

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 827 193**

51 Int. Cl.:

**C11D 1/94** (2006.01)

**C11D 3/386** (2006.01)

**C11D 11/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2018 E 18178709 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.08.2020 EP 3483241**

54 Título: **Composición detergente**

30 Prioridad:

**13.11.2017 EP 17201300**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**20.05.2021**

73 Titular/es:

**THE PROCTER & GAMBLE COMPANY (100.0%)  
One Procter & Gamble Plaza  
Cincinnati, OH 45202, US**

72 Inventor/es:

**BETTIOL, JEAN-LUC PHILIPPE;  
GONZALES, DENIS ALFRED;  
VELASQUEZ, JUAN ESTEBAN y  
GEARY, NICHOLAS WILLIAM**

74 Agente/Representante:

**DEL VALLE VALIENTE, Sonia**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 827 193 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Composición detergente

5 **Referencia a un listado de secuencias**

Esta solicitud contiene un listado de secuencias en un soporte de lectura informática. El soporte informático se ha incorporado como referencia en la presente memoria.

10 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una composición detergente que comprende un sistema tensioactivo y una o más diol sintasas capaces de convertir uno o más ácidos grasos insaturados en una o más oxilipinas. La composición proporciona una o más ventajas, que incluyen una buena limpieza, especialmente una buena emulsificación de grasas y jabonaduras duraderas, especialmente en presencia de suciedades de grasa.

15 **Antecedentes de la invención**

20 Las composiciones detergentes deben tener un buen perfil de jabonaduras, en particular un perfil de jabonaduras duradero, especialmente en presencia de suciedades de grasa. Por lo general, los usuarios consideran las jabonaduras como un indicador de la eficacia de la composición detergente. Además, el usuario de una composición detergente también puede usar el perfil de jabonaduras y el aspecto de las jabonaduras (p. ej., densidad, blancura) como un indicador de que la solución de lavado aún contiene ingredientes detergentes activos. Esto sucede especialmente en el caso del lavado manual, también denominado en la presente descripción como lavado a mano, donde el usuario habitualmente dosifica la composición detergente dependiendo de las jabonaduras que quedan y renueva la solución de lavado cuando las jabonaduras desaparecen, o cuando las jabonaduras no parecen lo suficientemente espesas. Por lo tanto, una composición detergente, especialmente una composición detergente para el lavado manual que genera pocas jabonaduras, o jabonaduras de baja densidad, tendería a ser sustituida por el usuario con más frecuencia de lo necesario. Por tanto, se prefiere que una composición detergente proporcione un "buen perfil de espuma", lo que incluye una buena altura y densidad de las jabonaduras así como una buena duración de las jabonaduras durante el mezclado inicial del detergente con el agua y/o durante toda la operación de lavado.

35 Los ácidos grasos insaturados pueden ser oxidados en presencia de oxígeno molecular (O<sub>2</sub>) por dioxigenasas, tales como las diol sintasas, para producir oxilipinas. Las diol sintasas incluyen las linoleato diol sintasas y las oleato diol sintasas. La linoleato diol sintasa pertenece a la familia de las oxidorreductasas. Las diol sintasas, especialmente las linoleato diol sintasas, se han descrito, generalmente, como un componente junto con una resina para escamas de película solubles en agua, especialmente el uso de las escamas de película para fabricar envases solubles en agua para envases de detergente para vajilla o tejidos de un solo uso (*Water Soluble Film Flakes Incorporating Functional Ingredients*, IP.COM Journal, 2 de enero de 2014). El documento US 2017/321161 A1 describe métodos para favorecer la longevidad de las jabonaduras en un proceso de lavado para lavar artículos manchados, que comprende la etapa de: suministrar una composición que comprende una enzima transformadora de ácidos grasos a un volumen de agua para formar una solución de lavado y sumergir el artículo manchado en la solución, donde la enzima transformadora de ácidos grasos puede ser oleato 10S lipoxigenasa. Sin embargo, no se ha descrito la inclusión de diol sintasas, especialmente linoleato diol sintasas y/u oleato diol sintasas en el contexto de composiciones detergentes líquidas para el lavado manual de vajillas para mejorar el perfil de espuma, especialmente, una mayor longevidad de las jabonaduras especialmente en presencia de suciedades de grasa.

50 Por tanto, sigue existiendo la necesidad de una composición detergente líquida mejorada que comprenda diol sintasas y un sistema tensioactivo específico que proporcione un buen perfil de espuma, en particular un mayor refuerzo de las jabonaduras y/o una mayor longevidad de las jabonaduras, especialmente en presencia de suciedades de grasa. También existe la necesidad de una composición detergente mejorada; cuando se utiliza en un proceso de lavado manual, la composición también proporciona preferiblemente una experiencia de lavado agradable, es decir, una buena sensación en las manos del usuario durante el lavado. Preferiblemente, las composiciones detergentes también son fáciles de aclarar. Además, se prefiere que la composición detergente mejorada sea estable y no experimente separación de fases, dando lugar a un mayor período de validez del producto. Preferiblemente además, la composición proporciona un buen acabado a los artículos lavados. También se desea reducir la cantidad de tensioactivos sin influir negativamente en la formación de jabonaduras ni en el perfil de limpieza de grasa y de emulsificación. Por lo tanto, existe la necesidad de hallar nuevas composiciones que mejoren la limpieza y la longevidad de las jabonaduras en condiciones de lavado a mano.

65 Se ha descubierto que algunos tipos de suciedad, en particular suciedades de grasa que comprenden ácidos grasos insaturados, actúan como un supresor de las jabonaduras, induciendo a los consumidores a sustituir el producto con más frecuencia de lo necesario. De este modo, existe la necesidad de proporcionar composiciones detergentes con propiedades de jabonaduras deseables, especialmente en presencia de suciedades de grasa, aún más en presencia de suciedades de grasa que comprenden ácidos grasos insaturados, y que al mismo tiempo proporcionen una

buena eliminación de la suciedad y la grasa. Sorprendentemente, el solicitante descubrió que algunas o todas las necesidades mencionadas anteriormente pueden satisfacerse al menos parcialmente mediante la composición detergente mejorada que comprende una o más diol sintasas y un sistema tensioactivo específico.

## 5 Resumen de la invención

La presente invención satisface una o más de estas necesidades en base al descubrimiento sorprendente de que formulando una composición detergente que comprende una o más diol sintasas capaces de convertir uno o más ácidos grasos insaturados en una o más oxilipinas, y un sistema tensioactivo; dicha composición presenta un buen perfil de espuma, especialmente, un volumen de jabonaduras deseable y/o estabilización de jabonaduras prolongada, especialmente, en presencia de suciedades de grasa. También proporciona una buena limpieza de grasa y beneficios de emulsificación.

Según la presente invención, se proporciona una composición detergente que comprende: a) una o más diol sintasas capaces de convertir uno o más ácidos grasos insaturados en una o más oxilipinas y b) un sistema tensioactivo. Preferiblemente las diol sintasas se seleccionan del grupo que consiste en linoleato diol sintasas, oleato diol sintasas, y mezclas de estas. Más preferiblemente las diol sintasas se seleccionan del grupo que consiste en: linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.44), 5,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.5), 7,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.6), 9,14-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.B1), 8,11-linoleato diol sintasas, oleato diol sintasas, y mezclas de estas, aún más preferiblemente 5,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.5), y mezclas de estas. El sistema tensioactivo comprende uno o más tensioactivos aniónicos y uno o más tensioactivos auxiliares seleccionados del grupo que consiste en tensioactivo anfótero, tensioactivo de ion híbrido y mezclas de estos, donde la relación de peso de dichos tensioactivos aniónicos a dichos tensioactivos auxiliares es inferior a 9:1, más preferiblemente de 5:1 a 1:1, más preferiblemente de 4:1 a 2:1.

La composición detergente es una composición líquida para el lavado manual de vajillas. Preferiblemente, la composición de la invención proporciona una buena limpieza y buen perfil de jabonaduras, especialmente en presencia de suciedades de grasa.

Según la presente invención, se proporciona un método para el lavado manual de vajillas que comprende las etapas de: suministrar una composición detergente de la invención a un volumen de agua para formar una solución de lavado y sumergir la vajilla en dicha solución.

Según la presente invención, se proporciona un método para el lavado manual de vajillas que comprende las etapas de: a) suministrar la composición detergente de la invención a un volumen de agua para formar una solución de lavado, y b) sumergir los artículos manchados en dicha solución de lavado. Cuando la composición de la invención se utiliza según este método, se obtiene un buen perfil de espuma, con un efecto duradero.

Otra descripción adicional que no es según la presente invención se refiere a un método para el lavado manual de vajillas que comprende: i) suministrar una composición como se ha descrito anteriormente en la presente memoria sobre la vajilla o un utensilio limpiador; ii) limpiar la vajilla con la composición en presencia de agua; y iii) opcionalmente, aclarar la vajilla. Preferiblemente, la composición de la presente invención se utiliza en forma pura (es decir, aplicación directa), ya que se obtienen ventajas superiores en términos de limpieza de grasa cuando la composición se aplica directamente a la superficie manchada o a un utensilio limpiador, tal como una esponja, para utilizarse para limpiar la superficie manchada.

La composición de la invención proporciona una buena limpieza y buen perfil de jabonaduras, especialmente en presencia de suciedades grasas. Se ha descubierto que las composiciones de la presente invención son especialmente útiles en presencia de ácidos grasos insaturados o sales de los mismos. Estos pueden estar presentes ya sea en la suciedad o ser liberados a la solución de lavado durante la retirada de la suciedad, que se descompone generando ácidos grasos insaturados, tales como suciedad corporal y aceites de cocina, tales como aceite de oliva.

El lavado manual es el lavado de vajillas y los artículos manchados comprenden la vajilla manchada. Como se utiliza en la presente memoria, "vajilla" incluye utensilios de cocina y utensilios de mesa.

Los elementos de la composición de la invención descritos con respecto al primer aspecto de la invención se aplican, cambiando lo necesario, al resto de aspectos de la invención.

Estas y otras características, aspectos y ventajas de la presente invención resultarán evidentes para los expertos en la técnica a la vista de la siguiente descripción detallada.

## Descripción detallada de la invención

65 Definiciones

Como se utiliza en la presente memoria, los artículos “un” y “una” cuando se utilizan en una reivindicación significan uno o más de lo reivindicado o descrito.

5 Como se utiliza en la presente memoria, la expresión “prácticamente exento de” o “prácticamente exento” significa que el material indicado está presente en una cantidad no superior a aproximadamente el 5 % en peso, preferiblemente, no superior a aproximadamente el 2 % y, más preferiblemente, no superior a aproximadamente el 1 % en peso, en peso de la composición.

10 Como se utiliza en la presente memoria, la expresión “esencialmente exento de” o “esencialmente exento” significa que el material indicado está presente en una cantidad no superior a aproximadamente el 0,1 % en peso, en peso de la composición o, preferiblemente, no está presente en un nivel analíticamente detectable en dicha composición. Puede incluir composiciones en las que el material indicado está presente solamente como una impureza de uno o más de los materiales añadidos deliberadamente a dichas composiciones.

15 Como se utiliza en la presente memoria el término “diol sintasa” se refiere a una enzima capaz de convertir al menos un ácido graso insaturado en una mezcla de oxilipinas, que comprende al menos un ácido graso dihidroxilado.

20 Como se utiliza en la presente memoria, la expresión “composición detergente” se refiere a composiciones y formulaciones diseñadas para limpiar superficies manchadas. Dichas composiciones incluyen composiciones para lavado de vajilla.

25 Como se utiliza en la presente memoria el término “mayor longevidad de las jabonaduras” significa un aumento en la duración de las jabonaduras visibles en un proceso de lavado que limpia artículos manchados utilizando la composición que comprende una o más enzimas diol sintasa capaces de convertir uno o más ácidos grasos insaturados en una o más oxilipinas, en comparación con la longevidad de las jabonaduras proporcionada por la misma composición y proceso en ausencia de las una o más enzimas diol sintasa capaces de convertir uno o más ácidos grasos insaturados en una o más oxilipinas.

30 Como se utiliza en la presente memoria, el término “superficies manchadas” se refiere a la vajilla manchada.

35 Como se utiliza en la presente memoria, el término “variante” de diol sintasa significa una secuencia de aminoácidos cuando la diol sintasa está modificada por, o en, uno o más aminoácidos (por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 o más modificaciones de aminoácidos) seleccionadas de sustituciones, inserciones, deleciones y combinaciones de estos. La variante puede tener “sustituciones conservativas”, en donde un aminoácido sustituido tiene propiedades químicas o estructurales similares a las del aminoácido que sustituye, por ejemplo, la sustitución de leucina por isoleucina. Una variante puede tener cambios “no conservativos”, por ejemplo, una sustitución de glicina por triptófano. Las variantes también pueden incluir secuencias con deleciones o inserciones de aminoácidos, o ambos. Una guía para determinar qué residuos de aminoácidos se pueden sustituir, insertar, o eliminar sin eliminar la actividad de la proteína puede encontrarse usando programas informáticos bien conocidos en la técnica. Las variantes pueden incluir, además, formas truncadas derivadas de una proteína tensioactiva natural, tal como, por ejemplo, una proteína con un N terminal truncado. Las variantes pueden incluir, además, formas obtenidas añadiendo una secuencia de aminoácidos adicional a una proteína natural, tal como, por ejemplo, una etiqueta N-terminal, una etiqueta C-terminal o una inserción en el medio de la secuencia de proteínas.

45 Como se utiliza en la presente memoria, la expresión “dureza del agua” o “dureza” significa iones catiónicos que no forman complejos (es decir,  $\text{Ca}^{2+}$  o  $\text{Mg}^{2+}$ ) presentes en el agua que tienen el potencial de precipitar con tensioactivos aniónicos o cualquier otra sustancia activa detergente cargada aniónicamente en condiciones alcalinas, y que reducen de este modo la tensioactividad y la capacidad limpiadora de los tensioactivos. Además, las expresiones “alta dureza de agua” y “elevada dureza del agua” pueden usarse de forma indistinta, y son expresiones relativas para los fines de la presente invención, y se pretende que incluyan, aunque no de forma limitativa, un nivel de dureza que contiene al menos 3,2 gramos de ion calcio por litro de agua (al menos 12 gramos de ion calcio por galón de agua, unidades gpg, “dureza en granos estadounidenses”).

55 Composición detergente

60 El solicitante ha descubierto, sorprendentemente, una nueva forma de formular una composición detergente que es una composición detergente líquida para el lavado manual de vajillas para proporcionar un buen perfil de espuma, especialmente, una mayor longevidad de las jabonaduras, preferiblemente, en presencia de suciedad de grasa. Esencialmente, la solución es formular un sistema tensioactivo específico que se sinergiza con la enzima diol sintasa. De hecho, el solicitante ha descubierto que cuando el sistema tensioactivo específico se formula conjuntamente con las diol sintasas, se obtiene una mayor longevidad de las jabonaduras, especialmente en presencia de suciedad de grasa. Sin pretender imponer ninguna teoría, se cree que el sistema tensioactivo específico que contiene las diol sintasas puede ir más fácilmente a la interfase de aire-agua y permanecer en las laminillas de la película de jabonaduras debido a sus propiedades físicas específicas. Como resultado, la longevidad de las jabonaduras aumenta debido a las interacciones tensioactivo-diol sintasas que forman una membrana interfacial continua fuerte que estabiliza las partículas de las jabonaduras en la interfase aire-agua.

Además, el solicitante ha descubierto que las diol sintasas y el sistema tensioactivo específico en la composición detergente de la presente invención también proporciona una ventaja de mayor refuerzo de las jabonaduras. Preferiblemente, la composición detergente de la invención también proporciona buena eliminación de grasa, en particular una buena eliminación de grasa sin cocinar.

La composición detergente es una composición detergente líquida para el lavado manual de vajillas. De forma típica, esta contiene de 30 % a 95 %, preferiblemente de 40 % a 90 %, más preferiblemente de 50 % a 85 % en peso de la composición de un vehículo líquido en el que los otros componentes esenciales y opcionales se disuelven, dispersan o suspenden. Un componente preferido del vehículo líquido es el agua.

Preferiblemente, el pH de la composición detergente de la invención, medido como una concentración de producto al 10 % en agua desmineralizada a 20 °C se ajusta a entre 3 y 14, más preferiblemente entre 4 y 13, más preferiblemente entre 6 y 12, y con máxima preferencia entre 8 y 10. El pH de la composición detergente se puede ajustar mediante ingredientes modificadores de pH conocidos en la técnica.

#### Diol sintasas

Inesperadamente, los solicitantes descubrieron que las diol sintasas son capaces de producir un perfil de espuma más estable y, por lo tanto, de mayor duración en soluciones de lavado de detergente que comprenden suciedades de aceite y/o grasa. Sin pretender imponer ninguna teoría, los solicitantes creen que las mayores ventajas de la formación de jabonaduras se deben a la conversión de ácidos grasos insaturados en ácidos grasos oxigenados con propiedades tensioactivas mejoradas y menor tendencia a la precipitación en presencia de agua dura.

Las diol sintasas son proteínas de fusión y en la técnica se han descrito al menos dos clases diferentes. Las diol sintasas fúngicas de clase I, también denominadas oxigenasas productoras de factor psi (Ppo), contienen un dominio dioxigenasa (DOX) N-terminal y un dominio de citocromo C terminal P450/hidroperóxido isomerasa (HPI); mientras que las diol sintasas bacterianas de clase II consiste en un dominio de aleno óxido sintasa (AOS) N-terminal y un dominio de dioxigenasa (DOX) C-terminal. En la primera etapa de la reacción, el ácido graso insaturado (por ejemplo, ácido linoleico) es convertido en un derivado de ácido graso hidroperoxidado por el dominio DOX, seguido, frecuentemente, por isomerización a un ácido graso dihidroxilado por el dominio de HPI o el dominio de AOS.

Varios residuos de aminoácidos se conservan en las diol sintasas de clase I. Por ejemplo, en el dominio DOX, el motivo YR(W/F)H que contiene la Tyr catalítica está altamente conservado. En el dominio HPI, el motivo de la región SRS-4 ANQXQ, el motivo EXXG, y el motivo distintivo de hemo (G/E)(P/A)HX(C/S)(L/F/G) también se hallan frecuentemente en las diol sintasas. Los residuos His y Cys del motivo hemo y la última Asn de la región SRS-4 se han asociado con la etapa de isomerización y el tipo de oxilipinas generadas durante la reacción.

La presente invención comprende diferentes grupos de diol sintasas, incluidas las linoleato diol sintasas y las oleato diol sintasas. Aunque las oleato diol sintasas típicamente reconocen el ácido oleico/oleato como el sustrato preferido y las linoleato diol sintasas reconocen el ácido linoleico/linoleato como el sustrato preferido, los términos "oleato diol sintasa" y "linoleato diol sintasa" se usan de forma intercambiable en la presente descripción y no sugieren ninguna especificidad de sustrato, es decir, las respectivas enzimas pueden actuar sobre ambos sustratos.

En base a los productos de reacción, se han caracterizado varias diol sintasas: 5,8-linoleato diol sintasas (5,8-LDS), 7,8-linoleato diol sintasas (7,8-LDS), 8,11-linoleato diol sintasas (8,11-LDS), y 9,14-linoleato diol sintasas (9,14-LDS). Aunque se denominan frecuentemente linoleato diol sintasas, pueden convertir sustratos diferentes del linoleato (por ejemplo, oleato).

Ejemplos no limitativos de 5,8-LDS incluyen *Emericella nidulans* PpoA (sec. con núm. de ident.: 1), *Aspergillus fumigatus* PpoA (sec. con núm. de ident.: 2), *Aspergillus terreus* PpoA (sec. con núm. de ident.: 3), *Aspergillus kawachii* PpoA (sec. con núm. de ident.: 4), *Aspergillus clavatus* PpoA (sec. con núm. de ident.: 5), *Aspergillus niger* PpoA (sec. con núm. de ident.: 6). Por ejemplo, *A. nidulans* PpoA (sec. con núm. de ident.: 1) convierte los ácidos grasos insaturados C16 y C18, que incluyen el ácido palmitoleico, ácido oleico, ácido linoleico y ácido  $\alpha$ -linolénico, en ácidos grasos 5,8-dihidroxilados y convierte los ácidos grasos insaturados C20, incluidos el ácido eicosenoico, ácido eicosadienoico y ácido eicosatrienoico, en ácidos grasos 7,10-dihidroxilados (Brodhun, *Fet al.* (2009), *J. Biol. Chem.* 284(18): 11792-11805 y Jernerren, F., *et al.* (2010), *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Biol. Lipids* 1801(4): 503-507).

Ejemplos no limitativos de 7,8-LDS incluyen *Glomerella cingulate* 7,8-LDS (sec. con núm. de ident.: 7), *Gaeumannomyces graminis* 7,8-LDS (sec. con núm. de ident.: 8), y *Magnaporthe oryzae* 7,8-LDS (sec. con núm. de ident.: 9). Por ejemplo, *G. graminis* 7,8-LDS convierte el ácido oleico, ácido linoleico y ácido  $\alpha$ -linolénico en ácidos grasos 7,8-dihidroxilados como productos principales, pero esta enzima no muestra actividad cuando el ácido  $\gamma$ -linolénico, el ácido eicosatrienoico, el ácido araquidónico y el ácido eicosapentaenoico se utilizan como sustratos. De manera similar, *G. cingulate* 7,8-LDS convierte el ácido palmitoleico, ácido oleico, ácido linoleico y ácido  $\alpha$ -linolénico

en ácidos grasos 7,8-dihidroxiolados, pero también procesa el ácido eicosenoico, ácido eicosadienoico, ácido dihomoy-linolénico, y ácido araquidónico en ácidos grasos 8-hidroperoxídicos utilizando solamente el dominio dioxigenasa N-terminal (Seo, M.-J., *et al.* (2016), *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100(7): 3087-3099).

5 Ejemplos no limitativos de 8,11-LDS incluyen *Penicillium oxalicum* 8,11-LDS (sec. con núm. de ident.: 10), *Penicillium chrysogenum* 8,11-LDS (sec. con núm. de ident.: 11) y *Penicillium digitatum* 8,11-LDS (sec. con núm. de ident.: 12). Por ejemplo, *Penicillium chrysogenum* 8,11-LDS convierte el ácido linoleico y el ácido  $\alpha$ -linolénico en ácidos grasos 1,8-dihidroxiolados, mientras que el ácido oleico y el ácido palmitoleico se convierten en ácidos grasos 8-hidroxiolados. De manera interesante, las variantes Q898E o Q898L de *G. cingulate* 7,8-LDS también convierten el  
10 ácido linoleico en el ácido graso 8,11-dihidroxiolado (Shin, K.-C., *et al.* (2016), *J. Lipid Res.* 57(2): 207-218).

Ejemplos no limitativos de 9,14-LDS incluyen *Nostoc* sp. PCC 7120 9,14-LDS (sec. con núm. de ident.: 13) y *Acaryochloris marina* putativa 9,14-LDS (sec. con núm. de ident.: 14) y *Nostoc* sp. NIES-4103 putativa 9,14-LDS (sec. con núm. de ident.: 15). *Nostoc* sp. PCC 7120 9,14-LDS convierte el ácido linoleico en el ácido graso 9,14-dihidroxiolado como el producto principal con ácidos grasos 9,10-dihidroxiolados, 8,11-dihidroxiolados y 9-hidroxiolados; el ácido  $\alpha$ -linolénico en los ácidos grasos 9,16-dihidroxiolado, 9,13-dihidroxiolado y 9-hidroxiolado; y el ácido  $\gamma$ -linolénico en los ácidos grasos 9,14-dihidroxiolado y 9-hidroxiolado (Lang, I., *et al.* (2008), *Biochem. J.* 410(2): 347-357).

En la naturaleza se han observado otros patrones de dihidroxilación, pero todavía no se han caracterizado las  
20 enzimas. Por ejemplo, *Bacillus megaterium* ALA2 y *Clavibacter* sp. ALA2 producen ácidos grasos 12,13-dihidroxiolados a partir de ácido linoleico. En otro ejemplo, el alga roja *Gracilariaopsis lemaneiformis* produce los ácidos grasos 9,10-dihidroxiolado, 12,12-dihidroxiolado y 12-hidroxiolado a partir de ácido araquidónico. Finalmente, *Leptomitus lacteus* convierte el ácido linoleico en los ácidos grasos 8,11-dihidroxiolado, 11,16-dihidroxiolado, 11,17-dihidroxiolado, 7-hidroxiolado y 8-hidroxiolado. Por lo tanto, las diol sintasas pueden usarse para convertir ácidos grasos insaturados en diferentes productos hidroxiolados (Kim, K.-R. y D.-K. Oh (2013), *Biotechnol. Adv.* 31(8): 1473-1485).

Las diol sintasas son capaces de transformar uno o más ácidos grasos insaturados en una o más oxilipinas y están presentes, preferiblemente, en la composición en una cantidad del 0,0001 % en peso al 1 % en peso de la composición de limpieza basada en la proteína activa. Más preferiblemente, las diol sintasas pueden estar presentes en cantidades del 0,001 % en peso al 0,2 % en peso de la composición de limpieza basada en la proteína activa.  
30

Preferiblemente las diol sintasas se seleccionan del grupo que consiste en: linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.44), 5,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.5), 7,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.6), 9,14-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.B1), 8,11-linoleato diol sintasas, oleato diol sintasas, y mezclas de estas.  
35

Preferiblemente las diol sintasas tienen al menos el 60 %, preferiblemente al menos el 70 %, preferiblemente al menos el 80 %, preferiblemente al menos el 85 %, preferiblemente al menos el 90 %, preferiblemente al menos el 95 %, preferiblemente al menos el 98 % o preferiblemente incluso el 100 % de identidad, calculada sobre toda la longitud de la secuencia alineada frente a toda la longitud de al menos una secuencia de referencia de las diol sintasas naturales seleccionadas del grupo que consiste en *Emericella nidulans* PpoA (sec. con núm. de ident.: 1), *Aspergillus fumigatus* PpoA (sec. con núm. de ident.: 2), *Aspergillus terreus* PpoA (sec. con núm. de ident.: 3), *Aspergillus kawachii* PpoA (sec. con núm. de ident.: 4), *Aspergillus clavatus* PpoA (sec. con núm. de ident.: 5), *Aspergillus niger* PpoA (sec. con núm. de ident.: 6), *Glomerella cingulate* 7,8-LDS (sec. con núm. de ident.: 7), *Gaeumannomyces graminis* 7,8-LDS (sec. con núm. de ident.: 8), *Magnaporthe oryzae* 7,8-LDS (sec. con núm. de ident.: 9), *Penicillium oxalicum* 8,11-LDS (sec. con núm. de ident.: 10), *Penicillium chrysogenum* 8,11-LDS (sec. con núm. de ident.: 11) y *Penicillium digitatum* 8,11-LDS (sec. con núm. de ident.: 12), *Nostoc* sp. PCC 7120 9,14-LDS (sec. con núm. de ident.: 13), *Acaryochloris marina* putativa 9,14-LDS (sec. con núm. de ident.: 14) y *Nostoc* sp. NIES-4103 putativa 9,14-LDS (sec. con núm. de ident.: 15).  
40  
45

Preferiblemente, las diol sintasas son 5,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.5). Preferiblemente, las 5,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.5) tienen al menos el 60 %, preferiblemente al menos el 70 %, preferiblemente al menos el 80 %, preferiblemente al menos el 85 %, preferiblemente al menos el 90 %, preferiblemente al menos el 95 %, preferiblemente al menos el 98 % o preferiblemente incluso el 100 % de identidad, calculada sobre toda la longitud de la secuencia alineada frente a toda la longitud de al menos una secuencia de referencia de las diol sintasas naturales seleccionadas del grupo que consiste en *Emericella nidulans* PpoA (sec. con núm. de ident.: 1), *Aspergillus fumigatus* PpoA (sec. con núm. de ident.: 2), *Aspergillus terreus* PpoA (sec. con núm. de ident.: 3), *Aspergillus kawachii* PpoA (sec. con núm. de ident.: 4), *Aspergillus clavatus* PpoA (sec. con núm. de ident.: 5), *Aspergillus niger* PpoA (sec. con núm. de ident.: 6), y mezclas de estas, más preferiblemente *Emericella nidulans* PpoA (sec. con núm. de ident.: 1).  
50  
55  
60

La presente invención también incluye variantes de diol de sintasas. Variantes de diol sintasas, como se utiliza en la presente memoria, incluye una secuencia que se obtiene cuando una proteína natural de la proteína respectiva se modifica mediante, o en, uno o más aminoácidos (por ejemplo 1, 2, 5 o 10 aminoácidos). La invención incluye, además, variantes en forma de formas truncadas derivadas de una diol sintasa natural, tal como una proteína con un N terminal truncado o un C terminal truncado. Algunas diol sintasas pueden incluir un péptido señal N terminal que es eliminado probablemente por la célula después de la secreción. La presente invención incluye variantes sin el  
65

péptido señal N terminal. Pueden usarse herramientas bioinformáticas, tales como SignalP ver 4.1 (Petersen TN., Brunak S., von Heijne G. y Nielsen H. (2011), *Nature Methods*, 8:785-786), para predecir la existencia y longitud de tales péptidos señal. La invención también incluye variantes obtenidas añadiendo una secuencia de aminoácidos adicional a una proteína natural, tal como, por ejemplo, una etiqueta N-terminal, una etiqueta C-terminal o una inserción en el medio de la secuencia de proteínas. Ejemplos no limitativos de etiquetas son la etiqueta de proteína de unión a maltosa (MBP), la etiqueta de glutatión S-transferasa (GST), la etiqueta de tiorredoxina (TRX), la etiqueta His y cualquier otra etiqueta conocida por los expertos en la técnica. Las etiquetas se pueden usar para mejorar la solubilidad y los niveles de expresión durante la fermentación o como una asa para la purificación de enzimas.

