



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

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

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
20.03.2009

Приоритет(ы):

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

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

(45) Опубликовано: 20.12.2014 Бюл. № 35

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2277345 C1, 10.06.2006 . US 20070218530 A1, 20.09.2007 . US 0006132727 A1, 17.10.2000 . Sorensen HR et al., Enzymatic hydrolysis of water-soluble wheat arabinoxylan. 1. Synergy between alpha-L-arabinofuranosidases, endo-1,4-beta-xylanases, and beta-xylosidase activities, Biotechnol Bioeng., 2003 Mar 20, Vol.81, No:6, p.p.726-31.

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 21.10.2010

(86) Заявка РСТ:
US 2009/037853 (20.03.2009)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2009/117689 (24.09.2009)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):

ПАУЭР Скотт Д. (US),
КОЛДУЭЛЛ Роберт М. (US),
ЛАНТЦ Сьюзанн Е. (US),
ЛАРЕНАС Эдмунд А. (US)

(73) Патентообладатель(и):

ДАНИСКО ЮЭс ИНК. (US)

(54) КОМПОЗИЦИЯ ФЕРМЕНТНОЙ СМЕСИ ДЛЯ ГИДРОЛИЗА СМЕСИ ЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ И ГЕМИЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ МАТЕРИАЛОВ (ВАРИАНТЫ) И СПОСОБЫ ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ (ВАРИАНТЫ)

(57) Реферат:

Описаны композиции ферментной смеси для гидролиза смеси целлюлозных и гемицеллюлозных материалов и способы гидролиза таких смесей. Представленные ферментные смеси включают три композиции, первая из которых содержит смесь цельной целлюлазы T.reesei, дополненную β-глюкозидазой

T. reesei BGLU1, вторая композиция состоит из по меньшей мере одной ксиланазы, выбранной из ксиланазы GH10 или GH11, и третья композиция состоит из по меньшей мере одной дополнительной гемицеллюлазы, которая представляет собой сочетание β-ксилозидазы и двух или более арабинофуранозидаз.

Представленные способы предусматривают контактирование смеси целлюлозных и гемицеллюлозных материалов с указанными композициями. Охарактеризованные изобретения

позволяют повысить конверсию глюкана и ксилана и могут быть использованы при превращении биомассы в сахар. 4 н. и 8 з.п. ф-лы, 10 табл.

R U 2 5 3 6 2 5 6 C 2

R U 2 5 3 6 2 5 6 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 536 256** (13) **C2**

(51) Int. Cl.

C12N 9/24 (2006.01)

C12P 19/20 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2010143039/10, 20.03.2009**

(24) Effective date for property rights:
20.03.2009

Priority:

(30) Convention priority:
21.03.2008 US 61/038,520

(43) Application published: **27.04.2012** Bull. № 12

(45) Date of publication: **20.12.2014** Bull. № 35

(85) Commencement of national phase: **21.10.2010**

(86) PCT application:
US 2009/037853 (20.03.2009)

(87) PCT publication:
WO 2009/117689 (24.09.2009)

Mail address:

**129090, Moskva, ul. B. Spasskaja, 25, stroenie 3,
OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery"**

(72) Inventor(s):

**PAUEhR Skott D. (US),
KOLDUEhLL Robert M. (US),
LANTTs S'juzann E. (US),
LARENAS Ehdmond A. (US)**

(73) Proprietor(s):

DANISKO JuEhs INK. (US)

(54) COMPOSITION OF ENZYME MIXTURE FOR HYDROLYSIS OF MIXTURE OF CELLULOSE AND HEMICELLULOSE MATERIALS (VERSIONS) AND METHODS FOR USE THEREOF (VERSIONS)

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: described are compositions of an enzyme mixture for hydrolysis of a mixture of cellulose and hemicellulose materials and methods for hydrolysis of said mixtures. Disclosed enzyme mixtures include three compositions, the first of which contains a mixture of whole cellulase T.reesei, supplemented β -glucosidase T. reesei BGLU1, the second composition consists of at least one xylanase selected from xylanase GH10 or GH11, and the third composition consists of at least

one additional hemicellulase which is a combination of β -xylosidase and two or more arabinofuranosidases. Disclosed methods include contacting a mixture of cellulose and hemicellulose materials with said compositions.

EFFECT: present inventions increase conversion of glucan and xylan and can be used in converting biomass into sugar.

12 cl, 10 tbl

ПРИОРИТЕТ

По настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной заявки США № 61/038520, поданной 21 марта 2008, которая включена, таким образом, в качестве ссылки в полном объеме.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящие композиции и способы относятся к ферментным смесям целлюлазы/гемицеллюлазы для улучшения ферментативного гидролиза целлюлозных материалов.

ПРЕДПОСЫЛКИ К СОЗДАНИЮ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Основными компонентами биомассы являются целлюлоза и гемицеллюлоза.

Целлюлоза состоит из полимеров β -1,4-связанных остатков глюкозы, которые организованы в фибриллярные структуры более высокого порядка. Гемицеллюлозы представляют собой гетерополисахариды, которые включают моносахариды, отличные от глюкозы, такие как D-ксилоза, L-арабиноза, D-манноза, D-глюкоза, D-галактоза и 4-O-метил-D-глюкуроновая кислота, связанные вместе не только гликозидными связями, а также сложноэфирными связями. Состав и структура гемицеллюлозы более сложные, чем целлюлозы, и могут варьировать качественно и количественно в различных видах древесных растений, травах и злаковых.

Целлюлоза может превращаться в сахара, такие как глюкоза, и использоваться в качестве источника энергии многочисленными микроорганизмами, в том числе бактериями, дрожжами и грибами в промышленных целях. Целлюлозные материалы также могут превращаться в сахара под действием коммерчески доступных ферментов, и полученные в результате сахара могут быть использованы в качестве исходного сырья для промышленных микроорганизмов для получения таких продуктов, как пластмассы и этанол. Однако существующие в настоящее время целлюлазные продукты в основном лишены способности гидролизовать гемицеллюлозные материалы, которые остаются не израсходованными в составах биомассы и могут препятствовать обработке и устранению биомассы.

Соответственно сохраняется потребность в разработке эффективных ферментных систем для гидролиза как целлюлозы, так и гемицеллюлозы, в том числе совместном получении или перемешивании оптимизированных наборов ферментов для превращения гемицеллюлозных олигомеров и полимеров в свободную пентозу для ферментирования. Такие оптимизированные ферментные системы требуются для улучшения эффективности и экономических показателей биомассы.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к оптимизированным биоконвертирующим ферментным смесям, способам их получения, а также к способам применения оптимизированной биоконвертирующей ферментной смеси для превращения биомассы в сахар. Биоконвертирующая ферментная смесь содержит смесь цельной целлюлазы и одной или нескольких гемицеллюлаз, выбор которых продиктован предполагаемым субстратом биомассы и условиями обработки.

В одном аспекте представлен состав ферментной смеси для гидролиза смеси целлюлозных и гемицеллюлозных материалов, содержащий:

(a) первую ферментную композицию, содержащую целлюлазу,

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

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

где состав ферментной смеси обеспечивает по меньшей мере одно из следующего:
(i) ускоренную конверсию глюкоана или (ii) ускоренную конверсию ксилана по сравнению с эквивалентным составом ферментной смеси, лишенной по меньшей мере одной дополнительной гемицеллюлазы.

5 В некоторых вариантах осуществления первая ферментная композиция представляет собой смесь цельной целлюлазы из нитчатых грибов. В некоторых вариантах осуществления первая ферментная композиция представляет собой смесь цельной целлюлазы из нитчатых грибов, дополненную дополнительным количеством β -глюкозидазы.

10 В некоторых вариантах осуществления вторая ферментная композиция содержит ксиланазу XYN2 из *Trichoderma reesei*. В некоторых вариантах осуществления вторая ферментная композиция содержит ксиланазу XYN3 из *Trichoderma reesei*.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна ксиланаза имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную
15 аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна ксиланаза имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по
20 меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или даже по меньшей мере на 99% идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В конкретных вариантах осуществления по меньшей мере одна ксиланаза имеет аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная
25 гемицеллюлаза выбрана из группы, состоящей из гемицеллюлазы GH54, гемицеллюлазы GH62, гемицеллюлазы GH27, гемицеллюлазы GH36, гемицеллюлазы GH5, гемицеллюлазы GH74, гемицеллюлазы GH67, гемицеллюлазы GH28, гемицеллюлазы GH11, гемицеллюлазы GH10, гемицеллюлазы GH3 и гемицеллюлазы CE5.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная
30 гемицеллюлаза представляет собой β -ксилозидазу или арабинофуранозидазу. В конкретных вариантах осуществления β -ксилозидаза представляет собой BXL1 из *Trichoderma reesei* и арабинофуранозидаза представляет собой ABF1, ABF2 или ABF3 из *Trichoderma reesei*. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой сочетание β -ксилозидазы и
35 арабинофуранозидазы.

В некоторых вариантах осуществления первая ферментная композиция представляет собой смесь цельной целлюлазы из нитчатых грибов, дополненную дополнительным количеством β -глюкозидазы, вторая ферментная композиция содержит ксиланазу, и по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой сочетание
40 β -ксилозидазы и арабинофуранозидазы.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой гемицеллюлазу *Trichoderma reesei*, выбранную из группы, состоящей из α -арабинофуранозидазы I (ABF1), α -арабинофуранозидазы II (ABF2), α -арабинофуранозидазы III (ABF3), α -галактозидазы I (AGL1), α -галактозидазы
45 II (AGL2), α -галактозидазы III (AGL3), ацетилксиланэстеразы I (AXE1), ацетилксиланэстеразы III (AXE3), эндоглюканазы VI (EG6), эндоглюканазы VIII (EG8), α -глюкуронидазы I (GLR1), β -манназазы (MAN1), полигалактуроназы (PEC2), ксиланазы I (XYN1), ксиланазы II (XYN2), ксиланазы III (XYN3) и β -ксилозидазы (BXL1).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или даже по меньшей мере на 99% идентичную одной из указанных выше аминокислотных последовательностей. В конкретных вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза имеет аминокислотную последовательность, соответствующую одной из указанных выше аминокислотных последовательностей.

В другом аспекте представлен способ гидролиза смеси целлюлозных и гемицеллюлозных материалов, предусматривающий контактирование смеси целлюлозных и гемицеллюлозных материалов с:

- (a) первой ферментной композицией, содержащей целлюлазу,
 - (b) второй ферментной композицией, содержащей по меньшей мере одну ксиланазу, выбранную из ксиланазы GH10 или GH11, и
 - (c) третьей ферментной композицией, содержащей по меньшей мере одну дополнительную гемицеллюлазу, которая не представляет собой ксиланазу GH10 или GH11 или не представляет собой ксиланазу GH10 или GH11, как в пункте (b),
- осуществляя, таким образом, гидролиз смеси целлюлозных и гемицеллюлозных материалов,

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

В некоторых вариантах осуществления первая ферментная композиция представляет собой смесь цельной целлюлазы из нитчатых грибов. В некоторых вариантах осуществления первая ферментная композиция представляет собой смесь цельной целлюлазы из нитчатых грибов, дополненную дополнительным количеством β -глюкозидазы.

В некоторых вариантах осуществления вторая ферментная композиция содержит ксиланазу XYN2 из *Trichoderma reesei*. В некоторых вариантах осуществления вторая ферментная композиция содержит ксиланазу XYN3 из *Trichoderma reesei*.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна ксиланаза имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна ксиланаза имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или даже по меньшей мере на 99% идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В конкретных вариантах осуществления по меньшей мере одна ксиланаза имеет

аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза выбрана из группы, состоящей из гемицеллюлазы GH54, гемицеллюлазы GH62, гемицеллюлазы GH27, гемицеллюлазы GH36, гемицеллюлазы GH5, гемицеллюлазы GH74, гемицеллюлазы GH67, гемицеллюлазы GH28, гемицеллюлазы GH11, гемицеллюлазы GH10, гемицеллюлазы GH3 и гемицеллюлазы CE5.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой β -ксилозидазу или арабинофуранозидазу. В конкретных вариантах осуществления β -ксилозидаза представляет собой BXL1 из *Trichoderma reesei*, и арабинофуранозидаза представляет собой ABF1, ABF2 или ABF3 из *Trichoderma reesei*. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой сочетание β -ксилозидазы и арабинофуранозидазы.

В некоторых вариантах осуществления первая ферментная композиция представляет собой смесь цельной целлюлазы из нитчатых грибов, дополненную дополнительным количеством β -глюкозидазы, вторая ферментная композиция содержит ксиланазу, и по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой сочетание β -ксилозидазы и арабинофуранозидазы.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой гемицеллюлазу *Trichoderma reesei*, выбранную из группы, состоящей из α -арабинофуранозидазы I (ABF1), α -арабинофуранозидазы II (ABF2), α -арабинофуранозидазы III (ABF3), α -галактозидазы I (AGL1), α -галактозидазы II (AGL2), α -галактозидазы III (AGL3), ацетилксиланэстеразы I (AXE1), ацетилксиланэстеразы III (AXE3), эндоглюканазы VI (EG6), эндоглюканазы VIII (EG8), α -глюкуронидазы I (GLR1), β -маннаназы (MAN1), полигалактуроназы (PEC2), ксиланазы I (XYN1), ксиланазы II (XYN2), ксиланазы III (XYN3) и β -ксилозидазы (BXL1).

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или даже по меньшей мере на 99% идентичную одной из указанных выше аминокислотных последовательностей. В конкретных вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза имеет аминокислотную последовательность, соответствующую одной из указанных выше аминокислотных последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления контактирование смеси целлюлозных и гемицеллюлозных материалов с первой ферментной композицией, второй ферментной композицией и третьей ферментной композицией проводят одновременно.

В некоторых вариантах осуществления первая ферментная композиция, вторая ферментная композиция и третья ферментная композиция представлены в единой композиции ферментной смеси.

Эти и другие аспекты и варианты осуществления настоящих композиций и способов

будут очевидны из следующего описания.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

I. Определения

Если в настоящей заявке не определено иное, все технические и научные термины, используемые в настоящей заявке, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в данной области. Заголовки, представленные в настоящей заявке, не являются ограничениями различных аспектов или варианты осуществления изобретения, описанные под одним заголовком, могут применяться к композициям и способам в целом. Как представленное выше общее описание, так и следующее подробное описание являются иллюстративными и пояснительными и не ограничивают композиции и способы, описанные в настоящей заявке. Применение единственного числа включает множественное число, если особым образом не указано иное, и применение «или» означает «и/или», если не указано иное. Термины «содержат», «содержащий», «содержит», «включают», «включающий» и «включает» не предназначены для ограничения. Все патенты и публикации, в том числе все аминокислотные и нуклеотидные последовательности, описанные в таких патентах и публикациях, на которые имеются ссылки в настоящей заявке, специально включены в качестве ссылки. Следующие термины определены для ясности:

В контексте настоящего изобретения термин «целлюлоза: относится к полисахариду, состоящему из $\beta(1\rightarrow4)$ связанных D-глюкозных звеньев, имеющих общую формулу $(C_6H_{10}O_5)_n$. Целлюлоза представляет собой структурный компонент первичной клеточной стенки зеленых растений, многих форм водорослей и оомицетов.

В контексте настоящего изобретения термин "целлюлаза" относится к ферменту, способному гидролизовать полимеры целлюлозы до более коротких олигомеров и/или глюкозы.

В контексте настоящего изобретения термин "композиция/препарат/смесь цельной целлюлазы" или подобный относится как к природным, так и неприродным композициям, которые включают множество целлюлаз, продуцируемых организмом, например нитчатыми грибами. Одним примером композиции цельной целлюлазы является среда, в которой культивируют нитчатые грибы, которая включает секретированные целлюлазы, например, одну или несколько целлобиогидролаз, одну или несколько эндоглюканаз и одну или несколько β -глюкозидаз в заранее определенном соотношении.

В контексте настоящего изобретения "гемицеллюлоза" представляет собой полимерный компонент растительных материалов, который содержит сахарные мономеры, отличные от глюкозы, в отличие от целлюлозы, которая содержит только глюкозу. Помимо глюкозы гемицеллюлоза может включать ксилозу, маннозу, галактозу, рамнозу и арабинозу, при этом ксилоза является наиболее распространенным сахарным мономером. Гемицеллюлозы содержат большинство из D-пентозных сахаров и иногда небольшие количества L-сахаров. Сахара в гемицеллюлозе могут быть связаны сложноэфирными связями, а также гликозидными связями. Приводимые в качестве примеров формы гемицеллюлозы включают, но не только, галактан, маннан, ксилан, арабинан, арабиноксилан, глюкоманнан, галактоманан и подобные.

В контексте настоящего изобретения термин "гемицеллюлаза" относится к ферментам, способным разрушать гемицеллюлозу на составляющие ее сахара или более короткие полимеры, и включает эндо-гидролазы, экзо-гидролазы и различные эстеразы.

В контексте настоящего изобретения термин "ксиланаза" относится к белку или полипептидному домену белка или полипептида, происходящего из микроорганизма,

например гриба, бактерии или из растения или животного, и который обладает способностью катализировать расщепление ксилана в одном или нескольких различных положениях углеводного скелета ксилана, включая разветвленные ксиланы и ксилоолигосахариды. Следует отметить, что ксиланаза является разновидностью

гемицеллюлазы.

В контексте настоящего изобретения «субстрат биомассы» представляет собой материал, содержащий как целлюлозу, так и гемицеллюлозу.

В контексте настоящего изобретения «природная» композиция представляет собой композицию, продуцируемую в природе или организмом, который встречается в природе.

В контексте настоящего изобретения «вариант» белка отличается от «родительского» белка, из которого он получен с помощью замены, делеции или добавления небольшого количества аминокислотных остатков, например 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более аминокислотных остатков. В некоторых случаях родительский белок представляет собой полипептиды «дикого типа», «нативные» или «природные». Варианты белков могут быть описаны как имеющие определенный процент идентичности последовательностей с родительским белком, например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, даже по меньшей мере 99%, которая может быть определена с использованием подходящего программного обеспечения, известного в данной области, например, описанного в CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (F. M. Ausubel *et al.* (eds) 1987, Supplement 30, section 7.7.18).

