



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101473032 B

(45) 授权公告日 2013.08.21

(21) 申请号 200780022926.9

(22) 申请日 2007.06.06

(30) 优先权数据

60/815,788 2006.06.21 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008.12.19

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2007/070485 2007.06.06

(87) PCT申请的公布数据

W02007/149699 EN 2007.12.27

(73) 专利权人 诺维信北美公司

地址 美国北卡罗来纳州

专利权人 诺维信公司

(72) 发明人 刘继银 桑加·萨蒙 吴桂芳

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所  
11105

代理人 史悦

(51) Int. Cl.

C12N 9/28 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 1630754 A, 2005.06.22, 权利要求 1 -

11, 说明书第 2 页至第 4 页, 说明书摘要.

CN 1630754 A, 2005.06.22, 权利要求 1 -

11, 说明书第 2 页至第 4 页, 说明书摘要.

DD 264947 A1, 1989.02.15, 说明书摘要, 说

明书第 2 页第 6 至 7 行.

CN 1236409 A, 1999.11.24, 全文.

WO 2006/002034 A1, 2006.01.05, 全文.

审查员 苗荻

权利要求书1页 说明书26页  
序列表77页

(54) 发明名称

脱浆和煮炼方法

(57) 摘要

本发明涉及在织物制造过程中将含有淀粉或淀粉衍生物的上浆织物进行组合的脱浆和煮炼的方法, 所述方法包括将所述上浆的织物在 pH1-7 的处理水溶液中温育, 所述处理水溶液包含酸性淀粉酶和促进所述其它织物处理步骤的至少一种其它的酸性酶。本发明进一步涉及在所述方法中使用的组合物和所述组合物的用途。

1. 一种用于在织物制造过程中将含有淀粉或淀粉衍生物的上浆织物进行组合的脱浆和煮炼的方法,所述的织物是未染色的织物,所述方法包括将所述上浆织物在 pH 1-4 的处理水溶液中温育,所述处理水溶液包含酸性淀粉酶和至少一种酸性煮炼酶。
2. 权利要求 1 的方法,其中所述处理水溶液的 pH 范围是 2-4。
3. 权利要求 1 或 2 的方法,其中所述煮炼酶是酸性纤维素酶、酸性果胶酶、酸性脂肪酶、酸性木聚糖酶和 / 或酸性蛋白酶或它们的混合物。
4. 权利要求 1 或 2 的方法,其中所述酸性淀粉酶是细菌或真菌来源的。
5. 权利要求 4 的方法,其中所述酸性淀粉酶源自曲霉属的菌株,或根毛霉属的菌株。
6. 权利要求 5 的方法,其中所述曲霉属酸性淀粉酶是 SEQ ID NO :38 中公开的酸性黑曲霉  $\alpha$ -淀粉酶。
7. 权利要求 5 的方法,其中所述根毛霉酸性淀粉酶是 SEQ ID NO :48 中公开的微小根毛霉  $\alpha$ -淀粉酶。
8. 权利要求 1 或 2 或 5 的方法,其中所述酸性淀粉酶以 10-1,000AFU/L 处理溶液的浓度存在。
9. 权利要求 8 的方法,其中所述酸性淀粉酶以 100-500AFU/L 处理溶液的浓度存在。
10. 权利要求 4 的方法,其中所述细菌酸性淀粉酶源自芽孢杆菌属菌种 NCIB 12289、NCIB 12512、NCIB 12513、DSM 9375、DSMZ 12648、DSMZ 12649、KSM AP1378、KSM K36 或 KSM K38 的菌株。
11. 权利要求 1 的方法,其中所述酸性淀粉酶是 SEQ ID NO :48 中所示的杂合  $\alpha$ -淀粉酶,其包含来自微小根毛霉  $\alpha$ -淀粉酶的催化域 (CD),具有来自黑曲霉的糖结合域 (CBD)。
12. 权利要求 3 的方法,其中所述酸性果胶酶是酸性果胶酸裂合酶、酸性果胶裂合酶和酸性多聚半乳糖醛酸酶和 / 或酸性多聚半乳糖醛酸裂合酶。
13. 权利要求 3 的方法,其中所述酸性果胶酶源自曲霉属或芽孢杆菌属。
14. 权利要求 3 或 12 的方法,其中所述酸性果胶酶在添加酸性淀粉酶之前、同时或之后添加。
15. 权利要求 1 或 2 或 5 或 12 或 13 的方法,其中所述方法在 5-90°C 的温度进行。
16. 权利要求 15 的方法,其中所述方法在 20-90°C 的温度进行。
17. 权利要求 16 的方法,其中所述方法在 25-60°C 的温度进行 2-24 小时。
18. 权利要求 1 或 2 的方法,其中所述织物由天然或人造来源的纤维制造。
19. 权利要求 18 的方法,其中所述织物是棉织物、粗斜纹棉布、亚麻织物、苧麻、粘胶纤维、溶解性纤维或乙酸纤维素。
20. 权利要求 18 的方法,其中所述织物由动物来源的纤维制造。
21. 权利要求 18 的方法,其中所述织物由人造来源的聚酯纤维制造。
22. 权利要求 18 的方法,其中所述织物由尼龙、丙烯酸纤维或聚氨酯纤维制造。
23. 权利要求 18 的方法,其中所述织物是含有聚酯的织物或由基本上 100% 的聚酯组成的衣物。
24. 权利要求 23 的方法,其中所述聚酯织物是聚酯混纺物。

## 脱浆和煮炼方法

[0001] 参考序列表

[0002] 本申请含有计算机可读形式的序列表。将所述计算机可读形式通过引用并入本文。

### 发明领域

[0003] 本发明涉及在新织物 (new fabrics) 的制造过程中使用酸性淀粉酶和其它的酶例如纤维素酶、果胶酶、脂肪酶、木聚糖酶、蛋白酶等的组合的脱浆和煮炼的方法 (combined desizing and scouring processes)。

[0004] 发明背景

[0005] 将纤维 (fabric) 例如纤维素材料 (cellulosic material) 加工成服装工业备用材料涉及几个步骤:将纤维纺成纱线 (yarn);从纱线制造纺织的 (woven) 或编织的 (knit) 织物;和后续的预制 (preparation)、染色和整理 (finishing) 操作。预制过程产生适合于染色或整理的织物,该过程可以包括脱浆 (对于纺织物品)、煮炼和漂白。

[0006] WO 2006/002034 (Novozymes) 描述同时脱浆和煮炼的方法,包括用碱性  $\alpha$ -淀粉酶和碱性煮炼酶来处理织物。使用碱性  $\alpha$ -淀粉酶作为脱浆方法中的助剂 (auxiliary) 以促进在纺织过程中用作纱线上的保护性涂层的含淀粉浆料的去除。

[0007] 在纺织之后将浆料涂层完全去除对于在后续过程中确保最佳结果是重要的,在所述后续过程中通常对织物进行煮炼、漂白、染色和 / 或印刷。

[0008] 在脱浆步骤之后,包括去矿质步骤 (demineralization step) 从而去除金属离子如  $Mn^{2+}$ 、 $Fe^{2+}/Fe^{3+}$ 、 $Cu^{2+}$  等通常是理想的,如果在织物上存在所述金属离子,可能在稍后的工艺步骤中导致不均匀的漂白,或者甚至可能在漂白的织物中造成小孔。去矿质通常通过酸沉淀来完成,并且通常涉及添加酸例如乙酸或硫酸。

[0009] 需要改进的方法,用于同时的与其它织物处理步骤组合的脱浆,例如组合的脱浆和煮炼,组合的脱浆和生物抛光,组合的脱浆和摩蚀 (abrasion),以及组合的脱浆和碳化等。

[0010] 发明简述

[0011] 本发明涉及提供在酸性条件下特别是新织物的制造过程中使上浆织物脱浆的方法。

[0012] 在一个方面,本发明涉及在织物制造过程中组合对含有淀粉或淀粉衍生物的上浆织物进行组合的脱浆和其它织物处理步骤的方法,所述方法包括在具有 pH 1-7,优选 1-5,特别是 1-4 的处理水溶液中温育所述上浆织物,所述处理水溶液包含酸性淀粉酶和促进所述其它织物处理步骤的至少一种其它酸性酶。

[0013] 优选地,促进所述其它织物处理步骤的所述其它酸性酶是酸性纤维素酶、酸性果胶酶、酸性脂肪酶、酸性木聚糖酶和 / 或酸性蛋白酶。更优选地,促进所述其它织物处理步骤的酶是酸性果胶酶。

[0014] 优选地,酸性淀粉酶是细菌或真菌来源的,例如丝状真菌来源的。

[0015] 优选地, 酸性淀粉酶源自曲霉属 (*Aspergillus*), 优选地黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、泡盛曲霉 (*Aspergillus awamori*)、米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 或川地曲霉 (*Aspergillus kawachii*) 的菌株 (SEQ ID NO:37); 或根毛霉属 (*Rhizomucor*), 优选微小根毛霉 (*Rhizomucor pusillus*) 的菌株; 或多孔菌属 (*Meripilus*) 的菌株, 优选巨多孔菌 (*Meripilus giganteus*) 的菌株。更优选地, 曲霉属酸性淀粉酶是 SEQ IDNO:38 中公开的酸性黑曲霉  $\alpha$ -淀粉酶, 或它的变体。甚至更优选地, 酸性淀粉酶是 SEQ ID NO:48 中公开的微小根毛霉  $\alpha$ -淀粉酶, 或它的变体。

[0016] 优选地, 细菌酸性淀粉酶源自芽孢杆菌属 (genus *Bacillus*) 的菌株, 优选源自芽孢杆菌属菌种 (*Bacillus* sp.) 的菌株, 更优选地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*)、解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)、嗜热脂肪芽孢杆菌 (*Bacillus stearothermophilus*)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 或芽孢杆菌属菌种, 例如芽孢杆菌属菌种 NCIB 12289、NCIB 12512、NCIB 12513、DSM 9375、DSMZ 12648、DSMZ 12649、KSM AP1378、KSM K36 或 KSM K38 的菌株。

[0017] 杂合  $\alpha$ -淀粉酶也能够用于本发明中。优选地, 杂合  $\alpha$ -淀粉酶可以是由微小根毛霉  $\alpha$ -淀粉酶与黑曲霉葡糖淀粉酶接头和 SBD 组成的淀粉酶, 其作为 V039 公开在共同悬而未决的国际申请 no. PCT/US05/46725 的表 5 中。

[0018] 优选地, 酸性  $\alpha$ -淀粉酶以 1-3,000AFU/kg 织物, 优选 10-1,000AFU/kg 织物, 特别是 100-500AFU/kg 织物的浓度存在, 或以 1-3,000AFU/L 处理溶液, 优选 10-1,000AFU/L 处理溶液, 特别是 100-500AFU/L 处理溶液的浓度存在。

[0019] 优选地,  $\alpha$ -淀粉酶是 SEQ ID NO:48 中显示的杂合  $\alpha$ -淀粉酶, 其包含来自微小根毛霉  $\alpha$ -淀粉酶的催化域 (CD), 具有来自黑曲霉的糖结合域 (CBD)。

[0020] 通常而言存在三种类型的果胶酶 (pectic enzyme): 果胶酯酶 (pectesterase)、解聚酶 (depolymerising enzyme) 和原果胶酶 (protopectinase)。优选地, 所述酸性果胶酶是酸性果胶酸裂合酶、酸性果胶裂合酶、酸性多聚半乳糖醛酸酶和 / 或酸性多聚半乳糖醛酸裂合酶 (acid polygalacturonate lyase)。更有选地, 酸性果胶酶是 Pectinex BEE XXL、Pectinex Ultra; Pectinex Yield Mash、Pectinex XXL、Pectinex Smash XXL 或它们的混合物。

[0021] 优选地, 酸性果胶酶来自曲霉属 (genus *Aspergillus*)。

[0022] 优选地, 可以在添加酸性淀粉酶之前、同时或之后将酸性果胶酶添加至溶液中。

[0023] 优选地, 将所述方法在 5-90°C, 特别是 20-90°C 范围的温度进行。更优选地, 将所述方法在 25-60°C 的温度进行一段合适的时间, 优选 2-24 小时。

[0024] 优选地, pH 的范围是 pH 2-4。

[0025] 优选地, 织物是由天然或人造来源的纤维、棉织物、粗斜纹棉布 (denim)、亚麻织物 (linen)、苧麻 (ramie)、粘胶纤维 (viscose)、溶解性纤维 (lyocell) 或乙酸纤维素制造。

[0026] 优选地, 织物由来自动物来源的纤维, 特别是丝和毛料 (wool) 制造。

[0027] 优选地, 织物由人造或天然来源的聚酯纤维, 如聚(对苯二甲酸乙二醇酯) 或聚(乳酸) 或尼龙、丙烯酸纤维 (acrylic fiber) 或聚氨酯的纤维制造。织物优选是含聚酯织物基本上由 100% 聚酯组成的或衣物。聚酯织物是聚酯混纺物 (polyester blend), 如聚酯和纤维素混纺物 (cellulosic blend), 包括聚酯和棉混纺物; 聚酯和毛料混纺物; 聚酯和

丝混纺物；聚酯和丙烯酸纤维混纺物；聚酯和尼龙混纺物；聚酯、尼龙和聚氨酯混纺物；聚酯和聚氨酯混纺物，人造纤维 (rayon) (粘胶纤维)，乙酸纤维素和天丝 (tencel)。

[0028] 在另一个方面，本发明涉及包含酸性淀粉酶和酸性煮炼酶的组合物。酸性淀粉酶优选源自黑曲霉或微小根毛霉或它们的混合物。煮炼酶优选选自下组：酸性纤维素酶、酸性果胶酶、酸性脂肪酶、酸性木聚糖酶和 / 或酸性蛋白酶，和它们的组合。

[0029] 优选地，所述酸性果胶酶是 **Pectinex®BE XXL**、**Pectinex®BE Colour**、**Pectinex®Ultra**；**Pectinex™ Ultra SP-L**、**Pectinex®Yield Mash**、**Pectinex®XXL**、**Pectinex®Smash XXL**、**Pectinex®Smash** 和 / 或 **Pectinex™ AR**。所述酸性果胶酶优选源自曲霉属的菌株。所述组合物进一步包含稳定剂、表面活性剂、湿润剂、分散剂、多价螯合剂 (sequestering agent) 或乳化剂，或它们的组合。

[0030] 在第三个方面，本发明涉及如上所述的组合物用于同时的脱浆和煮炼的用途。

[0031] 本发明的发明人已经发现：当进行如权利要求中限定的本发明的同时脱浆和生物煮炼方法时，不需要去矿质。去矿质与上浆织物的脱浆和生物煮炼同时和 / 或在其后发生在相同的处理溶液中。与包括酸性脱浆步骤和去矿质步骤的传统方法相比，避免了 pH 调节步骤。本发明的另一个优势在于节省 / 降低了过程时间，因为脱浆、生物煮炼和去矿质可以同时进行。即使不将组合的脱浆和生物煮炼以及去矿质作为一步法进行，即同时进行，也会节省 / 降低例如酸和添加酸的人工的成本，因为避免了传统酸性脱浆步骤和去矿质步骤之间的 pH 调节步骤。与在碱性条件下的同时脱浆和生物煮炼相比，在酸性条件下的同时脱浆和生物煮炼能够在去掉去矿质步骤的同时而无额外的去矿质过程。

[0032] 在本发明的上下文中，术语“处理”的意思是提供易化处理 (facilitated processing) 的酶的组合，如组合的脱浆和煮炼、组合的脱浆和生物抛光、组合的脱浆和磨蚀等。

[0033] 在本发明的上下文中，术语“生物抛光”是对纱线表面的特殊处理，其改进织物在手感 (handle) 和外观方面的质量而不损失织物润湿性。生物抛光最重要效果的特征可能在于较少起毛 (fuzz) 和起球 (pilling)，增加的光彩 / 光泽 (gloss/luster)，改进的织物手感，增加的持久柔软性和改进的吸水性。

[0034] 在本发明的上下文中，术语“组合的”或“组合”的意思是所述组合的方法步骤，或所述组合在一个浴 (bath) (即，相同的处理溶液) 中顺序或同时进行。在优选的实施方式中，组合的方法或组合在一个浴 (即，相同的处理溶液) 中同时进行。

[0035] 在本发明的上下文中，术语“织物”可与术语“纺织品 (textile)”互换使用，意思是与“使用过的”洗衣织物相对的新制造的，优选未染色的织物、衣物、纤维、纱线或其它类型的加工织物。可以通过纺织、编织或无纺布 (non-woven) 操作从纤维制造织物。纺织和编织需要纱线作为输入 (input)，而无纺布是随机连接纤维的结果 (可以把纸张看作无纺布的)。

[0036] 纺织织物 (woven fabric) 是在织机上通过在以纵向拉直的 (stretched) 经纱 (warp yarn) 之间纺织“纬纱 (filling)”或纬纱线 (weft yarn) 制造。纺织前经纱必须上浆，以润滑和保护它们免于纺织过程中在高速插入纬纱 (filling yarn) 时的磨损。所述纬纱可以穿过经纱以“上一个 - 下一个 (over one-under the next)”的方式纺织 (平织 (plain weave))，或以“上一个 - 下两个 (over one-under two)” (斜纹织 (twill)) 或任

何其它无数种变换 (permutation)。力度、纹理和图案不仅与纱线的类型 / 质量相关,还与纺织的类型相关。通常,衣服 (dress)、衬衫、裤子、被单类 (sheeting's)、毛巾、帷帐 / 衣饰 (draperies) 等从纺织织物产生。

[0037] 编织 (knitting) 是通过将连锁的纱线环连接到一起形成织物。与由两种类型的纱线制造并且具有许多“末端” (ends) 的纺织相反,编织织物是从单根连续的纱线生产的。与纺织一样,有许多不同的方式把纱线环编到一起,并且最终织物的特性依赖于纱线和编织的类型。内衣、针织衫 (sweater)、袜子、运动衫、汗衫 (sweat shirt) 等是从编织织物得到的。

[0038] 无纺织物是通过以机械的、热的、化学的或溶剂介导的方法连接和 / 或连锁纤维和纤丝 (filament) 而制造的织物片。所得织物可以是以网状结构、层压材料 (laminates) 或膜的形式。典型实例是一次性婴儿尿布、毛巾、抹布、手术服 (surgical gown)、“环境友好” (environmental friendly) 型纤维、过滤介质、寝具、屋顶材料、二维织物的背衬 (backing) 和许多其它。

[0039] 根据本发明,所述方法可以应用于本领域中已知的任何上浆织物 (纺织的、编织的和无纺织的)。与在洗衣洗涤过程中待洗的经使用的和 / 或沾污的织物相反,将所述方法应用于新制造的上浆织物。在实施方式中,所述织物由天然和 / 或人造来源的纤维制造。在另一个实施方式中,所述织物由动物来源的纤维制造。具体而言,本发明的方法可以应用于含纤维素的织物或纤维素织物,例如棉、粘胶纤维、人造纤维、苧麻、亚麻织物、乙酸纤维素、粗斜纹棉布、溶解性纤维 (Tencel™, 由 Courtaulds Fibers 制造), 或它们的混合物,或任何这些纤维与合成纤维 (例如聚酯、聚酰胺、丙烯酸类或聚氨酯、尼龙、聚 (对苯二甲酸乙二醇酯) 或聚 (乳酸)) 一起的混合物,或与其它天然纤维,例如毛料和丝一起的混纺物,如粘胶纤维 / 棉混纺物、溶解性纤维 / 棉混纺物、粘胶纤维 / 毛料混纺物、溶解性纤维 / 毛料混纺物、棉 / 毛料混纺物; 亚麻 (亚麻织物)、苧麻和基于纤维素纤维的其它织物,包括含纤维素纤维与其它纤维如毛料、聚酰胺、丙烯酸纤维和聚酯纤维的全部混纺物,例如,粘胶纤维 / 棉 / 聚酯混纺物、毛料 / 棉 / 聚酯混纺物、亚麻 / 棉混纺物等。所述方法也可以用于合成织物,例如,分别由基本上 100% 聚酯、聚酰胺、尼龙组成的合成织物。术语“毛料”的意思是任何商业上有用的动物毛发产品,例如,来自绵羊、骆驼、兔子、山羊、美洲驼 (lama) 的毛料,以及被称为美利奴羊毛 (merino wool)、设得兰羊毛 (Shetland wool)、开士米羊毛 / 山羊绒 (cashmere wool)、羊驼毛 (alpaca wool)、马海毛等的毛料,并且包括毛料纤维和动物毛发。本发明所述方法可以与毛料或动物毛发材料一起,以毛条 (top)、纤维、纱线或纺织或编织织物的形式使用。

[0040] 根据本发明的方法使用的  $\alpha$ -淀粉酶可以是任何酸性  $\alpha$ -淀粉酶,但是优选细菌或真菌来源的。

[0041] 优选酸性  $\alpha$ -淀粉酶源自丝状真菌,特别是曲霉属、根毛霉属或多孔菌属的菌株。

[0042] 术语“酸性  $\alpha$ -淀粉酶”的意思是在 50°C 的温度,在 1-7, 优选 1-5 范围的 pH 具有最优活性的  $\alpha$ -淀粉酶 (E. C. 3. 2. 1. 1)。

[0043] 术语“脱浆”意欲以常规方式理解,即,从织物如纺织织物中的经纱降解和 / 或去除上浆剂。

[0044] 术语“含有淀粉或淀粉衍生物的织物”意欲表示含有淀粉或淀粉衍生物的任何类

型的织物,特别是从含纤维素的材料制备的纺织织物。所述织物通常是未染色的,并且由棉、胶粘纤维、亚麻等制造。织物上存在的淀粉或淀粉衍生物的主要部分通常是浆料,在纺织之前用它来包覆纱线,通常而言用它来包覆经纱。

[0045] 术语“糖结合模块 (CBM)”,或常常称为“糖结合域 (CBD)”,是优先结合于多糖或寡糖(碳水化合物),通常但并非必然地与它们的水不溶性(包括晶体)形式优先结合的多肽氨基酸序列。

[0046] 即使没有具体提及与本发明的方法相关,也应该理解的是以“有效量”使用所述酶或剂。术语“有效量”指这样的量,例如,能够提供期望效果的 $\alpha$ -淀粉酶量,所述效果即与未用所述酶处理的织物相比使所述织物脱浆。

[0047] 发明详述

[0048] 本发明涉及提供在制造特别是新织物的过程中使上浆织物脱浆的方法。

[0049] 在优选的实施方式中,在本发明的脱浆步骤之后是煮炼步骤,优选酶煮炼步骤,优选使用煮炼酶,如果胶酶例如如果胶裂合酶、脂肪酶、蛋白酶或它们的组合;和漂白步骤,优选涉及使用过氧化氢和/或过氧化氢生成剂的漂白。相关的煮炼方法在美国专利 No. 5, 578, 489、美国专利 No. 5, 912, 407 和美国专利 No. 6, 630, 342 中描述。相关的漂白方法在美国专利 No. 5, 851, 233、美国专利 No. 5, 752, 980 和美国专利 No. 5, 928, 380 中描述。相关的组合的煮炼和漂白方法在 WO 2003/002810 (Novozymes) 和 WO 2003/002705 (Novozymes) 中描述。

[0050] 根据本发明,织物可以在相同的处理水溶液(即,一个浴)中同时脱浆和去矿质,或在相同的或两个单独的处理溶液(即,一个或两个浴)中相继脱浆和去矿质。在优选的实施方式中,脱浆和去矿质在相同的处理溶液(即,一个浴)中同时进行。可以使用传统上浆/脱浆设备,例如,浸轧系统(pad system)、J-箱(J-box)、喷射器(jet)、卷染机(jigger)等进行本发明的方法。通常,不需要额外的处理设备。

[0051] 根据本发明,通过在具有 pH 1-7 的处理水溶液中温育上浆织物来进行同时脱浆和去矿质,所述处理水溶液包含酸性 $\alpha$ -淀粉酶。在优选的实施方式中,温育过程中的 pH 是 1-4,特别是 2-4 的范围。

[0052] 纺织物品(woven good)是织物制造的普遍形式。纺织方法要求使经纱“上浆”来保护其免受磨损。未改性的和改性的淀粉、聚乙烯醇(PVA)、羧甲基纤维素(CMC)、蜡和丙烯酸类粘合剂,以及它们的混合物是通常使用的上浆剂的实例。根据本发明所述上浆剂可以是基于淀粉的或基于淀粉衍生物的上浆剂,但是也可以含有一种或几种不基于淀粉或淀粉衍生物的上浆剂。通常在作为制造纺织物品中的第一步的纺织方法之后去除上浆剂。

[0053] 在本发明的脱浆方法过程中可以存在一种或几种其它的剂,包括稳定剂、表面活性剂、湿润剂、分散剂、多价螯合剂或乳化剂,或它们的组合。允许将上浆织物在处理水溶液中温育足够长的时间以完成上浆织物的脱浆。最佳的时间依赖于加工方案(processing regime)的类型和温度,并可从约 15 分钟变化至几天,例如 48 小时。依赖于加工方案,本发明的方法优选在 5-90°C,特别是 20-90°C 范围的温度进行。

[0054] 加工方案可以是分批的或连续的用含水处理流(aqueous treating stream)接触平幅的(open width)或绳状形式(rope form)的织物。

[0055] 连续操作可以使用饱和器(saturator),由此根据织物的重量将近似于相等重

量的处理溶液应用于该织物,接着是化学反应在其中发生的加热留置室 (heated dwell chamber)。其后洗涤部件为下个加工步骤制备织物。为了保证高的白度或良好的润湿性及因而得到的可染性,必需彻底去除脱浆酶和其它剂。

[0056] 分批方法可以在一个浴(处理溶液)中进行,从而将织物与例如其重量的约 8-15 倍的处理水溶液接触。在温育期之后,排干处理水溶液,漂洗织物,并开始下一个加工步骤。不连续的 PB 方法(即轧染堆置(pad-batch)方法)包括饱和器,由此根据织物的重量将近似于相等重量的处理水溶液应用于该织物,其后是留置期,在 CPB 方法(即,冷轧染堆置方法)的情况下所述留置期可能是一天或几天。例如,CPB 方法可以在 pH 1-7,优选约 pH 1-4,特别是 pH 2-4,在 20-40℃进行 8-24 小时或更久。此外,PB 方法可以在 pH 1-7,优选约 pH 1-5,更优选 pH 1-4,特别是 pH 2-4,在 40-90℃进行 1-6 小时。

[0057] 在一个实施方式中,可以使用有效量的  $\alpha$ -淀粉酶,优选酸性  $\alpha$ -淀粉酶和酸如乙酸或硫酸等来进行本发明的脱浆方法。

[0058] 酶

[0059]  $\alpha$ -淀粉酶

[0060] 本发明的方法中使用的  $\alpha$ -淀粉酶可以是任何  $\alpha$ -淀粉酶,优选细菌或真菌来源的。在优选的实施方式中, $\alpha$ -淀粉酶是酸性  $\alpha$ -淀粉酶,如 WO 2005/003311(其通过引用并入本文)中公开的  $\alpha$ -淀粉酶或杂合  $\alpha$ -淀粉酶。

[0061] 在优选的实施方式中, $\alpha$ -淀粉酶包括如 WO 2005/003311 中定义的糖结合模块(CBM),优选如 WO 2005/003311 中定义的家族 20CBM。

