



(45) 授权公告日 2015. 11. 25

[illegible]

1. SEQ ID NO :2 的亲本脂肪酶的脂肪酶变体, 相对于 SEQ ID NO :2 的氨基酸序列, 其取代选自下组:

-A150G+T231R+N233R ;
-A150G+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-S58N+V60S+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-S58A+V60A+I86V+A150G+T231R+N233R ;
-Q4V+S58N+V60S+I86V+A150G+T231R+N233R+I255V ;
-Q4V+S58N+V60S+I90A+A150G+T231R+N233R+I255V ;
-S58A+V60S+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-D27R+S58N+V60S+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-V60K+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-Q4V+S58A+V60S+S83T+I86V+A150G+E210K+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-Q4V+V60K+S83T+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-D27R+V60K+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-Q4N+L6S+S58N+V60S+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-E1N+V60K+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-V60K+I86V+A150G+K223N+G225S+T231R+N233R+P256K ;
-Q4V+V60K+A150G+T231R+N233R ;
-V60K+A150G+T231R+N233R+I255V ;
-S58N+V60S+I86V+A150G+E210K+L227G+T231R+N233R+Q249R+P256K ;
-S58N+V60S+I86V+A150G+E210K+L227G+T231R+N233R+I255A+P256K ;
-S58N+V60S+I86V+A150G+G156R+E210+L227G+T231R+N233R+I255A+P256K ;
-S58T+V60K+I86V+N94K+A150G+E210V+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-S58T+V60K+I86V+D102A+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-S58T+V60K+I86V+D102A+A150G+E210V+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-S58T+V60K+S83T+I86V+N94K+A150G+E210V+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-S58A+V60S+I86V+T143S+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K ;
-S58N+V60S+L147M+A150G+F211L+T231R+N233R ;
-V60K+A150G+T231R+N233R。

2. 编码权利要求 1 的脂肪酶变体的 DNA 分子。

3. 携带权利要求 2 的 DNA 分子的表达载体。

4. 包含权利要求 2 的 DNA 分子的转化宿主细胞。

5. 产生脂肪酶变体的方法, 所述方法包含在利于产生脂肪酶变体的条件下培养权利要求 4 的转化宿主细胞, 和从得到的培养液中回收脂肪酶变体。

脂肪酶变体

[0001] 发明领区

[0002] 本发明涉及脂肪酶变体。

背景技术

[0003] 脂肪酶是有用的,例如,作为洗涤剂酶用于从衣物和其它纺织品去除脂质或脂肪沾污,作为用于面包和其它烘焙产品的生面团的添加剂。因此,源自细毛嗜热霉 (*Thermomyces lanuginosus*) (同物异名疏棉状腐质霉 (*Humicolalanuginosa*), EP 258 068 和 EP 305 216) 的脂肪酶以商品名 **Lipolase®** (NovoNordisk A/S 的产品) 以洗涤剂用途出售。WO 0060063 描述了细毛嗜热霉脂肪酶的变体,其在洗涤剂溶液中具有特别优良的初次洗涤性能 (first-washperformance)。WO 9704079、WO 9707202 和 WO 0032758 也公开了细毛嗜热霉脂肪酶的变体。

[0004] 在一些应用中,感兴趣的是将产生气味的短链脂肪酸的形成降至最低。因此,已知的是含有脂肪酶的洗衣洗涤剂有时可能在以牛奶污染的织物上留下残留的气味 (EP 430315)。WO 02062973 公开了脂肪酶变体,其中通过附接 (attaching) C 末端延伸减少了气味的产生。

发明内容

[0005] 发明人发现,通过在脂肪酶的某些区 / 位置引入突变,可改进脂肪酶的性质或特征。

[0006] 在优选实施方案中,本发明涉及用于洗涤剂具有改进性能的脂肪酶。例如,本发明通过在亲本脂肪酶中鉴定的一个或多个区中引入突变而获得的产生气味的倾向降低的变体。在另一个优选实施方案中,本发明提供脂肪酶变体,与亲本脂肪酶相比,其产生气味的可能降低而无 C 末端延伸的附接。

[0007] 在另外的方面中,本发明涉及编码本发明脂肪酶变体的 DNA 序列,携带所述 DNA 序列的表达载体和包含 DNA 序列或表达载体的转化宿主细胞。

[0008] 在另一个方面,本发明提供产生本发明脂肪酶变体的方法。

[0009] 附图简述

[0010] 图 1 显示脂肪酶的比对。

[0011] 序列列表

[0012] SEQ ID NO :1 显示编码来自细毛嗜热霉的脂肪酶的 DNA 序列。

[0013] SEQ ID NO :2 显示来自细毛嗜热霉的脂肪酶的氨基酸序列。

[0014] SEQ ID NO :3 显示来自曲柄犁头霉 (*Absidia reflexa*) 的脂肪酶的氨基酸序列。

[0015] SEQ ID NO :4 显示来自伞状犁头霉 (*Absidia corymbifera*) 的脂肪酶的氨基酸序列。

[0016] SEQ ID NO :5 显示来自曼赫根毛霉 (*Rhizomucor miehei*) 的脂肪酶的氨基酸序列。

[0017] SEQ ID NO :6 显示来自米根霉 (*Rhizopus oryzae*) 的脂肪酶的氨基酸序列。

- [0018] SEQ ID NO:7 显示来自黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 的脂肪酶的氨基酸序列。
- [0019] SEQ ID NO:8 显示来自塔宾曲霉 (*Aspergillus tubigenis*) 的脂肪酶的氨基酸序列。
- [0020] SEQ ID NO:9 显示来自尖镰孢 (*Fusarium oxysporum*) 的脂肪酶的氨基酸序列。
- [0021] SEQ ID NO:10 显示来自异孢镰孢 (*Fusarium heterosporum*) 的脂肪酶的氨基酸序列。
- [0022] SEQ ID NO:11 显示来自米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 的脂肪酶的氨基酸序列。
- [0023] SEQ ID NO:12 显示来自沙门柏干酪青霉 (*Penicillium camembertii*) 的脂肪酶的氨基酸序列。
- [0024] SEQ ID NO:13 显示来自臭曲霉 (*Aspergillus foetidus*) 的脂肪酶的氨基酸序列。
- [0025] SEQ ID NO:14 显示来自黑曲霉的脂肪酶的氨基酸序列。
- [0026] SEQ ID NO:15 显示来自米曲霉的脂肪酶的氨基酸序列。
- [0027] SEQ ID NO:16 显示来自 *Landerina penisapora* 的脂肪酶的氨基酸序列
- [0028] 发明详述
- [0029] 亲本脂肪酶
- [0030] 可以使用任何合适的亲本脂肪酶。在优选实施方案中,亲本脂肪酶可以是真菌脂肪酶。在另一个优选实施方案中,亲本脂肪酶可以与 SEQ ID NO:2 中所示的细毛嗜热霉的序列具有至少 50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或甚至 100% 的同源性,所述同源性如“同源性和比对”部分所定义。
- [0031] 亲本脂肪酶可以是酵母多肽,例如念珠菌属 (*Candida*)、克鲁维酵母属 (*Kluyveromyces*)、毕赤酵母属 (*Pichia*)、酵母属 (*Saccharomyces*)、裂殖酵母属 (*Schizosaccharomyces*) 或西洋蓍霉属 (*Yarrowia*) 多肽;或更优选是丝状真菌多肽,例如枝顶孢霉属 (*Acremonium*)、曲霉属 (*Aspergillus*)、短梗霉属 (*Aureobasidium*)、隐球菌属 (*Cryptococcus*)、*Filobasidium*、镰孢属 (*Fusarium*)、腐质霉属 (*Humicola*)、梨孢菌属 (*Magnaporthe*)、毛霉属 (*Mucor*)、毁丝霉属 (*Myceliophthora*)、新考玛脂霉属 (*Neocallimastix*)、脉孢菌属 (*Neurospora*)、拟青霉属 (*Paecilomyces*)、青霉属 (*Penicillium*)、瘤胃壶菌属 (*Piromyces*)、裂褶菌属 (*Schizophyllum*)、踝节菌属 (*Talaromyces*)、嗜热子囊菌属 (*Thermoascus*)、梭孢壳属 (*Thielavia*)、弯颈霉属 (*Tolypocladium*) 或木霉属 (*Trichoderma*) 多肽。
- [0032] 在优选的方面,亲本脂肪酶是卡尔酵母 (*Saccharomyces carlsbergensis*)、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、糖化酵母 (*Saccharomyces diastaticus*)、道格拉氏酵母 (*Saccharomyces douglasii*)、克鲁弗酵母 (*Saccharomyces kluyveri*)、诺地酵母 (*Saccharomyces norbensis*) 或卵形酵母 (*Saccharomyces oviformis*) 多肽。
- [0033] 在另一个优选的方面,亲本脂肪酶是棘孢曲霉 (*Aspergillus aculeatus*)、泡盛曲霉 (*Aspergillus awamori*)、烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*)、臭曲霉、日本曲霉 (*Aspergillus japonicus*)、构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*)、黑曲霉、米曲霉、塔宾曲霉、杆孢状镰孢 (*Fusarium bactridioides*)、禾谷镰孢 (*Fusarium cerealis*)、库威镰孢 (*Fusarium crookwellense*)、大刀镰孢 (*Fusarium culmorum*)、禾本科镰孢 (*Fusarium graminearum*)、禾赤镰孢 (*Fusarium graminum*)、异孢镰孢、合欢木镰孢 (*Fusarium*

negundi)、尖镰孢、多枝镰孢 (*Fusarium reticulatum*)、粉红镰孢 (*Fusarium roseum*)、接骨木镰孢 (*Fusarium sambucinum*)、肤色镰孢 (*Fusarium sarcocrochrum*)、拟分枝孢镰孢 (*Fusarium sporotrichioides*)、硫色镰孢 (*Fusarium sulphureum*)、圆镰孢 (*Fusarium torulosum*)、拟丝孢镰孢 (*Fusarium trichothecioides*)、镰片镰孢 (*Fusarium venenatum*)、特异腐质霉 (*Humicolain solens*)、细毛嗜热霉 (同物异名:疏棉状腐质霉)、米赫毛霉 (*Mucor miehei*)、嗜热毁丝霉 (*Myceliophthora thermophila*)、粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*)、产紫青霉 (*Penicillium purpurogenum*)、哈茨木霉 (*Trichoderma harzianum*)、康宁木霉 (*Trichoderma koningii*)、长枝木霉 (*Trichoderma longibrachiatum*)、里氏木霉 (*Trichoderma reesei*) 或绿色木霉 (*Trichoderma viride*) 多肽。

[0034] 在另一个优选方面,亲本脂肪酶是嗜热霉属脂肪酶。

[0035] 在更优选的方面,亲本脂肪酶是细毛嗜热霉脂肪酶。在甚至更优选的实施方案中,亲本脂肪酶是 SEQ ID NO :2 的脂肪酶。

[0036] 变体脂肪酶

[0037] 与亲本脂肪酶相比,本发明的脂肪酶变体包含选自下组的至少三个取代:

[0038] a) I 区中的至少两个取代,和

[0039] b) II 区中的至少一个取代,和

[0040] c) III 区中的至少一个取代,和

[0041] d) IV 区中的至少一个取代;

[0042] 且其中,变体具有脂肪酶活性。

[0043] 在优选实施方案中,变体脂肪酶是嗜热霉属脂肪酶的变体,更优选地,细毛嗜热霉脂肪酶的变体,甚至更优选地,SEQ ID NO :2 中所示的细毛嗜热霉脂肪酶的变体。在优选实施方案中,变体脂肪酶与 SEQ ID NO :2 具有至少 50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的同一性。

[0044] 变体脂肪酶可以是由从下述亲本生物之一衍生 / 获得的基因编码的亲本脂肪酶的变体:念珠菌属、克鲁维酵母属、毕赤酵母属、酵母属、裂殖酵母属或西洋蓍霉属,枝顶孢霉属、曲霉属、短梗霉属、隐球菌属、*Filobasidium*、镰孢属、腐质霉属、梨孢菌属、毛霉属、毁丝霉属、新考玛脂霉属、脉孢菌属、拟青霉属、青霉属、瘤胃壶菌属、裂褶菌属、踝节菌属、嗜热子囊菌属、梭孢壳属、弯颈霉属或木霉属。在优选实施方案中,变体脂肪酶与亲本脂肪酶具有至少 50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的同一性,所述亲本脂肪酶由从下述亲本生物之一衍生 / 获得的基因编码:念珠菌属、克鲁维酵母属、毕赤酵母属、酵母属、裂殖酵母属或西洋蓍霉属,枝顶孢霉属、曲霉属、短梗霉属、隐球菌属、*Filobasidium*、镰孢属、腐质霉属、梨孢菌属、毛霉属、毁丝霉属、新考玛脂霉属、脉孢菌属、拟青霉属、青霉属、瘤胃壶菌属、裂褶菌属、踝节菌属、嗜热子囊菌属、梭孢壳属、弯颈霉属或木霉属。

[0045] 在优选的方面,变体脂肪酶是卡尔酵母、酿酒酵母、糖化酵母、道格拉氏酵母、克鲁弗酵母、诺地酵母或卵形酵母的变体。在优选实施方案中,变体脂肪酶与亲本脂肪酶具有至少 50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的同一性,所述亲本脂肪酶由从下述亲本生物之一衍生 / 获得的基因编码:卡尔酵母、酿酒酵母、糖化酵母、道格拉氏酵母、克鲁弗酵母、诺地酵母或卵形酵母。