Es importante que las variantes de las diol sintetas retengan y, preferiblemente, mejoren la capacidad de la proteína natural para catalizar la conversión de los ácidos grasos insaturados. Por supuesto, se puede tolerar cierta pérdida de rendimiento en una propiedad determinada de las variantes, pero las variantes deben retener y, preferiblemente, mejorar las propiedades adecuadas para la aplicación pertinente para la cual están previstas. Se puede usar un análisis de variantes de uno de los tipos naturales para identificar si retienen y, preferiblemente, mejoran las propiedades adecuadas.

Las variantes pueden tener sustituciones “conservativas”. Ejemplos adecuados de sustitución conservativa incluyen una sustitución conservativa en la enzima, tal como una sustitución conservativa en la sec. con núm. de ident.: 1, sec. con núm. de ident.: 2, ld. de sec. n.º 3, sec. con núm. de ident.: 4, sec. con núm. de ident.: 5, sec. con núm. de ident.: 6, sec. con núm. de ident.: 7, sec. con núm. de ident.: 8, sec. con núm. de ident.: 9, sec. con núm. de ident.: 10, sec. con núm. de ident.: 11, sec. con núm. de ident.: 12, sec. con núm. de ident.: 13, sec. con núm. de ident.: 14, o sec. con núm. de ident.: 15. Otros ejemplos adecuados incluyen 10 o menos sustituciones conservativas en la proteína, tales como cinco o menos. Por lo tanto, una enzima de la invención puede incluir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más sustituciones conservativas. Se puede producir una enzima que contenga una o más sustituciones conservativas manipulando la secuencia de nucleótidos que codifica esa enzima usando, por ejemplo, procedimientos estándar, tales como mutagénesis dirigida al sitio o PCR.

Ejemplos de aminoácidos que pueden sustituirse por un aminoácido original en una enzima y que se consideran como sustituciones conservativas incluyen: Ser por Ala; Lys por Arg; Gln o His por Asn; Glu por Asp; Asn por Gln; Asp por Glu; Pro por Gly; Asn o Gln por His; Leu o Val por Ile; Ile o Val por Leu; Arg o Gln por Lys; Leu o Ile por Met; Met, Leu o Tyr por Phe; Thr por Ser; Ser por Thr; Tyr por Trp; Trp o Phe por Tyr; e Ile o Leu por Val.

Una variante incluye una “enzima modificada” o una “enzima mutante” que abarca proteínas que tienen al menos una sustitución, inserción, y/o delección de un aminoácido. Una enzima modificada puede tener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 o más modificaciones de aminoácidos (seleccionadas entre sustituciones, inserciones, delecciones y combinaciones de las mismas).

Las enzimas se pueden modificar mediante diversas técnicas químicas para producir derivados que tienen esencialmente la misma actividad, o preferiblemente una actividad mejorada, que las enzimas no modificadas y que tienen, opcionalmente, otras propiedades deseables. Por ejemplo, los grupos ácido carboxílico de la proteína, tanto del carboxilo terminal como de la cadena lateral, pueden proporcionarse en forma de una sal de un catión farmacéuticamente aceptable, o bien esterificados, por ejemplo, para formar un éster de alquilo C1-C6, o convertirse en una amida, por ejemplo, de fórmula CONR1R2, donde R1 y R2 son cada uno independientemente H o alquilo C1-C6, o se combinan para formar un anillo heterocíclico, tal como un anillo de 5 o 6 miembros. Los grupos amino de la enzima, tanto del amino terminal como de la cadena lateral, pueden estar en forma de una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable, tales como de HCl, HBr, acético, benzoico, toluenosulfónico, maleico, tartárico y otras sales orgánicas, o se pueden modificar a alquilo C1-C20 o dialquilamino o convertirse adicionalmente en una amida. Los grupos hidroxilo de las cadenas laterales de la proteína se pueden convertir a grupos alcoxi o éster, por ejemplo alcoxi C1-C20 o éster de alquilo C1-C20, usando técnicas bien reconocidas. Los anillos fenilo y fenólicos de las cadenas laterales de la proteína se pueden sustituir por uno o más átomos de halógeno, tales como F, Cl, Br o I, o por alquilo C1-C20, alcoxi C1-C20, ácidos carboxílicos y ésteres de los mismos o amidas de dichos ácidos carboxílicos. Los grupos metileno de las cadenas laterales de la proteína se pueden extender a alquilenos C2-C4 homólogos. Los tioles se pueden proteger con uno cualquiera de numerosos grupos protectores bien reconocidos, tales como grupos acetamida. Los expertos en la técnica también reconocerán métodos para introducir estructuras cíclicas en las proteínas de esta descripción para seleccionar y proporcionar limitaciones conformacionales a la estructura que den como resultado una mejora en la estabilidad.

Los porcentajes de identidad u homología, como se menciona en la presente descripción con respecto a la presente descripción, son los que pueden calcularse con el programa GAP, que puede obtenerse de GCG (Genetics Group Inc., Madison, WI, EE.UU.). Alternativamente, se puede realizar un alineamiento manual.

Para la comparación de secuencias de enzimas se pueden usar las siguientes configuraciones: Algoritmo de alineamiento: Needleman y Wunsch, *J. Mol. Biol.* 1970, 48: 443-453. Como matriz de comparación para la similitud entre aminoácidos, se utiliza la matriz Blossum62 (Henikoff S. y Henikoff J.G., *P.N.A.S. USA* 1992, 89: 10915-10919). Se usaron los siguientes parámetros de puntuación de hueco: Penalización de hueco: 12, penalización de longitud de hueco: 2, no hay penalización por huecos finales.

Una secuencia dada se compara, típicamente, con la secuencia de longitud completa de la id. de sec. n.º 1, sec. con núm. de ident.: 2, Id. de sec. n.º 3, sec. con núm. de ident.: 4, sec. con núm. de ident.: 5, sec. con núm. de ident.: 6, sec. con núm. de ident.: 7, sec. con núm. de ident.: 8, sec. con núm. de ident.: 9, sec. con núm. de ident.: 10, sec. con núm. de ident.: 11, sec. con núm. de ident.: 12, sec. con núm. de ident.: 13, sec. con núm. de ident.: 14, o sec. con núm. de ident.: 15 para obtener una puntuación.

Las diol sintasas se pueden incorporar a la composición detergente mediante una partícula aditiva, tal como un gránulo de enzima o en forma de un encapsulado, o puede añadirse en forma de una formulación líquida.

En particular cuando la composición detergente comprende un líquido, puede preferirse incorporar la enzima a través de un encapsulado. Encapsular la enzima promueve la estabilidad de la enzima en la composición y ayuda a contrarrestar el efecto de cualquier compuesto hostil presente en la composición, tal como blanqueador, proteasa, tensoactivo, quelante, etc.

Las diol sintasas, cuando están presentes, en una partícula de aditivo, puede ser la única enzima en la partícula de aditivo o puede estar presente en la partícula de aditivo junto con una o más enzimas adicionales.

Preferiblemente, la composición de la invención puede también comprender una o más coenzimas seleccionadas del grupo que consiste en: ácido graso peroxidasa (EC 1.11.1.3), peroxigenasas inespecíficas (EC 1.11.2.1), peroxigenasas de semillas de plantas (EC 1.11.2.3), ácido graso peroxigenasas (EC 1.11.2.4), linoleato 13S-lipoxigenasas (EC 1.13.11.12), araquidonato 12-lipoxigenasas (E.C. 1.13.11.31), araquidonato 15-lipoxigenasa (EC 1.13.11.33), araquidonato 5-lipoxigenasas (EC 1.13.11.34), araquidonato 8-lipoxigenasas (EC 1.13.11.40), linoleato 11-lipoxigenasas (EC 1.13.11.45), linoleato 9S-lipoxigenasas (EC 1.13.11.58), linoleato 8R-lipoxigenasas (EC 1.13.11.60), linoleato 9R-lipoxigenasas (EC 1.13.11.61), linoleato 10R-lipoxigenasas (EC 1.13.11.62), oleato 10S-lipoxigenasas (EC 1.13.11.77), linoleato 9/13-lipoxigenasas (EC 1.13.11.B6), linoleato 10S-lipoxigenasas, monooxigenasa inespecífica (EC 1.14.14.1), alcanos 1-monooxigenasa (EC 1.14.15.3), oleato 12-hidroxilasa (EC 1.14.18.4), ciclooxigenasas (EC 1.14.99.1), ácido graso amida hidrolasa (EC 3.5.1.99), oleato hidratasa (EC 4.2.1.53), aleno óxido sintasas (EC 4.2.1.92), hidroperóxido isomerasas (EC 4.2.1.92, EC 5.3.99.1, EC 5.4.4.5, EC 5.4.4.6), hidroperóxido liasas (EC 4.2.1.92), hidroperóxido dehidratasa (EC 4.2.1.92), divinil éter sintasas (EC 4.2.1.121, EC 4.2.1.B8, EC 4.2.1.B9), linoleato isomerasas (EC 5.2.1.5), linoleato (10E,12Z)-isomerasas (EC 5.3.3.B2), 9,12-octadecadienoato 8-hidroperóxido 8R-isomerasas (EC 5.4.4.5), 9,12-octadecadienoato 8-hidroperóxido 8S-isomerasas (EC 5.4.4.6), 7,10-hidroperóxido diol sintasas, ácido graso decarboxilasas (de tipo OleT), decarboxilasas dependientes de hierro (de tipo UndA), epoxi alcohol sintasas, otras monooxigenasas CYP450, amilasas, lipasas, proteasas, celulasas y mezclas de estas.

Preferiblemente, las coenzimas son linoleato 9S-lipoxigenasas (EC 1.13.11.58), linoleato 8R-lipoxigenasas (EC 1.13.11.60), linoleato 9R-lipoxigenasas (EC 1.13.11.61), linoleato 10R-lipoxigenasas (EC 1.13.11.62), oleato 10S-lipoxigenasas (EC 1.13.11.77), linoleato 9/13-lipoxigenasas (EC 1.13.11.B6), linoleato 10S-lipoxigenasas, oleato hidratasa (EC 4.2.1.53), hidroperóxido isomerasas (EC 4.2.1.92, EC 5.3.99.1, EC 5.4.4.5, EC 5.4.4.6), hidroperóxido liasas (EC 4.2.1.92), hidroperóxido dehidratasa (EC 4.2.1.92), 9,12-octadecadienoato 8-hidroperóxido 8R-isomerasas (EC 5.4.4.5), 9,12-octadecadienoato 8-hidroperóxido 8S-isomerasas (EC 5.4.4.6), 7,10-hidroperóxido diol sintasas, ácido graso decarboxilasas (de tipo OleT), decarboxilasas dependientes de hierro (de tipo UndA), y mezcla de estas, más preferiblemente oleato 10S-lipoxigenasas (EC 1.13.11.77), 9,12-octadecadienoato 8-hidroperóxido 8R-isomerasas (EC 5.4.4.5), 9,12-octadecadienoato 8-hidroperóxido 8S-isomerasas (EC 5.4.4.6), 7,10-hidroperóxido diol sintasas, y mezclas de estas.

Otras coenzimas adicionales adecuadas incluyen proteasa tales como metaloproteasa o serina proteasa alcalina, tal como subtilisina, mananasa, pectinasa, ADNasa, oxidoreductasa, peroxidasa, lipasas, fosfolipasas, celobiohidrolasas, celobiosa deshidrogenasas, esterasas, cutinasas, pectinasas, pectato liasas, queratinasas, reductasas, oxidasas, fenoloxidasas, lipoxigenasas, ligninasas, pululaninas, tanasas, pentosaninas, glucanasas, arabinosidasas, hialuronidasa, condroitinasa, lacasas, amilasas, y mezclas de estas.

Preferiblemente, los ácidos grasos insaturados se seleccionan del grupo que consiste en: ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos diinsaturados, ácidos grasos triinsaturados, ácidos grasos tetrainsaturados, ácidos grasos penta-insaturados, ácidos grasos hexa-insaturados y mezclas de estos; preferiblemente, ácido miristoleico, ácido palmítoleico, ácido sapiénico, ácido oleico, ácido elaidico, ácido vaccénico, ácido linoleico, ácido linoleáico, ácido  $\alpha$ -linolénico, ácido  $\gamma$ -linolénico, ácido gadoleico, ácido  $\alpha$ -eleosteárico, ácido  $\beta$ -eleosteárico, ácido ricinoleico, ácido eicosénico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico, ácido erúxico, ácido docosadienoico, ácido docosahexaenoico, ácido tetracosenoico y mezclas de estos; preferiblemente, ácido palmítoleico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido  $\alpha$ -linolénico, ácido  $\gamma$ -linolénico, y mezclas de estos; más preferiblemente ácido oleico.

Preferiblemente, las oxilipinas se seleccionan del grupo que consiste en: ácidos grasos hidroperoxídicos, ácidos grasos monohidroxiados, ácidos grasos dihidroxiados, ácidos grasos trihidroxiados, ácidos grasos polihidroxiados, sus derivados, y mezclas de estos; preferiblemente, dichas oxilipinas se seleccionan del grupo que consiste en: ácidos grasos monohidroxiados insaturados, ácidos grasos dihidroxiados insaturados, ácidos grasos 8R-

hidroperoxídicos insaturados, ácidos grasos 9R-hidroperoxídicos insaturados, sus derivados, y mezclas de estos; más preferiblemente, ácidos grasos dihidroxilados insaturados; aún más preferiblemente, ácido 5,8-dihidroxioléico.

5 Cuando sea necesario, la composición comprende, proporciona acceso o forma *in situ* cualquier sustrato adicional necesario para el funcionamiento eficaz de la enzima. Por ejemplo, el oxígeno molecular se proporciona como un sustrato adicional para las diol sintetas; agua para las oleato hidratatas. y peróxido de hidrógeno para las peroxidatas, la peroxigenasa, lipoxigenasas y/o las ácido graso decarboxilasas (de tipo OleT).

10 Sistema tensioactivo

10 Preferiblemente, la composición detergente de la invención comprende del 1 % al 60 %, preferiblemente del 5 % al 50 %, más preferiblemente del 8 % al 40 % en peso de la composición total de un sistema tensioactivo.

15 El sistema tensioactivo de la composición de la presente invención comprende un tensioactivo aniónico. Preferiblemente, el sistema tensioactivo de la composición limpiadora de la presente invención comprende de 1 % a 40 %, preferiblemente de 6 % a 35 %, más preferiblemente de 8 % a 30 % en peso de la composición total de un tensioactivo aniónico. El tensioactivo aniónico puede ser cualquier tensioactivo aniónico limpiador, preferiblemente seleccionado de tensioactivos aniónicos de tipo sulfato y/o sulfonato. HLAS (sulfonato de alquilbenceno lineal) sería el tensioactivo aniónico de sulfonato más preferido. El tensioactivo aniónico especialmente preferido se selecciona del grupo que consiste en alquilsulfato, alquil alcoxi sulfato y mezclas de los mismos, y preferiblemente en donde el alquil alcoxi sulfato es un alquil etoxi sulfato. El tensioactivo aniónico preferido es una combinación de alquilsulfatos y/o alquiletoxisulfatos con un grado de etoxilación promedio combinado de menos de 5, preferiblemente menos de 3, más preferiblemente menos de 2 y más de 0,5 y un nivel de ramificación promedio del 5 % al 40 %, más preferiblemente del 10 % al 35 % y, aún más preferiblemente, del 20 % al 30 %.

25 El grado de alcoxilación promedio es el grado de alcoxilación promedio en moles de todos los componentes de la mezcla (es decir, grado de alcoxilación promedio en moles) del tensioactivo aniónico. En el cálculo del grado de alcoxilación promedio en moles, debe incluirse también el peso de los componentes de tensioactivo aniónico de tipo sulfato que no tienen grupos alcoxilados.

30 Grado de alcoxilación promedio en moles =  $(x_1 * \text{grado de alcoxilación del tensioactivo 1} + x_2 * \text{grado de alcoxilación del tensioactivo 2} + \dots) / (x_1 + x_2 + \dots)$   
en donde  $x_1, x_2, \dots$  son el número de moles de cada tensioactivo aniónico de tipo sulfato de la mezcla y el grado de alcoxilación es el número de grupos alcoxi en cada tensioactivo aniónico de tipo sulfato.

35 El nivel promedio de ramificación es el % promedio en peso de ramificación y se define según la siguiente fórmula:

40 Promedio en peso de la ramificación (%) =  $[(x_1 * \% \text{ en peso de alcohol ramificado 1 en alcohol 1} + x_2 * \% \text{ en peso de alcohol ramificado 2 en alcohol 2} + \dots) / (x_1 + x_2 + \dots)] * 100$   
donde  $x_1, x_2, \dots$  son el peso en gramos de cada alcohol en la mezcla de alcohol total de los alcoholes que se utilizaron como material de partida del tensioactivo aniónico para la composición de la invención. En el cálculo del grado de ramificación promedio en peso, debería de incluirse también el peso de los componentes del tensioactivo aniónico que no tienen grupos ramificados.

45 Los ejemplos adecuados de sulfatos comercialmente disponibles incluyen los basados en alcoholes Neodol, de la empresa Shell, Lial – Isalchem y Safol de la empresa Sasol, alcoholes naturales, de la empresa The Procter & Gamble Chemicals. Los tensioactivos de tipo sulfonato adecuados para su uso en la presente memoria incluyen sales solubles en agua de alquilo o hidroxialquilo C8-C18 sulfonatos; alquilbenceno C11-C18 sulfonatos (LAS), alquilbenceno sulfonato modificado (MLAS); metil-éster sulfonato (MES); y sulfonato de alfaolefina (AOS). Estos también incluyen los sulfonatos de parafina que pueden ser monosulfonatos y/o disulfonatos, obtenidos al sulfonar parafinas de 10 a 20 átomos de carbono. El tensioactivo de tipo sulfonato también incluye tensioactivos de alquil gliceril sulfonato.

55 El sistema tensioactivo de la composición de la presente invención además comprende un sistema tensioactivo auxiliar primario, donde el sistema tensioactivo auxiliar primario se selecciona del grupo que consiste en tensioactivo anfótero, tensioactivo de ion híbrido y mezclas de estos. Preferiblemente, el sistema tensioactivo de la composición de la presente invención comprende del 0,5 % al 15 %, preferiblemente del 1 % al 12 %, más preferiblemente del 2 % al 10 % en peso de la composición total de un sistema tensioactivo auxiliar primario.

60 Preferiblemente, el sistema tensioactivo auxiliar primario es un tensioactivo anfótero. Preferiblemente, el sistema tensioactivo auxiliar primario es un tensioactivo de tipo óxido de amina, y donde la composición comprende tensioactivo aniónico y tensioactivo de tipo óxido de amina en una relación de peso inferior a 9:1, más preferiblemente de 5:1 a 1:1, más preferiblemente de 4:1 a 2:1, preferiblemente de 3:1 a 2,5:1. Los óxidos de amina preferidos son los óxidos de alquildimetilamina u óxido de alquilamidopropildimetilamina, más preferiblemente óxido de alquildimetilamina y especialmente óxido de cocodimetilamino. El óxido de amina puede tener un resto alquilo lineal o ramificado.

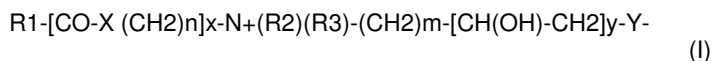
Opcionalmente, el tensioactivo de tipo óxido de amina es una mezcla de óxidos de amina que comprende un óxido de amina de fracción baja y un óxido de amina de fracción media. El óxido de amina de la composición de la invención comprende entonces:

- 5 a) del 10 % al 45 % en peso del óxido de amina del óxido de amina de fracción baja de fórmula R1R2R3AO, donde R1 y R2 se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilos C1-C4 o mezclas de estos y R3 se selecciona de alquilos C10 o mezclas de estos; y  
 b) de 55 % a 90 % en peso del óxido de amina del óxido de amina de fracción media de fórmula R4R5R6AO, en donde R4 y R5 se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilos C1-C4 o mezclas de los mismos y R6 se selecciona de alquilos C12-C16 y mezclas de los mismos

10 En un óxido de amina de fracción baja preferido para su uso en la presente invención, R3 es n-decilo. En otro óxido de amina de fracción baja preferido para su uso en la presente memoria, R1 y R2 son metilo. En un óxido de amina de fracción baja especialmente preferido para su uso en la presente memoria, R1 y R2 son ambos metilo y R3 es n-decilo.

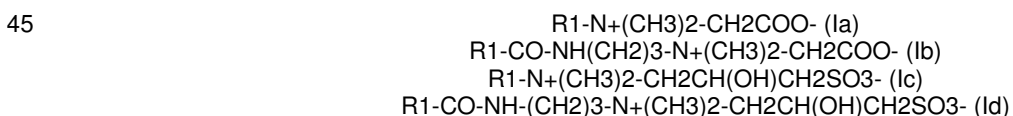
15 Preferiblemente, el óxido de amina comprende menos del 5 %, más preferiblemente menos del 3 % en peso del óxido de amina de un óxido de amina de fórmula R7R8R9AO, donde R7 y R8 se seleccionan de hidrógeno, alquilos C1-C4 y mezclas de estos y donde R9 se selecciona de alquilos C8 y mezclas de estos. Las composiciones que comprenden R7R8R9AO tienden a ser inestables y no proporcionan una capacidad de limpieza de las jabonaduras muy elevada.

20 Preferiblemente, el sistema tensioactivo auxiliar primario es un tensioactivo de ion híbrido. Los ejemplos de tensioactivos de ion híbrido adecuados incluyen betainas tales como, alquilbetainas, alquilamidobetaina, amidazolinobetaina, sulfobetaina (sultainas INCI) así como la fosfobetaina y, preferiblemente, satisfacen la fórmula (I):



- 30 en donde  
 R1 es un residuo alquilo saturado o insaturado C6-22, preferiblemente residuo alquilo C8-18, en particular un residuo alquilo C10-16 saturado, por ejemplo, un residuo alquilo C12-14 saturado;  
 X es NH, NR4 con el residuo alquilo C1-4 R4, O o S;  
 n es un número de 1 a 10, preferiblemente de 2 a 5, en particular 3;  
 35 x es 0 o 1, preferiblemente 1;  
 R2 y R3 son, independientemente, un resto alquilo C1-4, potencialmente sustituido con hidroxilo, tal como hidroxietilo, preferiblemente un metilo;  
 m es un número de 1 a 4, en particular 1, 2 o 3;  
 y es 0, o 1; y  
 40 Y es COO, SO3, OPO(OR5)O o P(O)(OR5)O, donde R5 es un átomo de hidrógeno H o un residuo alquilo C1-4.

Son betainas preferidas las alquilbetainas de Fórmula (Ia), la alquilamidopropilbetaina de Fórmula (Ib), las sulfobetainas de fórmula (Ic) y la amidosulfobetaina de fórmula (Id);



- 50 en las que R1 tiene el mismo significado que en la fórmula (I). Las betainas especialmente preferidas son la carbobetaina [donde Y=COO-], en particular la carbobetaina de fórmulas (Ia) y (Ib), más preferida es la alquilamidobetaina de fórmula (Ib). Un tipo de betaina preferida es, por ejemplo, la Cocoamidopropilbetaina.

55 Preferiblemente, el sistema tensioactivo de la composición de la presente invención además comprende del 0,1 % al 10 % en peso de la composición total de un sistema tensioactivo auxiliar secundario que comprende preferiblemente un tensioactivo no iónico. Los tensioactivos no iónicos adecuados incluyen los productos de condensación de alcoholes alifáticos con de 1 a 25 moles de óxido de etileno. La cadena alifática del alcohol alifático puede ser lineal o ramificada, primaria o secundaria y generalmente contiene de 8 a 22 átomos de carbono. Son especialmente preferidos los productos de condensación de alcoholes que tienen un grupo alquilo que contiene de 10 a 18 átomos de carbono, preferiblemente de 10 a 15 átomos de carbono con una cantidad de 2 a 18 moles, preferiblemente de 2 a 15, más preferiblemente 5-12 de óxido de etileno por mol de alcohol. Los tensioactivos iónicos muy preferidos son los productos de condensación de los alcoholes Guerbet con de 2 a 18 moles, preferiblemente de 2 a 15 moles, más preferiblemente de 5-12 moles de óxido de etileno por mol de alcohol. Preferiblemente, los tensioactivos no iónicos son tensioactivos de tipo alquiletoxilato, que preferiblemente comprenden de 9 a 15 átomos de carbono en su cadena alifática y de 5 a 12 unidades de óxido de etileno por mol de alcohol. Otros tensioactivos no iónicos adecuados para su uso en la presente memoria incluyen éteres de poliglicol de alcoholes grasos,

alquilpoliglucósidos y glucamidas de ácido graso, preferiblemente alquilpoliglucósidos. Preferiblemente, el tensioactivo de tipo alquilpoliglucósido es un tensioactivo de alquilpoliglucósido C8-C16, preferiblemente un tensioactivo de tipo alquilpoliglucósido C8-C14, preferiblemente con un grado de polimerización promedio entre 0,1 y 3, más preferiblemente entre 0,5 y 2,5, incluso más preferiblemente entre 1 y 2. Con máxima preferencia, el tensioactivo de tipo alquilpoliglucósido tiene una longitud promedio de la cadena de carbono alquílica entre 10 y 16, preferiblemente entre 10 y 14, con la máxima preferencia entre 12 y 14, con un grado de polimerización promedio de entre 0,5 y 2,5, preferiblemente entre 1 y 2, con la máxima preferencia entre 1,2 y 1,6. Los alquilpoliglucósidos C8-C16 son comercializados por varios proveedores (p. ej., los tensioactivos Simusol® de Seppic Corporation; y Glucopon® 600 CSUP, Glucopon® 650 EC, Glucopon® 600 CSUP/MB, y Glucopon® 650 EC/MB, de BASF Corporation). Preferiblemente, la composición comprende el tensioactivo aniónico y el tensioactivo no iónico en una relación de 2:1 a 50:1, preferiblemente de 2:1 a 10:1.

