



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102016018 B

(45) 授权公告日 2013. 09. 25

(21) 申请号 200880124119. 2

(22) 申请日 2008. 10. 31

(30) 优先权数据

11/930, 744 2007. 10. 31 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 06. 29

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/081952 2008. 10. 31

(87) PCT申请的公布数据

W02009/059104 EN 2009. 05. 07

(83) 生物保藏信息

ATCC 55746 1996. 03. 08

PTA-1177 2000. 01. 11

(73) 专利权人 纳幕尔杜邦公司

地址 美国特拉华州

(72) 发明人 R·迪科西莫 A·本-巴萨特

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 赵向辉 郭文洁

(51) Int. Cl.

C12N 9/78(2006. 01)

C12N 11/00(2006. 01)

C12P 7/42(2006. 01)

(56) 对比文件

W0 0104278 A1, 2001. 01. 18, 全文.

CN 1409756 A, 2003. 04. 09, 全文.

W0 2007036235 A1, 2007. 04. 05, 全文.

W0 2006069114 A2, 2006. 06. 29, 全文.

审查员 黄磊

权利要求书1页 说明书27页

序列表90页 附图7页

(54) 发明名称

用于生产乙醇酸的固定的微生物腈水解酶的改进

(57) 摘要

本发明涉及一种方法,用于改进具有腈水解酶活性的脱水的用于在重新水化之后将乙醇腈水解为乙醇酸的酶催化剂的比活性。特别地,提供了一种方法,其包括,在脱水之前:以戊二醛预处理具有腈水解酶活性的酶催化剂,将戊二醛预处理的酶催化剂固定并将酶催化剂进行化学交联。在重新水化之后,酶催化剂相对于那些经过脱水和重新水化但没有进行过本文所述过程的具有腈水解酶活性的酶催化剂来说,显示出改进的腈水解酶比活性。

1. 一种用于改进具有腈水解酶活性的脱水酶催化剂在重新水化之后将乙醇腈水解为乙醇酸的比活性的方法,所述方法包括:

(a) 通过发酵产生具有腈水解酶活性的酶催化剂,所述酶催化剂包含具有选自 SEQ ID NO:4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55 和 57 的氨基酸序列的多肽;

(b) 以戊二醛预处理所述酶催化剂,其中以戊二醛进行预处理包括以 50mg/L/h 至 500mg/L/h 的速率向步骤 (a) 产生的发酵液中加入 3g/L (0.025g GA/OD₅₅₀) 至 5g/L (0.042g GA/OD₅₅₀) 的戊二醛,其中在以戊二醛进行预处理的过程中 pH 保持在 5.0 至 9.0;

(c) 任选地在戊二醛预处理之后以亚硫酸氢盐将未反应的戊二醛灭活;

(d) 从 (b) 或 (c) 回收酶催化剂并将所述酶催化剂固定于角叉菜胶中;

(e) 以戊二醛和聚乙烯亚胺将 (d) 中产生的角叉菜胶-固定的酶催化剂进行交联;

(f) 产生戊二醛预处理的固定的和交联的酶催化剂;和

(g) 将步骤 (f) 中产生的交联的固定的酶催化剂脱水。

2. 根据权利要求 1 所述的方法,还包括步骤 (h):在水溶液中将步骤 (g) 的酶催化剂重新水化。

3. 根据权利要求 2 所述的方法,还包括步骤 (i):在合适的反应条件下,在水溶液中将权利要求 2 的重新水化的酶催化剂与乙醇腈接触,从而产生乙醇酸。

4. 根据权利要求 3 所述的方法,还包括步骤 (j):回收步骤 (i) 中产生的乙醇酸。

5. 根据权利要求 1 所述的方法产生的脱水的酶催化剂。

6. 根据权利要求 5 所述的酶催化剂,其中所述催化剂在重新水化之后保留其至少 70% 的将乙醇腈水解为乙醇酸的比活性。

用于生产乙醇酸的固定的微生物腈水解酶的改进

技术领域

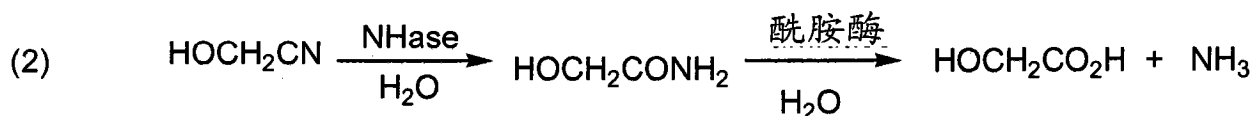
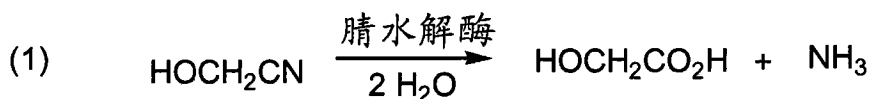
[0001] 本发明涉及有机酸的合成和微生物学领域。更具体地,提供了一种方法以改进具有腈水解酶活性的脱水酶催化剂在重新水化之后将乙醇腈水解为乙醇酸的比活性。特别地,提供了一种方法,在进行脱水之前:以戊二醛预处理具有腈水解酶活性的酶催化剂、将戊二醛预处理的细胞固定并将固定的细胞进行化学交联。在重新水化之后,相对于那些经过脱水和重新水化但没有进行过所述过程的具有腈水解酶活性的酶催化剂来说,本发明的酶催化剂显示出改进的腈水解酶比活性。

背景技术

[0002] 乙醇酸 (HOCH_2COOH ; CAS 注册号为 79-14-1) 是羧酸的 α -羟基酸家族的最简单的成员。乙醇酸的性质使其具有理想的广范围的消费和工业应用,包括用于水井复原、皮革工业、油气工业、洗衣和纺织工业、作为单体制备聚乙醇酸 (PGA), 以及作为个人护理产品的成分。乙醇酸还是多种工业上的清洁剂 (奶制品和食品加工设备清洁剂, 家居和机构清洁剂, 工业清洁剂 [用于运输设备、石工技术、印刷电路板、不锈钢锅炉和处理设备、冷却塔 / 热交换器] 和金属加工 [用于金属酸洗、铜的抛光、蚀刻、电镀、电解法抛光]) 的主要成分。也有报道指出乙醇酸可作为气体屏障材料 (即显示出高度的氧气屏障特性) 用于包装食物和碳酸饮料 (WO 2005/106005 A1)。但是, 乙醇酸的传统化学合成产生大量的杂质, 在使用前必须除去这些杂质。工业界迫切需要商业化生产乙醇酸的新技术, 特别是以低成本生产高纯度乙醇酸的新技术。

[0003] 微生物酶催化剂能够使用腈水解酶 (EC 3.5.5.7) 将腈 (例如乙醇腈) 直接水解为相应的羧酸 (例如乙醇酸), 其中不产生相应的酰胺中间体 (反应式 1); 或者可通过腈水合酶 (EC 4.2.1.84) 与酰胺酶 (EC 3.5.1.4) 的组合将腈 (例如乙醇腈) 水解为相应的羧酸 (例如乙醇酸), 其中腈水合酶 (NHase) 首先将腈转化为酰胺, 然后酰胺被酰胺酶转化成相应的羧酸 (反应式 2):

[0004]



[0005] 用于商业目的的腈至乙醇酸的酶法水解需要通过发酵产生高体积的酶催化剂。这些体积中多数来源于发酵液中的水含量。由于所述的高体积发酵液的缘故, 所以包含酶催化剂的发酵液的储存以及 (在很多情况下) 运输引起物流和经济上的问题。提供酶催化剂

的储存和运输上的简便性的原理是将酶从发酵液中分离出来,将酶催化剂固定(例如,通过角叉菜胶凝胶截留),并将固定的酶催化剂脱水。在用于生产乙醇酸之前可以将固定的酶催化剂重新水化。但是,脱水和重新水化经常引起严重的酶活性的损失。

[0006] 以前已经描述过固定的细胞催化剂的脱水或干燥。US 5,998,180 描述了产生干燥的固定的微生物脲水解酶的方法,其中含有所述脲水解酶的紫红红球菌 (*Rhodococcus rhodochrous*) NCIMB 40757 或 NCIMB 408333 细胞在固定于交联的聚丙烯酰胺珠子以后保留了其至少 80% 的初始活性;在 60℃ 将交联的聚丙烯酰胺珠子干燥至 12% 的湿度以后,所产生的固定的细胞脲水解酶保留了其至少 90% 的初始固定活性。B. DeGiulio 等人 (*World J. Microbiol. Biotechnol.* 21:739-746, (2005)) 描述了藻酸钙中的乳酸细菌的固定,然后将产生的固定的细胞催化剂冻干,其中至少 72% 的细胞在冻干后保留了代谢活性。US 5,846,762 描述了含有共价固定的纤维二糖酶的明胶珠子的脱水,在第 6 栏第 9-11 行记载:一旦脱水之后,藻酸钙和 κ -角叉菜胶珠子一般不能被重新水化。

[0007] 上文刚刚描述的将固定的酶催化剂脱水或冻干然后重新水化的方法中没有有一个报道重新水化之后回收的酶活性的改进,或者当所产生的重新水化的酶催化剂应用于将底物转化为产物的反应时,酶活性的稳定性的改进(与不是通过戊二醛预处理的细胞制备的可比较的重新水化的固定的酶催化剂相比)。

[0008] 除了由于酶催化剂处理导致酶催化剂活性损失之外(例如在脱水/重新水化的情况下)乙醇脲至乙醇酸的酶法水解通常需要实质上纯的形式的乙醇脲。以前曾经报道过通过甲醛和氰化氢的水溶液的反应合成乙醇脲的方法(US 2,175,805;US 2,890,238;和 US 5,187,301;反应式 3)。

[0009]



[0010] 但是,这些方法通常产生水性的乙醇脲反应产物,其需要进行深度纯化(例如蒸馏纯化),因为很多杂质和/或反应的副产物(包括多余的反应物甲醛)可能干扰乙醇脲至乙醇酸的酶法转化,包括抑制催化剂活性(即降低比活性)。特别地,众所周知甲醛能够通过来自 N-末端氨基酸残基和精氨酸、半胱氨酸、组氨酸和赖氨酸残基的侧链的氨基基团发生反应而在蛋白中产生不想要的修饰(Metz 等人, *J. Biol. Chem.*, 279(8): 6235-6243 (2004))。催化剂活性的抑制降低催化剂的总体生产力(即每克催化剂形成的乙醇酸的总克数),这显著增加了总体过程的成本,使得与化学合成相比酶法生产可能在经济上不可行。因此,需要这样的反应条件:其能够保护酶活性以抵抗那些降低催化剂活性的不想要的杂质。

[0011] 已经报道了通过在乙醇脲合成反应之前将甲醛进行加热处理从而产生高纯度乙醇脲的方法(US 11/3143865 和 US 11/314905;反应式 3)。但是,乙醇脲能够可逆地分解成甲醛和氰化氢。因此,仍然需要保护脲水解酶活性以抵抗由乙醇脲分解产生的甲醛和氰化氢的不良效应。

[0012] US 5,508,181 还描述了将脲化合物转化为 α -羟基酸时与酶催化剂的迅速灭活相关的类似困难。具体地,US 5,508,181 记载:根据分解平衡, α -羟基脲化合物部分分解为相应的醛。据报道,这些醛通过与蛋白结合而在短时间内将酶灭活,因此难以从 α -羟基脲以高生产力获得高浓度的 α -羟基酸或 α -羟基酰胺(第 2 栏,第 16-29 行)。作为防

止由于醛的累积而使酶灭活的手段,向反应混合物中加入磷酸盐或次磷酸盐离子。类似地,US 5,326,702 描述了使用亚硫酸盐、二亚硫酸盐或连二亚硫酸盐离子捕获醛并防止酶灭活,但是其得出结论:即使使用这样的添加物,所产生和积累的 α -羟基酸的浓度也不足以满足多数商业目的。

[0013] 此外,U.S. 6,037,155 教导: α -羟基酸产物的低积累与分解的醛的积累造成的短时间内的酶灭活有关。这些发明人提示在氰化氢(在水以及相应的醛或酮中 α -羟基腈部分分解产生氰化氢(Mowry, David T., Chemical Reviews, Vol. 42, 189-283 页(1948)))存在时酶活性被抑制(Asano 等人, Agricultural Biological Chemistry, Vol. 46, 1165-1174 页(1982))。发明人通过使用微生物(其酶活性可以通过向反应混合物中加入氰物质而被改进)而解决了醛诱导的酶灭活的问题。氰物质的加入限制了 α -羟基腈向醛和氰化氢的分解。虽然这个策略对系统提供了益处,但是其仅解决了与乙醇腈转化为乙醇酸中的酶灭活相关的一个方面,即,如上所述,已知乙醇腈可逆地分解为氰化氢和甲醛,二者均已知对酶催化活性具有消极效应。

[0014] 已经开发了一种单独的方法以在存在甲醛的情况下将乙醇腈转化为乙醇酸时保护具有腈水解酶活性的酶催化剂的比活性(参见同一申请人的美国专利申请 XX/XXXXXX(CL3584),通过引用并入本文),其中通过向反应混合物中加入胺保护剂或者通过将腈水解酶催化剂固定于基质(含有胺保护剂,例如 PEI、聚烯丙胺、PVOH/聚乙烯胺等)中或基质上而获得了催化活性和稳定性的显著改进。在该系统中,改进了甲醛存在时的催化剂的比活性。

[0015] 虽然上面描述的方法很多都改进了腈水解酶催化剂对于乙醇酸的生产力,但是在所述催化剂用于水解乙醇腈的水解反应时(例如,在具有催化剂循环的连续批式反应中,或在启动连续搅拌槽式反应(CSTR)或固定床柱式反应器的初始阶段)通常仍然观察到固定的微生物腈水解酶的初始酶活性的显著下降。通过在固定于角叉菜胶之前以戊二醛预处理微生物催化剂部分解决了乙醇腈水解过程中初始的腈水解酶活性显著下降的问题(如同一申请人的美国专利申请 XX/XXXXXX(CL3888)中所描述,通过引用并入本文),其中在乙醇腈水解为乙醇酸(作为铵盐)的过程中保留了显著较高百分率的初始固定的微生物腈水解酶比活性(每克催化剂每分钟水解的乙醇腈的 μmole 数)。

[0016] U.S. 4,288,552 记载(第1栏,第46-49行和第2栏,第50-55行):戊二醛敏感性酶(例如巯基酶(例如腈水解酶)和其它在酶分子的活性位点或非常接近活性位点的地方具有SH基团的酶)被巯基反应性试剂例如戊二醛灭活。因此,不仅不能预见在固定之前以戊二醛预处理具有腈水解酶活性的酶催化剂不会引起微生物腈水解酶活性的显著降低,反而惊奇地发现以戊二醛进行预处理对于酶催化剂活性是有益的,特别是在用于将乙醇腈水解为乙醇酸之前,将固定的酶催化剂脱水然后又重新水化时。本发明的方法防止脱水/重新水化步骤中显著的活性损失,并产生重新水化的固定的酶催化剂,该酶催化剂具有初始活性以及在后续将重新水化的固定的酶活性用于将乙醇腈转化为乙醇酸之时酶催化剂活性的后续稳定性。这个益处引入本文描述的方法——其解决了商业过程的需要,包括脱水步骤,用于产生具有改进的比活性(用于在重新水化后生产乙醇酸)的酶催化剂。

[0017] 因此,待解决的问题是:需要一种商业上可行的方法以用于产生具有腈水解酶活性的酶催化剂,用于以改进的比活性将乙醇腈水解为乙醇酸。更具体地,需要一种商业上可

接受的方法以使用具有腈水解酶活性的酶催化剂将乙醇腈水解为乙醇酸,使由于使用前的脱水和重新水化以及由于杂质或反应物的分解造成灭活而引起的酶活性的损失最小化。

[0018] 发明概述

[0019] 目前的问题通过提供用于产生在重新水化后具有改进的比活性的脱水的固定酶催化剂并将所述酶催化剂用于将乙醇腈转化为乙醇酸的方法而获得解决,所述方法包括:

[0020] (a) 通过发酵产生具有腈水解酶活性的酶催化剂;

[0021] (b) 以戊二醛预处理所述酶催化剂;

[0022] (c) 任选地在戊二醛预处理之后以亚硫酸氢盐将未反应的戊二醛灭活;

[0023] (d) 从 (b) 或 (c) 回收酶催化剂并将所述酶催化剂固定于角叉菜胶中;

[0024] (e) 以戊二醛和聚乙烯亚胺将 (d) 中产生的角叉菜胶-固定的酶催化剂进行交联;和

[0025] (f) 将步骤 (e) 中产生的交联的固定的酶催化剂脱水。

[0026] 本发明的另一个方面是在水溶液中将以上步骤 (f) 的脱水的固定的催化剂重新水化。另外,在水溶液中将所述重新水化的酶催化剂与乙醇腈接触,从而产生乙醇酸。在另一个方面,从所述水溶液中回收乙醇酸。

[0027] 当用于将乙醇腈转化为乙醇酸(作为铵盐)的时候,相对于那些在固定、交联、脱水和重新水化之前没有使用戊二醛将酶催化剂进行预处理而制备的固定的酶催化剂来说,通过以上的步骤 a) 至 f) 的方法产生的固定的酶催化剂保留了显著较高百分率的其初始比活性(每克催化剂每分钟水解的乙醇腈的 μmole 数)。

[0028] 本发明的另一个方面在于脱水的酶催化剂作为改进的具有腈水解酶活性的酶催化剂。所述脱水的酶催化剂在重新水化后保留其比活性的至少大约 70%、至少大约 75%、至少大约 80%、至少大约 85% 或至少大约 90%。

[0029] 附图、序列列表和生物保藏说明

[0030] 可以从附图、序列列表、生物保藏和一起构成本申请的详细说明书更全面地理解本发明。

[0031] 附图

[0032] 图 1 中图板 A-G 是各种腈水解酶序列的 CLUSTALW 比对(版本 1.83,使用缺省参数)。以灰色阴影标出了催化剂半胱氨酸残基周围的保守性催化剂标志(signature)序列。用下划线标出了代表催化三元组(triad) (Glu₄₈、Lys₁₃₀ 和 Cys₁₆₄;编号基于 SEQ ID NO:4 的氨基酸序列)的氨基酸。

[0033] 序列列表

[0034] 以下序列描述和所附序列列表符合 37C.F.R. § 1.821-1.825 列出的关于专利申请中的核苷酸和/或氨基酸序列公开的规则规定。序列描述中对于核苷酸序列符号使用单字母代码,对于氨基酸使用三字母代码,符合 IUPAC-IYUB 标准(如 Nucleic Acids Research 13:3021-3030(1985) 和 Biochemical Journal 219(No. 2):345-373(1984) 所描述,通过引用并入本文)。用于核苷酸和氨基酸序列数据的符号和格式符合 37C.F.R. § 1.822. 列出的规定。

[0035] SEQ ID NO:1 是包含腈水解酶的必需半胱氨酸残基的催化标志基序的氨基酸序列(式 1)。

[0036] SEQ ID NO :2 是包含腓水解酶的必需半胱氨酸残基的优选催化剂标志基序的氨基酸序列 (式 2)。

[0037] SEQ ID NO :3 是敏捷食酸菌 (*Acidovorax facilis*)72W 腓水解酶编码序列的核苷酸序列,其中包含起始密码子从 TTG 至 ATG 的改变以促进在大肠杆菌中的重组表达。

[0038] SEQ ID NO :4 是敏捷食酸菌 72W 腓水解酶 (ATCC 55746) 的推导氨基酸序列。

[0039] SEQ ID NO :5 是固氮粪产碱菌 (*Alcaligenes faecalis*)JM3 腓水解酶 (**GENBANK®** BAA02684.1) 的氨基酸序列。

[0040] SEQ ID NO :6 是紫红红球菌 J1 腓水解酶 (**GENBANK®** Q03217) 的氨基酸序列。

[0041] SEQ ID NO :7 是紫红红球菌 K22 腓水解酶 (**GENBANK®** Q02068) 的氨基酸序列。

[0042] SEQ ID NO :8 是诺卡氏菌属 (*Nocardia* sp.)C-14-1 腓水解酶 (**GENBANK®** AAX18182.1) 的氨基酸序列。

[0043] SEQ ID NO :9 是支气管败血波氏杆菌 (*Bordetella bronchiseptica*)RB50 腓水解酶 (**GENBANK®** NP_887662.1) 的氨基酸序列。

[0044] SEQ ID NO :10 是拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 腓水解酶 (**GENBANK®** AAB60275.1 和 AAA19627.1) 的氨基酸序列。

[0045] SEQ ID NO :11 是细长聚球藻 (*Synechococcus elongatus*)PCC 7942 腓水解酶 (**GENBANK®** YP_399857.1) 的氨基酸序列。

[0046] SEQ ID NO :12 是细长聚球藻 PCC 6301 腓水解酶 (**GENBANK®** YP_171411.1) 的氨基酸序列。

[0047] SEQ ID NO :13 是集胞藻属 (*Synechocystis* sp.)PCC 6803 腓水解酶 (**GENBANK®** NP_442646.1) 的氨基酸序列。

[0048] SEQ ID NO :14 是嗜虫假单胞菌 (*Pseudomonas entomophila*)L48 腓水解酶 (**GENBANK®** YP_6090481.1) 的氨基酸序列。

[0049] SEQ ID NO :15 是运动发酵单胞菌 (*Zymomonas mobilis*) 腓水解酶的氨基酸序列 (**GENBANK®** YP_162942.1)。

[0050] SEQ ID NO :16 是芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)0xB-1 腓水解酶 (**GENBANK®** BAA90460.1) 的氨基酸序列。

[0051] SEQ ID NO :17 是睾丸酮丛毛单胞菌 (*Comamonas testosteroni*) 腓水解酶 (**GENBANK®** AAA82085.1) 的氨基酸序列。

[0052] SEQ ID NO :18 是蓝细菌属 (*Synechococcus* sp.)CC9605 腓水解酶 (**GENBANK®** YP_381420.1) 的氨基酸序列。

[0053] SEQ ID NO :19 是荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*)Pf-5 腓水解酶 (**GENBANK®** YP_260015.1) 的氨基酸序列。

[0054] SEQ ID NO :20 是鼻疽诺卡菌 (*Nocardia farcinica*)IFM 10152 腓水解酶 (**GENBANK®** YP_119480.1) 的氨基酸序列。

[0055] SEQ ID NO :21 是固氮粪产碱菌 1650 腓水解酶 (**GENBANK®** AAY06506.1) 的氨基酸序列。

- [0056] SEQ ID NO:22 是丁香假单胞杆菌丁香致病变种 (*Pseudomonas syringae*pv. *syringae*)B728a 脲水解酶 (**GENBANK®** AAY35081.1) 的氨基酸序列。
- [0057] SEQ ID NO:23 是慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium* sp.)BTail 脲水解酶 (**GENBANK®** ZP_00859948.1) 的氨基酸序列。
- [0058] SEQ ID NO:24 是紫红红球菌 NCIMB 11216 脲水解酶 (**GENBANK®** CAC88237) 的氨基酸序列。
- [0059] SEQ ID NO:25 是紫红红球菌 ATCC™ 39484 的氨基酸序列。
- [0060] SEQ ID NO:26 是敏捷食酸菌 72W 脲水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 201 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (L201Q;Leu → Gln)。
- [0061] SEQ ID NO:27 是突变的脲水解酶 (SEQ ID NO:26) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 脲水解酶的 201 位残基含有单一氨基酸取代 (Leu201 → Gln)。
- [0062] SEQ ID NO:28 是敏捷食酸菌 72W 脲水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 201 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (L201A;Leu → Ala)。
- [0063] SEQ ID NO:29 是突变的脲水解酶 (SEQ ID NO:28) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 脲水解酶的 201 位残基含有单一氨基酸取代 (Leu201 → Ala)。
- [0064] SEQ ID NO:30 是敏捷食酸菌 72W 脲水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 201 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (L201C;Leu → Cys)。
- [0065] SEQ ID NO:31 是突变的脲水解酶 (SEQ ID NO:30) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 脲水解酶的 201 位残基含有单一氨基酸取代 (Leu201 → Cys)。
- [0066] SEQ ID NO:32 是敏捷食酸菌 72W 脲水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 201 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (L201T;Leu → Thr)。
- [0067] SEQ ID NO:33 是突变的脲水解酶 (SEQ ID NO:32) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 脲水解酶的 201 位残基含有单一氨基酸取代 (Leu201 → Thr)。
- [0068] SEQ ID NO:34 是敏捷食酸菌 72W 脲水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 201 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (L201G;Leu → Gly)。
- [0069] SEQ ID NO:35 是突变的脲水解酶 (SEQ ID NO:34) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 脲水解酶的 201 位残基含有单一氨基酸取代 (Leu201 → Gly)。
- [0070] SEQ ID NO:36 是敏捷食酸菌 72W 脲水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 201 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (L201H;Leu → His)。
- [0071] SEQ ID NO:37 是突变的脲水解酶 (SEQ ID NO:36) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 脲水解酶的 201 位残基含有单一氨基酸取代 (Leu201 → His)。
- [0072] SEQ ID NO:38 是敏捷食酸菌 72W 脲水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 201 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (L201K;Leu → Lys)。
- [0073] SEQ ID NO:39 是突变的脲水解酶 (SEQ ID NO:38) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 脲水解酶的 201 位残基含有单一氨基酸取代 (Leu201 → Lys)。
- [0074] SEQ ID NO:40 是敏捷食酸菌 72W 脲水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 201 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (L201N;Leu → Asn)。
- [0075] SEQ ID NO:41 是突变的脲水解酶 (SEQ ID NO:40) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 脲水解酶的 201 位残基含有单一氨基酸取代 (Leu201 → Asn)。

