

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 382 071**

51 Int. Cl.:  
**C12N 15/56** (2006.01)  
**C12N 15/62** (2006.01)  
**C12N 9/28** (2006.01)  
**C12N 5/10** (2006.01)  
**C12Q 1/68** (2006.01)

12

### TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **02754724 .9**  
96 Fecha de presentación: **20.06.2002**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1419255**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.05.2004**

54 Título: **Nuevo grupo de alfa-amilasas, así como un procedimiento para la identificación y la obtención de nuevas alfaamilasas**

30 Prioridad:  
**29.06.2001 DE 10131441**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**05.06.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**05.06.2012**

73 Titular/es:  
**HENKEL AG & CO. KGAA  
HENKELSTRASSE 67  
40589 DÜSSELDORF, DE**

72 Inventor/es:  
**BREVES, Roland;  
KOTTWITZ, Beatrix;  
MAURER, Karl-Heinz;  
ECK, Jürgen;  
LORENZ, Patrick y  
ZINKE, Holger**

74 Agente/Representante:  
**Isern Jara, Jorge**

ES 2 382 071 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Nuevo grupo de alfa-amilasas, así como un procedimiento para la identificación y la obtención de nuevas alfa-amilasas

La presente invención se refiere a un nuevo grupo de  $\alpha$ -amilasas que pertenecen a un espacio de secuencias común, así como a proteínas suficientemente similares a estas  $\alpha$ -amilasas con función amilolítica, a procedimientos para su obtención, así como a diversas posibilidades de aplicación de estas proteínas, especialmente en agentes de lavado y limpieza.

Las  $\alpha$ -amilasas (E.C. 3.2.1.1) se hidrolizan en los enlaces  $\alpha$ -1,4-glicosídicos, situados en el interior del polímero, de los almidones y de los polímeros similares a los almidones tales como, por ejemplo, amilosa, amilopectina o glicógeno, con formación de dextrinas y de oligosacáridos  $\beta$ -1,6-ramificados. Éstos pertenecen a las enzimas más importantes, que son utilizadas en la industria. Esto se debe a dos motivos: por un lado, son liberadas en su mayoría al medio circundante, igual que muchas enzimas o microorganismos degradantes del sustrato, de tal manera que pueden ser obtenidas a escala industrial mediante fermentación y enriquecimiento del medio de cultivo con un coste proporcionalmente reducido. Por otro lado, se requieren amilasas para un gran espectro de aplicaciones.

El primer lugar de las aplicaciones técnicas de la  $\alpha$ -amilasa lo ocupa la producción de jarabe de glucosa. Otras aplicaciones son, por ejemplo, las de componentes activos en agentes de lavado y limpieza, para el tratamiento de materias primas en la fabricación de productos textiles, la fabricación de pegamentos o la fabricación de alimentos o ingredientes alimentarios azucarados.

Un ejemplo para una amilasa empleada muy intensamente en el ámbito técnico es, por ejemplo, la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Bacillus licheniformis* comercializada por la firma Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd, Dinamarca, con el nombre comercial Termamyl®. La amilasa que se obtiene a partir de *B. subtilis* o *B. amyloliquefaciens*, respectivamente, y que se ha dado a conocer por la solicitud de patente estadounidense US 1 227 374 es comercializada por la misma empresa con el nombre BAN®.

Esta molécula de amilasa o sus parientes próximos, respectivamente, han sido desarrollados en múltiples invenciones cuyo objetivo era optimizar sus propiedades enzimáticas para aplicaciones específicas con la ayuda de diversas modificaciones a nivel de la biología molecular. Estas optimizaciones pueden referirse, por ejemplo, a las especificidades de sustrato, a la estabilidad de la enzima en diversas condiciones de reacción o a la misma actividad enzimática. Como ejemplo para estas optimizaciones se citan las siguientes solicitudes de patente: EP 0410498 para el encolado de tejidos y WO 96/02633 para la licuación de almidón.

Puesto que los desarrollos que consisten simplemente en optimizaciones de unas pocas enzimas de partida conocidas están limitados posiblemente en los resultados alcanzables, tiene lugar paralelamente una búsqueda intensiva de enzimas comparables a partir de otras fuentes naturales. Se han identificado enzimas que desintegran el almidón, por ejemplo, a partir de *Pimelobacter*, *Pseudomonas* y *Thermus* para la producción de alimentos, productos cosméticos y fármacos (EP 0 636 693), otras a partir de *Rhizobium*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium* y *Micrococcus* (EP 0 628 630), a partir de *Pyrococcus* (WO 94/19454) y *Sulfolobus* para la licuación del almidón a altas temperaturas o bien en condiciones de reacción muy ácidas (EP 0 727 485 y WO 96/02633). Se han encontrado amilasas a partir de *Bacillus sp.* para su aplicación en valores de pH alcalinos (WO 95/26397 y WO 97/00324). Debido a su poca sensibilidad frente a los detergentes, otras amilasas procedentes de diferentes *Bacilli* (EP 0 670 367) son adecuadas para su utilización en agentes de lavado o limpieza.

Otras optimizaciones de las enzimas aisladas de fuentes naturales para el correspondiente campo de aplicación pueden realizarse, por ejemplo, mediante métodos de biología molecular (por ejemplo, según US 5171673 o WO 99/20768) o a través de modificaciones químicas (DE 4013142). En la solicitud de patente WO 99/43793, por ejemplo, se describe un desarrollo de la conocida  $\alpha$ -amilasa Novamyl®. En este caso, se aprovechan las similitudes de secuencia entre Novamyl® y las ciclodextringlucanotransferasas (CGTasas) conocidas para construir un grupo de moléculas emparentadas con la ayuda de técnicas de biología molecular. Se trata de  $\alpha$ -amilasas con secuencias consenso adicionales, específicas de CGTasa (cajas) y funciones o, a la inversa, de CGTasas con áreas y funciones adicionales, típicas para las  $\alpha$ -amilasas, o bien de quimeras de ambas moléculas. El sentido de este desarrollo consiste en optimizar Novamyl® para estas aplicaciones.

La solicitud de patente WO 99/57250, por ejemplo, da a conocer una teoría sobre cómo enlazar enzimas apropiadas para ser utilizadas en agentes de lavado y limpieza a través de un enlazador químico con un dominio de enlace para aumentar la concentración efectiva de enzimas sobre el objeto a limpiar.

Una tendencia moderna en el desarrollo de las enzimas consiste en combinar elementos de proteínas conocidas, emparentadas entre sí, mediante procedimientos estáticos para formar nuevas enzimas que presentan propiedades que no se habían conseguido hasta el momento. Estos procedimientos se conocen con el término genérico "Directed Evolution" (evolución dirigida). Entre ellos se encuentran, por ejemplo: El método StEP (Zhao y otros (1998), Nat. Biotechnol., tomo 16, p. 258-261), Random priming recombination (Shao y otros, (1998), Nucleic Acids Res., tomo

26, p. 681-683), DNA-Shuffling (Stemmer, W.P.C. (1994), Nature, tomo 370, p. 389-391), o RACHITT (Coco, W.M. y otros (2001), Nat. Biotechnol., tomo 19, p. 354-359).

5 La condición previa para la recombinación mediante estos procedimientos es que los ácidos nucleicos utilizados presenten regiones suficientemente largas para conseguir una hibridación en las condiciones respectivas. Para que la hibridación tenga éxito, en las secuencias de partida más del 45% de las identidades han de ser consideradas como practicables entre sí a nivel de los aminoácidos, para forzar la recombinación homóloga más del 50%. Al menos dos secuencias distintas, homólogas entre sí, ya definen un espacio de secuencias. Éste contiene todas las secuencias nuevas que pueden ser derivadas teóricamente a partir de las secuencias de partida mediante la recombinación. Para ello también pueden presentar valores de homología de menos del 45%, siempre que los ácidos nucleicos derivados de ellas pueden ser recombinados de acuerdo con un método establecido según el estado de la técnica.

15 A pesar de todos estos desarrollos, sigue existiendo sin variación el objetivo de encontrar, además de las pocas enzimas amilolíticas naturales, que son realmente aprovechadas en la industria sin modificaciones o en forma de desarrollos más avanzados, otras que presenten *a priori* un amplio espectro de aplicación y que puedan servir como punto de partida para desarrollos específicos de aplicación, especialmente para procedimientos de recombinación estadística.

20 La variedad genética de las bacterias gram-positivas del orden de los actinomicetales, especialmente de la especie *Streptomyces* a penas ha sido examinada hasta el momento en lo que se refiere a proteínas amilolíticas que son apropiadas para fines técnicos. En este contexto sólo se han de tener en cuenta dos solicitudes de patente japonesas. En la solicitud de patente JP-A 62-143999 se da a conocer una  $\alpha$ -amilasa adecuada para su utilización en agentes de lavado y limpieza procedente de un representante de la especie *Streptomyces*. Este organismo *Streptomyces sp.* KSM-9 o FERM P-7620 proviene de un hábitat natural y crece en un medio alcalino. En este documento, la enzima amilolítica sólo se describe a través de parámetros enzimáticos y su aptitud para ser utilizada en agentes de lavado y limpieza, pero no en lo que se refiere a su secuencia de ADN o de aminoácidos.

30 La enzima que se da a conocer por la solicitud de patente JP-A 2000-60546 y proviene del *Streptomyces sp.* TOTO-9805 o FERM BP-6359 presenta propiedades enzimáticas similares a las de la enzima que proviene del *Streptomyces sp.* KSM-9. En esta solicitud, sin embargo, las características también se refieren sólo a parámetros enzimáticos y no a la secuencia de aminoácidos o de nucleótidos. Debido a ello, ambas amilasas no están disponibles ni para una expresión y obtención heterólogas, ni para una selección y optimización específica en cuanto a su aplicación. Ya que tanto los procedimientos clásicos de mutagénesis, como también los métodos de la evolución dirigida (EP-PCR, Sequence-Shuffling, Family-Shuffling) están basados en las correspondientes secuencias de ácidos nucleicos.

35 Por lo tanto, la presente invención tenía como objetivo, en primer lugar, identificar  $\alpha$ -amilasas naturales, no descritas hasta el momento, que fuesen apropiadas para posibles aplicaciones técnicas o que pudieran servir de base para desarrollos específicos de aplicación.

40 Preferentemente, la solución de este problema debería considerarse conseguida con el descubrimiento de varias  $\alpha$ -amilasas o secuencias parciales de  $\alpha$ -amilasas que son emparentadas entre sí y pueden ser homologadas. Ya que de esta homologación se puede derivar un espacio de secuencias que puede servir, a su vez, de punto de partida para la generación de otras enzimas.

45 Un objetivo parcial consistía en obtener ácidos nucleicos que codificasen  $\alpha$ -amilasas de este tipo, ya que éstos son imprescindibles tanto para la fabricación biotecnológica como también para el desarrollo de estas enzimas.

50 Otro objetivo parcial consistía en encontrar organismos que produzcan las correspondientes  $\alpha$ -amilasas de forma natural.

Otro objetivo parcial consistía en encontrar un procedimiento mediante el cual se puede proporcionar una reserva de  $\alpha$ -amilasas de este tipo.

55 Según otro objetivo parcial, las  $\alpha$ -amilasas, los fragmentos de  $\alpha$ -amilasa o los genes de  $\alpha$ -amilasa, o sus fragmentos, deberían poder utilizarse para encontrar o desarrollar nuevas enzimas.

Otro objetivo parcial consistía en hacer posible la producción biotecnológica de las  $\alpha$ -amilasas encontradas o derivadas.

60 Otro objetivo parcial consistía en definir posibles aplicaciones técnicas de las  $\alpha$ -amilasas encontradas.

65 La solución del primer objetivo y, por lo tanto, el primer objeto de la presente invención lo representan las proteínas amilolíticas tal como son definidas en las reivindicaciones 1 y 2.

Entre ellas están las proteínas amilolíticas con las frecuencias de aminoácidos indicadas en el protocolo de secuencias con SEQ ID NO. 208, así como enzimas que presentan suficiente similitud con las mismas o que pueden ser derivadas de éstas mediante métodos en sí conocidos. Los representantes preferidos pueden ser aislados de organismos naturales, especialmente de aquellos que pertenecen al orden de los actinomicetales.

A partir de estas secuencias se puede derivar a través de la homologación un espacio de secuencias que puede servir, a su vez, como punto de partida para la obtención de otras enzimas.

El segundo objeto de la invención lo constituyen los ácidos nucleicos, según la reivindicación 7 u 8.

Entre ellos están de forma correspondientemente preferida aquellos ácidos nucleicos que codifican las respectivas proteínas que constituyen al primer objeto de la invención.

Otro objeto de la invención está formado por los vectores junto con los ácidos nucleicos que constituyen el segundo objeto de la invención, por células huésped transformadas por estos vectores y por todos los procedimientos biotecnológicos para la obtención de una proteína, de acuerdo con el primer objeto de la invención.

Otro objeto de la invención consiste en las posibles aplicaciones técnicas de las  $\alpha$ -amilasas que se encuentran. Entre ellas están agentes de lavado o limpieza que se caracterizan por contener una proteína, según el primer objeto de la invención, procedimientos para la licuación del almidón, especialmente para producir etanol, procedimientos de pegado temporales y diversas posibilidades de utilización, en especial para el tratamiento de materias primas o productos intermedios en la fabricación de textiles, especialmente para el desencolado de algodón, para la obtención de oligosacáridos lineales y/o de cadena corta, para la hidrólisis de ciclodextrinas, para la liberación de compuestos de bajo peso molecular a partir de portadores de polisacáridos o ciclodextrinas, para la obtención de alimentos y/o ingredientes alimentarios, para la obtención de piensos para animales y/o ingredientes de piensos y para la disolución de uniones pegadas que contengan almidón.

A efectos de la presente solicitud de patente, debe entenderse por proteína un polímero compuesto de aminoácidos naturales, de estructura esencialmente lineal, casi siempre tridimensional para poder ejercer su función. En la presente solicitud se denominarán los 19 L-aminoácidos proteinogénicos, que son de origen natural con los códigos de 1 y 3 letras que son habituales a nivel internacional.

Por enzima se entenderá, a efectos de la presente solicitud, una proteína que ejerza una determinada función bioquímica. Se entenderá por proteínas amilolíticas o enzimas con función amilolítica aquellas que hidrolicen los enlaces  $\alpha$ -1,4-glicosídicos de polisacáridos, especialmente aquellos que se encuentren situados en el interior de los polisacáridos. También se denominarán  $\alpha$ -1,4-amilasas (E.C. 3.2.1.1) o, brevemente:  $\alpha$ -amilasas.

Muchas proteínas son formadas en forma de las denominadas pre-proteínas, es decir junto con un péptido señal. Debe entenderse por ello la parte N-terminal de la proteína cuya función consiste la mayoría de las veces en garantizar la expulsión de la proteína formada desde la célula productora al periplasma o al medio circundante y/o su plegado correcto. A continuación, el péptido señal es disociado del resto de la proteína en condiciones naturales mediante una peptidasa de señalización, de manera que ésta ejerza su actividad catalítica propiamente dicha sin los aminoácidos N-terminales que están presentes en primer lugar. La  $\alpha$ -amilasa nativa procedente de *Streptomyces sp.* B327\*, por ejemplo, tiene una longitud de 461 aminoácidos tal como se muestra en SEQ ID NO. 6. Tal como se muestra en SEQ ID NO. 5, el péptido señal de esta enzima comprende 30 aminoácidos, de manera que para la enzima madura resulta una longitud de 431 aminoácidos.

Debido a su actividad enzimática, para las aplicaciones técnicas son preferentes los péptidos maduros, es decir las enzimas procesadas tras su obtención frente a las pre-proteínas.

Las pro-proteínas son precursores inactivos de las proteínas. Sus precursores con secuencia de señal se denominan pre-pro-proteínas.

Por ácidos nucleicos se entenderá, a efectos de la presente solicitud, las moléculas construidas de forma natural por nucleótidos que sirven como portadores de información y que codifican la secuencia lineal de aminoácidos en las proteínas o las enzimas. Pueden estar presentes como hebra simple, como hebra complementaria a esta hebra simple o como hebra doble. Para los trabajos de biología molecular es preferente el ácido nucleico ADN como el portador de información duradero por naturaleza. Por lo contrario, para la realización de la invención en un medio natural tal como, por ejemplo, en una célula de expresión, se formará un ARN por lo cual las moléculas de ARN esenciales, según la invención, representan igualmente formas de realización de la presente invención.

En el ADN han de tenerse en cuenta las secuencias de ambas hebras complementarias en cada una de las tres posibles pautas de lectura. Además, debe tenerse en cuenta que diversos codón-tripletes se pueden codificar para los mismos aminoácidos, de manera que una determinada secuencia de aminoácidos puede derivarse de varias secuencias de nucleótido diferentes y que probablemente presentan sólo poca identidad (degeneración del código genético). Además, los diversos organismos presentan diferencias en el uso de este codón. Por estos motivos,

deben incluirse en el ámbito de la protección tanto las secuencias de aminoácidos como también las secuencias de nucleótidos, y las secuencias de nucleótidos indicadas deben ser consideradas respectivamente tan sólo como un ejemplo de codificación para una determinada secuencia de aminoácidos.

5 La unidad de información que corresponde a una proteína se denominará a efectos de la presente solicitud como gen.

10 Mediante métodos generalmente conocidos en la actualidad tales como, por ejemplo, la síntesis química o la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en combinación con métodos estándar de biología molecular y/o de química de las proteínas, un experto en la materia tiene la posibilidad de preparar los correspondientes ácidos nucleicos hasta incluso los genes completos a partir de secuencias de ADN y/o de aminoácidos conocidas. Estos métodos se conocen, por ejemplo, por la publicación "Lexikon der Biochemie" ("Diccionario de bioquímica"), ed. Spektrum Akademischer Verlag, Berlin, 1999, tomo 1, p. 267-271 y tomo 2, p. 227-229.

15 Las modificaciones de la secuencia de nucleótidos, así como las que pueden ser provocadas, por ejemplo, por métodos de biología molecular en sí conocidos, se denominan mutaciones. En función del tipo de modificación se distingue, por ejemplo, entre mutaciones por delección, por inserción o por sustitución o aquellas en las que se fusionan ("shuffling") entre sí diversos genes o partes de genes; esto son mutaciones genéticas. Los organismos asociados a los mismos se denominan mutantes. Las proteínas derivadas de ácidos nucleicos mutados se denominan variantes. De este modo, las mutaciones por delección, por inserción, por sustitución o las fusiones conducen a genes mutados por delección, por inserción, por sustitución o a genes de fusión y en el plano de las proteínas a las correspondientes variantes por delección, por inserción o por sustitución, o bien a las proteínas de fusión.

25 Se entenderán por fragmentos todas las proteínas o péptidos que sean menores que las proteínas naturales o aquellas que correspondan a genes completamente trasladados y que, por ejemplo, también puedan ser obtenidos de forma sintética. Debido a sus secuencias de aminoácidos pueden ser asociados a las correspondientes proteínas completas. Pueden adquirir, por ejemplo, estructuras iguales o ejercer actividades proteolíticas o actividades parciales, tales como, por ejemplo, la formación de complejos de un sustrato. Los fragmentos y las variantes por delección de las proteínas de partida son equivalentes en principio; mientras que los fragmentos representan trozos más pequeños, los mutantes por delección carecen únicamente de pequeñas regiones y, por lo tanto, sólo de algunas funciones parciales.

35 A los fragmentos le corresponden a nivel de ácido nucleico las secuencias parciales.

Se entenderán por proteínas quiméricas o híbridas, en el sentido de la presente solicitud aquellas proteínas que estén compuestas por elementos que procedan por su naturaleza de diversas cadenas de polipéptidos procedentes del mismo organismo o de organismos diferentes. Este proceder se denomina también "Shuffling" o mutagénesis por fusión. El sentido de una fusión de este tipo puede consistir por ejemplo en incorporar o modificar una determinada función enzimática con la ayuda de la parte de la proteína introducida por fusión. A efectos de la invención, no tiene importancia si esta proteína quimérica está formada por una sola cadena de polipéptidos o de varias subunidades a las que se pueden distribuir las diferentes funciones. Para realizar la última alternativa cabe la posibilidad, por ejemplo, de fraccionar una sola cadena de polipéptidos quiméricos en varias, de forma post-translacional o solamente tras una etapa de purificación mediante una disociación proteolítica dirigida.

45 Entre las proteínas obtenidas mediante mutación por inserción, deben entenderse aquellas variantes que se han obtenido a través de métodos en sí conocidos por incorporación de un fragmento de ácido nucleico o bien de proteína en las secuencias de partida. Éstas deben ser asociadas a las proteínas quiméricas debido a su equivalencia básica. Se diferencian de aquellas únicamente en la relación de tamaño de la parte de la proteína no modificada con respecto al tamaño del conjunto de la proteína. En estas proteínas, mutadas por inserción, la porción en proteína extraña es menor que en las proteínas quiméricas.

50 La mutagénesis por inversión, es decir la inversión parcial de la secuencia, puede considerarse tanto como forma especial de la delección como de la inserción. Lo mismo se puede decir para una nueva agrupación de diversas partes de la molécula que se diferencia de la sucesión de aminoácidos original. Ésta puede considerarse tanto como variante por delección, como variante por inserción, así como también como variante Shuffling de la proteína original.

60 A efectos de la presente solicitud, se entenderán por derivados aquellas proteínas cuya cadena de aminoácidos haya sido modificada químicamente. Estas derivaciones pueden llevarse a cabo por ejemplo de manera biológica en combinación con la biosíntesis de la proteína por medio del organismo huésped. En este caso pueden utilizarse métodos de biología molecular. Sin embargo pueden llevarse a cabo también químicamente, por ejemplo mediante la transformación química de una cadena lateral de un aminoácido o mediante el enlace covalente de otro compuesto sobre la proteína. Un compuesto de este tipo puede estar constituido por ejemplo por otra proteína, que haya sido enlazada por ejemplo a través de un compuesto químico bifuncional sobre la proteína según la invención.

65 Estas modificaciones pueden influir, por ejemplo, en la especificidad del sustrato o en la fuerza del enlace sobre el sustrato, o pueden provocar un bloqueo transitorio de la actividad enzimática, cuando la sustancia acoplada es un

inhibidor. Ello puede resultar oportuno, por ejemplo, durante el período de almacenamiento. Del mismo modo debe entenderse por derivación el enlace covalente sobre un soporte macromolecular.

5 Las proteínas también podrán ser reunidas en grupos de proteínas inmunológicamente emparentadas a través de la reacción con un antisuero o un determinado anticuerpo. Las proteínas pertenecientes a un grupo se distinguen porque presentan el mismo determinante antigénico que es reconocido por un anticuerpo.

10 A efectos de la presente invención, se recogerán todas las enzimas, proteínas, fragmentos y derivados bajo el término genérico de proteínas, siempre que no sea necesario designarlos explícitamente como tales.

15 A efectos de la presente invención, se entenderán por vectores los elementos constituidos por ácidos nucleicos, que contengan como región caracterizadora de los ácidos nucleicos un gen que interesa. Ellos son capaces de establecer este elemento genéticamente estable, que se replica en una especie o en una línea celular a través de varias generaciones o de divisiones celulares independientemente del genoma restante. Los vectores son plásmidos especiales, sobre todo cuando se utilizan en bacterias, es decir que son elementos genéticos circulares. En la genética se distingue, por un lado, entre aquellos vectores que sirven para el almacenamiento y por lo tanto en cierta medida también para el trabajo genético, los denominados vectores de clonación y, por otro lado, aquellos que cumplen la función de realizar el gen que interesa en la célula huésped, es decir que posibilitan la expresión de la proteína correspondiente. Estos vectores se denominan vectores de expresión.

20 Mediante comparación con enzimas conocidas, que están depositadas por ejemplo en bases de datos accesibles al público, se puede deducir la actividad enzimática de una enzima considerada a partir de la secuencia de aminoácidos o de la secuencia de nucleótidos. Dicha actividad puede ser modificada cualitativa o cuantitativamente por otras regiones de la proteína que no participan en la reacción propiamente dicha. Esto podría afectar, por ejemplo, a la estabilidad de la enzima, la actividad, las condiciones de reacción o la especificidad de sustrato.

