Asp Gly Ala Ser Gly Phe Thr Val Thr Asp	
	130 135 140	
	Glu Thr Thr Gly Glu Gln Ile Pro Val Val Ser Ala Glu Ser Ala Asn	
	145 150 155 160	
	Pro Val Thr Ala Val Leu Val Gly Asp Phe Gln Gln Ala Leu Gly Ala	
	165 170 175	
	Ser Gly Asn Trp Ser Pro Asp Asp Asp His Thr Lys Leu Ser Lys Ile	
	180 185 190	
[0038]	Asn Ser Asn Leu Tyr Gln Phe Thr Gly Thr Leu Pro Ala Gly Thr Tyr	
	195 200 205	
	Gln Tyr Lys Val Ala Leu Asp His Ser Trp Ser Ala Ser Tyr Pro Asn	
	210 215 220	
	Asn Asn Val Asn Leu Thr Val Pro Ala Gly Gly Thr Lys Val Thr Phe	
	225 230 235 240	
	Thr Tyr Ile Pro Ser Thr His Gln Val Phe Asp Ser Ile Asn Asn Pro	
	245 250 255	
	Asp Gln Thr Phe Pro Ser Ser Ser Ala Gly Thr Gln Ser Asp Leu Val	
	260 265 270	
	Gln Leu Thr Leu Ala Ser Ala Pro Asp Ile Thr His Asp Leu Gln Val	
	275 280 285	
	Val Ala Asp Gly Tyr Lys Gly Gly Lys Ile Leu Pro Arg Asn Val Leu	
	290 295 300	
	Asn Leu Pro Arg Tyr Tyr Tyr Ser Gly Asn Asp Leu Gly Asn Val Tyr	
	305 310 315 320	
	Ser Asn Lys Ala Thr Ala Phe Arg Val Trp Ala Pro Thr Ala Ser Asp	
	325 330 335	
	Val Gln Leu Leu Leu Tyr Asn Ser Gln Thr Gly Pro Val Thr Lys Gln	
	340 345 350	

[0039]

Leu Glu Met Gln Lys Ser Asp Asn Gly Thr Trp Lys Leu Lys Val Pro
 355 360 365
 Gly Asn Leu Lys Asn Trp Tyr Tyr Leu Tyr Gln Val Thr Val Asn Gly
 370 375 380
 Lys Thr Gln Thr Ala Val Asp Pro Tyr Val Arg Ala Ile Ser Val Asn
 385 390 395 400
 Ala Thr Arg Gly Met Ile Val Asp Leu Glu Asp Thr Asn Pro Pro Gly
 405 410 415
 Trp Lys Glu Asp His Gln Gln Thr Pro Ala Asn Pro Val Asp Glu Val
 420 425 430
 Ile Tyr Glu Val His Val Arg Asp Phe Ser Ile Asp Ala Asn Ser Gly
 435 440 445
 Met Lys Asn Lys Gly Lys Tyr Leu Ala Phe Thr Glu His Gly Thr Lys
 450 455 460
 Gly Pro Asp Gly Val Lys Thr Gly Ile Asp Ser Leu Lys Glu Leu Gly
 465 470 475 480
 Ile Asn Ala Val Gln Leu Gln Pro Ile Glu Glu Phe Ala Ser Ile Asp
 485 490 495
 Glu Thr Gln Pro Asn Met Tyr Asn Trp Gly Tyr Asp Pro Arg Asn Tyr
 500 505 510
 Asn Val Pro Glu Gly Ala Tyr Ala Thr Thr Pro Glu Gly Thr Ala Arg
 515 520 525
 Ile Thr Glu Phe Lys Gln Leu Ile Gln Ser Ile His Lys Asp Arg Ile
 530 535 540
 Ala Ile Asn Met Asp Val Val Tyr Asn His Thr Phe Ala Thr Gln Ile
 545 550 555 560
 Ser Asp Phe Asp Lys Ile Val Pro Glu Tyr Tyr Tyr Arg Thr Asp Asp
 565 570 575
 Ala Gly Asn Tyr Thr Asn Gly Ser Gly Thr Gly Asn Glu Ile Ala Ala
 580 585 590
 Glu Arg Pro Met Val Gln Lys Phe Ile Ile Asp Ser Leu Lys Tyr Trp
 595 600 605
 Val Asn Glu Tyr His Ile Asp Gly Phe Arg Phe Asp Leu Met Ala Leu
 610 615 620
 Leu Gly Lys Asp Thr Met Ser Lys Ala Ala Ser Glu Leu His Ala Ile
 625 630 635 640
 Asn Pro Gly Ile Ala Leu Tyr Gly Glu Pro Trp Thr Gly Gly Thr Ser
 645 650 655