[0076] SEQ ID NO:42 是敏捷食酸菌 72W 腓水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 201 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (L201S;Leu → Ser)。

[0077] SEQ ID NO:43 是突变的腓水解酶 (SEQ ID NO:42) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 腓水解酶的 201 位残基含有单一氨基酸取代 (Leu201 → Ser)。

[0078] SEQ ID NO:44 是敏捷食酸菌 72W 腓水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 168 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (F168K;Phe → Lys)。

[0079] SEQ ID NO:45 是突变的腓水解酶 (SEQ ID NO:44) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 腓水解酶的 168 位残基含有单一氨基酸取代 (Phe168 → Lys)。

[0080] SEQ ID NO:46 是敏捷食酸菌 72W 腓水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 168 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (F168M;Phe → Met)。

[0081] SEQ ID NO:47 是突变的腓水解酶 (SEQ ID NO:46) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 腓水解酶的 168 位残基含有单一氨基酸取代 (Phe168 → Met)。

[0082] SEQ ID NO:48 是敏捷食酸菌 72W 腓水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 168 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (F168T;Phe → Thr)。

[0083] SEQ ID NO:49 是突变的腓水解酶 (SEQ ID NO:48) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 腓水解酶的 168 位残基含有单一氨基酸取代 (Phe168 → Thr)。

[0084] SEQ ID NO:50 是敏捷食酸菌 72W 腓水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 168 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (F168V;Phe → Val)。

[0085] SEQ ID NO:51 是突变的腓水解酶 (SEQ ID NO:50) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 腓水解酶的 168 位残基含有单一氨基酸取代 (Phe168 → Val)。

[0086] SEQ ID NO:52 是敏捷食酸菌 72W 腓水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 168 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (T210A;Thr → Ala)。

[0087] SEQ ID NO:53 是突变的腓水解酶 (SEQ ID NO:52) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 腓水解酶的 210 位残基含有单一氨基酸取代 (Thr210 → Ala)。

[0088] SEQ ID NO:54 是敏捷食酸菌 72W 腓水解酶突变体的核苷酸序列,其包含引起 168 位残基上单一氨基酸取代的密码子改变 (T210C;Thr → Cys)。

[0089] SEQ ID NO:55 是突变的腓水解酶 (SEQ ID NO:54) 的推导氨基酸序列,其在敏捷食酸菌 72W 腓水解酶的 210 位残基含有单一氨基酸取代 (Thr210 → Cys)。

[0090] SEQ ID NO:56 是在大肠杆菌菌株 SS1001(ATCC PTA-1177) 中表达的敏捷食酸菌 72W 腓水解酶的核苷酸序列。

[0091] SEQ ID NO:57 是在大肠杆菌菌株 SS1001(ATCC PTA-1177) 中表达的敏捷食酸菌 72W 腓水解酶的推导氨基酸序列。

[0092] 生物保藏

[0093] 根据国际承认用于专利程序目的的微生物保存布达佩斯条约的条款作出以下生物保藏:

[0094]	保藏者鉴别参考	国际保藏机构指定	保藏日期
[0095]	敏捷食酸菌 72W	ATCC 55746	1996 年 3 月 8 日
[0096]	大肠杆菌 SS1001	ATCC PTA-1177	2000 年 1 月 11 日
[0097]	本文所用的“ATCC”是指位于 ATCC,10801 University Blvd.,Manassas,VA 20110		

2209, USA 的 American Type Culture Collection International Depository Authority。“国际保藏机构指定”是 ATCC 保藏的培养物的编号。

[0098] 所列的保藏将在指明的国际保藏机构保持至少三十 (30) 年, 在公开这些保藏的专利授权之后公众可以获得这些保藏。保藏的获得不构成实施本发明 (损害由政府行为授予的专利权) 的许可证。

[0099] 发明详述

[0100] 提供了一种改进具有胍水解酶活性的脱水的固定的和交联的用于在重新水化之后将乙醇胍水解为乙醇酸的酶催化剂的比活性的方法。特别地, 提供了一种方法, 以戊二醛预处理具有胍水解酶活性的酶催化剂、将戊二醛预处理的细胞固定并将固定的细胞进行化学交联, 然后脱水。在重新水化之后, 戊二醛预处理的固定的和交联的酶催化剂相对于那些经过脱水和重新水化但没有进行过所述过程的具有胍水解酶活性的固定的和交联的酶催化剂来说, 显示出改进的胍水解酶比活性。

[0101] 定义

[0102] 在本公开中使用了一些术语和缩写。除非另有特别指明, 否则适用以下定义。

[0103] 本文所用的术语“包含”意思是存在如权利要求中提到的指明的特征、整体、步骤或成分, 但是不排除另外的一个或多个其它特征、整体、步骤、成分或其组合的存在。

[0104] 本文所用的修饰本发明所用的成分或反应试剂的数量的术语“大约”是指数量值的差异, 所述差异可以来自于, 例如, 在客观世界中配制浓度或使用溶液时的典型的测量和液体操作程序; 这些程序中不经意的错误; 制备组合物或实施方法时所用的成分的生产商、来源或纯度; 等等。术语“大约”还包括由来自特定的初始混合物的组合物的不同平衡条件所产生的数量上的差异。不论是否以术语“大约”进行修饰, 权利要求均包括数量的等同物。在一个实施方式中, 术语“大约”意思是在报告的数值的 10% 以内, 优选在报告的数值的 5% 以内。

[0105] 本文所用的术语“乙醇胍”缩写为“GLN”, 其与羟基乙胍、2-羟基乙胍、羟甲基胍和 CAS 注册号 107-16-4 的所有其它同义物是同义的。

[0106] 本文所用的术语“乙醇酸”缩写为“GLA”, 其与羟基乙酸 (hydroxyacetic acid)、羟基乙酸 (hydroxyethanoic acid) 和 CAS 注册号 79-14-1 的所有其它同义物是同义的。根据本发明的方法产生的乙醇酸可以是质子化羧酸和 / 或相应的铵盐的形式。

[0107] 本文所用的术语“乙醇酸铵”缩写为“ NH_4GLA ”。

[0108] 本文所用的术语“羟乙酰胺”是氨与乙醇酸反应产生的酰胺, 指具有 CAS 注册号 598-42-5 的化合物的所有其它同义物。

[0109] 本文所用的术语“乙交酯”是指 CAS 注册号 502-97-6 的化合物。

[0110] 本文所用的术语“甲醛”缩写为“FA”, 其与蚁醛、甲基醛、氧甲烷和 CAS 注册号 50-00-0 的所有其它同义物是同义的。商售的甲醛通常包含单体甲醛 (“自由甲醛”) 和各种甲醛与一些甲醇的寡聚物 (通常为大约 1wt% 至大约 15wt%)。

[0111] 本文所用的术语“氰化氢”与氰酸、氢氰酸和 CAS 注册号 200-821-6 的所有其它同义物是同义的。

[0112] 本文所用的术语“戊二醛”缩写为“GA”, 其与戊二醛 (pentanedial)、1,5-戊二醛 (1,5-pentanedial)、1,5-戊二酮 (1,5-pentanedione)、戊二醛 (diglutaric

aldehyde)、戊二醛 (glutaral)、戊二醛 (glutardialdehyde)、戊二酸二醛 (glutaric acid dialdehyde)、戊二醛 (glutaric dialdehyde) 和 CAS 注册号 111-30-8 的所有其它同义物是同义的。

[0113] 本文所用的术语“亚硫酸氢盐”或“亚硫酸氢钠”与亚硫酸钠盐、亚硫酸单钠盐、亚硫酸氢钠 (hydrogen sodium sulfite)、亚硫酸氢钠 (hydrogensulfite sodium)、亚硫酸单钠、酸式亚硫酸钠、亚硫酸氢钠 (sodium bisulfite)、硫酸氢钠 (sodium bisulphate)、亚硫酸氢钠 (sodium hydrogen sulfite)、亚硫酸钠 (sodium sulfite) (NaHSO₃) 和 CAS 注册号 7631-90-5 的所有其它同义物是同义的。

[0114] 本文所用的术语“回收”意思是分离、纯化或转移通过本发明的方法形成的产物。从反应混合物中分离和纯化产物的方法在本领域是熟知的,包括但不限于选择性沉淀、结晶、过滤、反应性溶剂提取、离子交换、电渗析、聚合化、蒸馏、热分解、醇解、柱层析及其组合。在一个实施方式中,术语“回收”还可以包括将产物混合物(通常在过滤掉酶催化剂之后)转移至另一个反应以产生一个或多个另外的产物。在优选的实施方式中,使用离子交换来回收乙醇酸。

[0115] 本文所用的术语“酶催化剂”、“腈水解酶催化剂”或“微生物细胞催化剂”是指这样的催化剂,其特征在于具有将乙醇腈转化为乙醇酸和氨的腈水解酶活性(即包含至少一个具有腈水解酶活性的多肽)。腈水解酶将腈(优选为脂肪族的腈)直接转化为相应的羧酸,不形成相应的作为中间体的酰胺(见反应式 1)。腈水解酶共同具有几个本领域已知的保守性标志结构域,包括在本文中称为“催化标志序列”或“标志序列”的标志结构域。该区域包含必需的半胱氨酸残基(例如 SEQ ID NO:4 的 Cys₁₆₄)。因此,可以通过是否存在催化结构域标志序列(SEQ ID NO:1)而鉴定具有腈水解酶活性的多肽。在优选的实施方式中,标志序列是 SEQ ID NO:2。酶催化剂可以是整个微生物细胞或透化的(permeabilized)微生物细胞的形式。本文所用的“循环使用的酶催化剂”是指在批式或连续反应中作为酶催化剂重新使用的酶催化剂。取决于本文描述的产生或使用酶催化剂的方法的步骤,酶催化剂可以是戊二醛预处理的固定的交联的和脱水或重新水化的。

[0116] 本文所用的术语“敏捷食酸菌 (*Acidovorax facilis*)”和“敏捷食酸菌 (*A. facilis*)”可替换使用,是指保藏于 American Type Culture Collection(一个国际保藏机构)的保藏号为 55746(“ATCC 55746”)的敏捷食酸菌 72W。以前已经报道了源自敏捷食酸菌 72W 的突变的腈水解酶,其特征在于将乙醇腈转化为乙醇酸时具有改进的腈水解酶活性(见同一申请人拥有的美国专利 7,198,927)。这些源自敏捷食酸菌 72W 的突变的腈水解酶的例子由 SEQ IDNO:27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53 和 55 提供。

[0117] 本文所用的术语“大肠杆菌 (*Escherichia coli*)”和“大肠杆菌 (*E. coli*)”可替换使用。本文描述了适合用于重组表达的几个大肠杆菌菌株,包括但不限于,国际保藏号为 ATCC 47076 的大肠杆菌 MG1655、国际保藏号为 ATCC53911 的大肠杆菌 FM5、国际保藏号为 ATCC 27325 的大肠杆菌 W3110、国际保藏号为 ATCC 35695 的大肠杆菌 MC4100、国际保藏号为 ATCC 12435 的大肠杆菌 W1485。在一个实施方式中,合适的大肠杆菌菌株包括大肠杆菌 FM5(ATCC 53911) 和大肠杆菌 MG1655(ATCC 47076)。

[0118] 本文所用的术语“大肠杆菌 SS1001”或“SS1001”是指 ATCC 保藏号为 PTA-1177 的表达敏捷食酸菌 72W 腈水解酶的转化的大肠杆菌菌株(见美国专利 6,870,038,通过引用全

文并入本文)。重组表达的大肠杆菌 SS1001 腓水解酶 (SEQ ID NO :57) 与野生型 72W 腓水解酶序列 (SEQ ID NO :4) 相比具有两个微小序列改变。起始密码子从 GTG 变为 ATG 以促进重组表达,并且在克隆时引入了引起接近 C-末端的单一氨基酸改变 (Pro367[CCA] → Ser[TCA]) 的人造物。

[0119] 本文所用的术语“合适的水性乙醇腓反应混合物”和“合适的水性反应混合物”是指材料 (包括至少一种胺保护剂) 和水,其中乙醇腓和酶催化剂相互接触。本文提供了合适的水性反应混合物的成分,本领域技术人员将认识到适合于本方法的成分变化的范围。

[0120] 本文所用的术语“水性乙醇酸铵溶液”、“包含乙醇酸铵的水溶液”和“乙醇酸铵的水溶液”用于描述包含乙醇酸铵的水溶液,所述乙醇酸铵在通常的酶反应条件下 (即大约 6 至大约 8 的 pH 范围) 通过乙醇腓酶法水解产生。乙醇酸铵的水溶液包含浓度为至少大约 0.1 重量% (wt%) 至大约 99wt% 的乙醇酸铵。在另一个实施方式中,乙醇酸铵的水溶液包含至少大约 10wt% 至大约 75wt% 的乙醇酸铵。在另一个实施方式中,乙醇酸铵的水溶液包含至少大约 20wt% 至大约 50wt% 的乙醇酸铵。乙醇酸铵的水溶液的 pH 可以是大约 2 至大约 12,优选为 5 至大约 10,更优选为 6 至大约 8。可以在启动与从乙醇酸铵的水溶液中回收乙醇酸 (酸或盐的形式) 相关的方法步骤之前根据需要调整 pH。

[0121] 本文所用的术语“催化剂生产力”和“酶催化剂生产力”是指每克酶催化剂干细胞重产生的产物的总量。在本发明中,酶催化剂包含腓水解酶 (EC3. 5. 5. 7),形成的产物是乙醇酸和 / 或乙醇酸铵 (取决于反应的 pH)。一般地,与产生乙醇酸相关的生产过程在基本上中性 pH 的条件下进行,从而产生的乙醇酸主要是相应的乙醇酸盐的形式 (即乙醇酸铵)。一般地,在具有催化剂循环的批式反应中,催化剂活性随着每个循环反应的进行而降低 (酶灭活)。

[0122] 本文所用的术语“单位体积生产力”是指反应中乙醇酸的单位体积产量,其表示为单位时间内每体积的反应混合物所产生的乙醇酸的克数。通常来讲,单位体积生产力表示为乙醇酸克数 /L/h。

[0123] 术语“腓水解酶活性”或“比活性”是指:将乙醇腓转化为乙醇酸 (或相应的乙醇酸铵) 时,每单位质量 (例如毫克) 的蛋白、干细胞重或珠子重量 (固定的催化剂) 的酶活性。腓水解酶活性的比较根据干细胞重或珠子重量成比例地测定。

[0124] 本文所用的术语“一单位的酶活性”或“一单位的腓水解酶活性”或“U”定义为在指定温度 (例如 25℃) 每分钟生产 1 μ mol 的乙醇酸产物所需要的酶活性的数量 (GLA U/g 干细胞重或珠子重量)。

[0125] 本文所用的术语“相对腓水解酶活性”、“改进的腓水解酶活性”和“腓水解酶活性的相对改进”是指以参考 (对照) 腓水解酶活性的倍数 (或分数) 表示的腓水解酶活性。本文描述的腓水解酶相对于原态 (native) 敏捷食酸菌 72W 腓水解酶中观察到的腓水解酶活性显示出显著性改进的腓水解酶活性。相对腓水解酶活性的“显著性改进”是指在相同反应条件下相对于对照的腓水解酶活性至少提高 1.5 倍的腓水解酶活性的改进。在另一个实施方式中,改进是指在相同反应条件下相对于对照的腓水解酶活性至少提高 2 倍的腓水解酶活性。在另一个实施方式中,改进是指在相同反应条件下相对于对照的腓水解酶活性至少提高 4 倍的腓水解酶活性。

[0126] 本文所用的术语“初始反应速率”是在指定的反应条件下乙醇腓转化为乙醇酸的

速率的度量,其中在最初向反应混合物中加入乙醇腈后开始测定反应速率,并且在反应过程中乙醇腈的浓度保持在约 (ca.) 50 毫摩 (mM) 的时间段内测定反应速率。按照单位时间内产生的乙醇酸的浓度变化来测定反应速率 (例如乙醇酸摩尔数 /L/ 分钟或乙醇酸毫摩尔数 / 小时)。

[0127] 本文所用的术语“初始比活性的改进的保留”是指:在指定的反应条件下将乙醇腈转化为乙醇酸的过程中,在脱水和重新水化之后,戊二醛预处理的固定的交联的酶催化剂与未经戊二醛预处理的固定的交联的酶催化剂 (二者均具有腈水解酶活性) 的比较,以每分钟每克酶催化剂的干细胞重所产生的乙醇酸的微摩尔数或每分钟每克固定的交联的酶催化剂所产生的乙醇酸的微摩尔数表示,其中,对于一个或多个后续反应而言,戊二醛预处理的固定的交联的酶催化剂在重新水化之后的第一个或“初始”反应中测定的比活性比未经戊二醛预处理的固定的交联的酶催化剂的保留程度高。本文描述的最显著的改进是紧接初始的批式反应之后的那个反应所保留的活性数量,在具有催化剂循环的一个或多个后续批式反应中测定。本文描述的第二显著的改进是:经过脱水和重新水化的戊二醛预处理的固定的交联的酶催化剂的每克干细胞重产生至少 40g 乙醇酸之后,在连续搅拌槽式反应器 (CSTR) 或固定床活塞流反应器或流化床或半流化床反应器中的反应进行过程中所保留的活性数量。

[0128] 本文所用的术语“重组生物”、“转化的宿主”、“转化子”、“转基因生物”和“转化的微生物宿主”是指经过异源或外源 DNA 转化的宿主生物。本发明的重组生物表达外源编码序列或编码活性腈水解酶的基因。“转化”是指将 DNA 片段转移进入宿主生物。转移的 DNA 片段可以整合入宿主生物的染色体或以非染色体方式进入宿主生物 (即通过载体)。本文所用的术语“转化盒”是指含有一组遗传元件 (其进行方便的排列以插入宿主细胞) 的特异性 DNA 片段,通常是作为质粒的一部分。本文所用的术语“表达盒”是指含有一组遗传元件 (其方便的排列以插入宿主细胞) 的特异性 DNA 片段,通常是作为质粒的一部分,还允许宿主中增强的基因表达。

[0129] 本文所用的术语“核酸片段”和“核酸分子”是指可以编码整个基因的 DNA 分子、编码序列和 / 或编码序列前面 (5', 上游) 或后面 (3', 下游) 的调控序列。在一个方面,本发明的核酸分子编码具有腈水解酶活性的多肽。

[0130] 本文所用的术语“基因”是指表达特定蛋白的核酸分子。如本文所用,基因可以包括或不包括编码序列前面的调控序列 (5' 非编码序列) 和编码序列后面的调控序列 (3' 非编码序列)。“嵌合基因”是指任何不是原态的基因,其包含不一起存在于原态中的调控和编码序列。因此,嵌合基因可以包含来自不同来源的调控序列和编码序列,或来自相同来源但是按照与原态中发现的排列方式不同的方式排列的调控序列和编码序列。“内源基因”是指位于生物基因组的天然位置的原态基因。“外源”基因是指通常不存在于宿主生物中,但是通过基因转移被导入宿主生物中的基因。外源基因可以包含插入非原态生物的原态基因,或嵌合基因。“转基因”是通过转化程序被导入基因组的基因。

[0131] 本文所用的术语“编码序列”是指编码特定氨基酸序列的 DNA 序列。本文所用的“合适的调控序列”是指位于编码序列上游 (5' 非编码序列)、编码序列内,或编码序列下游 (3' 非编码序列) 的核苷酸序列,其影响转录、RNA 的加工或稳定性,或相连的编码序列的翻译。调控序列可以包括启动子、翻译引导序列、内含子、多腺苷化识别序列、RNA 加工位点、

效应子结合位点和茎环结构。

[0132] “启动子”是指能够控制编码序列或功能性 RNA 的表达的 DNA 序列。一般地,编码序列位于启动子序列的 3' 端。启动子可以以完整形式来源于原态基因,或者由源自天然发现的不同启动子的不同元件组成,甚至可以包含合成的 DNA 片段。在多数细胞类型中在多数时候或多数环境条件下引起基因表达的启动子通常被称为“组成型启动子”。仅在特定化合物或环境条件存在时引起基因表达的启动子通常被称为“可诱导启动子”。由于在多数情况下调控序列的精确边界已经被完全确定,所以不同长度的 DNA 片段可以具有相同的启动子活性。

[0133] 本文所用的术语“可操作地连接”是指单个核酸分子上的核酸序列按照一个序列的功能被另一个所影响的方式连接。例如,当启动子能够影响编码序列的表达时(即编码序列在启动子的转录控制之下),启动子与编码序列是可操作地连接。编码序列可以按照正义或反义方向与调控序列可操作地连接。

[0134] 本文所用的术语“3' 非编码序列”是指位于编码序列下游的 DNA 序列,包括多腺苷化识别序列(通常限于真核细胞)和其它编码能够影响 mRNA 加工或基因表达的调控信号的序列。多腺苷化信号(通常限于真核细胞)的特征通常是影响向 mRNA 前体的 3' 末端添加多腺苷酸束。

[0135] 本领域技术人员完全明白在使用核苷酸密码子指定给定的氨基酸时特异的宿主细胞显示出的“密码子偏向性”。因此,当为了在宿主细胞中改进的表达而合成基因时,需要将该基因设计为其密码子的使用反映宿主细胞中优选的密码子偏向性。对于源自宿主细胞的基因的调查(其中序列信息是可以获得的)可以确定其密码子偏向性。密码子的最优化是本领域熟知的,已经描述了对于各种系统中的密码子的最优化,包括但不限于酵母(Outchkourov 等人, *Protein Expr Purif*, 24(1):18-24(2002)) 和大肠杆菌(Feng 等人, *Biochemistry*, 39(50):15399-15409(2000))。

[0136] 具有腈水解酶活性的酶催化剂

[0137] 所有的腈水解酶(EC 3.5.5.7)均具有保守性催化三元组(Glu, Lys 和 Cys)(Chauhan 等人, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61:118-122(2003); Pace, H. and Brenner, C., *Genome Biol.* [online computer file] 2(1):reviews0001.1-0001.9(2001))。所有已知的腈水解酶均在酶活性位点具有亲核的半胱氨酸(Cowan 等人, *Extremophiles*, 2:207-216(1998); Pace, H. and Brenner, C., 见上;和 Chauhan 等人, 见上)并且都对巯基反应剂的灭活敏感(1.0mM 浓度的氯化铜、硝酸银、醋酸汞或氯化铁每个均引起敏捷食酸菌 72W 腈水解酶酶活性的大幅下降)。半胱氨酸残基还能够被不可逆地氧化为亚磺酸,导致酶活性的损失。虽然腈水解酶对各种灭活机制有敏感性,但是固定的敏捷食酸菌 72W 细胞是强壮的(robust),能够在多个循环反应后保留其大部分腈水解酶活性(US 6,870,038; U. S. 7,148,051; U. S. 7,198,927;和 Chauhan 等人, 见上)。也已经显示源自敏捷食酸菌 72W 腈水解酶的腈水解酶催化剂催化 α -羟基腈(即乙醇腈)向 α -羟基羧酸(即乙醇酸)的转化(参见 US 6,383,786; US6,416,980;和 U. S. 7,198,927)。