[0046] 变体脂肪酶可以是由从下述亲本生物之一衍生 / 获得的基因编码的亲本脂肪酶的变体 : 棘孢曲霉、泡盛曲霉、烟曲霉、臭曲霉、日本曲霉、构巢曲霉、黑曲霉、米曲霉、塔宾曲霉、杆孢状镰孢、禾谷镰孢、库威镰孢、大刀镰孢、禾本科镰孢、禾赤镰孢、异孢镰孢、合欢木镰孢、尖镰孢、多枝镰孢、粉红镰孢、接骨木镰孢、肤色镰孢、拟分枝孢镰孢、硫色镰孢、圆镰孢、拟丝孢镰孢、镶片镰孢、特异腐质霉、细毛嗜热霉 (同物异名 : 疏棉状腐质霉)、米赫毛霉、嗜热毁丝霉、粗糙脉孢菌、产紫青霉、哈茨木霉、康宁木霉、长枝木霉、里氏木霉或绿色木霉。在优选实施方案中,变体脂肪酶与亲本脂肪酶具有至少 50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的同一性,所述亲本脂肪酶由从下述亲本生物之一衍生 / 获得的基因编码 : 棘孢曲霉、泡盛曲霉、烟曲霉、臭曲霉、日本曲霉、构巢曲霉、黑曲霉、米曲霉、塔宾曲霉、杆孢状镰孢、禾谷镰孢、库威镰孢、大刀镰孢、禾本科镰孢、禾赤镰孢、异孢镰孢、合欢木镰孢、尖镰孢、多枝镰孢、粉红镰孢、接骨木镰孢、肤色镰孢、拟分枝孢镰孢、硫色镰孢、圆镰孢、拟丝孢镰孢、镶片镰孢、特异腐质霉、细毛嗜热霉 (同物异名 : 疏棉状腐质霉)、米赫毛霉、嗜热毁丝霉、粗糙脉孢菌、产紫青霉、哈茨木霉、康宁木霉、长枝木霉、里氏木霉或绿色木霉。

[0047] 在另一个优选方面,变体是嗜热霉属脂肪酶的变体。

[0048] 在更优选的方面,亲本脂肪酶是细毛嗜热霉脂肪酶。在甚至更优选的实施方案中,亲本脂肪酶是 SEQ ID NO :2 的脂肪酶。

[0049] 区和取代的鉴定

[0050] 下面 I 区至 IV 区中所提及的位置是 SEQ ID NO :2 中氨基酸残基的位置。为了在不同的脂肪酶中发现相应的 (或同源的) 位置,使用“同源性与比对”中所述的过程。

[0051] I 区中的取代

[0052] I 区由 N 末端残基 E1 附近的氨基酸残基组成。在这个区中,优选带更多正电的 (more positive) 氨基酸取代亲本脂肪酶的氨基酸。脂肪酶变体可以在 I 区中包含至少两个取代,比如在 I 区中的三个、四个、五个或六个取代。

[0053] I 区中包含对应于下述位置的氨基酸残基 :1,2 至 11 和 223-239。下述位置是特别感兴趣的 :1、4、8、11、223、227、229、231、233、234、236。

[0054] 具体而言,已经鉴定了以下取代 :X1N/*X4V、X227G、X231R 和 X233R。

[0055] 在优选的实施方案中,变体脂肪酶与 SEQ ID NO :2 具有至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 同一性。

[0056] 在最优选的实施方案中,变体脂肪酶是具有 SEQ ID NO :2 的氨基酸序列的脂肪酶的变体。

[0057] II 区中的取代

[0058] II 区由在酰基链的一侧和醇部分的一侧与底物接触的氨基酸残基组成。在这个区中,优选带更多正电的氨基酸或用疏水性较小的氨基酸来取代亲本脂肪酶的氨基酸。

[0059] 脂肪酶变体可以在 II 区中包含至少一个取代,比如在 II 区中的两个、三个、四个、五个或六个取代。

[0060] II 区中包含对应于下述位置的氨基酸残基 :202 至 211 和 249 至 269。下述位置是特别感兴趣的 :202、210、211、253、254、255、256。

[0061] 具体而言,已经鉴定了以下取代 :X202G、X210K/W/A、X255Y/V/A 和 X256K/R 和

X259G/M/Q/V。

[0062] 在优选实施方案中,变体脂肪酶与 SEQ ID NO :2 具有至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%的同一性。

[0063] 在最优选的实施方案中,变体脂肪酶是具有 SEQ ID NO :2 的氨基酸序列的脂肪酶的变体。

[0064] III 区中的取代

[0065] III 区由形成柔性结构 (flexible structure) 的氨基酸组成,因此允许底物进入活性部位。在这个区中,优选带更多正电的氨基酸或疏水性较小的氨基酸取代亲本脂肪酶的氨基酸。

[0066] 脂肪酶变体可以在 III 区中包含至少一个取代,比如在 III 区中的两个、三个、四个、五个或六个取代。

[0067] III 区中包含对应于下述位置的氨基酸残基 :82 至 102。下述位置是特别感兴趣的 :83、86、87、90、91、95、96、99。

[0068] 具体而言,已经鉴定了以下取代 :X83T、X86V 和 X90A/R。

[0069] 在优选实施方案中,变体脂肪酶与 SEQ ID NO :2 具有至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%的同一性。

[0070] 在最优选的实施方案中,变体脂肪酶是具有 SEQ ID NO :2 的氨基酸序列的脂肪酶的变体。

[0071] IV 区中的取代

[0072] IV 区由与表面以静电结合的氨基酸残基组成。在这个区中,优选带更多正电的氨基酸取代亲本脂肪酶的氨基酸。

[0073] 脂肪酶变体可以在 IV 区中包含至少一个取代,比如在 IV 区中的两个、三个、四个、五个或六个取代。

[0074] IV 区中包含对应于下述位置的氨基酸残基 :27 和 54 至 62。下述位置是特别感兴趣的 :27、56、57、58、60。

[0075] 具体而言,已经鉴定了以下取代 :X27R、X58N/AG/T/P 和 X60V/S/G/N/R/K/A/L。

[0076] 在优选实施方案中,变体脂肪酶与 SEQ ID NO :2 具有至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%的同一性。

[0077] 在最优选的实施方案中,变体脂肪酶是具有 SEQ ID NO :2 的氨基酸序列的脂肪酶的变体。

[0078] 其它位置的氨基酸

[0079] 亲本脂肪酶可以任选地包含其它变化,例如,其它氨基酸的取代,特别是与亲本脂肪酶相比,小于 10 个,小于 9 个,小于 8 个,小于 7 个,小于 6 个,小于 5 个变化。实例是对应于亲本脂肪酶下述位置中一个或多个位置的取代 :24、37、38、46、74、81、83、115、127、131、137、143、147、150、199、200、203、206、211、263、264、265、267 和 269。在特定实施方案中,在对应于位置 81、147、150、227 和 249 的至少一个位置有取代。在优选实施方案中,至少一个取代选自下组 :X38R、X81Q/E、X143S/C/N/D/A、X147M/Y、X150G/K、X227G 和 X249R/I/L。

[0080] 变体可包含在定义的 I 至 IV 区之外取代 ;定义的 I 至 IV 区之外的取代数目优选小于六个,比如五个、四个、三个、两个或一个取代。

[0081] 其它取代可以,例如,根据本领域已知的原则产生,例如 WO 92/05249、WO 94/25577、WO 95/22615、WO 97/04079 和 WO 97/07202 中所述取代。

[0082] 亲本脂肪酶变体

[0083] 亲本脂肪酶包括具有下面的表 1 列出的取代的亲本脂肪酶(使用 SEQ IDNO :2 编号)。

[0084]

I 区	II 区	III 区	IV 区	区之外
X4V+X227G+ X231R+X233R	X210K+X256K	X83T+X86V	X58A+X60S	X150G
X227G+ X231R+X233R	X256K	X86V	X58N+X60S	X150G
X231R+X233R	X255Y			
X231R+X233R	X202G			
X227G+X231R +X233R	X256K	X86V		
X4V+X231R+ X233R			X58N+X60S	
X231R+X233R		X90R	X58N+X60S	
X231R+X233R	X255V	X90A		
X227G+X231R +X233R	X256K	X86V	X58N+X60S	X150G
X231R+X233R	X211L		X58N+X60S	X147M
X231R+X233R				X150K

[0085] 表 1 :

[0086] 在更特定的实施方案中,亲本脂肪酶与 SEQ ID NO :2 相同,而表 1 的变体因此是 :

[0087]

I 区	II 区	III 区	IV 区	区之外
Q4V+L227G+ T231R+N233R	E210K+P256K	S83T+I86V	S58A+V60S	A150G

L227G+T231R +N233R	P256K	I86V	S58N+V60S	A150G
T231R+N233R	I255Y			
T231R+N233R	I202G			
L227G+T231R +N233R	P256K	I86V		
Q4V+T231R+ N233R			S58N+V60S	
T231R+N233R		I90R	S58N+V60S	
T231R+N233R	I255V	I90A		
L227G+T231R +N233R	P256K	I86V	S58N+V60S	A150G
T231R+N233R	F211L		S58N+V60S	L147M
T231R+N233R				A150K

[0088] 表 2 :SEQ ID NO :2 的一些特定变体

[0089] 氨基酸修饰的命名法

[0090] 为了易于参考,在描述本发明的脂肪酶变体时,采用以下命名法:

[0091] 原始氨基酸:位置:取代氨基酸

[0092] 根据这种命名法,例如,在位置 195 中用谷氨酸取代甘氨酸表示为 G195E。在相同的位置缺失甘氨酸表示为 G195*,而插入额外的氨基酸残基例如赖氨酸表示为 G195GK。

[0093] 与其它脂肪酶相比,当特定脂肪酶含有“缺失”并且在该位置进行插入的情况,就在位置 36 插入天冬氨酸而言,将这种情况表示为 *36D。

[0094] 用加号分隔多个突变,即:R170Y+G195E,分别表示在位置 170 用酪氨酸取代精氨酸,和在位置 195 用谷氨酸取代甘氨酸。

[0095] 当应用所述排列方法时,X231 表示在亲本多肽中对应于位置 231 的氨基酸。X231R 表示用 R 置换所述氨基酸。就 SEQ ID NO :2 而言,X 是 T,因此 T231R 表示用 R 取代位置 231 的 T。当某个位置(例如 231)中的氨基酸可以由选自一组氨基酸的另一个氨基酸取代的情况,例如由 R 和 P 和 Y 组成的组,将这种情况表示为 X231R/P/Y。

[0096] 在所有的情况下,采用公认的 IUPAC 单字母或三字母的氨基酸缩写。

[0097] 氨基酸分组

[0098] 在本说明中,根据氨基酸在 pH 10 的电荷,将它们分成带负电的、带正电的或电中性的。因此,带负电的(negative)氨基酸是 E、D、C(半胱氨酸)和 Y,特别是 E 和 D。带正电的(positive)氨基酸是 R、K 和 H,特别是 R 和 K。电中性(neutral)氨基酸是 G、A、V、L、

I、P、F、W、S、T、M、N、Q 和形成二硫桥的部分时的 C。用同一组（带负电、带正电或电中性）中的另一个氨基酸取代称为保守取代。

[0099] 可以将电中性氨基酸分成疏水或非极性（G、A、V、L、I、P、F、W 和作为二硫桥的部分的 C）和亲水或极性（S、T、M、N、Q）。

[0100] 氨基酸同一性

[0101] 参数“同一性”描述两个氨基酸序列之间或两个核苷酸序列之间的相关性。

[0102] 就本发明而言，通过使用来自 EMBOSS 软件包 (<http://emboss.org>) 版本 2.8.0 的 Needle 程序来测定两个氨基酸序列之间的比对。Needle 程序执行总体比对算法，其在 Needleman, S. B. and Wunsch, C. D. (1970) J. Mol. Biol. 48, 443-453 中描述。使用的取代矩阵是 BLOSUM62，缺口开启罚分 (gap opening penalty) 是 10，并且缺口延伸罚分 (gap extension penalty) 是 0.5。

[0103] 本发明的氨基酸序列（“发明序列”；例如 SEQ ID NO:2 的氨基酸 1 至 269）和不同氨基酸序列（“外源序列”）之间的同一性程度如下计算：用两个序列比对中完全匹配的数目除以“发明序列”的长度或“外源序列”的长度中最短的一个。将结果表示为百分比同一性。

[0104] 当“发明序列”和“外源序列”在重叠的相同位置中具有同一氨基酸残基时，发生完全匹配。序列的长度是序列中氨基酸残基的数目（例如 SEQ ID NO:2 的长度是 269）。

[0105] 可以使用上述方法计算同一性和同源性，并用于比对。在本发明的上下文中，同源性和比对如下所述计算。

[0106] 同源性和比对

[0107] 就本发明而言，可以通过本领域已知的计算机程序的方法适当地测定同源性的程度，所述程序例如 GCG 程序包中提供的 GAP (Program Manual for the Wisconsin Package, Version 8, August 1994, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711) (Needleman, S. B. and Wunsch, C. D., (1970), Journal of Molecular Biology, 48, 443-45)，按照用于多肽序列比较的以下设定来使用 GAP：GAP 产生罚分 (GAP creation penalty) 为 3.0，和 GAP 延伸罚分 (GAP extension penalty) 为 0.1。

[0108] 在本发明中，通过图 1 所示的比对确定曲柄犁头霉、伞状犁头霉 (*Absidia corymbifera*)、曼赫根毛霉、德氏根霉、黑曲霉、塔宾曲霉、尖镰孢、异孢镰孢、米曲霉、沙门柏干酪青霉、臭曲霉、黑曲霉、细毛嗜热霉（同物异名：疏棉状腐质霉）和 *Landerinapenisapora* 的脂肪酶序列中相应（或同源）的位置。

[0109] 为了发现所述比对中未显示的脂肪酶序列中的同源位置，将感兴趣的序列与图 1 中显示的序列进行比对。通过使用 GAP 将新序列与 GAP 程序发现的最同源的序列进行比对，来将新序列排入图 1 中的现有比对。GAP 在 GCG 程序包 (Program Manual for the Wisconsin Package, Version 8, August 1994, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711) (Needleman, S. B. and Wunsch, C. D., (1970), Journal of Molecular Biology, 48, 443-45) 中提供。使用以下设置用于多肽序列比较：GAP 产生罚分为 3.0，GAP 延伸罚分为 0.1。

