



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102392019 A

(43) 申请公布日 2012. 03. 28

(21) 申请号 201110320834. 7 *C12N 15/63* (2006. 01)

(22) 申请日 2007. 02. 06 *C12N 9/02* (2006. 01)

(30) 优先权数据 *C12N 1/15* (2006. 01)
PCT/EP2006/050700 2006. 02. 06 EP *C12N 1/19* (2006. 01)
C12N 1/21 (2006. 01)

(62) 分案原申请数据 *C12N 5/10* (2006. 01)
200780004609. 4 2007. 02. 06 *C07K 16/40* (2006. 01)

(71) 申请人 帝斯曼知识产权资产管理有限公司 *A21D 8/04* (2006. 01)
地址 荷兰海尔伦 *A21D 13/00* (2006. 01)
A23C 9/12 (2006. 01)

(72) 发明人 约翰娜·亨瑞克娜·格迪娜·玛丽 *A23C 19/032* (2006. 01)
亚·马特瑟斯
罗埃尔弗·伯恩哈德·梅玛
阿伯图斯·阿拉德·范蒂克
彼得吕斯·雅各布斯·西奥多瑞
斯·蒂克尔

(74) 专利代理机构 北京东方亿思知识产权代理
有限责任公司 11258
代理人 肖善强

(51) Int. Cl.
C12N 15/11 (2006. 01)
C12N 15/53 (2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 23 页
序列表 22 页

(54) 发明名称

新颖的氧化还原酶及其用途

(57) 摘要

本发明涉及新颖的氧化还原酶及其用途。本发明涉及新鉴定的包含下述基因的多核苷酸序列,所述基因编码从 *Aspergillus niger* 分离的新颖的氧化还原酶。本发明描述了新颖基因的全长核苷酸序列、包含新颖氧化还原酶的全长编码序列的 cDNA 序列,以及全长功能蛋白质及其功能等同物的氨基酸序列。本发明还涉及在烘焙和乳制品应用中使用这些酶的方法。本发明还包括用根据本发明的多核苷酸转化的细胞和其中根据本发明的氧化还原酶被遗传修饰以增强或降低其活性和 / 或表达水平的细胞。

1. 经分离的多核苷酸,其能够与 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 中任一多核苷酸杂交。
2. 根据权利要求 1 的经分离的多核苷酸,所述多核苷酸能够在高严格度条件下与 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 中任一多核苷酸杂交。
3. 根据权利要求 1 或 2 的经分离的多核苷酸,其能从丝状真菌获得。
4. 根据权利要求 3 的经分离的多核苷酸,其能从 *Aspergillus niger* 获得。
5. 编码下述氧化还原酶的经分离的多核苷酸,所述氧化还原酶包含氨基酸序列 SEQ ID NO :013-018 之任一或其任何的功能等同物。
6. 编码下述氧化还原酶的至少一个功能结构域的经分离的多核苷酸,所述氧化还原酶包含氨基酸序列 SEQ ID NO :013-018 之任一或包含其中任何的功能等同物。
7. 经分离的多核苷酸,所述多核苷酸包含核苷酸序列 SEQ ID NO :001-077 或 SEQ ID NO :007-012 之任一或其任何的功能等同物。
8. 由 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 之任一组成的经分离的多核苷酸。
9. 包含根据权利要求 1 到 8 中任一项的多核苷酸序列的载体。
10. 根据权利要求 9 的载体,其中根据权利要求 1 到 8 中任一项的所述多核苷酸序列与下述调节序列可操作地连接,所述调节序列适用于所述多核苷酸序列在合适的宿主细胞中表达。
11. 根据权利要求 10 的载体,其中所述合适的宿主细胞是丝状真菌。
12. 制造根据权利要求 1-8 中任一项的多核苷酸或根据权利要求 9 到 11 中任一项的载体的方法,所述方法包括下述步骤:培养用所述多核苷酸或所述载体转化的宿主细胞,并从所述宿主细胞中分离所述多核苷酸或所述载体。
13. 具有氨基酸序列 SEQ ID NO :013-018 之任一或其任何的功能等同物的经分离的氧化还原酶。
14. 根据权利要求 13 的经分离的氧化还原酶,其能从 *Aspergillus niger* 获得。
15. 通过在适当的宿主细胞例如 *Aspergillus niger* 中表达根据权利要求 1 到 8 中任一项的多核苷酸或根据权利要求 9 到 11 中任一项的载体能够获得的经分离的氧化还原酶。
16. 包含根据权利要求 13 到 15 中任一项的任何氧化还原酶功能结构域的重组氧化还原酶。
17. 制造根据权利要求 13 到 16 中任一项的氧化还原酶的方法,所述方法包括下述步骤:用根据权利要求 1 到 8 中任一项的经分离的多核苷酸或根据权利要求 9 到 11 中任一项的载体转化合适的宿主细胞,在允许所述多核苷酸表达的条件下培养所述细胞,和任选地,从所述细胞或培养基中纯化被编码的多肽。
18. 重组宿主细胞,其包含根据权利要求 1 到 8 中任一项的多核苷酸或根据权利要求 9 到 11 中任一项的载体。
19. 重组宿主细胞,其表达根据权利要求 13 到 16 中任一项的多肽。
20. 经纯化的抗体,其与根据权利要求 13 到 16 中任一项的氧化还原酶具有反应性。
21. 用于制造面团的工艺,所述工艺包括添加根据权利要求 13-16 中任一项的氧化还原酶。
22. 用于从通过权利要求 21 的工艺制备的面团生产烘焙制品的工艺。

23. 根据权利要求 13-16 中任一项的氧化还原酶用于制备面团和 / 或其烘焙制品的用途。
24. 能够水解羟基脂肪酸的酶用于制备面团和 / 或其烘焙制品的用途。
25. 根据权利要求 13-16 中任一项的氧化还原酶用于制备乳制品的用途。
26. 根据权利要求 13-16 中任一项的氧化还原酶用于在乳制品中降低 Maillard 反应的用途。
27. 根据权利要求 13-16 中任一项的氧化还原酶用于在乳制品中防止 Maillard 反应的用途。
28. 根据权利要求 13-16 中任一项的氧化还原酶作为乳制品中抗微生物剂的用途。
29. 根据权利要求 28 的氧化还原酶的用途, 其特征在于所述抗微生物剂被用于乳中的乳过氧化物酶 - 硫氰酸体系。
30. 根据权利要求 25-28 中任一项的氧化还原酶的用途, 其特征在于所述乳制品为乳或乳酪。

新颖的氧化还原酶及其用途

[0001] 本申请是基于申请号 200780004609.4 的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及新近鉴定的包含下述基因的多核苷酸序列,所述基因编码从 *Aspergillus niger* 分离的新颖的氧化还原酶。本发明描述了新颖基因的全长核苷酸序列、包含新颖氧化还原酶的全长编码序列的 cDNA 序列,以及全长功能蛋白质及其功能等同物的氨基酸序列。本发明还涉及在烘焙和乳制品应用中使用这些酶的方法。本发明还包括用根据本发明的多核苷酸转化的细胞和其中根据本发明的氧化还原酶被遗传修饰以增强或降低其活性和 / 或表达水平的细胞。

背景技术

[0003] 氧化还原酶在本文中被定义为催化氧化 - 还原反应的酶。已知是氧化还原酶 (EC 1. #. #. #, 其中 # 为数字) 的酶种类由 Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry on the Nomenclature and Classification of Enzymes (Enzyme Nomenclature, Academic Press, New York, 1992) 定义为催化氧化还原反应的所有酶。被氧化的底物被视为氢或电子供体。号码中的第二个数字指出经受氧化的氢供体中的基团。第三个数字指出涉及的受体类型, 3 表示氧为受体。被氧化的底物被看做氢供体。

[0004] 氧化还原酶的例子为:

[0005] • 漆酶 (EC 1. 10. 3. 2) 催化邻 - 和对 - 苯二酚二者的氧化, 也时常作用于氨基苯酚和苯二胺。

[0006] • 葡萄糖氧化酶 (EC 1. 1. 3. 4-GOX) 催化葡萄糖和若干种其它糖的氧化。

[0007] • 己糖氧化酶 (EC 1. 1. 3. 5) 催化与 GOX 相同的反应, 即葡萄糖和若干种其它糖如半乳糖、甘露糖、麦芽糖、乳糖和纤维二糖的氧化。

[0008] • 胆固醇氧化酶 (EC 1. 1. 3. 6) 催化胆固醇的氧化还原。

[0009] • 胆碱脱氢酶 (E. C. 1. 1. 99. 1) 催化胆碱的氧化还原。

[0010] • 葡萄糖脱氢酶 (E. C. 1. 1. 99. 10) 催化葡萄糖的氧化还原。

[0011] • 醇氧化酶 (EC 1. 1. 3. 13) 催化伯醇的氧化。

[0012] • 仲醇氧化酶 (EC 1. 1. 3. 18) 催化仲醇的氧化。

[0013] • D- 天冬氨酸氧化酶 (EC 1. 4. 3. 1) 催化天冬氨酸的氧化还原, 其也作为天冬氨酸氧化酶已知。

[0014] • 丁二胺氧化酶 (EC 1. 4. 3. 10) 催化腐胺成为 4- 氨基正丁醛的氧化还原, 所述 4- 氨基正丁醛缩聚成为 1- 吡咯啉。

[0015] • 胺氧化酶 (EC 1. 4. 3. 4) 催化胺 (主要是伯胺, 通常是一些仲胺和叔胺) 的氧化。

[0016] • 肌氨酸氧化酶 (EC 1. 5. 3. 1) 催化肌氨酸的氧化还原。

[0017] • 多胺氧化酶 (EC 1. 5. 3. 11) 催化 N¹- 乙酰基精胺的氧化还原。

[0018] • (R)-6- 羟基烟碱氧化酶 (EC 1. 5. 3. 6) 催化 (R)-6- 羟基烟碱的氧化还原。

[0019] •网脉番荔枝碱氧化酶 (EC 1.5.3.9) 催化 (S)-网脉番荔枝碱的氧化还原,其也被称作小檗碱-桥-形成酶。

[0020] •儿茶酚氧化酶 (EC1.10.3.1) 催化儿茶酚和多种被取代的儿茶酚的氧化还原。

[0021] •硫氧还蛋白还原酶 (EC 1.6.4.5),其催化被氧化的硫氧还蛋白的还原。

[0022] •亚硫酸盐还原酶 (EC 1.8.1.2),其催化硫化氢的还原。

[0023] •氯化物过氧化物酶 (EC 1.11.1.10),其导致有机分子氯化形成稳定的 C-Cl 键,其也可以作用于 Br⁻ 和 I⁻。

[0024] •过氧化物酶 (EC 1.11.1.6),其导致若干种有机物质例如乙醇的氧化还原。

[0025] •氧化还原酶的其它例子为萤火虫荧光素酶 (EC 1.13.12.7)、肉桂酸 4-羟化酶 (EC 1.14.13.11)、苯甲酸 4-单加氧酶 (EC 1.14.13.12)、胆固醇 7 α -单加氧酶 (EC 1.14.13.17)、五氯苯酚单加氧酶 (EC 1.14.13.50)、单加氧酶 (EC1.14.14.1)、类固醇 11 β -单加氧酶 (EC 1.14.15.4)、单苯酚单加氧酶 (EC1.14.18.1)、前列腺素合酶 (EC 1.14.99.1) 和水杨酸酯水解酶 (EC 1.14.13.1)。

[0026] 所述例子以并非以任何方式表示限制性或限制本发明的方式给出。

[0027] 氧化还原酶可便利地在微生物中生产。微生物氧化还原酶可得自多种来源; Bacillus 的种是细菌酶的一个常见来源,而真菌酶通常在 Aspergillus 的种中生产。

[0028] 已经报导了来自多种来源的具有氧化还原酶活性的微生物酶,所述来源包括 Penicillium、Talaromyces、Cladosporium(WO 95/29996)、Trametes hirsuta(WO 97/22257)。已经克隆了来自若干来源的微生物氧化还原酶基因,所述来源包括 Fusarium(EP 1157117A1)、Coriolus versicolor(DE 19545780A1)、Trametes(US6146865)、Trichoderma(US 6248575) 和 Microdochium nivale(WO9931990)。

[0029] 氧化还原酶可用于还使用化学氧化剂的所有应用领域中。这类化学氧化剂通常是非特异的氧化剂,如碘酸盐、过氧化物、抗坏血酸、溴酸钾和偶氮二酰胺。然而,若干种目前可获得的化学氧化剂的使用遇到了消费者的抵制或不被管理机构允许,特别是在食物应用的领域中。

[0030] 氧化还原酶的使用已经被认为是化学氧化剂的备选方案。

[0031] 氧化还原酶可以被用于包括食物制剂和去污剂的多种工业应用中。

[0032] 氧化还原酶的上述工业应用仅是小量例子,该列表不表示是限制性的。

[0033] 其中可便利地使用氧化还原酶的食物制剂的一个例子是烘焙应用的领域,例如改善面团或烘焙制品的品质。

[0034] 例如 US 2,783,150 公开了 GOX 在面粉中改善面团强度和烘焙的面包的纹理和外观的用途。EP0338452 公开了葡萄糖氧化酶与半纤维素酶和 / 或纤维素降解酶组合的应用。W002/30207 公开了 GOX 在烘焙中与蛋白质二硫化物异构酶组合以改善 GOX 有效性的用途。W096/39851 公开了红海藻 Chondrus crispus 的己糖氧化酶在烘焙应用中的用途。W098/44804 公开了甘油氧化酶用于改善面团流变学 (rheological) 特征的用途。

[0035] 其中可使用氧化还原酶的食品制剂包括乳制品食物。例如 W002/39828 公开了己糖氧化酶在批萨制备期间减少批萨乳酪中 Maillard 反应的用途,W0 99/31990 公开了碳水化合物氧化酶从乳糖 (乳中最充裕的糖) 生产乳糖酸的用途。

[0036] 目前,来自 Aspergillus niger 的葡萄糖氧化酶是针对上述应用的工业中使用的

唯一酶。其它氧化还原酶的问题是它们的生产仍然不能以成本有效的方式进行和 / 或它们的性能对于它们的预期用途而言不是最适的。因此, 仍然有动力改善用于特定应用的氧化还原酶, 例如考虑到有效性、底物特异性和 / 或亲和力、在所需温度范围内和 pH 范围内的稳定性和活性等等。

[0037] 更特定地, 对于烘焙应用而言, 目前烘焙中使用的氧化还原酶 (主要是来自 *Aspergillus niger* 的葡萄糖氧化酶) 不具有例如溴酸钾的性能。溴酸钾是一种化学氧化剂, 其在技术上被认为是除色的氧化剂, 特别是对于长烘焙工艺而言。溴酸盐的禁用留给烘焙者时至今日仍未填补上的性能缺口。另一个例子是为了得到优良的白色面包屑的酶面包屑漂白剂 (enzymatic crumb bleaching)。数年来, 含有脂肪氧化酶的酶活性大豆粉一直被用于该目的。向市场中引入经遗传修饰的大豆变种引起了世界范围的消费者抵制在烘焙中使用这类大豆粉。作为选择可使用其它豆和豌豆粉, 然而它们不如大豆粉有效。因此, 对面包屑漂白应用而言, 仍然存在对该问题的酶解决方案的巨大需要。

[0038] 更特定地, 对乳制品应用而言, 在热处理期间对工艺参数的轻微修饰或背离导致由增加的 Maillard 反应引起的提高的颜色发生。该颜色发生是不想要的, 并且存在除了通过严格的温度和工艺控制之外控制该变褐过程从而使得巴氏灭菌过程更有活力的需要。

[0039] 还在乳酪的热处理中, 例如批萨上乳酪的变褐是不想要的。W002/39828 总结了减少变褐的若干种尝试, 所述尝试通常旨在获得乳酪制造工艺的非常严格的工艺控制或工艺修饰。这些解决方案的缺点在于它们难以操作和 / 或可能提高成本或降低产率。

[0040] 本发明致力于至少一个 (如果不是所有的话) 上述问题。

[0041] 发明目的

[0042] 本发明的一个目的是提供下述新颖的多核苷酸, 所述多核苷酸编码具有改善的特性的新颖的氧化还原酶。另一个目的是提供天然和重组生产的氧化还原酶以及生产所述氧化还原酶的重组菌株。制造和使用根据本发明的多核苷酸和多肽的方法也是本发明的一个目的。

[0043] 提供下述新颖的氧化还原酶也是本发明的目的之一, 所述氧化还原酶解决了至少一个上述问题, 或当用于乳制品和 / 或烘焙应用中时具有一种或多种改善的特性。

[0044] 乳制品的改善的特性可选自由 Maillard 反应引起的变褐减少、改善的抗微生物特性和改善的蛋白质交联。

[0045] 面团和 / 或烘焙制品的改善的特性可选自提高的面团强度、提高的面团弹性、提高的面团稳定性、降低的面团粘稠度、改善的醒发耐性、改善的面团延展性、改善的面团可加工性、提高的烘焙制品体积、改善的烘焙制品碎屑结构、改善的烘焙制品柔软性、改善的烘焙制品口味、改善的烘焙制品抗腐性 (anti-staling)、改善的烘焙制品色泽、改善的烘焙制品外皮或具有广泛的底物特异性。

[0046] 发明详述

[0047] 多核苷酸

[0048] 本发明提供了编码新颖的氧化还原酶的新颖的多核苷酸, 所述氧化还原酶尤其是具有任何上述活性的酶, 优选地, 具有异戊醇氧化酶活性、碳水化合物氧化酶、漆酶、葡萄糖氧化酶或己糖氧化酶活性的酶。

[0049] 本发明提供了 6 种编码氧化还原酶的新颖的多核苷酸, 暂时称作 OXI01、OXI02、

OXI03、OXI04、OXI05、OXI06(下文称作 OXI01-OXI06),其具有分别根据 SEQ ID NO :013、SEQ ID NO :014、SEQ ID NO :015、SEQ ID NO :016、SEQ ID NO :017、SEQ ID NO :018(下文称作“SEQ ID NO :013-018”)的氨基酸序列或其任何的功能等同物。编码 SEQ ID NO :013-018 的基因的序列通过对得自 *Aspergillus niger* 的基因组克隆测序测定。

[0050] 令人惊奇地,我们发现,根据本发明的 OXI01-OXI06 多肽被用于制备面团的工艺中时能改善面团的强度。

[0051] 本发明提供了包含下述基因及其完全 cDNA 序列(分别为 SEQ ID NO :007、SEQ ID NO :008、SEQ ID NO :009、SEQ ID NO :010、SEQ ID NO :011、SEQ ID NO :012,下文称作“SEQ ID NO :007-012”)的多核苷酸序列,所述基因编码 OXI01-OXI06 氧化还原酶(分别包含 SEQ ID NO :001、SEQ ID NO :002、SEQ ID NO :003、SEQ ID NO :004、SEQ ID NO :005、SEQ ID NO :006,下文称作“SEQ ID NO :001-006”)。

[0052] 因此,本发明涉及经分离的多核苷酸,所述多核苷酸包含根据 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 的核苷酸序列或其任何的功能等同物。

[0053] 更具体地,本发明涉及在严格条件下、优选在高度严格条件下能与根据 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 的多核苷酸杂交的经分离的多核苷酸。这类多核苷酸可有利地得自丝状真菌,尤其是来自 *Aspergillus niger*。更特定地,本发明涉及具有根据 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 的核苷酸序列的经分离的多核苷酸。

[0054] 本发明还涉及经分离的多核苷酸,所述多核苷酸编码分别根据 SEQ ID NO :013-018 的多肽或其任何功能等同物的至少一个功能结构域。

[0055] 为了避免任何疑惑:OXI01 对应于核酸序列 SEQ ID NO :001 和 SEQ ID NO :007 和氨基酸序列 SEQ ID NO :013 及其同源物功能等同物;OXI02 对应于 SEQ ID NO :002、SEQ ID NO :008 和 SEQ ID NO :014 及其同源物功能等同物等等,OXI06 对应于 SEQ ID NO :006、SEQ ID NO :012 和 SEQ ID NO :018 及其同源物功能等同物。

[0056] 本文使用的术语“基因”和“重组基因”指可从染色体 DNA 中分离的、包含编码蛋白质(例如 *A. niger* 氧化还原酶)的开放读码框的核酸分子。基因可包含编码序列、非编码序列、内含子和调节序列。此外,基因是指本文定义的经分离的核酸分子。

[0057] 可以使用标准的分子生物学技术和本文提供的序列信息,来分离本发明的核酸分子(如具有 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 的核苷酸序列的核酸分子或其功能等同物)。例如,使用 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 的所有或部分核酸序列作为杂交探针,能够使用标准杂交和克隆技术(例如描述于 Sambrook, J., Fritsh, E. F., and Maniatis, T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd, ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989 中)分离根据本发明的核酸分子。

[0058] 另外,可以使用合成的寡核苷酸引物通过聚合酶链式反应(PCR),来分离包含 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 所有或部分核酸分子,所述引物以 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 中含有的序列信息为基础设计。

[0059] 可以使用 cDNA、mRNA 或者基因组 DNA 作为模板,并使用适当的寡核苷酸引物根据标准的 PCR 扩增技术,来扩增本发明的核酸。这样扩增的核酸可以被克隆进适当的载体中并通过 DNA 序列分析被表征。

[0060] 另外,可以通过标准的合成技术(例如使用自动化 DNA 合成仪)制备下述寡核苷酸,所述寡核苷酸对应于本发明的核苷酸序列或能够与本发明的核苷酸序列杂交。

[0061] 在一个优选的实施方案中,本发明的经分离的核酸分子包含 SEQ ID NO:007-012 中所示核苷酸序列。SEQ ID NO:007-012 的序列对应于 *A. niger* OXI01-OXI06 cDNA 的编码区。该 cDNA 包含编码根据 SEQ ID NO:013-018 的 *A. niger* OXI01-OXI06 多肽的序列。

[0062] 在另一优选的实施方案中,本发明的经分离的核酸分子包含下述核酸分子,所述核酸分子是 SEQ ID NO:001-006 或 SEQ ID NO:007-012 中所示核苷酸序列或这些核苷酸序列功能等同物的互补体。

[0063] 与另一核苷酸序列互补的核酸分子是与所述另一核苷酸序列足够互补,从而其能够与所述另一核苷酸序列杂交形成稳定双链体的核酸分子。

[0064] 本发明的一个方面涉及经分离的核酸分子,所述核酸分子编码本发明的多肽或其功能等同物(如生物活性片段或结构域),以及足够用作杂交探针(以鉴定编码本发明多肽的核酸分子)的核酸分子,和适合用作 PCR 引物(用于扩增或突变核酸分子)的这类核酸分子的片段。

[0065] “经分离的多核苷酸”或“经分离的核酸”是与所述 DNA 或 RNA 来源的天然存在的生物基因组中紧邻的两条编码序列(一个在 5' 端,一个在 3' 端)均不紧邻的 DNA 或 RNA。因此,在一个实施方案中,经分离的核酸包含与编码序列紧邻的部分或所有 5' 非编码(例如启动子)序列。该术语因此包括例如被整合进载体、整合进自主复制的粒或病毒、或整合进原核生物或真核生物的基因组 DNA 中的重组 DNA,或作为不依赖于其它序列的独立分子(例如通过 PCR 或限制性内切酶处理产生的 cDNA 或基因组 DNA 片段)存在的重组 DNA。其还包括编码下述额外多肽的杂交基因的一部分的重组 DNA,所述额外多肽基本不含细胞材料、病毒材料或培养基(通过重组 DNA 技术生产时)或化学前体或其它化学品(化学合成时)。另外,“经分离的核酸片段”是天然不作为片段存在并且在天然状态下不被发现的核酸片段。

[0066] 本文使用的术语“多核苷酸”或“核酸分子”旨在包括 DNA 分子(例如 cDNA 或基因组 DNA)和 RNA 分子(例如 mRNA)和使用核苷酸类似物产生的 DNA 或 RNA 类似物。核酸分子可以是单链的或双链的,但是优选是双链 DNA。可以使用寡核苷酸类似物或衍生物(例如肌苷或硫代磷酸核苷酸)来合成核酸。这类寡核苷酸可被用于例如制备核酸,所述核酸具有改变的碱基配对能力或提高的核酸酶抗性。

[0067] 本发明的另一实施方案提供了经分离的核酸分子,所述核酸分子与 OXI01-OXI06 核酸分子(例如 OXI01-OXI06 核酸分子的编码链)是反义的。还包括在本发明范围内的是本文所述核酸分子的补体链。

[0068] 测序错误 (sequencing errors)

[0069] 本文提供的序列信息不应被狭义地解释为要求包括错误鉴定的碱基。本文公开的特定序列可以容易被用于从丝状真菌(尤其是 *A. niger*)分离整个基因,随后可容易地对所述基因进行进一步序列分析,从而鉴定测序错误。

[0070] 除非另有说明,通过对本文的 DNA 分子测序确定的所有核苷酸序列均使用自动 DNA 测序仪测定,由本文测定的 DNA 分子编码的多肽的所有氨基酸序列是通过翻译如上测定的 DNA 序列来预测的。因此,如本领域所已知的,对通过该自动化途径测定的任何 DNA 序

列而言,本文测定的任何核苷酸序列可含有一些错误。通过自动化测定的核苷酸序列与被测序的 DNA 分子的实际核苷酸序列典型地至少约 90% 同一,更典型地至少约 95% 到至少约 99.9% 同一。可以通过其它途径(包括本领域公知的手动 DNA 测序法)更精确地测定实际序列。又如本领域所已知的,与实际序列相比,被测定的核苷酸序列中的单个插入或删除会引起核苷酸序列翻译中的移码(frame shift),从而由被测定的核苷酸序列编码的预测氨基酸序列会与由被测定的核苷酸序列实际编码的氨基酸序列完全不同(从该插入或删除的位点开始)。

[0071] 本领域技术人员能够鉴定这类被错误鉴定的碱基,并知道如何纠正这类错误。

[0072] 核苷酸片段、探针和引物

[0073] 根据本发明的核酸分子可仅包含 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 所示核酸序列的部分或片段,例如可以用作探针或引物的片段或编码 OXI01-OXI06 蛋白质的部分的片段。通过克隆 OXI01-OXI06 基因和 cDNA 测定的核苷酸序列允许生产探针和引物,所述探针和引物被设计为用于鉴定和 / 或克隆其它 OXI01-OXI06 家族成员,以及来自其它物种的 OXI01-OXI06 同源物。探针 / 引物典型地包含基本上被纯化的寡核苷酸,所述寡核苷酸典型地包含下述核苷酸序列,所述核苷酸序列优选地在高度严格的条件下与 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 所示核苷酸序列或其功能等同物的至少约 12 或 15 个、优选约 18 或 20 个、优选约 22 或 25 个、更优选约 30、35、40、45、50、55、60、65 或 75 个或更多个相邻的核苷酸杂交。