Предпочтительные программы включают Vector NTI Advance™ 9.0 (Invitrogen Corp. Carlsbad, CA), GCG Pileup program, FASTA (Pearson *et al.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 85:2444-2448), и BLAST (BLAST Manual, Altschul *et al.*, Natl Cent. Biotechnol. Inf., Natl Lib. Med. (NCIB NLM NIH), Bethesda, Md., and Altschul *et al.* (1997) *NAR* 25:3389-3402). Другой предпочтительной программой выравнивания является ALIGN Plus (Scientific and Educational Software, PA), предпочтительно использующая параметры по умолчанию. Другим программным обеспечением, которое находит применение, является программа TFASTA Data Searching Program, доступная в Sequence Software Package Version 6.0 (Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI).

II. Биоконверсия композиций ферментных смесей и способы их применения

Целлюлоза представляет собой гомополимер ангидроцеллобиозы и, следовательно, линейный β -(1-4)-D-глюкан. Гемицеллюлозы, напротив, включают целый ряд соединений, таких как ксиланы, ксиланоглюканы, арабиноксиланы и маннаны, в сложных разветвленных структурах, и со спектром заместителей. Как следствие сложного и гетерогенного состава гемицеллюлоз, в частности арабиноксиланов, ферментативное разрушение растительного материала требует действия совокупности функций как расщепления разветвленной структуры, так и деполимеризации. Дополнительно, для разрушения растительных материалов требуются ферменты, которые действуют на гемицеллюлозы, содержащие как пятиуглеродные сахара (пентозы), такие как ксилоза и арабиноза, так и шестиуглеродные сахара (гексоны), такие как манноза и глюкоза.

Ферментативный гидролиз гемицеллюлозы до ее мономеров требует участия нескольких гемицеллюлазных ферментов с различными функциями. Гемицеллюлазы можно расположить в три основные категории: эндо-ферменты, действие которых

направлено на внутренние связи в полисахариде, экзо-ферменты, которые действуют поступательно с любого редуцирующего или нередуцирующего конца полисахаридной цепи, и добавочные ферменты, ацетилэстеразы и эстеразы, которые гидролизуют лигнингликозидные связи, такие как эстераза кумариновой кислоты и эстераза феруловой

кислоты.

Хотя некоторые грибы продуцируют полные целлюлазные системы, которые включают экзо-целлобиогидролазы (или СВН-тип целлюлаз), эндоглюканазы (или EG-тип целлюлаз) и β -глюкозидазы (или BG-тип целлюлаз), известные целлюлазные ферменты и их смеси, обычно имеют ограниченную активность в отношении гемицеллюлозы и ограниченное значение в гидролизе растительных материалов. Биоконвертирующие композиции ферментных смесей по настоящему изобретению и способы основаны, в части, на наблюдении того, что некоторые сочетания целлюлаз и гемицеллюлаз значительно повышают эффективность гидролиза растительных материалов, главным образом, как определено мониторингом конверсии глюкана и ксилана.

Приводимая в качестве примера целлюлазная композиция, используемая для идентификации целлюлазных/гемицеллюлазных композиций, которые усиливают гидролиз глюкана и/или ксилана, представляет собой композиции цельной целлюлазы, продуцируемые нитчатыми грибами (т.е. *Trichoderma reesei*). Композиция включает несколько экзо-целлобиогидролаз и эндоглюканаз и дополнена дополнительной β -глюкозидазой для повышения высвобождения глюкозы. Эта композиция коммерчески доступна как ACCELLERASE 1000TM (Danisco A/S, Genencor Division, Palo Alto, CA).

ACCELLERASE 1000TM содержит экзо-целлобиогидролазы (т.е. примерно 50% (масс./масс.) СВНI (CEL7A) и примерно 14% СВНII (CEL6A), эндоглюканазы (т.е. примерно 12% EGI (CEL7B) и примерно 10% EGII (CEL5A)) и β -глюкозидазу (т.е. примерно 5% BGLI (CEL3A)). Также может присутствовать небольшое количество XYN2 (т.е. примерно менее 1%). Другие компоненты, которые не идентифицированы, также присутствуют в количествах примерно менее чем 1%.

Могут быть использованы другие целлюлазные композиции, в том числе другие смеси цельных целлюлаз и смеси целлюлаз, собранные из многочисленных индивидуально выделенных целлюлаз. Предпочтительные целлюлазные композиции включают по меньшей мере одну любую из экзоцеллобиогидролазы, эндоглюканазы и β -глюкозидазы. В некоторых вариантах осуществления цельную питательную среду, которая содержит многочисленные целлюлазы, получают из организма, такого как *Acremonium*, *Aspergillus*, *Emericella*, *Fusarium*, *Humicola*, *Mucor*, *Myceliophthora*, *Neurospora*, *Scytalidium*, *Thielavia*, *Tolypocladium*, *Penicillium*, или *Trichoderma* spp., или видов, полученных из них.

Композиция дополнительно содержит по меньшей мере одну и в некоторых случаях две, три или более гемицеллюлаз. Примеры подходящих дополнительных гемицеллюлаз включают ксиланазы, арабинофуранозидазы, ацетилксилаэстеразы, глюкуронидазы, эндогалактаназы, маннаназы, эндо- или экзо-арабиназы, экзо-галактаназы и их смеси. Примеры подходящих эндо-гемицеллюлаз включают эндо-арабиназу, эндо-арабиногалактаназу, эндо-глюканазу, эндо-маннаназу, эндо-ксиланазу и фераксанэндоксиланазу. Примеры подходящих экзо-гемицеллюлаз включают α -L-арабинозидазу, β -L-арабинозидазу, α -1,2-L-фукозидазу, α -D-галактозидазу, β -D-галактозидазу, β -D-глюкозидазу, β -D-глюкуронидазу, β -D-маннозидазу, β -D-ксилозидазу, экзо-глюкозидазу, экзо-целлобиогидролазу, экзо-маннобиогидролазу, экзо-маннаназу, экзо-ксиланазу, ксилан α -глюкуронидазу и кониферин β -глюкозидазу. Примеры

подходящих эстераз включают ацетилэстеразы (ацетилксиланэстеразу, ацетилгалактанэстеразу, ацетилманнанэстеразу и ацетилксиланэстеразу) и арилэстеразы (эстеразу кумариновой кислоты и эстеразу феруловой кислоты).

Предпочтительно композиции и способы по настоящему изобретению включают по меньшей мере одну ксиланазу, которая представляет собой конкретный тип гемицеллюлазы, которая расщепляет основные цепи ксилана гемицеллюлозы. Предпочтительно ксиланаза представляет собой эндо-1,4-β-ксиланазу (Е.С. 3.2.1.8). Многочисленные ксиланазы из грибных и бактериальных микроорганизмов были идентифицированы и охарактеризованы (смотри, например, патент США № 5437992; Coughlin, M. P. *supra*; Biely, P. *et al.* (1993) *Proceedings of the second TRICEL symposium on Trichoderma reesei Cellulases and Other Hydrolases*, Espoo 1993; Souminen, P. and Reinikainen, T. (eds), в *Foundation for Biotechnical and Industrial Fermentation Research* 8:125-135). Три специфичные ксиланазы (XYN1, XYN2 и XYN3) были идентифицированы в *T. reesei* (Tenkanen, *et al.* (1992) *Enzyme Microb. Technol.* 14:566; Torronen, *et al.* (1992) *Bio/Technology* 10:1461; и Xu, *et al.* (1998) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 49:718). Четвертая ксиланаза (XYN4), выделенная из *T. Reesei*, описана в патентах США № 6555335 и 6768001 на имя Saloheimo *et al.*, под названием *Xylanase from Trichoderma reesei*, способ ее получения и способы применения этого фермента, которые включены в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Ксиланазы, приводимые в качестве примера для применения в настоящих композициях и способах, представляют собой XYN2 и XYN3. Подходящие варианты XYN2 и XYN3 и подходящие родственные ферменты из других организмов, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или даже по меньшей мере на 99% идентичные аминокислотной последовательности XYN2 или XYN3 (т.е. SEQ ID NO: 1 и 2 соответственно).

Помимо целлюлазной композиции и ксиланазы композиции и способы могут включать одну или несколько дополнительных гемицеллюлаз, таких как эндо-гемицеллюлаза и экзо-гемицеллюлаза, и/или эстеразы.

Подходящие эндо-гемицеллюлазы включают, но не только, эндо-1,4-β-маннозидазу (Е.С. 3.2.1.78, также известную как β-манназа и β-маннаназа), которая катализирует случайный эндогидролиз 1,4,-β-D-маннозных связей в маннанах, галактоманнанах, глюкоманнанах; α-амилазу (Е.С. 3.2.1.1), которая катализирует эндогидролиз 1,4-α-D-глюкозидных связей в полисахаридах, содержащих три или более 1,4-α-связанных D-глюкозных звеньев; ксилан α-1,2-глюкуронозидазу (Е.С. 3.2.1.131, также известную как α-глюкурононидаза), которая катализирует гидролиз α-D-1,2-(4-О-метил) глюкуронозильных связей в основной цепи ксиланов древесины твердых пород; и эндоглюканазу (Е.С. 3.2.1.4), которая катализирует эндогидролиз 1,4-β-D-глюкозидных связей в целлюлазе, лихенине и β-D-глюканах злаковых. Были идентифицированы многочисленные подтипы эндоглюканаз и являются подходящими для применения в композициях и способах, например, эндоглюканаза I, эндоглюканаза II, эндоглюканаза III, эндоглюканаза V и эндоглюканаза VI.

Подходящие экзо-гемицеллюлазы включают, но не только, α-арабинофуранозидазу, α-галактозидазу и β-ксилозидазу. α-арабинофуранозидаза, также известная как α-N-арабинофуранозидаза (Е.С. 3.2.1.55), катализирует гидролиз концевых нередуцирующих остатков α-L-арабинофуранозида в α-L-арабинозидах. Может быть использован любой по меньшей мере из трех известных подтипов α

арабинофуранозидазы (т.е. abf1, abf2 и abf3). α -галактозидаза (Е.С. 3.2.1.22) катализирует гидролиз концевых нередуцирующих остатков α -D-галактозы в α -D-галактозидах, включая галактозные олигосахариды и галактоманны. Может быть использован любой из трех известных подтипов, т.е. α -галактозидаза I (agl1), α -галактозидаза II (agl2) и α -галактозидаза III (agl3). Глюкоамилаза, также известная как глюкан 1,4- α -глюкозидаза (Е.С. 3.2.1.3), катализирует гидролиз концевых 1,4-связанных остатков α -D-глюкозы последовательно с нередуцирующих концов цепей с высвобождением β -D-глюкозы. β -глюкозидаза (Е.С. 3.2.1.21) катализирует гидролиз концевых нередуцирующих остатков β -D-глюкозы с высвобождением β -D-глюкозы. β -ксилозидаза, также известная как ксилан 1,4- β -ксилозидаза (Е.С. 3.2.1.37), катализирует гидролиз 1,4- β -D-ксиланов, для последовательного удаления остатков D-ксилозы с нередуцирующих концов. Композиции, которые включают смесь цельной целлюлазы наряду с ксиланазой и либо α -арабинофуранозидазой или β -ксилозидазой, были особенно эффективными в конверсии глюкана и/или ксилана.

Подходящие эстеразы включают, но не только, эстеразу феруловой кислоты и ацетилксиланэстеразу. Эстераза феруловой кислоты, также известная как ферулатэстераза (Е.С. 3.1.1.73), катализирует гидролиз 4-гидрокси-3-метоксициннамоильной (ферулоильной) группы от этерифицированного сахара, который обычно представляет собой арабинозу в «природных» субстратах. Известные микробиологические эстеразы феруловой кислоты секретируются в культуральную среду. Любой из трех известных подтипов эстеразы феруловой кислоты (fae1, fae2 и fae3) может быть использован в композициях и способах по настоящему изобретению. Ацетилксиланэстераза I (Е.С. 3.1.1.72) катализирует деацетилирование ксиланов и ксило-олигосахаридов и также может быть использована в композициях и способах. В патентах США № 5426043 и 5681732 на имя De Graaff *et al.* описываются клонирование и экспрессия ацетилксиланэстераз грибного происхождения. В EP 507 369 описывается последовательность ДНК, кодирующая ацетилксиланэстеразу, выделенную из *Aspergillus niger*. В патенте США № 5830734 на имя Christgau *et al.*, под названием *Enzyme with acetyl esterase activity*, описывается выделение целого ряда эстераз для применения в пищевой промышленности.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза выбрана из группы, состоящей из гемицеллюлазы GH54, гемицеллюлазы GH62, гемицеллюлазы GH27, гемицеллюлазы GH36, гемицеллюлазы GH5, гемицеллюлазы GH74, гемицеллюлазы GH67, гемицеллюлазы GH28, гемицеллюлазы GH11, гемицеллюлазы GH10, гемицеллюлазы GH3 и гемицеллюлазы CE5. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза выбрана из группы, состоящей из α -арабинофуранозидазы I (ABF1), α -арабинофуранозидазы II (ABF2), α -арабинофуранозидазы III (ABF3), α -галактозидазы I (AGL1), α -галактозидазы II (AGL2), α -галактозидазы III (AGL3), ацетилксиланэстеразы I (AXE1), ацетилксиланэстеразы III (AXE3), эндоглюканазы VI (EG6), эндоглюканазы VIII (EG8), α -глюкуронидазы I (GLR1), β -маннаназы (MAN1), полигалактуроназы (PEC2), ксиланазы I (XYN1), ксиланазы II (XYN2), ксиланазы III (XYN3) и β -ксилозидазы (BXL1), которые могут быть из нитчатых грибов, таких как *T. reesei*. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная гемицеллюлаза имеет аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или даже по меньшей

мере на 99% идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 17.

Варианты гемицеллюлаз (включая ксиланазы) могут включать замены, вставки или делеции, которые по существу не влияют на функцию или добавляют ферментам предпочтительные особенности. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции не находятся на консервативных мотивах последовательности, а вместо этого ограничены аминокислотными последовательностями вне консервативных мотивов. Приводимые в качестве примеров замены являются консервативными заменами, которые сохраняют заряд, гидрофобность или размер боковых групп относительно родительской аминокислотной последовательности. Примеры консервативных замен представлены в следующей таблице:

Исходный аминокислотный остаток	Код	Приемлемые замены
Аланин	A	D-Ala, Gly, бета-Ala, L-Cys, D-Cys
Аргинин	R	D-Arg, Lys, D-Lys, гомо-Arg, D-гомо-Arg, Met, Ile, D-Met, D-Ile, Orn, D-Orn
Аспарагин	N	D-Asn, Asp, D-Asp, Glu, D-Glu, Gln, D-Gln
Аспарагиновая кислота	D	D-Asp, D-Asn, Asn, Glu, D-Glu, Gln, D-Gln
Цистеин	C	D-Cys, S-Me-Cys, Met, D-Met, Thr, D-Thr
Глутамин	Q	D-Gln, Asn, D-Asn, Glu, D-Glu, Asp, D-Asp
Глутаминовая кислота	E	D-Glu, D-Asp, Asp, Asn, D-Asn, Gln, D-Gln
Глицин	G	Ala, D-Ala, Pro, D-Pro, b-Ala, Acp
Изолейцин	I	D-Ile, Val, D-Val, Leu, D-Leu, Met, D-Met
Лейцин	L	D-Leu, Val, D-Val, Leu, D-Leu, Met, D-Met
Лизин	K	D-Lys, Arg, D-Arg, гомо-Arg, D-гомо-Arg, Met, D-Met, Ile, D-Ile, Orn, D-Orn
Метионин	M	D-Met, S-Me-Cys, Ile, D-Ile, Leu, D-Leu, Val, D-Val
Фенилаланин	F	D-Phe, Tyr, D-Thr, L-Dopa, His, D-His, Trp, D-Trp, транс-3,4, или 5-фенилпролин, цис-3,4, или 5-фенилпролин
Пролин	P	D-Pro, L-I-тиоазолидин-4-карбоновая кислота, D- или L-1-оксазолидин-4-карбоновая кислота
Серин	S	D-Ser, Thr, D-Thr, алло-Thr, Met, D-Met, Met(O), D-Met(O), L-Cys, D-Cys
Треонин	T	D-Thr, Ser, D-Ser, алло-Thr, Met, D-Met, Met(O), D-Met(O), Val, D-Val
Тирозин	Y	D-Tyr, Phe, D-Phe, L-Dopa, His, D-His
Валин	V	D-Val, Leu, D-Leu, Ile, D-Ile, Met, D-Met

Очевидно, что природные аминокислоты могут быть введены в полипептид путем изменения кодирующей последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей этот полипептид, тогда как неприродные аминокислоты обычно получают путем химической модификации экспрессированного полипептида.

Еще добавочные ферменты, такие как лакказа (Е.С. 1.10.3.2), которые катализируют окисление ароматических соединений, и последующее восстановление кислорода до воды, также могут быть включены в биоконвертирующие композиции ферментных смесей по настоящему изобретению и способы.

В некоторых вариантах осуществления ферменты для использования в биоконвертирующих ферментных смесях по настоящему изобретению могут быть получены из одного или нескольких штаммов нитчатых грибов. Подходящие нитчатые грибы включают представителей отдела Eumycota и Oomycota, в том числе, но не только, следующие роды: *Aspergillus*, *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Beauveria*, *Cephalosporium*, *Ceriporiopsis*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Claviceps*, *Cochiobolus*, *Cryptococcus*, *Cyathus*, *Endothia*, *Endothia mucor*, *Fusarium*, *Gilocladium*, *Humicola*, *Magnaporthe*, *Myceliophthora*, *Myrothecium*, *Mucor*, *Neurospora*, *Phanerochaete*, *Podospora*, *Paecilomyces*, *Pyricularia*,

Rhizomucor, *Rhizopus*, *Schizophyllum*, *Stagonospora*, *Talaromyces*, *Trichoderma*, *Thermomyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, *Tolypocladium*, *Trichophyton* и *Trametes*. В некоторых вариантах осуществления нитчатые грибы включают, но не только, следующие: *A. nidulans*, *A. niger*, *A. awamori*, *A. aculeatus*, *A. kawachie.g.*, NRRL 3112, ATCC 22342 (NRRL 3112), ATCC 44733, ATCC 14331 и штамм UVK 143f, *A. oryzae*, например ATCC 11490, *N. crassa*, *Trichoderma reesei*, например NRRL 15709, ATCC 13631, 56764, 56765, 56466, 56767, и *Trichoderma viride*, например ATCC 32098 и 32086. В предпочтительном выполнении, нитчатым грибом являются виды *Trichoderma*. Особенно предпочтительными видами и штаммом для применения в настоящем изобретении является *T. reesei* RL-P37.

