



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I887529 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 06 月 21 日

(21)申請案號：111108938

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 03 月 11 日

(51)Int. Cl. : C12N9/52 (2006.01)

A23K10/14 (2016.01)

A23K10/16 (2016.01)

A23K20/189 (2016.01)

(30)優先權：2021/03/12 南韓

10-2021-0032885

(71)申請人：南韓商 C J 第一製糖股份有限公司 (南韓) CJ CHEILJEDANG CORPORATION

(KR)

南韓

(72)發明人：李周姬 LEE, JOO HEE (KR) ; 曹亞羅 CHO, A-RA (KR) ; 池昶俊 JI, CHANG JUN

(KR)

(74)代理人：陳昭明

(56)參考文獻：

CN 110381746A

US 7618801B2

US 10619177B2

網路文獻 NCBI, "S1 family peptidase [Nocardiosis trehalosi]" 無,
2020/04/17 [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/1056532615?](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/1056532615?sat=49&satkey=64064097)
sat=49&satkey=64064097

審查人員：余家嫻

申請專利範圍項數：9 項 圖式數：1 共 113 頁

(54)名稱

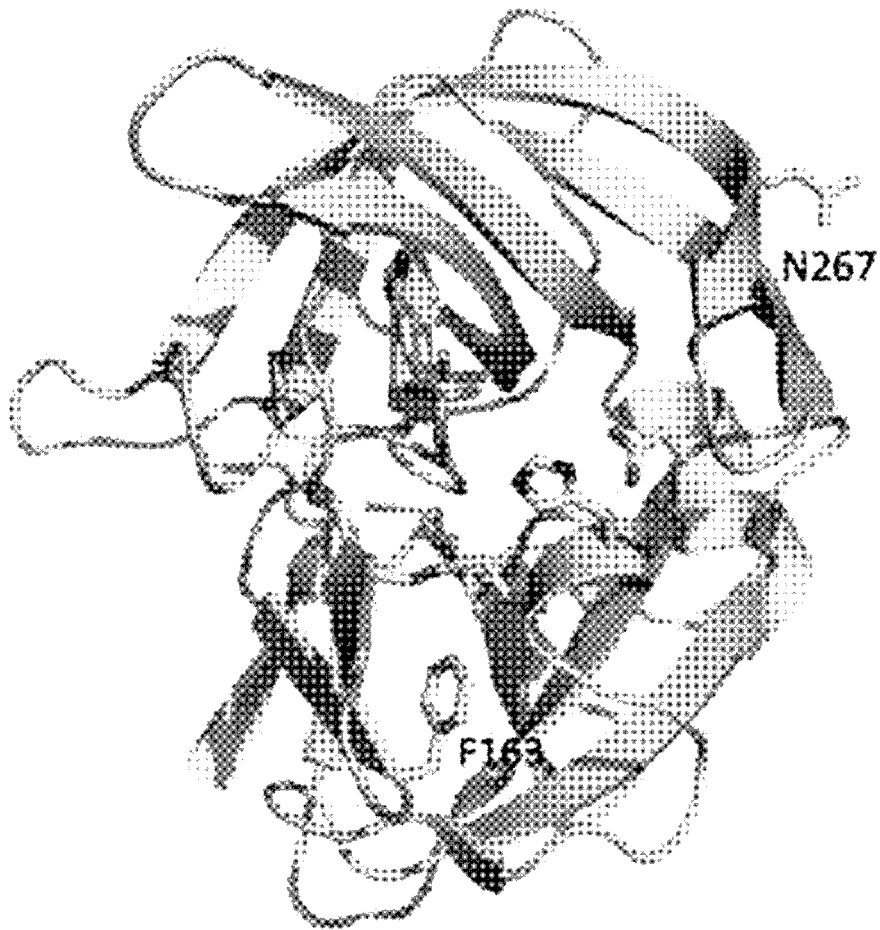
新穎絲胺酸蛋白酶變異體

(57)摘要

本發明係有關於新穎絲胺酸蛋白酶變異體。

The present disclosure relates to a novel serine protease variant.

指定代表圖：



【圖1】



I887529

【發明摘要】

【中文發明名稱】 新穎絲胺酸蛋白酶變異體

【英文發明名稱】 NOVEL SERINE PROTEASE VARIANT

【中文】

本發明係有關於新穎絲胺酸蛋白酶變異體。

【英文】

The present disclosure relates to a novel serine protease variant.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】

(無)

【特徵化學式】

(無)

【發明說明書】

【中文發明名稱】 新穎絲胺酸蛋白酶變異體

【英文發明名稱】 NOVEL SERINE PROTEASE VARIANT

【技術領域】

【0001】 本發明係有關於新穎絲胺酸蛋白酶變異體。

【先前技術】

【0002】 蛋白酶涉及生物體（living organisms）中的各種功能諸如消化、吸收，及防禦，且根據活性部位的結構而被區分為絲胺酸蛋白酶、半胱胺酸蛋白酶、天門冬胺酸蛋白酶以及金屬蛋白酶（metalloprotease）。在其等之中，絲胺酸蛋白酶（或是絲胺酸內肽酶（serine endopeptidases））為具有下列特徵的酵素（enzymes）：通常在活性部位有將蛋白質中胜肽鍵切斷的一活性絲胺酸殘基（residue），其中絲胺酸作為在一蛋白酶之活性部位的親核胺基酸（Hedstrom, 2002. *Chem Rev* 102: 4501-4524）。

【0003】 絲胺酸蛋白酶已被廣泛用於各種應用中。除了用以治療諸如血凝塊的溶解（lysis of blood clots）之人類疾病的治療應用，絲胺酸蛋白酶不僅作為衣物清潔劑以及隱形眼鏡清潔劑之組份，亦用於乳蛋白的改質、生絲精練（silk degumming）、皮革浸泡、去毛（unhairing）、寡肽類的合成、自肺部X射線底片回收銀、以及飼料及食物的生產及改良（韓國發明專利公開第10-2005-0068750號）等。

【發明內容】**[技術問題]**

【0004】 有需要研發具有經改善的熱穩定性、經增加之活性等的絲胺酸蛋白酶以獲得更高的工業成本效益及效率。

[解決問題的技術手段]

【0005】 本發明的一目的係提供一絲胺酸蛋白酶變異體。

【0006】 本發明的另一目的係提供編碼該絲胺酸蛋白酶變異體的多核苷酸以及包括其之載體。

【0007】 本發明的再一目的係提供包括該絲胺酸蛋白酶變異體；編碼該絲胺酸蛋白酶變異體的多核苷酸；或包括該多核苷酸的載體之一或多者的微生物。

【0008】 本發明的再另一目的係提供包括該絲胺酸蛋白酶變異體或表現該絲胺酸蛋白酶變異體之微生物之一或多者的飼料組成物。

[有益的功效]

【0009】 本發明的絲胺酸蛋白酶變異體與現有的絲胺酸蛋白酶相比具有優異的活性，且因此可被有用地使用於產業中。

【圖式簡單說明】

【0010】圖1顯示突變被導入衍生自嗜高溫放線菌 (*Thermobifida fusca*) 的絲胺酸蛋白酶變異體之三級結構中的殘基位置。

【實施方式】

【0011】以下將針對本發明進行詳細說明。同時，揭露於本發明中的各敘述及實施例在此可被應用於不同的敘述及實施例。換句話說，本發明中所揭露的各種組份的所有組合被包括於本發明的範圍內。再者，本發明的範圍不應被以下所提供的敘述所限制。

【0012】另外，所屬技術領域具有通常知識者可以在不使用多於常規之實驗內容之下認知或能夠確認本發明所述的具體實施例的許多均等實施方式。這些均等實施方式意欲被涵蓋於本發明中。

【0013】本發明的一態樣提供一絲胺酸蛋白酶變異體。

【0014】如此處所使用的，該用語「絲胺酸蛋白酶」是指屬於蛋白酶的次群組且具有蛋白分解活性 (proteolytic activity) 的酵素。具體而言，該絲胺酸蛋白酶可為藉由水解胜肽鍵而降解蛋白質且基本上在其活性位 (active sites) 具有活性絲胺酸殘基的酵素，且更具體而言，為具有組胺酸、天門冬胺酸及絲胺酸，此處可被稱為催化三元組 (catalytic triad)，之胺基酸殘基的空間排列 (spatial arrangement) 的酵素，但不限於此。

【0015】根據本發明之該絲胺酸蛋白酶可衍生自嗜高溫裂 (*Thermobifida*) 屬、擬諾卡氏菌 (*Nocardiopsis*) 屬、放線菌 (*Actinorugispora*) 屬，或耐鹼次放線孢菌 (*Spinactinospora*) 屬之微生物，但不限於此。具體而言，在本發明中，該絲胺酸蛋白酶之野生種可為衍生自嗜高溫放線菌、嗜高溫雙岐菌

第3頁，共 47 頁(發明說明書)

(*Thermobifida cellulosilytica*)、哈氏嗜高溫放線菌(*Thermobifida halotolerans*)、內生放線菌(*Actinorugispora endophytica*)、耐鹼刺放線孢菌(*Spinactinospora alkalitolerans*)、孔氏擬諾卡氏菌(*Nocardiopsis composta*)或蒲氏擬諾卡氏菌(*Nocardiopsis potens*)之絲胺酸蛋白酶，但不限於此。

【0016】 在一實施例中，本發明之該絲胺酸蛋白酶可為包括、實質上由下述者組成，或由下述者組成的多肽：敘述於SEQ ID NO: 31的胺基酸序列，但不限於此。在一實施例中，SEQ ID NO: 31之該胺基酸序列可為衍生自SEQ ID NO: 40或SEQ ID NO: 2之胺基酸序列，但不限於此。

【0017】 在一實施例中，本發明之該絲胺酸蛋白酶可包括、實質上由下述者組成，或由下述者組成：SEQ ID NOS: 49至54之任一者的胺基酸序列，但不限於此。在一實施例中，SEQ ID NOS: 49至54的胺基酸序列可衍生自SEQ ID NOS: 67至72之任一者的胺基酸序列，但不限於此。

【0018】 本發明之該絲胺酸蛋白酶可不受限地包括具有與上述胺基酸序列相同活性的任何序列。另外，該絲胺酸蛋白酶可包括、實質上由下述者所組成，或由下述者所組成的胺基酸序列：SEQ ID NOS: 31及49至54之任一者的胺基酸序列，或與其具有60%或更高之同源性(homology)或相等性(identity)的胺基酸序列，但不限於此。具體而言，該胺基酸序列可包括敘述於SEQ ID NOS: 31及49至54的胺基酸序列，或與敘述於SEQ ID NOS: 31及49至54的胺基酸序列之任一者之間具有至少60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、

96%、97%、98%，或99%或更高之同源性或相等性的胺基酸序列之任一者。另外，顯見的是，只要一胺基酸序列具有上述同源性或相等性（identities）且具有與該蛋白質同等之功效，任何具有包括刪去、修飾、取代或添加於該序列之部分的該胺基酸序列之蛋白質皆落於本發明之範圍內。

【0019】換句話說，雖然本發明中使用「具有敘述於一預定SEQ ID NO:之胺基酸序列的蛋白質或多肽」以及「包括敘述於一預定SEQ ID NO:之胺基酸序列的蛋白質或多肽」之表示方式，顯見的是，只要一蛋白質具有與由該對應之胺基酸序列所組成之多肽相同或相等活性，任何具有包括刪除、修飾、取代或添加於該序列之部分的該胺基酸序列之蛋白質亦可被用於本發明中。舉例而言，顯見的是「包括SEQ ID NO:31之胺基酸序列的多肽」屬於「由SEQ ID NO:31之胺基酸序列所組成的多肽」，只要前者具有與後者相同或相等的活性。

【0020】如此處所使用的，用語「同源性」或「相等性」是指兩個既定之胺基酸序列或核苷酸序列間的相關度（degree of relatedness）且可以百分比表示。同源性與相等性之用語可彼此互換而使用。

【0021】保留（conserved）多核苷酸或多肽的序列同源性或相等性可由標準對位演算法（standard alignment algorithm）所決定，且藉由使用程式所建立的預設空位罰分（default gap penalties）可被一同使用。實質上，同源或相等序列可大致在中度（moderate）或高度嚴密（stringent）條件下沿著整體序列的整體長度或至少約50%、60%、70%、80%或90%的整體長度與彼此雜交（hybridize）。在雜交中，包括同義密碼子（degenerated codon）而不是密碼子的多核苷酸亦被考量。

【0022】 在任何兩個既定之多核苷酸或多肽之間的序列同源性、相似性 (similarity) 或相等性可使用諸如「FASTA」程式之已知電腦演算法，運用由例如Pearson等人 (1988) [*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 2444]導入的預設參數而決定。或者是在歐洲分子生物開放軟體套件 (European Molecular Biology Open Software Suite, EMBOSS) 組合 (Rice *et al.*, 2000, *Trends Genet.* 16: 276-277) (5.0.0或更新之版本) 之Needleman程式中執行的Needleman-Wunsch演算法 (Needleman及Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48: 443-453) 可被用於決定上述同源性、相似性或相等性 (包括GCG程式組合 (Devereux, J., *et al.*, *Nucleic Acids Research* 12: 387 (1984))、BLASTP, BLASTN, FASTA (Atschul, S. F., *et al.*, *J MOLEC BIOL* 215 : 403 (1990) ; *Guide to Huge Computers*, Martin J. Bishop, ed., Academic Press, San Diego, 1994, 以及CARILLO *et al.*(1988) *SIAM J Applied Math* 48: 1073) 。舉例而言，該同源性、相似性或相等性可使用來自國家生物技術資訊中心資料庫 (National Center for Biotechnology Information database) 的BLAST，或ClustalW來決定。

【0023】 多核苷酸或多肽之間的同源性、相似性或相等性可藉由使用GAP電腦程式比對序列資訊而決定，此種程式例如由Needleman *et al.* (1970), *J Mol Biol.* 48 : 443導入，於例如Smith and Waterman, *Adv. Appl. Math* (1981) 2:482中所敘述者。簡言之，該GAP程式將相似度界定為相似的經對齊之符號 (亦即核苷酸或胺基酸) 之數量除以兩個序列之較短者中的符號之總數。該GAP程式的預設參數可包括：(1)二進位比較矩陣 (包含表示相同的數值1及表示不同的數值0) 以及揭露於 Schwartz and Dayhoff, eds., *Atlas Of Protein Sequence And Structure*, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358 (1979) 中的 Gribskov *et al.*

(1986) *Nucl. Acids Res.* 14: 6745之加權比較矩陣（或DNAFULL (NCBI NUC4.4之EMBOSS版本) 取代矩陣）；(2)對各空位（gap）之3.0的罰分（penalty）以及各空位中每個符號額外0.10的罰分（或是一個空位開啟10罰分，且一空位延伸0.5罰分）；以及(3)對於終端空位無罰分。

【0024】 另外，兩個既定之多核苷酸或多肽之間的序列同源性、相似性或相等性可藉由以南方雜交法（southern hybridization）於經界定之嚴密條件下比較其等的序列而確認，且經界定之適當的雜交條件是在本技術領域的範圍內且可由所屬技術領域具有通常知識者所熟知的方法決定。

【0025】 在一個實施例中，本發明所提供的絲胺酸蛋白酶變異體可指其中特定位置之胺基酸被取代以在上述具有該絲胺酸蛋白酶活性的蛋白質中，具有相比於變異前之蛋白質超過100%的酵素活性的變異體。

【0026】 在一具體實施例中，本發明中所提供的變異體可具有超過100%的酵素活性，具體而言，相較於包括SEQ ID NOS: 31及49至54之任一者的胺基酸序列的野生種酵素，約110%、約120%、約130%、約140%、約150%、約160%、約170%、約180%、約190%，或約200%或更高的經增加之酵素活性，但不限於此。

【0027】 該用語「約」為包括 ± 0.5 、 ± 0.4 、 ± 0.3 、 ± 0.2 、 ± 0.1 等之所有的範圍，且包括相等或相似於該用語約之後之數值範圍中的所有數值，但不限於此。

【0028】 如此處所使用的，該用語「變異體」是指由與所列舉之序列之胺基酸不同的至少一個胺基酸的保留取代（conservative substitution）及／或修飾所獲得的仍保留該蛋白質之功能或特性之一多肽。一變異體因數個胺基酸之取代、刪除或添加而與所辨識之序列不同。此種變異體一般可藉由修飾上述多肽序列

之一者並評估經修飾之多肽的特性而辨認。即，相較於天然蛋白質（native protein），該變異體的能力可被增強、不變或縮減（diminished）。

【0029】 除此之外，一些變異體可包括諸如一N端前導序列或跨膜區段（transmembrane domain）的其中至少一部分被移除的變異體。其他變異體可包括其中一部分自一成熟蛋白質之該N-及/或C-端移除或被添加至一成熟蛋白質之該N-及/或C-端的變異體。

【0030】 該用語「變異體」亦可與其他用語為可互換使用的，諸如修飾（modification）、經修飾之蛋白質、經修飾之多肽、突變體（mutant）、突變蛋白質（mutin）及趨異體（divergent），且任何被用於表示變異體的用語亦可不受限地加以使用。

【0031】 該變異體可具有相較於天然野生種或非經修飾蛋白質之活性，由經修飾蛋白質增強的活性，但不限於此。

【0032】 如此處所使用的，該用語「保留取代（conservative substitution）」係指將一個胺基酸以具有相似結構及／或化學性質之不同的胺基酸取代。例如，該變異體在仍保有一或多個生物活性下得具有一或多個保留取代。此種胺基酸取代一般可基於一殘基之極性、電荷、溶解度、疏水性、親水性及／或雙性本質而發生。舉例而言，在具有側鏈的帶電胺基酸中，帶正電（鹼性）胺基酸包括精胺酸、離胺酸及組胺酸；而帶負電（酸性）胺基酸包括麩胺酸及天門冬胺酸；在具有側鏈的不帶電胺基酸中，非極性胺基酸包括甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、色胺酸及脯胺酸，且極性或親水性胺基酸包括絲胺酸、蘇胺酸、半胱胺酸、酪胺酸、精胺酸及麩醯胺酸；而在胺基酸中，芳香族胺基酸包括苯丙胺酸、色胺酸及酪胺酸。該變異體亦可包括對於多肽之特性及次級結構具有最小影響之胺基酸的刪除或增加。舉例而言，一多肽可以與涉

及蛋白質共轉譯（co-translationally）或後轉譯（post-translationally）之轉化的蛋白質的N端之訊號（或前導）序列共軛（conjugated）。該多肽亦可與用以辨識、純化或合成該多肽的另一個序列或連接子（linker）共軛。

【0033】如此處所使用的，該用語「絲胺酸蛋白變異體」是指在具有該絲胺酸蛋白酶活性之多肽的胺基酸序列中包括一或多個胺基酸的取代之多肽。

【0034】根據本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可包括其中對應於SEQ ID NO: 31之胺基酸序列之自N端起算第12個胺基酸及／或第116個的胺基酸之處的胺基酸以不同的胺基酸取代。具體而言，該絲胺酸蛋白酶變異體可包括其中對應於SEQ ID NO: 31之胺基酸序列之第12個胺基酸及／或第116個胺基酸之胺基酸的取代，且可包括與SEQ ID NOS:31及49至54之任一者之胺基酸序列之間具有60%或更高且少於100%之同源性或相等性的胺基酸序列。

【0035】在一實施例中，本發明之絲胺酸蛋白酶變異體可包括在對應於SEQ ID NO: 31之第12個胺基酸及／或第116個胺基酸之位置的胺基酸之取代，且可具有與SEQ ID NOS: 31及49至54之任一者的胺基酸序列之間60%或更高，舉例而言，61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或99%或更高，且少於100%之同源性或相等性，但不限於此。

【0036】同時，由於自SEQ ID NO: 31之N端起第12個胺基酸及第116個胺基酸對應於SEQ ID NOS: 49至54之N端起第12個胺基酸及第116個胺基酸，基於

SEQ ID NO: 31的胺基酸之位置的敘述可被等同地應用於SEQ ID NOS: 49至54之任一者的胺基酸序列之第12個胺基酸及第116個胺基酸。

【0037】 在一實施例中，本發明之絲胺酸蛋白酶變異體可包括在對應於SEQ ID NO: 54之第12個胺基酸及／或第116個胺基酸之位置的胺基酸之取代，且可包括具有與SEQ ID NOS: 52至54之任一者的胺基酸序列之間60%或更高，舉例而言，61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或99%或更高，且少於100%之同源性或相等性的胺基酸序列。具體而言，該絲胺酸蛋白酶變異體可包括在對應於SEQ ID NO: 54之第12個胺基酸之位置的胺基酸之取代，且可具有與SEQ ID NO: 54之胺基酸序列之間60%或更高，舉例而言，61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或99%或更高，且少於100%之同源性或相等性，但不限於此。

【0038】 在一實施例中，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可為其中對應於選自於SEQ ID NOS:31及49至54之任一者的胺基酸序列中自N端起位置12、位置116，或位置12及116的胺基酸都被以其他胺基酸取代的蛋白質。該「其他胺基酸」是指與取代前不同的胺基酸，且只要其等與取代前之胺基酸不同，其等不受限制。

【0039】 在一實施例中，根據本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可為其中選自於SEQ ID NOS: 31及49至51任一者的胺基酸序列中位置12處的苯丙胺酸是以

第10頁，共 47 頁(發明說明書)

甘胺酸、丙胺酸、精胺酸、天門冬胺酸、半胱胺酸、麩胺酸、天門冬醯胺、麩醯胺酸、組胺酸、脯胺酸、絲胺酸、酪胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、色胺酸、纈胺酸、甲硫胺酸或蘇胺酸所取代之變異體；及／或位置116處的天門冬醯胺是由甘胺酸、丙胺酸、精胺酸、天門冬胺酸、半胱胺酸、麩胺酸、麩醯胺酸、組胺酸、脯胺酸、絲胺酸、酪胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、纈胺酸、甲硫胺酸或蘇胺酸所取代之變異體，且不限於此。

【0040】 在一實施例中，根據本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可為其中選自於SEQ ID NOS: 52至54任一者的胺基酸序列中位置12處的脯胺酸是以苯丙胺酸、甘胺酸、丙胺酸、精胺酸、天門冬胺酸、半胱胺酸、麩胺酸、天門冬醯胺、麩醯胺酸、組胺酸、絲胺酸、酪胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、色胺酸、纈胺酸、甲硫胺酸或蘇胺酸所取代之變異體；及／或位置116處的天門冬醯胺是由甘胺酸、丙胺酸、精胺酸、天門冬胺酸、半胱胺酸、麩胺酸、麩醯胺酸、組胺酸、脯胺酸、絲胺酸、酪胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、纈胺酸、甲硫胺酸或蘇胺酸所取代之變異體，且不限於此。