[0074] 以 OXI01-OXI06 核苷酸序列为基础的探针可以被用于检测转录本或基因组 OXI01-OXI06 序列,所述转录本或基因组 OXI01-OXI06 序列编码例如其它生物中的相同或同源蛋白质。在优选的实施方案中,探针还包含与之结合的标签基团,例如所述标签基团可以是放射性同位素、荧光化合物、酶,或酶辅因子。这类探针也可以被用作诊断测试试剂盒的部分,所述试剂盒用于鉴定表达 OXI01-OXI06 蛋白质的细胞。

[0075] 同一性 & 同源性

[0076] 术语“同源性”或“同一性百分比”在本文可互换使用。就本发明的目的而言,其在本文被定义来测定两条氨基酸序列或两条核酸序列的同一性百分比,所述序列就最适比较的目的被排列(例如为了与第二氨基酸或核酸序列最适比对,可以向第一氨基酸或核酸序列的序列中引入缺口)。然后比较相应的氨基酸位置或核苷酸位置上的氨基酸残基或核苷酸。当第一条序列中的一个位置被与第二序列中相应位置上相同的氨基酸残基或核苷酸占据时,则所述分子在该位置上是同一的。两条序列之间的同一性百分比是所述序列共享的同一位置数的函数(即%同一性=同一位置数 / 位置总数(即重叠位置) x 100)。优选两条序列是相同的长度。

[0077] 技术人员应当明白下述事实:可获得若干种不同的计算机程序以测定两条序列之间的同源性。例如,可以使用数学算法完成两个序列之间的序列比较和同一性百分比测定。在一个优选的实施方案中,使用 Needleman and Wunsch(J. Mol. Biol. (48) : 444-453(1970)) 算法,使用 Blossom 62 矩阵或 PAM250 矩阵和 16、14、12、10、8、6 或 4 的缺口权重和 1、2、3、4、5 或 6 的长度权重测定两条氨基酸序列之间的同一性百分比,所述算法已经被整合进 GCG 软件包内的 GAP 程序中(可得自 <http://www.gcg.com>)。技术人员应当知道:这些不同的参数会产生轻微差异的结果,但是使用不同的算法时两条序列的整体同

一性百分比不会被显著改变。

[0078] 还在另一实施方案中,使用 GCG 软件包(可得自 <http://www.gcg.com>) 中的 GAP 程序,使用 NWSgapdna. CMP 矩阵和 40、50、60、70 或 80 的缺口权重和 1、2、3、4、5 或 6 的长度权重测定两条核苷酸序列之间的同一性百分比。在另一实施方案中,使用 E. Meyers and W. Miller 算法(CABIOS, 4:11-17(1989)),使用 PAM120 权重残表、12 的缺口长度罚分和 4 的缺口罚分测定两条氨基酸或核苷酸序列的同一性百分比,所述算法已被整合进 ALIGN 程序(2.0 版)中(可得自 <http://vega.igh.cnrs.fr/bin/align-guess.cgi>)。

[0079] 本发明的核酸和蛋白质序列还可以被用作“查询序列”,针对公开数据库进行搜索,以例如鉴定其它家族成员或相关序列。这类搜索可以使用 Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10 的 NBLAST 和 XBLAST 程序(2.0 版)进行。可以使用 NBLAST 程序(计分=100,字长=20)进行 BLAST 核苷酸搜索,以获得与本发明的 OXI01-OXI06 核酸分子同源的核苷酸序列。可以用 XBLAST 程序(计分=50,字长=3)进行 BLAST 蛋白质搜索,以获得与本发明的 OXI01-OXI06 蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得加缺口的比对用于比较的目的,可以如 Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402 中所述使用 Gapped BLAST。使用 BLAST 和 Gapped BLAST 程序时,可以使用各程序(例如 XBLAST 和 NBLAST) 的默认参数。见 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>。

[0080] 杂交

[0081] 本文使用术语“杂交”旨在描述用于下述杂交和洗涤的条件,典型地,在所述条件下彼此至少约 50%、至少约 40%、至少约 70%、更优选地至少约 80%、进一步更优选地至少约 85% 到 90%、更优选地至少 95% 同源的核苷酸序列保持彼此杂交。

[0082] 这类杂交条件的一个优选的非限制性例子是:于约 45°C 下在 6X 氯化钠/柠檬酸钠(SSC)中杂交,然后于 50°C、优选 55°C、优选 60°C 和进一步更优选 65°C 下,在 1X SSC、0.1% SDS 中洗涤一次或多次。

[0083] 高度严格条件包括例如于 68°C 下在 5x SSC/5x Denhardt's 溶液/1.0% SDS 中杂交并于室温下在 0.2x SSC/0.1% SDS 中洗涤。或者,洗涤可以在 42°C 进行。

[0084] 技术人员应当知道对于严格和高度严格的杂交条件而言应用何种条件。涉及这类条件的其它指示在该领域能够容易地获得,例如在 Sambrook et al., 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, N.Y.; 和 Ausubel et al. (eds.), 1995, Current Protocols in Molecular Biology, (John Wiley & Sons, N.Y.) 中。

[0085] 当然,仅与多聚 A 序列(例如 mRNA 的 3' 末端多聚(A))或互补的 T(或 U) 残基段杂交的多核苷酸不应被包括于与本发明的核酸部分特异杂交的本发明多核苷酸中,因为这类多核苷酸会与含有多聚(A)段或其补体的任何核酸分子(例如尤其是任何双链 cDNA 克隆)杂交。

[0086] 从其它生物获得全长 DNA

[0087] 可以以一种典型的途径,来筛选从其它生物(例如丝状真菌,尤其是来自 *Aspergillus* 的种)构建的 cDNA 文库。

[0088] 例如,可以通过 Northern 印迹针对同源的 OXI 01-OXI 06 多核苷酸筛选 *Aspergillus* 菌株。检测到与根据本发明的多核苷酸同源的转录物后,可以利用本领域技术

人员公知的标准技术从分离自适当菌株的 RNA 构建 cDNA 文库。或者,可以使用能够与根据本发明的 OXI01-OXI06 多核苷酸杂交的探针来筛选总基因组 DNA 文库。

[0089] 可以例如通过进行 PCR 分离同源的基因序列,所述 PCR 使用以本文所述核苷酸序列为基础设计的两个简并寡核苷酸引物池。

[0090] 用于反应的模板可以通过反转录 mRNA 获得的 cDNA,所述 mRNA 从已知或怀疑表达本发明多核苷酸的菌株中制备。可以对 PCR 产物进行亚克隆和测序,以确保被扩增的序列代表了新 OXI01-OXI06 核酸序列的序列或其功能等同物。

[0091] 然后可以通过多种已知方法,使用 PCR 片段来分离全长 cDNA 克隆。例如,被扩增的片段可以被标记,并用于筛选噬菌体或粘粒 cDNA 文库。或者,被标记的片段可以被用于筛选基因组文库。

[0092] 也可以用 PCR 技术来从其它生物中分离全长 cDNA 序列。例如,可以根据标准步骤从合适的细胞或组织来源中分离 RNA。可以使用特异于被扩增片段最 5' 端的寡核苷酸引物,引导第一链合成,针对 RNA 进行反转录反应。

[0093] 然后可以使用标准的末端转移酶反应将得到的 RNA/DNA 杂交体“加尾”(例如用鸟嘌呤),可以用 RNase H 消化所述杂交体,然后(例如用多聚 -C 引物)引物起始第二链合成。因此,被扩增片段上游的 cDNA 序列可以容易被分离。有用的克隆策略的综述,参阅例如上文 Sambrook et al. ;和上文的 Ausubel et al. 。

[0094] 无论同源的 DNA 片段是否编码功能 OXI01-OXI06 蛋白质,其均可通过本领域已知的方法容易被测试。

[0095] 载体

[0096] 本发明的另一方面涉及含有下述核酸的载体,优选表达载体,所述核酸编码 OXI01-OXI06 蛋白质或其功能等同物。本文使用的术语“载体”指能够转运与之连接的另一核酸的核酸分子。一种类型的载体是“质粒”,质粒是指其中可以连接其它 DNA 区段的环状双链 DNA 环。另一种类型的载体是病毒载体,其中其它 DNA 区段可以被连接进病毒基因组中。某些载体在它们被引入的宿主细胞中能够自主复制(例如具有细菌复制起点的细菌载体和附加体哺乳动物载体)。其它载体(例如非附加体哺乳动物载体)在引入宿主细胞时被整合进宿主细胞的基因组中,从而随宿主细胞的基因组一起被复制。另外,某些载体能够指导与它们可操作地连接的基因的表达。这类载体在本文中被称作“表达载体”。一般而言,重组 DNA 技术中使用的表达载体通常是以质粒的形式存在的。术语“质粒”和“载体”在本文中可互换使用,因为质粒是最常用的载体形式。然而,本发明旨在包括这类表达载体的起等同作用的其它形式,如病毒载体(例如复制缺陷反转录病毒、腺病毒和腺伴随病毒)。

[0097] 本发明的重组表达载体以适合核酸在宿主细胞中表达的形式包含本发明的核酸,这意味着重组表达载体含有一个或多个与待表达的核酸序列可操作地连接的调节序列,以要用于表达的宿主细胞为基础选择所述调节序列。在重组表达载体中,“可操作地连接”旨在表示感兴趣的核苷酸序列与调节序列以允许核苷酸序列表达(例如在体外转录/翻译体系中或当载体被引入宿主细胞中时在宿主细胞中)的方式连接。术语“调节序列”旨在包括启动子、增强子和其它表达控制元件(例如多腺苷酸化信号)。这类调节序列描述于例如 Goeddel ;Gene Expression Technology :Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA(1990) 中。调节序列包括在许多类型的宿主细胞中指导核苷酸序列组成型表

达的那些和仅在某种宿主细胞中指导核苷酸序列表达的那些（例如组织特异调节序列）。本领域技术人员应当知道：对表达载体的设计可以以下述因素为基础，如待转化的宿主细胞的选择、期望的蛋白质表达水平等。本发明的表达载体可以被引入宿主细胞中，从而生产由本文所述的核酸编码的蛋白质或肽（例如 OXI01-OXI06 蛋白质，OXI01-OXI06 蛋白质的突变体形式，其任何的片段、变体或功能等同物等）。

[0098] 本发明的重组表达载体可以被设计，以用于 OXI01-OXI06 蛋白质在原核细胞或真核细胞中的表达。例如 OXI01-OXI06 蛋白质可以在细菌细胞如 *E. coli*、昆虫细胞（使用杆状病毒表达载体）、酵母细胞或哺乳动物细胞中表达。合适的宿主细胞在 Goeddel, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, CA (1990) 中进一步讨论。或者，可以例如使用 T7 启动子调节序列和 T7 聚合酶体外转录和翻译重组表达载体。

[0099] 可用于本发明的表达载体包括来自染色体、附加体和病毒的载体，例如来自细菌质粒、噬菌体、酵母附加体、酵母染色体元件、病毒（如杆状病毒、乳多空病毒、痘苗病毒、腺病毒、禽痘病毒、假狂犬病病毒和反转录病毒）的载体和来自其组合的病毒，如来自质粒和噬菌体遗传元件的病毒（如粘粒和噬菌粒）。

[0100] DNA 插入物应与合适的启动子可操作地连接，所述启动子如噬菌体 λ PL 启动子，*E. coli* lac、trp 和 tac 启动子，SV40 早期和晚期启动子和反转录病毒 LTR 的启动子，但不限于这些。其它合适的启动子是技术人员应当知道的。在一个特定的实施方案中，能够在丝状真菌中指导氧化还原酶高水平表达的启动子是优选的。这类启动子是本领域已知的。表达构建体可含有转录起始位点、终止位点和（在被转录的区域中）用于翻译的核糖体结合位点。构建体表达的成熟转录本的编码部分应包含位于起点的翻译起始 AUG 和适当地位于待翻译多肽末端的终止密码子。

[0101] 可以通过常规的转化或转染技术将载体 DNA 引入原核或真核细胞中。本文使用的术语“转化”和“转染”旨在表示用于向宿主细胞中引入外源核酸（例如 DNA）的多种本领域公认的技术，包括磷酸钙或氯化钙共沉淀、DEAE-葡聚糖-介导的转染、转导、感染、脂质转染、阳离子脂质介导的转染或电穿孔。用于转化或转染宿主细胞的合适方法可见于 Sambrook, et al. (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd, ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989), Davis et al., *Basic Methods in Molecular Biology* (1986) 和其它实验室手册中。

[0102] 对于哺乳动物细胞的稳定转染而言，已知取决于使用的表达载体和转染技术，只有非常小的细胞级分可以将外源 DNA 整合进它们的基因组中。为了鉴定并选择这些整合体，通常将编码可选择标记（例如抗性或抗生素）的基因与感兴趣的基因一起引入宿主细胞中。优选的可选择标记包括赋予药物（例如 G418、潮霉素和甲氨喋呤）抗性的基因。编码可选择标记的核酸可以被引入宿主细胞中与编码 OXI01-OXI06 蛋白质的核酸相同的载体上，或可以被引入独立的载体上。可以通过药物选择来鉴定用被引入的核酸稳定转染的细胞（例如，已经整合了可选择标记基因的细胞能够存活，而其它细胞死亡）。

[0103] 蛋白质在原核生物中的表达常在 *E. coli* 中用下述载体完成，所述载体含有指导蛋白质表达的组成型或诱导型启动子。

[0104] 如所指出的，表达载体优选地含有可选择标记。这类标记包括用于真核细胞培

养的二氢叶酸还原酶或新霉素抗性,和用于在 *E. coli* 和其它细菌中培养的四环素或氨基苄西林抗性。合适的宿主细胞的代表性例子包括细菌细胞,如 *E. coli*、*Streptomyces* 和 *Salmonella typhimurium*;真菌细胞,如酵母;昆虫细胞如 *Drosophila S2* 和 *Spodoptera Sf9*;动物细胞如 CHO, COS 和 Bowes melanoma;和植物细胞。用于上述宿主细胞的适当培养基和条件是本领域已知的。

[0105] 载体中优选用于细菌的是可得自 Qiagen 的 pQE70、pQE60 和 pQE-9;可得自 Stratagene 的 pBS 载体、Phagescript 载体、Bluescript 载体、pNH8A、pNH16A、pNH18A、pNH46A 和可得自 Pharmacia 的 ptrc99a、pKK223-3、pKK233-3、pDR540、pRIT5。优选的真核载体为可得自 Stratagene 的 PWLNEO、pSV2CAT、pOG44、pZT1 和 pSG;和可得自 Pharmacia 的 pSVK3、pBPV、pMSG 和 pSVL。其它合适的载体是技术人员显而易见的。

[0106] 用于本发明的已知的细菌启动子包括 *E. coli* lacI 和 lacZ 启动子, T3 和 T7 启动子, gpt 启动子, λ PR、PL 启动子和 trp 启动子, HSV 胸苷激酶启动子, 早期和晚期 SV40 启动子, 反转录 LTR 的启动子如 Rous 肉瘤病毒 ("RSV") 的启动子和金属硫蛋白启动子如小鼠金属硫蛋白 -I 启动子。

[0107] 可以通过向载体中插入增强子序列, 来提高高等真核生物对编码本发明多肽的 DNA 的转录。增强子是 DNA 的顺式作用元件, 通常约 10 到 300bp, 其作用于提高启动子在给定的宿主细胞类型中的转录活性。增强子的例子包括 SV40 增强子 (其位于复制起点下游的 bp 100 到 270)、巨细胞病毒早期启动子增强子、复制起点下游的多瘤增强子和腺病毒增强子。

[0108] 为了将翻译的蛋白质分泌进入内质网腔中、进入壁膜间隙中或进入细胞外环境中, 可以向被表达的多肽中整合进适当的分泌信号。所述信号对多肽可以是同源的或它们可以是异源信号。

[0109] 多肽可以以经修饰的方式被表达, 并可不仅含有分泌信号而且含有额外的异源功能区。因此, 例如额外氨基酸区 (尤其是带电荷的氨基酸) 可被添加至多肽的 N 端, 以促进纯化期间或随后的操作和储存期间在宿主细胞中的稳定性和持久性。还可向多肽添加肽基元, 以便于纯化。

[0110] 根据本发明的多肽

[0111] 本发明提供了经分离的多肽, 所述多肽具有根据 SEQ ID NO:013-018 的氨基酸序列、可通过在适当的宿主中表达 SEQ ID NO:001-077 的多核苷酸获得的氨基酸序列, 以及可以通过在合适的宿主中表达 SEQ IDNO:007-012 的多核苷酸序列获得的氨基酸序列。包含上述多肽的功能等同物的肽或多肽也包含在本发明中。上述多肽集体包含在术语“本发明的多肽”中。

[0112] 术语“肽”和“寡肽”被认为是同义的 (如其通常被认为的那样), 且当上下文需要表示通过肽键耦合的至少两个氨基酸链时, 每个术语可以互换使用。词语“多肽”在本文中使用时表示含有多于七个氨基酸残基的链。所有的寡肽和多肽式或序列在本文中从左到右和从氨基端到羧基端的方向书写。本文使用的单字母氨基酸代码是本领域普遍已知的, 并可见于 Sambrook, et al. (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd, ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989)。

[0113] “分离的”多肽或蛋白质表示被从其天然环境中取出的多肽或蛋白质。例如，就本发明的目的而言，在宿主细胞中表达的重组产生的多肽和蛋白质被认为是分离的，与通过任何合适的技术已基本纯化的天然或重组多肽一样，所述合适的技术例如 Smith and Johnson, Gene 67 :31-40(1988) 中公开的单步骤纯化方法。

[0114] 可以通过公知的方法从重组细胞培养物中回收和纯化根据本发明的 OXI01-OXI06 氧化还原酶，所述方法包括硫酸铵或乙醇沉淀、酸萃取、阴离子或阳离子交换色谱、磷酸纤维素色谱、疏水相互作用色谱、亲和色谱、羟基磷灰石色谱和凝集素色谱。最优选地，使用高效液相色谱 (“HPLC”) 用于纯化。

[0115] 本发明的多肽包括天然纯化的产物、化学合成步骤的产物，和通过重组技术从原核或真核宿主生产的产物，所述宿主包括例如细菌、酵母、高等植物、昆虫和哺乳动物细胞。取决于重组生产步骤中使用的宿主，可以将本发明的多肽糖基化或不糖基化。另外，本发明的多肽也可以包含最初被修饰的残基（在一些情况下由宿主介导的过程产生）。

[0116] 蛋白质片段

[0117] 本发明还包括根据本发明的多肽的生物活性片段。

[0118] 本发明的多肽的生物活性片段包括包含下述氨基酸序列的多肽，所述氨基酸序列与 OXI01-OXI06 蛋白质的氨基酸序列（其包含比全长蛋白质更少的氨基酸，并限制相应的全长蛋白质的至少一种生物活性）足够同一或来自后者（例如 SEQ ID NO :013-018 的氨基酸序列）。典型地，生物活性片段包含具有 OXI01-OXI06 蛋白质的至少一种活性的结构域或基序。优选的是具有葡萄糖氧化酶活性 (E. C. 1. 1. 3. 4) 的片段。

[0119] 本发明的蛋白质的生物活性片段可以是多肽，所述多肽长度为例如 10、25、50、100 或更多个氨基酸。另外，其它生物活性部分（其中蛋白质的其它区域被删除）可以通过重组技术被制备，并针对本发明多肽的天然形式的一种或多种生物活性做出评价。

[0120] 本发明还包括编码 OXI01-OXI06 蛋白质的上述生物活性片段的核酸片段。

[0121] 功能等同物

[0122] 术语“功能等同物”和“功能变体”在本文可互换使用。OXI01-OXI06 DNA 的功能等同物是编码下述多肽的经分离的 DNA 片段，所述多肽显示本文公开的 OXI01-OXI06 DNA A. niger 氧化还原酶的具体功能。根据本发明的 OXI01-OXI06 多肽的功能等同物是显示本文定义的 A. niger 氧化还原酶的至少一种功能的多肽。因此，功能等同物包括生物活性片段。

[0123] 功能蛋白质或多肽等同物可含有 SEQ ID NO :013-018 的仅一个或多个氨基酸的保守取代或非必需氨基酸的取代、插入或删除。因此，非必需氨基酸是 SEQ ID NO :013-018 中能够被改变而基本不改变生物功能的残基。例如，在本发明的 OXI01-OXI06 蛋白质间保守的氨基酸残基被预测为尤其不应进行改变。另外，在根据本发明的 OXI01-OXI06 蛋白质和其它氧化还原酶间保守的氨基酸可能不适合被改变。

[0124] 术语“保守取代”旨在表示下述取代：其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基取代。这些家族是本领域已知的，并包括具有碱性侧链（例如赖氨酸、精氨酸和组氨酸）、酸性侧链（天冬氨酸、谷氨酸）、不带电荷的极性侧链（例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸）、非极性侧链（丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸）、 β -分支侧链（苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸）和芳香族侧

链（例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸）的氨基酸。

[0125] 典型地，功能核酸等同物可含有沉默突变或不改变所编码的多肽生物功能的突变。因此，本发明提供了编码下述 OXI01-OXI06 蛋白质的核酸分子，所述蛋白质含有对于具体生物活性并非必需的氨基酸残基改变。这类 OXI01-OXI06 蛋白质在氨基酸序列上与 SEQ ID NO :013-018 差异，但仍保留至少一种生物活性。因此，本发明还包括包含编码蛋白质的核苷酸序列的经分离的核酸分子，其中所述蛋白质含有与 SEQ ID NO :013 所示氨基酸序列至少约 63%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更同源的基本同源的氨基酸序列。在另一实施方案中，经分离的核酸分子包含编码蛋白质的核苷酸序列，其中所述蛋白质含有与 SEQ ID NO :014-018 所示氨基酸序列至少约 40%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更同源的基本同源的氨基酸序列。

[0126] 例如，涉及如何制造表型沉默的氨基酸取代的指导在 Bowie, J. U. et al., Science 247 :1306-1310 (1990) 中提供，其中作者指出，存在两种途径，用于研究氨基酸序列对改变的耐受。第一种途径依赖于进化过程，其中突变由自然选择接受或拒绝。第二种途径使用基因工程在被克隆的基因的特定位置引入氨基酸改变并选择或筛选，以鉴定保留功能性的序列。如作者所述，这些研究已揭示了蛋白质令人惊奇地对氨基酸取代耐受。作者还指出蛋白质某位置上的何种改变很可能被允许。例如，最深埋 (buried) 的氨基酸残基需要非极性侧链，而表面侧链的很少特征是普遍保守的。其它这类表型沉默取代在上文 Bowie et al 及其中所引用的参考文献中描述。

[0127] 可以如下文所述来制造编码与根据 SEQ ID NO :013-018 的蛋白质同源的 OXI01-OXI06 蛋白质的经分离的核酸分子：向根据 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 的编码核苷酸序列中引入一个或多个核苷酸取代、添加或删除，使得一个或多个氨基酸取代、删除或插入被引入所编码的蛋白质中。这类突变可以通过标准技术引入，如定点诱变和 PCR- 介导的诱变。

[0128] 术语“功能等同物”还包括 *A. niger* OXI01-OXI06 蛋白质的直向同源物。*A. niger* OXI01-OXI06 蛋白质的直向同源物是能够从其它菌株或物种中分离并具有相似或相同生物活性的蛋白质。这类直向同源物可容易地被鉴定，因为含有与 SEQ ID NO :013-018 基本同源的氨基酸序列。

[0129] 本文定义术语“基本同源”是指含有与第二氨基酸或核苷酸序列足够或最少的同一或等同（例如具有相似侧链）的氨基酸或核苷酸的第一氨基酸或核苷酸序列，使得所述第一和第二氨基酸或核苷酸序列具有共同的结构域。例如，含有下述共有结构域的氨基酸或核苷酸序列在本文中被定义为足够同一，所述共有结构域具有约 40%、优选 65%、更优选 70%、进一步更优选 75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的同一性或更多。

[0130] 此外，编码其它 OXI01-OXI06 家族成员的核酸（其因而具有与 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 不同的核苷酸序列）也在本发明的范围内。另外，编码来自不同物种的 OXI01-OXI06 蛋白质的核酸（其因此具有与 SEQ ID NO :001-006 或 SEQ ID NO :007-012 不同的核苷酸序列）在本发明的范围内。

[0131] 可以根据它们与本文公开的 OXI01-OXI06 核酸的同源性，使用本文公开的 cDNA 或其合适的片段作为杂交探针，根据标准的杂交技术，优选地在高度严格的杂交条件下，来分

离对应于本发明的 OXI01-OXI06DNA 的变体（例如天然等位基因变体）或同源物的核酸分子。

[0132] 除了 OXI01-OXI06 序列的天然存在的等位基因变体外，技术人员知道，可以通过突变向 SEQ ID NO:001-006 或 SEQ ID NO:007-012 的核苷酸序列中引入改变，从而导致 OXI01-OXI06 蛋白质的氨基酸序列中的改变，而不显著改变 OXI01-OXI06 蛋白质的功能。

[0133] 在本发明的另一方面，提供了经改进的 OXI01-OXI06 蛋白质。经改进的 OXI01-OXI06 蛋白质是其中至少一种生物活性被改进的蛋白质。这类蛋白质可以如下获得：沿全部或部分 OXI01-OXI06 编码序列随机地引入突变，重组表达得到的突变体并针对生物活性进行筛选。例如，本领域提供了用于测量氧化还原酶活性的标准实验，因而经改进的蛋白质可以容易地被选择。

[0134] 在一个优选的实施方案中，OXI01-OXI06 蛋白质具有根据 SEQ ID NO:013-018 的氨基酸序列。在另一实施方案中，OXI01-OXI06 多肽与根据 SEQ ID NO:013-018 的氨基酸序列基本同源，并保留根据 SEQ ID NO:013-018 的多肽的至少一种生物活性，但是由于如上所述的天然变异或诱变而在氨基酸序列上有差异。

[0135] 在又一个优选的实施方案中，OXI01-OXI06 蛋白质具有由下述经分离的核酸片段编码的氨基酸序列，所述经分离的核酸片段能够与根据 SEQ ID NO:001-006 或 SEQ ID NO:007-012 的核酸优选地在高度严格的杂交条件下杂交。

[0136] 对于包含根据 SEQ ID NO:013 的氨基酸序列的蛋白质而言，与功能酶最接近的同系物是来自 *Aspergillus fumigatus* 的异戊醇氧化酶，该异戊醇氧化酶显示与 SEQ ID 013 62% 的同源性。在一个实施方案中，经分离的核酸分子包含编码蛋白质的核苷酸序列，其中所述蛋白质包含与 SEQ ID NO:013 所示氨基酸序列至少约 63%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更多同源的基本同源的氨基酸序列，并且是包含根据 SEQ ID NO:013 的氨基酸序列的蛋白质的功能等同物。

