



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2013146240/10, 16.03.2012

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
17.03.2011 US 61/453,931

(43) Дата публикации заявки: 27.04.2015 Бюл. № 12

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 17.10.2013(86) Заявка РСТ:
US 2012/029470 (16.03.2012)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2012/125937 (20.09.2012)

Адрес для переписки:

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

(71) Заявитель(и):

ДАНИСКО ЮЭс ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

МИТЧИНСОН Колин (US),
КИМ Стивен (US),
ФУДЖДАЛА Мередит К. (US),
ХСИ Меган (US),
ВИНГ Кейт Д. (US),
ХИТЦ Уильям Д. (US)(54) **ФЕРМЕНТЫ ГЛИКОЗИЛ-ГИДРОЛАЗЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ГИДРОЛИЗА БИОМАССЫ**

(57) Формула изобретения

1. Разработанная ферментная композиция, содержащая:

а) полипептид, обладающий β -ксилозидазной активностью, выбранный из β -ксилозидаз группы 1; иб) полипептид, обладающий β -ксилозидазной активностью, выбранный из β -ксилозидаз группы 2; ис) полипептид, обладающий L- α -арабинофуранозидазной активностью; ид) полипептид, обладающий β -глюкозидазной активностью, или общую целлюлазу, обогащенную полипептидом, обладающим β -глюкозидазной активностью, где ферментная композиция способна гидролизовать лигноцеллюлозный материал на основе биомассы.

2. Разработанная ферментная композиция по п. 1, дополнительно содержащая полипептид, обладающий ксиланазной активностью.

3. Ферментная композиция по п. 1, дополнительно содержащая полипептид, обладающий GN61/эндоглюканазной активностью, или общую целлюлазу, обогащенную полипептидом, обладающим GN61/эндоглюканазной активностью.

4. Разработанная ферментная композиция по п. 2, где полипептид, обладающий ксиланазной активностью, выбран из полипептида, содержащего аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 70% идентичности с SEQ ID NO:24, 26, 42 или 43, или с ее зрелой последовательностью; или полипептид,

закодированный полинуклеотидом,

характеризующимся по меньшей мере 70% идентичности с SEQ ID NO:23, 25 или 41, или полинуклеотидом, который способен к гибридизации в особо жестких условиях с SEQ ID NO:23, 25 или 41 или с комплементарной ей последовательностью.

5. Разработанная ферментная композиция по п. 1, где:

а) полипептид, обладающий β -ксилозидазной активностью, из группы 1 содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 70% идентичности с SEQ ID NO:2 или 10 или с ее зрелой последовательностью, и полипептид, обладающий β -ксилозидазной активностью, из группы 2 содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 70% идентичности с SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 28, 30 или 45 или с ее зрелой последовательностью; или

б) полипептид, обладающий β -ксилозидазной активностью, из группы 1 закодирован полинуклеотидом, содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 70% идентичности с SEQ ID NO:2 или 10 или с ее зрелой последовательностью, и полипептид, обладающий β -ксилозидазной активностью, из группы 2 содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 70% идентичности с SEQ ID NO:4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 28, 30 или 45 или с ее зрелой последовательностью; или

в) полипептид, обладающий β -ксилозидазной активностью, из группы 1, кодируемый полинуклеотидом, характеризующимся по меньшей мере 70% идентичности с SEQ ID NO:1 или 9; и полипептид, обладающий β -ксилозидазной активностью, из группы 2, кодируемый

полинуклеотидом, характеризующимся по меньшей мере 70% идентичности с SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 27 или 29; или

г) полипептид, обладающий β -ксилозидазной активностью, из группы 1, способен к гибридизации при условиях высокой жесткости с SEQ ID NO:1 или 9 или с комплементарной ей последовательностью; и полипептид, обладающий β -ксилозидазной активностью, из группы 2, способен к гибридизации при условиях высокой жесткости с SEQ ID NO:3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 27 или 29 или с комплементарной ей последовательностью.

6. Разработанная ферментная композиция по п. 1, где полипептидом, обладающим L- α -арабинофуранозидазной активностью, является:

а) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 70% идентичности с SEQ ID NO:12, 14, 20, 22 или 32 или с ее зрелой последовательностью; или

б) полипептид, кодируемый полинуклеотидом, который характеризуется по меньшей мере 70% идентичности с SEQ ID NO:11, 13, 19, 21 или 31, или полинуклеотидом, способным к гибридизации при условиях высокой жесткости с SEQ ID NO: SEQ ID NO: 11, 13, 19, 21 или 31.