#### Estabilizante enzimático

Preferiblemente, la composición de la invención comprende un estabilizante de enzimas. Los estabilizantes enzimáticos adecuados pueden seleccionarse del grupo que consiste en (a) cationes univalentes, bivalentes y/o trivalentes preferiblemente seleccionados del grupo de sales inorgánicas u orgánicas de metales alcalinotérreos, metales alcalinos, aluminio, hierro, cobre y cinc, preferiblemente de metales alcalinos y metales alcalinotérreos, preferiblemente sales de metal alcalino y metal alcalinotérreo con haluros, sulfatos, sulfitos, carbonatos, hidrogenocarbonatos, nitratos, nitritos, fosfatos, formiatos, acetatos, propionatos, citratos, maleatos, tartratos, succinatos, oxalatos, lactatos, y mezclas de los mismos. En una realización preferida, la sal se selecciona del grupo que consiste en cloruro sódico, cloruro cálcico, cloruro potásico, sulfato sódico, sulfato potásico, acetato sódico, acetato potásico, formiato sódico, formiato potásico, lactato de calcio, nitrato de calcio y mezclas de los mismos. Las sales más preferidas se seleccionan del grupo que consiste en cloruro cálcico, cloruro potásico, sulfato potásico, acetato sódico, acetato potásico, formiato sódico, formiato potásico, lactato de calcio, nitrato de calcio y mezclas de los mismos, y en particular sales potásicas seleccionadas del grupo de cloruro potásico, sulfato potásico, acetato potásico, formiato potásico, propionato potásico, lactato potásico y mezclas de los mismos. Los más preferidos son el acetato potásico y el cloruro potásico. Las sales de calcio preferidas son formiato de calcio, lactato de calcio y nitrato de calcio que incluyen nitrato de calcio tetrahidratado. Se pueden preferir las sales de formiato de calcio y de sodio. Estos cationes están presentes en al menos el 0,01 % en peso, preferiblemente al menos el 0,03 % en peso, más preferiblemente al menos el 0,05 % en peso, con máxima preferencia al menos el 0,25 % en peso hasta el 2 % en peso o incluso hasta el 1 % en peso de la composición total. Estas sales se formulan del 0,1 % en peso al 5 % en peso, preferiblemente del 0,2 % en peso al 4 % en peso, más preferiblemente del 0,3 % en peso al 3 % en peso, con máxima preferencia del 0,5 % en peso al 2 % en peso con respecto al peso total de la composición. Otros estabilizantes enzimáticos se pueden seleccionar del grupo (b) carbohidratos seleccionados del grupo que consiste en oligosacáridos, polisacáridos y mezclas de los mismos, tales como glicerato de monosacárido como se describe en WO2012/19844; (c) inhibidores de la proteasa reversibles eficaces para masa seleccionados del grupo que consiste en ácido fenilborónico y derivados de los mismos, preferiblemente ácido 4-formilfenilborónico; (d) alcoholes tales como 1,2-propanodiol, propilenglicol; (e) estabilizadores de aldehído peptídico, tales como aldehídos tripeptídicos tales como Cbz-Gly-Ala-Tyr-H, o alaninamida disustituida; (f) ácidos carboxílicos, tales como ácido fenildicarboxílico como se describe en WO2012/19849 o un ácido carboxílico bencilo multisustituido que comprende un grupo carboxilo en al menos dos átomos de carbono del radical bencilo, tal como se describe en WO2012/19848, ácido ftaloil glutamina, ácido ftaloil asparagina, ácido aminoftálico y/o un ácido oligoamino bifenilo oligoácido carboxílico; y (g) mezclas de estos.

#### Enzimas adicionales

Las composiciones preferidas de la invención comprenden una o más enzimas seleccionadas de lipasas, proteasas, celulasas, amilasas y cualquier combinación de las mismas.

Cada enzima adicional está típicamente presente en una cantidad del 0,0001 % en peso al 1 % en peso (peso de proteína activa), más preferiblemente del 0,0005 % en peso al 0,5 % en peso, con máxima preferencia 0,005-0,1 %). Puede ser especialmente preferido que las composiciones de la presente invención comprendan de forma adicional una enzima lipasa. Las lipasas descomponen la suciedad de ésteres grasos en ácidos grasos que son atacados a continuación por la enzima transformadora de ácidos grasos insaturados para dar jabonaduras neutras o agentes reforzadores de las jabonaduras.

Puede ser especialmente preferido que las composiciones de la presente invención comprendan de forma adicional una enzima proteasa. Como el ácido oleico y otros ácidos grasos insaturados supresores de espuma están presentes en la suciedad corporal o incluso la piel humana, puesto que la enzima proteasa actúa como agente para el cuidado de la piel o descompone la suciedad proteica, los ácidos grasos liberados se descomponen, evitando la supresión de las jabonaduras.

Puede ser especialmente preferido que las composiciones de la presente invención comprendan de forma adicional una enzima amilasa. Como la suciedad de aceite queda comúnmente atrapada en la suciedad que contiene almidón, las enzimas transformadoras de ácidos grasos insaturados actúan sinérgicamente: la suciedad de ácido graso se

libera mediante la descomposición de la suciedad que contiene almidón por la amilasa, por lo que la enzima transformadora de ácido graso es especialmente eficaz para asegurar que no haya un impacto negativo sobre las jabonaduras en la solución de lavado.

#### 5 Sal

La composición de la presente invención puede comprender de forma opcional del 0,01 % al 3 %, preferiblemente del 0,05 % al 2 %, preferiblemente del 0,2 % al 1,5 %, o con máxima preferencia del 0,5 % al 1 % en peso de la composición total de una sal, preferiblemente una sal inorgánica monovalente o divalente o una mezcla de las mismas, preferiblemente cloruro sódico. Con máxima preferencia, la composición comprende, además, o alternativamente un catión metálico multivalente en la cantidad del 0,01 % en peso al 3 % en peso, preferiblemente del 0,05 % a 2 %, más preferiblemente del 0,2 % al 1,5 % o, con máxima preferencia, del 0,5 % al 1 % en peso de dicha composición, preferiblemente dicho catión metálico multivalente es magnesio, aluminio, cobre, calcio o hierro, más preferiblemente magnesio, con máxima preferencia dicha sal multivalente es cloruro de magnesio. Sin pretender imponer ninguna teoría, se cree que el uso de un catión multivalente contribuye a la formación de una red de proteína/proteína, tensioactivo/tensioactivo o proteína híbrida/tensioactivo en la interfase de aceite-agua y aire-agua que está reforzando las jabonaduras.

#### 20 Carbohidratos

Preferiblemente, la composición de la presente invención comprende uno o más carbohidratos seleccionados del grupo que comprende O-glucano, N- glucano, y mezclas de estos. Preferiblemente, la composición de limpieza comprende, además, uno o más carbohidratos seleccionados del grupo que comprende derivados de glucosa, manosa, lactosa, galactosa, alosa, altrosa, gulosa, idosa, talosa, fucosa, fructosa, sorbosa, tagatosa, psicosa, arabinosa, ribosa, xilosa, lixosa, ribulosa, xilulosa. Más preferiblemente, la composición de limpieza comprende uno o más carbohidratos seleccionados del grupo de los  $\alpha$ -glucanos y  $\beta$ -glucanos. Los glucanos son polisacáridos de monómeros de D-glucosa unidos por enlaces glucosídicos. Ejemplos no limitativos de  $\alpha$ -glucanos son el dextrano, el almidón, el almidón florídeo, el glucógeno, el pululano y sus derivados. Ejemplos no limitativos de  $\beta$ -glucanos son la celulosa, la crisolaminarina, el curdlano, la laminarina, el lentinano, la liquenina, el beta-glucano de avena, el pleurano, el zimosano, y sus derivados.

#### 30 Hidrótopo

La composición de la presente invención pueden comprender de forma opcional de 1 % a 10 %, o preferiblemente de 0,5 % a 10 %, más preferiblemente de 1 % a 6 %, o con máxima preferencia de 0,1 % a 3 %, o combinaciones de los mismos, en peso de la composición total de un hidrótopo, preferiblemente cumenosulfonato de sodio. Otros hidrótopos adecuados para su uso en la presente memoria incluyen hidrótopos de tipo aniónico, particularmente xilenosulfonato de sodio, potasio y amonio, toluenosulfonato de sodio, potasio y amonio, cumenosulfonato sodio, potasio y amonio, y mezclas de los mismos, según se describe en la patente US-3.915.903. Preferiblemente, la composición de la presente invención es isotrópica. Una composición isotrópica se distingue de las emulsiones aceite/agua y de las composiciones de las fases laminares. Un microscopio de luz polarizada puede determinar si la composición es isotrópica. Véase, p. ej., *The Aqueous Phase Behaviour of Surfactants*, Robert Laughlin, Academic Press, 1994, págs. 538-542. Preferiblemente, se proporciona una composición isotrópica. Preferiblemente, la composición comprende del 0,1 % al 3 % en peso de la composición total de un hidrótopo, preferiblemente donde el hidrótopo se selecciona de xilenosulfonato de sodio, potasio y amonio, toluenosulfonato de sodio, potasio y amonio, cumenosulfonato de sodio, potasio y amonio, y mezclas de estos.

#### 50 Disolvente orgánico

La composición de la presente invención puede de forma opcional comprender un disolvente orgánico. Los disolventes orgánicos adecuados incluyen éteres y diéteres C4-14 polioles, glicoles, glicoles alcoxilados, éteres de glicol C6-C16, alcoholes aromáticos alcoxilados, alcoholes aromáticos, alcoholes lineales o alcoholes ramificados, alcoholes lineales o ramificados alcoxilados alifáticos, alcoholes C1-C5 alcoxilados, hidrocarburos y halo-hidrocarburos de alquilo y cicloalquilo C8-C14 e hidrocarburos, y mezclas de los mismos. Preferiblemente los disolventes orgánicos incluyen alcoholes, glicoles y éteres de glicol, de forma alternativa alcoholes y glicoles. La composición comprende de 0 % a menos de 50 %, preferiblemente de 0,01 % a 25 %, más preferiblemente de 0,1 % a 10 %, o con máxima preferencia de 0,5 % a 5 %, en peso de la composición total de un disolvente orgánico, preferiblemente un alcohol, más preferiblemente un etanol, un polialquilenglicol, más preferiblemente polipropilenglicol, y mezclas de los mismos.

#### 60 Polímero anfifílico

La composición de la presente invención puede además comprender de 0,01 % a 5 %, preferiblemente de 0,05 % a 2 %, más preferiblemente de 0,07 % a 1 % en peso de la composición total de un polímero anfifílico seleccionado del grupo que consiste en polialquilenimina anfifílica alcoxilada y mezclas de la misma, preferiblemente una polialquilenimina anfifílica alcoxilada.

Preferiblemente, la polialquilenimina anfílica alcoxilada es un polímero de polietilenimina alcoxilada que comprende una cadena principal de polietilenimina que tiene un intervalo de peso molecular promedio en peso de 100 a 5000, preferiblemente de 400 a 2000, más preferiblemente de 400 a 1000 Dalton y comprendiendo adicionalmente el

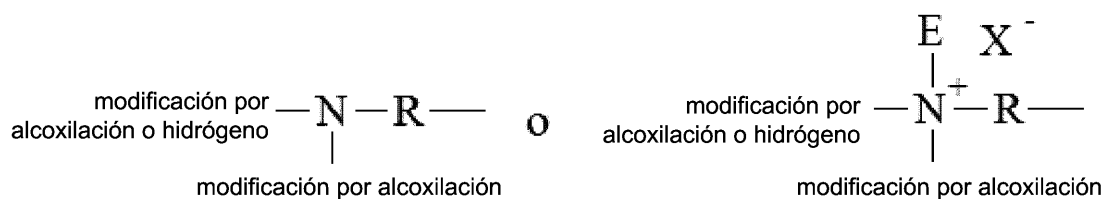
(i) una o dos modificaciones por alcoxilación por átomo de nitrógeno por una cadena de polialcoxileno que tiene un promedio de 1 a 50 restos alcoxi por modificación, donde el resto alcoxi terminal de la modificación por alcoxilación está terminalmente protegido con hidrógeno, un alquilo C1-C4 o mezclas de estos;

(ii) una adición de un resto alquilo C1-C4 y una o dos modificaciones por alcoxilación por átomo de nitrógeno por una cadena de polialcoxileno que tiene un promedio de 1 a 50 restos alcoxi por modificación, donde el resto terminal alcoxi está terminalmente protegido con hidrógeno, un alquilo C1-C4 o mezclas de estos; o

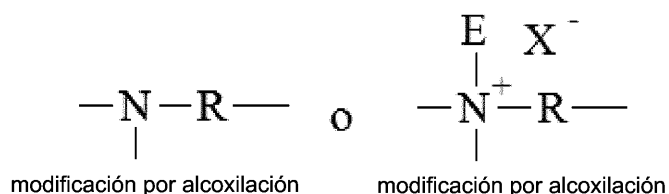
(iii) una combinación de las mismas; y en donde los restos alcoxi comprenden etoxi (EO) y/o propoxi (PO) y/o butoxi (BO) y en donde cuando la modificación por alcoxilación comprende EO, esta también comprende PO o BO.

Los polímeros de polietilenimina alcoxilada anfílica preferidos comprenden grupos EO y PO en sus cadenas de alcoxilación, estando los grupos PO preferiblemente en la posición terminal de las cadenas de alcoxi, y estando las cadenas de alcoxilación preferiblemente protegidas terminalmente con hidrógeno. Los polímeros de polietilenimina hidrófila alcoxilada que únicamente comprenden unidades de etoxi (EO) dentro de la cadena de alcoxilación también se podrían formularde forma opcional dentro del alcance de la presente invención.

Por ejemplo, aunque no de forma limitativa, se muestran a continuación posibles modificaciones a los átomos de nitrógeno terminales en la cadena principal de polietilenimina donde R representa un espaciador de etileno, E representa un resto alquilo C1-C4 y X- representa un contraión soluble en agua adecuado.



También, por ejemplo, aunque no de forma limitativa, se muestran a continuación posibles modificaciones en los átomos de nitrógeno internos de la cadena principal de polietilenimina donde R representa un espaciador de etileno, E representa un resto alquilo C1-C4 y X- representa un contraión soluble en agua adecuado.

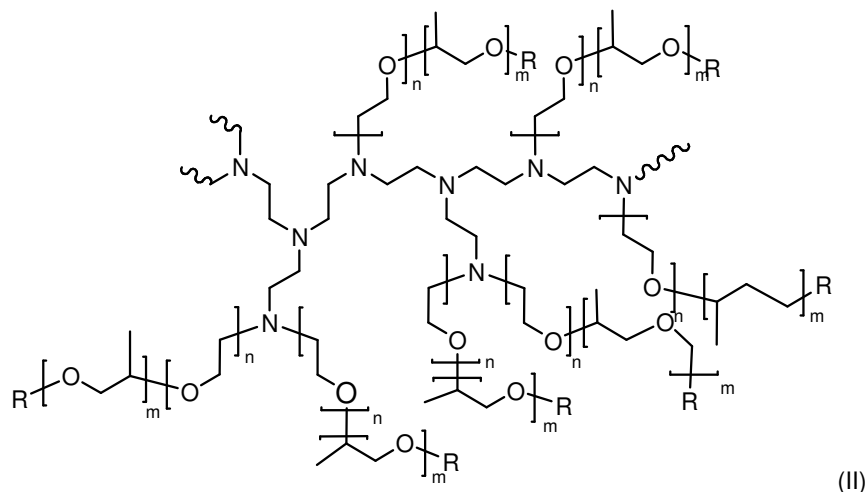


La modificación por alcoxilación de la cadena principal de polietilenimina consiste en la sustitución de un átomo de hidrógeno por una cadena de polialcoxileno que tiene un promedio de 1 a 50 restos alcoxi, preferiblemente de 20 a 45 restos alcoxi, con máxima preferencia de 30 a 45 restos alcoxi. Los restos alcoxi son seleccionados de etoxi (EO), propoxi (PO), butoxi (BO) y mezclas de los mismos. Los restos alcoxi que únicamente comprenden unidades etoxi están fuera del alcance de la invención. Preferiblemente, la cadena de polialcoxileno es seleccionada de restos en bloque de etoxi/propoxi. Más preferiblemente, la cadena de polialcoxileno está constituida por restos en bloque de etoxi/propoxi que tienen un grado promedio de etoxilación de 3 a 30 y un grado promedio de propoxilación de 1 a 20, más preferiblemente restos en bloque de etoxi/propoxi que tienen un grado promedio de etoxilación de 20 a 30 y un grado promedio de propoxilación de 10 a 20.

Más preferiblemente los restos en bloque de etoxi/propoxi tienen una relación unitaria de etoxi a propoxi relativa de 3 a 1 y de 1 a 1, preferiblemente de 2 a 1 o de 1 a 1. Con máxima preferencia, la cadena de polialcoxileno tiene restos en bloque de etoxi/propoxi en donde el bloque de resto propoxi es el bloque de resto alcoxi terminal.

La modificación puede resultar en la cuaternización permanente de los átomos de nitrógeno de la cadena principal de polietilenimina. El grado de cuaternización permanente puede ser de 0 % a 30 % de los átomos de nitrógeno de la cadena principal de polietilenimina. Es preferido tener menos del 30 % de los átomos de nitrógeno de la cadena principal de polietilenimina permanentemente cuaternizado. Con máxima preferencia el grado de cuaternización es de 0 %.

Una polietilenimina preferida tiene la estructura general de la Fórmula (II):



5 donde la cadena principal de polietilenimina tiene un peso molecular promedio en peso de 600, el n de la fórmula (II) tiene un promedio de 10, el m de la fórmula (II) tiene un promedio de 7 y el R de la fórmula (II) se selecciona de hidrógeno, un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> y mezclas de estos, preferiblemente hidrógeno. El grado de cuaternización permanente de la fórmula (II) puede ser del 0 % al 22 % de los átomos de nitrógeno de la cadena principal de polietilenimina. El peso molecular de esta polietilenimina preferiblemente está entre 10.000 y 15.000.

10 Una polietilenimina alternativa tiene la estructura general de fórmula (II), pero donde la cadena principal de polietilenimina tiene un peso molecular promedio en peso de 600, el n de la fórmula (II) tiene un promedio de 24, el m de la fórmula (II) tiene un promedio de 16 y el R de la fórmula (II) se selecciona de hidrógeno, un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> y mezclas de estos, preferiblemente hidrógeno. El grado de cuaternización permanente de la fórmula (II) puede ser del 0 % al 22 % de los átomos de nitrógeno de la cadena principal de polietilenimina. El peso molecular de esta polietilenimina preferiblemente está entre 25.000 y 30.000.

15 La polietilenimina más preferida tiene la estructura general de fórmula (II), donde la cadena principal de polietilenimina tiene un peso molecular promedio en peso de 600, el n de la fórmula (II) tiene un promedio de 24, el m de la fórmula (II) tiene un promedio de 16 y el R de la fórmula (II) es hidrógeno. El grado de cuaternización permanente de la Fórmula (II) es 0 % de los átomos de nitrógeno de la cadena principal de polietilenimina. El peso molecular de esta polietilenimina es preferiblemente de 25.000 a 30.000, con máxima preferencia de 28.000.

20 Estas polietileniminas pueden prepararse, por ejemplo, polimerizando etilenimina en presencia de un catalizador, tal como dióxido de carbono, bisulfito sódico, ácido sulfúrico, peróxido de hidrógeno, ácido clorhídrico, ácido acético, y similares, como se describe más detalladamente en la publicación PCT N.º WO 2007/135645.

#### 25 Quelante

La composición detergente de la presente descripción puede comprender un quelante a un nivel del 0,1 % al 20 %, preferiblemente del 0,2 % al 5 %, más preferiblemente del 0,2 % al 3 % en peso de la composición total.

30 Tal y como es comúnmente conocido en el campo de los detergentes, quelación en la presente memoria significa la unión o formación de complejos de un ligando bidentado o multidentado. Estos ligandos, que son a menudo compuestos orgánicos, se llaman quelantes, queladores, agentes quelantes y/o agentes secuestrantes. Los agentes quelantes forman enlaces múltiples con un único ion de metal. Los quelantes son sustancias químicas que forman moléculas complejas y solubles con determinados iones de metal, inactivando los iones de modo que no pueden reaccionar con normalidad con otros elementos o iones para producir precipitados o incrustaciones, o formando incrustaciones sobre las manchas haciendo que sean más difíciles de retirar. El ligando forma un complejo quelato con el sustrato. El término se reserva para complejos en los que el ion de metal se una a dos o más átomos del quelante.

35 Preferiblemente, la composición de la presente invención comprende uno o más quelantes, preferiblemente seleccionados del grupo que comprende quelantes de tipo carboxilato, quelantes de tipo aminocarboxilato, quelantes de tipo aminofosfonato tales como MGDA (ácido metilglicin-N,N-diacético), GLDA (ácido glutámico-N,N-diacético), y mezclas de estos.

45 Los agentes quelantes adecuados se pueden seleccionar del grupo que consiste en aminocarboxilatos, aminofosfonatos, agentes quelantes de policarboxilato, y mezclas de los mismos.

Otros quelantes incluyen homopolímeros y copolímeros de ácidos policarboxílicos y sus sales parcialmente o totalmente neutralizadas, ácidos policarboxílicos monoméricos y ácidos hidrocarboxílicos y sus sales. Los ácidos policarboxílicos adecuados son ácidos carboxílicos acíclicos, alicíclicos, heterocíclicos y aromáticos, en cuyo caso contienen al menos dos grupos carboxilo que en cada caso están separados entre sí, preferiblemente por no más de dos átomos de carbono. Un ácido hidroxicarboxílico adecuado es, por ejemplo, el ácido cítrico. Otro ácido policarboxílico adecuado es el homopolímero del ácido acrílico. Se prefieren los policarboxilatos que tienen los extremos protegidos con sulfonatos.

#### Ingredientes adyuvantes

La composición de limpieza de la presente descripción puede opcionalmente comprender un número de otros ingredientes adyuvantes tales como aditivos reforzantes de la detergencia (p. ej., preferiblemente citrato), disolventes de limpieza, aminas de limpieza, polímeros acondicionadores, polímeros limpiadores, polímeros modificadores de la superficie, polímeros floculantes de la suciedad, estructurantes, emolientes, humectantes, sustancias activas rejuvenecedoras de la piel, enzimas, ácidos carboxílicos, partículas de fregado, blanqueador y activadores del blanqueador, perfumes, agentes para controlar el mal olor, pigmentos, colorantes, opacificantes, perlas, partículas perlescentes, microcápsulas, cationes inorgánicos tales como cationes de metales alcalinotérreos tales como iones Ca/Mg, agentes antibacterianos, conservantes, reguladores de la viscosidad (p. ej., sal tales como NaCl, y otras sales monovalentes, divalentes y trivalentes) y reguladores del pH y medios de tamponamiento (p. ej. ácidos carboxílicos tales como ácido cítrico, HCl, NaOH, KOH, alcanolaminas, ácidos fosfórico y sulfónico, carbonatos tales como carbonatos de sodio, bicarbonatos, sesquicarbonatos, boratos, silicatos, fosfatos, imidazol y similares).

#### Método de lavado

Otros aspectos de la invención se dirigen a métodos para el lavado, especialmente de la vajilla con la composición de la presente invención. En consecuencia, se proporciona un método para el lavado manual de vajillas que comprende las etapas de: suministrar una composición detergente de la invención a un volumen de agua para formar una solución de lavado y sumergir la vajilla en la solución. Preferiblemente, las diol sintasas están presentes a una concentración de 0,005 ppm a 15 ppm, preferiblemente, de 0,02 ppm a 0,5 ppm, en una solución acuosa de lavado durante el proceso de lavado. Como tal, la composición de la presente descripción se aplicará en su forma diluida a la vajilla. Las superficies manchadas, p. ej., platos se ponen en contacto con una cantidad eficaz, de forma típica de 0,5 ml a 20 ml (para 25 platos tratados), preferiblemente de 3 ml a 10 ml, de la composición detergente de la presente invención, preferiblemente en forma líquida, diluida en agua. La cantidad real de composición detergente utilizada dependerá del criterio del usuario y de forma típica dependerá de factores tales como la formulación del producto de la composición, incluida la concentración de ingredientes activos en la composición, el número de platos manchados que se desea limpiar, el grado de suciedad de los platos, y similares. Generalmente, de 0,01 ml a 150 ml, preferiblemente de 3 ml a 40 ml de una composición detergente líquida de la invención se combinan con una cantidad de 2.000 ml a 20.000 ml, de forma más típica de 5.000 ml a 15.000 ml de agua en una pila de lavado que tiene una capacidad volumétrica en el intervalo de 1.000 ml a 20.000 ml, de forma más típica de 5.000 ml a 15.000 ml. Los platos manchados se sumergen en el fregadero que contiene las composiciones diluidas y la superficie manchada del plato se pone en contacto con un paño, esponja, o artículo similar para limpiar los platos. El trapo, esponja, o artículo similar se puede sumergir en la mezcla de composición detergente y agua antes de ponerse en contacto con la superficie del plato y se pone en contacto de forma típica con la superficie del plato durante un período de tiempo que oscila de 1 a 10 segundos, aunque el tiempo real variará dependiendo de cada aplicación y usuario. El hecho de poner en contacto la bayeta, esponja o artículo similar con la superficie va preferiblemente acompañado de un fregado simultáneo de la superficie.

Otro aspecto de la presente invención es el uso de una o más diol sintasas capaces de convertir ácidos grasos insaturados en oxilipinas para proporcionar mayor longevidad de las jabonaduras en una solución de lavado acuosa que comprende suciedad. Preferiblemente, las diol sintasas se seleccionan del grupo que consiste en linoleato diol sintasas, oleato diol sintasas, y mezclas de estas. Más preferiblemente las diol sintasas se seleccionan del grupo que consiste en: linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.44), 5,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.5), 7,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.6), 9,14-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.B1), 8,11-linoleato diol sintasas, oleato diol sintasas, y mezclas de estas; con máxima preferencia, 5,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.5), y mezclas de estas.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método de mejora de la longevidad de las jabonaduras o la emulsificación de grasa en un proceso de lavado para lavar artículos manchados, preferiblemente vajilla. El método comprende las etapas de: a) suministrar una composición de limpieza que comprende una o más diol sintasas de la invención y un sistema tensioactivo a un volumen de agua para formar una solución de lavado; y b) sumergir los artículos manchados en dicha solución de lavado. Preferiblemente, las diol sintasas están presentes a una concentración de 0,005 ppm a 15 ppm, preferiblemente, de 0,02 ppm a 0,5 ppm, en una solución acuosa de lavado durante el proceso de lavado.

#### Métodos de ensayo

Los siguientes ensayos definidos a continuación deben usarse para que la invención descrita y reivindicada en la presente memoria resulte más comprensible.