【0041】 具體而言，該變異體可為其中對應於選自於SEQ ID NOS: 31及49至54之任一者之胺基酸序列中位置12之胺基酸是由酪胺酸（Y）、絲胺酸（S）、丙胺酸（A）或精胺酸（R）取代之蛋白質；對應於位置116的胺基酸是以天門冬胺酸（D）、絲胺酸（S）、蘇胺酸（T）、或甘胺酸（G）所取代之蛋白質；或對應於SEQ ID NO: 31之胺基酸序列中的位置12及116的胺基酸各自由酪胺酸（Y）及天門冬胺酸（D）、酪胺酸（Y）及絲胺酸（S）、絲胺酸（S）及天門冬胺酸（D）、絲胺酸（S）及蘇胺酸（T），或丙胺酸（A）及甘胺酸（G）所取代之蛋白質，但不限於此。在一實施例中，該絲胺酸蛋白酶變異體可為其中選自於SEQ ID NOS: 52至54之任一者的胺基酸序列中位置12處之脯胺酸是以酪胺酸、丙胺酸、絲胺酸或精胺酸所取代的變異體，但不限於此。

【0042】 顯見的是其中於選自於SEQ ID NOS: 31及49至54之任一者的胺基酸序列中位置12及／或116的胺基酸由其他胺基酸所取代的該變異體包括其中對應於該等位置之胺基酸是其他胺基酸所取代的變異體。

【0043】 另外，該變異體亦可包括其中對應於選自SEQ ID NOS: 31及49至54之任一者的胺基酸序列之N端起第12個胺基酸及／或第116個胺基酸之位置的胺基酸以下列其他胺基酸所取代的變異體：於以上敘述於選自於SEQ ID NOS: 31及49至54之任一者的胺基酸序列中者，或與選自於SEQ ID NOS: 31及49至54之任一者的胺基酸序列之間有至少60%或更高，60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或99%或更高之同源性或相等性的胺基酸序列。

【0044】 在一實施例中，在該等變異體中，其中對應於SEQ ID NO: 31之胺基酸序列中第12個胺基酸及／或第116個胺基酸之位置的胺基酸以其他胺基酸所取代的變異體可包括、實質上由以下所組成，或由以下所組成：敘述於選自於SEQ ID NOS: 32至39任一者中的一胺基酸序列，但不限於此。

【0045】 在一實施例中，在該等變異體中，其中對應於SEQ ID NO: 49之胺基酸序列中第12個胺基酸及／或第116個胺基酸之位置的胺基酸以其他胺基酸所取代的變異體可包括、實質上由以下所組成，或由以下所組成：SEQ ID NO: 55或56的胺基酸序列，但不限於此。

【0046】 在一實施例中，在該等變異體中，其中對應於SEQ ID NO: 50之胺基酸序列中第12個胺基酸及／或第116個胺基酸之位置的胺基酸以其他胺基酸

所取代的變異體可包括、實質上由以下所組成，或由以下所組成：SEQ ID NO: 57或58的胺基酸序列，但不限於此。

【0047】 在一實施例中，在該等變異體中，其中對應於SEQ ID NO: 51之胺基酸序列中第12個胺基酸及／或第116個胺基酸之位置的胺基酸以其他胺基酸所取代的變異體可包括、實質上由以下所組成，或由以下所組成：SEQ ID NO: 59或60的胺基酸序列，但不限於此。

【0048】 在一實施例中，在該等變異體中，其中對應於SEQ ID NO: 52之胺基酸序列中第12個胺基酸及／或第116個胺基酸之位置的胺基酸以其他胺基酸所取代的變異體可包括、實質上由以下所組成，或由以下所組成：SEQ ID NO: 61或62的胺基酸序列，但不限於此。

【0049】 在一實施例中，在該等變異體中，其中對應於SEQ ID NO: 53之胺基酸序列中第12個胺基酸及／或第116個胺基酸之位置的胺基酸以其他胺基酸所取代的變異體可包括、實質上由以下所組成，或由以下所組成：SEQ ID NO: 63或64的胺基酸序列，但不限於此。

【0050】 在一實施例中，在該等變異體中，其中對應於SEQ ID NO: 54之胺基酸序列中第12個胺基酸及／或第116個胺基酸之位置的胺基酸以其他胺基酸所取代的變異體可包括、實質上由以下所組成，或由以下所組成：SEQ ID NO: 65或66的胺基酸序列，但不限於此。

【0051】 在一實施例中，根據本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可包括對應於選自於SEQ ID NOS: 31及49至54之任一者的胺基酸序列之位置12及／或位置116之位置以其他胺基酸取代；可具有與選自於SEQ ID NOS: 31及49至54之任一者的胺基酸序列之間60%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、

86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或99%或更高，且少於100%之序列同源性；且可具有絲胺酸蛋白酶活性。

【0052】 本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可具有與修飾前之多肽、一天然野生種多肽，或未經修飾之多肽相比經增強的活性，但不限於此。另外，顯見的是，只要該蛋白質具有上述同源性及相等於該蛋白質效果的效果，任何包括具有刪除、修飾、取代或添加於該序列中之部分的胺基酸序列之蛋白質係落於本發明的範圍中。

【0053】 另外，顯見的是，除了該第12個胺基酸及／或第116個胺基酸中之突變或對應於其等之位置的突變外，具有無意義序列（meaningless sequence）添加於對應SEQ ID NO之胺基酸序列的正向或反向，或具有自然發生突變，或其緘默突變（silent mutation）的任何變異體並未被排除而是被包括於本發明的範圍內，只要該變異體具有相同或等同於根據本發明之變異體之活性的活性。

【0054】 同時，NCBI參考序列 WP_016188200.1（SEQ ID NO: 40）的一成熟區（mature region）對應於本發明的該SEQ ID NO: 31之胺基酸序列，且自SEQ ID NO: 40排除該訊號胜肽的序列對應於本發明之SEQ ID NO: 2。

【0055】 由上列敘述顯見的是本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可包括對於該絲胺酸蛋白酶的特性及次級結構具有最小影響的胺基酸之刪除或添加，其中於對應於SEQ ID NO: 31之第12及／或第116之位置的胺基酸由其它胺基酸取代。另外，對於所屬技術領域具有通常知識者為顯見的是，透過在本領域中已知的序列比對(sequence alignment)，根據本發明之SEQ ID NO: 31的N端起算第12及第116個位置對應於SEQ ID NO: 40的第193及297個位置以及SEQ ID NO: 2之第

163及第267號位置，且SEQ ID NO: 31是被包括於SEQ ID NO: 2及SEQ ID NO: 40中。

【0056】 因此，對於各自包括SEQ ID NO: 31之胺基酸序列的SEQ ID NOS: 2及40的胺基酸序列，本發明的該絲胺酸蛋白酶變異體包括其中在對應於SEQ ID NO: 31的第12及第116個位置的胺基酸（SEQ ID NO: 2之第163個胺基酸及／或第267個胺基酸，以及SEQ ID NO: 40之第193個胺基酸及／或第297個胺基酸）的位置之胺基酸被取代的變異體。另外，以上對於SEQ ID NO: 31及其第12及第116個胺基酸的敘述亦可適用於SEQ ID NO: 2及其第163及／或第267個胺基酸及SEQ ID NO: 40及其第193及／或第297個胺基酸。

【0057】 在一實施例中，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可包括其中對應於SEQ ID NO: 31之12及／或116之位置的胺基酸是以其他胺基酸所取代的胺基酸序列，且可具有與SEQ ID NO: 2之間至少60%或更多，舉例而言，60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或99%或更高，且少於100%之序列同源性的胺基酸序列。於另一實施例中，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可包括SEQ ID NO: 2之第163個胺基酸及／或第267個胺基酸以其他胺基酸取代，且可具有與SEQ ID NO: 2之間60%或更高且少於100%之序列同源性，且可具有與選自於SEQ ID NOS: 3至10之任一者之胺基酸序列之間60%或更高之序列同源性，但不限於此。

【0058】 同時，顯見的是在包括SEQ ID NOS: 49至54之任一者的胺基酸序列的多肽中，包括對應於SEQ ID NOS: 49至54之N端起位置12及／或位置116之胺基酸的取代的變異體亦包括於本發明之絲胺酸蛋白酶的範圍中。

【0059】 包括SEQ ID NOS: 49至54之任一者之胺基酸序列的多肽可為，舉例而言，敘述於GenBank存取碼：KUP96625.1（SEQ ID NO: 67）、NCBI參考序列：WP_068687914.1（SEQ ID NO: 68）、NCBI參考序列：WP_133739400.1（SEQ ID NO: 69）、NCBI參考序列：WP_179641868.1（SEQ ID NO: 70）、NCBI參考序列：WP_184391208.1（SEQ ID NO: 71）、NCBI參考序列：WP_017594871.1（SEQ ID NO: 72）或類似者中的胺基酸序列。

【0060】 所屬技術領域中具有通常知識者可通過本領域中已知的序列對位法，以及應用SEQ ID NOS: 49至54之N端起的位置12及／或位置116的敘述而辨識SEQ ID NOS: 67至72中對應於SEQ ID NOS: 49至54之N端起的位置12及／或位置116的胺基酸。

【0061】 於一實施例中，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可包括對應於SEQ ID NOS: 49至54之任一者的胺基酸序列之N端起位置12及／或位置116的胺基酸以其他胺基酸取代，且可具有與SEQ ID NOS: 67至72之任一者的胺基酸序列60%或更多，舉例而言，61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或99%或更高之同源性或相等性。

【0062】 於一實施例中，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 54之胺基酸序列的位置12之胺基酸的取代，且可具有與敘述於SEQ ID NOS: 70至72之任一者的胺基酸序列之間60%或更多，舉例而言，60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，

或99%或更高之同源性或相等性。作為一實例，該絲胺酸蛋白酶變異體可進一步包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 54之胺基酸序列之位置116的胺基酸之取代。

【0063】 在一實施例中，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 67之胺基酸序列之位置198的胺基酸之取代。該變異體可具有與SEQ ID NO: 67之間60%或更多，舉例而言，60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或99%或更高之同源性或相等性。舉例而言，該變異體可包括其中對應於SEQ ID NO: 49之第12個胺基酸之位置的胺基酸被以其他胺基酸所取代且與SEQ ID NO: 49之間具有70%或更高之序列相等性的胺基酸序列。作為一實例，該絲胺酸蛋白酶變異體可進一步包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 67之胺基酸序列之位置302的胺基酸之取代。

【0064】 在一實施例中，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 68之胺基酸序列之位置178的胺基酸之取代。該變異體可具有與SEQ ID NO: 68之間60%或更多，舉例而言，60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或99%或更高之同源性或相等性。舉例而言，該變異體可包括其中對應於SEQ ID NO: 50之第12個胺基酸之位置的胺基酸被以其他胺基酸所取代且與SEQ ID NO: 50之間具有70%或更高之序列相等性的胺基酸序列。作為一實例，該絲胺酸蛋白酶變異體可進一步包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 68之胺基酸序列之位置282的胺基酸之取代。

【0065】 在一實施例中，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 69之胺基酸序列之位置207的胺基酸之取代。該變異體可

具有與SEQ ID NO: 69之間60%或更多，舉例而言，60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或99%或更高之同源性或相等性。舉例而言，該變異體可包括其中對應於SEQ ID NO: 51之第12個胺基酸之位置的胺基酸被以其他胺基酸所取代且與SEQ ID NO: 51之間具有70%或更高之序列相等性的胺基酸序列。作為一實例，該絲胺酸蛋白酶變異體可進一步包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 69之胺基酸序列之位置311的胺基酸之取代。

【0066】 在一實施例中，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 70之胺基酸序列之位置203的胺基酸之取代。該變異體可具有與SEQ ID NO: 70之間60%或更多，舉例而言，60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或99%或更高之同源性或相等性。舉例而言，該變異體可包括其中對應於SEQ ID NO: 52之第12個胺基酸之位置的胺基酸被以其他胺基酸所取代且與SEQ ID NO: 52之間具有70%或更高之序列相等性的胺基酸序列。作為一實例，該絲胺酸蛋白酶變異體可進一步包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 70之胺基酸序列之位置303的胺基酸之取代。

【0067】 在一實施例中，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 71之胺基酸序列之位置201的胺基酸之取代。該變異體可具有與SEQ ID NO: 71之間60%或更多，舉例而言，60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或99%或更高之同源性或相

等性。舉例而言，該變異體可包括其中對應於SEQ ID NO: 53之第12個胺基酸之位置的胺基酸被以其他胺基酸所取代且與SEQ ID NO: 53之間具有70%或更高之序列相等性的胺基酸序列。作為一實例，該絲胺酸蛋白酶變異體可進一步包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 71之胺基酸序列之位置304的胺基酸之取代。

【0068】 在一實施例中，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 72之胺基酸序列之位置201的胺基酸之取代。該變異體可具有與SEQ ID NO: 72之間60%或更多，舉例而言，60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或99%或更高之同源性或相等性。舉例而言，該變異體可包括其中對應於SEQ ID NO: 54之第12個胺基酸之位置的胺基酸被以其他胺基酸所取代且與SEQ ID NO: 54之間具有70%或更高之序列相等性的胺基酸序列。作為一實例，該絲胺酸蛋白酶變異體可進一步包括對應於基於敘述於SEQ ID NO: 72之胺基酸序列之位置304的胺基酸之取代。

【0069】 然而，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體不限於此。

【0070】 如此處所使用的，該用語「對應於」是指在蛋白質或多肽中記載之位置的胺基酸殘基，或相似、相等或同源於記載於一蛋白質或多肽中之胺基酸殘基的胺基酸殘基。辨識於對應位置之胺基酸可為決定表示該特定序列之序列的特定胺基酸。如此處所使用的，該用語「對應區域」通常是指一相關蛋白質或參考蛋白質之相似或對應位置。舉例而言，任何胺基酸序列可與SEQ ID NO: 31對位，且基於此，該胺基酸序列的各胺基酸殘基可參照對應於SEQ ID NO: 31之胺基酸殘基的胺基酸殘基之編號位置而編號。舉例而言，諸如敘述於本發明中之

序列對位演算法可辨識一胺基酸的位置，或在該處相較於一尋找的序列（query sequence，或稱為「參考序列」）中修飾，諸如取代、插入，或刪除發生之位置。

【0071】對於此對位，Needleman-Wunsch演算法（Needleman and Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48: 443-453）、EMBOSS組合的Needleman程式（歐洲分子生物開放軟體套件，Rice *et al.*, 2000, *Trends Genet.* 16:276-277），及類似者可被使用，但用於對位的程式不限於此。對應的胺基酸殘基可通過多重序列對位（multiple sequence alignment）被辨識。本技術領域中已知之多重序列對位程式的實例包括諸如MUSCLE（藉由對數期望之多重序列比；3.5或更新版本；Edgar, 2004, *Nucleic Acids Research* 32:1792-1797）及MAFFT（6.857或更新版本；Katoh and Kuma, 2002, *Nucleic Acids Research* 30:3059-3066; Katoh *et al.*, 2005, *Nucleic Acids Research* 33:511-518; Katoh and Toh, 2007, *Bioinformatics* 23:372-374; Katoh *et al.*, 2009, *Methods in Molecular Biology* 537:39-64; Katoh and Toh, 2010, *Bioinformatics* 26:1899-1900）的程式及使用ClustalW（1.83或更新版本；Thompson *et al.*, 1994, *Nucleic Acids Research* 22:4673-4680）之EMBOSS EMMA，以及各程式之基礎參數可被使用，但該程式不限於此。

【0072】本發明的另一態樣提供編碼該絲胺酸蛋白酶變異體的多核苷酸。

【0073】如此處所使用的，該用語「多核苷酸」是指其中核苷酸單體是藉由共價鍵而在長鍊形狀中彼此連接的核苷酸之聚合物，及具有一定長度或更長的DNA或RNA股（DNA or RNA strand），且更具體而言，編碼該變異體的一多核苷酸片段。

【0074】編碼本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體的該多核苷酸可具有任何編碼根據本發明之具有增強活性的絲胺酸蛋白酶變異體的多核苷酸序列而無限

制。在一實施例中，編碼本發明中之一野生種絲胺酸蛋白酶的基因可衍生自嗜高溫 (*Thermobifida*) 屬、擬諾卡氏菌 (*Nocardiopsis*) 屬、放線菌 (*Actinorugispora*) 屬，或耐鹼次放線孢菌 (*Spinactinospora*) 屬之微生物，具體而言，可為衍生自嗜高溫放線菌 (*Thermobifida fusca*)、嗜高溫雙歧菌 (*Thermobifida cellulosilytica*)、哈氏嗜高溫放線菌 (*Thermobifida halotolerans*)、內生放線菌 (*Actinorugispora endophytica*)、耐鹼刺放線孢菌 (*Spinactinospora alkalitolerans*)、孔氏擬諾卡氏菌 (*Nocardiopsis composta*) 或蒲氏擬諾卡氏菌 (*Nocardiopsis potens*)，但不限於此。

【0075】基於密碼子的簡併性 (codon degeneracy) 或是考量到其中多肽將被表現的生物體所偏好的密碼子，本發明之該多核苷酸可包括在該多肽的胺基酸序列中之編碼區中，在不改變該胺基酸序列之範圍內的各種修飾。具體而言，編碼其中對應於選自SEQ ID NOS: 31及49至54之任一者的胺基酸序列自N端起算第12及／或116個胺基酸的位置的該等胺基酸以其它的胺基酸所取代的變異體的任何多核苷酸序列可被包括於其中而無限制。

【0076】舉例而言，本發明之該多核苷酸可為編碼本發明之該變異體的一多核苷酸序列，且具體而言，可為編碼由敘述於選自SEQ ID NOS: 32至39及55至66之任一者的胺基酸序列所組成的多肽或與其具有同源性之多肽的多核苷酸序列，但不限於此。

【0077】在一實施例中，編碼由敘述於選自SEQ ID NOS: 32至39之任一者的胺基酸序列所組成之多肽的多核苷酸序列可由敘述於選自SEQ ID NOS: 41至48之任一者的多核苷酸序列所組成，但不限於此。

【0078】如上所述，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體包括其中在包括SEQ ID NOS: 31及49至54之任一者的胺基酸序列之多肽中，對應於該序列之12及／或

116之位置的胺基酸被取代的變異體，因此顯見的是編碼此一絲胺酸蛋白酶變異體的多核苷酸序列亦被包括於本發明的範圍中。

【0079】 作為實例，在SEQ ID NO: 2及SEQ ID NO: 40中，其中對應於SEQ ID NO: 31之12及／或116之位置的胺基酸（SEQ ID NO: 2之第163個胺基酸及／或第267個胺基酸及SEQ ID NO: 40之第193個胺基酸及／或第297個胺基酸）被取代的變異體亦被包括於本發明之該絲胺酸蛋白酶的範圍內，且因而編碼此的一多核苷酸序列亦包括於本發明的範圍內。舉例而言，編碼該絲胺酸蛋白酶變異體之多核苷酸序列可為編碼敘述於選自SEQ ID NOS: 3至10之任一者的胺基酸序列者，具體而言，可為由敘述於選自SEQ ID NOS: 23至30之任一者的多核苷酸序列所組成者，但不限於此。

【0080】 另外，任何編碼具有該變異體之活性的蛋白質的序列可被包括而不受限制，其中該變異體在對應於選自於SEQ ID NOS: 31及49至54之任一者的N端起算第12及／或116個胺基酸的位置之胺基酸是通過以探子（probe）進行雜交而以其它的胺基酸取代，其可由已知基因序列，舉例而言，與該核苷酸序列的全部或部分互補的序列，在嚴密條件下製備。

【0081】 該用語「嚴密條件（stringent conditions）」是指允許多核苷酸之間特定雜交的條件。這些條件已詳細揭露於已知文獻中。舉例而言，該等嚴密條件可包括在具有高度同源性，40%或更高，特別是90%或更高，更特別是95%或更高，再更特別是97%或更高，且最特別是99%或更高之同源性的基因之間進行雜交，而不是在具有低於上述同源性之同源性的基因之間進行雜交的條件，或是在用於南方雜交法於60°C，1×SSC、及0.1% SDS，特別是在60°C，0.1×SSC，及0.1% SDS，且更特別是在68°C，0.1×SSC，及0.1% SDS的鹽類濃度及溫度下的傳統清洗條件進行清洗一次，特別是進行清洗兩次或三次的條件。然而，嚴密條件並不限於此，但可由所屬技術領域具有通常知識者根據其等的目的而適當調整。

【0082】雜交需要兩個多核苷酸具有互補的序列，雖然鹼基（bases）可以依據雜交的嚴密程度而不匹配（mismatch）。該用語「互補（complementary）」是用於敘述得以彼此雜交之核苷酸鹼基之間的關係。舉例而言，在DNA的情形中，腺苷酸（adenosine）是與胸腺嘧啶（thymine）互補，胞嘧啶（cytosine）是與鳥糞嘌呤（guanine）互補。因此，本發明可包括不只是實質上相似的多核苷酸序列，但也包括對該整個序列為互補之其分離的（isolated）多核苷酸片段。

【0083】具體而言，具有同源性的該多核苷酸可使用包括於55°C之T_m值下之雜交方法的上述雜交條件偵測。另外，該T_m值可為60°C、63°C，或65°C，但不限於此且可由所屬技術領域具有通常知識者依據其目的而適當調整。

【0084】對於多核苷酸之雜交的適當之嚴密程度可依據該等多核苷酸的長度與互補程度而定，且該等參數是所屬技術領域中所熟知的。

【0085】本發明的再另一個態樣提供包括編碼本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體的多核苷酸之載體。

【0086】如此處所使用的，該用語「載體（vector）」是指一DNA構成（DNA construct），其包含目標蛋白質編碼（protein-encoding）多核苷酸的核苷酸序列，該目標蛋白質編碼多核苷酸是可操作地連結至合適的控制序列以能夠於合適的宿主細胞中表現該目標蛋白質。該控制序列可包括能夠起始轉錄的啟動子（promoter）、任何用於調節該轉錄的操作序列（operator sequence）、編碼合適的mRNA核糖體結合位置的序列，以及用以調節轉錄及轉譯之終止的序列。一旦轉化成為合適的宿主細胞，該載體可無視該宿主基因組而複製或發生作用（function），或可整合至其基因組內。

【0087】如此處所使用的，該用語「可操作地連結（operably linked）」是指編碼本發明之該目標蛋白質的多核苷酸序列是功能性地連結至起始及調解（mediates）該多核苷酸之轉錄的啟動子序列（promoter sequence）。一可操作的鏈結（operable linkage）可藉由本技術領域中已知的基因重組技術而製備，且特定位址之DNA切割及連接（site-specific DNA cleavage and ligation）可以使用本技術領域中已知的限制酵素（restriction enzyme）、連接酶（ligase）等製備，但不限於此。