[0137] 对于包含根 SEQ ID NO:014 的氨基酸序列的蛋白质而言，与功能酶最接近的同源物是来自 *Anthrobacter oxidans* 的 6-羟基烟碱氧化酶，该酶显示与 SEQ ID 014xx% 的同源性。在一个实施方案中，经分离的核酸分子包含编码蛋白质的核苷酸序列，其中所述蛋白质包含与 SEQ ID NO:014 所示氨基酸序列至少约 40%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更多同源的基本同源的氨基酸序列，并且是包含根据 SEQ ID NO:014 的氨基酸序列的蛋白质的功能等同物。

[0138] 对于包含根 SEQ ID NO:015 的氨基酸序列的蛋白质而言，与功能酶最接近的同源物是来自 *Aspergillus parasiticus* 的杂色曲霉素 B 合酶，该酶显示与 SEQ ID 015 31% 的同源性。在一个实施方案中，经分离的核酸分子包含编码蛋白质的核苷酸序列，其中所述蛋白质包含与 SEQ ID NO:015 所示氨基酸序列至少约 40%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更多同源的基本同源的氨基酸序列，并且是包含根据 SEQ ID NO:015 的氨基酸序列的蛋白质的功能等同物。

[0139] 包含根 SEQ ID NO:016 的氨基酸序列的蛋白质显示与任何功能酶无同源性。在一个实施方案中，经分离的核酸分子包含编码蛋白质的核苷酸序列，其中所述蛋白质包含与 SEQ ID NO:016 所示氨基酸序列至少约 40%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更多同源的基本同源的氨基酸序列，并且是包含根据 SEQ ID NO:

016 的氨基酸序列的蛋白质的功能等同物。

[0140] 对于包含根 SEQ ID NO :017 的氨基酸序列的蛋白质而言,与功能酶最接近的同源物是来自 *Arthrobacter oxidans* 的 6- 羟基 -D- 烟碱氧化酶,该酶显示与 SEQ ID 017 < 25% 的同一性。在一个实施方案中,经分离的核酸分子包含编码蛋白质的核苷酸序列,其中所述蛋白质包含与 SEQ ID NO :017 所示氨基酸序列至少约 40%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更多同源的基本同源的氨基酸序列,并且是包含根据 SEQ ID NO :017 的氨基酸序列的蛋白质的功能等同物。

[0141] 包含根 SEQ ID NO :018 的氨基酸序列的蛋白质显示与任何功能酶无同源性。在一个实施方案中,经分离的核酸分子包含编码蛋白质的核苷酸序列,其中所述蛋白质包含与 SEQ ID NO :018 所示氨基酸序列至少约 40%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更多同源的基本同源的氨基酸序列,并且是包含根据 SEQ ID NO :018 的氨基酸序列的蛋白质的功能等同物。

[0142] 因此,OXI01 蛋白质是包含下述氨基酸序列的蛋白质,所述氨基酸序列与 SEQ ID NO :013 所示氨基酸序列至少约 63%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更多同源,并保留根据 SEQ ID NO :013 的多肽的至少一种功能活性。

[0143] 类似地,OXI2-OXI06 蛋白质是包含下述氨基酸序列的蛋白质,所述氨基酸序列分别与 SEQ ID NO :014-018 所示氨基酸序列至少约 40%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更多同源,并保留根据 SEQ ID NO :014-018 的多肽的至少一种功能活性。

[0144] 也可以如下文所述来鉴定根据本发明的蛋白质的功能等同物:例如,针对氧化还原酶活性,筛选本发明蛋白质的突变体(例如截短突变体)的组合文库。在一个实施方案中,通过核酸水平上的组合诱变产生有斑文库(variegated library)。可以通过例如将合成的寡核苷酸混合物酶连接为基因序列来产生变体的有斑文库,从而可能的蛋白质序列的简并集合(degenerate set)可作为个体多肽表达。存在可用于从简并寡核苷酸生产本发明多肽的可能变体文库的多种方法。用于合成简并寡核苷酸的方法是本领域已知的(见例如 Narang(1983) *Tetrahedron* 39:3; Itakura et al. (1984) *Annu. Rev. Biochem.* 53:323; Itakura et al. (1984) *Science* 198:1056; Ike et al. (1983) *Nucleic Acid Res.* 11:477)。

[0145] 另外,本发明多肽的编码序列的片段文库可以被用于产生有斑的多肽群,用于筛选随后的变体选择。例如,可以如下产生编码序列片段的文库:在每个分子仅发生约一次切割的条件下用核酸酶处理感兴趣的编码序列的双链 PCR 片段,变性双链 DNA,将 DNA 复性形成双链 DNA(其可包含来自被不同切割的产物的有义/反义对),通过用 S1 核酸酶处理从再形成的双链体上去除单链部分,并将得到的片段文库连接进表达载体中。通过该方法,可以得到下述表达文库,所述表达文库编码感兴趣的蛋白质的不同大小的 N- 末端和内部片段。

[0146] 本领域已知有若干种技术可用于筛选组合文库(其通过截短的点突变制造)的基因产物,和用于筛选 cDNA 文库以获得具有选定特性的基因产物。用于筛选大基因文库的、适用于高通量分析的、最广泛使用的技术典型地包括:将基因文库克隆进可复制的表达载体中,用得到的载体文库转化合适的细胞,和在下述条件下表达组合基因,所述条件下想要的活性的检测简化编码基因(其产物被检测)的载体的分离。循环总体诱变(Recursive

ensemble mutagenesis, REM), 一种增强文库中功能突变体频率的技术, 可以与筛选实验组合使用以鉴定本发明蛋白质的变体 (Arkin and Yourvan(1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89 :7811-7815 ;Delgrave et al. (1993) Protein Engineering 6(3) :327-331)。

[0147] 除了 SEQ ID NO :1 中所示的 OXI01-OXI06 基因序列外, 本领域技术人员应当知道给定的种群中可存在 DNA 序列多态, 所述多态导致 OXI01-OXI06 蛋白质氨基酸序列中的改变。这类遗传多态性可存在于来自不同种群的细胞中或由于天然等位基因变异而存在于一个种群中。等位基因变体也可包括功能等同物。

[0148] 根据本发明的多核苷酸的片段也可包括不编码功能多肽的多核苷酸。这类多核苷酸可作为 PCR 反应的探针或引物作用。

[0149] 根据本发明的核酸无论是编码功能多肽还是无功能的多肽, 均可被用作杂交探针或聚合酶链式反应 (PCR) 引物。不编码具有 OXI01-OXI06 活性的多肽的本发明核酸分子的用途尤其包括: (1) 从 cDNA 文库分离编码 OXI01-OXI06 蛋白质的基因或其等位基因变体, 所述 cDNA 文库例如来自除 *A. niger* 之外的其它生物; (2) 与中期染色体涂片原位杂交 (例如 FISH) 以提供 OXI01-OXI06 基因的精确染色体定位, 如 Verma et al., *Human Chromosomes :a Manual of Basic Techniques*, Pergamon Press, New York(1988) 所述; (3) Northern 印迹分析, 用于检测 OXI01-OXI06 mRNA 在特定组织中的表达; 和 4) 能够被用作诊断工具来分析给定的生物 (例如组织) 样品中核酸存在的探针和引物, 所述核酸能与 OXI01-OXI06 探针杂交。

[0150] 本发明还包括获得 OXI01-OXI06 基因或 cDNA 功能等同物的方法。这类方法需要获得被标记的含有被分离的核酸的探针, 所述被分离的核酸编码根据 SEQ ID NO :013-018 的序列或其变体的全部或部分; 在允许探针与文库中的核酸片段杂交从而形成核酸双链体的条件下, 用被标记的探针筛选核酸片段文库, 和从任何被标记的双链体中的核酸片段制备全长的基因序列, 以获得与 OXI01-OXI06 基因相关的基因。

[0151] 宿主细胞

[0152] 在另一实施方案中, 本发明包括细胞, 例如含有本发明所包括的核酸的经转化的宿主细胞或重组的宿主细胞。“经转化的细胞”或“重组细胞”是其中 (或其祖先中) 已经借助于重组 DNA 技术引入了本发明核酸的细胞。原核和真核细胞均包括在内, 例如细菌、真菌、酵母等等, 特别优选的是来自丝状真菌 (尤其是 *Aspergillus niger*) 的细胞。

[0153] 可选用调控插入序列表达并以特异的、期望的方式加工基因产物的宿主细胞。蛋白质产物的这类修饰 (例如糖基化) 和加工 (例如切割) 可促进蛋白质发挥最佳功能。

[0154] 多种宿主细胞具有用于翻译前加工和修饰蛋白质和基因产物的特性和特异机制。可选用分子生物学和 / 或微生物学领域技术人员熟悉的适当细胞系或宿主系统, 以确保对所表达的外源蛋白质的想要的和正确的修饰与加工。为此, 可以使用具有下述细胞机制的真核宿主细胞, 所述细胞机制用于适当地加工原始转录本、糖基化和磷酸化基因产物。这类宿主细胞是本领域公知的。

[0155] 宿主细胞还包括但不限于: 哺乳动物细胞系如 CHO、VERO、BHK、HeLa、COS、MDCK、293、3T3、WI38 和脉络丛细胞系。

[0156] 如果想要的话, 可以由稳定转染的细胞系来生产根据本发明的多肽。公众可获得多种适用于稳定转染哺乳动物细胞的载体, 用于构建这类细胞系的方法也是公众已知的,

例如 Ausubel et al. (上文) 中。

[0157] 氧化还原酶在工业过程中的用途

[0158] 本发明还涉及根据本发明的氧化还原酶在选定数量的工业过程中的用途。尽管用这些过程获得了长期的经验,但是根据本发明的氧化还原酶具有超出目前所用酶的大量显著优点。根据特定的应用,这些优点可包括下述方面,如更好的性能、更低的生产成本、更高的底物特异性、更低的抗原性、更少的不想要的副活性、在合适的微生物中生产时更高的产率、更合适的 pH 和温度范围、更好的最终产物味道以及食物级别和犹太教规方面 (kosher aspect)。

[0159] 本发明的氧化还原酶可被用于下述任何应用中,所述应用中期望氧化底物或获得其特定反应产物。例如,根据本发明的氧化还原酶的应用能够与醛、醇、羧酸等一起产生过氧化氢。

[0160] 可以使用根据本发明的新颖氧化还原酶的工业过程之一是烘焙应用。本发明还涉及提供面粉面团的方法(其具有经改进的流变学特性),并涉及从这类面团制造的完成烘焙的或干燥的制品(其具有经改进的结构、食用品质和尺寸特性)。本发明还涉及烘焙预混合物,所述预混合物包含面粉、酶制剂和合适的运载体。本发明导致产生更强的面团,其具有经改进的流变学特性以及具有经改进的品质的最终烘焙制品。

[0161] 对小规模和大规模应用而言,面团的强度均是烘焙的重要方面。结实的面团在面团转运期间具有更大的混合时间、醒发时间和机械振动耐性,而软弱的面团对这些处理更不耐受。具有更好的流变学和操作特性的结实面团来自含有强谷蛋白网状系统的面粉。具有低蛋白质含量或差的谷蛋白品质的面粉导致软弱的面团。

[0162] 面团调节剂(conditioner)是烘焙工业公知的。向面包面团中添加调节剂导致产生经改进的面团可加工性和经改进的面包结构、体积、口味和新鲜度(抗腐性)。非特异性的氧化剂(如碘酸盐、过氧化物、抗坏血酸、溴酸钾和偶氮二酰胺)被用于促进面粉的烘焙性能、获得具有经改进的流变学特性的面团以及获得具有想要的强度和稳定性的面团。

[0163] 已经提出这些调节剂诱导蛋白质之间键的形成,所述键强化谷蛋白从而强化面团。然而,若干种目前可获得的化学氧化剂的使用遇到了消费者的抵制,或不被管理机构允许。

[0164] 酶作为面团调节剂的用途已经被认为是化学调节剂的备选方案。目前大量的酶已经被用作面团和/或面包改进剂,尤其是作用于面团中大量存在的成分的酶。这类酶的例子是淀粉酶、蛋白酶、葡萄糖氧化酶、己糖氧化酶、木聚糖酶和(半)纤维素酶,包括聚戊糖酶(pentosanase)和脂酶、磷脂酶和半乳糖脂酶。

[0165] 烘焙制品从下述面团制备,所述面团通常由碱性成分面粉、水和任选的盐制成。取决于烘焙制品,其它任选的成分为糖、调味剂等。对发酵剂制品而言,在化学发酵系统之后主要使用面包酵母(baker's yeast),所述化学发酵系统如酸(产酸化合物)和碳酸氢盐的组合。为了改进面团的操作特性和/或烘焙制品的最终特性,存在开发加工助剂(aids)的持续努力,所述加工助剂具有改进的特性。待改进的面团特性包括可加工性、气体保留能力等。可以被改进的烘焙制品的特性包括面包体积、面包屑易碎性(crust crispiness)、粉碎结构和柔软性、口味和香味和保质期。目前存在的加工助剂可以被分为两组:化学添加剂和酶。

[0166] 具有改进特性的化学添加剂包括化学氧化剂如抗坏血酸、溴酸盐和偶氮碳酸氢盐 (azodicarbonate), 还原剂如 L- 半胱氨酸和谷胱甘肽, 作为面团调节剂 (如二乙酰酒石酸酯) 发挥作用的乳化剂如单 / 双甘油酯 (DATEM)、硬脂酰乳酸钠 (sodium stearoyl lactylate, SSL) 或硬脂酰乳酸钙 (CSL), 或作为面包防硬剂发挥作用的如单硬脂酸甘油酯 (GMS) 等, 脂肪材料如甘油三酯 (脂肪) 或卵磷脂等等。

[0167] 最近, 存在用酶代替化学添加剂的趋势。酶被认为是更天然的化合物并因此更被消费者接受。合适的酶可选自氧化酶, 由淀粉降解酶、阿拉伯木聚糖和其它半纤维素降解酶、纤维素降解酶、脂肪材料裂解酶和蛋白质降解酶组成的组。

[0168] 本发明还涉及用于制备面团或烘焙制品的方法, 所述方法包括向面团中掺入有效量的本发明的氧化还原酶, 这相对于其中未掺入多肽的面团或烘焙制品而言促进面团或得自面团的烘焙制品的一种或多种特性。

[0169] 短语“掺入面团中”在本文中定义为向面团中、要用于制造面团的任何成分中、和 / 或要制造面团的面团成分的混合物中添加根据本发明的氧化还原酶。换言之, 根据本发明的氧化还原酶可以在面团制备的任何步骤中被添加, 并可以在一个、两个或更多步骤中被添加。根据本发明的氧化还原酶被添加进面团的成分中, 所述成分使用本领域公知的方法被揉捏和烘焙以制造烘焙制品。参阅例如 U. S. 专利 No. 4, 567, 046、EP-A-426, 211、JP-A-60-78529、JP-A-62-111629 和 JP-A-63-258528。

[0170] 术语“有效量”在本文中定义为根据本发明的氧化还原酶的下述量, 所述量足够对面团和 / 或烘焙制品的至少一个感兴趣的特性提供可测量的作用。

[0171] 术语“经改进的特性”在本文中定义为面团和 / 或得自面团的制品 (尤其是烘焙制品) 的任何特性, 所述特性相对于其中未掺入本发明氧化还原酶的面团或产物而言被本发明的氧化还原酶的作用改进。经改进的特性可包括但不限于: 提高的面团强度、提高的面团弹性、提高的面团稳定性、经改进的烘焙制品香味、经改进的烘焙制品抗腐性和经改进的面包屑白度。

[0172] 可以根据以下实施例中所述的本发明的方法, 通过将添加和不添加本发明多肽而制备的面团和 / 或烘焙制品进行比较, 来测定经改进的特性。感觉品质可以使用烘焙工业中明确的流程来评价, 并可包括例如使用一组受过训练的口味测试人员 (a panel of trained taste-testers)。

[0173] 术语“提高的面团强度”在本文中定义为面团的下述特性, 所述面团一般具有更具弹性的特性和 / 或需要更多的劳动输入来用模具成形和造型。

[0174] 术语“提高的面团弹性”在本文中定义为面团的下述特性, 所述面团具有在经受过某些物理张力之后恢复其原始形状的更高趋势。

[0175] 术语“提高的面团稳定性”在本文中定义为面团的下述特性, 所述面团对机械损伤更不敏感, 因此更好地维持其形状和体积。

[0176] 术语“降低的面团粘稠度”在本文中定义为面团的下述特性, 所述面团具有更小的与表面 (例如在面团生产机器中) 粘附的趋势, 并如本领域所已知的, 由熟练的测试烘焙者根据经验评价或通过使用纹理分析仪 (例如 TAXT2) 测量。

[0177] 术语“经改进的面团延展性”在本文中定义为面团的下述特性, 所述面团可以接受提高的张力或拉伸而不破裂。

[0178] 术语“经改进的面团可加工性”在本文中定义为面团的下述特性,所述面团一般更不粘和 / 或更坚硬和 / 或更有弹性。

[0179] 术语“提高的面团醒发抗性”被定义为面团经受延长的醒发时间的能力。

[0180] 术语“提高的烘焙制品的体积”被测量为给定的面包的比体积 (specific volume, 体积 / 重量), 这典型地通过传统的油菜籽替换方法测定。

[0181] 术语“经改进的烘焙制品面包屑结构”在本文中定义为烘焙制品的特性,所述烘焙制品的面包屑中具有更精细和 / 或更薄的细胞壁和 / 或细胞在面包屑中更均一 / 同质的分布,并通常由熟练的测试烘焙者根据经验评价。

[0182] 术语“经改进的烘焙制品柔软性”是“硬度”的反义词,并在本文中定义为烘焙制品的特性,所述烘焙制品更容易被压缩,并且如本领域已知由熟练的测试烘焙者根据经验评价或通过使用纹理分析仪 (例如 TAXT2) 测量。

[0183] 术语“经改进的烘焙制品香味”由受过训练的测试组评价。

[0184] 术语“经改进的烘焙制品抗腐性”在本文中被定义为烘焙制品的特性,所述烘焙制品储存期间具有降低的品质参数 (例如柔软度和 / 或弹性) 衰退速率。

[0185] 术语“面团”在本文中定义为面粉和其它成分的混合物,所述混合物足够坚硬到被揉捏或滚动。面团可以是新鲜的、冷冻的、预先暴露的 (pre-bared) 或预先烘焙的。冷冻面团的制备由 KuIp and Lorenz 在 Frozen and Refrigerated Doughs and Batters 中描述。

[0186] 术语“烘焙制品”在本文中定义为从面团制备的、具有软或脆特征的任何制品。可有利地由本发明生产的烘焙制品 (无论是白色、浅色或深色类型) 的例子为面包 (尤其是白面包、全麦面包或裸麦面包), 典型地以棍或卷 (loaves or rolls) 的形式,法棍面包,意大利面,皮塔 (pita) 面包,玉米饼 (tortillas), 墨西哥玉米卷,蛋糕,煎饼,饼干,曲奇,馅饼皮 (pie crust), 馒头和脆面包 (crisp bread) 等等。

[0187] 本发明的氧化还原酶和 / 或本发明方法中要使用的其它酶可以是适用于所述用途的任何形式,例如干粉、凝聚的粉末、颗粒 (尤其是无尘颗粒)、液体 (尤其是经稳定的液体) 或受保护的酶 (如 W001/11974 和 W002/26044 中所述) 的形式。可以通过常规方法制备颗粒和凝聚的粉末,例如通过将根据本发明的氧化还原酶喷雾在流动床颗粒剂上的运载体上。运载体可由颗粒核心组成,所述颗粒核心具有合适的颗粒大小。运载体可以是可溶的或不溶的,例如盐 (例如 NaCl 或硫酸钠)、糖 (例如蔗糖或乳糖)、糖醇 (例如山梨糖醇)、淀粉、稻、玉米粒或大豆。根据本发明的氧化还原酶和 / 或其它酶可以含在缓释的配方中。用于制备缓释配方的方法是本领域公知的。添加营养学可接受的稳定剂 (如糖、糖醇或其它多元醇和 / 或乳酸或根据已知方法的其它有机酸) 可例如对液体酶制剂加以稳定。

[0188] 根据本发明的氧化还原酶也可以被掺入包含酵母的组合物中,如 EP-A-0619947、EP-A-0659344 和 W002/49441 中公开的组合物。

[0189] 对于包含在面粉的预先混合物中而言,根据本发明的多肽是干燥制品 (例如无尘颗粒) 是有利的,而对于与液体一起被包含而言,液体形式是有利的。

[0190] 也可以向面团中掺入一种或多种其它酶。所述其它酶可以是任何来源,包括哺乳动物和植物来源,优选地为微生物 (细菌、酵母或真菌) 来源,并可通过本领域常用技术获得。

[0191] 在一个优选的实施方案中,其它酶可以是淀粉酶如 α -淀粉酶 (适用于提供可被

酵母发酵的糖并延缓腐败)或 β -淀粉酶,环糊精葡萄糖转位酶,肽酶尤其是外肽酶(适用于增强香味)、转谷氨酰胺酶,脂酶/磷脂酶/半乳糖脂酶(适用于修饰面团或面团组分中存在的脂解化合物),氧化还原酶,纤维素酶,半纤维素酶,尤其是戊聚糖酶如木聚糖酶(适用于戊聚糖的部分水解,这提高面团的延展性),蛋白酶(适用于削弱谷蛋白,尤其是使用硬小麦粉时),蛋白质二硫化物异构酶,例如WO 95/00636中公开的蛋白质二硫化物异构酶,糖基转移酶,过氧化物酶(适用于改进面团的稠度),漆酶,儿茶酚氧化酶或其它氧化酶,例如葡萄糖氧化酶、己糖氧化酶、醛糖氧化酶、吡喃糖氧化酶、脂肪氧化酶或L-氨基酸氧化酶(适用于改进面团的稠度)。

[0192] 当根据本发明的方法要添加一种或多种其它酶添加剂时,这些添加剂可以单独地或与根据本发明的多肽一起,任选地作为面包改进和/或面团改进组合物的组分被添加。其它酶活性可以是上述的任何酶,并可以根据已确立的烘焙实践确定剂量。

[0193] 本发明还涉及用于制备烘焙制品的方法,包括烘焙通过本发明方法获得的面团,以生产烘焙制品。烘焙面团以生产烘焙制品可以通过本领域公知的方法进行。

[0194] 本发明还涉及分别通过本发明的方法生产的面团和烘焙制品。

[0195] 本发明还涉及用于面团和/或由面团制成的烘焙制品的预混合物(例如为面粉组合物形式),其中所述预混合物包含本发明的多肽。术语“预混合物”在本文定义为以其常规含义理解,即作为烘焙剂的混合物,一般包含不仅可用于工业面包烘焙剂中的面粉,一般包含不仅可用于工业面包烘焙工厂/设施、而且也可用于零售面包房的面粉。可以通过将本发明的多肽或包含多肽的本发明的面包改进和/或面团改进组合物与合适的运载体(如面粉、淀粉、糖或盐)混合来制备预混合物。预混合物可含有其它面团改进和/或面包改进添加剂,例如包括上述酶的任何添加剂。

[0196] 本发明还涉及颗粒或凝聚粉末形式的烘焙添加剂,所述添加剂包含本发明的多肽。烘焙添加剂优选地具有狭窄的颗粒大小分布,多于95%(按重量计)的颗粒在25到500 μ m的范围内。

[0197] 在面团和面包制造中,本发明可与前文定义的加工助剂组合使用,所述加工助剂如化学加工助剂,如氧化剂(例如抗坏血酸)、还原剂(例如L-半胱氨酸)、磷脂酶和/或其它酶,如多糖修饰酶(例如 α -淀粉酶、半纤维素酶、分支酶等)和/或蛋白质修饰酶(内切蛋白酶、外切蛋白酶、分支酶等)。

[0198] 还发现OXI01蛋白质能够在面团中产生过氧化氢。其令人惊奇地使用至少9,12,13-三羟基-10-十八碳烯酸作为底物,从而生产氧代-二羟基-10-十八碳烯酸。该底物存在于例如面粉中,并因此使得OXI01蛋白质特别适用于烘焙。

[0199] 这类酶在烘焙中的用途之前是未知的。因此,本发明还包括下述酶在烘焙中的用途,所述酶催化羟基脂肪酸(例如单羟基脂肪酸或二羟基脂肪酸或三羟基脂肪酸如9,12,13-三羟基-10-十八碳烯酸)的氧化从而产生过氧化氢。合适的酶类型的一个例子是醇氧化酶,例如仲醇氧化酶或异戊醇氧化酶。

[0200] 在一个优选的实施方案中,能够氧化羟基脂肪酸的酶与脂肪氧合酶和/或过氧化物酶组合。

[0201] 本发明还涉及适用于烘焙的组合物,包括能够氧化羟基脂肪酸的酶和脂氧合酶和/或过氧化物酶。优选地,能够氧化羟基脂肪酸的该酶能够氧化9,12,13-三羟基-10-十八

碳烯酸。更优选地,能够氧化羟基脂肪酸的该酶为 OXI01 蛋白质,进一步更优选为包含根据 SEQ ID NO :013 的氨基酸序列的蛋白质。

[0202] 根据本发明的氧化还原酶的另一用途是乳制品应用领域内的。

[0203] 对乳的热处理总是伴随着一些程度的麦拉德反应 (Maillard reaction), 导致被处理的乳发生轻微的褐色。尽管在一些情况下这可以是想要的 (例如在牛油糖 (butterscotch confection) 或焦糖中), 但是变褐通常是不想要的。麦拉德反应是还原乳中存在的糖 (特别是乳糖、葡萄糖和乳糖) 与乳蛋白质 (如酪蛋白或乳清蛋白) 中存在的游离氨基反应的结果。

[0204] 根据本发明的氧化还原酶 OXI01-06 可用于在提高的温度下降低乳、乳衍生制品或含有这类乳衍生 (乳) 制品的食物中的麦拉德反应。

[0205] 这类处理的一个例子是巴氏消毒乳, 以提高其保质期稳定性。在低温长时间 (LTLP) 巴氏消毒 (也称作大桶 (vat) 巴氏消毒) 中, 典型地将乳在 62.80°C 保持不少于 30 分钟。在连续的过程中, 使用高温短时间 (HTST) 巴氏消毒, 其中乳在不低于 71.70°C 的温度下保持最少 15 秒 (或在更高温度下更短时间段的等同条件)。更最近开发的是超高温处理 (UHT) 巴氏消毒, 其中乳被加热至至少 135°C 保持最少 1 秒。UHT 处理特别需要、LTLP 和 HTST 处理也以较小的程度需要非常严格的温度和过程控制。