[0062] 特别预期的 CBM 包括选自下组的 CBM:SEQ ID NO:2 中公开的川地曲霉;SEQ ID NO:5 中公开的黄热芽孢杆菌(*Bacillus flavothermus*);SEQ ID NO:6 中公开的芽孢杆菌属菌种;SEQ ID NO:7 中公开的嗜碱芽孢杆菌(*Bacillus alcalophilus*);SEQ ID NO:8 中公开的 *Hormoconis resinae*;SEQ ID NO:9 中公开的香菇(*Lentinula edodes*);SEQ ID NO:10 中公开的粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*);SEQ ID NO:11 中公开的 *Talaromyces byssochlamydiodes*;SEQ ID NO:12 中公开的 *Geosmithia cylindrospora*;SEQ ID NO:13 中公开的 *Scorias spodiosa*;SEQ ID NO:14 中公开的路德正青霉(*Eupenicillium ludwigii*);SEQ ID NO:15 中公开的日本曲霉(*Aspergillus japonicus*);SEQ ID NO:16 中公开的米舒青霉(*Penicillium cf. miczynskii*);SEQ ID NO:17 中公开的 Mz1 青霉属菌种;SEQ ID NO:18 中公开的 *Thyranospora sp.*;SEQ ID NO:19 中公开的灰色腐质霉 *thermoidea* 变体(*Humicolagrisea var. thermoidea*);SEQ ID NO:20 中公开的黑曲霉;或 SEQ ID NO:21 中公开的罗耳阿太菌(*Althea rolfsii*)。

[0063] 真菌  $\alpha$ -淀粉酶

[0064] 在实施方式中,真菌  $\alpha$ -淀粉酶是酵母的或丝状真菌来源的。在优选的实施方式中,真菌  $\alpha$ -淀粉酶是酸性  $\alpha$ -淀粉酶。

[0065] 优选的  $\alpha$ -淀粉酶包括,例如,可以从曲霉属菌种,特别是从黑曲霉、米曲霉和泡盛曲霉、川地曲霉获得的  $\alpha$ -淀粉酶,如作为 SWISSPROT P56271 公开,或在 WO 89/01969(实施例 3)中更详细描述酸性  $\alpha$ -淀粉酶。成熟酸性  $\alpha$ -淀粉酶具有如 SEQ ID NO:4 的 22-511 所示的氨基酸序列,其由 SEQ ID NO:3 中显示的 DNA 序列编码;或具有 SEQ ID NO:38 中所示的氨基酸序列。还优选的是分别与 SEQ ID NO:4 或 38 中所示氨基酸序列具有高

于 50%，如高于 60%，高于 70%，高于 80%或高于 90%，高于 95%，高于 96%，高于 97%，高于 98%，或甚至高于 99%同一性的  $\alpha$ -淀粉酶序列。

[0066] 在另一个优选的实施方式中， $\alpha$ -淀粉酶序列源自米曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶。更优选地， $\alpha$ -淀粉酶序列与 SEQ ID NO :39 中显示的氨基酸序列具有高于 50%，如高于 60%，高于 70%，高于 80%或高于 90%，高于 95%，高于 96%，高于 97%，高于 98%，或高于 99%同一性。

[0067] 在一个实施方式中， $\alpha$ -淀粉酶是 SEQ ID NO :37 中公开的川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶，其以野生型形式含有同样显示于 SEQ ID NO :2 中的糖结合域 (CBD)。

[0068] 在优选的实施方式中， $\alpha$ -淀粉酶是分别与 SEQ ID NOS :43、44、46 或 47 中显示的氨基酸序列具有多于 50%，如多于 60%，多于 70%，多于 80%或多于 90%，多于 95%，多于 96%，多于 97%，多于 98%，或甚至多于 99%同一性的  $\alpha$ -淀粉酶。

[0069]  $\alpha$ -淀粉酶可以以 1-3,000AFU/kg 织物，优选 10-1,000AFU/kg 织物，特别是 100-500AFU/kg 织物的浓度存在；或以 1-3,000AFU/L 处理溶液，优选 10-1,000AFU/L 处理溶液，特别是 100-500AFU/L 处理溶液的浓度存在。

#### [0070] 细菌 $\alpha$ -淀粉酶

[0071] 在实施方式中， $\alpha$ -淀粉酶是细菌来源的。在优选的实施方式中，细菌  $\alpha$ -淀粉酶是酸性  $\alpha$ -淀粉酶。

[0072] 细菌  $\alpha$ -淀粉酶优选源自芽孢杆菌属的菌株，如地衣芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌或其它芽孢杆菌属菌种，例如芽孢杆菌属菌种 NCIB 12289、NCIB 12512 (WO 95/26397)、NCIB 12513 (WO95/26397)、DSM 9375 (WO 95/26397)、DSMZ 12648 (WO 00/60060)、DSMZ12649 (WO 00/60060)、KSMAP 1378 (WO 97/00324)、KSM K36 或 KSM K38 (EP1,022,334)。优选的是 WO 95/26397 中分别作为 SEQ ID NOS. 1 和 2 公开的芽孢杆菌属菌种  $\alpha$ -淀粉酶，WO 00/60060 中作为 SEQ ID NO :2 公开的 AA560  $\alpha$ -淀粉酶（即，本文的 SEQ ID NO :40），和 Tsukamoto 等，Biochemical and BioPhysical Research Communications, 151, 第 25-31 页 (1988) 公开的 #707  $\alpha$ -淀粉酶。

[0073] 在本发明的实施方式中，细菌  $\alpha$ -淀粉酶是 WO 95/26397 中作为 SEQ ID NO :2 公开的 SP722  $\alpha$ -淀粉酶，或 AA560  $\alpha$ -淀粉酶（本文的 SEQ ID NO :40）。

[0074] 在优选的实施方式中，亲本  $\alpha$ -淀粉酶在以下位置或相应于以下位置具有一个或多个缺失：D183 和 G184，优选其中所述  $\alpha$ -淀粉酶变体进一步在位置 195 或对应于位置 195 具有取代 N195F（使用 SEQ ID NO :40 编号方式）。

[0075] 在另一个优选的实施方式中，亲本  $\alpha$ -淀粉酶具有以下缺失 / 取代中的一个或多个或对应于以下缺失 / 取代中的一个或多个：Delta (R81-G182)；Delta (D183-G184)；Delta (D183-G184)+N195F；R181Q+N445Q+K446N；Delta (D183-G184)+R181Q、Delta (D183-G184) 和以下取代中的一个或几个或对应于：R118K、N195F、R320K、R458K，特别是其中所述变体具有以下突变： $\Delta$  (D183+G184)+R118K+N195F+R320K+R458K（使用 SEQ ID NO :40 编号方式）。

[0076] 在另一个优选的实施方式中， $\alpha$ -淀粉酶是 SEQ ID NO :40 中显示的 AA560  $\alpha$ -淀粉酶，其进一步包含以下取代中的一个或几个：M9L、M202L、V214T、M323T、M382Y、E345R；或者是具有全部以下取代的 A560  $\alpha$ -淀粉酶：M9L、M202L、V214T、M323T、M382Y 或者 M9L、M202L、

V214T、M323T 和 E345R。

[0077] 商业上可用的  $\alpha$ -淀粉酶产品或包含  $\alpha$ -淀粉酶的产品包括以如下商品名出售的产品：NATALASE™、STAINZYME™(NovozymesA/S)，Bioamylase-D(G)、BIOAMYLASE™ L(Biocon India Ltd.)，KEMZYM™ AT 9000(Biozym Ges. m. b. H, Austria)，PURASTAR™ ST、PURASTAR™ HPAmL、PURAFFECT™OxAm、RAPIDASE™ TEX(Genencor Int. Inc, USA)，KAM(Kao, Japan)。

[0078] 所述  $\alpha$ -淀粉酶可以以约 0.05-150KNU/L 处理溶液，优选 1-100KNU/L 处理溶液，特别是 2-20KNU/L 处理溶液的浓度存在，或者以 0.05-150KNU/Kg 织物，优选 1-100KNU/kg 织物，特别是 2-20KNU/kg 织物的浓度存在。

[0079] 杂合酶

[0080] 在优选的实施方式中  $\alpha$ -淀粉酶可以是含糖结合域 (CBD) 的  $\alpha$ -淀粉酶。这种含 CBD 的  $\alpha$ -淀粉酶可以是野生型酶（参见例如，上面的川地曲霉）或在下文将详述的杂合酶（融合蛋白）。本文所指的杂合酶或遗传修饰的野生型酶包括以下种类，该种类包含与含有糖结合域 (CBD) 的氨基酸序列连接的（即，共价结合的） $\alpha$ -淀粉酶 (EC 3.2.1.1) 的氨基酸序列。

[0081] 含 CBD 的杂合酶，以及对其制备和纯化的详细描述是本领域已知的 [参见，例如，WO 90/00609、WO 94/24158 和 WO 95/16782，以及 Greenwood 等，Biotechnology and Bioengineering, 1994, 44 :1295-1305]。它们可以例如通过如下制备：将 DNA 构建体转化至宿主细胞中，所述 DNA 构建体至少包含编码糖结合域的 DNA 的片段，该片段通过或不通过接头与编码感兴趣的酶的 DNA 序列连接；和培养转化的宿主细胞以表达该融合基因。所得重组产物（杂合酶）——本领域中通常称为“融合蛋白”可以用以下通式描述：

[0082] A-CBD-MR-X

[0083] 在后面的通式中，A-CBD 是本身至少含糖结合域 (CBD) 的氨基酸序列的 N-末端或 C-末端区。MR 是中间区（“接头”），而 X 是由 DNA 序列编码的多肽的氨基酸残基序列，所述 DNA 序列编码待与 CBD 连接的酶（或其它蛋白）。

[0084] 部分 A 可为缺失的（使得 A-CBD 是 CBD 本身，即，除了构成 CBD 的那些氨基酸残基之外不包含氨基酸残基），或可为一个或几个（或多个）氨基酸残基的序列（作为 CBD 本身的末端延伸发挥功能）。接头 (MR) 可以是键，或短的连接基团，其包含约 2 至约 100 个碳原子，特别是 2-40 个碳原子。然而，MR 优选是约 2 至约 100 个氨基酸残基，更优选 2-40 个氨基酸残基，如 2-15 个氨基酸残基的序列。

[0085] 部分 X 可以构成整个杂合酶的 C-末端区或者 N-末端区。

[0086] 因此从上文显而易见的是所讨论的类型的杂合酶中的 CBD 可以位于该杂合酶的 C-末端、N-末端或内部。

[0087] 接头序列

[0088] 接头序列可以是任何合适的接头序列。在优选实施方式中，接头序列源自罗耳阿太菌葡萄糖淀粉酶、黑曲霉葡萄糖淀粉酶、川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶，如选自下组中的一个或多个接头序列：黑曲霉葡萄糖淀粉酶接头：TGGTTTTATPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSSTSA (SEQ ID NO : 22)，川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶接头：TTTTTTAAATSTSKATTSSSSSSAAATTSSS (SEQ ID NO : 23)，罗耳阿太菌葡萄糖淀粉酶接头：GATSPGGSSGS (SEQ ID NO : 24)，和 PEPT 接头：PEPTPEPT (SEQ ID NO : 25)。在另一个优选的实施方式中，杂合酶在不多于 10 个位置、不多于 9 个位置，不多于 8

个位置,不多于 7 个位置,不多于 6 个位置,不多于 5 个位置,不多于 4 个位置,不多于 3 个位置,不多于 2 个位置,或甚至不多于 1 位置中具有不同于 SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :24 或 SEQ ID NO :25 中所示氨基酸序列的接头序列。

[0089] 糖结合域

[0090] 糖结合域 (CBD),或通常称为糖结合模块 (CBM),是优先结合于多糖或寡糖 (碳水化合物),通常但并非必然地与它们的水不溶性 (包括晶体) 形式优先结合的多肽氨基酸序列。

[0091] 源自淀粉降解酶的 CBD 通常称为淀粉结合域 (SBD) 或淀粉结合模块 (SBM)。SBD 是可能存在于特定淀粉分解酶如特定葡糖淀粉酶中的 CBD,或是存在于酶例如环糊精葡聚糖转移酶 (cyclodextrin glucanotransferase) 或  $\alpha$ -淀粉酶中的 CBD。同样,CBD 的其它亚类可以包括,例如,纤维素结合域 (来自纤维素分解酶的 CBD),壳多糖结合域 (通常存在于壳多糖酶中的 CBD),木聚糖结合域 (通常存在于木聚糖酶中的 CBD),甘露聚糖结合域 (通常存在于甘露聚糖酶中的 CBD)。

[0092] 发现 CBD 是由两个或几个多肽氨基酸序列区组成的大多肽或蛋白的整体的组成部分 (integral part),特别是在水解酶 (hydrolytic enzyme) (水解酶 (hydrolase)) 中,所述水解酶通常包含含有用于底物水解的活性位点的催化域和用于结合所讨论的糖底物的糖结合域 (CBD)。这些酶可以包含多于一个催化域和一个、两个或三个 CBD,以及任选地还包含将所述 CBD 与所述催化域连接的一个或多个多肽氨基酸序列区,后一种类型的区通常被表示为“接头”。包含 CBD 的水解酶的实例 (其中某些已在上文提及) 是纤维素酶、木聚糖酶、甘露聚糖酶、阿拉伯呋喃糖苷酶、乙酰酯酶和壳多糖酶。也已经在藻类中,例如在红藻紫红紫菜 (*Porphyrapurpurea*) 中以非水解多糖结合蛋白的形式发现了 CBD。

[0093] 在存在 CBD 的蛋白 / 多肽 (例如,酶,通常为水解酶) 中,CBD 可以位于 N 或 C 末端或位于内部位置。

[0094] 组成 CBD 本身的多肽或蛋白 (例如,水解酶) 的那个部分通常由多于约 30 个并少于约 250 个氨基酸残基组成。

[0095] 在本发明的上下文中将“家族 20 的糖结合模块”或 CBM-20 模块定义为约 100 个氨基酸的序列,其与 Joergensen 等 (1997) 在 *Biotechnol. Lett.* 19:1027-1031 的图 1 中公开的多肽的糖结合模块 (CBM) 具有至少 45% 同源性。CBM 包含所述多肽的最后 102 个氨基酸,即,从氨基酸 582 至氨基酸 683 的亚序列。在本公开中应用的糖苷水解酶家族的编号方式遵循以下文献中的概念:Coutinho, P. M. & Henrissat, B. (1999) *CAZy-Carbohydrate-Active Enzymesserver*,在 URL :<http://afmb.cnrs-mrs.fr/~cazy/CAZY/index.html> 或者 Coutinho, P. M. & Henrissat, B. 1999 ;The modular structure of cellulases and othercarbohydrate-active enzymes :an integrated database approach. 于 " Genetics,Biochemistry and Ecology of Cellulose Degradation " 中, K. Ohmiya, K. Hayashi, K. Sakka, Y. Kobayashi, S. Karita 和 T. Kimura 编, Uni Publishers Co., Tokyo, 第 15-23 页, 和 Bourne, Y. & Henrissat, B. 2001 ;Glycoside hydrolases andglycosyltransferases :families and functional modules, *Current Opinion inStructural Biology* 11 :593-600。

[0096] 适用于本发明上下文中的包含 CBD 的酶的实例是  $\alpha$ -淀粉酶、产麦芽糖  $\alpha$ -淀粉

酶、纤维素酶、木聚糖酶、甘露聚糖酶、阿拉伯呋喃糖苷酶、乙酰酯酶和壳多糖酶。与本发明相关的感兴趣的其它 CBD 包括源自葡糖淀粉酶 (EC3. 2. 1. 3) 或源自 CGT 酶 (EC 2. 4. 1. 19) 的 CBD。

[0097] 源自真菌、细菌或植物来源的 CBD 将通常适用于本发明的上下文。优选的是真菌来源的 CBD, 更优选来自曲霉属菌种、芽孢杆菌属菌种、克雷伯氏菌属菌种 (*Klebsiella* sp.) 或根霉属菌种 (*Rhizopus* sp.)。就此而论, 适于分离相关基因的技术是本领域熟知的。

[0098] 优选用于本发明的是糖结合模块家族 20 的 CBD。适用于本发明的糖结合模块家族 20 的 CBD 可以源自泡盛曲霉 (SWISSPROT Q12537)、川地曲霉 (SWISSPROT P23176)、黑曲霉 (SWISSPROT P04064)、米曲霉 (SWISSPROT P36914) 的葡糖淀粉酶, 源自川地曲霉 (EMBL : #AB008370)、构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*) (NCBI AAF17100.1) 的  $\alpha$ -淀粉酶, 源自蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 的  $\beta$ -淀粉酶 (SWISSPROT P36924), 或源自环状芽孢杆菌的 CGT 酶 (SWISSPROT P43379)。优选的是来自川地曲霉的  $\alpha$ -淀粉酶 (EMBL : #AB008370) 的 CBD 以及与川地曲霉的  $\alpha$ -淀粉酶 (EMBL : #AB008370) 的 CBD 具有至少 50%、60%、70%、80% 或甚至至少 90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 同一性的 CBD, 即, 与 SEQ ID NO :2 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80% 或甚至至少 90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 同一性的 CBD。对于本发明还优选的是具有 SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6 和 SEQ ID NO :7 中所示并在 PCT 申请 no. PCT/DK2004/000456 (或丹麦专利申请 PA 200300949) 中分别作为 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2 和 SEQ ID NO :3 公开的氨基酸序列的糖结合模块家族 20 的 CBD。其它优选的 CBD 包括 : 来自 *Hormoconis* sp. 如来自 *Hormoconis resinosa* (同物异名木馏油 (Creosote) 真菌或树脂暗膜菌 (*Amorphotheca resinosa*) 的葡糖淀粉酶的 CBD, 如 SWISSPROT : Q03045 中的 CBD (SEQ ID NO :8) ; 来自香菇属菌种 (*Lentinula* sp.) 如来自香菇 (什塔克菇 (shiitake mushroom)) 的葡糖淀粉酶的 CBD, 如 SPTREMBL : Q9P4C5 的 CBD (SEQ ID NO :9) ; 来自脉孢菌属菌种如来自粗糙脉孢菌的葡糖淀粉酶的 CBD, 如 SWISSPROT : P14804 的 CBD (SEQ ID NO :10) ; 来自踝节菌属菌种 (*Talaromyces* sp.) 如来自丝衣霉状踝节菌 (*Talaromyces byssochlamydioides*) 的葡糖淀粉酶的 CBD, 如来自 NN005220 的 CBD (SEQ ID NO :11) ; 来自 *Geosmithia* sp. 如来自 *Geosmithia cylindrospora* 的葡糖淀粉酶的 CBD, 如 NN48286 的 CBD (SEQ ID NO :12) ; 来自胶壳炱属菌种 (*Scorias* sp.) 如来自海绵胶壳炱 (*Scoriasspongiosa*) 的葡糖淀粉酶的 CBD, 如 NN007096 的 CBD (SEQ ID NO :13) ; 来自正青霉属菌种 (*Eupenicillium* sp.) 如来自路德正青霉的葡糖淀粉酶的 CBD, 如 NN005968 的 CBD (SEQ ID NO :14) ; 来自曲霉属菌种如来自日本曲霉的葡糖淀粉酶的 CBD, 如来自 NN001136 的 CBD (SEQ ID NO :15) ; 来自青霉属菌种 (*Penicillium* sp.) 如来自米舒青霉的葡糖淀粉酶的 CBD, 如 NN48691 的 CBD (SEQ ID NO :16) ; 来自 Mz1 青霉属菌种的葡糖淀粉酶的 CBD, 如 NN48690 的 CBD (SEQ ID NO :17) ; 来自 *Thysanophora* sp. 的葡糖淀粉酶的 CBD, 如 NN48711 的 CBD (SEQ ID NO :18) ; 和来自腐质霉属菌种如灰色腐质霉 *thermoidea* 变体的葡糖淀粉酶的 CBD, 如 SPTREMBL : Q12623 的 CBD (SEQ ID NO :19)。最优的 CBD 包括 : 来自曲霉属菌种如黑曲霉的葡糖淀粉酶的 CBD, 如 SEQ ID NO :20 ; 和来自阿太菌属菌种如来自罗耳阿太菌的葡糖淀粉酶的 CBD, 如 SEQ ID NO :21。根据本发明还优选的是与任何前述 CBD 氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80% 或甚至至少 90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 同一性的任何 CBD。

[0099] 其它合适的糖结合模块家族 20 的 CBD 可以在 URL :<http://afmb.cnrs-mrs.fr/~cazy/CAZY/index.html> 找到。

[0100] 一旦以 cDNA 或染色体 DNA 的形式鉴定了编码底物结合（糖结合）区的核苷酸序列，那么就可以以多种方式对它进行操作以将它与编码感兴趣的酶的 DNA 序列融合。其后通过或不通过接头将编码糖结合氨基酸序列的 DNA 片段和编码感兴趣的酶的 DNA 连接。然后可以以多种方式操作所得的连接 DNA 以实现表达。

[0101] 在实施方式中，杂合体 (hybrid) 中包含的  $\alpha$ -淀粉酶是在上文的“ $\alpha$ -淀粉酶”部分描述的  $\alpha$ -淀粉酶。在优选的实施方式中，所述  $\alpha$ -淀粉酶是真菌来源的。在更优选的实施方式中，所述  $\alpha$ -淀粉酶是酸性  $\alpha$ -淀粉酶。

[0102] 在优选的实施方式中，糖结合域和 / 或接头序列是真菌来源的。糖结合域可源自  $\alpha$ -淀粉酶，但是也可以源自蛋白质，例如，具有葡糖淀粉酶活性的酶。

[0103] 在实施方式中， $\alpha$ -淀粉酶源自曲霉属或阿太菌属的菌株。在实施方式中， $\alpha$ -淀粉酶源自米曲霉或黑曲霉的菌株。在具体实施方式中， $\alpha$ -淀粉酶是 SEQ ID NO :39 中公开的米曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶。在具体实施方式中，接头序列可以源自曲霉属的菌株，例如川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶 (SEQ ID NO :23) 或罗耳阿太菌葡糖淀粉酶 (SEQ ID NO :24)。在实施方式中，CBD 源自曲霉属或阿太菌属的菌株。在具体实施方式中，CBD 是 SEQ ID NO :1 中所示的川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶或 SEQ ID NO :21 中所示的罗耳阿太菌葡糖淀粉酶。

[0104] 优选的是实施方式，其中杂合酶包含：具有 SEQ ID NO :38 中所示序列的源自黑曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域的  $\alpha$ -淀粉酶序列；和 / 或 SEQ ID NO :23 中所示的源自川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶或 SEQ ID NO :24 中所示源自罗耳阿太菌葡糖淀粉酶的接头序列；和 / 或 SEQ ID NO :2 中所示源自川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶的 CBD、SEQ ID NO :21 中所示源自罗耳阿太菌葡糖淀粉酶的 CBD 或 SEQ ID NO :22 中所示源自黑曲霉葡糖淀粉酶的 CBD。

[0105] 在优选的实施方式中，杂合酶包含：具有 SEQ ID NO :38 中所示序列的黑曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域，SEQ ID NO :23 中所示的川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶接头，和 SEQ ID NO :2 中所示的川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶 CBD。

[0106] 在优选实施方式中，杂合酶是：SEQ ID NO :28 (黑曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域 - 川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶接头 - 黑曲霉葡糖淀粉酶 CBD)、SEQ ID NO :30 (黑曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域 - 川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶接头 - 罗耳阿太菌葡糖淀粉酶 CBD) 或 SEQ ID NO :32 (米曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域 - 川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶接头 - 川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶 CBD)、或 SEQ ID NO :34 (黑曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域 - 罗耳阿太菌葡糖淀粉酶接头 - 罗耳阿太菌葡糖淀粉酶 CBD)、或 SEQ ID NO :36 (米曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域 - 罗耳阿太菌葡糖淀粉酶接头 - 罗耳阿太菌葡糖淀粉酶 CBD) 中所示氨基酸序列的成熟部分；或由黑曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域 (分别为 SEQ ID NO :4 或 38) - 川地曲霉葡糖淀粉酶接头 (SEQ ID NO :23) - 川地曲霉葡糖淀粉酶 CBD (SEQ ID NO :2) 组成的杂合体；或具有与任何前述氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80% 或甚至至少 90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 同一性的氨基酸序列的杂合酶。

[0107] 在另一个优选的实施方式中，杂合酶在不多于 10 个位置，不多于 9 个位置，不多于 8 个位置，不多于 7 个位置，不多于 6 个位置，不多于 5 个位置，不多于 4 个位置，不多于 3 个位置，不多于 2 个位置，或甚至不多于 1 位置具有不同于下列氨基酸序列的氨基酸序列：SEQ

ID NO :28(黑曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域-川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶接头-黑曲霉葡糖淀粉酶 CBD)、SEQ ID NO :30(黑曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域-川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶接头-罗耳阿太菌葡糖淀粉酶 CBD)、SEQ ID NO :32(米曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域-川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶接头-川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶 CBD)、SEQ ID NO :34(黑曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域-罗耳阿太菌葡糖淀粉酶接头-罗耳阿太菌葡糖淀粉酶 CBD) 或 SEQ ID NO :36(米曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域-罗耳阿太菌葡糖淀粉酶接头-罗耳阿太菌葡糖淀粉酶 CBD) 中所示的氨基酸序列;或由黑曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域(分别为 SEQ ID NOS :4 或 38)-川地曲霉葡糖淀粉酶接头(SEQ ID NO :23)-川地曲霉葡糖淀粉酶 CBD(SEQ ID NO :2) 组成的杂合体。

[0108] 优选地,杂合酶包含与 SEQ ID NO :5、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、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :17、SEQ ID NO :18、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20 或 SEQ ID NO :21 中所示的任何氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80% 或甚至至少 90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 同一性的 CBD 序列。甚至更优选的是杂合酶包含具有 SEQ ID NO :5、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、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :17、SEQ ID NO :18、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20 或 SEQ ID NO :21 中所示氨基酸序列的 CBD 序列。在另一个优选的实施方式中,CBD 序列在不多于 10 个氨基酸位置,不多于 9 个位置,不多于 8 个位置,不多于 7 个位置,不多于 6 个位置,不多于 5 个位置,不多于 4 个位置,不多于 3 个位置,不多于 2 个位置或甚至不多于 1 个位置上具有不同于下列氨基酸序列的氨基酸序列:SEQ ID NO :5、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、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :17、SEQ ID NO :18、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20 或 SEQ ID NO :21 中所示的氨基酸序列。

[0109] 在最优选的实施方式中,杂合酶包含源自罗耳阿太菌的葡糖淀粉酶的 CBD,如来自美国专利 No. 4,727,026 中公开的罗耳阿太菌 AHU9627 的葡糖淀粉酶。

#### [0110] 酸性煮炼酶

[0111] 根据本发明可以使用任何酸性煮炼酶。酸性煮炼酶可以是选自下组中一种或多种的酸性酶:果胶酶、纤维素酶、脂肪酶、蛋白酶、木葡聚糖酶、角质酶(cutinase)和它们的混合物。当在同时脱浆和煮炼的过程中存在的条件下最优 pH 是 7 以下,如 1-7,优选 5 以下,如 1-5,特别是 4 以下,如 1-4 时,则在本发明的上下文中煮炼酶是“酸性”的。

[0112] 多种煮炼酶称为:

[0113] 多聚半乳糖醛酸酶(EC 3.2.1.15)催化果胶酸(pectate)和其它聚半乳糖醛酸(galacturonan)中 1,4- $\alpha$ -D-半乳糖苷醛酸键(1,4- $\alpha$ -D-galactosiduronic linkage)的随机水解。其它名称的实例是:果胶解聚酶;果胶酶;内聚半乳糖醛酸酶(endopolygalacturonase);内-聚半乳糖醛酸酶(endo-polygalacturonase);和内半乳糖醛酸酶(endogalacturonase)。系统名称是聚(1,4- $\alpha$ -D-半乳糖醛酸苷)溶菌酶(poly(1,4- $\alpha$ -D-galacturonide)glycanohydrolase)。