Ala Leu Pro Gln Asp Gln Leu Leu Thr Lys Gly Ala Gln Lys Gly Met
 660 665 670
 Gly Val Ala Val Phe Asn Asp Asn Leu Arg Asn Ala Leu Asp Gly Asn
 675 680 685
 Val Phe Asp Ser Ser Ala Gln Gly Phe Ala Thr Gly Ala Thr Gly Leu
 690 695 700
 Thr Asp Ala Ile Lys Arg Gly Val Glu Gly Ser Ile Asn Asp Phe Thr
 705 710 715 720
 Ser Ser Pro Ser Glu Thr Ile Asn Tyr Val Ser Cys His Asp Asn Tyr
 725 730 735
 Thr Leu Trp Asp Lys Ile Ala Leu Ser Asn Pro Asn Asp Ser Glu Ala
 740 745 750
 Asp Arg Ile Lys Met Asp Glu Leu Ala Gln Ala Val Val Met Thr Ser
 755 760 765
 Gln Gly Val Pro Phe Met Gln Gly Gly Glu Glu Met Leu Arg Thr Lys
 770 775 780
 Gly Gly Asn Asp Asn Ser Tyr Asn Ala Gly Asp Thr Val Asn Glu Phe
 785 790 795 800
 Asp Trp Ser Arg Lys Ala Gln Tyr Pro Asp Val Phe Asn Tyr Tyr Ser
 805 810 815
 Gly Leu Ile His Leu Arg Leu Asp His Pro Ala Phe Arg Met Thr Thr
 820 825 830
 Ala Asn Glu Ile Asn Ser His Leu Gln Phe Leu Asn Ser Pro Glu Asn
 835 840 845
 Thr Val Ala Tyr Glu Leu Thr Asp His Val Asn Lys Asp Lys Trp Gly
 850 855 860
 Asn Ile Ile Val Val Tyr Asn Pro Asn Lys Thr Ala Ala Thr Ile Asn
 865 870 875 880
 Leu Pro Ser Gly Lys Trp Ala Ile Asn Ala Thr Ser Gly Lys Val Gly
 885 890 895
 Glu Ser Thr Leu Gly Gln Ala Glu Gly Ser Val Gln Val Pro Gly Ile
 900 905 910
 Ser Met Met Ile Leu His Gln Glu Val Ser Pro Asp His Gly Lys Lys
 915 920 925
 <210> 19
 <211> 471
 <212> PRT
 <213> 微小根毛霉
 <400> 19
 Met Lys Phe Ser Ile Ser Leu Ser Ala Ala Ile Val Leu Phe Ala Ala
 1 5 10 15