[0138] 已经报道了敏捷食酸菌 72W 腈水解酶与其它细菌腈水解酶的序列比较(US 6,870,038; Chauhan 等人, 见上)。72W 腈水解酶具有几个保守性标志结构域,包括靠近氨基末端处的 16 个氨基酸的区域(SEQ ID NO:4 的氨基酸残基 40-55)和含有必需的半胱氨

酸残基的 12 个氨基酸的催化区域 (SEQ ID NO :4 的氨基酸残基 160-171)。这个必需的半胱氨酸残基 (SEQ ID NO :4 的 Cys₁₆₄) 以及保守性的谷氨酸 (SEQ ID NO :4 的 Glu₄₈) 和赖氨酸残基 (SEQ ID NO :4 的 Lys₁₃₀) 构成在所有胰水解酶中发现的催化三元组基序 (Pace, H., and Brenner, C., 见上)。

[0139] 每个催化三元组残基周围的区域是高度保守的, 特别是催化性半胱氨酸残基周围的区域。必需的催化性半胱氨酸残基位于被称为“催化标志基序”或“标志基序”的高度保守性区域内。因此, 本方法可用于保护包含式 1 (粗体代表严格保守性氨基酸残基, 斜体残基是显示极小可变性的残基 [即 3 个或更少的氨基酸残基的极小变化], 催化性半胱氨酸残基以下划线标出) 定义的催化标志基序的任意胰水解酶的酶活性:

[0140] 式 1 (SEQ ID NO :1)

[0141] Gly-Xaa₁-Xaa₂-Xaa₃-Cys-Trp-Glu-Xaa₄-Xaa₅-Xaa₆-Xaa₇-Xaa₈

[0142] 其中

[0143] Xaa₁ = Ala 或 Gly ;

[0144] Xaa₂ = Leu, Val 或 Ala ;

[0145] Xaa₃ = Ala, Asn, Ile, Cys, Val 或 Gln ;

[0146] Xaa₄ = His 或 Asn ;

[0147] Xaa₅ = Leu, Tyr, Phe, Ala, Met, Lys, Val, Thr 或 Arg ;

[0148] Xaa₆ = Asn, Gln, Met, Leu 或 Ser ;

[0149] Xaa₇ = Pro 或 Thr ;和

[0150] Xaa₈ = Leu 或 Val。

[0151] 在优选的实施方式中, 式 1 的胰水解酶标志基序是 Xaa₁ = Ala 或 Gly ; Xaa₂ = Leu ; Xaa₃ = Ala, Asn, Ile, Cys, Val 或 Gln ; Xaa₄ = His ; Xaa₅ = Leu, Tyr, Phe, Ala, Met, Lys, Val, Thr 或 Arg ; Xaa₆ = Ser, Gln, Asn 或 Met ; Xaa₇ = Pro ;和 Xaa₈ = Leu ;从而产生由下式代表的催化标志基序:

[0152] Gly-Xaa₁-Leu-Xaa₃-Cys-Trp-Glu-His-Xaa₅-Xaa₆-Pro-Leu (SEQ ID NO :2)。

[0153] 在表 1 中提供了胰水解酶的例子, 包括相应的催化标志基序序列的序列和位置。

[0154] 表 1. 保守性催化性半胱氨酸区域 - 催化标志基序

[0155]

脲水解酶来源	GenBank® 条目编号	氨基酸 SEQ ID NO.	标志基序的序列(氨基酸残基位置)
敏捷食酸菌 72W	ABD98457.1	4	GGLNCWEHFQPL (160-171)
固氮粪产碱菌 JM3	BAA02684.1	5	GALCCWEHLSPL (159-170)
紫红红球菌 J1	Q03217	6	GALNCWEHFQTL (161-172)
紫红红球菌 K22	Q02068	7	GGLNCWEHFQPL (166-177)
诺卡氏菌属 C-14-1	AAX18182.1	8	GGLNCWEHFQPL (154-165)
支气管败血波氏杆菌 RB50	NP_887662.1	9	GAVVCWENYMPL (161-172)
拟南芥	AAB60275.1 AAA19627.1	10	GAAICWENRMPL (175-186)
细长聚球藻 PCC 7942	YP_399857.1	11	GALACWEHYNPL (157-168)
细长聚球藻 PCC 6301	YP_171411.1	12	GALACWEHYNPL (157-168)
集胞藻属 PCC 6803	NP_442646.1	13	GALACWEHYNPL (165-176)
嗜虫假单胞菌 L48	YP_6090481.1	14	GAAVCWENYMPL (161-172)
运动发酵单胞菌	YP_162942.1	15	GAAICWENYMPV (161-172)
芽孢杆菌属 OxB-1	BAA90460.1	16	GGLQCWEHFLPL (158-169)
羧基酮丛毛单胞菌	AAA82085.1	17	GGLQCWEHALPL (159-170)
蓝细菌属 CC9605	YP_381420.1	18	GALACWEHYNPL (156-167)
荧光假单胞菌 Pf-5	YP_260015.1	19	GAVICWENMMPL

[0156]

			(161-172)
鼻疽诺卡菌 IFM 10152	YP_119480.1	20	GALCCWEHLQPL (159-170)
固氮粪产碱菌 1650	AAV06506.1	21	GALCCWEHLSPL (159-170)
丁香假单胞杆菌丁香 致病变种 B728a	AAV35081.1	22	GALCCWEHLQPL (157-168)
慢生根瘤菌属 BTAil	ZP_00859948.1	23	GALCCWEHLQPL (163-174)
紫红红球菌 NCIMB 11216	CAC88237	24	GALNCWEHFQTL (161-172)
紫红红球菌 ATCC 39484™	N/A	25	GALNCWEHFQTL (161-172)

[0157] 在一个实施方式中, 脲水解酶催化剂包含具有脲水解酶活性的多肽, 所述多肽分离自下列属: 食酸菌属、红球菌属、诺卡氏菌属、芽孢杆菌属和产碱杆菌属。在一个实施方式中, 脲水解酶催化剂包含具有脲水解酶活性的多肽, 所述多肽分离自下列属: 食酸菌属和红球菌属。

[0158] 在另一个实施方式中, 具有脲水解酶活性的多肽源自敏捷食酸菌 72W(ATCC 55746) 或者与敏捷食酸菌 72W 脲水解酶 (SEQ ID NO:4) 或源自敏捷食酸菌 72W 的酶 (由 SEQ ID NO:51 代表) 实质上相似的多肽 (具有脲水解酶活性)。

[0159] 在一个实施方式中, 脲水解酶催化剂是经过转化以表达至少一个具有脲水解酶活性的多肽的微生物宿主细胞。在一个实施方式中, 转化的宿主细胞选自丛毛单胞菌属 (*Comamonas* sp.)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium* sp.)、短杆菌属 (*Brevibacterium* sp.)、红球菌属 (*Rhodococcus* sp.)、固氮菌属 (*Azotobacter* sp.)、柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter* sp.)、肠杆菌属 (*Enterobacter* sp.)、梭菌属 (*Clostridium* sp.)、克雷伯菌属 (*Klebsiella* sp.)、沙门氏菌属 (*Salmonella* sp.)、乳杆菌属 (*Lactobacillus* sp.)、曲霉属 (*Aspergillus* sp.)、酵母菌属 (*Saccharomyces* sp.)、耶氏酵母属 (*Yarrowia* sp.)、接合酵母属 (*Zygosaccharomyces* sp.)、毕赤酵母属 (*Pichia* sp.)、克鲁维酵母属 (*Kluyveromyces* sp.)、假丝酵母属 (*Candida* sp.)、汉逊酵母属 (*Hansenula* sp.)、杜氏藻属 (*Dunaliella* sp.)、德巴利酵母属 (*Debaryomyces* sp.)、毛霉属 (*Mucor* sp.)、球拟酵母属 (*Torulopsis* sp.)、甲基杆菌属 (*Methylobacteria* sp.)、芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)、埃希氏菌属 (*Escherichia* sp.)、假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.)、根瘤菌属 (*Rhizobium* sp.) 和链霉菌属 (*Streptomyces* sp.)。在优选的实施方式中, 微生物宿主细胞选自芽孢杆菌属、假单胞菌属和埃希氏菌属。在优选的实施方式中, 催化剂是重组表达一个或多个具有脲水解酶活性的多肽的大肠杆菌宿主细胞。

[0160] 在另一个实施方式中, 脲水解酶催化剂包含具有脲水解酶活性的多肽, 其中所述具有脲水解酶活性的多肽与 SEQ ID NO:51 具有至少 60% 的同一性, 优选与 SEQ ID NO:51 具有至少 70% 的同一性, 更优选与 SEQ ID NO:51 具有至少 80% 的同一性, 再更优选与 SEQ

ID NO :51 具有至少 90% 的同一性, 最优选与 SEQ ID NO :51 具有至少 95% 的同一性。

[0161] 本文描述了源自各种来源的具有腓水解酶活性的几个催化剂的工作实例, 包括源自敏捷食酸菌 72W 腓水解酶的催化剂。本领域已经报道了源自敏捷食酸菌 72W 腓水解酶的各种突变体 (美国专利 7, 148, 051 和美国专利 7, 198, 927)。

[0162] 在一个实施方式中, 具有腓水解酶活性的多肽选自 SEQ ID NO :4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55 和 57。在另一个实施方式中, 具有腓水解酶活性的多肽选自 4、24、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55 和 57。在另一个实施方式中, 具有腓水解酶活性的多肽选自 4、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55 和 57。在另一个实施方式中, 具有腓水解酶活性的多肽选自 4、24、25 和 51。在另一个实施方式中, 腓水解酶催化剂包含 SEQ ID NO :51 的多肽。

[0163] 敏捷食酸菌 72W(ATCC 55746) 腓水解酶

[0164] 敏捷食酸菌 72W 腓水解酶 (EC 3. 5. 5. 1) 是从脂肪族或芳香族的腓产生羧酸的强烈催化剂 (WO 01/75077 ;US 6, 870, 038 ;和 Chauhan 等人, 见上)。还已经显示它催化 α -羟基腓 (即乙醇腓) 向 α -羟基羧酸 (即乙醇酸) 的转化 (参见 US 6, 383, 786 ;和 US 6, 416, 980)。但是, 在将乙醇腓转化成乙醇酸时具有改进的腓水解酶活性和 / 或稳定性 (相对于敏捷食酸菌 72W 腓水解酶) 的腓水解酶催化剂将降低生产乙醇酸的成本。因此, 使用改进的腓水解酶催化剂生产乙醇酸的方法可用于降低生产乙醇酸的成本。但是, 敏捷食酸菌 72W 腓水解酶是用于本方法目的的酶催化剂, 以及上文详细描述所述的改进的腓水解酶。

[0165] 微生物催化剂的工业生产

[0166] 当需要进行本文描述的酶催化剂的商业生产时, 可以使用多种培养方法。可以使用本领域熟知的方法以批式、补料 - 分批或连续模式进行发酵运行 (Thomas D. Brock in Biotechnology :A Textbook of Industrial Microbiology, Second Edition (1989) Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, (1989) ;Deshpande, Mukund V., Appl. Biochem. Biotechnol. 36 (3) :227-234 (1992))。

[0167] 经典的批式培养方法是封闭的系统, 其中在培养开始时设定培养基的成分, 在培养过程中不进行人工改变。因此, 在培养过程开始时将需要的生物接种到培养基并允许其生长或产生代谢活性 (不向系统中加入任何物质)。但是, 通常来讲, “批式” 培养是添加碳源意义上的批, 经常需要尝试控制一些因素例如 pH 和氧气浓度。在批式系统中, 系统的代谢物和生物质成分持续变化, 直至培养结束。在批式培养内, 细胞从静态延迟期缓慢到达高速增长对数期, 最终到达稳定期, 在稳定期生长速率降低或停止。如果不处理的话, 处于稳定期的细胞最终将死亡。在一些系统中, 处于对数期的细胞通常负责大量生产终产物或中间体。在其它系统中可以在稳定期或指数期之后获得生产。

[0168] 补料 - 分批系统是标准批式系统的变体。补料 - 分批培养过程也适合于本发明, 其包含典型的批式系统, 只不过随着培养过程的进行逐渐增加底物的投入。当分解代谢物阻遏倾向于抑制细胞的代谢并且需要限制培养基中底物的数量时, 补料 - 分批系统是有用的。补料 - 分批系统中的实际底物浓度是难以测定的, 因此基于可测因素 (例如 pH、溶解氧和废气 (例如 CO₂) 分压) 的变化来评估。批式和补料 - 分批培养方法是常见的也是本领

域熟知的,可以在 Brock(见上)和 Deshpande(见上)中找到例子。

[0169] 还可以通过连续培养实现具有腓水解酶的本发明的酶催化剂的商业生产。连续培养是开放的系统,其中向生物反应器中连续加入确定的培养基,同时为了处理除掉等量的条件化培养基。连续培养通常将细胞保持在恒定的高液相密度,其中细胞主要处于对数生长期。或者,可以以固定的细胞进行连续培养,其中连续加入碳和营养物并且从细胞物质中连续除掉有用的产物、副产物或废弃产物。可以使用多种固体支持物(由天然和/或合成材料组成)进行细胞的固定。

[0170] 连续或半连续培养允许调节影响细胞生长或最终细胞浓度的一个因子或任意数目的因子。例如,一种方法将限制性营养物(例如碳源或氮水平)保持在固定速率并允许所有其它参数变缓。在其它系统中,可以持续改变一些影响生长的因子但保持细胞浓度(根据培养液浑浊度测定)恒定。连续系统努力保持稳定态生长条件,因此在培养物中必须保持由于培养液排除而造成的细胞损失与细胞生长速率之间的平衡。调节连续培养过程的营养物和生长因子的方法以及使细胞的生成速率最大化的技术在工业微生物领域是熟知的,Brock(见上)中详细描述了多种这样的方法。

[0171] 本发明的发酵培养基必须含有合适的碳底物。合适的底物可以包括但不限于:单糖例如葡萄糖和果糖,二糖例如乳糖或蔗糖,多糖例如淀粉或纤维素或其混合物,以及来自可再生原料(例如干酪乳清渗透物、玉米浸泡液、甜菜糖蜜和大麦麦芽)的未纯化的混合物。因此,考虑到本发明中使用的碳源可以包括很多种含碳底物,这将仅由生物体的选择所限定。

[0172] 在固定之前用戊二醛预处理酶催化剂

[0173] 以戊二醛处理酶催化剂发酵培养物是杀灭培养物中的微生物从而避免污染和与活体重组培养物相关的操作、储存和运输方面的安全问题的简便方法。现在已经发现以戊二醛预处理或者在以戊二醛预处理之后以亚硫酸氢盐处理能够保持悬浮液和固定形式的细胞中的腓水解酶活性。

[0174] 通过以戊二醛预处理酶催化剂而保持腓水解酶活性受到时间、温度、戊二醛浓度、pH 和抑制性产物(例如氨和培养液中与戊二醛相互作用的其它胺(例如氨基酸和肽))浓度的影响。优选的戊二醛预处理方法以水中的 5-10wt% 的戊二醛处理来自高密度发酵的细胞(100-1500D₅₅₀),所述水中的戊二醛优选在充分混合下以 50mg 至 500mg 戊二醛/L-min 输送,更优选在充分混合下以 50mg 至 200mg 戊二醛/L-min 输送,最优选在充分混合下以 50mg 至 100mg 戊二醛/L-min 输送,从而产生大约 3g 至大约 5g 戊二醛/L 的终浓度(大约 0.025g 至大约 0.042g 戊二醛/OD₅₅₀),更优选大约 3.6g 至大约 5g 戊二醛/L 的终浓度(大约 0.030g 至大约 0.042g 戊二醛/OD₅₅₀)。戊二醛预处理的培养物可以保持于发酵器中大约 1 至 5 小时。然后任选地以 1g/L 加入 10wt% 的亚硫酸氢钠水溶液以使残余戊二醛灭活。

[0175] 发酵液或细胞悬浮液中酶催化剂的戊二醛预处理的优选 pH 为 pH5.0 至 9.0,更优选为 pH5.0 至 8.0,再更优选为 pH5.0 至 7.0,再更优选为 pH5.0 至 6.0,最候选为 pH5.0 至 5.5。戊二醛预处理后的残余戊二醛浓度通常较低,处于 10-200ppm 范围内,可以按照如上所述通过加入亚硫酸氢盐至大约 1g/L 的终浓度来将残余戊二醛灭活。发现戊二醛和亚硫酸氢盐预处理对于腓水解酶活性没有显著性有害效应。任选地,将戊二醛或戊二醛/亚硫酸氢盐预处理的细胞悬浮液冷却至 5-10℃,任选地以水或合适的储存缓冲液洗涤(通过浓

缩和重新稀释细胞悬浮液或发酵液进行)以除去残余的亚硫酸氢盐和未反应的戊二醛。

[0176] 戊二醛预处理的酶催化剂的固定和化学交联

[0177] 已经大量报道了固定酶催化剂的方法,这些方法对本领域技术人员是熟知的(*Methods in Biotechnology, Vol.1: Immobilization of Enzymes and Cells*; Gordon F. Bickerstaff, Editor; Humana Press, Totowa, NJ, USA; 1997)。以前也已经报道了敏捷食酸菌 72W 腓水解酶催化剂的固定(US 6,870,038)。

[0178] 此外,还有在角叉菜胶中固定然后以戊二醛/聚乙烯亚胺交联固定的酶催化剂的方法(如在 US 6,870,038 中公开和在 US 6,551,804B 中详细描述的那样,通过引用并入本文),但是,本领域普通技术人员将认识到并能容易地适用改变以完成固定和交联。所述改变考虑在本文之内并且落入本方法的范围。此外,用于固定和化学交联的成分的数量或浓度将根据酶催化剂和酶催化剂的发酵产物的数量和类型改变。本领域普通技术人员将认识到这些因素并相应地调整固定和化学交联程序。关于以戊二醛和聚乙烯亚胺进行化学交联,US 6,551,804(见上)描述了化学交联藻酸盐固定的细胞的方法和程序。所述描述也适用于本文的角叉菜胶固定的细胞。

[0179] 戊二醛/聚乙烯亚胺交联的角叉菜胶固定的微生物酶催化剂的脱水/重新水化

[0180] 如上所述,本申请要解决的与使用微生物腓水解酶催化剂相关的一个特别问题是酶催化剂的储存和运输。具有腓水解酶活性的酶催化剂的储存和运输中要考虑的方面包括与材料的体积相关和与材料的酶活性随时间灭活相关的困难。当固定于角叉菜胶然后以戊二醛和聚乙烯亚胺进行交联时,所产生的的固定的微生物腓水解酶催化剂含有大约 90% 重量的水,催化剂通常储存于 5℃ 的等重量的水性缓冲液中。固定的微生物腓水解酶催化剂中存在的水量的减少以及用于储存催化剂的水性缓冲液的减少将降低使用前需要运输和储存的催化剂和相关缓冲液的体积,进一步显著改进乙醇酸生产的经济因素。

[0181] 可以通过本领域技术人员已知的任何方法实现戊二醛/聚乙烯亚胺交联的固定的酶催化剂的脱水,这些方法包括但不限于,在空气中脱水、在惰性气体流中脱水、在含有或不含惰性气体(例如氮气或氩气)吹扫的真空箱中脱水,或冻干(冷冻-干燥)。脱水的温度优选为大约 5℃ 至大约 60℃,更优选为大约 15℃ 至大约 50℃,最优选为大约 20℃ 至大约 40℃。所产生的脱水的珠子重量可以比其初始湿重减少大约 91% (开始时的珠子含有大约 5% 干细胞重的含有微生物腓水解酶的细胞)。脱水的固定的细胞催化剂可以储存于空气或惰性气体中,储存温度优选为 -25℃ 至 35℃,优选为 5℃ 至 25℃。可以通过将脱水的珠子置于水中或合适的水性缓冲液(例如 pH 为 7.3 的 0.10M 的乙醇酸铵溶液)中而将脱水的固定的细胞催化剂重新水化。重新水化的温度优选为大约 5℃ 至大约 35℃。所产生的重新水化的珠子可直接用于从乙醇腓生产乙醇酸的反应,或在大约 5℃ 至大约 35℃ 将其储存于重新水化液体中直至使用。

[0182] 使用腓水解酶催化剂将乙醇腓水解为乙醇酸

[0183] 乙醇腓向乙醇酸(酸和/或相应的铵盐的形式)的酶法转化可以这样进行:在如下所述的合适的反应条件下(即在一定的 pH 范围、温度、浓度等等的水性反应混合物中)与具有腓水解酶活性的酶催化剂、固定的酶催化剂或交联的固定的酶催化剂接触。在一个实施方式中,将整个重组微生物细胞以戊二醛预处理、在角叉菜胶中固定、交联、脱水,将重新水化之后产生的酶催化剂直接用于乙醇腓向乙醇酸的转化,或者,可以使用中空纤维膜

卷或超滤膜从大宗 (bulk) 反应混合物中单独保留非固定的细胞。在第二个实施方式中,将整个重组微生物细胞固定于聚丙烯酰胺凝胶中,所产生的酶催化 剂直接用于乙醇腈向乙醇酸的转化。

[0184] 水性反应混合物中的酶催化剂的浓度取决于酶催化剂的比活性并根据想要获得的反应速率来进行选择。水解反应中用作催化剂的微生物细胞的湿细胞重通常介于每毫升总反应体积中有 0.001 克至 0.250 克的湿细胞,优选为每毫升 0.002 克至 0.050 克的湿细胞。指明的每体积的总反应体积中的湿细胞重量百分比可以以固定的酶催化剂(按照如上所述制备(见上文))的形式存在于反应混合物中,其中从制备固定的酶催化剂的方法中可以得知作为固定的酶催化剂总重量百分率的湿细胞的重量。

[0185] 将乙醇腈水解反应的温度选定为既控制反应速率又控制酶催化剂活性的稳定性。反应的温度可以是:稍微高于反应混合物的凝固点(大约 0°C)至大约 65°C,优选的反应温度范围是大约 5°C 至大约 35°C。可以通过将脱水的固定的细胞悬浮于蒸馏水或缓冲剂的水溶液(其将会把反应的初始 pH 保持在大约 5.0 至大约 10.0,优选大约 5.5 至大约 8.0,更优选大约 5.5 至大约 7.7,最优选大约 6.0 至大约 7.7)中而制备酶催化剂悬浮液。随着反应的进行,反应混合物的 pH 将变化,这是由于从相应的腈官能团形成了羧酸的铵盐。可以将反应进行到完全实现乙醇腈的转化而不控制 pH,或者可以随着反应的进程加入合适的酸或碱以保持想要的 pH。

[0186] 发现乙醇腈在 25°C 时以任意比例与水完全混溶。在反应条件被选定为底物(即 α -羟基腈)的溶解性也依赖于溶液的温度和/或水相中盐的浓度(缓冲剂或产物乙醇酸铵盐,也称为乙醇酸铵)的情况下,初始的反应混合物可以由两相组成:含有酶催化剂和溶解的 α -羟基腈的水相,和有机相(未溶解的 α -羟基腈)。随着反应的进行, α -羟基腈溶解到水相中,最终获得单一相的产物混合物。反应还可以这样进行:以大约等于酶法水解反应速率的速率向反应混合物中加入 α -羟基腈,从而保持单一相的水性反应混合物,并避免在高浓度的起始材料时酶的底物抑制的潜在问题。

[0187] 乙醇酸可以作为质子化羧酸和/或其相应铵盐(取决于产物混合物的 pH;乙醇酸的 pKa 是大约 3.83)的混合物存在于产物混合物中,另外可以作为羧酸与产物混合物中可能另外存在的任何缓冲剂的盐而存在。通常,产生的乙醇酸主要是铵盐的形式(乙醇腈水解反应的 pH 通常为大约 5.5 至大约 7.7)。根据需要,可以以质子化羧酸或羧酸盐的形式将乙醇酸产物从反应混合物中分离出来。

[0188] 乙醇腈完全转化时产物混合物中乙醇酸的终浓度为 0.001M 至乙醇酸产物的溶解度上限。在一个实施方式中,乙醇酸的浓度为大约 0.10M 至大约 5.0M。在另一个实施方式中,乙醇酸的浓度为大约 0.2M 至大约 3.0M。

[0189] 可以使用多种技术(包括但不限于,离子交换、电渗析、反应性溶剂提取、聚合化、热分解、醇解,及其组合)以酸或对应的盐的形式回收乙醇酸。

[0190]

乙醇酸和乙醇腈的分析

[0191] 另外,当以范围、优选的范围或优选值的上限和优选值的下限给出数量、浓度或其它数值或参数的时候,应理解为具体公开了任意一对任意范围上限或优选值与任意范围下限或优选值之间形成的所有的范围,不论是否单独公开了这样的范围。除非另有指明,否则

当本文中提到达值的范围时,该范围旨在包括其端点值和该范围内的所有整数和分数。当定义一个范围时,其目的不是将本发明的范围限定为具体的数值。

[0192] 一般性方法

[0193] 提供了以下实施例以证明本发明的优选实施方式。本领域技术人员应该认识到,以下实施例中公开的技术代表本发明人发现的在实施本发明时很好地发挥作用的技术,因此其被认为构成本发明实施的优选模式。但是,根据本公开,本领域技术人员应认识到可以不脱离本发明的精神和范围对所公开的特异性实施方式作出很多修改并仍然获得相同或相似的结果。

[0194] 适合用于维持细菌培养物和细菌培养物生长的材料和方法在本领域是熟知的。可以在以下文献中找到适合用于以下实施例的技术:Manual of Methods for General Bacteriology (1994) (Phillipp Gerhardt, R. G. E. Murray, Ralph N. Costilow, Eugene W. Nester, Willis A. Wood, Noel R. Krieg and G. Briggs Phillips, eds.), American Society for Microbiology, Washington, DC.) 或 Thomas D. Brock, in Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology, (1989) Second Edition, (Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA). Methods to immobilize enzymatic catalysts can be found in Bickerstaff, G. F., 见上)。

[0195] 制备基因组 DNA、PCR 扩增、通过内切和外切核酸酶修饰 DNA 以产生想要的 DNA 克隆的末端、连接和细菌转化所需的程序在本领域中是熟知的。本文所用的标准重组 DNA 和分子克隆技术在本领域中是熟知的,见以下描述:Maniatis, 上文;和 T. J. Silhavy, M. L. Bannan, and L. W. Enquist, Experiments with Gene Fusions, (1984) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring, NY; and by Ausubel, F. M. 等人, Current Protocols in Molecular Biology, (1994-1998) John Wiley & Sons, Inc., New York.