25 Dicha comparación se verifica mediante asociación mutua de series similares en las secuencias de los nucleótidos o de los aminoácidos de las proteínas consideradas. Esto se denomina homologación. Una asociación tabulada de las posiciones correspondientes se denomina alineamiento. En el caso del análisis de secuencias de nucleótidos deben tenerse en cuenta a su vez ambas hebras complementarias y, respectivamente, las tres posibles pautas de lectura; asimismo, la degeneración del código genético y el uso del codón específico del organismo. Entre tanto, se han establecido alineamientos por medio de programas de ordenador tal como, por ejemplo, por medio de los algoritmos FASTA ó BLAST; esta forma de proceder se describe por ejemplo por D. J. Lipman y W. R. Pearson (1985) en Science, tomo 227, páginas 1435-1441.

30 Un conjunto de todas las posiciones coincidentes en las secuencias comparadas se denomina secuencia de consenso.

35 Una comparación de este tipo permite también una afirmación sobre la similitud o la homología de las secuencias comparadas entre sí. Ésta se indica en porcentaje de identidad, es decir en la porción de nucleótidos o restos de aminoácidos idénticos en las mismas posiciones. Otro concepto de homología establecido incluye en este valor los intercambios conservados de aminoácidos. Entonces se habla de similitud en porcentaje. Estas afirmaciones pueden referirse a proteínas o genes enteros o únicamente a regiones individuales.

40 La elaboración de un alineamiento constituye el primer paso para definir un espacio de secuencias.

45 Este espacio hipotético comprende todas las secuencias que se pueden derivar mediante permutación en posiciones individuales y que se obtienen teniendo en cuenta todas las variaciones que se producen en las correspondientes posiciones individuales del alineamiento. Cada molécula de proteína hipotéticamente posible constituye un punto en este espacio de secuencias. Por ejemplo, dos secuencias de aminoácidos que, siendo ampliamente idénticas, presentan solamente en dos puntos dos aminoácidos diferentes, respectivamente, establecen de esta manera un espacio de cuatro secuencias de aminoácidos diferentes. Se obtendrá un espacio de secuencias muy grande, si se encuentra para secuencias individuales de un espacio otras secuencias homólogas, respectivamente. A través de estas homologías altas que existen por pares, también pueden reconocerse secuencias de muy baja homología como pertenecientes a un espacio de secuencias.

50 Las regiones homólogas de diversas proteínas son aquellas que tienen funciones idénticas, que pueden reconocerse por las coincidencias en la secuencia primaria de aminoácidos. Ésta va hasta la identidad completa en regiones mínimas, que se llaman cajas, que comprenden sólo un reducido número de aminoácidos y que, la mayoría de las veces, ejercen funciones esenciales para el conjunto de la actividad. Debe entenderse por funciones de las regiones homólogas, aquellas funciones parciales, mínimas, de la función ejercida por el conjunto de la proteína, tal como por ejemplo la formación de compuestos individuales con puente de hidrógeno para la formación de complejos de un sustrato o complejo de transición.

60 Así pues, debe entenderse por una proteína amilolítica según la invención no solamente una proteína con la función pura, que lleva a cabo la hidrólisis de los enlaces  $\alpha$ -1,4-glicosídicos, que se debe a un número reducido de restos de

aminoácidos de un centro activado probablemente por catálisis. Este término abarca, además, todas las funciones que favorecen la hidrólisis de un enlace  $\alpha$ -1,4-glicosídico. Éstas pueden alcanzarse por ejemplo por péptidos individuales así como también por una o varias partes individuales de una proteína mediante actuación sobre las regiones activas realmente catalíticas. El término de función amilolítica abarca también únicamente estas funciones modificadoras. La razón de ello es que, por un lado, no se conoce exactamente qué restos de aminoácidos de la proteína según la invención catalizan realmente la hidrólisis, y, por otro lado, no pueden excluirse desde un principio determinadas funciones individuales definitivamente de la participación en la catálisis. A las funciones auxiliares o actividades parciales pertenecen, por ejemplo, el enlace de un sustrato, de un producto intermedio o de un producto final, la activación o la inhibición o la transmisión de un efecto regulador sobre la actividad hidrolítica. En este caso puede tratarse, por ejemplo, de la formación de un elemento estructural, que se encuentre alejado del centro activo, o de un péptido señal, cuya función se refiera a la expulsión de la proteína formada de la célula y/o se refiera a su plegado correcto y sin el cual, por regla general, *in vivo* no se forma ninguna enzima apta para ejercer una función. Sin embargo, debe producirse en conjunto una hidrólisis de los enlaces  $\alpha$ -1,4-glicosídicos de almidón o de los polímeros similares al almidón.

En este contexto, por ejemplo los fragmentos de las  $\alpha$ -amilasas indicados en el protocolo de secuencias con SEQ ID NO. 34 hasta 262 han de considerarse proteínas amilolíticas. La razón de ello es que, por naturaleza, son componentes de proteínas más grandes que son capaces de hidrolizar en su conjunto los enlaces  $\alpha$ -1,4-glicosídicos de almidón o de los polímeros similares al almidón.

En el marco de la presente solicitud ha de distinguirse entre rastreo ("screening") (rastreo por hibridación o rastreo de DNA) y una prueba de actividad. En general, se entenderá por el rastreo de los transformantes una reacción de detección que sea apta para reconocer aquellos clones en los que se ha producido el suceso de transformación deseado. La mayoría de veces, como por ejemplo en la habitual selección azul-blanco, el mismo está orientado a la detección de una actividad bioquímica que han mantenido los transformantes o que ya no existe una vez realizada la recombinación. Esta forma de reacción de detección bioquímica se denomina, a efectos de la presente solicitud, prueba de actividad.

El rastreo designa el rastreo de un banco de genes con determinados ácidos nucleicos y la eventual identificación de secuencias de ácidos nucleicos suficientemente similares. Esto se realiza, por ejemplo, mediante hibridaciones de Southern o de Northern Blot (transferencia Southern o Northern) tal como se conocen ampliamente por el estado de la técnica. Pero este término abarca, por ejemplo, también procedimientos basados en PCR, según la invención, para identificar y/u obtener nuevos genes a partir de una colección de organismos o ácidos nucleicos, que están caracterizados porque se utilizan cebadores PCR con una región 3' variable y una región 5' con alta homología para las correspondientes regiones de genes conocidos.

Se entenderá por la potencia de una enzima su actividad en el sector técnico considerado en cada caso. Esto se basa en la actividad enzimática propiamente dicha, pero además depende de otros factores relevantes para el proceso correspondiente. A éstos pertenecen, por ejemplo, la estabilidad. El enlace con el sustrato, la interacción con el material que soporta el sustrato o las interacciones con otros componentes, especialmente con sinérgicos. De este modo, se considera, por ejemplo, en los ensayos dirigidos a determinar si una enzima es adecuada para ser utilizada en agentes de lavado o limpieza, su contribución a las prestaciones de lavado o de limpieza de un agente formulado con otros componentes. Para diversas aplicaciones técnicas puede desarrollarse adicionalmente y optimizarse una enzima mediante técnicas de biología molecular en sí conocidas, especialmente las que se han mencionado anteriormente.

Para resolver el problema planteado se proporciona, de acuerdo con la invención, múltiples  $\alpha$ -amilasas y todas deben ser consideradas representantes de un determinado espacio de secuencias. Éste está definido a través de una secuencia parcial de estas  $\alpha$ -amilasas, concretamente una parte del elemento estructural de barril  $(\alpha\beta)_8$  conocido para las amilasas. Todas las proteínas amilolíticas cuya secuencia de aminoácidos contiene una parte que pertenece a este espacio de secuencias específico, así como proteínas suficientemente similares, son amilasas según la invención.

Este espacio de secuencias está mostrado en SEQ ID NO. 208.

Esta secuencia define un grupo totalmente nuevo de  $\alpha$ -amilasas. Designa una región que está situada entre las dos regiones conservadas C y D, las cuales se muestran en la figura 1. En este caso, se trata de un elemento de estructura secundaria, concretamente de los dominios  $\beta_4$  y  $\beta_7$  de la estructura de barril  $(\alpha\beta)_8$  tal como están definidos en el artículo de S. Janecek (1997), en Prog. Biophys. Mol. Biol 67 (1), páginas 67-97. Esta región se considera característica y un elemento estructural necesario para la familia de enzimas de las  $\alpha$ -amilasas, puesto que garantiza la disposición óptima de las otras partes funcionales de la molécula, en especial del centro activo.

Independientemente de ello también es concebible otra reagrupación de dominios para secuencias recién encontradas o generadas. Por esto todas aquellas realizaciones de  $\alpha$ -amilasas que contengan en un punto cualquiera una secuencia parcial que puede ser descrita por SEQ ID NO. 208 representan realizaciones de la presente invención.

5 En los ejemplos se examinarán más a fondo las  $\alpha$ -amilasas de las cepas *Streptomyces sp.* B327\*, B400B y B327. Las áreas parciales de estas amilasas que corresponden a la secuencia de consenso (SEQ ID NO. 263) se muestran en el protocolo de secuencias en SEQ ID NO. 2, 4 y 208. La máxima homología que ha podido detectarse con respecto a una de estas amilasas mediante búsqueda de base de datos, la presenta la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces sp.* B327B. Se sitúa en un 94% de identidad con la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces griseus* (entrada de base de datos X57568).

10 Por este motivo se reivindican, de acuerdo con la invención, todas las proteínas amilolíticas cuyas secuencias de aminoácidos contengan una parte que, con respecto a SEQ ID NO. 208 presente una identidad del 95% y de forma crecientemente preferente una identidad del 96%, del 96,5%, del 97%, del 97,5%, del 98%, del 98,5%, del 99%, del 99,5% y muy preferentemente del 100%.

15 Otras soluciones para el objetivo de la invención las constituyen las proteínas amilolíticas que se obtienen mediante mutación por inserción o proteínas amilolíticas quiméricas que están formadas por una de las proteínas descritas anteriormente, como mínimo, en una parte que tiene una actividad amilolítica.

20 De acuerdo con la invención, las proteínas obtenidas por fusión presentan, provocan o modifican una función amilolítica en el sentido más amplio de la palabra o que favorece la hidrólisis de enlaces  $\alpha$ -1,4-glicosídicos. Ésta puede ser ejercida o modificada por una parte de molécula derivada de una proteína, según la invención, y que se sitúa dentro del rango de similitud reivindicado anteriormente para esta parte de molécula.

25 Estas partes de moléculas pueden ser partes que, a través de sus secuencias de consenso o cajas ("boxes"), pueden ser reconocidas como homólogas con respecto a las enzimas procedentes de otros organismos. Estas áreas confieren a la enzima, la mayoría de veces, sus funciones enzimáticas características. También pueden estar distribuidas en diversos dominios, es decir en áreas globulares de la molécula de proteína. Al objeto de la invención pertenecen, por lo tanto, también aquellas proteínas quiméricas que, debido a su construcción, presenten una identidad, en su caso inferior, a lo largo de toda su secuencia de aminoácidos y/o nucleótidos, a la que se ha definido anteriormente para el rango de similitud según la invención, pero que le puedan ser atribuidas en como

30 mínimo una de las regiones incorporadas mediante fusión y que ejerzan en esta parte las mismas funciones que en una amilasa que se encuentra en el rango de homología definido anteriormente.

35 Lo mismo se puede decir también, debido a su similitud básica, de las variantes de las proteínas amilolíticas indicadas anteriormente que se obtendrán mediante mutación por inserción. El sentido de la mutagénesis por inserción consiste especialmente en la combinación de propiedades individuales de las proteínas según la invención con las de otras proteínas. En este caso, se trata de proteínas según la invención, que se obtendrán mediante mutación por inserción o de proteínas quiméricas, cuando las regiones relacionadas, a través de su homología, con las secuencias indicadas anteriormente presenten valores de homología correspondientes y la proteína obtenida tenga una función amilolítica en el sentido más amplio de la palabra debido a estas regiones.

40 De esta manera es posible, por ejemplo en aplicación de las enseñanzas del documento WO 99/57250, acoplar una enzima de este tipo a un dominio de enlace de celulosa para aumentar su interacción con el sustrato. De forma análoga también pueden fusionarse, por ejemplo, otras enzimas activas para lavado o limpieza con una amilasa, según la invención. En principio no tiene importancia si la fusión se lleva a cabo de forma N- o C-terminal o por

45 inserción.

50 Sobre todo durante el almacenamiento las proteínas de la invención pueden protegerse mediante estabilizantes por ejemplo contra la desnaturalización, la descomposición o la inactivación, por ejemplo debido a efectos físicos, por oxidación o por proteólisis. A menudo se utilizan también combinaciones de estabilizantes que se complementan o se intensifican mutuamente.

55 Un grupo de estabilizantes son los inhibidores de proteasa reversibles tales como, por ejemplo, el hidrocloreto de benzamidina y leupeptina, borax, ácido bórico, ácidos borónicos, sus sales o ésteres, peptidoaldehídos o inhibidores peptídicos puros tales como ovomucoide o inhibidores específicos de subtilisina. Otros estabilizantes enzimáticos usuales son los aminoalcoholes tales como la mono-, di-, trietanol- y -propanolamina, los ácidos carboxílicos alifáticos hasta C<sub>12</sub>, los ácidos dicarboxílicos, los alcoholes alifáticos inferiores, pero sobre todo los polioles tales como, por ejemplo, la glicerina, el etilenglicol, el propilenglicol o la sorbita. Del mismo modo se utilizarán sales de calcio, tales como por ejemplo el acetato de calcio o el formiato de calcio, las sales de magnesio, diversos polímeros tales como, por ejemplo, lignina, éteres de celulosa, poliamidas o vinil-copolímeros solubles en agua para estabilizar

60 la preparación enzimática, sobre todo frente a los efectos físicos o las oscilaciones del valor del pH. Los agentes reductores y los antioxidantes tales como, por ejemplo, el sulfito de sodio o los azúcares reductores aumentan la estabilidad de la proteína frente a la descomposición por oxidación.

65 A la inversa, las proteínas de la invención pueden ser utilizadas para obtener, identificar o examinar genes de amilasa emparentados o amilasas emparentadas. Esto es posible, por ejemplo, mediante cualquier método de biología molecular en el que se utilizan anticuerpos contra las regiones correspondientes, por ejemplo, en un

*screening* de un banco de genes de expresión.

La SEQ ID NO. 34 hasta la SEQ ID NO. 262 describen las secuencias de aminoácidos que están derivadas de determinados productos de PCR tal como se muestra en el ejemplo 1. Se han obtenido porque se ha hecho reaccionar los ácidos nucleicos aislados de una colección de varios cientos de aislados de actinomicetales como matrices en una reacción en cadena de la polimerasa con los pares de cebadores GEX024 (SEQ ID NO. 9) / GEX026 (SEQ ID NO. 10) y GEX029 (SEQ ID NO. 11) / GEX031 (SEQ ID NO. 12). Las posiciones 8 hasta 93, según la secuencia de consenso de SEQ ID NO. 263, están situadas dentro de los cebadores GEX024 y GEX026, de manera que pueden ser consideradas muy características para la secuencia encontrada.

Por los siguientes motivos, también los ácidos nucleicos asociados deberán ser considerados como soluciones para el objetivo de la invención y, por lo tanto, objetos propios de la invención: Por un lado, se podrán detectar las proteínas mediante biología molecular si están disponibles los correspondientes genes. Esto es válido para la identificación y para la caracterización, pasando por la mutagénesis hasta la producción biotecnológica. También se incluirán las secuencias de nucleótidos derivados debido al codón-uso que varía entre los distintos organismos, así como los ácidos ribonucleicos, ya que de ellos también se pueden derivar enzimas capaces de ejercer una función. Los ácidos nucleicos adecuados pueden utilizarse también para la obtención, la identificación o la examinación de genes de amilasas. De este modo es posible, por ejemplo, diseñar las sondas correspondientes para el rastreo ("Screen") del banco de genes.

Por otro lado el método descrito de forma detallada en los ejemplos para encontrar las correspondientes  $\alpha$ -amilasas está basado en la PCR y, por lo tanto, en los correspondientes ácidos nucleicos.

De esta manera, todos los ácidos nucleicos que codifican proteínas que presentan una parte que se sitúa dentro del rango de similitud definido constituyen realizaciones de este objeto de la invención.

Las realizaciones de este objeto de la invención son los ácidos nucleicos que codifican para proteínas amilolíticas cuya secuencia de aminoácidos contiene una parte que presenta con respecto a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 208 una identidad del 95% y de forma preferente la identidad es creciente del 96%, del 96,5%, del 97%, del 97,5%, del 98%, del 98,5%, del 99%, del 99,5% y muy preferentemente una identidad del 100%.

Las proteínas completas que se han obtenido a través de estas secuencias parciales han sido examinadas en el ejemplo 6 en cuanto a sus propiedades bioquímicas. Parecen ser candidatos prometedores para su aplicación en procesos técnicos o para su optimización ulterior en lo que se refiere a procesos técnicos. Propiedades parecidas podrán esperarse para las proteínas que pueden obtenerse a partir de los ácidos nucleicos de este objeto de la invención.

Los ácidos nucleicos que codifican para una de las enzimas amilolíticas indicadas anteriormente representan realizaciones correspondientemente preferentes de este objeto de la invención.

Constituye un objeto propio de la invención, cuando las proteínas o los ácidos nucleicos proporcionados por la presente solicitud pueden ser utilizados para encontrar más  $\alpha$ -amilasas.

De este manera se reivindica la utilización de una proteína, según el primer objeto de la invención, para la identificación de una proteína amilolítica. También se pueden utilizar ácidos nucleicos, según el segundo objeto de la invención, para la identificación y/o obtención de una nueva amilasa.

Las realizaciones preferentes representan estos usos para la fusión dirigida, aprovechando regiones altamente homólogas de las secuencias de aminoácidos, interfaces de restricción comunes de los ácidos nucleicos o a través de una fusión basada en la PCR.

Otra posibilidad consiste en la utilización de interfaces de restricción comunes de los ácidos nucleicos, especialmente aprovechando las regiones altamente homólogas de las secuencias de aminoácidos, o bien a través de una función basada en la PCR.

Las regiones altamente homólogas de las secuencias de aminoácidos que representan, la mayoría de veces, regiones conservadas que ejercen una función pueden servir de anclaje para los cebadores de la PCR, en su caso de cebadores degenerados. Las interfaces de restricción comunes de los ácidos nucleicos de dos genes diferentes hacen posible una fusión inmediata a nivel de ADN. Se dispone de todos los métodos establecidos según el estado de la técnica así como del método de la invención con sus diferentes realizaciones para combinar las diferentes regiones genéticas.

A un objeto propio de la invención se le asocian vectores que contengan una de las regiones de ácido nucleico del segundo objeto de la invención.

Estos vectores constituyen puntos de partida preferentes para los ensayos de biología molecular y bioquímicos del

gen correspondiente o de la proteína correspondiente, para el desarrollo adicional según la invención y para la amplificación y la producción de la proteína según la invención.

5 Vectores adecuados pueden derivarse de plásmidos bacterianos, de virus o de bacteriófagos, o también contener elementos de origen diverso. Con los otros elementos genéticos presentes en cada caso los vectores son capaces de establecerse en forma de unidades estables en las células huésped correspondientes a lo largo de varias generaciones. En este caso no tiene importancia, a efectos de la invención, que se establezcan de manera extracromosómica como unidades propias o que se integren en un cromosoma. El sistema elegido entre el gran número de sistemas conocidos por el estado de la técnica, dependerá de cada caso particular. Podrá ser decisivo, por ejemplo, el número de copias alcanzable, los sistemas de selección disponibles, entre ellos sobre todo la resistencia a los antibióticos, o la aptitud al cultivo de las células huésped capaces de alojar a los vectores.

Son realizaciones preferentes de este objeto de la invención los vectores de clonación.

15 Éstos son adecuados, además de para el almacenamiento, la amplificación biológica o la selección del gen que interesa, para la caracterización del gen correspondiente, por ejemplo mediante el establecimiento de un mapa de restricción o mediante la secuenciación. Los vectores de clonación también son formas preferentes de realización de la presente invención porque representan una forma transportable y almacenable del ADN reivindicado. También son productos de partida preferentes para las tecnologías de biología molecular que no están relacionadas con la célula tal como, por ejemplo, la reacción en cadena de la polimerasa.

Son realizaciones preferentes de este objeto de la invención los vectores de expresión.

25 Debido a los correspondientes elementos genéticos son capaces de replicarse en los organismos huésped optimizados para la producción de proteínas y hacen que el gen obtenido se exprese en los mismos. Son formas preferentes de realización los vectores de expresión, que portan en sí mismos los elementos genéticos necesarios para la expresión. Los promotores regulan la transcripción del gen. Ejemplos para ello son promotores naturales, localizados inicialmente por los correspondientes genes. Dado que no puede suponerse que éstos sean conocidos para la mayoría de los genes, según la invención, serán preferentes aquellas realizaciones en las que, tras la fusión genética, se proporciona otros promotores conocidos para regular el transgén. Puede tratarse de un promotor de la célula huésped, un promotor modificado o uno totalmente distinto procedente de otro organismo. Son realizaciones preferentes aquellos vectores de expresión que pueden regularse mediante modificaciones de las condiciones de cultivo o mediante la adición de determinados compuestos tal como, por ejemplo, la densidad celular o factores especiales.

35 Los vectores de expresión posibilitan, en función de los elementos genéticos respectivos, que la expresión de la proteína se produzca de manera heteróloga u homóloga. También pueden ser realizaciones de la presente invención los sistemas de expresión exentos de células, en los que la biosíntesis de las proteínas se realiza *in vitro*. Estos sistemas de expresión están asimismo establecidos por el estado de la técnica y están basados en los genes proporcionados por los vectores de clonación o de expresión.

40 En este objeto de la invención se incluyen células huésped, que expresan una proteína o derivado de la invención o que pueden ser estimuladas a expresarse. Esto se realiza preferentemente utilizando un vector de expresión adecuado.

45 La síntesis *in vivo* de una enzima amilolítica por células vivas, según la invención, requiere la transferencia del gen correspondiente a una célula huésped, la denominada transformación. Como células huésped son adecuados en principio todos los organismos excepto el hombre, es decir las procariotas, las eucariotas y las cianofitas. Son preferentes aquellas células huésped que se puedan manipular bien genéticamente, por ejemplo en cuanto a la transformación con el vector de expresión y a su establecimiento estable. Además las células huésped preferentes se caracterizan por ser fácilmente manipulables a nivel microbiológico y biotecnológico. Esto se refiere por ejemplo a la fácil aptitud de cultivo, a las altas tasas de crecimiento, a los reducidos requisitos exigidos a los medios de fermentación y a las buenas tasas de producción y de secreción para la proteína extraña. Frecuentemente tienen que detectarse experimentalmente los sistemas de expresión óptimos para cada caso particular entre el gran número de los diversos sistemas, disponibles según el estado de la técnica.

55 Representan formas preferentes de realización aquellas células huésped que pueden regularse en cuanto a su tasa de formación de proteína debido a los elementos de regulación genéticos, que pueden estar disponibles por ejemplo en el vector de expresión, así como también pueden estar presentes desde un inicio en estas células. Éstas pueden ser estimuladas a expresarse, por ejemplo, mediante la adición controlada de compuestos químicos, que sirven como activadores, mediante la modificación de las condiciones de cultivo o cuando se alcance una determinada densidad celular. Esto posibilita una producción muy económica de las proteínas que interesan.

60 Una variante de este principio de ensayo está representada por sistemas de expresión en los que genes adicionales, por ejemplo aquellos que están disponibles en otros vectores, influyen sobre la producción de las proteínas según la invención. En este caso puede tratarse de productos genéticos modificados o de aquellos que deban ser purificados

conjuntamente con la proteína según la invención, por ejemplo para influir sobre su función amilolítica. En este caso puede tratarse, por ejemplo, de otras proteínas o enzimas, de inhibidores o de aquellos elementos que influyen sobre la interacción con diversos substratos.

- 5 Según una realización preferente, la célula huésped está caracterizada porque es una bacteria, en especial una bacteria que segrega al medio circundante la proteína o el derivado formado.

10 Las células huésped preferentes son células procariotas o células bacterianas. Las bacterias se caracterizan frente a las eucariotas generalmente por tiempos más cortos de generación y por menores exigencias en relación con las condiciones de cultivo. De este modo pueden establecerse procedimientos económicos para la obtención de proteínas según la invención. Representan una realización preferente aquellas células huésped que están caracterizadas por ser bacterias gram-positivas.

15 Las bacterias gram-positivas tales como, por ejemplo, *Bacilli* o actinomicetos u otros representantes de los actinomicetales no tienen membrana externa, de manera que las proteínas segregadas son liberadas directamente al medio circundante de cultivo del cual, según otra realización preferente, se dejan purificar directamente las proteínas expresadas, según la invención.