	Ala Thr Ser Leu Ala Ser Pro Leu Pro Gln Gln Gln Arg Tyr Gly Lys	
	20	25 30
	Arg Ala Thr Ser Asp Asp Trp Lys Ser Lys Ala Ile Tyr Gln Leu Leu	
	35	40 45
	Thr Asp Arg Phe Gly Arg Ala Asp Asp Ser Thr Ser Asn Cys Ser Asn	
	50	55 60
	Leu Ser Asn Tyr Cys Gly Gly Thr Tyr Glu Gly Ile Thr Lys His Leu	
	65	70 75 80
	Asp Tyr Ile Ser Gly Met Gly Phe Asp Ala Ile Trp Ile Ser Pro Ile	
	85	90 95
	Pro Lys Asn Ser Asp Gly Gly Tyr His Gly Tyr Trp Ala Thr Asp Phe	
	100	105 110
	Tyr Gln Leu Asn Ser Asn Phe Gly Asp Glu Ser Gln Leu Lys Ala Leu	
	115	120 125
	Ile Gln Ala Ala His Glu Arg Asp Met Tyr Val Met Leu Asp Val Val	
	130	135 140
	Ala Asn His Ala Gly Pro Thr Ser Asn Gly Tyr Ser Gly Tyr Thr Phe	
	145	150 155 160
[0041]	Gly Asp Ala Ser Leu Tyr His Pro Lys Cys Thr Ile Asp Tyr Asn Asp	
	165	170 175
	Gln Thr Ser Ile Glu Gln Cys Trp Val Ala Asp Glu Leu Pro Asp Ile	
	180	185 190
	Asp Thr Glu Asn Ser Asp Asn Val Ala Ile Leu Asn Asp Ile Val Ser	
	195	200 205
	Gly Trp Val Gly Asn Tyr Ser Phe Asp Gly Ile Arg Ile Asp Thr Val	
	210	215 220
	Lys His Ile Arg Lys Asp Phe Trp Thr Gly Tyr Ala Glu Ala Ala Gly	
	225	230 235 240
	Val Phe Ala Thr Gly Glu Val Phe Asn Gly Asp Pro Ala Tyr Val Gly	
	245	250 255
	Pro Tyr Gln Lys Tyr Leu Pro Ser Leu Ile Asn Tyr Pro Met Tyr Tyr	
	260	265 270
	Ala Leu Asn Asp Val Phe Val Ser Lys Ser Lys Gly Phe Ser Arg Ile	
	275	280 285
	Ser Glu Met Leu Gly Ser Asn Arg Asn Ala Phe Glu Asp Thr Ser Val	
	290	295 300
	Leu Thr Thr Phe Val Asp Asn His Asp Asn Pro Arg Phe Leu Asn Ser	
	305	310 315 320

Gln Ser Asp Lys Ala Leu Phe Lys Asn Ala Leu Thr Tyr Val Leu Leu
 325 330 335
 Gly Glu Gly Ile Pro Ile Val Tyr Tyr Gly Ser Glu Glu Gly Phe Ser
 340 345 350
 Gly Gly Ala Asp Pro Ala Asn Arg Glu Val Leu Trp Thr Thr Asn Tyr
 355 360 365
 Asp Thr Ser Ser Asp Leu Tyr Gln Phe Ile Lys Thr Val Asn Ser Val
 370 375 380
 Arg Met Lys Ser Asn Lys Ala Val Tyr Met Asp Ile Tyr Val Gly Asp
 385 390 395 400
 Asn Ala Tyr Ala Phe Lys His Gly Asp Ala Leu Val Val Leu Asn Asn
 405 410 415
 Tyr Gly Ser Gly Ser Thr Asn Gln Val Ser Phe Ser Val Ser Gly Lys
 420 425 430
 Phe Asp Ser Gly Ala Ser Leu Met Asp Ile Val Ser Asn Ile Thr Thr
 435 440 445
 Thr Val Ser Ser Asp Gly Thr Val Thr Phe Asn Leu Lys Asp Gly Leu
 450 455 460
 Pro Ala Ile Phe Thr Ser Ala
 465 470

[0042]