[0114] 果胶裂合酶(EC 4.2.2.10)催化(1,4)- $\alpha$ -D-聚半乳糖醛酸甲基酯((1,4)- $\alpha$ -D-galacturonan methyl ester)的消除性切割以产生在它们的非还原端具有 4-脱

氧-6-0-甲基- $\alpha$ -D-半乳-4-硬脂酰基(4-deoxy-6-0-methyl- $\alpha$ -D-galact-4-enuronosylgroup)的寡糖。其它名字的实例是:果胶酸反式消除酶(Pectin trans-eliminase);聚甲基半乳糖醛酸反式消除酶(polymethylgalacturonic transeliminase);和果胶甲基反式消除酶(pectin methyltranseliminase)。系统名称是(1,4)-6-0-甲基- $\alpha$ -D-聚半乳糖醛酸裂合酶((1,4)-6-0-methyl- $\alpha$ -D-galacturonan lyase)。

[0115] 果胶酸裂合酶(EC 4.2.2.2)催化(1,4)- $\alpha$ -D-聚半乳糖醛酸的消除性切割以产生在它们的非还原端具有4-脱氧- $\alpha$ -D-半乳-4-硬脂酰基的寡糖。其它名称的实例是:果胶酸反式消除酶;多聚半乳糖醛酸反式消除酶;和内果胶甲基反式消除酶(endopectin methyltranseliminase)。系统名称是(1,4)- $\alpha$ -D-聚半乳糖醛酸裂合酶。

[0116] 果胶酯酶(EC 3.1.1.11)催化反应:果胶+n H<sub>2</sub>O=n 甲醇+果胶酸。其它名称的实例是:果胶脱甲氧基酶;果胶甲基酯酶(pectin methylesterase);和果胶甲基酯酶(pectin methyl esterase)。系统名称是果胶果胶酰水解酶(pectinpectylhydrolase)。

[0117] 果胶酸二糖裂合酶(pectate dissaccharide-lyase)(EC 4.2.2.9)催化从果胶酸的还原末端消除性切割4-(4-脱氧- $\alpha$ -D-半乳-4-硬脂酰)-D-半乳糖醛酸酯(4-(4-deoxy- $\alpha$ -D-galact-4-enuronosyl)-D-galacturonate),即,去酯化果胶。其它名称的实例是:果胶酸外裂合酶(pectate exo-lyase);外果胶酸反式消除酶;外果胶酸裂合酶;和外多聚半乳糖醛酸-反式-消除酶。系统名称是(1-4)- $\alpha$ -D-聚半乳糖醛酸还原端-二糖-裂合酶。

[0118] EC编号方式是根据 Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the Nomenclature and Classification of Enzyme-Catalysed Reactions 公开在 Enzyme Nomenclature 1992(Academic Press, San Diego, California)中,及 Supplement 1(1993)、Supplement 2(1994)、Supplement 3(1995)、Supplement 4(1997)和 Supplement 5(分别于 Eur. J. Biochem. 1994, 223:1-5; Eur. J. Biochem. 1995, 232:1-6; Eur. J. Biochem. 1996, 237:1-5; Eur. J. Biochem. 1997, 250:1-6 和 Eur. J. Biochem. 1999, 264:610-650 中)。

[0119] 在优选的实施方式中,酸性果胶酶是果胶酸裂合酶、果胶裂合酶、多聚半乳糖醛酸酶或多聚半乳糖醛酸裂合酶。

[0120] 术语“果胶酶”意欲包括任何酸性果胶酶。果胶酶是一组水解果胶物质(主要是聚-1,4- $\alpha$ -D-半乳糖醛酸苷(poly-1,4- $\alpha$ -D-galacturonide)及其衍生物)的糖苷键的酶(见参考文件 Sakai 等, Pectin, pectinase and pro pectinase: production, properties and applications, 于: Advances in Applied Microbiology, Vol. 39, pp. 213-294(1993)), 应将所述酶理解为包括它的成熟蛋白或前体形式,或它的功能片段,其基本上具有全长酶的活性。此外,术语果胶酶意欲包括这些酶的同源物(homologue)或类似物。

[0121] 优选地,所述酸性果胶酶是通过反式消除催化也称为多聚半乳糖醛酸的果胶酸中 $\alpha$ -1,4-糖苷键的随机切割的酶,如酶类别多聚半乳糖醛酸裂合酶(EC 4.2.2.2)(PGL),也称为聚(1,4- $\alpha$ -D-半乳糖醛酸苷)裂合酶,也称为果胶酸裂合酶。还优选的是催化果胶酸中 $\alpha$ -1,4-糖苷键的随机水解的果胶酶,如酶类别多聚半乳糖醛酸酶(EC 3.2.1.15)(PG),也称为内切-PG。还优选的是果胶酶如聚甲基半乳糖醛酸裂合酶(EC 4.2.2.10)(PMGL),也称为内切-PMGL,也称为聚(甲氧基半乳糖醛酸苷)裂合酶,也称为果胶裂合酶,其催化果胶

中  $\alpha$ -1,4-糖苷键的随机切割。其它优选的果胶酶是半乳聚糖酶 (EC 3.2.1.89)、阿拉伯聚糖酶 (EC 3.2.1.99)、果胶酯酶 (EC 3.1.1.11) 和甘露聚糖酶 (EC 3.2.1.78)。

[0122] 就本发明而言,包括果胶裂合酶、果胶酸裂合酶和果胶酯酶的上述酶的来源不重要,例如,所述酶可以获得自植物、动物或微生物如细菌或真菌,例如,丝状真菌或酵母。所述酶可以例如通过使用本领域已知的重组 DNA 技术从这些来源获得。所述酶可以是天然或野生型酶,或显示相关的酶活性的它们的任何突变体、变体或片段,以及合成酶,如改组的酶 (shuffled enzyme), 和共有酶 (consensus enzyme)。能够如本领域通常所知,例如,通过定点诱变,通过 PCR (使用含有期望突变的 PCR 片段作为 PCR 反应中的引物之一), 或通过随机诱变来制备这些遗传工程的酶。共有蛋白的制备在例如 EP897985 中描述。

[0123] 果胶酶可以是由给定微生物产生的酶系统中存在的成分,如主要包含几种不同的果胶酶成分的酶系统,所述果胶酶成分包括以上确定的那些。

[0124] 或者,果胶酶可以是单一成分的,即,基本上不含可存在于由给定微生物产生的酶系统中的其它果胶酶的成分,所述单一成分通常是重组成分,即,通过克隆编码该单一成分的 DNA 序列,随后用该 DNA 序列转化细胞并在宿主中表达来产生。这些有用的重组酶,特别是果胶酶、果胶裂合酶和多聚半乳糖醛酸酶在例如 WO 93/020193、WO 02/092741、WO 03/095638 和 WO2004/092479 (来自 Novozymes A/S) 中详细描述,将它们以包括序列列表的完整形式通过引用并入本文。宿主优选是异源宿主,但是在某些情况下宿主也可以是同源宿主。

[0125] 在优选的实施方式中,根据本发明使用的果胶酶源自曲霉属。

[0126] 在更优选的实施方式中,果胶酶是具有 JP 11682877 的 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列的原果胶酶;或是具有通过在所述氨基酸序列中缺失、取代或插入一个氨基酸或几个氨基酸而生成的氨基酸序列,并且与具有 JP 11682877 的 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列的原果胶酶的活性水平相比具有相同水平或更高水平的活性的原果胶酶。

[0127] 果胶酶,如特别是果胶酸裂合酶,可优选以范围在 1-1,500 APSU/kg 织物,优选 10-1,200 APSU/kg 织物,特别是 100-1,000 APSU/kg 织物的浓度存在。

[0128] 根据本发明,商业上可用的酸性果胶酸结合酶包括来自 Novozymes A/S, Denmark 的 **Pectinex® BE XXL**、**Pectinex® BE Colour**、**Pectinex® Ultra**、**Pectinex™ Ultra SP-L**、**Pectinex® Yield Mash**、**Pectinex® XXL**、**Pectinex® Smash XXL**、**Pectinex® Smash**、**Pectinex™ AR**。

[0129] **蛋白酶**

[0130] 可以使用适用于酸溶液的任何蛋白酶。合适的蛋白酶包括动物、植物或微生物来源的那些。微生物来源是优选的。包括化学或遗传修饰的突变体。蛋白酶可以是丝氨酸蛋白酶,优选酸性微生物蛋白酶或胰蛋白酶样蛋白酶。酸性蛋白酶的实例是枯草杆菌蛋白酶 (subtilisin),特别是源自芽孢杆菌属,优选迟缓芽孢杆菌 (*Bacillus lentus*) 或克劳氏芽孢杆菌 (*Bacillus clausii*) 的那些,如枯草杆菌蛋白酶 Novo, 枯草杆菌蛋白酶 Carlsberg, 枯草杆菌蛋白酶 309, 枯草杆菌蛋白酶 147 和枯草杆菌蛋白酶 168 (在 WO 89/06279 中描述)。

[0131] 优选的商业上可用的蛋白酶包括以如下商品名出售的那些: **ALCALASE™**、**SAVINASE™ 16L Type Ex**、**PRIMASE™**、**DURAZYM™** 和 **ESPERASE™** (Novozymes A/S, Denmark), 由

Genencor International Inc., (USA) 以如下商品名出售的那些: OPTICLEAN™、OPTIMASE™、PROPARASE™、PURAFACT™、PURAPECT™ MA 和 PURAPECT™ OX、PURAFACT™ OX-1 和 PURAFACT™ OX-2。

[0132] 在本发明的方法的实施方式中, 蛋白酶可以以 0.001-10KNPU/L, 优选 0.1-1KNPU/L, 特别是约 0.3KNPU/L 或者 0.001-10KNPU/kg 织物, 优选 0.1-1KNPU/kg 织物, 特别是约 0.3KNPU/kg 织物的浓度存在。

#### [0133] 脂肪酶

[0134] 可以使用适用于酸溶液的任何脂肪酶。合适的脂肪酶包括细菌或真菌来源的那些。包括化学或遗传修饰的突变体。有用的脂肪酶的实例包括代表性酸性脂肪酶, 包括由 Novo Industri A/S 商业上可获得的 Lipolase. TM.、Lipolase. TM. Ultra、Palatase. TM. A、Palatase. TM. M 和 Lipozyme. TM.。这些酸性脂肪酶是 1,3- 特异性脂肪酶, 其水解三酰甘油 1 和 3 位的脂肪酸。另一种代表性的酸性脂肪酶是酵母脂肪酶 BCC, 其由 Bio-Cat, Inc 商业上可获得。这种酶源自柱状念珠菌 (*Candida cylindracea*) 的选择菌株 (select strain), 是水解三酰甘油全部三个位置的脂肪酸的非特异性脂肪酶。

[0135] 在本发明的方法的实施方式中, 脂肪酶可以以 0.01-100LU/L 处理溶液, 优选 1-10LU/L 处理溶液, 特别是约 1LU/L 处理溶液或者 0.01-100LU/kg 织物, 优选 1-10LU/kg 织物, 特别是约 1LU/kg 织物的浓度存在。

#### [0136] 纤维素酶

[0137] 在本发明的上下文中, 术语“纤维素酶”或“纤维素分解酶”指这样的酶, 其催化纤维素降解为葡萄糖、纤维二糖、三糖 (triose) 和其它纤维寡糖。纤维素是葡萄糖通过  $\beta$ -1,4-糖苷键连接的聚合物。纤维素链形成众多的分子内和分子间氢键, 这些氢键导致不溶性纤维素微原纤维的形成。纤维素成为葡萄糖的微生物水解涉及以下三种主要类型的纤维素酶: 内-1,4- $\beta$ -葡聚糖酶 (EC3.2.1.4), 其随机切割整个纤维素分子中的  $\beta$ -1,4-糖苷键; 纤维二糖水解酶 (EC3.2.1.91) (外切葡聚糖酶), 其自非还原端消化纤维素; 和  $\beta$ -葡糖苷酶 (EC3.2.1.21), 其水解纤维二糖和低分子量纤维糊精以释放葡萄糖。大多数纤维素酶由通过接头分开的纤维素结合域 (CBD) 和催化域 (CD) 组成, 所述接头富含脯氨酸和羟基氨基酸残基。在本说明书和权利要求书中, 术语“内切葡聚糖酶”意欲表示具有纤维素分解活性特别是内-1,4- $\beta$ -葡聚糖酶活性的酶, 所述酶根据 Enzyme Nomenclature (酶命名法) (1992) 分类为 EC 3.2.1.4, 并且能够催化纤维素、地衣淀粉和谷类  $\beta$ -D-葡聚糖中 1,4- $\beta$ -D-糖苷键的 (内) 水解, 包括也含有 1,3-键的  $\beta$ -D-葡聚糖中 1,4-键的 (内) 水解。可以使用适用于酸溶液的任何纤维素酶。合适的纤维素酶包括细菌或真菌来源的那些。包括化学或遗传修饰的突变体。合适的纤维素酶在美国专利 No. 4,435,307 中公开, 其公开了从特异腐质霉 (*Humicola insolens*) 产生的真菌纤维素酶。特别合适的纤维素酶是具有颜色保护 (colour care) 益处的纤维素酶。这些纤维素酶的实例是欧洲专利申请 No. 0495257、WO 91/17243 和 WO 96/29397 中描述的纤维素酶。

[0138] 对由醋酸杆菌属 (*Acetobacter*) 细菌产生的多聚纤维素的水解有特异性的酸性纤维素酶可以源自里氏木霉 (*Trichoderma reesei*) 或黑曲霉的特定菌株, 或天然或人工诱导的它们的突变体或变体。如在本文中使用, 里氏木霉表示该名称所指的微生物, 以及归类于长枝木霉 (*Trichoderma longibrachiatum*) 和绿色木霉 (*Trichoderma viride*) 名下的

那些微生物。可以使用对由醋酸杆菌属细菌产生的纤维素的水解有特异性的任何纤维素酶或酶复合物。

[0139] 代表性酸性纤维素酶是 Cellulase Tr Concentrate (纤维素酶 Tr 浓缩物) 多酶酸性纤维素酶复合物, 其由 Solvay Enzymes, Inc 商业上可以获得。Cellulase Tr Concentrate 是食品级的纤维素酶复合物, 其通过里氏木霉的选择菌株的受控发酵获得。这种酶复合物由直接攻击 (attack) 天然纤维素、天然纤维素衍生物和可溶性纤维素衍生物的内切葡聚糖酶和外切葡聚糖酶两者组成。这种酶复合物特异性水解细菌纤维素 (特别是由醋酸杆菌属细菌产生的多聚细菌纤维素) 以及它的寡聚物和衍生物的  $\beta$ -D, 4-糖苷键 (美国专利 No. 5, 975, 095)。

[0140] 由 Solvay Enzymes, Inc. 商业上可获得的另一种代表性纤维素酶是 Cellulase TRL (纤维素酶 TRL) 多酶液态纤维素酶复合物。Cellulase TRL 纤维素酶复合物以与 Cellulase Tr Concentrate 酶复合物相同的方式由里氏木霉得到, 但是以液体形式制备和出售。已经证明它针对细菌纤维素的活性与 Cellulase Tr Concentrate 酶复合物的等同。

[0141] 用于本发明的其它合适的酶包括 Celluzyme Acid P 酶和 Celluclast 1.5L, 二者由 Novo Nordisk 商业上可获得; Multifect. TM. Cellulase 300 酶, 其由 Genencor International 商业上可获得; 和 Rapidase. RTM. Acid Cellulase 酶, 其由 Gist-Brocades B. V. 商业上可获得。还有其它纤维素酶或纤维素酶复合物适用于本发明, 只要它们针对特征为多聚细菌纤维素的  $\beta$ -糖苷键显示特定的水解活性, 所述多聚细菌纤维素由微生物如醋酸杆菌属细菌产生 (美国专利 No. 5, 975, 095)。

[0142] 在本发明的方法的实施方式中, 纤维素酶可以以如下范围的浓度使用: 0.001-10g 酶蛋白/L 处理溶液, 优选 0.005-5g 酶蛋白/L 处理溶液, 特别是 0.01-3g 酶蛋白/L 溶液, 或者 0.001-10g 酶蛋白/kg 织物, 优选地 0.005-5g 酶蛋白/kg 织物, 特别是 0.01-3g 酶蛋白/kg 织物。在实施方式中, 以 0.1-1,000 ECU/g 织物, 优选 0.5-200 ECU/g 织物, 特别是 1-500 ECU/g 织物的浓度使用纤维素酶。

#### [0143] 角质酶

[0144] 角质酶 (cutinase) 是能够降解角质的酶, 参考, 例如 Lin T S & Kolattukudy P E, J. Bacteriol., 1978, 133 (2): 942-951, Cutinases, 例如, 其与经典脂肪酶的不同之处在于在三丁酸甘油酯底物的临界胶束浓度 (CMC) 附近没有观察到可测量的活化。同样, 认为角质酶属于丝氨酸酯酶类。角质酶也可以是 W096/13580 中公开的源自特异腐质霉的角质酶。角质酶可以是变体, 如 W000/34450 和 W0 01/92502 中公开的那种或变体, 将其通过引用并入本文。

[0145] 角质酶的实例是源自以下菌种的那些: 特异腐质霉 (美国专利 No. 5, 827, 719); 镰孢属 (Fusarium) 菌株, 例如, 大刀粉红镰孢 (F. roseum culmorum), 或者特别是豌豆腐皮镰孢 (F. solani pisi) (W0 90/09446; W0 94/14964, W094/03578)。角质酶也可以源自丝核菌属 (Rhizoctonia), 例如立枯丝核菌 (R. solani) 的菌株, 或链格孢属 (Alternaria), 例如芸苔链格孢 (A. brassicicola) 的菌株 (W0 94/03578), 或它们的变体, 如 W0 00/34450 或 W0 01/92502 中描述的那些。角质酶也可以是细菌来源的, 如假单胞菌属 Pseudomonas), 优选 W0 01/34899 中公开的门多萨假单胞菌 (Pseudomonas mendocina) 的菌株。

[0146] 角质酶可以以 0.001-25,000 微克酶蛋白/g 织物, 优选 0.01-10,000 微克酶蛋白

/g 织物,特别是 0.05-1,000 微克酶蛋白 /g 织物的浓度添加。

[0147] 木葡聚糖酶

[0148] 木葡聚糖酶是能够催化木葡聚糖溶解成木葡聚糖寡糖的木葡聚糖特异性酶。根据 IUBMB Enzyme Nomenclature (IUBMB 酶命名法) (2003) 将木葡聚糖酶归类为 EC 3.2.1.151。Pauly 等 (Glycobiology, 1999, 9 :93-100) 公开来自棘孢曲霉 (*Aspergillus aculeatus*) 的木葡聚糖特异性内- $\beta$ -1,4-葡聚糖酶。根据本发明使用的木葡聚糖酶可源自微生物如真菌或细菌。有用的木葡聚糖酶的实例是家族 12 水解木葡聚糖的内切葡聚糖酶,特别是从例如棘孢曲霉获得的家族 12 水解木葡聚糖的内切葡聚糖酶,如 WO 94/14953 中所述。另一种有用的实例是由木霉属产生的木葡聚糖酶,特别是 EGIII。木葡聚糖酶还可以源自芽孢杆菌属的细菌,包括地衣芽孢杆菌、*Bacillus agaradhaerens* 或坚强芽孢杆菌 (*Bacillus firmus*)。木葡聚糖酶还可以是具有木葡聚糖酶活性并且对于不溶性纤维素活性低且对于可溶性纤维素活性高的内切葡聚糖酶,例如,家族 7 内切葡聚糖酶,其从例如特异腐质霉获得。

[0149] 木葡聚糖酶可以以 0.001-25,000 微克酶蛋白 / 克织物,优选 0.01-10,000 微克酶蛋白 /g 织物,更优选 0.05-1,000 微克酶蛋白 /g 织物,特别是 0.5-500 微克酶蛋白 / 克织物的浓度添加。

[0150] 本发明的组合物

[0151] 在第二个方面,本发明涉及适用于本发明的方法的组合物。所述组合物可以是固体或液体(含水的)组合物,并且可以是浓缩的组合物或即用型组合物 (ready-to-use composition)。

[0152] 因此,在此方面中本发明涉及包含酸性  $\alpha$ -淀粉酶和酸性煮炼酶的组合物。

[0153] 包含的酶可以优选地是上文“酶”部分中提到的那些。

[0154] 在优选的实施方式中,酸性  $\alpha$ -淀粉酶源自芽孢杆菌属菌种菌株,优选源自地衣芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌、芽孢杆菌属菌种 NCIB12289、NCIB 12512、NCIB 12513 或 DSM 9375 或 DSMZ no. 12649、KSMAP1378 或 KSM K36 或 KSM K38 的菌株。

[0155] 芽孢杆菌属  $\alpha$ -淀粉酶可以是分别在位置 D183 和 G184 具有一个或几个缺失的变体,并且可以进一步在位置 N195F 具有取代(使用 SEQ ID NO :4 编号方式)。芽孢杆菌属  $\alpha$ -淀粉酶变体还可以是在位置 D183 和 G184 具有一个或几个缺失的变体,并且还可以进一步具有以下取代中的一个或几个 :R118K、N195F、R320K、R458K(使用 SEQ ID NO :6 编号方式)。

[0156] 具体地,芽孢杆菌属变体可以在位置 D183 和 G184 具有双缺失,并且还包含以下取代 :R118K+N195F+R320K+R458K(使用 SEQ ID NO :6 编号方式)。

[0157] 酸性煮炼酶选自下组中的一种或多种 :酸性果胶酶、纤维素酶、脂肪酶、蛋白酶、角质酶、木葡聚糖酶和它们的混合物。

[0158] 在优选的实施方式中,酸性果胶酶是果胶酸裂合酶,优选源自芽孢杆菌属菌株,优选地衣芽孢杆菌、嗜碱芽孢杆菌、假嗜碱芽孢杆菌 (*Bacillus pseudoalcalophilus*) 和克氏芽孢杆菌 (*Bacillus clarkia*),特别是地衣芽孢杆菌菌种的菌株的果胶酸裂合酶。

[0159] 可以将适合于所述待实施方法的其它剂分开添加或包含在本发明的组合物中。这些剂的实例包括稳定剂、表面活性剂、湿润剂、分散剂、多价螯合剂或乳化剂,以及它们的组

合 (mixture)。

[0160] 尽管酸性  $\alpha$ -淀粉酶和酸性煮炼酶可以照此添加,但是优选配制成合适的组合物。因此,所述酶可以以下述的形式使用:颗粒,优选无粉尘颗粒 (non-dusting granulate),液体,特别是稳定化的液体,浆料,或以保护的形式 (protected form)。可以例如如美国专利 No. 4, 106, 991 和 4, 661, 452 (均授予 Novozymes A/S) 中公开的产生无粉尘颗粒,并且可以任选地通过本领域已知的方法涂覆。

[0161] 液体酶制备物可以例如根据已确定的方法通过添加多元醇例如丙二醇、糖或糖醇或乙酸来稳定化。其它酶稳定剂是本领域已知的。保护的酶可以根据 EP 238 216 中公开的方法制备。

[0162] 理论上,包含酸性  $\alpha$ -淀粉酶和煮炼酶的本发明的组合物可以含有待用于本发明的组合方法的任何其它的剂。

[0163] 在优选的实施方式中本发明的组合物包含选自下组的至少一种其它成分:稳定剂、表面活性剂、湿润剂、分散剂、多价螯合剂和乳化剂。全部这些适合于纺织品用途的其它成分是本领域熟知的。

[0164] 合适的表面活性剂包括上文“洗涤剂”部分中提到的种种。湿润剂用来改进纤维的润湿性,由此可获得迅速和均匀的脱浆和煮炼。乳化剂用来将存在于纤维上的疏水杂质乳化。分散剂用来防止提取出的 (extracted) 杂质再沉积于织物上。多价螯合剂用来去除对所述方法具有负面影响的离子如 Ca、Mg 和 Fe, 优选的实例包括苛性钠 (氢氧化钠) 和苏打灰 (碳酸钠)。

[0165] 本发明的组合物的用途

[0166] 在第三个方面,本发明涉及本发明的组合物在同时脱浆和煮炼方法,优选本发明的方法中的用途。在优选的实施方式中,将本发明的组合物用于本发明的方法中。

[0167] 本文描述和要求保护的发明意欲不限于由在此公开的特定实施方式的范围,因为这些实施方式旨在说明本发明的几个方面。任何等同的实施方式应该包括在本发明的范围内。事实上,除了本文显示和描述的之外,根据前文所述对本发明的多种修饰对于本领域技术人员将是显而易见的。这些修饰也意欲落入所附权利要求的范围。在冲突的情况下,以包括定义的本公开为准。

[0168] 本文引用了多种参考文献,将这些参考文献以它们的完整形式通过引用开入。

[0169] 材料和方法

[0170] 酶

[0171] - 酸性淀粉酶 A:SEQ ID NO:38 中公开的源自黑曲霉的野生型酸性  $\alpha$ -淀粉酶。

[0172] - 酸性淀粉酶 B:SEQ ID NO:48 中显示的杂合  $\alpha$ -淀粉酶,其包含来自微小根毛霉  $\alpha$ -淀粉酶的催化域 (CD),具有来自黑曲霉的糖结合域 (CBD)。

[0173] - 酸性果胶酶 A (Pectinex BEE XXL, Novozymes A/S):由曲霉属菌种产生的溶果胶液体酶制备物。

[0174] - 酸性果胶酶 B (Pectinex Ultra; Novozymes A/S):高活性的溶果胶酶制备物,其含有一定范围的半纤维素分解活性,由棘孢曲霉的选择菌株产生。

[0175] - 酸性果胶酶 C (Pectinex Yield Mash, Novozymes A/S)

[0176] - 酸性果胶酶 D (Pectinex XXL, Novozymes A/S)

[0177] - 酸性果胶酶 E (Pectinex Smash XXL, Novozymes A/S)。

[0178] 在本说明书以及权利要求书中所提及的酶分类号 (EC 号) 与 Recommendations (1992) of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology, Academic Press Inc, 1992 中一致。

[0179] 织物

[0180] -460U Interlock Knits (460U 连锁编织物) (Testfabrics, Inc.)

[0181] -Vlisco 织物 (来自 Vlisco Helmond B. V.)