В конкретном варианте осуществления отдельный сконструированный штамм гиперэкспрессирует ферментные компоненты в желаемом соотношении так, чтобы дополнительная очистка или добавки не требовались. В альтернативном варианте осуществления биоконвертирующая ферментная смесь получена из двух или более природных или сконструированных штаммов нитчатых грибов. Желаемое соотношение ферментных компонентов может достигаться путем изменения относительного количества фермента в конечной смеси. Даже когда используют два или более продуцирующих штаммов, желаемое соотношение компонентов ферментов может достигаться путем добавления очищенного или частично очищенного фермента.

В конкретных вариантах осуществления гемицеллюлазу получают из *Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus foetidus*, *Aspergillus japonicus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger* или *Aspergillus oryzae*. В другом аспекте цельную питательную среду получают из *Fusarium bactridioides*, *Fusarium cerealis*, *Fusarium crookwellense*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium graminum*, *Fusarium heterosporum*, *Fusarium negundi*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium reticulatum*, *Fusarium roseum*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium sarcochroum*, *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium sulphureum*, *Fusarium torulosum*, *Fusarium trichothecioides*, *Fusarium venenatum* или *Fusarium verticilloides*. В другом аспекте гемицеллюлазный комплекс получают из *Humicola insolens*, *Humicola lanuginosa*, *Mucor miehei*, *Myceliophthora thermophila*, *Neurospora crassa*, *Scytalidium thermophilum* или *Thielavia terrestris*. В других вариантах осуществления гемицеллюлазу получают из *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei*, например RL-P37 [Sheir-Neiss et al. (1984) *Appl. Microbiol. Biotechnology* 20:46-53; патент США № 4797361; доступные в виде биологически чистой культуры из постоянной коллекции Northern Regional Research Laboratory, U.S. Department of Agriculture, Peoria, Ill., U.S.A. (NRRL 15709); ATCC 13631, 56764, 56466, 56767] или *Trichoderma viride*, например ATCC 32098 и 32086.

В некоторых вариантах осуществления входящий в состав гемицеллюлазный фермент получают путем экспрессии гена, кодирующего гемицеллюлазный фермент. Например, ксиланаза может быть секретирована во внеклеточное пространство, например, грамположительного организма, такого как *Bacillus* или *Actinomyces*, или эукариотического организма, такого как *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Saccharomyces*, или *Pichia*. Должно быть понятно, что в некоторых вариантах осуществления один или несколько гемицеллюлазных ферментов могут быть гиперэкспрессированы в рекомбинантном микроорганизме, относительно нативных уровней. Клетка-хозяин может быть генетически модифицирована для снижения экспрессии одного или нескольких белков, которые являются эндогенными для клетки. В одном варианте осуществления клетка может содержать один или несколько нативных генов, в частности генов, которые кодируют секретлируемые белки, которые были deletированы или инактивированы. Например, один или несколько генов, кодирующих протеазу

(например, ген, кодирующий аспартилпротеазу; смотри Berka *et al.* (1990) *Gene* 86:153-162 и патент США № 6509171), или гены, кодирующие целлюлазу, могут быть делетированы или инактивированы. Нуклеиновые кислоты, кодирующие гемицеллюлазу, могут присутствовать в геноме организма или перенесены в плазмиду, которая реплицируется в организме. В тех случаях, когда гемицеллюлаза экспрессируется из генома, ген и регуляторные последовательности, ассоциированные с ними, могут быть встроены в геном путем случайной или гомологичной интеграции. В некоторых случаях, например, когда требуется особенно высокий уровень экспрессии, может быть использована как случайная, так и гомологичная интеграция.

Субстрат биомассы для использования в качестве источника целлюлозы и гемицеллюлозы для гидролиза с использованием ферментных композиций и способов по настоящему изобретению может представлять собой, например, травяной материал, сельскохозяйственные остатки, остатки от лесного хозяйства, коммунально-бытовые твердые отходы, макулатуру и древесную массу и остатки бумаги, и подобное. Обычные формы субстрата биомассы включают, но не только, деревья, кустарники и травы, пшеницу, солому от пшеницы, жмых сахарного тростника, кукурузу, листовые обертки початка кукурузы, сердцевину кукурузы, в том числе волокна из сердцевины, продукты и побочные продукты перемола зерна, такого как кукуруза (в том числе влажного перемола и сухого перемола), а также коммунально-бытовые твердые отходы, макулатуру и дворовый мусор. Субстрат биомассы может быть получен из “нетронутой биомассы” (такой как деревья, кустарник, травы, плоды, цветы, зеленые культуры, древесина твердых и мягких пород), “использованной биомассы” (такой как побочные продукты сельского хозяйства, промышленные органические отходы, строительный и городской мусор, коммунально-бытовые твердые отходы и дворовый мусор) или “смешанной биомассы”, которая представляет собой смесь нетронутой и использованной биомассы. Субстрат биомассы может включать, например, древесину, древесную массу, отходы бумажного производства, отходы бумажной массы, прессованную древесину, кукурузную солому, кукурузное волокно, отходы от обработки риса, бумаги и древесной массы, древовидные или травянистые растения, плодовую мякоть, овощную мякоть, пемзу, спиртовое зерновое сырье, травы, рисовую шелуху, выжимки сахарного тростника, хлопок, джут, пеньку, лен, бамбук, лубяное волокно, манильскую пеньку, солому, сердцевину кукурузных початков, спиртовое зерновое сырье, листья, пшеничную солому, волокна кокоса, водоросли, просо прутьевидное и их смеси.

Субстрат биомассы может быть использован непосредственно или может подвергаться предварительной обработке с использованием общепринятых способов, известных в данной области. Такие предварительные обработки включают химические, физические и биологические предварительные обработки. Например, технологии предварительных физических обработок включают, без ограничения, различные типы измельчения, разрушения, обработки водяным паром/паровым взрывом, излучением и гидротермолизисом. Технологии химической предварительной обработки включают, без ограничения, разбавленную кислоту, щелочные агенты, органические растворители, аммиак, диоксид серы и рН-контролируемый гидротермолизис. Методики биологической предварительной обработки включают, без ограничения, применение лигнин-солюбилизирующих микроорганизмов.

Оптимальные уровни доз биоконвертирующей ферментной смеси и целлюлаз и гемицеллюлаз в ней, варьируют в зависимости от субстрата биомассы и используемых технологий предварительной обработки. Условия технологического процесса, такие как рН, температура и время реакции также могут влиять на скорости продукции

этанола. Предпочтительно реакционноспособная композиция содержит от 0,1 до 200 мг биоконвертирующей ферментной смеси на грамм биомассы, более предпочтительно от 1 до 100 мг биоконвертирующей ферментной смеси на грамм биомассы и наиболее предпочтительно 10-50 мг биоконвертирующей ферментной смеси на грамм биомассы.

- 5 Примерами количеств являются 0,1-50, 1-40, 20-40, 1-30, 2-40 и 10-20 мг биоконвертирующей ферментной смеси на грамм биомассы. Альтернативно, количество фермента может быть определено исходя из количества субстрата в системе. В таком случае реакционноспособная композиция предпочтительно содержит от 0,1 до 50 мг биоконвертирующей ферментной смеси на грамм суммарных сахаридов, более
- 10 предпочтительно от 1 до 30 мг биоконвертирующей ферментной смеси на грамм суммарных сахаридов и более предпочтительно от 10 до 20 мг биоконвертирующей ферментной смеси на грамм суммарных сахаридов. Альтернативно, количество фермента может быть определено исходя из количества целлюлозного субстрата в системе. В таком случае реакционноспособная композиция предпочтительно содержит от 0,2 до
- 15 100 мг биоконвертирующей ферментной смеси на грамм суммарных глюкозидов, более предпочтительно от 2 до 60 мг биоконвертирующей ферментной смеси на грамм суммарных глюкозидов и более предпочтительно от 20 до 40 мг биоконвертирующей ферментной смеси на грамм суммарных глюкозидов. Аналогично количество используемой биоконвертирующей ферментной смеси может быть определено по количеству
- 20 гемицеллюлозы в биомассе субстрата. Соответственно реакционноспособная композиция предпочтительно содержит от 0,2 до 100 мг биоконвертирующей ферментной смеси на грамм гемицеллюлозы, более предпочтительно от 2 до 60 мг биоконвертирующей ферментной смеси на грамм гемицеллюлозы и более предпочтительно от 20 до 40 мг биоконвертирующей ферментной смеси на грамм гемицеллюлозы.

- 25 В некоторых вариантах осуществления композиция по настоящему изобретению находится в форме композиции цельной целлюлазы, усиленной гемицеллюлозой, содержащей препарат цельной целлюлазы и по меньшей мере одну гемицеллюлазу, где количество гемицеллюлазы находится в интервале от 1% до 50% от общего белка, и цельная целлюлаза находится в интервале менее чем от 99% до 50% от общего белка.
- 30 Например, гемицеллюлаза может представлять 1% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 99% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 2% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 98% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 3% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 97% от общего белка,
- 35 гемицеллюлаза может представлять 4% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 96% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 5% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 95% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 6% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 94% от общего белка,
- 40 гемицеллюлаза может представлять 7% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 93% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 8% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 92% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 9% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 91% от общего белка,
- 45 гемицеллюлаза может представлять 10% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 90% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 11% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 89% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 12% от общего

[illegible]

представлять 41% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 59% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 42% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 58% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 43% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 57% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 44% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 56% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 45% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 55% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 46% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 54% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 47% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 53% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 48% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 52% от общего белка, гемицеллюлаза может представлять 49% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 51% от общего белка, или гемицеллюлаза может представлять 50% от общего белка, и композиция цельной целлюлазы может представлять 50% от общего белка.

При применении композиции биоконвертирующей ферментной смеси могут быть добавлены в подходящий субстратный материал индивидуально, т.е. в виде отдельных ферментных композиций или в виде одноферментных смесей, в которых находятся все целлюлазы и гемицеллюлазы до добавления к субстрату. В тех случаях, когда целлюлазы и гемицеллюлазы представляют собой отдельные ферментные композиции, они могут быть добавлены к субстрату последовательно или одновременно. В тех случаях, когда целлюлазы и гемицеллюлазы находятся в одной смеси, их добавляют одновременно.

Другие аспекты и варианты осуществления композиций и способов могут быть еще понятнее с учетом следующих примеров, которые не следует истолковывать как ограничивающие. Специалистам в данной области будет очевидно, что многие модификации как материалов, так и способов, могут быть сделаны без отклонения от представленных сведений.

ПРИМЕРЫ

ACCELLERASE 1000™ (Danisco A/S, Genencor Division, Palo Alto, CA), полную жидкую питательную среду нейтрализованного клеточного материала, которая содержит смесь цельной целлюлазы *T. reesei*, дополненную β-глюкозидазой *T. reesei*/BGLU1, использовали в качестве источника целлюлаз. MULTIFECT® Xylanase (Danisco A/S, Genencor Division, Palo Alto, CA), ксиланазу II, с высоким pI, составленный продукт, использовали в качестве источника XYN2.

Гемицеллюлазы *T. reesei* индивидуально гиперэкспрессировали в штамме *T. reesei*, в котором были делетированы гены, кодирующие CBHI, CBHII, EG1 и EG2, во избежание присутствия этих целлюлаз в полученном в результате клеточном материале (например, кондиционированной среде или “жидких питательных средах”). Гемицеллюлазы, представляющие интерес, находятся в диапазоне от <10% до 85% общего белка в этих жидких питательных средах. Во многих случаях жидкие среды использовали непосредственно; однако некоторые гемицеллюлазы дополнительно очищали для того, чтобы показать, что наблюдаемые активности не являлись результатом действия других белков, находящихся в жидкой питательной среде.

Аббревиатуры, SEQ ID NO полипептидов, и семейство Carbohydrate-Active enZymes (CAZY) и обозначения рода (где известны) конкретных ферментов приведены в таблице 1. Приведенный выше полипептид XYN2 имеет аминокислотную последовательность

SEQ ID NO: 1 и представляет собой семейство ферментов GH11 Clan C. Аминокислотные последовательности незрелых полипептидов также показаны ниже.

ТАБЛИЦА 1

Аббревиатура	Фермент	SEQ ID	Семейство	Clan
ABF1	α -арабинофуранозидаза I	3	GH54	
ABF2	α -арабинофуранозидаза II	4	GH62	F
ABF3	α -арабинофуранозидаза III	5	GH54	
AGL1	α -галактозидаза I	6	GH27	D
AGL2	α -галактозидаза II	7	GH36	D
AGL3	α -галактозидаза III	8	GH27	D
AXE1	ацетилксиланэстераза I	9	CE5	
AXE3	ацетилксиланэстераза III	10	CE5	
EG6	эндоглюканаза VI	11	GH74	
EG8	эндоглюканаза VIII	12	GH5	A
GLR1	α -глюкуронидаза I	13	GH67	
MAN1	β -маннаназа	14	GH5	A
PEC2	полигалактуроназа	15	GH28	N
XYN1	ксиланаза I	16	GH11	C
XYN3	ксиланаза III	2	GH10	A
BXL1	β -ксилозидаза	17	GH3	

XYN2 (SEQ ID NO: 1)

MVSFTSLLAASPPSRASCRPAAEVESVAVEKRQTIQPGTGYNNGYFYFSYWNDGHGG
VTYTNGPGGQFSVNWSNSGNFVGGKGWQPGTKNKVINFSGSYNPNNGNSYLSVYGWSR
NPLIEYYIVENFGTYNPSTGATKLGEVTS DGSVYDIYRTQRVNQPSIIGTATFYQYWSVR
RNHRSSGSVNTANHFNAWAQQGLTLGTMDYQIVAVEGYFSSGSASITVS

XYN3 (SEQ ID NO: 2)

MKANVILCLLAPLVAALPTETIHLDPELAALRANLTERTADLWDRQASQSIDQLIKRK
GKLYFGTATDRGILLQREKNAAIQADLGQVTPENSMKWQSLNENQGGQLNWGDADYLV
NFAQQNGKSIRGHTLIWHSQLPWVNNINNADTLRQVIRTHVSTVVG RYK GKIRAWDV
VNEIFNEDGTLRSSVFSRLLGEEFVSI AFRAARDADPSARLYINDYNLDRANYGKV NGL
KTYVSKWISQGVPIDGIGSQSHLSGGGGSGTLGALQQLATVPVTELAITELDIQGAPTTD
YTQVVQACLSVSKCVGITVWGISDKDSWRASNPLLF DANFNPKPAYNSIVGILQ

ABF1 (SEQ ID NO: 3)

MLSNARIAAGCIAAGSLVAAGPCDIYSSGGTPCVA AHSTTRALFSAYTGPLYQVKRG
SDGATT AISPLSSGVANAAAQDAFCAGTTCLITIIYDQSGRGNHLTQAPPGGFSGPESNG
YDNLASAIGAPVTLNGQKAYGVFVSPGTGYRNNAASGTAKGDAAEGMYAVLDGTHY
NGACCFDYGNAETNSRDTGNHMEAIYFGDSTVWGTGSGKGPWIMADLENGLFSGSS
PGNNAGDPSISYRFVTA AIKQPNQW AIRGGNAASGSLSTFYSGARPQVSGYNPMSKEG
AAILGIGGDNSNGAQGTFFYEGVMTSGYPSDATENSVQANIVAARY AVAPLTSGPALTVG
SSISLRATTACCTTRYIAHSGSTVNTQVVSSSSATALKQQASWTVRAGLANNACFSFESR
DTSGSYIRHSNFGFLVLNANDGSKLFAEDATFCTQAGINGQGSSIRSWSYPTRYFRHYNN
TLYIASNGGVHVFDATAAFND DVSFVVS GGFA

ABF2 (SEQ ID NO: 4)

MELKALSAVVL SFVTLV AAAPATCTLPSTYRWNSTGALASPKSGWVSLKDFSHVIYN
GQHLVWGSTHDTGTIWGSMNFGFLSDWSNMATASQNKMTPTGTVA PTVFYFAPKNIWV
LAYQWGPTTFSYLTSSNPSSVNGWSSPQPLFSGSISGSSPLDQTVIGDSTNMYLFFAGDD
GKIYRASMPIGNFPGSFGSTSTVVLSDERNNLFEAVQVYTVSGQKQYLMIVEAIGANGR
YFRSFTATNLGGTWPQATSESQPFAGKANSGATWTNDISHGDLIRSNPDQTMIDPCN
LQFLYQGRATNSGGDYGLLPYRPGLLTLQR

ABF3 (SEQ ID NO: 5)

MSPRTDRRRSGLLALGLV AASPLATAGPCDIYASGGTPCVA AHSTTRALYGAYSGPL
YQVSRGSDGATTNIATLSAGGVANAAAQDSFCAGTTCLITVIYDQSGRGNHLTQAPPGG
AASGPQPNGYDNLASAIGAPVRLNGQKAYGVFIAPFTGYRNNQPNGTATGDQPQGM
AIFDGTHYNTGCCFDYGNAETNSLDTGNGHMEAIYFGTGDGSGRGTGSGSGPWIMADL
5 ENGLFSGYDPINNPADPTINFRFVTAVVKGEPPGQWAIIRGGDATSGTLSTFYSGQRPANG
YNPMSKEGAILGIGGDNSENRAQGTFFYEGVMTSGYPSDSTENAVQANLVAAKYVYDTS
LMTSGPALSVGSSISLRATTSCCTNRYIAHTGATVNTQVVSSSSSTALKQQASWTVRTG
LGNSACFSFESRDSFGSFIRHSNYQLMVNANDNSKLFHEDATFCPQAGLNGQGNSFRSW
SYPTRYWRHFNSLGYIAANGGEHDFDTTTLFNDDVSFVVSAGFA