<210> 20
 <211> 514
 <212> PRT
 <213> 嗜热脂肪芽孢杆菌

<400> 20

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

115	120	125
Glu Ile Ser Gly Thr Tyr Gln Ile Gln Ala Trp Thr Lys Phe Asp Phe 130	135	140
Pro Gly Arg Gly Asn Thr Tyr Ser Ser Phe Lys Trp Arg Trp Tyr His 145	150	155 160
Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Glu Ser Arg Lys Leu Ser Arg Ile Tyr 165	170	175
Lys Phe Arg Gly Ile Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Asp Thr Glu 180	185	190
Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Leu Asp Met Asp His 195	200	205
Pro Glu Val Val Thr Gln Leu Lys Ser Trp Gly Lys Trp Tyr Val Asn 210	215	220
Thr Thr Asn Ile Asp Gly Phe Arg Leu Asp Ala Val Lys His Ile Lys 225	230	235 240
Phe Ser Phe Phe Pro Asp Trp Leu Ser Asp Val Arg Ser Gln Thr Gly 245	250	255
Lys Pro Leu Phe Thr Val Gly Glu Tyr Trp Ser Tyr Asp Ile Asn Lys 260	265	270
Leu His Asn Tyr Ile Met Lys Thr Asn Gly Thr Met Ser Leu Phe Asp 275	280	285
Ala Pro Leu His Asn Lys Phe Tyr Thr Ala Ser Lys Ser Gly Gly Thr 290	295	300
Phe Asp Met Arg Thr Leu Met Thr Asn Thr Leu Met Lys Asp Gln Pro 305	310	315 320
Thr Leu Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Thr Glu Pro Gly Gln 325	330	335
Ala Leu Gln Ser Trp Val Asp Pro Trp Phe Lys Pro Leu Ala Tyr Ala 340	345	350
Phe Ile Leu Thr Arg Gln Glu Gly Tyr Pro Cys Val Phe Tyr Gly Asp 355	360	365
Tyr Tyr Gly Ile Pro Gln Tyr Asn Ile Pro Ser Leu Lys Ser Lys Ile 370	375	380
Asp Pro Leu Leu Ile Ala Arg Arg Asp Tyr Ala Tyr Gly Thr Gln His 385	390	395 400
Asp Tyr Leu Asp His Ser Asp Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu Gly Val 405	410	415
Thr Glu Lys Pro Gly Ser Gly Leu Ala Ala Leu Ile Thr Asp Gly Pro 420	425	430

[0043]

Gly Gly Ser Lys Trp Met Tyr Val Gly Lys Gln His Ala Gly Lys Val
435 440 445

Phe Tyr Asp Leu Thr Gly Asn Arg Ser Asp Thr Val Thr Ile Asn Ser
450 455 460

Asp Gly Trp Gly Glu Phe Lys Val Asn Gly Gly Ser Val Ser Val Trp
465 470 475 480

Val Pro Arg Lys Thr Thr Val Ser Thr Ile Ala Trp Ser Ile Thr Thr
485 490 495

Arg Pro Trp Thr Asp Glu Phe Val Arg Trp Thr Glu Pro Arg Leu Val
500 505 510

Ala Trp

<210> 21

<211> 483

<212> PRT

<213> 地衣芽孢杆菌

<400> 21

Ala Asn Leu Asn Gly Thr Leu Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr Met Pro
1 5 10 15

[0044]

Asn Asp Gly Gln His Trp Arg Arg Leu Gln Asn Asp Ser Ala Tyr Leu
20 25 30

Ala Glu His Gly Ile Thr Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Tyr Lys Gly
35 40 45

Thr Ser Gln Ala Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr Asp Leu
50 55 60

Gly Glu Phe His Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly Thr Lys
65 70 75 80