[0182] 缓冲剂

[0183] 柠檬酸缓冲液

[0184] 1) 10mM 柠檬酸缓冲液 (pH 3.0)

[0185] 将 1.954g 的柠檬酸单水合物 (Citric acid monohydrate) 和 0.206g 二水合柠檬酸钠 (Sodium Citrate dihydrate) 溶于 1L 去离子水中。

[0186] 2) 10mM 柠檬酸缓冲液 (pH 4.0)

[0187] 将 1.376g 柠檬酸单水合物和 1.015g 二水合柠檬酸钠溶于 1L 去离子水中。

[0188] 方法:

[0189] 同源性的测定

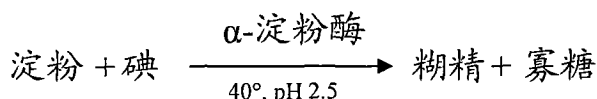
[0190] 就本发明而言, 将同源性程度测定为如通过 Clustal 方法 (Higgins, 1989, CABIOS 5:151-153) 测定的两个氨基酸序列之间的同一性程度, 所述方法使用 MEGALIGN™ 软件 (DNASTAR, Inc., Madison, WI) 及同一性表和以下多重比对参数: 缺口罚分 (gap penalty) 为 10, 和缺口长度罚分 (gap length penalty) 为 10。配对比对参数是 K 元组 (Ktuple) = 1, 缺口罚分 = 3, 窗口 = 5 和对角线 = 5。

[0191] 酸性  $\alpha$ -淀粉酶活性 (AFAU 测定法)

[0192] 当根据本发明使用时, 任何酸性  $\alpha$ -淀粉酶活性可以以 AFAU (酸性真菌  $\alpha$ -淀粉酶单位) 为单位测量, 其相对于酶标准品来测定。将 1AFAU 定义为在以下描述的标准条件下每小时降解 5.260mg 淀粉干物质的酶量。

[0193] 酸性  $\alpha$ -淀粉酶、内- $\alpha$ -淀粉酶 (1,4- $\alpha$ -D-葡聚糖-葡聚糖-水解酶 (1,4- $\alpha$ -D-glucan-glucano-hydrolase), E. C. 3.2.1.1) 水解淀粉分子内部区域中的  $\alpha$ -1,4-糖苷键以形成具有不同链长的寡糖和糊精。与碘形成的颜色强度与淀粉浓度成正比。使用反向比色法 (reverse colorimetry) 测定在特定分析条件下淀粉浓度的降低作为淀粉酶活性。

[0194]



[0195]  $\lambda = 590\text{nm}$

[0196] 蓝色 / 紫色  $t = 23$  秒 脱色

[0197] 标准条件 / 反应条件:

[0198] 底物: 可溶淀粉, 约 0.17g/L

[0199] 缓冲液: 柠檬酸盐 (Citrate), 约 0.03M

[0200] 碘 ( $I_2$ ): 0.03g/L

- [0201] CaCl<sub>2</sub> : 1.85mM  
 [0202] pH : 2.50±0.05  
 [0203] 温育温度 : 40°C  
 [0204] 反应时间 : 23 秒  
 [0205] 波长 : 590nm  
 [0206] 酶浓度 : 0.025AFU/mL  
 [0207] 酶工作范围 : 0.01-0.04AFU/mL  
 [0208] 更详细描述这种分析方法的文件夹 [EB-SM-0259.02/01](#) 可以根据向 Novozymes A/S, Denmark 要求而获得,通过引用将该文件夹包括在本文中。

[0209] α-淀粉酶活性 (FAU)

[0210] 可以使用 (4,6-亚乙基 (G7)-p-硝基苯基 (G1)-α, D-麦芽七糖苷 (4,6-ethylidene (G7)-p-nitrophenyl (G1)-α, D-maltoheptaoside) (亚乙基-G7PNP) 作为底物测定淀粉分解活性。此方法基于亚乙基-G7PNP 通过酶分解为葡萄糖和黄色的对硝基苯酚。对硝基苯酚的形成速率可以通过 Konelab30 观察。这是对反应速率的表示,因此也是对酶活性的表示。

[0211] 相对于酶标准品测定酶活性。将 1FAU 定义为在下述标准条件下每小时降解 5.260mg 淀粉干物质的酶量。

[0212]

| 反应条件 |                        |
|------|------------------------|
| 温度   | 37°C                   |
| pH   | 7.15                   |
| 底物浓度 | 1.86 mM                |
| 波长   | 405 nm                 |
| 反应时间 | 5 分钟                   |
| 测量时间 | 2 分钟                   |
| 酶浓度  | 0.46 - 2.29 mFAU(F)/ml |

[0213] 更详细描述这种分析方法的文件夹 [EB-SM-0216.02-D](#) 可以根据向 Novozymes A/S, Denmark 要求而获得,通过引用将该文件夹包括在本文中。

[0214] 果胶反式消除酶活性 (UPTE) 的测定

[0215] 可以通过在如下给出的条件下降解 Obipectin 溶液相对于酶标准品来测定酸性果胶酶活性。

- [0216] 反应 :  
 [0217] 底物浓度 :0.5% Obipectin  
 [0218] 温度 :30°C  
 [0219] pH :5.4  
 [0220] 反应时间 :10 分钟  
 [0221] 吸光度 :238nm

[0222] 将 1 果胶反式消除酶单位 (UPTE) 定义为在标准条件下每分钟使吸光度上升 0.01 吸光度单位的酶量。

[0223] 更详细描述这种分析方法的文件夹 [EB-SM-0368.02/01](#) 可以根据向 Novozymes A/S, Denmark 要求而获得, 通过引用将该文件夹包括在本文中。

[0224] 多聚半乳糖醛酸酶活性 (PGU) 的测定

[0225] 可以通过在如下给出的条件下降解多聚半乳糖醛酸相对于酶标准品来测定酸性果胶酶的活性:

[0226]

| 反应条件     |                        |
|----------|------------------------|
| 缓冲液      | 磷酸盐, 70 mM; 柠檬酸盐 30 mM |
| 多聚半乳糖醛酸  | 19 g/L                 |
| pH       | 3.5                    |
| 温度       | 30 °C                  |
| 时间       | 30 分钟                  |
| 多聚半乳糖醛酸酶 | 400 PGU/L              |
| 样品浓度     | 9 PGU/mL               |

[0227] 在多聚半乳糖醛酸降解时, 粘度将降低, 其与未知样品中多聚半乳糖醛酸酶活性成比例。

[0228] 更详细描述这种分析方法的文件夹 [EB-SM-0615.02](#) 可以根据向 Novozymes A/S, Denmark 要求而获得, 通过引用将该文件夹包括在本文中。

[0229] 脱浆 (Tegewa 方法)

[0230] 通过将碘染色的织物样块 (fabric swatch) 与标度 1-9 的标准照片组进行比较来目测确定淀粉大小的残余物, 其中 1 是深蓝, 而 9 为没有颜色沾染。通过如下制备碘染色溶液: 将 10g KI 溶解在 10ml 水中, 添加 0.635g I<sub>2</sub> 并将 200ml 乙醇添加至去离子水, 制成总共 1L 溶液。切割织物样品, 并浸入所述碘溶液中 60 秒, 再于去离子水中清洗约 5 秒。在挤出样品中多余的水之后, 由至少两位专业人员来为织物样品评级。给出平均数。方法和标准标度 (scale) 可从 Verband TEGEWA, Karlstrasse 21, Frankfurt a. M., Germany 获得。

[0231] 果胶去除

[0232] 定量测定织物上的果胶残余物。原理是钒红与多聚阴离子化合物如未甲基化的果胶结合。织物上果胶的水平与棉织物上钒红的浓度成比例, 其与 Kulbelka-Munk 函数成线性比例 (which is linearly proportional to Kulbelka-Munk function) (即, K/S)。在 540nm (Macbeth 比色计, Model#CE-7000) 测量钒红染色的织物的颜色反射 (R), 并且如下自动计算成 K/S 值:

[0233]  $K/S = (1-R)^2/2R$ 。

[0234] 使用以下公式计算果胶去除%:

[0235] % - 果胶去除 = 1 - % 残余果胶 =  $1 - 100 * (K/S - K/S_0) / (K/S_{100} - K/S_0)$

[0236] 其中  $K/S_{100}$  来自具有 100% 果胶的织物, 通常是原始未处理的织物, 而  $K/S_0$  来自具

有 0% 残余果胶的织物,通常是剧烈 (heavily) 煮炼并漂白的织物。基于来自 John H. Luft 并在文章“Ruthenium red and Violet I. Chemistry”1971 中描述的信息,如下制备染色溶液:将 0.2g/l 钌红、1.0g/l 氯化铵、2.5ml/128% 氢氧化铵溶液、1.0g/l Silwet L-77 和 1.0g/l Tergitol 15-S-12 溶解在蒸馏水中以制备总共 1 升的溶液。每日在使用之前制备所述溶液。在染色过程中,将 100mL 染料溶液用于 1 克织物。将织物样块在钌红溶液在室温温育 15 分钟。在滤器 (strainer) 中清洗所述样品,其后在蒸馏水 (100ml/1 克织物) 中在 60°C 清洗 10 分钟。干燥后测量颜色反射。

[0237] 织物润湿性

[0238] 根据 AATCC 试验方法 79-1995 使用点滴试验 (drop test) 方法测量织物润湿性。使一滴水从固定高度 (1cm) 落到测试样本的整洁表面 (taut surface)。测量水滴的镜面反射消失所需的时间,并记录为湿润时间。

[0239] 毛细作用试验

[0240] 纺织品的毛细升高值 (wicking height) 是吸收性的指标之一。切割矩形织物样块 25cm (经纱和纬纱方向) X 4cm。如果样品不可以这样的大小进行试验,则调整方法以适应样品。使用防水 / 防染料笔 (waterproof/dye-proof pen) 横穿样品上部在距样块顶部 1.5cm 和距样品底部 3cm 处画线。在距样块底部 19cm 处画一条穿过样品的线。将有重量的纸夹附接在织物底部。将样块的顶部置于温度计夹 (thermometer clamp) 中央,从而使线在夹子的底部。将 1g/L 染料溶液 (例如,活性蓝) 注入烧杯至大约半满 (在玻璃杯底之上至少 5cm)。调节夹子和布块直至染料溶液液面与织物底部的线平齐。样块一旦就位即启动计时器。测量染料溶液在 30 分钟之后从染料溶液液面毛细上升的高度。取出样块并使其在平面上风干。

[0241] 实施例

[0242] 实施例 1

[0243] 用酸性果胶酶 A 煮炼棉织物

[0244] 100% 460U 棉织物购自 Test Fabrics。将织物样块切割成每块约 2g。

[0245] 为这项研究制备了两种缓冲液。通过将 1.954g 柠檬酸单水合物和 0.206g 二水合柠檬酸钠溶于 1 升去离子水来制备缓冲液 pH 3。通过将 1.376g 柠檬酸单水合物和 1.015g 二水合柠檬酸钠溶于 1 升去离子水来制备缓冲液 pH 4。用 Lab-O-Mat 进行煮炼。将 40ml 缓冲液和两片预先切割的织物装入烧杯。

[0246] 1. 预清洗:将湿润剂 Leophan 添加至缓冲液至浓度为 0.25g/L。其后将温度提高至 40°C 来预清洗。10 分钟之后,排干液体。

[0247] 2. 生物煮炼:向装有预清洗的织物的烧杯注入 40ml 缓冲液。按照说明向每个烧杯添加酸性果胶酶。同时,添加 (dose) 第二湿润剂 Keirlon Jet B 至浓度为 1g/L。将温度提升至 55°C 并保持 30 分钟。

[0248] 3. 失活:在到达所需时间之后,在机器 / 烧杯中添加 Dekol NS,其后将温度提升至 95°C 并运行 15 分钟,将温度降低至 70°C,排干。

[0249] 4. 热清洗:注入水并在 70°C 温育 10 分钟。

[0250] 5. 冷清洗:注入冷水并清洗 10 分钟。

[0251] 6. 旋转甩掉 (spin off) 织物上的水并风干。

[0252] 7. 测量经处理织物的残余果胶和湿润时间。

[0253] 试验结果示于表 1。

[0254] 实施例 2

[0255] 用酸性果胶酶 B 煮炼织物

[0256] 如实施例 1 制备相同的织物样块和缓冲液。酸性果胶酶 B 与酸性果胶酶 A 相比具有不同的酶组成。果胶酶去除性能示于表 1。两种酶在酸性 pH 均显示了良好的性能。

[0257] 表 1

[0258]

| pH                        | 酶类型                | 酶剂量         | 果胶去除 (%) (平均值) |
|---------------------------|--------------------|-------------|----------------|
| 4                         | 无酶                 | 0           | 24.7           |
|                           | 酸性果胶酶 A            | 9UPTE/g 织物  | 46.8           |
|                           | 酸性果胶酶 A            | 90UPTE/g 织物 | 61.8           |
|                           | 酸性果胶酶 B            | 13PGU/g 织物  | 60.4           |
|                           | 酸性果胶酶 B            | 130PGU/g 织物 | 95.6           |
| 3                         | 无酶                 | 0           | 24.0           |
|                           | 酸性 $\alpha$ -淀粉酶 B | 130PGU/g 织物 | 91.2           |
| (ml/kg)                   | 0                  | 0.5         | 5.00           |
| , pH 4                    | 24.7%              | 46.8%       | 61.8%          |
| Pectinex Yield Mash, pH 4 | 24.7%              | 47.2%       | 79.8%          |
| Pectinex Ultra, pH 4      | 24.7%              | 60.4%       | 95.6%          |
| Pectinex XXL, pH 4        | 24.7%              | 30.4%       | 69.5%          |
| Pectinex Smash XXL, pH 4  | 24.7%              | 32.9%       | 88.9%          |
| Pectinex BE XXL, pH 3     | 24.0%              |             | 91.2%          |

[0259] 实施例 3

[0260] 使用酸性淀粉酶 A 和酸性果胶酶 A 的冷轧染堆置同时脱浆和生物煮炼

[0261] Vilisco 织物 (100%棉) 来自 Vlisco 并切割成 5cm\*15cm。遵循实施例 1 中所述方法制备缓冲液 pH 3 和 pH 4。向烧杯添加 100ml 缓冲液, 添加 KeirlonJet B 至浓度为 2g/L。将酶添加至浸渍溶液 (impregnation solution) 中 (剂量列于表 2) 并充分混合。用一对镊子固定 2 块来自相同织物的样块。将样块浸入浸渍浴 30 秒并将其用轧机 (padder) (Mathis Inc, U. S. A.) 浸轧。再重复一次浸渍和挤压以确保提出 100%水分。将样块置于双层塑料袋中, 压出空气并将袋子放置在室温。24 小时之后, 将样品从塑料袋中取出。将样品用镊子固定, 并将它们在 90°C 水浴中浸渍 30 秒, 再用轧机挤压。重复浸渍和挤压两次。在冷自来水 (cold tap water) 中清洗织物至少 60 秒, 并用手挤掉水。其后风干织物并测量 TEGEWA、残余果胶、湿润时间和毛细作用试验。试验结果示于表 2。

[0262] 实施例 4

[0263] 使用酸性淀粉酶 A 和酸性果胶酶 A 轧染堆置同时脱浆和生物煮炼

[0264] 使用与实施例 3 相同的织物和相同的缓冲体系。向每个烧杯中添加 100ml 浸渍溶液, 并且将它们放置在 Lab-o-Mat 中, 将该溶液加热至 60°C。取出烧杯, 根据表 2 向浸渍溶液添加酶并充分混合。用一对镊子固定 2 块来自相同织物的样块。将样块浸入浸渍浴 30 秒并将其用轧机浸轧。再重复一次浸渍和挤压以确保提出 100%水分。将样块置于双层塑料袋中, 压出空气并将袋子置于预设至 60°C 的水浴。2 小时之后, 将样品从塑料袋中取出。将样品用镊子固定, 并将它们在 90°C 水浴中浸渍 30 秒, 再用轧机挤压。重复浸渍和挤压两

次。在冷自来水中清洗织物至少 60 秒,并用手挤掉水。其后风干织物并测量 TEGEWA、残余果胶、湿润时间和毛细作用试验。试验结果示于表 2。

[0265] 表 2

[0266]

|                      | 淀粉酶 A        | 果胶酶 A           | 脱浆<br>(TEGEWA) | 果胶<br>去除 | 湿润时<br>间(秒) | 毛细作<br>用(cm) |
|----------------------|--------------|-----------------|----------------|----------|-------------|--------------|
| 原始织物<br>(raw fabric) | 0            | 0               | 1              | 0        | >60s        | NA           |
| 冷轧染堆置<br>(pH3);25°C  | 50<br>AFAU/L | 36000<br>UPTE/L | 7              | 72.6%    | 5           | 9            |
| 冷轧染堆置<br>(pH4);25°C  |              |                 | 7              | 68.2%    | 6           | 9            |
| 轧染堆置<br>(pH 3),60°C  |              |                 | 9              | 73.3%    | 6           | 9            |
| 轧染堆置<br>(pH 4),60°C  |              |                 | 6.5            | 69.9%    | 4           | 9            |

[0267] 实施例 5

[0268] 使用酸性淀粉酶 A 和酸性果胶酶 B 的冷轧染堆置同时脱浆和生物煮炼

[0269] 除了使用酸性果胶酶 B 之外,方法与实施例 3 中所述相同。试验结果示于表 3。

[0270] 实施例 6

[0271] 使用酸性淀粉酶 A 和酸性果胶酶 B 的轧染堆置同时脱浆和生物煮炼

[0272] 除了使用酸性果胶酶 B 之外,方法与实施例 4 中所述相同。试验结果示于表 3。

[0273] 表 3

[0274]

|                      | 淀粉酶 A        | 果胶酶 B          | 脱浆<br>(TEGEWA) | 果胶<br>去除 | 湿润时<br>间(秒) | 毛细作<br>用(cm) |
|----------------------|--------------|----------------|----------------|----------|-------------|--------------|
| 冷轧染堆置<br>(pH 3),25°C | 50<br>AFAU/L | 52000<br>PGU/L | 7              | 76.5%    | 5           | 10           |
| 冷轧染堆置<br>(pH 4),25°C |              |                | 8              | 75.4%    | 2           | 10           |
| 轧染堆置<br>(pH 3),60°C  |              |                | 8              | 75.4%    | 5           | 11           |
| 轧染堆置<br>(pH 4),60°C  |              |                | 6.5            | 72.6%    | 4           | 9.5          |

[0275] 实施例 7

[0276] 使用酸性淀粉酶 B 和酸性果胶酶 A 的冷轧染堆置同时脱浆和生物煮炼

[0277] 除了用酸性淀粉酶 B 取代酸性淀粉酶 A 之外,方法与实施例 3 中所述相同。测试结果示于表 4。

[0278] 实施例 8

[0279] 使用酸性淀粉酶 B 和酸性果胶酶 A 的轧染堆置同时脱浆和生物煮炼

[0280] 除了用酸性淀粉酶 B 取代酸性淀粉酶 A 之外,方法与实施例 4 中所述相同。测试结果示于表 4。

[0281] 表 4

[0282]

|                       | 淀粉酶 B   | 果胶酶 A           | 脱浆<br>(TEGEWA) | 果胶<br>去除 | 湿润时<br>间 (秒) | 毛细作<br>用 (cm) |
|-----------------------|---------|-----------------|----------------|----------|--------------|---------------|
| 冷轧染堆置<br>(pH 3), 25°C | 50FAU/L | 36000<br>UPTE/L | 9              | 69.9%    | 6            | 9.5           |
| 冷轧染堆置<br>(pH 4), 25°C |         |                 | 9              | 58.1%    | 5            | 8.5           |
| 轧染堆置<br>(pH 3), 60°C  |         |                 | 8.5            | 71.1%    | 10           | 10            |
| 轧染堆置<br>(pH 4), 60°C  |         |                 | 9              | 62.1%    | 5            | 10            |

[0283] 实施例 9

[0284] 使用酸性淀粉酶 B 和酸性果胶酶 B 的冷轧染堆置同时脱浆和生物煮炼

[0285] 除了用酸性淀粉酶 B 取代酸性淀粉酶 A 并用酸性果胶酶 B 取代酸性果胶酶 A 之外，方法与实施例 3 中所述相同。试验结果示于表 5。

[0286] 实施例 10

[0287] 使用酸性淀粉酶 B 和酸性果胶酶 B 的轧染堆置同时脱浆和生物煮炼

[0288] 除了用酸性淀粉酶 B 取代酸性淀粉酶 A 并用酸性果胶酶 B 取代酸性果胶酶 A 之外，方法与实施例 4 中所述相同。试验结果示于表 5。

[0289] 表 5

[0290]

|                       | 淀粉酶 B   | 果胶酶 B          | 脱浆<br>(TEGEWA) | 果胶<br>去除 | 湿润时<br>间 (秒) | 毛细作<br>用 (cm) |
|-----------------------|---------|----------------|----------------|----------|--------------|---------------|
| 冷轧染堆置<br>(pH 3), 25°C | 50FAU/L | 52000<br>PGU/L | 8              | 74.5%    | 13           | 9.5           |
| 冷轧染堆置<br>(pH 4), 25°C |         |                | 8.5            | 65.7%    | 2            | 10            |
| 轧染堆置<br>(pH 3), 60°C  |         |                | 9              | 75.2%    | 4            | 9.5           |
| 轧染堆置<br>(pH 4), 60°C  |         |                | 7.25           | 69.4%    | 9            | 9             |

[0291] 实施例 11

[0292] 用野生型酸性  $\alpha$ -淀粉酶 A 将棉织物脱浆

[0293] 100%棉织物 (270g/m<sup>2</sup>) 来自 **Borås Wärfveri** Kungsfors AB, Sweden。它在 2003 年以 Cupper 3/1 结构制成。所述织物含有 28 线/cm 经纱和 14 线/cm 纬纱。经纱具有 Ne 11, 而纬纱具有 Ne 8。两种纱线均为开放式末端。经纱的干浆料提取量 (drysize pick up) 为 8%。浆料主要包含 Kollotex 5、Solvitose X0 和含有乳化剂的牛脂蜡 (beeftallow wax)。Kollotex 5 是低粘度马铃薯淀粉酯。SolvitoseX0 是高粘度淀粉酯, 具有约 0.07 的 DS。将织物样块切割成每块约 25g。

[0294] 通过如下制备缓冲液 pH 3: 将 11.53g 85%磷酸溶于 4.5 升纯水中, 用 5NNaOH 滴定至 pH 2.95, 再加水至 5 升。在缓冲液中添加 2g/l 非离子表面活性剂 (湿润剂) 之后, 测量在 25°C 的缓冲 pH 为 3.05。如表 6 所列添加酶剂量。

[0295] 脱浆处理在 Lab-o-mat (Werner Mathis) 中进行。在每个烧杯中添加 250mL 缓冲溶液。添加给定量的  $\alpha$ -淀粉酶。在每个烧杯中放置一件织物样块 (25g)。将烧杯封闭并

放置在 Lab-o-mat 中。通过 Lab-o-mat 内配备的红外加热系统以每分钟 5℃ 将烧杯加热至 50℃。在 50℃ 以 30rpm 旋转烧杯 45 分钟。在酶处理之后,相继在相同的烧杯中分别在 95、75 和 40℃ 用水洗涤织物样块。

[0296] 在空气中干燥过夜后,用碘溶液染色织物样块。将染色的织物样品在视觉上与标度 1-9 的 TEGEWA 标准照片比较,其中 1 是深色,而 9 没有颜色沾染。因此较高的数值表示较好的淀粉去除。视觉评估由至少三位专业人士完成,并且为每个织物样品给出平均 TEGEWA 值。结果示于表 6。

[0297] 还评估了织物上的金属离子残余物。首先将织物用 Thomas-Wiley 轧机 (mill) 通过 1mm 筛切割。将织物碎块 (fabric mash) 4.00 (+/-0.01)g 与 80mL1g/L EDTA 溶液混合。将所述混合物在摇床 (新 Brunswick Scientific Co. Inc, Series 25) 中在 70℃ 和 200rpm 温育 15 小时。冷却约 30 分钟之后,在 20℃ 以 2500rpm 将混合物离心 10 分钟。收集上清用于以 Perkinelmer 原子吸收分光光度计进行金属含量分析。

[0298] 表 6

[0299]

| 酶类型                | [酶]<br>(AFAU/kg 织物) | TEGEWA 值<br>(平均值) | 金属含量<br>(mg/L) |      |
|--------------------|---------------------|-------------------|----------------|------|
|                    |                     |                   | Mn             | Fe   |
| 无酶                 | 0                   | 1.3               | 0.23           | 3.91 |
| 酸性 $\alpha$ -淀粉酶 A | 27.5                | 2.3               | n/a            | n/a  |
|                    | 275                 | 3.8               | 0.20           | 2.72 |
|                    | 1100                | 5.2               | n/a            | n/a  |

[0300] n/a = 未测 (not measured)。

## 序列表

<110> 诺维信北美公司 (Novozymes North America, Inc.)