5 Método de ensayo 1 - Método de duración de las jabonaduras en vial de vidrio

El objetivo del método de ensayo de duración de las jabonaduras en vial de vidrio es medir la evolución del volumen de jabonaduras a lo largo del tiempo generado por una determinada solución de composición detergente en presencia de una suciedad de grasa, p. ej., aceite de oliva. Las etapas del método son las siguientes:

- 10 1. Las soluciones de prueba se preparan añadiendo posteriormente alícuotas a temperatura ambiente de: a) 10 g de una solución acuosa de detergente a una concentración de detergente y dureza de agua especificadas, b) 1,0 g de una solución acuosa de proteína a una concentración y dureza de agua especificadas y c) 0,11 g de aceite de oliva (Bertolli®, aceite de oliva virgen extra) a un vial de vidrio de 40 ml (dimensiones: 95 mm H x 27,5 mm D). Para las muestras de referencia, las soluciones de proteína se sustituyen por 1,0 ml de agua desmineralizada.
- 15 2. Las soluciones de prueba se mezclan en los viales de ensayo cerrados con agitación a temperatura ambiente durante 2 minutos en una placa de agitación magnética (IKA, modelo n.º RTC B S001; agitador magnético VWR, número de catálogo 58949-012; 500 rpm), seguido de agitación manual durante 20 segundos con un movimiento ascendente y descendente (aproximadamente 2 ciclos hacia arriba y hacia abajo por segundo, +/- 30 cm hacia arriba y 30 cm hacia abajo).
- 20 3. Después de la agitación, las soluciones de prueba en los viales cerrados se agitan adicionalmente en una placa de agitación magnética (IKA, modelo n.º RTC B S001; agitador magnético VWR, número de catálogo 58949-012; 500 rpm) durante 60 minutos dentro de un baño de agua a 46 °C para mantener una temperatura constante. A continuación, las muestras se agitan manualmente durante 20 segundos más, como se ha descrito anteriormente, y se registran las alturas de las jabonaduras iniciales (H1) con una regla.
- 25 4. Las muestras se incuban durante 30 minutos adicionales dentro del baño de agua a 46 °C, mientras se agita (IKA, modelo n.º RTC B S001; agitador magnético VWR, número de catálogo 58949-012; 500 rpm), seguido de agitación manual durante otros 20 segundos, como se ha descrito anteriormente. Se registran las alturas finales de las jabonaduras (H2).
- 30 5. Las soluciones de proteína que producen mayores alturas de las jabonaduras (H1 y H2), preferiblemente combinadas con menores disminuciones de la altura de las jabonaduras entre H1 y H2, son más deseables.

Método de ensayo 2 - Método de duración de las jabonaduras en pila de lavado

35 La evolución del volumen de jabonaduras generado por una solución de una composición detergente se puede determinar mientras se añaden cargas de suciedad periódicamente del modo indicado a continuación. Una corriente de agua dura (15 dH) llena una pila de lavado (dimensiones del cilindro: 300 mm D x 288 mm H) hasta 4 l con una presión constante de 4 bar. Simultáneamente, se dispensa una alícuota de la composición detergente (concentración final 0,12 % en peso) a través de una pipeta con un caudal de 0,67 ml/s a una altura de 37 cm por encima del fondo de la superficie de la pila de lavado. Se genera un volumen inicial de jabonaduras en la pila de lavado debido a la presión del agua. La temperatura de la solución se mantiene a 46 °C durante la prueba.

40 Después de registrar el volumen inicial de jabonaduras (altura promedio de las jabonaduras x superficie específica de la pila de lavado), se inyecta una cantidad fija de suciedad de grasa (composición: ver la tabla 1, 6 ml) en el medio de la pila de lavado, mientras una paleta (dimensiones: 10 cm x 5 cm, colocada en el centro de la pila de lavado en la interfase aire-líquido con un ángulo de 45 grados) gira 20 veces en la solución a 85 rpm. Esta etapa va seguida inmediatamente de otra medición del volumen total de jabonaduras. Se repiten las etapas de inyección de suciedad, agitación con paletas y medición hasta que el volumen de jabonaduras medido alcanza un nivel mínimo, que se establece en 400 cm<sup>3</sup>. Se registra la cantidad de adiciones de suciedad necesaria para llegar a ese nivel. El proceso completo se repite un número de veces y se calcula el promedio del número de adiciones para todas las réplicas para cada composición detergente.

45 Finalmente, a continuación se calcula el índice de duración de las jabonaduras del siguiente modo: (número promedio de adiciones de suciedad para la composición detergente de prueba) / (número promedio de adiciones de suciedad para la composición detergente de referencia) x 100.

55 Dependiendo del objetivo de la prueba, el experto en la técnica puede optar por seleccionar una dureza de agua, temperatura de solución, concentración de producto o tipo de suciedad alternativas.

60 Tabla 1 - Composición de suciedad grasa

Ingrediente	Peso (%)
Aceite Crisco	12,730
Manteca Crisco	27,752
Manteca de cerdo	7,638
Sebo de ternera comestible convertido refinado	51,684

Ácido oleico, 90 % (Techn)	0,139
Ácido palmítico, 99+%	0,036
Ácido esteárico, 99+%	0,021

## Ejemplos

5 Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar de forma adicional la presente invención y no deben considerarse como limitaciones a la presente invención.

Ejemplo 1a - Producción de *Emericella nidulans* PpoA

10 Se diseña y sintetiza un gen optimizado por codones (sec. con núm. de ident.: 16) que codifica para una variante de *Emericella nidulans* PpoA que incluye una etiqueta His C-terminal (sec. con núm. de ident.: 17) y la proteína es expresada y purificada por Genscript (Piscataway, NJ). En resumen, la secuencia completa de genes sintéticos es subclonada en un vector pET30a. Las células de *Escherichia coli* BL21 (DE3) se transforman con el plásmido recombinante y se inocula una sola colonia en medio 2xYT que contiene kanamicina. Una vez que DO<sub>600</sub> alcanzó valores por encima de 1, se añade isopropil β-D-1-tiogalactopiranosido (IPTG) (0,1 mM) para inducir la expresión de proteínas y el cultivo se incubaba a 15 °C y 200 rpm durante 16 h. Las células se cosechan mediante centrifugación y el gránulo se lisa mediante tratamientos con ultrasonidos. Después de la centrifugación, se recoge el sobrenadante y la proteína se purifica mediante purificación en dos etapas usando una columna de afinidad de níquel y una columna de Q Sepharose y los protocolos estándar conocidos en la técnica. La proteína se almacena en un tampón que contiene Tris-HCl 50 mM, NaCl 150 mM y glicerol al 10 % a pH 8,0. La concentración de proteína final es de 0,28 mg/ml determinada por el ensayo de proteína de Bradford con BSA como patrón (ThermoFisher, n.º de catálogo 23236).

## Ejemplo 1b - Composiciones detergentes de diol sintasas

25 Se sigue la evolución del volumen de jabonaduras generadas por una determinada solución de composición detergente en presencia de suciedad, es decir, aceite de oliva o suciedad de grasa, a lo largo del tiempo en condiciones específicas (por ejemplo, dureza del agua, temperatura de la solución, concentraciones de detergente, etc.). Se preparan las siguientes soluciones:

30 A. Agua dura (15 dH): 0,75 g de MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (Sigma-Aldrich, n.º de catálogo M9272), 2,10 g de CaCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (Sigma-Aldrich, n.º de catálogo 21108), y 0,689 g de NaHCO<sub>3</sub> (Sigma-Aldrich, n.º de catálogo 31437) se disuelven en 5 l de agua desmineralizada.

35 B. Se prepara una solución detergente de una composición detergente con alto contenido de tensioactivo ("solución DG-HS") usando Fairy Dark Green, comercializado en el Reino Unido en febrero de 2017, diluido en agua dura (15 dH), preparado como se ha indicado anteriormente, a una concentración de detergente objetivo de 0,12 %.

C. Se prepara una solución detergente de una composición detergente con bajo contenido de tensioactivo ("solución DG-LS") usando Fairy Dark Green, comercializado en el Reino Unido en febrero de 2017, diluido en agua dura (15 dH), preparado como se ha indicado anteriormente, a una concentración de detergente objetivo de 0,06 %.

40 D. Soluciones de proteína: Las proteínas se diluyen en agua desmineralizada hasta la concentración requerida antes de proceder con el método de duración de las jabonaduras.

E. Suciedad de grasa: Se prepara una suciedad de grasa según la composición descrita en la tabla 1.

Ejemplo 2 - Duración de las jabonaduras en vial de vidrio de *Emericella nidulans* PpoA con aceite de oliva

45 Las composiciones A, B y C de la invención son ejemplos de composiciones detergentes según la presente invención, preparadas con: a) solución de detergente DG-LS (preparada como se describe en el ejemplo 1b), y b) muestras diluidas de *Emericella nidulans* PpoA purificada (sec. con núm. de ident.: 16) (preparada como se describe en el ejemplo 1a). La composición comparativa D contiene la misma solución detergente DG-LS en ausencia de la enzima. La prueba de duración de las jabonaduras en vial de vidrio se realiza para las composiciones usando aceite de oliva, como se describe en la sección métodos de ensayo (método de ensayo 1).

50 Las mediciones inicial (H1) y final (H2) se registran en la tabla 2. El % de disminución de la altura de las jabonaduras representa la disminución de la altura de las jabonaduras medida entre el momento inicial y final y se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de disminución de la altura de las jabonaduras} = \{[(H1 - H2)/H1]*100.$$

60 Se calcula el % de disminución de la altura de las jabonaduras para las composiciones y se muestra en la tabla 2

Tabla 2: Duración de las jabonaduras

Composición	Concentración de PpoA en la composición [ppm]	H1 (mm)	H2 (mm)	% de disminución de la altura de las jabonaduras H2 frente a H1
Composición de la invención A	12	8	7	12,5 %
Composición de la invención B	1,2	6	6	0 %
Composición de la invención C	0,12	5	3	40 %
Composición comparativa D	0	4	2	50 %

Las alícuotas de las composiciones A a D se almacenan a -20 °C hasta el análisis por LC-MS para determinar la formación de derivados oxigenados de ácido oleico. El ácido dihidroxioleico se detecta solo en las composiciones de la invención A y B, lo que confirma la actividad de la enzima.

Los resultados de la tabla 2 confirman que las soluciones detergentes de las composiciones de la invención A-C que comprenden enzima de *Emericella nidulans* PpoA (sec. con núm. de ident.: 16) según la presente invención tienen un mejor perfil de jabonaduras cuando se comparan de forma monovariable con la solución de la composición comparativa D sin la enzima, atendiendo tanto a la altura de las jabonaduras absoluta como a la estabilidad de las jabonaduras.

Ejemplo 3 - Duración de las jabonaduras en vial de vidrio de *Emericella nidulans* PpoA con suciedad de grasa

Las composiciones E y F de la invención son ejemplos de composiciones detergentes según la presente invención, preparadas con: a) solución de detergente DG-LS (preparada como se describe en el ejemplo 1b), y b) muestras diluidas de *Emericella nidulans* PpoA purificada (sec. con núm. de ident.: 16) (preparada como se describe en el ejemplo 1a). La composición comparativa G contiene la misma solución detergente DG-LS en ausencia de la enzima. La prueba de duración de las jabonaduras en vial de vidrio se realiza para estas composiciones usando suciedad de grasa, como se describe en la sección métodos de ensayo (método de ensayo 1). Las mediciones inicial (H1) y final (H2) se registran en la tabla 3.

Tabla 3: Altura de las jabonaduras

Composición	Concentración de PpoA en la composición [ppm]	H1 (mm)	H2 (mm)
Composición de la invención E	1,2	11	11
Composición de la invención F	0,12	10	9
Composición comparativa G	0	5	4

Los resultados confirman que las soluciones detergentes de las composiciones de la invención E y F que comprenden *Emericella nidulans* PpoA (sec. con núm. de ident.: 16) según la invención tienen un mejor perfil de jabonaduras en comparación con la solución de la composición comparativa G sin la enzima.

Ejemplo 4: Composición detergente para lavado de vajillas a mano ilustrativa

La tabla 4 ilustra una composición detergente para el lavado manual de vajilla que comprende *Emericella nidulans* PpoA (sec. con núm. de ident.: 1).

Ingrediente	% en peso
Alquil etoxi sulfato sódico (C1213EO0.6S)	22,91 %
Óxido de dimetilamina n-C12-14	7,64 %
Lutensol® XP80 (tensoactivo no iónico comercializado por BASF)	0,45 %
Cloruro sódico	1,2 %
Polipropilenglicol (PM 2.000)	1 %
Etanol	2 %
Hidróxido sódico	0,24 %
<i>Asperigullus nidalus</i> PpoA (sec. con núm. de ident.: 1)	0,1 %
Componentes minoritarios (perfume, conservante, colorante) + agua	Hasta 100 %
pH (solución al 10 %)	9

Todos los porcentajes y proporciones citados para las enzimas se basan en proteína activa. Todos los porcentajes y relaciones de la presente memoria se calculan en peso, a menos que se indique de cualquier otra manera. Todos los porcentajes y relaciones se calculan basados en la composición total a menos que se indique de cualquier otra manera.

5 Se entenderá que cada limitación numérica máxima dada en esta memoria descriptiva incluye toda limitación numérica inferior, como si las limitaciones numéricas inferiores estuvieran expresamente escritas en la presente memoria. Cada limitación numérica mínima proporcionada a lo largo de esta memoria descriptiva incluirá cada limitación numérica superior, como si dichas limitaciones numéricas superiores estuvieran expresamente escritas en la presente memoria. Cada intervalo numérico proporcionado a lo largo de esta memoria descriptiva incluirá cada intervalo numérico más limitado que se encuentra dentro de dicho intervalo numérico más amplio, como si todos los citados intervalos numéricos más limitados estuviesen expresamente escritos en la presente memoria.

**LISTADO DE SECUENCIAS**

<110> The Procter & Gamble Company

<120> COMPOSICIÓN DETERGENTE

<130> CM04894FM

<150> EP172013005.5

<151> 2017-11-13

<160> 17

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 1081

<212> PRT

<213> Emericella nidulans

<400> 1

Met Gly Glu Asp Lys Glu Thr Asn Ile Leu Ala Gly Leu Gly Asn Thr  
1 5 10 15

Ile Ser Gln Val Glu Asn Val Val Ala Ala Ser Leu Arg Pro Leu Pro  
20 25 30

Thr Ala Thr Gly Asp Gly Thr Tyr Val Ala Glu Ser Thr Gln Thr Gly  
35 40 45

Leu Ala Lys Asp Leu Ser His Val Asp Leu Lys Asp Val Arg Thr Leu  
50 55 60

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

Gln Tyr Ile Met Glu Arg Val Ile Gln Leu Ala Ala Gly Leu Pro Ser  
85 90 95

Thr Ser Arg Asn Ala Ala Glu Leu Thr Lys Ser Phe Leu Asn Met Leu  
100 105 110

Trp Asn Asp Leu Glu His Pro Pro Val Ser Tyr Leu Gly Ala Asp Ser  
115 120 125

Met His Arg Lys Ala Asp Gly Ser Gly Asn Asn Arg Phe Trp Pro Gln  
130 135 140

# ES 2 827 193 T3

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

Met Gln Ser Pro Ser Leu Pro Asp Pro Glu Thr Ile Phe Asp Cys Leu  
 165 170 175

Leu Arg Arg Lys Glu Tyr Arg Glu His Pro Asn Lys Ile Ser Ser Val  
 180 185 190

Leu Phe Tyr Leu Ala Ser Ile Ile Ile His Asp Leu Phe Gln Thr Asp  
 195 200 205

Pro Lys Asp Asn Ser Val Ser Lys Thr Ser Ser Tyr Leu Asp Leu Ser  
 210 215 220

Pro Leu Tyr Gly Asn Asn Gln Asp Glu Gln Asn Leu Val Arg Thr Phe  
 225 230 235 240

Lys Asp Gly Lys Leu Lys Pro Asp Cys Phe Ala Thr Lys Arg Val Leu  
 245 250 255

Gly Phe Pro Pro Gly Val Gly Val Leu Leu Ile Met Phe Asn Arg Phe  
 260 265 270

His Asn Tyr Val Val Asp Gln Leu Ala Ala Ile Asn Glu Cys Gly Arg  
 275 280 285

Phe Thr Lys Pro Asp Glu Ser Asn Val Asp Glu Tyr Ala Lys Tyr Asp  
 290 295 300

Asn Asn Leu Phe Gln Thr Gly Arg Leu Val Thr Cys Gly Leu Tyr Ala  
 305 310 315 320

Asn Ile Ile Leu Lys Asp Tyr Val Arg Thr Ile Leu Asn Ile Asn Arg  
 325 330 335

Thr Asp Ser Thr Trp Ser Leu Asp Pro Arg Met Glu Met Lys Asp Gly  
 340 345 350

Leu Leu Gly Glu Ala Ala Ala Met Ala Thr Gly Asn Gln Val Ser Ala  
 355 360 365

ES 2 827 193 T3

Glu Phe Asn Val Val Tyr Arg Trp His Ala Cys Ile Ser Lys Arg Asp  
370 375 380

Glu Lys Trp Thr Glu Asp Phe His Arg Glu Ile Met Pro Gly Val Asp  
385 390 395 400

Pro Ser Thr Leu Ser Met Gln Asp Phe Val Ala Gly Leu Gly Arg Trp  
405 410 415

Gln Ala Gly Leu Pro Gln Glu Pro Leu Glu Arg Pro Phe Ser Gly Leu  
420 425 430

Gln Arg Lys Pro Asp Gly Ala Phe Asn Asp Asp Asp Leu Val Asn Leu  
435 440 445

Phe Glu Lys Ser Val Glu Asp Cys Ala Gly Ala Phe Gly Ala Ser His  
450 455 460

Val Pro Ala Ile Phe Lys Ser Val Glu Ala Leu Gly Ile Met Gln Ala  
465 470 475 480

Arg Arg Trp Asn Leu Gly Thr Leu Asn Glu Phe Arg Gln Tyr Phe Asn  
485 490 495

Leu Ala Pro His Lys Thr Phe Glu Asp Ile Asn Ser Asp Pro Tyr Ile  
500 505 510

Ala Asp Gln Leu Lys Arg Leu Tyr Asp His Pro Asp Leu Val Glu Ile  
515 520 525

Tyr Pro Gly Val Val Val Glu Glu Ala Lys Asp Ser Met Val Pro Gly  
530 535 540

Ser Gly Leu Cys Thr Asn Phe Thr Ile Ser Arg Ala Ile Leu Ser Asp  
545 550 555 560

Ala Val Ala Leu Val Arg Gly Asp Arg Phe Tyr Thr Val Asp Tyr Thr  
565 570 575

Pro Lys His Leu Thr Asn Trp Ala Tyr Asn Glu Ile Gln Pro Asn Asn  
580 585 590

Ala Val Asp Gln Gly Gln Val Phe Tyr Lys Leu Val Leu Arg Ala Phe

ES 2 827 193 T3

	595		600		605														
Pro	Asn	His	Phe	Asp	Gly	Asn	Ser	Ile	Tyr	Ala	His	Phe	Pro	Leu	Val				
	610					615					620								
Val	Pro	Ser	Glu	Asn	Glu	Lys	Ile	Leu	Lys	Ser	Leu	Gly	Val	Ala	Glu				
625					630					635					640				
Lys	Tyr	Ser	Trp	Glu	Lys	Pro	Ser	Arg	Ile	Ser	His	Pro	Ile	Phe	Ile				
				645					650					655					
Ser	Ser	His	Ala	Ala	Cys	Met	Ser	Ile	Leu	Glu	Asn	Gln	Glu	Thr	Phe				
			660					665					670						
Lys	Val	Thr	Trp	Gly	Arg	Lys	Ile	Glu	Phe	Leu	Met	Gln	Arg	Asp	Lys				
		675					680					685							
His	Gln	Tyr	Gly	Lys	Asp	Phe	Met	Leu	Ser	Gly	Asp	Arg	Pro	Pro	Asn				
	690					695					700								
Ala	Ala	Ser	Arg	Lys	Met	Met	Gly	Ser	Ala	Leu	Tyr	Arg	Asp	Glu	Trp				
705					710					715					720				
Glu	Ala	Glu	Val	Lys	Asn	Phe	Tyr	Glu	Gln	Thr	Thr	Leu	Lys	Leu	Leu				
				725					730					735					
His	Lys	Asn	Ser	Tyr	Lys	Leu	Ala	Gly	Val	Asn	Gln	Val	Asp	Ile	Val				
			740					745					750						
Arg	Asp	Val	Ala	Asn	Leu	Ala	Gln	Val	His	Phe	Cys	Ser	Ser	Val	Phe				
		755					760						765						
Ser	Leu	Pro	Leu	Lys	Thr	Asp	Ser	Asn	Pro	Arg	Gly	Ile	Phe	Ala	Glu				
	770					775					780								
Ser	Glu	Leu	Tyr	Lys	Ile	Met	Ala	Ala	Val	Phe	Thr	Ala	Ile	Phe	Tyr				
785					790					795					800				
Asp	Ala	Asp	Ile	Gly	Lys	Ser	Phe	Glu	Leu	Asn	Gln	Ala	Ala	Arg	Thr				
				805					810					815					
Val	Thr	Gln	Gln	Leu	Gly	Gln	Leu	Thr	Met	Ala	Asn	Val	Glu	Ile	Ile				
			820					825					830						

# ES 2 827 193 T3

Ala Lys Thr Gly Leu Ile Ala Asn Leu Val Asn Arg Leu His Arg Arg  
835 840 845

Asp Val Leu Ser Glu Tyr Gly Ile His Met Ile Gln Arg Leu Leu Asp  
850 855 860

Ser Gly Leu Pro Ala Thr Glu Ile Val Trp Thr His Ile Leu Pro Thr  
865 870 875 880

Ala Gly Gly Met Val Ala Asn Gln Ala Gln Leu Phe Ser Gln Cys Leu  
885 890 895

Asp Tyr Tyr Leu Ser Glu Glu Gly Ser Gly His Leu Pro Glu Ile Asn  
900 905 910

Arg Leu Ala Lys Glu Asn Thr Pro Glu Ala Asp Glu Leu Leu Thr Arg  
915 920 925

Tyr Phe Met Glu Gly Ala Arg Leu Arg Ser Ser Val Ala Leu Pro Arg  
930 935 940

Val Ala Ala Gln Pro Thr Val Val Glu Asp Asn Gly Glu Lys Leu Thr  
945 950 955 960

Ile Lys Ala Gly Gln Val Val Met Cys Asn Leu Val Ser Ala Cys Met  
965 970 975

Asp Pro Thr Ala Phe Pro Asp Pro Glu Lys Val Lys Leu Asp Arg Asp  
980 985 990

Met Asn Leu Tyr Ala His Phe Gly Phe Gly Pro His Lys Cys Leu Gly  
995 1000 1005

Leu Asp Leu Cys Lys Thr Gly Leu Ser Thr Met Leu Lys Val Leu  
1010 1015 1020

Gly Arg Leu Asp Asn Leu Arg Arg Ala Pro Gly Ala Gln Gly Gln  
1025 1030 1035

Leu Lys Lys Leu Ser Gly Pro Gly Gly Ile Ala Lys Tyr Met Asn  
1040 1045 1050

ES 2 827 193 T3

Glu Asp Gln Ser Gly Phe Thr Pro Phe Pro Ser Thr Met Lys Ile  
 1055 1060 1065

Gln Trp Asp Gly Glu Leu Pro Gln Leu Lys Glu Asp Phe  
 1070 1075 1080

<210> 2  
 <211> 1079  
 <212> PRT  
 <213> Aspergillus fumigatus

<400> 2

Met Ser Glu Lys Gln Thr Gly Ser Ala Asn Gly Gly Leu Gly Lys Thr  
 1 5 10 15

Leu Ala Gln Leu Glu Gln Val Val Ser Ala Ser Leu Arg Pro Leu Pro  
 20 25 30

Ser Gln Thr Gly Asp Gly Thr Tyr Val Thr Glu Gln Val Lys Thr Gly  
 35 40 45

Ile Leu Lys Asp Leu Ser His Val Asp Leu Gly Asp Leu Lys Thr Leu  
 50 55 60

Val Asp Val Ser Lys Ser Ala Leu Thr Gly Glu Ala Leu Asp Asp Arg  
 65 70 75 80

Lys Tyr Ile Met Glu Arg Val Ile Gln Leu Ser Ala Gly Leu Pro Ser  
 85 90 95

Thr Ser Gln Ile Gly Lys Glu Leu Thr Asn Thr Phe Leu Thr Thr Leu  
 100 105 110

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

Met Tyr Arg Arg Ala Asp Gly Ser Gly Asn Asn Val Leu Trp Pro His  
 130 135 140

Ile Gly Ala Ala Gly Thr Pro Tyr Ala Arg Ser Val Gln Pro Lys Thr  
 145 150 155 160

Val Gln Ser Pro Asn Leu Pro Asp Pro Glu Thr Leu Phe Asp Cys Leu

ES 2 827 193 T3

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

ES 2 827 193 T3

Pro Ser Lys Ile Ser Leu Gln Asp Phe Leu Arg Gly Leu Gly Arg Trp  
 405 410 415

Glu Ala Lys Leu Pro Gly Glu Pro Arg Glu Arg Pro Phe Ala Gly Leu  
 420 425 430

Gln Arg Lys Ala Asp Gly Ser Tyr Asp Asp Asn Asp Leu Val Lys Ile  
 435 440 445

Phe Glu Glu Ser Val Glu Asp Cys Ala Gly Ala Phe Gly Ala Leu His  
 450 455 460

Val Pro Thr Val Phe Arg Ser Ile Glu Ala Leu Gly Ile Gln Gln Ala  
 465 470 475 480

Arg Ser Trp Asn Leu Ala Thr Leu Asn Glu Phe Arg Lys Tyr Phe Asn  
 485 490 495

Leu Ala Pro Tyr Lys Thr Phe Glu Glu Ile Asn Ser Asp Pro Tyr Val  
 500 505 510

Ala Asp Gln Leu Lys Arg Leu Tyr Asp His Pro Asp Arg Val Glu Ile  
 515 520 525

Tyr Pro Gly Ile Ile Val Glu Asp Ala Lys Glu Ser Met Ala Pro Gly  
 530 535 540

Ser Gly Leu Cys Thr Asn Phe Thr Ile Ser Arg Ala Ile Leu Ser Asp  
 545 550 555 560

Ala Val Ala Leu Val Arg Gly Asp Arg Phe His Thr Val Asp Phe Thr  
 565 570 575

Pro Lys His Leu Thr Asn Trp Ala Tyr Asn Glu Ile Gln Pro Gln Asp  
 580 585 590

Ser Val Asp Gln Thr His Val Phe Tyr Lys Leu Val Leu Arg Ala Phe  
 595 600 605

Pro Asn His Phe Arg Gly Asp Ser Ile Tyr Ala His Phe Pro Leu Val  
 610 615 620

ES 2 827 193 T3

Val Pro Ser Glu Asn Lys Lys Ile Leu Thr Lys Leu Gly Thr Ala Asp  
625 630 635 640

Lys Tyr Ser Trp Asp Arg Pro Asn Tyr Thr Pro Pro Pro Gln Phe Ile  
645 650 655

Asn Ser His Ser Ala Cys Met Ser Ile Leu Ser Asp Gln Glu Thr Phe  
660 665 670

Lys Val Thr Trp Gly Ser Lys Ile Glu Phe Leu Met Arg His Asn Asn  
675 680 685

Gln Pro Tyr Gly Arg Asp Phe Met Leu Ser Gly Asp Arg Thr Pro Asn  
690 695 700

Ala Met Ser Arg Gln Met Met Gly Lys Ala Leu Tyr Arg Asp Lys Trp  
705 710 715 720

Glu Thr Glu Val Lys Arg Phe Tyr Glu Asn Ile Thr Leu Lys Leu Leu  
725 730 735

His Arg Tyr Ser Tyr Lys Leu Ala Gly Val Asn Gln Val Asp Val Val  
740 745 750

Arg Asp Ile Ala Asn Leu Ala Gln Val His Phe Cys Ala Ser Val Phe  
755 760 765

Ser Leu Pro Leu Lys Thr Glu Ser Asn Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu  
770 775 780

Ser Glu Leu Tyr Gln Ile Met Ala Val Val Phe Thr Ser Ile Phe Tyr  
785 790 795 800