[0206] 使用根据本发明的氧化还原酶的合适的应用的一个例子是涂在批萨上面的乳酪。在许多情况下, 在批萨馅料中使用莫扎里拉 (Mozzarella) 型乳酪。在该领域中, 凝乳 (pasta fileta) 是指莫扎里拉。许多批萨制造者在 > 260°C 的温度下烘焙批萨。在这些高温下, 乳酪成为褐色的倾向极度成为摩苏里拉工业的具体担心, 因为摩苏里拉制造者必须使用在这些高温下烘烤时不会产生黑色水泡和棕色区域的乳酪。变褐色的效应典型地由乳糖和特别是半乳糖的残余量产生。本领域已知半乳糖和被烘焙的乳酪的颜色水平之间存在强的相关系数, 并且文献中提到了降低莫扎里拉中半乳糖和乳糖水平的许多尝试。这些是最难以操作的和 / 或可提高成本或降低产率。

[0207] 在热处理之前使用根据本发明的氧化还原酶减少麦拉德反应, 提供了在提高的温度下处理时控制乳变为褐色的有效途径。根据本发明的氧化还原酶优选在乳处理的早期被添加, 从而允许酶有最大的时间来氧化还原糖。因为该酶依赖于氧的可用性, 所以早期添加是优选的, 从而允许在乳加工期间进入氧, 并因此使得还原糖浓度水平尽可能高的减少。根据本发明的氧化还原酶具有广泛的底物特异性, 允许大范围还原糖的氧化。对于在乳制品或含乳食物中的乳制品应用而言, 根据本发明的氧化还原酶能够有效地氧化乳糖、葡萄糖和半乳糖。

[0208] 酶可以与更多的固体食物 (例如乳酪) 以若干种方式接触。可以通过在制造工艺中的一些阶段添加酶 (例如添加至乳酪乳中) 而将乳酪与酶在乳酪制造工艺中接触, 导致酶被掺入乳酪基质中。存在氧时酶会开始有活性; 这在一些程度上可以在乳酪自身中进行, 但是在乳酪加工如切割或磨碎 (这导致暴露于空气的乳酪表面和氧暴露的显著增加) 期间和 / 或之后最为有效。或者, 可以在加热之前将酶喷雾在含乳酪食品上, 以这种方式防止麦拉德反应最有效发生的表面上的麦拉德反应。在该情况下酶可以在溶液或分散系中被提供, 并被喷雾在食物表面上。溶液 / 分散系可以包含用量为 1-50 单位 OXI01-OXI06/ml 的酶。或者, 可以添加干燥形式 (如粉末) 的酶。

[0209] 干燥形式或液体形式的酶可以单独或与其它添加剂组合添加。

[0210] 令人惊奇地,已经发现,使用本发明的氧化还原酶也能够降低乳中的需氧微生物的生长,从而有助于新鲜乳的保存。在这类情况下,氧化还原酶可以被用作乳制品应用中(例如在乳、乳衍生制品和含这类制品的食物中)的抗微生物剂。

[0211] 使用根据本发明的氧化还原酶的一个额外优点是过氧化物的形成。已知这类过氧化物能与蛋白质反应,导致蛋白质交联(参阅例如 J. A. Gerrard, *Trends in Food Science & technology* (2002), 13, 391-399)。然而,交联的程度取决于产生的过氧化氢的量。令人惊奇地,根据本发明的氧化还原酶能够大量交联乳中的蛋白质。交联的程度还取决于底物的预处理、氧化还原能得到的氧量等等。蛋白质的交联具有下述优点:包含交联的蛋白质的制品具有被改变的构造特性,例如从这类交联蛋白质形成的凝胶的存水能力。

实施例

[0212] 实施例 1

[0213] 流变学测试

[0214] 粉质图 (farinograph) 和伸展图 (extensograph) 被全世界的烘焙者用来评价面团的流变学和技术特性。

[0215] 可以通过根据 International Association of Cereal Chemistry (ICC) 和 the American Association of Cereal Chemistry (AACC) 的标准方法,来测量氧化还原酶对面团的流变学特性的影响,所述标准方法包括快速黏度分析仪 (Rapid Visco Analyser)、粉质仪方法 (AACC 54-2, ICC 115) 和拉伸仪 (AACC 54-10, ICC 114)。

[0216] 事实上,用伸展图方法来测量面团的相对强度。结实的面团显示比软弱的面团更高的和(在一些情况下)更长的伸展图曲线。AACC 方法 54-10 以以下的方式定义了伸展图:“伸展图记录测试的一块面团的负荷-伸展曲线,直至其断裂。负荷-伸展曲线或伸展图的特征被用于评价面粉的一般品质机器对促进剂 (improving agent) 的反应”。

[0217] 粉质图方法测定具体面粉的水摄入和得到的面团的混合耐性。更好的烘焙面粉和面团会显示更高的粉质图值。如果具体的面粉显示相对高的水摄入,并且得到的面团的混合耐性良好,则粉质图曲线在全部时间显示保留大部分(如果不是所有的的话)初始高度。这类面团的加工性和烘焙品质可能是极好的。AACC 方法 54-12 定义粉质图如下:“粉质图测量并记录面团对混合的抗性。其被用于评价面粉的吸收和测定面团在混合时的稳定性和其它特征”。

[0218] 实施例 2

[0219] 测量面团的游离巯基含量

[0220] 可以通过测量面团中游离巯基的含量来研究氧化还原酶对巯基交联形成的作用。所述方法描述于 *Cereal Chemistry*, 1983, 70, 22-26 中。该方法以下述原则为基础: 5, 5' - 二巯基 - 二 (2- 硝基苯甲酸) (DTNB) 与面团中的巯基反应形成高度有色的 2- 硝基 - 5- 巯基 - 苯甲酸阴离子, 在 412nm 处用分光光度计对其加以测量。

[0221] 实施例 3

[0222] 迷你巴塔德 (Mini-batard) 烘焙测试

[0223] 针对谷蛋白强化使用迷你巴塔德烘焙测试。为了检测酶对谷蛋白强化的作用,省

略化学氧化剂的添加。所有的测试一式两份进行。

[0224] 配方

成分	
Kolibi 粉 (Meneba)	180 g
Ibis 粉 (Meneba)	20 g
新鲜酵母 (Koningsgist)	4.6 g
水 59%	118 g
盐 2%	4 g
真菌淀粉酶 Bakezyme P500	3 ppm
木聚糖酶 Bakezyme HSP6000	5 ppm

[0226] 工艺

工艺步骤	
混合	旋转混合仪, 6分 15秒
Scaling	2 x 150 g
第一次醒发	25 分钟, 室温
模塑	Bertrand 棒状制模机调节 16
最终醒发	90 分钟, 32°C, 85% RH
烘焙	240/235°C 下 20 分钟, 0.2l 蒸汽

[0228] 针对面团的稳定性测量高度 / 宽度比。烘焙炉膛面包时, 当不存在氧化剂时面团是不稳定的并变成又扁又宽。相同的特征也出现在最终的面包中。促进面团稳定性的酶的添加导致更高的高度 / 宽度比。

[0229] 在加工期间, 由烘焙者评价面团品质。用尺子测量高度 / 宽度比。结果用 ANOVA, Statgraphics plus 5.1 进行统计学评价。

[0230] 实施例 3.1

[0231] 在迷你巴塔德中测试具有根据 SEQ ID NO :013、014、015、016、017 和 018 的氨基酸序列的氧化还原酶。所有的测试一式两份进行。所有的酶作为超滤浓缩物被递送被在每 kg 面粉 5mg 总蛋白质下测试。阴性对照是不添加氧化还原酶的面团。使用抗坏血酸 (68mm) 作为参考。

[0232] 结果 :

[0233]

添加	高度 / 宽度比
无氧化还原酶	0.55a*
SEQ ID NO :013	0.65c
SEQ ID NO :014	0.59b
SEQ ID NO :015	0.59b

SEQ ID NO :016	0.59b
SEQ ID NO :017	0.60b
SEQ ID NO :018	0.61b
抗坏血酸	0.66c

[0234] * 带有不同字母的结果是在 90.0% 置信水平上统计学显著差异的。用于在均值间鉴别的方法是 Fisher' s 最小显著差数 (LSD) 程序。

[0235] 清楚地看到含有根据本发明的氧化还原酶的面包显示与不含这些酶的面包相比更好的高度 / 宽度比。

[0236] 实施例 3.2

[0237] 在迷你巴塔德中测试包含根据 SEQ ID NO :013 的氨基酸序列的酶对高度 / 宽度比的剂量应答。测试了三种剂量 :1、2 和 3mg 总蛋白质 /kg 面粉。阴性对照是不添加氧化还原酶的面团。使用抗坏血酸 (68mm) 作为参考。测试一式两份进行。

[0238] 结果 :

[0239]

SEQ ID NO: 013 剂量 (mg 总蛋白质/kg 面粉)	高度/宽度比
0	0.63 a*
1	0.68 b
2	0.70 bc
3	0.72 c
抗坏血酸剂量(mg/kg)	
68	0.72 c

[0240] * 带有不同字母的结果是在 90.0% 置信水平上统计学显著差异的。用于在均值间鉴别的方法是 Fisher' s 最小显著差数 (LSD) 程序。

[0241] 发现根据本发明的氧化还原酶在烘焙的迷你巴塔德的高度 / 宽度比中显示良好的剂量应答。与实施例 3.1 的结果相比,该测试中高度 / 宽度比的绝对值更高。这与下述事实相关 :实施例 3.1 的测试用来自 2005 年收获的面粉完成,而实施例 3.2 用来自 2006 年收获的面粉完成。

[0001]

序列表

- <110> 帝斯曼知识产权资产管理有限公司
- <120> 新颖的氧化还原酶及其用途
- <130> 21803WO
- <160> 018
- <170> XML to WIPO ST.25 Converter - <http://www.biomax.de/>
- <210> 001
- <211> 4877
- <212> DNA
- <213> *Aspergillus niger*

<400> 001						
cacgacgggc	agagatccgc	gacgatggtg	gtcatccttt	gacagaacag	atgcgactac	60
tcaagtatat	ttattttata	gtggaactaa	cttacttccc	acaagaattc	ggcaccaggg	120
gaattatact	ttcagagtgc	ccttagcccg	tatggctgcc	gactgggcag	attcgtgcat	180
ggcttggaa	ttggatccat	ggcgcagata	acataatatt	agggagattg	ggtgcccttcg	240
tccatccaat	tcttgggtgc	tccggctacc	cgacggacaa	atctcgcaaa	agatagtgga	300
gactgtttgc	ccagttggcc	agggcaattg	gacaaagctt	tccccaatag	gcagacgtcg	360
ccggggaaca	gagteccagg	gtatgaataa	tcaaccctta	ctactggaat	cctgggtggcg	420
cttagcgtgc	agcagtgatg	gcactcgcca	cgaggggaac	aggggtcggc	ttcatcctta	480
atcatttcta	gaatgcgacc	aggatcctca	cctgcccgtg	ctccaattat	tggaatttct	540
gcagccggca	ctgaagataa	tcaaatgacc	gttatggctc	tcccacttga	tcagatctta	600
cccatgccct	acgggggatg	gtagagagat	gatcccttgc	tctaagctca	ccatgcccag	660
cgaccggtag	gggaccctca	cgtctgtttg	aattgatggt	gggtcattgt	caaaacttga	720
gagaaaaaat	tcttcggcca	acttcaagcc	acattccaga	gttgagagac	gtcgcagccg	780
acacactcag	gaacaaacct	ttggtgttct	ggtcggagag	agttacgtac	accagcaggg	840
gggaggggag	gcagatttga	attaaaaata	gcggcactag	agacacgaga	aatgtcagcg	900
acaagtcttt	ctatctcaga	ccatagagga	ctcgttagca	tgaccggaag	caaaccgaag	960
gagtcagtcg	gcagcgtgtg	atggatttgg	caccgtctgt	tcgtcgaatc	cccggaacat	1020
ccgcgcgggt	actcattttt	agacggacca	tcggccacct	gccaataaaa	cggttagcac	1080
agctccactt	cgctccggttc	cagtgctcgc	cgaaaacct	aatctcgccc	ctggaggtt	1140
gcattgggtgc	attctgateg	aataccacgc	ctcatagcca	ctctagcgag	cggggcccga	1200
aattaccctgg	aggaaagtgc	actgtgcca	cgcccaactg	gaagtcgttc	tccgatcgtg	1260
tgtgcttga	cgataaccg	gcccctgtgt	cgccagata	attccctaaa	tccatccaca	1320
ccatctgcct	cgccgactcg	gccagttcct	ggccatcgct	ctagtatctc	tgccacaccc	1380
agcgtccggg	taatccggcg	tggtagaatt	atccaccgt	tgctcccgca	ctttacgcac	1440
ttggggaaca	tgccgatga	tggtcaata	gcttctctc	gatcgtgaga	tacggctgct	1500
gtatacaatt	gcataaaag	tacttgtccc	tccgcaggga	tcgtcacttt	attcactcaa	1560
tccagtcact	tcttttcttt	ccatcccctc	cgctctcct	tagctttaca	ggatgaagge	1620
ttccttggct	tttgcaecat	ctgtcgtcgc	tctcgcctcc	aaggccgctg	cttctagcga	1680
ctgccactgc	ctgcccggcg	atagctgtcg	gcccctgacc	tccagctggg	actccctcaa	1740
caacctgtgt	ggcggctgct	tggttgccac	tgttcccatt	ggtactcctt	gccatgacct	1800
taactacaat	ggcggcggag	gcacgaacct	gcagatgac	tggtactacc	cgcagactca	1860
gtaaggcacc	ccctcctcca	cttcccacat	ttaaaccatg	ctgacgtcag	tcaatctcag	1920
cttggctctc	tcttcatctg	ttatgcaacc	gtactttgca	aaccagagct	gtgatccttt	1980
ccagcccagat	tcccggccct	gcccgtttgg	caactacgtg	agctacggcg	tcaacgtctc	2040
cacgaccgat	gatgttgggt	ctgcccga	gttcccga	gagaacaaca	gatgctcgt	2100
gatcagggaac	accggtcatg	agtaaatttc	atttttccc	ccctctgaat	catgtagatt	2160
aggatgctaa	tccatctctc	agctaccctg	gcccgtccac	cggtgctggt	gccctggcca	2220
tctggactca	ctacctgaac	gacgtcga	tcacagagtg	gtcggattcc	acctacggcg	2280
gttcggctgt	caagctgggc	agtgtgtca	cgggctacaa	tgtgctcgat	gtactcacg	2340
gaaagggaat	tgttgtcgtc	ggcggcgaat	gccctactgt	cgccctcgct	ggtggatata	2400
ccatggggcg	ggctcactcc	gcccgtgaca	ctgcccggg	tctgggtgct	gaccagacc	2460
tgtccttcga	ggttgtcacc	gcttcggcgc	aggctacac	ggcctcccgg	accaacaaca	2520
ccgatctgta	ctgggcccctc	agtgtgtggt	gtgcccgtaa	cttcgggtgt	gtcaccctctc	2580
tcaccgtcaa	ggcccattcc	gatgccacca	tctccgggtc	tgccgtcgaa	ttcaccatcg	2640
ccaacatcac	ctccgatctc	ttctacgagg	ctgtggagcg	cttccacacc	ttgctgcccg	2700
ccatggttga	tgccggcacc	accgtcatct	atgagatgac	caaccaggte	ttctcatca	2760
accctctgac	cgcttacaac	aagaccaccg	ctgaggtcaa	gacctcttgg	tctcccctcc	2820
tctctgctct	gaccgacctg	ggcatcgagt	acaccgtcgc	ttacaccag	tactcctctt	2880
actacgacca	ctacgagaag	tacatgggac	ccctccccta	cggaacctc	gaggtcggcc	2940
agtacaacta	cgccggccgc	ctcctccccc	gtgacacct	tacctcgaac	gccgccgatc	3000
tcgtctccgt	ctcccgcaac	atcacctccg	acggtctcat	cgccgtcgge	gtcggectga	3060
acgtcaccaa	ctccaaacgac	accgccaacg	ctgtcttcca	gcccgtggcg	aacgccggcg	3120
tgaccatgca	gttcgggtcc	acctggaacg	agactgcccc	ttggctccgag	atggctgccg	3180
accagctgag	caatgcccac	gactacatc	cccagttcga	ggccgtgacc	cctggtctcg	3240
ggccctacga	gaacgagggc	agcttccgtc	agcagaactg	gcagaaggaa	ttcttcggcg	3300
ataactacgc	ccagctctgc	gaggtcaagg	agaagtatga	tcccaccat	gtcttctacg	3360

[0002]

```

tcaccaaggg  tgcggtagc  gagtactggt  ctgtggccga  gtcgggtcgc  atgtgcaaga  3420
cccagcaggc  gtgcgctgct  gtttgaaaaa  aaaaatctgt  aacatacccc  gtacgtaatg  3480
tttatatgtg  gttgtttcct  gtacatacag  tttcgagcta  gcgctgttgt  atagacgata  3540
gattaccgct  tcatagact  aataatgtct  tggtttttct  tacgtgattc  ataatttatt  3600
ctctcagtaa  acaaaaatac  ccttaatggt  attctcactg  agtgaagacc  ataataaggt  3660
agtctcttgt  cttttaataa  ggtcattagg  taataatagg  cggtatttca  tgctcaccag  3720
taacgtcact  ccaggcagag  agagcatcgg  aatataattc  cgtcatgctt  ccaatcaaa  3780
tacatgagcc  aactagtaga  attcgagtga  aacaagacta  gaagaatgaa  gatagagaag  3840
atatgggaag  aaagaagac  agatccgaag  gtgcaatac  taccattagg  ataagata  3900
tatatttctg  ccggagatct  caattagccc  tcttgagtac  tagttaagta  ctactactac  3960
cactaccaca  actactactc  caatctaact  acatatacatt  atatgtgaca  gcttaccggt  4020
agctaagtgt  tggaaattct  cacaaaaaga  aataagggtg  gatgttgtga  ttgtggggag  4080
ggagttagat  ggagaattga  tggcttatgt  ttggaacagg  agaccctgtc  ggtatgcaag  4140
gttggtgata  ctgtcattct  tgtgcctgac  aggttgaggt  ccgaggggtg  tgaggatgaa  4200
gagacaagta  tgggtggcat  tgacatgatt  catcagatgg  aatgggatat  tcagtgagga  4260
taaagaaaa  ggtgtaacta  gtaccctggt  ttgagattgt  ggtaatgggt  aggagtctg  4320
ctgtgttctc  gaattgacaa  tgtatcgtgt  aaaaactcat  gtacgctgat  gattaagttt  4380
ttgcttgatt  tgatctctat  acccaattta  thtagtttta  cggatgcttc  tacataactg  4440
aggccaatc  tagtctattt  atctggtttc  gtttagccca  cggagcagtg  aggggaagga  4500
gaggctggtt  gaggggcatc  agtगतatga  tctcttttca  attgagagct  ataataaagt  4560
gaccttgtgt  tttctcctac  ttggccctat  aatatactca  cagaaccgga  tatgtatcgt  4620
cttccgttta  tggttggcat  cggagtgtat  ctgtagtcca  cgaccgacag  agtctaagac  4680
atacatggtt  cagacagagt  gtgtaacta  cacttgtagg  tattgttctc  tcaaatgtac  4740
gaacgtctca  cccgttagca  tccgcagca  tactcgacga  ggcgtgtctc  agacaccatc  4800
tagtcaagat  gtgacttgag  gccttacttc  gaggatgcgc  caacggagcg  atccagtgat  4860
tgactgaagt  cacttcc
    
```

<210> 002
 <211> 2852
 <212> DNA
 <213> *Aspergillus niger*

```

<400> 002
gtcttgaaca  ggcggagtc  gccctgcaat  gcaggcagcg  gtagttgcaa  tatccaggac  60
aattctcccc  tcttatcacg  ccgatcggga  agaagogaag  cctcctatag  cccaggcaga  120
aacaggagtt  ctgcagccat  tgaaaatttc  tactcccaca  aaggagagcc  ttggcagcga  180
aagcaaggtt  tgcaggctt  ccttcgtgct  ccgaacatcc  tcggcatcca  attgacatca  240
acagactgca  ggggttctgg  tttctgaacg  gcaaccggcc  gattctttta  ataagtgtca  300
acgtgaatag  attgaccctg  ctccacccca  gagtctattc  gggcccactc  gtaagcccta  360
gagagagtta  gtctctcag  catccagtea  tcccgcgatc  cccgatgctg  cctcgaccca  420
catattaccc  tcacgtactc  aattgaacac  ggagcagatt  ggaccggatg  gaccgaccag  480
tccccaaagc  gagegcgat  ggcccgcgag  actgcacagg  gaccgcacgc  ggcctcgtt  540
gggtgctgat  aacttctgat  cggaaaaccg  caacagagcg  atcgggtgga  gctgcacact  600
gggtatcata  tgacgcttgt  ctactttgc  agagtaactg  caaagtaaga  ttagtgcgct  660
ccgtaatctc  gcatggcga  ggaatgctag  aaataaata  ggtgcccaca  ttgcccgggtc  720
aggctcagtc  catctgacaa  ggattccccg  ggccctccga  cgtgcagcag  aaggcggtc  780
gcgtggccag  tcatcttgcc  agattcctt  ttctttatt  ttgcttttg  cattgttctt  840
cttttattcc  caccgcatct  cattgccgat  cgggaattct  ctgcccgc  atgtttcgac  900
tcaagatgca  ggtgctcacg  gccatcgcgg  cctgggcatt  cggcacggtc  tcgcagcaaa  960
tccctcgctc  ctccagctgg  gaaagtggac  tccagaccct  ctccggtagg  ctttccaata  1020
    
```

```

cctcccagat  ctattatccg  ggctccagtg  gattcacaaa  tgcccaccag  cgggtggtccg  1080
tcctggatga  gcctgaggtt  aatgttctg  tggctccctg  caccgaaaat  gatgtgcceg  1140
aaatgtatg  tcaaacctac  acttgattga  attgtttctt  ccccttccat  ccccccctcc  1200
cttggaccat  agatgtaatg  tgacttaatt  ggtcgcata  tgatcctgca  ggtgaaattt  1260
gccaatcaga  aggatgtccc  ctctctaacc  tacaatgggt  tgccaggtgc  cctcatctct  1320
ctgggagaaa  tgaccatagg  tattgtctat  tacatgggcc  agttgagtag  tgtcagggtc  1380
gcagctgacg  gcaagactgc  cacgatcggg  ggtggaacca  tgtccaagga  ggtcaccgac  1440
cagctttggg  ccgcaggaaa  gcagaccgtg  actggaacct  gtgaatgtgt  cagtctgtc  1500
ggtcctgcgc  ttggtggtgg  ccatggttgg  ctccagggcc  accacggcct  tgttcttgat  1560
cagtttgtct  cgatgaacat  cgtgctggcg  aacggcactc  tgaccacat  cgacccaac  1620
tcggacctct  ggtgggccgt  caagggtgcc  ggccacaact  ttggcatcgt  cacttccctc  1680
accatgaaga  tctatgacat  cgagtacagc  gattgggcca  tcgagacgct  gaccttcagt  1740
ggcgacaagg  ttgcccaggt  ctaccaggct  gccaatgact  acctggtcaa  gaaccgcacc  1800
caggctgccg  cgtgatcaa  ctggctgat  tggatgaaca  atcgggatgc  cgacccaac  1860
aacccggtca  tcatcttcta  catcatccag  gaggagtgta  agaccgtcga  ttccgtctac  1920
accgcgctt  tccgcaagat  cggctccat  tctgtgtccc  ccaacaacgg  cacatacaag  1980
gatctcggcc  catggactga  ggttgcctgc  gactccgcc  cctgccagaa  gatgggtatg  2040
gccaaccctc  gttaccgat  ctacctgaa  acgtacaacg  tcaactgcca  gcagaaggca  2100
tggagctct  acggaatgc  taccctggc  ttttcggcgt  tcaacaactc  catcttcagt  2160
ttcgagggat  actcagttgg  cggcgtgcac  gatgttgata  gccggtcgag  cgctttgcc  2220
ttccgtaagt  aaaacgtgct  ggctgctccc  atgatcaact  actaccctga  ttggcccgaa  2280
cttgatgcc  cggggctaa  cttgggtcag  gagctgcgca  acattctct  tgctgtgact  2340
gaccacgagg  atatccgcgc  gtatgtcaac  tatgcccatg  gtgatgagac  tccccagcag  2400
ttgtatgsta  gcgaggggtg  gcgtcagcag  cgtctgcggt  cctgaaggc  caagtatgac  2460
    
```

[0003]

cctacgggca agttcagcta ctacgcacct attccttgaa gggcgctata taataattac 2520
 gcccaaagca atttcccaat gattagtatt aatagaaaga attactttgc gtaactttac 2580
 aagtttcgta ttccacatct agagcgccgc cacactgtag gccttttagta aatcagcaaa 2640
 agtccacgca ctgattccatg catctcgtag catcttgaag agactttttc ccatacacga 2700
 tttgaaaatc atgaacagta gtattacaca tcaatcacgg cccagtcgat acctcctagt 2760
 aatcaattac tagtccctac ctgaatcaag ggtcctggac acgcccaacg tcgatcagat 2820
 tacacctacc cacataaagc agcatgtaac ac 2852