诺维信公司 (NOVOZYMES A/S)

<120> 脱浆和煮炼方法

<130>10939-W0

<160>48

<170>PatentIn version 3.4

<210>1

<211>396

<212>DNA

<213> 川地曲霉 (*Aspergillus kawachii*)

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (396)

<223> 川地曲霉 CBD

<400>1

|  |     |
|--|-----|
| act agt aca tcc aaa gcc acc acc tcc tct tct tct tct tct get get      | 48  |
| Thr Ser Thr Ser Lys Ala Thr Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ala Ala      |     |
| 1                    5                    10                    15   |     |
| gct act act tct tca tca tgc acc gca aca agc acc acc ctc ccc atc      | 96  |
| Ala Thr Thr Ser Ser Ser Cys Thr Ala Thr Ser Thr Thr Leu Pro Ile      |     |
| 20                    25                    30                       |     |
| acc ttc gaa gaa ctc gtc acc act acc tac ggg gaa gaa gtc tac ctc      | 144 |
| Thr Phe Glu Glu Leu Val Thr Thr Thr Tyr Gly Glu Glu Val Tyr Leu      |     |
| 35                    40                    45                       |     |
| agc gga tct atc tcc cag ctc gga gag tgg gat acg agt gac gcg gtg      | 192 |
| Ser Gly Ser Ile Ser Gln Leu Gly Glu Trp Asp Thr Ser Asp Ala Val      |     |
| 50                    55                    60                       |     |
| aag ttg tcc gcg gat gat tat acc tcg agt aac ccc gag tgg tct gtt      | 240 |
| Lys Leu Ser Ala Asp Asp Tyr Thr Ser Ser Asn Pro Glu Trp Ser Val      |     |
| 65                    70                    75                    80 |     |

|   |     |
|---|-----|
| act gtg tcg ttg ccg gtg ggg acg acc ttc gag tat aag ttt att aag | 288 |
| Thr Val Ser Leu Pro Val Gly Thr Thr Phe Glu Tyr Lys Phe Ile Lys |     |
| 85 90 95  |     |
| gtc gat gag ggt gga agt gtg act tgg gaa agt gat ccg aat agg gag | 336 |
| Val Asp Glu Gly Gly Ser Val Thr Trp Glu Ser Asp Pro Asn Arg Glu |     |
| 100 105 110   |     |
| tat act gtg cct gaa tgt ggg aat ggg agt ggg gag acg gtg gtt gat | 384 |
| Tyr Thr Val Pro Glu Cys Gly Asn Gly Ser Gly Glu Thr Val Val Asp |     |
| 115 120 125   |     |
| acg tgg agg tag   | 396 |
| Thr Trp Arg   |     |
| 130   |     |

&lt;210&gt;2

&lt;211&gt;131

&lt;212&gt;PRT

&lt;213&gt; 川地曲霉

&lt;400&gt;2

|   |  |
|---|--|
| Thr Ser Thr Ser Lys Ala Thr Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ala Ala     |  |
| 1 5 10 15   |  |
| Ala Thr Thr Ser Ser Ser Cys Thr Ala Thr Ser Thr Thr Leu Pro Ile |  |
| 20 25 30  |  |
| Thr Phe Glu Glu Leu Val Thr Thr Thr Tyr Gly Glu Glu Val Tyr Leu |  |
| 35 40 45  |  |
| Ser Gly Ser Ile Ser Gln Leu Gly Glu Trp Asp Thr Ser Asp Ala Val |  |
| 50 55 60  |  |
| Lys Leu Ser Ala Asp Asp Tyr Thr Ser Ser Asn Pro Glu Trp Ser Val |  |
| 65 70 75 80   |  |
| Thr Val Ser Leu Pro Val Gly Thr Thr Phe Glu Tyr Lys Phe Ile Lys |  |
| 85 9 095  |  |
| Val Asp Glu Gly Gly Ser Val Thr Trp Glu Ser Asp Pro Asn Arg Glu |  |
| 100 105 110   |  |
| Tyr Thr Val Pro Glu Cys Gly Asn Gly Ser Gly Glu Thr Val Val Asp |  |
| 115 120 125   |  |
| Thr Trp Arg   |  |
| 130   |  |

<210>3

<211>1533

<212>DNA

<213> 黑曲霉 (*Aspergillus niger*)

<220>

<221>CDS

<222>(1)..(1533)

<223> 黑曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶

<220>

<221> 成熟肽

<222>(64)..(1533)

<400>3

|   |     |
|---|-----|
| atg aga tta tcg act tcg agt ctc ttc ctt tcc gtg tct ctg ctg ggg       | 48  |
| Met Arg Leu Ser Thr Ser Ser Leu Phe Leu Ser Val Ser Leu Leu Gly       |     |
| -20                    -15                    -10                     |     |
| aag ctg gcc ctc ggg ctg tcg gct gca gaa tgg cgc act cag tcg att       | 96  |
| Lys Leu Ala Leu Gly Leu Ser Ala Ala Glu Trp Arg Thr Gln Ser Ile       |     |
| -5                    -1 1                    5                    10 |     |
| tac ttc cta ttg acg gat cgg ttc ggt agg acg gac aat tcg acg aca       | 144 |
| Tyr Phe Leu Leu Thr Asp Arg Phe Gly Arg Thr Asp Asn Ser Thr Thr       |     |
| 15                    20                    25                        |     |
| gct aca tgc gat acg ggt gac caa atc tat tgt ggt ggc agt tgg caa       | 192 |
| Ala Thr Cys Asp Thr Gly Asp Gln Ile Tyr Cys Gly Gly Ser Trp Gln       |     |
| 30                    35                    40                        |     |
| gga atc atc aac cat ctg gat tat atc cag ggc atg gga ttc acg gcc       | 240 |
| Gly Ile Ile Asn His Leu Asp Tyr Ile Gln Gly Met Gly Phe Thr Ala       |     |
| 45                    50                    55                        |     |
| atc tgg atc tcg cct atc act gaa cag ctg ccc cag gat act gct gat       | 288 |
| Ile Trp Ile Ser Pro Ile Thr Glu Gln Leu Pro Gln Asp Thr Ala Asp       |     |
| 60                    65                    70                    75  |     |
| ggt gaa gct tac cat gga tat tgg cag cag aag ata tac gac gtg aac       | 336 |
| Gly Glu Ala Tyr His Gly Tyr Trp Gln Gln Lys Ile Tyr Asp Val Asn       |     |
| 80                    85                    90                        |     |
| tcc aac ttc ggc act gca gat gac ctc aag tcc ctc tca gat gcg ctt       | 384 |
| Ser Asn Phe Gly Thr Ala Asp Asp Leu Lys Ser Leu Ser Asp Ala Leu       |     |
| 95                    100                    105                      |     |

|   |      |
|---|------|
| cat gcc cgc gga atg tac ctc atg gtg gac gtc gtc cct aac cac atg | 432  |
| His Ala Arg Gly Met Tyr Leu Met Val Asp Val Val Pro Asn His Met |      |
| 110 115 120   |      |
| ggc tac gcc ggc aac ggc aac gat gta gac tac agc gtc ttc gac ccc | 480  |
| Gly Tyr Ala Gly Asn Gly Asn Asp Val Asp Tyr Ser Val Phe Asp Pro |      |
| 125 130 135   |      |
| ttc gat tcc tcc tcc tacttc cac cca tac tgc ctg atc aca gat tgg  | 528  |
| Phe Asp Ser Ser Ser Tyr Phe His Pro Tyr Cys Leu Ile Thr Asp Trp |      |
| 140 145 150 155   |      |
| gac aac ttg acc atg gtc caa gat tgt tgg gag ggt gac acc atc gta | 576  |
| Asp Asn Leu Thr Met Val Gln Asp Cys Trp Glu Gly Asp Thr Ile Val |      |
| 160 165 170   |      |
| tct ctg cca gac cta aac acc acc gaa act gcc gtg aga aca atc tgg | 624  |
| Ser Leu Pro Asp Leu Asn Thr Thr Glu Thr Ala Val Arg Thr Ile Trp |      |
| 175 180 185   |      |
| tat gac tgg gta gcc gac ctg gta tcc aat tat tca gtc gac gga ctc | 672  |
| Tyr Asp Trp Val Ala Asp Leu Val Ser Asn Tyr Ser Val Asp Gly Leu |      |
| 190 195 200   |      |
| cgc atc gac agt gtc ctc gaa gtc gaa cca gac ttc ttc ccg ggc tac | 720  |
| Arg Ile Asp Ser Val Leu Glu Val Glu Pro Asp Phe Phe Pro Gly Tyr |      |
| 205 210 215   |      |
| cag gaa gca gca ggt gtc tac tgc gtc ggc gaa gtc gac aac ggc aac | 768  |
| Gln Glu Ala Ala Gly Val Tyr Cys Val Gly Glu Val Asp Asn Gly Asn |      |
| 220 225 230 235   |      |
| cct gcc ctc gac tgc cca tac cag aag gtc ctg gac ggc gtc ctc aac | 816  |
| Pro Ala Leu Asp Cys Pro Tyr Gln Lys Val Leu Asp Gly Val Leu Asn |      |
| 240 245 250   |      |
| tat ccg atc tac tgg caa ctc ctc tac gcc ttc gaa tcc tcc agc ggc | 864  |
| Tyr Pro Ile Tyr Trp Gln Leu Leu Tyr Ala Phe Glu Ser Ser Ser Gly |      |
| 255 260 265   |      |
| agc atc agc aat ctc tac aac atg atc aaa tcc gtc gca agc gac tgc | 912  |
| Ser Ile Ser Asn Leu Tyr Asn Met Ile Lys Ser Val Ala Ser Asp Cys |      |
| 270 275 280   |      |
| tcc gat ccg aca cta ctc ggc aac ttc atc gaa aac cac gac aat ccc | 960  |
| Ser Asp Pro Thr Leu Leu Gly Asn Phe Ile Glu Asn His Asp Asn Pro |      |
| 285 290 295   |      |
| cgt ttc gcc tcc tac acc tcc gac tac tcg caa gcc aaa aac gtc ctc | 1008 |
| Arg Phe Ala Ser Tyr Thr Ser Asp Tyr Ser Gln Ala Lys Asn Val Leu |      |
| 300 305 310 315   |      |

|   |      |
|---|------|
| agc tac atc ttc ctc tcc gac ggc atc ccc atc gtc tac gcc ggc gaa | 1056 |
| Ser Tyr Ile Phe Leu Ser Asp Gly Ile Pro Ile Val Tyr Ala Gly Glu |      |
| 320 325 330   |      |
| gaa cag cac tac tcc ggc ggc aag gtg ccc tac aac cgc gaa gcg acc | 1104 |
| Glu Gln His Tyr Ser Gly Gly Lys Val Pro Tyr Asn Arg Glu Ala Thr |      |
| 335 340 345   |      |
| tgg ctt tca ggc tac gac acc tcc gca gag ctg tac acc tgg ata gcc | 1152 |
| Trp Leu Ser Gly Tyr Asp Thr Ser Ala Glu Leu Tyr Thr Trp Ile Ala |      |
| 350 355 360   |      |
| acc acg aac gcg atc cgc aaa cta gcc atc tca gct gac tcg gcc tac | 1200 |
| Thr Thr Asn Ala Ile Arg Lys Leu Ala Ile Ser Ala Asp Ser Ala Tyr |      |
| 365 370 375   |      |
| att acc tac gcg aat gat gca ttc tac act gac agc aac acc atc gca | 1248 |
| Ile Thr Tyr Ala Asn Asp Ala Phe Tyr Thr Asp Ser Asn Thr Ile Ala |      |
| 380 385 390 395   |      |
| atg cgc aaa ggc acc tca ggg agc caa gtc atc acc gtc ctc tcc aac | 1296 |
| Met Arg Lys Gly Thr Ser Gly Ser Gln Val Ile Thr Val Leu Ser Asn |      |
| 400 405 410   |      |
| aaa ggc tcc tca gga agc agc tac acc ctg acc ctc agc gga agc ggc | 1344 |
| Lys Gly Ser Ser Gly Ser Ser Tyr Thr Leu Thr Leu Ser Gly Ser Gly |      |
| 415 420 425   |      |
| tac aca tcc ggc acg aag ctg atc gaa gcg tac aca tgc aca tcc gtg | 1392 |
| Tyr Thr Ser Gly Thr Lys Leu Ile Glu Ala Tyr Thr Cys Thr Ser Val |      |
| 430 435 440   |      |
| acc gtg gac tcg agc ggc gat att ccc gtg ccg atg gcg tcg gga tta | 1440 |
| Thr Val Asp Ser Ser Gly Asp Ile Pro Val Pro Met Ala Ser Gly Leu |      |
| 445 450 455   |      |
| ccg aga gtt ctt ctg ccc gcg tcc gtc gtc gat agc tct tcg ctc tgt | 1488 |
| Pro Arg Val Leu Leu Pro Ala Ser Val Val Asp Ser Ser Ser Leu Cys |      |
| 460 465 470 475   |      |
| ggc ggg agc gga aga aca acc acg acc aca act gct gct act agt     | 1533 |
| Gly Gly Ser Gly Arg Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ser     |      |
| 480 485 490   |      |

&lt;210&gt;4

&lt;211&gt;511

&lt;212&gt;PRT

&lt;213&gt; 黑曲霉

&lt;400&gt;4

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

|   |     |     |
|---|-----|-----|
| 270   | 275 | 280 |
| Ser Asp Pro Thr Leu Leu Gly Asn Phe Ile Glu Asn His Asp Asn Pro |     |     |
| 285   | 290 | 295 |
| Arg Phe Ala Ser Tyr Thr Ser Asp Tyr Ser GlnAla Lys Asn Val Leu  |     |     |
| 300   | 305 | 310 |
| Ser Tyr Ile Phe Leu Ser Asp Gly Ile Pro Ile Val Tyr Ala Gly Glu |     |     |
|   | 320 | 325 |
| Glu Gln His Tyr Ser Gly Gly Lys Val Pro Tyr Asn Arg Glu Ala Thr |     |     |
|   | 335 | 340 |
| Trp Leu Ser Gly Tyr Asp Thr Ser Ala Glu Leu Tyr Thr Trp Ile Ala |     |     |
|   | 350 | 355 |
| Thr Thr Asn Ala Ile Arg Lys Leu Ala Ile Ser Ala Asp Ser Ala Tyr |     |     |
|   | 365 | 370 |
| Ile Thr Tyr Ala Asn Asp Ala Phe Tyr Thr Asp Ser Asn Thr Ile Ala |     |     |
| 380   | 385 | 390 |
| Met Arg Lys Gly Thr Ser Gly Ser Gln Val Ile Thr Val Leu Ser Asn |     |     |
|   | 400 | 405 |
| Lys Gly Ser Ser Gly Ser Ser Tyr Thr Leu Thr Leu Ser Gly Ser Gly |     |     |
|   | 415 | 420 |
| Tyr Thr Ser Gly Thr Lys Leu Ile Glu Ala Tyr Thr Cys Thr Ser Val |     |     |
|   | 430 | 435 |
| Thr Val Asp Ser Ser Gly Asp Ile Pro Val Pro Met Ala Ser Gly Leu |     |     |
|   | 445 | 450 |
| Pro Arg Val Leu Leu Pro Ala Ser Val Val Asp Ser Ser Ser Leu Cys |     |     |
| 460   | 465 | 470 |
| Gly Gly Ser Gly Arg Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ser     |     |     |
|   | 480 | 485 |
|   |     | 490 |

<210>5

<211>102

<212>PRT

<213> 黄热曲霉 (*Bacillus flavothermus*)

<220>

<221> 结构域

<222>(1)..(102)

<223>CBD

<400>5

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

<210>6

<211>99

<212>PRT

<213> 曲霉属菌种 (Bacillus sp.)

<220>

<221> 结构域

<222>(1).. (99)

<223>CBD

<400>6

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

Asn Val Pro

<210>7

<211>102

<212>PRT

<213>嗜碱曲霉 (Alcaliphilic Bacillus)

<220>

<221>结构域

<222>(1)..(102)

<223>CBD

<400>7

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

<210>8

<211>112

<212>PRT

<213>Hormoconis resiniae

<220>

<221>结构域

<222>(1)..(112)

<223>CBD

<400>8

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

<210>9

<211>95

<212>PRT

<213> 香菇 (*Lentinula edodes*)

<220>

<221> 结构域

<222>(1)..(95)

<223>CBD

<400>9

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

85

90

95

&lt;210&gt;10

&lt;211&gt;107

&lt;212&gt;PRT

<213> 粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 结构域

&lt;222&gt;(1).. (107)

&lt;223&gt;CBD

&lt;400&gt;10

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

&lt;210&gt;11

&lt;211&gt;115

&lt;212&gt;PRT

<213> 丝衣霉状踝节菌 (*Talaromyces byssochlamydioides*)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 结构域

&lt;222&gt;(1).. (115)

&lt;223&gt;CBD

<400>11

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

<210>12

<211>115

<212>PRT

<213>Geosmithia cylindrospora :

<220>

<221> 结构域

<222>(1)..(115)

<223>CBD

<400>12

Thr Ser Thr Gly Ser Ala Pro Cys Thr Thr Pro Thr Thr Val Ala Val  
 1                   5                   10                   15  
 Thr Phe Asp Glu Ile Val Thr Thr Ser Tyr Gly Glu Thr Val Tyr Leu  
                   20                   25                   30  
 Ala Gly Ser Ile Ala Ala Leu Gly Asn Trp Asp Thr Asn Ser Ala Ile  
                   35                   40                   45  
 Ala Leu Ser Ala Ala Asp Tyr Thr Ser Asn Asn Asn Leu Trp Tyr Val  
                   50                   55                   60



<210>14  
 <211>126  
 <212>PRT  
 <213> 路德正青霉 (*Eupenicillium ludwigii*)

<220>  
 <221> 结构域  
 <222>(1)..(126)  
 <223>CBD

<400>14

```

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

```

<210>15  
 <211>116  
 <212>PRT  
 <213> 日本曲霉 (*Aspergillus japonicus*)

<220>  
 <221> 结构域  
 <222>(1)..(116)  
 <223>CBD

<400>15

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

<210>16

<211>133

<212>PRT

<213> 米舒青霉 (*Penicillium cf. miczynskii*)

<220>

<221> 结构域

<222>(1)..(133)

<223>CBD

<400>16

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

|                     |                     |                                 |
|---------------------|---------------------|---------------------------------|
| 50                  | 55                  | 60                              |
| Ala Ile Arg Leu Ser | Ala Ser Gln Tyr Thr | Ser Ser Asn His Leu Trp         |
| 65                  | 70                  | 75                              |
| Tyr Val Ala Val Ser | Leu Pro Ala Gly Gln | Val Phe Gln Tyr Lys Tyr         |
|                     | 85                  | 90                              |
| Ile Arg Val Ala Ser | Ser Ser Gly Thr     | Ile Thr Trp Glu Ser Asp Pro Asn |
|                     | 100                 | 105                             |
| Leu Ser Tyr Thr Val | Pro Val Ala Cys Ala | Ala Thr Ala Val Thr Ile         |
|                     | 115                 | 120                             |
| Ser Asp Thr Trp Arg |                     | 125                             |
| 130                 |                     |                                 |

&lt;210&gt;17

&lt;211&gt;116

&lt;212&gt;PRT

&lt;213&gt;Mz1 青霉属菌种 (Mz1 Penicillium sp.)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 结构域

&lt;222&gt;(1).. (116)

&lt;223&gt;CBD

&lt;400&gt;17

|                     |                     |                         |
|---------------------|---------------------|-------------------------|
| 1                   | 5                   | 10                      |
| Thr Lys Thr Ser Thr | Ser Thr Ser Cys Thr | Thr Pro Thr Ala Val Ala |
| Val Thr Phe Asp Leu | Ile Ala Thr Thr Thr | Tyr Gly Glu Asn Ile Lys |
|                     | 20                  | 25                      |
| Ile Ala Gly Ser Ile | Ala Ala Leu Gly Ala | Trp Asp Thr Asp Asp Ala |
|                     | 35                  | 40                      |
| Val Ala Leu Ser Ala | Ala Asp Tyr Thr Asp | Ser Asp His Leu Trp Phe |
|                     | 50                  | 55                      |
| Val Thr Gln Ser Ile | Pro Ala Gly Thr Val | Phe Glu Tyr Lys Tyr Ile |
| 65                  | 70                  | 75                      |
| Arg Val Glu Ser Asp | Gly Thr Ile Glu Trp | Glu Ser Asp Pro Asn Arg |
|                     | 85                  | 90                      |
| Ser Tyr Thr Val Pro | Ala Ala Cys Ala Thr | Thr Ala Val Thr Glu Ser |
|                     | 100                 | 105                     |
| Asp Thr Trp Arg     |                     | 110                     |

115

&lt;210&gt;18

&lt;211&gt;114

&lt;212&gt;PRT

&lt;213&gt;Thysanophora sp

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 结构域

&lt;222&gt;(1).. (114)

&lt;223&gt;CBD

&lt;400&gt;18

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

&lt;210&gt;19

&lt;211&gt;111

&lt;212&gt;PRT

<213> 灰色腐质霉 thermoidea 变体 (*Humicola grisea* var. *thermoidea*)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; 结构域

&lt;222&gt;(1).. (111)

&lt;223&gt;CBD

<400>19

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

<210>20

<211>108

<212>PRT

<213> 黑曲霉

<220>

<221> 结构域

<222>(1)..(108)

<223>CBD

<400>20

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



<222>(1).. (38)

<223> 接头

<400>22

Thr Gly Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Pro Thr Gly Ser Gly Ser Val  
 1                    5                    10                    15  
 Thr Ser Thr Ser Lys Thr Thr Ala Thr Ala Ser Lys Thr Ser Thr Ser  
                   20                    25                    30  
 Thr Ser Ser Thr Ser Ala  
                   35

<210>23

<211>31

<212>PRT

<213> 川地曲霉

<220>

<221> 结构域

<222>(1).. (31)

<223> 接头

<400>23

Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ala Ala Ala Thr Ser Thr Ser Lys Ala Thr  
 1                    5                    10                    15  
 Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ala Ala Ala Thr Thr Ser Ser Ser  
                   20                    25                    30

<210>24

<211>11

<212>PRT

<213> 罗耳阿太菌

<220>

<221> 结构域

<222>(1).. (11)

<223> 接头

<400>24

Gly Ala Thr Ser Pro Gly Gly Ser Ser Gly Ser  
1 5 10

<210>25

<211>8

<212>PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 人工的

<220>

<221> 结构域

<222>(1)..(8))

<223> 接头

<400>25

Pro Glu Pro Thr Pro Glu Pro Thr  
1 5

<210>26

<211>498

<212>PRT

<213> 米曲霉 (*Aspergillus oryzae*)

<220>

<221> 信号

<222>(1)..(20)

<220>

<221> 成熟肽

<222>(20)..(498)

<400>26

Met Val Ala Trp Trp Ser Leu Phe Leu Tyr Gly Leu Gln Val Ala Ala  
-15 -10 -5

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

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

<210>27

<211>1860

<212>DNA

<213>人工的

<220>

<223>人工的

<220>

<221>CDS

<222>(1)..(1860)

<223>由黑曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶催化域和川地曲霉  $\alpha$ -淀粉酶接头-黑曲霉葡萄糖淀粉酶 CBD 组成的杂合体

<400>27

|  |     |
|--|-----|
| ctg tcg gct gca gaa tgg cgc act cag tcg att tac ttc cta ttg acg  | 48  |
| Leu Ser Ala Ala Glu Trp Arg Thr Gln Ser Ile Tyr Phe Leu Leu Thr  |     |
| 1 5 10 15  |     |
| gat cgg ttc ggt agg acg gac aat tcg acg aca gct aca tgc gat acg  | 96  |
| Asp Arg Phe Gly Arg Thr Asp Asn Ser Thr Thr Ala Thr Cys Asp Thr  |     |
| 20 25 30   |     |
| ggt gac caa atc tat tgt ggt ggc agt tgg caa gga atc atc aac cat  | 144 |
| Gly Asp Gln Ile Tyr Cys Gly Gly Ser Trp Gln Gly Ile Ile Asn Hi s |     |
| 35 40 45   |     |
| ctg gat tat atc cag ggc atg gga ttc acg gcc atc tgg atc tcg cct  | 192 |
| Leu Asp Tyr Ile Gln Gly Met Gly Phe Thr Ala Ile Trp Ile Ser Pro  |     |
| 50 55 60   |     |
| atc act gaa cag ctg ccc cag gat act gct gat ggt gaa gct tac cat  | 240 |
| Ile Thr Glu Gln Leu Pro Gln Asp Thr Ala Asp Gly Glu Ala Tyr His  |     |
| 65 70 75 80  |     |
| gga tat tgg cag cag aag ata tac gac gtg aac tcc aac ttc ggc act  | 288 |
| Gly Tyr Trp Gln Gln Lys Ile Tyr Asp Val Asn Ser Asn Phe Gly Thr  |     |
| 85 90 95   |     |
| gca gat gac ctc aag tcc ctc tca gat gcg ctt cat gcc cgc gga atg  | 336 |
| Ala Asp Asp Leu Lys Ser Leu Ser AspAla Leu His Ala Arg Gly Met   |     |
| 100 105 110  |     |
| tac ctc atg gtg gac gtc gtc cct aac cac atg ggc tac gcc ggc aac  | 384 |
| Tyr Leu Met Val Asp Val Val Pro Asn His Met Gly Tyr Ala Gly Asn  |     |
| 115 120 125  |     |
| ggc aac gat gta gac tac agc gtc ttc gac ccc ttc gat tcc tcc tcc  | 432 |
| Gly Asn Asp Val Asp Tyr Ser Val Phe Asp Pro Phe Asp Ser Ser Ser  |     |
| 130 135 140  |     |
| tac ttc cac cca tac tgc ctg atc aca gat tgg gac aac ttg acc atg  | 480 |
| Tyr Phe His Pro Tyr Cys Leu Ile Thr Asp Trp Asp Asn Leu Thr Met  |     |
| 145 150 155 160  |     |
| gtc caa gat tgt tgg gag ggt gac acc atc gta tct ctg cca gac cta  | 528 |
| Val Gln Asp Cys Trp Glu Gly Asp Thr Ile Val Ser Leu Pro Asp Leu  |     |
| 165 170 175  |     |
| aac acc acc gaa act gcc gtg aga aca atc tgg tat gac tgg gta gcc  | 576 |
| Asn Thr Thr Glu Thr Ala Val Arg Thr Ile Trp Tyr Asp Trp Val Ala  |     |
| 180 185 190  |     |
| gac ctg gta tcc aat tat tca gtc gac gga ctc cgc atc gac agt gtc  | 624 |
| Asp Leu Val Ser Asn Tyr Ser Val Asp Gly Leu Arg Ile Asp Ser Val  |     |
| 195 200 205  |     |

|   |      |
|---|------|
| ctc gaa gtc gaa cca gac ttc ttc ccg ggc tac cag gaa gca gca ggt | 672  |
| Leu Glu Val Glu Pro Asp Phe Phe Pro Gly Tyr Gln Glu Ala Ala Gly |      |
| 210 215 220   |      |
| gtc tac tgc gtc ggc gaa gtc gac aac ggc aac cct gcc ctc gac tgc | 720  |
| Val Tyr Cys Val Gly Glu Val Asp Asn Gly Asn Pro Ala Leu Asp Cys |      |
| 225 230 235 240   |      |
| cca tac cag aag gtc ctg gac ggc gtc ctc aac tat ccg atc tac tgg | 768  |
| Pro Tyr Gln Lys Val Leu Asp Gly Val Leu Asn Tyr Pro Ile Tyr Trp |      |
| 245 250 255   |      |
| caa ctc ctc tac gcc ttc gaa tcc tcc agc ggc agc atc agc aat ctc | 816  |
| Gln Leu Leu Tyr Ala Phe Glu Ser Ser Ser Gly Ser Ile Ser Asn Leu |      |
| 260 265 270   |      |
| tac aac atg atc aaa tcc gtc gca agc gac tgc tcc gat ccg aca cta | 864  |
| Tyr Asn Met Ile Lys Ser Val Ala Ser Asp Cys Ser Asp Pro Thr Leu |      |
| 275 280 285   |      |
| ctc ggc aac ttc atc gaa aac cac gac aat ccc cgt ttc gcc tcc tac | 912  |
| Leu Gly Asn Phe Ile Glu Asn His Asp Asn Pro Arg Phe Ala Ser Tyr |      |
| 290 295 300   |      |
| acc tcc gac tac teg caa gcc aaa aac gtc ctc agc tac atc ttc ctc | 960  |
| Thr Ser Asp Tyr Ser Gln Ala Lys Asn Val Leu Ser Tyr Ile Phe Leu |      |
| 305 310 315 320   |      |
| tcc gac ggc atc ccc atc gtc tac gcc ggc gaa gaa cag cac tac tcc | 1008 |
| Ser Asp Gly Ile Pro Ile Val Tyr Ala Gly Glu Glu Gln His Tyr Ser |      |
| 325 330 335   |      |
| ggc ggc aag gtg ccc tac aac cgc gaa gcg acc tgg ctt tca ggc tac | 1056 |
| Gly Gly Lys Val Pro Tyr Asn Arg Glu Ala Thr Trp Leu Ser Gly Tyr |      |
| 340 345 350   |      |
| gac acc tcc gca gag ctg tac acc tgg ata gcc acc acg aac gcg atc | 1104 |
| Asp Thr Ser Ala Glu Leu Tyr Thr Trp Ile Ala Thr Thr Asn Ala Ile |      |
| 355 360 365   |      |
| cgc aaa cta gcc atc tca gct gac teg gcc tac att acc tac gcg aat | 1152 |
| Arg Lys Leu Ala Ile Ser Ala Asp Ser Ala Tyr Ile Thr Tyr Ala Asn |      |
| 370 375 380   |      |
| gat gca ttc tac act gac agc aac acc atc gca atg cgc aaa ggc acc | 1200 |
| Asp Ala Phe Tyr Thr Asp Ser Asn Thr Ile Ala Met Arg Lys Gly Thr |      |
| 385 390 395 400   |      |
| tca ggg agc caa gtc atc acc gtc ctc tcc aac aaa ggc tcc tca gga | 1248 |
| Ser Gly Ser Gln Val Ile Thr Val Leu Ser Asn Lys Gly Ser Ser Gly |      |
| 405 410 415   |      |

|   |      |
|---|------|
| agc agc tac acc ctg acc ctc agc gga agc ggc tac aca tcc ggc acg | 1296 |
| Ser Ser Tyr Thr Leu Thr Leu Ser Gly Ser Gly Tyr Thr Ser Gly Thr |      |
| 420 425 430   |      |
| aag ctg atc gaa gcg tac aca tgc aca tcc gtg acc gtg gac tcg agc | 1344 |
| Lys Leu Ile Glu Ala Tyr Thr Cys Thr Ser Val Thr Val Asp Ser Ser |      |
| 435 440 445   |      |
| ggc gat att ccc gtg ccg atg gcg tcg gga tta ccg aga gtt ctt ctg | 1392 |
| Gly Asp Ile Pro Val Pro Met Ala Ser Gly Leu Pro Arg Val Leu Leu |      |
| 450 455 460   |      |
| ccc gcg tcc gtc gtc gat agc tct tcg ctc tgt ggc ggg agc gga aga | 1440 |
| Pro Ala Ser Val yal Asp Ser Ser Ser Leu Cys Gly Gly Ser Gly Arg |      |
| 465 470 475 480   |      |
| aca acc acg acc aca act gct gct gct act agt aca tcc aaa gcc acc | 1488 |
| Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ala Ala Ala Thr Ser Thr Ser Lys Ala Thr |      |
| 485 490 495   |      |
| acc tcc tct tct tct tct tct gct gct gct act act tct tca tca tgt | 1536 |
| Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ala Ala Ala Thr Thr Ser Ser Ser Cys |      |
| 500 505 510   |      |
| acc act ccc acc gcc gtg gct gtg act ttc gat ctg aca gct acc acc | 1584 |
| Thr Thr Pro Thr Ala Val Ala Val Thr Phe Asp Leu Thr Ala Thr Thr |      |
| 515 520 525   |      |
| acc tac ggc gag aac atc tac ctg gtc gga tcg atc tct cag ctg ggt | 1632 |
| Thr Tyr Gly Glu Asn Ile Tyr Leu Val Gly Ser Ile Ser Gln Leu Gly |      |
| 530 535 540   |      |
| gac tgg gaa acc agc gac ggc ata gct ctg agt gct gac aag tac act | 1680 |
| Asp Trp Glu Thr Ser Asp Gly Ile Ala Leu Ser Ala Asp Lys Tyr Thr |      |
| 545 550 555 560   |      |
| tcc agc gac ccg ctc tgg tat gtc act gtg act ctg ccg gct ggt gag | 1728 |
| Ser Ser Asp Pro Leu Trp Tyr Val Thr Val Thr Leu Pro Ala Gly Glu |      |
| 565 570 575   |      |
| tcg ttt gag tac aag ttt atc cgc att gag agc gat gac tcc gtg gag | 1776 |
| Ser Phe Glu Tyr Lys Phe Ile Arg Ile Glu Ser Asp Asp Ser Val Glu |      |
| 580 585 590   |      |
| tgg gag agt gat ccc aac cga gaa tac acc gtt cct cag gcg tgc gga | 1824 |
| Trp Glu Ser Asp Pro Asn Arg Glu Tyr Thr Val Pro Gln Ala Cys Gly |      |
| 595 600 605   |      |
| acg tcg acc gcg acg gtg act gac acc tgg cgg tag 1860            |      |
| Thr Ser Thr Ala Thr Val Thr Asp Thr Trp Arg                     |      |
| 610 615   |      |