[0196] 除非另有指明,否则所有的反应试剂和材料均购自 Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI), DIFCO Laboratories (Detroit, MI), GIBCO/BRL (Gaithersburg, MD) 或 Sigma/Aldrich Chemical Company (St. Louis, MO)。

[0197] 说明书中对应于测定单位、技术、性质或化合物的缩写如下:“sec”意思是秒,“min”意思是分钟,“h”或“hr”意思是小时,“d”意思是以 g/mL 表示的密度,“ μ L”意思是微升,“mL”意思是毫升,“L”意思是升,“mM”意思是毫摩尔,“M”意思是摩尔,“mmol”意思是毫摩,“wt”意思是重量,“wt%”意思是重量百分率,“g”意思是克,“ μ g”意思是微克,“HPLC”意思是高效液相色谱,“O. D.”意思是在指定波长时的光密度,“dcw”意思是干细胞重,“U”意思是脲水解酶活性单位,“EDTA”意思是乙二胺四乙酸,“DTT”意思是二硫苏糖醇。一单位的脲水解酶活性对应于每分钟水解 1 μ mol 的乙醇脲。

[0198] 分析方法

[0199] HPLC 分析

[0200] 除非另有指明,否则使用以下的 HPLC 方法。通过以下 HPLC 方法分析反应的产物混合物。向 1.50mL 水中加入反应混合物的等份 (0.01mL) 并通过 HPLC 分析 (HPX 87H 柱, 30cmx7.8mm; 0.01N H₂SO₄ 移动相; 50°C, 流速 1.0mL/min; 10 μ L 注射体积; RI 检测器, 20 分钟分析时间)。使用从 Aldrich 购买的商售乙醇脲的系列稀释将方法进行针对乙醇脲的校准。

[0201] 定量 ^{13}C NMR 分析

[0202] 使用 Varian Unity Inova 分光计 (Varian, Inc., Palo Alto, CA) 在 400MHz 获得定量 ^{13}C NMR 光谱。样品制备: 在 10mm 的 NMR 管中加入 3.0mL 反应产物和 0.5mL D_2O 。通常使用 26KHz 的谱宽 (发射器位于 100ppm, 128K 点) 和 90 度脉冲 (发射能量为 56db 时 $\text{pw90} = 10.7$ 微秒) 获得 ^{13}C NMR 光谱。最长的 ^{13}C T1 (23sec) 与 GLN 腈碳相关, 总循环时间设定为比该数值大 10 倍 (循环延迟 $\text{d1} = 240\text{sec}$, 获取时间 $\text{at} = 2.52\text{sec}$)。信号平均为 360 个扫描时给出 26.3 小时的总实验时间。仅在获取时间 (at) 过程中对 Waltz- 调节的 1H 去耦设门, 从而抑制 Nuclear Overhauser Enhancement (NOE)。

[0203] 实施例 1 大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V 的发酵

[0204] 在接种到发酵器之前, 大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V 的种子培养物在 30℃ 摇动的 (300rpm) 500mL LB 培养基 (每毫升补充 0.1mg 氨比西林) 中生长 6-10h ($\text{OD}_{550} = 1-2$)。大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V 腈水解酶菌株生长于 14-L Braun Biostat C 发酵器 (B. Braun Biotech International GmbH, Melsungen, Germany) 中, 使用最简培养基 (其中含有葡萄糖、氨和盐以及用于诱导的乳糖)。在表 2 中描述了灭菌前发酵培养基 (7.5L)。灭菌后的添加物包括过滤灭菌的痕量元素 (表 3)、每毫升 0.1mg 氨比西林、每升 2g 酪蛋白氨基酸 (Difco)、每升 4g 葡萄糖和 500mL 种子培养物。

[0205] 表 4 描述了发酵设定点。 NH_4OH (40% w/v) 和 H_3PO_4 (20% w/v) 用于控制 pH。将溶解氧浓度控制在空气饱和的 25%, 随着氧气需求的增加首先提高搅拌设定, 然后通气。在表 5 中给出了乳糖诱导所用的发酵补料程序。如果葡萄糖累积超过 5g/L, 则降低葡萄糖补料速率。40-56 小时后, 将发酵液冷却至 5-10℃, 通过离心收集细胞。将细胞糊冷冻并储存于 -70℃。将细胞糊命名为 NIT 60 (1910 GLN U/g dcw)。

[0206] 表 2. 灭菌前的发酵培养基

[0207]

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	5.0g/L
K_2HPO_4	4.0g/L
KH_2PO_4	3.5g/L
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.6g/L
柠檬酸三钠 ($\text{Na}_3\text{Citrate}$) $\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.0g/L
NZ Amine AS (Quest)	2.5g/L
消泡剂 (Antifoam) - Biospumex 153K	0.25ml/L

[0208] 表 3. 发酵痕量元素

[0209]

	浓度
柠檬酸	10g/L
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.5g/L
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5g/L
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.39g/L
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.38g/L
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.2g/L
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.3g/L

[0210] 表 4. 发酵设定点

[0211]

	初始设定值	最小值	最大值
搅拌器 (rpm)	400	400	1000
气流 (slpm)	2	2	10
pH	6.8	6.8	6.8
压力 (kPa)	0.5	0.5	0.5
DO	25%	25%	25%
温度℃	30	30	30

[0212] 表 5. 乳糖诱导所用的发酵补料程序

[0213]

EFT(h)	补料速率 (g/min)	底物
0	0	葡萄糖 (批式的)
5	0.27	葡萄糖 (50% w/w)
14	1.3	乳糖 (25% w/w)

[0214] 实施例 2 大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V 在 GA/PEI 交联的角叉菜胶珠子中的固定

[0215] 在 50℃, 边迅速搅拌边向 228g 去离子蒸馏水中缓慢加入 12g 角叉菜胶 (FMC GP911), 将得到的混合物加热至 80℃ 直至角叉菜胶完全溶解, 将得到的溶液搅拌冷却至 52℃。在单独的具有搅拌子的烧杯中, 在约 25℃, 向 84.8g 0.35M Na₂HPO₄ (pH 7.3) 中加入 83.2g 冷冻的大肠杆菌 MG1655/pNM18-168V 细胞 (25.2% dcw) 并混合直至细胞悬浮, 然后加入脱氧核糖核酸酶 I 溶液 (10 μL 12,500U/mL DNase (Sigma)/100mL 细胞悬浮液)。将细胞悬浮液连续通过 230 微米和 140 微米 Nupro TF strainer elementfilter 过滤, 并搅拌加热至 50℃。在搅拌的同时, 将 50℃ 的 160.0g 大肠杆菌 MG1655/pNM18-168V 细胞悬浮液加入到 52℃ 的角叉菜胶溶液中, 在 47℃ 将得到的细胞 / 角叉菜胶悬浮液抽入电加热的 20G 的针头, 在约 37-38℃ 在搅拌的同时滴入 0.25M KHCO₃ (pH = 7.3); 通过针头的流速设定为 5-8mL/min。使得到的珠子在相同的缓冲液中于室温在搅拌的同时硬化 1 小时, 将其储存于 0.25M 碳酸氢钾 (pH 7.3)。

[0216] 固定的细胞 / 角叉菜胶珠子的化学交联这样进行: 将水中的 0.5g 25% 的戊二醛 (GA) (Sigma M752-07) 加入到悬浮于 48mL 0.25M 碳酸氢钾 (pH 7.3) 中的 20g 珠子中, 并在室温搅拌 1 个小时。然后向珠子悬浮液中加入水中的 2.0g 12.5wt% 的聚乙烯亚胺 (PEI, BASF LUPASOL PS), 在室温将珠子悬浮液再搅拌 18 个小时。从悬浮液中回收 GA/PEI 交联的珠子, 在 48mL 0.25M 碳酸氢钾 (pH 7.3) 中搅拌两次 (15 分钟); 然后储存于 5℃ 1.0M 碳酸氢铵 (pH 7.3) 中。在用作乙醇胺转化为乙醇酸 (作为铵盐) 的催化剂之前, 在室温以 180mL 0.1M 乙醇酸铵 (pH 7.3) 将珠子洗涤两次 (15 分钟) 以除去 1.0M 碳酸氢铵 (pH 7.3) 储存缓冲液。得到的固定的细胞催化剂被称为固定的 NIT 60。

[0217] 实施例 3 戊二醛 / 聚乙烯亚胺交联的角叉菜胶固定的大肠杆菌 MG1655/pSW138-F168V 转化子的脱水 / 重新水化

[0218] 在 35℃ 在具有氮气吹扫的真空箱 (176mm Hg) 中将如实施例 2 所述制备的戊二醛 / 聚乙烯亚胺交联的角叉菜胶固定的大肠杆菌 MG1655/pSW138-F168V 转化子珠子脱水 24 小时。脱水后珠子重量与最初 (未脱水) 珠子重量的比是 0.0914。然后在 5℃ 或 25℃ 将脱水后的珠子置于 20 倍的 (按重量) 0.10M 乙醇酸铵溶液 (pH 7.3) 中, 从而将脱水的珠子重新水化。以 9 倍的 (按重量) 0.10M 乙醇酸铵溶液 (pH 7.3) 将得到的重新水化的珠子洗涤两次, 然后称重; 对于在 5℃ 进行重新水化的珠子来说, 重新水化的珠子重量与最初 (未脱水) 珠子重量的比是 0.210; 对于在 25℃ 进行重新水化的珠子来说, 重新水化的珠子重量与

最初珠子重量的比是 0.212。

[0219] 实施例 4 戊二醛 / 聚乙烯亚胺交联的角叉菜胶固定的大肠杆菌 MG1655/pSW138-F168V 转化子在脱水 / 重新水化之前和之后的比活性

[0220] 在温度控制的水浴中在 25℃ 进行乙醇腈向乙醇酸转化的批式反应。第一个反应器（带有磁性搅拌子）中加入 8.0g GA/PEI 交联的大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V/ 角叉菜胶珠子（0.40g 干细胞重，如实施例 2 所述制备，不进行脱水 / 重新水化），6.0mL 的水性乙醇酸铵（4.0M, pH 7.0）和 21.7mL 的去离子蒸馏水。第二个反应器（带有磁性搅拌子）中加入 1.71g 重新水化的 GA/PEI 交联的大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V/ 角叉菜胶珠子（0.41g 干细胞重，如实施例 3 所述制备，在 35℃ 进行脱水，在 5℃ 进行重新水化），6.0mL 的水性乙醇酸铵（4.0M, pH 7.0）和 28.0mL 的去离子蒸馏水。第三个反应器（带有磁性搅拌子）中加入 1.70g 重新水化的 GA/PEI 交联的大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V/ 角叉菜胶珠子（0.40g 干细胞重，如实施例 2 所述制备，在 35℃ 进行脱水，在 25℃ 进行重新水化），6.0mL 的水性乙醇酸铵（4.0M, pH 7.0）和 28.0mL 的去离子蒸馏水。然后向每个反应器中同时边搅拌边加入水中的 3.50mL（3.75g）的 60.8wt% 乙醇腈（GLN）（40.0mmol GLN, 0.320mmol 甲醛；以 0.7wt% 乙醇酸稳定），并加入 0.80mL 的水性氢氧化铵（1.875wt% NH_3 ）（最终 pH 为 7.5）。在加入 GLN 之后预先确定的时间取出反应样品（0.100mL）并与 0.100mL 的水，0.010mL 的 6.0N HCl 和水中的 0.200mL 的 0.25M 正丙醇（HPLC 外部标准）混合，将混合物离心，通过 HPLC 分析得到的上清液以确定初始反应速率和催化剂的比活性（U/g dcw）（表 6）。

[0221] 表 6. 戊二醛 / 聚乙烯亚胺交联的角叉菜胶固定的大肠杆菌 MG1655/pSW138-F168V 转化子在脱水 / 重新水化之前和之后的比活性

[0222]

固定的细胞生物催化剂	脱水温度 (°C)	重新水化的温度 (°C)	比活性 (U/g dcw)	重新水化后的活性 (%)
不进行脱水	无	无	1787	
脱水 / 重新水化	35	5	1049	59
脱水 / 重新水化	35	25	1032	58

[0223] 实施例 5 固定之前以戊二醛预处理大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V

[0224] 进行 200-L 的发酵以产生含有大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V 细胞的发酵液，然后在固定之前在原位以戊二醛预处理细胞。首先制备预种子培养物：在 2-L 的摇瓶中加入 0.5L 种子培养基（含有酵母提取物（Ambrex 695, 5.0g/L）， K_2HPO_4 （10.0g/L）， KH_2PO_4 （7.0g/L），二水合柠檬酸钠（1.0g/L）， $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ （4.0g/L）， $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ （1.0g/L）和柠檬酸铁铵（0.10g/L））。将培养基的 pH 调整为 6.8，将培养基在瓶中灭菌。灭菌后添加物包括葡萄糖（10mL, 50wt%）和 1mL 氨比西林（25mg/mL）。将 20% 甘油中的 1-mL 冷冻的大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V 贮存培养物接种到预种子培养基，并在 35℃ 和 300rpm 培养。在约 20D_{550} 将种子培养物转移到 14L 的种子发酵器（Braun）（其中含有 8L 的培养基，培养基中含有 KH_2PO_4 （3.50g/L）， $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ （0.05g/L）， $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ （2.0g/L），二水合柠檬酸钠（1.90g/L），酵母提取物（Ambrex 695, 5.0g/L），Biospumex153K 除泡剂（0.25mL/L, CognisCorporation），NaCl（1.0g/L）， $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ （10g/L）和 NIT 微量元素溶液（10mL/L））。微量元素溶液含有一水合柠檬酸（10g/L），水合 MnSO_4 （2g/L），NaCl（2g/L）， $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ （0.5g/L）， $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ （0.2g/L）， $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ （0.02g/L）和 $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ （0.02g/L）。灭菌后添加物包括 120g 葡萄糖溶液（50% w/w）和氨比西林 16mL 贮存液（25mg/mL）。

[0225] 将溶解氧 (dO) 的浓度控制在空气饱和的 25%。首先通过叶轮搅拌速率 (400 至 1400rpm) 然后通过通气速率 (2 至 10slpm) 控制 dO。将 pH 控制在 6.8。NH₄OH(29% w/w) 和 H₂SO₄(20% w/v) 用于控制 pH。将温度控制在 35℃, 头压力为 0.5bars。在 ca 60D₅₅₀ 时将培养物转移到 200L 的 Biostat-D Braun 发酵器。所用的培养基与种子发酵器中的相同, 初始工作体积为 140L, 加入 50% w/w 葡萄糖至 8g/L。首先以批式操作启动发酵, 一旦葡萄糖消耗至 < 0.5g/L, 则以 50% w/w 葡萄糖按照预先确定的速率 (表 6) 启动补料分批操作。在 ca 250D₅₅₀ 时, 将补料转换为按照预先确定的速率的 25% D- 乳糖溶液 (表 7)。

[0226] 将温度控制在 35.0℃, 头压力控制在 0.5bar, 第一阶段 (葡萄糖阶段) 的 pH 控制在 6.8, 第二阶段 (乳糖阶段) 的 pH 控制在 7.2。NH₄OH(29% w/w) 和 H₂SO₄(20% w/v) 用于控制 pH, 第一阶段的 dO 控制在空气饱和的 25%, 第二阶段的 dO 控制在 10%。首先通过搅拌 (250 至 450rpm) 然后通过通气 (25 至 35slpm) 控制 dO。在补料操作过程中监视葡萄糖和乳糖水平, 如果葡萄糖水平超过 0.1g/L 或者乳糖超过 1g/L, 则临时停止补料程序或降低补料。操作在启动乳糖补料 40 小时之后结束, 通过离心或微过滤收集细胞或者保持在容器中进行戊二醛处理。产生的发酵大约为 8kg 干细胞重, 具有 2819BZN U/g dcw(1788 GLN U/g dcw) 的腈水解酶比活性。

[0227] 表 7: 补料程序

[0228]

补料时间 间隔 (h)	补料速率 g/min	底物	阶段
0	6.13	50% w/w 葡萄糖	第一个
1	7.13	50% w/w 葡萄糖	第一个
2	8.28	50% w/w 葡萄糖	第一个
3	9.62	50% w/w 葡萄糖	第一个
4	11.18	50% w/w 葡萄糖	第一个
5	11.18	50% w/w 葡萄糖	第一个
6	11.18	50% w/w 葡萄糖	第一个
7	11.18	50% w/w 葡萄糖	第一个
8	11.18	50% w/w 葡萄糖	第一个
0	11.22	25% w/w 乳糖	第二个
2	24.42	25% w/w 乳糖	第二个
20	16.72	25% w/w 乳糖	第二个
30	18.7	25% w/w 乳糖	第二个
40	18.7	25% w/w 乳糖	第二个

[0229] 在发酵末尾, 搅拌减慢至 150rpm, 停止通气, 将温度保持在 35℃。取出部分发酵液, 在发酵器中留下约 180kg。将该遗留的液体滴定至 pH 5.2 并以 20% H₂SO₄(20% w/w) 和 NaOH(50% w/w) 保持在该 pH, 同时边搅拌边以 ~ 90mL/min 的速度加入 9.0L 的水性戊二醛 (GA, 10% w/w); 这个添加速率等于 50mg 戊二醛 / 升发酵液 / min, 戊二醛的终浓度为约 5g 戊二醛 / L (0.035g 戊二醛 / OD₅₅₀)。初始向液体中加入戊二醛 5 个小时后, 将 pH 调整为 7.0, 边搅拌边加入 1.8L 的水性亚硫酸氢钠 (10% w/w, pH 7) (终浓度为约 1g 亚硫酸氢钠 / L), 将液体再搅拌 15 分钟。然后将液体的温度降低至 10℃, 搅拌降低至 100rpm。使用 Diskstack 离心机 (Alfa Laval) 将液体浓缩至 40kg 的细胞悬浮液, 然后向悬浮液中加入 50kg DI 水 (20℃), 通过离心将混合物浓缩以产生 40kg 洗涤的细胞悬浮液。将悬浮液 (称为 NIT188A-C2) 储存于 5℃, 将一部分细胞悬浮液直接用于制备固定的细胞催化剂 (实施例

6)。每个加工步骤中的脲水解酶比活性总结于表 8。

[0230] 表 8 :GA 和亚硫酸氢盐处理过程中的不同阶段的脲水解酶活性

[0231]

发酵阶段			BZN U/g dcw		
GA 处理前	GA 处理后	NaHSO ₃ 处理后	2819	3300	2493

[0232] 实施例 6 戊二醛预处理的大肠杆菌 MG1655/pNM18-168V 在 GA/PEI 交联的角叉菜胶珠子中的固定

[0233] 在 5℃ 将从戊二醛和亚硫酸氢钠处理的实施例 5 的发酵液中回收的最终细胞悬浮液浓缩物离心。将产生的细胞沉淀重悬于 5 倍重量的 0.35M 磷酸钾缓冲液 (pH 7.2) 中,将得到的细胞悬浮液在 5℃ 离心,从而产生如实施例 2 所述的固定的和 GA 与 PEI 化学交联的湿细胞糊。产生的固定的细胞催化剂被称为固定的 NIT 188A-C2。

[0234] 实施例 7 使用戊二醛预处理的大肠杆菌 MG1655/pNM18-168V 大肠杆菌 MG1655/pSW138-F168V 转化子制备的戊二醛 / 聚乙烯亚胺交联的角叉菜胶固定的生物催化剂的脱水 / 重新水化

[0235] 在 35℃ 在具有氮气吹扫的真空箱 (176mm Hg) 中将如实施例 6 中所述制备的戊二醛 / 聚乙烯亚胺交联的角叉菜胶固定的大肠杆菌 MG1655/pSW138-F168V 转化子珠子脱水 20 个小时,称重,按上述方式再脱水 4 个小时 (总共 24 小时)。脱水后珠子重量与初始 (未脱水) 珠子重量的比是 0.217。然后在 5℃ 将珠子置于 20 倍的 (按重量) 0.10M 乙醇酸铵溶液 (pH 7.3) 中 72 个小时,从而将脱水的珠子重新水化。以 9 倍的 (按重量) 0.10M 乙醇酸铵溶液 (pH 7.3) 将得到的重新水化的珠子洗涤两次,然后称重;对于在 5℃ 进行重新水化的珠子来说,重新水化的珠子重量与初始 (未脱水) 珠子重量的比是 0.578。产生的生物催化剂被称为固定的 NIT 188A-C2-D。

[0236] 实施例 8 使用戊二醛预处理的大肠杆菌 MG1655/pNM18-168V 大肠杆菌 MG1655/pSW138-F168V 转化子制备的戊二醛 / 聚乙烯亚胺交联的角叉菜胶固定的大肠杆菌 MG1655/pSW138-F168V 生物催化剂在固定的生物催化剂脱水 / 重新水化之前和之后的比活性

[0237] 在典型的程序中,在 50mL 的夹套反应器 (具有顶部搅拌装置,温度控制在 25℃) 中进行乙醇脲向乙醇酸转化的批式反应 (每组一式两份)。在第一组双份反应中,每个反应器加入 4g GA/PEI 交联的大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V/ 角叉菜胶珠子 (0.20g 干细胞重;固定的 NIT188A-C2,如实施例 6 所述制备 (固定之前用 GA 预处理细胞)), 3.0mL 的水性乙醇酸铵 (4.0M, pH 7.0) 和 7.75mL 的去离子蒸馏水。在第二组双份反应中,每个反应器中加入 2.55g GA/PEI 交联的大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V/ 角叉菜胶珠子 (0.20g 干细胞重;固定的 NIT188A-C2-D,如实施例 7 所述制备 (固定之前用 GA 预处理细胞,然后脱水 / 重新水化)), 3.0mL 的水性乙醇酸铵 (4.0M, pH 7.0) 和 9.10mL 的去离子蒸馏水。