<210> 003
 <211> 4745
 <212> DNA
 <213> *Aspergillus niger*

<400> 003
 tgtgcaacaa agaatttggg tgagcaagca taggtagtcc gtgagaatag ggcgagcaag 60
 tcccggtcag aggattgctt ctgcctgcac ggatgacggt ggacgcgggc aaacatgcaa 120
 ggccgggaacc tgatgggctt cgcgtcatga ccggggcgca tgacatgttt ttaagtgtga 180
 tttagattaa caccttagcg actagaagga acttttggcc ccggtgcata cgtggatccc 240
 agttcaggat caagccgggc gcagctaaat gggggccgga gaataagggg gacacaagat 300
 cactgccaaa acaaaagaag cttgtctactg acttgtcage caagtgggtg gacaatgggg 360
 ctagtagggc tgaacccctt gataggctcc ctgagtttcg ttgattttcg ggtcggccag 420
 gcattggatcg gagtccggcc aggcagaaag atcctatcaa gaagctaaag atgctttttc 480
 ctggctaagc ctctctgggt ccaccgattt agtggagctt aaccaatggt ttaatcttca 540
 ttctgtcact cgcagggctc tttttgggtt tcgattactc acgtgtttgg ctccccttac 600
 catcttctcg tatgtcggag gagatttctg ctgatggta ctcagacaga tccagcgttc 660
 cggaaattca tgcgactaag cggctccatta atatagcgat ttccgaccat ttccgaagaa 720
 tatgagttca gataaggggg ccttagagac atattctgtg tctaggcttt cgtcagagtg 780
 aaagcaaaact ctgcaaaccc ggtcgggatg ctggctaaaa gggacaagaa ggtttgtcaa 840
 agcaaccccc caccagttgg caactgtgaa gaacagtaga tagtcagtaa gccccagact 900
 acacgaaaat ttctgggcat tatgtctatt atggcaccgg cttatcacac cattccacta 960
 ttacgagggt caataatctc tggcacagtg gcttggcaga tacgctggga ttatcatgct 1020
 cgggtacagt tggacagtcg gcacgagaat ggcgcagtca ctcagcaacc tgaacacca 1080
 tagcataagt gtcttggatg tccatgatta gtaatagggt caatgcacca ccctttatgc 1140
 gtgcagggtt aacttcatag cagttaatta agcttgtggc agccagtga atataaacta 1200
 atgtgatata taactactgt atactttcct acaataacaa gattacactg tagaattata 1260
 tagattcgat gcttatacaa tgagattgcc tggcactgaa gttctgtgag gtttctagaa 1320
 attcaggcgc tatagggcgg attacattgg gccggatgag gttgcagtgc cagagaatg 1380
 ttaagtctgg ttccagatc agtgagtccg cataattgct agacagcttc actcaatttc 1440
 ttctctacct gagcgggtgt ccatgggtca gtctatgta tatcgtctag tggcacgtca 1500
 tgacttcact aatggctgga tcccggggca tatattccac ctcaatggaa aagagacttt 1560
 ccattcggct acacgataga aattttacgt gacttcatac cacaacatag cagtctatga 1620
 tgctctagat gccgtcactg gtgaagtcaac agtgcataat ccaatcgtcc atattaacc 1680
 ttaaacaga ccagttgatc taaacttgtg gactagccgt agatctcacg tccatggcaa 1740
 ctccccgcg ccgatagtat cgacaatgct ctcaactata acacttttc ctcactctct 1800
 gttctttgtt accacagtct ccgcctatcc cttcgaggag aactcctttc ctctctcca 1860
 ggatacttta gccactggca ccaaacccgg tgaccccc aaattcgggt gttgggtatga 1920
 ctacgtcgtg gtggcggtg gcacaaccgg gctcctagta gccagtcgce tagcaaaagg 1980
 aggaaactca gtcgccgtta tcgaaaacgg cacataccct actgggaatt tgactacagt 2040
 gccagggtac aatgagcagt ggtttagcag ggtgttgcgc tcgaattgga cggatatggt 2100
 gaatgtgtgg cctactgtgc agcaggtggt atgttgccea gctctactcg ggggtgaata 2160
 ctacggggcg ctaactctgg ctttattgca gggaggggga gagcagcagc atatgatggg 2220
 gagaatggta ggtagcttat tctctactt tatcctgtag cctttgttat ggttatgtct 2280
 gatagaattg cagatcggag ggagccaggc ctttaccttt gtcgattact tccgcactac 2340
 taagggggct atgaaaagat gggctgacga aactggcgat gatctctgga ctggggagaa 2400
 tgtccagcaa tactataaaa agtcattcaa attcacacca ccgaacaata ccgcaagacc 2460
 atcgaatgcc acaccggact atgagtcagg tcaaatcgtt ggttctacgc ctgggccact 2520
 agaactcacc ttccccaaat atgcccaggc atttggtagc tgggttaaac ttggtctcaa 2580
 cgaattaaaa gctgggtatca atcgagtctt tgtcaggggc gatatacaag gtgccagtgt 2640
 gatcttaaat atgatcgatt cgcaaacggg caatcgcgcc acaacatata cagctttctt 2700
 ggaaccaaca cagaagatg acacgtcgaa gattgacgtg tatgtggaga cgtcggccga 2760
 gagaactttg tcaaacactc cccctggcag cgaccccgta accatcggag tcttagtga 2820
 acggtggggc atgagatttc cgatattcgc agggaaagaa gtaatcctag ctggaggacc 2880
 catacttact cctcaatttc tcatgggtgc tggatcgggt cctcaggatc acctgcagga 2940
 gatgaacatt acagtcttag ctaatagacc gggagtcgce cagaactaca acgatcatat 3000
 tctcttcggc gtcaagcagc cagtacaagt ggagacaaca tcggtgctcc tcaacgatac 3060
 caggaaagtgg caagagtgcg aaagatcaa agctcacgca aatggcatgc tggccgatcc 3120
 cagactaaa ttccggcctt ttgtcgatta cccggaagat attcgcctaaa acctgtctgc 3180
 ccagactaaa tccaggtaatt tgggcccctg tgtctctcgt ggttccgttg tgcctaataa 3240
 tatgattcta gatctctccc aattcccctc tgactggcca gatatcggt tctgtatctc 3300
 tccactcggc gtcaatggcg acggcaatca caactatgca gacctgtct geatccctat 3360
 gaagcccata tccaagggaa ctattaaact cagatctaag tccattggatg ataagcctgt 3420
 gctggatccg caatggctta aatctccgac agacatggat actgcccgtc ccggctgca 3480
 gtacctctcg cgctctatg gaacgaacag catgaagccc atcttaaat cctcgggtaa 3540
 acctatcgat ctgaaaagt ctaacaagga cgacctcatt aagtatgtga aaaaacta 3600
 tgaacggtg aatcaaccaat ctgcatcgtg ccgaatggga aagcgagacg atcctatggc 3660

[0004]

```

cgtggtggat agtaaggcca aggtaatcgg agttgataga tgtgagtcct acctacttcg 3720
actctggact fgacgtttgg ttgctcctcc gtgtgttacg tacggaaactg attgagaaac 3780
agtgagaatt gctgaccggt ccgcttggcc ttcttgcca gcgggatttc cgttaggcac 3840
tgccgtgtag taatacccta ccattcccac agtcagtttt ggaatgatcg gtctaacct 3900
ctcaactgt agatatgttt gcggagaaga tagccgataa catcctcagt gatcatggaa 3960
gtgacaagga fgaggatgag gatgagctgc gaggtgaaact ctagagagag ggcctacgt 4020
ttctcaacgg aatgatgaa agtactcatt cgaacatgaa aaggcaacga cctactgtaa 4080
ttgcaacaga agtttttaat actgtctcag ataagttaa tctactagat cgcactacag 4140
gaaaaatgac fgcaattggc ttgagcgaca atgatccgtt tctgaaggac tcccaatggc 4200
actctcgaac gggccattaa tcccaacgaa gggagcaaga agaaggtcag agcgaaggct 4260
actgatctc gaatagggaa ataacatata aattgattaa aagtataatt ctaatgtaga 4320
tgttccgttg ttgattattt tggcatcgag catattcccg ccaggggtaa tttagtatca 4380
gccacgctat ctaatcggta cacgcccagt acatcaaagt acttgcggcg gaccgggcat 4440
acacaaatcg aatcaaaagg tatactagta cctcgcagcc ggcatctact atttccgata 4500
aaatcaacga atctgtttgc cagattccag gtaagcaatg attggcatca ctttatctgc 4560
tcccacacac tcccgccaca tgtctggcct gaagagaaga tcattgtcga aatcgtctct 4620
cggaggctaa atatcgaatt gccccacct cccctcatct ggtgcagaaa gcgaacgtcg 4680
ttcatgatgg ttttcacatc aatcctctta aatcaaatca ggaatcatt ttctcccct 4740
ggaaa 4745

```

<210> 004
 <211> 4145
 <212> DNA
 <213> *Aspergillus niger*

```

<400> 004
cctagagtac acgatagtaa ttgaggaaga aatttatgcg taagttgtaa gagacaattg 60
aacctcgtga agttggaaga atgcgggttt cagttcgtcg acaaccaaaa taattaatac 120
atgtcagcca agatagaatg actaaggaat aagcgcttgt atgttttgag actagtgatc 180
cagcattgag gcctgagggg aacagtcctg ttatcgacca ttcaatctca actcagcgac 240
tcttgggaat tgtcagttgc atattataca atccaggtag aatatactagt ttaacaatca 300
tgtgactcta taccagttt atcagtacc cacttggcaa tatactttat cgcaacgtaa 360
gaataggcat ttgctgggac tggacgcaga catagaggat accattgtta tgggaatcct 420
cacactgatt gataagagaa aatgcgaatg gagcgcggcg atctttataa ctgtgggagc 480
tgatecatc ggatatggtt aagtttgtcc ccgctccca acactggcgg cgacccaaat 540
gatgatctg ctttccgcac acctcagacc cgaatgagtc agactctctc gtggtaaagt 600
cttgatatca aattcctgac tcttggacc tgactagtc atttccagca agtggaaaag 660
ggcatagtcc cacagggctt cttcttaac tcagaagtat ctaactgctt taatgagcc 720
atctttcgtt gatgctatct tcctttaaac tgatcgtat caattatata ggactaactg 780
gcatcggtc attatctgca atgtacctgt cgactttct tactatctgc ttaggcctc 840
aggccgtagc agagatggca tcggcgacca tacaatcttg agcttgatag gcgacaccga 900
cgcagcgcca aaatcagga gagcaagagt tggcgggcca ggtcaagaa taagctgaa 960
cataatagtg atgagctgt gttttgctag ttctagtact attacaggt gacatcgtgg 1020
ttaccatgtt tcgcttctc ctgtcagca tgctgacgaa gaatgtat atctgtatcct 1080
taagccgtgc cctgtaggtt tgctgagtag gtcgtccctt gctccagtag catctgacat 1140
aagaataagc atcttctct tttctcttc ttcttcttt tattttttt tttctttat 1200
ttgctcttt cccctcgcag aaatagatgt gattgtcgag atacactgcg ctgtcacagt 1260
ttatggaata cttgtactg cctagatgag gagagatctt taccttga tgcagccatg 1320
atccaactga faaagaaata caacat taca attcaaacaa ggctatgaga ggttggcaga 1380
tgctcattaa catgcccaga agcatagtat ctcatcggtc caatgatccg gtatgagctg 1440
atgtattctc agcagcagat ttgaattgca gctgacagca ttaaatatac tgaagcgt 1500
cccatggcat cgtaatctc ccacgggctt ctaaacacc tgagtaatgc tgaagaaac 1560
ccactgaacc attagaaca tgaagcaggg gggaaacacg tgcactctcg gtaaatccca 1620
aagttgagac ttglttcga ggttcccttgc agatccctt ccgcttagat gaaatgactg 1680
tctctgaaga gcgtcccca tccgaccgtt catttaacag tctgttttag ctcaaacgtg 1740
cgtgtcgcac ttaaatcgaa tacgcaata cgcaaatact acacggaatg ttgccggtt 1800
ttgaggatcg atcacaaccg attatacaaa atccattcag catggacccc ctgagcctgg 1860
catttaaggt aattaggtg ccttatttca ccaccacta cacggagcaa agcttttctg 1920
atccaagatg atagctgctg ctcttctct ggctgcagt gcccctgtcc tggcagcccc 1980
aaacaccgac gcagtgtctg ttgcccagca cctacacag gtttaccccc agtacaccgt 2040
ctgggacccc acaggcacct acgcaactga aacattctgg aatcagttt actacaaca 2100
tgcagtcaag gaatactgga acggcgtgaa tgctgacaac cgtccggcct ggccttttt 2160
ccctgcaaac gcgcaacatg tctccgtcgc aattcagcag ctgaacaaat atcccactgc 2220
accctttgca ttgaaaggag gcggtcaca ttcaatgtg ggactctcaa gtaccaacgg 2280
gggggtcctt atctcgttca atgagaacct gtctcaacc acgcgtaact cagacggcca 2340
gactttcgac gtcggccctg gagcccgatg gggcagatgc tacgctgtca cggagaagac 2400
gaaccaggtc gtcgtaggcg gccgattggc taatatcggc gtggcaggat tcacgatgg 2460
agggggattg tcatactact cagctcaata tgtactacct tgcctatcc ctctccgcc 2520
cccttctctc tacgtccagc actaacccaa ctcaggcctt atcctcgcac aacgtgttca 2580
agttogaagt agtcttagca aacggcacca tcgtcaacgc gaacagcacc tctaaccag 2640
accctctgtg ggccttgccg ggcggcggca accgctatgg catcgttacc aagttcacat 2700
accaggttca cccactcggc gacaacggcg aagtctgggg cggcattcgc ttttacagcg 2760
ccgacaaacg ccagcaaatc ttgaaagctc tctccaact cacaagtga taccggagc 2820
ccaaagccgc cgtcatccca accttcgact ttggcttggc tggagcgata gctccaacc 2880
cagccgtttt ctcttctac gatggagcga agcccagcac taacgccttc gtcggactcg 2940

```

[0005]

```

acaacatcga agcccttata gactctacta agaccaccac ctacaccgat ctaacgaacg 3000
aagcaggcgg agccaagatc tacggcatca acgctgccat tcgtgtcaac acattcccca 3060
acatgccgtc ccagcagatg acccaactgc ttgaaaacca ctggactacc taccagtcca 3120
tgatacaaga cgattcctcc aagaacttgg acatccagat cggcacattt accccgcaac 3180
cgctatcagt gcgcatgtct cgtgcttcca acaaggccgg cggtaatgct ctccgcttgg 3240
accctgcgaa cggatgatct gtctggattg agaatgactt gatctgggtt aatccggttt 3300
gcaatgatgc ttgtccggag tatctgcgcc aggtgggtga factgtgaag gaggcattta 3360
ataacacgct gttgggaact aagccgacga attatcaatc gggatgatgt gattggatct 3420
cgtacgtgtc ctccctccct tcatttctct cttcgtccag tgcagcacgc taacaattat 3480
gatagctcta atcctctctt catgaacgat gccgcccact accaagacgt atatggcagt 3540
tatgggcccc cgaataaggc gcgactggcg agcatgtcta aggcgtatga tccgacgggt 3600
ttcatgttcc gtcaggcggg atggctcttt tgaacttgac tgtgcctgaa atggagcgca 3660
aagcatctac aatttgtttg ttgattatct atcgcgtatg atggctctat cagggtgcaa 3720
ataccacaga tacctttagc tggataatgg aataagataa tgttaggatt acacattggt 3780
cttcagccta tccacctgat ctattgttc agtgatagct ccattgaagc ttgagctata 3840
tatccccac gaggatagtc tcgttttaca gctagtcaaa tatcagacta caaactacaa 3900
gctcaaaata taccagtagt agtaacatac gatacaatc aataaaatct aaccgataac 3960
gctagaagag tataaccgac aaaacaaaaa gctcccctcc cctaagatac cctgtcccat 4020
cctccccgat agaaaccact acaccacaca atccacacct agaagaacaa atcaaaaacg 4080
aaactgacaa ccgatatcca taccagatga gaatcccagc ataattcttt tcaaagacat 4140
acacc 4145

```

<210> 005
 <211> 4641
 <212> DNA
 <213> *Aspergillus niger*

```

<400> 005
gatcgaagaa taaaaaggcc aagaggcaac cgcaccacag gcatgggatt agggagatg 60
acgaaatcat tccccttctc tctcgcgcgc ccgtataatc aggagagcat tgcggcacog 120
gcgacaggta caaggccggg gcgtctgcag ttgactgac aactttcga gttgaaattg 180
gaaagttttc tgataagatg cgggtgtttg actgtttgtt tcccaccctg ctgccgctcg 240
gattgatccc gcgacgggag agctcaacac cgtatgaaca ccgtttacaa cactggaat 300
atcccgatta agtctttaa aagaggcttc gagaggatta cagataatta cagatgcccc 360
catatgaaa aaatttctag tcactttagt cttactgtca gctgaagctt tgcggcggta 420
acaacgacgc cgttgccagc aggacggctc gtatgtgcga ctaccatgag gagtataccg 480
gtttagcggc gggaatccaa accaaggaca cagacaccta gaaaaatata cccgctacag 540
gtgctggggt ggcttgcaag ctccggataa acgaagaatg gccgataaag ctgaatcaa 600
ccaggctctc ttctaggatt ggttggacga ttaccggcac aaaaaggtgt tgatgacaag 660
agtttcaatc tgcctcatcg aaggcagatc ccaactttg cattggaatc tctgtacag 720
tacgatgcca tatagacttc atccatgta tgaattctaa tctcagccac tacgcttagt 780
ctatctcaag gaaaagtaca agtatattac tcaacaagct gggtaacacc atcgaaaaca 840
ggatggacct gggaagggaa gggagtatt caccctcata atcttttact acatcaagt 900
gctactaaac caatcgatat gctcgcactg gcttgactgc taccgtcag gatttcatc 960
tgcaatatgt cgcagaggtg tctccggctt cgtgtctaat aggtggtaat ctattagcag 1020
ccttgctatc agcatccagc cacagaacac acggaaattt gccaaataag gccaatcgg 1080
gatagacagg ctagaacggt gattaattcc gagtccaaac accagattgg attaccaagt 1140
ggagaatcgt agaatgaagc ggttgggagc aaacagaaat gacggacctg atgagagggc 1200
gtgagctggc tgaacttcgg aggtgcgacg gtgatgggtg aaccctgga ggggtatgaa 1260
tgcaggacga gacgaagcgc aagccaacac cttctttctg agtaaatgc catgaccctg 1320
tcaatccgt gattaggcaa gtgctttgag ccttcattgg cccttatccc tgcacccg 1380
ggcattggtg gggaacatct tcagttttg gctctgtgtt taacctgcgt gcacacctta 1440
ctgtgccttg aagctactca ataagatttt ctcatttctg actcttttat gtcacagata 1500
ctggcaaggc ggctgtctag ttctccgggt tggtttcccg tccgctgat tgacaacgct 1560
aaaatctagt acgctgccc aatagctttc cactataata gggagctcca ctgcgaataa 1620
agtgtgcctg tcatcaagag acccactaac cgggccaccc aaccgtcaaa tcaagcctcg 1680
gtttgttatt agacaatctg gaccacoggt gcaatcgcca gtttgggctt gcagcatgtc 1740
ttacttaaga gacggcaatt gatcgacacg ctctgtatagg gattcgcaaa cgaacgcctt 1800
cgcttcatac tatctgctcc acagaataac ttaccctct cgtctcttgg ctaccaccaat 1860
tcaatcgtgc catabcgggt gacttgcgcc gtgtagccat gtacttacta ctacttctg 1920
tgcgactcgg gaccactccg gctgtcaaaag cacaggcaag gactatccgc tatgaaaagg 1980
cgctaatcgt ggaagtcttc ccgcagccc cttgatctag gggcttcggc atatatatg 2040
aagtgtagcc atctccaggg actctgctaa cggagaaatt ctatcagcgt tggactcgaa 2100
atgaaggtct ccagtgcggc agtccctgtt ctacgattc tgcgccaggc cagcctcggg 2160
cttggctcta cgcaactttg tttatgttgt tcatgttcag tacttagtcc gtgtactaat 2220
agccttgta cctagtgcgc cgtctgcaa cgcacctccc tgcgtaatca agtctttac 2280
cctaccagcg ctgcatacaa tgagtcogtg gcacttact ttgcggtaaa tgttcagctc 2340
gacctacgt gtattgtaca gccacactct acagaggatg tctcgtctat tgtctcgact 2400
ctgaccacaa ccggcgaaac acaatgccc tttgocgtgc gcagtgggtg tcataccacc 2460
tggcctgggt cagcggatat cggacagggt gttaccattg atttgtccat gatgaacagc 2520
accacatacc acaaggacaa aggcgttgca tctatccagc cgggtgcccg ctggcaggcg 2580
gtctacaagg ctcttgatcc gtacggagtc acagtacctg gcggacggcg cggaccagtt 2640
ggcgtgggtg ggttcttgat cggaggtaa attcagcgac agttcaacaa aaagtgggtg 2700
catgtcaat gccctgatg gtggaacac cttctacacc gctcgttagt gcttcgcatg 2760
tgataatctc gagaactttg aagtcgttct tgccagtggg tccatcgtca atgccaaccc 2820

```

[0006]

gactagccat	ctgcatctgt	acaagggcgt	gaaggggtggc	tcgatcaact	ttggagttgt	2880
tacaaagtat	gacctcaaga	cgttgccctca	tgatattgctt	tgggggtggac	tggtcgtcta	2940
tgataattca	accaccgccc	ggcagctctc	ggccgctgtg	aactttacca	acaacatcca	3000
caatgaccca	tacgcatcct	ggattgggat	gtgggaatac	agctcgcaca	cgggacagaa	3060
catcattgcc	gatgacctgg	aatacaccaa	gcctgttgcc	tttgcctctg	cattccatga	3120
atttacgagt	attccaaaaca	ccaccgacac	gatgcgtttt	gctacgattt	acaacctgac	3180
acaagagctg	gttcaggcgg	cgggtaccgg	gtaagtctcc	aatagatagc	catcttcggt	3240
cctctttctt	cttgggaaggc	agtcgatggt	gggttttaag	tctggttctc	gttgttcggg	3300
gcgctaacaa	ctcagtgatg	ttttcaccac	cggcacgtac	aagaacgacg	tcaaagtctt	3360
tcgcaaggcg	atcgaccttc	acaacaacaa	cattgaaaag	gccaaaggctc	atgtcaagag	3420
tgactactgg	gccatgggata	ccatcatcca	gccctggccc	aagctttttcg	ctcagcacag	3480
cgtggagaag	ggiggcaaac	ttctgggttt	ggaacggttt	gacgagaacc	tgatccgtat	3540
gtaacccgac	cttgtttcta	gcgagcactt	aatccgttta	cagaataact	attcgactac	3600
tcctgggatg	atgcaaggga	cgcagatctc	ttcatcggcc	ttggccagtc	gatcctggag	3660
gaggttgggt	aatacgcmaa	atcgattggg	gcgcacaatg	agtacateta	tcgcaattat	3720
gccgacaagt	cgcagaaccc	tctcaagggc	tatggcgagg	agaatgttga	gttcatctcc	3780
cgctggccca	agcagtacga	tccagatgga	gigtttcagg	tacaggttcc	aggtggcttc	3840
aagatcagcc	aggtttaaagc	accatcgagt	ccaaaattta	cgactagtcg	aagtaatttt	3900
gtacagtaga	ctacgaaaaa	gaacagaata	gattagacaa	cacaagctcc	accctctcat	3960
ttgccttgc	taggetgcgc	catttttgac	acggaattag	tgcttttta	aatttgcggc	4020
gcgatacaac	cgcatacggg	tgagccgat	aatgaagcca	gcacgagccg	tttcaacgcg	4080
atccgaaact	gcacggtcta	atcgttcgcc	tcttggggct	ctaccaccga	tcctttccac	4140
tcctccggcc	gtctctcggg	cctctggacg	gccaggcttt	ggcccggacg	acggctagac	4200
gcgatggcat	attggacgct	ccacaaggat	gacactatcc	atgcaccggg	aaaattctta	4260
agcttgggtg	gattgttatt	gttaatcaca	gtaatatacg	gaatgtgta	caatttgcca	4320
cggtaacaaa	aggatcgcga	tatccttctc	atcttgggag	agctgtcata	agctttcgat	4380
agcaccttcc	gtgttgggat	ccatcgaggg	taatcaatc	gcttttccat	gaagagaaaa	4440
agcaagaaaa	aaacaaaaaa	tgaacaatg	caaattcttt	ctccccatca	tgtctgtgcc	4500
atcgactagg	ccttcccatg	cctcaggggc	cacctcagag	tataagetcc	cttctggaac	4560
ccttctatgc	tttatgacag	cgtgaggctt	cagtgagagg	ctgttggcct	tcgatgccac	4620
ttgaatatgg	ccattactac	a				4641

<210> 006
 <211> 3837
 <212> DNA
 <213> *Aspergillus niger*

<400> 006						
aagacaatac	ggagtacatt	gacctttatt	attacttgat	actatcgaag	gaagagaata	60
aatactactc	cttctgaatg	tgcatagggt	tatgtatatg	ctaaaagaca	ggttatcact	120
agcgtgcac	gaactcgact	gatcagttgc	agttcctggg	tgaacacgca	catatttcct	180
tctaattgat	tgatctatt	cagcttcttc	tatgccaagg	cggtccaaga	ttgattggtc	240
tcggccactg	ggtaagctaa	ggctgtcact	tcaggcaggg	gtaggcctga	gactgcagga	300
tggtggccag	agccaatttc	tgaaccctg	tagatccgca	acatctccca	aataaagcta	360
ttgtaatcac	atggctcaat	cttagaagga	atacagtact	acgaatggcg	gttgattgca	420
agcttcattc	tacctgctgc	ggtgaacaac	accccacaac	aaccatcttg	acaataata	480
cgctgctate	aaaaaggaga	agctaccaaa	tcaggctatc	ttcggcgtat	gagaatctga	540
caatgtcctc	ttcagctgaa	tgctggccga	ttgggttggg	gggtgtggga	ggcggatccc	600
aatacagatc	ccaccgtg	gtctaccaaa	atggttcgct	gatcctcgct	cgctccatcg	660
tcagcgatgt	gcttgtggac	tatgtaatgc	cgcagcaaac	atgcaatggg	taatttcagc	720
tcgcccgctg	attttggata	gacgatcaat	ccaggtatg	atataatgtt	cgcccggacc	780
ccgatttaaa	gcttcaaatg	actcccgaac	acaagcttgc	gacaaccgga	tgacttactg	840
aacttatcag	ccagtatcca	atctgacggg	caggatggtc	aatcttgctt	atattctggg	900
tgccgttgcg	gttttttcaa	catcgggaa	cgctgcagac	gtttctctat	cttctctgtt	960
tgctgcttcc	acgaccccat	cagctgcggg	ttctctttcc	tcgctgggcc	ttctctctcc	1020
agccggcaat	gtgctcgtcg	ggaatgtggg	gtacacctgc	aatctgctga	gtcgtacatt	1080
tccaaagaat	gagaccttta	ccgccagctc	accctactat	gaggctctaa	ttgatgagac	1140
ctggtcaggg	aacagccg	tgaacgcg	ctgcattgtg	acgcccagat	ctgctcagga	1200
ggtttctgct	gtcatccaaa	tccttagtat	tcaggagacc	aaattctcca	ttcgtctggg	1260
tgggcacagt	tccaatccag	ggttcagttc	gattggttagc	aacggagtg	tagttgcgct	1320
tggaagggtg	aacacactct	cgatcagcgc	ggaccggaag	accctcactg	ttggaccggg	1380
caatcgctgg	gaagccgtgt	accaatatct	ggagcagtac	aatctgaccg	tactcggggg	1440
gcgagagccc	gttgtgggag	ttgggtgctt	cgtcctgggg	ggtaagccaa	tgcttctctt	1500
atcatattct	gggaaaaata	acatgatact	aattacaata	gggtggtteta	gtctcttcta	1560
taacaccaat	ggtctggcca	ttgacacggg	caccggatct	caggtggtaa	cccccaatgg	1620
gacctcgtc	aacgctaccc	aaaccgagca	tgccgatcta	tacaaggggc	tgaagaggag	1680
tctgaacaac	tttggtaggc	ctaatactca	cctcggtgac	ctcttttatg	tgactaatcg	1740
aaccagggca	tcgtggtgga	atacagcttc	accaccaata	ccggcatcga	tgtctggttc	1800
gaggtcaaga	actataacct	cgctgagact	cccgcactgc	ttgctgctta	cgagcatat	1860
ctccaaaatg	ccgatatccg	cagcaatgtc	gagattcaga	cgaatccagc	atatacacta	1920
gtcttctacg	gatattctga	ccatgtgtca	gcgcatccg	cctttaatgc	tttctcccaa	1980
gtcccgtcgg	tctcagctgt	ttatctctct	accaatgcct	ccctaaatca	agctctctct	2040
gacattggca	atgccgggtg	ggttggctca	ttatataact	atagcatttc	ttttgccttc	2100
aaggttacca	gccccagctt	tcctcaggaa	agcttcaagg	cctaccttaa	aactgcccga	2160
tcgctcctgc	ctttggcgct	aatactcag	tacgtgcctc	agggcatcat	cccaaaccta	2220