[0110] 杂交

[0111] 本发明还涉及具有脂肪酶活性的分离的多肽，所述分离的多肽由多核苷酸编码，

所述多核苷酸在非常低严紧性条件下,优选低严紧性条件下,更优选中严紧性条件下,更优选中-高严紧性条件下,甚至更优选高严紧性条件下,并且最优选非常高严紧性条件下,与以下杂交:(i)SEQ ID NO:1 的核苷酸 178 至 660, (ii)SEQ ID NO:1 的核苷酸 178 至 660 中包含的 cDNA 序列, (iii) (i) 或 (ii) 的亚序列,或 (iv) (i)、(ii) 或 (iii) 的互补链 (J. Sambrook, E. F. Fritsch, and T. Maniatus, 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2d edition, ColdSpring Harbor, New York)。SEQ ID NO:1 的亚序列含有至少 100 个连续的核苷酸或优选至少 200 个连续的核苷酸。此外,所述亚序列可编码具有脂肪酶活性的多肽片段。

[0112] 对于长度至少 100 个核苷酸的长探针,将非常低至非常高的严紧条件定义为:在 $5\times$ SSPE、0.3% SDS、200 μ g/ml 剪切和变性的鲑精 DNA 中于 42°C 预杂交和杂交,对于非常低和低严紧性,使用 25% 甲酰胺,对于中和中-高严紧性,使用 35% 甲酰胺,或者对于高和非常高严紧性,使用 50% 甲酰胺,根据标准 Southern 印迹方法最佳进行 12 至 24 小时。

[0113] 对于长度至少为 100 个核苷酸的长探针,使用 $2\times$ SSC、0.2% SDS,优选至少在 15°C (非常低严紧性),更优选至少 50°C (低严紧性),更优选至少 55°C (中等严紧性),更优选至少 60°C (中-高严紧性),甚至更优选至少 65°C (高严紧性),和最优选至少 70°C (非常高严紧性)将载体材料最终清洗三次,每次 15 分钟。

[0114] DNA 序列、表达载体、宿主细胞、脂肪酶的产生

[0115] 本发明提供编码本发明的脂肪酶的 DNA 序列,携带该 DNA 序列的表达载体,和包含 DNA 序列或表达载体的转化的宿主细胞。这些可以通过本领域已知的方法获得。

[0116] 本发明还提供通过如下产生脂肪酶的方法:在利于产生脂肪酶的条件下培养转化的宿主细胞,并从所得的培养液中回收脂肪酶。可以根据本领域已知的原理实施所述方法。

[0117] 脂肪酶活性

[0118] 在中性 pH 对三丁精的脂肪酶活性 (LU)

[0119] 通过使用阿拉伯树胶作为乳化剂将三丁酸甘油酯 (tributyrin) (甘油三丁酸酯) 乳化来制备用于脂肪酶的底物。在 pH 7 或 9 在 30°C 水解三丁酸甘油酯,之后进行 pH 恒定的滴定实验。1 单位的脂肪酶活性 (1LU) 等于在 pH 7 能够释放 1 微摩尔丁酸 / 分钟的酶量。

[0120] 效益风险 (Benefit Risk)

[0121] 效益风险因子描述的是与减少的气味风险相比的性能,将其定义为: $BR = RP_{avg}/R$, 如下所述。

[0122] 用途

[0123] 本发明的酶可以具有工业用途,例如,包括在用于去除脂肪物质的洗涤剂组合物中。

[0124] 实施例

[0125] 用作缓冲剂和底物的化学品是至少试剂等级的商业产品。

[0126] 培养基与溶液

[0127] 产品 商品名

[0128] LAS: Surfac PS

[0129] 沸石 A Wessalith P

[0130] 使用的其它组分是标准实验室试剂。

[0131] 材料

[0132] 产品 供应商

[0133] EMPA221 EMPA St.Gallen, Lerchfeldstrasse 5, CH-9014 St.Gallen, Switzerland

[0134] 实施例 1

[0135] 酶的产生

[0136] 使用本领域的标准方法构建含有编码脂肪酶的基因的质粒,并且转化至合适的宿主细胞中。

[0137] 使用温度为 34℃ 的恒定培养基和 1.2 升的起始体积,按照补料分批发酵来进行发酵。将培养基的初始 pH 设为 6.5。一旦 pH 增加至 7.0,通过添加 10% H_3PO_4 来保持该值。通过改变搅拌速率和使用 1.0 升空气每升培养基每分钟的固定通气速率来控制培养基中的溶解氧水平。在整个补料分批阶段过程中,将补料添加速率保持在恒定水平。

[0138] 分批培养基含有麦芽糖糖浆作为碳源,尿素和酵母提取物作为氮源,以及痕量金属和盐的混合物。在补料分批阶段期间连续添加的补料含有麦芽糖糖浆作为碳源,而添加酵母提取物和尿素以确保氮的充足供应。

[0139] 可以通过使用本领域已知的标准方法来进行脂肪酶的纯化,例如通过过滤发酵上清,继之以疏水层析和离子交换层析,例如如 EP 0 851 913 EP,实施例 3 中所述。

[0140] 实施例 2

[0141] AMSA- 自动化机械应力试验 - 用于计算相对性能 (RP)

[0142] 使用自动机械应力试验 (Automatic Mechanical Stress Assay ;AMSA) 测试本申请的酶变体。使用 AMSA 测试,能够检查大量小体积酶洗涤剂溶液的洗涤性能。AMSA 平板具有用于测试溶液的多个槽 (slot),和将待洗涤的纺织品样品相对于所有槽的开口 (slot opening) 压紧的盖。在洗涤时间中,剧烈摇动平板、测试溶液、纺织品和盖以使测试溶液与纺织品接触并且施以机械应力。进一步的描述参见 WO 02/42740,特别是第 23-24 页的段落“特殊方法实施方式”。含有洗涤剂测试溶液的容器由金属平板中的圆柱形孔洞 (直径 6mm, 深 10mm) 组成。沾污的织物 (测试材料) 放置在金属平板顶部,并将沾污的织物用作盖子密封在所述容器上。另一个金属平板放置在沾污织物的顶部以避免从各个容器中的任何溢出。以 2mm 振幅和 30Hz 的频率将两块金属平板连同沾污织物上下振动。

[0143] 在下文指定的实验条件下进行所述试验:

[0144]

测试溶液	0.5g/l LAS 0.52g/l Na_2CO_3 1.07g/l 沸石 A 0.52g/l 柠檬酸三钠 ($Na_3Citrat$)
测试溶液体积	160 微升
pH	不予改变 (as is) (≈ 9.9)

清洗时间	20 分钟
温度	30℃
水的硬度	15° dH Ca ²⁺ /Mg ²⁺ /NaHCO ₃ 比例 :4 : 1 : 7.5
测试溶液中的酶浓度	0.125, 0.25, 0.50, 1.0mg ep/l
干燥	性能 :清洗后,织物片立刻用自来水冲洗,在 85℃空气干燥 5 分钟 气味 :清洗后,织物片立即用自来水冲洗,在室温 (20℃) 干燥 2 小时
测试材料	如下所述的奶油姜黄样品 (使用 EMPA221 作为棉布纺织品)

[0145] 表 3

[0146] 通过将 5g 姜黄 (Santa Maria, Denmark) 与 100g 奶油 (38%脂肪, Arla, Denmark) 在 50℃混合来制备奶油-姜黄样品,将所述混合物在该温度保持大约 20 分钟,并且过滤 (50℃) 以去除任何未溶解的颗粒。将混合物冷却至 20℃,并且将编织的棉布样品 EMPA221 浸入所述奶油-姜黄混合物,之后允许其在室温干燥过夜,并且冷冻直到使用。奶油-姜黄样品的制备在专利申请 W02006/125437 中公开。

[0147] 将酶变体的性能作为用特定酶变体洗涤的纺织品样品的颜色亮度来测量。也可以将亮度表示为当用白光照射时,从纺织品样品反射的光的强度。当纺织品被沾污时,反射光的强度与清洁纺织品的反射光强度相比较低。因此,能够使用反射光的强度来测量酶变体的洗涤性能。

[0148] 使用专业平板扫描仪 (PFU DL2400pro) 进行颜色测量,使用该扫描仪来捕捉经洗涤纺织品样品的图像。使用 200dpi 的分辨率和 24 比特 (bit) 的输出色深度来进行扫描。为了获得精确的结果,经常性地使用 Kodak 反射 IT8 指标 (target) 校准扫描仪。

[0149] 为了从扫描的图像提取光强度的值,使用特殊设计的软件应用程序 (Novozymes Color Vector Analyzer)。该程序从所述图像恢复 24 比特像素值,并且将它们转化为红、绿和蓝的值 (RGB)。通过将 RGB 值加在一起作为矢量,再取所得矢量的长度来计算强度值 (Int) :

$$[0150] \quad Int = \sqrt{r^2 + g^2 + b^2}$$

[0151] 根据下式计算变体的洗涤性能 (P) :

$$[0152] \quad P = Int(v) - Int(r)$$

[0153] 其中

[0154] Int(v) 是用酶洗涤的纺织品表面的光强度值,和

[0155] Int(r) 是不用酶洗涤的纺织品表面的光强度值。

[0156] 根据以下定义,给出相对性能评分作为 AMSA 洗涤的结果:

[0157] 相对性能评分 (RP) 概括了测试酶变体相对于参照酶的性能 (P):

[0158] $RP = P(\text{测试酶}) / P(\text{参照酶})$

[0159] RP_{avg} 表示在全部四种酶浓度 (0.125、0.25、0.5、1.0mg ep/l) 时,与参照酶相比的平均相对性能。

[0160] $RP_{avg} = \text{avg}(RP(0.125), RP(0.25), RP(0.5), RP(1.0))$

[0161] 如果变体表现优于参照,则认为变体呈现出改进的洗涤性能。

[0162] 在本发明的上下文中,参照酶是具有取代 T231R+N233R 的 SEQ ID NO:2 的脂肪酶。

[0163] 实施例 3

[0164] GC- 气相色谱 - 用于计算风险因子

[0165] 使用以下方法通过 Solid Phase Micro Extraction Gas Chromatography (SPME-GC) 测量来自经脂肪酶洗涤的样品的丁酸释放。将在含有 1mg/L 脂肪酶的表 3 中指定溶液中洗涤的四个纺织品片 (直径 5mm) 转移至气相层析 (GC) 瓶。在装备有 Stabilwax-DA w/Integra-Guard 柱 (30m, 0.32mm ID 和 0.25 微米 df) 和 Carboxen PDMS SPME 纤维 (75 微米) 的 Varian 3800GC 上分析样品。将各个样品在 40℃ 预温育 10 分钟,接着用 SPME 纤维在纺织品片之上的顶部空间 (head space) 进行 20 分钟采样。继而将样品注射到柱上 (注射器温度 = 250℃)。柱流速 = 2ml 氦 / 分钟。柱加热炉温度梯度: 0 分钟 = 40℃, 2 分钟 = 40℃, 22 分钟 = 240℃, 32 分钟 = 240℃。由 FID 检测法检测出丁酸,并且基于丁酸标准曲线来计算丁酸的量。

[0166] 脂肪酶变体的风险性能气味 (Risk Performance Odour) R 是:经脂肪酶变体洗涤的样品所释放的丁酸量和使用具有取代 T231R+N233R 的 SEQ ID NO:2 的脂肪酶洗涤的样品所释放的丁酸量之间的比例,在计算比例之前将这两个值根据无脂肪酶洗涤的样品所释放的丁酸量进行修正。根据下式计算变体的风险 (R):

[0167] 气味 = 以相对于空白校正的在 1mg 酶蛋白 / 升产生的微克丁酸测量

[0168] $\text{Alpha}_{\text{测试酶}} = \text{气味}_{\text{测试酶}} - \text{空白}$

[0169] $\text{Alpha}_{\text{参照酶}} = \text{气味}_{\text{参照酶}} - \text{空白}$

[0170] $R = \text{Alpha}_{\text{测试酶}} / \text{Alpha}_{\text{参照酶}}$

[0171] 如果 R 因子小于 1,则认为变体与参照相比表现出减少的气味。

[0172] 实施例 4

[0173] 相对于 280nm 吸光度的活性 (LU)

[0174] 通过以下试验来测定相对于 280nm 吸光度的脂肪酶活性:

[0175] LU/A280:

[0176] 如上面脂肪酶活性部分所述,确定脂肪酶的活性。测量脂肪酶在 280nm 的吸光度 (A280),并且计算比例 LU/A280。用变体的 LU/A280 除以参照酶的 LU/A280 来计算相对 LU/A280。在本发明的上下文中,参照酶是具有取代 T231R+N233R 的 SEQ ID NO:2 的脂肪酶。

[0177] 实施例 5

[0178] BR- 效益风险

[0179] 效益风险因子描述的是与减少的气味风险相比的性能,因此将其定义为:

[0180] $BR = RP_{avg} / R$

[0181] 如果 BR 因子高于 1, 则认为变体显示出改进的洗涤性能和减少的气味。

[0182] 应用以上方法获得了以下结果：

[0183]

变体	SEQ ID NO :2 中的突变	平均 RP (RP_{avg})	BR	LU/A280
1	I202G+T231R+N233R	0.84	1.41	未测
2	I86V+L227G+T231R+N233R +P256K	1.08	1.52	1700
3	Q4V+S58N+V60S+T231R+ N233R	0.87	1.73	1950
4	S58N+V60S+I90R+T231R+ N233R	1.06	1.27	2250
5	I255Y+T231R+N233R	1.19	1.17	3600
6	I90A+T231R+N233R+I255V	1.13	1.14	2700
参照	T231R+N233R	1.00	1.00	3650
7	G91A+E99K+T231R+N233R+ Q249R+270H+271T+272P+ 273S+274S+275G+276R+ 277G+278G+279H+280R	0.43	未测	850
8	G91A+E99K+T231R, N233R+ Q249R+270H+271T+272P+ 273S+274S+275G+276R+ 277G+278G	0.13	未测	500