【0088】本發明中所使用的載體並未被特別限制，而任何本技術領域中已知的載體可被使用。傳統載體的實例可包括質體（plasmid）、黏接質體（cosmid）、病毒及天然或重組狀態的噬菌體（bacteriophage）。舉例而言，pWE15、M13、MBL3、MBL4、IXII、ASHII、APII、t10、t11、Charon4A，及Charon21A可被用作為噬菌體載體（phage vector）或黏接質體載體，且基於pBR、pUC、pBluescriptII、pGEM、pTZ、pCL、pET、pUB110等者可被用作為質體載體。具體而言，pDZ、pACYC177、pACYC184、pCL、pECCG117、pUC19、pBR322、pMW118、pCC1BAC，及pSM704載體可被使用。可被用於本發明中的載體並未被特別限制，而任何已知的表現載體（expression vector）皆可被使用。

【0089】在一實施例中，編碼染色體中之目標變異體的該多核苷酸可使用用以進行染色體插入至細胞中的載體而以一突變多核苷酸取代。多核苷酸對該染色體的插入可藉由本領域中任何已知的方法進行，例如同源重組，但不限於此。該載體可進一步包括一選擇標記（selection marker）以確認染色體插入。該選擇標記是用以選擇以該載體轉化的細胞，即，確認目標核酸分子是否被插入，且該選擇標記的實例可包括提供可選擇之表現型（selectable phenotypes），諸如抗藥性、營養缺陷性（auxotrophy）、對細胞毒性劑（cytotoxic agent）之抗性，

或表面突變多肽之表現的標記。在其中選擇性試劑被處理的環境中，只有表現該選擇標記的細胞可以存活或顯現不同的表現型，且因此該等被轉化的細胞可被選擇。

【0090】 本發明的再另一態樣提供包括本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體；編碼該變異體的多核苷酸；或包括該多核苷酸之載體之一或多者的一宿主細胞。

【0091】 該宿主細胞可為，具體而言，一微生物。

【0092】 包括該絲胺酸蛋白酶變異體、編碼該變異體之多核苷酸，或包括該多核苷酸之載體之一或多者的微生物可為，具體而言，由以包括編碼一變異體之一多核苷酸的載體轉化所製備的微生物，但不限於此。

【0093】 該微生物可為表現一絲胺酸蛋白酶變異體之微生物。

【0094】 如此處所使用的，該用語「將被表現/被表現/表現（to be expressed/being expressed/expressing）」一蛋白質是指其中一目標蛋白質被導入微生物中或是於微生物中被表現的改質狀態（modified state）。基於本發明的目的，「目標蛋白質（target protein）」可為上述絲胺酸蛋白酶變異體。

【0095】 具體而言，該用語「蛋白質的導入（introduction of a protein）」係指於一微生物中展現特定蛋白質的活性，而該微生物原先並未具有該蛋白質，或是展現該蛋白質之相較於該蛋白質的內生之活性或在改質前之活性的經增強之活性。舉例而言，蛋白質的導入係可指將編碼一特定蛋白質的多核苷酸導入微生物的染色體，或將包括該編碼特定蛋白質的多核苷酸的載體導入微生物中，藉此展現該蛋白質的活性。

【0096】該微生物可為一重組微生物。該重組可藉由諸如轉化的基因修飾而達成。

【0097】如此處所使用的，該用語「轉化作用（transformation）」是指導入包括編碼目標蛋白質之多核苷酸的載體至宿主細胞中，使得由該多核苷酸所編碼的蛋白質被表現於該宿主細胞中的方法。無論該經轉化的多核苷酸是呈插入宿主細胞之染色體中的形式，或呈位於染色體外的形式，只要該經轉化的多核苷酸是被表現於該宿主細胞中，兩種形式的經轉化的多核苷酸都在本發明的範圍內。另外，該多核苷酸包括編碼該目標蛋白質的DNA及RNA。只要該多核苷酸被導入至該宿主細胞並於其中被表現，該多核苷酸可以任何形式被導入宿主細胞。舉例而言，該多核苷酸可以表現匣（expression cassette）的形式被導入至宿主細胞中，該表現匣是包括對於自我複製為必須的所有必要元素的基因建構（gene construct）。該表現匣一般可包括可操作地連結至該多核苷酸的啟動子、轉錄終止訊號、核糖體結合位置，以及轉譯終止信號。該表現匣可呈自我複製表現載體的形式。另外，該多核苷酸可以其原始形式被導入至宿主細胞中並可操作地連結至對於宿主細胞中之表現所需的序列，但不限於此。用於轉化作用的方法包括用於將多核苷酸導入細胞中的任何方法且可藉由本領域中所熟知的合適標準技術進行。舉例而言，轉化方法包括電穿孔法（electroporation）、磷酸鈣（ $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, CaHPO_4 , 或 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ）沉澱法、氯化鈣（ CaCl_2 ）沉澱法、顯微注射法（microinjection）、聚乙二醇（PEG）法、DEAE-聚葡萄糖法（DEAE-dextran method）、陽離子型脂質體方法、自然轉型作用（natural competence，例如，請參Perry and Kuramitsu, 1981, *Infect. Immun.* 32: 1295-1297），以及醋酸鋰-DMSO方法，但不限於此。

【0098】該重組微生物可為其中本發明之該絲胺酸蛋白酶的活性被增強的微生物。

【0099】該「活性增強」可指相較於原生活性或改質之前的活性，微生物的特定蛋白質活性被增強。該用語「原生活性（endogenous activity）」可指當微生物藉由因自然或人工因素所致之基因突變而被轉化時，在轉化作用之前，由微生物的母菌株所具有的特定蛋白質的活性。

【0100】具體而言，本發明中之蛋白質變異體的活性增強可藉由包括下列方法的一或多者所達成：增加編碼該蛋白質變異體的基因之細胞內複製數（intracellular copy number）的方法、導入突變至編碼該蛋白質變異體的基因之表現控制序列中的方法、以具有較強活性的序列取代編碼該蛋白質變異體之基因的表現控制序列的方法、以編碼該蛋白質變異體之基因取代編碼具有該絲胺酸蛋白酶活性的野生種蛋白質的染色體基因的方法，以及進一步將突變導入編碼該蛋白質變異體的基因中以增強該蛋白質變異體的活性的方法，但不限於此。

【0101】接著，對該表現控制序列進行修飾以增加多核苷酸之表現可藉由透過刪除、插入、非保留取代、保留取代，或其等之組合而於該核酸序列中誘發突變，以進一步增強該表現控制序列的活性，或藉由以一具有較強活性之核酸序列取代該核酸序列而進行，但不限於此。該表現控制序列可包括啟動子、操作子序列、核糖體結合位置編碼序列、用於調節轉錄及轉譯的序列等，但不限於此。

【0102】強的（strong）啟動子，而不是原生啟動子，可被連結於該多核苷酸表現單元的上部（upper portion），但該啟動子不限於此。已知強的啟動子的實例可包括cj1至cj7啟動子（US 7662943 B2）、乳糖啟動子（lac promoter）、色胺酸啟動子（trp promoter）、trc啟動子（trc promoter）、tac啟動子、λ噬菌體PR啟動子（lambda phage PR promoter）、P_L啟動子、tet啟動子、gapA啟動子、SPL7啟動子、SPL13(sm3)啟動子（US 10584338 B2）、O2啟動子（US 10273491 B2）、tkt啟動子、yccA啟動子等，但不限於此。

【0103】 另外，染色體上之多核苷酸序列的修飾可藉由透過核酸序列之刪除、插入、非保留取代，或保留取代，或其等之組合而誘發該表現控制序列中的突變，以進一步增強該多核苷酸序列之活性，或藉由以一經修飾以具有較強活性之多核苷酸序列取代該序列而進行，但不限於此。

【0104】 一般而言，此種蛋白質活性之導入及增強可基於野生種或未經修飾之微生物菌株中之活性或濃度，將對應之蛋白質的活性或濃度增加最小值為1%、10%、25%、50%、75%、100%、150%、200%、300%、400%，或500%至最大值為1,000%或2,000%，但不限於此。

【0105】 根據本發明之該宿主細胞或微生物可為任何藉由包括本發明之該多核苷酸或本發明之該載體而表現該絲胺酸蛋白酶變異體的微生物。具體而言，宿主細胞或微生物的實例可包括大腸桿菌屬、鋸桿菌 (*Serratia*) 屬、伊文氏桿菌 (*Erwinia*) 屬、腸桿菌 (*Enterobacteria*) 屬、普羅威登斯 (*Providencia*) 屬、沙門氏菌 (*Salmonella*) 屬、鏈黴菌 (*Streptomyces*) 屬、假單胞菌 (*Pseudomonas*) 屬、短桿菌 (*Brevibacterium*) 屬、棒狀桿菌 (*Corynebacterium*) 屬，或芽孢桿 (*Bacillus*) 菌屬的微生物菌株，具體而言，該宿主細胞或微生物可為枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)、地衣芽孢桿菌 (*Bacillus licheniformis*)、芽孢枯草桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)、維爾茲芽孢桿菌 (*Bacillus velezensis*)、大腸桿菌 (*Escherichia coli*)、谷氨酸棒桿菌 (*Corynebacterium glutamicum*) 或米麴菌 (*Aspergillus oryzae*) 之菌株，且更具體而言，該宿主細胞或微生物可為枯草桿菌之菌株，但不限於此。

【0106】 本發明之再另一態樣提供一種製備本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體的方法。

【0107】 本發明之製備該變異體的方法可包括培養包括本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體；編碼該變異體之一多核苷酸；或包括該多核苷酸之載體的一或多者之微生物的步驟。

【0108】 如此處所使用的，該用語「培養」表示該宿主細胞在適當調節之環境條件下生長。本發明之培養過程可使用本技術領域中已知之合適的培養基於適當的培養條件中進行。此培養過程可由所屬技術領域中具有通常知識者根據將被選擇之菌株而輕易調整使用。具體而言，該培養可為批次培養、連續培養，及進料-批次（fed-batch）培養，但不限於此。

【0109】 如此處所使用的，該用語「培養基（medium）」是指其中混合對於培養該宿主細胞所需的營養物質作為主要成分，且供應對於生存及生長為必須之包括水的營養物及生長因子的材料。具體而言，作為用於培養本發明之該宿主細胞的培養基及其他培養條件，任何培養基可在不特別受限的情形下使用，只要其為用於培養宿主細胞的傳統培養基，但本發明之該宿主細胞可於包含適當碳源、氮源、磷源、無機化合物、胺基酸及／或維生素及類似者的傳統培養基中，在有氧條件下，於控制溫度、pH及類似者之下培養。

【0110】 在一個實施例中，本發明之製備變異體的方法可進一步包括回收在該培養步驟中被表現之本發明的該變異體之步驟。

【0111】 在另一個實施例中，表現於該培養步驟中的該變異體可使用本發明所屬技術領域中已知的方法回收。舉例而言，該變異體可藉由傳統程序，包括但不限於，收集、離心、過濾、萃取、噴灑乾燥、蒸發或沉澱，而自營養培養基回收。

【0112】 回收方法可為藉由使用所屬技術領域中已知的適當方法、根據本發明之宿主細胞之培養方法收集變異體，例如，批次、連續或進料批次培養方法。舉例而言，離心、過濾、以結晶蛋白沉澱劑處理（鹽析法，salting-out method）、

萃取、音波震盪（sonication）、超過濾（ultrafiltration）、透析、各種類型之管柱層析，諸如分子篩管柱層析（膠體過濾）、吸附管柱層析、離子交換管柱層析，及親和力層析術、HPLC，及此等方法的組合可被使用，且變異體可自該培養基或宿主細胞藉由使用本領域中已知的合適方法回收。

【0113】 在另一實施例中，於培養步驟中由宿主細胞所表現之該變異體可不被回收。在該實施例中，本身表現該變異體的該宿主細胞可被用作該變異體的來源。

【0114】 本發明的再另一態樣提供一種飼料組成物，其包含本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體或表現該絲胺酸蛋白酶變異體的微生物之一或多者。

【0115】 被包括於本發明之該飼料組成物中的該絲胺酸蛋白酶變異體可以以下方式被包括於該飼料組成物中：本身表現該絲胺酸蛋白酶變異體的該微生物被包括於其中，或以自表現該絲胺酸蛋白酶變異體之微生物分離且被純化的形式，但不限制於此。

【0116】 此處所使用的用語「飼料組成物」是指供動物食用、攝取及消化或是適合供其使用的任何天然或人工膳食（diet）、粉料（meal）等，或是該粉料的組分，且該飼料可以本技術領域中已知的各種形式製備。

【0117】 該飼料組成物可為一飼料添加物。

【0118】 該飼料的種類並未被特別限制，且常用於本技術領域中的飼料可被使用。該飼料的非限制性實例可包括：蔬菜飼料，諸如穀物、根莖／水果、食物處理副產物、藻類、纖維、藥學副產物、油類及脂肪、澱粉、瓜果類及穀物副產物；及動物飼料，諸如蛋白質、無機材料、油類及脂肪、礦物質、單細胞蛋白質、動物骨骼，或食物。這些飼料可單獨使用或組合至少兩者使用。

【0119】 本發明之該飼料組成物可進一步包括選自於下列的一或多者：有機酸，諸如檸檬酸、反丁烯二酸（fumaric acid）、己二酸（adipic acid）、乳酸及蘋果酸（malic acid）；磷酸鹽，諸如磷酸鈉、磷酸鉀、酸式焦磷酸鹽（acid pyrophosphate）及多磷酸鹽（polyphosphate，聚合之磷酸鹽）；或天然抗氧化劑，諸如多酚（polyphenol）、兒茶素（catechin）、 α 生育酚（alpha-tocopherol）、迷迭香萃取物（rosemary extract）、維生素C、綠茶萃取物、甘草萃取物（licorice root extract）、幾丁聚醣（chitosan）、單寧酸（tannic acid）及植酸（phytic acid）。

【0120】 本發明之該飼料組成物可進一步包括選自於下列的一或多者：佐劑成分（adjuvant ingredients）諸如胺基酸、礦物質、維生素、抗生素、抗菌物質、抗氧化物、抗真菌酵素，及呈不同益生菌形式的微生物製劑；穀物，例如，粉化或壓碎的小麥、燕麥、大麥、玉米及稻米；包括油菜、豆類及向日葵作為主要成分的蔬菜蛋白質飼料；動物蛋白質飼料，例如血、肉、骨頭及魚類之粉末；糖及乳製品，例如，由各種種類的乾燥乳品及乳清粉所形成的乾燥組分；脂質，例如，諸如藉由任意加熱而液化的動物脂肪及植物油的主成分；及諸如營養補給品、消化及吸收促進劑、生長促進劑及預防用藥劑的添加劑。

【0121】 本發明之該飼料組成物可呈乾燥或液體製劑的形式，且可進一步包括用於飼料的賦形劑。該用於飼料的賦形劑可為例如沸石（zeolite）、玉米粉、米糠（rice bran）等，但不限制於此。

【0122】 除了該絲胺酸蛋白酶變異體，本發明之該飼料組成物可進一步包括酵素製劑。舉例而言，該飼料組成物可進一步包括選自於諸如脂酶（lipase）的脂質降解酵素、植酸酶（phytase，其將植物酸降解為磷酸鹽及酸肌醇）、澱粉酶（amylase，其是催化澱粉、肝糖等中所包括的 α -1,4-糖苷鍵之水解的酵素）、磷酸酶（phosphatase，其是催化有機磷酯之水解的酵素）、麥芽糖酶（maltase，

其催化麥芽糖轉化為兩個葡萄糖分子)，以及催化蔗糖水解成葡萄糖－果糖混合物的轉化酵素的一或多者。然而，該飼料組成物不限制於此。

【0123】 本發明之該飼料組成物可單獨施用於動物或是與其他包括於可食用載體中的飼料添加劑組合而施用於動物。另外，該飼料組成物可藉由直接混合於牲畜飼料中或與飼料分離而作為飼料添加劑或表面添加物（top dressing），或於分離的口服調配物中或與其他成分組合而易於投用。另外，每日劑量可採用由本發明所屬技術領域中一般所週知的一次性每日劑量或分別多次（multiple-divided）每日劑量。

【0124】 本發明之飼料組成物可施用的動物的實例可包括諸如肉牛（beef cattle）、奶牛（dairy cattle）、小牛（calves）、豬、小豬（piglets）、綿羊、山羊、馬、兔、犬及貓的家畜；以及諸如雛雞（chick）、母雞、人工飼養雞（domestic chicken）、公雞、鴨、鵝、火雞、鵪鶉（quails）及小型鳥類之家禽，但該動物不限於此。

【0125】 包括於本發明之飼料組成物中的該絲胺酸蛋白酶變異體的量未特別限制，且可根據其目的而適當調整。於一實施例中，如本發明所屬技術領域中一般所週知的，該絲胺酸蛋白酶變異體可被包括適當的量以降解蛋白質來源材料同時於家畜的消化道中存活長時間，但該絲胺酸蛋白酶變異體的量不限於此。

【0126】 本發明的再另一態樣提供包括本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體或表現該絲胺酸蛋白酶變異體的微生物之一或多者的食物組成物。該絲胺酸蛋白酶可被用於液態或固體食物組成物中。另外，該食物可為粉末、丸劑（pills）、飲品、茶，或用於一般食物的添加劑。

【0127】於一實施例中，該食物可為需要蛋白酶的食物之群組，諸如乳製品、用於改善腸胃蠕動及減重的健康機能食品，及用於預防高血壓的健康機能食品。

【0128】於另一實施例中，該絲胺酸蛋白酶變異體可作為食物溶解劑(food solubilizer)、食品軟化劑(food softening agent)及肉類修飾劑(meat modifier)而被包括於各種食物組成物中。於各種其他實施例中，該絲胺酸蛋白酶變異體可以在一步驟中被添加至烘焙混合物以進行麩質網路的裂解。或者是，該絲胺酸蛋白酶變異體可被用於催化食物蛋白質(例如奶類蛋白質)的水解。或者是，該絲胺酸蛋白酶變異體可被包括於各種食物組成物中，以達到熬油(rendering)、製備調味劑、降低苦味、改變乳化特性、製造生物活性胜肽、降低蛋白質中導致過敏源之抗原的目的。然而，此僅為例示性的實施例，而該絲胺酸蛋白酶變異體的使用途並不限於此。

【0129】本發明之該食物組成物中的該絲胺酸蛋白酶變異體的量可由所屬技術領域具有通常知識者根據其目的而適當地調整。

【0130】本發明的再另一態樣提供包括本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體或表現該絲胺酸蛋白酶變異體的微生物之一或多者的清潔劑組成物。

【0131】本發明之該清潔劑組成物可呈第一及第二水性清潔劑組成物、非水性液體清潔劑組成物、鑄造固體(cast solid)、顆粒(granules)、粒子(particles)、壓縮錠、膠體、糊劑或漿體的形式。該清潔劑組成物可被用於移除頑固的食物污漬、食物殘留膜，及其他小量的食物組成物。

【0132】根據本發明的清潔劑組成物可以用於清潔硬質表面的清潔劑組成物、用於清潔織物的清潔劑組成物、用於清洗碗盤的清潔劑組成物、用於清潔

口腔的清潔劑組成物、用於清潔假牙的清潔劑，或隱形眼鏡清潔溶液的形式被提供。然而，該清潔劑組成物不限制於此。

【0133】 本發明的再另一態樣提供包括本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體或表現該絲胺酸蛋白酶變異體之微生物之一或多者的藥學組成物。

【0134】 本發明之該藥學組成物可使用作為用於改良消化疾病（digestive diseases）、消化失調（digestive disorder），及消化手術後之異常的消化酵素的藥學組成物、直接施用於血凝塊以溶解纖維蛋白（fibrin）的溶血栓或抗血栓組成物、作為活體內防禦系統以移除發炎物質或壞死組織的抗發炎藥，或在手術或創傷後減輕浮腫（edema）的抗發炎藥。

【0135】 根據使用方法或目的，該藥學組成物可進一步包括藥學或營養學可接受的載體（carrier）、賦形劑、稀釋劑、或輔助成分（accessory ingredient）。該載體、賦形劑或稀釋劑可包括選自於由下列所組成之群組的一或多者：乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露醇、木糖醇、赤蘚醇（erythritol）、麥芽糖醇、澱粉、阿拉伯膠、藻酸鹽、明膠、磷酸鈣、矽酸鈣、纖維素、甲基纖維素、微晶纖維素、聚乙烯吡咯烷酮、水、羥基苯甲酸甲酯、羥基丙基丙酯苯甲酸酯、滑石、硬脂酸鎂、礦物油、糊精、碳酸鈣、丙二醇、液體石蠟，及生理食鹽水，但不限於此。

【0136】 除了上述用途，本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體或表現該絲胺酸蛋白酶變異體之微生物亦可被用於製造化妝品、處理皮革、製備藥品、製備診斷製劑（diagnostic agents）、管理廢棄物，及製備學術研究用化學品的用途。然而，該等用途是被例示性地敘述且該絲胺酸蛋白酶變異體亦可被用於使變性

(denaturing)、降解(degrading)或移除本領域中已知的蛋白質物質(proteinaceous substances)之任何其他用途。

實例

【0137】 此後，本發明將參照下列實例及實驗例而被更詳細地敘述。然而，這些實例及實驗例僅用於例示目的而非意欲限制本發明之範圍。

實例1. 衍生自嗜高溫放線菌的絲胺酸蛋白酶變異體的選擇

【0138】 實例1-1：製備衍生自嗜高溫放線菌的絲胺酸蛋白酶庫（Serine Protease Library）

【0139】 隨機突變藉由易誤PCR（error-prone PCR）被導入編碼一對應於衍生自嗜高溫放線菌的絲胺酸蛋白酶的一成熟區段之胺基酸（SEQ ID NO: 31）的基因。該易誤PCR是使用Diversify™ PCR隨機突變套組（Diversify™ PCR Random Mutagenesis Kit，Clontech, Cat No. 630703）而進行，且該PCR條件是描述於以下表1中。被確認的是該突變是在下述條件下以6.2突變/kb的頻率被導入。

[表1]

組成	量	備註
模板DNA	0.5 ng	SEQ ID NO: 1
引子_前置	5 μM	SEQ ID NO: 11

引子_反置	5 μM	SEQ ID NO: 12
10X 鈦Taq緩衝劑	5 μL	
MnSO ₄	640 μM	
dGTP	40 μM	
50X Diversify dNTP mix	1 μL	
50X dNTP mix	1 μL	
鈦 Taq 聚合酶	1 μL	
總量	50 μL	以DW調整至50 μL
PCR條件		
I. 94°C	30 sec	重複II及III 50個循環
II. 94°C	30 sec	
III. 68°C	1 min	
IV. 68°C	1 min	
V. 4°C	∞	

【0140】 於該過程中所獲得的PCR片段使用In-FusionR HD複製套組（In-FusionR HD cloning kit，Clonetech）而接合（ligated）至使用顯示於下表2中的引子所擴增的載體，並轉化成DH5α細胞以獲得菌落。所獲得之菌落中的質體被純化以獲得尺寸約5 × 10⁴的蛋白酶庫。