<210>28

<211>619

<212>PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成构建体

<400>28

```

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
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 Glu 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  
 Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ala Ala Ala Thr Ser Thr Ser Lys Ala Thr  
 485 490 495  
 Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ala Ala Ala Thr Thr Ser Ser Ser Cys  
 500 505 510  
 Thr Thr Pro Thr Ala Val Ala Val Thr Phe Asp Leu Thr Ala Thr Thr  
 515 520 525  
 Thr Tyr Gly Glu Asn Ile Tyr Leu Val Gly Ser Ile Ser Gln Leu Gly

|   |     |     |
|---|-----|-----|
| 530   | 535 | 540 |
| Asp Trp Glu Thr Ser Asp Gly Ile Ala Leu Ser Ala Asp Lys Tyr Thr |     |     |
| 545   | 550 | 555 |
| Ser Ser Asp Pro Leu Trp Tyr Val Thr Val Thr Leu Pro Ala Gly Glu |     |     |
|   | 565 | 570 |
| Ser Phe Glu Tyr Lys Phe Ile Arg Ile Glu Ser Asp Asp Ser Val Glu |     |     |
|   | 580 | 585 |
| Trp Glu Ser Asp Pro Asn Arg Glu Tyr Thr Val Pro Gln Ala Cys Gly |     |     |
|   | 595 | 600 |
| Thr Ser Thr Ala Thr Val Thr Asp Thr Trp Arg                     |     |     |
| 610   | 615 |     |

<210>29

<211>1827

<212>DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 人工的

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1827)

<223> 含有黑曲霉酸性  $\alpha$  - 淀粉酶催化域 - 川地曲霉  $\alpha$  - 淀粉酶接头 - 罗耳阿太菌葡  
糖淀粉酶 CBD  
的杂合体

<400>29

|  |     |
|--|-----|
| ctg tcg gct gca gaa tgg cgc act cag tcg att tac ttc cta ttg acg    | 48  |
| Leu Ser Ala Ala Glu Trp Arg Thr Gln Ser Ile Tyr Phe Leu Leu Thr    |     |
| 1                    5                    10                    15 |     |
| gat cgg ttc ggt agg acg gac aat tcg acg aca gct aca tgc gat acg    | 96  |
| Asp Arg Phe Gly Arg Thr Asp Asn Ser Thr Thr Ala Thr Cys Asp Thr    |     |
| 20                    25                    30                     |     |
| ggt gac caa atc tat tgt ggt ggc agt tgg caa gga atc atc aac cat    | 144 |
| Gly Asp Gln Ile Tyr Cys Gly Gly Ser Trp Gln Gly Ile Ile Asn His    |     |
| 35                    40                    45                     |     |
| ctg gat tat atc cag ggc atg gga ttc acg gcc atc tgg atc tcg cct    | 192 |
| Leu Asp Tyr Ile Gln Gly Met Gly Phe Thr Ala Ile Trp Ile Ser Pro    |     |

|   |     |     |     |
|---|-----|-----|-----|
| 50  | 55  | 60  |     |
| atc act gaa cag ctg ccc cag gat act gct gat ggt gaa gct tac cat |     |     | 240 |
| Ile Thr Glu Gln Leu Pro Gln Asp Thr Ala Asp Gly Glu Ala Tyr His |     |     |     |
| 65  | 70  | 75  | 80  |
| gga tat tgg cag cag aag ata tac gac gtg aac tcc aac ttc ggc act |     |     | 288 |
| Gly Tyr Trp Gln Gln Lys Ile Tyr Asp Val Asn Set Asn Phe Gly Thr |     |     |     |
|   | 85  | 90  | 95  |
| gca gat gac ctc aag tcc ctc tea gat gcg ctt cat gcc cgc gga atg |     |     | 336 |
| Ala Asp Asp Leu Lys Ser Leu Ser Asp Ala Leu His Ala Arg Gly Met |     |     |     |
|   | 100 | 105 | 110 |
| tac ctc atg gtg gac gtc gtc cct aac cac atg ggc tac gcc ggc aac |     |     | 384 |
| Tyr Leu Met Val Asp Val Val Pro Asn His Met Gly Tyr Ala Gly Asn |     |     |     |
|   | 115 | 120 | 125 |
| ggc aac gat gta gac tac agc gtc ttc gac ccc ttc gat tcc tcc tcc |     |     | 432 |
| Gly Asn Asp Val Asp Tyr Ser Val Phe Asp Pro Phe Asp Ser Ser Ser |     |     |     |
|   | 130 | 135 | 140 |
| tac ttc cac cca tac tgc ctg atc aca gat tgg gac aac ttg acc atg |     |     | 480 |
| Tyr Phe His Pro Tyr Cys Leu Ile Thr Asp Trp Asp Asn Leu Thr Met |     |     |     |
|   | 145 | 150 | 155 |
| 160   |     |     |     |
| gtc caa gat tgt tgg gag ggt gac acc atc gta tct ctg cca gac cta |     |     | 528 |
| Val Gln Asp Cys Trp Glu Gly Asp Thr Ile Val Ser Leu Pro Asp Leu |     |     |     |
|   | 165 | 170 | 175 |
| aac acc acc gaa act gcc gtg aga aca atc tgg tat gac tgg gta gcc |     |     | 576 |
| Asn Thr Thr Glu Thr Ala Val Arg Thr Ile Trp Tyr Asp Trp Val Ala |     |     |     |
|   | 180 | 185 | 190 |
| gac ctg gta tcc aat tat tea gtc gac gga ctc cgc atc gac agt gtc |     |     | 624 |
| Asp Leu Val Ser Asn Tyr Ser Val Asp Gly Leu Arg Ile Asp Ser Val |     |     |     |
|   | 195 | 200 | 205 |
| ctc gaa gtc gaa cca gac ttc ttc ccg ggc tac cag gaa gca gca ggt |     |     | 672 |
| Leu Glu Val Glu Pro Asp Phe Phe Pro Gly Tyr Gln Glu Ala Ala Gly |     |     |     |
|   | 210 | 215 | 220 |
| gtc tac tgc gtc ggc gaa gtc gac aac ggc aac cct gcc ctc gac tgc |     |     | 720 |
| Val Tyr Cys Val Gly Glu Val Asp Asn Gly Asn Pro Ala Leu Asp Cys |     |     |     |
|   | 225 | 230 | 235 |
| 240   |     |     |     |
| cca tac cag aag gtc ctg gac ggc gtc ctc aac tat ccg atc tac tgg |     |     | 768 |
| Pro Tyr Gln Lys Val Leu Asp Gly Val Leu Asn Tyr Pro Ile Tyr Trp |     |     |     |
|   | 245 | 250 | 255 |
| caa ctc ctc tac gcc ttc gaa tcc tcc agc ggc agc atc agc aat ctc |     |     | 816 |
| Gln Leu Leu Tyr Ala Phe Glu Ser Ser Ser Gly Ser Ile Ser Asn Leu |     |     |     |

|   |     |     |      |
|---|-----|-----|------|
| 260   | 265 | 270 |      |
| tac aac atg atc aaa tcc gtc gca agc gac tgc tcc gat ccg aca cta |     |     | 864  |
| Tyr Asn Met Ile Lys Ser Val Ala Ser Asp Cys Ser Asp Pro Thr Leu |     |     |      |
| 275   | 280 | 285 |      |
| ctc ggc aac ttc atc gaa aac cac gac aat ccc cgt ttc gcc tcc tac |     |     | 912  |
| Leu Gly Asn Phe Ile Glu Asn His Asp Asn Pro Arg Phe Ala Ser Tyr |     |     |      |
| 290   | 295 | 300 |      |
| acc tcc gac tac tcg caa gcc aaa aac gtc ctc agc tac atc ttc ctc |     |     | 960  |
| Thr Ser Asp Tyr Ser Gln Ala Lys Asn Val Leu Ser Tyr Ile Phe Leu |     |     |      |
| 305   | 310 | 315 | 320  |
| tcc gac ggc atc ccc atc gtc tac gcc ggc gaa gaa cag cac tac tcc |     |     | 1008 |
| Ser Asp Gly Ile Pro Ile Val Tyr Ala Gly Glu Glu Gln His Tyr Ser |     |     |      |
| 325   | 330 | 335 |      |
| ggc ggc aag gtg ccc tac aac cgc gaa gcg acc tgg ctt tca ggc tac |     |     | 1056 |
| Gly Gly Lys Val Pro Tyr Asn Arg Glu Ala Thr Trp Leu Ser Gly Tyr |     |     |      |
| 340   | 345 | 350 |      |
| gac acc tcc gca gag ctg tac acc tgg ata gcc acc acg aac gcg atc |     |     | 1104 |
| Asp Thr Ser Ala Glu Leu Tyr Thr Trp Ile Ala Thr Thr Asn Ala Ile |     |     |      |
| 355   | 360 | 365 |      |
| cgc aaa cta gcc atc tca gct gac tcg gcc tac att acc tac gcg aat |     |     | 1152 |
| Arg Lys Leu Ala Ile Ser Ala Asp Ser Ala Tyr Ile Thr Tyr Ala Asn |     |     |      |
| 370   | 375 | 380 |      |
| gat gca ttc tac act gac agc aac acc atc gca atg cgc aaa ggc acc |     |     | 1200 |
| Asp Ala Phe Tyr Thr Asp Ser Asn Thr Ile Ala Met Arg Lys Gly Thr |     |     |      |
| 385   | 390 | 395 | 400  |
| tca ggg agc caa gtc atc acc gtc ctc tcc aac aaa ggc tcc tca gga |     |     | 1248 |
| Ser Gly Ser Gln Val Ile Thr Val Leu Ser Asn Lys Gly Ser Ser Gly |     |     |      |
| 405   | 410 | 415 |      |
| agc agc tac acc ctg acc ctc agc gga agc ggc tac aca tcc ggc acg |     |     | 1296 |
| Ser Ser Tyr Thr Leu Thr Leu Ser Gly Ser Gly Tyr Thr Ser Gly Thr |     |     |      |
| 420   | 425 | 430 |      |
| aag ctg atc gaa gcg tac aca tgc aca tcc gtg acc gtg gac tcg agc |     |     | 1344 |
| Lys Leu Ile Glu Ala Tyr Thr Cys Thr Ser Val Thr Val Asp Ser Ser |     |     |      |
| 435   | 440 | 445 |      |
| ggc gat att ccc gtg ccg atg gcg tcg gga tta ccg aga gtt ctt ctg |     |     | 1392 |
| Gly Asp Ile Pro Val Pro Met Ala Ser Gly Leu Pro Arg Val Leu Leu |     |     |      |
| 450   | 455 | 460 |      |
| ccc gcg tcc gtc gtc gat agc tct tcg ctc tgt ggc ggg agc gga aga |     |     | 1440 |
| Pro Ala Ser Val Val Asp Ser Ser Ser Leu Cys Gly Gly Ser Gly Arg |     |     |      |



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  
 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 Glu 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 |
| Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ala Ala Ala Thr Ser Thr Ser Lys Ala Thr |     |     |     |     |     |
|   | 485 |     | 490 |     | 495 |
| Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ala Ala Ala Thr Thr Ser Ser Ser Val |     |     |     |     |     |
|   | 500 |     | 505 |     | 510 |
| Glu Val Thr Phe Asp Val Tyr Ala Thr Thr Val Tyr Gly Gln Asn Ile |     |     |     |     |     |
|   | 515 |     | 520 |     | 525 |
| Tyr Ile Thr Gly Asp Val Ser Glu Leu Gly Asn Trp Thr Pro Ala Asn |     |     |     |     |     |
|   | 530 |     | 535 |     | 540 |
| Gly Val Ala Leu Ser Ser Ala Asn Tyr Pro Thr Trp Ser Ala Thr Ile |     |     |     |     |     |
| 545   |     | 550 |     | 555 | 560 |
| Ala Leu Pro Ala Asp Thr Thr Ile Gln Tyr Lys Tyr Val Asn Ile Asp |     |     |     |     |     |
|   | 565 |     | 570 |     | 575 |
| Gly Ser Thr Val Ile Trp Glu Asp Ala Ile Ser Asn Arg Glu Ile Thr |     |     |     |     |     |
|   | 580 |     | 585 |     | 590 |
| Thr Pro Ala Ser Gly Thr Tyr Thr Glu Lys Asp Thr Trp Asp Glu Ser |     |     |     |     |     |
|   | 595 |     | 600 |     | 605 |

&lt;210&gt;31

&lt;211&gt;1863

&lt;212&gt;DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 人工的

<220>

<221>CDS

<222>(1)..(1863)

<223> 由米曲霉催化域 - 川地曲霉  $\alpha$  - 淀粉酶接头 - 川地曲霉  $\alpha$  - 淀粉酶 CBD 组成的杂台体

<400>31

|  |     |
|--|-----|
| gca acg cct gcg gac tgg cga tcg caa tcc att tat ttc ctt ctc acg      | 48  |
| Ala Thr Pro Ala Asp Trp Arg Ser Gln Ser Ile Tyr Phe Leu Leu Thr      |     |
| 1                    5                    10                    15   |     |
| gat cga ttt gca agg acg gat ggg tcg acg act gcg act tgt aat act      | 96  |
| Asp Arg Phe Ala Arg Thr Asp Gly Ser Thr Thr Ala Thr Cys Asn Thr      |     |
| 20                    25                    30                       |     |
| gcg gat cag aaa tac tgt ggt gga aca tgg cag ggc atc atc gac aag      | 144 |
| Ala Asp Gln Lys Tyr Cys Gly Gly Thr Trp Gln Gly Ile Ile Asp Lys      |     |
| 35                    40                    45                       |     |
| ttg gac tat atc cag gga atg ggc ttc aca gcc atc tgg atc acc ccc      | 192 |
| Leu Asp Tyr Ile Gln Gly Met Gly Phe Thr Ala Ile Trp Ile Thr Pro      |     |
| 50                    55                    60                       |     |
| gtt aca gcc cag ctg ccc cag acc acc gca tat gga gat gcc tac cat      | 240 |
| Val Thr Ala Gln Leu Pro Gln Thr Thr Ala Tyr Gly Asp Ala Tyr His      |     |
| 65                    70                    75                    80 |     |
| ggc tac tgg cag cag gat ata tac tct ctg aac gaa aac tac ggc act      | 288 |
| Gly Tyr Trp Gln Gln Asp Ile Tyr Ser Leu Asn Glu Asn Tyr Gly Thr      |     |
| 85                    90                    95                       |     |
| gca gat gac ttg aag gcg ctc tct tcg gcc ctt cat gag agg ggg atg      | 336 |
| Ala Asp Asp Leu Lys Ala Leu Ser Ser Ala Leu His Glu Arg Gly Met      |     |
| 100                    105                    110                    |     |
| tat ctt atg gtc gat gtg gtt gct aac cat atg ggc tat gat gga gcg      | 384 |
| Tyr Leu Met Val Asp Val Val Ala Asn His Met Gly Tyr Asp Gly Ala      |     |
| 115                    120                    125                    |     |
| ggt agc tca gtc gat tac agt gtg ttt aaa ccg ttc agt tcc caa gac      | 432 |
| Gly Ser Ser Val Asp Tyr Ser Val Phe Lys Pro Phe Ser Ser Gln Asp      |     |
| 130                    135                    140                    |     |
| tac ttc cac ccg ttc tgt ttc att caa aac tat gaa gat cag act cag      | 480 |

|   |             |
|---|-------------|
| Tyr Phe His Pro Phe Cys Phe Ile Gln Asn Tyr Glu Asp Gln Thr Gln |             |
| 145   | 150 155 160 |
| gtt gag gat tgc tgg cta gga gat aac act gtc tcc ttg cct gat ctc | 528         |
| Val Glu Asp Cys Trp Leu Gly Asp Asn Thr Val Ser Leu Pro Asp Leu |             |
| 165   | 170 175     |
| gat acc acc aag gat gtg gtc aag aat gaa tgg tac gac tgg gtg gga | 576         |
| Asp Thr Thr Lys Asp Val Val Lys Asn Glu Trp Tyr Asp Trp Val Gly |             |
| 180   | 185 190     |
| tca ttg gta tgc aac tac tcc att gac ggc ctc cgt atc gac aca gta | 624         |
| Ser Leu Val Ser Asn Tyr Ser Ile Asp Gly Leu Arg Ile Asp Thr Val |             |
| 195   | 200 205     |
| aaa cac gtc cag aag gac ttc tgg ccc ggg tac aac aaa gcc gca ggc | 672         |
| Lys His Val Gln Lys Asp Phe Trp Pro Gly Tyr Asn Lys Ala Ala Gly |             |
| 210   | 215 220     |
| gtg tac tgt atc ggc gag gtg ctc gac ggt gat ccg gcc tac act tgt | 720         |
| Val Tyr Cys Ile Gly Glu Val Leu Asp Gly Asp Pro Ala Tyr Thr Cys |             |
| 225   | 230 235 240 |
| ccc tac cag aac gtc atg gac ggc gta ctg aac tat ccc att tac tat | 768         |
| Pro Tyr Gln Asn Val Met Asp Gly Val Leu Asn Tyr Pro Ile Tyr Tyr |             |
| 245   | 250 255     |
| cca ctc ctc aac gcc ttc aag tca acc tcc ggc agc atg gac gac ctc | 816         |
| Pro Leu Leu Asn Ala Phe Lys Ser Thr Ser Gly Ser Met Asp Asp Leu |             |
| 260   | 265 270     |
| tac aac atg atc aac acc gtc aaa tcc gac tgt cca gac tca aca ctc | 864         |
| Tyr Asn Met Ile Asn Thr Val Lys Ser Asp Cys Pro Asp Ser Thr Leu |             |
| 275   | 280 285     |
| ctg ggc aca ttc gtc gag aac cac gac aac cca cgg ttc gct tct tac | 912         |
| Leu Gly Thr Phe Val Glu Asn His Asp Asn Pro Arg Phe Ala Ser Tyr |             |
| 290   | 295 300     |
| acc aac gac ata gcc ctc gcc aag aac gtc gca gca ttc atc atc ctc | 960         |
| Thr Asn Asp Ile Ala Leu Ala Lys Asn Val Ala Ala Phe Ile Ile Leu |             |
| 305   | 310 315 320 |
| aac gac gga atc ccc atc atc tac gcc ggc caa gaa cag cac tac gcc | 1008        |
| Asn Asp Gly Ile Pro Ile Ile Tyr Ala Gly Gln Glu Gln His Tyr Ala |             |
| 325   | 330 335     |
| ggc gga aac gac ccc gcg aac cgc gaa gca acc tgg ctc tcg ggc tac | 1056        |
| Gly Gly Asn Asp Pro Ala Asn Arg Glu Ala ThrTrp Leu Ser Gly Tyr  |             |
| 340   | 345 350     |
| ccg acc gac agc gag ctg tac aag tta att gcc tcc gcg aac gca atc | 1104        |

|   |             |
|---|-------------|
| Pro Thr Asp Ser Glu Leu Tyr Lys Leu Ile Ala Ser Ala Asn Ala Ile |             |
| 355   | 360 365     |
| cgg aac tat gcc att agc aaa gat aca gga ttc gtg acc tac aag aac | 1152        |
| Arg Asn Tyr Ala Ile Ser Lys Asp Thr Gly Phe Val Thr Tyr Lys Asn |             |
| 370   | 375 380     |
| tgg ccc atc tac aaa gac gac aca acg atc gcc atg cgc aag ggc aca | 1200        |
| Trp Pro Ile Tyr Lys Asp Asp Thr Thr Ile Ala Met Arg Lys Gly Thr |             |
| 385   | 390 395 400 |
| gat ggg tcg cag atc gtg act atc ttg tcc aac aag ggt gct tcg ggt | 1248        |
| Asp Gly Ser Gln Ile Val Thr Ile Leu Ser Asn Lys Gly Ala Ser Gly |             |
| 405   | 410 415     |
| gat tcg tat acc ctc tcc ttg agt ggt gcg ggt tac aca gcc ggc cag | 1296        |
| Asp Ser Tyr Thr Leu Ser Leu Ser Gly Ala Gly Tyr Thr Ala Gly Gln |             |
| 420   | 425 430     |
| caa ttg acg gag gtc att ggc tgc acg acc gtg acg gtt ggt tcg gat | 1344        |
| Gln Leu Thr Glu Val Ile Gly Cys Thr Thr Val Thr Val Gly Ser Asp |             |
| 435   | 440 445     |
| gga aat gtg cct gtt cct atg gca ggt ggg cta cct agg gta ttg tat | 1392        |
| Gly Asn Val Pro Val Pro Met Ala Gly Gly Leu Pro Arg Val Leu Tyr |             |
| 450   | 455 460     |
| ccg act gag aag ttg gca ggt agc aag atc tgt agt agc tcg gga aga | 1440        |
| Pro Thr Glu Lys Leu Ala Gly Ser Lys Ile Cys Ser Ser Ser Gly Arg |             |
| 465   | 470 475 480 |
| aca acc acg acc aca act gct gct gct act agt aca tcc aaa gcc acc | 1488        |
| Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ala Ala Ala Thr Ser Thr Ser Lys Ala Thr |             |
| 485   | 490 495     |
| acc tcc tct tct tct tct tct gct gct gct act act tct tca tca tgc | 1536        |
| Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ala Ala Ala Thr Thr Ser Ser Ser Cys |             |
| 500   | 505 510     |
| acc gca aca agc acc acc ctc ccc atc acc ttc gaa gaa ctc gtc acc | 1584        |
| Thr Ala Thr Ser Thr Thr Leu Pro Ile Thr Phe Glu Glu Leu Val Thr |             |
| 515   | 520 525     |
| act acc tac ggg gaa gaa gtc tac ctc agc gga tct atc tcc cag ctc | 1632        |
| Thr Thr Tyr Gly Glu Glu Val Tyr Leu Ser Gly Ser Ile Ser Gln Leu |             |
| 530   | 535 540     |
| gga gag tgg gat acg agt gac gcg gtg aag ttg tcc gcg gat gat tat | 1680        |
| Gly Glu Trp Asp Thr Ser Asp Ala Val Lys Leu Ser Ala Asp Asp Tyr |             |
| 545   | 550 555 560 |
| acc tcg agt aac ccc gag tgg tct gtt act gtg tcg ttg ccg gtg ggg | 1728        |



|   |     |     |
|---|-----|-----|
| 130   | 135 | 140 |
| Tyr Phe His Pro Phe Cys Phe Ile Gln Asn Tyr Glu Asp Gln Thr Gln |     |     |
| 145   | 150 | 155 |
| Val Glu Asp Cys Trp Leu Gly Asp Asn Thr Val Ser Leu Pro Asp Leu |     |     |
|   | 165 | 170 |
| Asp Thr Thr Lys Asp Val Val Lys Asn Glu Trp Tyr Asp Trp Val Gly |     |     |
|   | 180 | 185 |
| Ser Leu Val Ser Asn Tyr Ser Ile Asp Gly Leu Arg Ile Asp Thr Val |     |     |
|   | 195 | 200 |
| Lys His Val Gln Lys Asp Phe Trp Pro Gly Tyr Asn Lys Ala Ala Gly |     |     |
| 210   | 215 | 220 |
| Val Tyr Cys Ile Gly Glu Val Leu Asp Gly Asp Pro Ala Tyr Thr Cys |     |     |
| 225   | 230 | 235 |
| Pro Tyr Gln Asn Val Met Asp Gly Val Leu Asn Tyr Pro Ile Tyr Tyr |     |     |
|   | 245 | 250 |
| Pro Leu Leu Asn Ala Phe Lys Ser Thr Ser Gly Ser Met Asp Asp Leu |     |     |
|   | 260 | 265 |
| Tyr Asn Met Ile Asn Thr Val Lys Ser Asp Cys Pro Asp Ser Thr Leu |     |     |
|   | 275 | 280 |
| Leu Gly Thr Phe Val Glu Asn His Asp Asn Pro Arg Phe Ala Ser Tyr |     |     |
| 290   | 295 | 300 |
| Thr Asn Asp Ile Ala Leu Ala Lys Asn Val Ala Ala Phe Ile Ile Leu |     |     |
| 305   | 310 | 315 |
| Asn Asp Gly Ile Pro Ile Ile Tyr Ala Gly Gln Glu Gln His Tyr Ala |     |     |
|   | 325 | 330 |
| Gly Gly Asn Asp Pro Ala Asn Arg Glu Ala Thr Trp Leu Ser Gly Tyr |     |     |