10 AGL1 (SEQ ID NO: 6)

MTPHSIDRAARPSVWSGLALLSTAHAIVMPDGVTGKVP SLGWNSWNAYHCDIDES
KFLSAAEVIVSSGLLDAGYNYVNIDDCWSMKDGRVDGHIAVNTTRFPDGIDGLAKKVH
DLGLKLGISTAGTATCAGYPASLGYEDVDAADFADWGV DYLKYDNCNVP SDWQDE
YVACAPDAVQTGPNGTCSTALEPNLAPPGYDWSTSKSAERFNAMRNALAKQSREIVLS
15 LCIWGVADVFSWGNETGISWRMSGDISPEWGSVTHIINMNSFKMNSVGFWGHNDADIL
EVGNGLTAAETRTHFALWAAMKSPLLIGTDLAQLSQENIELLKNKHLLAFNQDSVYG
QPATPYK WGVNPDWTFNYTNPAEYWAGPSSKGHLVLM MNTLDHTVRKEAKWSEIPG
LSAGRYEVRDVWTDKSLGCLSSYKTAVAAHDTAVILVGKKCRNW

AGL2 (SEQ ID NO: 7)

20 MLGAPSPRRLADVLA VTAGLVASVRAASPIVSGKSFALNGDNVSYRFHVDDDSKD
LIGDHFGGPATEDGVFPPIIGPIQGWVDLIGRQRREFPDLGRGDFRTPAVHIRQAAGYTV
SDFQYKSHRVVEGKPALRGLPSTFGDAGDVSTLVHMYDNYSSVAADLTYSIFPKYDA
IVRSVNITNMGKGNITIEKLASLSVDLPYEDFDMLELKG DWAREGKRLRRKV DYGSQG
FGSTTGYS SHLHNPFFSLITPTTTSQGEAWGFSLVYTGSFSVEVEKGSQGLTRAAIGVN
25 PYQLSWPLGPGETFSSPEAVAVFSTTG VGGMSRKFNHLYRKHLIKSKFATQMHPVLLNS
WEGLGFDYNDTTILHLAQESADLGKLFVLDDGWFGVKHPRVSDNAGLG DW EANPKR
FPQGLPDFISDVTKLKVANSSDHLQFGLWFEPEMVNPNSTLYMEHPDWA IHAGSYPRTL
TRNQVLVNLVALPEVQDFIIESLSNILSNASISYVKWDNNRGIHEAPYPGLDYAYMLGLYR
VFDTLSSKF PNVRWEGCASGGGRFDPGVLQYFPHIWTSDDTDAVERIAIQFGTSLVYPPS
30 AMGAHVSAVPNGQTQRTTSIAFRAHVAMMGGSFGFELTPAEMPEDDKAQIPGIIALAEK
VNPIVVKGDMWRLSLPEESNWPAALFISQDGSQAVLFYFQIRANINNAWPVLRLQGLD
ASAKYKIDGNQTFSGATLMNIGLQYQFNGDYDSKVVFLEKQT

AGL3 (SEQ ID NO: 8)

MSPSAAVLIPLAAAVLLRPVVGQTQCGGNLYTPGTLNFTLECYNAFQDCVAQFEAN
35 ASQVDCNDGKGNLFMQQQANLGASPGSQNNDAIIAFQDIRDLCLLSGSTTATWGYSDN
QWYWAAAEDACYTNDPTRTDVVKTHPAPFCIQNRDSSLPECYPQPDATPPGGPLKVIK
TAKTRNGFKSSARGWNTYGVQALVNGSQVVPSEAGQSGLFYTQKFVETQCGVLARPEF
KKAGYDLCSLD SGWQATTAVDQHGRIIYNTTRFNLPELASWLHKRDLKLGVIYITPGVP
CLAHNQITILGTNIKIKDVLNGNNDQINCDFFDRKDG VQQWHDSVVAQWASWGVDML
40 KLDFLTGPSPSNGANLACDSSDAVRAYQKAIKSGRKIRLDISWKL CRNETWLPIWSDL
AESMRDQDLDNYGTNTLMAWQVGQR A IENYRQYIGLQAQRNVPLTIYPDM DALFTV
NPEHLAGVNDTIRYTVQNHWL GAGANLIIGGDMEQVDALGLKLTT SKQSIDAADFFAK
YPMQPRNPGTGSNAAKQLQAWIGGPSDDHEAYVLIVNYGPD LGNGGFSTKLYGKQKV
TVSLKDLGISGSAWTFDTIWSGKSSRVTGSYSAWLTEGESQLLR LKRTH

45 AXE1 (SEQ ID NO: 9)

MPSVKETLTLLLSQAFLATGSPVDGETVVKRQCPAIVFGARETTVSQGYGSSATVV
NLVIQAHPGTTSEAIVYPACGGGQASCGGISYANSVVNGTNAAAAA INNFHNSCPDTQLV
LVGYSQGAQIFDNALCGGGDPGEGITNTAVPLTAGAVSAVKAAIFMGDPRNIHGLPYN

VGTCCTTQGFDPAGFVCPSASKIKSYCDAADPYCCTGNDPNVHQGYGQEYGGQALA
FINSQLSSGGSQPPGGGPTSTSRPTSTRTGSSPGPTQTHWGQCGGQGWGTGPTQCESGTTTC
QVISQWYSQCL

AXE3 (SEQ ID NO: 10)

5 MPSIKSTVTFLLSQALLATATPMDLEKRQCPGIHVFGARETTAPPGYGSSATVVNLIIN
AHPGTTAEAINYPACGGQAQCGGISYANSVVAGINAVVQAVTNFHNRCPSTKLVLVGY
SQGGQIMDDALCGGGDPAEGYPNTAVPLPAAAVSAIRAAIFMGDPYVHGLAYNVGSC
QAQGFAPRNVGFVCPSGNKKIKSYCDASDPYCCNGNNANTHQGYGQEYGGQALAFVNS
LLG

10 EG6 (SEQ ID NO: 11)

MKVSRLALVLGAVIPAHAAFSWKNVKLGGGGGFVPGIIFHPKTKGVAYARTDIGG
LYRLNADDSWTAVTDGIADNAGWHNWGIDAV ALDPQDDQKVYAAVGMYTNSWDPS
NGAIIRSSDRGATWSFTNLPFKVGGNMPGRGAGERLAVDPANSNIIYFGARSGNGLWKS
TDGGVTFSTVSSFTATGTYPDPDSNGYNSDKQGLMWVTFDSTSSTTGGATSRIFVGT
15 ADNITASVYVSTNAGSTWSAVPGQPGKYFPHKAKLQPAEKALYLTYSFGTGPYDGTGLG
SVWRYDIAGGTWKDITPVSGSDLYFGFGGLGLDLQKPGTLVVASLNSWWPDAQLFIRST
DSGTTWSPWAWASYPTETYYYSISTPKAPWIKNNFIDVTSESPDGLIKRLGWMIESLEI
DPTDSNHWLYGTGMTIFGGHDLTNWDTRHNVSISLADGIEEFSVQDLASAPGGSELLA
AVGDDNGFTFASRNDLGTSPQTVWATPTWATSTSVDYAGNSVKSVVRVGNTAGTQQV
20 AISSDGGATWSIDYAADTSMNGGTVAYSADGDTILWSTASSGVQRSQFQGSFASVSSLP
AGAVIASDKKTNSVIFYAGSGSTFYVSKDTGSSFTRGPKLGSAGTIRDIAAHPTTAGTLYV
STDVGIFRSTDSGTTFGQVSTALTNTYQIALGVGSGSNWNLYAFGTGPSGARLYASGDS
GASWTDIQGSQGFGSIDSTKVAGSGSTAGQVYVGTNGRGVIFYAQGTVGGGTGGTSSST
KQSSSTSSASSSTTLRSSVVSTTRASTVTSSRTSSAAGPTGSGVAGHYAQCGGIGWTGP
25 TQCVAPYVCQKQNDYYYQCV

EG8 (SEQ ID NO: 12)

MRATSLAAALAVAGDALAGKIKYLGV AIPGIDFGCDIDGSCPTDTSSVPLL SYKGG
DGAGQMKHFAEDDGLNVFRISATWQFVLNNTVDGKLDELNWGSYNKVVNACLETGA
YCMIDMHNFARYNGGIIGQGGVSDIFVDLWVQIAKYEDNDKIIFGLMNEPHDLIDIEI
30 WAQTCQKVVTAIRKAGATSQMILLPGTNFASVETYVSTGSAEALGKITNPDGSTDLLYF
DVHKYLDINNSGSHAECTTDNVDAFNDFAWLRQNKRAISETGASMEPSCMTAFCA
QNKAISENSDVYIGFVGWAGSFDTSYILTLPLGKPGNYTDNKLMECILDQFTLDEK
YRPTPTSISTAEEETATATATSDGDAPSTTKPIFREETASPTPNAVTKPSPDTSDDSSDDDK
DSAASMSAQGLTGTVLFTVAALGYMLVAF

35 GLR1 (SEQ ID NO: 13)

MVIRSLLLLLLAAIVPVFAESGIDAWLRYARLPSSATRGHLTSFPDRIVVLNASKNGPL
ASASSELHKGILGLDLDVSSRGGKHCSTQKSIVISTLDITYQSACGKLSPKLNLKEDG
YWLSTKGGSVQIIGQNERGALYGAFQYLSYLGQGDGSGKAFASNPSAPVRWSNQWDN
LNAATAAHGSIERGYGGPSIFFENGLIKEDLSRVPLYGRLLASVGLNGIVINNVDANL
40 LNETNLQGLKRIADLFRPWGVNVGISLNFASPQVLGDLSTFDPLDDSVIKWWTDKTDRI
YQLVPDLAGYLVKANSEGQPGPLTYNRTLAEGANLFAKAVQPHGGIVVFRAFYDQLN
ETDWKADRANA AVDFFKSLDGQFDDNVLVQIKYGPIDFQVREPASPLFANLPKTAVSIE
LEVTEYLGQQSHLVYLPPLWQTVLGFDMRYNNRQSYVRDIISGEVFGHKLGGYAGVI
NVGMDDTWLGSGLAMSNMFAYGRLAWNPRADSRDIVEEWTRLTFLGLDRDVVSTIAD
45 MSLKSWPAYEGYSGNLGIQTLTDILYTHYGANPASQDNNGWGQWTRADSKTIGMDRT
VSNGTGNAGQYPKEVAARFEHTQTTPDDLMLWFHHVPYTFRLHSGKSVIQHFYDAHY
TGAATVQRFPAAWKSLKSKIDTERYNAVLYKLQYQTGHSLVWRDAITEFYRNLSSIPDQ
LNRVRNHPHRIEAEDMDLSGFTVVNVSPTECASKYKAIATNGTGTATTRLNVPSPGKYTV

AVNYYDVINGTASYDVLLNGKSLGKWKGDSETHLGHDFSTFLDCHSAIRITFEGVRISR
GDKLTIRGTGNAQEQAIDYVSILPQGVVD

MAN1 (SEQ ID NO: 14)

MMMLSKSLLSAATAASALA AVLQPVPRASSFVTISGTQFNIDGKVG YFAGTNCYWC
5 SFLT NHADVDSTF SHISSSGLKVVRVWGFNDVNTQPSPGQIWFQKLSATGSTINTGADG
LQTL DYVVQSAEQHN LKLIIPFVNNWSDYGGINAYVNAFGGNATTWYTNTAAQTQYR
KYVQAVVSR YANSTAI FAWELGNEPRCNGCSTDVIVQWATSVS QYVKSLDSNHLVTLG
DEGLGLSTGDGAYPYTYGEGTDFAKNVQIKSLDFGTFHLYPDSWGTNYTWGNGWIQT
HAAACLAAGKPCVFEEYGAQQNPCTNEAPWQTTS LTRGMGGDMFWQWGDTFANGA
10 QSNSDPYTVWYNSSNWQCLVKNHVD AINGGTTTTPPPVSSTTTTSSRTSSTPPPPGGSCSP
LYGQCGGSGYTGPTCCAQGTCTIYSNYWYSQCLNT

PEC2 (SEQ ID NO: 15)

MLKLSLFLGAVTASLCVQAHAVPPPTVTQAPKLED RATTCTFSGSNGASSASKSQKS
CATIVLSNVAVPSGVTLDSLNDGTTVIFEGTTTWGYKEWSGPLLQIEGNDITIQQASG
15 AVLNP DGARWWDGQGGNGGKTKPKFFAAHDLTSSSITNLYIKNTPVQAVSVNGVNGL
TITGMTIDNSAGDSGGGHNTDGF DIGSSSNVVISGAKVYNQDDCVAVNSGTNITFTGGL
CSGGHGLSIGSVGGRDDNTVQTVTFSNSQVTKSANGIRIKATAGKTGTIKGVTYTGITLS
SITGYGILIEQNYDGGDLHGSP TSGIPITNLVLQNISGSNGVVSSGNNAIVCGSGACSNW
TWSNVVVTGGKKYGSCQNVSPATC

20 XYN1 (SEQ ID NO: 16)

MVAFSSLICALTSIASTLAMPTGLEPESSVNVTERGMYDFVLGAHNDHRRRASINYD
QNYQTGGQVSYSPSNTGFSVNWNTQDDFVVGVGWTTGSSAPINFGGSFSVNSGTGLLS
VYGWSTNPLVEYYIMEDNHNYP AQGT VKGT VTS DGATYTIWENTRVNEPSIQGTATFN
QYISVRNSPRTSGT VTVQNHFNAWASLGLHLGQMNYQVVAVEGWGGSGSASQSVSN

25 BXL1 (SEQ ID NO: 17)

MVNNAALLAALSALLPTAL AQNNQTYANYSAQGQPDLYPETLATLTLSFPDCEHGP
LKNNLVCDSSAGYVERAQA LISLFTLEELILNTQNSGPGVPRLGLPNYQVWNEALHGLD
RANFATKGGQFEWATSFPMPI LTTAALNRTLHQIADIISTQARAFSNSGRYGLDVYAPN
VNGFRSPLWGRGQETPGEDAFFLSSAYTYEYITGIQGGVDPEHLKVAATVKHFAGYDL
30 ENWNNQSRLGFD AII TQQDLSEYYTPQFLAAARYAKSRSLMCAYNVNGVPSCANSFFL
QTLRESWGFPEWGYVSSDCDAVYNVFNPHDYASNQSSAAASSLRAGTDIDCGQTYPW
HLNESFVAGEVSRGEIERSVTRLYANLVRLGYFDKKNQYRSLGWKDVVKTD AWNISYE
AAVEGIVLLKNDGTLPLSKK VRSIALIGPWANATTQM MQGNYYGPAPYLISPLEAAKKAG
YHVNFELGTEIAGNSTTGFAKAI AAKKSDAIIYLGIDNTIEQEGADRTDIAPGNQLD
35 LIKQLSEVGKPLVVLQMGGGQVDSSSLKSNKKVNSLVWGGYPGQSGGVALFDILSGKR
APAGRLVTTQYPAEYVHQFPQNDMNL RPDGKSNPGQTYIWTGKPVYEFSGSLFYTTF
KETLASHPKSLKFNTSSILSAPHPGYTYSEQIPVFTFEANIKNSGKTESPYTAMLFVRTSN
AGPAPYPNKWLVGFDRLADIKPGHSSKLSIPIPVSALARVDSHG NRIVYPGKYELALNTD
ESVKLEFELVGEEVTIENWPLEEQQIKDATPDA

40 Секретируемые белковые жидкие питательные среды, экспрессирующие ABF1, ABF2,
ABF3, AGL1, AGL2, AGL3, AXE1, AXE3, EG6, EG8, GLR1, MAN1, PEC2, XYN1, XYN3 и
BXL1, тестировали в трехкомпонентных смесях. 150 мкл AFEX-предварительно
обработанной кукурузной соломы (31,7% глюкозы, 19,1% ксилана, 1,83% галактана и
3,4% арабинана, исходя из сухой массы, полученной в виде либо 15,6, либо 12% взвеси
45 сухих веществ в pH 5 50 мМ ацетат-натриевом буфере) добавляли в каждую лунку 96-
луночного микротитровального планшета (все экспериментальные точки основаны
на лунках в трех повторях). В одном эксперименте (показан в таблице 9) использована
разбавленная предварительно обработанная аммиаком сердцевина кукурузного початка

при 13,84% твердых веществ в качестве субстрата. К выбранным лункам добавляли только ACCELLERASE 1000TM (CEL) при 20 мг/г целлюлозы, ACCELLERASE 1000TM при 20 мг/г + 5 мг/г MULTIFECT[®] Xylanase, или ACCELLERASE 1000TM при 20 мг/г + 5 мг/г MULTIFECT[®] Xylanase + 1 или 5 мг/г отдельных гемицеллюлазных бульонов все в 20 мкл общего объема фермента.

Дозы фермента приводили в соответствие с суммарной целлюлозой в каждой взвеси субстрата (15,6% или 12% сухого вещества). Планшеты герметично закрывали и инкубировали со встряхиванием при 50°C в течение 72 часов. Реакции затем гасили с использованием 100 мкл 100 мМ глицина, pH 10. Эту смесь фильтровали и разбавляли дополнительно 6х (20 мкл + 100 мкл дистиллированной H₂O) и анализировали на содержание сахара на колонке HPLC-Aminex HPX-87P на приборе Agilent Chem Station HPLC. Области пиков HPLC преобразовывали в концентрации сахара на основе стандартной кривой целлобиозы для целлобиозы и глюкозы или ксилозной стандартной кривой для ксилозы. Процентное преобразование на основе исходного содержания целлюлозы вычисляли для включения H₂O гидролиза для каждого из трех сахарных полимеров. Также вычисляли стандартные отклонения трех повторов.

В таблице 2 и 3 представлены средние значения конверсии (± стандартное отклонение) глюканов и ксиланов для каждой ферментной смеси, как определено в двух отдельных выполнениях протокола. Эти отдельные серии проводили с двумя различными субстратными взвесями AFEX 15,6% (таблица 2) и 12% сухих веществ (таблица 3), и таким образом, содержат различные общие мг целлюлозы, хотя доза в виде мг/г целлюлозы является той же.