[表2]

模板 DNA (pBE-S-TAP)	SEQ ID NO: 1
引子_前置	SEQ ID NO: 13

引子_反置	SEQ ID NO: 14
-------	---------------

實例1-2：篩分衍生自嗜高溫放線菌的絲胺酸蛋白酶庫

【0141】 容易釋放蛋白質的枯草桿菌（*Bacillus subtilis*）LB700菌株以實例1-1中所製備的該蛋白酶庫轉化並被篩分（screened）。該篩分過程是藉由兩階段方法進行。在第一階段中，以該蛋白酶庫轉化的枯草桿菌菌株被放置於2%脫脂乳盤上，且所欲的菌落是基於所形成之暈圈尺寸（halo size）而被選擇。枯草桿菌的轉化是根據格羅寧根法（Groningen method）進行，而用於篩分過程的脫脂乳盤的組成顯示於下表3中。

[表3]

組成	量	備註
M9 最小限度鹽類	11.28 g	BD, Cat. No. 248510
洋菜	20 g	
脫脂乳	20 g	BD, Cat. No. 232100
50%葡萄糖	20 g	
1 M MgSO ₄	2 mM	
1 M CaCl ₂	0.1 mM	
康黴素	50 µg/mL	

（每1升（per 1L））

【0142】第二階段是關於藉由偶氮酪蛋白顯色法（azocasein color development）再次選擇（re-selecting）在第一階段已被選擇之菌落的方法。包含康黴素抗生素（kanamycin antibiotic）的腦心浸液（BHI, bd, Cat. No. 53286）液體培養基被置於96孔深孔盤（96-deep-well plate），且於第一階段中被選擇的該等菌落被接種於其中，接著在37°C下培養20至24小時。在培養後，包括一酵素的上澄液藉由離心而獲得，且該上澄液是與等量的2%(w/v)偶氮酪蛋白混合作為基材，接著在37°C下反應1小時。該反應藉由添加3倍體積（3-fold volume）的10%三氯乙酸（TCA，trichloro acetic acid）至酵素反應溶液而終止，且凝固之蛋白質藉由離心移除。該顯色反應藉由將所得產物與等量的NaOH混合而進行，且接著吸收度於440 nm下量測以比較顯色程度。經由此方法，與該野生種絲胺酸蛋白酶相比具有150%或更高的吸收增加之菌落被選擇。

實例2. 經選擇之變異體之製備及活性評估

實例2-1：變異體之製備

【0143】基於分析由篩分而選擇之變異體序列的結果，經確認的是SEQ ID NO: 31之第12個胺基酸（苯丙胺酸，Phe）及第116個胺基酸（天門冬胺酸，Asn）是分別以酪胺酸（Tyr）及天門冬胺酸鹽（Asp）取代。於圖1中，突變的位置基於敘述於SEQ ID NO: 2之胺基酸序列被指出。在兩個被選擇之變異體（F12及N116）藉由基因定位突變（site directed mutagenesis）而以單突變的形式被再次

導入pBE-S-TAP質體中後，具有雙突變及單突變的菌株的活性分別與該野生種菌株的活性進行比較。用於製備變異體的引子如下表4所示。

[表4]

TAP_F12Y_F	SEQ ID NO: 15
TAP_F12Y_R	SEQ ID NO: 16
TAP_N116D_F	SEQ ID NO: 17
TAP_N116D_R	SEQ ID NO: 18

實例2-2：活性評估

【0144】 在枯草桿菌LB700菌株以經製備的質體轉化後，該轉化體的活性評估使用*N*-succinyl-Ala-Ala-Pro-Phe-*p*-硝基苯胺胜肽（Sigma, Cat. No. S7388，此後稱為 Suc-AAPF-pNA）作為基材而進行。該經轉化的枯草桿菌菌株被接種至包含康黴素抗生素的腦心浸液（BHI, bd, Cat. No. 53286）液體培養基中並於37°C下培養20至24小時，且該培養溶液的一部分（細胞除外）與25 mM Tris-HCL（pH 7.5）緩衝劑及1 mM Suc-AAPF-pNA混合，接著在37°C下反應30分鐘。該反應溶液的吸收率於410 nm下量測。已知於文獻中的由一酵素產生的4-硝基苯胺之消光係數在410 nm下為8,800M⁻¹ cm⁻¹，且該酵素的單位(unit)是基於此計算（Barrett, A. J., Cathepsin G. *Methods Enzymol.*, 80, Pt. C, 561-565, (1981)）。經量測之活性顯示於表5中。

[表5]

	酵素活性（單位 /mL）
野生種	16.3
F12Y	34.0
F12YN116D	63.8

【0145】 基於量測結果，經確認的是與野生種的活性相比，F12Y及F12YN116D變異體的活性在pH 7.5及37°C的條件下分別增加約2.1及3.9倍。

實例2-3：熱穩定性評估

【0146】 以下敘述的實驗被進行以確認導入變異體對於熱穩定性的影響。

【0147】 具體而言，用於實例2-2中以供活性評估的相同樣品之酵素活性在將該等樣品於室溫下、70°C下、80°C下及90°C下放置5分鐘後分別量測。經量測之活性顯示於表6中。

[表6]

	酵素活性（單位/mL）			
熱處理條件	RT, 5 min	70°C, 5 min	80°C, 5 min	90°C, 5 min
野生種	16.3	15.9	10.6	0.3
F12Y	34.0	34.7	22.8	0.1
F12YN116D	63.8	63.3	41.7	0.1

【0148】 基於量測結果，經確認的是即使在80°C下，與野生種的活性相比F12Y及F12YN116D變異體分別維持高約2倍及4倍的酵素活性。通過此，經確認的是本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體的高活性即使在高溫下亦被維持，且因此該絲胺酸蛋白酶變異體可被有效地用於產業中。

實例3. 飽和突變庫（Saturation Mutagenesis Library）的製備及選擇

實例3-1. F12及N116殘基之飽和突變庫的製備

【0149】 為了確認以酪胺酸及天門冬胺酸鹽之外的殘基取代該等殘基F12及N116（即，先前選擇的變異體）對於其活性的影響，飽和突變庫是針對該兩種殘基製備。

【0150】 兩個PCR片段分別使用pBE-S-TAP質體作為模板以及使用SEQ ID NOS: 11及12，以及SEQ ID NOS: 13及14的引子對而獲得。該等片段使用該In-Fusion HD複製套組被接合，且接著轉化成DH5α細胞，藉此獲得菌落。在所獲得之菌落中的該等質體被純化以獲得具有尺寸為約4 × 10³的飽和突變庫。

[表7]

模板 DNA (pBE-S-TAP)	SEQ ID NO: 1
飽和突變_F_1	SEQ ID NO: 19
飽和突變_R_1	SEQ ID NO: 20

飽和突變_F_2	SEQ ID NO: 21
飽和突變_R_2	SEQ ID NO: 22

實例3-2：飽和突變庫的篩分及活性評估

【0151】 實例3-1中製備的飽和突變庫受到實例1-2中相同方式的篩分。具有相較於該F12YN116D變異體為相同或增加之活性的變異體藉由篩分被選擇，且藉由使用Suc-AAPF-pNA作為基材而對此等變異體進行序列分析及活性評估。

[表8]

	酵素活性（單位/mL）
野生種	23.52
F12YN116D	65
F12YN116S	77.35
F12SN116D	61.75
F12SN116T	117.65
F12AN116G	94.9
F12A	94.25
F12R	58.5

【0152】 結果，發現F12及N116變異體即使在其等的殘基以除了實例2中所確認之酪胺酸及天門冬胺酸鹽之外的其它胺基酸，諸如F12S、F12A、F12R、N116S、N116T、N116G取代時，其等的活性仍增加。

實例3-3. F12S變異體之製備及活性評估

【0153】 在變異體（F12S）被以單一突變形式，藉由位置導向突變而再次導入至pBE-S-TAP質體中後，該變異體的活性與該野生種的活性進行比較。

【0154】 活性評估使用Suc-AAPF-pNA作為基板於該變異體（F12S）上進行。

[表9]

	酵素活性（單位/mL）
野生種	23.0
F12S	34.5

【0155】 基於量測結果，經確認的是F12S變異體的活性被增加約1.5倍。

實例4. 衍生自嗜高溫放線菌之類絲胺酸蛋白酶蛋白質之殘基12及116之影響的確認

實例4-1：野生種及變異體的製備

【0156】 為了檢驗對應於SEQ ID NO: 31之12及116的胺基酸殘基是否影響具有與SEQ ID NO: 31之間序列同源性的其他絲胺酸蛋白酶之活性增加，分別具

有87.2%、81.8%、81.3%、73.8%、69.9%，及66.7%之序列同源性的絲胺酸蛋白酶之殘基12及116以酪胺酸（Y）及天門冬胺酸（D）取代，且接著該等絲胺酸蛋白酶的活性係與野生種之活性比較。各絲胺酸蛋白酶之基原及序列資訊顯示於表10。

[表10]

基原	SEQ ID NO:	與 SEQ ID NO: 31 之間的同源性（%）	與 SEQ ID NO: 54 之間的同源性（%）
嗜高溫放線菌	SEQ ID NO: 31	-	66.7
嗜高溫雙岐菌	SEQ ID NO: 49	87.2	65.1
哈氏嗜高溫放線菌（ <i>Thermobifida halotolerans</i> ）	SEQ ID NO: 50	81.8	61.3
內生放線菌（ <i>Actinorugispora endophytica</i> ）	SEQ ID NO: 51	81.3	64
耐鹼刺放線孢菌（ <i>Spinactinospora alkalitolerans</i> ）	SEQ ID NO: 52	73.8	75.4

孔氏擬諾卡氏菌 (<i>Nocardiosis composta</i>)	SEQ ID NO: 53	69.9	86.6
蒲氏擬諾卡氏菌 (<i>Nocardiosis potens</i>)	SEQ ID NO: 54	66.7	-

【0157】 個別之絲胺酸蛋白酶之殘基12及116被以酪胺酸（Y）及天門冬胺酸（D）取代以製備SEQ ID NOS: 55至66之變異體。

實例4-2：活性評估

【0158】 經製備之質體被轉化並表現於枯草桿菌（*Bacillus subtilis*）LB700 菌株中，且接著活性之評估藉由以與實例2-2中所提及之活性量測方法相同的方法進行。經量測之活性顯示於表11中。

[表11]

基原	變異體	活性（U/mL）
嗜高溫雙岐菌	WT	13.6
	F12Y	16.3
	F12YN116D	29.1
哈氏嗜高溫放線菌 (<i>Thermobifida halotolerans</i>)	WT	4.0
	F12Y	6.3
内生放線菌 (<i>Actinorugispora endophytica</i>)	WT	10.4
	F12Y	14.0

耐鹼刺放線孢菌 (<i>Spinactinospora alkalitolerans</i>)	WT	2.0
	P12Y	2.6
孔氏擬諾卡氏菌 (<i>Nocardiopsis composta</i>)	WT	12.1
	P12Y	26.5
蒲氏擬諾卡氏菌 (<i>Nocardiopsis potens</i>)	WT	33.1
	P12Y	86.3

【0159】 基於量測結果，經確認的是，如同於衍生自嗜高溫放線菌之絲胺酸蛋白酶，當突變被導入至殘基12時，具有與衍生自嗜高溫放線菌之絲胺酸蛋白酶之間序列同源性的六種蛋白質之活性亦增加。

【0160】 基於該些事實，已確認的是殘基12及116對於表現絲胺酸蛋白酶之酵素活性為重要的殘基，且如同由SEQ ID NO: 31所證實的，該酵素活性可藉由以其他胺基酸取代這些殘基而增強。於是，展現增加之酵素活性的本發明之該絲胺酸蛋白酶變異體可被有效地用於產業中。

【0161】 基於前述內容，本發明所屬技術領域具有通常知識者將了解本發明可在不修改本發明之技術概念或是必要特徵之下以其他具體形式實施。因此，應理解的是上述實施例在所有方面是說明性而非限制性的。本發明的範圍由所附之申請專利範圍而不是由前述說明所界定，且所有落於申請專利範圍之範圍內或與此範圍均等的改變與修飾因此意欲由申請專利範圍所涵蓋。

【符號說明】

(無)

【序列表】

- <110> CJ第一製糖股份有限公司 (CJ CheilJedang Corporation)
- <120> 新穎絲胺酸蛋白酶變異體
- <130> KPA210177-KR
- <140> TW 111108938
- <141> 2022-03-11
- <150> KR 10-2021-0032885
- <151> 2021-03-12
- <160> 72
- <170> KoPatentIn 3.0
- <210> 1
- <211> 6922
- <212> DNA
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> pBE-S-TFP

<400> 1

actagtgttc ttttctgtat gaaaatagtt atttcgagtc tctacggaaa tagcgagaga 60

tgatataacct aaatagagat aaaatcatct caaaaaaatg ggtctactaa aatattattc 120

catctattac aataaattca cagaatagtc ttttaagtaa gtctactctg aacttaagca 180

aaaggagagg gacgcgtgtg agaagcaaaa aattgtggat cagcttggtg ttgcggttaa 240

cgtaaatctt tacgatggcg ttcagcaaca tgtctgcgca ggctgcggcc ggtgcacata 300

tgcaagagct ggcgttgaaa cgggacctcg gcctctctga cgcagaagta gccgaactcc 360

gggctgctga ggcggaagcg gtcgagctcg aggaggagct ccgcgattca ttagggtcag 420

acttcggcgg tgtatatctg gatgctgaca ccaccgaaat tacggtcgcg gtaaccgacc 480

cggcagcggg aagtcgtgtc gacgcggatg atgtcacagt tgatgttgtc gatttcgggg 540

aaacagcttt gaatgatttt gtggcttcat taaatgccat tgccgacacg gcagacccta 600

aagtcactgg atggtatacc gatctcgaaa gtgatgccgt agtcattacg acctgcgtg 660

gcgggactcc tgctgccgag gaacttgctg agagagcggg tctcgacgaa agagccgttc 720

ggattgtgga agaagatgaa gaaccacaga gcttggctgc aattattggt ggaaaccgt 780

actatttcgg aaattacaga tgcagtatcg ggtttagtgt ccgtcagggc tctcaaacgg 840

gattcgcgac cgcaggccac tgcggatcca cggggacgcg tgtgtcttct ccttcaggaa	900
cagttgcagg aagttatttc ccgggtcgcg atatgggctg ggtgcggatt acatcagcag	960
atactgtaac accactcgta aatcgggtata atgggggaac tgttacggtc actgggtcac	1020
aagaagctgc caccggatcc tccgtttgtc gctctggagc aacaacgggc tggcgctgcg	1080
gaactatcca atcaaaaaac caaacggttc gctatgcaga agggactgtt actggtttaa	1140
caagaactac agcctgtgct gaaggtgggg attctggagg gccatggctc acaggtagcc	1200
aggcgcaagg ggttacaagc ggcggaacag gcgattgcag aagtggaggg attacctttt	1260
tccaaccaat caatccattg cttagctatt tcggccttca attagtgacc ggctgaaagc	1320
ttgtcgacct gcagctaga catcaccatc atcaccacta atgcggtagt ttatcacagt	1380
taaattgcta acgcagtcag gcaccgtgta tgaaatctaa caatgcgctc atcgtcatcc	1440
tcggcacctg caccctggat gctgtaggca taggcttggg tatgccggtc ctgccgggcc	1500
tatttcactt tttgcattct acaaactgca taactattat gtaaatecgt cttttttagg	1560
tggcacaaat gtgaggcatt ttcgctcttt ccggcaacca ctccaagta aagtataaca	1620
cactatactt tatattcata aagtgtgtgc tctgcgaggc tctcggcagt gccgaccaa	1680
accataaaac cttaagacc tttctttttt ttacgagaaa aaagaaacaa aaaaacctgc	1740
cctctgccac ctacagcaaag gggggttttg ctctcgtgct cgtttaaaaa tcagcaaggg	1800
acaggtagta ttttttgaga agatcactca aaaaatctcc acctttaaac ctttgccaat	1860
ttttattttg tccgttttgt ctagcttacc gaaagccaga ctacagcaaga ataaaatttt	1920
tattgtcttt cggttttcta gtgtaacgga caaaaccact caaaataaaa aagatacaag	1980
agaggtctct cgtatctttt attcagcaat cgcgcccgat tgctgaacag attaataata	2040
gattttagct ttttatttgt tgaaaaaagc taatcaaatt gttgtcggga tcaattactg	2100
caaagtctcg ttcattccac cactgatctt ttaatgatgt attgggggtgc aaaatgcccc	2160
aaggcttaat atgttgatat aattcatcaa tccccctac ttcaatgcgg caactagcag	2220
taccagcaat aaacgactcc gcacctgtac aaaccggtga atcattacta cgagagcgcc	2280
agccttcate acttgccctc catagatgaa tccgaacctc attacacatt agaactgcga	2340
atccatcttc atgggtgaacc aaagtgaaac ctagttttatc gcaataaaaa cctatactct	2400
ttttaatatc cccgactggc aatgccggga tagactgtaa cattctcacg cataaaatcc	2460
cctttcattt tctaattgtaa atctattacc ttattattaa ttcaattcgc tcataattaa	2520
tcctttttct tattacgcaa aatggccccg ttttaagcaca ccctttattc cgttaatgcg	2580

ccatgacagc catgataatt actaatacta ggagaagtta ataaatacga gcaaaaggcc	2640
agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc gtttttccat aggcctccgc	2700
cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac	2760
tataaagata ccaggcgttt ccccttgga gctccctcgt gcgctctcct gttccgaccc	2820
tgccgcttac cggatacctg tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata	2880
gctcacgctg taggtatctc agttcggtgt aggtcggtcg ctccaagctg ggctgtgtgc	2940
acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg ctttatccgg taactatcgt cttgagtcca	3000
acccggtaag acacgactta tgcacctgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag	3060
cgaggtatgt aggcggtgct acagagttct tgaagtgggt gcctaactac ggctacacta	3120
gaagaacagt atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg	3180
gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc	3240
agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt	3300
ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt aagggaatctt ggtcatgaga ttatcaaaaa	3360
ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagtct taaatcaatc taaagtatat	3420
atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga	3480
tctgtctatt tcgttcatcc atagtgcct gactccccgt cgtgtagata actacgatac	3540
gggagggctt accatctggc cccagtgcgt caatgatacc gcgagacca cgctcaccgg	3600
ctccagattt atcagcaata aaccagccag ccggaagggc cgagcgaga agtggtcctg	3660
caactttatc cgctccatc cagtctatta attgttgccg ggaagctaga gtaagtagtt	3720
cgccagttaa tagtttgcgc aacgttggtt ccattgctac aggcacgtg gtgtcacgct	3780
cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg gtcccaacg atcaaggcga gttacatgat	3840
ccccatgtt gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcgggtc tccgatcgtt gtcagaagta	3900
agttggccgc agtggtatca ctcatggta tggcagcact gcataattct cttactgtca	3960
tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat	4020
agtgatgctg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat acgggataat accgcgccac	4080
atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa	4140
ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac tcgtgcaccc aactgatctt	4200
cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg caaatgccg	4260
caaaaaaggg aataagggcg acacggaaat gttgaatact catactcttc ctttttcaat	4320

attattgaag catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt	4380
agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca catttccccg aaaagtgccca cctgacgtct	4440
aagaaaccat tatttatcatg acattaacct ataaaaatag gcgtatcacg aggccctttc	4500
gtctcgcgcg tttcgggtgat gacggtgaaa acctctgaca gtaaccaaca tgatttaacaa	4560
ttatttagagg tcatcgttca aaatgggtatg cgttttgaca catccactat atatccgtgt	4620
cgttctgtcc actcctgaat cccattccag aaattctcta gcgattccag aagttttctca	4680
gagtcggaaa gttgaccaga cattacgaac tggcacagat ggtcataacc tgaaggaaga	4740
tctgattgct taactgcttc agttaagacc gaagcgcctg tcgtataaca gatgcgatga	4800
tgcagaccaa tcaacatggc acctgccatt gctacctgta cagtcaagga tggtagaaat	4860
gttgtcggtc cttgcacacg aatattacgc catttgcttg catattcaaa cagctcttct	4920
acgataaggg cacaaatcgc atcgtggaac gtttgggcctt ctaccgattt agcagtttga	4980
tacactttct ctaagtatcc acctgaatca taaatcggca aaatagagaa aaattgacca	5040
tgtgtaagcg gccaatctga ttccacctga gatgcataat ctagtagaat ctcttcgcta	5100
tcaaaattca ctccacctt ccactcaccg gttgtccatt catggctgaa ctctgcttcc	5160
tctgttgaca tgacacacat catctcaata tccgaatagg gcccatcagt ctgacgacca	5220
agagagccat aaacaccaat agccttaaca tcatcccat atttatccaa tattcgttcc	5280
ttaatttcat gaacaatctt cattctttct tctctagtca ttattattgg tccattcact	5340
attctcattc cttttcaga taattttaga ttgtctttc taaataagaa tatttggaga	5400
gcaccgttct tattcagcta ttaataactc gtcttcctaa gcattcctca atccttttaa	5460
taacaattat agcatctaatt ctccaacaaa ctggcccgtt tgttgaacta ctctttaata	5520
aaataatttt tccgttccca attccacatt gcaataatag aaaatccatc ttcatcggt	5580
ttttcgtcat catctgtatg aatcaaatcg cttcttctg tgtcatcaag gtttaatttt	5640
ttatgtattt cttttaacaa accaccatag gagattaaacc ttttacggtg taaaccttcc	5700
tccaaatcag acaaacgttt caaatcttt tcttcatcat cggtcataaa atccgtatcc	5760
tttacaggat attttgcagt ttctgtcaatt gccgattgta tatccgattt atatttattt	5820
ttcggtcgaa tcatttgaac ttttacattt ggatcatagt ctaatttcat tgccttttcc	5880
caaaattgaa tccattgttt ttgattcacg tagttttctg tattcttaaa ataagttggt	5940
tccacacata ccaatacatg catgtgctga ttataagaat tatctttatt atttattgtc	6000
acttccgttg cacgcataaa accaacaaga tttttattaa tttttttata ttgcatcatt	6060

cggcgaaatc cttgagccat atctgacaaa ctcttattta attcttcgcc atcataaaca 6120
ttttaactg ttaatgtgag aaacaaccaa cgaactgttg gcttttgttt aataacttca 6180
gcaacaacct tttgtgactg aatgccatgt ttcattgctc tccctccagtt gcacattgga 6240
caaagcctgg atttacaaaa ccacactcga tacaactttc tttcgccctgt ttcacgattt 6300
tgttttatact ctaatatttc agcacaatct tttactcttt cagccttttt aaattcaaga 6360
atatgcagaa gticcaagta atcaacatta gcgattttct tttctctcca tggctctact 6420
tttccacttt ttgtcttgtc cactaaaacc cttgattttt catctgaata aatgctacta 6480
ttaggacaca taatatataa agaaaccccc atctatttag ttatttgttt agtcacttat 6540
aactttaaca gatggggttt ttctgtgcaa ccaatttttaa gggttttcaa tactttaaaa 6600
cacatacata ccaacacttc aacgcacctt tcagcaacta aaataaaaaat gacgttattt 6660
ctatatgtat caagataaga aagaacaagt tcaaaaccat caaaaaaaga caccttttca 6720
ggtgcttttt ttattttata aactcattcc ctgatctcga cttcgttctt tttttacctc 6780
tcggttatga gttagttaa attcgttctt tttaggttct aaatcgtgtt tttcttgga 6840
ttgtgctgtt ttatccttta ccttgtctac aaacccctta aaaacgtttt taaaggcttt 6900
taagccgtct gtacgttctt aa 6922