Gly Glu Leu Gln Ser Ala Ile Lys Ser Leu His Ser Arg Asp Ile Asn
85 90 95

Val Tyr Gly Asp Val Val Ile Asn His Lys Gly Gly Ala Asp Ala Thr
100 105 110

Glu Asp Val Thr Ala Val Glu Val Asp Pro Ala Asp Arg Asn Arg Val
115 120 125

Ile Ser Gly Glu His Leu Ile Lys Ala Trp Thr His Phe His Phe Pro
130 135 140

Gly Arg Gly Ser Thr Tyr Ser Asp Phe Lys Trp His Trp Tyr His Phe
145 150 155 160

Asp Gly Thr Asp Trp Asp Glu Ser Arg Lys Leu Asn Arg Ile Tyr Lys
165 170 175

Phe Gln Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Ser Asn Glu Asn Gly Asn
 180 185 190
 Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Tyr Asp His Pro Asp Val
 195 200 205
 Ala Ala Glu Ile Lys Arg Trp Gly Thr Trp Tyr Ala Asn Glu Leu Gln
 210 215 220
 Leu Asp Gly Phe Arg Leu Asp Ala Val Lys His Ile Lys Phe Ser Phe
 225 230 235 240
 Leu Arg Asp Trp Val Asn His Val Arg Glu Lys Thr Gly Lys Glu Met
 245 250 255
 Phe Thr Val Ala Glu Tyr Trp Gln Asn Asp Leu Gly Ala Leu Glu Asn
 260 265 270
 Tyr Leu Asn Lys Thr Asn Phe Asn His Ser Val Phe Asp Val Pro Leu
 275 280 285
 His Tyr Gln Phe His Ala Ala Ser Thr Gln Gly Gly Gly Tyr Asp Met
 290 295 300
 Arg Lys Leu Leu Asn Gly Thr Val Val Ser Lys His Pro Leu Lys Ser
 305 310 315 320
 Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Thr Gln Pro Gly Gln Ser Leu Glu
 325 330 335
 Ser Thr Val Gln Thr Trp Phe Lys Pro Leu Ala Tyr Ala Phe Ile Leu
 340 345 350
 Thr Arg Glu Ser Gly Tyr Pro Gln Val Phe Tyr Gly Asp Met Tyr Gly
 355 360 365
 Thr Lys Gly Asp Ser Gln Arg Glu Ile Pro Ala Leu Lys His Lys Ile
 370 375 380
 Glu Pro Ile Leu Lys Ala Arg Lys Gln Tyr Ala Tyr Gly Ala Gln His
 385 390 395 400
 Asp Tyr Phe Asp His His Asp Ile Val Gly Trp Thr Arg Glu Gly Asp
 405 410 415
 Ser Ser Val Ala Asn Ser Gly Leu Ala Ala Leu Ile Thr Asp Gly Pro
 420 425 430
 Gly Gly Ala Lys Arg Met Tyr Val Gly Arg Gln Asn Ala Gly Gln Thr
 435 440 445
 Trp His Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ser Glu Pro Val Val Ile Asn Ser
 450 455 460
 Gln Gly Trp Gly Glu Phe His Val Asn Gly Gly Ser Val Ser Ile Tyr
 465 470 475 480
 Val Gln Arg

[0045]

<210> 22
 <211> 483
 <212> PRT
 <213> 解淀粉芽孢杆菌

<400> 22

Val Asn Gly Thr Leu Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr Thr Pro Asn Asp
 1 5 10 15

Gly Gln His Trp Lys Arg Leu Gln Asn Asp Ala Glu His Leu Ser Asp
 20 25 30

Ile Gly Ile Thr Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Tyr Lys Gly Leu Ser
 35 40 45

Gln Ser Asp Asn Gly Tyr Gly Pro Tyr Asp Leu Tyr Asp Leu Gly Glu
 50 55 60

Phe Gln Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly Thr Lys Ser Glu
 65 70 75 80

Leu Gln Asp Ala Ile Gly Ser Leu His Ser Arg Asn Val Gln Val Tyr
 85 90 95

Gly Asp Val Val Leu Asn His Lys Ala Gly Ala Asp Ala Thr Glu Asp
 100 105 110

[0046]

Val Thr Ala Val Glu Val Asn Pro Ala Asn Arg Asn Gln Glu Thr Ser
 115 120 125

Glu Glu Tyr Gln Ile Lys Ala Trp Thr Asp Phe Arg Phe Pro Gly Arg
 130 135 140

Gly Asn Thr Tyr Ser Asp Phe Lys Trp His Trp Tyr His Phe Asp Gly
 145 150 155 160

Ala Asp Trp Asp Glu Ser Arg Lys Ile Ser Arg Ile Phe Lys Phe Arg
 165 170 175

Gly Glu Gly Lys Ala Trp Asp Trp Glu Val Ser Ser Glu Asn Gly Asn
 180 185 190

Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Val Asp Tyr Asp His Pro Asp Val
 195 200 205