[0007]

```

gttaccaaaa gccagacca gaatggtggt aattgtttg gcctggaggc cacacctcaa 2280
gtttgatgt atcccttgtg cccgatcaat tcccaatcta tctgaggaac gcagtactaa 2340
ctgaatactt ggacaggggg ggagatcttt gcccaattcc ccgccacggt tagtcagtca 2400
acggtagcca acgccgtgga atctcttcta gccaacctta cctcgagcgc ccagtctcag 2460
agtgttcatc ttccttacat ttcgccaat gatgctggcc ctaatcagca ggtcctgcga 2520
ggatattggt aagacaatgt caagtatatt gccgccgttg ctgagaggta tgatccaagg 2580
ggcgtgatgc agaagttgca gaatgatgcc tattcgtgt cgaagaggtt gtaacggggt 2640
atcactgtat caatatctcg tctattttcg ggatcgtctg tacctacagc atactctgta 2700
ataattttaa taaggggtga tccttctgct tccataccac cggtcgtcac ttcttggcg 2760
caaatgacga gggagacggg aggtttgacc tcagtctggg agtcagcaaa tactacaagt 2820
agtcatgctg taatgtctca attatcgagc ctccatgttg ggttttaggt gacggtgaaa 2880
gctgatacac tgcaagacgc tgaaggaca tgatgttaca atgatgctat gaaggtgggt 2940
gtgagtggtg gtactggatt acgcaaaaat atatatcag actataggc tcagggtcat 3000
tggcaggttt caccatcga catatatctt tacgccatc tatttgatgg cagagtctgc 3060
tgtaacaaa agtttcttt gccttaagaa ggttcaatca gaaatttcca ggagttttat 3120
atattaagca gagcgaaatc aaatgtggaa aaaaaagac aatcaaaaag gaatggggca 3180
agccgggctt gaaccggcca cctccagatc ttcagtctga cgcgctccca gatgcgccat 3240
tgccagggtg attactgcat atgctacaca tagctatata aatattaaag ctactgatta 3300
atattttgct tgcttaacgc tctaaaggca gcatgaaacc taattatcac taactcgata 3360
ttaatatacca ataattcatg aacctcaaaa atgtgcacta tgctatttac gctcaatgat 3420
tcaatgctat cacctctcct gctcaagccg cctgctgaac tccatggatg atattcatga 3480
actcgtgcc atatatgct caccgatcc cgttgattc gcgtgaacca caagtgtatg 3540
ctttcatgtc tgccttttaa taaatcacc cactactcct tcatgtaaaa gccgctccta 3600
tattttccat tgggtgaaat gatcgaccc cttcgtatag ttatggcccg cgggtcctc 3660
actcagctgc atgactaac tccatattca tactacatag gctaccacat catcgctcac 3720
agctggaatt gacttgacaa atatcccat ctcggcagct ggccgtatag gactggcgat 3780
tatgtactta aattgagaaa gtaaatataa ctagagagca cgtcactct aatccca 3837

```

```

<210> 007
<211> 1713
<212> DNA
<213> Aspergillus niger

```

```

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1713)

```

```

<400> 007
atg aag gct tcc tgg tct ttt gca gca tct gtc gct gct ctc gcc tcc 48
Met Lys Ala Ser Trp Ser Phe Ala Ala Ser Val Ala Ala Leu Ala Ser
1 5 10 15
aag gcc gtc gct tct agc gac tgc cac tgc ctg ccc ggc gat agc tgc 96
Lys Ala Val Ala Ser Ser Asp Cys His Cys Leu Pro Gly Asp Ser Cys
20 25 30
tgg ccc tcg acc tcc agc tgg gac tcc ctc aac aac act gtg ggc ggt 144
Trp Pro Ser Thr Ser Ser Trp Asp Ser Leu Asn Asn Thr Val Gly Gly
35 40 45
cgc ttg gtt gcg act gtt ccc att ggt act cct tgc cat gac cct aac 192
Arg Leu Val Ala Thr Val Pro Ile Gly Thr Pro Cys His Asp Pro Asn
50 55 60
tac aat ggc gcc gag tgc acg aac ctg cag gat gac tgg tac tac ccg 240
Tyr Asn Gly Ala Glu Cys Thr Asn Leu Gln Asp Asp Trp Tyr Tyr Pro
65 70 75 80
cag act cac ttg gtc tct tct tca tct gtt atg caa ccg tac ttt gcc 288
Gln Thr His Leu Val Ser Ser Ser Ser Val Met Gln Pro Tyr Phe Ala
85 90 95
aac cag agc tgt gat cct ttc cag ccc gag tcc cgg ccc tgc ctg ctt 336
Asn Gln Ser Cys Asp Pro Phe Gln Pro Glu Ser Arg Pro Cys Leu Leu
100 105 110
ggc aac tac gtg agc tac gcc gtc aac gtc tcc acg acc gat gat gtt 384
Gly Asn Tyr Val Ser Tyr Ala Val Asn Val Ser Thr Thr Asp Asp Val
115 120 125
gtt gct gcg gtc aag ttc gcc cag gag aac aac atc cgt ctc gtg atc 432
Val Ala Ala Val Lys Phe Ala Gln Glu Asn Asn Ile Arg Leu Val Ile
130 135 140
agg aac acc ggt cat gac tac ctt ggc cgt tcc acc ggt gct ggt gcc 480
Arg Asn Thr Gly His Asp Tyr Leu Gly Arg Ser Thr Gly Ala Gly Ala
145 150 155 160
ctg gcc atc tgg act cac tac ctg aac gac gtc gaa atc aca gag tgg 528
Leu Ala Ile Trp Thr His Tyr Leu Asn Asp Val Glu Ile Thr Glu Trp
165 170 175
tcg gat tcc acc tac gcg ggt tcg gct gtc aag ctg ggc agt ggt gtc 576
Ser Asp Ser Thr Tyr Ala Gly Ser Ala Val Lys Leu Gly Ser Gly Val
180 185 190
acg ggc tac aat gtg ctc gat gct act cac gga aag gga att gtt gtc 624

```

[0008]

序 列 表

Thr	Gly	Tyr	Asn	Val	Leu	Asp	Ala	Thr	His	Gly	Lys	Gly	Ile	Val	Val	
		195					200					205				
gtc	ggc	ggc	gaa	tgc	cct	act	gtc	ggc	ctc	gct	ggg	gga	tac	acc	atg	672
Val	Gly	Gly	Glu	Cys	Pro	Thr	Val	Gly	Leu	Ala	Gly	Gly	Tyr	Thr	Met	
	210					215				220						
ggc	ggc	ggg	cac	tcc	gcc	ctg	agc	act	gcc	ttc	ggg	ctg	ggg	gct	gac	720
Gly	Gly	Gly	His	Ser	Ala	Leu	Ser	Thr	Ala	Phe	Gly	Leu	Gly	Ala	Asp	
	225			230						235				240		
cag	acc	ctg	tcc	ttc	gag	ggt	gtc	acc	gct	tcg	ggc	gag	gtc	atc	acg	768
Gln	Thr	Leu	Ser	Phe	Glu	Val	Val	Thr	Ala	Ser	Gly	Glu	Val	Ile	Thr	
				245					250					255		
gcc	tcc	cgg	acc	aac	aac	acc	gat	ctg	tac	tgg	gcc	ctc	agt	ggg	ggg	816
Ala	Ser	Arg	Thr	Asn	Asn	Thr	Asp	Leu	Tyr	Trp	Ala	Leu	Ser	Gly	Gly	
				260				265						270		
ggg	gcc	ggg	aac	ttc	ggg	ggt	gtc	acc	tct	ctc	acc	gtc	aag	gcc	cat	864
Gly	Ala	Gly	Asn	Phe	Gly	Val	Val	Thr	Ser	Leu	Thr	Val	Lys	Ala	His	
		275				280						285				
ccc	gat	gcc	acc	atc	tcc	ggg	gct	gcg	ctc	gaa	ttc	acc	atc	gcc	aac	912
Pro	Asp	Ala	Thr	Ile	Ser	Gly	Ala	Ala	Leu	Glu	Phe	Thr	Ile	Ala	Asn	
	290					295					300					
atc	acc	tcc	gat	ctc	ttc	tac	gag	gct	gtg	gag	cgc	ttc	cac	acc	ttg	960
Ile	Thr	Ser	Asp	Leu	Phe	Tyr	Glu	Ala	Val	Glu	Arg	Phe	His	Thr	Leu	
	305				310					315				320		
ctg	ccc	gcc	atg	ggt	gat	gcc	ggc	acc	acc	gtc	atc	tat	gag	atg	acc	1008
Leu	Pro	Ala	Met	Val	Asp	Ala	Gly	Thr	Thr	Val	Ile	Tyr	Glu	Met	Thr	
				325					330					335		
aac	cag	gtc	ttc	ctc	atc	aac	ccc	ttg	acc	gcc	tac	aac	aag	acc	acc	1056
Asn	Gln	Val	Phe	Leu	Ile	Asn	Pro	Leu	Thr	Ala	Tyr	Asn	Lys	Thr	Thr	
				340				345					350			
gct	gag	gtc	aag	acc	atc	ttg	tct	ccc	ttc	ctc	tct	gct	ctg	acc	gac	1104
Ala	Glu	Val	Lys	Thr	Ile	Leu	Ser	Pro	Phe	Leu	Ser	Ala	Leu	Thr	Asp	
		355				360						365				
ctg	ggc	atc	gag	tac	acc	gtc	gct	tac	acc	cag	tac	tcc	tct	tac	tac	1152
Leu	Gly	Ile	Glu	Tyr	Thr	Val	Ala	Tyr	Thr	Gln	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Tyr	
	370					375					380					
gac	cac	tac	gag	aag	tac	atg	gga	ccc	ctc	ccc	tac	ggc	aac	ctc	gag	1200
Asp	His	Tyr	Glu	Lys	Tyr	Met	Gly	Pro	Leu	Pro	Tyr	Gly	Asn	Leu	Glu	
	385				390						395			400		
gtc	ggc	cag	tac	aac	tac	ggc	ggc	cgc	ctc	ctc	ccc	cgt	gac	acc	ctt	1248
Val	Gly	Gln	Tyr	Asn	Tyr	Gly	Gly	Arg	Leu	Leu	Pro	Arg	Asp	Thr	Leu	
				405					410					415		
acc	tgg	aac	gcc	gcc	gat	ctc	gtc	tcc	gtc	ctc	cgc	aac	atc	acc	tcc	1296
Thr	Ser	Asn	Ala	Ala	Asp	Leu	Val	Ser	Val	Leu	Arg	Asn	Ile	Thr	Ser	
				420				425					430			
gac	ggg	ctc	atc	gcc	gtc	ggc	gtc	ggc	ctg	aac	gtc	acc	aac	tcc	aac	1344
Asp	Gly	Leu	Ile	Ala	Val	Gly	Val	Gly	Leu	Asn	Val	Thr	Asn	Ser	Asn	
		435				440						445				
gac	acc	gcc	aac	gct	gtc	ttc	cag	ccc	tgg	cgt	aac	gcc	gcc	gtg	acc	1392
Asp	Thr	Ala	Asn	Ala	Val	Phe	Gln	Pro	Trp	Arg	Asn	Ala	Ala	Val	Thr	
		450				455					460					
atg	cag	ttc	ggg	tcc	acc	tgg	aac	gag	act	gcc	cct	tgg	tcc	gag	atg	1440
Met	Gln	Phe	Gly	Ser	Thr	Trp	Asn	Glu	Thr	Ala	Pro	Trp	Ser	Glu	Met	
				470						475				480		
gtc	ggc	gac	cag	ctg	cgc	att	gcc	cac	gac	tac	att	ccc	cag	ttc	gag	1488
Val	Ala	Asp	Gln	Leu	Arg	Ile	Ala	His	Asp	Tyr	Ile	Pro	Gln	Phe	Glu	
				485					490					495		
gcc	gtg	acc	cct	ggc	tgg	ggc	gcc	tac	gag	aac	gag	ggc	agc	ttc	cgt	1536
Ala	Val	Thr	Pro	Gly	Ser	Gly	Ala	Tyr	Glu	Asn	Glu	Gly	Ser	Phe	Arg	
			500					505					510			
cag	cag	aac	tgg	cag	aag	gaa	ttc	ttc	ggc	gat	aac	tac	gcc	cag	ctc	1584
Gln	Gln	Asn	Trp	Gln	Lys	Glu	Phe	Phe	Gly	Asp	Asn	Tyr	Ala	Gln	Leu	
			515				520					525				
tgc	gag	gtc	aag	gag	aag	tat	gat	ccc	gac	cat	gtc	ttc	tac	gtc	acc	1632
Cys	Glu	Val	Lys	Glu	Lys	Tyr	Asp	Pro	Asp	His	Val	Phe	Tyr	Val	Thr	
	530					535					540					
aag	ggg	gcc	ggg	agc	gag	tac	tgg	tct	gtg	gcc	gag	tcg	ggg	cgc	atg	1680
Lys	Gly	Ala	Gly	Ser	Glu	Tyr	Trp	Ser	Val	Ala	Glu	Ser	Gly	Arg	Met	
		545			550					555				560		
tgc	aag	acc	cag	cag	gcg	tgc	gct	gct	ggt	tga						1713
Cys	Lys	Thr	Gln	Gln	Ala	Cys	Ala	Ala	Val							
				565					570							

<210> 008
 <211> 1503
 <212> DNA

[0009]

<213> *Aspergillus niger*

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (1503)

<400> 008

```

atg ttt cga ctc aag atg gag gtg ctc acg gcc atc gcg gcc tgg gca      48
Met Phe Arg Leu Lys Met Glu Val Leu Thr Ala Ile Ala Ala Trp Ala
1      5      10      15
ttc gcc acg gtc tcg cag caa atc cct cgc tcc tcc agc tgg gaa agt      96
Phe Ala Thr Val Ser Gln Gln Ile Pro Arg Ser Ser Ser Trp Glu Ser
20      25      30
gac ctc cag acc ctc tcg ggt agg ctt tcc aat acc tcc cag atc tat      144
Asp Leu Gln Thr Leu Ser Gly Arg Leu Ser Asn Thr Ser Gln Ile Tyr
35      40      45
tat ccg ggc tcc agt gga ttc aca aat gcc acc acg cgg tgg tcc gtc      192
Tyr Pro Gly Ser Ser Gly Phe Thr Asn Ala Thr Thr Arg Trp Ser Val
50      55      60
ctg gat gag cct gag gtt aat gtt gtc gtg gtc cct ggc acc gaa aat      240
Leu Asp Glu Pro Glu Val Asn Val Val Val Val Pro Gly Thr Glu Asn
65      70      75      80
gat gtc gcc gaa att gtg aaa ttt gcc aat cag aag gat gtc ccc ttc      288
Asp Val Ala Glu Ile Val Lys Phe Ala Asn Gln Lys Asp Val Pro Phe
85      90      95
cta acc tac aat ggt gtg cac ggt gcc ctc atc tct ctg gga gaa atg      336
Leu Thr Tyr Asn Gly Val His Gly Ala Leu Ile Ser Leu Gly Glu Met
100     105
acc cat ggt att gct atc tac atg ggc cag ttg agt agt gtc gag gtc      384
Thr His Gly Ile Ala Ile Tyr Met Gly Gln Leu Ser Ser Val Glu Val
115     120     125
gca gct gac ggc aag act gcc acg atc gga ggt gga acc atg tcc aag      432
Ala Ala Asp Gly Lys Thr Ala Thr Ile Gly Gly Gly Thr Met Ser Lys
130     135     140
gag gtc acc gac cag ctt tgg gcc gca gga aag cag acc gtg act gga      480
Glu Val Thr Asp Gln Trp Ala Ala Gly Lys Gln Thr Val Thr Gly
145     150     155     160
acc tgt gaa tgt gtc agt ctt gtc ggt cct gcg ctt ggt ggt ggc cat      528
Thr Cys Glu Cys Val Ser Leu Val Gly Pro Ala Leu Gly Gly Gly His
165     170     175
ggt tgg ctc cag ggc cac cac ggc ctt gtt ctt gat cag ttt gtc tcg      576
Gly Trp Leu Gln Gly His His Gly Leu Val Leu Asp Gln Phe Val Ser
180     185     190
atg aac atc gtg ctg gcg aac ggc act ctg acc cac atc gac gcc aac      624
Met Asn Ile Val Leu Ala Asn Gly Thr Leu Thr His Ile Asp Ala Asn
195     200     205
tcg gac ctc tgg tgg gcc gtc aag ggt gcc ggc cac aac ttt ggc atc      672
Ser Asp Leu Trp Trp Ala Val Lys Gly Ala Gly His Asn Phe Gly Ile
210     215     220
gtc act tcc ctc acc atg aag atc tat gac atc gag tac agc gat tgg      720
Val Thr Ser Leu Thr Met Lys Ile Tyr Asp Ile Glu Tyr Ser Asp Trp
225     230     235
gcc atc gag acg ctg acc ttc agt ggc gac aag gtt gcc gag gtc tac      768
Ala Ile Glu Thr Leu Thr Phe Ser Gly Asp Lys Val Ala Glu Val Tyr
245     250     255
cag gct gcc aat gac tac ctg gtc aag aac ggc acc cag gct gcc ggc      816
Gln Ala Ala Asn Asp Tyr Leu Val Lys Asn Gly Thr Gln Ala Ala Gly
260     265     270
gtg atc aac tgg tcg tac tgg atg aac aat gog gat gcc gac ccc aac      864
Val Ile Asn Trp Ser Tyr Trp Met Asn Asn Ala Asp Ala Asp Pro Asn
275     280     285
aac ccg gtc atc atc ttc tac atc atc cag gag gga gtg aag acc gtc      912
Asn Pro Val Ile Ile Phe Tyr Ile Ile Gln Glu Gly Val Lys Thr Val
290     295     300
gat tcc gtc tac acc gcg cct ttc cgc aag atc ggt ccc att tct gtg      960
Asp Ser Val Tyr Thr Ala Pro Phe Arg Lys Ile Gly Pro Ile Ser Val
305     310     315     320
tcc ccc aac aac ggc aca tac aag gat ctc gcc gca tgg act gag gtt      1008
Ser Pro Asn Asn Gly Thr Tyr Lys Asp Leu Ala Ala Trp Thr Glu Val
325     330     335
gct gtc gac tcc gcc ccc tgc cag aag atg ggt atg gcc aac ccc cgt      1056
Ala Val Asp Ser Ala Pro Cys Gln Lys Met Gly Met Ala Asn Pro Arg
340     345     350
tac ccg atc tac ctc gaa acg tac aac gtc act gcc cag cag aag gca      1104
Tyr Pro Ile Tyr Leu Glu Thr Tyr Asn Val Thr Ala Gln Gln Lys Ala

```

[0010]

355	360	365	
tgg gac gtc tac gcg aat gct acc cgt ggc ttt tgc gcg ttc aac aac			1152
Trp Asp Val Tyr Ala Asn Ala Thr Arg Gly Phe Ser Ala Phe Asn Asn			
370	375	380	
tcc atc ttc atg ttc gag gga tac tca gtt ggc ggc gtg cac gat gtt			1200
Ser Ile Phe Met Phe Glu Gly Tyr Ser Val Gly Gly Val His Asp Val			
385	390	395	400
gat agc cgg tcg agc gct ttt gcc ttc cgt aat gaa aac gtg ctg gct			1248
Asp Ser Arg Ser Ser Ala Phe Ala Phe Arg Asn Glu Asn Val Leu Ala			
405	410	415	
gct ccc atg atc aac tac tac cct gat ggc gcc gaa ctt gat cgc cgc			1296
Ala Pro Met Ile Asn Tyr Tyr Pro Asp Gly Ala Glu Leu Asp Arg Arg			
420	425	430	
ggg gct aac ttg ggt cag gag ctg cgc aac att ctc ttt gct ggt act			1344
Gly Ala Asn Leu Gly Gln Glu Leu Arg Asn Ile Leu Phe Ala Gly Thr			
435	440	445	
gac cac gag gat atc cgc gcg tat gtc aac tat gcc cat ggt gat gag			1392
Asp His Glu Asp Ile Arg Ala Tyr Val Asn Tyr Ala His Gly Asp Glu			
450	455	460	
act ccc cag cag ttg tat ggt agc gag ggg tgg cgt cag cag cgt ctg			1440
Thr Pro Gln Gln Leu Tyr Gly Ser Glu Gly Trp Arg Gln Gln Arg Leu			
465	470	475	480
cgg tcc ctg aag gcc aag tat gac cct acg ggc aag ttc agc tac tac			1488
Arg Ser Leu Lys Ala Lys Tyr Asp Pro Thr Gly Lys Phe Ser Tyr Tyr			
485	490	495	
gca cct att cct tga			1503
Ala Pro Ile Pro			
500			
<p><210> 009 <211> 1995 <212> DNA <213> <i>Aspergillus niger</i></p>			
<p><220> <221> CDS <222> (1).. (1995)</p>			
<p><400> 009</p>			
atg ctc tca act ata aca tct ttc ctc atc ctt ctg ttc ttt gtt acc			48
Met Leu Ser Thr Ile Thr Ser Phe Leu Ile Leu Leu Phe Phe Val Thr			
1	5	10	15
aca gtc tcc gcc tat ccc ttc gag gag aac tcc ttt cct cgt ctc cag			96
Thr Val Ser Ala Tyr Pro Phe Glu Glu Asn Ser Phe Pro Arg Leu Gln			
20	25	30	
gat act tta gcc act ggc acc aaa ccc ggt gac ccc ccc aaa ttc ggt			144
Asp Thr Leu Ala Thr Gly Thr Lys Pro Gly Asp Pro Pro Lys Phe Gly			
35	40	45	
ggt ggg tat gac tac gtc gta gtg ggc ggt ggc aca acc ggg ctc cta			192
Gly Gly Tyr Asp Tyr Val Val Val Gly Gly Gly Thr Thr Gly Leu Leu			
50	55	60	
gta gcc agt cgg cta gca aag gca gga aac tca gtc gcc gtt atc gaa			240
Val Ala Ser Arg Leu Ala Lys Ala Gly Asn Ser Val Ala Val Ile Glu			
65	70	75	80
aac ggc aca tac cct act ggg aat ttg act aca gtg cca ggg tac aat			288
Asn Gly Thr Tyr Pro Thr Gly Asn Leu Thr Thr Val Pro Gly Tyr Asn			
85	90	95	
gag cag tgg ttt agc agg gtg ttg cgg tcg aat tgg acg gat atg gtg			336
Glu Gln Trp Phe Ser Arg Val Leu Pro Ser Asn Trp Thr Asp Met Val			
100	105	110	
aat gtg tgg cct act gtg cag cag gtg gga ggg gga gag cag cag cat			384
Asn Val Trp Pro Thr Val Gln Gln Val Gly Gly Gly Glu Gln Gln His			
115	120	125	
atg atg ggg aga atg cct ttg tta tgg tta tgt ctg ata gaa ttg cag			432
Met Met Gly Arg Met Pro Leu Leu Trp Leu Cys Leu Ile Glu Leu Gln			
130	135	140	
atc gga ggg agc cag ggc ttt acc ttt gtc gat tac ttc cgc act act			480
Ile Gly Gly Ser Gln Gly Phe Thr Phe Val Asp Tyr Phe Arg Thr Thr			
145	150	155	160
aag ggg gct atg aaa aga tgg gct gac gaa act ggc gat gat tcc tgg			528
Lys Gly Ala Met Lys Arg Trp Ala Asp Glu Thr Gly Asp Asp Ser Trp			
165	170	175	
act tgg gag aat gtc cag caa tac tat aaa aag tca ttc aaa ttc aca			576
Thr Trp Glu Asn Val Gln Gln Tyr Tyr Lys Lys Ser Phe Lys Phe Thr			
180	185	190	