<210> 2
<211> 338
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 嗜高溫放線菌 (Thermobifida fusca)

<400> 2
Met Gln Glu Leu Ala Leu Lys Arg Asp Leu Gly Leu Ser Asp Ala Glu
1 5 10 15
Val Ala Glu Leu Arg Ala Ala Glu Ala Glu Ala Val Glu Leu Glu Glu
20 25 30
Glu Leu Arg Asp Ser Leu Gly Ser Asp Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp
35 40 45
Ala Asp Thr Thr Glu Ile Thr Val Ala Val Thr Asp Pro Ala Ala Val
50 55 60
Ser Arg Val Asp Ala Asp Asp Val Thr Val Asp Val Val Asp Phe Gly
65 70 75 80
Glu Thr Ala Leu Asn Asp Phe Val Ala Ser Leu Asn Ala Ile Ala Asp
85 90 95

Thr Ala Asp Pro Lys Val Thr Gly Trp Tyr Thr Asp Leu Glu Ser Asp
100 105 110

Ala Val Val Ile Thr Thr Leu Arg Gly Gly Thr Pro Ala Ala Glu Glu
115 120 125

Leu Ala Glu Arg Ala Gly Leu Asp Glu Arg Ala Val Arg Ile Val Glu
130 135 140

Glu Asp Glu Glu Pro Gln Ser Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro
145 150 155 160

Tyr Tyr Phe Gly Asn Tyr Arg Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln
165 170 175

Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly
180 185 190

Thr Arg Val Ser Ser Pro Ser Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro
195 200 205

Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr
210 215 220

Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser
225 230 235 240

Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr
245 250 255

Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile Gln Ser Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr
260 265 270

Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu
275 280 285

Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly
290 295 300

Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe
305 310 315 320

Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val
325 330 335

Thr Gly

<210> 3
<211> 338
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌 (F163Y)

<400> 3
Met Gln Glu Leu Ala Leu Lys Arg Asp Leu Gly Leu Ser Asp Ala Glu
1 5 10 15
Val Ala Glu Leu Arg Ala Ala Glu Ala Glu Ala Val Glu Leu Glu Glu
20 25 30
Glu Leu Arg Asp Ser Leu Gly Ser Asp Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp
35 40 45
Ala Asp Thr Thr Glu Ile Thr Val Ala Val Thr Asp Pro Ala Ala Val
50 55 60
Ser Arg Val Asp Ala Asp Asp Val Thr Val Asp Val Val Asp Phe Gly
65 70 75 80
Glu Thr Ala Leu Asn Asp Phe Val Ala Ser Leu Asn Ala Ile Ala Asp
85 90 95
Thr Ala Asp Pro Lys Val Thr Gly Trp Tyr Thr Asp Leu Glu Ser Asp
100 105 110
Ala Val Val Ile Thr Thr Leu Arg Gly Gly Thr Pro Ala Ala Glu Glu
115 120 125
Leu Ala Glu Arg Ala Gly Leu Asp Glu Arg Ala Val Arg Ile Val Glu
130 135 140
Glu Asp Glu Glu Pro Gln Ser Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro
145 150 155 160
Tyr Tyr Tyr Gly Asn Tyr Arg Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln
165 170 175
Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly
180 185 190
Thr Arg Val Ser Ser Pro Ser Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro
195 200 205
Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr
210 215 220
Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser
225 230 235 240
Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr
245 250 255
Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile Gln Ser Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr
260 265 270
Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu
275 280 285
Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly
290 295 300

Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe
305 310 315 320

Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val
325 330 335

Thr Gly

<210> 4
<211> 338
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌 (F163Y_N267D)

<400> 4
Met Gln Glu Leu Ala Leu Lys Arg Asp Leu Gly Leu Ser Asp Ala Glu
1 5 10 15

Val Ala Glu Leu Arg Ala Ala Glu Ala Glu Ala Val Glu Leu Glu Glu
20 25 30

Glu Leu Arg Asp Ser Leu Gly Ser Asp Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp
35 40 45

Ala Asp Thr Thr Glu Ile Thr Val Ala Val Thr Asp Pro Ala Ala Val
50 55 60

Ser Arg Val Asp Ala Asp Asp Val Thr Val Asp Val Val Asp Phe Gly
65 70 75 80

Glu Thr Ala Leu Asn Asp Phe Val Ala Ser Leu Asn Ala Ile Ala Asp
85 90 95

Thr Ala Asp Pro Lys Val Thr Gly Trp Tyr Thr Asp Leu Glu Ser Asp
100 105 110

Ala Val Val Ile Thr Thr Leu Arg Gly Gly Thr Pro Ala Ala Glu Glu
115 120 125

Leu Ala Glu Arg Ala Gly Leu Asp Glu Arg Ala Val Arg Ile Val Glu
130 135 140

Glu Asp Glu Glu Pro Gln Ser Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro
145 150 155 160

Tyr Tyr Tyr Gly Asn Tyr Arg Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln
165 170 175

Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly
180 185 190

Thr Arg Val Ser Ser Pro Ser Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro

195

200

205

Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr
210 215 220

Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser
225 230 235 240

Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr
245 250 255

Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile Gln Ser Lys Asp Gln Thr Val Arg Tyr
260 265 270

Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu
275 280 285

Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly
290 295 300

Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe
305 310 315 320

Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val
325 330 335

Thr Gly

<210> 5
<211> 338
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌 (F163Y_N267S)

<400> 5

Met Gln Glu Leu Ala Leu Lys Arg Asp Leu Gly Leu Ser Asp Ala Glu
1 5 10 15

Val Ala Glu Leu Arg Ala Ala Glu Ala Glu Ala Val Glu Leu Glu Glu
20 25 30

Glu Leu Arg Asp Ser Leu Gly Ser Asp Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp
35 40 45

Ala Asp Thr Thr Glu Ile Thr Val Ala Val Thr Asp Pro Ala Ala Val
50 55 60

Ser Arg Val Asp Ala Asp Asp Val Thr Val Asp Val Val Asp Phe Gly
65 70 75 80

Glu Thr Ala Leu Asn Asp Phe Val Ala Ser Leu Asn Ala Ile Ala Asp
85 90 95

Thr Ala Asp Pro Lys Val Thr Gly Trp Tyr Thr Asp Leu Glu Ser Asp
100 105 110

Ala Val Val Ile Thr Thr Leu Arg Gly Gly Thr Pro Ala Ala Glu Glu
115 120 125

Leu Ala Glu Arg Ala Gly Leu Asp Glu Arg Ala Val Arg Ile Val Glu
130 135 140

Glu Asp Glu Glu Pro Gln Ser Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro
145 150 155 160

Tyr Tyr Tyr Gly Asn Tyr Arg Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln
165 170 175

Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly
180 185 190

Thr Arg Val Ser Ser Pro Ser Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro
195 200 205

Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr
210 215 220

Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser
225 230 235 240

Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr
245 250 255

Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile Gln Ser Lys Ser Gln Thr Val Arg Tyr
260 265 270

Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu
275 280 285

Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly
290 295 300

Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe
305 310 315 320

Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val
325 330 335

Thr Gly

- <210> 6
- <211> 338
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 嗜高溫放線菌 (F163S_N267D)

<400> 6
Met Gln Glu Leu Ala Leu Lys Arg Asp Leu Gly Leu Ser Asp Ala Glu
1 5 10 15
Val Ala Glu Leu Arg Ala Ala Glu Ala Glu Ala Val Glu Leu Glu Glu
20 25 30
Glu Leu Arg Asp Ser Leu Gly Ser Asp Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp
35 40 45
Ala Asp Thr Thr Glu Ile Thr Val Ala Val Thr Asp Pro Ala Ala Val
50 55 60
Ser Arg Val Asp Ala Asp Asp Val Thr Val Asp Val Val Asp Phe Gly
65 70 75 80
Glu Thr Ala Leu Asn Asp Phe Val Ala Ser Leu Asn Ala Ile Ala Asp
85 90 95
Thr Ala Asp Pro Lys Val Thr Gly Trp Tyr Thr Asp Leu Glu Ser Asp
100 105 110
Ala Val Val Ile Thr Thr Leu Arg Gly Gly Thr Pro Ala Ala Glu Glu
115 120 125
Leu Ala Glu Arg Ala Gly Leu Asp Glu Arg Ala Val Arg Ile Val Glu
130 135 140
Glu Asp Glu Glu Pro Gln Ser Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro
145 150 155 160
Tyr Tyr Ser Gly Asn Tyr Arg Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln
165 170 175
Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly
180 185 190
Thr Arg Val Ser Ser Pro Ser Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro
195 200 205
Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr
210 215 220
Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser
225 230 235 240
Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr
245 250 255
Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile Gln Ser Lys Asp Gln Thr Val Arg Tyr
260 265 270
Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu
275 280 285
Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly
290 295 300

Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe
305 310 315 320

Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val
325 330 335

Thr Gly

<210> 7
<211> 338
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌 (F163S_N267T)

<400> 7
Met Gln Glu Leu Ala Leu Lys Arg Asp Leu Gly Leu Ser Asp Ala Glu
1 5 10 15
Val Ala Glu Leu Arg Ala Ala Glu Ala Glu Ala Val Glu Leu Glu Glu
20 25 30
Glu Leu Arg Asp Ser Leu Gly Ser Asp Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp
35 40 45
Ala Asp Thr Thr Glu Ile Thr Val Ala Val Thr Asp Pro Ala Ala Val
50 55 60
Ser Arg Val Asp Ala Asp Asp Val Thr Val Asp Val Val Asp Phe Gly
65 70 75 80
Glu Thr Ala Leu Asn Asp Phe Val Ala Ser Leu Asn Ala Ile Ala Asp
85 90 95
Thr Ala Asp Pro Lys Val Thr Gly Trp Tyr Thr Asp Leu Glu Ser Asp
100 105 110
Ala Val Val Ile Thr Thr Leu Arg Gly Gly Thr Pro Ala Ala Glu Glu
115 120 125
Leu Ala Glu Arg Ala Gly Leu Asp Glu Arg Ala Val Arg Ile Val Glu
130 135 140
Glu Asp Glu Glu Pro Gln Ser Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro
145 150 155 160
Tyr Tyr Ser Gly Asn Tyr Arg Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln
165 170 175
Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly
180 185 190
Thr Arg Val Ser Ser Pro Ser Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro
195 200 205

Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr
210 215 220

Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser
225 230 235 240

Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr
245 250 255

Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile Gln Ser Lys Thr Gln Thr Val Arg Tyr
260 265 270

Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu
275 280 285

Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly
290 295 300

Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe
305 310 315 320

Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val
325 330 335

Thr Gly

<210> 8
<211> 338
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌 (F163A_N267G)

<400> 8
Met Gln Glu Leu Ala Leu Lys Arg Asp Leu Gly Leu Ser Asp Ala Glu
1 5 10 15

Val Ala Glu Leu Arg Ala Ala Glu Ala Glu Ala Val Glu Leu Glu Glu
20 25 30

Glu Leu Arg Asp Ser Leu Gly Ser Asp Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp
35 40 45

Ala Asp Thr Thr Glu Ile Thr Val Ala Val Thr Asp Pro Ala Ala Val
50 55 60

Ser Arg Val Asp Ala Asp Asp Val Thr Val Asp Val Val Asp Phe Gly
65 70 75 80

Glu Thr Ala Leu Asn Asp Phe Val Ala Ser Leu Asn Ala Ile Ala Asp
85 90 95

Thr Ala Asp Pro Lys Val Thr Gly Trp Tyr Thr Asp Leu Glu Ser Asp

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

- <210>

9
- <211>

338
- <212>

PRT
- <213>

人工序列
- <220>
- <223>

嗜高溫放線菌 (F163A)
- <400>

9

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

305310315320

Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val

325330335

Thr Gly

<210>10

<211>338

<212>PRT

<213>人工序列

<220>

<223>嗜高溫放線菌 (F163R)

<400>10

Met Gln Glu Leu Ala Leu Lys Arg Asp Leu Gly Leu Ser Asp Ala Glu

15

Val Ala Glu Leu Arg Ala Ala Glu Ala Glu Ala Val Glu Leu Glu Glu

202530

Glu Leu Arg Asp Ser Leu Gly Ser Asp Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp

354045

Ala Asp Thr Thr Glu Ile Thr Val Ala Val Thr Asp Pro Ala Ala Val

505560

Ser Arg Val Asp Ala Asp Asp Val Thr Val Asp Val Val Asp Phe Gly

65707580

Glu Thr Ala Leu Asn Asp Phe Val Ala Ser Leu Asn Ala Ile Ala Asp

859095

Thr Ala Asp Pro Lys Val Thr Gly Trp Tyr Thr Asp Leu Glu Ser Asp

100105110

Ala Val Val Ile Thr Thr Leu Arg Gly Gly Thr Pro Ala Ala Glu Glu

115120125

Leu Ala Glu Arg Ala Gly Leu Asp Glu Arg Ala Val Arg Ile Val Glu

130135140

Glu Asp Glu Glu Pro Gln Ser Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro

145150155160

Tyr Tyr Arg Gly Asn Tyr Arg Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln

165170175

Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly

180185190

Thr Arg Val Ser Ser Pro Ser Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro

195200205

Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr
210 215 220

Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser
225 230 235 240

Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr
245 250 255

Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile Gln Ser Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr
260 265 270

Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu
275 280 285

Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly
290 295 300

Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe
305 310 315 320

Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val
325 330 335

Thr Gly

<210> 11
<211> 47
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> TAP_成熟區_F

<400> 11
aagaagatga agaaccacag agcttggctg caattattgg tggaaac 47

<210> 12
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> TAP_成熟區_R

<400> 12
gactgcaggt cgacaagctt tcagccggtc actaattgaa ggcc 44

<210> 13
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>		
<223>	pBE-S-載體-F	
<400>	13	
	aagcttgtcg acctgcagtc tag	23
<210>	14	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	pBE-S-載體-R	
<400>	14	
	ctgtggttct tcattcttctt ccac	24
<210>	15	
<211>	37	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	TAP_F12Y_F	
<400>	15	
	gtggaaaccg gtactattac ggaaattaca gatgcag	37
<210>	16	
<211>	37	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	TAP_F12Y_R	
<400>	16	
	ctgcatctgt aatttccgta atagtacggg tttccac	37
<210>	17	
<211>	38	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	TAP_N116D_F	
<400>	17	

ggaactatcc aatcaaaaaga ccaaacggtt cgctatgc

38

<210> 18
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> TAP_N116D_R

<400> 18
gcatagcgaa ccgtttggtc ttttgattgg atagttcc

38

<210> 19
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> Saturation mutagenesis_F_1

<400> 19
gtggaaaccg gtactatnnn ggaaattaca gatgcag

37

<210> 20
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> Saturation mutagenesis_R_1

<400> 20
gcatagcgaa ccgtttggnn ttttgattgg atagttcc

38

<210> 21
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> Saturation mutagenesis_F_2

<400> 21
ggaactatcc aatcaaaaann ncaaacggtt cgctatgc

38

<210> 22
<211> 37
<212> DNA

<213>	人工序列	
<220>		
<223>	Saturation mutagenesis_R_2	
<400>	22	
	ctgcatctgt aatttcnnn atagtacggg tttccac	37
<210>	23	
<211>	1017	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	嗜高溫放線菌 (F12Y)	
<400>	23	
	atgcaagagc tggcgttgaa acgggacctc ggcctctctg acgcagaagt agccgaactc	60
	cgggctgctg aggcggaagc ggtcgagctc gaggaggagc tccgcgattc attagggtca	120
	gacttcggcg gtgtatatct ggatgctgac accaccgaaa ttacggtcgc ggtaaccgac	180
	ccggcagcgg taagtcgtgt cgacgcggat gatgtcacag ttgatgttgt cgatttcggg	240
	gaaacagctt tgaatgattt tgtggcttca ttaaatgcca ttgccgacac ggcagacctt	300
	aaagtcactg gatggtatac cgatctcgaa agtgatgccg tagtcattac gaccttgcgt	360
	ggcgggactc ctgctgccga ggaacttgct gagagagcgg gtctcgacga aagagccgtt	420
	cggattgtgg aagaagatga agaaccacag agcttggctg caattattgg tggaaaccgc	480
	tactattacg gaaattacag atgcagtatc gggtttagtg tccgtcaggg ctctcaaacg	540
	ggattcgcga ccgcaggcca ctgcggatcc acggggacgc gtgtgtcttc tccttcagga	600
	acagttgcag gaagttatit cccgggtcgc gatatgggct gggtgcggat tacatcagca	660
	gatactgtaa caccactcgt aaatcggtat aatgggggaa ctgttacggt cactgggtca	720
	caagaagctg ccaccggatc ctccgtttgt cgctctggag caacaacggg ctggcgctgc	780
	ggaactatcc aatcaaaaaa ccaaacggtt cgctatgcag aagggactgt tactggttta	840
	acaagaacta cagcctgtgc tgaaggtggg gattctggag ggccatggct cacaggtagc	900
	caggcgcaag gggttacaag cggcggaaca ggcgattgca gaagtggagg gattaccttt	960
	ttccaaccaa tcaatccatt gcttagctat ttcggccttc aattagtac cggctga	1017
<210>	24	
<211>	1017	
<212>	DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 嗜高溫放線菌 (F163Y_N267D)

<400> 24

atgcaagagc tggcgttgaa acgggacctc ggcctctctg acgcagaagt agccgaactc	60
cgggctgctg aggcggaagc ggtcgagctc gaggaggagc tccgcgattc attaggggtca	120
gacttcggcg gtgtatatct ggatgctgac accaccgaaa ttacggtcgc ggtaaccgac	180
ccggcagcgg taagtcgtgt cgacgcggat gatgtcacag ttgatgttgt cgatttcggg	240
gaaacagctt tgaatgattt tgtggcttca ttaaatgcc a ttgccgacac ggcagaccct	300
aaagtcactg gatgggtatac cgatctcgaa agtgaatgcc tagtcattac gaccttgcgt	360
ggcgggactc ctgctgccga ggaacttgct gagagagcgg gtctcgacga aagagccgtt	420
cggattgtgg aagaagatga agaaccacag agcttggctg caattattgg tggaaacccg	480
tactattacg gaaattacag atgcagtatc gggtttagtg tccgtcaggg ctctcaaacg	540
ggattcgca ccgcaggcca ctgcggatcc acggggacgc gtgtgtcttc tccttcagga	600
acagttgcag gaagttatit cccgggtcgc gatatgggct ggggtgcggat tacatcagca	660
gatactgtaa caccactcgt aaatcggtat aatgggggaa ctgttacggt cactgggtca	720
caagaagctg ccaccggatc ctccgtttgt cgctctggag caacaacggg ctggcgctgc	780
ggaactatcc aatcaaaaga ccaaacgggt cgctatgcag aagggactgt tactggttta	840
acaagaacta cagcctgtgc tgaaggtggg gattctggag ggccatggct cacaggtagc	900
caggcgcaag gggttacaag cggcggaaca ggcgattgca gaagtggagg gattaccttt	960
ttccaaccaa tcaatccatt gcttagctat ttcggccttc aattagtgac cggctga	1017

<210> 25

<211> 1017

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 嗜高溫放線菌 (F163Y_N267S)

<400> 25

atgcaagagc tggcgttgaa acgggacctc ggcctctctg acgcagaagt agccgaactc	60
cgggctgctg aggcggaagc ggtcgagctc gaggaggagc tccgcgattc attaggggtca	120
gacttcggcg gtgtatatct ggatgctgac accaccgaaa ttacggtcgc ggtaaccgac	180

ccggcagcgg taagtcgtgt cgacgcggat gatgtcacag ttgatgttgt cgatttcggg 240
gaaacagctt tgaatgattt tgtggcttca ttaaatgcc a ttgccgacac ggcagaccct 300
aaagtcactg gatggtat ac cgatctcgaa agtgaatgcc tagtcattac gaccttgcgt 360
ggcgggactc ctgctgccga ggaacttgct gagagagcgg gtctcgacga aagagccgtt 420
cggattgttg aagaagatga agaaccacag agcttggctg caattattgg tggaaaccgc 480
tactattacg gaaattacag atgcagtatc gggtttagtg tccgtcaggg ctctcaaacg 540
ggattcgca ccgcaggcca ctgcggatcc acggggacgc gtgtgtcttc tccttcagga 600
acagttgcag gaagttattt cccgggtcgc gatatgggct ggggtgcggat tacatcagca 660
gatactgtaa caccactcgt aaatcggtat aatgggggaa ctgttacggg cactgggtca 720
caagaagctg ccaccggatc ctccgtttgt cgctctggag caacaacggg ctggcgctgc 780
ggaactatcc aatcaaaaag tcaaacgggt cgctatgcag aagggactgt tactggttta 840
acaagaacta cagcctgtgc tgaaggtggg gattctggag ggccatggct cacaggtagc 900
caggcgcaag gggttacaag cggcggaaca ggcgattgca gaagtggagg gattaccttt 960
ttccaaccaa tcaatccatt gcttagctat ttcggccttc aattagtac cggctga 1017

<210> 26
<211> 1017
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌 (F163S_N267D)

<400> 26
atgcaagagc tggcgttgaa acgggacctc ggcctctctg acgcagaagt agccgaactc 60
cgggctgctg aggcggaagc ggtcgagctc gaggaggagc tccgcgattc attagggtca 120
gacttcggcg gtgtatatct ggatgctgac accaccgaaa ttacggtcgc ggtaaccgac 180
ccggcagcgg taagtcgtgt cgacgcggat gatgtcacag ttgatgttgt cgatttcggg 240
gaaacagctt tgaatgattt tgtggcttca ttaaatgcc a ttgccgacac ggcagaccct 300
aaagtcactg gatggtat ac cgatctcgaa agtgaatgcc tagtcattac gaccttgcgt 360
ggcgggactc ctgctgccga ggaacttgct gagagagcgg gtctcgacga aagagccgtt 420
cggattgttg aagaagatga agaaccacag agcttggctg caattattgg tggaaaccgc 480
tactatagtg gaaattacag atgcagtatc gggtttagtg tccgtcaggg ctctcaaacg 540
ggattcgca ccgcaggcca ctgcggatcc acggggacgc gtgtgtcttc tccttcagga 600

acagttgcag gaagttatTT cccgggtcgc gatatgggct gggtgcggat tacatcagca 660
gatactgtaa caccactcgt aaatcggtat aatgggggaa ctgttacggt cactgggtca 720
caagaagctg ccaccggatc ctccgtttgt cgctctggag caacaacggg ctggcgctgc 780
ggaactatcc aatcaaaaga tcaaacggtt cgctatgcag aagggactgt tactggttta 840
acaagaacta cagcctgtgc tgaaggtggg gattctggag ggccatggct cacaggtagc 900
caggcgcaag gggttacaag cggcggaaca ggcgattgca gaagtggagg gattaccttt 960
ttccaaccaa tcaatccatt gcttagctat ttcggccttc aattagtgac cggctga 1017