Asp Ala Asp Ile Gly Lys Ser Phe Glu Leu Asn Gln Ala Ala Arg Ala  
805 810 815

Val Thr Gln Gln Leu Gly Gln Leu Thr Leu Ala Asn Val Glu Leu Ile  
820 825 830

Ala Lys Thr Gly Phe Ile Ala Asn Leu Val Asn Ser Leu His Arg His  
835 840 845

ES 2 827 193 T3

Asp Val Leu Ser Glu Tyr Gly Val His Met Ile Gln Arg Leu Leu Asp  
 850 855 860

Ser Gly Met Pro Ala Pro Glu Ile Val Trp Thr His Val Leu Pro Thr  
 865 870 875 880

Ala Gly Gly Met Val Ala Asn Gln Ala Gln Leu Phe Ser Gln Ser Leu  
 885 890 895

Asp Tyr Tyr Leu Ser Glu Glu Gly Ser Val His Leu Pro Glu Ile Asn  
 900 905 910

Arg Leu Ala Lys Glu Asp Thr Thr Glu Ala Asp Asp Leu Leu Leu Arg  
 915 920 925

Tyr Phe Met Glu Gly Ala Arg Ile Arg Ser Ser Val Ala Leu Pro Arg  
 930 935 940

Val Val Ala Gln Pro Thr Val Val Glu Asp Asn Gly Gln Lys Ile Thr  
 945 950 955 960

Leu Lys Gln Gly Gln His Ile Ile Cys Asn Leu Val Ser Ala Ser Met  
 965 970 975

Asp Pro Val Thr Phe Pro Glu Pro Asp Lys Val Lys Leu Asp Arg Asp  
 980 985 990

Met Asn Leu Tyr Ala His Phe Gly Phe Gly Pro His Gln Cys Leu Gly  
 995 1000 1005

Leu Gly Leu Cys Lys Thr Ala Leu Thr Thr Met Leu Lys Val Ile  
 1010 1015 1020

Gly Arg Leu Asp Asn Leu Arg Arg Ala Pro Gly Gly Gln Gly Lys  
 1025 1030 1035

Leu Lys Lys Leu Ser Gly Pro Gly Gly Ile Ala Met Tyr Met Thr  
 1040 1045 1050

Pro Asp Gln Thr Ala Phe Phe Pro Phe Pro Thr Thr Met Lys Ile  
 1055 1060 1065

Gln Trp Asp Gly Asp Leu Pro Glu Val Lys Glu

ES 2 827 193 T3

1070

1075

<210> 3  
 <211> 1071  
 <212> PRT  
 <213> Aspergillus terreus

<400> 3

Met Gln Gly Ile Gly Lys Ala Ile Ser Gln Leu Glu Lys Val Ala Thr  
 1 5 10 15

Ala Ser Leu Arg Pro Leu Pro Thr Glu Thr Gly Asp Gly Ser Tyr Val  
 20 25 30

Ala Glu Ser Thr Ala Thr Gly Leu Val Gln Asp Leu Pro His Val Asp  
 35 40 45

Leu Gly Asp Leu Lys Thr Leu Leu Asp Val Thr Lys Asn Ala Ala Thr  
 50 55 60

Gly Glu Pro Ile Asp Asp Lys Gly Tyr Val Met Glu Arg Leu Ile Gln  
 65 70 75 80

Leu Ala Ser Gly Leu Pro Ser Thr Ser Arg Asn Ala Lys Gln Leu Thr  
 85 90 95

Ser Ala Phe Leu Asn Gln Leu Trp Asn Asp Leu Asp His Pro Pro Val  
 100 105 110

Ser Thr Val Gly Gly Glu Tyr Ser His Arg Ser Ala Asp Gly Ser Gly  
 115 120 125

Asn Asn Ile Leu Trp Pro Gly Ile Gly Ala Ala Gly Ser His Tyr Ala  
 130 135 140

Arg Ser Val Gln Pro Lys Thr Met Gln Ser Pro Ser Leu Pro Asp Pro  
 145 150 155 160

Glu Ala Leu Phe Asp Ser Leu Leu Ala Arg Lys Asp Phe Lys Glu His  
 165 170 175

Pro Asn Lys Ile Ser Ser Val Leu Phe Tyr Ile Ala Ser Ile Ile Ile  
 180 185 190

ES 2 827 193 T3

His Asp Leu Phe Gln Thr Asp His Arg Asp Ser Ser Ile Asn Arg Thr  
 195 200 205

Ser Ser Tyr Leu Asp Leu Ser Pro Leu Tyr Gly Asn Asn Gln Asp Glu  
 210 215 220

Gln Tyr Leu Met Arg Thr Phe Lys Asp Gly Lys Leu Lys Pro Asp Cys  
 225 230 235 240

Phe Ser Ser Lys Arg Ile Leu Gly Phe Pro Pro Gly Val Gly Val Leu  
 245 250 255

Leu Ile Met Phe Asn Arg Phe His Asn Tyr Val Val Glu Gln Leu Ala  
 260 265 270

Ala Val Asn Glu Gly Gly Arg Phe Thr Lys Pro Ser Glu Ser Asn Asp  
 275 280 285

Lys Glu Tyr Ala Lys Tyr Asp Asn Asn Leu Phe Gln Thr Gly Arg Leu  
 290 295 300

Val Thr Cys Gly Leu Tyr Ile Asn Ile Ile Leu Lys Asp Tyr Val Arg  
 305 310 315 320

Thr Ile Leu Asn Ile Asn Arg Thr Asn Ser Thr Trp Ser Leu Asp Pro  
 325 330 335

Arg Met Asp Met Lys Asp Gly Leu Leu Gly Asp Ala Ala Pro Leu Ala  
 340 345 350

Thr Gly Asn Gln Val Ser Ala Glu Phe Asn Leu Ile Tyr Arg Trp His  
 355 360 365

Ser Cys Ile Ser Gln Arg Asp Glu Lys Trp Thr Thr Asp Leu Tyr Asn  
 370 375 380

Asp Ile Phe Ser Asp Lys Gly Gln Glu Asp Ile Pro Leu Asn Glu Phe  
 385 390 395 400

Met Met Gly Val Gly Lys Trp Glu Ala Gly Leu Pro Gln Gln Pro Ala  
 405 410 415

ES 2 827 193 T3

Glu Arg Pro Phe Ala Gly Leu Lys Arg Lys Pro Asn Gly Leu Phe Asp  
 420 425 430

Asp Asp Asp Leu Val Thr Ile Phe Lys Glu Ser Val Glu Asp Cys Ala  
 435 440 445

Gly Ala Phe Gly Ala Ser His Val Pro Thr Ile Phe Lys Ser Ile Glu  
 450 455 460

Ser Leu Gly Ile Lys Gln Ala Arg Ala Trp Asn Leu Ala Thr Leu Asn  
 465 470 475 480

Glu Leu Arg Gln Tyr Phe Gly Leu Thr Pro His Lys Thr Phe Glu Asp  
 485 490 495

Ile Asn Ser Asp Pro Tyr Ile Ser Glu Gln Leu Arg Arg Leu Tyr Asp  
 500 505 510

His Pro Asp Gln Val Glu Ile Tyr Pro Gly Val Ile Val Glu Glu Thr  
 515 520 525

Lys Glu Ser Met Leu Pro Gly Ser Gly Leu Cys Thr Asn Phe Thr Ile  
 530 535 540

Ser Arg Ala Ile Leu Ser Asp Ala Val Ala Leu Val Arg Gly Asp Arg  
 545 550 555 560

Phe Tyr Thr Val Asp Tyr Thr Pro Lys Gln Leu Thr Asn Trp Ala Phe  
 565 570 575

Thr Glu Ile Gln Pro Lys Asp Ser Val Asp Gln Gly His Met Phe His  
 580 585 590

Lys Leu Val Tyr Arg Ala Phe Pro Asn Tyr Phe Lys Gly Asn Ser Val  
 595 600 605

Tyr Ala His Phe Pro Met Val Val Pro Ser Glu Asn Gln Lys Ile Leu  
 610 615 620

Thr Ala Leu Gly Ser Ala Glu Lys Tyr Ser Trp Asp Lys Pro Gly Phe  
 625 630 635 640

Ile His Pro Pro Gln Phe Ile Asn Ser His Ser Thr Cys Val Ser Ile



ES 2 827 193 T3

Gln Leu Phe Ser Gln Cys Leu Asp Tyr Tyr Leu Ser Glu Glu Gly Ser  
 885 890 895

Val His Leu Pro Glu Ile Asn Arg Leu Ala Lys Glu Asn Thr Pro Glu  
 900 905 910

Ala Asp Glu Leu Leu Leu Arg Tyr Phe Met Glu Gly Ala Arg Leu Arg  
 915 920 925

Ser Ser Val Gly Leu Pro Arg Val Val Ala Lys Pro Thr Val Ile Asp  
 930 935 940

Asp Asn Gly Thr Lys Leu Thr Leu Lys Glu Gly Gln His Ile Leu Cys  
 945 950 955 960

Asn Leu Val Ala Ala Ser His Asp Pro Val Ser Phe Pro Glu Pro Glu  
 965 970 975

Lys Val Arg Leu Asp Arg Asp Met Asp Leu Tyr Val His Phe Gly Ser  
 980 985 990

Gly Pro His Lys Cys Leu Gly Phe Gly Leu Cys Lys Leu Gly Leu Thr  
 995 1000 1005

Thr Met Leu Lys Val Val Gly Gly Leu Asp Asn Leu Arg Arg Ala  
 1010 1015 1020

Pro Gly Pro Gln Gly Gln Leu Lys Arg Leu Ala Gly Pro Gly Gly  
 1025 1030 1035

Ile Ser Lys Tyr Met Thr Ala Asp Gln Ser Gly Phe Phe Pro Phe  
 1040 1045 1050

Pro Thr Thr Met Lys Ile Gln Trp Asp Gly Asp Leu Pro Glu Pro  
 1055 1060 1065

Ala Ser Asp  
 1070

<210> 4  
 <211> 1080  
 <212> PRT

ES 2 827 193 T3

<213> Aspergillus kawachii

<400> 4

Met Ser Gly Ser Asn Asn His Ser Ile Val Asn Gly Ile Gly Ser Thr  
1 5 10 15

Ile Ser Gln Val Glu Lys Ala Ile Ser Ala Ser Leu Arg Pro Leu Pro  
20 25 30

Thr Ala Thr Gly Asn Gly Thr Tyr Val Thr Glu Pro Ala Gln Thr Gly  
35 40 45

Ile Val Lys Asp Leu Ser His Val Asp Leu Thr Asp Phe Lys Ala Leu  
50 55 60

Leu Glu Val Val Lys Asp Ala Val Thr Gly Gln Pro Val Asp Asp Arg  
65 70 75 80

His Tyr Ile Met Glu Arg Val Ile Gln Leu Ala Ala Gly Leu Pro Ser  
85 90 95

Thr Ser Lys Ser Gly Lys Asp Leu Thr Asn Thr Phe Leu Lys Gln Leu  
100 105 110

Trp Asn Asp Leu Glu His Pro Pro Ile Ser Tyr Leu Gly Arg Asn Thr  
115 120 125

Ser Tyr Arg Lys Ala Asp Gly Ser Gly Asn Asn Phe Leu Trp Pro His  
130 135 140

Ile Gly Ala Ala Gly Ser His Tyr Ala Arg Ser Val Arg Pro Thr Thr  
145 150 155 160

Val Gln Ser Pro Ser Leu Pro Asp Pro Ser Thr Leu Phe Glu Ser Leu  
165 170 175

Leu Glu Arg Lys Glu Tyr Lys Glu His Pro Asn Lys Ile Ser Ser Val  
180 185 190

Leu Phe Tyr Leu Ala Ser Ile Ile Ile His Asp Leu Phe Gln Thr Asp  
195 200 205

Arg Asn Asp Tyr Thr Leu Asn Lys Thr Ser Ser Tyr Leu Asp Leu Ser

ES 2 827 193 T3

210						215										220
Pro	Leu	Tyr	Gly	Asn	Asn	Gln	Asp	Glu	Gln	Asn	Leu	Val	Arg	Ser	Phe	
225					230					235					240	
Lys	Asp	Gly	Lys	Leu	Lys	Pro	Asp	Cys	Phe	Ser	Ser	Lys	Arg	Val	Leu	
				245					250					255		
Gly	Phe	Pro	Pro	Gly	Val	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Met	Phe	Asn	Arg	Phe	
			260					265					270			
His	Asn	Tyr	Val	Val	Glu	Asn	Leu	Ala	Thr	Ile	Asn	Glu	Gly	Gly	Arg	
		275					280					285				
Phe	Thr	Lys	Pro	Asp	Glu	Ser	Asp	Val	Asp	Ala	Ser	Thr	Arg	Tyr	Asp	
	290						295					300				
Asn	Asp	Leu	Phe	Gln	Thr	Gly	Arg	Leu	Val	Thr	Cys	Gly	Leu	Tyr	Ile	
305					310					315					320	
Asn	Ile	Ile	Leu	Lys	Asp	Tyr	Val	Arg	Thr	Ile	Leu	Asn	Ile	Asn	Arg	
				325					330					335		
Thr	Asp	Ser	Leu	Trp	Ser	Leu	Asp	Pro	Arg	Ala	Asp	Ile	Gln	Asp	Ser	
			340					345					350			
Leu	Leu	Gly	Ser	Ala	Pro	Ala	Glu	Ala	Thr	Gly	Asn	Gln	Val	Ser	Ala	
		355					360					365				
Glu	Phe	Asn	Leu	Val	Tyr	Arg	Trp	His	Ala	Cys	Val	Ser	Gln	Arg	Asp	
	370					375					380					
Glu	Lys	Trp	Thr	Gln	Asp	Leu	Tyr	Lys	Asp	Leu	Phe	Pro	Gly	Lys	Asp	
385					390					395					400	
Pro	Asn	Asn	Val	Ser	Leu	Pro	Glu	Phe	Leu	Arg	Gly	Val	Ala	Lys	Trp	
				405					410					415		
Glu	Ala	Ser	Leu	Pro	Glu	Gln	Pro	Pro	Asp	Arg	Pro	Phe	Ala	Gly	Leu	
			420				425						430			
Gln	Arg	Asn	Ala	Asp	Gly	Ala	Phe	Asp	Asp	Asp	Asp	Leu	Ala	Asn	Met	
		435					440					445				

ES 2 827 193 T3

Phe Ala Asp Gly Val Glu Asp Cys Ala Gly Ala Phe Gly Ala Gly Asn  
 450 455 460

Ile Pro Ser Val Phe Arg Asn Ile Glu Ala Leu Gly Ile Leu Gln Ala  
 465 470 475 480

Arg Ser Trp Asn Leu Ala Thr Leu Asn Glu Phe Arg Lys Phe Phe Asp  
 485 490 495

Leu Ala Pro Tyr Lys Thr Phe Glu Glu Ile Asn Pro Asp Pro Tyr Ile  
 500 505 510

Ala Ala Gln Leu Lys Asn Leu Tyr Asp Glu Pro Asp Leu Val Glu Met  
 515 520 525

Tyr Pro Gly Val Ile Val Glu Ala Thr Lys Asp Ala Val Val Pro Gly  
 530 535 540

Ser Gly Leu Cys Thr Asn Phe Thr Ile Ser Arg Ala Ile Leu Ser Asp  
 545 550 555 560

Ala Val Ser Leu Val Arg Gly Asp Arg Phe Tyr Thr Val Asp Tyr Thr  
 565 570 575

Pro Lys His Leu Thr Asn Trp Ala Tyr His Glu Ile Gln Pro Gln Asp  
 580 585 590

Ser Val Asp Gln Gly Gln Val Phe Tyr Lys Leu Val Leu Arg Ala Phe  
 595 600 605

Pro Asn His Phe Lys Gly Asp Ser Ile Tyr Ala His Phe Pro Leu Val  
 610 615 620

Ile Pro Ser Glu Asn Lys Lys Ile Leu Glu Lys Leu Ser Val Ala Gln  
 625 630 635 640

Asp Tyr Ser Trp Gly Arg Pro Ser Tyr Thr Pro Thr Pro Gln Phe Ile  
 645 650 655

Ser Ser Asn Ala Ala Cys Ile Ser Val Leu Asn Asp Gln Glu Ala Phe  
 660 665 670

ES 2 827 193 T3

Lys Val Thr Trp Gly Ser Lys Ile Glu Phe Leu Met Arg His Asn Asn  
675 680 685

His Pro Tyr Gly Arg Asp Phe Met Leu Ser Gly Asp Lys Pro Pro Asn  
690 695 700

Ala Ala Ser Arg Arg Met Met Gly Ser Ala Leu Tyr Arg Asp Lys Trp  
705 710 715 720

Glu Ser Glu Val Lys Arg Phe Tyr Glu Asp Ile Thr Ile Lys Leu Leu  
725 730 735

Arg Gln His Ser Tyr Lys Leu Gly Gly Thr Asn Gln Val Asp Ile Val  
740 745 750

Arg Asp Val Ala Asn Tyr Ala Gln Val His Phe Cys Ala Asn Val Phe  
755 760 765

Ser Leu Pro Leu Lys Thr Glu Ser Asn Pro Arg Gly Ile Phe Thr Glu  
770 775 780

Ala Glu Leu Tyr Glu Ile Leu Ala Leu Val Phe Ala Ser Ile Phe Tyr  
785 790 795 800

Asp Ala Asp Val Gly Thr Ser Phe Gln Leu Asn His Thr Ala Arg Asp  
805 810 815

Val Thr Gln Gln Leu Gly Asp Leu Thr Met Ala Asn Val Asp Phe Val  
820 825 830

Asn Lys Ala Gly Phe Ile Ala Asn Ile Val Ser Ser Leu His Arg His  
835 840 845

Asp Val Leu Ser Glu Tyr Gly Glu His Met Ile Gln Arg Leu Leu His  
850 855 860

Asn Asn Ile Pro Pro Ala Asp Ile Val Trp Thr His Leu Leu Pro Thr  
865 870 875 880

Ala Gly Gly Met Val Ala Asn Gln Ala Gln Leu Phe Ser Gln Cys Leu  
885 890 895

ES 2 827 193 T3

Asp Tyr Tyr Leu Ser Asp Glu Gly Ser Val His Leu Pro Asp Ile Lys  
 900 905 910

Arg Leu Ala Gln Glu Asn Thr Ser Glu Ala Asp Ser Leu Leu Leu Arg  
 915 920 925

Tyr Phe Met Glu Gly Ala Arg Leu Arg Ser Ser Val Gly Leu Pro Arg  
 930 935 940

Leu Val Ala Lys Pro Thr Val Val Asp Asp Gly Gly Ser Lys Tyr Thr  
 945 950 955 960

Leu Lys Pro Gly Gln Ser Val Leu Cys Asn Leu Val Ser Ala Ser Met  
 965 970 975

Asp Pro Arg Ser Phe Pro Glu Pro Glu Lys Val Lys Leu Asp Arg Asp  
 980 985 990

Met Ser Leu Tyr Ala His Phe Gly Phe Gly Pro His Gln Cys Leu Gly  
 995 1000 1005

Met Gly Ile Cys Lys Leu Ala Leu Thr Thr Met Leu Arg Val Val  
 1010 1015 1020

Gly Arg Leu Asp Asn Leu Arg Arg Ala Pro Gly Ser Gln Gly Gln  
 1025 1030 1035

Leu Lys Arg Ile Ala Gly Pro Gly Gly Ile Ser Met Tyr Met Thr  
 1040 1045 1050

Ala Asp Gln Ser Ser Tyr Trp Pro Phe Pro Ser Thr Met Lys Ile  
 1055 1060 1065

Gln Trp Asp Gly Asp Leu Pro Ser Leu Ala Thr Asn  
 1070 1075 1080

<210> 5  
 <211> 1080  
 <212> PRT  
 <213> Aspergillus clavatus

<400> 5

Met Ser Gly Lys Arg Glu Glu Ser Thr Asn Gly Gly Ile Gly Lys Thr  
 1 5 10 15

ES 2 827 193 T3

Ile Ala Gln Ile Glu Lys Val Val Thr Ala Ser Leu Arg Pro Leu Pro  
 20 25 30

Ser Lys Thr Gly Asp Gly Thr Tyr Val Thr Glu Ala Val Lys Thr Gly  
 35 40 45

Leu Leu Lys Asp Leu Ser His Val Asp Leu Gly Asp Leu Lys Thr Leu  
 50 55 60

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

Lys Tyr Ile Met Glu Arg Val Val Gln Leu Ala Ala Gly Leu Pro Ser  
 85 90 95

Thr Ser Gln Ile Gly Lys Asp Met Thr Asn Thr Phe Leu Thr Thr Leu  
 100 105 110

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

Met Tyr Arg Lys Ala Asp Gly Ser Gly Asn Asn Ile Leu Trp Pro His  
 130 135 140

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

Met Gln Ser Pro Asn Leu Pro Asp Pro Glu Thr Leu Phe Asp Cys Leu  
 165 170 175

Leu Ala Arg Lys Glu Tyr Lys Glu His Pro Asn Lys Ile Ser Ser Val  
 180 185 190

Leu Phe Tyr Ile Ala Ser Ile Ile Ile His Asp Ile Phe Gln Thr Asp  
 195 200 205

Arg Lys Asp Pro Thr Val Ser Leu Thr Ser Ser Tyr Leu Asp Leu Ser  
 210 215 220

Pro Leu Tyr Gly Asn Asn Gln Asp Glu Gln Asn Leu Val Arg Thr Phe  
 225 230 235 240

ES 2 827 193 T3

Lys Asp Gly Lys Leu Lys Pro Asp Cys Phe Ser Thr Lys Arg Val Leu  
245 250 255

Gly Phe Pro Pro Gly Val Gly Val Leu Leu Ile Met Phe Asn Arg Phe  
260 265 270

His Asn His Val Val Glu Asn Leu Ala Leu Ile Asn Glu Gly Gly Arg  
275 280 285

Phe Thr Lys Pro Gln Glu Ser Asp Ala Gln Ala Tyr Ala Lys Tyr Asp  
290 295 300

Asn Asp Leu Phe Gln Thr Gly Arg Leu Ile Thr Cys Gly Leu Tyr Val  
305 310 315 320

Asn Ile Ile Leu Lys Asp Tyr Val Arg Thr Ile Leu Asn Ile Asn Arg  
325 330 335

Thr Asp Ser Ile Trp Ser Leu Asp Pro Arg Ala Asp Met Lys Asp Gly  
340 345 350

Leu Leu Gly Glu Ala Ala Ala Gln Ala Thr Gly Asn Gln Val Ser Ala  
355 360 365

Glu Phe Asn Leu Val Tyr Arg Trp His Ser Cys Ile Ser Lys Arg Asp  
370 375 380

Gln Lys Trp Thr Glu Asp Met Tyr Gln Glu Val Phe Pro Gly Gln Asp  
385 390 395 400

Pro Ser Lys Leu Pro Leu Gln Asp Phe Met Arg Gly Leu Gly Arg Trp  
405 410 415

Glu Ala Lys Leu Pro Gly Glu Pro Gln Glu Arg Pro Phe Ala Gly Leu  
420 425 430

Gln Arg Lys Ala Asp Gly Ser Tyr Asp Asp Asp Asp Leu Val Lys Ile  
435 440 445

Phe Gly Asp Ser Val Glu Asp Cys Ala Gly Ala Phe Gly Val Leu His  
450 455 460

ES 2 827 193 T3

Val Pro Thr Val Phe Arg Ser Ile Glu Ala Leu Gly Ile Gln Gln Ala  
465 470 475 480

Arg Ser Trp Asn Leu Ala Thr Leu Asn Glu Phe Arg Asn Tyr Phe Asn  
485 490 495

Leu Ala Pro Tyr Lys Thr Phe Glu Glu Ile Asn Pro Asp Pro Tyr Val  
500 505 510

Ala Asp Gln Leu Arg Arg Leu Tyr Asp His Pro Asp Arg Val Glu Ile  
515 520 525

Tyr Pro Gly Ile Ile Val Glu Asp Thr Lys Glu Ser Met Ala Pro Gly  
530 535 540

Ser Gly Leu Cys Thr Asn Phe Thr Ile Ser Arg Ala Ile Leu Ser Asp  
545 550 555 560

Ala Val Ala Leu Val Arg Gly Asp Arg Phe His Thr Val Asp Phe Thr  
565 570 575

Pro Lys His Leu Thr Asn Trp Ala Tyr Asn Glu Ile Gln Pro Gln Glu  
580 585 590

Ser Val Asp Gln Thr His Val Leu Tyr Lys Leu Val Phe Arg Ala Phe  
595 600 605

Pro Asn His Phe Lys Gly Asp Ser Ile Tyr Ala His Phe Pro Leu Val  
610 615 620

Ile Pro Ser Glu Asn Lys Lys Ile Leu Thr Lys Leu Gly Thr Ala Asp  
625 630 635 640

Lys Tyr Ser Trp Asp Arg Pro Ser Phe Thr His Pro Pro Gln Phe Ile  
645 650 655

Asn Ser His Ser Ala Cys Met Ser Ile Leu Ala Asp Gln Glu Thr Phe  
660 665 670

Lys Val Ser Trp Gly Lys Lys Ile Glu Phe Leu Met Arg His Asn Asp  
675 680 685

Gln Pro His Gly Arg Asp Phe Met Leu Ser Gly Asp Lys Pro Pro Asn

ES 2 827 193 T3

690						695										700
Ala	Glu	Ser	Arg	Gln	Met	Met	Gly	Lys	Ala	Leu	Tyr	Arg	Asn	Lys	Trp	
705					710					715					720	
Glu	Thr	Glu	Val	Lys	Asp	Phe	Tyr	Glu	Glu	Ile	Thr	Leu	Lys	Leu	Leu	
				725					730					735		
His	Arg	Asn	Ser	Tyr	Lys	Leu	Ala	Gly	Thr	Asn	Gln	Val	Asp	Ile	Val	
			740					745					750			
Arg	Asp	Val	Ala	Asn	Leu	Ala	Gln	Val	Tyr	Phe	Cys	Ala	Ser	Val	Phe	
		755					760					765				
Ser	Leu	Pro	Leu	Lys	Thr	Glu	Ser	Asn	Pro	Arg	Gly	Val	Phe	Thr	Glu	
	770					775					780					
Ser	Glu	Leu	Tyr	Gln	Ile	Met	Ala	Val	Val	Phe	Thr	Ser	Ile	Phe	Tyr	
785					790					795					800	
Asp	Ala	Asp	Val	Cys	Lys	Ser	Phe	Glu	Leu	Asn	Gln	Gly	Ala	Arg	Ala	
				805					810					815		
Val	Thr	Gln	Gln	Leu	Gly	Gln	Leu	Thr	Met	Ala	Asn	Val	Glu	Leu	Ile	
			820					825					830			
Glu	Lys	Thr	Gly	Phe	Ile	Ala	Asn	Leu	Val	Asn	Ser	Leu	His	Arg	His	
		835					840					845				
Asp	Ala	Leu	Thr	Glu	Tyr	Gly	Val	His	Met	Ile	Gln	Arg	Leu	Leu	Asp	
	850					855					860					
Thr	Gly	Thr	Pro	Ala	Ala	Glu	Ile	Val	Trp	Thr	His	Val	Leu	Pro	Thr	
865					870					875					880	
Ala	Gly	Gly	Met	Val	Ala	Asn	Gln	Ala	Gln	Leu	Phe	Ser	Gln	Cys	Leu	
				885					890					895		
Asp	Tyr	Tyr	Leu	Ser	Asp	Glu	Gly	Ser	Ile	His	Leu	Pro	Glu	Ile	Asn	
			900					905					910			
Arg	Leu	Ala	Lys	Gln	Asp	Thr	Pro	Glu	Ala	Asp	Asp	Leu	Leu	Leu	Arg	
		915					920					925				

ES 2 827 193 T3

Tyr Phe Met Glu Gly Ala Arg Leu Arg Ser Ser Val Ala Leu Pro Arg  
 930 935 940

Val Val Ala Gln Pro Thr Val Val Glu Asp Asn Gly Gln Lys Val Ile  
 945 950 955 960