20 Representan una realización preferente aquellas células huésped que están caracterizadas porque pertenecen a las especies *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis* o *Bacillus alcalophilus*.

Éstas representan sistemas de expresión gram-positivos establecidos.

25 Representan una realización preferente aquellas células huésped que están caracterizadas porque son bacterias gram-negativas.

30 Ya que en bacterias gram-negativas tales como, por ejemplo, *E. Coli* o *Klebsiella* se ha obtenido las mejores experiencias hasta el momento en la producción biotecnológica. En este caso se segregarán además múltiples proteínas en el espacio periplasmático, es decir en el compartimento comprendido entre ambas membranas que encierran a las células. Esto puede ser aprovechado para aplicaciones especiales. Por otro lado, también puede ser preferente la liberación dirigida de enzimas producidas por bacterias gram-negativas al espacio extracelular. Un procedimiento para ello está descrito, por ejemplo, por la solicitud de patente internacional PCT/EP01/04227 con el título "Procedimiento para la producción de proteínas recombinantes por bacterias gram-negativas".

35 Son preferentes aquellas células huésped que están caracterizadas porque pertenecen al género *Escherichia*, preferentemente a la especie *Escherichia coli*, de forma especialmente preferente a una de las cepas *E. coli* JM 109, *E. coli* DH 100B o *E. Coli* DH 12S.

40 En este caso, se trata de cepas de laboratorio y de producción establecidas y de acceso general. La cepa *E. Coli* DH 12S ha sido utilizada con éxito en el ejemplo 6 para la expresión heteróloga de los genes de actinomicetales obtenidos; debido a ello se han podido obtener proteínas con actividad enzimática de  $\alpha$ -amilasa detectable.

45 Representan otra realización las células huésped que están caracterizadas porque son células eucariotas, en especial aquellas que modifican la proteína formada de forma post-translacional.

50 Ejemplos para ello son hongos o levaduras tales como *Saccharomyces* o *Kluyveromyces*. Esto puede resultar muy ventajoso, por ejemplo cuando las proteínas han de sufrir en relación con su síntesis modificaciones específicas que posibilitan estos sistemas. Entre ellos está, por ejemplo, el enlace de compuestos de bajo peso molecular tales como anclajes con la membrana u oligosacáridos.

55 Otra realización de este objeto de la invención consiste en procedimientos para la producción de una proteína, según la invención. A tal efecto, se utilizan ácidos nucleicos, según la invención, opcionalmente utilizando un vector adecuado y/o utilizando la correspondiente célula huésped o utilizando una célula que forma la misma de manera natural.

60 Todos los elementos ya mencionados anteriormente pueden combinarse en procedimientos para la obtención de las proteínas según la invención. En este caso, para cada una de las proteínas según la invención es concebible una multitud de posibilidades de combinación de etapas del procedimiento. Todas ellas ponen en práctica la idea en la que está basada la presente invención, concretamente la obtención cuantitativa de representantes de un tipo de proteína definido por medio de la función amilolítica y, al mismo tiempo, por la elevada homología en relación con las secuencias indicadas en los protocolos de secuencias, con ayuda de la correspondiente información genética. El procedimiento óptimo debe determinarse experimentalmente para cada caso concreto individual.

65 En principio se procederá de la manera siguiente: Se ligan los ácidos nucleicos, según la invención, en forma del ADN en un vector adecuado de expresión. Éste es transferido a la célula huésped, por ejemplo a células de una cepa de bacterias fácilmente cultivable, que expulsan al medio de cultivo circundante las proteínas, cuyos genes son

controlados por elementos genéticos adecuados; pudiéndose poner a disposición elementos reguladores, por ejemplo, por el vector de expresión. A partir del medio circundante o mediante rotura celular a partir de la misma célula huésped se puede purificar la proteína según la invención a través de varias etapas de purificación tales como, por ejemplo, precipitaciones o cromatografías. Un experto en la materia es capaz de extrapolar un sistema, que haya sido optimizado experimentalmente a escala de laboratorio, a una escala de producción industrial.

Las posibilidades técnicas de aplicación para las amilasas, según la invención, constituyen un objeto propio de la invención. Ya que el objetivo en el que se basaba la misma consistía en poner a disposición las amilasas apropiadas para diversos procesos técnicos. Los más importantes se detallarán a continuación.

Se ha indicado un gran número de posibilidades de aplicación, establecidas en la industria, para las enzimas amilolíticas en los manuales tales como, por ejemplo, el libro "Industrial enzymes and their applications" ("Enzimas industriales y sus aplicaciones") de H. Uhlig, ed. Wiley-Verlag, Nueva York, 1998, la siguiente recopilación no deberá entenderse como una enumeración concluyente sino que representa una selección entre todas las posibilidades de aplicación técnica. Si se pusiese de manifiesto que algunas proteínas individuales que se sitúan dentro del rango de similitud fuesen adecuadas además para otras posibles aplicaciones adicionales, no reivindicadas aquí expresamente, éstas quedarán incluidas con ello en el ámbito de protección de la presente invención.

Una realización de este objeto de la invención lo constituyen los agentes de lavado y limpieza que están caracterizados porque contienen una proteína, según la invención.

Un campo de aplicación importante de las enzimas amilolíticas consiste en el de su utilización como componentes activos en los agentes de lavado o limpieza para la limpieza de textiles o de superficies duras tales como, por ejemplo, vajilla, suelos o equipos de trabajo. En estas aplicaciones la actividad amilolítica sirve para disolver y desprender del fondo por hidrólisis las impurezas hidrocarbonadas, especialmente las que son a base de almidón. A tal efecto, pueden emplearse solas, en medios adecuados o también en agentes de lavado o limpieza. Las condiciones a elegir para ello tal como, por ejemplo, la temperatura, el valor pH, la fuerza iónica, las condiciones redox o influencias mecánicas deberían ser optimizadas para cada problema de limpieza a resolver, es decir en relación al ensuciamiento y al material de soporte. Las temperaturas habituales para agentes de lavado y limpieza se sitúan en rangos de 10°C para agentes de lavado manuales, pasando a 40°C y 60°C hasta los 95°C para agentes de lavado de máquina o en aplicaciones técnicas. Preferentemente también los ingredientes de los agentes en cuestión están ajustados entre sí. Dado que en lavadoras y lavavajillas modernos la temperatura casi siempre deja ajustarse de forma continua, también se incluyen todos los niveles intermedios de temperatura. Las demás condiciones podrán ser adaptadas asimismo de forma muy variable a cada fin de limpieza a través de los restantes componentes de los agentes.

Los agentes preferentes, según la invención, están caracterizados porque mediante la adición de la enzima amilolítica de la invención las prestaciones de lavado o de limpieza de este agente pueden ser mejoradas con respecto a la formulación que no contiene esta enzima, en cualesquiera condiciones que pueden ser definidas de este modo. A este respecto, se incorporarán preferentemente estas proteínas amilolíticas en agentes según la invención, en los que se desee mejorar la potencia de lavado o de limpieza.

Además, los agentes preferentes se caracterizan porque las enzimas amilolíticas y los demás componentes tienen un efecto sinérgico para la eliminación de las impurezas. Esto se produce, por ejemplo, mediante la solubilización de los agentes de hidrólisis de las proteínas amilolíticas por medio de otros componentes de los agentes tales como, por ejemplo, los tensioactivos. Una proteína según la invención puede encontrar aplicación tanto en agentes para el consumo industrial o en aplicaciones industriales como también en productos para el consumo de particulares, representando todas las formas de presentación establecidas según el estado de la técnica y/o oportunas también realizaciones de la presente invención.

Las amilasas se combinarán en agentes, según la invención, por ejemplo con uno o varios de los siguientes ingredientes: tensioactivos aniónicos, catiónicos y/o no iónicos, sustancias de soporte (Builder), blanqueadores, activadores de blanqueo, catalizadores de blanqueo, enzimas tales como por ejemplo proteasas, otras amilasas, lipasas, celulasas, hemicelulasas u oxidasas, estabilizadores, especialmente estabilizadores enzimáticos, disolventes, espesantes, sustancias abrasivas, colorantes, sustancias odorizantes, inhibidores de grises, inhibidores del corrido de los colores, inhibidores de la espuma, inhibidores de la corrosión, especialmente protectores de la plata, blanqueadores ópticos, sustancias activas antimicrobianas, protectores contra los rayos UV y otros componentes conocidos por el estado de la técnica.

Los agentes preferentes están caracterizados porque contienen desde 0,000001% en peso hasta 5% en peso y, de forma preferente de modo creciente desde 0,00001 hasta 4% en peso, desde 0,0001 hasta 3% en peso, desde 0,001 hasta 2% en peso, o desde 0,01 hasta 1% en peso de la proteína amilolítica.

Los agentes preferentes están caracterizados porque están compuestos de más de una fase. Entre ellos puede haber agentes sólidos, en especial aquellos en los que, como mínimo, dos diferentes componentes sólidos, en especial polvos, granulados o productos extruidos estén presentes de forma mezclada entre sí y en su conjunto

sueltos, o en los que como mínimo dos fases sólidas estén presentes de forma ligada entre sí, en especial tras una etapa de compactación común. Adicionalmente, al menos una de las fases puede contener un material sensible a la amilasa, en especial almidón, o al menos puede estar envuelta parcialmente o recubierta del mismo.

5 Asimismo, los productos preferentes están caracterizados porque son en su conjunto líquidos, en forma de gel o pastosos. Preferentemente, la proteína contenida en el mismo y/o al menos una de las enzimas contenidas y/o al menos uno de los demás componentes contenidos se encuentra encapsulado individualmente o junto con otros ingredientes, preferentemente en microcápsulas, muy preferentemente en aquellas que están hechas de un material sensible a la amilasa.

10 Según una realización preferente, la actividad amilolítica es modificada por uno de los demás componentes del agente, en especial es estabilizada y/o se aumenta su aportación a las prestaciones de lavado o de limpieza del agente.

15 De acuerdo con estas consideraciones, también todos los procedimientos de lavado o de limpieza que estén basados al menos en una etapa parcial en una  $\alpha$ -amilasa, según la invención, o en los que se utiliza preferentemente un agente de la invención, representan realizaciones de la presente invención.

20 Asimismo, cada utilización de una  $\alpha$ -amilasa de la invención o, preferentemente, de un agente de la invención para el lavado o la limpieza de textiles o superficies duras representa una realización de la presente invención.

La utilización de una proteína o un derivado de la invención para el tratamiento de materias primas o productos intermedios en la fabricación de textiles, en especial para el desencolado de algodón, representa otra realización.

25 Las materias primas y los productos intermedios de la fabricación de textiles, por ejemplo para aquellos a base de algodón, son dotados de almidón en el marco de su fabricación y elaboración ulterior para hacer posible una elaboración mejorada. Este procedimiento, aplicado tanto a hilos, a productos intermedios así como a textiles se denomina encolado ("sizing"). Para eliminar el apresto, es decir la capa protectora que contiene almidón (desencolado, "desizing") son adecuadas las proteínas amilolíticas, según la invención.

30 Representan otra forma de realización los procedimientos para la licuación del almidón, especialmente para la producción de etanol, que están caracterizados por la utilización de una proteína o un derivado, según la invención.

35 Para la licuación del almidón se incuba el almidón hinchable en agua o en tampón con enzimas amilolíticas, debido a lo cual se disocia el polisacárido en componentes más pequeños, al final principalmente en maltosa. Las enzimas según la invención se utilizarán preferentemente para un procedimiento de este tipo o en una etapa parcial del mismo cuando puedan adaptarse perfectamente a un procedimiento de producción correspondiente debido a sus propiedades bioquímicas. Esto puede ocurrir, por ejemplo, cuando deban incorporarse en una etapa además de otras enzimas que requieran las mismas condiciones de reacción. Las proteínas amilolíticas según la invención son especialmente preferentes cuando constituyan el centro de interés precisamente los productos formados por las mismas. La licuación del almidón puede representar también una etapa en un procedimiento de varias etapas para la obtención de etanol o productos derivados del mismo, por ejemplo ácido acético.

45 Representa otra forma de realización la utilización de una proteína, según la invención, para la obtención de oligosacáridos lineales y/o de cadena corta.

50 Debido a su actividad enzimática, las proteínas amilolíticas según la invención, procedentes de polímeros similares al almidón forman al cabo de un corto período de incubación mayoritariamente oligosacáridos de elevado peso molecular tales como, por ejemplo, maltohexaosa, maltoheptaosa o maltooctaosa. Al cabo de un período más prolongado de incubación aumenta la porción de oligosacáridos inferiores entre los productos de la reacción tales como, por ejemplo, maltosa o maltotriosa. Podrán utilizarse variantes correspondientes de las proteínas según la invención cuando exista un interés especial en determinados productos de la reacción y/o cuando se establezcan de manera correspondiente las condiciones de la reacción. Esto resulta especialmente atractivo cuando no se trate de obtener compuestos puros sino mezclas de compuestos similares tal como, por ejemplo, la formación de soluciones, suspensiones o geles con únicamente propiedades físicas determinadas.

55 Representa otra forma de realización la utilización de una proteína, según la invención, para la hidrólisis de las ciclodextrinas.

60 Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos enlazados de manera  $\alpha$ -1,4-glicosídica, entre las cuales tienen el mayor significado económico las que están constituidas por 6, 7 u 8 monómeros de glucosa, las  $\alpha$ -,  $\beta$ - o bien  $\gamma$ -ciclodextrinas (o ciclohexa-, -hepta-, o bien -octa-amilosas). Con moléculas huésped hidrófobas tales como, por ejemplo, fragancias, sabores o sustancias farmacéuticamente activas, se pueden formar compuestos de inclusión, a partir de los cuales podrán volverse a liberar las moléculas huésped si fuera necesario. Estos compuestos de inclusión son significativos, según el campo de aplicación de los ingredientes, por ejemplo para la fabricación de artículos comestibles, de artículos farmacéuticos o de artículos cosméticos, por ejemplo en productos

65

correspondientes para el consumidor final. La liberación de los componentes a partir de las ciclodextrinas representa por lo tanto una posibilidad de aplicación de las proteínas según la invención.

5 Representa otra forma de realización la utilización de una proteína, según la invención, para la liberación de compuestos de bajo peso molecular a partir de polisacáridos o de ciclodextrinas.

10 Debido a su actividad enzimática las proteínas amilolíticas, según la invención, pueden liberar también compuestos de bajo peso molecular a partir de otros polisacáridos enlazados de manera  $\alpha$ -1,4-glicosídica. Esto puede tener lugar en el plano molecular en el caso de las ciclodextrinas, así como también en sistemas más grandes tales como, por ejemplo, los ingredientes que están encapsulados en forma de microcápsulas. El almidón, por ejemplo, es un material establecido según el estado de la técnica para encapsular durante el almacenamiento compuestos tales como, por ejemplo, enzimas que deban aportarse en cantidades definidas en las cargas de la reacción. El procedimiento de liberación controlada a partir de estas cápsulas puede ser favorecido por las enzimas amilolíticas según la invención.

15 Representa otra forma de realización la utilización de una proteína, según la invención, para la obtención de alimentos y/o ingredientes alimentarios.

20 Asimismo, la utilización de una proteína, según la invención, para la obtención de piensos para animales y/o ingredientes de piensos constituye una forma de realización de este objeto de la invención.

25 Siempre que el almidón o los hidratos de carbono derivados del almidón sean importantes como ingredientes de alimentos o piensos, podrá aplicarse una actividad amilolítica para la obtención de este artículo. La misma aumenta la porción de monómeros o de oligómeros frente a los azúcares polímeros, lo cual favorece por ejemplo el sabor, la digestibilidad o la consistencia del alimento. Esto puede ser necesario para la fabricación de determinados piensos para animales, por ejemplo también en el caso de la fabricación de zumos de frutas, vino u otros alimentos, cuando la porción de azúcar polímero deba reducirse y la de los azúcares dulces y/o fácilmente solubles deba aumentarse. La posibilidad de aplicación indicada anteriormente para la licuación del almidón y/o la producción de etanol puede considerarse una variante industrial de este principio.

30 Además, las amilasas contrarrestan también a la pérdida de sabor de los artículos de panadería conocida como envejecimiento del pan (efecto "anti staling"). Para ello las mismas se añadirán a la masa oportunamente antes del horneado. Por lo tanto, las realizaciones preferentes de la presente invención son aquellas en las que se utilizan proteínas, según la invención, para la fabricación de productos de panadería.

35 Representa otra forma de realización la utilización de una proteína, según la invención, para la disolución de uniones pegadas que contengan almidón.

40 Del mismo modo, los procedimientos de pegado temporales, caracterizados porque en los mismos se utiliza una proteína, según la invención, representan una forma de realización de este objeto de la invención.

45 Además de otros productos naturales se utiliza también el almidón desde hace siglos como aglutinante en la fabricación del papel y para el pegado de papeles y cartones diversos. Esto se refiere por ejemplo a la industria gráfica y del libro. En el transcurso de largos períodos de tiempo estos papeles pueden ondularse o romperse en condiciones desfavorables tales como, por ejemplo, la humedad, lo cual puede llevar a su destrucción total. Al restaurar estos papeles y cartones puede que sea necesario disolver las capas de pegamento, lo cual se facilita considerablemente utilizando una proteína amilolítica, según la invención.

50 Los polímeros vegetales tales como el almidón o la celulosa y sus derivados solubles en agua se utilizan, entre otras cosas, como pegamentos o engrudos. Para ello los mismos tienen que hincharse primero en agua y secarse, tras aplicación sobre el objeto a ser pegado, con lo cual éste se fija sobre la base. La enzima según la invención puede añadirse a una suspensión acuosa de este tipo para influir en las propiedades de pegado del engrudo formado. Sin embargo, la misma también puede ser añadida al engrudo en lugar de esta función o adicionalmente a la misma, para permanecer inactivo sobre el objeto pegado tras el secado durante un período de tiempo prolongado, por ejemplo durante algunos años. También se puede utilizar la modificación específica de las condiciones ambientales, por ejemplo mediante humectación, para activar la enzima en un momento posterior y, de este modo, provocar la disolución del engrudo. De este modo el objeto pegado puede desprenderse de nuevo fácilmente de la base. En este procedimiento la enzima de la invención actúa, debido a su actividad amilolítica, como agente separador en un procedimiento de pegado temporal o como el denominado "conmutador" para desprender el objeto pegado.

60

Ejemplos

Ejemplo 1

5 Construcción de oligonucleótidos cebadores para la amplificación de zonas de secuencias variables de  $\alpha$ -amilasas

Basándose en comparaciones de secuencias conocidas de  $\alpha$ -amilasas (E.C. 3.2.1.1) de eubacterias gram-positivas de diferentes géneros del orden de los actinomicetales (*Streptomyces*, *Thermomonospora* y otros) de la base de datos GenBank (Centro Nacional de Información Biotecnológica NCBI, Instituto Nacional de Salud, Bethesda, MD, EEUU; Revisión Noviembre 1998) se han identificado zonas de secuencias potencialmente conservadas que están flanqueando zonas de secuencias muy variables. Como bloques de secuencias conservadas se han identificado los bloques A hasta E resaltados en la figura 1. Éstos se extienden a través de las siguientes posiciones de aminoácido: A: 58-91, B: 94-141, C: 155-207, D: 295-345, E: 392-427. Por medio de las secuencias de estas zonas se ha diseñado los oligonucleótidos recopilados en la tabla 1 como cebadores o primer; sus secuencias se indican en el protocolo de secuencias con los números 9 hasta 33. Su posición en relación con los bloques de secuencias conservadas A hasta E se muestra a título de ejemplo en la  $\alpha$ -amilasa procedente del *Streptomyces griseus* (número de acceso a GenBank: X57568) representado en la figura 1. Se pueden diferenciar en cuanto a la orientación con respecto a este gen en cebadores directos e inversos.

20 Tabla 1: Cebadores de PCR para amplificar secuencias parciales de  $\alpha$ -amilasas de representantes del orden de los actinomicetales. Se indica en cada caso los nombres utilizados en la figura 1, el número asociado según el protocolo de secuencias de la presente solicitud de patente y la orientación del cebador en relación a los genes de amilasa asociados.

Nombre	SEQ ID NO.	Orientación
GEX 015	13	directo
GEX 016	14	directo
GEX 017	15	directo
GEX 018	16	directo
GEX 019	17	inverso
GEX 020	18	inverso
GEX 021	19	inverso
GEX 022	20	inverso
GEX 023	21	directo
GEX 024	9	directo
GEX 025	22	inverso
GEX 026	10	inverso
GEX 027	23	directo
GEX 028	24	directo
GEX 029	11	directo
GEX 030	25	inverso
GEX 031	12	inverso
GEX 036	26	directo
GEX 037	27	directo
GEX 038	28	inverso
GEX 039	29	inverso
GEX 040	30	directo
GEX 041	31	directo
GEX 042	32	inverso
GEX 043	33	inverso

30 Como matriz sirven, según métodos estandarizados las preparaciones de ADN genómicas conservadas de aislados bacterianos conocidos y desconocidos de diversas muestras de suelo, siempre en cultivo puro. Los cebadores han sido utilizados en combinaciones de un cebador *directo* con un cebador *inverso* para una PCR, respectivamente. Los productos de la PCR han sido separados mediante electroforesis en gel de agarosa tal como se describirá más adelante y se han utilizado para el rastreo de genes completos.

35 Entre las cargas de PCR se encontraban también aquellas con las combinaciones de cebadores GEX024 (directo) / GEX026 (inverso) y GEX029 (directo) / GEX031 (inverso). Éstos son derivados de las zonas de secuencias C (GEX024 y GEX029) y D (GEX026 y GEX031) (figura 1) que corresponden a los dominios de amilasa  $\beta$ 4 y  $\beta$ 7 de la estructura de barril ( $\alpha\beta$ )<sub>8</sub> tal como están definidos en la artículo "Alpha-Amylase family: molecular biology and evolution" ("Familia de alfa-amilasa: biología molecular y evolución") (Janecek, S. (1997), Prog. Biophys. Mol. Biol. 67 (1), páginas 67 – 97). Las secuencias de nucleótidos para estos cuatro cebadores están indicadas en el protocolo de secuencias con las denominaciones SEQ ID NO. 9 hasta SEQ ID NO. 12.

Estos cuatro cebadores dieron lugar en las cargas de la PCR con los ácidos nucleicos aislados de aislados bacterianos fragmentos de un tamaño reproducible. En la figura 2 se muestra, a título de ejemplo, un análisis de tamaños de los productos amplificados obtenidos de 20 preparaciones elegidas aleatoriamente de aislados del orden de los actinomicetales; con el par de cebadores GEX024/GEX026 de la figura 2A y con el par de cebadores GEX029/GEX031 de la figura 2B. Las condiciones de la PCR están indicadas en el ejemplo 2; después de la reacción se separa 1/10 del volumen de reacción, respectivamente, en un gel de agarosa al 2,5%. Las cargas están basadas en las cepas de *Streptomyces sp.* recopiladas en la siguiente tabla.

10 Tabla 2: Cepas de *Streptomyces sp.*, cuyos productos de PCR con los pares de cebadores GEX024/GEX026 y GEX029/GEX031 se muestran en la figura 2.

Bandas	<i>Streptomyces sp. ...</i>	SEQ ID NO.
1	B101A	45
2	B114C	83
3	B134	97
4	B135A	98
5	B138A	101
6	B152A	108
7	B153(B)	109
8	B161A	116
9	B156B	111
10	B157C	112
11	B158A	113
12	B160B	115
13	B161A	116
14	B373	232
15	B375	234
16	B380	236
17	B390	238
18	B392A	239
19	B392A	239
20	B394	241

15 Con ambos pares de cebadores se amplificaron fragmentos de ADN de acuerdo con una banda de 300 bp. Además, en algunas cargas apareció un fragmento de aprox. 500 bp. Ambos productos fueron determinados mediante secuenciación (veáse el ejemplo 2) como secuencias de  $\alpha$ -amilasa. Los demás cebadores indicados anteriormente y en el protocolo de secuencias mostraron una selectividad inferior.

20 Todas las cepas indicadas en el protocolo de secuencias dieron los mismos resultados; especialmente la banda de 300 bp fue reproducible para todas las cepas. Todos los fragmentos, especialmente los fragmentos de 300 bp que pudieron obtenerse de este modo a partir de las muestras sometidas a ensayo, pueden homologarse. Especialmente en las regiones de los cebadores presentan grandes coincidencias, aunque no necesariamente una total homología, que fueron suficientes para identificarlos con el método de la invención. A través de las variaciones de secuencia entre ellos, tal como se han indicado también en el protocolo de secuencias bajo SEQ ID NO. 263 y en la figura 3, definen un espacio de variación de secuencias dentro del grupo de las proteínas amilolíticas.