<210> 27
<211> 1017
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌 (F163S_N267T)

<400> 27
atgcaagagc tggcgttgaa acgggacctc ggcctctctg acgcagaagt agccgaactc 60
cgggctgctg aggcggaagc ggtcgagctc gaggaggagc tccgcgattc attagggtca 120
gacttcggcg gtgtatatct ggatgctgac accaccgaaa ttacggtcgc ggtaaccgac 180
ccggcagcgg taagtcgtgt cgacgcggat gatgtcacag ttgatgttgt cgatttcggg 240
gaaacagctt tgaatgattt tgtggcttca ttaaatgcca ttgccgacac ggcagacctt 300
aaagtcactg gatggtatac cgatctcgaa agtgatgccg tagtcattac gaccttgcgt 360
ggcgggactc ctgctgccga ggaacttgct gagagagcgg gtctcgacga aagagccgtt 420
cggattgtgg aagaagatga agaaccacag agcttggctg caattattgg tggaaacccg 480
tactatagtg gaaattacag atgcagtatc gggtttagtg tccgtcaggg ctctcaaacg 540
ggattcgca ccgcaggcca ctgcggatcc acggggacgc gtgtgtcttc tccttcagga 600
acagttgcag gaagttatTT cccgggtcgc gatatgggct gggtgcggat tacatcagca 660
gatactgtaa caccactcgt aaatcggtat aatgggggaa ctgttacggt cactgggtca 720
caagaagctg ccaccggatc ctccgtttgt cgctctggag caacaacggg ctggcgctgc 780
ggaactatcc aatcaaaaac tcaaacggtt cgctatgcag aagggactgt tactggttta 840
acaagaacta cagcctgtgc tgaaggtggg gattctggag ggccatggct cacaggtagc 900
caggcgcaag gggttacaag cggcggaaca ggcgattgca gaagtggagg gattaccttt 960

ttccaaccaa tcaatccatt gcttagctat ttcggccttc aattagtgac cggctga 1017

<210> 28
<211> 1017
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌 (F163A_N267G)

<400> 28
atgcaagagc tggcgttgaa acgggacctc ggcctctctg acgcagaagt agccgaactc 60
cgggctgctg aggcggaagc ggtcgagctc gaggaggagc tccgcgattc attagggcca 120
gacttcggcg gtgtatatct ggatgctgac accaccgaaa ttacggtcgc ggtaaccgac 180
ccggcagcgg taagtcgtgt cgacgcggat gatgtcacag ttgatgttgt cgatttcggg 240
gaaacagctt tgaatgattt tgtggcttca ttaaatgcca ttgccgacac ggcagaccct 300
aaagtcactg gatgggtatac cgatctcgaa agtgaatgccg tagtcattac gaccttgcgt 360
ggcgggactc ctgctgccga ggaacttgct gagagagcgg gtctcgacga aagagccgtt 420
cggattgtgg aagaagatga agaaccacag agcttggctg caattattgg tggaaaccgg 480
tactatgctg gaaattacag atgcagtatc gggtttagtg tccgtcaggg ctctcaaacg 540
ggattcgca ccgcaggcca ctgcggatcc acggggacgc gtgtgtcttc tccttcagga 600
acagttgcag gaagttatit cccgggtcgc gatatgggct ggggtgcggat tacatcagca 660
gatactgtaa caccactcgt aaatcggtat aatgggggaa ctgttacggt cactgggtca 720
caagaagctg ccaccggatc ctccgtttgt cgctctggag caacaacggg ctggcgctgc 780
ggaactatcc aatcaaaagg tcaaacgggt cgctatgcag aagggactgt tactggttta 840
acaagaacta cagcctgtgc tgaaggtggg gattctggag ggccatggct cacaggtagc 900
caggcgcaag gggttacaag cggcggaaca ggcgattgca gaagtggagg gattaccttt 960
ttccaaccaa tcaatccatt gcttagctat ttcggccttc aattagtgac cggctga 1017

<210> 29
<211> 1017
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌 (F163A)

<400> 29

atgcaagagc tggcgttgaa acgggacctc ggcctctctg acgcagaagt agccgaactc 60
cgggctgctg aggcggaagc ggtcgagctc gaggaggagc tccgcgattc attaggggtca 120
gacttcggcg gtgtatatct ggatgctgac accaccgaaa ttacggtcgc ggtaaccgac 180
ccggcagcgg taagtcgtgt cgacgcggat gatgtcacag ttgatgttgt cgatttcggg 240
gaaacagctt tgaatgattt tgtggcttca ttaaatgcc a ttgccgacac ggcagaccct 300
aaagtcactg gatggtat ac cgatctcgaa agt gatgccg tagtcattac gaccttgcgt 360
ggcgggactc ctgctgccga ggaacttgct gagagagcgg gtctcgacga aagagccgtt 420
cggattgtgg aagaagatga agaaccacag agcttggctg caattattgg tggaaaccgc 480
tactatgctg gaaattacag atgcagtatc gggtttagtg tccgtcaggg ctctcaaacg 540
ggattcgca ccgcaggcca ctgcggatcc acggggacgc gtgtgtcttc tccttcagga 600
acagttgcag gaagttattt cccgggtcgc gatatgggct ggggtgcggat tacatcagca 660
gatactgtaa caccactcgt aaatcggtat aatgggggaa ctgttacggt cactgggtca 720
caagaagctg ccaccggatc ctccgtttgt cgctctggag caacaacggg ctggcgctgc 780
ggaactatcc aatcaaaaaa tcaaacgggt cgctatgcag aagggactgt tactggttta 840
acaagaacta cagcctgtgc tgaaggtggg gattctggag ggccatggct cacaggtagc 900
caggcgcaag gggttacaag cggcggaaca ggcgattgca gaagtggagg gattaccttt 960
ttccaaccaa tcaatccatt gcttagctat ttcggccttc aattagtgac cggctga 1017

<210> 30
<211> 1017
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌 (F163R)

<400> 30
atgcaagagc tggcgttgaa acgggacctc ggcctctctg acgcagaagt agccgaactc 60
cgggctgctg aggcggaagc ggtcgagctc gaggaggagc tccgcgattc attaggggtca 120
gacttcggcg gtgtatatct ggatgctgac accaccgaaa ttacggtcgc ggtaaccgac 180
ccggcagcgg taagtcgtgt cgacgcggat gatgtcacag ttgatgttgt cgatttcggg 240
gaaacagctt tgaatgattt tgtggcttca ttaaatgcc a ttgccgacac ggcagaccct 300
aaagtcactg gatggtat ac cgatctcgaa agt gatgccg tagtcattac gaccttgcgt 360
ggcgggactc ctgctgccga ggaacttgct gagagagcgg gtctcgacga aagagccgtt 420

cggattgtgg aagaagatga agaaccacag agcttggctg caattattgg tggaaacccg 480
tactatagag gaaattacag atgcagtatc gggtttagtg tccgtcaggg ctctcaaacg 540
ggattcgcga ccgcaggcca ctgcggatcc acggggacgc gtgtgtcttc tccttcagga 600
acagttgcag gaagttatTTT cccgggtcgc gatatgggct ggggtgcggat tacatcagca 660
gatactgtaa caccactcgt aaatcggtat aatgggggaa ctgttacggg cactgggtca 720
caagaagctg ccaccggatc ctccgtttgt cgctctggag caacaacggg ctggcgctgc 780
ggaactatcc aatcaaaaaa tcaaacgggt cgctatgcag aagggactgt tactggttta 840
acaagaacta cagcctgtgc tgaaggtggg gattctggag ggccatggct cacaggtagc 900
caggcgcaag gggttacaag cggcggaaca ggcgattgca gaagtggagg gattaccttt 960
ttccaaccaa tcaatccatt gcttagctat ttcggccttc aattagtgac cggctga 1017

<210> 31
<211> 187
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 嗜高溫放線菌_成熟區

<400> 31
Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Phe Gly Asn Tyr Arg
1 5 10 15
Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala
20 25 30
Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly Thr Arg Val Ser Ser Pro Ser
35 40 45
Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
50 55 60
Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn
65 70 75 80
Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser
85 90 95
Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile
100 105 110
Gln Ser Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly
115 120 125
Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro
130 135 140

Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly
145 150 155 160

Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu
165 170 175

Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 32
<211> 187
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌_成熟區 (F12Y)

<400> 32
Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Tyr Gly Asn Tyr Arg
1 5 10 15

Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala
20 25 30

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

Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
50 55 60

Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn
65 70 75 80

Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser
85 90 95

Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile
100 105 110

Gln Ser Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly
115 120 125

Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro
130 135 140

Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly
145 150 155 160

Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu
165 170 175

Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 33
<211> 187
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌_成熟區 (F12Y_N116D)

<400> 33
Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Tyr Gly Asn Tyr Arg
1 5 10 15
Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala
20 25 30
Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly Thr Arg Val Ser Ser Pro Ser
35 40 45
Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
50 55 60
Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn
65 70 75 80
Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser
85 90 95
Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile
100 105 110
Gln Ser Lys Asp Gln Thr Val Arg Tyr Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly
115 120 125
Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro
130 135 140
Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly
145 150 155 160
Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu
165 170 175
Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 34
<211> 187
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌_成熟區 (F12Y_N116S)

<400> 34
Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Tyr Gly Asn Tyr Arg

1510515

Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala

202530

Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly Thr Arg Val Ser Ser Pro Ser

354045

Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val

505560

Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn

65707580

Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser

859095

Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile

100105110

Gln Ser Lys Ser Gln Thr Val Arg Tyr Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly

115120125

Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro

130135140

Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly

145150155160

Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu

165170175

Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val Thr Gly

180185

<210>35

<211>187

<212>PRT

<213>人工序列

<220>

<223>嗜高溫放線菌_成熟區 (F12S_N116D)

<400>35

Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Ser Gly Asn Tyr Arg

151015

Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala

202530

Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly Thr Arg Val Ser Ser Pro Ser

354045

Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val

505560

Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn
65 70 75 80
Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser
85 90 95
Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile
100 105 110
Gln Ser Lys Asp Gln Thr Val Arg Tyr Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly
115 120 125
Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro
130 135 140
Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly
145 150 155 160
Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu
165 170 175
Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 36
<211> 187
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌_成熟區 (F12S_N116T)

<400> 36
Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Ser Gly Asn Tyr Arg
1 5 10 15
Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala
20 25 30
Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly Thr Arg Val Ser Ser Pro Ser
35 40 45
Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
50 55 60
Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn
65 70 75 80
Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser
85 90 95
Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile
100 105 110
Gln Ser Lys Thr Gln Thr Val Arg Tyr Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly
115 120 125

Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro
130 135 140

Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly
145 150 155 160

Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu
165 170 175

Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 37
<211> 187
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫放線菌_成熟區 (F12A_N116G)

<400> 37
Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Ala Gly Asn Tyr Arg
1 5 10 15

Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala
20 25 30

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

Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
50 55 60

Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn
65 70 75 80

Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser
85 90 95

Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile
100 105 110

Gln Ser Lys Gly Gln Thr Val Arg Tyr Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly
115 120 125

Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro
130 135 140

Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly
145 150 155 160

Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu
165 170 175

Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val Thr Gly

	180	185
<210>	38	
<211>	187	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	嗜高溫放線菌_成熟區 (F12A)	
<400>	38	
Leu	Ala	Ala
1	Ile	Ile
	Gly	Gly
	Asn	Pro
	Tyr	Tyr
	Ala	Gly
	Asn	Tyr
	Arg	
	5	10
Cys	Ser	Ile
	Gly	Phe
	Ser	Val
	Arg	Gln
	Gly	Ser
	Gln	Thr
	Gly	Phe
	Ala	
	20	25
Thr	Ala	Gly
	His	Cys
	Gly	Ser
	Thr	Gly
	Thr	Arg
	Val	Ser
	Ser	Pro
	Ser	
	35	40
Gly	Thr	Val
	Ala	Gly
	Ser	Tyr
	Phe	Pro
	Gly	Arg
	Asp	Met
	Gly	Trp
	Val	
	50	55
Arg	Ile	Thr
	Ser	Ala
	Asp	Thr
	Val	Thr
	Pro	Leu
	Val	Asn
	Arg	Tyr
	Asn	
	65	70
Gly	Gly	Thr
	Val	Thr
	Val	Thr
	Gly	Ser
	Gln	Glu
	Ala	Ala
	Thr	Gly
	Ser	
	85	90
Ser	Val	Cys
	Arg	Ser
	Gly	Ala
	Thr	Thr
	Gly	Trp
	Arg	Cys
	Gly	Thr
	Ile	
	100	105
Gln	Ser	Lys
	Asn	Gln
	Thr	Val
	Arg	Tyr
	Ala	Glu
	Gly	Gly
	Thr	Val
	Thr	Gly
		115
Leu	Thr	Arg
	Thr	Thr
	Ala	Cys
	Ala	Glu
	Gly	Gly
	Asp	Ser
	Gly	Gly
	Pro	
	130	135
Trp	Leu	Thr
	Gly	Ser
	Gln	Ala
	Gln	Gly
	Val	Thr
	Ser	Gly
	Gly	Thr
	Gly	
	145	150
Asp	Cys	Arg
	Ser	Gly
	Gly	Ile
	Thr	Phe
	Phe	Gln
	Pro	Ile
	Asn	Pro
	Leu	
	165	170
Leu	Ser	Tyr
	Phe	Gly
	Leu	Gln
	Leu	Val
	Thr	Gly
		180
		185

<210>	39
<211>	187
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	嗜高溫放線菌_成熟區 (F12R)

<400>39
Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Arg Gly Asn Tyr Arg
15
Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln Gly Ser Gln Thr Gly Phe Ala
2030
Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly Thr Arg Val Ser Ser Pro Ser
354045
Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
505560
Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn
65707580
Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Ala Thr Gly Ser
859095
Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile
100105110
Gln Ser Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly
115120125
Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro
130135140
Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Thr Gly
145150155160
Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu
165170175
Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val Thr Gly
180185

<210>40
<211>368
<212>PRT
<213>未知

<220>
<223>嗜高溫放線菌

<400>40
Met Asn His Ser Ser Arg Arg Thr Thr Ser Leu Leu Phe Thr Ala Ala
15
Leu Ala Ala Thr Ala Leu Val Ala Ala Thr Thr Pro Ala Ser Ala Gln
202530
Glu Leu Ala Leu Lys Arg Asp Leu Gly Leu Ser Asp Ala Glu Val Ala
354045

Glu Leu Arg Ala Ala Glu Ala Glu Ala Val Glu Leu Glu Glu Glu Leu
50 55 60

Arg Asp Ser Leu Gly Ser Asp Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Ala Asp
65 70 75 80

Thr Thr Glu Ile Thr Val Ala Val Thr Asp Pro Ala Ala Val Ser Arg
85 90 95

Val Asp Ala Asp Asp Val Thr Val Asp Val Val Asp Phe Gly Glu Thr
100 105 110

Ala Leu Asn Asp Phe Val Ala Ser Leu Asn Ala Ile Ala Asp Thr Ala
115 120 125

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

Val Ile Thr Thr Leu Arg Gly Gly Thr Pro Ala Ala Glu Glu Leu Ala
145 150 155 160

Glu Arg Ala Gly Leu Asp Glu Arg Ala Val Arg Ile Val Glu Glu Asp
165 170 175

Glu Glu Pro Gln Ser Leu Ala Ala Ile Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr
180 185 190

Phe Gly Asn Tyr Arg Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Gln Gly Ser
195 200 205

Gln Thr Gly Phe Ala Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Thr Gly Thr Arg
210 215 220

Val Ser Ser Pro Ser Gly Thr Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg
225 230 235 240

Asp Met Gly Trp Val Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu
245 250 255

Val Asn Arg Tyr Asn Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser Gln Glu
260 265 270

Ala Ala Thr Gly Ser Ser Val Cys Arg Ser Gly Ala Thr Thr Gly Trp
275 280 285

Arg Cys Gly Thr Ile Gln Ser Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr Ala Glu
290 295 300

Gly Thr Val Thr Gly Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly
305 310 315 320

Asp Ser Gly Gly Pro Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr
325 330 335

Ser Gly Gly Thr Gly Asp Cys Arg Ser Gly Gly Ile Thr Phe Phe Gln
340 345 350

Pro Ile Asn Pro Leu Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Gln Leu Val Thr Gly

355

360

365

<210> 41

<211> 564

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 嗜高溫放線菌_成熟區 (F12Y)

<400> 41

ttggctgcaa ttattggtgg aaacccttac tattacggaa attacagatg cagtatcggg 60

tttagtgtcc gtcagggtc tcaaacggga ttccgaccg caggccactg cggatccacg 120

gggacgcgtg tgtcttctcc ttcaggaaca gttgcaggaa gttatttccc gggtcgcgat 180

atgggctggg tgcggattac atcagcagat actgtaacac cactcgtaaa tcggtataat 240

gggggaactg ttacggtcac tgggtcacaa gaagctgcc cggatcctc cgtttgtcgc 300

tctggagcaa caacgggctg gcgctgcgga actatccaat caaaaaacca aacggttcgc 360

tatgcagaag ggactgttac tggtttaaca agaactacag cctgtgctga aggtggggat 420

tctggagggc catggctcac aggtagccag gcgcaagggg ttacaagcgg cggaacaggc 480

gattgcagaa gtggagggat tacctttttc caaccaatca atccattgct tagctatttc 540

ggccttcaat tagtgaccgg ctga 564

<210> 42

<211> 564

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 嗜高溫放線菌_成熟區 (F12Y_N116D)

<400> 42

ttggctgcaa ttattggtgg aaacccttac tattacggaa attacagatg cagtatcggg 60

tttagtgtcc gtcagggtc tcaaacggga ttccgaccg caggccactg cggatccacg 120

gggacgcgtg tgtcttctcc ttcaggaaca gttgcaggaa gttatttccc gggtcgcgat 180

atgggctggg tgcggattac atcagcagat actgtaacac cactcgtaaa tcggtataat 240

gggggaactg ttacggtcac tgggtcacaa gaagctgcc cggatcctc cgtttgtcgc 300

tctggagcaa caacgggctg gcgctgcgga actatccaat caaaagacca aacggttcgc 360

tatgcagaag ggactgttac tggtttaaca agaactacag cctgtgctga aggtggggat

tctggagggc catggctcac aggtagccag gcgcaagggg ttacaagcgg cggaacaggc

gattgcagaa gtggagggat tacctttttc caaccaatca atccattgct tagctatttc

ggccttcaat tagtgaccgg ctga

420

480

540

564

<210> 43

<211> 564

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 嗜高溫放線菌_成熟區 (F12Y_N116S)

<400> 43

ttggctgcaa ttattggtgg aaaccggtac tattacggaa attacagatg cagtatcggg

tttagtgtcc gtcagggctc tcaaacggga ttcgcgaccg caggccactg cggatccacg

gggacgcgtg tgtcttctcc ttcaggaaca gttgcaggaa gttatttccc gggtcgcgat

atgggctggg tgcggattac atcagcagat actgtaacac cactcgtaaa tcggtataat

gggggaactg ttacggctcac tgggtcacaa gaagctgcc a ccggtcctc cgtttgtcgc

tctggagcaa caacgggctg gcgctgcgga actatccaat caaaaagtca aacggttcgc

tatgcagaag ggactgttac tggtttaaca agaactacag cctgtgctga aggtggggat

tctggagggc catggctcac aggtagccag gcgcaagggg ttacaagcgg cggaacaggc

gattgcagaa gtggagggat tacctttttc caaccaatca atccattgct tagctatttc

ggccttcaat tagtgaccgg ctga

60

120

180

240

300

360

420

480

540

564

<210> 44

<211> 564

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 嗜高溫放線菌_成熟區 (F12S_N116D)

<400> 44

ttggctgcaa ttattggtgg aaaccggtac tatagtggaa attacagatg cagtatcggg

tttagtgtcc gtcagggctc tcaaacggga ttcgcgaccg caggccactg cggatccacg

gggacgcgtg tgtcttctcc ttcaggaaca gttgcaggaa gttatttccc gggtcgcgat

atgggctggg tgcggattac atcagcagat actgtaacac cactcgtaaa tcggtataat

60

120

180

240

gggggaactg ttacggtcac tgggtcacaa gaagctgcc a ccggaacctc cgtttgctgc 300

tctggagcaa caacgggctg gcgctgcgga actatccaat caaaagatca aacgggttcgc 360

tatgcagaag ggactgttac tggtttaaca agaactacag cctgtgctga aggtggggat 420

tctggagggc catggctcac aggtagccag gcgcaagggg ttacaagcgg cggaacaggc 480

gattgcagaa gtggagggat tacctttttc caaccaatca atccattgct tagctatttc 540

ggccttcaat tagtgaccgg ctga 564

<210> 45

<211> 564

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 嗜高溫放線菌_成熟區 (F12S_N116T)

<400> 45

ttggctgcaa ttattggtgg aaacccttac tatagtggaa attacagatg cagtatcggg 60

tttagtgtcc gtcagggtc tcaaacggga ttcgcgaccg caggccactg cggatccacg 120

gggacgcgtg tgtcttctcc ttcaggaaca gttgcaggaa gttattttcc gggtcgcgat 180

atgggctggg tgcggattac atcagcagat actgtaacac cactcgtaaa tcggtataat 240

gggggaactg ttacggtcac tgggtcacaa gaagctgcc a ccggaacctc cgtttgctgc 300

tctggagcaa caacgggctg gcgctgcgga actatccaat caaaaactca aacgggttcgc 360

tatgcagaag ggactgttac tggtttaaca agaactacag cctgtgctga aggtggggat 420

tctggagggc catggctcac aggtagccag gcgcaagggg ttacaagcgg cggaacaggc 480

gattgcagaa gtggagggat tacctttttc caaccaatca atccattgct tagctatttc 540

ggccttcaat tagtgaccgg ctga 564

<210> 46

<211> 564

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 嗜高溫放線菌_成熟區 (F12A_N116G)