|   | 340 | 345 |
| Pro Thr Asp Ser Glu Leu Tyr Lys Leu Ile Ala Ser Ala Asn Ala Ile |     |     |
|   | 355 | 360 |
| Arg Asn Tyr Ala Ile Ser Lys Asp Thr Gly Phe Val Thr Tyr Lys Asn |     |     |
|   | 370 | 375 |
| Trp Pro Ile Tyr Lys Asp Asp Thr Thr Ile Ala Met Arg Lys Gly Thr |     |     |
| 385   | 390 | 395 |
| Asp Gly Ser Gln Ile Val Thr Ile Leu Ser Asn Lys Gly Ala Ser Gly |     |     |
|   | 405 | 410 |
| Asp Ser Tyr Thr Leu Ser Leu Ser Gly Ala Gly Tyr Thr Ala Gly Gln |     |     |
|   | 420 | 425 |
| Gln Leu Thr Glu Val Ile Gly Cys Thr Thr Val Thr Val Gly Ser Asp |     |     |
|   | 435 | 440 |
|   |     | 445 |

Gly Asn Val Pro Val Pro Met Ala Gly Gly Leu Pro Arg Val Leu Tyr  
 450 455 460  
 Pro Thr Glu Lys Leu Ala Gly Ser Lys Ile Cys Ser Ser Ser GlyArg  
 465 470 475 480  
 Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ala Ala Ala Thr Ser Thr Ser Lys Ala Thr  
 485 490 495  
 Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ala Ala Ala Thr Thr Ser Ser Ser Cys  
 500 505 510  
 Thr Ala Thr Ser Thr Thr Leu Pro Ile Thr Phe Glu Glu Leu Val Thr  
 515 520 525  
 Thr Thr Tyr Gly Glu Glu Val Tyr Leu Ser Gly Ser Ile Ser Gln Leu  
 530 535 540  
 Gly Glu Trp Asp Thr Ser Asp Ala Val Lys Leu Ser Ala Asp Asp Tyr  
 545 550 555 560  
 Thr Ser Ser Asn Pro Glu Trp Ser Val Thr Val Ser Leu Pro Val Gly  
 565 570 575  
 Thr Thr Phe Glu Tyr Lys Phe Ile Lys Val Asp Glu Gly Gly Ser Val  
 580 585 590  
 Thr Trp Glu Ser Asp Pro Asn Arg Glu Tyr Thr Val Pro Glu Cys Gly  
 595 600 605  
 Asn Gly Ser Gly Glu Thr Val Val Asp Thr Trp Arg  
 610 615 620

<210>33

<211>1767

<212>DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 人工的

<220>

<221>CDS

<222>(1)..(1767)

<223> 由黑曲霉酸性  $\alpha$ -淀粉酶-罗耳阿太菌葡萄糖淀粉酶接头-罗耳阿太菌葡萄糖淀粉酶 CBD 组成的杂合体

<400>33

|  |     |
|--|-----|
| ctg tcg gct gca gaa tgg cgc act cag tcg att tac ttc cta ttg acg          | 48  |
| Leu Ser Ala Ala Glu Trp Arg Thr Gln Ser Ile Tyr Phe Leu Leu Thr          |     |
| 1                    5                    10                    15       |     |
| gat cgg ttc ggt agg acg gac aattcg acg aca gctaca tgc gat acg            | 96  |
| Asp Arg Phe Gly Arg Thr Asp Asn Ser Thr Thr AlaThr Cys Asp Thr           |     |
| 20                    25                    30                           |     |
| ggt gac caa atc tat tgt ggt ggc agt tgg caa gga atc atc aac cat          | 144 |
| Gly Asp Gln Ile Tyr Cys Gly Gly Ser Trp Gln Gly Ile Ile Asn His          |     |
| 35                    40                    45                           |     |
| ctg gat tat atc cag ggc atg gga ttc acg gcc atc tgg atc tcg cct          | 192 |
| Leu Asp Tyr Ile Gln Gly Met Gly Phe Thr Ala Ile Trp Ile Ser Pro          |     |
| 50                    55                    60                           |     |
| atc act gaa cag ctg ccc cag gat act gct gat ggt gaa gct tac cat          | 240 |
| Ile Thr Glu Gln Leu Pro Gln Asp Thr Ala Asp Gly Glu Ala Tyr His          |     |
| 65                    70                    75                    80     |     |
| gga tat tgg cag cag aag ata tac gac gtg aac tcc aac ttc ggc act          | 288 |
| Gly Tyr Trp Gln Gln Lys Ile Tyr Asp Val Asn Ser Asn Phe Gly Thr          |     |
| 85                    90                    95                           |     |
| gca gat gac ctc aag tcc ctc tca gat gcg ctt cat gcc cgc gga atg          | 336 |
| Ala Asp Asp Leu Lys Ser Leu Ser Asp Ala Leu His Ala Arg Gly Met          |     |
| 100                    105                    110                        |     |
| tac ctc atg gtg gac gtc gtc cct aac cac atg ggc tac gcc ggc aac          | 384 |
| Tyr Leu Met Val Asp Val Val Pro Asn His Met Gly Tyr Ala Gly Asn          |     |
| 115                    120                    125                        |     |
| ggc aac gat gta gac tac agc gtc ttc gac ccc ttc gat tcc tcc tcc          | 432 |
| Gly Asn Asp Val Asp Tyr Ser Val Phe Asp Pro Phe Asp Ser Ser Ser          |     |
| 130                    135                    140                        |     |
| tac ttc cac cca tac tgc ctg atc aca gat tgg gac aac ttg acc atg          | 480 |
| Tyr Phe His Pro Tyr Cys Leu Ile Thr Asp Trp Asp Asn Leu Thr Met          |     |
| 145                    150                    155                    160 |     |
| gtc caa gat tgt tgg gag ggt gac acc atc gta tct ctg cca gac cta          | 528 |
| Val Gln Asp Cys Trp Glu Gly Asp Thr Ile Val Ser Leu Pro Asp Leu          |     |
| 165                    170                    175                        |     |
| aac acc acc gaa act gcc gtg aga aca atc tgg tat gac tgg gta gcc          | 576 |
| Asn Thr Thr Glu Thr Ala Val Arg Thr Ile Trp Tyr Asp Trp Val Ala          |     |
| 180                    185                    190                        |     |
| gac ctg gta tcc aat   tat tca gtc gac gga ctc cgc atc gac agt gtc        | 624 |
| Asp Leu Val Ser Asn Tyr Ser Val Asp Gly Leu Arg Ile Asp Ser Val          |     |
| 195                    200                    205                        |     |

|   |      |
|---|------|
| ctc gaa gtc gaa cca gac ttc ttc ccg ggc tac cag gaa gca gca ggt | 672  |
| Leu Glu Val Glu Pro Asp Phe Phe Pro Gly Tyr Gln Glu Ala Ala Gly |      |
| 210 215 220   |      |
| gtc tac tgc gtc ggc gaa gtc gac aac ggc aac cct gcc ctc gac tgc | 720  |
| Val Tyr Cys Val Gly Glu Val Asp Asn Gly Asn Pro Ala Leu Asp Cys |      |
| 225 230 235 240   |      |
| cca tac cag aag gtc ctg gac ggc gtc ctc aac tat ccg atc tac tgg | 768  |
| Pro Tyr Gln Lys Val Leu Asp Gly Val Leu Asn Tyr Pro Ile Tyr Trp |      |
| 245 250 255   |      |
| caa ctc ctc tac gcc ttc gaa tcc tcc agc ggc agc atc agc aat ctc | 816  |
| Gln Leu Leu Tyr Ala Phe Glu Ser Ser Ser Gly Ser Ile Ser Asn Leu |      |
| 260 265 270   |      |
| tac aac atg atc aaa tcc gtc gca agc gac tgc tcc gat ccg aca cta | 864  |
| Tyr Asn Met Ile Lys Ser Val Ala Ser Asp Cys Ser Asp Pro Thr Leu |      |
| 275 280 285   |      |
| ctc ggc aac ttc atc gaa aac cac gac aat ccc cgt ttc gcc tcc tac | 912  |
| Leu Gly Asn Phe Ile Glu Asn His Asp Asn Pro Arg Phe Ala Ser Tyr |      |
| 290 295 300   |      |
| acc tcc gac tac teg caa gcc aaa aac gtc ctc agc tac atc ttc ctc | 960  |
| Thr Ser Asp Tyr Ser Gln Ala Lys Asn Val Leu Ser Tyr Ile Phe Leu |      |
| 305 310 315 320   |      |
| tcc gac ggc atc ccc atc gtc tac gcc ggc gaa gaa cag cac tac tcc | 1008 |
| Ser Asp Gly Ile Pro Ile Val Tyr Ala Gly Glu Glu Gln His Tyr Ser |      |
| 325 330 335   |      |
| ggc ggc aag gtg ccc tac aac cgc gaa gcg acc tgg ctt tca ggc tac | 1056 |
| Gly Gly Lys Val Pro Tyr Asn Arg Glu Ala Thr Trp Leu Ser Gly Tyr |      |
| 340 345 350   |      |
| gac acc tcc gca gag ctg tac acc tgg ata gcc acc acg aac gcg atc | 1104 |
| Asp Thr Ser Ala Glu Leu Tyr Thr Trp Ile Ala Thr Thr Asn Ala Ile |      |
| 355 360 365   |      |
| cgc aaa cta gcc atc tca gct gac teg gcc tac att acc tac gcg aat | 1152 |
| Arg Lys Leu Ala Ile Ser Ala Asp Ser Ala Tyr Ile Thr Tyr Ala Asn |      |
| 370 375 380   |      |
| gat gca ttc tac act gac agc aac acc atc gca atg cgc aaa ggc acc | 1200 |
| Asp Ala Phe Tyr Thr Asp Ser Asn Thr Ile Ala Met Arg Lys Gly Thr |      |
| 385 390 395 400   |      |
| tca ggg agc caa gtc atc acc gtc ctc tcc aac aaa ggc tcc tca gga | 1248 |
| Ser Gly Ser Gln Val Ile Thr Val Leu Ser Asn Lys Gly Ser Ser Gly |      |
| 405 410 415   |      |

|   |      |
|---|------|
| agc agc tac acc ctg acc ctc agc gga agc ggc tac aca tcc ggc acg | 1296 |
| Ser Ser Tyr Thr Leu Thr Leu Ser Gly Ser Gly Tyr Thr Ser Gly Thr |      |
| 420 425 430   |      |
| aag ctg atc gaa gcg tac aca tgc aca tcc gtg acc gtg gac tcg agc | 1344 |
| Lys Leu Ile Glu Ala Tyr Thr Cys Thr Ser Val Thr Val Asp Ser Ser |      |
| 435 440 445   |      |
| ggc gat att ccc gtg ccg atg gcg tcg gga tta ccg aga gtt ctt ctg | 1392 |
| Gly Asp Ile Pro Val Pro Met Ala Ser Gly Leu Pro Arg Val Leu Leu |      |
| 450 455 460   |      |
| ccc gcg tcc gtc gtc gat agc tct tcg ctc tgt ggc ggg agc gga aga | 1440 |
| Pro Ala Ser Val Val Asp Ser Ser Ser Leu Cys Gly Gly Ser Gly Arg |      |
| 465 470 475 480   |      |
| ggt gct aca agc ccg ggt ggc tcc tcg ggt agt gtc gag gtc act ttc | 1488 |
| Gly Ala Thr Ser Pro Gly Gly Ser Ser Gly Ser Val Glu Val Thr Phe |      |
| 485 490 495   |      |
| gac gtt tac gct acc aca gta tat ggc cag aac atc tat atc acc ggt | 1536 |
| Asp Val Tyr Ala Thr Thr Val Tyr Gly Gln Asn Ile Tyr Ile Thr Gly |      |
| 500 505 510   |      |
| gat gtg agt gag ctc ggc aac tgg aca ccc gcc aat ggt gtt gca ctc | 1584 |
| Asp Val Ser Glu Leu Gly Asn Trp Thr Pro Ala Asn Gly Val Ala Leu |      |
| 515 520 525   |      |
| tct tct gct aac tac ccc acc tgg agt gcc acg atc gct ctc ccc gct | 1632 |
| Ser Ser Ala Asn Tyr Pro Thr Trp Ser Ala Thr Ile Ala Leu Pro Ala |      |
| 530 535 540   |      |
| gac acg aca atc cag tac aag tat gtc aac att gac ggc agc acc gtc | 1680 |
| Asp Thr Thr Ile Gln Tyr Lys Tyr Val Asn Ile Asp Gly Ser Thr Val |      |
| 545 550 555 560   |      |
| atc tgg gag gat gct atc agc aat cgc gag atc acg acg ccc gcc agc | 1728 |
| Ile Trp Glu Asp Ala Ile Ser Asn Arg Glu Ile Thr Thr Pro Ala Ser |      |
| 565 570 575   |      |
| ggc aca tac acc gaa aaa gac act tgg gat gaa tct tag             | 1767 |
| Gly Thr Tyr Thr Glu Lys Asp Thr Trp Asp Glu Ser                 |      |
| 580 585   |      |

&lt;210&gt;34

&lt;211&gt;588

&lt;212&gt;PRT

&lt;213&gt;人工的

<220>

<223> 合成构建体

<400>34

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  
 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 Glu 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 |
| 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 |
| 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 |
| Gly Ala Thr Ser Pro Gly Gly Ser Ser Gly Ser Val Glu Val Thr Phe |     |     |
| 485   | 490 | 495 |
| Asp Val Tyr Ala Thr Thr Val Tyr Gly Gln Asn Ile Tyr Ile Thr Gly |     |     |
| 500   | 505 | 510 |
| Asp Val Ser Glu Leu Gly Asn Trp Thr Pro Ala Asn Gly Val Ala Leu |     |     |
| 515   | 520 | 525 |
| Ser Ser Ala Asn Tyr Pro Thr Trp Ser Ala Thr Ile Ala Leu Pro Ala |     |     |
| 530   | 535 | 540 |
| Asp Thr Thr Ile Gln Tyr Lys Tyr Val Asn Ile Asp Gly Ser Thr Val |     |     |
| 545   | 550 | 555 |
| Ile Trp Glu Asp Ala Ile Ser Asn Arg Glu Ile Thr Thr Pro Ala Ser |     |     |
| 565   | 570 | 575 |
| Gly Thr Tyr Thr Glu Lys Asp Thr Trp Asp Glu Ser                 |     |     |
| 580   | 585 |     |

<210>35

<211>1767

<212>DNA

<213> 人工的

<220>

<223> 人工的

<220>

<221>CDS

<222>(1)..(1767)

<223> 由米曲霉  $\alpha$ -淀粉酶-罗耳阿太菌葡萄糖淀粉酶接头-罗耳阿太菌葡萄糖淀粉酶接头组成的杂合体

<400>35

gca acg cct gcg gac tgg cga tcg caa tcc att tat ttc crt crc acg 48

Ala Thr Pro Ala Asp Trp Arg Ser Gln Ser Ile Tyr Phe Leu Leu Thr

1 5 10 15

gat cga ttt gca agg acg gat ggg tcg acg act gcg act tgt aat act 96

Asp Arg Phe Ala Arg Thr Asp Gly Ser Thr Thr Ala Thr Cys Asn Thr

20 25 30

gcg gat cag aaa tac tgt ggt gga aca tgg cag ggc atc atc gac aag 144

Ala Asp Gln Lys Tyr Cys Gly Gly Thr Trp Gln Gly Ile Ile Asp Lys

35 40 45

ttg gac tat atc cag gga atg ggc ttc aca gcc atc tgg atc acc ccc 192

Leu Asp Tyr Ile Gln Gly Met Gly Phe Thr Ala Ile Trp Ile Thr Pro

50 55 60

gtt aca gcc cag ctg ccc cag acc acc gca tat gga gat gcc tac cat 240

Val Thr Ala Gln Leu Pro Gln Thr Thr Ala Tyr Gly Asp Ala Tyr His

65 70 75 80

ggc tac tgg cag cag gat ata tac tct ctg aac gaa aac tac ggc act 288

Gly Tyr Trp Gln Gln Asp Ile Tyr Ser Leu Asn Glu Asn Tyr Gly Thr

85 90 95

gca gat gac ttg aag gcg ctc tct tcg gcc ctt cat gag agg ggg atg 336

Ala Asp Asp Leu Lys Ala Leu Ser Ser Ala Leu His Glu Arg Gly Met

100 105 110

tat ctt atg gtc gat gtg gtt gct aac cat atg ggc tat gat gga gcg 384

|   |      |
|---|------|
| Tyr Leu Met Val Asp Val Val Ala Asn His Met Gly Tyr Asp Gly Ala |      |
| 115   | 120  |
| ggt agc tca gtc gat tac agt gtg ttt aaa ccg ttc agt tcc caa gac | 432  |
| Gly Ser Ser Val Asp Tyr Ser Val Phe Lys Pro Phe Ser Ser Gln Asp |      |
| 130   | 135  |
| tac ttc cac ccg ttc tgt ttc att caa aac tat gaa gat cag act cag | 480  |
| Tyr Phe His Pro Phe Cys Phe Ile Gln Asn Tyr Glu Asp Gln Thr Gln |      |
| 145   | 150  |
| gtt gag gat tgc tgg cta gga gat aac act gtc tcc ttg cct gat ctc | 528  |
| Val Glu Asp Cys Trp Leu Gly Asp Asn Thr Val Ser Leu Pro Asp Leu |      |
| 165   | 170  |
| gat acc acc aag gat gtg gtc aag aat gaa tgg tac gac tgg gtg gga | 576  |
| Asp Thr Thr Lys Asp Val Val Lys Asn Glu Trp Tyr Asp Trp Val Gly |      |
| 180   | 185  |
| tca ttg gta tcg aac tac tcc att gac ggc ctc cgt atc gac aca gta | 624  |
| Ser Leu Val Ser Asn Tyr Ser Ile Asp Gly Leu Arg Ile Asp Thr Val |      |
| 195   | 200  |
| aaa cac gtc cag aag gac ttc tgg ccc ggg tac aac aaa gcc gca ggc | 672  |
| Lys His Val Gln Lys Asp Phe Trp Pro Gly Tyr Asn Lys Ala Ala Gly |      |
| 210   | 215  |
| gtg tac tgt atc ggc gag gtg ctc gac ggt gat ccg gcc tac act tgt | 720  |
| Val Tyr Cys Ile Gly Glu Val Leu Asp Gly Asp Pro Ala Tyr Thr Cys |      |
| 225   | 230  |
| ccc tac cag aac gtc atg gac ggc gta ctg aac tat ccc att tac tat | 768  |
| Pro Tyr Gln Asn Val Met Asp Gly Val Leu Asn Tyr Pro Ile Tyr Tyr |      |
| 245   | 250  |
| cca ctc ctc aac gcc ttc aag tca acc tcc ggc agc atg gac gac ctc | 816  |
| Pro Leu Leu Asn Ala Phe Lys Ser Thr Ser Gly Ser Met Asp Asp Leu |      |
| 260   | 265  |
| tac aac atg atc aac acc gtc aaa tcc gac tgt cca gac tca aca ctc | 864  |
| Tyr Asn Met Ile Asn Thr Val Lys Ser Asp Cys Pro Asp Ser Thr Leu |      |
| 275   | 280  |
| ctg ggc aca ttc gtc gag aac cac gac aac cca cgg ttc gct tct tac | 912  |
| Leu Gly Thr Phe Val Glu Asn His Asp Asn Pro Arg Phe Ala Ser Tyr |      |
| 290   | 295  |
| acc aac gac ata gcc ctc gcc aag aac gtc gca gca ttc atc atc ctc | 960  |
| Thr Asn Asp Ile Ala Leu Ala Lys Asn Val Ala Ala Phe Ile Ile Leu |      |
| 305   | 310  |
| aac gac gga atc ccc atc atc tac gcc ggc caa gaa cag cac tac gcc | 1008 |

|   |      |
|---|------|
| Asn Asp Gly Ile Pro Ile Ile Tyr Ala Gly Gln Glu Gln His Tyr Ala |      |
| 325   | 330  |
| ggc gga aac gac ccc gcg aac cgc gaa gca acc tgg ctc tcg ggc tac | 1056 |
| Gly Gly Asn Asp Pro Ala Asn Arg Glu Ala Thr Trp Leu Ser Gly Tyr |      |
| 340   | 345  |
| ccg acc gac agc gag ctg tac aag tta att gcc tcc gcg aac gca atc | 1104 |
| Pro Thr Asp Ser Glu Leu Tyr Lys Leu Ile Ala Ser Ala Asn Ala Ile |      |
| 355   | 360  |
| cgg aac tat gcc att agc aaa gat aca gga ttc gtg acc tac aag aac | 1152 |
| Arg Asn Tyr Ala Ile Ser Lys Asp Thr Gly Phe Val Thr Tyr Lys Asn |      |
| 370   | 375  |
| tgg ccc atc tac aaa gac gac aca acg atc gcc atg cgc aag ggc aca | 1200 |
| Trp Pro Ile Tyr Lys Asp Asp Thr Thr Ile Ala Met Arg Lys Gly Thr |      |
| 385   | 390  |
| gat ggg tcg cag atc gtg act atc ttg tcc aac aag ggt gct tcg ggt | 1248 |
| Asp Gly Ser Gln Ile Val Thr Ile Leu Ser Asn Lys Gly Ala Ser Gly |      |
| 405   | 410  |
| gat tcg tat acc ctc tcc ttg agt ggt gcg ggt tac aca gcc ggc cag | 1296 |
| Asp Ser Tyr Thr Leu Ser Leu Ser Gly Ala Gly Tyr Thr Ala Gly Gln |      |
| 420   | 425  |
| caa ttg acg gag gtc att ggc tgc acg acc gtg acg gtt ggt tcg gat | 1344 |
| Gln Leu Thr Glu Val Ile Gly Cys Thr Thr Val Thr Val Gly Ser Asp |      |
| 435   | 440  |
| gga aat gtg cct gtt cct atg gca ggt ggg cta cct agg gta ttg tat | 1392 |
| Gly Asn Val Pro Val Pro Met Ala Gly Gly Leu Pro Arg Val Leu Tyr |      |
| 450   | 455  |
| ccg act gag aag ttg gca ggt agc aag atc tgt agt agc tcg gga aga | 1440 |
| Pro Thr Glu Lys Leu Ala Gly Ser Lys Ile Cys Ser Ser Ser Gly Arg |      |
| 465   | 470  |
| ggt gct aca agc ccg ggt ggc tcc tcg ggt agt gtc gag gtc act ttc | 1488 |
| Gly Ala Thr Ser Pro Gly Gly Ser Ser Gly Ser Val Glu Val Thr Phe |      |
| 485   | 490  |
| gac gtt tac gct acc aca gta tat ggc cag aac atc tat atc acc ggt | 1536 |
| Asp Val Tyr Ala Thr Thr Val Tyr Gly Gln Asn Ile Tyr Ile Thr Gly |      |
| 500   | 505  |
| gat gtg agt gag ctc ggc aac tgg aca ccc gcc aat ggt gtt gca ctc | 1584 |
| Asp Val Ser Glu Leu Gly Asn Trp Thr Pro Ala Asn Gly Val Ala Leu |      |
| 515   | 520  |
| tct tct gct aac tac ccc acc tgg agt gcc acg atc gct ctc ccc gct | 1632 |

Ser Ser Ala Asn Tyr Pro Thr Trp Ser Ala Thr Ile Ala Leu Pro Ala  
 530 535 540  
 gac acg aca atc cag tac aag tat gtc aac att gac ggc agc acc gtc 1680  
 Asp Thr Thr Ile Gln Tyr Lys Tyr Val Asn Ile Asp Gly Ser Thr Val  
 545 550 555 560  
 atc tgg gag gat gct atc agc aat cgc gag atc acg acg ccc gcc agc 1728  
 Ile Trp Glu Asp Ala Ile Ser Asn Arg Glu Ile Thr Thr Pro Ala Ser  
 565 570 575  
 ggc aca tac acc gaa aaa gac act tgg gat gaa tct tag 1767  
 Gly Thr Tyr Thr Glu Lys Asp Thr Trp Asp Glu Ser  
 580 585

<210>36

<211>588

<212>PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成构建体

<400>36

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



Gly Asn Val Pro Val Pro Met Ala Gly Gly Leu Pro Arg Val Leu Tyr  
 450 455 460  
 Pro Thr Glu Lys Leu Ala Gly Ser Lys Ile Cys Ser Ser Ser Gly Arg  
 465 470 475 480  
 Gly Ala Thr Ser Pro Gly Gly Ser Ser Gly Ser Val Glu Val Thr Phe  
 485 490 495  
 Asp Val Tyr Ala Thr Thr Val Tyr Gly Gln Asn Ile Tyr Ile Thr Gly  
 500 505 510  
 Asp Val Ser Glu Leu Gly Asn Trp Thr Pro Ala Asn Gly Val Ala Leu  
 515 520 525  
 Ser Ser Ala Asn Tyr Pro Thr Trp Ser Ala Thr Ile Ala Leu Pro Ala  
 530 535 540  
 Asp Thr Thr Ile Gln Tyr Lys Tyr Val Asn Ile Asp Gly Ser Thr Val  
 545 550 555 560  
 Ile Trp Glu Asp Ala Ile Ser Asn Arg Glu Ile Thr Thr Pro Ala Ser  
 565 570 575  
 Gly Thr Tyr Thr Glu Lys Asp Thr Trp Asp Glu Ser  
 580 585

<210>37

<211>640

<212>PRT

<213> 川地曲霉

<220>

<221> 成熟肽

<222>(22)..(640)

<400>37

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



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

<210>38

<211>505

<212>PRT

<213> 黑曲霉

<220>

<221> 成熟肽

<222>(22)..(505)

<400>38