[0011]

cca ccg aac aat acc gca aga cca tcg aat gcc aca ccg gac tat gag Pro Pro Asn Asn Thr Ala Arg Pro Ser Asn Ala Thr Pro Asp Tyr Glu	624
195 200 205	
tca agt caa atc gtt ggt tct acg cct ggg cca cta gaa ctc acc ttc Ser Ser Gln Ile Val Gly Ser Thr Pro Gly Pro Leu Glu Leu Thr Phe	672
210 215 220	
ccc aaa tat gcc cag gca ttt ggt agc tgg gtt aaa ctt ggt ctc aac Pro Lys Tyr Ala Gln Ala Phe Gly Ser Trp Val Lys Leu Gly Leu Asn	720
225 230 235	240
gaa tta aaa gct ggt atc aat cga gtc ttt gtc gag ggc gat atc aaa Glu Leu Lys Ala Gly Ile Asn Arg Val Phe Val Glu Gly Asp Ile Lys	768
245 250 255	
ggt gcc agt tgg atc tta aat atg atc gat tgc caa acg ggc aat cgc Gly Ala Ser Trp Ile Leu Asn Met Ile Asp Ser Gln Thr Gly Asn Arg	816
260 265 270	
gcc aca aca tat aca gct ttc ttg gaa cca aca cag aaa gat gac acg Ala Thr Thr Tyr Thr Ala Phe Leu Glu Pro Thr Gln Lys Asp Asp Thr	864
275 280 285	
tcg aag att gac gtg tat gtg gag acg ctg gcc gag aga act ttg tca Ser Lys Ile Asp Val Tyr Val Glu Thr Leu Ala Glu Arg Thr Leu Ser	912
290 295 300	
aac act ccc cct gcc agc gac ccc gta acc atc gga gtc tta gtg aaa Asn Thr Pro Pro Gly Ser Asp Pro Val Thr Ile Gly Val Leu Val Lys	960
305 310 315	320
cgg tgg gcc atg aga ttt ccg ata ttc gca ggg aaa gaa gta atc cta Arg Trp Gly Met Arg Phe Pro Ile Phe Ala Gly Lys Glu Val Ile Leu	1008
325 330 335	
gct gga gga ccc ata ctt act cct caa ttt ctc atg gtg tct ggt atc Ala Gly Gly Pro Ile Leu Thr Pro Gln Phe Leu Met Val Ser Gly Ile	1056
340 345 350	
ggt cct cag gat cac ctg cag gag atg aac att aca gtc cta gct aat Gly Pro Gln Asp His Leu Gln Glu Met Asn Ile Thr Val Leu Ala Asn	1104
355 360 365	
aga ccg gga gtc ggc cag aac tac aac gat cat att ctc ttc ggc gtc Arg Pro Gly Val Gly Gln Asn Tyr Asn Asp His Ile Leu Phe Gly Val	1152
370 375 380	
aag cac gca gta caa gtg gag aca aca tcg gtg ctc ctc aac gat acc Lys His Ala Val Gln Val Glu Thr Thr Ser Val Leu Leu Asn Asp Thr	1200
385 390 395	400
agg aag tgg caa gag tgc gaa aga ttc aaa gct cac gca aat ggc atg Arg Lys Trp Gln Glu Cys Glu Arg Phe Lys Ala His Ala Asn Gly Met	1248
405 410 415	
ctg gcc gat ccg ggc ccg gat ttc gcc gcc ttt gtc gat tac ccg gaa Leu Ala Asp Pro Gly Pro Asp Phe Ala Ala Phe Val Asp Tyr Pro Glu	1296
420 425 430	
gat att cgc caa aac ctg tct gcc cag act aaa tca ggt aat ttg tgg Asp Ile Arg Gln Asn Leu Ser Ala Gln Thr Lys Ser Gly Asn Leu Trp	1344
435 440 445	
cct tgt gtc tct cgt ggt tcc gtt gtg cct aat aat atg att cta gat Pro Cys Val Ser Arg Gly Ser Val Val Pro Asn Asn Met Ile Leu Asp	1392
450 455 460	
ctc tcc caa ttc ccc tct gac tgg cca gat atc ggt atc gta tct tct Leu Ser Gln Phe Pro Ser Asp Trp Pro Asp Ile Gly Ile Val Ser Ser	1440
465 470 475	480
cca ctc ggc gtc aat ggc gac ggc aat cac aac tat gca gac ctc gtc Pro Leu Gly Val Asn Gly Asp Gly Asn His Asn Tyr Ala Asp Leu Val	1488
485 490 495	
tgc atc cct atg aag ccc ata tcc aag gga act att aaa ctc aga tct Cys Ile Pro Met Lys Pro Ile Ser Lys Gly Thr Ile Lys Leu Arg Ser	1536
500 505 510	
aag tcc atg gat gat aag cct gtg ctg gat ccg caa tgg ctt aaa tct Lys Ser Met Asp Asp Lys Pro Val Leu Asp Pro Gln Trp Leu Lys Ser	1584
515 520 525	
ccg aca gac atg gat act gcc gtc gcc ggt ctg cag tac ctt ctg cgc Pro Thr Asp Met Asp Thr Ala Val Ala Gly Leu Gln Tyr Leu Leu Arg	1632
530 535 540	
ctc tat gga acg aac agc atg aag ccc atc tta aat gcc tcg ggt aaa Leu Tyr Gly Thr Asn Ser Met Lys Pro Ile Leu Asn Ala Ser Gly Lys	1680
545 550 555	560
cct atc gat cta gaa agt tct aac aag gac gac ctc att aag tat gtg Pro Ile Asp Leu Glu Ser Ser Asn Lys Asp Asp Leu Ile Lys Tyr Val	1728
565 570 575	
aaa aac aac tat cga acg ttg aat cac caa tct gca tcg tgc cga atg Lys Asn Asn Tyr Arg Thr Leu Asn His Gln Ser Ala Ser Cys Arg Met	1776
580 585 590	

[0012]

gga aag cga gac gat cct atg gcc gtg gtg gat agt aag ggc aag gta Gly Lys Arg Asp Asp Pro Met Ala Val Val Asp Ser Lys Gly Lys Val 595 600 605	1824
atc gga gtt gat aga ttg aga att gct gac ccg tcc gcc tgg cct ttc Ile Gly Val Asp Arg Leu Arg Ile Ala Asp Pro Ser Ala Trp Pro Phe 610 615 620	1872
ttg cca cgc gga ttt ccg tta ggc act gcc tat atg ttt gcg gag aag Leu Pro Ala Gly Phe Pro Leu Gly Thr Ala Tyr Met Phe Ala Glu Lys 625 630 635 640	1920
ata gcc gat aac atc ctc agt gat cat gga agt gac aag gat gag gat Ile Ala Asp Asn Ile Leu Ser Asp His Gly Ser Asp Lys Asp Glu Asp 645 650 655	1968
gag gat gag ctg cga gtg gaa ctc tag Glu Asp Glu Leu Arg Val Glu Leu 660	1995
<p><210> 010 <211> 1578 <212> DNA <213> Aspergillus niger</p>	
<p><220> <221> CDS <222> (1).. (1578)</p>	
<p><400> 010</p>	
atg ata gct gct gct ctt ctt ctg gct gca gtg gcc cct gtc ctg gca Met Ile Ala Ala Ala Leu Leu Leu Ala Ala Val Ala Pro Val Leu Ala 1 5 10 15	48
gcc cca aac acc gac gca gtg tct gtt tgc cag cac cta cac acg gtt Ala Pro Asn Thr Asp Ala Val Ser Val Cys Gln His Leu His Thr Val 20 25 30	96
tac ccc cag tac acc gtc tgg gac ccc aca ggc acc tac gca act gaa Tyr Pro Gln Tyr Thr Val Trp Asp Pro Thr Gly Thr Tyr Ala Thr Glu 35 40 45	144
aca ttc tgg aat cag tct tac tac aac aat gca gtc aag gaa tac tgg Thr Phe Trp Asn Gln Ser Tyr Tyr Asn Asn Ala Val Lys Glu Tyr Trp 50 55 60	192
aac ggc gtg aat gct gac aac cgt ccg gcc tgc gcc ttt ttc cct gca Asn Gly Val Asn Ala Asp Asn Arg Pro Ala Cys Ala Phe Phe Pro Ala 65 70 75 80	240
aac gcg caa cat gtc tcc gtc gca att cag cag ctg aac aaa tat ccc Asn Ala Gln His Val Ser Val Ala Ile Gln Gln Leu Asn Lys Tyr Pro 85 90 95	288
act gca ccc ttt gca ttg aaa gga ggc ggt cac aat ttc aat gtg gga Thr Ala Pro Phe Ala Leu Lys Gly Gly Gly His Asn Phe Asn Val Gly 100 105 110	336
ctc tca agt acc aac ggg ggg gtc ctt atc tcg ttc aat gag aac ctg Leu Ser Ser Thr Asn Gly Gly Val Leu Ile Ser Phe Asn Glu Asn Leu 115 120 125	384
tcc tca acc acg cgt aac tca gac ggc cag act ttc gac gtc ggc cct Ser Ser Thr Thr Arg Asn Ser Asp Gly Gln Thr Phe Asp Val Gly Pro 130 135 140	432
gga gcc cga tgg ggc gat gtc tac gct gtc acg gag aag acg aac cag Gly Ala Arg Trp Gly Asp Val Tyr Ala Val Thr Glu Lys Thr Asn Gln 145 150 155 160	480
gtc gtc gta ggc ggc cga ttg gct aat atc ggc gtg gca gga ttc acg Val Val Val Gly Gly Arg Leu Ala Asn Ile Gly Val Ala Gly Phe Thr 165 170 175	528
att gga ggg gga ttg tca tac tac tca gct caa tat ggc tta tcc tgc Ile Gly Gly Gly Leu Ser Tyr Tyr Ser Ala Gln Tyr Gly Leu Ser Cys 180 185 190	576
gac aac gtg gtc aag ttc gaa gta gtc cta gca aac ggc acc atc gtc Asp Asn Val Val Lys Phe Glu Val Val Leu Ala Asn Gly Thr Ile Val 195 200 205	624
aac gcg aac agc acc tct aat cca gac ctc tgg tgg gcc ttg cgc ggc Asn Ala Asn Ser Thr Ser Asn Pro Asp Leu Trp Trp Ala Leu Arg Gly 210 215 220	672
ggc ggc aac cgc tat ggc atc gtt acc aag ttc aca tac cag ggt cac Gly Gly Asn Arg Tyr Gly Ile Val Thr Lys Phe Thr Tyr Gln Gly His 225 230 235 240	720
cca ctc ggc gac aac ggg caa gtc tgg ggc ggc att cgc ttt tac agc Pro Leu Gly Asp Asn Gly Gln Val Trp Gly Gly Ile Arg Phe Tyr Ser 245 250 255	768
gcc gac aaa cgc cag caa atc ttt gaa gct ctc tcc aac ttc aca agt	816

[0013]

Ala Asp Lys Arg Gln Gln Ile Phe Glu Ala Leu Ser Asn Phe Thr Ser	
260 265 270	
gaa tac ccg gac gcc aaa gcc gcc gtc atc cca acc ttc gac ttt ggc	864
Glu Tyr Pro Asp Ala Lys Ala Ala Val Ile Pro Thr Phe Asp Phe Gly	
275 280 285	
ttg cct gga gcg ata gtc tcc aac cca gcc gtt ttc ttc tac gat	912
Leu Pro Gly Ala Ile Val Ser Asn Pro Ala Val Phe Phe Phe Tyr Asp	
290 295 300	
gga gcg aag ccc agc act aac gcc ttc gtc gga ctc gac aac atc gaa	960
Gly Ala Lys Pro Ser Thr Asn Ala Phe Val Gly Leu Asp Asn Ile Glu	
305 310 315 320	
gcc ctt atc gac tct act aag acc acc acc tac acc gat cta acg aac	1008
Ala Leu Ile Asp Ser Thr Lys Thr Thr Thr Tyr Thr Asp Leu Thr Asn	
325 330 335	
gaa gca ggc gga gcc aag atc tac gcc atc aac gct gcc att cgt gtc	1056
Glu Ala Gly Gly Ala Lys Ile Tyr Ser Gln Met Thr Gln Ala Ala Ile Arg Val	
340 345 350	
aac aca ttc ccc aac atg ccg tcc cag cag atg acc caa ctg ctt gaa	1104
Asn Thr Phe Pro Asn Met Pro Ser Gln Gln Met Thr Gln Leu Leu Glu	
355 360 365	
aac cac tgg act acc tac cag tcc atg atc aag aac gat tcc tcc aag	1152
Asn His Trp Thr Thr Tyr Gln Ser Met Ile Lys Asn Asp Ser Ser Lys	
370 375 380	
aac ttg gac atc cag atc gcc aca ttt acc ccg caa ccg cta tca gtg	1200
Asn Leu Asp Ile Gln Ile Gly Thr Phe Thr Pro Gln Pro Leu Ser Val	
385 390 395 400	
cgc att gct cgt gct tcc aac aag gcc gcc ggt aat gct ctc gcc ctg	1248
Arg Ile Ala Arg Ala Ser Asn Lys Ala Gly Gly Asn Ala Leu Gly Leu	
405 410 415	
gac cct gcg aac ggt gat cgt gtc tgg att gag aat gac ttg atc tgg	1296
Asp Pro Ala Asn Gly Asp Arg Val Trp Ile Glu Asn Asp Leu Ile Trp	
420 425 430	
ggt aat ccg gtt tgc aat gat gct tgt ccg gag tat ctg cgc cag gtg	1344
Val Asn Pro Val Cys Asn Asp Ala Cys Pro Glu Tyr Leu Arg Gln Val	
435 440 445	
ggt gat act gtg aag gag gca ttt aat aac acg ctg ttg gga act aag	1392
Gly Asp Thr Val Lys Glu Ala Phe Asn Asn Thr Leu Leu Gly Thr Lys	
450 455 460	
ccg acg aat tat caa tcg ggt gat gtg gat tgg atc tcc tct aat cct	1440
Pro Thr Asn Tyr Gln Ser Gly Asp Val Asp Trp Ile Ser Ser Asn Pro	
465 470 475 480	
ctc ttc atg aac gat gcc gac tac caa gac gta tat ggc agt tat	1488
Leu Phe Met Asn Asp Ala Ala Asp Tyr Gln Asp Val Tyr Gly Ser Tyr	
485 490 495	
ggg cca acg aat aag gcg cga ctg gcg agc att gct aag gcg tat gat	1536
Gly Pro Thr Asn Lys Ala Arg Leu Ala Ser Ile Ala Lys Ala Tyr Asp	
500 505 510	
ccg acg ggt ttc atg ttc cgt cag gcc gga tgg tcc ttt tga	1578
Pro Thr Gly Phe Met Phe Arg Gln Gly Gly Trp Ser Phe	
515 520 525	
<210> O11	
<211> 1656	
<212> DNA	
<213> Aspergillus niger	
<220>	
<221> CDS	
<222> (1)..(1656)	
<400> O11	
atg aag gtc tcc agt gcg gca gtc cct gtt ctc agc att ctg ccc gag	48
Met Lys Val Ser Ser Ala Ala Val Pro Val Leu Ser Ile Leu Pro Glu	
1 5 10 15	
gcc agc ctc ggg ctt ggc tct acg caa ctt tgt tgc gcc gct ctg caa	96
Ala Ser Leu Gly Leu Gly Ser Thr Gln Leu Cys Cys Ala Ala Leu Gln	
20 25 30	
gcg acc tcc ctg cgt aat caa gtc ctt tac cct acc agc gct gca tac	144
Ala Thr Ser Leu Arg Asn Gln Val Leu Tyr Pro Thr Ser Ala Ala Tyr	
35 40 45	
aat gag tcc gtg gca tct tac ttt gcg gtc aat gtt cag ctc gac cct	192
Asn Glu Ser Val Ala Ser Tyr Phe Ala Val Asn Val Gln Leu Asp Pro	
50 55 60	
acg tgt att gta cag cca cac tct aca gag gat gtc tcg ctc att gtc	240
Thr Cys Ile Val Gln Pro His Ser Thr Glu Asp Val Ser Leu Ile Val	

[0014]

65	tcg act ctg acc caa acc ggc gaa aca caa tgc cca ttt gcc gtg cgc	70	acc ggc gaa aca caa tgc cca ttt gcc gtg cgc	75	cca ttt gcc gtg cgc	80	gtg cgc	288
Ser Thr Leu Thr	Gln Thr Gly Glu Thr	Gln Thr Gly Glu Thr	Gln Thr Gly Glu Thr	Gln Cys Pro Phe Ala Val Arg	Val Arg	Val Arg		
		85	90	95				
agt ggt ggt cat acc acc tgg cct ggt gca gcg gat atc gga cag ggt	Ser Gly Gly His Thr Thr Trp Pro Gly Ala Ala Asp Ile Gly Gln Gly	100	105	110				336
ggt acc att gat ttg tcc atg atg aac agc acc aca tac cac aag gac	Val Thr Ile Asp Leu Ser Met Met Asn Ser Thr Thr Tyr His Lys Asp	115	120	125				384
aaa ggc gtt gca tct atc cag ccg ggt gcg cgc tgg cag cgc gtc tac	Lys Gly Val Ala Ser Ile Gln Pro Gly Ala Arg Trp Gln Ala Val Tyr	130	135	140				432
aag gct ctt gat cag tac gga gtc aca gta cct ggc gga cgc ggc gga	Lys Ala Leu Asp Pro Tyr Gly Val Thr Val Pro Gly Gly Arg Gly Gly	145	150	155				480
cca gtt ggc gtg ggt ggg ttc ttg atc gga ggt gga aac acc ttc tac	Pro Val Gly Val Gly Gly Phe Leu Ile Gly Gly Gly Asn Thr Phe Tyr	165	170	175				528
acc gct cgt gta ggc ttc gca tgt gat aat atc gag aac ttt gaa gtc	Thr Ala Arg Val Gly Phe Ala Cys Asp Asn Ile Glu Asn Phe Glu Val	180	185	190				576
gtt ctt gcc agt gga tgc atc gtc aat gcc aac cgg act agc cat cct	Val Leu Ala Ser Gly Ser Ile Val Asn Ala Asn Arg Thr Ser His Pro	195	200	205				624
gat ctg tac aag gcg ctg aag ggt ggc tgc atc aac ttt gga gtt gtt	Asp Leu Tyr Lys Ala Leu Lys Gly Gly Ser Ile Asn Phe Gly Val Val	210	215	220				672
aca aag tat gac ctc aag acg ttg cct cat gat atg ctt tgg ggt gga	Thr Lys Tyr Asp Leu Lys Thr Leu Pro His Asp Met Leu Trp Gly Gly	225	230	235				720
ctg gtc gtc tat gat aat tca acc acc gcc cgg cag ctc tgc gcc gct	Leu Val Val Tyr Asp Asn Ser Thr Thr Ala Arg Gln Leu Ser Ala Ala	245	250	255				768
gtg aac ttt acc aac aac atc cac aat gac cca tac gca tcc tgg att	Val Asn Phe Thr Asn Asn Ile His Asn Asp Pro Tyr Ala Ser Trp Ile	260	265	270				816
ggg atg tgg gaa tac agc tcg aca acg gga cag aac atc att gcc gat	Gly Met Trp Glu Tyr Ser Ser Thr Thr Gly Gln Asn Ile Ile Ala Asp	275	280	285				864
gcc ttg gaa tac acc aag cct gtt gcc ttt gct cct gca ttc cat gaa	Ala Leu Glu Tyr Thr Lys Pro Val Ala Phe Ala Pro Ala Phe His Glu	290	295	300				912
ttt acg agt att cca aac acc gac acg atg cgt ttt gct acg att	Phe Thr Ser Ile Pro Asn Thr Thr Asp Thr Met Arg Phe Ala Thr Ile	305	310	315				960
tac aac ctg aca caa gag ctg gtt cag gcg cgc ggc tac cgt gat gtt	Tyr Asn Leu Thr Gln Glu Leu Val Gln Ala Ala Gly Tyr Arg Asp Val	325	330	335				1008
ttc acc acc ggc acg tac aag aac gac gtc aaa gtc ctt cgc aag gcg	Phe Thr Thr Gly Thr Tyr Lys Asn Asp Val Lys Val Leu Arg Lys Ala	340	345	350				1056
atc gac ctt cac aac aac aac att gaa aag gcc aag gct cat gtc aag	Ile Asp Leu His Asn Asn Asn Ile Glu Lys Ala Lys Ala His Val Lys	355	360	365				1104
agt gac tac tgg gcc atg gat acc atc atc cag ccc tgg ccc aag ctt	Ser Asp Tyr Trp Ala Met Asp Thr Ile Ile Gln Pro Trp Pro Lys Leu	370	375	380				1152
ttc gct cag cac agc gtg gag aag ggt ggc aac gtt ctg ggt ttg gaa	Phe Ala Gln His Ser Val Glu Lys Gly Gly Asn Val Leu Gly Leu Glu	385	390	395				1200
cgg ttt gac gag aac ctg atc caa ata cta ttc gac tac tcc tgg gat	Arg Phe Asp Glu Asn Leu Ile Gln Ile Leu Phe Asp Tyr Ser Trp Asp	405	410	415				1248
gat gca agg gac gac gat ctc ttc atc ggc ctt ggc cag tgc atc ctg	Asp Ala Arg Asp Asp Asp Leu Phe Ile Gly Leu Gly Gln Ser Ile Leu	420	425	430				1296
gag gag gtt ggt gaa tac gcc aaa tcg att ggg gcg cac aat gag tac	Glu Glu Val Gly Glu Tyr Ala Lys Ser Ile Gly Ala His Asn Glu Tyr	435	440	445				1344
atc tat ctc aat tat gcc gac aag tcg cag aac cct ctc aag ggc tat	Ile Tyr Leu Asn Tyr Ala Asp Lys Ser Gln Asn Pro Leu Lys Gly Tyr	450	455	460				1392
ggc gag gag aat gtt gag ttc atc tcc cgc gtg gcc aag cag tac gat	Gly Glu Glu Asn Val Glu Phe Ile Ser Arg Val Ala Lys Gln Tyr Asp							1440

[0015]

465	cca gat gga gtg ttt cag tgc ctt ttt aaa ttt gcg gcg cag tca acc	470	475	480	1488
	Pro Asp Gly Val Phe Gln Cys Leu Phe Lys Phe Ala Ala Gln Ser Thr				
		485	490	495	
	cgc atc gcg gtg gag ccg ata atg aag cca gca cga gcc gtt tca acg				1536
	Arg Ile Ala Val Glu Pro Ile Met Lys Pro Ala Arg Ala Val Ser Thr				
		500	505	510	
	cga tcc gaa cta gca cgg tct aat cgt tcg cct ctt ggg gct cta cca				1584
	Arg Ser Glu Leu Ala Arg Ser Asn Arg Ser Pro Leu Gly Ala Leu Pro				
		515	520	525	
	ccg atc ctt tcc act cct ccc gcc gtc tct cgg gcc tet gga cgg cca				1632
	Pro Ile Leu Ser Thr Pro Pro Ala Val Ser Arg Ala Ser Gly Arg Pro				
		530	535	540	
	ggc ttt ggc ccg gac gac ggc tag				1656
	Gly Phe Gly Pro Asp Asp Gly				
	545	550			
<p><210> 012 <211> 1662 <212> DNA <213> Aspergillus niger</p>					
<p><220> <221> CDS <222> (1).. (1662)</p>					
<p><400> 012</p>					
	atg gtc aat ctt gcc tat att ctg ggt gcc gtt gcg gtt ttt tca aca				48
	Met Val Asn Leu Ala Tyr Ile Leu Gly Ala Val Ala Val Phe Ser Thr				
	1	5	10	15	
	tcg gga acc gct gca gac gtt tct cta tct tcc tet gtt gct gct tcc				96
	Ser Gly Thr Ala Ala Asp Val Ser Leu Ser Ser Ser Val Ala Ala Ser				
		20	25	30	
	acg acc cca tca gct gcc ggt tct ctt tcc tcg ctg gcc ctt tct ctc				144
	Thr Thr Pro Ser Ala Ala Gly Ser Leu Ser Ser Leu Gly Leu Ser Leu				
		35	40	45	
	cca gcc ggc aat gtg ctc gtc ggg aat gtg ggg tac acc tgc aat ctg				192
	Pro Ala Gly Asn Val Leu Val Gly Asn Val Gly Tyr Thr Cys Asn Leu				
		50	55	60	
	ctg agt cgt aca ttt cca aag aat gag acc ttt acc gcc agc tca ccc				240
	Leu Ser Arg Thr Phe Pro Lys Asn Glu Thr Phe Thr Ala Ser Ser Pro				
		65	70	75	
	tac tat gag gct cta att gat gag acc tgg tca ggg aac agc gcg ctg				288
	Tyr Tyr Glu Ala Leu Ile Asp Glu Thr Trp Ser Gly Asn Ser Arg Leu				
		85	90	95	
	aac gcg tcc tgc att gtg acg ccc aga tct gct cag gag gtt tcg ctt				336
	Asn Ala Ser Cys Ile Val Thr Pro Arg Ser Ala Gln Glu Val Ser Leu				
		100	105	110	
	gtc atc caa atc ctt agt att ctg gag acc aaa ttc tcc att cgc tcg				384
	Val Ile Gln Ile Leu Ser Ile Leu Glu Thr Lys Phe Ser Ile Arg Ser				
		115	120	125	
	ggc ggg cac agt tcc aat cca ggg ttc agt tcg att ggt agc aac gga				432
	Gly Gly His Ser Ser Asn Pro Gly Phe Ser Ser Ile Gly Ser Asn Gly				
		130	135	140	
	gtg cta gtt gcg ctt gga agg ttg aac aca ctc tcg atc agc gcg gac				480
	Val Leu Val Ala Leu Gly Arg Leu Asn Thr Leu Ser Ile Ser Ala Asp				
		145	150	155	
	cgg aag acc ctc act gtt gga ccg gcc aat cgc tgg gaa gcc gtg tac				528
	Arg Lys Thr Leu Thr Val Gly Pro Gly Asn Arg Trp Glu Ala Val Tyr				
		165	170	175	
	caa tat ctg gag cag tac aat ctg acc gta ctc ggg ggg cga gag ccc				576
	Gln Tyr Leu Glu Gln Tyr Asn Leu Thr Val Leu Gly Gly Arg Glu Pro				
		180	185	190	
	ggt gtg gga gtt ggt ggc ttc gtc ctg ggg ggt ggt ctt agt ctc ttc				624
	Val Val Gly Val Gly Gly Phe Val Leu Gly Gly Gly Leu Ser Leu Phe				
		195	200	205	
	tat aac acc aat ggt ctg gcc att gac acg gtc acc cga ttc cag gtg				672
	Tyr Asn Thr Asn Gly Leu Ala Ile Asp Thr Val Thr Arg Phe Gln Val				
		210	215	220	
	gta acc ccc aat ggg acc atc gtc aac gct acc caa acc gag cat gcc				720
	Val Thr Pro Asn Gly Thr Ile Val Asn Ala Thr Gln Thr Glu His Ala				
		225	230	235	
	gat cta tac aag ggg ctg aaa gga ggt ctg aac aac ttt ggc atc gtg				768
	Asp Leu Tyr Lys Gly Leu Lys Gly Gly Leu Asn Asn Phe Gly Ile Val				
		245	250	255	