#### Ejemplo 2

30 La obtención del ADN genómico a partir de actinomicetos y amplificación y clonación de secuencias genéticas de la  $\alpha$ -amilasa, mediante métodos basados en PCR

La aplicabilidad del método, según la invención, fue sometida a ensayo con una colección de varios centenares de aislados individuales del orden de los actinomicetales, que se habían obtenido a partir de muestras de suelo de acuerdo con métodos microbiológicos convencionales. Se trataba en cada caso de cepas individuales cultivadas.

35 El aislamiento se llevo a cabo en este ejemplo según métodos estandarizados a partir de muestras de suelo utilizando medio GYM (4,0 g/l de glucosa, 4,0 g/l de extracto de levadura; 10 g/l de extracto de malta; 2,0 g/l CaCO<sub>3</sub>; 10 g/l de agar, ph 7,2) con adición de 50  $\mu$ g/ml de nistatina para suprimir la flora acompañante.

40 El cultivo de las cepas

El cultivo de las cepas de los actinomicetos se realizó mediante inoculación de 5 ml de medio GHPF (10 g/l de glucosa; 5 g/l de peptona de caseína; 5 g/l de extracto de carne; 5 g/l de extracto de levadura; 0,74 g/l CaCl<sub>2</sub> x 2H<sub>2</sub>O; pH 7,2) con 50  $\mu$ l de suspensión de esporas a la temperatura específica de cada cepa (28°C hasta 50°C) y a una

velocidad de agitación de 200 rpm.

Tras suficiente formación de micelas se inocularon 200 ml de medio YEME (3 g/l de extracto de levadura; 5 g/l de bacto-triptona; 3 g/l de extracto de malta; 10 g/l D(+)glucosa; 340 g/l de sacarosa; pH 7,2; tras tratamiento en autoclave, adición de MgCl<sub>2</sub> 5 mM y, en función de la cepa, entre 0,5 – 20 g/l de glicina) con el precultivo entero y se agitaron durante 3 días en un matraz con desviadores de un litro a la misma temperatura y con una velocidad de 170 rpm.

El aislamiento de ADN

Para la preparación de ADN 1 g del micelio lavado en glicerina al 20% (v/v) se resuspendió en 3 ml de tampón TE25S (Tris 25 mM, pH 8,0; EDTA 25 mM; sacarosa 0,3 M) con adición de 2 mg/ml de lisozima, se invirtió durante 30 min a 37°C y, tras adición de 4 ml 2x de solución Kirby-Mix (2% SDS; 120 g/l de sodio-4-aminosalicilato; Tris 100 mM, pH 8,0; 6% de fenol, saturado con Tris 50 mM /pH 8,0 y suplementado con 0,1% de hidroxiquinolina) se invirtió otros 10 min. A continuación, se realizó una doble extracción de la fase acuosa primero con 8 y luego con 3 ml de fenol/cloroformo/isoamilalcohol (25:24:1) por inversión durante 10 minutos, seguidos de otros 10 min de centrifugado a 2500 x g. El ADN fue precipitado por inversión suave con adición de 1/10 de volumen de acetato de sodio 3 M (no tamponado) y 0,6 de volumen de isopropanol, insuflado y limpiado cinco veces con etanol al 70%. El pellet (torta) fue recogido en 3 ml de tampón HE (HEPES 10 mM, pH 8,0 con NaOH; EDTA 1 mM), incubado durante 1 hora a 50-55°C y disuelto durante la noche a 4°C.

En su caso, se puede añadir a continuación una etapa de limpieza a efectos de eliminar eventuales componentes que acompañan el ADN y tienen un efecto inhibitor sobre la reacción de amplificación. Esto fue necesario en algunas preparaciones en las que, en un principio, no se había formado ningún producto de PCR (véase más adelante). En este caso, se debió impedir primero la influencia de componentes inhibidores en la preparación del ADN mediante dilución (hasta 1:100) o por purificación a través de una columna de purificación PCR QIAquick (Qiagen, Hilden) de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

Al día siguiente tuvo lugar un procesamiento del ADN mediante una incubación durante una hora a 37°C, sucesivamente con 40 µg/ml de RNasaA (inactivada por calor) y con 0,5 mg/ml de proteinasa K. A continuación, se extrajo la fase acuosa en el mismo volumen de fenol/cloroformo/isoamilalcohol (25:24:1), se invirtió durante 10 min, se centrifugó a 2500 x g y se precipitó como el día anterior, se lavó tras el insuflado y se disolvió en 1 ml de tampón HE.

La amplificación de las secuencias de amilasa mediante la PCR según la invención

Antes de la caracterización de las secuencias de amilasa se procedió primero a una amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esto se llevó a cabo utilizando la polimerasa HotStar Taq (firma Qiagen, Hilden) y los cebadores específicos de la amilasa (ejemplo 1, tabla 3). A tal efecto se utilizaron 4 µl del ADN genómico aislado conforme al procedimiento descrito anteriormente en presencia de 200 µM dNTPs (dATP, dTTP, dCTP dGTP, respectivamente), 20 pmol de un cebador directo y uno inverso, 2,5 U de polimerasa HotStar Taq (firma Qiagen, Hilden) y 1 x tampón PCR, respectivamente, en 50 µl de volumen total. Se amplificaron fragmentos de los tamaños de 280 hasta 500 bp en los siguientes ciclos: 1 ciclo de 15 min a 95°C; 40 ciclos de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 60°C y 30 segundos a 72°C cada uno; 1 ciclo de 7 min a 72°C.

Especialmente del par de cebadores GEX024/GEX026 se obtuvo resultados constantes en todos los ADNs genómicos con respecto a un producto de 300 bp que mostró homologías con respecto a las amilasas en la secuenciación (véase el ejemplo 1). En algunas preparaciones de ADN no hubo formación de producto, en un principio. Primero se debió impedir la influencia de componentes inhibidores en la preparación del ADN mediante dilución (hasta 1:100) o por purificación a través de una columna de purificación PCR QIAquick® (Qiagen, Hilden), de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

Las bandas (aprox. 300 bp) que se obtuvieron con la combinación de cebadores GEX02MGEX028 fueron eluidos para su secuenciación mediante el kit QIAEX II® de la firma Qiagen (Hilden) y clonados en el vector pCR2.1-TOPO® mediante el kit TOPO TA® (firma Invitrogen, Groningen, Países Bajos) de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Con los productos de ligadura se transformó TOP® 10F' (firma Invitrogen, Groningen, Países Bajos) en *E. Coli*. Tras la selección azul/blanco de clones recombinantes sobre el medio LB con ampicilina (100µg/ml), IPTG (100mM), X-Gal (40mg/ml) se examinó el ADN plasmídico mediante los clones blancos tras una minipreparación en un análisis de restricción con *EcoRI* para determinar si contenía ADN insertada.

El análisis de secuencias de los plásmidos con ADN insertada se realizó de forma rutinaria sobre un ABI PRISM® 310 (firma Perkin Elmer, Weiterstadt) mediante un kit terminador AmpliTaq-FS-Big-Dye® (firma Perkin Elmer, Weiterstadt) de acuerdo con las indicaciones del fabricante, utilizando 200-500 ng de ADN plasmídico, 10 pmol de cebador (TopoF: 5'-GCTCGGATCCACTAGTAACG-3' y TopoR: 5'-CTCTAGATGCATGCTCGAG-3'), 4 µl de Premix en un volumen total de 20 µl. Las secuencias de ADN obtenidas fueron transcritas conceptualmente y de forma rutinaria en una secuencia de aminoácidos, comparadas con los registros existentes en la base de datos GenBank

mediante los algoritmos BlastX, BlastN y BlastP e identificadas, de este modo, como secuencias parciales de genes de  $\alpha$ -amilasa. Las secuencias parciales encontradas se detallan en el protocolo de secuencias en los números SEQ ID NO. 2, 4 y 34 hasta 262 y son emparejadas en la secuencia de consenso de la figura 3, o en la SEQ ID NO. 263, respectivamente.

5

### Ejemplo 3

La detección de secuencias genéticas de longitud completa (full-length) que codifican para  $\alpha$ -amilasa mediante el rastreo de actividad de bancos de genes de expresión

10

Para montar y aislar genes completos de  $\alpha$ -amilasa a partir de actinomicetales se eligió una clonación de expresión en el organismo huésped heterólogo *Escherichia coli* y, concretamente de la cepa DH 12S. Como promotor se utilizó el promotor  $\beta$ -galactosidasa del operón lac (promotor *lac*) inducible por IPTG (isopropiltiogalactosida). Éste se puso a disposición sobre el vector plasmídico pUC18 (GenBank (National Center for Biotechnology Information NCBI, National Institutes of Health, Bethesda, MD, EEUU); número de acceso L08752; figura 4).

15

La elaboración de bancos de genes de expresión para cada cepa

20

El ADN genómico purificado a partir de las correspondientes cepas de actinomicetales, que se había obtenido según el ejemplo 2, fue disociado parcialmente con la enzima de restricción *Aci* I y el rango de magnitud de 3 hasta 5 kb se ligó en los vectores plasmídicos pUC18 (figura 4) linearizados con la enzima de restricción *Acc* I. Con tamaños medios de inserto de 4 kb y un tamaño de genoma de actinomicetos estimado de 8 Mb se obtiene para una cobertura deseada de 5 veces del genoma en un banco de genes un número de 20 000 clones primarios. Dado que la expresión parte del promotor *lac* propio del plásmido, los insertos sin embargo pueden ser integrados en dos orientaciones, este número se eleva a, como mínimo, 40 000 clones. Esto era el número mínimo de clones que se ha conseguido para cada banco de genes.

25

30

Para averiguar los parámetros de restricción óptimos para la digestión parcial preparativa del ADN genómico a partir de actinomicetos se realizaron primero cinéticas de restricción utilizando 6  $\mu$ g de ADN y enzimas de restricción (*Aci*) en concentraciones de 0,1 hasta 0,4 U por  $\mu$ g de ADN en 1 x tampón, en su caso, según las indicaciones del fabricante con albúmina de suero bovino (BSA) en un volumen total de 15  $\mu$ l. Las cargas fueron temperadas primero sin enzima a 37°C. Luego se inicio la correspondiente reacción mediante adición de endonucleasa de restricción. En intervalos predeterminados entre 0 y 10 min se pusieron sobre hielo 1,5  $\mu$ l de carga de reacción con cada 1 x tampón de paro (6X: Tris 10 mM, pH 7,0; 20% glicerina; 0,1% SDS) y se analizó sobre un gel de agarosa al 0,7%. Debido a ello se detectó para cada preparación de ADN individualmente el tiempo de restricción óptimo para una digestión parcial; la media estaba en 4 a 5 min.

35

40

La digestión parcial preparativa se realizó tal como se ha descrito anteriormente, pero en una carga diez veces superior y utilizando 60  $\mu$ g de ADN cromosomal de actinomicetos y la cantidad de enzima optimizada anteriormente durante el tiempo determinado individualmente para cada caso. Tras parar la reacción mediante la adición de 1 x tampón de paro la carga fue separada por electroforesis sobre un gel de agarosa al 0,7%, la zona del gel con ADN del tamaño de 3-5 kb fue recortada y aislada mediante electroelución en tubos de diálisis durante dos horas a 4°C. El ADN precipitado con 1/10 de volumen de acetato de sodio 3 M y 2,5 veces el volumen de etanol y recogida en un volumen más pequeño fue sometido a una segunda electroforesis en gel para separar otros fragmentos más pequeños, seguido de una electroelución y nuevamente una concentración.

45

50

La ligación con el vector plasmídico pUC18 se realizó por la noche a 16°C en un volumen total de 20  $\mu$ l utilizando 150 ng del vector pUC18 linearizado con *Acc* I y desfosforilado de acuerdo con las indicaciones del fabricante con CIAP (fosfatasa alcalina a partir de timo de ternera) y 450 ng de ADN genómico parcialmente disociado, así como una cantidad adecuada de ligasa (en este caso 400 unidades NEB) en 1 x tampón de ligasa.

55

La transformación de células competentes de *E. coli* DH 12S (firma Gibco Life Technologies, Karlsruhe) se llevó a cabo por electrotransformación. A tal efecto, se mezclaron 1  $\mu$ l de carga de ligación y 30  $\mu$ l de células, se incubaron en una cubeta de electroporación durante 1 minuto sobre hielo y fueron tratados en el electroporador (BTX<sup>®</sup> ECM399, firma Genetronics Inc., San Diego, CA, EEUU) de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Tras su inmediata incorporación en 1 ml de medio SOC (2% de bacto-triptona; 0,5% de extracto de levadura; NaCl 10 mM; KCl 2,5 mM; pH 7,0 ajustado con NaOH; tratamiento en autoclave; suplementado con MgSO<sub>4</sub> 10 mM y MgCl<sub>2</sub>, así como D(+)-glucosa 20 mM) siguió una fase de recuperación de 1 h a 37°C antes de su colocación en placas.

60

65

Para examinar la calidad del banco de genes se determinó el número de los transformantes primarios generados en total y el número de clones portadores de un inserto a través de la selección azul/blanco en placas de ensayo. A tal efecto se distribuyeron 1  $\mu$ l y 10  $\mu$ l, respectivamente, de la carga de ligación sobre el medio LB con ampicilina, IPTG, X-Gal (tal como se ha descrito anteriormente) y se incubó durante la noche a 37°C. Para confirmar los tamaños de inserto clonados realmente se llevó a cabo el aislamiento de los plásmidos de como mínimo 10 colonias blancas de las placas de ensayo y una digestión de restricción adecuada con el subsiguiente análisis de tamaño por electroforesis en gel.

## Ensayo de actividad de los bancos de genes

Primero se comprobó la capacidad de los bancos de genes para la degradación de almidón. A tal efecto, se utilizó agar LB con almidón soluble al 1% (firma Merck, Darmstadt, nº de art. #1252) donde, debido a la aparición de halos de lisis, se podía identificar clones capaces de degradar el almidón. Esto requirió un almacenamiento de las placas durante dos hasta cuatro semanas a 4°C hasta su enturbiamiento, después del cual la degradación del almidón era visible en forma de zonas más claras alrededor de las colonias en las placas. Adicionalmente se utilizó Cibacron Brilliant Red® 3B-A (firma Aldrich, Taufkirchen) como almidón soluble y marcado (aprox. al 0,6% p/v) (Blely, P., Mislovicova, D., Markovic, O., Kalac, V. (1988): "A new chromogenic substrate for assay and detection of alpha-amylase" ("Un nuevo sustrato cromogénico para el ensayo y la detección de alfa-amilasa"); Anal. Biochem., tomo 172 (1), páginas 176-179), donde la degradación de almidón se aprecia por una decoloración del agar rojizo en la zona del clon positivo. Antes de su uso, se añadió a las placas en ambos casos IPTG (100 mM) para la inducción del promotor y ampicilina (100 µg/ml) para ejercer la presión seleccionada sobre los transformantes.

En función del título de cada banco creado, se distribuyó uniformemente un volumen definido de la carga de transformación con aproximadamente 10 000 colonias por placa (14 cm de diámetro) mediante bolas de vidrio en las placas (colocación en placa primaria). Tras incubación durante 16 horas a 37°C las placas se siguieron incubando durante 24 – 48 horas más a 28°C para la expresión de la amilasa y su liberación. Para ello, la incubación a 28°C era imprescindible por norma general para hacer visible la degradación del almidón. En este contexto podrían tener importancia un plegado mejorado de la proteína y la permeabilización de la membrana exterior de la célula (Stathopoulos, C., Georgiou, G., Earhart, C.F. (1996): "Characterization of *Escherichia coli* expressing an Lpp'OmpA(46-159)-PhoA fusión protein localized in the outer membrane" ("Caracterización de *Escherichia coli* expresando una proteína de fusión Lpp'OmpA(46-159) localizada en la membrana exterior"); Appl. Microbiol. Biotechnol., tomo 45 (1-2), páginas 112-119). Ello iba acompañado, por lo tanto, por una liberación de la  $\alpha$ -amilasa formada en cada caso, y no fue necesario realizar una lisis adicional de la célula para la detección de amilasas de citoplasma no exportadas.

Tras la individualización de las colonias a partir de los halos aparecidos en la colocación primaria en placas mediante una nueva colocación (secundaria) sobre las mismas placas de almidón, se pudo seleccionar colonias individuales formadoras de amilasa por medio de una nueva formación de halos. Para fines de documentación fotográfica ha dado buenos resultados la coloración de las placas de almidón, tras asegurar los clones, mediante una solución de Lugol al 50% (firma Merck) para la visualización inequívoca de zonas libres de almidón (halos de degradación).

En la figura 6 se muestra una placa de agar LB<sub>Amp</sub>, que contiene almidón y ha sido colorada adecuadamente, sobre la que se ha aplicado gotas de las suspensiones de clones positivos de la colocación secundaria en placas.

## El aislamiento de clones individuales

El ADN plasmídico de clones positivos obtenido tras la minipreparación (kit de la firma Qiagen, Hilden, Alemania, utilizado según indicaciones del fabricante) fue examinado mediante un análisis de restricción con *Eco* R I o *Sac* II *Hind* III en cuanto al tamaño de inserto y seguidamente fue secuenciado. Primero se utilizaron los cebadores M13 que flanquean el inserto (M13 directo: 5'-GTAAAACGACGGCCAG-3'; M13 inverso: 5'-CAGGAAACAGCTATGAC-3') para obtener finalmente la secuencia total a través de lo que se denomina circulación de cebadores ("Primer-walking"), tal como se conoce por el estado de la técnica. El principio de este procedimiento consiste en que a partir de secuencias detectadas en una serie que se repite se pueden derivar nuevos cebadores de secuenciación y éstos pueden ser utilizados para la secuenciación de las siguientes regiones todavía desconocidas; a partir de éstos se pueden derivar, a su vez, los próximos cebadores de secuenciación.

## Ejemplo 4

La expresión heteróloga de  $\alpha$ -amilasas en sistemas de expresión procariotas

Para la caracterización de las propiedades bioquímicas de las  $\alpha$ -amilasas clonadas, éstas deberían ser producidas en cantidades más grandes de forma soluble. La misma se realizó para los genes completos de amilasa de *Streptomyces* sp. B327\*, *Streptomyces* sp. B400B y el aislado de actinomicetales *Streptomyces* sp. B327B. Como anfitrión de expresión se utilizó *Streptomyces lividans* TK24; como vector de expresión sirvió pAX5a (figura 5). En ella la expresión está controlada por el promotor constitutivo ermE.

Para insertar las interfaces *Spe* I y *Eco* RI necesarias para la clonación y para sustituir los codones de inicio más raros y, por lo tanto, eventualmente peor trasladados del gen de amilasa de B327\* (GTG) y B400B (TTG) por ATG, se llevó a cabo una PCR con cebadores adecuadamente modificados. Para la clonación de la  $\alpha$ -amilasa completa a partir de *Streptomyces* sp. B327\*, por ejemplo, se utilizó el cebador directo: 5' aaaactagtAAGGAGAACC-CCCACaTGATATCGAG3' y el cebador inverso: 5' gaattcgccttTCAGCAGTTGGCCTTGCCCG3'. Los nucleótidos nuevos, no complementarios se han reproducido aquí con letras minúsculas. En el cebador directo se han

subrayado los puntos de reconocimiento para la enzima de restricción *Spe* I y el codón de inicio; la secuencia Shine-Dalgarno está resaltada en negrita. En el cebador inverso se ha subrayado el punto de reconocimiento para la enzima de restricción *Eco* RI y se ha resaltado en negrita el codón de paro (con orientación inversa). Como matriz sirvieron los clones genómicos aislados a partir de los bancos de genes.

5 Tras una clonación intermedia de los productos PCR generados mediante la polimerasa *Pfx* Platinum en el vector pCR Blunt II TOPO (firma Invitrogen, Groningen, Países Bajos) se llevó a cabo la inserción dirigida en el vector de expresión pAX5a de estreptomicetos utilizando las interfaces de restricción *Spe* I y *Eco* RI. A continuación, se llevó a cabo la transformación de protoplastos de *S. lividans* TK 24, según Kieser y otros (Kieser, T., Bibb, M.J., Buttner, M.J., Chater, K.F., Hopwood, D.A. (2000): "PEG-assisted transformation of *Streptomyces* protoplasts with plasmid DNA. Rapid small-scale procedure." ("Transformación de protoplastos de *Streptomyces* asistida por PEG con ADN plasmídico. Proceso rápido a pequeña escala") en "Practical *Streptomyces* Genetics", The John Innes Foundation (edición), Crows, Norwich, Inglaterra) y una colocación en placas de los transformantes sobre el medio de regeneración selectivo R2YE. Éste está compuesto de: 103 g de sucrosa, 0,25 g  $K_2SO_4$ , 0,12 g  $MgCl_2 \times 6 H_2O$ , 10 g de glucosa, 100 mg de Difco Casaminoacids (firma Difco, Heidelberg), 10 ml de solución  $KH_2PO_4$  al 0,5% (p/v), 80 ml de solución  $CaCl_2$  al 3,68% (p/v), 1,5 ml de L-Prolina, 100 ml de tampón TES (pH 7,2; ácido 2-[[Tris(hidroximetil)metil]amino]-etansulfónico), 0,2 ml de solución de elementos traza (40 mg/l  $ZnCl_2$ , 200 mg/l  $FeCl_3 \times 6 H_2O$ , 10 mg/l  $CuCl \times 2 H_2O$ , 10 mg/l  $MnCl_2 \times 2 H_2O$ , 10 mg/l  $Na_2B_4O_7 \times 10 H_2O$ , 10 mg/l  $(NH_4)_6 Mo_7O_{24} \times 4 H_2O$ ) y 5 ml de extracto de levadura Difco al 10% (p/v) (firma Difco, Heidelberg) sobre 1 l  $H_2O$  con 75  $\mu$ g/ml de tioestreptona como antibiótico selectivo.

Tras recolocación sobre placas indicadoras NBSA (8 g/l de nutriente Broth Difco, 15 g/l de agar Serva, almidón soluble Merck #1252 al 1,5% (p/v), pH 8,0; fabricante: firma Difco, Heidelberg; firma Serva, Heidelberg; firma Merck, Darmstadt) e identificación de clones positivos de amilasa que pudieron ser reconocidos por los halos de degradación de almidón que se estaban formando, se realizó un cultivo en medio líquido para obtener excedentes enzimáticamente activos. A tal efecto se cultivó un precultivo de 5 ml durante 16 h y después un cultivo de 50 ml en un matraz de Erlenmeyer de 300 ml con desviadores utilizando un medio GYM (4 g/l de glucosa, 4 g/l de extracto de levadura, 10 g/l de extracto de malta, 2 g/l  $CaCO_3$ ) con 75  $\mu$ g/ml de tioestreptona durante 4 días. El excedente de cultivo que contenía amilasa se obtuvo mediante separación de la masa celular mediante centrifugado durante 15 min a 2500 g y subsiguiente filtración (0,45  $\mu$ m), y fue llevado directamente a la medición o bien almacenado a -20°C en el refrigerador tras ultracongelación en nitrógeno líquido.

#### Ejemplo 5

35 La caracterización de la actividad amilolítica de representantes de  $\alpha$ -amilasas

La caracterización de las propiedades enzimáticas

40 Teniendo en cuenta que las  $\alpha$ -amilasas tienen campos de aplicación muy diversos, se realiza la caracterización de las propiedades enzimáticas que puede constituir la base para la selección de las enzimas en relación a su aplicación. La representación de las enzimas puede realizarse mediante clonación o expresión heteróloga de las secuencias genéticas según los ejemplos 3 y 4, y de acuerdo con el procedimiento mostrado anteriormente.

45 La actividad amilolítica fue determinada por el método dinitrosalicílico (ensayo DNSS). Mediante el mismo se determina la hidrólisis de un sustrato de almidón complejo por medio del aumento de los terminales reductores del polisacárido y la absorción de reactivo DNSS transformado a 540 nm sirve como medida para la actividad hidrolítica.