ТАБЛИЦА 2

Фермент		% конверсии глюкана (± SD)	% конверсии ксилана (± SD)
20 мг/г CEL		56,31 (0,88)	39,47 (0,66)
25 мг/г CEL		61,12 (0,99)	41,82 (1,6)
30 мг/г CEL		66,48 (1,9)	46,69 (0,98)
20 мг/г CEL + 5 мг/г XYN2	---	67,92 (1,1)	61,02 (1,3)
	+ 5 мг/г ABF1	68,84 (2,1)	62,31 (0,67)
	+ 5 мг/г ABF2	74,84 (2,4)	62,36 (1,2)
	+ 5 мг/г ABF3	72,96 (1,4)	63,35 (3,7)
	+ 5 мг/г AXE1	71,93 (1,4)	64,78 (0,83)
	+ 5 мг/г BXL1	78,45 (2,8)	79,29 (4,9)
	+ 5 мг/г EG6	70,15 (2,1)	58,82 (2,7)
	+ 5 мг/г GLR1	67,81 (1,8)	65,70 (2,9)
	+ 5 мг/г MAN1	74,58 (0,80)	66,84 (0,64)
	+ 5 мг/г PEC2	72,94 (4,3)	61,99 (5,5)
	+ 5 мг/г XYN1	67,33 (1,1)	62,22 (0,44)
	+ 5 мг/г XYN3	78,82 (0,64)	73,63 (0,50)
	+ 1 мг/г XYN3 + 1 мг/г BXL1	77,37 (2,6)	74,44 (2,3)

ТАБЛИЦА 3

Фермент		% конверсии глюкана (± SD)	% конверсии ксилана (±SD)
20 мг/г CEL		55,08 (1,8)	35,95 (0,94)
30 мг/г CEL		62,63 (0,96)	40,99 (0,30)
20 мг/г CEL + 5 мг/г XYN2	---	63,96 (0,58)	55,06 (2,0)
	+ 5 мг/г AGL1	67,52 (1,7)	56,00 (1,2)
	+ 5 мг/г AGL2	69,80 (2,7)	55,02 (1,8)
	+ 5 мг/г AGL3	66,51 (0,12)	55,93 (0,59)
	+ 5 мг/г AXE3	68,32 (1,4)	55,89 (0,67)

	+ 5 мг/г EG8	70,68 (3,9)	55,40 (2,7)
--	--------------	-------------	-------------

Добавление XYN2 было эффективным при увеличении конверсии ксилана. Шесть ферментных смесей с третьим компонентом (т.е., XYN3, AGL2, EG8, BXL1, ABF3 или PEC2) показали дополнительные преимущества относительно конверсии глюкоана и/или ксилана по сравнению с целлюлазой с XYN2. Четырехкомпонентная ферментная смесь была выполнена в соответствии с описанной выше процедурой. В таблице 4 приведено среднее значение конверсии (\pm стандартное отклонение) глюкоанов и ксиланов для каждой ферментной смеси.

ТАБЛИЦА 4			
Фермент		% конверсии глюкоана (\pm SD)	% конверсии ксилана (\pm SD)
20 мг/г CEL		55,43 (6,5)	42,29 (2,3)
20 мг/г CEL + 5 мг/г XYN2		71,27 (0,67)	63,96 (1,2)
20 мг/г CEL + 5 мг/г XYN3		85,07 (3,1)	68,69 (2,6)
20 мг/г CEL + 5 XYN2 + 5 мг/г XYN3		86,82 (1,2)	80,68 (0,33)
20 мг/г CEL + 5 мг/г XYN2 + 2,5 XYN3	---	76,57 (0,94)	72,70 (0,64)
	+ 5 мг/г ABF3	81,58 (0,76)	75,89 (0,73)
	+ 5 мг/г AGL2	78,66 (2,7)	72,49 (2,3)
	+ 5 мг/г BXL1	72,80 (6,7)	78,60 (2,1)
	+ 5 мг/г EG8	74,72 (6,0)	73,29 (2,8)
+ 5 мг/г PEC2		78,18 (2,4)	73,90 (2,9)

В другом эксперименте ACCELLERASE 1000™ смешивали с очищенной XYN2 и/или XYN3 и анализировали (таблица 5). Сочетание XYN2 и XYN3 давало более эффективную конверсию глюкоана и ксилана.

ТАБЛИЦА 5			
Фермент		% конверсии глюкоана (\pm SD)	% конверсии ксилана (\pm SD)
10 мг/г CEL	---	43,97 (1,4)	28,41 (1,0)
	+ 10 мг/г XYN2	59,22 (4,3)	56,83 (5,7)
	+ 10 мг/г XYN3	51,44 (8,6)	43,53 (1,6)
20 мг/г CEL	---	60,29 (1,7)	40,02 (0,33)
	+ 5 мг/г XYN2 + 5 мг/г XYN3	73,73 (0,79)	61,81 (1,2)
	+ 10 мг/г XYN2 + 10 мг/г XYN3	74,71 (1,6)	65,20 (1,4)
	30 мг/г CEL	67,05 (0,74)	43,74 (0,14)

В дополнительном примере XYN4, XYN5, FAE1 и новая серия ABF3 с ~50% белка, представляющего интерес (по сравнению с предыдущей серией с <10%), тестировали, как описано выше в смесях, содержащих 20 мг/г ACCELLERASE 1000™ + 5 мг/г MULTIFECT® Xylanase XYN2. Результаты представлены в Таблице 6. Добавление XYN4, XYN5 или FAE1 было эффективным в повышении конверсии глюкоана и ксилана.

ТАБЛИЦА 6			
Фермент		% конверсии глюкоана (\pm SD)	% конверсии ксилана (\pm SD)
20 мг/г CEL		57,52 (1,08)	38,37 (0,38)
30 мг/г CEL		66,21 (1,37)	44,15 (0,70)
20 мг/г CEL + 5 мг/г XYN2	---	68,44 (0,23)	60,46 (0,48)
	+ 5 мг/г ABF3	66,22 (5,99)	67,46 (3,97)
	+ 5 мг/г XYN4	72,17 (0,66)	63,47 (0,44)
	+ 5 мг/г XYN5	71,91 (3,74)	62,73 (3,37)
	+ 5 мг/г FAE1	70,98 (1,47)	67,02 (1,59)

В другом эксперименте ACCELLERASE 1000™ смешивали с очищенной Bxl1 и XYN2 и/или XYN3 и анализировали, как описано выше. Результаты показаны в таблице 7.

Некоторые сочетания ферментов были эффективны в повышении конверсии глюкозы и/или ксилана.

ТАБЛИЦА 7

Фермент	% конверсии глюкозы (\pm SD)	% конверсии ксилана (\pm SD)
35 мг/г CEL	67,95 (0,67)	40,36 (0,36)
30 мг/г CEL	66,51 (1,99)	38,63 (0,56)
20 мг/г CEL	58,03 (3,19)	32,28 (1,41)
10 мг/г CEL	45,01 (0,59)	23,85 (0,42)
10 мг/г CEL + 10 мг/г BXL1	46,89 (4,16)	48,85 (2,94)
20 CEL + 5 XYN2 + 5 BXL1	69,45 (4,88)	60,15 (1,17)
20 CEL + 5 XYN3 + 5 BXL1	65,17 (8,37)	65,36 (1,14)
20 CEL + 5 XYN2 + 5 XYN3 + 5 BXL1	75,13 (1,20)	66,97 (1,07)

В другом примере ABF1, ABF2 и ABF3 (ABF3 серия образцов с <10% белка, представляющего интерес), по одному, в двухкомпонентных и трехкомпонентных сочетаниях добавляли к основе 20 мг/г ACCELLERASE 1000™ + 5 мг/г очищенной XYN3 + 5 мг/г очищенной BXL1. Результаты показаны в таблице 8. Некоторые сочетания ферментов были эффективными в повышении конверсии глюкозы и/или ксилана.

ТАБЛИЦА 8

Фермент	% конверсии глюкозы (\pm SD)	% конверсии ксилана (\pm SD)
30 мг/г CEL	67,55 (0,18)	45,05 (6,67)
45 мг/г CEL	79,39 (4,66)	56,05 (2,31)
---	73,24 (4,39)	79,88 (4,72)
+ 5 мг/г ABF1	58,21 (0,55)	86,84 (0,47)
+ 5 мг/г ABF2	84,39 (1,01)	87,15 (1,32)
+ 5 мг/г ABF3	65,07 (3,68)	73,46 (4,13)
+ 5 мг/г ABF1	87,65 (3,11)	87,08 (2,31)
+ 5 мг/г ABF2	67,62 (5,01)	87,77 (2,91)
+ 5 мг/г ABF3	91,21 (1,82)	89,98 (1,08)
+ 5 мг/г ABF1	99,67 (3,45)	96,73 (4,74)
+ 5 мг/г ABF2		
+ 5 мг/г ABF3		

В другом примере 3,4 мг/г ксилана очищенной ABF1, ABF2 и/или ABF3 добавляли к 20,7 мг/г глюкозы ACCELLERASE 1000™ + 5,1 мг/г ксилана каждой из очищенных XYN3 и BXL1. Результаты показаны в таблице 9. Некоторые сочетания ферментов были эффективны в повышении конверсии глюкозы и/или ксилана.

ТАБЛИЦА 9

Фермент	% конверсии глюкозы (\pm SD)	% конверсии ксилана (\pm SD)
30,9 мг/г CEL	66,45 (1,64)	33,84 (0,83)
41,3 мг/г CEL	67,99 (0,57)	35,95 (0,11)
---	76,67 (0,30)	63,86 (0,08)
+3,4 мг/г ABF1	76,37 (1,32)	64,18 (1,77)
+3,4 мг/г ABF2	77,84 (1,48)	66,59 (2,07)
+3,4 мг/г ABF3	77,53 (1,94)	66,86 (1,84)
+3,4 мг/г ABF1	78,32 (1,56)	67,65 (2,31)
+3,4 мг/г ABF2		
+ 3,4 мг/г ABF1	77,53 (1,04)	66,89 (0,51)
+3,4 мг/г ABF3		
+3,4 мг/г ABF2	79,92 (0,27)	68,96 (0,03)
+3,4 мг/г ABF3		
+ 3,4 мг/г ABF1	80,22 (1,98)	68,76 (2,22)
+3,4 мг/г ABF2		
+ 3,4 мг/г ABF3		

Формула изобретения

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

(а) первую ферментную композицию, состоящую из полной питательной среды, которая содержит смесь цельной целлюлазы *T. reesei*, дополненную β -глюкозидазой *T. reesei* BGLU1, где целлюлаза составляет от 1% до 50% от общего белка в композиции ферментной смеси,

(b) вторую ферментную композицию, состоящую из по меньшей мере одной ксиланазы, выбранной из ксиланазы GH10 или GH11, и

(с) третью ферментную композицию, состоящую из по меньшей мере одной дополнительной гемицеллюлазы, где одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой сочетание β -ксилозидазы BXL1 из *Trichoderma reesei* и двух или более арабинофуранозидаз, выбранных из ABF1, ABF2 или ABF3 из *Trichoderma reesei*, и гемицеллюлаза составляет от 1% до 50% от общего белка в композиции ферментной смеси, где

композиция ферментной смеси обеспечивает по меньшей мере одно из следующего:

(i) повышенную конверсию глюкана или (ii) повышенную конверсию ксилана по сравнению с эквивалентной композицией ферментной смеси, лишенной по меньшей мере одной дополнительной гемицеллюлазы.

2. Композиция по п.1, где вторая ферментная композиция содержит ксиланазу XYN2 из *Trichoderma reesei*.

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

4. Композиция по п.1 или 2, где по крайней мере одна ксиланаза имеет аминокислотную последовательность, имеющую по крайней мере 90% идентичность аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:2.

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

(а) первую ферментную композицию, состоящую из полной питательной среды, которая содержит смесь цельной целлюлазы *T. reesei*, дополненную β -глюкозидазой *T. reesei* BGLU1, где целлюлаза составляет от 1% до 50% от общего белка в композиции ферментной смеси,

(b) вторую ферментную композицию, состоящую из по меньшей мере одной ксиланазы, выбранной из ксиланазы GH10 или GH11, и

(с) третью ферментную композицию, состоящую из по меньшей мере одной дополнительной гемицеллюлазы, где одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой сочетание β -ксилозидазы и двух или более арабинофуранозидаз, и гемицеллюлаза составляет от 1% до 50% от общего белка в композиции ферментной смеси,

где β -ксилозидаза имеет аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность SEQ ID NO:17, и

две или более арабинофуранозидазы выбраны из арабинофуранозидазы, которая имеет аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность SEQ ID NO:3, арабинофуранозидазы, которая имеет аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность SEQ ID NO:4, и арабинофуранозидазы, которая имеет аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность SEQ ID NO:5,

где композиция ферментной смеси обеспечивает по меньшей мере одно из

следующего: (i) повышенную конверсию глюкоана или (ii) повышенную конверсию ксилана по сравнению с эквивалентной композицией ферментной смеси, лишенной по меньшей мере одной дополнительной гемицеллюлазы.

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

(а) первой ферментной композицией, состоящей из полной питательной среды, которая содержит смесь цельной целлюлазы *T. reesei*, дополненную β -глюкозидазой *T. reesei* BGLU1, где целлюлаза составляет от 1% до 50% от общего белка в композиции ферментной смеси,

(b) второй ферментной композицией, состоящей из по меньшей мере одной ксиланазы, выбранной из ксиланазы GH10 или GH11, и

(с) третьей ферментной композицией, состоящей из по меньшей мере одной дополнительной гемицеллюлазы, где одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой сочетание β -ксилозидазы BXL1 из *Trichoderma reesei* и двух или более арабинофуранозидаз, выбранных из ABF1, ABF2 или ABF3 из *Trichoderma reesei*, и гемицеллюлаза составляет от 1% до 50% от общего белка в композиции ферментной смеси,

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

7. Способ по п.6, где вторая ферментная композиция содержит ксиланазу XYN2 из *Trichoderma reesei*.

8. Способ по п.6, где вторая ферментная композиция содержит ксиланазу XYN3 из *Trichoderma reesei*.

9. Способ по любому из пп.6-7, где по крайней мере одна ксиланаза имеет аминокислотную последовательность, имеющую по крайней мере 90% идентичность аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:2.

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

(а) первой ферментной композицией, состоящей из полной питательной среды, которая содержит смесь цельной целлюлазы *T. reesei*, дополненную β -глюкозидазой *T. reesei* BGLU1, где целлюлаза составляет от 1% до 50% от общего белка в композиции ферментной смеси,

(b) второй ферментной композицией, состоящей из по меньшей мере одной ксиланазы, выбранной из ксиланазы GH10 или GH11, и

(с) третьей ферментной композицией, состоящей из по меньшей мере одной дополнительной гемицеллюлазы, где одна дополнительная гемицеллюлаза представляет собой сочетание β -ксилозидазы и двух или более арабинофуранозидаз, и гемицеллюлаза составляет от 1% до 50% от общего белка в композиции ферментной смеси,

где β -ксилозидаза имеет аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность SEQ ID NO:17, и

две или более арабинофуранозидазы выбраны из арабинофуранозидазы, которая имеет аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность SEQ ID NO:3, арабинофуранозидазы, которая имеет аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность SEQ ID NO:4 и

арабинофуранозидазы, которая имеет аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичность SEQ ID NO:5,

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

11. Способ по любому из пп.6, 7 и 10, в котором контактирование смеси целлюлозных и гемицеллюлозных материалов с первой ферментной композицией, второй ферментной композицией и третьей ферментной композицией проводят одновременно.

12. Способ по любому из пп.6, 7 и 10, в котором первая ферментная композиция, вторая ферментная композиция и третья ферментная композиция представлены в единой композиции ферментной смеси.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

- <110> DANISCO US INC., GENENCOR DIVISION
POWER, Scott D.
LANTZ, Suzanne
LARENAS, Edmundo
CALDWELL, Robert
- <120> КОМПОЗИЦИИ, ОБОГАЩЕННЫЕ ГЕМИЦЕЛЛЮЛАЗОЙ, ДЛЯ УСКОРЕНИЯ ГИДРОЛИЗА
БИОМАССЫ
- <130> 31119WO-2
- <140> PCT/US09/37853
- <141> 2009-03-20
- <150> US 61/038,520
- <151> 2008-03-21
- <160> 17
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 222
- <212> БЕЛОК
- <213> *Trichoderma reesei*
- <220>
- <221> misc_feature
- <223> XYN2
- <400> 1