[0184] 表 4

[0185] 表 4 中的参照脂肪酶和变体 7 与 8 如 WO 2000/060063 中所述。

[0186] 实施例 6

[0187] BR- 效益风险

[0188] 测定列于表 5 中所列变体的效益风险。用与实施例 5 中所述相同的方法测定效益

风险因子, 并发现所有列出的变体, 效益风险因子都大于 1。

[0189]

变体	SEQ ID NO :2 中的突变
参照	T231R+N233R
9	L97V+T231R+N233R
10	A150G+T231R+N233R
11	I90R+T231R+N233R
12	I202V+T231R+N233R
13	L227G+T231R+N233R+P256K
14	I90A+T231R+N233R
15	T231R+N233R+I255P
16	I90V+I255V+T231R+N233R
17	F211L+L227G+T231R+N233R+I255L+P256K
18	S58N+V60S+T231R+N233R+Q249L
19	S58N+V60S+T231R+N233R+Q249I
20	A150G+L227G+T231R+N233R+P256K
21	K46L+S58N+V60S+T231R+N233R+Q249L+D254I
22	Q4L+E43T+K46I+S58N+V60S+T231R+N233R+Q249L+D254I
23	Q4L+S58N+V60S+T231R+N233R+Q249L+D254I
24	K46I+S58N+V60S+T231R+N233R+Q249L+D254L
25	K46L+S58N+V60S+K223I+T231R+N233R+D254I
26	E43T+K46I+S58N+V60S+T231R+N233R+Q249L+D254I
27	S58N+V60S+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K
28	K24R+K46R+K74R+I86V+K98R+K127R+D137K+A150G+K223R+T231R+N233R

29	S58A+V60A+I86V+T231R+N233R
30	K24R+K46R+S58N+V60S+K74R+I86V+K98R+K127R+ D137K+K223R+T231R+N233R
31	S58A+V60A+I86V+A150G+T231R+N233R
32	S58N+V60V+D62G+T231R+N233R
33	Q4V+S58N+V60S+I86V+T231R+N233R+Q249L

[0190]

34	Q4V+S58N+V60S+I86V+A150G+T231R+N233R+I255V
35	Q4V+S58N+V60S+I90A+A150G+T231R+N233R+I255V
36	Y53A+S58N+V60S+T231R+N233R+P256L
37	I202L+T231R+N233R+I255A
38	S58A+V60S+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K
39	D27R+S58N+V60S+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+ P256K
40	V60K+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K
41	Q4V+S58A+V60S+S83T+I86V+A150G+E210K+L227G+ T231R+N233R+P256K
42	Q4V+V60K+S83T+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+ P256K
43	D27R+V60K+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K
44	Q4N+L6S+S58N+V60S+I86V+A150G+L227G+T231R+ N233R+P256K
45	E1N+V60K+I86V+A150G+L227G+T231R+N233R+P256K
46	V60K+I86V+A150G+K223N+G225S+T231R+N233R+P256K
47	E210V+T231R+N233R+Q249R
48	S58N+V60S+E210V+T231R+N233R+Q249R

49	Q4V+V60K+I90R+T231R+N233R+I255V
50	Q4V+V60K+A150G+T231R+N233R
51	V60K+S83T+T231R+N233R
52	V60K+A150G+T231R+N233R+I255V
53	T231R+N233G+D234G
54	S58N+V60S+I86V+A150G+E210K+L227G+T231R+N233R+ Q249R+P256K
55	S58N+V60S+I86V+A150G+E210K+L227G+T231R+N233R+ I255A+P256K
56	S58N+V60S+I86V+A150G+G156R+E210K+L227G+T231R+ N233R+I255A+P256K
57	S58T+V60K+I86V+N94K+A150G+E210V+L227G+T231R+ N233R+P256K
58	S58T+V60K+I86V+D102A+A150G+L227G+T231R+N233R+ P256K
59	S58T+V60K+I86V+D102A+A150G+E210V+L227G+T231R+

[0191]

	N233R+P256K
60	S58T+V60K+S83T+I86V+N94K+A150G+E210V+L227G+ T231R+N233R+P256K
61	S58A+V60S+I86V+T143S+A150G+L227G+T231R+N233R+ P256K
62	G91S+D96V+D254R
63	V60L+G91M+T231W+Q249L
64	T37A+D96A+T231R+N233R+Q249G
65	E56G+E87D+T231R+N233R+D254A
66	E210K+T231R+N233R

67	D27H+E87Q+D96N+T231R+N233R+D254V
68	F181L+E210V+T231R+N233R
69	D27N+D96G+T231R+N233R
70	D96N+T231R+N233R
71	T231R+N233I+D234G
72	S58K+V60L+E210V+Q249R
73	S58H+V60L+E210V+Q249R
74	Q4V+F55V+I86V+T231R+N233R+I255V
75	Q4V+S58T+V60K+T199L+N200A+E210K+T231R+N233R+ I255A+P256K
76	Q4V+D27N+V60K+T231R+N233R
77	I90F+I202P+T231R+N233R+I255L
78	S58N+V60S+D158N+T231R+N233R
79	S58N+V60S+S 115K+T231R+N233R
80	S58N+V60S+L147M+A150G+F211L+T231R+N233R
81	V60K+A150G+T231R+N233R
82	I90V+L227G+T231R+N233R+P256K
83	T231R+N233R+I255S
84	I86G+T231R+N233R
85	V60K+I202V+E210K+T231R+N233R+I255A+P256K
86	I90G+I202L+T231R+N233R+I255S
87	S58G+V60G+T231R+N233R

[0192] 表 5

[0193] 参照酶如 WO 2000/060063 中所述。

[0001]	序列表	
[0002]	<110> 诺维信公司 (Novozymes A/S)	
[0003]	诺维信股份有限公司 (Novozymes, Inc.)	
[0004]	<120> 脂肪酶变体	
[0005]	<130>10928. 204-W0	
[0006]	<160>18	
[0007]	<170>PatentIn version 3.4	
[0008]	<210>1	
[0009]	<211>807	
[0010]	<212>DNA	
[0011]	<213> 细毛嗜热霉 (Thermomyces lanuginosus)	
[0012]	<220>	
[0013]	<221>CDS	
[0014]	<222>(1).. (807)	
[0015]	<220>	
[0016]	<221>mat_peptide	
[0017]	<222>(1).. ()	
[0018]	<400>1	
[0019]	gag gtc tcg cag gat ctg ttt aac cag ttc aat ctc ttt gca cag tat	48
[0020]	Glu Val Ser Gln Asp Leu Phe Asn Gln Phe Asn Leu Phe Ala Gln Tyr	
[0021]	1 5 10 15	
[0022]	tct gca gcc gca tac tgc gga aaa aac aat gat gcc cca gct ggt aca	96
[0023]	Ser Ala Ala Ala Tyr Cys Gly Lys Asn Asn Asp Ala Pro Ala Gly Thr	
[0024]	20 25 30	
[0025]	aac att acg tgc acg gga aat gcc tgc ccc gag gta gag aag gcg gat	144
[0026]	Asn Ile Thr Cys Thr Gly Asn Ala Cys Pro Glu Val Glu Lys Ala Asp	
[0027]	35 40 45	
[0028]	gca acg ttt ctc tac tcg ttt gaa gac tct gga gtg ggc gat gtc acc	192
[0029]	Ala Thr Phe Leu Tyr Ser Phe Glu Asp Ser Gly Val Gly Asp Val Thr	
[0030]	50 55 60	
[0031]	ggc ttc ctt gct ctc gac aac acg aac aaa ttg atc gtc ctc tct ttc	240
[0032]	Gly Phe Leu Ala Leu Asp Asn Thr Asn Lys Leu Ile Val Leu Ser Phe	
[0033]	65 70 75 80	
[0034]	cgt ggc tct cgt tcc ata gag aac tgg atc ggg aat ctt aac ttc gac	288
[0035]	Arg Gly Ser Arg Ser Ile Glu Asn Trp Ile Gly Asn Leu Asn Phe Asp	
[0036]	85 90 95	
[0037]	ttg aaa gaa ata aat gac att tgc tcc ggc tgc agg gga cat gac ggc	336
[0038]	Leu Lys Glu Ile Asn Asp Ile Cys Ser Gly Cys Arg Gly His Asp Gly	

[0039]	100	105	110	
[0040]	ttc act tgc tcc tgg agg tct gta gcc gat acg tta agg cag aag gtg			384
[0041]	Phe Thr Ser Ser Trp Arg Ser Val Ala Asp Thr Leu Arg Gln Lys Val			
[0042]	115	120	125	
[0043]	gag gat gct gtg agg gag cat ccc gac tat cgc gtg gtg ttt acc gga			432
[0044]	Glu Asp Ala Val Arg Glu His Pro Asp Tyr Arg Val Val Phe Thr Gly			
[0045]	130	135	140	
[0046]	cat agc ttg ggt ggt gca ttg gca act gtt gcc gga gca gac ctg cgt			480
[0047]	His Ser Leu Gly Gly Ala Leu Ala Thr Val Ala Gly Ala Asp Leu Arg			
[0048]	145	150	155	160
[0049]	gga aat ggg tat gat atc gac gtg ttt tca tat ggc gcc ccc cga gtc			528
[0050]	Gly Asn Gly Tyr Asp Ile Asp Val Phe Ser Tyr Gly Ala Pro Arg Val			
[0051]	165	170	175	
[0052]	gga aac agg gct ttt gca gaa ttc ctg acc gta cag acc ggc gga aca			576
[0053]	Gly Asn Arg Ala Phe Ala Glu Phe Leu Thr Val Gln Thr Gly Gly Thr			
[0054]	180	185	190	
[0055]	ctc tac cgc att acc cac acc aat gat att gtc cct aga ctc ccg ccg			624
[0056]	Leu Tyr Arg Ile Thr His Thr Asn Asp Ile Val Pro Arg Leu Pro Pro			
[0057]	195	200	205	
[0058]	cgc gaa ttc ggt tac agc cat tct agc cca gag tac tgg atc aaa tct			672
[0059]	Arg Glu Phe Gly Tyr Ser His Ser Ser Pro Glu Tyr Trp Ile Lys Ser			
[0060]	210	215	220	
[0061]	gga acc ctt gtc ccc gtc acc cga aac gat atc gtg aag ata gaa ggc			720
[0062]	Gly Thr Leu Val Pro Val Thr Arg Asn Asp Ile Val Lys Ile Glu Gly			
[0063]	225	230	235	240
[0064]	atc gat gcc acc ggc ggc aat aac cag cct aac att ccg gat atc cct			768
[0065]	Ile Asp Ala Thr Gly Gly Asn Asn Gln Pro Asn Ile Pro Asp Ile Pro			
[0066]	245	250	255	
[0067]	gcg cac cta tgg tac ttc ggg tta att ggg aca tgt ctt			807
[0068]	Ala His Leu Trp Tyr Phe Gly Leu Ile Gly Thr Cys Leu			
[0069]	260	265		
[0070]	<210>2			
[0071]	<211>269			
[0072]	<212>PRT			
[0073]	<213> 细毛嗜热霉 (Thermomyces lanuginosus)			
[0074]	<400>2			
[0075]	Glu Val Ser Gln Asp Leu Phe Asn Gln Phe Asn Leu Phe Ala Gln Tyr			
[0076]	1	5	10	15
[0077]	Ser Ala Ala Ala Tyr Cys Gly Lys Asn Asn Asp Ala Pro Ala Gly Thr			

[0078]	20	25	30
[0079]	Asn Ile Thr Cys Thr Gly Asn Ala Cys Pro Glu Val Glu Lys Ala Asp		
[0080]	35	40	45
[0081]	Ala Thr Phe Leu Tyr Ser Phe Glu Asp Ser Gly Val Gly Asp Val Thr		
[0082]	50	55	60
[0083]	Gly Phe Leu Ala Leu Asp Asn Thr Asn Lys Leu Ile Val Leu Ser Phe		
[0084]	65	70	75
[0085]	Arg Gly Ser Arg Ser Ile Glu Asn Trp Ile Gly Asn Leu Asn Phe Asp		
[0086]	85	90	95
[0087]	Leu Lys Glu Ile Asn Asp Ile Cys Ser Gly Cys Arg Gly His Asp Gly		
[0088]	100	105	110
[0089]	Phe Thr Ser Ser Trp Arg Ser Val Ala Asp Thr Leu Arg Gln Lys Val		
[0090]	115	120	125
[0091]	Glu Asp Ala Val Arg Glu His Pro Asp Tyr Arg Val Val Phe Thr Gly		
[0092]	130	135	140
[0093]	His Ser Leu Gly Gly Ala Leu Ala Thr Val Ala Gly Ala Asp Leu Arg		
[0094]	145	150	155
[0095]	Gly Asn Gly Tyr Asp Ile Asp Val Phe Ser Tyr Gly Ala Pro Arg Val		
[0096]	165	170	175
[0097]	Gly Asn Arg Ala Phe Ala Glu Phe Leu Thr Val Gln Thr Gly Gly Thr		
[0098]	180	185	190
[0099]	Leu Tyr Arg Ile Thr His Thr Asn Asp Ile Val Pro Arg Leu Pro Pro		
[0100]	195	200	205
[0101]	Arg Glu Phe Gly Tyr Ser His Ser Ser Pro Glu Tyr Trp Ile Lys Ser		
[0102]	210	215	220
[0103]	Gly Thr Leu Val Pro Val Thr Arg Asn Asp Ile Val Lys Ile Glu Gly		
[0104]	225	230	235
[0105]	Ile Asp Ala Thr Gly Gly Asn Asn Gln Pro Asn Ile Pro Asp Ile Pro		
[0106]	245	250	255
[0107]	Ala His Leu Trp Tyr Phe Gly Leu Ile Gly Thr Cys Leu		
[0108]	260	265	
[0109]	<210>3		
[0110]	<211>265		
[0111]	<212>PRT		
[0112]	<213> 曲柄犁头霉 (Absidia reflexa)		
[0113]	<400>3		
[0114]	Ser Ser Ser Ser Thr Gln Asp Tyr Arg Ile Ala Ser Glu Ala Glu Ile		
[0115]	1	5	10
[0116]	Lys Ala His Thr Phe Tyr Thr Ala Leu Ser Ala Asn Ala Tyr Cys Arg		