Val Ala Glu Thr Lys Lys Trp Gly Ile Trp Tyr Ala Asn Glu Leu Ser
 210 215 220

Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Ala Lys His Ile Lys Phe Ser Phe
 225 230 235 240

Leu Arg Asp Trp Val Gln Ala Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Glu Met
 245 250 255

Phe Thr Val Ala Glu Tyr Trp Gln Asn Asn Ala Gly Lys Leu Glu Asn
 260 265 270

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

[0047]

<210> 23
 <211> 483
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 重组 α -淀粉酶融合物

<400> 23

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

	Thr	Ser	Gln	Ala	Asp	Val	Gly	Tyr	Gly	Ala	Tyr	Asp	Leu	Tyr	Asp	Leu
	50						55					60				
	Gly	Glu	Phe	His	Gln	Lys	Gly	Thr	Val	Arg	Thr	Lys	Tyr	Gly	Thr	Lys
	65					70				75					80	
	Gly	Glu	Leu	Gln	Ser	Ala	Ile	Lys	Ser	Leu	His	Ser	Arg	Asp	Ile	Asn
					85					90					95	
	Val	Tyr	Gly	Asp	Val	Val	Ile	Asn	His	Lys	Gly	Gly	Ala	Asp	Ala	Thr
				100				105						110		
	Glu	Asp	Val	Thr	Ala	Val	Glu	Val	Asp	Pro	Ala	Asp	Arg	Asn	Arg	Val
			115				120					125				
	Ile	Ser	Gly	Glu	His	Leu	Ile	Lys	Ala	Trp	Thr	His	Phe	His	Phe	Pro
	130						135					140				
	Gly	Arg	Gly	Ser	Thr	Tyr	Ser	Asp	Phe	Lys	Trp	His	Trp	Tyr	His	Phe
	145					150					155				160	
	Asp	Gly	Thr	Asp	Trp	Asp	Glu	Ser	Arg	Lys	Leu	Asn	Arg	Ile	Tyr	Lys
					165					170					175	
	Phe	Gln	Gly	Lys	Ala	Trp	Asp	Trp	Glu	Val	Ser	Asn	Glu	Asn	Gly	Asn
				180					185					190		
[0048]	Tyr	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ala	Asp	Ile	Asp	Tyr	Asp	His	Pro	Asp	Val
			195				200						205			
	Ala	Ala	Glu	Ile	Lys	Arg	Trp	Gly	Thr	Trp	Tyr	Ala	Asn	Glu	Leu	Gln
		210					215					220				
	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Leu	Asp	Ala	Val	Lys	His	Ile	Lys	Phe	Ser	Phe
	225					230					235					240
	Leu	Arg	Asp	Trp	Val	Asn	His	Val	Arg	Glu	Lys	Thr	Gly	Lys	Glu	Met
				245						250					255	
	Phe	Thr	Val	Ala	Glu	Tyr	Trp	Gln	Asn	Asp	Leu	Gly	Ala	Leu	Glu	Asn
			260						265					270		
	Tyr	Leu	Asn	Lys	Thr	Asn	Phe	Asn	His	Ser	Val	Phe	Asp	Val	Pro	Leu
		275					280						285			
	His	Tyr	Gln	Phe	His	Ala	Ala	Ser	Thr	Gln	Gly	Gly	Gly	Tyr	Asp	Met
		290					295					300				
	Arg	Lys	Leu	Leu	Asn	Gly	Thr	Val	Val	Ser	Lys	His	Pro	Leu	Lys	Ser
	305					310					315				320	
	Val	Thr	Phe	Val	Asp	Asn	His	Asp	Thr	Gln	Pro	Gly	Gln	Ser	Leu	Glu
				325						330					335	
	Ser	Thr	Val	Gln	Thr	Trp	Phe	Lys	Pro	Leu	Ala	Tyr	Ala	Phe	Ile	Leu
				340					345					350		