Leu Lys Glu Gly Gln His Ile Leu Cys Asn Leu Val Ser Ala Ser Met  
 965 970 975

Asp Pro Ala Ser Phe Pro Glu Pro Asp Lys Val Lys Leu Asp Arg Asp  
 980 985 990

Met Asn Leu Tyr Ala His Phe Gly Phe Gly Pro His Gln Cys Leu Gly  
 995 1000 1005

Ile Gly Leu Cys Lys Leu Ala Leu Thr Thr Met Leu Lys Val Val  
 1010 1015 1020

Gly Arg Leu Asp Asn Leu Arg Arg Ala Pro Gly Gly Gln Gly Arg  
 1025 1030 1035

Leu Lys Lys Leu Ser Gly Pro Gly Gly Ile Ala Met Tyr Met Thr  
 1040 1045 1050

Pro Asp Gln Ser Gly Phe Phe Pro Phe Pro Thr Thr Met Lys Ile  
 1055 1060 1065

Gln Trp Asp Gly Asp Leu Pro Pro Leu Lys Thr Glu  
 1070 1075 1080

<210> 6  
 <211> 1080  
 <212> PRT  
 <213> *Aspergillus niger*

<400> 6

Met Ser Gly Ala Asn Asn His Ser Ile Val Asn Gly Ile Gly Ser Thr  
 1 5 10 15

Ile Ser Gln Val Glu Lys Ala Ile Ser Ala Ser Leu Arg Pro Leu Pro  
 20 25 30

ES 2 827 193 T3

Thr Ala Thr Gly Asn Gly Thr Tyr Ile Thr Glu Pro Asp Gln Thr Gly  
 35 40 45

Ile Val Lys Asp Leu Ser His Val Asp Phe Thr Asp Ile Lys Ala Leu  
 50 55 60

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

His Tyr Ile Met Glu Arg Val Ile Gln Leu Ala Ala Gly Leu Pro Ser  
 85 90 95

Thr Ser Lys Asn Gly Lys Asp Leu Thr Asn Ala Phe Leu Lys Gln Leu  
 100 105 110

Trp Asn Asp Leu Glu His Pro Pro Ile Ser Tyr Leu Gly Arg Asp Ser  
 115 120 125

Ser Tyr Arg Lys Ala Asp Gly Ser Gly Asn Asn Phe Leu Trp Pro His  
 130 135 140

Ile Gly Ala Ala Gly Ser His Tyr Ala Arg Ser Val Arg Pro Thr Thr  
 145 150 155 160

Val Gln Ser Pro Ser Leu Pro Asp Pro Ser Thr Leu Phe Ala Ser Leu  
 165 170 175

Leu Glu Arg Lys Glu Tyr Lys Glu His Pro Asn Lys Ile Ser Ser Val  
 180 185 190

Leu Phe Tyr Leu Ala Ser Val Ile Ile His Asp Leu Phe Gln Thr Asp  
 195 200 205

Arg Ser Asp Phe Thr Leu Asn Lys Thr Ser Ser Tyr Leu Asp Leu Ser  
 210 215 220

Pro Leu Tyr Gly Asn Asn Gln Asp Glu Gln Asp Leu Val Arg Thr Phe  
 225 230 235 240

Lys Asp Gly Lys Leu Lys Pro Asp Cys Phe Ser Ser Lys Arg Val Leu  
 245 250 255

Gly Phe Pro Pro Gly Val Gly Val Leu Leu Leu Met Phe Asn Arg Phe



ES 2 827 193 T3

Leu Ala Pro Tyr Lys Thr Phe Glu Glu Ile Asn Pro Asp Pro Tyr Ile  
500 505 510

Ala Ala Gln Leu Lys Asn Leu Tyr Asp Glu Pro Asp Leu Val Glu Met  
515 520 525

Tyr Pro Gly Val Ile Val Glu Ala Thr Lys Asp Ala Ile Val Pro Gly  
530 535 540

Ser Gly Leu Cys Thr Asn Phe Thr Ile Ser Arg Ala Ile Leu Ser Asp  
545 550 555 560

Ala Val Ser Leu Val Arg Gly Asp Arg Phe Tyr Thr Val Asp Tyr Thr  
565 570 575

Pro Lys His Leu Thr Asn Trp Ala Tyr Asn Glu Ile Gln Pro Gln Asp  
580 585 590

Ser Val Asp Gln Gly Gln Val Phe Tyr Lys Leu Val Leu Arg Ala Phe  
595 600 605

Pro Asn His Phe Lys Gly Asp Ser Val Tyr Ala His Phe Pro Leu Val  
610 615 620

Ile Pro Ser Glu Asn Lys Lys Ile Leu Glu Lys Leu Ser Val Ala Gln  
625 630 635 640

Asp Tyr Ser Trp Gly Arg Pro Ser Tyr Thr Pro Leu Pro Gln Phe Ile  
645 650 655

Ser Ser Asn Ala Ala Cys Ile Ser Val Leu Asn Asp Gln Glu Ala Phe  
660 665 670

Lys Val Thr Trp Gly Ser Lys Ile Glu Phe Leu Met Arg His Asn Asn  
675 680 685

His Pro Tyr Gly Arg Asp Phe Met Leu Ser Gly Asp Lys Pro Pro Asn  
690 695 700

Ala Ala Ser Arg Arg Met Met Gly Ser Ala Leu Tyr Arg Asp Lys Trp  
705 710 715 720

ES 2 827 193 T3

Glu Ser Glu Val Lys Arg Phe Tyr Glu Asp Ile Thr Ile Lys Leu Leu  
725 730 735

Arg Gln His Ser Tyr Gln Leu Gly Gly Val Asn Gln Val Asp Ile Val  
740 745 750

Arg Asp Val Ala Asn Tyr Ala Gln Val His Phe Cys Ala Asn Val Phe  
755 760 765

Ser Leu Pro Leu Lys Thr Glu Ser Asn Pro Arg Gly Ile Phe Ala Glu  
770 775 780

Ser Glu Leu Tyr Glu Ile Leu Ala Leu Val Phe Ala Ser Ile Phe Tyr  
785 790 795 800

Asp Ala Asp Val Gly Thr Ser Phe Gln Leu Asn Gln Thr Ala Arg Asp  
805 810 815

Val Thr Gln Gln Leu Gly Glu Leu Thr Met Ala Asn Val Asp Phe Val  
820 825 830

Asn Lys Ala Gly Phe Ile Ala Asn Leu Val Ser Ser Leu His Arg His  
835 840 845

Asp Val Leu Ser Glu Tyr Gly Glu His Met Ile Gln Arg Leu Leu His  
850 855 860

Ser Asn Val Pro Pro Ala Glu Ile Val Trp Thr His Leu Leu Pro Thr  
865 870 875 880

Ala Gly Gly Met Val Ala Asn Gln Ala Gln Leu Phe Ser Gln Cys Leu  
885 890 895

Asp Tyr Tyr Leu Ser Asp Glu Gly Ser Ile His Leu Pro Asp Ile Lys  
900 905 910

Arg Leu Ala Lys Glu Asn Thr Ser Glu Ala Asp Ala Leu Leu Leu Arg  
915 920 925

Tyr Phe Met Glu Gly Ala Arg Leu Arg Ser Ser Val Gly Leu Pro Arg  
930 935 940

ES 2 827 193 T3

Leu Val Ala Lys Pro Thr Val Val Asp Asp Gly Gly Ser Lys Tyr Thr  
 945 950 955 960

Leu Lys Pro Gly Gln Ser Val Leu Cys Asn Leu Val Ser Ala Ser Met  
 965 970 975

Asp Pro Arg Ser Phe Pro Glu Pro Glu Lys Val Lys Leu Asp Arg Asp  
 980 985 990

Met Ser Leu Tyr Ala His Phe Gly Phe Gly Pro His Gln Cys Leu Gly  
 995 1000 1005

Met Gly Ile Cys Lys Leu Ala Leu Thr Thr Met Leu Arg Val Val  
 1010 1015 1020

Gly Arg Leu Asp Asn Leu Arg Arg Ala Pro Gly Ser Gln Gly Gln  
 1025 1030 1035

Leu Lys Lys Ile Ala Gly Pro Gly Gly Ile Ser Met Tyr Met Thr  
 1040 1045 1050

Ala Asp Gln Ser Ser Tyr Trp Pro Phe Pro Ser Thr Met Lys Ile  
 1055 1060 1065

Gln Trp Asp Gly Asp Leu Pro Ser Leu Ala Thr Asn  
 1070 1075 1080

<210> 7  
 <211> 1127  
 <212> PRT  
 <213> *Glomerella cingulate*

<400> 7

Met Ser Gln Gln Ser His Thr Glu Gln Phe Pro Lys Asn Gln Pro Pro  
 1 5 10 15

Leu Ala Glu Arg Leu Ala Ser Ala Arg Gln Leu Val Thr Lys Ala Ile  
 20 25 30

Ser Ala Val Pro Pro His Pro Glu Pro Leu Pro Ser Pro Asn Ser Asp  
 35 40 45

Gln Gly Glu Pro Ser Asn Leu Leu Gln Asp Val Lys Lys Leu Gly Phe  
 50 55 60

ES 2 827 193 T3

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

Gln Ile Asn Asp Asn Glu Leu Leu Leu Glu Asn Leu Ile Gln Leu Phe  
85 90 95

Ala Lys Leu Pro Gln Asn Ser Val Lys Gly Lys Arg Leu Glu Asn Gly  
100 105 110

Leu Ile Asn Gln Leu Trp Asn Gly Ile Asp His Pro Pro Met Thr Thr  
115 120 125

Leu Gly Glu Asp His Lys Tyr Arg Ala Ala Asp Gly Ser Gly Asn Ala  
130 135 140

Ile His Asp Pro Lys Met Gly Ala Ala Gly Gln Pro Tyr Ala Arg Ser  
145 150 155 160

Thr Pro Ala Lys Ser Tyr Gln Asn Pro Asn Gln Pro Glu Pro Glu Met  
165 170 175

Ile Phe Asp Met Leu Phe Ala Arg Gly Gly Glu Phe Lys Pro His Pro  
180 185 190

Asn Lys Ile Ser Ser Phe Met Phe Tyr Leu Ala Thr Ile Ile Thr His  
195 200 205

Asp Ile Phe Gln Thr Lys Asn Gly Thr Ser Pro Ile Asn Gln Thr Ser  
210 215 220

Ser Tyr Leu Asp Leu Ala Pro Leu Tyr Gly Arg Asn Gln Ala Glu Gln  
225 230 235 240

Asp Leu Met Arg Thr Lys Lys Asn Gly Leu Leu Lys Pro Asp Thr Phe  
245 250 255

Ser Ser Lys Arg Val Leu Gly Phe Pro Pro Gly Val Gly Thr Leu Leu  
260 265 270

Ile Met Phe Asn Arg Tyr His Asn Tyr Val Ala Thr Asn Leu Ala Thr  
275 280 285

# ES 2 827 193 T3

Ile Asn Glu Gly Gly Arg Phe Gln Lys Pro Thr Gly Asp Asp Pro Glu  
 290 295 300

Lys Thr Ala Lys Tyr Asp Asn Asp Leu Phe Gln Thr Ala Arg Leu Ile  
 305 310 315 320

Thr Cys Gly Leu Tyr Val Ser Ile Ile Leu Arg Asp Tyr Val Arg Thr  
 325 330 335

Ile Leu Gly Met Asn Arg Thr Ala Ser Ser Trp Ala Leu Asp Pro Arg  
 340 345 350

Thr Asn Glu Gly Lys Ser Ile Leu Ser Gln Gln Thr Pro Glu Gly Thr  
 355 360 365

Gly Asn Gln Val Ser Val Glu Phe Asn Leu Ile Tyr Arg Trp His Asn  
 370 375 380

Thr Ile Ser Pro Lys Asp Glu Gln Trp Thr Lys Asp Val Met Lys Lys  
 385 390 395 400

Val Leu Gly Lys Asp Pro Thr Glu Met Ser Leu Met Glu Phe Gly His  
 405 410 415

Ala Met Arg Asp Trp Glu Gln Glu Ile Pro Asp Asp Pro Ala Gln Arg  
 420 425 430

Gly Phe Met Asp Leu Pro Arg Asn Ala Asp Gly Thr Leu Asn Glu Ala  
 435 440 445

Asp Leu Ala Lys Ile Phe Lys Glu Ser Val Asp Asp Val Ala Gly Ser  
 450 455 460

Tyr Gly Ala Asn Arg Ile Pro Glu Val Met Arg Pro Ile Glu Leu Met  
 465 470 475 480

Gly Ile Met Ala Ser Arg Ser Trp Asn Cys Ala Thr Leu Asn Glu Phe  
 485 490 495

Arg Glu His Phe Gly Leu Thr Arg His Pro Thr Phe Glu Asp Ile Asn  
 500 505 510

ES 2 827 193 T3

Pro Asp Lys Glu Val Ala Ala Lys Leu Arg Phe Leu Tyr Gly Ser Pro  
515 520 525

Asp Ala Val Glu Leu Tyr Pro Gly Leu Met Ala Glu Lys Ala Lys Pro  
530 535 540

Pro Met Ala Pro Gly Ser Gly Leu Cys Gly Asn Phe Thr Met Thr Arg  
545 550 555 560

Ala Ile Leu Ser Asp Ala Val Ala Leu Val Arg Gly Asp Arg Phe Tyr  
565 570 575

Thr Ile Asp Tyr Thr Pro Lys Asn Leu Thr Asn Trp Gly Phe Asn Gln  
580 585 590

Ala Ser Tyr Asp Leu Asn Val Asp Gln Ser His Val Leu Tyr Lys Leu  
595 600 605

Val Phe Arg Ala Phe Pro Asn Ser Phe Gln Asn Asn Ser Ile Tyr Ala  
610 615 620

His Phe Pro Phe Val Ile Pro Ser Glu Asn Lys Lys Ile Leu Glu Ser  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ala Tyr Leu Tyr Thr Trp Asp Glu Pro Lys Thr Lys Thr  
645 650 655

Pro Leu Ile Pro Ile Leu Ser His Lys Ala Val Ser Glu Val Leu Tyr  
660 665 670

Asn Gln Gln Asp Phe Lys Val Ile Thr Gly Asp Ala Ile Asn His Leu  
675 680 685

Val Ala Gln Pro Asn Lys Pro His Tyr Gly Lys Asp Phe Cys Leu Ser  
690 695 700

Gly Asp Gly Lys Glu His Ala Lys Asn Arg Thr Leu Val Arg Lys Ser  
705 710 715 720

Leu Ile Ser Gly Pro Trp Glu Thr Glu Ile Trp Lys Trp Tyr Thr His  
725 730 735

Met Thr Pro Lys Ile Leu Asn Leu Asn Ser Phe Pro Ile Pro Gly Asn

ES 2 827 193 T3

			740							745							750
Lys	Arg	Glu	Ile	Asp	Leu	Val	Arg	Asp	Val	Ile	Asn	Val	Thr	Asn	Thr		
		755						760				765					
Arg	Phe	Asn	Ala	Ala	Leu	Phe	Cys	Met	Pro	Ile	Lys	Asn	Glu	Glu	Ser		
	770					775					780						
Pro	Trp	Gly	Val	Tyr	Thr	Asp	Gln	Glu	Leu	Tyr	Ser	Val	Leu	Gly	Ala		
785					790					795					800		
Leu	Phe	Gln	Ala	Val	Phe	Met	Asp	Ala	Asp	Ile	Gly	Asn	Ser	Phe	Lys		
				805					810					815			
Leu	Arg	Thr	Ile	Ala	Arg	Glu	Leu	Ala	Gln	Asp	Leu	Gly	Lys	Val	Val		
			820					825					830				
Met	Leu	Ile	Ala	Gln	Thr	Ile	Lys	Lys	Ala	Gly	Leu	Ile	Thr	Asp	Ile		
		835					840					845					
Val	Ala	Lys	Ile	Arg	Glu	Gly	Glu	Ala	Ser	Leu	Pro	Thr	Tyr	Gly	Asn		
	850					855					860						
His	Leu	Ile	Glu	Arg	Met	Leu	Ser	Asp	Gly	Lys	Asp	Val	Glu	Glu	Val		
865					870					875					880		
Val	Trp	Gly	Thr	Ile	Met	Pro	Val	Ile	Thr	Ala	Asn	Val	Ala	Asn	Gln		
				885					890					895			
Ser	Gln	Val	Thr	Ser	Leu	Cys	Val	Asp	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Lys	Glu	Gly		
			900					905					910				
Lys	Lys	His	Leu	Pro	Glu	Leu	Tyr	Arg	Leu	Ala	His	Glu	Asn	Thr	Pro		
		915					920					925					
Glu	Ala	Asp	Glu	Thr	Leu	Leu	Lys	Tyr	Met	Leu	Glu	Gly	Cys	Arg	Leu		
	930					935					940						
Arg	Gly	Pro	Val	Ala	Val	Tyr	Arg	Glu	Ala	Thr	Ser	Thr	Gln	Val	Ile		
945					950					955					960		
Thr	Asp	Tyr	Ser	Pro	Cys	Leu	Pro	Ser	Glu	Ser	Asp	Pro	Thr	Gly	Arg		
				965					970					975			

ES 2 827 193 T3

Asp Pro Ile Thr Asn Pro Asp Ile Glu Gly Thr Lys Arg Glu Val Lys  
 980 985 990

Ile Pro Arg Gly Tyr Arg Val Val Cys Asn Phe Ala Thr Ala Gly Arg  
 995 1000 1005

Asp Pro Ala Ile Phe Glu Asp Pro Asn Glu Val Arg Leu Asp Arg  
 1010 1015 1020

Pro Leu Asp Ser Tyr Val His Phe Gly Leu Gly Pro His Trp Cys  
 1025 1030 1035

Ala Gly Lys Glu Met Ser Arg Val Gly Gln Thr Ser Leu Phe Lys  
 1040 1045 1050

Gln Ile Val Gly Leu Lys Asn Leu Arg Arg Ala Pro Gly Gly Arg  
 1055 1060 1065

Gly Glu Met Lys Asn Phe Pro Ala Ser Pro Trp Asn Gly Gln Val  
 1070 1075 1080

Gly Leu Pro Val Glu Gly Gln Asn Gly Ser Ala Ala His Gln Gln  
 1085 1090 1095

Pro Trp Leu Gly Leu Arg Ala Phe Met Thr Val Asp Gln Ser Ser  
 1100 1105 1110

Leu Trp Pro Ile Pro Thr Thr Met Arg Val Gln Trp Asp Glu  
 1115 1120 1125

<210> 8  
 <211> 1165  
 <212> PRT  
 <213> Gaeumannomyces graminis

<400> 8

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

Leu Arg Asp Leu Leu His His Val Phe Gly Asn Gln Lys Ser Pro Thr  
 20 25 30





ES 2 827 193 T3

Ile Gly Leu Thr Pro His Asp Ser Phe Tyr His Met Asn Pro Asp Pro  
500 505 510

Lys Ile Cys Lys Ile Leu Ala Gln Met Tyr Asp Ser Pro Asp Ala Val  
515 520 525

Glu Leu Tyr Pro Gly Ile Met Ala Glu Ala Ala Lys Pro Pro Phe Ser  
530 535 540

Pro Gly Ser Gly Leu Cys Pro Pro Tyr Thr Thr Ser Arg Ala Ile Leu  
545 550 555 560

Ser Asp Ala Val Ser Leu Val Arg Gly Asp Arg Phe Tyr Thr Val Asp  
565 570 575

Tyr Thr Pro Arg Asn Ile Thr Asn Trp Gly Phe Asn Glu Ala Ser Thr  
580 585 590

Asp Lys Ala Val Asp Trp Gly His Val Ile Tyr Lys Leu Phe Phe Arg  
595 600 605

Ala Phe Pro Asn His Phe Leu Pro Asn Ser Val Tyr Ala His Phe Pro  
610 615 620

Phe Val Val Pro Ser Glu Asn Lys Leu Ile Phe Glu Gly Leu Gly Ala  
625 630 635 640

Ala Asn Lys Tyr Ser Trp Asp Pro Pro Lys Ala Arg Ala Pro Ile Gln  
645 650 655

Phe Ile Arg Ser His Lys Ala Val Leu Glu Val Leu Ser Asn Gln Lys  
660 665 670

Asp Tyr Lys Val Thr Trp Gly Pro Ala Ile Lys Met Leu Ser Gly Asp  
675 680 685

Pro Ala Thr Ser Phe Ala Leu Ala Gly Asp Glu Pro Ala Asn Ala Ala  
690 695 700

Ser Arg His His Val Ile Ala Ala Leu Thr Ala Pro Lys Gln Trp Arg  
705 710 715 720

ES 2 827 193 T3

Asp Glu Val Arg Arg Phe Tyr Glu Val Thr Thr Arg Asp Leu Leu Arg  
725 730 735

Arg His Gly Ala Pro Val His Gly Val Gly Ala Gly Pro Arg Thr His  
740 745 750

Glu Val Asp Val Ile Arg Asp Val Ile Gly Leu Ala His Ala Arg Phe  
755 760 765

Met Ala Ser Leu Phe Ser Leu Pro Leu Lys Glu Glu Gly Lys Glu Glu  
770 775 780

Gly Ala Tyr Gly Glu His Glu Leu Tyr Arg Ser Leu Val Thr Ile Phe  
785 790 795 800

Ala Ala Ile Phe Trp Asp Ser Asp Val Cys Asn Ser Leu Lys Leu His  
805 810 815

Gln Ala Ser Lys Ala Ala Ala Asp Lys Met Ser Ala Leu Ile Ala Glu  
820 825 830

His Val Arg Glu Met Glu Ala Gly Thr Gly Phe Leu Gly Ala Leu Gly  
835 840 845

Lys Leu Lys Asp Leu Ile Thr Gly Asn Asp Val His Ala Asn Gly Asn  
850 855 860

Gly Val Tyr Thr Asn Gly Asn Gly Val Tyr Thr Asn Gly Asn Gly Val  
865 870 875 880

His Thr Asn Gly Asn Gly Val His Thr Asn Gly Asn Gly Val Pro His  
885 890 895

Ala Ala Pro Ser Leu Arg Ser Phe Gly Asp Gln Leu Leu Gln Arg Met  
900 905 910

Leu Ser Gln Asp Gly Arg Ser Ile Glu Glu Thr Val Ser Gly Thr Ile  
915 920 925

Leu Pro Val Val Met Ala Gly Thr Ala Asn Gln Thr Gln Leu Leu Ala  
930 935 940

# ES 2 827 193 T3

Gln Cys Leu Asp Tyr Tyr Leu Gly Val Gly Glu Lys His Leu Pro Glu  
 945 950 955 960

Met Lys Arg Leu Ala Met Leu Asn Thr Ser Glu Ala Asp Glu Lys Leu  
 965 970 975

Leu Lys Tyr Thr Met Glu Gly Cys Arg Ile Arg Gly Cys Val Ala Leu  
 980 985 990

Tyr Arg Ala Val Val Thr Asp Gln Ala Val Asp Asp Thr Ile Pro Cys  
 995 1000 1005

Ile Pro Asn Lys Asp Asp Pro Thr Phe Ala Arg Pro Leu Ser Asn  
 1010 1015 1020

Pro Gln Val Ala Glu Ser Ala Arg Thr Leu Lys Leu Ser Thr Gly  
 1025 1030 1035

Thr Arg Met Leu Val Asp Leu Thr Thr Ala Ser His Asp Pro Ala  
 1040 1045 1050

Ala Phe Pro Asp Pro Asp Glu Val Arg Leu Asp Arg Pro Leu Glu  
 1055 1060 1065

Ser Tyr Val His Phe Gly Leu Gly Pro His Arg Cys Ala Gly Glu  
 1070 1075 1080

Pro Ile Ser Gln Ile Ala Leu Ser Ser Val Met Lys Val Leu Leu  
 1085 1090 1095

Gln Leu Asp Gly Leu Arg Arg Ala Ala Gly Pro Arg Gly Glu Ile  
 1100 1105 1110

Arg Ser Tyr Pro Ala Ser Gln Trp Pro Gly Gln Ala Gly Arg Pro  
 1115 1120 1125

Pro Arg Asp Pro Ala Trp Ser Gly Leu Arg Thr Phe Thr Ser Ala  
 1130 1135 1140

Asp Gln Ser Ala Phe Ser Pro Leu Ala Thr Thr Met Lys Ile Asn  
 1145 1150 1155

Trp Glu Gly Arg Gly Asp Leu

ES 2 827 193 T3

1160

1165

<210> 9  
 <211> 1171  
 <212> PRT  
 <213> Magnaporthe oryzae  
 <400> 9

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

Ser Asp Pro Pro Ser Ser Phe Phe Gln Lys Leu Gly Ala Phe Leu Gly  
 20 25 30

Leu Phe Ser Lys Pro Gln Pro Pro Arg Pro Asp Tyr Pro His Ala Pro  
 35 40 45

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

Lys Leu Gly Phe Lys Asp Val Glu Thr Leu Leu Leu Tyr Leu Asn Ser  
 65 70 75 80

Ser Val Lys Gly Val Asn Asp Asp Lys Gln Leu Leu Leu Glu Arg Leu  
 85 90 95

Ile Gln Leu Leu Ser Lys Leu Pro Pro Thr Ser Thr Asn Gly Lys Lys  
 100 105 110

Val Thr Asp Gly Leu Ile Thr Gly Leu Trp Glu Ser Leu Asp His Pro  
 115 120 125

Pro Val Ser Ser Leu Gly Glu Lys Tyr Arg Phe Arg Glu Ala Asp Gly  
 130 135 140

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

Tyr Ala Arg Ser Ala Lys Pro Met Val Tyr Gln Asn Pro Asn Pro Pro  
 165 170 175

Ala Pro Glu Thr Ile Phe Asp Thr Leu Met Ala Arg Asp Pro Ala Lys  
 180 185 190

ES 2 827 193 T3

Phe Arg Pro His Pro Asn Gln Ile Ser Ser Val Leu Phe Tyr Phe Ala  
 195 200 205

Thr Ile Ile Thr His Asp Ile Phe Gln Thr Ser Ser Arg Asp Pro Ser  
 210 215 220

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

Asn Leu Glu Glu Gln Leu Ser Val Arg Ala Met Lys Asp Gly Leu Leu  
 245 250 255

Lys Pro Asp Thr Phe Cys Ser Lys Arg Val His Gly Phe Pro Pro Gly  
 260 265 270

Val Gly Val Leu Leu Ile Met Phe Asn Arg Phe His Asn Tyr Val Val  
 275 280 285

Thr Ser Leu Ala Lys Ile Asn Glu Gly Asn Arg Phe Lys Lys Pro Val  
 290 295 300

Gly Asp Asp Thr Ala Ala Trp Glu Lys Tyr Asp Asn Asp Leu Phe Gln  
 305 310 315 320

Thr Gly Arg Leu Ile Thr Cys Gly Leu Tyr Val Asn Ile Val Leu Val  
 325 330 335

Asp Tyr Val Arg Thr Ile Leu Asn Leu Asn Arg Val Asp Ser Ser Trp  
 340 345 350

Ile Leu Asp Pro Arg Thr Glu Glu Gly Lys Ser Leu Leu Ser Lys Pro  
 355 360 365

Thr Pro Glu Ala Val Gly Asn Gln Val Ser Val Glu Phe Asn Leu Ile  
 370 375 380

Tyr Arg Trp His Cys Gly Met Ser Gln Arg Asp Asp Lys Trp Thr Thr  
 385 390 395 400