[0117]	20	25	30
[0118]	Thr Val Ile Pro Gly Gly Arg Trp Ser Cys Pro His Cys Gly Val Ala		
[0119]	35	40	45
[0120]	Ser Asn Leu Gln Ile Thr Lys Thr Phe Ser Thr Leu Ile Thr Asp Thr		
[0121]	50	55	60
[0122]	Asn Val Leu Val Ala Val Gly Glu Lys Glu Lys Thr Ile Tyr Val Val		
[0123]	65	70	75
[0124]	Phe Arg Gly Thr Ser Ser Ile Arg Asn Ala Ile Ala Asp Ile Val Phe		
[0125]	85	90	95
[0126]	Val Pro Val Asn Tyr Pro Pro Val Asn Gly Ala Lys Val His Lys Gly		
[0127]	100	105	110
[0128]	Phe Leu Asp Ser Tyr Asn Glu Val Gln Asp Lys Leu Val Ala Glu Val		
[0129]	115	120	125
[0130]	Lys Ala Gln Leu Asp Arg His Pro Gly Tyr Lys Ile Val Val Thr Gly		
[0131]	130	135	140
[0132]	His Ser Leu Gly Gly Ala Thr Ala Val Leu Ser Ala Leu Asp Leu Tyr		
[0133]	145	150	155
[0134]	His His Gly His Ala Asn Ile Glu Ile Tyr Thr Gln Gly Gln Pro Arg		
[0135]	165	170	175
[0136]	Ile Gly Thr Pro Ala Phe Ala Asn Tyr Val Ile Gly Thr Lys Ile Pro		
[0137]	180	185	190
[0138]	Tyr Gln Arg Leu Val His Glu Arg Asp Ile Val Pro His Leu Pro Pro		
[0139]	195	200	205
[0140]	Gly Ala Phe Gly Phe Leu His Ala Gly Glu Glu Phe Trp Ile Met Lys		
[0141]	210	215	220
[0142]	Asp Ser Ser Leu Arg Val Cys Pro Asn Gly Ile Glu Thr Asp Asn Cys		
[0143]	225	230	235
[0144]	Ser Asn Ser Ile Val Pro Phe Thr Ser Val Ile Asp His Leu Ser Tyr		
[0145]	245	250	255
[0146]	Leu Asp Met Asn Thr Gly Leu Cys Leu		
[0147]	260	265	
[0148]	<210>4		
[0149]	<211>264		
[0150]	<212>PRT		
[0151]	<213> 伞状犁头霉 (<i>Absidia corymbifera</i>)		
[0152]	<400>4		
[0153]	Ser Ser Ser Thr Gln Asp Tyr Arg Ile Ala Ser Glu Ala Glu Ile Lys		
[0154]	1	5	10
[0155]	Ala His Thr Phe Tyr Thr Ala Leu Ser Ala Asn Ala Tyr Cys Arg Thr		15

[0156]	20	25	30
[0157]	Val Ile Pro Gly Gly Gln Trp Ser Cys Pro His Cys Asp Val Ala Pro		
[0158]	35	40	45
[0159]	Asn Leu Asn Ile Thr Lys Thr Phe Thr Thr Leu Ile Thr Asp Thr Asn		
[0160]	50	55	60
[0161]	Val Leu Val Ala Val Gly Glu Asn Glu Lys Thr Ile Tyr Val Val Phe		
[0162]	65	70	75
[0163]	Arg Gly Thr Ser Ser Ile Arg Asn Ala Ile Ala Asp Ile Val Phe Val		
[0164]	85	90	95
[0165]	Pro Val Asn Tyr Pro Pro Val Asn Gly Ala Lys Val His Lys Gly Phe		
[0166]	100	105	110
[0167]	Leu Asp Ser Tyr Asn Glu Val Gln Asp Lys Leu Val Ala Glu Val Lys		
[0168]	115	120	125
[0169]	Ala Gln Leu Asp Arg His Pro Gly Tyr Lys Ile Val Val Thr Gly His		
[0170]	130	135	140
[0171]	Ser Leu Gly Gly Ala Thr Ala Val Leu Ser Ala Leu Asp Leu Tyr His		
[0172]	145	150	155
[0173]	His Gly His Asp Asn Ile Glu Ile Tyr Thr Gln Gly Gln Pro Arg Ile		
[0174]	165	170	175
[0175]	Gly Thr Pro Glu Phe Ala Asn Tyr Val Ile Gly Thr Lys Ile Pro Tyr		
[0176]	180	185	190
[0177]	Gln Arg Leu Val Asn Glu Arg Asp Ile Val Pro His Leu Pro Pro Gly		
[0178]	195	200	205
[0179]	Ala Phe Gly Phe Leu His Ala Gly Glu Glu Phe Trp Ile Met Lys Asp		
[0180]	210	215	220
[0181]	Ser Ser Leu Arg Val Cys Pro Asn Gly Ile Glu Thr Asp Asn Cys Ser		
[0182]	225	230	235
[0183]	Asn Ser Ile Val Pro Phe Thr Ser Val Ile Asp His Leu Ser Tyr Leu		
[0184]	245	250	255
[0185]	Asp Met Asn Thr Gly Leu Cys Leu		
[0186]	260		
[0187]	<210>5		
[0188]	<211>269		
[0189]	<212>PRT		
[0190]	<213> 曼赫根毛霉 (Rhizmucor miehei)		
[0191]	<400>5		
[0192]	Ser Ile Asp Gly Gly Ile Arg Ala Ala Thr Ser Gln Glu Ile Asn Glu		
[0193]	1	5	10
[0194]	Leu Thr Tyr Tyr Thr Thr Leu Ser Ala Asn Ser Tyr Cys Arg Thr Val		

[0195]	20	25	30
[0196]	Ile Pro Gly Ala Thr Trp Asp Cys Ile His Cys Asp Ala Thr Glu Asp		
[0197]	35	40	45
[0198]	Leu Lys Ile Ile Lys Thr Trp Ser Thr Leu Ile Tyr Asp Thr Asn Ala		
[0199]	50	55	60
[0200]	Met Val Ala Arg Gly Asp Ser Glu Lys Thr Ile Tyr Ile Val Phe Arg		
[0201]	65	70	75
[0202]	Gly Ser Ser Ser Ile Arg Asn Trp Ile Ala Asp Leu Thr Phe Val Pro		
[0203]	85	90	95
[0204]	Val Ser Tyr Pro Pro Val Ser Gly Thr Lys Val His Lys Gly Phe Leu		
[0205]	100	105	110
[0206]	Asp Ser Tyr Gly Glu Val Gln Asn Glu Leu Val Ala Thr Val Leu Asp		
[0207]	115	120	125
[0208]	Gln Phe Lys Gln Tyr Pro Ser Tyr Lys Val Ala Val Thr Gly His Ser		
[0209]	130	135	140
[0210]	Leu Gly Gly Ala Thr Ala Leu Leu Cys Ala Leu Asp Leu Tyr Gln Arg		
[0211]	145	150	155
[0212]	Glu Glu Gly Leu Ser Ser Ser Asn Leu Phe Leu Tyr Thr Gln Gly Gln		
[0213]	165	170	175
[0214]	Pro Arg Val Gly Asp Pro Ala Phe Ala Asn Tyr Val Val Ser Thr Gly		
[0215]	180	185	190
[0216]	Ile Pro Tyr Arg Arg Thr Val Asn Glu Arg Asp Ile Val Pro His Leu		
[0217]	195	200	205
[0218]	Pro Pro Ala Ala Phe Gly Phe Leu His Ala Gly Glu Glu Tyr Trp Ile		
[0219]	210	215	220
[0220]	Thr Asp Asn Ser Pro Glu Thr Val Gln Val Cys Thr Ser Asp Leu Glu		
[0221]	225	230	235
[0222]	Thr Ser Asp Cys Ser Asn Ser Ile Val Pro Phe Thr Ser Val Leu Asp		
[0223]	245	250	255
[0224]	His Leu Ser Tyr Phe Gly Ile Asn Thr Gly Leu Cys Thr		
[0225]	260	265	
[0226]	<210>6		
[0227]	<211>271		
[0228]	<212>PRT		
[0229]	<213> 米根霉 (Rhizopus oryzae)		
[0230]	<400>6		
[0231]	Ser Ala Ser Asp Gly Gly Lys Val Val Ala Ala Thr Thr Ala Gln Ile		
[0232]	1	5	10
[0233]	Gln Glu Phe Thr Lys Tyr Ala Gly Ile Ala Ala Thr Ala Tyr Cys Arg		

[0234]	20	25	30
[0235]	Ser Val Val Pro Gly Asn Lys Trp Asp Cys Val Gln Cys Gln Lys Trp		
[0236]	35	40	45
[0237]	Val Pro Asp Gly Lys Ile Ile Thr Thr Phe Thr Ser Leu Leu Ser Asp		
[0238]	50	55	60
[0239]	Thr Asn Gly Tyr Val Leu Arg Ser Asp Lys Gln Lys Thr Ile Tyr Leu		
[0240]	65	70	75
[0241]	Val Phe Arg Gly Thr Asn Ser Phe Arg Ser Ala Ile Thr Asp Ile Val		
[0242]	85	90	95
[0243]	Phe Asn Phe Ser Asp Tyr Lys Pro Val Lys Gly Ala Lys Val His Ala		
[0244]	100	105	110
[0245]	Gly Phe Leu Ser Ser Tyr Glu Gln Val Val Asn Asp Tyr Phe Pro Val		
[0246]	115	120	125
[0247]	Val Gln Glu Gln Leu Thr Ala His Pro Thr Tyr Lys Val Ile Val Thr		
[0248]	130	135	140
[0249]	Gly His Ser Leu Gly Gly Ala Gln Ala Leu Leu Ala Gly Met Asp Leu		
[0250]	145	150	155
[0251]	Tyr Gln Arg Glu Pro Arg Leu Ser Pro Lys Asn Leu Ser Ile Phe Thr		
[0252]	165	170	175
[0253]	Val Gly Gly Pro Arg Val Gly Asn Pro Thr Phe Ala Tyr Tyr Val Glu		
[0254]	180	185	190
[0255]	Ser Thr Gly Ile Pro Phe Gln Arg Thr Val His Lys Arg Asp Ile Val		
[0256]	195	200	205
[0257]	Pro His Val Pro Pro Gln Ser Phe Gly Phe Leu His Pro Gly Val Glu		
[0258]	210	215	220
[0259]	Ser Trp Ile Lys Ser Gly Thr Ser Asn Val Gln Ile Cys Thr Ser Glu		
[0260]	225	230	235
[0261]	Ile Glu Thr Lys Asp Cys Ser Asn Ser Ile Val Pro Phe Thr Ser Ile		
[0262]	245	250	255
[0263]	Leu Asp His Leu Ser Tyr Phe Asp Ile Asn Glu Gly Ser Cys Leu		
[0264]	260	265	270
[0265]	<210>7		
[0266]	<211>267		
[0267]	<212>PRT		
[0268]	<213> 黑曲霉 (Aspergillus niger)		
[0269]	<400>7		
[0270]	Thr Ala Gly His Ala Leu Ala Ala Ser Thr Gln Gly Ile Ser Glu Asp		
[0271]	1	5	10
[0272]	Leu Tyr Ser Arg Leu Val Glu Met Ala Thr Ile Ser Gln Ala Ala Tyr		

[0273]	20	25	30
[0274]	Ala Asp Leu Cys Asn Ile Pro Ser Thr Ile Ile Lys Gly Glu Lys Ile		
[0275]	35	40	45
[0276]	Tyr Asn Ser Gln Thr Asp Ile Asn Gly Trp Ile Leu Arg Asp Asp Ser		
[0277]	50	55	60
[0278]	Ser Lys Glu Ile Ile Thr Val Phe Arg Gly Thr Gly Ser Asp Thr Asn		
[0279]	65	70	75
[0280]	Leu Gln Leu Asp Thr Asn Tyr Thr Leu Thr Pro Phe Asp Thr Leu Pro		
[0281]	85	90	95
[0282]	Gln Cys Asn Gly Cys Glu Val His Gly Gly Tyr Tyr Ile Gly Trp Val		
[0283]	100	105	110
[0284]	Ser Val Gln Asp Gln Val Glu Ser Leu Val Lys Gln Gln Val Ser Gln		
[0285]	115	120	125
[0286]	Tyr Pro Asp Tyr Ala Leu Thr Val Thr Gly His Ser Leu Gly Ala Ser		
[0287]	130	135	140
[0288]	Leu Ala Ala Leu Thr Ala Ala Gln Leu Ser Ala Thr Tyr Asp Asn Ile		
[0289]	145	150	155
[0290]	Arg Leu Tyr Thr Phe Gly Glu Pro Arg Ser Gly Asn Gln Ala Phe Ala		
[0291]	165	170	175
[0292]	Ser Tyr Met Asn Asp Ala Phe Gln Ala Ser Ser Pro Asp Thr Thr Gln		
[0293]	180	185	190
[0294]	Tyr Phe Arg Val Thr His Ala Asn Asp Gly Ile Pro Asn Leu Pro Pro		
[0295]	195	200	205
[0296]	Val Glu Gln Gly Tyr Ala His Gly Gly Val Glu Tyr Trp Ser Val Asp		
[0297]	210	215	220
[0298]	Pro Tyr Ser Ala Gln Asn Thr Phe Val Cys Thr Gly Asp Glu Val Gln		
[0299]	225	230	235
[0300]	Cys Cys Glu Ala Gln Gly Gly Gln Gly Val Asn Asn Ala His Thr Thr		
[0301]	245	250	255
[0302]	Tyr Phe Gly Met Thr Ser Gly Ala Cys Thr Trp		
[0303]	260	265	
[0304]	<210>8		
[0305]	<211>266		
[0306]	<212>PRT		
[0307]	<213> 塔宾曲霉 (<i>Aspergillus tubigensis</i>)		
[0308]	<400>8		
[0309]	Thr Ala Gly His Ala Leu Ala Ala Ser Thr Gln Gly Ile Ser Glu Asp		
[0310]	1	5	10
[0311]	Leu Tyr Ser Arg Leu Val Glu Met Ala Thr Ile Ser Gln Ala Ala Tyr		15

