

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2010143039/10, 20.03.2009

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
21.03.2008 US 61/038,520

(43) Дата публикации заявки: 27.04.2012 Бюл. № 12

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 21.10.2010(86) Заявка РСТ:  
US 2009/037853 (20.03.2009)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2009/117689 (24.09.2009)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул.Б.Спасская, 25, стр.3,  
ООО "Юридическая фирма Городисский и  
Партнеры", пат.пов. А.В.Мишу, рег.№ 364

(71) Заявитель(и):

ДАНИСКО ЮЭс ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

ПАУЭР Скотт Д. (US),  
КОЛДУЭЛЛ Роберт М. (US),  
ЛАНТЦ Сьюзанн Е. (US),  
ЛАРЕНАС Эдмунд А. (US)(54) **КОМПОЗИЦИИ, ОБОГАЩЕННЫЕ ГЕМИЦЕЛЛЮЛАЗОЙ, ДЛЯ УСКОРЕНИЯ  
ГИДРОЛИЗА БИОМАССЫ**(57) **Формула изобретения**

1. Композиция ферментной смеси для гидролиза смеси целлюлозных и гемицеллюлозных материалов, содержащая:

- (a) первую ферментную композицию, содержащую целлюлазу,
- (b) вторую ферментную композицию, содержащую по меньшей мере одну ксиланазу, выбранную из ксиланазы GH10 или GH11, и

(c) третью ферментную композицию, содержащую по меньшей мере одну дополнительную гемицеллюлазу, которая не представляет собой ксиланазу GH10 или GH11, или не является той же ксиланазой GH10 или GH11 как в пункте (b),

где композиция ферментной смеси обеспечивает по меньшей мере одно из следующего (i) ускоренную конверсию глюкогена или (ii) ускоренную конверсию ксилана по сравнению с эквивалентной композицией ферментной смеси, лишенной по меньшей мере одной дополнительной гемицеллюлазы.

2. Композиция по п.1, где первая ферментная композиция представляет собой смесь цельной целлюлазы из нитчатых грибов.

3. Композиция по п.1, где первая ферментная композиция представляет собой смесь цельной целлюлазы из нитчатых грибов, дополненную дополнительным количеством β-глюкозидазы.

4. Композиция по любому из предыдущих пунктов, где вторая ферментная композиция содержит ксиланазу XYN2 из *Trichoderma reesei*.

5. Композиция по п.1, где вторая ферментная композиция содержит ксиланазу XYN3 из *Tnchoderma reesei*.

6. Композиция по п.1, где по меньшей мере одна ксиланаза имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.

7. Композиция по п.1, где по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза выбрана из группы, состоящей из гемицеллюлазы GH54, гемицеллюлазы GH62, гемицеллюлазы GH27, гемицеллюлазы GH36, гемицеллюлазы GH5, гемицеллюлазы GH74, гемицеллюлазы GH67, гемицеллюлазы GH28, гемицеллюлазы GH11, гемицеллюлазы GH10, гемицеллюлазы GH3 и гемицеллюлазы CE5.

8. Композиция по п.1, где по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой  $\beta$ -ксилозидазу или арабинофуранозидазу.

9. Композиция по п.8, где  $\beta$ -ксилозидаза представляет собой BXL1 из *Trichoderma reesei*, и арабинофуранозидаза представляет собой ABF1, ABF2 или ABF3 из *Trichoderma reesei*.

10. Композиция по п.1, где по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой сочетание  $\beta$ -ксилозидазы и арабинофуранозидазы.

11. Композиция по п.10, где  $\beta$ -ксилозидаза представляет собой BXL1 из *Trichoderma reesei*, и арабинофуранозидаза представляет собой ABF1, ABF2 или ABF3 из *Trichoderma reesei*.

12. Композиция по п.1, где первая ферментная композиция представляет собой смесь цельной целлюлазы из нитчатых грибов, дополненную дополнительным количеством  $\beta$ -глюкозидазы, вторая ферментная композиция содержит ксиланазу, и по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой сочетание  $\beta$ -ксилозидазы и арабинофуранозидазы.

13. Композиция по п.1, где по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой гемицеллюлазу *Trichoderma reesei*, выбранную из группы, состоящей из  $\alpha$ -арабинофуранозидазы I (ABF1),  $\alpha$ -арабинофуранозидазы II (ABF2),  $\alpha$ -арабинофуранозидазы III (ABF3),  $\alpha$ -галактозидазы I (AGL1),  $\alpha$ -галактозидазы II (AGL2),  $\alpha$ -галактозидазы III (AGL3), ацетилксиланэстеразы I (AXE1), ацетилксиланэстеразы III (AXE3), эндоглюканазы VI (EG6), эндоглюканазы VIII (EG8),  $\alpha$ -глюкуронидазы I (GLR1),  $\beta$ -маннаназы (MAN1), полигалактуроназы (PEC2), ксиланазы I (XYN1), ксиланазы II (XYN2), ксиланазы III (XYN3) и  $\beta$ -ксилозидазы (BXL1).