Thr Arg Glu Ser Gly Tyr Pro Gln Val Phe Tyr Gly Asp Met Tyr Gly
 355 360 365
 Thr Lys Gly Asp Ser Gln Arg Gln Ile Pro Ala Leu Lys His Lys Ile
 370 375 380
 Glu Pro Ile Leu Lys Ala Arg Lys Gln Tyr Ala Tyr Gly Ala Gln His
 385 390 395 400
 Asp Tyr Phe Asp His His Asp Ile Val Gly Trp Thr Arg Glu Gly Asp
 405 410 415
 Ser Ser Val Ala Asn Ser Gly Leu Ala Ala Leu Ile Thr Asp Gly Pro
 420 425 430
 Gly Gly Ala Lys Arg Met Tyr Val Gly Arg Gln Asn Ala Gly Glu Thr
 435 440 445
 Trp His Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ser Glu Pro Val Val Ile Asn Ser
 450 455 460
 Glu Gly Trp Gly Glu Phe His Val Asn Gly Gly Ser Val Ser Ile Tyr
 465 470 475 480
 Val Gln Arg

[0049]

<210> 24
 <211> 483
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 芽孢杆菌杂合 α -淀粉酶
 <400> 24

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

	Ile Ser Gly Glu His Leu	Ile Lys Ala Trp Thr	His Phe His Phe Pro
	130	135	140
	Gly Arg Gly Ser Thr Tyr Ser Asp Phe Lys Trp Tyr Trp Tyr His Phe		
	145	150	155 160
	Asp Gly Thr Asp Trp Asp Glu Ser Arg Lys Leu Asn Arg Ile Tyr Lys		
		165 170	175
	Phe Gln Gly Lys Thr Trp Asp Trp Glu Val Ser Asn Glu Phe Gly Asn		
		180 185	190
	Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Phe Asp Tyr Asp His Pro Asp Val		
		195 200	205
	Val Ala Glu Ile Lys Arg Trp Gly Thr Trp Tyr Ala Asn Glu Leu Gln		
		210 215	220
	Leu Asp Gly Phe Arg Leu Asp Ala Val Lys His Ile Lys Phe Ser Phe		
		225 230	235 240
	Leu Arg Asp Trp Val Asn His Val Arg Glu Lys Thr Gly Lys Glu Met		
		245 250	255
	Phe Thr Val Ala Glu Tyr Trp Ser Asn Asp Leu Gly Ala Leu Glu Asn		
		260 265	270
[0050]	Tyr Leu Asn Lys Thr Asn Phe Asn His Ser Val Phe Asp Val Pro Leu		
		275 280	285
	His Tyr Gln Phe His Ala Ala Ser Thr Gln Gly Gly Gly Tyr Asp Met		
		290 295	300
	Arg Lys Leu Leu Asn Gly Thr Val Val Ser Lys His Pro Leu Lys Ser		
		305 310	315 320
	Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Thr Gln Pro Gly Gln Ser Leu Glu		
		325 330	335
	Ser Thr Val Gln Thr Trp Phe Lys Pro Leu Ala Tyr Ala Phe Ile Leu		
		340 345	350
	Thr Arg Glu Ser Gly Tyr Pro Gln Val Phe Tyr Gly Asp Met Tyr Gly		
		355 360	365
	Thr Lys Gly Asp Ser Gln Arg Glu Ile Pro Ala Leu Lys His Lys Ile		
		370 375	380
	Glu Pro Ile Leu Lys Ala Arg Lys Gln Tyr Ala Tyr Gly Ala Gln His		
		385 390	395 400
	Asp Tyr Phe Asp His His Asp Ile Val Gly Trp Thr Arg Glu Gly Asp		
		405 410	415
	Ser Ser Val Ala Asn Ser Gly Leu Ala Ala Leu Ile Thr Asp Gly Pro		
		420 425	430

Gly Gly Ala Lys Arg Met Tyr Val Gly Arg Gln Asn Ala Gly Glu Thr
435 440 445

Trp His Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ser Gln Pro Val Val Ile Asn Ser
450 455 460