<400> 46

ttggctgcaa ttattggtgg aaacccttac tatgctggaa attacagatg cagtatcggg 60

tttagtgtcc gtcagggtc tcaaacggga ttcgcgaccg caggccactg cggatccacg 120

gggacgcgtg tgtcttctcc ttcaggaaca gttgcaggaa gttatttccc gggtcgcgat180

atgggctggg tgcggattac atcagcagat actgtaacac cactcgtaaa tcggtataat240

gggggaactg ttacggtcac tgggtcacia gaagctgcc a ccgatacctc cgtttgtcgc300

tctggagcaa caacgggctg gcgctgcgga actatccaat caaaaggta aacggttcgc360

tatgcagaag ggactgttac tggtttaaca agaactacag cctgtgctga aggtggggat420

tctggagggc catggctcac aggtagccag gcgcaagggg ttacaagcgg cggaacaggc480

gattgcagaa gtggagggat tacctttttc caaccaatca atccattgct tagctatttc540

ggccttcaat tagtgaccgg ctga564

<210>47

<211>564

<212>DNA

<213>人工序列

<220>

<223>嗜高溫放線菌_成熟區 (F12A)

<400>47

ttggctgcaa ttattggtgg aaacccttac tatgctggaa attacagatg cagtatcggg60

tttagtgtcc gtcagggtc tcaaacggga ttcgcgaccg caggccactg cggatccacg120

gggacgcgtg tgtcttctcc ttcaggaaca gttgcaggaa gttatttccc gggtcgcgat180

atgggctggg tgcggattac atcagcagat actgtaacac cactcgtaaa tcggtataat240

gggggaactg ttacggtcac tgggtcacia gaagctgcc a ccgatacctc cgtttgtcgc300

tctggagcaa caacgggctg gcgctgcgga actatccaat caaaaaatca aacggttcgc360

tatgcagaag ggactgttac tggtttaaca agaactacag cctgtgctga aggtggggat420

tctggagggc catggctcac aggtagccag gcgcaagggg ttacaagcgg cggaacaggc480

gattgcagaa gtggagggat tacctttttc caaccaatca atccattgct tagctatttc540

ggccttcaat tagtgaccgg ctga564

<210>48

<211>564

<212>DNA

<213>人工序列

<220>

<223>嗜高溫放線菌_成熟區 (F12R)

<400>48

ttggctgcaa ttattggtgg aaaccggtac tatagaggaa attacagatg cagtatcggg 60
tttagtgtcc gtcagggtc tcaaacggga ttgcgaccg caggccactg cggatccacg 120
gggacgcgtg tgtcttctcc ttcaggaaca gttgcaggaa gttatttccc gggtcgcgat 180
atgggctggg tgcggattac atcagcagat actgtaacac cactcgtaaa tcggtataat 240
gggggaactg ttacggtcac tgggtcacia gaagctgcc a cggatcctc cgtttgtcgc 300
tctggagcaa caacgggctg gcgctgcgga actatccaat caaaaaatca aacggttcgc 360
tatgcagaag ggactgttac tggtttaaca agaactacag cctgtgctga aggtggggat 420
tctggagggc catggctcac aggtagccag gcgcaagggg ttacaagcgg cggaacaggc 480
gattgcagaa gtggagggat tacctttttc caaccaatca atccattgct tagctatttc 540
ggccttcaat tagtgaccgg ctga 564

<210> 49
<211> 187
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 嗜高溫雙歧菌 (Thermobifida cellulosilytica)

<400> 49
Phe Ala Asp Val Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Phe Gly Gly Tyr Arg
1 5 10 15
Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Lys Gly Ser Asp Thr Gly Phe Ala
20 25 30
Thr Ala Gly His Cys Gly Glu Thr Gly Thr Leu Thr Arg Ser Pro Glu
35 40 45
Gly Val Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
50 55 60
Arg Leu Thr Gly Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asp
65 70 75 80
Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Val Thr Gly Ser
85 90 95
Ser Val Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Ile Ile
100 105 110
Gln Ser Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly
115 120 125
Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Ala Gly Asp Ser Gly Gly Pro
130 135 140

Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160

Asn Cys Arg Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu
165 170 175

Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Glu Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 50
<211> 187
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 哈氏嗜高溫放線菌 (Thermobifida halotolerans)

<400> 50
Phe Thr Asp Ile Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Phe Asp Gly Tyr Arg
1 5 10 15

Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Arg Gly Ser Glu Ser Gly Phe Ala
20 25 30

Thr Ala Gly His Cys Gly Glu Glu Gly Thr Glu Thr Ser Asp Pro Glu
35 40 45

Gly Thr Val Ala Gly Ala Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
50 55 60

Arg Ile Thr Asp Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn
65 70 75 80

Gly Glu Asn Val Thr Val Ala Gly Ser Arg Glu Ala Ala Thr Gly Ser
85 90 95

Ser Val Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile
100 105 110

Arg Ser Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr Ile Glu Gly Thr Val Thr Gly
115 120 125

Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro
130 135 140

Trp Leu Thr Gly Ser Gln Gly Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160

Asn Cys Thr Leu Gly Gly Val Thr Tyr Phe Gln Pro Leu Asn Pro Leu
165 170 175

Leu Ser His Phe Asp Leu Asp Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 51

<211> 187
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 内生放線菌 (Actinorugispora endophytica)

<400> 51
Leu Ala Asn Val Ile Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Phe Gly Gly Tyr Arg
1 5 10 15
Cys Ser Val Gly Phe Ser Val Arg His Ser Ser Gly Pro Gly Phe Ala
20 25 30
Thr Ala Gly His Cys Gly Asp Val Gly Thr Arg Thr Thr Ser Pro Thr
35 40 45
Gly Thr Ile Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
50 55 60
Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn
65 70 75 80
Gly Ser Tyr Ile Thr Val Thr Gly Ser Ser Glu Ala Ala Asn Gly Ser
85 90 95
Ser Val Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp His Cys Gly Thr Ile
100 105 110
Gln Ser Lys Asn Gln Thr Val Asn Tyr Ala Glu Gly Ser Val Ala Gly
115 120 125
Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Ser
130 135 140
Trp Leu Thr Gly Thr Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160
Asn Cys Thr Trp Gly Gly Thr Thr Tyr Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu
165 170 175
Leu Ser Tyr Phe Asn Leu Thr Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 52
<211> 183
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 耐鹼刺放線孢菌 (Spinactinospora alkalitolerans)

<400> 52
Phe Ala Asp Ile Ile Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Pro Gly Ser Ser Arg
1 5 10 15

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

- <210> 53
<211> 186
<212> PRT
<213> 未知
- <220>
<223> 孔氏擬諾卡氏菌 (Nocardiosis composta)

<400> 53
Phe Gly Asp Ile Val Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Pro Gly Gly Ser Arg
1 5 10 15
Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Gln Gly Gly Phe Ala Thr Ala Gly His
20 25 30
Cys Gly Ser Gln Gly Thr Arg Val Thr Gly Gly Ala Gly Glu Ser Gly
35 40 45
Thr Val Ala Gly Ser Ile Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg
50 55 60
Val Asn Ser Gly Trp Asn Pro Ser Pro Tyr Val Asn Asn Tyr Ser Gly

65					70						75				80
Gly	Arg	Val	Leu	Val	Thr	Gly	Ser	Gln	Glu	Ala	Ser	Val	Gly	Ala	Ser
				85					90					95	
Val	Cys	Arg	Ser	Gly	Ser	Thr	Thr	Gly	Trp	Arg	Cys	Gly	Thr	Ile	Gln
			100					105					110		
Ala	Lys	Asn	Gln	Thr	Val	Arg	Tyr	Pro	Glu	Gly	Thr	Val	Asn	Gly	Leu
		115					120					125			
Thr	Arg	Thr	Thr	Ala	Cys	Ala	Glu	Pro	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Ser	Trp
	130					135					140				
Leu	Ser	Gly	Asn	Gln	Ala	Gln	Gly	Val	Thr	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Asn
145					150					155					160
Cys	Ser	Ser	Gly	Gly	Thr	Thr	Phe	Phe	Gln	Pro	Leu	Asn	Pro	Ile	Leu
				165					170					175	
Ser	Gln	Trp	Gly	Leu	Thr	Leu	Thr	Thr	Gly						
			180					185							

<210> 54
<211> 186
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 蒲氏擬諾卡氏菌 (Nocardiosis potens)

<400> 54
Phe Gly Asp Ile Val Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Pro Gly Gly Ser Arg
1 5 10 15
Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Gln Gly Gly Phe Ala Thr Ala Gly His
20 25 30
Cys Gly Ser Gln Gly Thr Arg Val Thr Gly Gly Ala Gly Glu Ser Gly
35 40 45
Thr Val Ala Gly Ser Ile Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg
50 55 60
Val Asn Ser Gly Trp Asn Pro Ser Pro Tyr Val Asn Asn Tyr Ser Gly
65 70 75 80
Gly Arg Val Leu Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Ser Val Gly Ala Ser
85 90 95
Ile Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp His Cys Gly Thr Ile Gln
100 105 110
Ala Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr Pro Gln Gly Thr Val Asn Gly Leu
115 120 125

Thr Arg Thr Asn Val Cys Ala Glu Pro Gly Asp Ser Gly Gly Ser Trp
130 135 140

Ile Ser Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly Asn
145 150 155 160

Cys Ser Thr Gly Gly Thr Thr Phe Tyr Gln Pro Ile Asn Pro Ile Leu
165 170 175

Ser Gln Trp Gly Leu Thr Leu Thr Thr Gly
180 185

<210> 55
<211> 187
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫雙歧菌_F12Y

<400> 55
Phe Ala Asp Val Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Tyr Gly Gly Tyr Arg
1 5 10 15

Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Lys Gly Ser Asp Thr Gly Phe Ala
20 25 30

Thr Ala Gly His Cys Gly Glu Thr Gly Thr Leu Thr Arg Ser Pro Glu
35 40 45

Gly Val Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
50 55 60

Arg Leu Thr Gly Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asp
65 70 75 80

Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Val Thr Gly Ser
85 90 95

Ser Val Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Ile Ile
100 105 110

Gln Ser Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly
115 120 125

Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Ala Gly Asp Ser Gly Gly Pro
130 135 140

Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160

Asn Cys Arg Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu
165 170 175

Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Glu Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 56
<211> 187
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嗜高溫雙歧菌_F12YN116D

<400> 56
Phe Ala Asp Val Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Tyr Gly Gly Tyr Arg
1 5 10 15
Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Lys Gly Ser Asp Thr Gly Phe Ala
20 25 30
Thr Ala Gly His Cys Gly Glu Thr Gly Thr Leu Thr Arg Ser Pro Glu
35 40 45
Gly Val Val Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
50 55 60
Arg Leu Thr Gly Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asp
65 70 75 80
Gly Gly Thr Val Thr Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Val Thr Gly Ser
85 90 95
Ser Val Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Ile Ile
100 105 110
Gln Ser Lys Asp Gln Thr Val Arg Tyr Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly
115 120 125
Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Ala Gly Asp Ser Gly Gly Pro
130 135 140
Trp Leu Thr Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160
Asn Cys Arg Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu
165 170 175
Leu Ser Tyr Phe Gly Leu Glu Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 57
<211> 187
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 哈氏嗜高溫放線菌_F12Y

<400> 57
Phe Thr Asp Ile Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Arg
1 5 10 15
Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Arg Gly Ser Glu Ser Gly Phe Ala
20 25 30
Thr Ala Gly His Cys Gly Glu Glu Gly Thr Glu Thr Ser Asp Pro Glu
35 40 45
Gly Thr Val Ala Gly Ala Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
50 55 60
Arg Ile Thr Asp Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn
65 70 75 80
Gly Glu Asn Val Thr Val Ala Gly Ser Arg Glu Ala Ala Thr Gly Ser
85 90 95
Ser Val Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile
100 105 110
Arg Ser Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr Ile Glu Gly Thr Val Thr Gly
115 120 125
Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro
130 135 140
Trp Leu Thr Gly Ser Gln Gly Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160
Asn Cys Thr Leu Gly Gly Val Thr Tyr Phe Gln Pro Leu Asn Pro Leu
165 170 175
Leu Ser His Phe Asp Leu Asp Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 58
<211> 187
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 哈氏嗜高溫放線菌_F12YN116D

<400> 58
Phe Thr Asp Ile Ile Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Arg
1 5 10 15
Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Arg Gly Ser Glu Ser Gly Phe Ala
20 25 30
Thr Ala Gly His Cys Gly Glu Glu Gly Thr Glu Thr Ser Asp Pro Glu
35 40 45
Gly Thr Val Ala Gly Ala Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val

50

55

60

Arg Ile Thr Asp Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn
65 70 75 80

Gly Glu Asn Val Thr Val Ala Gly Ser Arg Glu Ala Ala Thr Gly Ser
85 90 95

Ser Val Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile
100 105 110

Arg Ser Lys Asp Gln Thr Val Arg Tyr Ile Glu Gly Thr Val Thr Gly
115 120 125

Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro
130 135 140

Trp Leu Thr Gly Ser Gln Gly Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160

Asn Cys Thr Leu Gly Gly Val Thr Tyr Phe Gln Pro Leu Asn Pro Leu
165 170 175

Leu Ser His Phe Asp Leu Asp Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 59
<211> 187
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 内生放線菌_F12Y

<400> 59

Leu Ala Asn Val Ile Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Tyr Gly Gly Tyr Arg
1 5 10 15

Cys Ser Val Gly Phe Ser Val Arg His Ser Ser Gly Pro Gly Phe Ala
20 25 30

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

Gly Thr Ile Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
50 55 60

Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn
65 70 75 80

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

Ser Val Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp His Cys Gly Thr Ile
100 105 110

Gln Ser Lys Asn Gln Thr Val Asn Tyr Ala Glu Gly Ser Val Ala Gly
115 120 125
Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Ser
130 135 140
Trp Leu Thr Gly Thr Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160
Asn Cys Thr Trp Gly Gly Thr Thr Tyr Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu
165 170 175
Leu Ser Tyr Phe Asn Leu Thr Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 60
<211> 187
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 内生放線菌_F12YN116D

<400> 60
Leu Ala Asn Val Ile Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Tyr Gly Gly Tyr Arg
1 5 10 15
Cys Ser Val Gly Phe Ser Val Arg His Ser Ser Gly Pro Gly Phe Ala
20 25 30
Thr Ala Gly His Cys Gly Asp Val Gly Thr Arg Thr Thr Ser Pro Thr
35 40 45
Gly Thr Ile Ala Gly Ser Tyr Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val
50 55 60
Arg Ile Thr Ser Ala Asp Thr Val Thr Pro Leu Val Asn Arg Tyr Asn
65 70 75 80
Gly Ser Tyr Ile Thr Val Thr Gly Ser Ser Glu Ala Ala Asn Gly Ser
85 90 95
Ser Val Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp His Cys Gly Thr Ile
100 105 110
Gln Ser Lys Asp Gln Thr Val Asn Tyr Ala Glu Gly Ser Val Ala Gly
115 120 125
Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly Gly Asp Ser Gly Gly Ser
130 135 140
Trp Leu Thr Gly Thr Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160
Asn Cys Thr Trp Gly Gly Thr Thr Tyr Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu
165 170 175

Leu Ser Tyr Phe Asn Leu Thr Leu Val Thr Gly
180 185

<210> 61
<211> 183
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 耐鹼刺放線孢菌_F12Y

<400> 61
Phe Ala Asp Ile Ile Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Arg
1 5 10 15
Cys Ser Ile Gly Phe Ala Val Gln Gly Gly Phe Val Thr Ala Gly His
20 25 30
Cys Gly Ser Thr Gly Thr Arg Thr Ser Ser Pro Ser Gly Thr Val Ala
35 40 45
Gly Ser Trp Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg Thr Gly Ser
50 55 60
Gly Asp Thr Pro Arg Pro Trp Val Asn Asn Tyr Arg Gly Gly Tyr Val
65 70 75 80
Thr Val Ala Gly Ser Gln Glu Ala Gly Ile Gly Ser Ser Val Cys Arg
85 90 95
Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp His Cys Gly Thr Ile Gln Ser Lys Asn
100 105 110
Gln Thr Val Arg Tyr Ser Gln Gly Ser Val Tyr Gly Leu Thr Arg Thr
115 120 125
Ser Ala Cys Ala Glu Pro Gly Asp Ser Gly Gly Ser Trp Val Thr Gly
130 135 140
Asn Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly Asn Cys Thr Trp
145 150 155 160
Gly Gly Thr Thr Tyr Phe Gln Pro Val Asn Pro Ile Leu Ser Gln Tyr
165 170 175
Gly Leu Arg Leu Val Thr Gly
180

<210> 62
<211> 183
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 耐鹼刺放線孢菌_F12YN116D

<400> 62
Phe Ala Asp Ile Ile Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ser Arg
1 5 10 15
Cys Ser Ile Gly Phe Ala Val Gln Gly Gly Phe Val Thr Ala Gly His
20 25 30
Cys Gly Ser Thr Gly Thr Arg Thr Ser Ser Pro Ser Gly Thr Val Ala
35 40 45
Gly Ser Trp Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg Thr Gly Ser
50 55 60
Gly Asp Thr Pro Arg Pro Trp Val Asn Asn Tyr Arg Gly Gly Tyr Val
65 70 75 80
Thr Val Ala Gly Ser Gln Glu Ala Gly Ile Gly Ser Ser Val Cys Arg
85 90 95
Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp His Cys Gly Thr Ile Gln Ser Lys Asp
100 105 110
Gln Thr Val Arg Tyr Ser Gln Gly Ser Val Tyr Gly Leu Thr Arg Thr
115 120 125
Ser Ala Cys Ala Glu Pro Gly Asp Ser Gly Gly Ser Trp Val Thr Gly
130 135 140
Asn Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly Asn Cys Thr Trp
145 150 155 160
Gly Gly Thr Thr Tyr Phe Gln Pro Val Asn Pro Ile Leu Ser Gln Tyr
165 170 175
Gly Leu Arg Leu Val Thr Gly
180

<210> 63
<211> 186
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 孔氏擬諾卡氏菌_F12Y

<400> 63
Phe Gly Asp Ile Val Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Arg
1 5 10 15
Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Gln Gly Gly Phe Ala Thr Ala Gly His
20 25 30
Cys Gly Ser Gln Gly Thr Arg Val Thr Gly Gly Ala Gly Glu Ser Gly

354045

Thr Val Ala Gly Ser Ile Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg

505560

Val Asn Ser Gly Trp Asn Pro Ser Pro Tyr Val Asn Asn Tyr Ser Gly

65707580

Gly Arg Val Leu Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Ser Val Gly Ala Ser

859095

Val Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile Gln

100105110

Ala Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr Pro Glu Gly Thr Val Asn Gly Leu

115120125

Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Pro Gly Asp Ser Gly Gly Ser Trp

130135140

Leu Ser Gly Asn Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly Asn

145150155160

Cys Ser Ser Gly Gly Thr Thr Phe Phe Gln Pro Leu Asn Pro Ile Leu

165170175

Ser Gln Trp Gly Leu Thr Leu Thr Thr Gly

180185

<210>64

<211>186

<212>PRT

<213>人工序列

<220>

<223>孔氏擬諾卡氏菌_F12YN116D

<400>64

Phe Gly Asp Ile Val Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Arg

151015

Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Gln Gly Gly Phe Ala Thr Ala Gly His

202530

Cys Gly Ser Gln Gly Thr Arg Val Thr Gly Gly Ala Gly Glu Ser Gly

354045

Thr Val Ala Gly Ser Ile Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg

505560

Val Asn Ser Gly Trp Asn Pro Ser Pro Tyr Val Asn Asn Tyr Ser Gly

65707580

Gly Arg Val Leu Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Ser Val Gly Ala Ser

859095

Val Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Thr Ile Gln
100 105 110

Ala Lys Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Glu Gly Thr Val Asn Gly Leu
115 120 125

Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Pro Gly Asp Ser Gly Gly Ser Trp
130 135 140

Leu Ser Gly Asn Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly Asn
145 150 155 160

Cys Ser Ser Gly Gly Thr Thr Phe Phe Gln Pro Leu Asn Pro Ile Leu
165 170 175

Ser Gln Trp Gly Leu Thr Leu Thr Thr Gly
180 185

<210> 65
<211> 186
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 蒲氏擬諾卡氏菌_F12Y

<400> 65
Phe Gly Asp Ile Val Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Arg
1 5 10 15

Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Gln Gly Gly Phe Ala Thr Ala Gly His
20 25 30

Cys Gly Ser Gln Gly Thr Arg Val Thr Gly Gly Ala Gly Glu Ser Gly
35 40 45

Thr Val Ala Gly Ser Ile Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg
50 55 60

Val Asn Ser Gly Trp Asn Pro Ser Pro Tyr Val Asn Asn Tyr Ser Gly
65 70 75 80

Gly Arg Val Leu Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Ser Val Gly Ala Ser
85 90 95

Ile Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp His Cys Gly Thr Ile Gln
100 105 110

Ala Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr Pro Gln Gly Thr Val Asn Gly Leu
115 120 125

Thr Arg Thr Asn Val Cys Ala Glu Pro Gly Asp Ser Gly Gly Ser Trp
130 135 140

Ile Ser Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly Asn
145 150 155 160

Cys Ser Thr Gly Gly Thr Thr Phe Tyr Gln Pro Ile Asn Pro Ile Leu
165 170 175

Ser Gln Trp Gly Leu Thr Leu Thr Thr Gly
180 185

<210> 66
<211> 186
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 蒲氏擬諾卡氏菌_F12YN116D

<400> 66
Phe Gly Asp Ile Val Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Arg
1 5 10 15

Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Gln Gly Gly Phe Ala Thr Ala Gly His
20 25 30

Cys Gly Ser Gln Gly Thr Arg Val Thr Gly Gly Ala Gly Glu Ser Gly
35 40 45

Thr Val Ala Gly Ser Ile Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg
50 55 60

Val Asn Ser Gly Trp Asn Pro Ser Pro Tyr Val Asn Asn Tyr Ser Gly
65 70 75 80

Gly Arg Val Leu Val Thr Gly Ser Gln Glu Ala Ser Val Gly Ala Ser
85 90 95

Ile Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp His Cys Gly Thr Ile Gln
100 105 110

Ala Lys Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Gln Gly Thr Val Asn Gly Leu
115 120 125

Thr Arg Thr Asn Val Cys Ala Glu Pro Gly Asp Ser Gly Gly Ser Trp
130 135 140

Ile Ser Gly Ser Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly Asn
145 150 155 160

Cys Ser Thr Gly Gly Thr Thr Phe Tyr Gln Pro Ile Asn Pro Ile Leu
165 170 175

Ser Gln Trp Gly Leu Thr Leu Thr Thr Gly
180 185

<210> 67
<211> 374
<212> PRT

<213> 未知

<220>

<223> 嗜高溫雙歧菌

<400> 67

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

Thr Gly Ser Gln Glu Ala Val Thr Gly Ser Ser Val Cys Arg Ser Gly
275 280 285

Ser Thr Thr Gly Trp Arg Cys Gly Ile Ile Gln Ser Lys Asn Gln Thr
290 295 300

Val Arg Tyr Ala Glu Gly Thr Val Thr Gly Leu Thr Arg Thr Thr Ala
305 310 315 320

Cys Ala Glu Ala Gly Asp Ser Gly Gly Pro Trp Leu Thr Gly Ser Gln
325 330 335

Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly Asn Cys Arg Thr Gly Gly
340 345 350