[0238] 以氮气冲洗每个反应器,在 25℃ 搅拌混合物,同时使用程序化注射器泵同时加入水中的 0.520mL 62wt% 乙醇脲 (GLN) (6.0mmol GLN, 0.006mmol 甲醛;以 0.7wt% 乙醇酸稳定) 和 0.150mL 的水性氢氧化铵 (0.9375wt% NH₃);同时每 2 个小时加入 1 份等体积的 GLN 和氢氧化铵溶液 (总共同加入 8 次 GLN 溶液和水性氢氧化铵) 以保持 GLN 的浓度 ≤ 400mM 并且 pH 在 7.0-7.5 的范围内。在最初加入 GLN 之后预先确定的时间取出反应样品 (0.050mL) 并加至 0.010mL 的 6.0N HCl 和水中的 0.200mL 的 0.25M 异丙醇 (HPLC 外部

标准)中,将得到的混合物离心,通过 HPLC 分析上清液以确定初始反应速率和催化剂的比活性(μmol 乙醇酸/min/g dcw 生物催化剂)。在反应完成时,100%的 GLN 被转化以产生乙醇酸(作为铵盐的形式),产率>99%。表 9 列出了生物催化剂的初始比活性。

[0239] 在第一个反应的末尾,从每个反应器中的催化剂中轻轻倒出(在氮气下)水性产物混合物,留下固定的细胞催化剂和残余产物溶液的混合物。然后向反应器中加入足够的去离子蒸馏水,从而在加入 GLN 和氢氧化铵溶液之前使第一个反应中的初始反应体积恢复(约 15.3mL 的初始反应体积),通过加入水性 GLN 和氢氧化铵的等份(如紧接的上一段所述)在 25℃进行第二个反应。在表 10 中列出了具有催化剂循环的连续批式反应中回收的生物催化剂的比活性。

[0240] 表 9 使用戊二醛预处理的大肠杆菌 MG1655/pNM18-168V 大肠杆菌 MG1655/pSW138-F168V 转化子制备的戊二醛/聚乙烯亚胺交联的角叉菜胶固定的大肠杆菌 MG1655/pSW138-F168V 生物催化剂的比活性

[0241]

固定的细胞生物催化剂	脱水温度 (°C)	重新水化的温度 (°C)	比活性 (U/g dcw)	重新水化后的活性 (%)
NIT 188A-C2	无	无	1826	
NIT 188A-C2	无	无	1857	
NIT 188A-C2-D	35	5	1660	90
NIT 188A-C2-D	35	5	1584	86

[0242] 表 10. 使用由戊二醛预处理的细胞制备的戊二醛/PEI 交联的角叉菜胶固定的微生物生物催化剂的具有生物催化剂循环的连续批式反应中回收的生物催化剂的比活性

[0243]

		连续批式反应中生物催化剂的比活性 (GLN U/g dcw)				rxn1 至 rxn4 比活性的下降 (%)
固定的细胞生物催化剂	脱水/重新水化的固定的细胞	反应 1	反应 2	反应 3	反应 4	
NIT 188C2	不是	1826	1518	1596	1759	4
NIT 188C2	不是	1857	1656	1581	1947	0
NIT 188C2-D	是	1660	1369	1472	1674	0
NIT 188C2-D	是	1584	1392	1485	1417	10

[0244] 实施例 9 使用戊二醛预处理的大肠杆菌 MG1655/pNM18-168V 转化子制备的戊二醛/聚乙烯亚胺交联的角叉菜胶固定的生物催化剂在固定的生物催化剂脱水/重新水化之前和之后的储存稳定性

[0245] 将新鲜制备的 GA/PEI 交联的大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V/角叉菜胶珠子(固定的 NIT 188A-C2,按照实施例 6 的描述制备(在固定之前用 GA 预处理细胞))在 5℃储存在 1.0M 碳酸氢铵 (pH 7.3) 中 28 天。将脱水的 GA/PEI 交联的大肠杆菌 MG1655/pSW138-168V/角叉菜胶珠子(固定的 NIT 188A-C2,按照实施例 7 的描述脱水)在 5℃储存在干燥氮气中 28 天,然后按照实施例 7 的描述重新水化。使用之前在室温以 180mL 的 0.1M

乙醇酸铵 (pH 7.0) 将生物催化剂洗涤两次 (15 分钟), 然后在按照实施例 8 中描述的程序使用生物催化剂循环进行的连续批式反应 (每组一式两份) 中进行评估。在表 11 中显示了 4 个连续批式反应中每个生物催化剂将乙醇腈转化为乙醇酸铵的比活性。

[0246] 表 11. 使用由戊二醛预处理的细胞制备的戊二醛 /PEI 交联的角叉菜胶固定的微生物催化剂的具有生物催化剂循环的连续批式反应中的比活性; 生物催化剂在 5°C 储存 28 天, 脱水或不脱水。

[0247]

固定的细胞生物催化剂 (戊二醛预处理的细胞)	连续批式反应中生物催化剂的比活性(GLN U/g dcw)				rxn1 至 rxn4 比活性的下降 (%)
	反应 1	反应 2	反应 3	反应 4	
未脱水的	1910	1455	1580	1543	19
未脱水的	1987	1434	1472	1783	10
脱水/重新水化	1474	1467	1585	1318	11
脱水/重新水化	1493	1412	--	1665	0

序列表

<110> 纳幕尔杜邦公司 (E. I. duPont de Nemours and Company, Inc.)

<120> 用于生产乙醇酸的固定的微生物腈水解酶的改进

<130> CL3889PCT

<160> 57

<170> PatentIn version 3.4

<210> 1

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 催化标志基序

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2).. (2)

<223> Xaa = Ala 或 Gly

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3).. (3)

<223> Xaa = Leu, Val 或 Ala

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4).. (3)

<223> Xaa = Ala, Asn, Ile, Cys, Val 或 Gln ;

<220>

<221> misc_feature

<222> (4).. (4)

<223> Xaa 可以是任何天然产生的氨基酸

<220>

<221>MISC_FEATURE

<222>(8)..(8)

<223>Xaa = His 或 Asn ;

<220>

<221>MISC_FEATURE

<222>(9)..(9)

<223>Xaa = Leu, Tyr, Phe, Ala, Met, Lys, Val, Thr 或 Arg

<220>

<221>MISC_FEATURE

<222>(10)..(10)

<223>Xaa = Asn, Gln, Met, Leu 或 Ser ;

<220>

<221>MISC_FEATURE

<222>(11)..(11)

<223>Xaa = Pro 或 Thr

<220>

<221>MISC_FEATURE

<222>(12)..(12)

<223>Xaa = Leu 或 Val

<400>1

Gly Xaa Xaa Xaa Cys Trp Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

10

<210>2

<211>12

<212>PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 催化序列基序 #2

<220>

<221>MISC_FEATURE

<222>(2)..(2)

<223>Xaa = Ala 或 Gly

<220>

<221>MISC_FEATURE

<222>(4)..(4)

<223>Xaa = Ala 或 Gly

<220>

<221>MISC_FEATURE

<222>(9)..(9)

<223>Xaa = Leu, Tyr, Phe, Ala, Met, Lys, Val, Thr 或 Arg

<220>

<221>MISC_FEATURE

<222>(10)..(10)

<223>Xaa = Asn, Gln, Met 或 Ser

<400>2

Gly Xaa Leu Xaa Cys Trp Glu His Xaa Xaa Pro Leu

1 5 10

<210>3

<211>1110

<212>DNA

<213>敏捷食酸菌 72W

<220>

<221>CDS

<222>(1)..(1110)

<220>

<221>misc_feature

<222>(1)..(3)

<223>起始密码子 TTG 改变为 ATG 以促进重组表达

<400>3

atg gtt tcg tat aac agc aag ttc ctc gcg gca acc gtt cag gca gag 48

Met Val Ser Tyr Asn Ser Lys Phe Leu Ala Ala Thr Val Gln Ala Glu	
1 5 10 15	
ccg gta tgg ctc gac gca gac gca acg atc gac aag tcg atc ggc atc	96
Pro Val Trp Leu Asp Ala Asp Ala Thr Ile Asp Lys Ser Ile Gly Ile	
20 25 30	
atc gaa gaa gct gcc caa aag ggc gcg agt ctg atc gct ttc ccg gaa	144
Ile Glu Glu Ala Ala Gln Lys Gly Ala Ser Leu Ile Ala Phe Pro Glu	
35 40 45	
gta ttc att ccg ggc tac ccc tat tgg gcg tgg ctc ggc gac gtg aag	192
Val Phe Ile Pro Gly Tyr Pro Tyr Trp Ala Trp Leu Gly Asp Val Lys	
50 55 60	
tac agc cta agc ttt act tca cgc tat cac gag aat tcg ttg gag cta	240
Tyr Ser Leu Ser Phe Thr Ser Arg Tyr His Glu Asn Ser Leu Glu Leu	
65 70 75 80	
ggt gac gac cgt atg cgt cgc ctc cag ctg gcc gcg cgc cgc aac aaa	288
Gly Asp Asp Arg Met Arg Arg Leu Gln Leu Ala Ala Arg Arg Asn Lys	
85 90 95	
atc gca ctc gtc atg ggc tat tcg gag cgg gaa gcc gga tcg cgc tat	336
Ile Ala Leu Val Met Gly Tyr Ser Glu Arg Glu Ala Gly Ser Arg Tyr	
100 105 110	
ctg agc cag gtg ttc atc gac gag cgt ggc gag atc gtt gcc aat cgg	384
Leu Ser Gln Val Phe Ile Asp Glu Arg Gly Glu Ile Val Ala Asn Arg	
115 120 125	
cgc aag ctg aag ccc aca cac gtt gag cgt acg atc tac ggc gaa ggc	432
Arg Lys Leu Lys Pro Thr His Val Glu Arg Thr Ile Tyr Gly Glu Gly	
130 135 140	
aac gga acc gat ttc ctc acg cac gac ttc gcg ttc gga cgc gtc ggt	480
Asn Gly Thr Asp Phe Leu Thr His Asp Phe Ala Phe Gly Arg Val Gly	
145 150 155 160	
gga ttg aac tgc tgg gaa cat ttc caa ccg ctc agc aag ttc atg atg	528
Gly Leu Asn Cys Trp Glu His Phe Gln Pro Leu Ser Lys Phe Met Met	
165 170 175	
tac agc ctc ggt gag cag gtc cac gtt gca tcg tgg ccg gcg atg tcc	576
Tyr Ser Leu Gly Glu Gln Val His Val Ala Ser Trp Pro Ala Met Ser	
180 185 190	
cct ctt cag ccg gat gtt ttc caa ctg agc atc gaa gcc aac gcg acg	624
Pro Leu Gln Pro Asp Val Phe Gln Leu Ser Ile Glu Ala Asn Ala Thr	
195 200 205	
gtc acc cgc tcg tac gca atc gaa ggc caa acc ttt gtg ctt tgc tcg	672

Val Thr Arg Ser Tyr Ala Ile Glu Gly Gln Thr Phe Val Leu Cys Ser	
210	215
acg cag gtg atc gga cct agc gcg atc gaa acg ttc tgc ctc aac gac	720
Thr Gln Val Ile Gly Pro Ser Ala Ile Glu Thr Phe Cys Leu Asn Asp	
225	230
gaa cag cgc gca ctg ttg ccg caa gga tgt ggc tgg gcg cgc att tac	768
Glu Gln Arg Ala Leu Leu Pro Gln Gly Cys Gly Trp Ala Arg Ile Tyr	
245	250
ggc ccg gat gga agc gag ctt gcg aag cct ctg gcg gaa gat gct gag	816
Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu	
260	265
ggg atc ttg tac gca gag atc gat ctg gag cag att ctg ctg gcg aag	864
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys	
275	280
gct gga gcc gat ccg gtc ggg cac tat tcg cgg cct gac gtg ctg tcg	912
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser	
290	295
gtc cag ttc gac ccg cgc aat cat acg cca gtt cat cgc atc ggc att	960
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile	
305	310
gac ggt cgc ttg gat gtg aat acc cgc agt cgc gtg gag aat ttc cga	1008
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg	
325	330
ctg cga caa gcg gct gag cag gag cgt cag gca tcc aag cgg ctc gga	1056
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly	
340	345
acg aaa ctc ttt gaa caa tcc ctt ctg gct gaa gaa ccg gtc cca gca	1104
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala	
355	360
aag tag	1110
Lys	

<210>4

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>4

Met Val Ser Tyr Asn Ser Lys Phe Leu Ala Ala Thr Val Gln Ala Glu

1	5	10	15
Pro Val Trp Leu Asp Ala Asp Ala Thr Ile Asp Lys Ser Ile Gly Ile			
20	25	30	
Ile Glu Glu Ala Ala Gln Lys Gly Ala Ser Leu Ile Ala Phe Pro Glu			
35	40	45	
Val Phe Ile Pro Gly Tyr Pro Tyr Trp Ala Trp Leu Gly Asp Val Lys			
50	55	60	
Tyr Ser Leu Ser Phe Thr Ser Arg Tyr His Glu Asn Ser Leu Glu Leu			
65	70	75	80
Gly Asp Asp Arg Met Arg Arg Leu Gln Leu Ala Ala Arg Arg Asn Lys			
85	90	95	
Ile Ala Leu Val Met Gly Tyr Ser Glu Arg Glu Ala Gly Ser Arg Tyr			
100	105	110	
Leu Ser Gln Val Phe Ile Asp Glu Arg Gly Glu Ile Val Ala Asn Arg			
115	120	125	
Arg Lys Leu Lys Pro Thr His Val Glu Arg Thr Ile Tyr Gly Glu Gly			
130	135	140	
Asn Gly Thr Asp Phe Leu Thr His Asp Phe Ala Phe Gly Arg Val Gly			
145	150	155	160
Gly Leu Asn Cys Trp Glu His Phe Gln Pro Leu Ser Lys Phe Met Met			
165	170	175	
Tyr Ser Leu Gly Glu Gln Val His Val Ala Ser Trp Pro Ala Met Ser			
180	185	190	
Pro Leu Gln Pro Asp Val Phe Gln Leu Ser Ile Glu Ala Asn Ala Thr			
195	200	205	
Val Thr Arg Ser Tyr Ala Ile Glu Gly Gln Thr Phe Val Leu Cys Ser			
210	215	220	
Thr Gln Val Ile Gly Pro Ser Ala Ile Glu Thr Phe Cys Leu Asn Asp			
225	230	235	240
Glu Gln Arg Ala Leu Leu Pro Gln Gly Cys Gly Trp Ala Arg Ile Tyr			
245	250	255	
Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu			
260	265	270	
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys			
275	280	285	
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser			
290	295	300	
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile			
305	310	315	320

Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg
 325 330 335
 Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly
 340 345 350
 Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala
 355 360 365
 Lys

<210>5

<211>356

<212>PRT

<213> 固氮粪产碱菌 LM3

<400>5

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

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

<210>6

<211>366

<212>PRT

<213> 紫红红球菌 J1

<400>6

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

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

<210>7

<211>383

<212>PRT

<213> 紫红红球菌 K22

<400>7

```

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

```

260	265	270
Pro Leu Pro Glu Asp Ala Glu Gly Leu Leu Tyr Ala Glu Leu Asp Leu		
275	280	285
Glu Gln Ile Ile Leu Ala Lys Ala Ala Ala Asp Pro Ala Gly His Tyr		
290	295	300
Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser Leu Lys Ile Asp Thr Arg Asn His Thr		
305	310	315
Pro Val Gln Tyr Ile Thr Ala Asp Gly Arg Thr Ser Leu Asn Ser Asn		
325	330	335
Ser Arg Val Glu Asn Tyr Arg Leu His Gln Leu Ala Asp Ile Glu Lys		
340	345	350
Tyr Glu Asn Ala Glu Ala Ala Thr Leu Pro Leu Asp Ala Pro Ala Pro		
355	360	365
Ala Pro Ala Pro Glu Gln Lys Ser Gly Arg Ala Lys Ala Glu Ala		
370	375	380

<210>8

<211>381

<212>PRT

<213> 诺卡氏菌属 C-14-1

<400>8

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

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

<210>9

<211>310

<212>PRT

<213> 支气管败血波氏杆菌 RB50

<400>9

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

305

310

<210>10

<211>339

<212>PRT

<213> 拟南芥

<400>10

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

Pro Asp Tyr Leu Phe Thr Asp Trp Tyr Asp Asp Lys Glu Pro Asp Ser
 245 250 255
 Ile Val Ser Gln Gly Gly Ser Val Ile Ile Ser Pro Leu Gly Gln Val
 260 265 270
 Leu Ala Gly Pro Asn Phe Glu Ser Glu Gly Leu Ile Thr Ala Asp Leu
 275 280 285
 Asp Leu Gly Asp Val Ala Arg Ala Lys Leu Tyr Phe Asp Ser Val Gly
 290 295 300
 His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu His Leu Thr Val Asn Glu His Pro
 305 310 315 320
 Lys Lys Pro Val Thr Phe Ile Ser Lys Val Glu Lys Ala Glu Asp Asp
 325 330 335
 Ser Asn Lys

<210>11

<211>334

<212>PRT

<213> 细长聚球藻 PCC 7942

<400>11

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

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

<210>12

<211>334

<212>PRT

<213>细长聚球藻 PCC 6301

<400>12

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

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

<210>13

<211>346

<212>PRT

<213> 集胞藻属 PCC 6803

<400>13

```

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

```

Met Asp Ser Val Gly His Tyr Ala Arg Pro Asp Leu Leu Gln Leu Thr
 290 295 300
 Leu Asn Asn Gln Pro Trp Ser Ala Leu Glu Ala Asn Pro Val Thr Pro
 305 310 315 320
 Asn Ala Ile Pro Ala Val Ser Asp Pro Glu Leu Thr Glu Thr Ile Glu
 325 330 335
 Ala Leu Pro Asn Asn Pro Ile Phe Ser His
 340 345

<210>14

<211>307

<212>PRT

<213>嗜虫假单胞菌 L48

<400>14

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

180	185	190
Arg Glu Leu Trp Gln Val Ser Met Arg His Val Ala Ala Glu Gly Arg		
195	200	205
Cys Phe Val Ile Ser Ala Cys Gln Val Gln Asp Ser Pro Ala Ala Leu		
210	215	220
Gly Met Glu Val Ala Asn Trp Pro Ala Glu Arg Pro Leu Ile Asn Gly		
225	230	235
Gly Ser Leu Ile Val Gly Pro Leu Gly Asp Val Leu Ala Gly Pro Leu		
245	250	255
Leu Gly Ala Arg Gly Leu Val Cys Ala Glu Val Asp Thr Asp Glu Leu		
260	265	270
Val Arg Ala Arg Tyr Asp Phe Asp Val Val Gly His Tyr Ala Arg Pro		
275	280	285
Asp Val Phe Glu Leu Ser Val Asp Glu Arg Pro Arg Pro Gly Val Arg		
290	295	300
Phe Ile Gly		
305		

<210>15

<211>329

<212>PRT

<213> 运动发酵单胞菌运动亚种 ZM4

<400>15

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

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

<210>16

<211>339

<212>PRT

<213> 芽孢杆菌属 OxB-1

<400>16

Met Ser Asn Tyr Pro Lys Tyr Arg Val Ala Ala Val Gln Ala Ser Pro		
1	5	10
Val Leu Leu Asp Leu Asp Ala Thr Ile Asp Lys Thr Cys Arg Leu Val		
20	25	30

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

<210>17

<211>354

<212>PRT

<213> 睾丸酮丛毛单胞菌

<400>17

```

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

```

	245	250	255
Gly Asn Thr Ala Ile Ile Ser Asn Thr Gly Glu Ile Leu Ala Ser Ile			
	260	265	270
Pro Gln Asp Ala Glu Gly Ile Ala Val Ala Glu Ile Asp Leu Asn Gln			
	275	280	285
Ile Ile Tyr Gly Lys Trp Leu Leu Asp Pro Ala Gly His Tyr Ser Thr			
	290	295	300
Pro Gly Phe Leu Ser Leu Thr Phe Asp Gln Ser Glu His Val Pro Val			
305	310	315	320
Lys Lys Ile Gly Glu Gln Thr Asn His Phe Ile Ser Tyr Glu Asp Leu			
	325	330	335
His Glu Asp Lys Met Asp Met Leu Thr Ile Pro Pro Arg Arg Val Ala			
	340	345	350
Thr Ala			

<210>18

<211>332

<212>PRT

<213> 蓝细菌属 CC9605

<400>18

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

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

<210>19

<211>306

<212>PRT

<213> 荧光假单胞菌 Pf-5

<400>19

Met Pro Lys Ser Val Val Ala Ala Leu Gln Ile Gly Ala Leu Pro Glu	
1	5
Gly Lys Ala Ala Thr Leu Glu Gln Ile Leu Ser Tyr Glu Ala Ala Ile	
	20
Ile Glu Ala Gly Ala Gln Leu Val Val Met Pro Glu Ala Leu Leu Gly	
	35
	40
	45

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

<210>20

<211>336

<212>PRT

<213> 鼻疽诺卡菌 IFM 10152]

<400>20

```

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

```


Ala Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Gln Leu
 290 295 300
 Leu Trp Asp Pro Arg Pro Arg Ser Val Val Arg Gln Val Ala Leu Ser
 305 310 315 320
 Val Ala Ser Pro Ala Glu Ser Ala Asp Asp Ala Glu Pro Ala Val Arg
 325 330 335

<210>21

<211>356

<212>PRT

<213> 固氮粪产碱菌 1650

<400>21

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

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

 $\langle 210 \rangle_{22}$ $\langle 211 \rangle 336$

<212>PRT

〈213〉 丁香假单胞杆菌丁香致病变种 B728a

 $\langle 400 \rangle_{22}$

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

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

<210>23

<211>345

<212>PRT

<213> 慢生根瘤菌属 BTAi1

<400>23

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

Val Thr Arg Leu Leu Leu Asn Lys Lys Pro Leu Asn Arg Val Glu His
 305 310 315 320
 Phe Ser Leu Pro Val Asp Ser Ala Ala Ala Leu Pro Gly Glu Ala
 325 330 335
 Ala Val Ala Arg Pro Asp Gln Ser Ile
 340 345

<210>24

<211>366

<212>PRT

<213> 紫红红球菌 NCIMB 11216

<400>24

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

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

<210>25

<211>366

<212>PRT

<213> 紫红红球菌 ATCC 39484

<400>25

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

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

<210>26

<211>1110

<212>DNA

<213> 敏捷食酸菌 72W

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1110)

<400>26

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

165	170	175	
tac agc ctc ggt gag cag gtc cac gtt gca tcg tgg ccg gcg atg tcc			576
Tyr Ser Leu Gly Glu Gln Val His Val Ala Ser Trp Pro Ala Met Ser			
180	185	190	
cct ctt cag ccg gat gtt ttc caa cag agc atc gaa gcc aac gcg acg			624
Pro Leu Gln Pro Asp Val Phe Gln Gln Ser Ile Glu Ala Asn Ala Thr			
195	200	205	
gtc acc cgc tcg tac gca atc gaa ggc caa acc ttt gtg ctt tgc tcg			672
Val Thr Arg Ser Tyr Ala Ile Glu Gly Gln Thr Phe Val Leu Cys Ser			
210	215	220	
acg cag gtg atc gga cct agc gcg atc gaa acg ttc tgc ctc aac gac			720
Thr Gln Val Ile Gly Pro Ser Ala Ile Glu Thr Phe Cys Leu Asn Asp			
225	230	235	240
gaa cag cgc gca ctg ttg ccg caa gga tgt ggc tgg gcg cgc att tac			768
Glu Gln Arg Ala Leu Leu Pro Gln Gly Cys Gly Trp Ala Arg Ile Tyr			
245	250	255	
ggc ccg gat gga agc gag ctt gcg aag cct ctg gcg gaa gat gct gag			816
Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu			
260	265	270	
ggg atc ttg tac gca gag atc gat ctg gag cag att ctg ctg gcg aag			864
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys			
275	280	285	
gct gga gcc gat ccg gtc ggg cac tat tcg cgg cct gac gtg ctg tcg			912
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser			
290	295	300	
gtc cag ttc gac ccg cgc aat cat acg cca gtt cat cgc atc ggc att			960
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile			
305	310	315	320
gac ggt cgc ttg gat gtg aat acc cgc agt cgc gtg gag aat ttc cga			1008
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg			
325	330	335	
ctg cga caa gcg gct gag cag gag cgt cag gca tcc aag cgg ctc gga			1056
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly			
340	345	350	
acg aaa ctc ttt gaa caa tcc ctt ctg gct gaa gaa ccg gtc cca gca			1104
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala			
355	360	365	
aag tag			1110
Lys			