Met Val Ser Phe Thr Ser Leu Leu Ala Ala Ser Pro Pro Ser Arg Ala
1 5 10 15

Ser Cys Arg Pro Ala Ala Glu Val Glu Ser Val Ala Val Glu Lys Arg
20 25 30

Gln Thr Ile Gln Pro Gly Thr Gly Tyr Asn Asn Gly Tyr Phe Tyr Ser
35 40 45

Tyr Trp Asn Asp Gly His Gly Gly Val Thr Tyr Thr Asn Gly Pro Gly
50 55 60

Gly Gln Phe Ser Val Asn Trp Ser Asn Ser Gly Asn Phe Val Gly Gly
65 70 75 80

Lys Gly Trp Gln Pro Gly Thr Lys Asn Lys Val Ile Asn Phe Ser Gly
85 90 95

Ser Tyr Asn Pro Asn Gly Asn Ser Tyr Leu Ser Val Tyr Gly Trp Ser
100 105 110

Arg Asn Pro Leu Ile Glu Tyr Tyr Ile Val Glu Asn Phe Gly Thr Tyr
115 120 125

RU 2 536 256 C2

Asn Pro Ser Thr Gly Ala Thr Lys Leu Gly Glu Val Thr Ser Asp Gly
130 135 140

Ser Val Tyr Asp Ile Tyr Arg Thr Gln Arg Val Asn Gln Pro Ser Ile
145 150 155 160

Ile Gly Thr Ala Thr Phe Tyr Gln Tyr Trp Ser Val Arg Arg Asn His
165 170 175

Arg Ser Ser Gly Ser Val Asn Thr Ala Asn His Phe Asn Ala Trp Ala
180 185 190

Gln Gln Gly Leu Thr Leu Gly Thr Met Asp Tyr Gln Ile Val Ala Val
195 200 205

Glu Gly Tyr Phe Ser Ser Gly Ser Ala Ser Ile Thr Val Ser
210 215 220

<210> 2
<211> 347
<212> BEJOK
<213> Trichoderma reesei

<220>
<221> misc_feature
<223> XYN3

<400> 2

Met Lys Ala Asn Val Ile Leu Cys Leu Leu Ala Pro Leu Val Ala Ala
1 5 10 15

Leu Pro Thr Glu Thr Ile His Leu Asp Pro Glu Leu Ala Ala Leu Arg
20 25 30

Ala Asn Leu Thr Glu Arg Thr Ala Asp Leu Trp Asp Arg Gln Ala Ser
35 40 45

Gln Ser Ile Asp Gln Leu Ile Lys Arg Lys Gly Lys Leu Tyr Phe Gly
50 55 60

Thr Ala Thr Asp Arg Gly Leu Leu Gln Arg Glu Lys Asn Ala Ala Ile
65 70 75 80

Ile Gln Ala Asp Leu Gly Gln Val Thr Pro Glu Asn Ser Met Lys Trp
85 90 95

Gln Ser Leu Glu Asn Asn Gln Gly Gln Leu Asn Trp Gly Asp Ala Asp
100 105 110

RU 2 536 256 C2

Tyr Leu Val Asn Phe Ala Gln Gln Asn Gly Lys Ser Ile Arg Gly His
115 120 125

Thr Leu Ile Trp His Ser Gln Leu Pro Ala Trp Val Asn Asn Ile Asn
130 135 140

Asn Ala Asp Thr Leu Arg Gln Val Ile Arg Thr His Val Ser Thr Val
145 150 155 160

Val Gly Arg Tyr Lys Gly Lys Ile Arg Ala Trp Asp Val Val Asn Glu
165 170 175

Ile Phe Asn Glu Asp Gly Thr Leu Arg Ser Ser Val Phe Ser Arg Leu
180 185 190

Leu Gly Glu Glu Phe Val Ser Ile Ala Phe Arg Ala Ala Arg Asp Ala
195 200 205

Asp Pro Ser Ala Arg Leu Tyr Ile Asn Asp Tyr Asn Leu Asp Arg Ala
210 215 220

Asn Tyr Gly Lys Val Asn Gly Leu Lys Thr Tyr Val Ser Lys Trp Ile
225 230 235 240

Ser Gln Gly Val Pro Ile Asp Gly Ile Gly Ser Gln Ser His Leu Ser
245 250 255

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Gly Ala Leu Gln Gln Leu Ala Thr
260 265 270

Val Pro Val Thr Glu Leu Ala Ile Thr Glu Leu Asp Ile Gln Gly Ala
275 280 285

Pro Thr Thr Asp Tyr Thr Gln Val Val Gln Ala Cys Leu Ser Val Ser
290 295 300

Lys Cys Val Gly Ile Thr Val Trp Gly Ile Ser Asp Lys Asp Ser Trp
305 310 315 320

Arg Ala Ser Thr Asn Pro Leu Leu Phe Asp Ala Asn Phe Asn Pro Lys
325 330 335

Pro Ala Tyr Asn Ser Ile Val Gly Ile Leu Gln
340 345

<210> 3
<211> 500
<212> BEJOK

<213> Trichoderma reesei

<220>

<221> misc_feature

<223> ABF1

<400> 3

Met Leu Ser Asn Ala Arg Ile Ile Ala Ala Gly Cys Ile Ala Ala Gly
1 5 10 15

Ser Leu Val Ala Ala Gly Pro Cys Asp Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Thr
20 25 30

Pro Cys Val Ala Ala His Ser Thr Thr Arg Ala Leu Phe Ser Ala Tyr
35 40 45

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

Ala Ile Ser Pro Leu Ser Ser Gly Val Ala Asn Ala Ala Ala Gln Asp
65 70 75 80

Ala Phe Cys Ala Gly Thr Thr Cys Leu Ile Thr Ile Ile Tyr Asp Gln
85 90 95

Ser Gly Arg Gly Asn His Leu Thr Gln Ala Pro Pro Gly Gly Phe Ser
100 105 110

Gly Pro Glu Ser Asn Gly Tyr Asp Asn Leu Ala Ser Ala Ile Gly Ala
115 120 125

Pro Val Thr Leu Asn Gly Gln Lys Ala Tyr Gly Val Phe Val Ser Pro
130 135 140

Gly Thr Gly Tyr Arg Asn Asn Ala Ala Ser Gly Thr Ala Lys Gly Asp
145 150 155 160

Ala Ala Glu Gly Met Tyr Ala Val Leu Asp Gly Thr His Tyr Asn Gly
165 170 175

Ala Cys Cys Phe Asp Tyr Gly Asn Ala Glu Thr Asn Ser Arg Asp Thr
180 185 190

Gly Asn Gly His Met Glu Ala Ile Tyr Phe Gly Asp Ser Thr Val Trp
195 200 205

Gly Thr Gly Ser Gly Lys Gly Pro Trp Ile Met Ala Asp Leu Glu Asn
210 215 220

RU 2 536 256 C2

Gly	Leu	Phe	Ser	Gly	Ser	Ser	Pro	Gly	Asn	Asn	Ala	Gly	Asp	Pro	Ser		
225							230				235				240		
Ile	Ser	Tyr	Arg	Phe	Val	Thr	Ala	Ala	Ile	Lys	Gly	Gln	Pro	Asn	Gln		
				245					250					255			
Trp	Ala	Ile	Arg	Gly	Gly	Asn	Ala	Ala	Ser	Gly	Ser	Leu	Ser	Thr	Phe		
			260					265					270				
Tyr	Ser	Gly	Ala	Arg	Pro	Gln	Val	Ser	Gly	Tyr	Asn	Pro	Met	Ser	Lys		
		275					280					285					
Glu	Gly	Ala	Ile	Ile	Leu	Gly	Ile	Gly	Gly	Asp	Asn	Ser	Asn	Gly	Ala		
	290					295					300						
Gln	Gly	Thr	Phe	Tyr	Glu	Gly	Val	Met	Thr	Ser	Gly	Tyr	Pro	Ser	Asp		
305					310					315					320		
Ala	Thr	Glu	Asn	Ser	Val	Gln	Ala	Asn	Ile	Val	Ala	Ala	Arg	Tyr	Ala		
				325					330					335			
Val	Ala	Pro	Leu	Thr	Ser	Gly	Pro	Ala	Leu	Thr	Val	Gly	Ser	Ser	Ile		
			340					345					350				
Ser	Leu	Arg	Ala	Thr	Thr	Ala	Cys	Cys	Thr	Thr	Arg	Tyr	Ile	Ala	His		
		355					360					365					
Ser	Gly	Ser	Thr	Val	Asn	Thr	Gln	Val	Val	Ser	Ser	Ser	Ser	Ala	Thr		
	370					375					380						
Ala	Leu	Lys	Gln	Gln	Ala	Ser	Trp	Thr	Val	Arg	Ala	Gly	Leu	Ala	Asn		
385					390					395					400		
Asn	Ala	Cys	Phe	Ser	Phe	Glu	Ser	Arg	Asp	Thr	Ser	Gly	Ser	Tyr	Ile		
				405					410					415			
Arg	His	Ser	Asn	Phe	Gly	Leu	Val	Leu	Asn	Ala	Asn	Asp	Gly	Ser	Lys		
			420					425					430				
Leu	Phe	Ala	Glu	Asp	Ala	Thr	Phe	Cys	Thr	Gln	Ala	Gly	Ile	Asn	Gly		
		435					440					445					
Gln	Gly	Ser	Ser	Ile	Arg	Ser	Trp	Ser	Tyr	Pro	Thr	Arg	Tyr	Phe	Arg		
	450					455					460						
His	Tyr	Asn	Asn	Thr	Leu	Tyr	Ile	Ala	Ser	Asn	Gly	Gly	Val	His	Val		
465					470					475					480		

Phe Asp Ala Thr Ala Ala Phe Asn Asp Asp Val Ser Phe Val Val Ser
485 490 495

Gly Gly Phe Ala
500

<210> 4
<211> 322
<212> BEJOK
<213> Trichoderma reesei

<220>
<221> misc_feature
<223> ABF2

<400> 4

Met Glu Leu Lys Ala Leu Ser Ala Val Val Leu Ser Phe Val Thr Leu
1 5 10 15

Val Ala Ala Ala Pro Ala Thr Cys Thr Leu Pro Ser Thr Tyr Arg Trp
20 25 30

Asn Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Pro Lys Ser Gly Trp Val Ser Leu
35 40 45

Lys Asp Phe Ser His Val Ile Tyr Asn Gly Gln His Leu Val Trp Gly
50 55 60

Ser Thr His Asp Thr Gly Thr Ile Trp Gly Ser Met Asn Phe Gly Leu
65 70 75 80

Phe Ser Asp Trp Ser Asn Met Ala Thr Ala Ser Gln Asn Lys Met Thr
85 90 95

Pro Gly Thr Val Ala Pro Thr Val Phe Tyr Phe Ala Pro Lys Asn Ile
100 105 110

Trp Val Leu Ala Tyr Gln Trp Gly Pro Thr Thr Phe Ser Tyr Leu Thr
115 120 125

Ser Ser Asn Pro Ser Ser Val Asn Gly Trp Ser Ser Pro Gln Pro Leu
130 135 140

Phe Ser Gly Ser Ile Ser Gly Ser Ser Pro Leu Asp Gln Thr Val Ile
145 150 155 160

Gly Asp Ser Thr Asn Met Tyr Leu Phe Phe Ala Gly Asp Asp Gly Lys
165 170 175

Ile Tyr Arg Ala Ser Met Pro Ile Gly Asn Phe Pro Gly Ser Phe Gly

RU 2 536 256 C2

[illegible]

```
<210> 5
<211> 510
<212> БЕЛОК
<213> Trichoderma reesei
```

```
<220>
<221> misc_feature
<223> ABF3
```

<400> 5

Met Ser Pro Arg Thr Asp Arg Arg Arg Ser Gly Leu Leu Ala Leu Gly
1 5 10 15

Leu Val Ala Ala Ser Pro Leu Ala Thr Ala Gly Pro Cys Asp Ile Tyr
20 25 30

Ala Ser Gly Gly Thr Pro Cys Val Ala Ala His Ser Thr Thr Arg Ala
35 40 45

Leu Tyr Gly Ala Tyr Ser Gly Pro Leu Tyr Gln Val Ser Arg Gly Ser
50 55 60

RU 2 536 256 C2

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

RU 2 536 256 C2

Met Thr Ser Gly Tyr Pro Ser Asp Ser Thr Glu Asn Ala Val Gln Ala
325 330 335

Asn Leu Val Ala Ala Lys Tyr Val Tyr Asp Thr Ser Leu Met Thr Ser
340 345 350

Gly Pro Ala Leu Ser Val Gly Ser Ser Ile Ser Leu Arg Ala Thr Thr
355 360 365

Ser Cys Cys Thr Asn Arg Tyr Ile Ala His Thr Gly Ala Thr Val Asn
370 375 380

Thr Gln Val Val Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ala Leu Lys Gln Gln Ala
385 390 395 400

Ser Trp Thr Val Arg Thr Gly Leu Gly Asn Ser Ala Cys Phe Ser Phe
405 410 415

Glu Ser Arg Asp Ser Pro Gly Ser Phe Ile Arg His Ser Asn Tyr Gln
420 425 430

Leu Met Val Asn Ala Asn Asp Asn Ser Lys Leu Phe His Glu Asp Ala
435 440 445

Thr Phe Cys Pro Gln Ala Gly Leu Asn Gly Gln Gly Asn Ser Phe Arg
450 455 460

Ser Trp Ser Tyr Pro Thr Arg Tyr Trp Arg His Phe Asn Ser Leu Gly
465 470 475 480

Tyr Ile Ala Ala Asn Gly Gly Glu His Asp Phe Asp Thr Thr Thr Leu
485 490 495

Phe Asn Asp Asp Val Ser Phe Val Val Ser Ala Gly Phe Ala
500 505 510

<210> 6
<211> 444
<212> BEJOK
<213> Trichoderma reesei

<220>
<221> misc_feature
<223> AGL1

<400> 6

Met Thr Pro His Ser Ile Asp Arg Ala Ala Arg Pro Ser Val Trp Ser
1 5 10 15

RU 2 536 256 C2

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

RU 2 536 256 C2

Asn Ser Val Gly Phe Trp Gly His Asn Asp Ala Asp Ile Leu Glu Val
275 280 285

Gly Asn Gly Asn Leu Thr Ala Ala Glu Thr Arg Thr His Phe Ala Leu
290 295 300

Trp Ala Ala Met Lys Ser Pro Leu Leu Ile Gly Thr Asp Leu Ala Gln
305 310 315 320

Leu Ser Gln Glu Asn Ile Glu Leu Leu Lys Asn Lys His Leu Leu Ala
325 330 335

Phe Asn Gln Asp Ser Val Tyr Gly Gln Pro Ala Thr Pro Tyr Lys Trp
340 345 350

Gly Val Asn Pro Asp Trp Thr Phe Asn Tyr Thr Asn Pro Ala Glu Tyr
355 360 365

Trp Ala Gly Pro Ser Ser Lys Gly His Leu Val Leu Met Met Asn Thr
370 375 380

Leu Asp His Thr Val Arg Lys Glu Ala Lys Trp Ser Glu Ile Pro Gly
385 390 395 400

Leu Ser Ala Gly Arg Tyr Glu Val Arg Asp Val Trp Thr Asp Lys Ser
405 410 415

Leu Gly Cys Leu Ser Ser Tyr Lys Thr Ala Val Ala Ala His Asp Thr
420 425 430

Ala Val Ile Leu Val Gly Lys Lys Cys Arg Asn Trp
435 440

<210> 7
<211> 746
<212> BEJOK
<213> Trichoderma reesei

<220>
<221> misc_feature
<223> AGL2

<400> 7

Met Leu Gly Ala Pro Ser Pro Arg Arg Leu Ala Asp Val Leu Ala Val
1 5 10 15

Thr Ala Gly Leu Val Ala Ser Val Arg Ala Ala Ser Pro Ile Ser Val
20 25 30

RU 2 536 256 C2

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

RU 2 536 256 C2

Ile 290	Gly	Val	Asn	Pro	Tyr	Gln 295	Leu	Ser	Trp	Pro	Leu 300	Gly	Pro	Gly	Glu
Thr 305	Phe	Ser	Ser	Pro	Glu 310	Ala	Val	Ala	Val	Phe 315	Ser	Thr	Thr	Gly	Val 320
Gly	Gly	Met	Ser	Arg 325	Lys	Phe	His	Asn	Leu 330	Tyr	Arg	Lys	His	Leu 335	Ile
Lys	Ser	Lys	Phe 340	Ala	Thr	Gln	Met	His 345	Pro	Val	Leu	Leu	Asn 350	Ser	Trp
Glu	Gly	Leu 355	Gly	Phe	Asp	Tyr	Asn 360	Asp	Thr	Thr	Ile	Leu 365	His	Leu	Ala
Gln 370	Glu	Ser	Ala	Asp	Leu	Gly 375	Ile	Lys	Leu	Phe	Val 380	Leu	Asp	Asp	Gly
Trp 385	Phe	Gly	Val	Lys 390	His	Pro	Arg	Val	Ser	Asp 395	Asn	Ala	Gly	Leu	Gly 400
Asp	Trp	Glu	Ala	Asn 405	Pro	Lys	Arg	Phe	Pro 410	Gln	Gly	Leu	Pro	Asp 415	Phe
Ile	Ser	Asp	Val 420	Thr	Lys	Leu	Lys	Val 425	Ala	Asn	Ser	Ser	Asp 430	His	Leu
Gln	Phe	Gly 435	Leu	Trp	Phe	Glu	Pro 440	Glu	Met	Val	Asn	Pro 445	Asn	Ser	Thr
Leu 450	Tyr	Met	Glu	His	Pro	Asp 455	Trp	Ala	Ile	His	Ala 460	Gly	Ser	Tyr	Pro
Arg 465	Thr	Leu	Thr	Arg	Asn 470	Gln	Leu	Val	Leu	Asn	Val 475	Ala	Leu	Pro	Glu 480
Val	Gln	Asp	Phe	Ile 485	Ile	Glu	Ser	Leu	Ser 490	Asn	Ile	Leu	Ser	Asn 495	Ala
Ser	Ile	Ser	Tyr 500	Val	Lys	Trp	Asp	Asn 505	Asn	Arg	Gly	Ile	His 510	Glu	Ala
Pro	Tyr	Pro 515	Gly	Leu	Asp	Tyr	Ala 520	Tyr	Met	Leu	Gly	Leu 525	Tyr	Arg	Val
Phe	Asp 530	Thr	Leu	Ser	Ser	Lys 535	Phe	Pro	Asn	Val	Arg 540	Trp	Glu	Gly	Cys