Ile Thr Tyr Phe Gln Pro Ile Asn Pro Leu Leu Ser Tyr Phe Gly Leu
355 360 365

Glu Leu Val Thr Gly Ala
370

<210> 68
<211> 354
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 哈氏嗜高溫放線菌

<400> 68
Met Val Ala Thr Ala Leu Thr Ala Ser Ala Thr Pro Ala Ser Ala Asp
1 5 10 15

Arg His Asp Ala Leu Lys Arg Asp Leu Gly Leu Thr Asp Ser Glu Val
20 25 30

Ala Arg Leu Arg Thr Ala Glu Thr Glu Ala Met Asp Arg Glu Ala Glu
35 40 45

Leu Arg Asp Thr Leu Gly Ser Asp Phe Gly Gly Val His Leu Asp Ala
50 55 60

Ala Ser Gly Glu Leu Thr Ile Ala Val Thr Asp Pro Glu Ala Val Pro
65 70 75 80

Thr Val Glu Arg Ala Gly Ala Asn Ala Glu Val Val Thr Phe Gly Glu
85 90 95

Ser Ala Leu Asn Gly Phe Val Asp Ser Leu Asn Ser Val Ala Asp Gln
100 105 110

Ala Asp Glu Gln Val Thr Gly Trp Tyr Ala Asp Ile Ala Asp Asp Ser
115 120 125

Val Val Ile Thr Val Arg Glu Gly Gly Thr Ala Ala Ala Glu Ala Leu
130 135 140

Val Ala Arg Ala Gly Val Asp Glu Arg Ala Val Arg Val Thr Lys Ser
145 150 155 160

Asp Glu Arg Pro Gln Leu Phe Thr Asp Ile Ile Gly Gly Asn Pro Tyr
165 170 175

Tyr Phe Asp Gly Tyr Arg Cys Ser Ile Gly Phe Ser Val Arg Arg Gly
180 185 190

Ser Glu Ser Gly Phe Ala Thr Ala Gly His Cys Gly Glu Glu Gly Thr
195 200 205

Glu Thr Ser Asp Pro Glu Gly Thr Val Ala Gly Ala Tyr Phe Pro Gly
210 215 220

Arg Asp Met Gly Trp Val Arg Ile Thr Asp Ala Asp Thr Val Thr Pro
225 230 235 240

Leu Val Asn Arg Tyr Asn Gly Glu Asn Val Thr Val Ala Gly Ser Arg
245 250 255

Glu Ala Ala Thr Gly Ser Ser Val Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly
260 265 270

Trp Arg Cys Gly Thr Ile Arg Ser Lys Asn Gln Thr Val Arg Tyr Ile
275 280 285

Glu Gly Thr Val Thr Gly Leu Thr Arg Thr Thr Ala Cys Ala Glu Gly
290 295 300

Gly Asp Ser Gly Gly Pro Trp Leu Thr Gly Ser Gln Gly Gln Gly Val
305 310 315 320

Thr Ser Gly Gly Ser Gly Asn Cys Thr Leu Gly Gly Val Thr Tyr Phe
325 330 335

Gln Pro Leu Asn Pro Leu Leu Ser His Phe Asp Leu Asp Leu Val Thr
340 345 350

Gly Ala

<210> 69
<211> 383
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 内生放線菌

<400> 69
Met Lys Arg Ser Ser Val Phe Arg Ala Leu Gly Gly Thr Ile Leu Thr
1 5 10 15

Ala Gly Leu Val Ile Thr Ala Ala Pro Phe Ala Ser Ala Ala Pro Val

20					25					30						
His	Thr	Glu	Thr	Thr	Pro	Thr	Ala	Ala	Glu	Ala	Gly	Asp	Gln	Leu	Ser	
35					40					45						
Ala	Leu	Lys	Arg	Asp	Leu	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Glu	Val	Glu	Glu	Leu	
50					55					60						
Gln	Ala	Ala	Glu	Ala	Glu	Ala	Met	Asp	Val	Glu	Glu	Gly	Leu	Arg	Glu	
65					70					75					80	
Thr	Leu	Gly	Ser	Asp	Phe	Gly	Gly	Ala	His	Phe	Asp	Ile	Asp	Ser	Gly	
85					90					95						
Glu	Leu	Thr	Val	Ser	Val	Thr	Asp	Ala	Ala	Ala	Val	Ser	Thr	Val	Glu	
100					105					110						
Ala	Ala	Gly	Ala	Asn	Ala	Glu	Val	Val	Asp	Phe	Gly	Glu	Pro	Ala	Leu	
115					120					125						
Asp	Ala	Ile	Val	Glu	Asp	Leu	Asn	Thr	Val	Ala	Glu	Glu	Ala	Asp	Asp	
130					135					140						
Ser	Val	Thr	Gly	Trp	Tyr	Val	Asp	Thr	Ala	Asp	Asp	Ser	Val	Val	Ile	
145					150					155					160	
Thr	Val	Leu	Glu	Gly	Asp	Thr	Glu	Ala	Ala	Glu	Ala	Leu	Val	Ala	Glu	
165					170					175						
Ala	Asp	Val	Asp	Gly	Lys	Ala	Val	Arg	Val	Glu	Glu	Thr	Thr	Glu	Gln	
180					185					190						
Pro	Lys	Leu	Leu	Ala	Asn	Val	Ile	Gly	Gly	Asn	Ala	Tyr	Tyr	Phe	Gly	
195					200					205						
Gly	Tyr	Arg	Cys	Ser	Val	Gly	Phe	Ser	Val	Arg	His	Ser	Ser	Gly	Pro	
210					215					220						
Gly	Phe	Ala	Thr	Ala	Gly	His	Cys	Gly	Asp	Val	Gly	Thr	Arg	Thr	Thr	
225					230					235					240	
Ser	Pro	Thr	Gly	Thr	Ile	Ala	Gly	Ser	Tyr	Phe	Pro	Gly	Arg	Asp	Met	
245					250					255						
Gly	Trp	Val	Arg	Ile	Thr	Ser	Ala	Asp	Thr	Val	Thr	Pro	Leu	Val	Asn	
260					265					270						
Arg	Tyr	Asn	Gly	Ser	Tyr	Ile	Thr	Val	Thr	Gly	Ser	Ser	Glu	Ala	Ala	
275					280					285						
Asn	Gly	Ser	Ser	Val	Cys	Arg	Ser	Gly	Ser	Thr	Thr	Gly	Trp	His	Cys	
290					295					300						
Gly	Thr	Ile	Gln	Ser	Lys	Asn	Gln	Thr	Val	Asn	Tyr	Ala	Glu	Gly	Ser	
305					310					315					320	
Val	Ala	Gly	Leu	Thr	Arg	Thr	Thr	Ala	Cys	Ala	Glu	Gly	Gly	Asp	Ser	
325					330					335						

Gly Gly Ser Trp Leu Thr Gly Thr Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly
340 345 350

Gly Ser Gly Asn Cys Thr Trp Gly Gly Thr Thr Tyr Phe Gln Pro Ile
355 360 365

Asn Pro Leu Leu Ser Tyr Phe Asn Leu Thr Leu Val Thr Gly Ala
370 375 380

<210> 70
<211> 375
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 耐鹼刺放線孢菌

<400> 70
Met Arg Lys Ser Pro Ile Ile Arg Ala Val Gly Gly Ala Ala Ile Thr
1 5 10 15

Phe Gly Leu Val Ile Ala Ala Ala Pro Phe Ala Ser Ala Asp Ser Gly
20 25 30

Ser Glu Thr Thr Ala Gly Ser Val Gly Gln Leu Gly Ala Met Gln Arg
35 40 45

Asp Leu Gly Leu Ser Ala Thr Glu Ala Thr Ala Leu Leu Asp Gln Glu
50 55 60

Glu Gln Ala Arg Thr Leu Glu Gly Glu Leu Arg Glu Thr Leu Gly Gly
65 70 75 80

Asp Phe Gly Gly Ala Val Phe Asp Ile Glu Ser Gly Glu Leu Thr Val
85 90 95

Ser Val Thr Asp Glu Asp Ala Val Asp Glu Val Arg Glu Ala Gly Ala
100 105 110

Glu Ala Glu Val Val Thr Tyr Gly Glu Gln Arg Leu Asp Ala Ile Val
115 120 125

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

Trp Tyr Val Asp Thr Ala Asp Asp Ser Val Val Val Thr Val Met Glu
145 150 155 160

Gly Glu Glu Ala Ala Ala Glu Lys Leu Ile Ala Thr Ala Asp Val Glu
165 170 175

Gly Thr Ala Val Arg Val Glu Glu Thr Thr Glu Gln Pro Glu Thr Phe
180 185 190

Ala Asp Ile Ile Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Pro Gly Ser Ser Arg Cys
195 200 205

Ser Ile Gly Phe Ala Val Gln Gly Gly Phe Val Thr Ala Gly His Cys
210 215 220

Gly Ser Thr Gly Thr Arg Thr Ser Ser Pro Ser Gly Thr Val Ala Gly
225 230 235 240

Ser Trp Phe Pro Gly Arg Asp Met Gly Trp Val Arg Thr Gly Ser Gly
245 250 255

Asp Thr Pro Arg Pro Trp Val Asn Asn Tyr Arg Gly Gly Tyr Val Thr
260 265 270

Val Ala Gly Ser Gln Glu Ala Gly Ile Gly Ser Ser Val Cys Arg Ser
275 280 285

Gly Ser Thr Thr Gly Trp His Cys Gly Thr Ile Gln Ser Lys Asn Gln
290 295 300

Thr Val Arg Tyr Ser Gln Gly Ser Val Tyr Gly Leu Thr Arg Thr Ser
305 310 315 320

Ala Cys Ala Glu Pro Gly Asp Ser Gly Gly Ser Trp Val Thr Gly Asn
325 330 335

Gln Ala Gln Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly Asn Cys Thr Trp Gly
340 345 350

Gly Thr Thr Tyr Phe Gln Pro Val Asn Pro Ile Leu Ser Gln Tyr Gly
355 360 365

Leu Arg Leu Val Thr Gly Ala
370 375

<210> 71
<211> 376
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 孔氏擬諾卡氏菌

<400> 71
Met Arg Lys Ser Pro Tyr Ile Pro Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Ala
1 5 10 15

Leu Gly Met Ile Ala Ala Ser Pro Thr Ala Ala Ser Ala Asp Glu Ala
20 25 30

Thr Asp Ser Ser Pro Ala Arg Ala Leu Ala Ser Gly Leu Asp Met Ser
35 40 45

Thr Ala Gln Ala Ala Glu Leu Leu Asp Ala Glu Ala Gln Ala Arg Thr

50					55					60					
Ala 65	Glu	Gln	Glu	Ala	Arg 70	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala 75	Ser	Phe	Ala	Gly	Ala 80
Val	Phe	Asp	Ala	Asp 85	Thr	Arg	Lys	Leu	Thr 90	Val	Ser	Val	Thr	Asp 95	Ala
Ala	Ala	Ala	Glu 100	Ala	Val	Gln	Ala	Thr 105	Gly	Ala	Glu	Thr	Arg 110	Val	Val
Glu	Ala	Ser 115	Ala	Asp	Glu	Leu	Asp 120	Ala	Ala	Val	Ala	Asp 125	Leu	Asn	Ala
Glu	Glu 130	Arg	Gly	Leu	Gly	Ser 135	Glu	Ile	Asp	Gly	Val 140	Thr	Gly	Trp	Tyr
Val 145	Asp	Gln	Ala	Ala	Asn 150	Glu	Leu	Val	Val	Thr 155	Val	Leu	Asp	Gly	Glu 160
Thr	Glu	Ala	Ala	Glu 165	Thr	Leu	Leu	Asp	Glu 170	Ala	Gly	Val	Asp	Ser 175	Val
Pro	Val	Arg	Val 180	Asp	Gln	Gly	Ala	Glu 185	Gln	Pro	Glu	Thr	Phe 190	Gly	Asp
Ile	Val	Gly 195	Gly	Asn	Ala	Tyr	Tyr 200	Pro	Gly	Gly	Ser	Arg 205	Cys	Ser	Ile
Gly	Phe 210	Ser	Val	Gln	Gly	Gly 215	Phe	Ala	Thr	Ala	Gly 220	His	Cys	Gly	Ser
Gln 225	Gly	Thr	Arg	Val	Thr 230	Gly	Gly	Ala	Gly	Glu 235	Ser	Gly	Thr	Val	Ala 240
Gly	Ser	Ile	Phe	Pro 245	Gly	Arg	Asp	Met	Gly 250	Trp	Val	Arg	Val	Asn 255	Ser
Gly	Trp	Asn	Pro 260	Ser	Pro	Tyr	Val	Asn 265	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly 270	Arg	Val
Leu	Val	Thr 275	Gly	Ser	Gln	Glu	Ala 280	Ser	Val	Gly	Ala	Ser 285	Val	Cys	Arg
Ser	Gly 290	Ser	Thr	Thr	Gly	Trp 295	Arg	Cys	Gly	Thr	Ile 300	Gln	Ala	Lys	Asn
Gln 305	Thr	Val	Arg	Tyr	Pro 310	Glu	Gly	Thr	Val	Asn 315	Gly	Leu	Thr	Arg	Thr 320
Thr	Ala	Cys	Ala	Glu 325	Pro	Gly	Asp	Ser	Gly 330	Gly	Ser	Trp	Leu	Ser 335	Gly
Asn	Gln	Ala	Gln 340	Gly	Val	Thr	Ser	Gly 345	Gly	Ser	Gly	Asn	Cys 350	Ser	Ser
Gly	Gly	Thr 355	Thr	Phe	Phe	Gln	Pro 360	Leu	Asn	Pro	Ile	Leu 365	Ser	Gln	Trp

Gly Leu Thr Leu Thr Thr Gly Ala
370 375

<210> 72
<211> 376
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 蒲氏擬諾卡氏菌

<400> 72
Met Arg Lys Ser Pro Tyr Ile Ser Phe Leu Gly Ala Ser Ala Leu Ala
1 5 10 15
Leu Gly Met Ile Ala Ala Ser Pro Ala Ala Ala Ser Ala Asp Glu Ala
20 25 30
Ala Asp Thr Ser Pro Ala Glu Ala Leu Ala Ser Gly Leu Asp Met Ser
35 40 45
Ala Ser Gln Ala Ala Asp Leu Leu Asp Ala Glu Ala Glu Ala Arg Gly
50 55 60
Thr Glu Ala Glu Ala Arg Glu Ala Ala Gly Gly Ser Phe Ala Gly Ala
65 70 75 80
Val Phe Asp Ala Glu Ser Gln Val Leu Thr Val Ser Val Thr Asp Ala
85 90 95
Ala Ala Ala Glu Ala Val Glu Ala Thr Gly Ala Glu Thr Arg Val Val
100 105 110
Glu Ala Ser Glu Asp Glu Leu Asp Ser Ala Val Ser Asp Leu Asn Ala
115 120 125
Glu Glu Ser Ser Leu Gly Ser Ala Ile Glu Gly Val Thr Gly Trp Tyr
130 135 140
Val Asp Pro Ala Ala Asn Glu Val Val Val Thr Val Leu Asp Gly Glu
145 150 155 160
Thr Ala Ala Ala Glu Thr Leu Leu Asp Glu Ala Gly Val Asp Gly Val
165 170 175
Pro Val Arg Ile Asp Glu Gly Ala Glu Gln Pro Glu Thr Phe Gly Asp
180 185 190
Ile Val Gly Gly Asn Ala Tyr Tyr Pro Gly Gly Ser Arg Cys Ser Ile
195 200 205
Gly Phe Ser Val Gln Gly Gly Phe Ala Thr Ala Gly His Cys Gly Ser
210 215 220
Gln Gly Thr Arg Val Thr Gly Gly Ala Gly Glu Ser Gly Thr Val Ala

225					230					235					240
Gly	Ser	Ile	Phe	Pro	Gly	Arg	Asp	Met	Gly	Trp	Val	Arg	Val	Asn	Ser
				245					250					255	
Gly	Trp	Asn	Pro	Ser	Pro	Tyr	Val	Asn	Asn	Tyr	Ser	Gly	Gly	Arg	Val
			260					265					270		
Leu	Val	Thr	Gly	Ser	Gln	Glu	Ala	Ser	Val	Gly	Ala	Ser	Ile	Cys	Arg
		275					280					285			
Ser	Gly	Ser	Thr	Thr	Gly	Trp	His	Cys	Gly	Thr	Ile	Gln	Ala	Lys	Asn
	290					295					300				
Gln	Thr	Val	Arg	Tyr	Pro	Gln	Gly	Thr	Val	Asn	Gly	Leu	Thr	Arg	Thr
305					310					315					320
Asn	Val	Cys	Ala	Glu	Pro	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Ser	Trp	Ile	Ser	Gly
				325					330					335	
Ser	Gln	Ala	Gln	Gly	Val	Thr	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Asn	Cys	Ser	Thr
			340					345					350		
Gly	Gly	Thr	Thr	Phe	Tyr	Gln	Pro	Ile	Asn	Pro	Ile	Leu	Ser	Gln	Trp
		355					360					365			
Gly	Leu	Thr	Leu	Thr	Thr	Gly	Ala								
370						375									

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種絲胺酸蛋白酶變異體，其包括基於敘述於SEQ ID NO: 54之一胺基酸序列，以及具有與敘述於SEQ ID NO: 54之一胺基酸序列之間75%或更高及少於100%之同源性或相等性之一胺基酸序列中，對應於位置12的一胺基酸的取代，

其中該對應於位置12的該胺基酸是以酪胺酸（Y）所取代。

【請求項2】 如請求項1所述的絲胺酸蛋白酶變異體，其中該絲胺酸蛋白酶變異體包含基於敘述於SEQ ID NO: 71或72之一胺基酸序列中，對應於位置201的一胺基酸的取代。

【請求項3】 如請求項1所述的絲胺酸蛋白酶變異體，其中該絲胺酸蛋白酶變異體包含基於敘述於SEQ ID NO: 70之一胺基酸序列中，對應於位置203的一胺基酸的取代。

【請求項4】 如請求項1所述的絲胺酸蛋白酶變異體，其中該絲胺酸蛋白酶變異體具有與敘述於SEQ ID NOS: 70至72之任一者之一胺基酸序列之間至少75%或更高且少於100%之序列同源性。

【請求項5】 一種包含絲胺酸蛋白酶變異體之組成物，其包含如請求項1至4之任一項所述的絲胺酸蛋白酶變異體。

【請求項6】 一種多核苷酸，其編碼如請求項1至4之任一項所述的絲胺酸蛋白酶變異體。

【請求項7】 一種載體，其包含如請求項6所述的多核苷酸。

【請求項8】 一種宿主細胞，其包含下述之一者或多者：

如請求項1至4之任一項所述之絲胺酸蛋白酶變異體；

編碼該變異體的一多核苷酸；以及

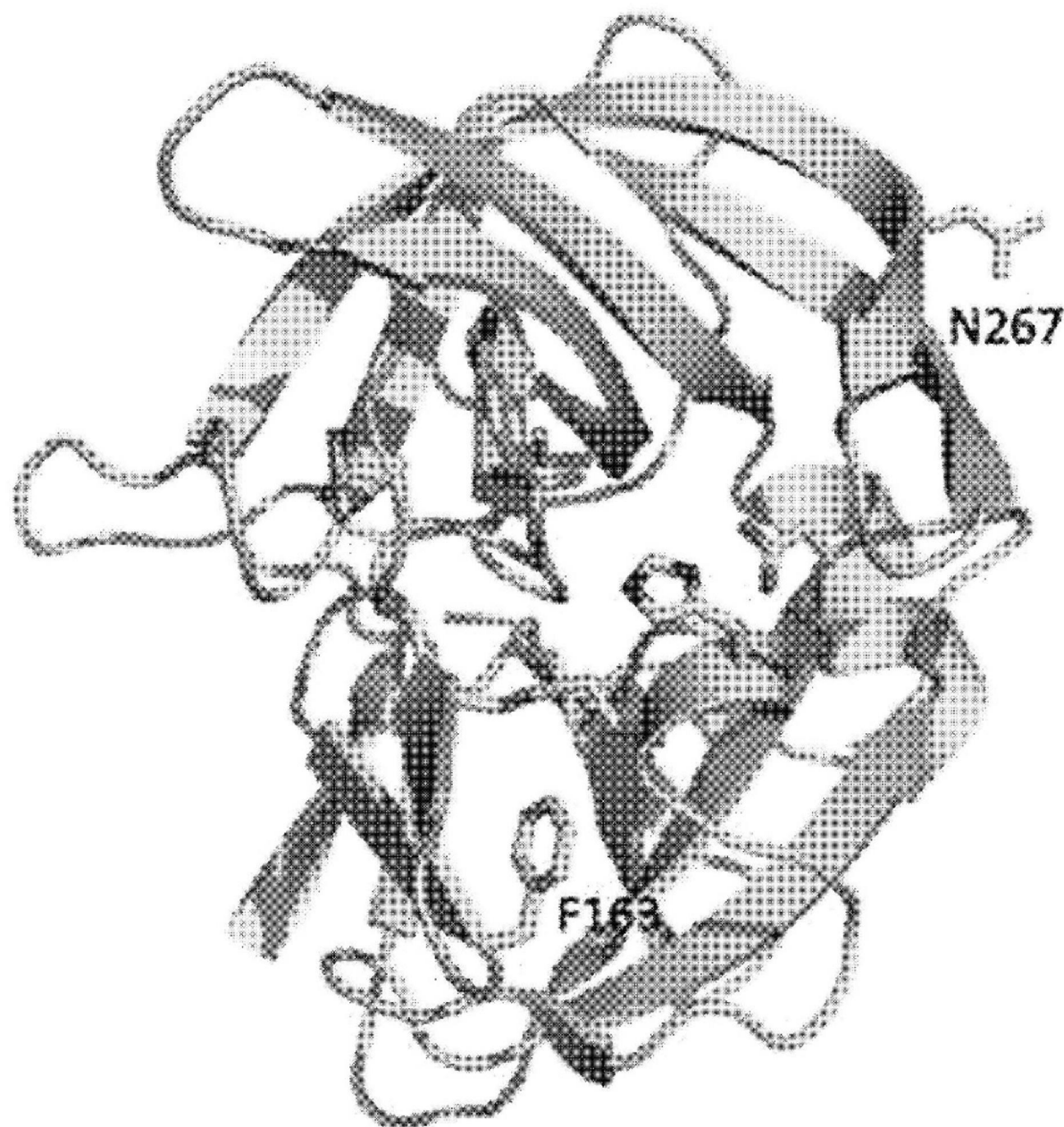
包括該多核苷酸的一載體。

【請求項9】 一種飼料組成物，其包含下述之一者或多者：

如請求項1至4之任一項所述的絲胺酸蛋白酶變異體；以及

表現該變異體的一微生物。

【發明圖式】



【圖1】