```

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

```

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

<210>39

<211>476

<212>PRT

<213> 米曲霉

<220>

<221> 成熟肽

<222>(1).. (476)

&lt;400&gt;39

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

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

<210>40

<211>1455

<212>DNA

<213> 曲霉属菌种

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1455)

<223>AA560

<220>

<221> 成熟肽

<222>(1).. ()

|   |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
|---|--|-----|--|--|--|--|----|--|--|--|--|--|--|-----|--|-----|
| <400>40   |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
| cac cat aat ggt acg aac ggc aca atg atg cag tac ttt gaa tgg tat |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  | 48  |
| His His Asn Gly Thr Asn Gly Thr Met Met Gln Tyr Phe Glu Trp Tyr |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
| 1   |  | 5   |  |  |  |  | 10 |  |  |  |  |  |  | 15  |  |     |
| cta cca aat gac gga aac cat tgg aat aga tta agg tct gat gca agt |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  | 96  |
| Leu Pro Asn Asp Gly Asn His Trp Asn Arg Leu Arg Ser Asp Ala Ser |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
|   |  | 20  |  |  |  |  | 25 |  |  |  |  |  |  | 30  |  |     |
| aac cta aaa gat aaa ggg atc tca gcg gtt tgg att cct cct gca tgg |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  | 144 |
| Asn Leu Lys Asp Lys Gly Ile Ser Ala Val Trp Ile Pro Pro Ala Trp |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
|   |  | 35  |  |  |  |  | 40 |  |  |  |  |  |  | 45  |  |     |
| aag ggt gcc tct caa aat gat gtg ggg tat ggt gct tat gat ctg tat |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  | 192 |
| Lys Gly Ala Ser Gln Asn Asp Val Gly Tyr Gly Ala Tyr Asp Leu Tyr |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
|   |  | 50  |  |  |  |  | 55 |  |  |  |  |  |  | 60  |  |     |
| gat tta gga gaa ttc aat caa aaa gga acc att cgt aca aaa tat gga |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  | 240 |
| Asp Leu Gly Glu Phe Asn Gln Lys Gly Thr Ile Arg Thr Lys Tyr Gly |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
| 65  |  |     |  |  |  |  | 70 |  |  |  |  |  |  | 75  |  | 80  |
| acg cgc aat cag tta caa gct gca gtt aac gcc ttg aaa agt aat gga |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  | 288 |
| Thr Arg Asn Gln Leu Gln Ala Ala Val Asn Ala Leu Lys Ser Asn Gly |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
|   |  |     |  |  |  |  | 85 |  |  |  |  |  |  | 90  |  | 95  |
| att caa gtg tat ggc gat gtt gta atg aat cat aaa ggg gga gca gac |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  | 336 |
| Ile Gln Val Tyr Gly Asp Val Val Met Asn His Lys Gly Gly Ala Asp |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
|   |  | 100 |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  | 105 |  | 110 |
| gct acc gaa atg gtt agg gca gtt gaa gta aac ccg aat aat aga aat |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  | 384 |
| Ala Thr Glu Met Val Arg Ala Val Glu Val Asn Pro Asn Asn Arg Asn |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
|   |  | 115 |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  | 120 |  | 125 |
| caa gaa gtg tcc ggt gaa tat aca att gag gct tgg aca aag ttt gac |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  | 432 |
| Gln Glu Val Ser Gly Glu Tyr Thr Ile Glu Ala Trp Thr Lys Phe Asp |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
|   |  | 130 |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  | 135 |  | 140 |
| ttt cca gga cga ggt aat act cat tca aac ttc aaa tgg aga tgg tat |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  | 480 |
| Phe Pro Gly Arg Gly Asn Thr His Ser Asn Phe Lys Trp Arg Trp Tyr |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
| 145   |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  | 150 |  | 155 |
| cac ttt gat gga gta gat tgg gat cag tca cgt aag ctg aac aat cga |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  | 528 |
| His Phe Asp Gly Val Asp Trp Asp Gln Ser Arg Lys Leu Asn Asn Arg |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
|   |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  | 165 |  | 170 |
| att tat aaa ttt aga ggt gat gga aaa ggg tgg gat tgg gaa gtc gat |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  | 576 |
| Ile Tyr Lys Phe Arg Gly Asp Gly Lys Gly Trp Asp Trp Glu Val Asp |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |
|   |  | 180 |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  | 185 |  | 190 |
| aca gaa aac ggt aac tat gat tac cta atg tat gca gat att gac atg |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  | 624 |
| Thr Glu Asn Gly Asn Tyr Asp Tyr Leu Met Tyr Ala Asp Ile Asp Met |  |     |  |  |  |  |    |  |  |  |  |  |  |     |  |     |

|   |     |     |      |
|---|-----|-----|------|
| 195   | 200 | 205 |      |
| gat cac cca gag gta gtg aat gag cta aga aat tgg ggt gtt tgg tat |     |     | 672  |
| Asp His Pro Glu Val Val Asn Glu Leu Arg Asn Trp Gly Val Trp Tyr |     |     |      |
| 210   | 215 | 220 |      |
| acg aat aca tta ggc ctt gat ggt ttt aga ata gat gca gta aaa cat |     |     | 720  |
| Thr Asn Thr Leu Gly Leu Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Val Lys His |     |     |      |
| 225   | 230 | 235 | 240  |
| ata aaa tac agc ttt act cgt gat tgg att aat cat gtt aga agt gca |     |     | 768  |
| Ile Lys Tyr Ser Phe Thr Arg Asp Trp Ile Asn His Val Arg Ser Ala |     |     |      |
|   | 245 | 250 | 255  |
| act ggc aaa aat atg ttt gcg gtt gcg gaa ttt tgg aaa aat gat tta |     |     | 816  |
| Thr Gly Lys Asn Met Phe Ala Val Ala Glu Phe Trp Lys Asn Asp Leu |     |     |      |
|   | 260 | 265 | 270  |
| ggt gct att gaa aac tat tta aac aaa aca aac tgg aac cat tca gtc |     |     | 864  |
| Gly Ala Ile Glu Asn Tyr Leu Asn Lys Thr Asn Trp Asn His Ser Val |     |     |      |
|   | 275 | 280 | 285  |
| ttt gat gtt ccg ctg cac tat aac ctc tat aat gct tca aaa agc gga |     |     | 912  |
| Phe Asp Val Pro Leu His Tyr Asn Leu Tyr Asn Ala Ser Lys Ser Gly |     |     |      |
|   | 290 | 295 | 300  |
| ggg aat tat gat atg agg caa ata ttt aat ggt aca gtc gtg caa aga |     |     | 960  |
| Gly Asn Tyr Asp Met Arg Gln Ile Phe Asn Gly Thr Val Val Gln Arg |     |     |      |
| 305   | 310 | 315 | 320  |
| cat cca atg cat gct gtt aca ttt gtt gat aat cat gat tcg caa cct |     |     | 1008 |
| His Pro Met His Ala Val Thr Phe Val Asp Asn His Asp Ser Gln Pro |     |     |      |
|   | 325 | 330 | 335  |
| gaa gaa gct tta gag tct ttt gtt gaa gaa tgg ttc aaa cca tta gcg |     |     | 1056 |
| Glu Glu Ala Leu Glu Ser Phe Val Glu Glu Trp Phe Lys Pro Leu Ala |     |     |      |
|   | 340 | 345 | 350  |
| tat gct ttg aca tta aca cgt gaa caa ggc tac cct tct gta ttt tat |     |     | 1104 |
| Tyr Ala Leu Thr Leu Thr Arg Glu Gln Gly Tyr Pro Ser Val Phe Tyr |     |     |      |
|   | 355 | 360 | 365  |
| gga gat tat tat ggc att cca acg cat ggt gta cca gcg atg aaa tcg |     |     | 1152 |
| Gly Asp Tyr Tyr Gly Ile Pro Thr His Gly Val Pro Ala Met Lys Ser |     |     |      |
|   | 370 | 375 | 380  |
| aaa att gac ccg att cta gaa gcg cgt caa aag tat gca tat gga aga |     |     | 1200 |
| Lys Ile Asp Pro Ile Leu Glu Ala Arg Gln Lys Tyr Ala Tyr Gly Arg |     |     |      |
| 385   | 390 | 395 | 400  |
| caa aat gac tac tta gac cat cat aat atc atc ggt tgg aca cgt gaa |     |     | 1248 |
| Gln Asn Asp Tyr Leu Asp His His Asn Ile Ile Gly Trp Thr Arg Glu |     |     |      |

|   |     |     |      |
|---|-----|-----|------|
| 405   | 410 | 415 |      |
| ggg aat aca gca cac ccc aac tcc ggt tta gct act atc atg tcc gat |     |     | 1296 |
| Gly Asn Thr Ala His Pro Asn Ser Gly Leu Ala Thr Ile Met Ser Asp |     |     |      |
| 420   | 425 | 430 |      |
| ggg gca gga gga aat aag tgg atg ttt gtt ggg cgt aat aaa gct ggt |     |     | 1344 |
| Gly Ala Gly Gly Asn Lys Trp Met Phe Val Gly Arg Asn Lys Ala Gly |     |     |      |
| 435   | 440 | 445 |      |
| caa gtt tgg acc gat atc act gga aat cgt gca ggt act gtt acg att |     |     | 1392 |
| Gln Val Trp Thr Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ala Gly Thr Val Thr Ile |     |     |      |
| 450   | 455 | 460 |      |
| aat gct gat gga tgg ggt aat ttt tct gta aat gga gga tca gtt tct |     |     | 1440 |
| Asn Ala Asp Gly Trp Gly Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser |     |     |      |
| 465   | 470 | 475 | 480  |
| att tgg gta aac aaa   |     |     | 1455 |
| Ile Trp Val Asn Lys   |     |     |      |
| 485   |     |     |      |

<210>41

<211>485

<212>PRT

<213> 曲霉属菌种

<400>41

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

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

Gly Ala Gly Gly Asn Lys Trp Met Phe Val Gly Arg Asn Lys Ala Gly  
 435 440 445  
 Gln Val Trp Thr Asp Ile Thr Gly Asn Arg Ala Gly Thr Val Thr Ile  
 450 455 460  
 Asn Ala Asp Gly Trp Gly Asn Phe Ser Val Asn Gly Gly Ser Val Ser  
 465 470 475 480  
 Ile Trp Val Asn Lys  
 485

<210>42

<211>1350

<212>DNA

<213> 微小根毛霉 (*Rhizomucor pusillus*)

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1350)

<400>42

agc cct ttg ccc caa cag cag cga tat ggc aaa aga gca act tcg gat 48  
 Ser Pro Leu Pro Gln Gln Gln Arg Tyr Gly Lys Arg Ala Thr Ser Asp  
 1 5 10 15  
 gac tgg aaa ggc aag gcc att tat cag ctg ctt aca gat cga ttt ggc 96  
 Asp Trp Lys Gly Lys Ala Ile Tyr Gln Leu Leu Thr Asp Arg Phe Gly  
 20 25 30  
 cgc gcc gat gac tca aca agc aac tgc tct aat tta tcc aac tac tgt 144  
 Arg Ala Asp Asp Ser Thr Ser Asn Cys Ser Asn Leu Ser Asn Tyr Cys  
 35 40 45  
 ggt ggt acc tac gaa ggc att acg aag cat ctt gac tac att tcc ggt 192  
 Gly Gly Thr Tyr Glu Gly Ile Thr Lys His Leu Asp Tyr Ile Ser Gly  
 50 55 60  
 atg ggc ttt gat gct atc tgg ata tcg cca att ccc aag aac tcg gat 240  
 Met Gly Phe Asp Ala Ile Trp Ile Ser Pro Ile Pro Lys Asn Ser Asp  
 65 70 75 80  
 gga ggc tac cac ggc tac tgg gct aca gat ttc tac caa cta aac agc 288  
 Gly Gly Tyr His Gly Tyr Trp Ala Thr Asp Phe Tyr Gln Leu Asn Ser  
 85 90 95  
 aac ttt ggt gat gaa tcc cag ctc aaa gcg ctc atc cag gct gcc cat 336  
 Asn Phe Gly Asp Glu Ser Gln Leu Lys Ala Leu Ile Gln Ala Ala His

|   |     |     |     |
|---|-----|-----|-----|
| 100   | 105 | 110 |     |
| gaa cgt gac atg tat gtt atg ctt gat gtc gta gcc aat cat gca ggt |     |     | 384 |
| Glu Arg Asp Met Tyr Val Met Leu Asp Val Val Ala Asn His Ala Gly |     |     |     |
| 115   | 120 | 125 |     |
| ccc acc agc aat ggc tac teg ggt tac aca ttc ggc gat gca agt tta |     |     | 432 |
| Pro Thr Ser Asn Gly Tyr Ser Gly Tyr Thr Phe Gly Asp Ala Ser Leu |     |     |     |
| 130   | 135 | 140 |     |
| tat cat cct aaa tgc acc ata gat tac aat gat cag acg tct att gag |     |     | 480 |
| Tyr His Pro Lys Cys Thr Ile Asp Tyr Asn Asp Gln Thr Ser Ile Glu |     |     |     |
| 145   | 150 | 155 | 160 |
| caa tgc tgg gtt gct gac gag ttg cct gat att gac act gaa aat tct |     |     | 528 |
| Gln Cys Trp Val Ala Asp Glu Leu Pro Asp Ile Asp Thr Glu Asn Ser |     |     |     |
| 165   | 170 | 175 |     |
| gac aac gtg gcc att ctc aac gac atc gtc tcc ggc tgg gtg ggt aac |     |     | 576 |
| Asp Asn Val Ala Ile Leu Asn Asp Ile Val Ser Gly Trp Val Gly Asn |     |     |     |
| 180   | 185 | 190 |     |
| tat agc ttt gac ggc atc cgc att gat act gtc aag cat att cgc aag |     |     | 624 |
| Tyr Ser Phe Asp Gly Ile Arg Ile Asp Thr Val Lys His Ile Arg Lys |     |     |     |
| 195   | 200 | 205 |     |
| gac ttt tgg aca ggc tac gca gaa gct gcc ggc gta ttc gca act gga |     |     | 672 |
| Asp Phe Trp Thr Gly Tyr Ala Glu Ala Ala Gly Val Phe Ala Thr Gly |     |     |     |
| 210   | 215 | 220 |     |
| gag gtc ttc aat ggt gat ccg gcc tac gtt gga cct tat caa aag tac |     |     | 720 |
| Glu Val Phe Asn Gly Asp Pro Ala Tyr Val Gly Pro Tyr Gln Lys Tyr |     |     |     |
| 225   | 230 | 235 | 240 |
| ctg cca tct ctc atc aat tac cca atg tat tac gct ttg aac gac gtc |     |     | 768 |
| Leu Pro Ser Leu Ile Asn Tyr Pro Met Tyr Tyr Ala Leu Asn Asp Val |     |     |     |
| 245   | 250 | 255 |     |
| ttt gta tcc aaa agc aaa gga ttc agc cgc atc agc gaa atg cta gga |     |     | 816 |
| Phe Val Ser Lys Ser Lys Gly Phe Ser Arg Ile Ser Glu Met Leu Gly |     |     |     |
| 260   | 265 | 270 |     |
| tca aat cgc aat gcg ttt gag gat acc agc gta ctt aca acg ttt gta |     |     | 864 |
| Ser Asn Arg Asn Ala Phe Glu Asp Thr Ser Val Leu Thr Thr Phe Val |     |     |     |
| 275   | 280 | 285 |     |
| gac aac cat gac aat ccg cgc ttc ttg aac agt caa agc gac aag gct |     |     | 912 |
| Asp Asn His Asp Asn Pro Arg Phe Leu Asn Ser Gln Ser Asp Lys Ala |     |     |     |
| 290   | 295 | 300 |     |
| ctc ttc aag aac gct ctc aca tac gta ctg cta ggt gaa ggc atc cca |     |     | 960 |
| Leu Phe Lys Asn Ala Leu Thr Tyr Val Leu Leu Gly Glu Gly Ile Pro |     |     |     |

|   |     |     |     |      |
|---|-----|-----|-----|------|
| 305   | 310 | 315 | 320 |      |
| att gtg tat tat ggt tct gag caa ggt ttc agc gga gga gcg gat cct |     |     |     | 1008 |
| Ile Val Tyr Tyr Gly Ser Glu Gln Gly Phe Ser Gly Gly Ala Asp Pro |     |     |     |      |
|   | 325 | 330 | 335 |      |
| gct aac cgt gaa gtg ctg tgg acc acc aat tat gat aca tcc agc gat |     |     |     | 1056 |
| Ala Asn Arg Glu Val Leu Trp Thr Thr Asn Tyr Asp Thr Ser Ser Asp |     |     |     |      |
|   | 340 | 345 | 350 |      |
| ctc tac caa ttt atc aag aca gtc aac agt gtc cgc atg aaa agc aac |     |     |     | 1104 |
| Leu Tyr Gln Phe Ile Lys Thr Val Asn Ser Val Arg Met Lys Ser Asn |     |     |     |      |
|   | 355 | 360 | 365 |      |
| aag gcc gtc tac atg gat att tat gtt ggc gac aat gct tac gcc ttc |     |     |     | 1152 |
| Lys Ala Val Tyr Met Asp Ile Tyr Val Gly Asp Asn Ala Tyr Ala Phe |     |     |     |      |
|   | 370 | 375 | 380 |      |
| aag cac ggc gat gct ttg gtt gtt ctc aat aac tat gga tca ggt tcc |     |     |     | 1200 |
| Lys His Gly Asp Ala Leu Val Val Leu Asn Asn Tyr Gly Ser Gly Ser |     |     |     |      |
| 385   | 390 | 395 | 400 |      |
| aca aac caa gtc agc ttc agc gtt agt ggc aag ttc gat agc ggc gca |     |     |     | 1248 |
| Thr Asn Gln Val Ser Phe Ser Val Ser Gly Lys Phe Asp Ser Gly Ala |     |     |     |      |
|   | 405 | 410 | 415 |      |
| agc ctc atg gat att gtc agt aac att acc acc acg gtg tcc tcg gat |     |     |     | 1296 |
| Ser Leu Met Asp Ile Val Ser Asn Ile Thr Thr Thr Val Ser Ser Asp |     |     |     |      |
|   | 420 | 425 | 430 |      |
| gga aca gtc act ttc aac ctt aaa gat gga ctt ccg gct atc ttc acc |     |     |     | 1344 |
| Gly Thr Val Thr Phe Asn Leu Lys Asp Gly Leu Pro Ala Ile Phe Thr |     |     |     |      |
|   | 435 | 440 | 445 |      |
| tct gct   |     |     |     | 1350 |
| Ser Ala   |     |     |     |      |
| 450   |     |     |     |      |

&lt;210&gt;43

&lt;211&gt;450

&lt;212&gt;PRT

&lt;213&gt; 微小根毛霉

&lt;400&gt;43

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

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



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

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

<210>45

<211>1398

<212>DNA

<213> 巨多孔菌 (*Meripilus giganteus*)

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1398)

|  |  |     |
|--|--|-----|
| <400>45  |  |     |
| cgc cct act gtc ttt gac gcc ggc gcg gac gca cac tcg ctg cat gcc          |  | 48  |
| Arg Pro Thr Val Phe Asp Ala Gly Ala Asp Ala His Ser Leu His Ala          |  |     |
| 1                    5                    10                    15       |  |     |
| cgg gcc ccc tcc ggc agc aag gat gtc atc atc cag atg ttt gag tgg          |  | 96  |
| Arg Ala Pro Ser Gly Ser Lys Asp Val Ile Ile Gln Met Phe Glu Trp          |  |     |
| 20                    25                    30                           |  |     |
| aac tgg gac agc gtc gct gcc gag tgc act aac ttc atc ggc ccc gcc          |  | 144 |
| Asn Trp Asp Ser Val Ala Ala Glu Cys Thr Asn Phe Ile Gly Pro Ala          |  |     |
| 35                    40                    45                           |  |     |
| ggg tac ggc ttc gtg caa gtg agc ccg ccc cag gag acc atc cag ggc          |  | 192 |
| Gly Tyr Gly Phe Val Gln Val Ser Pro Pro Gln Glu Thr Ile Gln Gly          |  |     |
| 50                    55                    60                           |  |     |
| gcg cag tgg tgg acc gac tac cag ccg gtg tcg tac acg ctc act ggg          |  | 240 |
| Ala Gln Trp Trp Thr Asp Tyr Gln Pro Val Ser Tyr Thr Leu Thr Gly          |  |     |
| 65                    70                    75                    80     |  |     |
| aag cgg ggc gac cgc tcc cag ttt gcg aac atg att act acg tgc cac          |  | 288 |
| Lys Arg Gly Asp Arg Ser Gln Phe Ala Asn Met Ile Thr Thr Cys His          |  |     |
| 85                    90                    95                           |  |     |
| gcc gcg ggc gtc ggc gtg atc gtt gac acc atc tgg aac cac atg gcg          |  | 336 |
| Ala Ala Gly Val Gly Val Ile Val Asp Thr Ile Trp Asn His Met Ala          |  |     |
| 100                    105                    110                        |  |     |
| ggc gtc gac tcc ggc acg ggt acc gcc ggc tcg tcc ttc acg cac tac          |  | 384 |
| Gly Val Asp Ser Gly Thr Gly Thr Ala Gly Ser Ser Phe Thr His Tyr          |  |     |
| 115                    120                    125                        |  |     |
| aac tac ccc ggc atc tac caa aac cag gac ttt cac cac tgc ggc ctc          |  | 432 |
| Asn Tyr Pro Gly Ile Tyr Gln Asn Gln Asp Phe His His Cys Gly Leu          |  |     |
| 130                    135                    140                        |  |     |
| gag ccg ggc gat gac atc gtc aac tac gac aac gcg gtt gag gtc cag          |  | 480 |
| Glu Pro Gly Asp Asp Ile Val Asn Tyr Asp Asn Ala Val Glu Val Gln          |  |     |
| 145                    150                    155                    160 |  |     |
| acc tgc gag ctt gtc aac ctc gct gac ctc gcc acc gac acg gag tat          |  | 528 |
| Thr Cys Glu Leu Val Asn Leu Ala Asp Leu Ala Thr Asp Thr Glu Tyr          |  |     |
| 165                    170                    175                        |  |     |
| gtg cgc ggt cgc ctt gcc cag tac gga aac gac ctg ctc tcg ctc ggt          |  | 576 |
| Val Arg Gly Arg Leu Ala Gln Tyr Gly Asn Asp Leu Leu Ser Leu Gly          |  |     |
| 180                    185                    190                        |  |     |
| gcc gat ggc ctg cgt ctt gac gct tcc aaa cac att cct gtg ggc gac          |  | 624 |
| Ala Asp Gly Leu Arg Leu Asp Ala Ser Lys His Ile Pro Val Gly Asp          |  |     |

|   |     |     |      |
|---|-----|-----|------|
| 195   | 200 | 205 |      |
| atc gcg aac atc ctg tct cgc ctc agt cgc tct gtc tac atc acc cag |     |     | 672  |
| Ile Ala Asn Ile Leu Ser Arg Leu Ser Arg Ser Val Tyr Ile Thr Gln |     |     |      |
| 210   | 215 | 220 |      |
| gaa gtc atc ttt ggg gcc ggc gag ccc atc acg ccg aac cag tac acc |     |     | 720  |
| Glu Val Ile Phe Gly Ala Gly Glu Pro Ile Thr Pro Asn Gln Tyr Thr |     |     |      |
| 225   | 230 | 235 | 240  |
| ggg aac ggc gac gtt cag gag ttc cgc tac acc tct gcg cta aag gac |     |     | 768  |
| Gly Asn Gly Asp Val Gln Glu Phe Arg Tyr Thr Ser Ala Leu Lys Asp |     |     |      |
|   | 245 | 250 | 255  |
| gcc ttc ttg agc tcg ggc ata tcc aac ctg cag gac ttc gaa aac cgt |     |     | 816  |
| Ala Phe Leu Ser Ser Gly Ile Ser Asn Leu Gln Asp Phe Glu Asn Arg |     |     |      |
|   | 260 | 265 | 270  |
| gga tgg gta cct ggc tcg ggc gcc aac gtg ttc gtc gtc aac cat gac |     |     | 864  |
| Gly Trp Val Pro Gly Ser Gly Ala Asn Val Phe Val Val Asn His Asp |     |     |      |
|   | 275 | 280 | 285  |
| acc gag cgg aac ggc gcg tcg ctg aac aac aac tcg cct tcg aac acc |     |     | 912  |
| Thr Glu Arg Asn Gly Ala Ser Leu Asn Asn Asn Ser Pro Ser Asn Thr |     |     |      |
|   | 290 | 295 | 300  |
| tac gtc acc gcg acg atc ttc tcg ctc gca cac ccg tac ggc acg ccc |     |     | 960  |
| Tyr Val Thr Ala Thr Ile Phe Ser Leu Ala His Pro Tyr Gly Thr Pro |     |     |      |
| 305   | 310 | 315 | 320  |
| acg atc ctc tcc tcg tat gat ggc ttc acg aac acc gac gcc ggt gcg |     |     | 1008 |
| Thr Ile Leu Ser Ser Tyr Asp Gly Phe Thr Asn Thr Asp Ala Gly Ala |     |     |      |
|   | 325 | 330 | 335  |
| ccg aac aac aac gtc ggc aca tgc tcg acc agc ggt ggt gcg aac ggg |     |     | 1056 |
| Pro Asn Asn Asn Val Gly Thr Cys Ser Thr Ser Gly Gly Ala Asn Gly |     |     |      |
|   | 340 | 345 | 350  |
| tgg ctc tgc cag cac cgc tgg acc gcg atc gcc ggc atg gtc ggc ttc |     |     | 1104 |
| Trp Leu Cys Gln His Arg Trp Thr Ala Ile Ala Gly Met Val Gly Phe |     |     |      |
|   | 355 | 360 | 365  |
| cgc aac aac gtc ggc agc gct gca ctc aac aac tgg cag gcc ccg cag |     |     | 1152 |
| Arg Asn Asn Val Gly Ser Ala Ala Leu Asn Asn Trp Gln Ala Pro Gln |     |     |      |
|   | 370 | 375 | 380  |
| tcg cag cag att gcg ttc ggt cgc ggc gca ctt ggc ttc gtc gcg atc |     |     | 1200 |
| Ser Gln Gln Ile Ala Phe Gly Arg Gly Ala Leu Gly Phe Val Ala Ile |     |     |      |
| 385   | 390 | 395 | 400  |
| aac aac gcc gac tcg gcc tgg tct acg acg ttc acc act tcc ctc ccc |     |     | 1248 |
| Asn Asn Ala Asp Ser Ala Trp Ser Thr Thr Phe Thr Thr Ser Leu Pro |     |     |      |

|   |     |     |     |      |
|---|-----|-----|-----|------|
|   | 405 | 410 | 415 |      |
| gat ggt tcc tac tgc gat gtc atc agc ggc aag gcc tcc ggc agt agc |     |     |     | 1296 |
| Asp Gly Ser Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Lys Ala Ser Gly Ser Ser |     |     |     |      |
|   | 420 | 425 | 430 |      |
| tgc acc ggt tct teg ttc acc gtc tcc ggc ggg aag ctg acc gcc acg |     |     |     | 1344 |
| Cys Thr Gly Ser Ser Phe Thr Val Ser Gly Gly Lys Leu Thr Ala Thr |     |     |     |      |
|   | 435 | 440 | 445 |      |
| gtg ccg gcg cgt agc gcc atc gcc gtg cac acc ggt cag aaa ggt tct |     |     |     | 1392 |
| Val Pro Ala Arg Ser Ala Ile Ala Val His Thr Gly Gln Lys Gly Ser |     |     |     |      |
|   | 450 | 455 | 460 |      |
| ggt ggt   |     |     |     | 1398 |
| Gly Gly   |     |     |     |      |
| 465   |     |     |     |      |

&lt;210&gt;46

&lt;211&gt;466

&lt;212&gt;PRT

&lt;213&gt; 巨多孔菌

&lt;400&gt;46

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





Glu Pro Gly Asp Asp Ile Val Asn Tyr Asp Asn Ala Val Glu Val Gln  
 145 150 155 160  
 Thr Cys Glu Leu Val Asn Leu Ala Asp Leu Ala Thr Asp Thr Glu Tyr  
 165 170 175  
 Val Arg Gly Arg Leu Ala Gln Tyr Gly Asn Asp Leu Leu Ser Leu Gly  
 180 185 190  
 Ala Asp Gly Leu Arg Leu Asp Ala Ser Lys His Ile Pro Val Gly Asp  
 195 200 205  
 Ile Ala Asn Ile Leu Ser Arg Leu Ser Arg Ser Val Tyr Ile Thr Gln  
 210 215 220  
 Glu Val Ile Phe Gly Ala Gly Glu Pro Ile Thr Pro Asn Gln Tyr Thr  
 225 230 235 240  
 Gly Asn Gly Asp Val Gln Glu Phe Arg Tyr Thr Ser Ala Leu Lys Asp  
 245 250 255  
 Ala Phe Leu Ser Ser Gly Ile Ser Asn Leu Gln Asp Phe Glu Asn Arg  
 260 265 270  
 Gly Trp Val Pro Gly Ser Gly Ala Asn Val Phe Val Val Asn His Asp  
 275 280 285  
 Thr Glu Arg Asn Gly Ala Ser Leu Asn Asn Asn Ser Pro Ser Asn Thr  
 290 295 300  
 Tyr Val Thr Ala Thr Ile Phe Ser Leu Ala His Pro Tyr Gly Thr Pro  
 305 310 315 320  
 Thr Ile Leu Ser Ser Tyr Asp Gly Phe Thr Asn Thr Asp Ala Gly Ala  
 325 330 335  
 Pro Asn Asn Asn Val Gly Thr Cys Ser Thr Ser Gly Gly Ala Asn Gly  
 340 345 350  
 Trp Leu Cys Gln His Arg Trp Thr Ala Ile Ala Gly Met Val Gly Phe  
 355 360 365  
 Arg Asn Asn Val Gly Ser Ala Ala Leu Asn Asn Trp Gln Ala Pro Gln  
 370 375 380  
 Ser Gln Gln Ile Ala Phe Gly Arg Gly Ala Leu Gly Phe Val Ala Ile  
 385 390 395 400  
 Asn Asn Ala Asp Ser Ala Trp Ser Thr Thr Phe Thr Thr Ser Leu Pro  
 405 410 415  
 Asp Gly Ser Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Lys Ala Ser Gly Ser Ser  
 420 425 430  
 Cys Thr Gly Ser Ser Phe Thr Val Ser Gly Gly Lys Leu Thr Ala Thr  
 435 440 445  
 Val Pro Ala Arg Ser Ala Ile Ala Val His Thr Gly Gln Lys Gly Ser



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 Gly  
 115 120 125  
 Asp Ala Ser Leu Tyr His Pro Lys Cys Thr Ile Asp Tyr Asn Asp 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 |
| 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 |
| 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 |
| 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 |
| 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   |     |     |