Glu Gly Trp Gly Glu Phe His Val Asn Gly Gly Ser Val Ser Ile Tyr
465 470 475 480

Val Gln Arg

<210> 25

<211> 483

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 芽孢杆菌杂合 α -淀粉酶变体

<400> 25

Ala Ala Val Asn Gly Thr Leu Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr Thr Pro
1 5 10 15

Asn Asp Gly Gln His Trp Lys Arg Leu Gln Asn Asp Ala Glu His Leu
20 25 30

Ser Asp Ile Gly Ile Thr Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Tyr Lys Ala
35 40 45

[0051]

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

Gly Glu Phe Trp Gln Lys Gly Thr Val Arg Thr Lys Tyr Gly Thr Lys
65 70 75 80

Gly Glu Leu Gln Ser Ala Ile Lys Ser Leu His Ser Arg Asp Ile Asn
85 90 95

Val Tyr Gly Asp Val Val Ile Asn His Lys Ala Gly Ala Asp Ala Thr
100 105 110

Glu Asp Val Thr Ala Val Glu Val Asp Pro Ala Asp Arg Asn Arg Val
115 120 125

Ile Ser Gly Glu His Leu Ile Lys Ala Trp Thr His Phe His Phe Pro
130 135 140

Gly Arg Gly Ser Thr Tyr Ser Asp Phe Lys Trp Tyr Trp Tyr His Phe
145 150 155 160

Asp Gly Thr Asp Trp Asp Glu Ser Arg Lys Leu Asn Arg Ile Tyr Leu
165 170 175

Phe Gln Gly Lys Thr Trp Asp Trp Pro Val Ser Asn Glu Phe Gly Asn
180 185 190

Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Tyr Asp Tyr Asp Tyr Pro Asp Val
195 200 205

Val Ala Glu Ile Thr Arg Trp Gly Thr Trp Tyr Ala Asn Glu Leu Gln
 210 215 220
 Leu Asp Gly Phe Arg Leu Asp Ala Val Lys His Ile Lys Phe Ser Phe
 225 230 235 240
 Leu Arg Asp Trp Val Asn His Val Arg Glu Lys Thr Gly Lys Gln Met
 245 250 255
 Phe Thr Val Ala Glu Tyr Trp Ser Asn Asp Leu Gly Ala Leu Glu Asn
 260 265 270
 Tyr Leu Asn Lys Thr Asn Phe Asn His Ser Val Phe Asp Val Pro Leu
 275 280 285
 His Tyr Gln Phe His Ala Ala Ser Thr Gln Gly Gly Gly Tyr Asp Met
 290 295 300
 Arg Lys Leu Leu Asn Gly Thr Val Val Ser Lys His Pro Leu Lys Ser
 305 310 315 320
 Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Thr Gln Pro Gly Gln Ser Leu Glu
 325 330 335
 Ser Thr Val Gln Thr Trp Phe Lys Pro Leu Ala Tyr Ala Phe Ile Leu
 340 345 350
 Thr Arg Glu Ser Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr Gly Asp Met Tyr Gly
 355 360 365
 Thr Lys Gly Asp Ser Gln Arg Glu Ile Pro Ala Leu Lys His Lys Ile
 370 375 380
 Glu Pro Ile Leu Lys Ala Arg Lys Gln Tyr Ala Tyr Gly Ala Gln His
 385 390 395 400
 Asp Tyr Phe Asp His His Asp Ile Val Gly Trp Thr Arg Glu Gly Val
 405 410 415
 Ser Ser Val Ala Asn Ser Gly Leu Ala Ala Leu Ile Thr Asp Gly Pro
 420 425 430
 Gly Gly Ala Lys Trp Met Tyr Val Gly Arg Gln Asn Ala Gly Glu Thr
 435 440 445
 Trp His Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ser Glu Pro Val Val Ile Asn Ser
 450 455 460
 Glu Gly Trp Gly Glu Phe His Val Asn Gly Gly Ser Val Ser Ile Tyr
 465 470 475 480
 Val Gln Arg

[0052]