50 Para el ensayo se presentaron en una placa de 96 pocillos para un termociclador de PCR (0,2 ml "thin-wall plate" (placa de paredes delgadas) #3416, MBP (Molecular BioProducts, San Diego, EEUU) en cada uno de los pocillos de muestra y de blanco 25  $\mu$ l de solución de sustrato (1% almidón soluble p.a. Merck en tampón Tris-maleato 180 mM, pH 8,6 o en 180 mM del correspondiente tampón de ensayo) y se preincubaron en un bloque termociclador durante 5 min a 50°C o a la temperatura de ensayo correspondiente en cada caso. Tras adición de 20  $\mu$ l de solución de enzimas por pocillo se llevó a cabo la conversión de sustrato durante 15 min a 50°C, o bien a la temperatura de ensayo correspondiente. Tras adición de 65  $\mu$ l de reactivo DNSS (8,8 g de ácido dinitrosalicílico, 250 g de tartrato de potasio y sodio, 6,3 g de disulfito de sodio, 334 ml  $NaHO$  al 4,5% (p/v), 915 ml  $H_2O$ ) a los pocillos de muestra y de blanco, así como la adición de 20  $\mu$ l de solución de enzimas a los pocillos de blanco la placa de ensayo fue transferida de inmediato a un bloque térmico precalentado a 100°C e incubado durante 20 min a 100°C. La medición de las muestras se realizó mediante transferencia de 60  $\mu$ l de la carga de ensayo a 200  $\mu$ l  $H_2O$ , respectivamente, que se habían presentado en una placa de medición de 96 pocillos (PS-Microplate, 96 Well #655101, Greiner) y la subsiguiente determinación de la absorción a 540 nm mediante un espectrofotómetro para placas de microtitulación (Spectramax 190, firma Molecular Devices, Sunnival, EEUU) con  $H_2O$  como referencia. Se realizaron tres mediciones respectivamente; la evaluación se realizó mediante sustracción del valor medio de los 3 pocillos de blanco del valor medio de 3 pocillos de muestra.

## Estabilidad térmica y perfil de temperatura

Para determinar la estabilidad térmica se preincubaron las soluciones de las  $\alpha$ -amilasas obtenidas de forma recombinante durante 15 min a diferentes temperaturas y, a continuación, se determinó la actividad residual según el procedimiento descrito anteriormente a 50°C y con Tris-maleato 100 mM, pH 8,6. Para la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces sp.* B327B se obtuvo máxima estabilidad a 45°C, pero con temperaturas más elevadas, hasta 61°C el efecto era relativamente moderado con actividades residuales de más del 80%. Los demás resultados están resumidos en la tabla 3, donde el valor óptimo de 45°C se ha fijado con 100%.

10 Tabla 3: Estabilidad térmica de la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces sp.* B327\*

Temperatura de pre-incubación [°C]	Actividad residual en relación con la de 45°C [%]
45	100
50,4	94
55,8	86
61	84
64,7	46

Para determinar el perfil de temperatura se realizó la conversión según el modo de proceder descrito anteriormente a diferentes temperaturas y con tampón de Tris-maleato 100 mM, pH 8,6. Para la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces sp.* B327\* se obtuvo máxima actividad a 41,3°C. Temperaturas más elevadas condujeron a esta enzima a importantes pérdidas de actividad (véase la tabla 4). La actividad de la amilasa procedente de *Streptomyces sp.* B327B, en cambio, se mantuvo relativamente constante en el rango de temperatura del ensayo (véase tabla 5).

20 Tabla 4: Perfil de temperatura de la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces sp.* B327\*

Temperatura [°C]	Actividad en relación con la de 41,3°C [%]
40	87
41,3	100
50,7	38
56	38
59,8	35

25 Tabla 5: Perfil de temperatura de la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces sp.* B327B.

Temperatura [°C]	Actividad en relación con la de 41,3°C [%]
40	103
41,3	100
50,7	117
56	92
59,8	83

Se reconoce que la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces sp.* B327B es más estable en un rango de temperatura más amplio y hasta temperaturas más elevadas que la procedente de *Streptomyces sp.* B327\*. Las enzimas amilolíticas puestas a disposición por la presente invención se distinguen por lo tanto en lo que se refiere a su sensibilidad térmica por presentar una variabilidad remarcable.

## La estabilidad frente a oscilaciones de valores de pH

Para determinar la actividad de las  $\alpha$ -amilasas en diferentes condiciones de pH se preparó una solución de sustrato de almidón en un rango de pH de 6,0 hasta 8,6 con un tampón de Tris-maleato 180 mM adecuadamente ajustado; para un pH de 8,6 y el rango de pH superior al mismo, se ha preparado la solución con un tampón glicina-NaOH 180 mM. Tras dilución de la solución de sustrato se obtuvo en las condiciones de ensayo los valores de pH deseados y las concentraciones de tampón Tris-maleato 100 mM, o bien de tampón glicina-NaOH 100 mM deseadas. Mediante la medición en un pH 8,6 en ambos sistemas de tampón pudieron compensarse las influencias del sistema de tampón. La determinación de la actividad amilolítica con los valores de pH respectivos se realizó tal como se ha descrito anteriormente a 50°C. Los resultados obtenidos se recogen, a continuación, en la tabla 6. Las actividades con un pH 6,5 de ambas  $\alpha$ -amilasas procedentes de *Streptomyces sp.* B327\* y B327B se han fijado en el 100% en ambos casos; los valores indicados a continuación se refieren a las mismas.

Tabla 6: Actividad amilolítica de las  $\alpha$ -amilasas procedentes de *Streptomyces sp.* B327\* y del aislado de actinomicetal *Streptomyces sp.* B327B con valores de pH alcalinos

Valor pH de la preincubación	Actividad relativa de la $\alpha$ -amilasa procedente de <i>St. sp.</i> B327* [%]	Actividad relativa de la $\alpha$ -amilasa procedente de <i>St. sp.</i> B327B [%]
6,5	100	100
8,6	38	129
10	21	84
12	13	43

5 Frente a la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces sp.* B327\* la procedente de *Streptomyces sp.* B327B es más estable en un medio más alcalino y también presenta una mayor estabilidad o una mayor actividad amilolítica hasta con valores de pH muy elevados.

La estabilidad frente a tensioactivos

10 Para determinar la estabilidad frente a los tensioactivos se llevaron a cabo dos líneas de medición de actividad. En la primera se pre-incubó la  $\alpha$ -amilasa tal como se ha descrito anteriormente con una solución de sustrato de almidón con dodecilsulfato sódico (SDS) al 0,018% (p/v), de manera que tras la dilución se obtuvo una concentración de 0,01% de SDS en la carga del ensayo. La determinación de la actividad se realizó otra vez a 50°C y con un tampón de Tris-maleato 100 mM, pH 8,6. Si se fija para estos valores el 100%, respectivamente, las dos  $\alpha$ -amilasas examinadas presentan en ausencia de SDS una menor actividad: la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces sp.* B327\* presenta sin SDS una actividad del 94,2% y la procedente de *Streptomyces sp.* B327B una del 89%. Esto muestra que ambos representantes del nuevo grupo de  $\alpha$ -amilasas elegidos al azar poseen suficiente estabilidad en presencia de una concentración de tensioactivos típica en muchas aplicaciones.

20 Para la caracterización de la actividad enzimática en presencia de iones bivalentes potencialmente estabilizadores, o en presencia de formadores de complejos se incubaron las enzimas elegidas al azar con una solución de sustrato de almidón (1% de almidón) que contiene  $\text{CaCl}_2$  3,6 mM, o bien con una solución de sustrato de almidón que contiene EDTA 1,8 mM, de manera que en el ensayo realizado tal como se ha descrito anteriormente se obtuvo concentraciones finales de  $\text{Ca}^{2+}$  2mM, o bien EDTA 1 mM, respectivamente. La determinación de la actividad restante se realizó otra vez a 50°C y con un tampón de Tris-maleato 100 mM, pH 8,6.

25 Si se fijan las actividades de ambas enzimas con  $\text{CaCl}_2$  2 mM en el 100%, la actividad de la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces sp.* B327\* baja al 91% en presencia de EDTA 1 mM. La de la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces sp.* B327B baja al 57% en presencia de EDTA 1 mM. Esto muestra que ambas enzimas presentan actividades residuales notablemente altas en presencia de tensioactivos y de formadores de complejos. Sin embargo, ambas enzimas reaccionan de forma claramente distinta y diversa a estas influencias tal como muestran las actividades diferentes en presencia de formadores de complejos.

35 Los resultados de este ejemplo muestran, por un lado, que las enzimas encontradas, según la invención, no solamente han de ser consideradas como  $\alpha$ -amilasas por sus secuencias de ADN y de proteína, sino que realmente disponen también de una actividad desintegradora de almidón. Las diferencias entre ambas enzimas examinadas en lo que se refiere a sus requisitos con respecto a las condiciones de reacción pueden considerarse una prueba de que la presente invención pone a disposición, más allá de la homología básica, un amplio espectro de enzimas amilolíticas con diferencias individuales.

Descripción de las figuras

45 Figura 1: Posición de los bloques de secuencias de aminoácidos potencialmente conservadas ("ancla de secuencia" A-E) en  $\alpha$ -amilasas (glicosil hidrolasas familia 13, E.C. 3.2.1.1), derivada de las secuencias de  $\alpha$ -amilasa de actinomicetales, y la posición relativa de los cebadores de PCR esenciales para la invención, recogidos en la tabla 3 e indicados en el protocolo de secuencias (ejemplo 1).

50 A título de ejemplo, se representan los 567 aminoácidos, o las secuencias de aminoácidos o de ADN que comprenden 1701 bp de la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces griseus* (GenBank (National Center for Biotechnology Information NCBI, National Institutes of Health, Bethesda, MD, EEUU), número de acceso X57568) con los dominios conservados A hasta E, que se extienden a través de las siguientes posiciones de aminoácidos: A: 58-91, B: 94-141, C: 155-207, D: 295-345, E: 392-427.

55 Figura 2: Análisis de tamaño de los productos de reacción de la PCR, según la invención, de las combinaciones de cebadores GEX024 / GEX026 (figura 2 A) y GEX29 / GEX031 (figura 2 B) en ADN de estreptomicetos (ejemplo 1).

Como matriz sirven, en este caso, preparaciones de ADN genómico de las siguientes 20 cepas de *Streptomyces sp.* elegidas al azar:

1: B101A, 2: B114C, 3: B134, 4: B135A, 5: B138A, 6: B152A, 7: B153B, 8: B161A, 9: B156B1, 10: B157C, 11: B158A, 12: B160B, 13: B161A, 14: B373, 15: B375, 16: B380, 17: B390, 18: B392A, 19: B392A, 20: B394.

5 Los productos de reacción (1/10 del volumen de reacción) fueron separados en un gel de agarosa al 2,5%; ambos productos parcialmente presentes con un tamaño de aproximadamente 300 bp y aproximadamente 500bp, respectivamente, fueron identificados como secuencias de amilasa mediante secuenciación.  
Marcadores (M): 100 bp de la escalera de ADN (en bp desde arriba abajo: 3000, 2000, 1500, 1200, 1031, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100).

10 Figura 3: Secuencia de consenso de  $\alpha$ -amilasas a partir de 231 cepas del género *Streptomyces* (SEQ ID NO. 2, 4 y 34 hasta 262) con las correspondientes variantes para cada posición (ejemplo 3).

15 La secuencia de consenso está basada en un alineamiento con el programa Clustal X<sup>®</sup>, versión 1.64b (configuración estándar; descrita en: Thompson, J.D., Higgins, D.G. y Gibson, T.J. (1994), "CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice" ("CLUSTAL W: Mejorando la sensibilidad del alineamiento múltiple progresivo de secuencias mediante la ponderación de secuencias, penalizaciones por introducir huecos en posiciones específicas y la elección de la matriz de pesos"), *Nucleic Acids Res.*, tomo 22, páginas 4673-4680). Las posiciones de los aminoácidos 1-7 y 94-100 están en gran medida predeterminadas por las secuencias de cebador de PCR (GEX024/GEX026 y GEX029/GEX031) en función de la selectividad de la PCR que se ha llevado a cabo.

Se trata de una representación alternativa de la secuencia de consenso indicada en la SEQ ID NO. 263.

25 Figura 4: Representación esquemática del vector plasmídico pUC18 (GenBank, National Center for Biotechnology Information NCBI, National Institutes of Health, Bethesda, MD, EEUU), número de acceso: L08752, ejemplo 4) utilizado para los bancos de genes de expresión.

30 El vector fue linearizado en ambos casos con la enzima de restricción *Acc I*, para absorber ADN genómico de estreptomicetos fragmentado en *Aci I*.

ORI: Origen de la replicación; *lac I*: gen para el represor *lac*; *lacZ*-alfa: gen para el  $\alpha$ -péptido de la  $\beta$ -galactosidasa; ampicilina R: el gen resistente a la ampicilina de la  $\beta$ -lactamasa.

35 Figura 5: El vector plasmídico pAX5a utilizado para la expresión de amilasas en *Streptomyces lividans* TK 24 (ejemplo 4).

En él significan:

40 pUC19 ori: Origen de replicación en *E. Coli*; AmpicilinaR, gen resistente a la ampicilina (beta-lactamasa); tioestreptonaR, gen resistente a la tioestreptona; pIJ101, Replicon Origen de replicación en *Streptomyces*; *ermE*, *ermE*-up-Promotor de *S. Erythraea* (descrito en: Faß, S.H., Engels, J.W. 1996, "influence of Specific Signal Peptide Mutations on the Expression and Secretion of the alpha-Amylase Inhibitor Tendamistat in *Streptomyces lividans*" ("influencia de mutaciones de péptidos señal específicos en la expresión y secreción del inhibidor de la alfa-amilasa tendamistat en *Streptomyces lividans*", *J. Biol. Chem.*, tomo 271 (nº 25), páginas 15244-15252). Utilizando la secuencia de tendamistat los genes a clonar pueden insertarse a través de los puntos de reconocimiento *Spe I*- (5'-terminal) y *EcoRI*- (3'-terminal) en pAX5a y luego expresarse a partir de un promotor *ermE* constitutivo.

50 Figura 6: Detección de la actividad amilolítica de las  $\alpha$ -amilasas procedentes de *Streptomyces sp.* B327\* y *Streptomyces sp.* B400B tras su expresión heteróloga en *Escherichia coli*.

Tras la expresión heteróloga de las correspondientes secuencias genéticas en *Escherichia coli* (ejemplo 3), la aplicación de las células huésped transformadas sobre placas de agar LB<sub>Amp</sub> con almidón soluble al 1% y la subsiguiente coloración de las placas mediante solución de Lugol, se pueden reconocer en los halos de degradación las colonias cuyas células exprimen las secuencias genéticas introducidas.

55 Para esta figura se han aplicado muestras de clones derivados de las cargas de transformación mediante separación:

- 60 1. Control positivo: Cepa de expresión con la  $\alpha$ -amilasa procedente de *Streptomyces griseus* en pUC18);
2. Control negativo (pUC18 sin ADN insertada);
3. Muestra de un clon positivo de amilasa, que contiene ADN genómico a partir de *Streptomyces sp.* B400B;
4. y 5. Muestras de dos clones genómicos obtenidos mediante la misma transformación a partir de *Streptomyces sp.* B327\*;
6. hasta 8. Muestras de tres clones genómicos obtenidos mediante la misma transformación a partir de *Streptomyces sp.* B327B;
- 65 9. hasta 12. Muestras de cuatro clones genómicos obtenidos mediante la misma transformación a partir de

*Streptomyces griseus.*

PROTÓCOLOS DE SECUENCIAS

- 5 <110> Henkel Kommanditgesellschaft auf Aktien
- <120> Eine neue Gruppe von Alpha-Amylasen sowie ein Verfahren zur Identifizierung und Gewinnung neuer Alpha-Amylasen
- 10 <130> H 4890 PCT
- <140>
- <141>
- 15 <150> DE 10131441.8
- <151> 2001-06-29
- 20 <160> 263
- <170> PatentIn Ver. 2.1
- <210> 1
- 25 <211> 302
- <212> ADN
- <213> Streptomyces sp. B327\*
- <220>
- 30 <221> CDS
- <222> (2)..(301)
- <400> 1

ES 2 382 071 T3

```

c gtc gac ggc ttc cgc atc gac acg gcc aag cac atc ccg gcg acc gac 49
  Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Thr Ala Lys His Ile Pro Ala Thr Asp
    1             5             10             15

ctc gcc aac atc aag tcg cgt ctg acg aac ccc tcc gtc tac tgg aag 97
Leu Ala Asn Ile Lys Ser Arg Leu Thr Asn Pro Ser Val Tyr Trp Lys
      20             25             30

cag gag gtc atc tac ggc agc ggg gag gcc gtc cag ccc acc gag tac 145
Gln Glu Val Ile Tyr Gly Ser Gly Glu Ala Val Gln Pro Thr Glu Tyr
      35             40             45

acg ggc aac ggg gac gtc cag gag ttc cgc tac gcc tac gac ctc aag 193
Thr Gly Asn Gly Asp Val Gln Glu Phe Arg Tyr Ala Tyr Asp Leu Lys
      50             55             60

cgc gtc ttc aac aac gag aac ctc gcc tat ctg aag aac tac ggc gag 241
Arg Val Phe Asn Asn Glu Asn Leu Ala Tyr Leu Lys Asn Tyr Gly Glu
      65             70             75             80

ggc tgg ggg tac ctg aac agc tcg gtg gcc ggc gtc tac gtc gac aac 289
Gly Trp Gly Tyr Leu Asn Ser Ser Val Ala Gly Val Tyr Val Asp Asn
      85             90             95

cac gac acc gag c 302
His Asp Thr Glu
      100

```

<210> 2

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B327\*

<400> 2

10

```

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

Leu Ala Asn Ile Lys Ser Arg Leu Thr Asn Pro Ser Val Tyr Trp Lys
      20             25             30

Gln Glu Val Ile Tyr Gly Ser Gly Glu Ala Val Gln Pro Thr Glu Tyr
      35             40             45

Thr Gly Asn Gly Asp Val Gln Glu Phe Arg Tyr Ala Tyr Asp Leu Lys
      50             55             60

Arg Val Phe Asn Asn Glu Asn Leu Ala Tyr Leu Lys Asn Tyr Gly Glu
      65             70             75             80

Gly Trp Gly Tyr Leu Asn Ser Ser Val Ala Gly Val Tyr Val Asp Asn
      85             90             95

His Asp Thr Glu
      100

```

ES 2 382 071 T3

<210> 3

<211> 293

<212> ADN

5 <213> Streptomyces sp. B400B

<220>

<221> CDS

<222> (2)..(292)

10

<400> 3

```

c gtc gac ggc ttc cgc atc gac gcc gcc aag cac atg tcc gcc gac gac 49
  Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Ala Lys His Met Ser Ala Asp Asp
    1             5             10             15

gtc gcc gcg atc aag ggg aag atg agc gac ccg ggg ttc tgg gtc acc 97
Val Ala Ala Ile Lys Gly Lys Met Ser Asp Pro Gly Phe Trp Val Thr
          20             25             30

gag gtc atc cac ggc ggg gga gag gcg gtc cag ccg gag gag tac acc 145
Glu Val Ile His Gly Gly Gly Glu Ala Val Gln Pro Glu Glu Tyr Thr
          35             40             45

tcg atc ggg gac gcc gac gag ttc cgt tac ggc ggc cac ctc aag tcc 193
Ser Ile Gly Asp Ala Asp Glu Phe Arg Tyr Gly Gly His Leu Lys Ser
          50             55             60

gcc ttc cag ggc ggc ggc ctg ccc ggc ctg aag tcg atc gcc gac ggc 241
Ala Phe Gln Gly Gly Gly Leu Pro Gly Leu Lys Ser Ile Ala Asp Gly
          65             70             75             80

aaa ctg gcc ggc gcc tcc gcc cgt acg tac gtc gac aac cac gac acc 289

```

15 <210> 4

<211> 97

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400B

20 <400> 4

ES 2 382 071 T3

```

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

```

Glu

<210> 5

<211> 1386

5 <212> ADN

<213> Streptomyces sp. B327\*

<220>

<221> CDS

10 <222> (1)..(1386)

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1).. (3)

15 <223> INIT\_MET

<220>

<221> mat\_peptide

<222> (91)

20

<400> 5

```

gtg ata tcg aga tgg acc gca tcc gct gtc gcc acg gcc gcc gcg ttc      48
Val Ile Ser Arg Trp Thr Ala Ser Ala Val Ala Thr Ala Ala Phe
-30           -25           -20           -15

```

ES 2 382 071 T3

gcc gcc gcg gtg gcc ctg ccg gcc ccc cag gcc gcc tac gcc tcc ccg Ala Ala Ala Val Ala Leu Pro Ala Pro Gln Ala Ala Tyr Ala Ser Pro	96
-10 -5 -1 1	
ccc ggt acc aag gac gtc acc gcc gtc ctc ttc gag tgg aac ttc gcc Pro Gly Thr Lys Asp Val Thr Ala Val Leu Phe Glu Trp Asn Phe Ala	144
5 10 15	
tcc gtc gcc aag gag tgc acc aac acc ctc ggc ccc gcc gga tac ggc Ser Val Ala Lys Glu Cys Thr Asn Thr Leu Gly Pro Ala Gly Tyr Gly	192
20 25 30	
tcc gtg cag gtc tcc ccg ccc gcc gag cac atc cag ggc tca cag tgg Ser Val Gln Val Ser Pro Pro Ala Glu His Ile Gln Gly Ser Gln Trp	240
35 40 45 50	
tgg acc tcg tac cag ccg gtc agc tac aag atc gcg ggg cgc ctc ggt Trp Thr Ser Tyr Gln Pro Val Ser Tyr Lys Ile Ala Gly Arg Leu Gly	288
55 60 65	
gac gcc acc gcc ttc aag aac atg gtc ggc acc tgc cac gcg gcc ggg Asp Ala Thr Ala Phe Lys Asn Met Val Gly Thr Cys His Ala Ala Gly	336
70 75 80	
gtg aag gtc gtc gtc gac acc gtc atc aac cac atg tcc gcg ggc agc Val Lys Val Val Val Asp Thr Val Ile Asn His Met Ser Ala Gly Ser	384
85 90 95	
ggc acc ggt acc ggc gga tcg tcg tac acg aag tac aac tac ccc ggc Gly Thr Gly Thr Gly Gly Ser Ser Tyr Thr Lys Tyr Asn Tyr Pro Gly	432
100 105 110	
ctg tac tcc tcg tac gac atg gac gac tgc acg tcg acc atc acc gac Leu Tyr Ser Ser Tyr Asp Met Asp Asp Cys Thr Ser Thr Ile Thr Asp	480
115 120 125 130	
tac acc aac cgc ggc aac gtc cag aac tgc gaa ctc gtc ggc ctc gcc Tyr Thr Asn Arg Gly Asn Val Gln Asn Cys Glu Leu Val Gly Leu Ala	528
135 140 145	
gac ctg gac acc ggc gag gag tac gtc cgc gcc acc atc gcc ggc tac Asp Leu Asp Thr Gly Glu Glu Tyr Val Arg Ala Thr Ile Ala Gly Tyr	576
150 155 160	
ctg aac tcg ctg ctc ggc tac ggc gtc gac ggc ttc cgc atc gac gcg Leu Asn Ser Leu Leu Gly Tyr Gly Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala	624
165 170 175	
gcc aag cac atc ccg gcg acc gac ctc gcc aac atc aag tcg cgt ctg Ala Lys His Ile Pro Ala Thr Asp Leu Ala Asn Ile Lys Ser Arg Leu	672
180 185 190	
acg aac ccc tcc gtc tac tgg aag cag gag gtc atc tac ggc agc ggg Thr Asn Pro Ser Val Tyr Trp Lys Gln Glu Val Ile Tyr Gly Ser Gly	720
195 200 205 210 215	
gag gcc gtc cag ccc acc gag tac acg ggc aac ggg gac gtc cag gag Glu Ala Val Gln Pro Thr Glu Tyr Thr Gly Asn Gly Asp Val Gln Glu	768
215 220 225	