7. Разработанная ферментная композиция по п. 1, где полипептидом, обладающим β -глюкозидазной активностью, является:

а) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 60%

идентичности с SEQ ID NO:54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 79, 93 и 95; или

б) гибридный полипептид, содержащий 2 или более последовательности β -глюкозидазы, где первая последовательность, полученная из первой β -глюкозидазы, составляет по меньшей мере 200 аминокислотных остатков в длину и содержит одну или несколько, или все из SEQ ID NO: 96-108, и вторая последовательность, полученная из второй β -глюкозидазы, составляет по меньшей мере 50 аминокислотных остатков

18 вес.% до приблизительно 30 вес.%; (d) количество полипептидов, обладающих L-α-арабинофуранозидазной относительно общего количества белков в ферментной композиции составляет от приблизительно 0,2 вес.% до приблизительно 2 вес.% (e) количество полипептидов, обладающих GN61/эндоглюканазной активностью относительно общего количества белков в ферментной композиции составляет от приблизительно 6 вес.% до приблизительно 20 вес.%; (f) количество полипептидов, обладающих целлобιοгидролазной активностью, относительно общего количества белков в ферментной композиции составляет от приблизительно 15 вес.% до приблизительно 25 вес.%.

13. Разработанная ферментная композиция по п. 1, где отношение веса полипептида, обладающего активностью β-ксилозидазы группы 1, к весу полипептида, обладающего активностью β-ксилозидазы группы 2, составляет от 1:10 до 10:1, от 1:9 до 9:1, от 1:8 до 8:1, от 1:7 до 7:1, от 1:6 до 6:1, от 1:5 до 5:1, от 1:4 до 4:1, от 1:3 до 3:1, от 1:2 до 2:1 или 1:1.

14. Разработанная ферментная композиция по п. 1, где по меньшей мере 2 полипептида получены из различных микроорганизмов.

15. Способ гидролиза или расщепления лигноцеллюлозного материала на основе биомассы, содержащего гемицеллюлозы, целлюлозу или как целлюлозу, так и гемицеллюлозы, который включает приведение в контакт ферментной композиции по п. 1 с лигноцеллюлозной смесью на основе биомассы.

16. Способ по п. 15, где лигноцеллюлозная смесь на основе биомассы содержит сельскохозяйственную культуру, побочный продукт производства пищевых продуктов/кормопроизводства, лигноцеллюлозные отходы производства, растительные остатки или макулатуру.

17. Способ по п. 15, где материал на основе биомассы в лигноцеллюлозной смеси на основе биомассы подвергают предварительной обработке, где, необязательно, предварительная

обработка является кислотной предварительной обработкой или щелочной предварительной обработкой.

18. Способ по п. 15, где стадия приведения в контакт производит один или нескольких сбраживаемых сахаров, где способ дополнительно включает ферментирование сбраживаемого сахара в этанол с применением этаноногенного микроорганизма, где, необязательно, этаноногенным микроорганизмом являются дрожжи или *Zymomonas mobilis*.

19. Способ по п. 15, где

(a) ферментная композиция содержит от приблизительно 2 г до приблизительно 20 г полипептида, обладающего ксиланазной активностью, на килограмм гемицеллюлоз в материале на основе биомассы; (b) ферментная композиция содержит от приблизительно 2 г до приблизительно 40 г полипептида, обладающего β-ксилозидазной активностью, на килограмм гемицеллюлоз в материале на основе биомассы; (c) ферментная композиция содержит от приблизительно 3 г до приблизительно 50 г полипептида, обладающего целлюлазной активностью, на килограмм целлюлозы в материале на основе биомассы; или (d) количество полипептида, обладающего β-глюкозидазной активностью, составляет до приблизительно 50% от общего веса полипептида, обладающего целлюлазной активностью.

20. Способ по п. 15, где ферментную композицию применяют в количестве и в условиях, а также в течение времени, достаточных для конверсии от 60% до 90% ксилана в материале на основе биомассы в ксилозу.

A
0
2
9
4
6
2
4
0
A
R
U

R
U
2
0
1
3
1
4
6
2
4
0
A