[0312]	20	25	30
[0313]	Ala Asp Leu Cys Asn Ile Pro Ser Thr Ile Ile Lys Gly Glu Lys Ile		
[0314]	35	40	45
[0315]	Tyr Asn Ser Gln Thr Asp Ile Asn Gly Trp Ile Leu Arg Asp Asp Ser		
[0316]	50	55	60
[0317]	Ser Lys Glu Ile Ile Thr Val Phe Arg Gly Thr Gly Ser Asp Thr Asn		
[0318]	65	70	75
[0319]	Leu Gln Leu Asp Thr Asn Tyr Thr Leu Thr Pro Phe Asp Thr Leu Pro		
[0320]	85	90	95
[0321]	Gln Cys Asn Ser Cys Glu Val His Gly Gly Tyr Tyr Ile Gly Trp Ile		
[0322]	100	105	110
[0323]	Ser Val Gln Asp Gln Val Glu Ser Leu Val Gln Gln Gln Val Ser Gln		
[0324]	115	120	125
[0325]	Phe Pro Asp Tyr Ala Leu Thr Val Thr Gly His Ser Leu Gly Ala Ser		
[0326]	130	135	140
[0327]	Leu Ala Ala Leu Thr Ala Ala Gln Leu Ser Ala Thr Tyr Asp Asn Ile		
[0328]	145	150	155
[0329]	Arg Leu Tyr Thr Phe Gly Glu Pro Arg Ser Asn Gln Ala Phe Ala Ser		
[0330]	165	170	175
[0331]	Tyr Met Asn Asp Ala Phe Gln Ala Ser Ser Pro Asp Thr Thr Gln Tyr		
[0332]	180	185	190
[0333]	Phe Arg Val Thr His Ala Asn Asp Gly Ile Pro Asn Leu Pro Pro Ala		
[0334]	195	200	205
[0335]	Asp Glu Gly Tyr Ala His Gly Val Val Glu Tyr Trp Ser Val Asp Pro		
[0336]	210	215	220
[0337]	Tyr Ser Ala Gln Asn Thr Phe Val Cys Thr Gly Asp Glu Val Gln Cys		
[0338]	225	230	235
[0339]	Cys Glu Ala Gln Gly Gly Gln Gly Val Asn Asn Ala His Thr Thr Tyr		
[0340]	245	250	255
[0341]	Phe Gly Met Thr Ser Gly His Cys Thr Trp		
[0342]	260	265	
[0343]	<210>9		
[0344]	<211>276		
[0345]	<212>PRT		
[0346]	<213>尖镰孢 (Fusarium oxysporum)		
[0347]	<400>9		
[0348]	Ala Val Gly Val Thr Thr Thr Asp Phe Ser Asn Phe Lys Phe Tyr Ile		
[0349]	1	5	10
[0350]	Gln His Gly Ala Ala Ala Tyr Cys Asn Ser Glu Ala Ala Ala Gly Ser		

[0351]	20	25	30
[0352]	Lys Ile Thr Cys Ser Asn Asn Gly Cys Pro Thr Val Gln Gly Asn Gly		
[0353]	35	40	45
[0354]	Ala Thr Ile Val Thr Ser Phe Val Gly Ser Lys Thr Gly Ile Gly Gly		
[0355]	50	55	60
[0356]	Tyr Val Ala Thr Asp Ser Ala Arg Lys Glu Ile Val Val Ser Phe Arg		
[0357]	65	70	75
[0358]	Gly Ser Ile Asn Ile Arg Asn Trp Leu Thr Asn Leu Asp Phe Gly Gln		
[0359]	85	90	95
[0360]	Glu Asp Cys Ser Leu Val Ser Gly Cys Gly Val His Ser Gly Phe Gln		
[0361]	100	105	110
[0362]	Arg Ala Trp Asn Glu Ile Ser Ser Gln Ala Thr Ala Ala Val Ala Ser		
[0363]	115	120	125
[0364]	Ala Arg Lys Ala Asn Pro Ser Phe Asn Val Ile Ser Thr Gly His Ser		
[0365]	130	135	140
[0366]	Leu Gly Gly Ala Val Ala Val Leu Ala Ala Ala Asn Leu Arg Val Gly		
[0367]	145	150	155
[0368]	Gly Thr Pro Val Asp Ile Tyr Thr Tyr Gly Ser Pro Arg Val Gly Asn		
[0369]	165	170	175
[0370]	Ala Gln Leu Ser Ala Phe Val Ser Asn Gln Ala Gly Gly Glu Tyr Arg		
[0371]	180	185	190
[0372]	Val Thr His Ala Asp Asp Pro Val Pro Arg Leu Pro Pro Leu Ile Phe		
[0373]	195	200	205
[0374]	Gly Tyr Arg His Thr Thr Pro Glu Phe Trp Leu Ser Gly Gly Gly Gly		
[0375]	210	215	220
[0376]	Asp Lys Val Asp Tyr Thr Ile Ser Asp Val Lys Val Cys Glu Gly Ala		
[0377]	225	230	235
[0378]	Ala Asn Leu Gly Cys Asn Gly Gly Thr Leu Gly Leu Asp Ile Ala Ala		
[0379]	245	250	255
[0380]	His Leu His Tyr Phe Gln Ala Thr Asp Ala Cys Asn Ala Gly Gly Phe		
[0381]	260	265	270
[0382]	Ser Trp Arg Arg		
[0383]	275		
[0384]	<210>10		
[0385]	<211>273		
[0386]	<212>PRT		
[0387]	<213> 异孢镰孢 (Fusarium heterosporum)		
[0388]	<400>10		
[0389]	Thr Val Thr Thr Gln Asp Leu Ser Asn Phe Arg Phe Tyr Leu Gln His		

[0390]	1	5	10	15
[0391]	Ala Asp Ala Ala Tyr Cys Asn Phe Asn Thr Ala Val Gly Lys Pro Val			
[0392]	20	25	30	
[0393]	His Cys Ser Ala Gly Asn Cys Pro Asp Ile Glu Lys Asp Ala Ala Ile			
[0394]	35	40	45	
[0395]	Val Val Gly Ser Val Val Gly Thr Lys Thr Gly Ile Gly Ala Tyr Val			
[0396]	50	55	60	
[0397]	Ala Thr Asp Asn Ala Arg Lys Glu Ile Val Val Ser Val Arg Gly Ser			
[0398]	65	70	75	80
[0399]	Ile Asn Val Arg Asn Trp Ile Thr Asn Phe Asn Phe Gly Gln Lys Thr			
[0400]	85	90	95	
[0401]	Cys Asp Leu Val Ala Gly Cys Gly Val His Thr Gly Phe Leu Asp Ala			
[0402]	100	105	110	
[0403]	Trp Glu Glu Val Ala Ala Asn Val Lys Ala Ala Val Ser Ala Ala Lys			
[0404]	115	120	125	
[0405]	Thr Ala Asn Pro Thr Phe Lys Phe Val Val Thr Gly His Ser Leu Gly			
[0406]	130	135	140	
[0407]	Gly Ala Val Ala Thr Ile Ala Ala Ala Tyr Leu Arg Lys Asp Gly Phe			
[0408]	145	150	155	160
[0409]	Pro Phe Asp Leu Tyr Thr Tyr Gly Ser Pro Arg Val Gly Asn Asp Phe			
[0410]	165	170	175	
[0411]	Phe Ala Asn Phe Val Thr Gln Gln Thr Gly Ala Glu Tyr Arg Val Thr			
[0412]	180	185	190	
[0413]	His Gly Asp Asp Pro Val Pro Arg Leu Pro Pro Ile Val Phe Gly Tyr			
[0414]	195	200	205	
[0415]	Arg His Thr Ser Pro Glu Tyr Trp Leu Asn Gly Gly Pro Leu Asp Lys			
[0416]	210	215	220	
[0417]	Asp Tyr Thr Val Thr Glu Ile Lys Val Cys Glu Gly Ile Ala Asn Val			
[0418]	225	230	235	240
[0419]	Met Cys Asn Gly Gly Thr Ile Gly Leu Asp Ile Leu Ala His Ile Thr			
[0420]	245	250	255	
[0421]	Tyr Phe Gln Ser Met Ala Thr Cys Ala Pro Ile Ala Ile Pro Trp Lys			
[0422]	260	265	270	
[0423]	Arg			
[0424]	<210>11			
[0425]	<211>278			
[0426]	<212>PRT			
[0427]	<213> 米曲霉 (Aspergillus oryzae)			
[0428]	<400>11			

[0429]	Asp Ile Pro Thr Thr Gln Leu Glu Asp Phe Lys Phe Trp Val Gln Tyr
[0430]	1 5 10 15
[0431]	Ala Ala Ala Thr Tyr Cys Pro Asn Asn Tyr Val Ala Lys Asp Gly Glu
[0432]	20 25 30
[0433]	Lys Leu Asn Cys Ser Val Gly Asn Cys Pro Asp Val Glu Ala Ala Gly
[0434]	35 40 45
[0435]	Ser Thr Val Lys Leu Ser Phe Ser Asp Asp Thr Ile Thr Asp Thr Ala
[0436]	50 55 60
[0437]	Gly Phe Val Ala Val Asp Asn Thr Asn Lys Ala Ile Val Val Ala Phe
[0438]	65 70 75 80
[0439]	Arg Gly Ser Tyr Ser Ile Arg Asn Trp Val Thr Asp Ala Thr Phe Pro
[0440]	85 90 95
[0441]	Gln Thr Asp Pro Gly Leu Cys Asp Gly Cys Lys Ala Glu Leu Gly Phe
[0442]	100 105 110
[0443]	Trp Thr Ala Trp Lys Val Val Arg Asp Arg Ile Ile Lys Thr Leu Asp
[0444]	115 120 125
[0445]	Glu Leu Lys Pro Glu His Ser Asp Tyr Lys Ile Val Val Val Gly His
[0446]	130 135 140
[0447]	Ser Leu Gly Ala Ala Ile Ala Ser Leu Ala Ala Ala Asp Leu Arg Thr
[0448]	145 150 155 160
[0449]	Lys Asn Tyr Asp Ala Ile Leu Tyr Ala Tyr Ala Ala Pro Arg Val Ala
[0450]	165 170 175
[0451]	Asn Lys Pro Leu Ala Glu Phe Ile Thr Asn Gln Gly Asn Asn Tyr Arg
[0452]	180 185 190
[0453]	Phe Thr His Asn Asp Asp Pro Val Pro Lys Leu Pro Leu Leu Thr Met
[0454]	195 200 205
[0455]	Gly Tyr Val His Ile Ser Pro Glu Tyr Tyr Ile Thr Ala Pro Asp Asn
[0456]	210 215 220
[0457]	Thr Thr Val Thr Asp Asn Gln Val Thr Val Leu Asp Gly Tyr Val Asn
[0458]	225 230 235 240
[0459]	Phe Lys Gly Asn Thr Gly Thr Ser Gly Gly Leu Pro Asp Leu Leu Ala
[0460]	245 250 255
[0461]	Phe His Ser His Val Trp Tyr Phe Ile His Ala Asp Ala Cys Lys Gly
[0462]	260 265 270
[0463]	Pro Gly Leu Pro Leu Arg
[0464]	275
[0465]	<210>12
[0466]	<211>278
[0467]	<212>PRT