<210>27

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>27

```

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

```


tac agc cta agc ttt act tca cgc tat cac gag aat tcg ttg gag cta	240
Tyr Ser Leu Ser Phe Thr Ser Arg Tyr His Glu Asn Ser Leu Glu Leu	
65 70 75 80	
ggt gac gac cgt atg cgt cgc ctc cag ctg gcc gcg cgc cgc aac aaa	288
Gly Asp Asp Arg Met Arg Arg Leu Gln Leu Ala Ala Arg Arg Asn Lys	
85 90 95	
atc gca ctc gtc atg ggc tat tcg gag cgg gaa gcc gga tcg cgc tat	336
Ile Ala Leu Val Met Gly Tyr Ser Glu Arg Glu Ala Gly Ser Arg Tyr	
100 105 110	
ctg agc cag gtg ttc atc gac gag cgt ggc gag atc gtt gcc aat cgg	384
Leu Ser Gln Val Phe Ile Asp Glu Arg Gly Glu Ile Val Ala Asn Arg	
115 120 125	
cgc aag ctg aag ccc aca cac gtt gag cgt acg atc tac ggc gaa ggc	432
Arg Lys Leu Lys Pro Thr His Val Glu Arg Thr Ile Tyr Gly Glu Gly	
130 135 140	
aac gga acc gat ttc ctc acg cac gac ttc gcg ttc gga cgc gtc ggt	480
Asn Gly Thr Asp Phe Leu Thr His Asp Phe Ala Phe Gly Arg Val Gly	
145 150 155 160	
gga ttg aac tgc tgg gaa cat ttc caa ccg ctc agc aag ttc atg atg	528
Gly Leu Asn Cys Trp Glu His Phe Gln Pro Leu Ser Lys Phe Met Met	
165 170 175	
tac agc ctc ggt gag cag gtc cac gtt gca tcg tgg ccg gcg atg tcc	576
Tyr Ser Leu Gly Glu Gln Val His Val Ala Ser Trp Pro Ala Met Ser	
180 185 190	
cct ctt cag ccg gat gtt ttc caa gct agc atc gaa gcc aac gcg acg	624
Pro Leu Gln Pro Asp Val Phe Gln Ala Ser Ile Glu Ala Asn Ala Thr	
195 200 205	
gtc acc cgc tcg tac gca atc gaa ggc caa acc ttt gtg ctt tgc tcg	672
Val Thr Arg Ser Tyr Ala Ile Glu Gly Gln Thr Phe Val Leu Cys Ser	
210 215 220	
acg cag gtg atc gga cct agc gcg atc gaa acg ttc tgc ctc aac gac	720
Thr Gln Val Ile Gly Pro Ser Ala Ile Glu Thr Phe Cys Leu Asn Asp	
225 230 235 240	
gaa cag cgc gca ctg ttg ccg caa gga tgt ggc tgg gcg cgc att tac	768
Glu Gln Arg Ala Leu Leu Pro Gln Gly Cys Gly Trp Ala Arg Ile Tyr	
245 250 255	
ggc ccg gat gga agc gag ctt gcg aag cct ctg gcg gaa gat gct gag	816
Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu	
260 265 270	

ggg atc ttg tac gca gag atc gat ctg gag cag att ctg ctg gcg aag	864
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys	
275 280 285	
gct gga gcc gat ccg gtc ggg cac tat tcg cgg cct gac gtg ctg tcg	912
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser	
290 295 300	
gtc cag ttc gac ccg cgc aat cat acg cca gtt cat cgc atc ggc att	960
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile	
305 310 315 320	
gac ggt cgc ttg gat gtg aat acc cgc agt cgc gtg gag aat ttc cga	1008
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg	
325 330 335	
ctg cga caa gcg gct gag cag gag cgt cag gca tcc aag cgg ctc gga	1056
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly	
340 345 350	
acg aaa ctc ttt gaa caa tcc ctt ctg gct gaa gaa ccg gtc cca gca	1104
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala	
355 360 365	
aag tag	1110
Lys	

<210>29

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>29

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

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

<210>30

<211>1110

<212>DNA

<213> 敏捷食酸菌 72W

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1110)

<400>30

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

Gly	Leu	Asn	Cys	Trp	Glu	His	Phe	Gln	Pro	Leu	Ser	Lys	Phe	Met	Met	
165				170				175								
tac	agc	ctc	ggt	gag	cag	gtc	cac	gtt	gca	tcg	tgg	ccg	gcg	atg	tcc	576
Tyr	Ser	Leu	Gly	Glu	Gln	Val	His	Val	Ala	Ser	Trp	Pro	Ala	Met	Ser	
180				185				190								
cct	ctt	cag	ccg	gat	gtt	ttc	caa	tgt	agc	atc	gaa	gcc	aac	gcg	acg	624
Pro	Leu	Gln	Pro	Asp	Val	Phe	Gln	Cys	Ser	Ile	Glu	Ala	Asn	Ala	Thr	
195				200				205								
gtc	acc	cgc	tcg	tac	gca	atc	gaa	ggc	caa	acc	ttt	gtg	ctt	tgc	tcg	672
Val	Thr	Arg	Ser	Tyr	Ala	Ile	Glu	Gly	Gln	Thr	Phe	Val	Leu	Cys	Ser	
210				215				220								
acg	cag	gtg	atc	gga	cct	agc	gcg	atc	gaa	acg	ttc	tgc	ctc	aac	gac	720
Thr	Gln	Val	Ile	Gly	Pro	Ser	Ala	Ile	Glu	Thr	Phe	Cys	Leu	Asn	Asp	
225				230				235				240				
gaa	cag	cgc	gca	ctg	ttg	ccg	caa	gga	tgt	ggc	tgg	gcg	cgc	att	tac	768
Glu	Gln	Arg	Ala	Leu	Leu	Pro	Gln	Gly	Cys	Gly	Trp	Ala	Arg	Ile	Tyr	
245				250				255								
ggc	ccg	gat	gga	agc	gag	ctt	gcg	aag	cct	ctg	gcg	gaa	gat	gct	gag	816
Gly	Pro	Asp	Gly	Ser	Glu	Leu	Ala	Lys	Pro	Leu	Ala	Glu	Asp	Ala	Glu	
260				265				270								
ggg	atc	ttg	tac	gca	gag	atc	gat	ctg	gag	cag	att	ctg	ctg	gcg	aag	864
Gly	Ile	Leu	Tyr	Ala	Glu	Ile	Asp	Leu	Glu	Gln	Ile	Leu	Leu	Ala	Lys	
275				280				285								
gct	gga	gcc	gat	ccg	gtc	ggg	cac	tat	tcg	cgg	cct	gac	gtg	ctg	tcg	912
Ala	Gly	Ala	Asp	Pro	Val	Gly	His	Tyr	Ser	Arg	Pro	Asp	Val	Leu	Ser	
290				295				300								
gtc	cag	ttc	gac	ccg	cgc	aat	cat	acg	cca	gtt	cat	cgc	atc	ggc	att	960
Val	Gln	Phe	Asp	Pro	Arg	Asn	His	Thr	Pro	Val	His	Arg	Ile	Gly	Ile	
305				310				315				320				
gac	ggt	cgc	ttg	gat	gtg	aat	acc	cgc	agt	cgc	gtg	gag	aat	ttc	cga	1008
Asp	Gly	Arg	Leu	Asp	Val	Asn	Thr	Arg	Ser	Arg	Val	Glu	Asn	Phe	Arg	
325				330				335								
ctg	cga	caa	gcg	gct	gag	cag	gag	cgt	cag	gca	tcc	aag	cgg	ctc	gga	1056
Leu	Arg	Gln	Ala	Ala	Glu	Gln	Glu	Arg	Gln	Ala	Ser	Lys	Arg	Leu	Gly	
340				345				350								
acg	aaa	ctc	ttt	gaa	caa	tcc	ctt	ctg	gct	gaa	gaa	ecg	gtc	cca	gca	1104
Thr	Lys	Leu	Phe	Glu	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Glu	Glu	Pro	Val	Pro	Ala	
355				360				365								
aag	tag															1110

Lys

<210>31

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>31

```

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

```

Glu Gln Arg Ala Leu Leu Pro Gln Gly Cys Gly Trp Ala Arg Ile Tyr	
245	250 255
Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu	
260	265 270
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys	
275	280 285
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser	
290	295 300
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile	
305	310 315 320
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg	
325	330 335
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly	
340	345 350
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala	
355	360 365
Lys	

<210>32

<211>1110

<212>DNA

<213> 敏捷食酸菌 72W

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1110)

<400>32

atg gtt tcg tat aac agc aag ttc ctc gcg gca acc gtt cag gca gag	48
Met Val Ser Tyr Asn Ser Lys Phe Leu Ala Ala Thr Val Gln Ala Glu	
1 5 10 15	
ccg gta tgg ctc gac gca gac gca acg atc gac aag tcg atc ggc atc	96
Pro Val Trp Leu Asp Ala Asp Ala Thr Ile Asp Lys Ser Ile Gly Ile	
20 25 30	
atc gaa gaa gct gcc caa aag ggc gcg agt ctg atc gct ttc ccg gaa	144
Ile Glu Glu Ala Ala Gln Lys Gly Ala Ser Leu Ile Ala Phe Pro Glu	
35 40 45	
gta ttc att ccg ggc tac ccc tat tgg gcg tgg ctc ggc gac gtg aag	192
Val Phe Ile Pro Gly Tyr Pro Tyr Trp Ala Trp Leu Gly Asp Val Lys	

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

260	265	270	
ggg atc ttg tac gca gag atc gat ctg gag cag att ctg ctg gcg aag			864
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys			
275	280	285	
gct gga gcc gat ccg gtc ggg cac tat tcg cgg cct gac gtg ctg tcg			912
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser			
290	295	300	
gtc cag ttc gac ccg cgc aat cat acg cca gtt cat cgc atc ggc att			960
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile			
305	310	315	320
gac ggt cgc ttg gat gtg aat acc cgc agt cgc gtg gag aat ttc cga			1008
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg			
325	330	335	
ctg cga caa gcg gct gag cag gag cgt cag gca tcc aag cgg ctc gga			1056
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly			
340	345	350	
acg aaa ctc ttt gaa caa tcc ctt ctg gct gaa gaa ccg gtc cca gca			1104
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala			
355	360	365	
aag tag			1110
Lys			

<210>33

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>33

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

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

<210>34

<211>1110

<212>DNA

<213> 敏捷食酸菌 72W

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1110)

<400>34

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

gga ttg aac tgc tgg gaa cat ttc caa ccg ctc agc aag ttc atg atg	528
Gly Leu Asn Cys Trp Glu His Phe Gln Pro Leu Ser Lys Phe Met Met	
165 170 175	
tac agc ctc ggt gag cag gtc cac gtt gca tcg tgg ccg gcg atg tcc	576
Tyr Ser Leu Gly Glu Gln Val His Val Ala Ser Trp Pro Ala Met Ser	
180 185 190	
cct ctt cag ccg gat gtt ttc caa gga agc atc gaa gcc aac gcg acg	624
Pro Leu Gln Pro Asp Val Phe Gln Gly Ser Ile Glu Ala Asn Ala Thr	
195 200 205	
gtc acc cgc tcg tac gca atc gaa ggc caa acc ttt gtg ctt tgc tcg	672
Val Thr Arg Ser Tyr Ala Ile Glu Gly Gln Thr Phe Val Leu Cys Ser	
210 215 220	
acg cag gtg atc gga cct agc gcg atc gaa acg ttc tgc ctc aac gac	720
Thr Gln Val Ile Gly Pro Ser Ala Ile Glu Thr Phe Cys Leu Asn Asp	
225 230 235 240	
gaa cag cgc gca ctg ttg ccg caa gga tgt ggc tgg gcg cgc att tac	768
Glu Gln Arg Ala Leu Leu Pro Gln Gly Cys Gly Trp Ala Arg Ile Tyr	
245 250 255	
ggc ccg gat gga agc gag ctt gcg aag cct ctg gcg gaa gat gct gag	816
Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu	
260 265 270	
ggg atc ttg tac gca gag atc gat ctg gag cag att ctg ctg gcg aag	864
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys	
275 280 285	
gct gga gcc gat ccg gtc ggg cac tat tcg cgg cct gac gtg ctg tcg	912
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser	
290 295 300	
gtc cag ttc gac ccg cgc aat cat acg cca gtt cat cgc atc ggc att	960
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile	
305 310 315 320	
gac ggt cgc ttg gat gtg aat acc cgc agt cgc gtg gag aat ttc cga	1008
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg	
325 330 335	
ctg cga caa gcg gct gag cag gag cgt cag gca tcc aag cgg ctc gga	1056
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly	
340 345 350	
acg aaa ctc ttt gaa caa tcc ctt ctg gct gaa gaa ccg gtc cca gca	1104
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala	
355 360 365	

aag tag 1110
Lys

<210>35

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>35

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

225	230								235								240			
Glu	Gln	Arg	Ala	Leu	Leu	Pro	Gln	Gly	Cys	Gly	Trp	Ala	Arg	Ile	Tyr					
				245				250				255								
Gly	Pro	Asp	Gly	Ser	Glu	Leu	Ala	Lys	Pro	Leu	Ala	Glu	Asp	Ala	Glu					
				260				265				270								
Gly	Ile	Leu	Tyr	Ala	Glu	Ile	Asp	Leu	Glu	Gln	Ile	Leu	Leu	Ala	Lys					
				275				280				285								
Ala	Gly	Ala	Asp	Pro	Val	Gly	His	Tyr	Ser	Arg	Pro	Asp	Val	Leu	Ser					
				290				295				300								
Val	Gln	Phe	Asp	Pro	Arg	Asn	His	Thr	Pro	Val	His	Arg	Ile	Gly	Ile					
305				310				315				320								
Asp	Gly	Arg	Leu	Asp	Val	Asn	Thr	Arg	Ser	Arg	Val	Glu	Asn	Phe	Arg					
				325				330				335								
Leu	Arg	Gln	Ala	Ala	Glu	Gln	Glu	Arg	Gln	Ala	Ser	Lys	Arg	Leu	Gly					
				340				345				350								
Thr	Lys	Leu	Phe	Glu	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Glu	Glu	Pro	Val	Pro	Ala					
				355				360				365								
Lys																				

 $\langle 210 \rangle_{36}$ $\langle 211 \rangle 1110$

<212>DNA

〈213〉 敏捷食酸菌 72W

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ CDS $\langle 222 \rangle (1) \dots (1110)$ $\langle 400 \rangle_{36}$

atg gtt tcg tat aac agc aag ttc ctc gcg gca acc gtt cag gca gag	48
Met Val Ser Tyr Asn Ser Lys Phe Leu Ala Ala Thr Val Gln Ala Glu	
1 5 10 15	
cgc gta tgg ctc gac gca gac gca acg atc gac aag tcg atc gcc atc	96
Pro Val Trp Leu Asp Ala Asp Ala Thr Ile Asp Lys Ser Ile Gly Ile	
20 25 30	
atc gaa gaa gct gcc caa aag gcc gcg agt ctg atc gct ttc ccg gaa	144
Ile Glu Glu Ala Ala Gln Lys Gly Ala Ser Leu Ile Ala Phe Pro Glu	
35 40 45	
gta ttc att ccg gcc tac ccc tat tgg gcg tgg ctc gcc gac gtg aag	192

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

Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu	
260 265 270	
ggg atc ttg tac gca gag atc gat ctg gag cag att ctg ctg gcg aag	864
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys	
275 280 285	
gct gga gcc gat ccg gtc ggg cac tat tcg cgg cct gac gtg ctg tcg	912
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser	
290 295 300	
gtc cag ttc gac ccg cgc aat cat acg cca gtt cat cgc atc ggc att	960
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile	
305 310 315 320	
gac ggt cgc ttg gat gtg aat acc cgc agt cgc gtg gag aat ttc cga	1008
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg	
325 330 335	
ctg cga caa gcg gct gag cag gag cgt cag gca tcc aag cgg ctc gga	1056
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly	
340 345 350	
acg aaa ctc ttt gaa caa tcc ctt ctg gct gaa gaa ccg gtc cca gca	1104
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala	
355 360 365	
aag tag	1110
Lys	

<210>37

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>37

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

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

<210>38

<211>1110

<212>DNA

<213> 敏捷食酸菌 72W

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1110)

<400>38

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

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

355	360	365	
aag tag			1110
Lys			
<210>39			
<211>369			
<212>PRT			
<213> 敏捷食酸菌 72W			

<400>39

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

225	230	235	240
Glu Gln Arg Ala Leu Leu Pro Gln Gly Cys Gly Trp Ala Arg Ile Tyr			
	245	250	255
Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu			
	260	265	270
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys			
	275	280	285
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser			
	290	295	300
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile			
305	310	315	320
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg			
	325	330	335
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly			
	340	345	350
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala			
	355	360	365
Lys			

<210>40

<211>1110

<212>DNA

<213> 敏捷食酸菌 72W

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1110)

<400>40

atg gtt tcg tat aac agc aag ttc ctc gcg gca acc gtt cag gca gag	48
Met Val Ser Tyr Asn Ser Lys Phe Leu Ala Ala Thr Val Gln Ala Glu	
1 5 10 15	
ccg gta tgg ctc gac gca gac gca acg atc gac aag tcg atc ggc atc	96
Pro Val Trp Leu Asp Ala Asp Ala Thr Ile Asp Lys Ser Ile Gly Ile	
20 25 30	
atc gaa gaa gct gcc caa aag ggc gcg agt ctg atc gct ttc ccg gaa	144
Ile Glu Glu Ala Ala Gln Lys Gly Ala Ser Leu Ile Ala Phe Pro Glu	
35 40 45	
gta ttc att ccg ggc tac ccc tat tgg gcg tgg ctc ggc gac gtg aag	192
Val Phe Ile Pro Gly Tyr Pro Tyr Trp Ala Trp Leu Gly Asp Val Lys	

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

260	265	270	
ggg atc ttg tac gca gag atc gat ctg gag cag att ctg ctg gcg aag			864
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys			
275	280	285	
gct gga gcc gat ccg gtc ggg cac tat tcg cgg cct gac gtg ctg tcg			912
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser			
290	295	300	
gtc cag ttc gac ccg cgc aat cat acg cca gtt cat cgc atc ggc att			960
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile			
305	310	315	320
gac ggt cgc ttg gat gtg aat acc cgc agt cgc gtg gag aat ttc cga			1008
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg			
325	330	335	
ctg cga caa gcg gct gag cag gag cgt cag gca tcc aag cgg ctc gga			1056
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly			
340	345	350	
acg aaa ctc ttt gaa caa tcc ctt ctg gct gaa gaa ccg gtc cca gca			1104
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala			
355	360	365	
aag tag			1110
Lys			

<210>41

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>41

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

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

Lys

<210>42

<211>1110

<212>DNA

<213> 敏捷食酸菌 72W

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1110)

<400>42

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

Gly	Leu	Asn	Cys	Trp	Glu	His	Phe	Gln	Pro	Leu	Ser	Lys	Phe	Met	Met	
165				170				175								
tac	agc	ctc	ggt	gag	cag	gtc	cac	gtt	gca	tcg	tgg	ccg	gcg	atg	tcc	576
Tyr	Ser	Leu	Gly	Glu	Gln	Val	His	Val	Ala	Ser	Trp	Pro	Ala	Met	Ser	
180				185				190								
cct	ctt	cag	ccg	gat	gtt	ttc	caa	tct	agc	atc	gaa	gcc	aac	gcg	acg	624
Pro	Leu	Gln	Pro	Asp	Val	Phe	Gln	Ser	Ser	Ile	Glu	Ala	Asn	Ala	Thr	
195				200				205								
gtc	acc	cgc	tcg	tac	gca	atc	gaa	ggc	caa	acc	ttt	gtg	ctt	tgc	tcg	672
Val	Thr	Arg	Ser	Tyr	Ala	Ile	Glu	Gly	Gln	Thr	Phe	Val	Leu	Cys	Ser	
210				215				220								
acg	cag	gtg	atc	gga	cct	agc	gcg	atc	gaa	acg	ttc	tgc	ctc	aac	gac	720
Thr	Gln	Val	Ile	Gly	Pro	Ser	Ala	Ile	Glu	Thr	Phe	Cys	Leu	Asn	Asp	
225				230				235				240				
gaa	cag	cgc	gca	ctg	ttg	ccg	caa	gga	tgt	ggc	tgg	gcg	cgc	att	tac	768
Glu	Gln	Arg	Ala	Leu	Leu	Pro	Gln	Gly	Cys	Gly	Trp	Ala	Arg	Ile	Tyr	
245				250				255								
ggc	ccg	gat	gga	agc	gag	ctt	gcg	aag	cct	ctg	gcg	gaa	gat	gct	gag	816
Gly	Pro	Asp	Gly	Ser	Glu	Leu	Ala	Lys	Pro	Leu	Ala	Glu	Asp	Ala	Glu	
260				265				270								
ggg	atc	ttg	tac	gca	gag	atc	gat	ctg	gag	cag	att	ctg	ctg	gcg	aag	864
Gly	Ile	Leu	Tyr	Ala	Glu	Ile	Asp	Leu	Glu	Gln	Ile	Leu	Leu	Ala	Lys	
275				280				285								
gct	gga	gcc	gat	ccg	gtc	ggg	cac	tat	tcg	cgg	cct	gac	gtg	ctg	tcg	912
Ala	Gly	Ala	Asp	Pro	Val	Gly	His	Tyr	Ser	Arg	Pro	Asp	Val	Leu	Ser	
290				295				300								
gtc	cag	ttc	gac	ccg	cgc	aat	cat	acg	cca	gtt	cat	cgc	atc	ggc	att	960
Val	Gln	Phe	Asp	Pro	Arg	Asn	His	Thr	Pro	Val	His	Arg	Ile	Gly	Ile	
305				310				315				320				
gac	ggt	cgc	ttg	gat	gtg	aat	acc	cgc	agt	cgc	gtg	gag	aat	ttc	cga	1008
Asp	Gly	Arg	Leu	Asp	Val	Asn	Thr	Arg	Ser	Arg	Val	Glu	Asn	Phe	Arg	
325				330				335								
ctg	cga	caa	gcg	gct	gag	cag	gag	cgt	cag	gca	tcc	aag	cgg	ctc	gga	1056
Leu	Arg	Gln	Ala	Ala	Glu	Gln	Glu	Arg	Gln	Ala	Ser	Lys	Arg	Leu	Gly	
340				345				350								
acg	aaa	ctc	ttt	gaa	caa	tcc	ctt	ctg	gct	gaa	gaa	ccg	gtc	cca	gca	1104
Thr	Lys	Leu	Phe	Glu	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Glu	Glu	Pro	Val	Pro	Ala	
355				360				365								
aag tag																1110

Lys

<210>43

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>43

```

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

```

Glu Gln Arg Ala Leu Leu Pro Gln Gly Cys Gly Trp Ala Arg Ile Tyr	
245	250 255
Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu	
260	265 270
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys	
275	280 285
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser	
290	295 300
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile	
305	310 315 320
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg	
325	330 335
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly	
340	345 350
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala	
355	360 365
Lys	

<210>44

<211>1110

<212>DNA

<213> 敏捷食酸菌 72W

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1110)

<400>44

atg gtt tcg tat aac agc aag ttc ctc gcg gca acc gtt cag gca gag	48
Met Val Ser Tyr Asn Ser Lys Phe Leu Ala Ala Thr Val Gln Ala Glu	
1 5 10 15	
ccg gta tgg ctc gac gca gac gca acg atc gac aag tog ate ggc atc	96
Pro Val Trp Leu Asp Ala Asp Ala Thr Ile Asp Lys Ser Ile Gly Ile	
20 25 30	
atc gaa gaa gct gcc caa aag ggc gcg agt ctg atc gct ttc ccg gaa	144
Ile Glu Glu Ala Ala Gln Lys Gly Ala Ser Leu Ile Ala Phe Pro Glu	
35 40 45	
gta ttc att ccg ggc tac ccc tat tgg gcg tgg ctc ggc gac gtg aag	192
Val Phe Ile Pro Gly Tyr Pro Tyr Trp Ala Trp Leu Gly Asp Val Lys	