RU 2 536 256 C2

Ala Ser Gly Gly Gly Arg Phe Asp Pro Gly Val Leu Gln Tyr Phe Pro
545 550 555 560

His Ile Trp Thr Ser Asp Asp Thr Asp Ala Val Glu Arg Ile Ala Ile
565 570 575

Gln Phe Gly Thr Ser Leu Val Tyr Pro Pro Ser Ala Met Gly Ala His
580 585 590

Val Ser Ala Val Pro Asn Gly Gln Thr Gln Arg Thr Thr Ser Ile Ala
595 600 605

Phe Arg Ala His Val Ala Met Met Gly Gly Ser Phe Gly Phe Glu Leu
610 615 620

Thr Pro Ala Glu Met Pro Glu Asp Asp Lys Ala Gln Ile Pro Gly Ile
625 630 635 640

Ile Ala Leu Ala Glu Lys Val Asn Pro Ile Val Val Lys Gly Asp Met
645 650 655

Trp Arg Leu Ser Leu Pro Glu Glu Ser Asn Trp Pro Ala Ala Leu Phe
660 665 670

Ile Ser Gln Asp Gly Ser Gln Ala Val Leu Phe Tyr Phe Gln Ile Arg
675 680 685

Ala Asn Ile Asn Asn Ala Trp Pro Val Leu Arg Leu Gln Gly Leu Asp
690 695 700

Ala Ser Ala Lys Tyr Lys Ile Asp Gly Asn Gln Thr Phe Ser Gly Ala
705 710 715 720

Thr Leu Met Asn Ile Gly Leu Gln Tyr Gln Phe Asn Gly Asp Tyr Asp
725 730 735

Ser Lys Val Val Phe Leu Glu Lys Gln Thr
740 745

<210> 8
<211> 624
<212> BEJOK
<213> Trichoderma reesei

<220>
<221> misc_feature
<223> AGL3

<400> 8

Met Ser Pro Ser Ala Ala Val Leu Ile Pro Leu Ala Ala Ala Val Leu

RU 2 536 256 C2

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

RU 2 536 256 C2

	260		265		270														
His	Lys	Arg	Asp	Leu	Lys	Leu	Gly	Val	Tyr	Ile	Thr	Pro	Gly	Val	Pro				
	275						280					285							
Cys	Leu	Ala	His	Asn	Gln	Thr	Ile	Leu	Gly	Thr	Asn	Ile	Lys	Ile	Lys				
	290					295					300								
Asp	Val	Leu	Asn	Gly	Asn	Asn	Asp	Gln	Ile	Asn	Cys	Asp	Phe	Asp	Phe				
305					310					315					320				
Arg	Lys	Asp	Gly	Val	Gln	Gln	Trp	His	Asp	Ser	Val	Val	Ala	Gln	Trp				
				325					330					335					
Ala	Ser	Trp	Gly	Val	Asp	Met	Leu	Lys	Leu	Asp	Phe	Leu	Thr	Pro	Gly				
			340					345					350						
Ser	Pro	Ser	Asn	Gly	Ala	Asn	Leu	Ala	Cys	Asp	Ser	Ser	Asp	Ala	Val				
		355					360					365							
Arg	Ala	Tyr	Gln	Lys	Ala	Ile	Lys	Lys	Ser	Gly	Arg	Lys	Ile	Arg	Leu				
	370					375					380								
Asp	Ile	Ser	Trp	Lys	Leu	Cys	Arg	Asn	Glu	Thr	Trp	Leu	Pro	Ile	Trp				
385					390					395					400				
Ser	Asp	Leu	Ala	Glu	Ser	Met	Arg	Thr	Asp	Gln	Asp	Leu	Asp	Asn	Tyr				
				405					410					415					
Gly	Thr	Asn	Thr	Leu	Met	Ala	Trp	Gln	Val	Gly	Gln	Arg	Ala	Ile	Glu				
			420					425					430						
Asn	Tyr	Arg	Gln	Tyr	Ile	Gly	Leu	Gln	Ala	Gln	Arg	Asn	Val	Pro	Leu				
		435					440					445							
Thr	Ile	Tyr	Pro	Asp	Met	Asp	Ala	Leu	Phe	Thr	Val	Asn	Pro	Glu	His				
	450					455					460								
Leu	Ala	Gly	Val	Asn	Asp	Thr	Ile	Arg	Tyr	Thr	Val	Gln	Asn	His	Trp				
465					470					475					480				
Leu	Gly	Ala	Gly	Ala	Asn	Leu	Ile	Ile	Gly	Gly	Asp	Met	Glu	Gln	Val				
				485					490					495					
Asp	Ala	Leu	Gly	Leu	Lys	Leu	Thr	Thr	Ser	Lys	Gln	Ser	Ile	Asp	Ala				
			500					505					510						
Ala	Asp	Phe	Phe	Ala	Lys	Tyr	Pro	Met	Gln	Pro	Arg	Asn	Pro	Gly	Thr				

RU 2 536 256 C2

515	520	525
Gly Ser Asn Ala Ala Lys Gln Leu Gln Ala Trp Ile Gly Gly Pro Ser 530 535 540		
Asp Asp His Glu Ala Tyr Val Leu Ile Val Asn Tyr Gly Pro Asp Leu 545 550 555 560		
Gly Asn Gly Gly Phe Ser Thr Lys Leu Tyr Gly Lys Gln Lys Val Thr 565 570 575		
Val Ser Leu Lys Asp Leu Gly Ile Ser Gly Ser Ala Trp Thr Phe Thr 580 585 590		
Asp Ile Trp Ser Gly Lys Ser Ser Arg Val Thr Gly Ser Tyr Ser Ala 595 600 605		
Trp Leu Thr Glu Gly Glu Ser Gln Leu Leu Arg Leu Lys Arg Thr His 610 615 620		
<210> 9		
<211> 302		
<212> BEJOK		
<213> Trichoderma reesei		
<220>		
<221> misc_feature		
<223> AXE1		
<400> 9		
Met Pro Ser Val Lys Glu Thr Leu Thr Leu Leu Leu Ser Gln Ala Phe 1 5 10 15		
Leu Ala Thr Gly Ser Pro Val Asp Gly Glu Thr Val Val Lys Arg Gln 20 25 30		
Cys Pro Ala Ile His Val Phe Gly Ala Arg Glu Thr Thr Val Ser Gln 35 40 45		
Gly Tyr Gly Ser Ser Ala Thr Val Val Asn Leu Val Ile Gln Ala His 50 55 60		
Pro Gly Thr Thr Ser Glu Ala Ile Val Tyr Pro Ala Cys Gly Gly Gln 65 70 75 80		
Ala Ser Cys Gly Gly Ile Ser Tyr Ala Asn Ser Val Val Asn Gly Thr 85 90 95		
Asn Ala Ala Ala Ala Ala Ile Asn Asn Phe His Asn Ser Cys Pro Asp 100 105 110		

RU 2 536 256 C2

Thr Gln Leu Val Leu Val Gly Tyr Ser Gln Gly Ala Gln Ile Phe Asp
115 120 125

Asn Ala Leu Cys Gly Gly Gly Asp Pro Gly Glu Gly Ile Thr Asn Thr
130 135 140

Ala Val Pro Leu Thr Ala Gly Ala Val Ser Ala Val Lys Ala Ala Ile
145 150 155 160

Phe Met Gly Asp Pro Arg Asn Ile His Gly Leu Pro Tyr Asn Val Gly
165 170 175

Thr Cys Thr Thr Gln Gly Phe Asp Ala Arg Pro Ala Gly Phe Val Cys
180 185 190

Pro Ser Ala Ser Lys Ile Lys Ser Tyr Cys Asp Ala Ala Asp Pro Tyr
195 200 205

Cys Cys Thr Gly Asn Asp Pro Asn Val His Gln Gly Tyr Gly Gln Glu
210 215 220

Tyr Gly Gln Gln Ala Leu Ala Phe Ile Asn Ser Gln Leu Ser Ser Gly
225 230 235 240

Gly Ser Gln Pro Pro Gly Gly Gly Pro Thr Ser Thr Ser Arg Pro Thr
245 250 255

Ser Thr Arg Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr Gln Thr His Trp Gly
260 265 270

Gln Cys Gly Gly Gln Gly Trp Thr Gly Pro Thr Gln Cys Glu Ser Gly
275 280 285

Thr Thr Cys Gln Val Ile Ser Gln Trp Tyr Ser Gln Cys Leu
290 295 300

<210> 10
<211> 235
<212> BEJOK
<213> Trichoderma reesei

<220>
<221> misc_feature
<223> AXE3

<400> 10

Met Pro Ser Ile Lys Ser Thr Val Thr Phe Leu Leu Ser Gln Ala Leu
1 5 10 15

RU 2 536 256 C2

Leu Ala Thr Ala Thr Pro Met Asp Leu Glu Lys Arg Gln Cys Pro Gly
20 25 30

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

Ser Ser Ala Thr Val Val Asn Leu Ile Ile Asn Ala His Pro Gly Thr
50 55 60

Thr Ala Glu Ala Ile Asn Tyr Pro Ala Cys Gly Gly Gln Ala Gln Cys
65 70 75 80

Gly Gly Ile Ser Tyr Ala Asn Ser Val Val Ala Gly Ile Asn Ala Val
85 90 95

Val Gln Ala Val Thr Asn Phe His Asn Arg Cys Pro Ser Thr Lys Leu
100 105 110

Val Leu Val Gly Tyr Ser Gln Gly Gly Gln Ile Met Asp Asp Ala Leu
115 120 125

Cys Gly Gly Gly Asp Pro Ala Glu Gly Tyr Pro Asn Thr Ala Val Pro
130 135 140

Leu Pro Ala Ala Ala Val Ser Ala Ile Arg Ala Ala Ile Phe Met Gly
145 150 155 160

Asp Pro Arg Tyr Val His Gly Leu Ala Tyr Asn Val Gly Ser Cys Gln
165 170 175

Ala Gln Gly Phe Ala Pro Arg Asn Val Gly Phe Val Cys Pro Ser Gly
180 185 190

Asn Lys Ile Lys Ser Tyr Cys Asp Ala Ser Asp Pro Tyr Cys Cys Asn
195 200 205

Gly Asn Asn Ala Asn Thr His Gln Gly Tyr Gly Gln Glu Tyr Gly Gln
210 215 220

Gln Ala Leu Ala Phe Val Asn Ser Leu Leu Gly
225 230 235

<210> 11
<211> 838
<212> BEJOK
<213> Trichoderma reesei

<220>
<221> misc_feature

<223> EG6

<400> 11

Met Lys Val Ser Arg Val Leu Ala Leu Val Leu Gly Ala Val Ile Pro
 1 5 10 15

Ala His Ala Ala Phe Ser Trp Lys Asn Val Lys Leu Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

Gly Phe Val Pro Gly Ile Ile Phe His Pro Lys Thr Lys Gly Val Ala
 35 40 45

Tyr Ala Arg Thr Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Arg Leu Asn Ala Asp Asp
 50 55 60

Ser Trp Thr Ala Val Thr Asp Gly Ile Ala Asp Asn Ala Gly Trp His
 65 70 75 80

Asn Trp Gly Ile Asp Ala Val Ala Leu Asp Pro Gln Asp Asp Gln Lys
 85 90 95

Val Tyr Ala Ala Val Gly Met Tyr Thr Asn Ser Trp Asp Pro Ser Asn
 100 105 110

Gly Ala Ile Ile Arg Ser Ser Asp Arg Gly Ala Thr Trp Ser Phe Thr
 115 120 125

Asn Leu Pro Phe Lys Val Gly Gly Asn Met Pro Gly Arg Gly Ala Gly
 130 135 140

Glu Arg Leu Ala Val Asp Pro Ala Asn Ser Asn Ile Ile Tyr Phe Gly
 145 150 155 160

Ala Arg Ser Gly Asn Gly Leu Trp Lys Ser Thr Asp Gly Gly Val Thr
 165 170 175

Phe Ser Lys Val Ser Ser Phe Thr Ala Thr Gly Thr Tyr Ile Pro Asp
 180 185 190

Pro Ser Asp Ser Asn Gly Tyr Asn Ser Asp Lys Gln Gly Leu Met Trp
 195 200 205

Val Thr Phe Asp Ser Thr Ser Ser Thr Thr Gly Gly Ala Thr Ser Arg
 210 215 220

Ile Phe Val Gly Thr Ala Asp Asn Ile Thr Ala Ser Val Tyr Val Ser
 225 230 235 240

RU 2 536 256 C2

Thr	Asn	Ala	Gly	Ser	Thr	Trp	Ser	Ala	Val	Pro	Gly	Gln	Pro	Gly	Lys
				245					250					255	
Tyr	Phe	Pro	His	Lys	Ala	Lys	Leu	Gln	Pro	Ala	Glu	Lys	Ala	Leu	Tyr
			260					265					270		
Leu	Thr	Tyr	Ser	Asp	Gly	Thr	Gly	Pro	Tyr	Asp	Gly	Thr	Leu	Gly	Ser
		275					280					285			
Val	Trp	Arg	Tyr	Asp	Ile	Ala	Gly	Gly	Thr	Trp	Lys	Asp	Ile	Thr	Pro
	290					295					300				
Val	Ser	Gly	Ser	Asp	Leu	Tyr	Phe	Gly	Phe	Gly	Gly	Leu	Gly	Leu	Asp
305					310					315					320
Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Thr	Leu	Val	Val	Ala	Ser	Leu	Asn	Ser	Trp	Trp
				325					330					335	
Pro	Asp	Ala	Gln	Leu	Phe	Arg	Ser	Thr	Asp	Ser	Gly	Thr	Thr	Trp	Ser
			340					345					350		
Pro	Ile	Trp	Ala	Trp	Ala	Ser	Tyr	Pro	Thr	Glu	Thr	Tyr	Tyr	Tyr	Ser
		355					360					365			
Ile	Ser	Thr	Pro	Lys	Ala	Pro	Trp	Ile	Lys	Asn	Asn	Phe	Ile	Asp	Val
	370					375					380				
Thr	Ser	Glu	Ser	Pro	Ser	Asp	Gly	Leu	Ile	Lys	Arg	Leu	Gly	Trp	Met
385					390					395					400
Ile	Glu	Ser	Leu	Glu	Ile	Asp	Pro	Thr	Asp	Ser	Asn	His	Trp	Leu	Tyr
				405					410					415	
Gly	Thr	Gly	Met	Thr	Ile	Phe	Gly	Gly	His	Asp	Leu	Thr	Asn	Trp	Asp
			420					425					430		
Thr	Arg	His	Asn	Val	Ser	Ile	Gln	Ser	Leu	Ala	Asp	Gly	Ile	Glu	Glu
		435					440					445			
Phe	Ser	Val	Gln	Asp	Leu	Ala	Ser	Ala	Pro	Gly	Gly	Ser	Glu	Leu	Leu
	450					455					460				
Ala	Ala	Val	Gly	Asp	Asp	Asn	Gly	Phe	Thr	Phe	Ala	Ser	Arg	Asn	Asp
465					470					475					480
Leu	Gly	Thr	Ser	Pro	Gln	Thr	Val	Trp	Ala	Thr	Pro	Thr	Trp	Ala	Thr
				485					490					495	

RU 2 536 256 C2

Ser Thr Ser Val Asp Tyr Ala Gly Asn Ser Val Lys Ser Val Val Arg
500 505 510

Val Gly Asn Thr Ala Gly Thr Gln Gln Val Ala Ile Ser Ser Asp Gly
515 520 525

Gly Ala Thr Trp Ser Ile Asp Tyr Ala Ala Asp Thr Ser Met Asn Gly
530 535 540

Gly Thr Val Ala Tyr Ser Ala Asp Gly Asp Thr Ile Leu Trp Ser Thr
545 550 555 560

Ala Ser Ser Gly Val Gln Arg Ser Gln Phe Gln Gly Ser Phe Ala Ser
565 570 575

Val Ser Ser Leu Pro Ala Gly Ala Val Ile Ala Ser Asp Lys Lys Thr
580 585 590

Asn Ser Val Phe Tyr Ala Gly Ser Gly Ser Thr Phe Tyr Val Ser Lys
595 600 605

Asp Thr Gly Ser Ser Phe Thr Arg Gly Pro Lys Leu Gly Ser Ala Gly
610 615 620

Thr Ile Arg Asp Ile Ala Ala His Pro Thr Thr Ala Gly Thr Leu Tyr
625 630 635 640

Val Ser Thr Asp Val Gly Ile Phe Arg Ser Thr Asp Ser Gly Thr Thr
645 650 655

Phe Gly Gln Val Ser Thr Ala Leu Thr Asn Thr Tyr Gln Ile Ala Leu
660 665 670

Gly Val Gly Ser Gly Ser Asn Trp Asn Leu Tyr Ala Phe Gly Thr Gly
675 680 685

Pro Ser Gly Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Gly Asp Ser Gly Ala Ser Trp
690 695 700

Thr Asp Ile Gln Gly Ser Gln Gly Phe Gly Ser Ile Asp Ser Thr Lys
705 710 715 720

Val Ala Gly Ser Gly Ser Thr Ala Gly Gln Val Tyr Val Gly Thr Asn
725 730 735

Gly Arg Gly Val Phe Tyr Ala Gln Gly Thr Val Gly Gly Gly Thr Gly
740 745 750

RU 2 536 256 C2

Gly Thr Ser Ser Ser Thr Lys Gln Ser Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ala
755 760 765

Ser Ser Ser Thr Thr Leu Arg Ser Ser Val Val Ser Thr Thr Arg Ala
770 775 780

Ser Thr Val Thr Ser Ser Arg Thr Ser Ser Ala Ala Gly Pro Thr Gly
785 790 795 800

Ser Gly Val Ala Gly His Tyr Ala Gln Cys Gly Gly Ile Gly Trp Thr
805 810 815

Gly Pro Thr Gln Cys Val Ala Pro Tyr Val Cys Gln Lys Gln Asn Asp
820 825 830

Tyr Tyr Tyr Gln Cys Val
835

<210> 12
<211> 438
<212> BEJOK
<213> Trichoderma reesei

<220>
<221> misc_feature
<223> EG8

<400> 12

Met Arg Ala Thr Ser Leu Leu Ala Ala Ala Leu Ala Val Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ala Leu Ala Gly Lys Ile Lys Tyr Leu Gly Val Ala Ile Pro Gly Ile
20 25 30

Asp Phe Gly Cys Asp Ile Asp Gly Ser Cys Pro Thr Asp Thr Ser Ser
35 40 45

Val Pro Leu Leu Ser Tyr Lys Gly Gly Asp Gly Ala Gly Gln Met Lys
50 55 60

His Phe Ala Glu Asp Asp Gly Leu Asn Val Phe Arg Ile Ser Ala Thr
65 70 75 80

Trp Gln Phe Val Leu Asn Asn Thr Val Asp Gly Lys Leu Asp Glu Leu
85 90 95

Asn Trp Gly Ser Tyr Asn Lys Val Val Asn Ala Cys Leu Glu Thr Gly
100 105 110

Ala Tyr Cys Met Ile Asp Met His Asn Phe Ala Arg Tyr Asn Gly Gly

RU 2 536 256 C2

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

370 375 380

Glu Thr Ala Ser Pro Thr Pro Asn Ala Val Thr Lys Pro Ser Pro Asp
 385 390 395 400

Thr Ser Asp Ser Ser Asp Asp Asp Lys Asp Ser Ala Ala Ser Met Ser
 405 410 415

Ala Gln Gly Leu Thr Gly Thr Val Leu Phe Thr Val Ala Ala Leu Gly
 420 425 430

Tyr Met Leu Val Ala Phe
 435

<210> 13
 <211> 847
 <212> BEJOK
 <213> Trichoderma reesei

<220>
 <221> misc_feature
 <223> GLR1

<400> 13

Met Val Ile Arg Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ile Val Pro
 1 5 10 15