14. Композиция по п.1, где по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17.

15. Способ гидролиза смеси целлюлозных и гемицеллюлозных материалов, предусматривающий контактирование смеси целлюлозных и гемицеллюлозных материалов с:

- (a) первой ферментной композицией, содержащей целлюлазу,
- (b) второй ферментной композицией, содержащей по меньшей мере одну ксиланазу, выбранную из ксиланазы GH10 или GH11, и
- (c) третьей ферментной композицией, содержащей по меньшей мере одну

дополнительную гемицеллюлазу, которая не представляет собой ксиланазу GH10 или GH11 или не является той же ксиланазой GH10 или GH11, как в пункте (b),

осуществляя, таким образом, гидролиз смеси целлюлозных и гемицеллюлозных материалов,

где контактирование в результате приводит по меньшей мере к одному из следующего (i) ускорению конверсии глюкоана или (ii) ускорению конверсии ксилана по сравнению с эквивалентным контактированием в отсутствие по меньшей мере одной дополнительной гемицеллюлазы.

16. Способ по п.15, где первая ферментная композиция представляет собой смесь цельной целлюлазы из нитчатых грибов.

17. Способ по п.15, где первая ферментная композиция представляет собой смесь цельной целлюлазы из нитчатых грибов, дополненную дополнительным количеством  $\beta$ -глюкозидазы.

18. Способ по любому из пп.15-17, где вторая ферментная композиция содержит ксиланазу XYN2 из *Trichoderma reesei*.

19. Способ по любому из пп.15-17, где вторая ферментная композиция содержит ксиланазу XYN3 из *Trichoderma reesei*.

20. Способ по любому из пп.15-17, где по меньшей мере одна ксиланаз имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.

21. Способ по любому из пп.15-17, где по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза выбрана из группы, состоящей из гемицеллюлазы GH54, гемицеллюлазы GH62, гемицеллюлазы GH27, гемицеллюлазы GH36, гемицеллюлазы GH5, гемицеллюлазы GH74, гемицеллюлазы GH67, гемицеллюлазы GH28, гемицеллюлазы GH11, гемицеллюлазы GH10, гемицеллюлазы GH3 и гемицеллюлазы CE5.

22. Способ по любому из пп.15-17, где по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой  $\beta$ -ксилозидазу или арабинофуранозидазу.

23. Способ по п.22, где  $\beta$ -ксилозидаза представляет собой BXL1 из *Trichoderma reesei*, и арабинофуранозидаза представляет собой ABF1, ABF2 или ABF3 из *Trichoderma reesei*.

24. Способ по любому из пп.15-17, где по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой сочетание  $\beta$ -ксилозидазы и арабинофуранозидазы.

25. Способ по п.24, где  $\beta$ -ксилозидаза представляет собой BXL1 из *Trichoderma reesei*, и арабинофуранозидаза представляет собой ABF1, ABF2 или ABF3 из *Trichoderma reesei*.

26. Способ по любому из пп.15-17, где первая ферментная композиция представляет собой смесь цельной целлюлазы из нитчатых грибов, дополненную дополнительным количеством  $\beta$ -глюкозидазы, вторая ферментная композиция содержит ксиланазу, и по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой сочетание  $\beta$ -ксилозидазы и арабинофуранозидазы.

27. Способ по любому из пп.15-17, где по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой гемицеллюлазу *Trichoderma reesei*, выбранную из группы, состоящей из  $\alpha$ -арабинофуранозидазы I (ABF1),  $\alpha$ -арабинофуранозидазы II (ABF2),  $\alpha$ -арабинофуранозидазы III (ABF3),  $\alpha$ -галактозидазы I (AGL1),  $\alpha$ -галактозидазы II (AGL2),  $\alpha$ -галактозидазы III (AGL3), ацетилксиланэстеразы I (AXE1), ацетилксиланэстеразы III (AXE3), эндоглюканазы VI (EG6), эндоглюканазы VIII (EG8),  $\alpha$ -глюкуронидазы I (GLR1),  $\beta$ -маннаназы (MAN1), полигалактуроназы (PEC2), ксиланазы I (XYN1), ксиланазы II (XYN2), ксиланазы III (XYN3) и  $\beta$ -ксилозидазы (BXL1).

28. Способ по любому из пп.15-17, где по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17.

29. Способ по любому из пп.15-17, в котором контактирование смеси целлюлозных и гемицеллюлозных материалов с первой ферментной композицией, второй ферментной композицией и третьей ферментной композицией проводят одновременно.

30. Способ по любому из пп.15-17, в котором первая ферментная композиция, вторая ферментная композиция и третья ферментная композиция представлены в единой композиции ферментной смеси.

RU 2 0 1 0 1 4 3 0 3 9 A

RU 2 0 1 0 1 4 3 0 3 9 A