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

260	265	270	
ggg atc ttg tac gca gag atc gat ctg gag cag att ctg ctg gcg aag			864
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys			
275	280	285	
gct gga gcc gat ccg gtc ggg cac tat tcg cgg cct gac gtg ctg tcg			912
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser			
290	295	300	
gtc cag ttc gac ccg cgc aat cat acg cca gtt cat cgc atc ggc att			960
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile			
305	310	315	320
gac ggt cgc ttg gat gtg aat acc cgc agt cgc gtg gag aat ttc cga			1008
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg			
325	330	335	
ctg cga caa gcg gct gag cag gag cgt cag gca tcc aag cgg ctc gga			1056
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly			
340	345	350	
acg aaa ctc ttt gaa caa tcc ctt ctg gct gaa gaa ccg gtc cca gca			1104
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala			
355	360	365	
aag tag			1110
Lys			

<210>45

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>45

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

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

<210>46

<211>1110

<212>DNA

<213> 敏捷食酸菌 72W

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1110)

<400>46

atg gtt tcg tat aac agc aag ttc ctc gcg gca acc gtt cag gca gag 48

Met Val Ser Tyr Asn Ser Lys Phe Leu Ala Ala Thr Val Gln Ala Glu

1 5 10 15

ccg gta tgg ctc gac gca gac gca acg atc gac aag tcg atc ggc atc 96

Pro Val Trp Leu Asp Ala Asp Ala Thr Ile Asp Lys Ser Ile Gly Ile

20 25 30

atc gaa gaa gct gcc caa aag ggc gcg agt ctg atc gct ttc ccg gaa 144

Ile Glu Glu Ala Ala Gln Lys Gly Ala Ser Leu Ile Ala Phe Pro Glu

35 40 45

gta ttc att ccg ggc tac ccc tat tgg gcg tgg ctc ggc gac gtg aag 192

Val Phe Ile Pro Gly Tyr Pro Tyr Trp Ala Trp Leu Gly Asp Val Lys

50 55 60

tac agc cta agc ttt act tca cgc tat cac gag aat tcg ttg gag cta 240

Tyr Ser Leu Ser Phe Thr Ser Arg Tyr His Glu Asn Ser Leu Glu Leu

65 70 75 80

ggc gac gac cgt atg cgt cgc ctc cag ctg gcc gcg cgc cgc aac aaa 288

Gly Asp Asp Arg Met Arg Arg Leu Gln Leu Ala Ala Arg Arg Asn Lys

85 90 95

atc gca ctc gtc atg ggc tat tcg gag cgg gaa gcc gga tcg cgc tat 336

Ile Ala Leu Val Met Gly Tyr Ser Glu Arg Glu Ala Gly Ser Arg Tyr

100 105 110

ctg agc cag gtg ttc atc gac gag cgt ggc gag atc gtt gcc aat cgg 384

Leu Ser Gln Val Phe Ile Asp Glu Arg Gly Glu Ile Val Ala Asn Arg

115 120 125

cgc aag ctg aag ccc aca cac gtt gag cgt acg atc tac ggc gaa ggc 432

Arg Lys Leu Lys Pro Thr His Val Glu Arg Thr Ile Tyr Gly Glu Gly

130 135 140

aac gga acc gat ttc ctc acg cac gac ttc gcg ttc gga cgc gtc ggt 480

Asn Gly Thr Asp Phe Leu Thr His Asp Phe Ala Phe Gly Arg Val Gly

145 150 155 160

gga ttg aac tgc tgg gaa cat atg caa ccg ctc agc aag ttc atg atg	528
Gly Leu Asn Cys Trp Glu His Met Gln Pro Leu Ser Lys Phe Met Met	
165 170 175	
tac agc ctc ggt gag cag gtc cac gtt gca tcg tgg ccg gcg atg tcc	576
Tyr Ser Leu Gly Glu Gln Val His Val Ala Ser Trp Pro Ala Met Ser	
180 185 190	
cct ctt cag ccg gat gtt ttc caa ctg agc atc gaa gcc aac gcg acg	624
Pro Leu Gln Pro Asp Val Phe Gln Leu Ser Ile Glu Ala Asn Ala Thr	
195 200 205	
gtc acc cgc tcg tac gca atc gaa ggc caa acc ttt gtg ctt tgc tcg	672
Val Thr Arg Ser Tyr Ala Ile Glu Gly Gln Thr Phe Val Leu Cys Ser	
210 215 220	
acg cag gtg atc gga cct agc gcg atc gaa acg ttc tgc ctc aac gac	720
Thr Gln Val Ile Gly Pro Ser Ala Ile Glu Thr Phe Cys Leu Asn Asp	
225 230 235 240	
gaa cag cgc gca ctg ttg ccg caa gga tgt ggc tgg gcg cgc att tac	768
Glu Gln Arg Ala Leu Leu Pro Gln Gly Cys Gly Trp Ala Arg Ile Tyr	
245 250 255	
ggc ccg gat gga agc gag ctt gcg aag cct ctg gcg gaa gat gct gag	816
Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu	
260 265 270	
ggg atc ttg tac gca gag atc gat ctg gag cag att ctg ctg gcg aag	864
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys	
275 280 285	
gct gga gcc gat ccg gtc ggg cac tat tcg cgg cct gac gtg ctg tcg	912
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser	
290 295 300	
gtc cag ttc gac ccg cgc aat cat acg cca gtt cat cgc atc ggc att	960
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile	
305 310 315 320	
gac ggt cgc ttg gat gtg aat acc cgc agt cgc gtg gag aat ttc cga	1008
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg	
325 330 335	
ctg cga caa gcg gct gag cag gag cgt cag gca tcc aag cgg ctc gga	1056
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly	
340 345 350	
acg aaa ctc ttt gaa caa tcc ctt ctg gct gaa gaa ccg gtc cca gca	1104
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala	
355 360 365	

aag tag 1110
Lys

<210>47

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>47

```

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

```

225						230						235						240
Glu	Gln	Arg	Ala	Leu	Leu	Pro	Gln	Gly	Cys	Gly	Trp	Ala	Arg	Ile	Tyr			
					245						250						255	
Gly	Pro	Asp	Gly	Ser	Glu	Leu	Ala	Lys	Pro	Leu	Ala	Glu	Asp	Ala	Glu			
					260						265						270	
Gly	Ile	Leu	Tyr	Ala	Glu	Ile	Asp	Leu	Glu	Gln	Ile	Leu	Leu	Ala	Lys			
					275						280						285	
Ala	Gly	Ala	Asp	Pro	Val	Gly	His	Tyr	Ser	Arg	Pro	Asp	Val	Leu	Ser			
					290						295						300	
Val	Gln	Phe	Asp	Pro	Arg	Asn	His	Thr	Pro	Val	His	Arg	Ile	Gly	Ile			
305					310					315					320			
Asp	Gly	Arg	Leu	Asp	Val	Asn	Thr	Arg	Ser	Arg	Val	Glu	Asn	Phe	Arg			
					325						330						335	
Leu	Arg	Gln	Ala	Ala	Glu	Gln	Glu	Arg	Gln	Ala	Ser	Lys	Arg	Leu	Gly			
					340						345						350	
Thr	Lys	Leu	Phe	Glu	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Glu	Glu	Pro	Val	Pro	Ala			
355					360					365								
Lys																		

<210>48

 $\langle 211 \rangle 1110$

<212>DNA

〈213〉 敏捷食酸菌 72W

 $\langle 220 \rangle$ $\langle 221 \rangle$ CDS $\langle 222 \rangle (1) \dots (1110)$ $\langle 400 \rangle_{48}$

atg gtt tcg tat aac agc aag ttc ctc gcg gca acc gtt cag gca gag	48
Met Val Ser Tyr Asn Ser Lys Phe Leu Ala Ala Thr Val Gln Ala Glu	
1 5 10 15	
cgc gta tgg ctg gac gca gac gca acg atc gac aag tcg atc gcc atc	96
Pro Val Trp Leu Asp Ala Asp Ala Thr Ile Asp Lys Ser Ile Gly Ile	
20 25 30	
atc gaa gaa gct gcc caa aag gcc gcg agt ctg atc gct ttc ccg gaa	144
Ile Glu Glu Ala Ala Gln Lys Gly Ala Ser Leu Ile Ala Phe Pro Glu	
35 40 45	
gta ttc att ccg gcc tac ccc tat tgg gcg tgg ctg gcc gac gtg aag	192

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

Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu	
260 265 270	
ggg atc ttg tac gca gag atc gat ctg gag cag att ctg ctg gcg aag	864
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys	
275 280 285	
gct gga gcc gat ccg gtc ggg cac tat tcg cgg cct gac gtg ctg tcg	912
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser	
290 295 300	
gtc cag ttc gac ccg cgc aat cat acg cca gtt cat cgc atc ggc att	960
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile	
305 310 315 320	
gac ggt cgc ttg gat gtg aat acc cgc agt cgc gtg gag aat ttc cga	1008
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg	
325 330 335	
ctg cga caa gcg gct gag cag gag cgt cag gca tcc aag cgg ctc gga	1056
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly	
340 345 350	
acg aaa ctc ttt gaa caa tcc ctt ctg gct gaa gaa ccg gtc cca gca	1104
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala	
355 360 365	
aag tag	1110
Lys	
<210>49	
<211>369	
<212>PRT	
<213> 敏捷食酸菌 72W	
<400>49	

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

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

<210>50

<211>1110

<212>DNA

<213> 敏捷食酸菌 72W

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1110)

<400>50

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

Gly	Leu	Asn	Cys	Trp	Glu	His	Val	Gln	Pro	Leu	Ser	Lys	Phe	Met	Met		
				165				170				175					
tac	agc	ctc	ggt	gag	cag	gtc	cac	gtt	gca	tcg	tgg	ccg	gcg	atg	tcc	576	
Tyr	Ser	Leu	Gly	Glu	Gln	Val	His	Val	Ala	Ser	Trp	Pro	Ala	Met	Ser		
				180				185				190					
cct	ctt	cag	ccg	gat	gtt	ttc	caa	ctg	agc	atc	gaa	gcc	aac	gcg	acg	624	
Pro	Leu	Gln	Pro	Asp	Val	Phe	Gln	Leu	Ser	Ile	Glu	Ala	Asn	Ala	Thr		
				195				200				205					
gtc	acc	cgc	tcg	tac	gca	atc	gaa	ggc	caa	acc	ttt	gtg	ctt	tgc	tcg	672	
Val	Thr	Arg	Ser	Tyr	Ala	Ile	Glu	Gly	Gln	Thr	Phe	Val	Leu	Cys	Ser		
				210				215				220					
acg	cag	gtg	atc	gga	cct	agc	gcg	atc	gaa	acg	ttc	tgc	ctc	aac	gac	720	
Thr	Gln	Val	Ile	Gly	Pro	Ser	Ala	Ile	Glu	Thr	Phe	Cys	Leu	Asn	Asp		
				225				230				235				240	
gaa	cag	cgc	gca	ctg	ttg	ccg	caa	gga	tgt	ggc	tgg	gcg	cgc	att	tac	768	
Glu	Gln	Arg	Ala	Leu	Leu	Pro	Gln	Gly	Cys	Gly	Trp	Ala	Arg	Ile	Tyr		
				245				250				255					
ggc	ccg	gat	gga	agc	gag	ctt	gcg	aag	cct	ctg	gcg	gaa	gat	gct	gag	816	
Gly	Pro	Asp	Gly	Ser	Glu	Leu	Ala	Lys	Pro	Leu	Ala	Glu	Asp	Ala	Glu		
				260				265				270					
ggg	atc	ttg	tac	gca	gag	atc	gat	ctg	gag	cag	att	ctg	ctg	gcg	aag	864	
Gly	Ile	Leu	Tyr	Ala	Glu	Ile	Asp	Leu	Glu	Gln	Ile	Leu	Leu	Ala	Lys		
				275				280				285					
gct	gga	gcc	gat	ccg	gtc	ggg	cac	tat	tcg	cgg	cct	gac	gtg	ctg	tcg	912	
Ala	Gly	Ala	Asp	Pro	Val	Gly	His	Tyr	Ser	Arg	Pro	Asp	Val	Leu	Ser		
				290				295				300					
gtc	cag	ttc	gac	ccg	cgc	aat	cat	acg	cca	gtt	cat	cgc	atc	ggc	att	960	
Val	Gln	Phe	Asp	Pro	Arg	Asn	His	Thr	Pro	Val	His	Arg	Ile	Gly	Ile		
				305				310				315				320	
gac	ggt	cgc	ttg	gat	gtg	aat	acc	cgc	agt	cgc	gtg	gag	aat	ttc	cga	1008	
Asp	Gly	Arg	Leu	Asp	Val	Asn	Thr	Arg	Ser	Arg	Val	Glu	Asn	Phe	Arg		
				325				330				335					
ctg	cga	caa	gcg	gct	gag	cag	gag	cgt	cag	gca	tcc	aag	cgg	ctc	gga	1056	
Leu	Arg	Gln	Ala	Ala	Glu	Gln	Glu	Arg	Gln	Ala	Ser	Lys	Arg	Leu	Gly		
				340				345				350					
acg	aaa	ctc	ttt	gaa	caa	tcc	ctt	ctg	gct	gaa	gaa	ccg	gtc	cca	gca	1104	
Thr	Lys	Leu	Phe	Glu	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Glu	Glu	Pro	Val	Pro	Ala		
				355				360				365					
aag tag																1110	

Lys

<210>51

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>51

```

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

```

Glu Gln Arg Ala Leu Leu Pro Gln Gly Cys Gly Trp Ala Arg Ile Tyr	
245	250 255
Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu	
260	265 270
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys	
275	280 285
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser	
290	295 300
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile	
305	310 315 320
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg	
325	330 335
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly	
340	345 350
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala	
355	360 365

Lys

<210>52

<211>1110

<212>DNA

<213> 敏捷食酸菌 72W

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1110)

<400>52

atg gtt tcg tat aac agc aag ttc ctc gcg gca acc gtt cag gca gag	48
Met Val Ser Tyr Asn Ser Lys Phe Leu Ala Ala Thr Val Gln Ala Glu	
1 5 10 15	
ccg gta tgg ctc gac gca gac gca acg atc gac aag tcg atc ggc atc	96
Pro Val Trp Leu Asp Ala Asp Ala Thr Ile Asp Lys Ser Ile Gly Ile	
20 25 30	
atc gaa gaa gct gcc caa aag ggc gcg agt ctg atc gct ttc ccg gaa	144
Ile Glu Glu Ala Ala Gln Lys Gly Ala Ser Leu Ile Ala Phe Pro Glu	
35 40 45	
gta ttc att ccg ggc tac ccc tat tgg gcg tgg ctc ggc gac gtg aag	192
Val Phe Ile Pro Gly Tyr Pro Tyr Trp Ala Trp Leu Gly Asp Val Lys	
50 55 60	

tac agc cta agc ttt act tca cgc tat cac gag aat tcg ttg gag cta	240
Tyr Ser Leu Ser Phe Thr Ser Arg Tyr His Glu Asn Ser Leu Glu Leu	
65 70 75 80	
ggt gac gac cgt atg cgt cgc ctc cag ctg gcc gcg cgc cgc aac aaa	288
Gly Asp Asp Arg Met Arg Arg Leu Gln Leu Ala Ala Arg Arg Asn Lys	
85 90 95	
atc gca ctc gtc atg ggc tat tcg gag cgg gaa gcc gga tcg cgc tat	336
Ile Ala Leu Val Met Gly Tyr Ser Glu Arg Glu Ala Gly Ser Arg Tyr	
100 105 110	
ctg agc cag gtg ttc atc gac gag cgt ggc gag atc gtt gcc aat cgg	384
Leu Ser Gln Val Phe Ile Asp Glu Arg Gly Glu Ile Val Ala Asn Arg	
115 120 125	
cgc aag ctg aag ccc aca cac gtt gag cgt acg atc tac ggc gaa ggc	432
Arg Lys Leu Lys Pro Thr His Val Glu Arg Thr Ile Tyr Gly Glu Gly	
130 135 140	
aac gga acc gat ttc ctc acg cac gac ttc gcg ttc gga cgc gtc ggt	480
Asn Gly Thr Asp Phe Leu Thr His Asp Phe Ala Phe Gly Arg Val Gly	
145 150 155 160	
gga ttg aac tgc tgg gaa cat ttc caa ccg ctc agc aag ttc atg atg	528
Gly Leu Asn Cys Trp Glu His Phe Gln Pro Leu Ser Lys Phe Met Met	
165 170 175	
tac agc ctc ggt gag cag gtc cac gtt gca tcg tgg ccg gcg atg tcc	576
Tyr Ser Leu Gly Glu Gln Val His Val Ala Ser Trp Pro Ala Met Ser	
180 185 190	
cct ctt cag ccg gat gtt ttc caa ctg agc atc gaa gcc aac gcg acg	624
Pro Leu Gln Pro Asp Val Phe Gln Leu Ser Ile Glu Ala Asn Ala Thr	
195 200 205	
gtc gcc cgc tcg tac gca atc gaa ggc caa acc ttt gtg ctt tgc tcg	672
Val Ala Arg Ser Tyr Ala Ile Glu Gly Gln Thr Phe Val Leu Cys Ser	
210 215 220	
acg cag gtg atc gga cct agc gcg atc gaa acg ttc tgc ctc aac gac	720
Thr Gln Val Ile Gly Pro Ser Ala Ile Glu Thr Phe Cys Leu Asn Asp	
225 230 235 240	
gaa cag cgc gca ctg ttg ccg caa gga tgt ggc tgg gcg cgc att tac	768
Glu Gln Arg Ala Leu Leu Pro Gln Gly Cys Gly Trp Ala Arg Ile Tyr	
245 250 255	
ggc ccg gat gga agc gag ctt gcg aag cct ctg gcg gaa gat gct gag	816
Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu	
260 265 270	

ggg atc ttg tac gca gag atc gat ctg gag cag att ctg ctg gcg aag	864
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys	
275 280 285	
gct gga gcc gat ccg gtc ggg cac tat tcg cgg cct gac gtg ctg tcg	912
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser	
290 295 300	
gtc cag ttc gac ccg cgc aat cat acg cca gtt cat cgc atc ggc att	960
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile	
305 310 315 320	
gac ggt cgc ttg gat gtg aat acc cgc agt cgc gtg gag aat ttc cga	1008
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg	
325 330 335	
ctg cga caa gcg gct gag cag gag cgt cag gca tcc aag cgg ctc gga	1056
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly	
340 345 350	
acg aaa ctc ttt gaa caa tcc ctt ctg gct gaa gaa ccg gtc cca gca	1104
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala	
355 360 365	
aag tag	1110
Lys	

<210>53

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>53

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

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

<210>54

<211>1110

<212>DNA

<213> 敏捷食酸菌 72W

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1110)

<400>54

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

Gly	Leu	Asn	Cys	Trp	Glu	His	Phe	Gln	Pro	Leu	Ser	Lys	Phe	Met	Met	
165				170				175								
tac	agc	ctc	ggt	gag	cag	gtc	cac	gtt	gca	tcg	tgg	ccg	gcg	atg	tcc	576
Tyr	Ser	Leu	Gly	Glu	Gln	Val	His	Val	Ala	Ser	Trp	Pro	Ala	Met	Ser	
180				185				190								
cct	ctt	cag	ccg	gat	gtt	ttc	caa	ctg	agc	atc	gaa	gcc	aac	gcg	acg	624
Pro	Leu	Gln	Pro	Asp	Val	Phe	Gln	Leu	Ser	Ile	Glu	Ala	Asn	Ala	Thr	
195				200				205								
gtc	tgc	cgc	tcg	tac	gca	atc	gaa	ggc	caa	acc	ttt	gtg	ctt	tgc	tcg	672
Val	Cys	Arg	Ser	Tyr	Ala	Ile	Glu	Gly	Gln	Thr	Phe	Val	Leu	Cys	Ser	
210				215				220								
acg	cag	gtg	atc	gga	cct	agc	gcg	atc	gaa	acg	ttc	tgc	ctc	aac	gac	720
Thr	Gln	Val	Ile	Gly	Pro	Ser	Ala	Ile	Glu	Thr	Phe	Cys	Leu	Asn	Asp	
225				230				235				240				
gaa	cag	cgc	gca	ctg	ttg	ccg	caa	gga	tgt	ggc	tgg	gcg	cgc	att	tac	768
Glu	Gln	Arg	Ala	Leu	Leu	Pro	Gln	Gly	Cys	Gly	Trp	Ala	Arg	Ile	Tyr	
245				250				255								
ggc	ccg	gat	gga	agc	gag	ctt	gcg	aag	cct	ctg	gcg	gaa	gat	gct	gag	816
Gly	Pro	Asp	Gly	Ser	Glu	Leu	Ala	Lys	Pro	Leu	Ala	Glu	Asp	Ala	Glu	
260				265				270								
ggg	atc	ttg	tac	gca	gag	atc	gat	ctg	gag	cag	att	ctg	ctg	gcg	aag	864
Gly	Ile	Leu	Tyr	Ala	Glu	Ile	Asp	Leu	Glu	Gln	Ile	Leu	Leu	Ala	Lys	
275				280				285								
gct	gga	gcc	gat	ccg	gtc	ggg	cac	tat	tcg	cgg	cct	gac	gtg	ctg	tcg	912
Ala	Gly	Ala	Asp	Pro	Val	Gly	His	Tyr	Ser	Arg	Pro	Asp	Val	Leu	Ser	
290				295				300								
gtc	cag	ttc	gac	ccg	cgc	aat	cat	acg	cca	gtt	cat	cgc	atc	ggc	att	960
Val	Gln	Phe	Asp	Pro	Arg	Asn	His	Thr	Pro	Val	His	Arg	Ile	Gly	Ile	
305				310				315				320				
gac	ggt	cgc	ttg	gat	gtg	aat	acc	cgc	agt	cgc	gtg	gag	aat	ttc	cga	1008
Asp	Gly	Arg	Leu	Asp	Val	Asn	Thr	Arg	Ser	Arg	Val	Glu	Asn	Phe	Arg	
325				330				335								
ctg	cga	caa	gcg	gct	gag	cag	gag	cgt	cag	gca	tcc	aag	cgg	ctc	gga	1056
Leu	Arg	Gln	Ala	Ala	Glu	Gln	Glu	Arg	Gln	Ala	Ser	Lys	Arg	Leu	Gly	
340				345				350								
acg	aaa	ctc	ttt	gaa	caa	tcc	ctt	ctg	gct	gaa	gaa	ccg	gtc	cca	gca	1104
Thr	Lys	Leu	Phe	Glu	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Glu	Glu	Pro	Val	Pro	Ala	
355				360				365								
aag	tag															1110

Lys

<210>55

<211>369

<212>PRT

<213> 敏捷食酸菌 72W

<400>55

```

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

```

Glu Gln Arg Ala Leu Leu Pro Gln Gly Cys Gly Trp Ala Arg Ile Tyr	
245	250 255
Gly Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Lys Pro Leu Ala Glu Asp Ala Glu	
260	265 270
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys	
275	280 285
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser	
290	295 300
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile	
305	310 315 320
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg	
325	330 335
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly	
340	345 350
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Pro Ala	
355	360 365
Lys	

<210>56

<211>1110

<212>DNA

<213> 大肠杆菌 SS1001

<220>

<221>CDS

<222>(1).. (1110)

<400>56

atg gtt tcg tat aac agc aag ttc ctc gcg gca acc gtt cag gca gag	48
Met Val Ser Tyr Asn Ser Lys Phe Leu Ala Ala Thr Val Gln Ala Glu	
1 5 10 15	
ccg gta tgg ctc gac gca gac gca acg atc gac aag tcg atc ggc atc	96
Pro Val Trp Leu Asp Ala Asp Ala Thr Ile Asp Lys Ser Ile Gly Ile	
20 25 30	
atc gaa gaa gct gcc caa aag ggc gcg agt ctg atc gct ttc ccg gaa	144
Ile Glu Glu Ala Ala Gln Lys Gly Ala Ser Leu Ile Ala Phe Pro Glu	
35 40 45	
gta ttc att ccg ggc tac ccc tat tgg gcg tgg ctc ggc gac gtg aag	192
Val Phe Ile Pro Gly Tyr Pro Tyr Trp Ala Trp Leu Gly Asp Val Lys	