Asp Met Leu Thr Glu Ala Leu Gly Gly Lys Asp Pro Ala Thr Ala Thr  
 405 410 415

ES 2 827 193 T3

Leu Pro Glu Phe Phe Gly Ala Leu Gly Arg Phe Glu Ser Ser Phe Pro  
 420 425 430

Asn Glu Pro Glu Lys Arg Thr Leu Ala Gly Leu Lys Arg Gln Glu Asp  
 435 440 445

Gly Ser Phe Glu Asp Glu Gly Leu Ile Lys Ile Met Gln Glu Ser Ile  
 450 455 460

Glu Glu Val Ala Gly Ala Phe Gly Pro Asn His Val Pro Ala Cys Met  
 465 470 475 480

Arg Ala Ile Glu Ile Leu Gly Met Asn Gln Ala Arg Ser Trp Asn Val  
 485 490 495

Ala Thr Leu Asn Glu Phe Arg Glu Phe Ile Gly Leu Lys Arg Tyr Asp  
 500 505 510

Thr Phe Glu Asp Ile Asn Pro Asp Pro Lys Val Ala Asn Leu Leu Ala  
 515 520 525

Glu Phe Tyr Gly Ser Pro Asp Ala Val Glu Leu Tyr Pro Gly Ile Asn  
 530 535 540

Ala Glu Ala Pro Lys Pro Val Ile Val Pro Gly Ser Gly Leu Cys Pro  
 545 550 555 560

Pro Ser Thr Thr Gly Arg Ala Ile Leu Ser Asp Ala Val Thr Leu Val  
 565 570 575

Arg Gly Asp Arg Phe Phe Thr Val Asp Tyr Thr Pro Arg Asn Leu Thr  
 580 585 590

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

Asn Val Ile Tyr Lys Leu Phe Phe Arg Ala Phe Pro Asn His Tyr Ala  
 610 615 620

Gln Asn Ser Ile Tyr Ala His Phe Pro Phe Val Ile Pro Ser Glu Asn  
 625 630 635 640

Lys Lys Ile Met Glu Ser Leu Gly Leu Ala Asp Lys Tyr Ser Trp Gln

ES 2 827 193 T3

				645					650							655
Pro	Pro	Gln	Arg	Lys	Pro	Ala	Thr	Gln	Met	Ile	Arg	Ser	His	Ala	Ala	
			660					665					670			
Ala	Val	Lys	Ile	Leu	Asn	Asn	Gln	Lys	Asp	Phe	Lys	Val	Val	Trp	Gly	
		675					680					685				
Glu	Ser	Ile	Gly	Phe	Leu	Thr	Lys	Phe	Pro	Thr	Gly	Glu	Asn	Pro	Gly	
	690					695					700					
Leu	Gly	Phe	Ala	Leu	Ala	Gly	Asp	Ala	Pro	Ala	Asn	Gln	Gln	Ser	Arg	
705					710					715					720	
Asp	Gln	Leu	Met	Lys	Cys	Ile	Phe	Ser	Pro	Lys	Ala	Trp	Glu	Asp	Glu	
				725					730					735		
Val	Arg	Gln	Phe	Cys	Glu	Ala	Thr	Thr	Trp	Asp	Leu	Leu	Arg	Arg	Tyr	
			740					745					750			
Ser	Ala	Lys	Val	Gln	Asp	Lys	Gly	Pro	His	Leu	Lys	Val	His	Thr	His	
		755					760					765				
Glu	Ile	Asp	Val	Ile	Arg	Asp	Val	Ile	Ser	Leu	Ala	Asn	Ala	Arg	Phe	
	770					775					780					
Phe	Ala	Ala	Val	Tyr	Ser	Leu	Pro	Leu	Lys	Thr	Glu	Asn	Gly	Asp	Asp	
785					790					795					800	
Gly	Val	Tyr	Ser	Asp	His	Glu	Met	Tyr	Arg	Ser	Leu	Met	Leu	Ile	Phe	
				805					810					815		
Ser	Ala	Ile	Phe	Trp	Asp	Asn	Asp	Val	Ser	Lys	Ser	Phe	Lys	Leu	Arg	
			820					825					830			
Arg	Asp	Ala	Arg	Ala	Ala	Thr	Gln	Lys	Leu	Gly	Ala	Leu	Val	Glu	Lys	
		835					840					845				
His	Ile	Val	Glu	Met	Gly	Ser	Leu	Phe	His	Ser	Phe	Lys	His	Ser	His	
	850					855					860					
Ser	Ala	Val	Ser	Asp	Lys	Thr	Asn	Gly	Leu	Ala	Asn	Gly	Gly	Ala	Asn	
865					870					875					880	

ES 2 827 193 T3

Gly His Ala Asn Gly Asn Ala Asn Gly His Thr Asn Gly Asn Gly Ile  
885 890 895

His Gln Asn Gly Gly Ala Ala Pro Ser Met Leu Arg Ser Tyr Gly Asp  
900 905 910

Leu Met Leu Arg Arg Met Ile Glu Ala Tyr Gly Glu Gly Lys Ser Val  
915 920 925

Lys Glu Ala Val Tyr Gly Gln Ile Met Pro Ser Ile Ala Ala Gly Thr  
930 935 940

Ala Asn Gln Thr Gln Ile Met Ala Gln Cys Leu Asp Tyr Tyr Met Ser  
945 950 955 960

Asp Asp Gly Ala Glu His Leu Pro Glu Met Lys Arg Leu Ala Ser Leu  
965 970 975

Glu Thr Pro Glu Ala Phe Asn Thr Leu Met Lys Tyr Leu Phe Glu Gly  
980 985 990

Ala Arg Ile Arg Asn Thr Thr Ala Val Pro Arg Leu Val Ala Thr Asp  
995 1000 1005

Gln Thr Val Glu Asp Asn Ile Pro Cys Leu Pro Asp Pro Lys Asp  
1010 1015 1020

Ser Thr Phe Leu Arg Pro Ile Pro Asn Pro Gln Gln Ala Glu Thr  
1025 1030 1035

Thr Arg Thr Val Lys Leu Ser Arg Gly Ser Met Val Leu Val Asp  
1040 1045 1050

Leu Thr Val Ala Ala His Asp Ala Thr Ala Phe Pro Asp Pro Glu  
1055 1060 1065

Lys Val Arg Leu Asp Arg Asp Leu Asp Ser Tyr Thr Phe Phe Gly  
1070 1075 1080

Leu Gly Pro His Arg Cys Ala Gly Asp Lys Val Val Arg Ile Thr  
1085 1090 1095

ES 2 827 193 T3

Met Thr Ala Val Phe Lys Val Leu Leu Gln Leu Asp Gly Leu Arg  
 1100 1105 1110

Arg Ala Glu Gly Gly Arg Gly Val Phe Lys Ser Leu Pro Ala Ser  
 1115 1120 1125

Gln Trp Asn Gly Gln Ala Gly Arg Val Ala Gly Glu Lys Pro Gln  
 1130 1135 1140

Trp Ser Gly Leu Arg Thr Tyr Val Asn Ala Asp Glu Ser Ala Phe  
 1145 1150 1155

Ser Gln Thr Pro Met Asn Met Lys Ile Arg Trp Asp Asp  
 1160 1165 1170

<210> 10  
 <211> 1079  
 <212> PRT  
 <213> Penicillium oxalicum

<400> 10

Met Val Gly His His Gly Ser Glu Thr His Gly Glu Lys Ser Pro Leu  
 1 5 10 15

Val Gln Ile Glu Gln Val Phe Lys Ala Ala Leu Arg Pro Leu Pro Thr  
 20 25 30

Glu Thr Gly Asp Gly Thr Tyr Val Lys Asp Thr Lys Leu Thr Gly Leu  
 35 40 45

Ala Gln Asp Leu Ser His Val Asp Leu Val Asp Val Lys Thr Leu Ala  
 50 55 60

Asp Val Ala Lys Asn Ala Ile Thr Gly Glu Ala Met Asn Asp Arg Glu  
 65 70 75 80

Tyr Ile Met Glu Arg Val Ile Gln Leu Ala Ala Gly Leu Pro Thr Thr  
 85 90 95

Ser Lys Asn Gly Arg Asp Leu Thr Asn Thr Phe Leu Ser Thr Leu Trp  
 100 105 110

Asn Asp Leu Gln His Pro Pro Thr Ser Tyr Leu Gly Arg Asp Ser Ala

ES 2 827 193 T3

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

ES 2 827 193 T3

Leu Ser His Ala Ala Lys Gln Ala Thr Gly Asn Gln Val Ser Ala Glu  
 355 360 365

Phe Asn Leu Val Tyr Arg Trp His Ser Cys Ile Ser Ala Arg Asp Gln  
 370 375 380

Gln Trp Ser Glu Asp Leu Tyr Arg Glu Leu Phe Asn Gly Gln Asp Pro  
 385 390 395 400

Asn Thr Leu Ser Thr Gln Gln Phe Ile Met Gly Val Gly Arg Trp Glu  
 405 410 415

Gly Thr Leu Pro Gln Asp Pro Met Glu Arg Pro Phe Ala Lys Leu Gln  
 420 425 430

Arg Gln Ala Asp Gly Arg Phe Ser Asp Asp Asp Leu Val Arg Phe Phe  
 435 440 445

Glu Glu Ser Val Glu Asp Val Ala Gly Ala Phe Gly Ala Ser Asn Val  
 450 455 460

Pro Thr Val Phe Arg Thr Ile Glu Val Leu Gly Ile Lys Gln Ala Arg  
 465 470 475 480

Ser Trp Asn Leu Ala Thr Leu Asn Glu Phe Arg Ser Phe Phe Asn Leu  
 485 490 495

Gln Pro Tyr Lys Thr Phe Glu Glu Ile Asn Ser Asp Pro Tyr Ile Ala  
 500 505 510

Asp Gln Leu Arg His Leu Tyr Asp His Pro Asp Gln Val Glu Leu Tyr  
 515 520 525

Pro Gly Leu Val Val Glu Asp Ala Lys Glu Pro Met Leu Pro Gly Ser  
 530 535 540

Gly Leu Cys Thr Asn Tyr Thr Thr Ser Arg Ala Ile Leu Ser Asp Ala  
 545 550 555 560

Val Thr Leu Val Arg Gly Asp Arg Phe Tyr Thr Val Asp Tyr Thr Pro  
 565 570 575

ES 2 827 193 T3

Lys His Leu Thr Asn Trp Ala Phe Asn Glu Ile Ser Tyr Asp Asp Ser  
580 585 590

Val Asp Asn Gly Ala Ile Phe Tyr Lys Leu Val Leu Arg Ala Phe Pro  
595 600 605

Asn His Val Arg Gly Asp Ser Val Tyr Ala His Phe Pro Met Val Val  
610 615 620

Pro Ser Glu Asn Lys Lys Ile Leu Thr Ser Leu Gly Lys Ser Glu Lys  
625 630 635 640

Tyr Ser Tyr Ser Arg Pro Thr Tyr Thr Pro Pro Pro Arg Met Ile Lys  
645 650 655

Ser His Gly Ala Cys Met Ser Ile Leu Ala Asp Lys Glu Thr Phe Lys  
660 665 670

Val Thr Trp Gly Gln Lys Leu Glu Phe Ile Leu Ser Arg Asp Gly His  
675 680 685

Ser Tyr Gly Gly Asp Phe Met Leu Ser Gly Asp Lys Ala Pro His Ala  
690 695 700

Gln Ser Arg Lys Met Ile Gly Asn Ala Leu Tyr Arg Asp Gln Trp Lys  
705 710 715 720

Ser Glu Val Arg Ser Phe Tyr Glu Ser Ile Thr Leu Gln Leu Leu Arg  
725 730 735

Gln Lys Ser Tyr Lys Leu Ala Gly Val Asn Gln Val Asp Ile Val Arg  
740 745 750

Asp Val Ser Asn Leu Ala Gln Ile His Phe Cys Ala Asn Ile Phe Ser  
755 760 765

Leu Pro Leu Lys Thr Glu Ser Asn Pro His Gly Val Phe Thr Glu Gln  
770 775 780

Glu Leu Tyr Glu Ile Met Ala Leu Val Phe Thr Cys Ile Phe Tyr Asp  
785 790 795 800

ES 2 827 193 T3

Val Glu Val Thr Lys Ser Phe Gln Leu Glu Gln Ala Ser Arg Gln Val  
805 810 815

Ala Gln Gln Leu Gly Glu Leu Val Met Ala Asn Val Asp Leu Val Ser  
820 825 830

Lys Ser Gly Phe Val Ala Asp Ile Ile Ser Arg Leu Arg Arg His Glu  
835 840 845

His Leu Thr Asp Tyr Gly Val His Met Ile Gln Arg Leu Leu Asp Ser  
850 855 860

Gly Leu Pro Pro Lys Glu Ile Val Trp Thr His Ile Leu Pro Ser Ala  
865 870 875 880

Ser Ser Met Val Ala Asn Gln Ala Gln Leu Phe Ile Gln Cys Leu Asp  
885 890 895

Phe Tyr Leu Lys Pro Glu Asn Ala His His Leu Ala Asp Ile Gln Arg  
900 905 910

Leu Ser Lys Glu Asp Thr Pro Glu Ser Asp Glu Leu Leu Leu Arg Tyr  
915 920 925

Phe Met Glu Gly Gly Arg Ile Cys Ser Ser Val Ala Leu Pro Arg Val  
930 935 940

Val Ala Lys Ser Thr Val Ile Glu Asp Asn Gly Glu Gln Val Ser Leu  
945 950 955 960

Lys Glu Gly Glu Ala Ile Phe Leu Asn Leu Val Ser Ala Ser His Asp  
965 970 975

Pro Lys Ala Trp Pro Asp Pro Glu Glu Val Arg Leu Asp Arg Asp Leu  
980 985 990

Asn Gln Tyr Ala His Phe Gly Phe Gly Pro His Gln Cys Leu Gly Leu  
995 1000 1005

Gly Val Cys Gln Val Ala Leu Pro Thr Met Leu Arg Val Val Gly  
1010 1015 1020

Gln Leu Gln Asn Leu Arg Arg Ala Pro Gly Leu Gln Gly Gln Leu



ES 2 827 193 T3

Thr Pro Tyr Ala Arg Ser Val Arg Pro Lys Thr Met Gln Pro Val Ala  
 145 150 155 160

Leu Pro Glu Pro Glu Ala Leu Phe Asp Ser Leu Leu Ala Arg Lys Asp  
 165 170 175

Phe Lys Glu His Pro Asn Lys Ile Ser Ser Val Leu Phe His Leu Ala  
 180 185 190

Ser Ile Ile Ile His Asp Leu Phe Gln Thr Asp Pro Arg Asp Gln Thr  
 195 200 205

Lys Ser Leu Thr Ser Ser Tyr Leu Asp Leu Ser Pro Leu Tyr Gly Asn  
 210 215 220

Asn Gln Lys Glu Gln Asp Thr Val Arg Ala Phe Lys Asp Gly Lys Leu  
 225 230 235 240

Lys Pro Asp Cys Phe Ser Thr Lys Arg Val Leu Gly Phe Pro Pro Gly  
 245 250 255

Val Gly Val Ile Leu Ile Met Phe Asn Arg Phe His Asn Ser Val Val  
 260 265 270

Thr Gln Leu Ala Ala Ile Asn Glu Gly Gly Arg Phe Thr Lys Pro Asp  
 275 280 285

Glu Ser Asn Ala Glu Ala Tyr Ala Thr Trp Asp Asn Asp Leu Phe Gln  
 290 295 300

Thr Ala Arg Leu Val Thr Cys Gly Leu Tyr Ile Asn Ile Ile Leu Lys  
 305 310 315 320

Asp Tyr Val Arg Thr Ile Leu Asn Val Asn Arg Thr Asp Ser Leu Trp  
 325 330 335

Ser Leu Asp Pro Arg Ala Asp Ile Arg Asp Gly Leu Leu Gly Glu Ala  
 340 345 350

Pro Ala Gln Ala Thr Gly Asn Gln Val Ser Ala Glu Phe Asn Leu Val  
 355 360 365

ES 2 827 193 T3

Tyr Arg Trp His Ser Cys Val Ser Ser Arg Asp Glu Lys Trp Ser Glu  
 370 375 380

Asp Leu Tyr Lys Glu Ile Phe Asp Gly Lys Asp Pro Lys Glu Ile Ser  
 385 390 395 400

Met Gln Gln Phe Thr Gly Gly Leu Arg Gln Trp Glu Ser Lys Leu Pro  
 405 410 415

Ala Asp Pro Gln Glu Arg Pro Phe Ala Lys Leu Gln Arg Gln Ala Asp  
 420 425 430

Gly Lys Phe Asp Asp Asn Asp Leu Val Lys Ile Phe Glu Glu Ser Val  
 435 440 445

Glu Asp Pro Ala Gly Ala Phe Gly Ala Leu Asn Val Pro Asp Val Phe  
 450 455 460

Arg Gly Ile Glu Val Leu Gly Ile Lys Gln Ala Arg Ser Trp Asn Leu  
 465 470 475 480

Ala Thr Leu Asn Glu Phe Arg Gln Tyr Phe Gly Leu Ala Ala Tyr Gln  
 485 490 495

Thr Phe Glu Glu Ile Asn Pro Asp Pro Tyr Val Ala Asn Gln Leu Lys  
 500 505 510

His Phe Tyr Asp His Pro Asp Leu Val Glu Leu Tyr Pro Gly Leu Val  
 515 520 525

Val Glu Glu Thr Lys Gln Ala Met Thr Pro Gly Ser Gly Leu Cys Thr  
 530 535 540

Asn Phe Thr Thr Ser Arg Ala Ile Leu Ser Asp Ala Val Ala Leu Val  
 545 550 555 560

Arg Gly Asp Arg Phe Tyr Thr Val Asp Phe Thr Pro Lys His Leu Thr  
 565 570 575

Asn Trp Ala Phe Asn Glu Ile Asn Asn Asp Val Ser Val Asp Gly Gly  
 580 585 590

Gln Val Phe Tyr Lys Leu Ile Leu Lys Ala Phe Pro Asn His Phe Arg

ES 2 827 193 T3

595 600 605

Gly Asp Ser Val Tyr Ala His Phe Pro Leu Val Val Pro Asp Glu Asn  
610 615 620

Lys Lys Ile Leu Thr Ser Leu Gly Lys Val Lys Thr Tyr Ser Phe Asp  
625 630 635 640

Arg Pro Phe Tyr Lys Ala Pro Pro Leu Phe Ile Asn Ser His Ser Ala  
645 650 655

Cys Thr Lys Ile Leu Lys Asp Gln Glu Gly Phe Lys Val Val Trp Gly  
660 665 670

Glu Lys Ile Gln Phe Leu Met Glu Asn Ser Gly Arg Pro Tyr Gly Arg  
675 680 685

Asp Phe Ala Leu Ser Gly Asp Leu Pro Ala Asn Ala Ala Ser Arg Lys  
690 695 700

Met Ile Gly Ala Ala Leu His Arg Asp Lys Trp Glu Ser Glu Val Lys  
705 710 715 720

Ala Phe Tyr Glu Asp Ile Thr Leu Lys Leu Leu Glu Arg Asn Ser Phe  
725 730 735

Lys Val Ala Gly Val Asn Gln Val Asp Ile Val Arg Asp Val Ala Val  
740 745 750

Leu Ala Gln Val Asn Phe Cys Ala Asn Val Phe Ser Leu Ser Leu Lys  
755 760 765

Thr Glu Ser Asn Pro Arg Gly Val Phe Ser Glu Gln Glu Leu Tyr Gln  
770 775 780

Ile Leu Ala Val Ile Phe Ala Ser Ile Phe Tyr Asp Val Asp Val Ser  
785 790 795 800

Lys Ser Leu Gln Leu Cys Gln Thr Ala Arg Asn Val Ala Gln Gln Leu  
805 810 815

Gly Glu Leu Thr Leu Ala Asn Val Glu Leu Val Ala Lys Thr Gly Phe  
820 825 830

ES 2 827 193 T3

Ile Ser Asn Leu Val Asn Arg Leu His Arg His Asp Ile Leu Ser Glu  
835 840 845

Tyr Gly Ile His Met Ile Gln Arg Leu Leu Asp Ser Gln Leu Pro Val  
850 855 860

Lys Asp Val Val Trp Ser His Ile Leu Pro Thr Ala Gly Ala Leu Val  
865 870 875 880

Ala Asn Gln Gly Gln Leu Phe Ser Gln Cys Ile Asp Tyr Tyr Leu Ser  
885 890 895

Glu Glu Ala Ala Glu His Leu Ala Glu Ile Gln Arg Leu Ser Arg Glu  
900 905 910

Asp Thr Pro Glu Ala Asp Glu Leu Leu Val Arg Tyr Phe Met Glu Gly  
915 920 925

Ala Arg Leu Arg Cys Ser Val Ala Leu Pro Arg Phe Ala Thr Lys Pro  
930 935 940

Thr Val Val Asp Asp Asn Gly Lys Arg Val Thr Leu Lys Ala Gly Gln  
945 950 955 960

Glu Ile Ile Cys Asn Leu Val Val Ala Gly Arg Asp Pro Val Ala Phe  
965 970 975

Pro Asp Pro Asp Lys Val Arg Leu Asp Arg Asp Met Ser Leu Tyr Thr  
980 985 990

His Phe Gly Phe Gly Pro His Glu Cys Leu Gly Val Lys Met Cys Pro  
995 1000 1005

Leu Ala Leu Ser Thr Met Leu Lys Val Leu Gly Arg Leu Asp Asn  
1010 1015 1020

Val Arg Arg Ala Pro Gly Pro Gln Gly His Leu Lys Arg Leu Asp  
1025 1030 1035

Gly Leu Gly Gly Ile Ala Met Tyr Met Asp Ala Glu His Ser Ser  
1040 1045 1050

# ES 2 827 193 T3

Phe Ser Pro Phe Pro Met Thr Met Lys Ile Gln Trp Asp Gly Asp  
 1055 1060 1065

Leu Pro Ala Arg Arg Glu  
 1070

<210> 12  
 <211> 1121  
 <212> PRT  
 <213> Penicillium digitatum

<400> 12

Met Leu Arg Arg Ile Ser Thr Gln Phe Lys Arg Ser Lys Asp Leu Lys  
 1 5 10 15

Asp Ser Lys Asp Phe Lys Asp Ser Asn Gly Glu Asn Thr Glu Asn Ser  
 20 25 30

Thr Glu Lys Asn Ser Lys Arg Ala Ser Lys Val Ser Pro Thr Arg Lys  
 35 40 45

Ser Phe Ser Ala Lys Glu Glu His His Val Val Lys Arg Ala Glu Val  
 50 55 60

Val Ala Val Phe Glu Lys Phe Ala Gln Ala Ile His Ala Ser Lys Glu  
 65 70 75 80

Pro Leu Pro Asn Gln Thr Ser Asp Gly Ala Tyr Leu Lys His Asp Lys  
 85 90 95

Ser Ser Gly Leu Ile Asn Asp Ile Lys Ser Leu Gly Phe Arg Glu Leu  
 100 105 110

Asn Thr Val Lys Asp Leu Ile Ala Ser Lys Ala Ser Gly Glu Leu Val  
 115 120 125

Asp Asp Lys Thr Tyr Leu Met Glu Arg Ile Ile Gln Met Val Ala Asp  
 130 135 140

Leu Pro Gly Asn Ser Lys Asn Arg Thr Glu Leu Thr Ser Leu Phe Leu  
 145 150 155 160

Asp Glu Leu Trp Asn Ser Ile Pro His Pro Pro Leu Ser Tyr Met Gly

ES 2 827 193 T3

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

ES 2 827 193 T3

Pro Arg Ala Gln Val Glu Lys Ala Gly Ala Thr Pro Ser Gly Leu Gly  
 405 410 415

Asn Gln Cys Ser Val Glu Phe Asn Leu Ala Tyr Arg Trp His Ser Thr  
 420 425 430

Ile Ser Gln Gly Asp Glu Lys Trp Ile Glu Gln Ile Tyr His Asp Leu  
 435 440 445

Met Gly Lys Pro Ala Glu Glu Val Thr Met Pro Glu Leu Leu Met Gly  
 450 455 460

Leu Lys Lys Val Glu Gly Leu Leu Asp Thr Asp Pro Ala Lys Arg Thr  
 465 470 475 480

Phe Ala Arg Leu Gln Arg Asn Glu Asp Gly Phe Phe Asn Asp Gly Glu  
 485 490 495

Leu Val Asn Ile Leu Thr His Ala Thr Glu Asp Val Ala Ser Ser Phe  
 500 505 510

Gly Pro Arg Asn Val Pro Lys Ala Met Arg Ser Ile Glu Ile Leu Gly  
 515 520 525

Ile Glu Ala Ser Arg Arg Trp Asn Val Gly Ser Leu Asn Glu Phe Arg  
 530 535 540

Lys His Phe Gly Leu Lys Pro Tyr Glu Thr Phe Glu Glu Val Asn Ser  
 545 550 555 560

Asn Pro Glu Ile Ser Asn Thr Leu Arg His Leu Tyr Asp His Pro Asp  
 565 570 575

Phe Ile Glu Leu Tyr Pro Gly Ile Val Thr Glu Glu Ala Lys Glu Pro  
 580 585 590

Met Ile Pro Gly Val Gly Ile Ala Pro Thr Tyr Thr Ile Ser Arg Ala  
 595 600 605

Val Leu Ser Asp Ala Val Ala Leu Val Arg Gly Asp Arg His Tyr Thr  
 610 615 620

ES 2 827 193 T3

Ile Asp Tyr Asn Pro Arg Asn Leu Thr Asn Trp Gly Tyr Asn Glu Cys  
625 630 635 640

Arg Tyr Asp Leu Asn Ile Asn Gln Gly Cys Ile Phe Tyr Lys Leu Ala  
645 650 655

Thr Arg Ala Phe Pro Asn His Tyr Arg Pro Asp Ser Ile Tyr Ala His  
660 665 670

Tyr Pro Met Thr Ile Pro Ser Glu Asn Arg Asn Ile Met Lys Asp Leu  
675 680 685

Gly Arg Glu Gln Asp Tyr Ser Trp Asp Lys Pro Ala Phe Ile Glu Pro  
690 695 700

Arg Val Asn Leu Ala Ser His Gln Asn Ala Lys Leu Leu Leu Glu Asn  
705 710 715 720

Gln Arg Asp Phe Arg Pro Ser Trp Ala Arg Ser Val Ser Glu Leu Phe  
725 730 735

Gly Lys Gly Glu Phe Asp Thr Lys Gln Arg Glu Ala Ile Gly Lys Ala  
740 745 750

Leu Asn Thr Glu Asp Phe Pro Lys Leu Val Lys Thr Phe Tyr Glu Asp  
755 760 765

Ile Thr Glu Arg Leu Ile Val Glu Lys Gly Gly Gln Leu Gly Lys Ile  
770 775 780

Asn Gln Ile Asp Ile Thr Arg Asp Val Gly Asn Leu Ala His Val His  
785 790 795 800

Phe Ala Ser Thr Ile Phe Gly Ile Pro Leu Lys Thr Glu Gln Ser Pro  
805 810 815

Gln Gly Leu Phe Thr Glu His Glu Met Tyr Met Ile Leu Ser Thr Ile  
820 825 830

Phe Ser Ala Leu Phe Phe Asp Val Asp Ala Pro Arg Ser Tyr Ala Leu  
835 840 845

ES 2 827 193 T3

Asn His Ala Ala Ser Ala Val Ser Thr Gln Leu Gly Gln Val Val Glu  
850 855 860

Ala Thr Val Lys Ala Asp Thr Asn Ser Gly Leu Phe Ser Gly Ile Met  
865 870 875 880

Asp Ser Phe Arg Pro His Asp Asn Ala Leu Arg Glu Phe Gly Thr Glu  
885 890 895

Ala Val Arg Arg Met Lys Glu Ala Gly Ser Ser Ala Ser Asp Ile Thr  
900 905 910

Trp Ser Ala Ile Ile Pro Thr Ile Val Gly Leu Val Pro Ser Gln Gly  
915 920 925

Gln Val Phe Thr Gln Ile Ile Glu Phe Tyr Thr Ala Pro Glu Asn Gln  
930 935 940

Ala His Leu Ala Ala Ile His Ser Leu Thr Lys Thr Asp Ser Ala Glu  
945 950 955 960