Val Phe Ala Glu Ser Gly Ile Asp Ala Trp Leu Arg Tyr Ala Arg Leu
 20 25 30

Pro Ser Ser Ala Thr Arg Gly His Leu Thr Ser Phe Pro Asp Arg Ile
 35 40 45

Val Val Leu Asn Ala Ser Lys Asn Gly Pro Leu Ala Ser Ala Ser Ser
 50 55 60

Glu Leu His Lys Gly Ile Lys Gly Ile Leu Gly Leu Asp Leu Asp Val
 65 70 75 80

Ser Ser Arg Gly Gly Lys His Cys Ser Thr Gln Lys Ser Ile Val Ile
 85 90 95

Ser Thr Leu Asp Thr Tyr Gln Ser Ala Cys Gly Lys Leu Ser Pro Lys
 100 105 110

Leu Asn Leu Lys Glu Asp Gly Tyr Trp Leu Ser Thr Lys Gly Gly Ser
 115 120 125

Val Gln Ile Ile Gly Gln Asn Glu Arg Gly Ala Leu Tyr Gly Ala Phe
 130 135 140

RU 2 536 256 C2

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

Phe Ala Asn Leu Pro Lys Thr Ala Val Ser Ile Glu Leu Glu Val Thr
 405 410 415
 Gln Glu Tyr Leu Gly Gln Gln Ser His Leu Val Tyr Leu Pro Pro Leu
 420 425 430
 Trp Gln Thr Val Leu Gly Phe Asp Met Arg Tyr Asn Asn Arg Gln Ser
 435 440 445
 Tyr Val Arg Asp Ile Ile Ser Gly Glu Val Phe Gly His Lys Leu Gly
 450 455 460
 Gly Tyr Ala Gly Val Ile Asn Val Gly Met Asp Asp Thr Trp Leu Gly
 465 470 475 480
 Ser His Leu Ala Met Ser Asn Met Phe Ala Tyr Gly Arg Leu Ala Trp
 485 490 495
 Asn Pro Arg Ala Asp Ser Arg Asp Ile Val Glu Glu Trp Thr Arg Leu
 500 505 510
 Thr Phe Gly Leu Asp Arg Asp Val Val Ser Thr Ile Ala Asp Met Ser
 515 520 525
 Leu Lys Ser Trp Pro Ala Tyr Glu Gly Tyr Ser Gly Asn Leu Gly Ile
 530 535 540
 Gln Thr Leu Thr Asp Ile Leu Tyr Thr His Tyr Gly Ala Asn Pro Ala
 545 550 555 560
 Ser Gln Asp Asn Asn Gly Trp Gly Gln Trp Thr Arg Ala Asp Ser Lys
 565 570 575
 Thr Ile Gly Met Asp Arg Thr Val Ser Asn Gly Thr Gly Asn Ala Gly
 580 585 590
 Gln Tyr Pro Lys Glu Val Ala Ala Arg Phe Glu His Thr Gln Thr Thr
 595 600 605
 Pro Asp Asp Leu Met Leu Trp Phe His His Val Pro Tyr Thr Phe Arg
 610 615 620
 Leu His Ser Gly Lys Ser Val Ile Gln His Phe Tyr Asp Ala His Tyr
 625 630 635 640
 Thr Gly Ala Ala Thr Val Gln Arg Phe Pro Ala Ala Trp Lys Ser Leu
 645 650 655

RU 2 536 256 C2

Lys Ser Lys Ile Asp Thr Glu Arg Tyr Asn Ala Val Leu Tyr Lys Leu
660 665 670

Gln Tyr Gln Thr Gly His Ser Leu Val Trp Arg Asp Ala Ile Thr Glu
675 680 685

Phe Tyr Arg Asn Leu Ser Ser Ile Pro Asp Gln Leu Asn Arg Val Arg
690 695 700

Asn His Pro His Arg Ile Glu Ala Glu Asp Met Asp Leu Ser Gly Phe
705 710 715 720

Thr Val Val Asn Val Ser Pro Thr Glu Cys Ala Ser Lys Tyr Lys Ala
725 730 735

Ile Ala Thr Asn Gly Thr Gly Thr Ala Thr Thr Arg Leu Asn Val Pro
740 745 750

Ser Gly Lys Tyr Thr Val Ala Val Asn Tyr Tyr Asp Val Ile Asn Gly
755 760 765

Thr Ala Ser Tyr Asp Val Leu Leu Asn Gly Lys Ser Leu Gly Lys Trp
770 775 780

Lys Gly Asp Ser Glu Thr His Leu Gly His Asp Phe Ser Thr Phe Leu
785 790 795 800

Asp Cys His Ser Ala Ile Arg Ile Thr Phe Glu Gly Val Arg Ile Ser
805 810 815

Arg Gly Asp Lys Leu Thr Ile Arg Gly Thr Gly Asn Ala Gln Glu Gln
820 825 830

Ala Ala Ile Asp Tyr Val Ser Ile Leu Pro Gln Gly Val Val Asp
835 840 845

<210> 14
<211> 437
<212> БЕЛЖОК
<213> Trichoderma reesei

<220>
<221> misc_feature
<223> MAN1

<400> 14

Met Met Met Leu Ser Lys Ser Leu Leu Ser Ala Ala Thr Ala Ala Ser
1 5 10 15

RU 2 536 256 C2

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

RU 2 536 256 C2

Ser Trp Gly Thr Asn Tyr Thr Trp Gly Asn Gly Trp Ile Gln Thr His
275 280 285

Ala Ala Ala Cys Leu Ala Ala Gly Lys Pro Cys Val Phe Glu Glu Tyr
290 295 300

Gly Ala Gln Gln Asn Pro Cys Thr Asn Glu Ala Pro Trp Gln Thr Thr
305 310 315 320

Ser Leu Thr Thr Arg Gly Met Gly Gly Asp Met Phe Trp Gln Trp Gly
325 330 335

Asp Thr Phe Ala Asn Gly Ala Gln Ser Asn Ser Asp Pro Tyr Thr Val
340 345 350

Trp Tyr Asn Ser Ser Asn Trp Gln Cys Leu Val Lys Asn His Val Asp
355 360 365

Ala Ile Asn Gly Gly Thr Thr Thr Pro Pro Pro Val Ser Ser Thr Thr
370 375 380

Thr Thr Ser Ser Arg Thr Ser Ser Thr Pro Pro Pro Pro Gly Gly Ser
385 390 395 400

Cys Ser Pro Leu Tyr Gly Gln Cys Gly Gly Ser Gly Tyr Thr Gly Pro
405 410 415

Thr Cys Cys Ala Gln Gly Thr Cys Ile Tyr Ser Asn Tyr Trp Tyr Ser
420 425 430

Gln Cys Leu Asn Thr
435

<210> 15
<211> 379
<212> BEJOK
<213> Trichoderma reesei

<220>
<221> misc_feature
<223> PEC2

<400> 15

Met Leu Lys Leu Ser Leu Phe Leu Gly Ala Val Thr Ala Ser Leu Cys
1 5 10 15

Val Gln Ala His Ala Val Pro Pro Pro Thr Val Thr Gln Ala Pro Lys
20 25 30

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

RU 2 536 256 C2

Gly Ile Thr Leu Ser Ser Ile Thr Gly Tyr Gly Ile Leu Ile Glu Gln
 290 295 300

Asn Tyr Asp Gly Gly Asp Leu His Gly Ser Pro Thr Ser Gly Ile Pro
 305 310 315 320

Ile Thr Asn Leu Val Leu Gln Asn Ile Ser Gly Ser Asn Gly Val Val
 325 330 335

Ser Ser Gly Asn Asn Ile Ala Ile Val Cys Gly Ser Gly Ala Cys Ser
 340 345 350

Asn Trp Thr Trp Ser Asn Val Val Val Thr Gly Gly Lys Lys Tyr Gly
 355 360 365

Ser Cys Gln Asn Val Pro Ser Pro Ala Thr Cys
 370 375

<210> 16
 <211> 229
 <212> BEJOK
 <213> Trichoderma reesei

<220>
 <221> misc_feature
 <223> XYN1

<400> 16

Met Val Ala Phe Ser Ser Leu Ile Cys Ala Leu Thr Ser Ile Ala Ser
 1 5 10 15

Thr Leu Ala Met Pro Thr Gly Leu Glu Pro Glu Ser Ser Val Asn Val
 20 25 30

Thr Glu Arg Gly Met Tyr Asp Phe Val Leu Gly Ala His Asn Asp His
 35 40 45

Arg Arg Arg Ala Ser Ile Asn Tyr Asp Gln Asn Tyr Gln Thr Gly Gly
 50 55 60

Gln Val Ser Tyr Ser Pro Ser Asn Thr Gly Phe Ser Val Asn Trp Asn
 65 70 75 80

Thr Gln Asp Asp Phe Val Val Gly Val Gly Trp Thr Thr Gly Ser Ser
 85 90 95

Ala Pro Ile Asn Phe Gly Gly Ser Phe Ser Val Asn Ser Gly Thr Gly
 100 105 110

Leu Leu Ser Val Tyr Gly Trp Ser Thr Asn Pro Leu Val Glu Tyr Tyr

RU 2 536 256 C2

115	120	125
Ile Met Glu Asp Asn His Asn Tyr Pro Ala Gln Gly Thr Val Lys Gly		
130	135	140
Thr Val Thr Ser Asp Gly Ala Thr Tyr Thr Ile Trp Glu Asn Thr Arg		
145	150	155
Val Asn Glu Pro Ser Ile Gln Gly Thr Ala Thr Phe Asn Gln Tyr Ile		
	165	170
Ser Val Arg Asn Ser Pro Arg Thr Ser Gly Thr Val Thr Val Gln Asn		
	180	185
His Phe Asn Ala Trp Ala Ser Leu Gly Leu His Leu Gly Gln Met Asn		
	195	200
Tyr Gln Val Val Ala Val Glu Gly Trp Gly Gly Ser Gly Ser Ala Ser		
210	215	220
Gln Ser Val Ser Asn		
225		
<210> 17		
<211> 797		
<212> BEJOK		
<213> Trichoderma reesei		
<220>		
<221> misc_feature		
<223> BXL1		
<400> 17		
Met Val Asn Asn Ala Ala Leu Leu Ala Ala Leu Ser Ala Leu Leu Pro		
1	5	10
Thr Ala Leu Ala Gln Asn Asn Gln Thr Tyr Ala Asn Tyr Ser Ala Gln		
	20	25
Gly Gln Pro Asp Leu Tyr Pro Glu Thr Leu Ala Thr Leu Thr Leu Ser		
	35	40
Phe Pro Asp Cys Glu His Gly Pro Leu Lys Asn Asn Leu Val Cys Asp		
50	55	60
Ser Ser Ala Gly Tyr Val Glu Arg Ala Gln Ala Leu Ile Ser Leu Phe		
65	70	75
Thr Leu Glu Glu Leu Ile Leu Asn Thr Gln Asn Ser Gly Pro Gly Val		
	85	90
		95

RU 2 536 256 C2

Pro Arg Leu Gly Leu Pro Asn Tyr Gln Val Trp Asn Glu Ala Leu His
100 105 110

Gly Leu Asp Arg Ala Asn Phe Ala Thr Lys Gly Gly Gln Phe Glu Trp
115 120 125

Ala Thr Ser Phe Pro Met Pro Ile Leu Thr Thr Ala Ala Leu Asn Arg
130 135 140

Thr Leu Ile His Gln Ile Ala Asp Ile Ile Ser Thr Gln Ala Arg Ala
145 150 155 160

Phe Ser Asn Ser Gly Arg Tyr Gly Leu Asp Val Tyr Ala Pro Asn Val
165 170 175

Asn Gly Phe Arg Ser Pro Leu Trp Gly Arg Gly Gln Glu Thr Pro Gly
180 185 190

Glu Asp Ala Phe Phe Leu Ser Ser Ala Tyr Thr Tyr Glu Tyr Ile Thr
195 200 205

Gly Ile Gln Gly Gly Val Asp Pro Glu His Leu Lys Val Ala Ala Thr
210 215 220

Val Lys His Phe Ala Gly Tyr Asp Leu Glu Asn Trp Asn Asn Gln Ser
225 230 235 240

Arg Leu Gly Phe Asp Ala Ile Ile Thr Gln Gln Asp Leu Ser Glu Tyr
245 250 255

Tyr Thr Pro Gln Phe Leu Ala Ala Ala Arg Tyr Ala Lys Ser Arg Ser
260 265 270

Leu Met Cys Ala Tyr Asn Ser Val Asn Gly Val Pro Ser Cys Ala Asn
275 280 285

Ser Phe Phe Leu Gln Thr Leu Leu Arg Glu Ser Trp Gly Phe Pro Glu
290 295 300

Trp Gly Tyr Val Ser Ser Asp Cys Asp Ala Val Tyr Asn Val Phe Asn
305 310 315 320

Pro His Asp Tyr Ala Ser Asn Gln Ser Ser Ala Ala Ala Ser Ser Leu
325 330 335

Arg Ala Gly Thr Asp Ile Asp Cys Gly Gln Thr Tyr Pro Trp His Leu
340 345 350

RU 2 536 256 C2

Asn	Glu	Ser	Phe	Val	Ala	Gly	Glu	Val	Ser	Arg	Gly	Glu	Ile	Glu	Arg
		355					360					365			
Ser	Val	Thr	Arg	Leu	Tyr	Ala	Asn	Leu	Val	Arg	Leu	Gly	Tyr	Phe	Asp
		370				375					380				
Lys	Lys	Asn	Gln	Tyr	Arg	Ser	Leu	Gly	Trp	Lys	Asp	Val	Val	Lys	Thr
		385			390					395					400
Asp	Ala	Trp	Asn	Ile	Ser	Tyr	Glu	Ala	Ala	Val	Glu	Gly	Ile	Val	Leu
			405						410					415	
Leu	Lys	Asn	Asp	Gly	Thr	Leu	Pro	Leu	Ser	Lys	Lys	Val	Arg	Ser	Ile
			420					425					430		
Ala	Leu	Ile	Gly	Pro	Trp	Ala	Asn	Ala	Thr	Thr	Gln	Met	Gln	Gly	Asn
		435					440					445			
Tyr	Tyr	Gly	Pro	Ala	Pro	Tyr	Leu	Ile	Ser	Pro	Leu	Glu	Ala	Ala	Lys
		450				455					460				
Lys	Ala	Gly	Tyr	His	Val	Asn	Phe	Glu	Leu	Gly	Thr	Glu	Ile	Ala	Gly
		465			470					475					480
Asn	Ser	Thr	Thr	Gly	Phe	Ala	Lys	Ala	Ile	Ala	Ala	Ala	Lys	Lys	Ser
				485					490					495	
Asp	Ala	Ile	Ile	Tyr	Leu	Gly	Gly	Ile	Asp	Asn	Thr	Ile	Glu	Gln	Glu
			500					505					510		
Gly	Ala	Asp	Arg	Thr	Asp	Ile	Ala	Trp	Pro	Gly	Asn	Gln	Leu	Asp	Leu
		515					520					525			
Ile	Lys	Gln	Leu	Ser	Glu	Val	Gly	Lys	Pro	Leu	Val	Val	Leu	Gln	Met
		530				535					540				
Gly	Gly	Gly	Gln	Val	Asp	Ser	Ser	Ser	Leu	Lys	Ser	Asn	Lys	Lys	Val
		545			550					555					560
Asn	Ser	Leu	Val	Trp	Gly	Gly	Tyr	Pro	Gly	Gln	Ser	Gly	Gly	Val	Ala
				565					570					575	
Leu	Phe	Asp	Ile	Leu	Ser	Gly	Lys	Arg	Ala	Pro	Ala	Gly	Arg	Leu	Val
			580					585					590		
Thr	Thr	Gln	Tyr	Pro	Ala	Glu	Tyr	Val	His	Gln	Phe	Pro	Gln	Asn	Asp
		595					600						605		

RU 2 536 256 C2

Met	Asn	Leu	Arg	Pro	Asp	Gly	Lys	Ser	Asn	Pro	Gly	Gln	Thr	Tyr	Ile
610						615					620				
Trp	Tyr	Thr	Gly	Lys	Pro	Val	Tyr	Glu	Phe	Gly	Ser	Gly	Leu	Phe	Tyr
625					630					635					640
Thr	Thr	Phe	Lys	Glu	Thr	Leu	Ala	Ser	His	Pro	Lys	Ser	Leu	Lys	Phe
				645					650					655	
Asn	Thr	Ser	Ser	Ile	Leu	Ser	Ala	Pro	His	Pro	Gly	Tyr	Thr	Tyr	Ser
			660					665					670		
Glu	Gln	Ile	Pro	Val	Phe	Thr	Phe	Glu	Ala	Asn	Ile	Lys	Asn	Ser	Gly
		675					680					685			
Lys	Thr	Glu	Ser	Pro	Tyr	Thr	Ala	Met	Leu	Phe	Val	Arg	Thr	Ser	Asn
	690					695					700				
Ala	Gly	Pro	Ala	Pro	Tyr	Pro	Asn	Lys	Trp	Leu	Val	Gly	Phe	Asp	Arg
705					710					715					720
Leu	Ala	Asp	Ile	Lys	Pro	Gly	His	Ser	Ser	Lys	Leu	Ser	Ile	Pro	Ile
				725					730					735	
Pro	Val	Ser	Ala	Leu	Ala	Arg	Val	Asp	Ser	His	Gly	Asn	Arg	Ile	Val
			740					745					750		
Tyr	Pro	Gly	Lys	Tyr	Glu	Leu	Ala	Leu	Asn	Thr	Asp	Glu	Ser	Val	Lys
		755					760					765			
Leu	Glu	Phe	Glu	Leu	Val	Gly	Glu	Glu	Val	Thr	Ile	Glu	Asn	Trp	Pro
	770					775					780				
Leu	Glu	Glu	Gln	Gln	Ile	Lys	Asp	Ala	Thr	Pro	Asp	Ala			
785					790					795					