Val Ile Ser Arg Trp Thr Ala Ser Ala Val Ala Thr Ala Ala Ala Phe  
 1 5 10 15  
 Ala Ala Ala Val Ala Leu Pro Ala Pro Gln Ala Ala Tyr Ala Ser Pro  
 20 25 30  
 Pro Gly Thr Lys Asp Val Thr Ala Val Leu Phe Glu Trp Asn Phe Ala  
 35 40 45  
 Ser Val Ala Lys Glu Cys Thr Asn Thr Leu Gly Pro Ala Gly Tyr Gly  
 50 55 60  
 Ser Val Gln Val Ser Pro Pro Ala Glu His Ile Gln Gly Ser Gln Trp  
 65 70 75 80  
 Trp Thr Ser Tyr Gln Pro Val Ser Tyr Lys Ile Ala Gly Arg Leu Gly  
 85 90 95  
 Asp Ala Thr Ala Phe Lys Asn Met Val Gly Thr Cys His Ala Ala Gly  
 100 105 110  
 Val Lys Val Val Val Asp Thr Val Ile Asn His Met Ser Ala Gly Ser  
 115 120 125  
 Gly Thr Gly Thr Gly Gly Ser Ser Tyr Thr Lys Tyr Asn Tyr Pro Gly  
 130 135 140  
 Leu Tyr Ser Ser Tyr Asp Met Asp Asp Cys Thr Ser Thr Ile Thr Asp  
 145 150 155 160  
 Tyr Thr Asn Arg Gly Asn Val Gln Asn Cys Glu Leu Val Gly Leu Ala  
 165 170 175  
 Asp Leu Asp Thr Gly Glu Glu Tyr Val Arg Ala Thr Ile Ala Gly Tyr  
 180 185 190  
 Leu Asn Ser Leu Leu Gly Tyr Gly Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala  
 195 200 205  
 Ala Lys His Ile Pro Ala Thr Asp Leu Ala Asn Ile Lys Ser Arg Leu  
 210 215 220  
 Thr Asn Pro Ser Val Tyr Trp Lys Gln Glu Val Ile Tyr Gly Ser Gly  
 225 230 235 240  
 Glu Ala Val Gln Pro Thr Glu Tyr Thr Gly Asn Gly Asp Val Gln Glu  
 245 250 255  
 Phe Arg Tyr Ala Tyr Asp Leu Lys Arg Val Phe Asn Asn Glu Asn Leu  
 260 265 270  
 Ala Tyr Leu Lys Asn Tyr Gly Glu Gly Trp Gly Tyr Leu Asn Ser Ser  
 275 280 285  
 Val Ala Gly Val Phe Val Asp Asn His Asp Thr Glu Arg Asn Gly Ser  
 290 295 300  
 Thr Leu Asn Tyr Lys Asp Gly Ala Asn Tyr Thr Leu Ala Asn Val Phe  
 305 310 315 320  
 Met Leu Ala Tyr Pro Tyr Gly Ala Pro Asp Ile Asn Ser Gly Tyr Glu  
 325 330 335  
 Trp Ser Asp Thr Asp Ala Gly Pro Pro Asn Asn Gly Ser Val Ser Ala  
 340 345 350  
 Cys Trp Gln Asp Gly Trp Lys Cys Gln His Ala Trp Pro Glu Ile Leu  
 355 360 365  
 Arg Met Val Ala Phe Arg Asn Ala Thr Arg Gly Glu Ser Val Thr Asn  
 370 375 380  
 Trp Trp Asp Asn Gly Gly Asp Ala Ile Ala Phe Gly Arg Gly Ala Lys  
 385 390 395 400  
 Gly Tyr Val Ala Ile Asn His Glu Ser Gly Ser Leu Ser Arg Thr Tyr  
 405 410 415  
 Gln Thr Ser Leu Pro Ala Gly Thr Tyr Cys Asn Val Gln Asn Asn Thr  
 420 425 430  
 Ser Val Thr Val Gly Ser Asn Gly Gln Phe Thr Ala Thr Leu Gly Ser  
 435 440 445  
 Asn Thr Ala Leu Ala Ile Tyr Ala Gly Lys Ala Asn Cys  
 450 455 460

ES 2 382 071 T3

<210> 7  
 <211> 1377  
 <212> ADN  
 <213> Streptomyces sp. B400B

5

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1377)

10

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(3)  
 <223> INIT\_MET

15

<220>  
 <221> mat\_peptide  
 <222> (88)  
 <400> 7

```

ttg agt tcc cgc gcc gca cgc gca acc ctg gcg ggc ctg ctc gcc gcc 48
Leu Ser Ser Arg Ala Ala Arg Ala Thr Leu Ala Gly Leu Leu Ala Ala
                -25                -20                -15

ggt ggc ctc acg gtc ctc gcc ccc tgg cct tcc cag gcg acc cca ccg 96
Gly Gly Leu Thr Val Leu Ala Pro Trp Pro Ser Gln Ala Thr Pro Pro
                -10                -5                -1 1

ggc gag aag acc gtc acc gcc acc ctc ttc gag tgg aag tac gac gcg 144
Gly Glu Lys Thr Val Thr Ala Thr Leu Phe Glu Trp Lys Tyr Asp Ala
      5                10                15

gtg gcc acc gcc tgc acc gac acc ctg ggc ccg gcc ggc tac ggc tac 192
Val Ala Thr Ala Cys Thr Asp Thr Leu Gly Pro Ala Gly Tyr Gly Tyr
  20                25                30                35

gtc gag gtc tcg ccc gcc acc gag cac atc cag ggc gac cag tgg tgg 240
Val Glu Val Ser Pro Ala Thr Glu His Ile Gln Gly Asp Gln Trp Trp
      40                45                50

acc tcg tac cag ccg gtc agc tac cgg atc gcg ggc cgt ctc ggt gac 288
Thr Ser Tyr Gln Pro Val Ser Tyr Arg Ile Ala Gly Arg Leu Gly Asp
      55                60                65

cgg gac tcc ttc gcc gcg atg gtg gag agc tgc cac gcg gcc ggg gtc 336
Arg Asp Ser Phe Ala Ala Met Val Glu Ser Cys His Ala Ala Gly Val
      70                75                80

cgg gtc gtg gcg gac gcc gtg atc aac cac atg gcc gcc ggc tcc ggg 384
Arg Val Val Ala Asp Ala Val Ile Asn His Met Ala Ala Gly Ser Gly
      85                90                95

acc ggg acg ggc ggc acg tcg tac acc aag tac gac tac ccc ggc acg 432
Thr Gly Thr Gly Gly Thr Ser Tyr Thr Lys Tyr Asp Tyr Pro Gly Thr
  100                105                110                115

ttc cag gac cag gac ttc cac gcc tgc cgc aag gac atc gcg aac tac 480
    
```

ES 2 382 071 T3

Phe	Gln	Asp	Gln	Asp	Phe	His	Ala	Cys	Arg	Lys	Asp	Ile	Ala	Asn	Tyr		
				120					125					130			
ggc	gac	cgc	ggc	gac	gtc	cag	aac	tgc	gaa	ctg	gtc	ggc	ctc	gcg	gac		528
Gly	Asp	Arg	Gly	Asp	Val	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Val	Gly	Leu	Ala	Asp		
			135					140					145				
ctg	gac	acc	ggc	agc	gac	gcc	gta	cgc	acg	acg	atc	gcc	gcc	tac	ctc		576
Leu	Asp	Thr	Gly	Ser	Asp	Ala	Val	Arg	Thr	Thr	Ile	Ala	Ala	Tyr	Leu		
		150					155					160					
tcc	gac	ctc	cgc	tcc	ctg	ggc	gtc	gac	ggc	ttc	cgc	atc	gac	gcc	gcc		624
Ser	Asp	Leu	Arg	Ser	Leu	Gly	Val	Asp	Gly	Phe	Arg	Ile	Asp	Ala	Ala		
	165					170					175						
aag	cac	atg	tcc	gcc	gac	gac	gtc	gcc	gcg	atc	aag	ggg	aag	atg	agc		672
Lys	His	Met	Ser	Ala	Asp	Asp	Val	Ala	Ala	Ile	Lys	Gly	Lys	Met	Ser		
180					185					190					195		
gac	ccg	ggg	ttc	tgg	gtc	acc	gag	gtc	atc	cac	ggc	ggg	gga	gag	gcg		720
Asp	Pro	Gly	Phe	Trp	Val	Thr	Glu	Val	Ile	His	Gly	Gly	Gly	Glu	Ala		
				200					205					210			
gtc	cag	ccg	gag	gag	tac	acc	tcg	atc	ggg	gac	gtc	gac	gag	ttc	cgt		768
Val	Gln	Pro	Glu	Glu	Tyr	Thr	Ser	Ile	Gly	Asp	Val	Asp	Glu	Phe	Arg		
			215					220					225				
tac	ggc	ggc	cac	ctc	aag	tcc	gcc	ttc	cag	ggc	ggc	ggc	ctg	ccc	ggc		816
Tyr	Gly	Gly	His	Leu	Lys	Ser	Ala	Phe	Gln	Gly	Gly	Gly	Leu	Pro	Gly		
		230					235					240					
ctg	aag	tcg	atc	gcc	gac	ggc	aaa	ctg	gcc	ggc	gcc	tcc	gcc	cgt	acg		864
Leu	Lys	Ser	Ile	Ala	Asp	Gly	Lys	Leu	Ala	Gly	Ala	Ser	Ala	Arg	Thr		
	245					250					255						
ttc	gtc	gac	aac	tgg	gac	acc	gag	cgc	aac	ggc	tcc	acc	ctc	acc	cac		912
Phe	Val	Asp	Asn	Trp	Asp	Thr	Glu	Arg	Asn	Gly	Ser	Thr	Leu	Thr	His		
260					265					270					275		
aag	gac	ggc	gcc	gcc	tac	acc	ctg	gcc	aac	gtc	ttc	atg	ctg	gcc	tcg		960
Lys	Asp	Gly	Ala	Ala	Tyr	Thr	Leu	Ala	Asn	Val	Phe	Met	Leu	Ala	Ser		
				280					285					290			
ccc	tac	ggc	tcc	ccg	aac	gtc	ttc	tcc	ggc	tac	acc	tgg	acc	gac	aag		1008
Pro	Tyr	Gly	Ser	Pro	Asn	Val	Phe	Ser	Gly	Tyr	Thr	Trp	Thr	Asp	Lys		
			295					300					305				
gac	gcc	ggc	ccg	ccg	aac	ggc	ggc	gcg	gcc	gac	tgc	ggc	tcc	ggc	gcg		1056
Asp	Ala	Gly	Pro	Pro	Asn	Gly	Gly	Ala	Ala	Asp	Cys	Gly	Ser	Gly	Ala		
		310				315					320						
tgg	acc	tgc	acg	cac	gcc	cag	cag	gcg	gtc	acc	ggc	atg	gtc	ggc	ttc		1104
Trp	Thr	Cys	Thr	His	Ala	Gln	Gln	Ala	Val	Thr	Gly	Met	Val	Gly	Phe		
	325					330					335						
cac	aac	gcc	gtc	gcg	ggc	gcg	gag	ctg	acc	gac	tgg	tgg	gac	gac	ggc		1152
His	Asn	Ala	Val	Ala	Gly	Ala	Glu	Leu	Thr	Asp	Trp	Trp	Asp	Asp	Gly		
340					345					350					355		



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

<210> 9

<211> 24

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador PCR (GEX024)

10

<400> 9

cgtcgacggc ttccgsatcg acrc 24

<210> 10

15 <211> 25

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Cebador PCR (GEX026)

<400> 10

gctcgggtgc gtggtgtgcs acgwa 25

<210> 11  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Cebador PCR (GEX029)  
  
 10 <400> 11  
 cggcgctcgac ggctkscgbn tsga 24  
  
 <210> 12  
 <211> 25  
 15 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Cebador PCR (GEX031)  
 20  
 <400> 12  
 gctgggtgtc gtggtgtcs acsma 25  
  
 <210> 13  
 25 <211> 22  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 30 <223> Cebador PCR (GEX015)  
  
 <400> 13  
 ggtggacgtc ctaccagccs gt 22  
  
 35 <210> 14  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 40 <220>  
 <223> Cebador PCR (GEX016)  
  
 <400> 14  
 gcacccgcag gagcacrycs agg 23

<210> 15  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Cebador PCR (GEX017)  
  
 10 <400> 15  
 cgcggccggc gtsaagrt 18  
  
 <210> 16  
 <211> 22  
 15 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Cebador PCR (GEX018)  
 20  
 <400> 16  
 tggtaacac ctgccacgms gc 22  
  
 <210> 17  
 25 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 30 <223> Cebador PCR (GEX019)  
  
 <400> 17  
 cgcggcgtcg atgckgaagm mgtc 24  
  
 35 <210> 18  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 40 <220>  
 <223> Cebador PCR (GEX020)  
  
 <400> 18  
 ggagccgtac ggccasgcsa gcatga 26

<210> 19  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Cebador PCR (GEX021)  
  
 10 <400> 19  
 cccttgctgc cgcgsscga sgc 23  
  
 <210> 20  
 <211> 24  
 15 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Cebador PCR (GEX022)  
 20  
 <400> 20  
 ggcgtcctcg tggtagawsg csac 24  
  
 <210> 21  
 25 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 30 <223> Cebador PCR (GEX023)  
  
 <400> 21  
 ggtctacgcc gacgtcgtsw wcaacca 27  
  
 35 <210> 22  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
  
 40 <220>  
 <223> Cebador PCR (GEX025)  
  
 <400> 22  
 ggcgtcgtg cggaascgt c 21

<210> 23  
<211> 31  
<212> ADN  
5 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Cebador PCR (GEX027)

10 <400> 23  
gcgccagggt ctacgtcgac rysgtshsta a 31

<210> 24  
<211> 29  
15 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Cebador PCR (GEX028)

20 <400> 24  
cagggtctacg tcgacgtcgt shstaacca 29

<210> 25  
25 <211> 27  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
30 <223> Cebador PCR (GEX030)

<400> 25  
cggcgggggat gtgctksrscs rmgtsa 27

35 <210> 26  
<211> 24  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Cebador PCR (GEX036)

<400> 26  
gtacgccgac gccgtnwtha ayca 24

<210> 27  
<211> 26  
<212> ADN  
5 <213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Cebador PCR (GEX037)  
  
10 <400> 27  
gtacgccgac gccgtnwtha aycaya 26  
  
<210> 28  
<211> 24  
15 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Cebador PCR (GEX038)  
20  
<400> 28  
ggcggcgtcg atcckraanc crtc 24  
  
<210> 29  
25 <211> 24  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
30 <223> Cebador PCR (GEX039)  
  
<400> 29  
cttggcggcg tcgatnckra ancc 24  
  
35 <210> 30  
<211> 25  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
40 <220>  
<223> Cebador PCR (GEX040)  
  
<400> 30  
tctgtctcgg cgtggaygn ttymg 25

<210> 31  
<211> 24  
<212> ADN  
5 <213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Cebador PCR (GEX041)  
  
10 <400> 31  
ccggatcgac gccgynaarc ayat 24  
  
<210> 32  
<211> 26  
15 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Cebador PCR (GEX042)  
20  
<400> 32  
cgctcgggtg cgtggttntc nacvma 26  
  
<210> 33  
25 <211> 28  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
30 <223> Cebador PCR (GEX043)  
  
<400> 33  
cgttccgctc ggtgtcgyrr tntcnac 28  
  
35 <210> 34  
  
<211> 100  
<212> PRT  
<213> Streptomyces sp. B1002  
40  
<400> 34

ES 2 382 071 T3

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

<210> 35

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1003B

<400> 35

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

10

<210> 36

<211> 97

<212> PRT

ES 2 382 071 T3

<213> Streptomyces sp. B1006

<400> 36

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

5 Glu

<210> 37

<211> 100

<212> PRT

10 <213> Streptomyces sp. B1008A1

<400> 37

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

<210> 38

<211> 100

<212> PRT

5 <213> Streptomyces sp. B1009A

<400> 38

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

10

<210> 39

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1010

15

<400> 39

```

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

His Asp Thr Glu
           100

```

<210> 40

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1011

<400> 40

```

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

His Asp Thr Glu
           100

```

10

<210> 41

<211> 100

ES 2 382 071 T3

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1012B

<400> 41

5

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

<210> 42

<211> 100

<212> PRT

10 <213> Streptomyces sp. B1014A1

<400> 42

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

ES 2 382 071 T3

<210> 43

<211> 100

<212> PRT

5 <213> Streptomyces sp. B1017C

<400> 43

```

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

His Asp Thr Glu
10           100

```

<210> 44

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1019

15

<400> 44

ES 2 382 071 T3

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

<210> 45

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B101A

<400> 45

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

<210> 46

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B101B

<400> 46

5

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

<210> 47

<211> 84

10

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B102

<400> 47

15

```

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

Lys Ala Val Val
    
```

ES 2 382 071 T3

<210> 48  
 <211> 100  
 <212> PRT  
 <213> Streptomyces sp. B1020C

5

<400> 48

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

10 <210> 49  
 <211> 100  
 <212> PRT  
 <213> Streptomyces sp. B1022A

15 <400> 49

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

ES 2 382 071 T3

Gly Trp Gly Tyr Leu Asn Ser Ser Val Ser Gly Val Tyr Val Asp Asn  
85 90 95

His Asp Thr Glu  
100

<210> 50

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1028

<400> 50

Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Ala Lys His Ile Ala Thr Glu Asp  
1 5 10 15

Leu Ala Ala Val Lys Ala Lys Leu Ser Lys Pro Asp Val Tyr Trp Lys  
20 25 30

Gln Glu Thr Ile Tyr Ser Ala Gly Glu Ala Val Gln Pro Gln Glu Tyr  
35 40 45

Leu Gly Asn Gly Asp Val Gln Glu Phe Arg Tyr Ala Arg Asp Leu Lys  
50 55 60

Arg Val Phe Gln Ser Glu Arg Leu Ala Tyr Leu Lys Asn Tyr Gly Glu  
65 70 75 80

Gly Trp Gly Tyr Leu Pro Gly Asp Arg Ala Ser Val Tyr Val Asp Asn  
85 90 95

His Asp Thr Glu  
100

10

<210> 51

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B1029

<400> 51

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

<210> 52

5 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1030A

<400> 52

10

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

<210> 53

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1035B

5 <400> 53

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

<210> 54

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1036

<400> 54

15

ES 2 382 071 T3

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

<210> 55

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1037A

<400> 55

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

10

<210> 56

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1039A

5 <400> 56

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

<210> 57

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B103A

<400> 57

15

ES 2 382 071 T3

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

<210> 58

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1041A1

<400> 58

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

10

<210> 59

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1043A

<400> 59

```

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

His Asp Thr Glu
           100

```

5

<210> 60

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1044C

10

<400> 60

```

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

His Asp Thr Glu
           100

```

ES 2 382 071 T3

<210> 61

<211> 100

<212> PRT

5 <213> Streptomyces sp. B1045

<400> 61

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

10

<210> 62

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1046A

15

<400> 62

```

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

ES 2 382 071 T3

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

<210> 63

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1047A1

<400> 63

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

10

<210> 64

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B1048A

<400> 64

ES 2 382 071 T3

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

- 5 <210> 65
- <211> 100
- <212> PRT
- <213> Streptomyces sp. B1049A

10 <400> 65

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

- <210> 66
- <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1050A

<400> 66

5

```

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

His Asp Thr Glu
                100
    
```

<210> 67

<211> 100

10

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1052A2

<400> 67

```

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

His Asp Thr Glu
                100
    
```

ES 2 382 071 T3

<210> 68

<211> 100

<212> PRT

5 <213> Streptomyces sp. B1053

<400> 68

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

10

<210> 69

<211> 97

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B1059

<400> 69

ES 2 382 071 T3

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

Glu

<210> 70

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1060

<400> 70

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

Glu

10

His Asp Thr Glu  
100

<210> 71

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1061B

<400> 71

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

His Asp Thr Glu  
100

10

<210> 72

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B1065

<400> 72

ES 2 382 071 T3

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

<210> 73

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1067A

<400> 73

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

10

<210> 74

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1068

5 <400> 74

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

His Asp Thr Glu
          100
```

<210> 75

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1069B

<400> 75

15

ES 2 382 071 T3

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

<210> 76

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B106C

<400> 76

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

10

<210> 77

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B107

5 <400> 77

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

<210> 78

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1070A

<400> 78

15

ES 2 382 071 T3

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

<210> 79

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1071

<400> 79

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

ES 2 382 071 T3

<210> 80

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B1072A

5

<400> 80

```

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

10 <210> 81

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B108

15 <400> 81

```

Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Ala Lys His Met Pro Ala Ala Asp
 1          5          10          15
Leu Ala Asn Ile Lys Ser Arg Leu Thr Asn Pro Ser Val Phe Trp Lys
    
```

ES 2 382 071 T3

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

<210> 82

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B109A

<400> 82

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

10

<210> 83

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B114C

<400> 83

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

5

<210> 84

<211> 100

<212> PRT

10 <213> Streptomyces sp. B115

<400> 84

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

ES 2 382 071 T3

<210> 85

<211> 100

<212> PRT

5 <213> Streptomyces sp. B117A1

<400> 85

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

His Asp Thr Glu
10                100
```

<210> 86

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B118

<400> 86

ES 2 382 071 T3

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

<210> 87

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B119E

<400> 87

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

10

<210> 88

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B120alt

5 <400> 88

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

<210> 89

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B123

<400> 89

15

ES 2 382 071 T3

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

<210> 90

5 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B124

<400> 90

10

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

ES 2 382 071 T3

<210> 91

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B125C

5

<400> 91

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

10

<210> 92

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B126A

15

<400> 92

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

<210> 93

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B127A

<400> 93

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

10

<210> 94

<211> 100

<212> PRT

ES 2 382 071 T3

<213> Streptomyces sp. B128B

<400> 94

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

5

<210> 95

<211> 100

<212> PRT

10 <213> Streptomyces sp. B130B

<400> 95

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

ES 2 382 071 T3

<210> 96

<211> 100

<212> PRT

5 <213> Streptomyces sp. B131

<400> 96

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

10

<210> 97

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B134

15

<400> 97

ES 2 382 071 T3

Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Ala Lys His Met Pro Ala Ala Asp  
 1 5 10 15

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

Leu Glu Ala Ile His Gly Ala Gly Glu Ala Val Ser Pro Ser Glu Tyr  
 35 40 45

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

Arg Ile Val Gln Ser Glu Lys Leu Ala Tyr Leu Lys Asn Phe Gly Glu  
 65 70 75 80

Ala Trp Gly Tyr Met Pro Ser Gly Gln Ser Gly Val Tyr Val Asp Asn  
 85 90 95

His Asp Thr Glu  
 100

<210> 98

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B135A

<400> 98

Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Ala Lys His Ile Pro Ala Ala Asp  
 1 5 10 15

Leu Ala Asn Ile Lys Ser Arg Leu Ser Asp Pro Gly Val Tyr Trp Lys  
 20 25 30

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

Thr Gly Ser Gly Asp Val Gln Glu Phe Arg Tyr Ala Tyr Asp Leu Lys  
 50 55 60

Arg Val Phe Asn Asn Glu Asn Leu Ala Tyr Leu Lys Asn Tyr Gly Glu  
 65 70 75 80

Gly Trp Gly Tyr Leu Ser Ser Gly Ala Ala Gly Val Tyr Val Asp Asn  
 85 90 95

His Asp Thr Glu  
 100

10

<210> 99

<211> 100

ES 2 382 071 T3

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B137

<400> 99

5

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

<210> 100

<211> 100

10 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B138

<400> 100

15

Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Thr Ala Lys His Met Pro Ala Ala Asp  
1 5 10 15



<400> 102

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

5

<210> 103

<211> 100

<212> PRT

10 <213> Streptomyces sp. B140

<400> 103

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

ES 2 382 071 T3

<210> 104

<211> 100

<212> PRT

5 <213> Streptomyces sp. B141

<400> 104

```

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

His Asp Thr Glu
10           100

```

<210> 105

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B142

15

<400> 105

ES 2 382 071 T3

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

<210> 106

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B143

<400> 106

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

<210> 107

<211> 100

10

ES 2 382 071 T3

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B148A

<400> 107

5

```

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

<210> 108

<211> 100

10

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B152A

<400> 108

```

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

15

ES 2 382 071 T3

Ser Trp Gly Tyr Met Ala Ser Gly Arg Ser Gly Val Tyr Val Asp Asn  
85 90 95

His Asp Thr Glu  
100

<210> 109

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B153(B)

<400> 109

Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Thr Ala Lys His Met Ala Ala Ala Asp  
1 5 10 15