[0468]	<213> 沙门柏干酪青霉 (<i>Penicilium camembertii</i>)															
[0469]	<400>12															
[0470]	Asp	Val	Ser	Thr	Ser	Glu	Leu	Asp	Gln	Phe	Glu	Phe	Trp	Val	Gln	Tyr
[0471]	1				5					10					15	
[0472]	Ala	Ala	Ala	Ser	Tyr	Tyr	Glu	Ala	Asp	Tyr	Thr	Ala	Gln	Val	Gly	Asp
[0473]					20					25					30	
[0474]	Lys	Leu	Ser	Cys	Ser	Lys	Gly	Asn	Cys	Pro	Glu	Val	Glu	Ala	Thr	Gly
[0475]					35					40					45	
[0476]	Ala	Thr	Val	Ser	Tyr	Asp	Phe	Ser	Asp	Ser	Thr	Ile	Thr	Asp	Thr	Ala
[0477]					50					55					60	
[0478]	Gly	Tyr	Ile	Ala	Val	Asp	His	Thr	Asn	Ser	Ala	Val	Val	Leu	Ala	Phe
[0479]	65					70					75				80	
[0480]	Arg	Gly	Ser	Tyr	Ser	Val	Arg	Asn	Trp	Val	Ala	Asp	Ala	Thr	Phe	Val
[0481]						85					90				95	
[0482]	His	Thr	Asn	Pro	Gly	Leu	Cys	Asp	Gly	Cys	Leu	Ala	Glu	Leu	Gly	Phe
[0483]					100					105					110	
[0484]	Trp	Ser	Ser	Trp	Lys	Leu	Val	Arg	Asp	Asp	Ile	Ile	Lys	Glu	Leu	Lys
[0485]					115					120					125	
[0486]	Glu	Val	Val	Ala	Gln	Asn	Pro	Asn	Tyr	Glu	Leu	Val	Val	Val	Gly	His
[0487]					130					135					140	
[0488]	Ser	Leu	Gly	Ala	Ala	Val	Ala	Thr	Leu	Ala	Ala	Thr	Asp	Leu	Arg	Gly
[0489]	145					150					155				160	
[0490]	Lys	Gly	Tyr	Pro	Ser	Ala	Lys	Leu	Tyr	Ala	Tyr	Ala	Ser	Pro	Arg	Val
[0491]						165					170				175	
[0492]	Gly	Asn	Ala	Ala	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Thr	Ala	Gln	Gly	Asn	Asn	Phe
[0493]					180						185				190	
[0494]	Arg	Phe	Thr	His	Thr	Asn	Asp	Pro	Val	Pro	Lys	Leu	Pro	Leu	Leu	Ser
[0495]					195						200				205	
[0496]	Met	Gly	Tyr	Val	His	Val	Ser	Pro	Glu	Tyr	Trp	Ile	Thr	Ser	Pro	Asn
[0497]					210						215				220	
[0498]	Asn	Ala	Thr	Val	Ser	Thr	Ser	Asp	Ile	Lys	Val	Ile	Asp	Gly	Asp	Val
[0499]	225					230					235				240	
[0500]	Ser	Phe	Asp	Gly	Asn	Thr	Gly	Thr	Gly	Leu	Pro	Leu	Leu	Thr	Asp	Phe
[0501]						245					250				255	
[0502]	Glu	Ala	His	Ile	Trp	Tyr	Phe	Val	Gln	Val	Asp	Ala	Gly	Lys	Gly	Pro
[0503]					260						265				270	
[0504]	Gly	Leu	Pro	Phe	Lys	Arg										
[0505]						275										
[0506]	<210>13															

[0507]	<211>270															
[0508]	<212>PRT															
[0509]	<213> 臭曲霉 (<i>Aspergillus foetidus</i>)															
[0510]	<400>13															
[0511]	Ser	Val	Ser	Thr	Ser	Thr	Leu	Asp	Glu	Leu	Gln	Leu	Phe	Ala	Gln	Trp
[0512]	1				5					10					15	
[0513]	Ser	Ala	Ala	Ala	Tyr	Cys	Ser	Asn	Asn	Ile	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Asn
[0514]					20					25					30	
[0515]	Leu	Thr	Cys	Thr	Ala	Asn	Ala	Cys	Pro	Ser	Val	Glu	Glu	Ala	Ser	Thr
[0516]					35					40					45	
[0517]	Thr	Met	Leu	Leu	Glu	Phe	Asp	Leu	Thr	Asn	Asp	Phe	Gly	Gly	Thr	Ala
[0518]					50					55					60	
[0519]	Gly	Phe	Leu	Ala	Ala	Asp	Asn	Thr	Asn	Lys	Arg	Leu	Val	Val	Ala	Phe
[0520]	65					70					75					80
[0521]	Arg	Gly	Ser	Ser	Thr	Ile	Glu	Asn	Trp	Ile	Ala	Asn	Leu	Asp	Phe	Ile
[0522]						85					90					95
[0523]	Leu	Glu	Asp	Asn	Asp	Asp	Leu	Cys	Thr	Gly	Cys	Lys	Val	His	Thr	Gly
[0524]						100					105					110
[0525]	Phe	Trp	Lys	Ala	Trp	Glu	Ser	Ala	Ala	Asp	Glu	Leu	Thr	Ser	Lys	Ile
[0526]						115					120				125	
[0527]	Lys	Ser	Ala	Met	Ser	Thr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Thr	Leu	Tyr	Phe	Thr	Gly
[0528]						130					135					140
[0529]	His	Ser	Leu	Gly	Gly	Ala	Leu	Ala	Thr	Leu	Gly	Ala	Thr	Val	Leu	Arg
[0530]	145						150					155				160
[0531]	Asn	Asp	Gly	Tyr	Ser	Val	Glu	Leu	Tyr	Thr	Tyr	Gly	Cys	Pro	Arg	Ile
[0532]						165						170				175
[0533]	Gly	Asn	Tyr	Ala	Leu	Ala	Glu	His	Ile	Thr	Ser	Gln	Gly	Ser	Gly	Ala
[0534]						180						185				190
[0535]	Asn	Phe	Arg	Val	Thr	His	Leu	Asn	Asp	Ile	Val	Pro	Arg	Val	Pro	Pro
[0536]						195						200				205
[0537]	Met	Asp	Phe	Gly	Phe	Ser	Gln	Pro	Ser	Pro	Glu	Tyr	Trp	Ile	Thr	Ser
[0538]						210						215				220
[0539]	Gly	Asn	Gly	Ala	Ser	Val	Thr	Ala	Ser	Asp	Ile	Glu	Val	Ile	Glu	Gly
[0540]	225						230					235				240
[0541]	Ile	Asn	Ser	Thr	Ala	Gly	Asn	Ala	Gly	Glu	Ala	Thr	Val	Ser	Val	Leu
[0542]						245						250				255
[0543]	Ala	His	Leu	Trp	Tyr	Phe	Phe	Ala	Ile	Ser	Glu	Cys	Leu	Leu		
[0544]						260						265				270
[0545]	<210>14															

[0546]	<211>270
[0547]	<212>PRT
[0548]	<213> 黑曲霉
[0549]	<400>14
[0550]	Ser Val Ser Thr Ser Thr Leu Asp Glu Leu Gln Leu Phe Ser Gln Trp
[0551]	1 5 10 15
[0552]	Ser Ala Ala Ala Tyr Cys Ser Asn Asn Ile Asp Ser Asp Asp Ser Asn
[0553]	20 25 30
[0554]	Val Thr Cys Thr Ala Asp Ala Cys Pro Ser Val Glu Glu Ala Ser Thr
[0555]	35 40 45
[0556]	Lys Met Leu Leu Glu Phe Asp Leu Thr Asn Asn Phe Gly Gly Thr Ala
[0557]	50 55 60
[0558]	Gly Phe Leu Ala Ala Asp Asn Thr Asn Lys Arg Leu Val Val Ala Phe
[0559]	65 70 75 80
[0560]	Arg Gly Ser Ser Thr Ile Lys Asn Trp Ile Ala Asp Leu Asp Phe Ile
[0561]	85 90 95
[0562]	Leu Gln Asp Asn Asp Asp Leu Cys Thr Gly Cys Lys Val His Thr Gly
[0563]	100 105 110
[0564]	Phe Trp Lys Ala Trp Glu Ala Ala Ala Asp Asn Leu Thr Ser Lys Ile
[0565]	115 120 125
[0566]	Lys Ser Ala Met Ser Thr Tyr Ser Gly Tyr Thr Leu Tyr Phe Thr Gly
[0567]	130 135 140
[0568]	His Ser Leu Gly Gly Ala Leu Ala Thr Leu Gly Ala Thr Val Leu Arg
[0569]	145 150 155 160
[0570]	Asn Asp Gly Tyr Ser Val Glu Leu Tyr Thr Tyr Gly Cys Pro Arg Val
[0571]	165 170 175
[0572]	Gly Asn Tyr Ala Leu Ala Glu His Ile Thr Ser Gln Gly Ser Gly Ala
[0573]	180 185 190
[0574]	Asn Phe Pro Val Thr His Leu Asn Asp Ile Val Pro Arg Val Pro Pro
[0575]	195 200 205
[0576]	Met Asp Phe Gly Phe Ser Gln Pro Ser Pro Glu Tyr Trp Ile Thr Ser
[0577]	210 215 220
[0578]	Gly Thr Gly Ala Ser Val Thr Ala Ser Asp Ile Glu Leu Ile Glu Gly
[0579]	225 230 235 240
[0580]	Ile Asn Ser Thr Ala Gly Asn Ala Gly Glu Ala Thr Val Asp Val Leu
[0581]	245 250 255
[0582]	Ala His Leu Trp Tyr Phe Phe Ala Ile Ser Glu Cys Leu Leu
[0583]	260 265 270
[0584]	<210>15

[0585]	<211>269															
[0586]	<212>PRT															
[0587]	<213> 米曲霉															
[0588]	<400>15															
[0589]	Asp	Val	Ser	Ser	Ser	Leu	Leu	Asn	Asn	Leu	Asp	Leu	Phe	Ala	Gln	Tyr
[0590]	1				5					10					15	
[0591]	Ser	Ala	Ala	Ala	Tyr	Cys	Asp	Glu	Asn	Leu	Asn	Ser	Thr	Gly	Thr	Lys
[0592]					20					25					30	
[0593]	Leu	Thr	Cys	Ser	Val	Gly	Asn	Cys	Pro	Leu	Val	Glu	Ala	Ala	Ser	Thr
[0594]					35					40					45	
[0595]	Gln	Ser	Leu	Asp	Glu	Phe	Asn	Glu	Ser	Ser	Ser	Tyr	Gly	Asn	Pro	Ala
[0596]		50						55					60			
[0597]	Gly	Tyr	Leu	Ala	Ala	Asp	Glu	Thr	Asn	Lys	Leu	Leu	Val	Leu	Ser	Phe
[0598]	65					70					75					80
[0599]	Arg	Gly	Ser	Ala	Asp	Leu	Ala	Asn	Trp	Val	Ala	Asn	Leu	Asn	Phe	Gly
[0600]					85					90					95	
[0601]	Leu	Glu	Asp	Ala	Ser	Asp	Leu	Cys	Ser	Gly	Cys	Glu	Val	His	Ser	Gly
[0602]					100					105					110	
[0603]	Phe	Trp	Lys	Ala	Trp	Ser	Glu	Ile	Ala	Asp	Thr	Ile	Thr	Ser	Lys	Val
[0604]					115					120					125	
[0605]	Glu	Ser	Ala	Leu	Ser	Asp	His	Ser	Asp	Tyr	Ser	Leu	Val	Leu	Thr	Gly
[0606]		130						135					140			
[0607]	His	Ser	Tyr	Gly	Ala	Ala	Leu	Ala	Ala	Leu	Ala	Ala	Thr	Ala	Leu	Arg
[0608]	145					150					155					160
[0609]	Asn	Ser	Gly	His	Ser	Val	Glu	Leu	Tyr	Asn	Tyr	Gly	Gln	Pro	Arg	Leu
[0610]					165						170				175	
[0611]	Gly	Asn	Glu	Ala	Leu	Ala	Thr	Tyr	Ile	Thr	Asp	Gln	Asn	Lys	Gly	Gly
[0612]					180						185				190	
[0613]	Asn	Tyr	Arg	Val	Thr	His	Thr	Asn	Asp	Ile	Val	Pro	Lys	Leu	Pro	Pro
[0614]					195					200				205		
[0615]	Thr	Leu	Leu	Gly	Tyr	His	His	Phe	Ser	Pro	Glu	Tyr	Tyr	Ile	Ser	Ser
[0616]		210						215					220			
[0617]	Ala	Asp	Glu	Ala	Thr	Val	Thr	Thr	Thr	Asp	Val	Thr	Glu	Val	Thr	Gly
[0618]	225					230					235					240
[0619]	Ile	Asp	Ala	Thr	Gly	Gly	Asn	Asp	Gly	Thr	Asp	Gly	Thr	Ser	Ile	Asp
[0620]					245						250				255	
[0621]	Ala	His	Arg	Trp	Tyr	Phe	Ile	Tyr	Ile	Ser	Glu	Cys	Ser			
[0622]					260						265					
[0623]	<210>16															

[0624] <211>251
 [0625] <212>PRT
 [0626] <213>Landerina penisapora
 [0627] <400>16
 [0628] Pro Gln Asp Ala Tyr Thr Ala Ser His Ala Asp Leu Val Lys Tyr Ala
 [0629] 1 5 10 15
 [0630] Thr Tyr Ala Gly Leu Ala Tyr Gln Thr Thr Asp Ala Trp Pro Ala Ser
 [0631] 20 25 30
 [0632] Arg Thr Val Pro Lys Asp Thr Thr Leu Ile Ser Ser Phe Asp His Thr
 [0633] 35 40 45
 [0634] Leu Lys Gly Ser Ser Gly Tyr Ile Ala Phe Asn Glu Pro Cys Lys Glu
 [0635] 50 55 60
 [0636] Ile Ile Val Ala Tyr Arg Gly Thr Asp Ser Leu Ile Asp Trp Leu Thr
 [0637] 65 70 75 80
 [0638] Asn Leu Asn Phe Asp Lys Thr Ala Trp Pro Ala Asn Ile Ser Asn Ser
 [0639] 85 90 95
 [0640] Leu Val His Glu Gly Phe Leu Asn Ala Tyr Leu Val Ser Met Gln Gln
 [0641] 100 105 110
 [0642] Val Gln Glu Ala Val Asp Ser Leu Leu Ala Lys Cys Pro Asp Ala Thr
 [0643] 115 120 125
 [0644] Ile Ser Phe Thr Gly His Ser Leu Gly Gly Ala Leu Ala Cys Ile Ser
 [0645] 130 135 140
 [0646] Met Val Asp Thr Ala Gln Arg His Arg Gly Ile Lys Met Gln Met Phe
 [0647] 145 150 155 160
 [0648] Thr Tyr Gly Gln Pro Arg Thr Gly Asn Gln Ala Phe Ala Glu Tyr Val
 [0649] 165 170 175
 [0650] Glu Asn Leu Gly His Pro Val Phe Arg Val Val Tyr Arg His Asp Ile
 [0651] 180 185 190
 [0652] Val Pro Arg Met Pro Pro Met Asp Leu Gly Phe Gln His His Gly Gln
 [0653] 195 200 205
 [0654] Glu Val Trp Tyr Glu Gly Asp Glu Asn Ile Lys Phe Cys Lys Gly Glu
 [0655] 210 215 220
 [0656] Gly Glu Asn Leu Thr Cys Glu Leu Gly Val Pro Phe Ser Glu Leu Asn
 [0657] 225 230 235 240
 [0658] Ala Lys Asp His Ser Glu Tyr Pro Gly Met His
 [0659] 245 250
 [0660] <210>17
 [0661] <211>12
 [0662] <212>PRT