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

260	265	270	
ggg atc ttg tac gca gag atc gat ctg gag cag att ctg ctg gcg aag			864
Gly Ile Leu Tyr Ala Glu Ile Asp Leu Glu Gln Ile Leu Leu Ala Lys			
275	280	285	
gct gga gcc gat ccg gtc ggg cac tat tcg cgg cct gac gtg ctg tcg			912
Ala Gly Ala Asp Pro Val Gly His Tyr Ser Arg Pro Asp Val Leu Ser			
290	295	300	
gtc cag ttc gac ccg cgc aat cat acg cca gtt cat cgc ate ggc att			960
Val Gln Phe Asp Pro Arg Asn His Thr Pro Val His Arg Ile Gly Ile			
305	310	315	320
gac ggt cgc ttg gat gtg aat acc cgc agt cgc gtg gag aat ttc cga			1008
Asp Gly Arg Leu Asp Val Asn Thr Arg Ser Arg Val Glu Asn Phe Arg			
325	330	335	
ctg cga caa gcg gct gag cag gag cgt cag gca tcc aag cgg ctc gga			1056
Leu Arg Gln Ala Ala Glu Gln Glu Arg Gln Ala Ser Lys Arg Leu Gly			
340	345	350	
acg aaa ctc ttt gaa caa tcc ctt ctg gct gaa gaa ccg gtc tca gca			1104
Thr Lys Leu Phe Glu Gln Ser Leu Leu Ala Glu Glu Pro Val Ser Ala			
355	360	365	
aag tag			1110
Lys			

<210>57

<211>369

<212>PRT

<213> 大肠杆菌 SS1001

<400>57

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

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

CLUSTAL W (1.83) 多个序列比对

```

SEQ ID NO:4      -----MVSNSKFLAATVQAEPVWLDADATIDKSIGIIIEAAQKASLIAFPEVF
SEQ ID NO:5      -----MQTRKIVRAAAVQAASPNYDLATGVDKTIELARQARDEGCDLIVFGETW
SEQ ID NO:6      -----MVEYNTFKVAAVQAQPVWFDAAKTVDKTVSIIIEAARNGCCELVAFFPEVF
SEQ ID NO:7      -----MSSNPCLKYTKVKVATVQAEPVILDADATIDKAIGFIEEAAKNGAEFLAFFPEVW
SEQ ID NO:8      -----MKVATVQAEPVILDADATIDKAIGYIEEASKNGAEFLAFFPEVW
SEQ ID NO:9      -----MTTHRIAVIQDGPVPGDAMATAEKMSRLAASAKAQCARLALFPEAF
SEQ ID NO:10     MSTSENTPFNGVASSTIVRATIVQASTVYNDTPATLEKANKFIVEAAKSGSELVVFPEAF
SEQ ID NO:11     -----MADKIIVAAAQIRPVLFSLSGSVARVLAAMAEAAAAGVQLIVFPETF
SEQ ID NO:12     -----MADKIIVAAAQIRPVLFSLSGSVARVLAAMAEAAAAGVQLIVFPETF
SEQ ID NO:13     -----MLGKIMLNYTKNIRAAAQISPVLFSSQGTMEKVLDAIANAAKKGVELIVFPETF
SEQ ID NO:14     -----MPKSIVAALQVGSLEPGKAATLEQILGYEQAIIEAGARLVVMPEAL
SEQ ID NO:15     -----MSCHRVAVIQAGTSLFDTEKTLDRMEALCRQAAEQNVELAVFPEAY
SEQ ID NO:16     -----MSNYPKYRVAAVQAAPVLLDLDTIDKTCRLVDEAAANGAKVIAFPEAF
SEQ ID NO:17     -----MKNYPTVKVAAVQAAPVFMNLEATVDKTKLIAEAAASMGAKVIGFPEAF
SEQ ID NO:18     -----MTTVKVAQAQIRPVLFSLDGSLOKVLDAAMAEAAAQGVLELIVFPETF
SEQ ID NO:19     -----MPKSVAALQIGALPEGKAATLEQILSYEAAIIEAGAQLVVMPEAL
SEQ ID NO:20     -----MSQDSFRAAAVQAAPVWLDGAATVCKVALIEEADNGAALIAFPETF
SEQ ID NO:21     -----MQTRKIVRAAAVQAASPNYDLATGVDKTIELARQARDEGCDLIVFGETW
SEQ ID NO:22     -----MKEPLKVCVQAAPVFLDLDTATVDKTTILMEQAAAAGAGLIAFPETW
SEQ ID NO:23     -----LAHPKYKVAVQAAPAWLDDASIKKTIALIEEAAADKGAKLIAFPETW
SEQ ID NO:24     -----MVEYNTFKVAAVQAQPVWFDAAKTVDKTVSIIIEAARNGCCELVAFFPEVF
SEQ ID NO:25     -----MVEYNTFKVAAVQAQPVWFDAAKTVDKTVSIIIEAARNGCCELVAFFPEVF

```

图 1A

SEQ ID NO: 4	IPGYP-----YAWLGDVKYSL--FTSRYHENSLEGLDDRMRLQLAARNKIALVMGYS
SEQ ID NO: 5	LPGYP-----FHVWLGAPAWSLK--YSARYYANSLSLDSAEFORIAQAARTLGFIALGYS
SEQ ID NO: 6	IPGYP-----YHIWVDSPLAGMAK--FAVRYHENSLSLDSAEFORIAQAARTLGFIALGYS
SEQ ID NO: 7	IPGYP-----YAWIGDVKWAVSD-FIPKYHENSLSLDSAEFORIAQAARTLGFIALGYS
SEQ ID NO: 8	IPGYP-----YAWIGDVKWAVSE-FIPKYHENSLSLDSAEFORIAQAARTLGFIALGYS
SEQ ID NO: 9	VGGYPKGADFHIFLGRTPOGRA-QYQRYAETAIAVPGPVTERRIGQIAAEQDMFIVVGV
SEQ ID NO: 10	IGGYPGRGFRGLGVGHNEEGRD-EFRKYHASAIKVPGEVEKLAELAGKNNVYLVMGAI
SEQ ID NO: 11	LPYYP-----YFSEVEPPVLMGRS--HLKLYEQAFMTGPELQIARAARQHRLFVLLGVN
SEQ ID NO: 12	LPYYP-----YFSEVEPPVLMGRS--HLKLYEQAFMTGPELQIARAARQHRLFVLLGVN
SEQ ID NO: 13	VPYYP-----YFSEVEPPVLMGKS--HLKLYQEAVTPGKVTQAIQAARKTHGMVVLGVN
SEQ ID NO: 14	LGYPKGEFGTQLGYRLPEGRE-AFARYFANAIDVPGSETAALAGLSARTCASLVLGVI
SEQ ID NO: 15	IGGYPKGLDFGARMGTRTEAGRE-DFLRYWKAIDVPGKETARIGSFRAKMKAYLVVGV
SEQ ID NO: 16	IPGYP-----WWIWLGNADYGMK--YYIQLYKNSVEIPSLAVQKLSAG-TNKVYFCVSVT
SEQ ID NO: 17	IPGYP-----YWIWTSNMDFTGM--MWAVLFKNAIEIPSEVQQISDAKKNGVYVCSVS
SEQ ID NO: 18	LPYYP-----YFSEVEPPVLMGRS--HLALYEQAVVPGPVTDAVAAAASOYGMQVLLGVN
SEQ ID NO: 19	LGYPKGEFGTQLGYRLPEGRE-AFARYFANAIEVPGVETDALAALSARTGANLVLGVI
SEQ ID NO: 20	VPGYP-----WWLWLDSPAWMQ--FVARYFDNSLALDGPLFARLREARRSAITVVTGHS
SEQ ID NO: 21	LPGYP-----FHVWLGAPAWSLK--YSARYYANSLSLDSAEFORIAQAARTLGFIALGYS
SEQ ID NO: 22	IPGYP-----WFLWLDAPAWNMP--LVQRYHQQLSLVDSVQARRISDAARHGLYVVLGYS
SEQ ID NO: 23	IPGYP-----WHIWMDSPAWCIGRGFQRYFDNSLAYDSPQAEALRAAVPKAQLTAVLGLS
SEQ ID NO: 24	IPGYP-----YHIWVDSPLAGMAK--FAVRYHENSLSLDSAEFORIAQAARTLGFIALGYS
SEQ ID NO: 25	IPGYP-----YHIWVDSPLAGMAK--FAVRYHENSLSLDSAEFORIAQAARTLGFIALGYS

: ** : : : : :

图 1B

SEQ ID NO:4	EREAGSRYLSQVFIDERGEIVANRRRLKPTHVERTIYGEENGTDFTLTHDFA-FGRVGGN
SEQ ID NO:5	ERSGSLYLGQCLIDDKGQMLWSRRRLKPTHVERTVCEGYARDLIVSDTE-LGRVGALC
SEQ ID NO:6	ERDGSLYMTQLVIDADQQLVARRRLKPTHVERTSVCEGNGSDISVYDMP-FARLGALN
SEQ ID NO:7	EKDASRYLSQVFIDQNGDIVANRRRLKPTHVERTIYGEENGTDFTLTHDFG-FGRVGGN
SEQ ID NO:8	EKDASRYLSQVFIDQNGDIVANRRRLKPTHVERTIYGEENGTDFTLTHDFG-FGRVGGN
SEQ ID NO:9	ERDGTLYCTILFFSPEGELGKHKRLMPTALERLLWYGDGSTFPVYDTP-LGKLGAVY
SEQ ID NO:10	EKDYTLYCTALFFSPQOQFLGKHKRLMPTSLERCWQCGDGTIPVYDTP-IGKLGAAI
SEQ ID NO:11	ERDGSLYNTQLLISDQDGLLLKRRKITPTYHERMVWQCGGAGLTIVVETV-LGKVGALA
SEQ ID NO:12	ERDGSLYNTQLLISDQDGLLLKRRKITPTYHERMVWQCGGAGLTIVVETV-LGKVGALA
SEQ ID NO:13	EREGSLYNTQLIFDADGALVLKRRKITPTYHERMVWQCGDAGLRIVDTT-VGRLGALA
SEQ ID NO:14	ERSGNTLYCTVLFEPPEGGLVAKHKRLMPTGTERLLWKGCGDSTLPVVDGR-AGRIGAAV
SEQ ID NO:15	ERSEATLYCTALFFAPDGTLLIGKHKRLMPTATERLLWQCGDGTIEILDTA-VGKLGAAI
SEQ ID NO:16	EKDGSLYLTQLWFDPNGLIGKHKRLKATNAEKTWGDGDSMPVFETE-FGNLGGLO
SEQ ID NO:17	EKDNASLYLTQLWFDPNGLIGKHKRFKPTSSERAVWGDGDSMAPVFETE-YGNLGGLO
SEQ ID NO:18	ERDGTLYNTQLLENSCGELVLKRRKITPTYHERMVWQCGDGSGLKVQTP-LARVEALA
SEQ ID NO:19	ERSGTYLYCTALYFDPQOGLSGKHKRLMPTGTERLLWKGCGDSTLPVLDTP-VGRVGNVI
SEQ ID NO:20	ERDGSLYMGQAIIGADGEVLAARRKLKPTHVERTVCESDGSLNLTIVDTE-LGRLGALC
SEQ ID NO:21	ERSGSLYLGQCLIDDKGEMLSRRRLKPTHVERTVCEGYARDLIVSDTE-LGRVGCALC
SEQ ID NO:22	ERNKASLYIGQWIIDDHGETVGVRRKLKATHVERTMCEGDGASLRTFETP-VGVLGALC
SEQ ID NO:23	ERDGSLYIAQWLIGADGETIAKRRKLKPTHVERTVYCEGDGSDLAHERPDIGRIGALC
SEQ ID NO:24	ERDGSLYMTQLIIDADQQLVARRRLKPTHVERTSVYCEGNGSDISVYDMP-FARLGALN
SEQ ID NO:25	ERDGSLYMTQLIIDADQQLVARRRLKPTHVERTSVYCEGNGSDISVYDMP-FARLGALN

图 1C

SEQ ID NO:4	CWEHFQPLSKFMMYSLGEQVHVASWPAMPPLQPDVFLQSLSEANATV-----TRSYAIE
SEQ ID NO:5	CWEHLSPLSKYALYSQHEAIIHAAWPSFSLYSEQAHLSAKVNMAA-----SQIYSVE
SEQ ID NO:6	CWEHFQPLTKYAMYSMHEQVHVASWPGMSLYQPEVPFVGVDQAQLTA-----TRMYALE
SEQ ID NO:7	CWEHFQPLSKYMMYSLNEQIHVASWPAMFALTPDVHQLSVEANDTV-----TRSYAIE
SEQ ID NO:8	CWEHFQPLSKYMMYSLNEQIHVASWPAMFALTPDVHQLSVEANDTV-----TRSYAIE
SEQ ID NO:9	CWEHNPFLRMAMYGKQIQIYCAPTADCKPTWVSTMQ-----HVALE
SEQ ID NO:10	CWEHNPFLYRTALYAKGIELYHCAQFPGSLVGPISFSEQTAVT-----HIAIE
SEQ ID NO:11	CWEHNPFLARFSLMTQGEELHCAQFPGSLVGPISFSEQTAVT-----LRHHALE
SEQ ID NO:12	CWEHNPFLARFSLMTQGEELHCAQFPGSLVGPISFSEQTAVT-----LRHHALE
SEQ ID NO:13	CWEHNPFLARYALMAQHEQHCGQFPGSMVQGFADQMEVT-----MRHHALE
SEQ ID NO:14	CWEHNPFLRTAMYAKGVQLWCAPTVDRELWQVSMR-----HVALE
SEQ ID NO:15	CWEHNPFLRQVMYAGGVNIWCAPTVDQREIWQVSMR-----HIAIE
SEQ ID NO:16	CWEHNPFLNVAAMASMNEQVHVASWPICMPQ--EGHLFGPEQCVTA-----TKYYAIS
SEQ ID NO:17	CWEHNPFLNVAAMASMNEQVHVASWPICMPQ--EGHLFGPEQCVTA-----TKYYAIS
SEQ ID NO:18	CWEHNPFLARYALMAQGEELHCAQFPGSLVGPISFSEQTAVT-----MRHHALE
SEQ ID NO:19	CWEHNPFLRTAMYAGGIEVWCAPTVDREMWQVSMR-----HIAIE
SEQ ID NO:20	CWEHNPFLTKYAMYSQHEQHVAAPSFVSRYGAAVALGPEVNTGA-----ARQYAVE
SEQ ID NO:21	CWEHLSPLSKYALYSQHEAIIHAAWPSFSLYSEQAHLSAKVNMAA-----SQIYSVE
SEQ ID NO:22	CWEHNPFLSKYAMYAQNEQHVAAPSFVSRYGAAVALGPEVNTGA-----SRVYAAE
SEQ ID NO:23	CWEHNPFLSKYAMYAQNEQHVAAPSFVSRYGAAVALGPEVNTGA-----SRVYAAE
SEQ ID NO:24	CWEHFQPLTKYAMYSMHEQVHVASWPGMSLYQPEVPFVGVDQAQLTA-----TRMYALE
SEQ ID NO:25	CWEHFQPLTKYAMYSMHEQVHVASWPGMSLYQPEVPFVGVDQAQLTA-----TRMYALE

图 1D

SEQ ID NO:4	GQTFVLCSTQVIG----	PSAIETFCINDE--QRALLPQCGGWARIY	PGDGS	ELAKPLAED
SEQ ID NO:5	GQCFTIAASSVVT----	QETLDMLEVEGH--NASLLKVGSSSMIFAPD	GRTLAPYLPHD	
SEQ ID NO:6	GQTFVVCCTTQVVT----	PEAHEFFCNDDE--QRKLIGRGGGFARI	IGPDRDLATPLAED	
SEQ ID NO:7	GQTFVLAATHVIG----	KATQDLFAGDDDA--KRALLPLCQGWARIY	PGDKSLAELPED	
SEQ ID NO:8	GQTFVLAATHVIG----	KATQDLFAGDDDA--KRALLPLCQGWARIY	PGDKSLAELPED	
SEQ ID NO:9	GRCFVLSACQHLRGKDFPPEFHNA	LDVQ-----DTVLMRGGSCIVDMGOLL	AGPVY-D	
SEQ ID NO:10	GRCFVLSACQHLRGKDFPPEFHNA	LDVQ-----DTVLMRGGSCIVDMGOLL	AGPVY-D	
SEQ ID NO:11	AGCFVLSSTAWLD----	PADYDTITPDRS--LHKAFOGGCHTAII	SPEGRLAGPLP-E	
SEQ ID NO:12	AGCFVLSSTAWLD----	PADYDTITPDRS--LHKAFOGGCHTAII	SPEGRLAGPLP-E	
SEQ ID NO:13	SGCFVINATGWL-----	AEQKLQITIDEK---MQALSGGCYTAII	SPEGKHLCEPIA-E	
SEQ ID NO:14	GRCFVISACQVQ-----	DSPAALGMEVANWPA-----ERPLINGGSLIV	PLGDLVLAGPLL-G	
SEQ ID NO:15	GRLEFVLSACQYMTADAPADYDCIQ	GNDP-----ETELIAGGSVII	IDPMGNILAGPLY-G	
SEQ ID NO:16	NQVFCLLSSQIWT-----	EEQRDKICETEE--QRNFMKVGHGFSKII	APNGMEIGNKLAHD	
SEQ ID NO:17	NOVYVIMSTNLVG-----	QDMIDMIGKDEF--SKNFLPLGSGNTAII	SNTG-EILASIPQD	
SEQ ID NO:18	AGCFVICSTGWLH-----	PDDYASITSESG---LHKAFOGGCHTAII	SPEGRLAGPLP-D	
SEQ ID NO:19	GRCFVVSACQVQ-----	ASPEELGLEIANWPA-----QRPLIAGGS	VIVGMGDVLAGPLV-G	
SEQ ID NO:20	GQCFVLSPCAVID-----	EAGVELFCITPA--KRELLPGGGFAQIY	PGDRELGTALPET	
SEQ ID NO:21	GQCFTIAASSVVT----	QETLDMLEVEGH--NAPLLKVGSSSMIFAPD	GRTLAPYLPHD	
SEQ ID NO:22	GQCFVLAPCAIVS-----	PEMIEMLCSDA--KRSLQAGGGHARIFG	PDGSDLATPLGEH	
SEQ ID NO:23	GSCFVLAPCATVS-----	QAMIDELCDRPD--KHALHAGGGHAAIFG	PDGSALAAQLPPD	
SEQ ID NO:24	GQTFVVCCTTQVVT----	PEAHEFFCNEEE--QRKLIGRGGGFARI	IGPDRDLATPLAED	
SEQ ID NO:25	GQTFVVCCTTQVVT----	PEAHEFFCNEEE--QRMLIGRGGGFARI	IGPDRDLATPLAED	

图 1E

```

SEQ ID NO:4 AEGILYAEIDLEQILLAKAGADPVGHYSRDPVLSVQFDPNRNHTPVHRIGIDGRLDVNTRS
SEQ ID NO:5 AEGLIADLNMEETAFKAINDPVGHYSKPEATRLVLDLGHREPMTRVHSHK---SVIQEE
SEQ ID NO:6 EEGILYADIDLSAITLAKQAADPVGHYSRDPVLSLNFNQRTTPVN-----TAISTI
SEQ ID NO:7 AEGILYAEIDLEQIILAKAAADPVGHYSRDPVLSLKDTRNHTPVQYITADGRTSLNSNS
SEQ ID NO:8 AEGILYAEIDLEQIIVAKAAADPVGHYSRDPVLSLKVDTNRNHTPVQYVTEGGSSLSNS
SEQ ID NO:9 EDAILVADIDLDVTRGKMDFDVVGHYARPDIFSLTVDERPKPVTTL-----K
SEQ ID NO:10 SEGLITADLDLGDVARAKLYFDSVGHYSRDPVLSLTVNEHPKPKVTFI-----S
SEQ ID NO:11 GEGLAIAEIDKSLITKRKRMMDSVGHYSRDPDLSLRINRSPATQVQAIG-----S
SEQ ID NO:12 GEGLAIAEIDKSLITKRKRMMDSVGHYSRDPDLSLRINRSPATQVQAIG-----S
SEQ ID NO:13 GEGLAIAEIDKSLITKRKRMMDSVGHYSRDPDLSLRINRSPATQVQAIG-----S
SEQ ID NO:14 ARGLVCAEVDDELVRARYDFDVVGHYARPDVLFELSVDERPRPGVR-----F
SEQ ID NO:15 QEGVLVADIDLSDTIKARYDLDSVGHYSRDPDIFEIKVDRQSHQVITDQ-----F
SEQ ID NO:16 EEGITYADIDLEQIIPGKFLIDSAGHYSTPGFSLSFDRTEKKPIKHIG-----E
SEQ ID NO:17 AEGIAVAEIDLNQIYCKWLLDPAGHYSTPGFSLSTFDQSEHVVPKKIG-----E
SEQ ID NO:18 GEGLAIAEIDLALITKRKRMMDSVGHYSRPELLSLQINSPPAVPVQNM-----S
SEQ ID NO:19 RAGLISAQIDTADLVARYDYDVVGHYARPDVLFELTVDRPRPGVR-----F
SEQ ID NO:20 EEGLVYADLEASAVAKSAADPVGHYSRDPVLSLQVLDLWDP---RPRSVMR-----Q
SEQ ID NO:21 AEGLIADLNMEETAFKAINDPVGHYSKPEATRLVLDLGHDPMTVRHSHK---SVTREE
SEQ ID NO:22 EEGILYATLDPAALTLAKVAADPVGHYSRDPVTRLMENP---NPTPCVV-----D
SEQ ID NO:23 QEGLLIAEIDLGMIAGIAKNAADPVGHYSRDPVTRLLINK---KPLNRVE-----H
SEQ ID NO:24 EEGILYADIDLSAITLAKQAADPVGHYSRDPVLSLNFNQRTTPVN-----TPLSTI
SEQ ID NO:25 EEGILYADIDLSAITLAKQAADPVGHYSRDPVLSLNFNQRTTPVN-----TPLSTI

```

图 1F

SEQ ID NO:4	RVENFRLRQAAEQERQASKRLGTLKFEQS-----LLAEEPVPK-----
SEQ ID NO:5	APEPHVQSTAAPVAVSQDSTLLVQEPS-----
SEQ ID NO:6	HATHTLVPSGALDGVRELNGADEQALPS-----THSDETDRTATSI
SEQ ID NO:7	RVENYRLHQIADIEKYENAEATPLDAPAP-----APEQKSGRAKAEA
SEQ ID NO:8	RVENYRLRQLADIEKYENADSATVPLDVTTPKQSGDVNANGNAKVTNTPSAKAKA
SEQ ID NO:9	P-----
SEQ ID NO:10	KVEKAEDDSNK-----
SEQ ID NO:11	AAALPELPNLEAAPAEATAEDYLHA-----
SEQ ID NO:12	AAALPELPNLEAAPAEATAEDYLHA-----
SEQ ID NO:13	VTPNAIPAVSDPELTETIEALPNNPIFSH-----
SEQ ID NO:14	IG-----
SEQ ID NO:15	SRDQATEKKPVSDSEISQLD-----
SEQ ID NO:16	SAQETVTYEEIQYGNKANVKVHS-----
SEQ ID NO:17	QTNHFISYEDLHEDKMDMLTIPRRRVATA-----
SEQ ID NO:18	TASVPLEPATATDALSSMEALNHV-----
SEQ ID NO:19	T-----
SEQ ID NO:20	VA-LSVASPAESAD-----DAEPAVR-----
SEQ ID NO:21	APEQGVQSKIASVAISHPQDSTLLVQEPS-----
SEQ ID NO:22	LPDLPISSSIELL-----RPDIALEV-----
SEQ ID NO:23	FS-LPVDSSAAALPGEAAVARDQSI-----
SEQ ID NO:24	HATHTFVPQFGALDGVRELNGADEQALPS-----THSDETDRTATIL
SEQ ID NO:25	HATHTFVPQFGALDGVRELNGADEQALPS-----THSDETDRTATIL

图 1G