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

His Glu Ala Ile Tyr Gly Ala Gly Glu Ala Val Ser Pro Ala Glu Tyr  
35 40 45

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

Arg Val Phe Asn Asn Glu Asn Leu Ala Tyr Leu Lys Asn Phe Gly Glu  
65 70 75 80

Ala Trp Gly Tyr Leu Pro Ser Asp Gln Ala Ala Val Tyr Val Asp Asn  
85 90 95

His Asp Thr Glu  
100

10

<210> 110

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B154A

<400> 110

ES 2 382 071 T3

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

<210> 111

5 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B156B

<400> 111

10

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

<210> 112

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B157C

5 <400> 112

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

<210> 113

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B158A

<400> 113

15

ES 2 382 071 T3

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

<210> 114

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B159

<400> 114

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

10

<210> 115

<211> 100

ES 2 382 071 T3

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B160B

<400> 115

5

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

<210> 116

<211> 100

10

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B161A

<400> 116

ES 2 382 071 T3

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

<210> 117  
 <211> 100  
 5 <212> PRT  
 <213> Streptomyces sp. B166B

<400> 117

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

10

<210> 118  
 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B168

<400> 118

5

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

<210> 119

<211> 100

10

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B179

<400> 119

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

15

ES 2 382 071 T3

<210> 120

<211> 100

<212> PRT

5 <213> Streptomyces sp. B181C

<400> 120

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

10

<210> 121

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B183B

15

<400> 121

```

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

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

<210> 122

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B184

<400> 122

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

10

<210> 123

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B185(B)

<400> 123

ES 2 382 071 T3

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

<210> 124

5 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B186A

<400> 124

10

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

<210> 125

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B187A

5 <400> 125

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

10 <210> 126

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B187A2

15 <400> 126

ES 2 382 071 T3

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

<210> 127

<211> 97

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B194A

<400> 127

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

10

<210> 128

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B194B1

5 <400> 128

```

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

His Asp Thr Glu
                               100
    
```

<210> 129

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B196A2C

<400> 129

15

```

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

His Asp Thr Glu  
100

<210> 130

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B196B

<400> 130

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

His Asp Thr Glu  
100

10

<210> 131

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B197B

<400> 131

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

<210> 132

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B198C2

<400> 132

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

10

<210> 133

<211> 100

ES 2 382 071 T3

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B200B

<400> 133

5

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

<210> 134

<211> 100

<212> PRT

10 <213> Streptomyces sp. B201A

<400> 134

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

ES 2 382 071 T3

<210> 135

<211> 100

<212> PRT

5 <213> Streptomyces sp. B202A

<400> 135

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

10

<210> 136

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B202B

15

<400> 136

ES 2 382 071 T3

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

<210> 137

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B206A

<400> 137

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

10

<210> 138

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B207

5 <400> 138

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

10 <210> 139

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B208B

15 <400> 139

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

<210> 140

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B209B

<400> 140

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

<210> 141

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B210

5 <400> 141

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

<210> 142

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B211A

<400> 142

15

```

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

ES 2 382 071 T3

		35					40						45		
Thr	Gly	Ser	Gly	Asp	Val	Gln	Glu	Phe	Arg	Tyr	Ala	Tyr	Asp	Leu	Lys
	50					55					60				
Arg	Val	Phe	Thr	Asn	Glu	Asn	Leu	Ala	Tyr	Leu	Lys	Asn	Tyr	Gly	Glu
65					70					75					80
Gly	Trp	Gly	Tyr	Leu	Asn	Ser	Gly	Val	Ser	Gly	Val	Tyr	Val	Asp	Asn
				85					90					95	
His	Asp	Thr	Glu												
			100												

<210> 143

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B212B1

<400> 143

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

10

<210> 144

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B213

<400> 144

ES 2 382 071 T3

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

<210> 145

5 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B214B

<400> 145

10

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

<210> 146

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B214C

5 <400> 146

```

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

10 <210> 147

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B215

15 <400> 147

ES 2 382 071 T3

```

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

His Asp Thr Glu
           100

```

<210> 148

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B218D2

<400> 148

```

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

His Asp Thr Glu
           100

```

10

<210> 149

<211> 100

ES 2 382 071 T3

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B219A

<400> 149

5

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

<210> 150

<211> 100

10

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B220B

<400> 150

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

<210> 151

5 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B221A

<400> 151

10

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

ES 2 382 071 T3

<210> 152

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B222(B)

5

<400> 152

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

10 <210> 153

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B223A

15 <400> 153

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

<210> 154

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B224(A)

<400> 154

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

10

<210> 155

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B225B

<400> 155

5

```

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

His Asp Thr Glu
          100
    
```

<210> 156

<211> 100

10

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B226B

<400> 156

```

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

His Asp Thr Glu
          100
    
```

ES 2 382 071 T3

<210> 157

<211> 100

<212> PRT

5 <213> Streptomyces sp. B227B2

<400> 157

```

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

His Asp Thr Glu
          100
    
```

10 <210> 158

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B228B

15 <400> 158

ES 2 382 071 T3

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

<210> 159

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B230B1

<400> 159

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

<210> 160

<211> 100

15 <212> PRT

ES 2 382 071 T3

<213> Streptomyces sp. B231A

<400> 160

```

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

His Asp Thr Glu
5           100
    
```

<210> 161

<211> 100

<212> PRT

10 <213> Streptomyces sp. B233C

<400> 161

```

Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Ala Lys His Ile Ala Thr Glu Asp
 1           5           10           15
Leu Ala Ala Val Lys Ala Lys Leu Ser Lys Pro Asp Val Tyr Trp Lys
          20           25           30
    
```

ES 2 382 071 T3

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

<210> 162

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B234

<400> 162

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

10

<210> 163

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B235A

<400> 163

ES 2 382 071 T3

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

- 5 <210> 164
- <211> 100
- <212> PRT
- <213> Streptomyces sp. B237A

10 <400> 164

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

ES 2 382 071 T3

<210> 165

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B238A

5

<400> 165

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

10

<210> 166

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B240A

15

<400> 166

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

<210> 167

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B241B2

<400> 167

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

10

<210> 168

<211> 100

ES 2 382 071 T3

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B242A1

<400> 168

5

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

<210> 169

<211> 100

10 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B243C

<400> 169

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

<210> 170

5 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B244B2

<400> 170

10

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

<210> 171

<211> 100

ES 2 382 071 T3

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B246

<400> 171

5

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

<210> 172

<211> 100

10

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B247A

<400> 172

ES 2 382 071 T3

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

<210> 173

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B248B2

<400> 173

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

10

<210> 174

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B249A

5 <400> 174

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

<210> 175

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B249C

<400> 175

15

ES 2 382 071 T3

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

<210> 176

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B250A2

<400> 176

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

10

<210> 177

<211> 100

ES 2 382 071 T3

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B251B

<400> 177

5

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

<210> 178

<211> 100

10 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B252A

<400> 178

```

Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Thr Ala Lys His Met Pro Ala Ala Asp
  1           5           10           15
    
```

15



ES 2 382 071 T3

<400> 180

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

5

<210> 181

<211> 100

<212> PRT

10 <213> Streptomyces sp. B255B2

<400> 181

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

<210> 182

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B256A

<400> 182

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

<210> 183

<211> 100

10

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B259A

<400> 183

5

```

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

His Asp Thr Glu
                100
    
```

<210> 184

<211> 100

10 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B261

<400> 184

15

```

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

ES 2 382 071 T3

Arg Val Phe Thr Gln Gly Asn Leu Ala Tyr Leu Lys Asn Tyr Gly Glu  
 65 70 75 80  
 Asp Trp Gly Tyr Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gly Val Tyr Val Asp Asn  
 85 90 95  
 His Asp Thr Glu  
 100

<210> 185

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B278

<400> 185

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

10

<210> 186

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B279

<400> 186

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

<210> 187

5 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B280C

<400> 187

10

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

ES 2 382 071 T3

<210> 188

<211> 100

<212> PRT

5 <213> Streptomyces sp. B284A

<400> 188

```

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

```

<210> 189

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B286A

<400> 189

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

<210> 190

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B287

<400> 190

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

10

<210> 191

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B292A

5 <400> 191

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

<210> 192

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B3001org

<400> 192

15

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

<210> 193

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B3002org

<400> 193

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

10

<210> 194

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B3003org

5 <400> 194

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

His Asp Thr Glu
           100
```

<210> 195

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B3017

<400> 195

15

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

<210> 196

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B306

<400> 196

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

10

<210> 197

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B308

5 <400> 197

```

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

His Asp Thr Glu
      100
    
```

<210> 198

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B311

<400> 198

15

ES 2 382 071 T3

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

<210> 199

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B315

<400> 199

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

ES 2 382 071 T3

<210> 200  
 <211> 100  
 <212> PRT  
 <213> Streptomyces sp. B317

5

<400> 200

```

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

10 <210> 201  
 <211> 100  
 <212> PRT  
 <213> Streptomyces sp. B318

15 <400> 201

```

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



ES 2 382 071 T3

<400> 203

```

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

His Asp Thr Glu
                               100

```

5

<210> 204

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B321

10

<400> 204

```

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

His Asp Thr Glu
                               100

```

ES 2 382 071 T3

<210> 205

<211> 100

<212> PRT

5 <213> Streptomyces sp. B322A

<400> 205

Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Ala Lys His Ile Pro Ala Ala Asp  
1 5 10 15

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

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

Thr Gly Ser Gly Asp Val Gln Glu Phe Arg Tyr Ala Tyr Asp Leu Lys  
50 55 60

Arg Val Phe Thr Asn Glu Asn Leu Ala Tyr Leu Lys Asn Tyr Gly Glu  
65 70 75 80

Gly Trp Gly Tyr Leu Asn Ser Gly Val Ala Gly Val Tyr Val Asp Asn  
85 90 95

His Asp Thr Glu  
100

10

<210> 206

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B323

<400> 206

ES 2 382 071 T3

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

<210> 207

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B326

<400> 207

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

10

<210> 208

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B327B

5 <400> 208

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

<210> 209

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B335org

<400> 209

15

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

His Asp Thr Glu

<210> 210

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B345

<400> 210

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

His Asp Thr Glu  
 100

10

<210> 211

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B346

<400> 211

5

```

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

His Asp Thr Glu
          100
    
```

<210> 212

<211> 100

10 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B347

<400> 212

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

<210> 213

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. 8348

<400> 213

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

10

<210> 214

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B350

5 <400> 214

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

<210> 215

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B352

<400> 215

15

ES 2 382 071 T3

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

<210> 216

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B353

<400> 216

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

10

<210> 217

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B354

5 <400> 217

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

<210> 218

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B355

<400> 218

15

```

Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Ala Lys His Met Asp Ala Ala Asp
 1           5           10           15
    
```



<400> 220

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

5

<210> 221

<211> 100

<212> PRT

10 <213> Streptomyces sp. B358

<400> 221

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

ES 2 382 071 T3

<210> 222

<211> 100

<212> PRT

5 <213> Streptomyces sp. B359

<400> 222

```

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

His Asp Thr Glu
10           100
    
```

<210> 223

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B360

<400> 223

ES 2 382 071 T3

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

<210> 224

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B361

<400> 224

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

10

<210> 225

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B362

5 <400> 225

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

<210> 226

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B363org

<400> 226

15

```

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



ES 2 382 071 T3

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

<210> 229

5 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B370

<400> 229

10

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

<210> 230

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B371

5 <400> 230

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

<210> 231

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B372

<400> 231

15

ES 2 382 071 T3

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

<210> 232

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B373

<400> 232

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

10

<210> 233

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B374B

5 <400> 233

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

<210> 234

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B375

<400> 234

15

ES 2 382 071 T3

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

<210> 235

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B376

<400> 235

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

10

<210> 236

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B380

5 <400> 236

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

<210> 237

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B382

<400> 237

15

```

Val Asp Gly Phe Arg Ile Asp Ala Ala Lys His Ile Ala Ala Ala Asp
  1           5           10           15
    
```



ES 2 382 071 T3

<400> 239

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

5

<210> 240

<211> 100

<212> PRT

10 <213> Streptomyces sp. B393

<400> 240

ES 2 382 071 T3

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

<210> 241

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B394

<400> 241

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

<210> 242

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B395

5 <400> 242

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

<210> 243

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B396(A)

<400> 243

15

```

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

ES 2 382 071 T3

Arg Val Phe Asn Asn Glu Asn Leu Ala Tyr Leu Lys Lys Tyr Gly Glu  
 65 70 75 80  
 Gly Trp Gly Tyr Met Ser Ser Ser Val Ala Gly Val Phe Val Asp Asn  
 85 90 95  
 His Asp Thr Glu  
 100

<210> 244

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400

<400> 244

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

10

<210> 245

<211> 100

<212> PRT

15 <213> Streptomyces sp. B4006

<400> 245

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

<210> 246

5 <211> 103

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B4006B

<400> 246

10

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

<210> 247

<211> 100

ES 2 382 071 T3

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400A

<400> 247

5

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

<210> 248

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400A2

<400> 248

15

ES 2 382 071 T3

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

<210> 249

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400B3

<400> 249

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

10

<210> 250

<211> 100

ES 2 382 071 T3

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400C

<400> 250

5

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

<210> 251

<211> 100

10

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400C2

<400> 251

ES 2 382 071 T3

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

<210> 252

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400D

<400> 252

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

10

<210> 253

ES 2 382 071 T3

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400D2

5 <400> 253

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

<210> 254

10 <211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400E

<400> 254

15

ES 2 382 071 T3

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

<210> 255

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400G

<400> 255

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

10

ES 2 382 071 T3

<210> 256

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400G2

5

<400> 256

```

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

His Asp Thr Glu
           100
    
```

10

<210> 257

<211> 100

<212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400I

15

<400> 257

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

<210> 258

<211> 100

5 <212> PRT

<213> Streptomyces sp. B400J

<400> 258

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

ES 2 382 071 T3

<210> 259  
 <211> 100  
 <212> PRT  
 <213> Streptomyces sp. B400K

5

<400> 259

```

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

His Asp Thr Glu
          100
    
```