[0016]

gtg gaa tac gac ctc acc acc aat acc ggc atc gat gtc tgg ttc gag 816
 Val Glu Tyr Asp Leu Thr Thr Asn Thr Gly Ile Asp Val Trp Phe Glu
 260 265 270

gtc aag aac tat acc ctc gct gag act ccc gca ctg ctt gct gcc tac 864
 Val Lys Asn Tyr Thr Leu Ala Glu Thr Pro Ala Leu Leu Ala Ala Tyr
 275 280 285

gca gca tat ctc caa aat gcc gat atc cgc agc aat gtc gag att cag 912
 Ala Ala Tyr Leu Gln Asn Ala Asp Ile Arg Ser Asn Val Glu Ile Gln
 290 295 300

acg aat cca gca tat aca cta gtc ttc tac gga tat ctc gac cat gtg 960
 Thr Asn Pro Ala Tyr Thr Leu Val Phe Tyr Gly Tyr Leu Asp His Val
 305 310 315 320

tca gcg cca tcc gcc ttt aat gct ttc tcc caa gtc ccg tcg gtc tcc 1008
 Ser Ala Pro Ser Ala Phe Asn Ala Phe Ser Gln Val Pro Ser Val Ser
 325 330 335

act gtt tat cct cct acc aat gcc tcc cta aat caa gtc ctc ctc gac 1056
 Thr Val Tyr Pro Pro Thr Asn Ala Ser Leu Asn Gln Val Leu Leu Asp
 340 345 350

att ggc aat gcc ggt gtg gtt ggc tca tta tat acc tat agc att tct 1104
 Ile Gly Asn Ala Gly Val Val Gly Ser Leu Tyr Thr Tyr Ser Ile Ser
 355 360 365

ttt gcc ttc aag gtt acc agc ccc agc ttt ctc cag gaa agc ttc aag 1152
 Phe Ala Phe Lys Val Thr Ser Pro Ser Phe Leu Gln Glu Ser Phe Lys
 370 375 380

gcc tac ctt aaa act gcc gca tcc ctc ctg cct ttg ggc gta ata ctc 1200
 Ala Tyr Leu Lys Thr Ala Ala Ser Leu Leu Pro Leu Gly Val Ile Leu
 385 390 395 400

gag tac gtg cct cag gcc atc atc cca aac cta gtt acc aaa agc cag 1248
 Glu Tyr Val Pro Gln Gly Ile Ile Pro Asn Leu Val Thr Lys Ser Gln
 405 410 415

acc cag aat ggt ggt aat ttg ttt ggc ctg gag gcc aca cct caa gtt 1296
 Thr Gln Asn Gly Gly Asn Leu Phe Gly Leu Glu Ala Thr Pro Gln Val
 420 425 430

tgg ggg gag atc ttt gcc caa ttc ccc gcc acg gtt agt cag tca acg 1344
 Trp Gly Glu Ile Phe Ala Gln Phe Pro Ala Thr Val Ser Gln Ser Thr
 435 440 445

gta gcc aac gcc gtg gaa tct ctt cta gcc aac ctt acc tcc agc gcc 1392
 Val Ala Asn Ala Val Glu Ser Leu Leu Ala Asn Leu Thr Ser Ser Ala
 450 455 460

cag tct cag agt gtt cat ctt cct tac att ttc gcc aat gat gct ggc 1440
 Gln Ser Gln Ser Val His Leu Pro Tyr Ile Phe Ala Asn Asp Ala Gly
 465 470 475 480

cct aat cag cag gtc ctg cga gga tat ggt gaa gac aat gtc aag tat 1488
 Pro Asn Gln Gln Val Leu Arg Gly Tyr Gly Glu Asp Asn Val Lys Tyr
 485 490 495

att gcc gcc gtt gct gag agg ggt gat cct tct gct tcc ata cca ccg 1536
 Ile Ala Ala Val Ala Glu Arg Gly Asp Pro Ser Ala Ser Ile Pro Pro
 500 505 510

gtc gtc act tct tgg gcg caa atg acg agg gag acg gga ggt ttg acc 1584
 Val Val Thr Ser Trp Ala Gln Met Thr Arg Glu Thr Gly Gly Leu Thr
 515 520 525

tca gtc tgg gag tca gca aat act aca agt agt cat gcg tta atg tct 1632
 Ser Val Trp Glu Ser Ala Asn Thr Thr Ser Ser His Ala Leu Met Ser
 530 535 540

caa tta tcc agc ctc cat gtt ggg ttt tag 1662
 Gln Leu Ser Ser Leu His Val Gly Phe
 545 550

<210> 013
 <211> 570
 <212> PRT
 <213> Aspergillus niger

<400> 013
 Met Lys Ala Ser Trp Ser Phe Ala Ala Ser Val Ala Ala Leu Ala Ser
 1 5 10 15
 Lys Ala Val Ala Ser Ser Asp Cys His Cys Leu Pro Gly Asp Ser Cys
 20 25 30
 Trp Pro Ser Thr Ser Ser Trp Asp Ser Leu Asn Asn Thr Val Gly Gly
 35 40 45
 Arg Leu Val Ala Thr Val Pro Ile Gly Thr Pro Cys His Asp Pro Asn
 50 55 60
 Tyr Asn Gly Ala Glu Cys Thr Asn Leu Gln Asp Asp Trp Tyr Tyr Pro
 65 70 75 80
 Gln Thr His Leu Val Ser Ser Ser Val Met Gln Pro Tyr Phe Ala

[0017]

```

      85          90          95
Asn Gln Ser Cys Asp Pro Phe Gln Pro Glu Ser Arg Pro Cys Leu Leu
      100      105      110
Gly Asn Tyr Val Ser Tyr Ala Val Asn Val Ser Thr Thr Asp Asp Val
      115      120      125
Val Ala Ala Val Lys Phe Ala Gln Glu Asn Asn Ile Arg Leu Val Ile
      130      135      140
Arg Asn Thr Gly His Asp Tyr Leu Gly Arg Ser Thr Gly Ala Gly Ala
      145      150      155      160
Leu Ala Ile Trp Thr His Tyr Leu Asn Asp Val Glu Ile Thr Glu Trp
      165      170      175
Ser Asp Ser Thr Tyr Ala Gly Ser Ala Val Lys Leu Gly Ser Gly Val
      180      185      190
Thr Gly Tyr Asn Val Leu Asp Ala Thr His Gly Lys Gly Ile Val Val
      195      200      205
Val Gly Gly Glu Cys Pro Thr Val Gly Leu Ala Gly Gly Tyr Thr Met
      210      215      220
Gly Gly Gly His Ser Ala Leu Ser Thr Ala Phe Gly Leu Gly Ala Asp
      225      230      235      240
Gln Thr Leu Ser Phe Glu Val Val Thr Ala Ser Gly Glu Val Ile Thr
      245      250      255
Ala Ser Arg Thr Asn Asn Thr Asp Leu Tyr Trp Ala Leu Ser Gly Gly
      260      265      270
Gly Ala Gly Asn Phe Gly Val Val Thr Ser Leu Thr Val Lys Ala His
      275      280      285
Pro Asp Ala Thr Ile Ser Gly Ala Ala Leu Glu Phe Thr Ile Ala Asn
      290      295      300
Ile Thr Ser Asp Leu Phe Tyr Glu Ala Val Glu Arg Phe His Thr Leu
      305      310      315      320
Leu Pro Ala Met Val Asp Ala Gly Thr Thr Val Ile Tyr Glu Met Thr
      325      330      335
Asn Gln Val Phe Leu Ile Asn Pro Leu Thr Ala Tyr Asn Lys Thr Thr
      340      345      350
Ala Glu Val Lys Thr Ile Leu Ser Pro Phe Leu Ser Ala Leu Thr Asp
      355      360      365
Leu Gly Ile Glu Tyr Thr Val Ala Tyr Thr Gln Tyr Ser Ser Tyr Tyr
      370      375      380
Asp His Tyr Glu Lys Tyr Met Gly Pro Leu Pro Tyr Gly Asn Leu Glu
      385      390      395      400
Val Gly Gln Tyr Asn Tyr Gly Gly Arg Leu Leu Pro Arg Asp Thr Leu
      405      410      415
Thr Ser Asn Ala Ala Asp Leu Val Ser Val Leu Arg Asn Ile Thr Ser
      420      425      430
Asp Gly Leu Ile Ala Val Gly Val Gly Leu Asn Val Thr Asn Ser Asn
      435      440      445
Asp Thr Ala Asn Ala Val Phe Gln Pro Trp Arg Asn Ala Ala Val Thr
      450      455      460
Met Gln Phe Gly Ser Thr Trp Asn Glu Thr Ala Pro Trp Ser Glu Met
      465      470      475      480
Val Ala Asp Gln Leu Arg Ile Ala His Asp Tyr Ile Pro Gln Phe Glu
      485      490      495
Ala Val Thr Pro Gly Ser Gly Ala Tyr Glu Asn Glu Gly Ser Phe Arg
      500      505      510
Gln Gln Asn Trp Gln Lys Glu Phe Phe Gly Asp Asn Tyr Ala Gln Leu
      515      520      525
Cys Glu Val Lys Glu Lys Tyr Asp Pro Asp His Val Phe Tyr Val Thr
      530      535      540
Lys Gly Ala Gly Ser Glu Tyr Trp Ser Val Ala Glu Ser Gly Arg Met
      545      550      555      560
Cys Lys Thr Gln Gln Ala Cys Ala Ala Val
      565      570

```

<210> 014
 <211> 500
 <212> PRT
 <213> Aspergillus niger

<400> 014
 Met Phe Arg Leu Lys Met Glu Val Leu Thr Ala Ile Ala Ala Trp Ala
 1 5 10 15
 Phe Ala Thr Val Ser Gln Gln Ile Pro Arg Ser Ser Ser Trp Glu Ser
 20 25 30
 Asp Leu Gln Thr Leu Ser Gly Arg Leu Ser Asn Thr Ser Gln Ile Tyr
 35 40 45
 Tyr Pro Gly Ser Ser Gly Phe Thr Asn Ala Thr Thr Arg Trp Ser Val

[0018]


```

      85          90          95
Glu Gln Trp Phe Ser Arg Val Leu Pro Ser Asn Trp Thr Asp Met Val
      100      105      110
Asn Val Trp Pro Thr Val Gln Gln Val Gly Gly Gly Glu Gln Gln His
      115      120      125
Met Met Gly Arg Met Pro Leu Leu Trp Leu Cys Leu Ile Glu Leu Gln
      130      135      140
Ile Gly Gly Ser Gln Gly Phe Thr Phe Val Asp Tyr Phe Arg Thr Thr
      145      150      155      160
Lys Gly Ala Met Lys Arg Trp Ala Asp Glu Thr Gly Asp Asp Ser Trp
      165      170      175
Thr Trp Glu Asn Val Gln Gln Tyr Tyr Lys Lys Ser Phe Lys Phe Thr
      180      185      190
Pro Pro Asn Asn Thr Ala Arg Pro Ser Asn Ala Thr Pro Asp Tyr Glu
      195      200      205
Ser Ser Gln Ile Val Gly Ser Thr Pro Gly Pro Leu Glu Leu Thr Phe
      210      215      220
Pro Lys Tyr Ala Gln Ala Phe Gly Ser Trp Val Lys Leu Gly Leu Asn
      225      230      235      240
Glu Leu Lys Ala Gly Ile Asn Arg Val Phe Val Glu Gly Asp Ile Lys
      245      250      255
Gly Ala Ser Trp Ile Leu Asn Met Ile Asp Ser Gln Thr Gly Asn Arg
      260      265      270
Ala Thr Thr Tyr Thr Ala Phe Leu Glu Pro Thr Gln Lys Asp Asp Thr
      275      280      285
Ser Lys Ile Asp Val Tyr Val Glu Thr Leu Ala Glu Arg Thr Leu Ser
      290      295      300
Asn Thr Pro Pro Gly Ser Asp Pro Val Thr Ile Gly Val Leu Val Lys
      305      310      315      320
Arg Trp Gly Met Arg Phe Pro Ile Phe Ala Gly Lys Glu Val Ile Leu
      325      330      335
Ala Gly Gly Pro Ile Leu Thr Pro Gln Phe Leu Met Val Ser Gly Ile
      340      345      350
Gly Pro Gln Asp His Leu Gln Glu Met Asn Ile Thr Val Leu Ala Asn
      355      360      365
Arg Pro Gly Val Gly Gln Asn Tyr Asn Asp His Ile Leu Phe Gly Val
      370      375      380
Lys His Ala Val Gln Val Glu Thr Thr Ser Val Leu Leu Asn Asp Thr
      385      390      395      400
Arg Lys Trp Gln Glu Cys Glu Arg Phe Lys Ala His Ala Asn Gly Met
      405      410      415
Leu Ala Asp Pro Gly Pro Asp Phe Ala Ala Phe Val Asp Tyr Pro Glu
      420      425      430
Asp Ile Arg Gln Asn Leu Ser Ala Gln Thr Lys Ser Gly Asn Leu Trp
      435      440      445
Pro Cys Val Ser Arg Gly Ser Val Val Pro Asn Asn Met Ile Leu Asp
      450      455      460
Leu Ser Gln Phe Pro Ser Asp Trp Pro Asp Ile Gly Ile Val Ser Ser
      465      470      475      480
Pro Leu Gly Val Asn Gly Asp Gly Asn His Asn Tyr Ala Asp Leu Val
      485      490      495
Cys Ile Pro Met Lys Pro Ile Ser Lys Gly Thr Ile Lys Leu Arg Ser
      500      505      510
Lys Ser Met Asp Asp Lys Pro Val Leu Asp Pro Gln Trp Leu Lys Ser
      515      520      525
Pro Thr Asp Met Asp Thr Ala Val Ala Gly Leu Gln Tyr Leu Leu Arg
      530      535      540
Leu Tyr Gly Thr Asn Ser Met Lys Pro Ile Leu Asn Ala Ser Gly Lys
      545      550      555      560
Pro Ile Asp Leu Glu Ser Ser Asn Lys Asp Asp Leu Ile Lys Tyr Val
      565      570      575
Lys Asn Asn Tyr Arg Thr Leu Asn His Gln Ser Ala Ser Cys Arg Met
      580      585      590
Gly Lys Arg Asp Asp Pro Met Ala Val Val Asp Ser Lys Gly Lys Val
      595      600      605
Ile Gly Val Asp Arg Leu Arg Ile Ala Asp Pro Ser Ala Trp Pro Phe
      610      615      620
Leu Pro Ala Gly Phe Pro Leu Gly Thr Ala Tyr Met Phe Ala Glu Lys
      625      630      635      640
Ile Ala Asp Asn Ile Leu Ser Asp His Gly Ser Asp Lys Asp Glu Asp
      645      650      655
Glu Asp Glu Leu Arg Val Glu Leu
      660

```

<210> 016

[0020]

<211> 525
 <212> PRT
 <213> *Aspergillus niger*

 <400> 016
 Met Ile Ala Ala Leu Leu Leu Ala Ala Val Ala Pro Val Leu Ala
 1 5 10 15
 Ala Pro Asn Thr Asp Ala Val Ser Val Cys Gln His Leu His Thr Val
 20 25 30
 Tyr Pro Gln Tyr Thr Val Trp Asp Pro Thr Gly Thr Tyr Ala Thr Glu
 35 40 45
 Thr Phe Trp Asn Gln Ser Tyr Tyr Asn Asn Ala Val Lys Glu Tyr Trp
 50 55 60
 Asn Gly Val Asn Ala Asp Asn Arg Pro Ala Cys Ala Phe Phe Pro Ala
 65 70 75 80
 Asn Ala Gln His Val Ser Val Ala Ile Gln Gln Leu Asn Lys Tyr Pro
 85 90 95
 Thr Ala Pro Phe Ala Leu Lys Gly Gly Gly His Asn Phe Asn Val Gly
 100 105 110
 Leu Ser Ser Thr Asn Gly Gly Val Leu Ile Ser Phe Asn Glu Asn Leu
 115 120 125
 Ser Ser Thr Thr Arg Asn Ser Asp Gly Gln Thr Phe Asp Val Gly Pro
 130 135 140
 Gly Ala Arg Trp Gly Asp Val Tyr Ala Val Thr Glu Lys Thr Asn Gln
 145 150 155 160
 Val Val Val Gly Gly Arg Leu Ala Asn Ile Gly Val Ala Gly Phe Thr
 165 170 175
 Ile Gly Gly Gly Leu Ser Tyr Tyr Ser Ala Gln Tyr Gly Leu Ser Cys
 180 185 190
 Asp Asn Val Val Lys Phe Glu Val Val Leu Ala Asn Gly Thr Ile Val
 195 200 205
 Asn Ala Asn Ser Thr Ser Asn Pro Asp Leu Trp Trp Ala Leu Arg Gly
 210 215 220
 Gly Gly Asn Arg Tyr Gly Ile Val Thr Lys Phe Thr Tyr Gln Gly His
 225 230 235 240
 Pro Leu Gly Asp Asn Gly Gln Val Trp Gly Gly Ile Arg Phe Tyr Ser
 245 250 255
 Ala Asp Lys Arg Gln Gln Ile Phe Glu Ala Leu Ser Asn Phe Thr Ser
 260 265 270
 Glu Tyr Pro Asp Ala Lys Ala Val Ile Pro Thr Phe Asp Phe Gly
 275 280 285
 Leu Pro Gly Ala Ile Val Ser Asn Pro Ala Val Phe Phe Phe Tyr Asp
 290 295 300
 Gly Ala Lys Pro Ser Thr Asn Ala Phe Val Gly Leu Asp Asn Ile Glu
 305 310 315 320
 Ala Leu Ile Asp Ser Thr Lys Thr Thr Thr Tyr Thr Asp Leu Thr Asn
 325 330 335
 Glu Ala Gly Gly Ala Lys Ile Tyr Gly Ile Asn Ala Ala Ile Arg Val
 340 345 350
 Asn Thr Phe Pro Asn Met Pro Ser Gln Gln Met Thr Gln Leu Leu Glu
 355 360 365
 Asn His Trp Thr Thr Tyr Gln Ser Met Ile Lys Asn Asp Ser Ser Lys
 370 375 380
 Asn Leu Asp Ile Gln Ile Gly Thr Phe Thr Pro Gln Pro Leu Ser Val
 385 390 395 400
 Arg Ile Ala Arg Ala Ser Asn Lys Ala Gly Gly Asn Ala Leu Gly Leu
 405 410 415
 Asp Pro Ala Asn Gly Asp Arg Val Trp Ile Glu Asn Asp Leu Ile Trp
 420 425 430
 Val Asn Pro Val Cys Asn Asp Ala Cys Pro Glu Tyr Leu Arg Gln Val
 435 440 445
 Gly Asp Thr Val Lys Glu Ala Phe Asn Asn Thr Leu Leu Gly Thr Lys
 450 455 460
 Pro Thr Asn Tyr Gln Ser Gly Asp Val Asp Trp Ile Ser Ser Asn Pro
 465 470 475 480
 Leu Phe Met Asn Asp Ala Ala Asp Tyr Gln Asp Val Tyr Gly Ser Tyr
 485 490 495
 Gly Pro Thr Asn Lys Ala Arg Leu Ala Ser Ile Ala Lys Ala Tyr Asp
 500 505 510
 Pro Thr Gly Phe Met Phe Arg Gln Gly Gly Trp Ser Phe
 515 520 525

 <210> 017
 <211> 551
 <212> PRT

[0021]

<213> *Aspergillus niger*

<400> 017

Met Lys Val Ser Ser Ala Ala Val Pro Val Leu Ser Ile Leu Pro Glu
 1 5 10 15
 Ala Ser Leu Gly Leu Gly Ser Thr Gln Leu Cys Cys Ala Ala Leu Gln
 20 25 30
 Ala Thr Ser Leu Arg Asn Gln Val Leu Tyr Pro Thr Ser Ala Ala Tyr
 35 40 45
 Asn Glu Ser Val Ala Ser Tyr Phe Ala Val Asn Val Gln Leu Asp Pro
 50 55 60
 Thr Cys Ile Val Gln Pro His Ser Thr Glu Asp Val Ser Leu Ile Val
 65 70 75 80
 Ser Thr Leu Thr Gln Thr Gly Glu Thr Gln Cys Pro Phe Ala Val Arg
 85 90 95
 Ser Gly Gly His Thr Thr Trp Pro Gly Ala Ala Asp Ile Gly Gln Gly
 100 105 110
 Val Thr Ile Asp Leu Ser Met Met Asn Ser Thr Thr Tyr His Lys Asp
 115 120 125
 Lys Gly Val Ala Ser Ile Gln Pro Gly Ala Arg Trp Gln Ala Val Tyr
 130 135 140
 Lys Ala Leu Asp Pro Tyr Gly Val Thr Val Pro Gly Gly Arg Gly Gly
 145 150 155 160
 Pro Val Gly Val Gly Phe Leu Ile Gly Gly Gly Asn Thr Phe Tyr
 165 170 175
 Thr Ala Arg Val Gly Phe Ala Cys Asp Asn Ile Glu Asn Phe Glu Val
 180 185 190
 Val Leu Ala Ser Gly Ser Ile Val Asn Ala Asn Arg Thr Ser His Pro
 195 200 205
 Asp Leu Tyr Lys Ala Leu Lys Gly Gly Ser Ile Asn Phe Gly Val Val
 210 215 220
 Thr Lys Tyr Asp Leu Lys Thr Leu Pro His Asp Met Leu Trp Gly Gly
 225 230 235 240
 Leu Val Val Tyr Asp Asn Ser Thr Thr Ala Arg Gln Leu Ser Ala Ala
 245 250 255
 Val Asn Phe Thr Asn Asn Ile His Asn Asp Pro Tyr Ala Ser Trp Ile
 260 265 270
 Gly Met Trp Glu Tyr Ser Ser Thr Thr Gly Gln Asn Ile Ile Ala Asp
 275 280 285
 Ala Leu Glu Tyr Thr Lys Pro Val Ala Phe Ala Pro Ala Phe His Glu
 290 295 300
 Phe Thr Ser Ile Pro Asn Thr Thr Asp Thr Met Arg Phe Ala Thr Ile
 305 310 315 320
 Tyr Asn Leu Thr Gln Glu Leu Val Gln Ala Ala Gly Tyr Arg Asp Val
 325 330 335
 Phe Thr Thr Gly Thr Tyr Lys Asn Asp Val Lys Val Leu Arg Lys Ala
 340 345 350
 Ile Asp Leu His Asn Asn Asn Ile Glu Lys Ala Lys Ala His Val Lys
 355 360 365
 Ser Asp Tyr Trp Ala Met Asp Thr Ile Ile Gln Pro Trp Pro Lys Leu
 370 375 380
 Phe Ala Gln His Ser Val Glu Lys Gly Gly Asn Val Leu Gly Leu Glu
 385 390 395 400
 Arg Phe Asp Glu Asn Leu Ile Gln Ile Leu Phe Asp Tyr Ser Trp Asp
 405 410 415
 Asp Ala Arg Asp Asp Asp Leu Phe Ile Gly Leu Gly Gln Ser Ile Leu
 420 425 430
 Glu Glu Val Gly Glu Tyr Ala Lys Ser Ile Gly Ala His Asn Glu Tyr
 435 440 445
 Ile Tyr Leu Asn Tyr Ala Asp Lys Ser Gln Asn Pro Leu Lys Gly Tyr
 450 455 460
 Gly Glu Glu Asn Val Glu Phe Ile Ser Arg Val Ala Lys Gln Tyr Asp
 465 470 475 480
 Pro Asp Gly Val Phe Gln Cys Leu Phe Lys Phe Ala Ala Gln Ser Thr
 485 490 495
 Arg Ile Ala Val Glu Pro Ile Met Lys Pro Ala Arg Ala Val Ser Thr
 500 505 510
 Arg Ser Glu Leu Ala Arg Ser Asn Arg Ser Pro Leu Gly Ala Leu Pro
 515 520 525
 Pro Ile Leu Ser Thr Pro Pro Ala Val Ser Arg Ala Ser Gly Arg Pro
 530 535 540
 Gly Phe Gly Pro Asp Asp Gly
 545 550

<210> 018

[0022]

```

<211> 553
<212> PRT
<213> Aspergillus niger

<400> 018
Met Val Asn Leu Ala Tyr Ile Leu Gly Ala Val Ala Val Phe Ser Thr
1      5      10      15
Ser Gly Thr Ala Ala Asp Val Ser Leu Ser Ser Ser Val Ala Ala Ser
20     25     30
Thr Thr Pro Ser Ala Ala Gly Ser Leu Ser Ser Leu Gly Leu Ser Leu
35     40     45
Pro Ala Gly Asn Val Leu Val Gly Asn Val Gly Tyr Thr Cys Asn Leu
50     55     60
Leu Ser Arg Thr Phe Pro Lys Asn Glu Thr Phe Thr Ala Ser Ser Pro
65     70     75     80
Tyr Tyr Glu Ala Leu Ile Asp Glu Thr Trp Ser Gly Asn Ser Arg Leu
85     90     95
Asn Ala Ser Cys Ile Val Thr Pro Arg Ser Ala Gln Glu Val Ser Leu
100    105   110
Val Ile Gln Ile Leu Ser Ile Leu Glu Thr Lys Phe Ser Ile Arg Ser
115   120   125
Gly Gly His Ser Ser Asn Pro Gly Phe Ser Ser Ile Gly Ser Asn Gly
130   135   140
Val Leu Val Ala Leu Gly Arg Leu Asn Thr Leu Ser Ile Ser Ala Asp
145   150   155   160
Arg Lys Thr Leu Thr Val Gly Pro Gly Asn Arg Trp Glu Ala Val Tyr
165   170   175
Gln Tyr Leu Glu Gln Tyr Asn Leu Thr Val Leu Gly Gly Arg Glu Pro
180   185   190
Val Val Gly Val Gly Gly Phe Val Leu Gly Gly Gly Leu Ser Leu Phe
195   200   205
Tyr Asn Thr Asn Gly Leu Ala Ile Asp Thr Val Thr Arg Phe Gln Val
210   215   220
Val Thr Pro Asn Gly Thr Ile Val Asn Ala Thr Gln Thr Glu His Ala
225   230   235   240
Asp Leu Tyr Lys Gly Leu Lys Gly Gly Leu Asn Asn Phe Gly Ile Val
245   250   255
Val Glu Tyr Asp Leu Thr Thr Asn Thr Gly Ile Asp Val Trp Phe Glu
260   265   270
Val Lys Asn Tyr Thr Leu Ala Glu Thr Pro Ala Leu Leu Ala Ala Tyr
275   280   285
Ala Ala Tyr Leu Gln Asn Ala Asp Ile Arg Ser Asn Val Glu Ile Gln
290   295   300
Thr Asn Pro Ala Tyr Thr Leu Val Phe Tyr Gly Tyr Leu Asp His Val
305   310   315   320
Ser Ala Pro Ser Ala Phe Asn Ala Phe Ser Gln Val Pro Ser Val Ser
325   330   335
Thr Val Tyr Pro Pro Thr Asn Ala Ser Leu Asn Gln Val Leu Leu Asp
340   345   350
Ile Gly Asn Ala Gly Val Val Gly Ser Leu Tyr Thr Tyr Ser Ile Ser
355   360   365
Phe Ala Phe Lys Val Thr Ser Pro Ser Phe Leu Gln Glu Ser Phe Lys
370   375   380
Ala Tyr Leu Lys Thr Ala Ala Ser Leu Leu Pro Leu Gly Val Ile Leu
385   390   395   400
Glu Tyr Val Pro Gln Gly Ile Ile Pro Asn Leu Val Thr Lys Ser Gln
405   410   415
Thr Gln Asn Gly Gly Asn Leu Phe Gly Leu Glu Ala Thr Pro Gln Val
420   425   430
Trp Gly Glu Ile Phe Ala Gln Phe Pro Ala Thr Val Ser Gln Ser Thr
435   440   445
Val Ala Asn Ala Val Glu Ser Leu Leu Ala Asn Leu Thr Ser Ser Ala
450   455   460
Gln Ser Gln Ser Val His Leu Pro Tyr Ile Phe Ala Asn Asp Ala Gly
465   470   475   480
Pro Asn Gln Gln Val Leu Arg Gly Tyr Gly Glu Asp Asn Val Lys Tyr
485   490   495
Ile Ala Ala Val Ala Glu Arg Gly Asp Pro Ser Ala Ser Ile Pro Pro
500   505   510
Val Val Thr Ser Trp Ala Gln Met Thr Arg Glu Thr Gly Gly Leu Thr
515   520   525
Ser Val Trp Glu Ser Ala Asn Thr Thr Ser Ser His Ala Leu Met Ser
530   535   540
Gln Leu Ser Ser Leu His Val Gly Phe
545   550
    
```