[0663] <213> 人工的
[0664] <220>
[0665] <223> 用于比对的序列
[0666] <400>17
[0667] Ala Cys Met Ser His Thr Trp Gly Glu Arg Asn Leu
[0668] 1 5 10
[0669] <210>18
[0670] <211>14
[0671] <212>PRT
[0672] <213> 人工的
[0673] <220>
[0674] <223> 用于比对的序列
[0675] <400>18
[0676] His Gly Trp Gly Glu Asp Ala Asn Leu Ala Met Asn Pro Ser
[0677] 1 5 10

```

ID NO 1: SSSSTQDYRIASEAEIKAHTFYTALSANA
ID NO 2: SSSTQDYRIASEAEIKAHTFYTALSANA
ID NO 3: SIDGGIRAATSQEINELTYTTLSANS
ID NO 4: SASDGGKVAATTAQIQEFTKYAGIAATA
ID NO 5: TAGHALAASTQ GISEDLYSRL VEMATISQAA
ID NO 6: TAGHALAASTQ GISEDLYSRL VEMATISQAA
ID NO 7: AVGVTTTDFSNKFYIQHGAAA
ID NO 8: TVTTQDLSNFRFYLQHADAA
ID NO 9: DIPTTQLEDKFWVQYAAAT
ID NO 10: DVSTSELDQFEFVQYAAAS
ID NO 11: SVSTSTLDELQLFAQWSAAA
ID NO 12: SVSTSTLDELQLFSQWSAAA
ID NO 13: DVSSLLNNLDLFAQYSAAA
ID NO 14: EVSQDLFNQFNLFQYSAAA
ID NO 15: PQDAYTASHADLVKYATYAGLA

ID NO 1: YCRTVIPG GRWSCPHCGVAS NLQITKTFST LITDTNVLVAV
ID NO 2: YCRTVIPG GQWSCPHCDVAP NLNITKTFTT LITDTNVLVAV
ID NO 3: YCRTVIPG ATWDCIHCDATE DLKIIKTWST LIYDTNAMVAR
ID NO 4: YCRSVVPG NKWDCVQCQKWVP DGKIITFTS LLSDTNGYVLR
ID NO 5: YADLCNIPST IIKGEKIYNSQTDINGWILR
ID NO 6: YADLCNIPST IIKGEKIYNSQTDINGWILR
ID NO 7: YC NSEAAA GSKITCSNNGCPTVQGNGATIVTSF VGSKTGIGGYVAT
ID NO 8: YC NFNTAV GKPVHCSAGNCPDIEKDAAIVVGSV VGTGTGIGAYVAT
ID NO 9: YCPNNYVAKD GEKLNCVGNCPDVEAAGSTVKLSFS DDTITDTAGFVAV
ID NO 10: YYEADYTAQV GDKLSCSKGNCPEVEATGATVSYDFS DSTITDTAGYIAV
ID NO 11: YCSNNID SK DSNLTCTANACPSVEEASTMILLEFDLTNDFGGTAGFLAA
ID NO 12: YCSNNID SD DSNVTCTADACPSVEEASTKMLLEFDLTNNFGGTAGFLAA
ID NO 13: YCDENLN ST GTKLTCSVGNCPLEAASTQSLDEFNESSSYGNPAGYLA
ID NO 14: YCGKNNDAPA GTNITCTGNACPEVEKADATFLYSFE DSGVGDVTGFLAL
ID NO 15: YQTTDAWPAS RTVPKDTTLISSFD HTLKGSSGYIAF

ID NO 1: GEKEKTIYVV FRGTSSIRNA IADIVFVPVN YPPV NGA KVHKGFLDSY
ID NO 2: GENEKTIYVV FRGTSSIRNA IADIVFVPVN YPPV NGA KVHKGFLDSY
ID NO 3: GDSEKTIYIV FRGSSSIRNW IADLTFVPVS YPPV SGT KVHKGFLDSY
ID NO 4: SDKQKTIYLV FRGTNSFRSA ITDIVNFSD YKPV KGA KVHAGFLSSY
ID NO 5: DDSSKEIITV FRGTGSDTNL QLDNTYTLTP FDTLPQCNGC EVHGGYYIGW
ID NO 6: DDSSKEIITV FRGTGSDTNL QLDNTYTLTP FDTLPQCNSC EVHGGYYIGW
ID NO 7: DSARKEIVVS FRGSINIRNW LTNLDFG QE DCSL VSGC GVHSGFQRAW
ID NO 8: DNARKEIVVS VRGSINVRNW ITNFNFG QK TCDL VAGC GVHTGFLEDAW
ID NO 9: DNTNKAIVVA FRGSYSIRNW VTDATFP QT DPGL CDGC KAEFGFWTAW
ID NO 10: DHTNSAVVLA FRGSYSVRNW VADATFV HT NPGL CDGC LAELGFWSSW
ID NO 11: DNTNKRLVVA FRGSSTIENW IANLDFILED NDDL CTGC KVHTGFWKAW
ID NO 12: DNTNKRLVVA FRGSSTIKNW IADLDFILQD NDDL CTGC KVHTGFWKAW
ID NO 13: DETNKLLVLS FRGSADLANW VANLNFGLD ASDL CSGC EVHSGFWKAW
ID NO 14: DNTNKLIVLS FRGSRSIENW IGNLNFDLKE INDI CSGC RGHGFTSSW
ID NO 15: NEPCKEIIVA YRGTDSLIDW LTNLNFDKTA WPAN ISNS LVHEGFLNAY

ID NO 1: NEVQDKLVAE VKAQLDRHPG YKIVVTGHSL GGATAVLSALDLYHHGHA
ID NO 2: NEVQDKLVAE VKAQLDRHPG YKIVVTGHSL GGATAVLSALDLYHHGHD
ID NO 3: GEVQNELVAT VLDQFKQYPS YKVAVTGHSL GGATALLCALDLYQREEGLS
ID NO 4: EQVVNDYFPV VQEQLTAHPT YKIVVTGHSL GGAQALLAGMDLYQREPRLS
ID NO 5: VSVQDQVESL VKQQVSQYPD YALTVTGHSL GASLAALTAACL SATYD
ID NO 6: ISVQDQVESL VQQQVSQFPD YALTVTGHSL GASLAALTAACL SATYD
ID NO 7: NEISSQATAA VASARKANPS FNVISTGHSL GGAVAVLAAAANLVRGGT
ID NO 8: EEVAANVAAA VSAAKTANPT FKFVVTGHSL GGAVATIAAAYLRKDG
ID NO 9: KVVDRRIKT LDELKPEHSD YKIVVVGHSL GAAIASLAAADLRKKNY
ID NO 10: KLVRRDIIKE LKEVVAQNPN YELVVVGHSL GAAVATLAATDLRGKGY
ID NO 11: ESAADELTSK IKSAMSTYSG YTLYFTGHSL GGALATLGATVLRNDGY
ID NO 12: EAAADNLSK IKSAMSTYSG YTLYFTGHSL GGALATLGATVLRNDGY
ID NO 13: SEIADTITSK VESALSDHSD YSLVLTGHSH GAALAAALATLRNSGH

```

图 1(续)

ID NO 14: RSVADTLRQK VEDAVREHPD YRVVFTGHSL GGALATVAGADLRNGY
ID NO 15: LVSMQQVQEA VDSLLAKCPD ATISFTGHSL GGALACISMVDTAQRHRGI

ID NO 1: NIEIYTQG QPRIGTPAFA NYVIGT KIPYQRLVHERDIVPHL
ID NO 2: NIEIYTQG QPRIGTPEFA NYVIGT KIPYQRLVNERDIVPHL
ID NO 3: SSNLFLYTQG QPRVGDPAFA NYVVST GIPYRRTVNERDIVPHL
ID NO 4: PKNLSIFTVG GPRVGNPTFA YYVEST GIPFQRTVHKRDIVPHV
ID NO 5: NIRLYTFG EPRSGNQAFQ SYMNDAFQASSPDTTQYFRVTHANDGIPNL
ID NO 6: NIRLYTFG EPRS NQAFQ SYMNDAFQASSPDTTQYFRVTHANDGIPNL
ID NO 7: PVDIITYG SPRVGNAQLS AFVSNQ AGGEYRVTHADDPVPRL
ID NO 8: PFDLYTYG SPRVGNDFFA NFVTQQ TGAEYRVTHGDDPVPRL
ID NO 9: DAILYAYA APRVANKPLA EFITNQ GNNYRFTHNDPVPKL
ID NO 10: SAKLYAYA SPRVGNAALA KYITAQ GNNFRFTHNDPVPKL
ID NO 11: SVELYTYG CPRIGNYALA EHITSQ GSGANFRVTHLNDIVPRV
ID NO 12: SVELYTYG CPRVGNLYALA EHITSQ GSGANFPVTHLNDIVPRV
ID NO 13: SVELYNYG QPRLGNEALA TYITDQ NKGGNYRVTHNDIVPKL
ID NO 14: DIDVFSYG APRVGNRAFA EFLTQV TGGLYRITHNDIVPRL
ID NO 15: KMQMFTYG QPRTGNQAFQ EYVENL GHPVFRVYVRHDIVPRM

ID NO 1: PPGAFGFLHA GEEFWIMK DSSLRVCPNGIETDNCNSIV
ID NO 2: PPGAFGFLHA GEEFWIMK DSSLRVCPNGIETDNCNSIV
ID NO 3: PPAAGFGLHA GEEYWITD NSPETVQVCTSDLETSCNSIV
ID NO 4: PPQSFGLHP GVESWIKS GTSNVQICTSEIETKDCNSIV
ID NO 5: PPVEQGYAHG GVEYWSV DPYSAQNTFVCTGDEVQCCE AQGGQG
ID NO 6: PPADEGYAHG VVEYWSV DPYSAQNTFVCTGDEVQCCE AQGGQG
ID NO 7: PPLIFGYRHT TPEFWLSGGGDKVDYT ISDVKCEGAANLG CNGGTL
ID NO 8: PPIVFGYRHT SPEYWLNG GPLDKDVTVEIKVCEGIANVM CNGGTI
ID NO 9: PLLTMGYVHI SPEYYITA PDNTTVTDNQVTLDGYVNFK GNTGTS
ID NO 10: PLLSMGYVHV SPEYWITS PNNATVSTSDIKVIDGDVSFD GNTGTG
ID NO 11: PPMDFGFSQP SPEYWITS GNGASVTASDIEVIEGINSTA GNAGEA
ID NO 12: PPMDFGFSQP SPEYWITS GTGASVTASDIEIEGINSTA GNAGEA
ID NO 13: PPTLLGYHHF SPEYYISS ADEATVTTTVDTEVTGIDATG GNDGTD
ID NO 14: PPREFGYSHS SPEYWIKS GTLVPVTRNDIVKIEGIDATG GNNQPN
ID NO 15: PPMDLGFQHH GQEVWYEG DENIKFCKGEGENLTCELGPV

ID NO 1: PFT SVIDHLSYLDMMTGL CL
ID NO 2: PFT SVIDHLSYLDMMTGL CL
ID NO 3: PFT SVLDHLSYFGINTGL CT
ID NO 4: PFT SILDHLSYFDINEGS CL
ID NO 5: VN NAHTTYF GMTSGACTW
ID NO 6: VN NAHTTYF GMTSGHCTW
ID NO 7: GL DIAAHLHYF QATDA CNAGGFSSWR R
ID NO 8: GL DILAHITYF QSMAT CAPIAIPWK R
ID NO 9: GGLPDLAFHSHVWYF IHADACKGPGPLPR
ID NO 10: LPLLTDFEAHIWYF VQVDA GKGPGLPFK R
ID NO 11: TV SVLAHLWYF FAISE CLL
ID NO 12: TV DVLHLWYF FAISE CLL
ID NO 13: GT SIDAHRWYF IYISE CS
ID NO 14: IP DIPAHWYF GLIGT CL
ID NO 15: FSEL NAKDHSEYP GMH

ID NO:	微生物	SEQ ID NO.:
1.	曲柄犁头霉(<i>Absidia reflexa</i>)	3
2.	伞状犁头霉(<i>Absidia corymbifera</i>)	4
3.	曼赫根毛霉(<i>Rhizomucor miehei</i>)	5
4.	德氏根霉(<i>Rhizopus delemar</i>) (米根霉)	6
5.	黑曲霉(<i>Aspergillus niger</i>)	7
6.	塔宾曲霉(<i>Aspergillus tubigenensis</i>)	8
7.	尖镰孢(<i>Fusarium oxysporum</i>)	9
8.	异孢镰孢(<i>Fusarium heterosporum</i>)	10
9.	米曲霉(<i>Aspergillus oryzae</i>)	11
10.	沙门柏干酪青霉(<i>Penicillium camemberti</i>)	12

图1(续)

11.	臭曲霉(<i>Aspergillus foetidus</i>)	13
12.	黑曲霉(<i>Aspergillus niger</i>)	14
13.	米曲霉(<i>Aspergillus oryzae</i>)	15
14.	细毛嗜热霉(<i>Thermomyces lanuginosus</i>)	2
15.	<i>Landerina penisapora</i>	16

图 1. 脂肪酶序列的比对