10 <210> 260  
 <211> 100  
 <212> PRT  
 <213> Streptomyces sp. B400L

15 <400> 260

```

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



ES 2 382 071 T3

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

5 <210> 263  
 <211> 100  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (6)  
 <223> Ile o Leu

15 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (9)  
 <223> Ala o Ser

20 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (10)  
 <223> Lys o Arg

25 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (12)  
 <223> Met o Ile

<220>

<221> VARIANTE

<222> (13)

5 <223> Ser o Pro o Asp o Ala

<220>

<221> VARIANTE

<222> (14)

10 <223> Ala o Thr o Ser o Glu o Val

<220>

<221> VARIANTE

<222> (15)

15 <223> Asp o Ala o Glu o Thr o Gly o Ser

<220>

<221> VARIANTE

<222> (16)

20 <223> Asp o Gly

<220>

<221> VARIANTE

<222> (17)

25 <223> Val o Leu o Pro o Ile

<220>

<221> VARIANTE

<222> (18)

30 <223> Ala o Thr o Glu o Asn o Gln

<220>

<221> VARIANTE

<222> (19)

35 <223> Ala o Asn o Asp o His o Thr o Pro

<220>

<221> VARIANTE

<222> (20)

40 <223> Ile o Val

<220>

<221> VARIANTE

<222> (21)

<223> Lys o Glu o Trp o Arg o Leu

<220>

<221> VARIANTE

5 <222> (22)

<223> Gly o Ser o Pro o Ala o Thr

<220>

<221> VARIANTE

10 <222> (23)

<223> Lys o Arg

<220>

<221> VARIANTE

15 <222> (24)

<223> Met o Leu o Val o Pro

<220>

<221> VARIANTE

20 <222> (25)

<223>

Ser o Arg o Thr o Gly o Asn o Ala o Asp o  
Lys o nada

<220>

25 <221> VARIANTE

<222> (26)

<223> Asp o Asn o Ser o Lys o Arg

<220>

30 <221> VARIANTE

<222> (27)

<223> Pro o Arg o Thr o Gln o Gly o Val

<220>

35 <221> VARIANTE

<222> (28)

<223>

Gly o Asp o Ser o Asn o Thr-Ala-Gl;-Gly-Glu o  
Thr-Ser-Gly-Ala-Glu o

Tyr-Pro-Ala-Trp-Gly-Gly-Gly-Lys

- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (29)  
 <223> Val o Ala o Thr o Pro o nada
- 5
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (30)  
 <223> Phe o Tyr o His
- 10
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (31)  
 <223> Trp o Arg o Ile o Leu
- 15
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (32)  
 <223> Val o Lys o Phe
- 20
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (33)  
 <223> Thr o Gln o His o Leu o Met
- 25
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (34)  
 <223> Glu o Gly
- 30
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (35)  
 <223> Val o Ala o Thr
- 35
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (36)  
 <223> Ile o Thr o Met o Tyr o Asn
- 40
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (37)  
 <223> His o Tyr o Phe o Gly o Pro o Ala

<220>

<221> VARIANTE

<222> (38)

5 <223> Gly o Ala o Ser o Trp o Asp

<220>

<221> VARIANTE

<222> (39)

10 <223> Gly o Ala o Asp o Ser

<220>

<221> VARIANTE

<222> (40)

15 <223> Gly o Asn o Thr

<220>

<221> VARIANTE

<222> (41)

20 <223> Glu o Pro o Ile

<220>

<221> VARIANTE

<222> (42)

25 <223> Ala o Thr o Pro o Ser

<220>

<221> VARIANTE

<222> (43)

30 <223> Val o Ile o Ala o Thr

<220>

<221> VARIANTE

<222> (44)

35 <223> Gln o Ser o Gly

<220>

<221> VARIANTE

<222> (45)

40 <223> Pro o Ser o nada

<220>

<221> VARIANTE

<222> (46)

<223>

Glu o Asp o Thr o Gly o Ser o Ala o Gln o:  
nada

<220>

- 5 <221> VARIANTE  
<222> (47)  
<223> Glu o Asp o Ser

<220>

- 10 <221> VARIANTE  
<222> (48)  
<223> Tyr o His

<220>

- 15 <221> VARIANTE  
<222> (49)  
<223> Thr o Leu o Tyr o Val o Ala

<220>

- 20 <221> VARIANTE  
<222> (50)  
<223> Ser o Gly o Asp o Arg o Thr o Asn o His

<220>

- 25 <221> VARIANTE  
<222> (51)  
<223> Ile o Ser o Asn o Ala o Thr o Leu

<220>

- 30 <221> VARIANTE  
<222> (52)  
<223> Gly o Cys

<220>

- 35 <221> VARIANTE  
<222> (53)  
<223> Asp o Ser

<220>

- 40 <221> VARIANTE  
<222> (54)  
<223> Val o Ala o Ser

- <220>  
<221> VARIANTE  
<222> (55)  
<223> Asp o Gln o His o Leu o Thr
- 5
- <220>  
<221> VARIANTE  
<222> (56)  
<223> Glu o Asp
- 10
- <220>  
<221> VARIANTE  
<222> (57)  
<223> Phe o Leu o Ser
- 15
- <220>  
<221> VARIANTE  
<222> (58)  
<223> Arg o Ser o Cys o His o Asp o Thr o Gln
- 20
- <220>  
<221> VARIANTE  
<222> (59)  
<223> Tyr o His
- 25
- <220>  
<221> VARIANTE  
<222> (60)  
<223> Gly o Ala o Ser o His
- 30
- <220>  
<221> VARIANTE  
<222> (61)  
<223> Gly o Ser o Tyr o Arg o Trp o Lys
- 35
- <220>  
<221> VARIANTE  
<222> (62)  
<223> His o Asp o Ser o Gly o Gln o Arg o Lys
- 40
- <220>  
<221> VARIANTE  
<222> (63)  
<223> Leu o Val o Ile

<220>

<221> VARIANTE

<222> (64)

5 <223> Lys o Ser o Ala

<220>

<221> VARIANTE

<222> (65)

10 <223> Ser o Arg o Gln o His

<220>

<221> VARIANTE

<222> (66)

15 <223> Ala o Val o Ile o Thr o Ser o Asp o Met

<220>

<221> VARIANTE

<222> (67)

20 <223> Phe o Val o Leu

<220>

<221> VARIANTE

<222> (68)

25 <223>

Gln o Thr o Arg o Asn o Asp o Gly o His o:  
Leu o: Ala

<220>

<221> VARIANTE

30 <222> (69)

<223> Gly o Asn o Gln o Arg o Ser o Asp o nada

<220>

<221> VARIANTE

35 <222> (70)

<223> Gly o Glu o nada

<220>

<221> VARIANTE

40 <222> (71)

<223>

Gly o Asn o Arg o His o Ser o: Lys o: Asp o:  
Gln

- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (72)  
 <223> Leu o Pro o Ile o Val
- 5
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (73)  
 <223> Pro o Ala o Thr o Ser o Lys
- 10
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (74)  
 <223> Gly o Gln o Tyr o His o Glu o Asp o Asn
- 15
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (76)  
 <223> Arg o Asn o Ser o Glu o Thr
- 20
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (77)  
 <223> Ser o Asn o Lys o Thr o Tyr o Gly
- 25
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (78)  
 <223> Ile o Val o Tyr o Phe o Leu
- 30
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (79)  
 <223> Ala o Gly o Ser o Asp o Pro
- 35
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (80)  
 <223> Asp o Glu o Val o Ser
- 40
- <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (81)  
 <223> Gly o Asp o Ala o Ser o nada

<220>

<221> VARIANTE

<222> (82)

5 <223> Gly o Trp o nada

<220>

<221> VARIANTE

<222> (83)

10 <223> Gly o Val o Ala o nada

<220>

<221> VARIANTE

<222> (84)

15 <223> Lys o Tyr o His o Arg o Phe o Leu

<220>

<221> VARIANTE

<222> (85)

20 <223> Leu o Met o Ile o Val o Pro o Thr

<220>

<221> VARIANTE

<222> (86)

25 <223>

Ala o Gly o Asn o Ser o Thr o Pro o Lys o  
Gln o Glu

<220>

<221> VARIANTE

30 <222> (87)

<223> Gly o Ser o Asn o Tyr o Ala

<220>

<221> VARIANTE

35 <222> (88)

<223> Ala o Asp o Gly o Ser o Thr o Pro o Asn

<220>

<221> VARIANTE

40 <222> (89)

<223>

Ser o Lys o Val o Ala o Phe o Thr o Gly o  
Gln o Arg o Glu o nada

<220>

<221> VARIANTE

<222> (90)

5 <223> Ala o Ser o Pro

<220>

<221> VARIANTE

<222> (91)

10 <223> Arg o Gly o Ser o Asn o Ala o Val

<220>

<221> VARIANTE

<222> (92)

15 <223> Thr o Val o Ser

<220>

<221> VARIANTE

<222> (93)

20 <223> Tyr o Phe o Trp

<220>

<221> VARIANTE

<222> (100)

25 <223> Glu o Gln

<220>

<221> VARIANTE

<222> (8)

30 <223> Ala o Thr o Gly

<220>

<223> Consenso de secuencia

35 <400> 263

ES 2 382 071 T3

Val Asp Gly Phe Arg Xaa Asp Xaa Xaa Xaa His Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10 15  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 20 25 30  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 35 40 45  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 50 55 60  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 65 70 75 80  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Asp Asn  
 85 90 95  
 His Asp Thr Xaa  
 100

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Proteína amilolítica cuya secuencia de aminoácidos contiene una porción que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 208 en un 95%, preferentemente en un 97,5% y muy preferentemente en un 100%.
2. Proteína amilolítica obtenida mediante mutación por inserción o proteína amilolítica quimérica que está formada, al menos en una porción que confiere una actividad amilolítica, por una proteína, según la reivindicación 1.
- 10 3. Proteína amilolítica, según una de las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizada porque se obtiene a partir de un organismo natural, en especial a partir de un microorganismo.
- 15 4. Proteína amilolítica, según la reivindicación 3, caracterizada porque el microorganismo es una bacteria gram-positiva.
5. Proteína amilolítica, según la reivindicación 4, caracterizada porque la bacteria gram-positiva pertenece al orden de los actinomicetales.
- 20 6. Proteína amilolítica, según la reivindicación 5, caracterizada porque se trata de una especie de *Streptomyces*.
7. Ácido nucleico que codifica para una proteína amilolítica cuya secuencia de aminoácidos contiene una porción que es idéntica a la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO. 208 en un 95%, preferentemente en un 97,5% y muy preferentemente en un 100%.
- 25 8. Ácido nucleico que codifica para una de las proteínas amilolíticas indicadas en la reivindicación 2.
9. Utilización de una proteína, según una de las reivindicaciones 1 a 6, para la identificación de una proteína amilolítica.
- 30 10. Utilización de un ácido nucleico, según una de las reivindicaciones 7 u 8, para la identificación y/u obtención de una nueva amilasa.
11. Vector que contiene una región de ácido nucleico indicada en las reivindicaciones 7 u 8.
- 35 12. Vector de clonación, según la reivindicación 11.
13. Vector de expresión, según la reivindicación 11.
- 40 14. Célula huésped que expresa una de las proteínas, en forma recombinante, indicadas en las reivindicaciones 1 a 6 o que puede ser estimulada a su expresión utilizando un vector de expresión, en forma recombinante, según la reivindicación 13.
- 45 15. Célula de huésped, según la reivindicación 14, caracterizada porque es una bacteria, en especial una bacteria que segrega la proteína generada al medio circundante.
- 50 16. Célula huésped, según la reivindicación 15, caracterizada porque es una bacteria gram-positiva.
17. Célula huésped, según la reivindicación 16, caracterizada porque pertenece al género *Bacillus*, preferentemente a las especies *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis* o *Bacillus alcalophilus*.
- 55 18. Célula huésped, según la reivindicación 15, caracterizada porque es una bacteria gram-negativa.
19. Célula huésped, según la reivindicación 18, caracterizada porque pertenece al género *Escherichia*, preferentemente a la especie *Escherichia coli*, muy preferente a una de las cepas *E. Coli* JM 109, *E. Coli* DH 100B o *E. Coli* DH 12S.
- 60 20. Célula huésped, según la reivindicación 14, caracterizada porque es una célula eucariota, en especial una que modifica de forma postranslacional la proteína generada.
21. Procedimiento para la obtención de una proteína, según una de las reivindicaciones 1 a 6, utilizando un ácido nucleico, según una de las reivindicaciones 7 u 8, y/o utilizando un vector, según una de las reivindicaciones 11 a 13, y/o utilizando una célula huésped, según una de las reivindicaciones 14 a 20, o utilizando una célula que genera ésta de forma natural.
- 65 22. Agente de lavado o limpieza, caracterizado porque contiene una proteína, según una de las reivindicaciones 1 a 6.

23. Utilización de una proteína, según una de las reivindicaciones 1 a 6, para el tratamiento de materias primas o productos intermedios en la fabricación de textiles, en especial para el desencolado de algodón.
- 5 24. Procedimiento para la licuación de almidón, en especial para la producción de etanol, caracterizado porque se utiliza una proteína, según una de las reivindicaciones 1 a 6.
25. Utilización de una proteína, según una de las reivindicaciones 1 a 6, para la obtención de oligosacáridos lineales y/o de cadena corta.
- 10 26. Utilización de una proteína, según una de las reivindicaciones 1 a 6, para la hidrólisis de ciclodextrinas.
27. Utilización de una proteína, según una de las reivindicaciones 1 a 6, para la liberación de compuestos de bajo peso molecular a partir de portadores de polisacáridos o ciclodextrinas.
- 15 28. Utilización de una proteína, según una de las reivindicaciones 1 a 6, para la fabricación de alimentos y/o ingredientes alimentarios.
- 20 29. Utilización de una proteína, según una de las reivindicaciones 1 a 6, para la fabricación de piensos para animales y/o ingredientes de piensos.
30. Utilización de una proteína, según una de las reivindicaciones 1 a 6, para la disolución de uniones pegadas que contienen almidón.
- 25 31. Procedimiento de pegado temporal, caracterizado porque se utiliza una proteína, según una de las reivindicaciones 1 a 6.

Figura 1

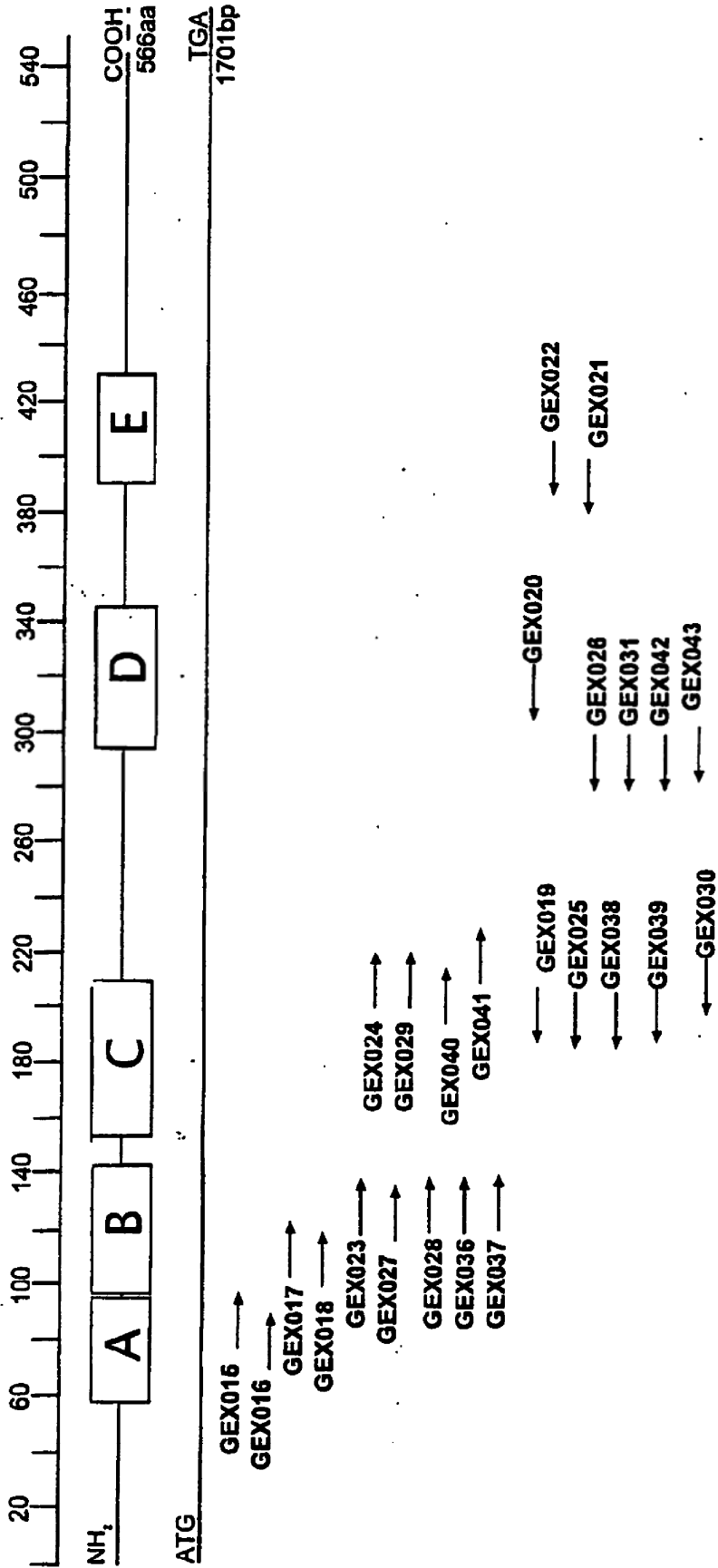


Figura 2

Figura 2A

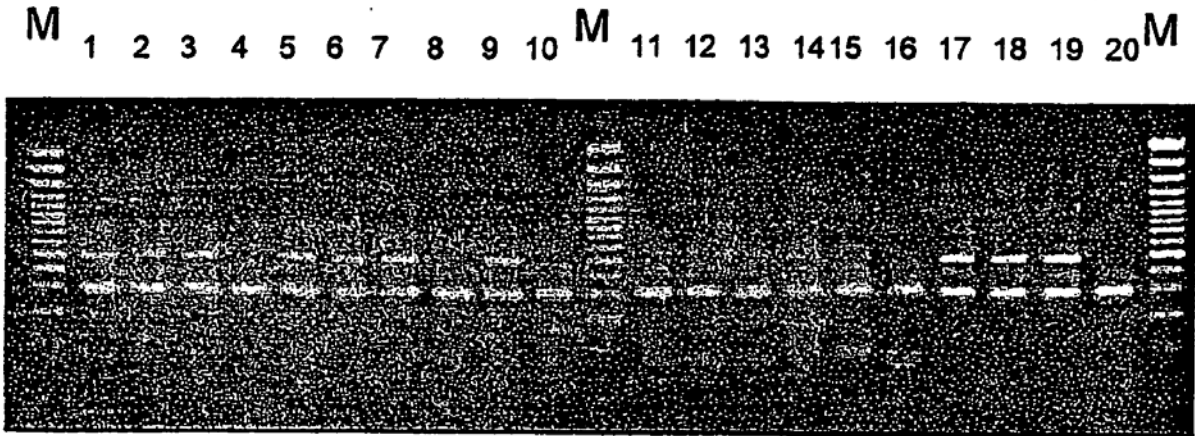


Figura 2B

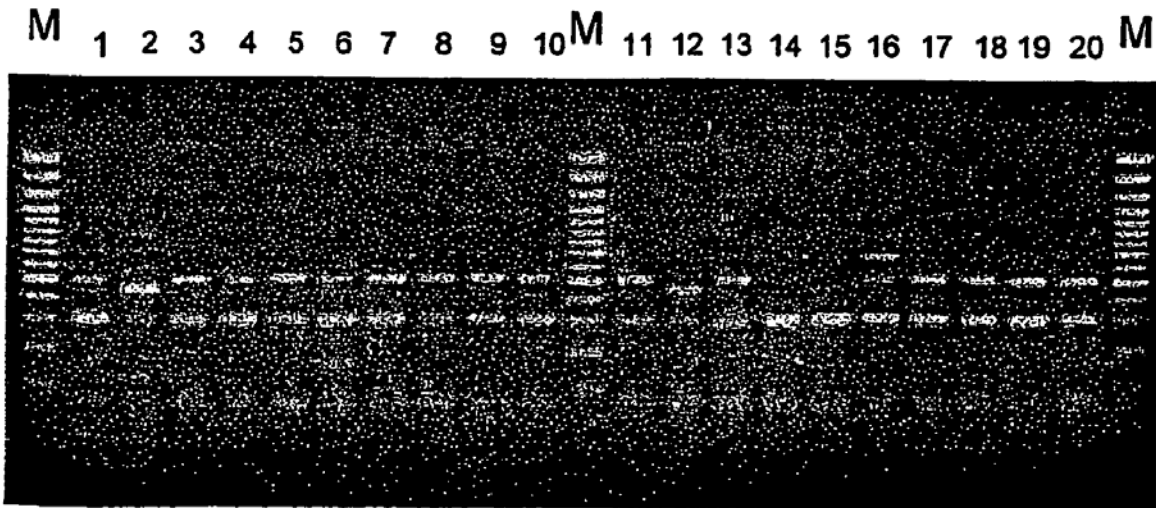


Figura 3 / Parte 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
V	D	G	F	R	X <sub>0</sub>	D	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	H	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>
14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>	X <sub>10</sub>	X <sub>11</sub>	X <sub>12</sub>	X <sub>13</sub>	X <sub>14</sub>	X <sub>15</sub>	X <sub>16</sub>	X <sub>17</sub>	X <sub>18</sub>
27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
X <sub>19</sub>	X <sub>20</sub>	X <sub>21</sub>	X <sub>22</sub>	X <sub>23</sub>	X <sub>24</sub>	X <sub>25</sub>	X <sub>26</sub>	X <sub>27</sub>	X <sub>28</sub>	X <sub>29</sub>	X <sub>30</sub>	X <sub>31</sub>
40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
X <sub>32</sub>	X <sub>33</sub>	X <sub>34</sub>	X <sub>35</sub>	X <sub>36</sub>	X <sub>37</sub>	X <sub>38</sub>	X <sub>39</sub>	X <sub>40</sub>	X <sub>41</sub>	X <sub>42</sub>	X <sub>43</sub>	X <sub>44</sub>
53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
X <sub>45</sub>	X <sub>46</sub>	X <sub>47</sub>	X <sub>48</sub>	X <sub>49</sub>	X <sub>50</sub>	X <sub>51</sub>	X <sub>52</sub>	X <sub>53</sub>	X <sub>54</sub>	X <sub>55</sub>	X <sub>56</sub>	X <sub>57</sub>
66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78
X <sub>58</sub>	X <sub>59</sub>	X <sub>60</sub>	X <sub>61</sub>	X <sub>62</sub>	X <sub>63</sub>	X <sub>64</sub>	X <sub>65</sub>	X <sub>66</sub>	L	X <sub>67</sub>	X <sub>68</sub>	X <sub>69</sub>
79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91
X <sub>70</sub>	X <sub>71</sub>	X <sub>72</sub>	X <sub>73</sub>	X <sub>74</sub>	X <sub>75</sub>	X <sub>76</sub>	X <sub>77</sub>	X <sub>78</sub>	X <sub>79</sub>	X <sub>80</sub>	X <sub>81</sub>	X <sub>82</sub>
92	93	94	95	96	97	98	99	100				
X <sub>83</sub>	X <sub>84</sub>	V	D	N	H	D	T	X <sub>85</sub>				

Posición	Aminoácidos
1	V
2	D
3	G
4	F
5	R
6	X <sub>0</sub> = I o L
7	D
8	X <sub>1</sub> = A o T o G
9	X <sub>2</sub> = A o S
10	X <sub>3</sub> = K o R

Figura 3 / Parte 2

Posición	Aminoácidos
11	H
12	X <sub>4</sub> = M o I
13	X <sub>5</sub> = S o P o D o A
14	X <sub>6</sub> = A o T o S o E o V
15	X <sub>7</sub> = D o A o E o T o G o S
16	X <sub>8</sub> = D o G
17	X <sub>9</sub> = V o L o P o I
18	X <sub>10</sub> = A o T o E o N o Q
19	X <sub>11</sub> = A o N o D o H o T o P
20	X <sub>12</sub> = I o V
21	X <sub>13</sub> = K o E o W o R o L
22	X <sub>14</sub> = G o S o P o A o T
23	X <sub>15</sub> = K o R
24	X <sub>16</sub> = M o L o V o P
25	X <sub>17</sub> = S o R o T o G o N o A o D o K o -
26	X <sub>18</sub> = D o N o S o K o R
27	X <sub>19</sub> = P o R o T o Q o G o V
28	X <sub>20</sub> = G o D o S o N o TAGGE o TSGAE o YPAWGGGK
29	X <sub>21</sub> = V o A o T o P o -
30	X <sub>22</sub> = F o Y o H
31	X <sub>23</sub> = W o R o I o L
32	X <sub>24</sub> = V o K o F
33	X <sub>25</sub> = T o Q o H o L o M
34	X <sub>26</sub> = E o G
35	X <sub>27</sub> = V o A o T
36	X <sub>28</sub> = I o T o M o Y o N
37	X <sub>29</sub> = H o Y o F o G o P o A
38	X <sub>30</sub> = G o A o S o W o D
39	X <sub>31</sub> = G o A o D o S
40	X <sub>32</sub> = G o N o T
41	X <sub>33</sub> = E o P o I
42	X <sub>34</sub> = A o T o P o S
43	X <sub>35</sub> = V o I o A o T

Figura 3 / Parte 3

Posición	Aminoácidos
44	X <sub>36</sub> = Q o S o G
45	X <sub>37</sub> = P o S o -
46	X <sub>38</sub> = E o D o T o G o S o A o Q o -
47	X <sub>39</sub> = E o D o S
48	X <sub>40</sub> = Y o H
49	X <sub>41</sub> = T o L o Y o V o A
50	X <sub>42</sub> = S o G o D o R o T o N o H
51	X <sub>43</sub> = I o S o N o A o T o L
52	X <sub>44</sub> = G o C
53	X <sub>45</sub> = D o S
54	X <sub>46</sub> = V o A o S
55	X <sub>47</sub> = D o Q o H o L o T
56	X <sub>48</sub> = E o D
57	X <sub>49</sub> = F o L o S
58	X <sub>50</sub> = R o S o C o H o D o T o Q
59	X <sub>51</sub> = Y o H
60	X <sub>52</sub> = G o A o S o H
61	X <sub>53</sub> = G o S o Y o R o W o K
62	X <sub>54</sub> = H o D o S o G o Q o R o K
63	X <sub>55</sub> = L o V o I
64	X <sub>56</sub> = K o S o A
65	X <sub>57</sub> = S o R o Q o H
66	X <sub>58</sub> = A o V o I o T o S o D o M
67	X <sub>59</sub> = F o V o L
68	X <sub>60</sub> = Q o T o R o N o D o G o H o L o A
69	X <sub>61</sub> = G o N o Q o R o S o D o -
70	X <sub>62</sub> = G o E o -
71	X <sub>63</sub> = G o N o R o H o S o K o D o Q
72	X <sub>64</sub> = L o P o I o V
73	X <sub>65</sub> = P o A o T o S o K
74	X <sub>66</sub> = G o Q o Y o H o E o D o N
75	L
76	X <sub>67</sub> = R o N o S o E o T
77	X <sub>68</sub> = S o N o K o T o Y o G
78	X <sub>69</sub> = I o V o Y o F o L

Figura 3 / Parte 4

Posición	Aminoácidos
79	X <sub>70</sub> = A o G o S o D o P
80	X <sub>71</sub> = D o E o V o S
81	X <sub>72</sub> = G o D o A o S o -
82	X <sub>73</sub> = G o W o -
83	X <sub>74</sub> = G o V o A o -
84	X <sub>75</sub> = K o Y o H o R o F o L
85	X <sub>76</sub> = L o M o I o V o P o T
86	X <sub>77</sub> = A o G o N o S o T o P o K o Q o E
87	X <sub>78</sub> = G o S o N o Y o A
88	X <sub>79</sub> = A o D o G o S o T o P o N
89	X <sub>80</sub> = S o K o V o A o F o T o G o Q o R o E o -
90	X <sub>81</sub> = A o S o P
91	X <sub>82</sub> = R o G o S o N o A o V
92	X <sub>83</sub> = T o V o S
93	X <sub>84</sub> = Y o F o W
94	V
95	D
96	N
97	H
98	D
99	T
100	X <sub>85</sub> = E o Q

Figura 4

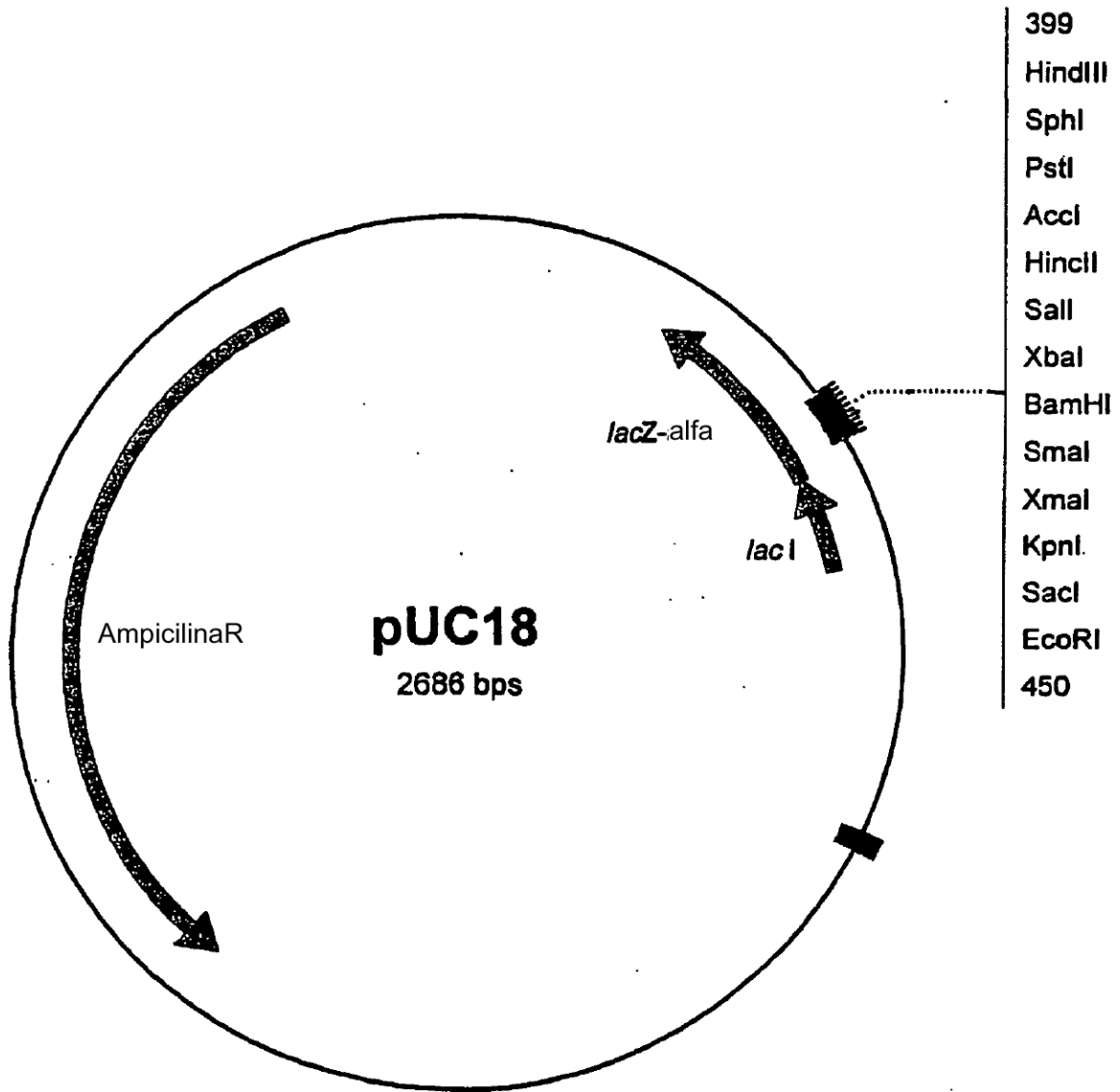


Figura 5

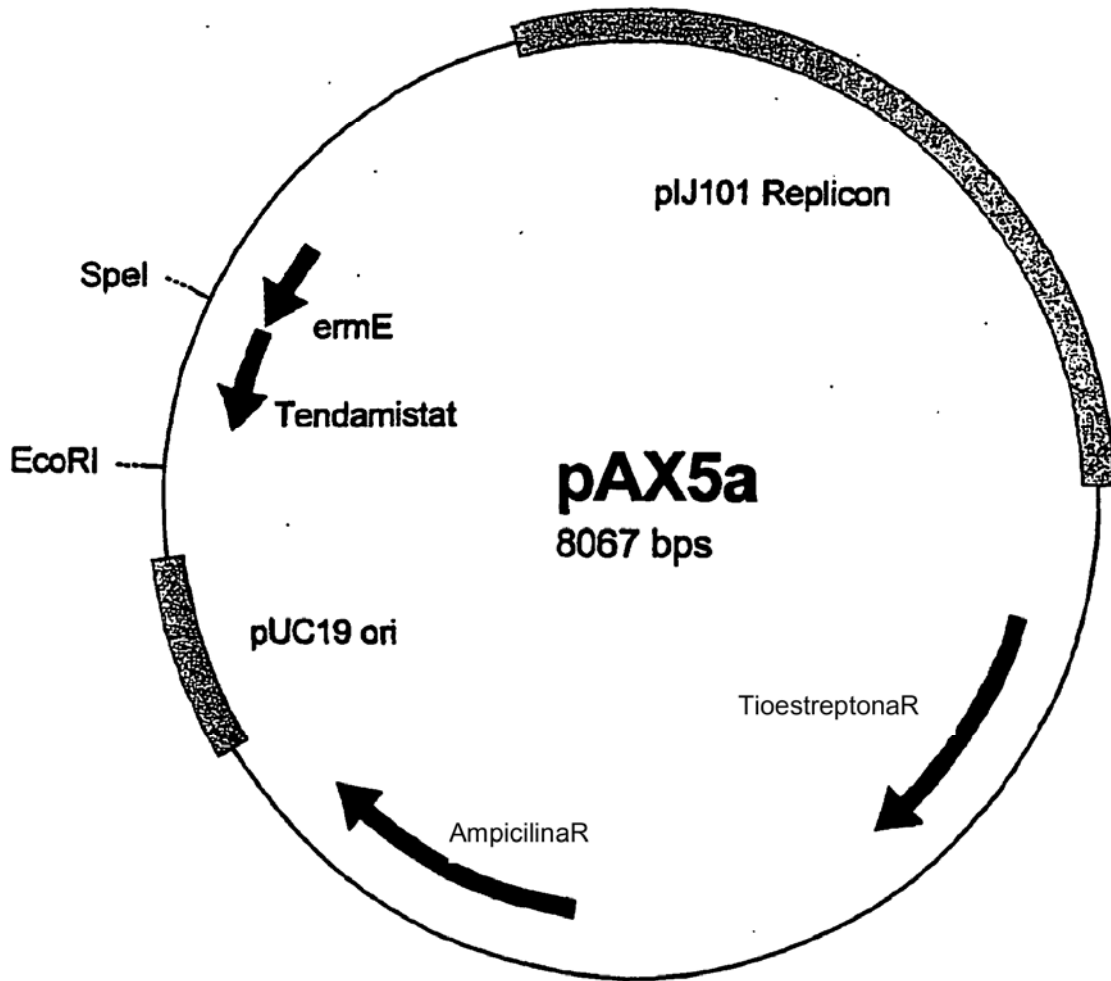


Figura 6