Ser Asp Glu Lys Leu His Arg Tyr Cys Leu Glu Ala Ile Arg Leu Asn  
965 970 975

Gly Thr Phe Gly Ala Phe Arg Glu Ala Lys Glu Ala Val Thr Ile Glu  
980 985 990

Glu Asp Gly Lys Val Tyr Ala Val Gln Pro Gly Gln Gln Val Phe Ala  
995 1000 1005

Ser Phe Asn Gln Ala Asn His Asp Pro Ser Val Phe Pro Glu Pro  
1010 1015 1020

Tyr Gln Val Asn Leu His Arg Pro Leu Asn Ser Tyr Ile Asn His  
1025 1030 1035

Gly Gln Gly Pro Thr Thr Gly Phe Gly Glu Gln Ile Thr Lys Ile  
1040 1045 1050

Ala Leu Val Ala Met Leu Arg Val Val Gly Arg Leu Gln Gly Leu  
1055 1060 1065

Arg Arg Ala Ala Gly Ala Gln Gly Gln Leu Gln Lys Ile Pro Gln



ES 2 827 193 T3

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

ES 2 827 193 T3

Leu Leu Glu Lys Tyr Asn Phe Leu Thr Asp Asn Ser Tyr Pro Ser Asp  
 370 375 380

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

Ala Leu Asp Leu Ala Val Gly Thr Thr Asp Pro Thr Asp Ile Pro Asp  
 405 410 415

Ser Tyr Phe Leu Glu Arg Arg Leu Asn Gly Tyr Asn Pro Gly Ala Ile  
 420 425 430

Arg Glu Ser Ser Gly Gln Glu Gly Trp Thr His Glu Leu Thr His Asn  
 435 440 445

Leu Ala Lys Tyr Asp Ile Lys Pro Gly Leu His Phe Pro Asp Phe Val  
 450 455 460

Gln Cys Arg Leu Phe Val Asp Lys Gln Asn Gly Val Lys Leu His Ser  
 465 470 475 480

Ile Lys Ile Asp Asp His Glu Ile Thr Pro Cys Gln Glu Gln Trp Gln  
 485 490 495

Tyr Ala Lys Arg Thr Tyr Leu Gln Ala Glu Phe Leu Ser Gln Glu Leu  
 500 505 510

Lys Leu His Leu Ala Arg Cys His Phe Asn Ile Glu Gln Tyr Val Met  
 515 520 525

Ala Ile Lys Arg Arg Leu Ala Pro Thr His Pro Val Arg Ala Phe Ile  
 530 535 540

Asn Pro His Leu Glu Gly Leu Ile Phe Ile Asn Ser Ser Ala Val Pro  
 545 550 555 560

Lys Ile Ile Gly Ser Thr Gly Phe Ile Pro Ile Ala Ser Met Leu Thr  
 565 570 575

Gln Gly Ser Ile Val Asp Val Met Lys Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ser  
 580 585 590

Tyr Met Trp Asn Pro Ile Ala Asp Leu Pro Arg Asp Ile Pro Gly Asp



ES 2 827 193 T3

Lys Leu Ile Ser Asn Ile Ala Arg Ala Phe Gly Arg Thr Ala Gln Ile  
20 25 30

Lys Gly Arg Arg Ala Thr His Ser Tyr Gly Thr Val Ala Lys Gly Val  
35 40 45

Leu Lys Val Leu Asp Thr Leu Asp Ile Pro Gln His Gln Ile Phe Ser  
50 55 60

Ala Gly Lys Gln Tyr Pro Val Leu Leu Arg His Ala Asn Ile Lys Gly  
65 70 75 80

Phe Arg Asp Asp Ala Ile Leu Asp Gly Arg Gly Ala Thr Val Arg Val  
85 90 95

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

Gly Ile Val Asp Ile Leu Met Ser Thr Gly Arg Ser Phe Ile Leu Ala  
115 120 125

Glu Ala Leu Ser Phe Ala Arg Trp Ala Ala Gly Pro Met Lys Ser Arg  
130 135 140

Ala Ala Met Leu Gln Glu Phe Pro Lys Ile Ala Pro Ile Phe His Glu  
145 150 155 160

Ile Ile Arg Asp Pro Asp Ser Tyr Thr Gln Leu His Tyr Tyr Ser Glu  
165 170 175

Thr Thr Tyr Ser Phe Thr Ser Leu Asn Gln Gln Ser Phe Phe Leu Arg  
180 185 190

Tyr Arg Leu Val Asn Arg Gln Asn Pro Ser Ala Asp Thr Gly Trp Leu  
195 200 205

Lys Pro Glu Glu Val Lys Leu Pro Leu Asp Tyr Leu Pro Arg Val Ala  
210 215 220

Ser Asp Thr Arg Pro Glu Thr Tyr Leu Gln Asp Asp Phe Arg Gln Gln  
225 230 235 240

# ES 2 827 193 T3

Val Arg Ser Thr Gly Val Ser Tyr Leu Leu Gln Ile Gln Leu Gln Pro  
 245 250 255

Val Ser Asp Asp Ala Ala Met Asn Glu Thr Ala Lys Asp Cys Thr Ile  
 260 265 270

Pro Trp Glu Glu Glu Asp His Pro Phe His Asp Val Ala Val Leu Asp  
 275 280 285

Leu Gly Ser Ile Leu Pro Asp Glu Leu Ala Glu Ala Leu Glu Phe Asn  
 290 295 300

Pro Tyr Asn Ala Pro Pro Glu Leu Ser Leu Ile Leu Ala Lys Thr Ala  
 305 310 315 320

Arg Glu Thr Ala Ser Val Asn His Leu Arg Ser Val Val Tyr Gln Ile  
 325 330 335

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

Trp Gly Ser Gly His Gln Pro Ser Leu Pro Glu Gln Tyr Pro Tyr Gly  
 355 360 365

Thr Gly Lys Thr Pro Ser Phe Asp Asn Thr Lys Pro Leu Pro Ala Arg  
 370 375 380

Val Lys Pro Lys Pro Arg Tyr Trp Ala Asn Phe Gly Leu Lys Leu Ile  
 385 390 395 400

Pro Asn Gln Gln Leu Asp Pro Asp Leu Pro Glu Leu Gly Ile Thr Gly  
 405 410 415

Ala Leu Asp Leu Met Gly Thr Ser Val Val Ser Tyr Met Pro Pro Asn  
 420 425 430

Leu Thr Arg Thr Arg Leu Asp Lys Phe Ser Asp Asp Phe Phe Val Glu  
 435 440 445

Arg Arg Leu Asn Gly Phe Asn Pro Gly Lys Leu Asn Arg Val Thr Gly  
 450 455 460

His Ala Trp Gln Tyr Gln Val Cys Tyr Asp Cys Ser Lys His Gln Val



ES 2 827 193 T3

Val Tyr Val Ile Phe Leu Ser Ser Phe Phe His Ser Trp Val Asn Asn  
705 710 715 720

Lys Gln Tyr Glu Asp Gly Gly Asp Val Ser Tyr Ser Thr Ile Gly Leu  
725 730 735

Trp Asp Thr Arg His Pro Lys Tyr Asp Pro Leu Arg Val Ala Glu Arg  
740 745 750

Glu Ala Lys Gln Val Thr Leu Leu Trp Thr Leu Ser His Val Arg Tyr  
755 760 765

Asn Pro Ile Met Asp Val Gly Pro Thr Ala Leu Lys Asn Leu Leu Trp  
770 775 780

Gln Gln Arg Gln His Ile Glu Pro Gly Ile Pro Leu Ala Asn Leu Met  
785 790 795 800

Met Ser Thr Asn Ile  
805

<210> 15  
<211> 822  
<212> PRT  
<213> Nostoc sp. NIES-4103

<400> 15

Met Thr Asn Glu Ile Gln Asn Pro Val Asp His Leu Val Gly Asp Pro  
1 5 10 15

Arg Val Arg Asp Ile Glu Pro Lys Phe Ser Lys Ile Ile Ser Asp Ile  
20 25 30

Ala Arg Val Phe Gly Gln Met Ala Gln Leu Lys Gly Arg Arg Ala Thr  
35 40 45

His Ser Phe Gly Thr Val Ala Lys Gly Val Leu Glu Val Val Lys Gln  
50 55 60

Pro Asp Ile Pro Pro His Arg Leu Leu Glu Ala Gly Lys Lys Phe Pro  
65 70 75 80

ES 2 827 193 T3

Val Leu Leu Arg His Ala Asn Ile Lys Gly Phe Arg Asp Asp Ala Ile  
85 90 95

Leu Asp Gly Arg Gly Ala Thr Leu Arg Ile Leu Asn Gly Pro Ala Asp  
100 105 110

Ala Pro Ile Thr Ala Leu Asp Leu His Thr Pro Ile Leu Asp Val Leu  
115 120 125

Met Ser Thr Gly Arg Cys Phe Ile Leu Pro Asp Ala Ala Ser Phe Ser  
130 135 140

Arg Trp Val Ala Ser Pro Leu Gln Asp Arg Ala Lys Leu Leu Val Glu  
145 150 155 160

Phe Pro Lys Ile Thr Pro Ile Phe Ala Glu Ile Ile Arg Asn Pro Asp  
165 170 175

Ser Tyr Thr Lys Leu His Tyr Tyr Ser Glu Thr Thr Tyr Leu Phe Ile  
180 185 190

Gly Leu Asp Gly Lys Gln Tyr Tyr Leu Arg Tyr Arg Leu Ile Asn Ser  
195 200 205

Asp Arg Ser Ala Asp Thr Gly Phe Ile Asn Ser Ala Asp Leu Arg Leu  
210 215 220

Pro Leu Asp Tyr Leu Pro Arg Leu Glu Asp Asp Thr Arg Pro Glu Thr  
225 230 235 240

Tyr Leu Gln Asn Asp Tyr Gln Gln Lys Val Lys Asn Gly Gly Val Lys  
245 250 255

Tyr Ile Leu Gln Phe Gln Leu Arg Ala Val Ser Asp Asn Gln Ala Ala  
260 265 270

Asn Glu Glu Ala Lys Asp Cys Thr Ile Pro Trp Asp Glu Thr Gln Tyr  
275 280 285

Pro Cys Lys Asp Val Ala Val Ile Ser Leu Thr Glu Ile Val Pro Ser  
290 295 300

Glu Leu Ala Glu Pro Leu Glu Phe Asn Pro Tyr His Ala Pro Pro Asp



ES 2 827 193 T3

Arg Leu Phe Arg Thr Ala Glu Phe Val Phe Gln Glu Ile Gln Ser His  
545 550 555 560

Leu Gly Arg Thr His Met Asn Leu Asp Gln Tyr Ala Met Ala Tyr Tyr  
565 570 575

Arg Asn Val Val Asn Asn Pro Ile Arg Leu Leu Leu Glu Pro His Phe  
580 585 590

Asp Gly Leu Leu Asn Ile Asn Ser Leu Gly Ala Ala Leu Ile Leu Gly  
595 600 605

Ala Thr Gly Phe Ile Pro Glu Ala Ser Ser Leu Ser Pro Glu Glu Val  
610 615 620

Asp Ile Val Leu Lys Asp Glu Ile Ser Arg Leu Ser Tyr Arg Asn Trp  
625 630 635 640

Ser Pro His Ile Gln Ala Leu Lys Asp Glu Val Gln Asn Asn His Phe  
645 650 655

Asp Arg Ala Ala Leu Ser Val Trp Glu Ala Ile Glu Glu Tyr Val Ser  
660 665 670

Glu Phe Phe Gln Lys Gln Glu Ala Gly Ile Lys Ala Tyr Trp Ser Glu  
675 680 685

Ile Gly Gly Met Ser Glu Asp Leu Val Lys His Ser Val Leu Gly Gln  
690 695 700

Lys Ser Gln Ser Leu Ala Ile Ala Asn Ile Asn Asp Leu Lys Gln Leu  
705 710 715 720

Cys Ile Tyr Val Ile Tyr Leu Ser Ser Phe Phe His Ser Trp Val Asn  
725 730 735

Asn Lys Gln Tyr Asp Asp Gly Gly Asp Pro Ala Tyr Ala Ser Ile Gly  
740 745 750

Leu Trp Asp Gly His Asn Pro Gln Tyr Asn Pro Ile Thr Val Ala Glu  
755 760 765

# ES 2 827 193 T3

Lys His Ala Arg Gln Val Thr Leu Leu Trp Thr Leu Ser Ser Val Arg  
 770 775 780

Tyr Asn Pro Val Met Glu Val Gly Pro Pro Ala Leu Lys Asp Arg Leu  
 785 790 795 800

Trp Lys Arg Arg Lys Ile Ile Gln Pro Gly Ile Pro Val Glu Ser Ile  
 805 810 815

Met Met Ser Thr Asn Ile  
 820

<210> 16  
 <211> 3261  
 <212> ADN  
 <213> Ninguno

<400> 16  
 atgggcgaag acaaggagac caacattctg gcgggtctgg gcaacaccat cagccaggtg 60  
 gaaaacgtgg ttgcggcgag cctgcgctccg ctgccgaccg cgaccggtga tggcacctat 120  
 gttgcggaga gcacccaac cggctctggcg aaagacctga gccacgttga tctgaaggac 180  
 gtgcgtagcc tggcggaagt ggttaaaagc gcggcgaccg gtgaaccggt ggacgataaa 240  
 cagtacatta tggaacgtgt tatccagctg gcggcgggtc tgccgagcac cagccgtaac 300  
 gcggcggaac tgaccaagag cttcctgaac atgctgtgga acgatctgga gcaccgccc 360  
 gttagctatc tgggtgcgga tagcatgcac cgtaaagcgg acggtagcgg caacaaccgt 420  
 ttttgccgc agctgggtgc ggcgggtagc gcgtacgcgc gtagcgttcg tccgaaaacc 480  
 atgcaaagcc cgagcctgcc ggatccggag accatctttg actgcctgct gcgtcgtaaa 540  
 gaatatcgtg agcacccgaa caagattagc agcgtgctgt tctacctggc gagcatcatt 600  
 atccacgacc tgtttcagac cgatccgaaa gacaacagcg ttagcaagac cagcagctac 660  
 ctggatctga gcccgctgta tggcaacaac caggacgaac aaaacctggt gcgtaccttc 720  
 aaggatggca agctgaaacc ggactgcttc gcgaccaaac gtgttctggg ctttccgccg 780  
 ggtggtggcg tgctgctgat catgttcaac cgttttcaca actacgtggg tgatcagctg 840  
 gcggcgatta acgagtgcgg tcgtttcacc aagccggatg aaagcaacgt ggacgagtac 900  
 gcgaaatatg ataacaacct gtttcaaacc ggtcgtctgg tgacctgcgg cctgtacgcg 960  
 aacattatcc tgaaggacta tgttcgtacc attctgaaca tcaaccgtac cgatagcacc 1020

ES 2 827 193 T3

tggagcctgg	accgcgatat	ggaaatgaaa	gacggctctgc	tgggtgaagc	ggcggcgatg	1080
gcgaccggta	accaagttag	cgcggaattc	aacgtggttt	accgttggca	cgcgctgcatt	1140
agcaagcgtg	atgaaaaatg	gaccgaggac	ttccaccgtg	agatcatgcc	gggcgtggat	1200
ccgagcacc	tgagcatgca	ggactttggt	gcgggtctgg	gccgttggca	agcgggtctg	1260
ccgcaagaac	cgctggagcg	tccgtttagc	ggtctgcagc	gtaagccgga	tggcgcgttc	1320
aacgacgatg	acctggtgaa	cctgtttgag	aagagcgtgg	aggactgcgc	gggtgcgttt	1380
ggtgcgagcc	atgtgccggc	gatttttaag	agcgttgaag	cgctgggtat	catgcaggcg	1440
cgctgttgga	acctgggcac	cctgaacgaa	ttcgtcaat	actttaacct	ggcgccgcac	1500
aagaccttcg	aggatattaa	cagcgacc	tacatcgcg	accagctgaa	acgtctgtat	1560
gatcacc	acctggtgga	gatctacc	ggcgtggtt	tggaggaagc	gaaagatagc	1620
atggttccg	gtagcggcct	gtgcaccaac	ttcaccatta	gccgtgcgat	tctgagcgat	1680
gcggttgcgc	tgggtgcgtg	tgatcgttt	tacaccgtg	actatacccc	gaagcacctg	1740
accaactggg	cgataacga	aatccagcc	aacaacgcg	ttgatcaggg	ccaagtgttc	1800
tacaaactg	ttctgcgtgc	gttcccgaat	cactttgacg	gtaacagcat	ttatgcgcac	1860
tttccgctg	ttgtgccgag	cgagaacgaa	aagatcctga	aaagcctggg	cgtaggcgaa	1920
aaatacagct	gggagaagcc	gagccgtatt	agccaccga	tttcatcag	cagccacgcg	1980
gcgctgatga	gcatcctgga	aaaccaggag	accttcaaag	ttacctgggg	tcgtaagatt	2040
gaatttctga	tgcagcgtga	taaacaccaa	tatggcaagg	atttcatgct	gagcggtgac	2100
cgctccgcca	acgcggcgag	ccgtaagatg	atgggcagcg	cgctgtatcg	tgacgagtgg	2160
gaagcgggaag	tgaaaaactt	ttacgagcaa	accaccctga	agctgctgca	caaaaacagc	2220
tacaagctgg	cgggtgtaaa	ccaggtggat	atcgttcgtg	acgtggcgaa	cctggcgcaa	2280
gtgcacttct	gcagcagcgt	ttttagcctg	ccgctgaaga	ccgacagcaa	cccgcgtggc	2340
attttcgcg	aaagcgagct	gtataaaatc	atggcggcgg	ttttaccgc	gatcttctac	2400
gatgcggaca	tcggcaagag	ctttgaactg	aaccaagcgg	cgcgtaaccg	gaccagcaa	2460
ctgggtcaac	tgaccatggc	gaacgttgag	attatcgcg	aaaccggcct	gatcgcgaac	2520
ctggtgaacc	gtctgcaccg	tcgtgatggt	ctgagcgaat	atggtattca	catgattcaa	2580
cgctctgctg	acagcggct	gccggcgacc	gagattggtt	ggaccatat	cctgccgacc	2640
gcgggtggca	tggttgcgaa	ccaggcgcaa	ctgttcagcc	aatgcctgga	ttactatctg	2700
agcgaggaag	gtagcggcca	cctgccgga	atcaaccgtc	tggcgaagga	gaacacccc	2760

ES 2 827 193 T3

gaagcggatg agctgctgac ccgttacttt atggaaggtg cgcgtctgcg tagcagcgtg 2820  
gcgctgccgc gtgttgcggc gcagccgacc gttgtggaag ataacggcga gaaactgacc 2880  
attaaggcgg gccaaagttgt gatgtgcaac ctggttagcg cgtgcatgga tccgaccgcg 2940  
ttcccggacc cggagaaggt taaactggat cgtgacatga acctgtatgc gcacttcggt 3000  
tttgccccgc acaaatgcct gggctctggat ctgtgcaaga ccggcctgag caccatgctg 3060  
aaagttctgg gtcgtctgga taacctgcgt cgtgcgccgg gtgcgcaggg tcaactgaag 3120  
aaactgagcg gtccgggtgg catcgcgaaa tacatgaacg aggaccagag cggttcacc 3180  
ccgtttccga gcaccatgaa gattcagtgg gatgggtgaac tgccgcaact gaaagaggac 3240  
tttcatcatc accatcacca c 3261

<210> 17  
<211> 1087  
<212> PRT  
<213> Emericella nidulans

<400> 17

Met Gly Glu Asp Lys Glu Thr Asn Ile Leu Ala Gly Leu Gly Asn Thr  
1 5 10 15

Ile Ser Gln Val Glu Asn Val Val Ala Ala Ser Leu Arg Pro Leu Pro  
20 25 30

Thr Ala Thr Gly Asp Gly Thr Tyr Val Ala Glu Ser Thr Gln Thr Gly  
35 40 45

Leu Ala Lys Asp Leu Ser His Val Asp Leu Lys Asp Val Arg Thr Leu  
50 55 60

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

Gln Tyr Ile Met Glu Arg Val Ile Gln Leu Ala Ala Gly Leu Pro Ser  
85 90 95

Thr Ser Arg Asn Ala Ala Glu Leu Thr Lys Ser Phe Leu Asn Met Leu  
100 105 110

Trp Asn Asp Leu Glu His Pro Pro Val Ser Tyr Leu Gly Ala Asp Ser  
115 120 125

ES 2 827 193 T3

Met His Arg Lys Ala Asp Gly Ser Gly Asn Asn Arg Phe Trp Pro Gln  
 130 135 140

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

Met Gln Ser Pro Ser Leu Pro Asp Pro Glu Thr Ile Phe Asp Cys Leu  
 165 170 175

Leu Arg Arg Lys Glu Tyr Arg Glu His Pro Asn Lys Ile Ser Ser Val  
 180 185 190

Leu Phe Tyr Leu Ala Ser Ile Ile Ile His Asp Leu Phe Gln Thr Asp  
 195 200 205

Pro Lys Asp Asn Ser Val Ser Lys Thr Ser Ser Tyr Leu Asp Leu Ser  
 210 215 220

Pro Leu Tyr Gly Asn Asn Gln Asp Glu Gln Asn Leu Val Arg Thr Phe  
 225 230 235 240

Lys Asp Gly Lys Leu Lys Pro Asp Cys Phe Ala Thr Lys Arg Val Leu  
 245 250 255

Gly Phe Pro Pro Gly Val Gly Val Leu Leu Ile Met Phe Asn Arg Phe  
 260 265 270

His Asn Tyr Val Val Asp Gln Leu Ala Ala Ile Asn Glu Cys Gly Arg  
 275 280 285

Phe Thr Lys Pro Asp Glu Ser Asn Val Asp Glu Tyr Ala Lys Tyr Asp  
 290 295 300

Asn Asn Leu Phe Gln Thr Gly Arg Leu Val Thr Cys Gly Leu Tyr Ala  
 305 310 315 320

Asn Ile Ile Leu Lys Asp Tyr Val Arg Thr Ile Leu Asn Ile Asn Arg  
 325 330 335

Thr Asp Ser Thr Trp Ser Leu Asp Pro Arg Met Glu Met Lys Asp Gly  
 340 345 350

ES 2 827 193 T3

Leu Leu Gly Glu Ala Ala Ala Met Ala Thr Gly Asn Gln Val Ser Ala  
 355 360 365

Glu Phe Asn Val Val Tyr Arg Trp His Ala Cys Ile Ser Lys Arg Asp  
 370 375 380

Glu Lys Trp Thr Glu Asp Phe His Arg Glu Ile Met Pro Gly Val Asp  
 385 390 395 400

Pro Ser Thr Leu Ser Met Gln Asp Phe Val Ala Gly Leu Gly Arg Trp  
 405 410 415

Gln Ala Gly Leu Pro Gln Glu Pro Leu Glu Arg Pro Phe Ser Gly Leu  
 420 425 430

Gln Arg Lys Pro Asp Gly Ala Phe Asn Asp Asp Asp Leu Val Asn Leu  
 435 440 445

Phe Glu Lys Ser Val Glu Asp Cys Ala Gly Ala Phe Gly Ala Ser His  
 450 455 460

Val Pro Ala Ile Phe Lys Ser Val Glu Ala Leu Gly Ile Met Gln Ala  
 465 470 475 480

Arg Arg Trp Asn Leu Gly Thr Leu Asn Glu Phe Arg Gln Tyr Phe Asn  
 485 490 495

Leu Ala Pro His Lys Thr Phe Glu Asp Ile Asn Ser Asp Pro Tyr Ile  
 500 505 510

Ala Asp Gln Leu Lys Arg Leu Tyr Asp His Pro Asp Leu Val Glu Ile  
 515 520 525

Tyr Pro Gly Val Val Val Glu Glu Ala Lys Asp Ser Met Val Pro Gly  
 530 535 540

Ser Gly Leu Cys Thr Asn Phe Thr Ile Ser Arg Ala Ile Leu Ser Asp  
 545 550 555 560

Ala Val Ala Leu Val Arg Gly Asp Arg Phe Tyr Thr Val Asp Tyr Thr  
 565 570 575

ES 2 827 193 T3

Pro Lys His Leu Thr Asn Trp Ala Tyr Asn Glu Ile Gln Pro Asn Asn  
580 585 590

Ala Val Asp Gln Gly Gln Val Phe Tyr Lys Leu Val Leu Arg Ala Phe  
595 600 605

Pro Asn His Phe Asp Gly Asn Ser Ile Tyr Ala His Phe Pro Leu Val  
610 615 620

Val Pro Ser Glu Asn Glu Lys Ile Leu Lys Ser Leu Gly Val Ala Glu  
625 630 635 640

Lys Tyr Ser Trp Glu Lys Pro Ser Arg Ile Ser His Pro Ile Phe Ile  
645 650 655

Ser Ser His Ala Ala Cys Met Ser Ile Leu Glu Asn Gln Glu Thr Phe  
660 665 670

Lys Val Thr Trp Gly Arg Lys Ile Glu Phe Leu Met Gln Arg Asp Lys  
675 680 685

His Gln Tyr Gly Lys Asp Phe Met Leu Ser Gly Asp Arg Pro Pro Asn  
690 695 700

Ala Ala Ser Arg Lys Met Met Gly Ser Ala Leu Tyr Arg Asp Glu Trp  
705 710 715 720

Glu Ala Glu Val Lys Asn Phe Tyr Glu Gln Thr Thr Leu Lys Leu Leu  
725 730 735

His Lys Asn Ser Tyr Lys Leu Ala Gly Val Asn Gln Val Asp Ile Val  
740 745 750

Arg Asp Val Ala Asn Leu Ala Gln Val His Phe Cys Ser Ser Val Phe  
755 760 765

Ser Leu Pro Leu Lys Thr Asp Ser Asn Pro Arg Gly Ile Phe Ala Glu  
770 775 780

Ser Glu Leu Tyr Lys Ile Met Ala Ala Val Phe Thr Ala Ile Phe Tyr  
785 790 795 800

Asp Ala Asp Ile Gly Lys Ser Phe Glu Leu Asn Gln Ala Ala Arg Thr

ES 2 827 193 T3

				805					810							815
Val	Thr	Gln	Gln	Leu	Gly	Gln	Leu	Thr	Met	Ala	Asn	Val	Glu	Ile	Ile	
			820					825					830			
Ala	Lys	Thr	Gly	Leu	Ile	Ala	Asn	Leu	Val	Asn	Arg	Leu	His	Arg	Arg	
		835					840					845				
Asp	Val	Leu	Ser	Glu	Tyr	Gly	Ile	His	Met	Ile	Gln	Arg	Leu	Leu	Asp	
	850					855					860					
Ser	Gly	Leu	Pro	Ala	Thr	Glu	Ile	Val	Trp	Thr	His	Ile	Leu	Pro	Thr	
865					870					875					880	
Ala	Gly	Gly	Met	Val	Ala	Asn	Gln	Ala	Gln	Leu	Phe	Ser	Gln	Cys	Leu	
				885					890					895		
Asp	Tyr	Tyr	Leu	Ser	Glu	Glu	Gly	Ser	Gly	His	Leu	Pro	Glu	Ile	Asn	
			900					905					910			
Arg	Leu	Ala	Lys	Glu	Asn	Thr	Pro	Glu	Ala	Asp	Glu	Leu	Leu	Thr	Arg	
		915					920					925				
Tyr	Phe	Met	Glu	Gly	Ala	Arg	Leu	Arg	Ser	Ser	Val	Ala	Leu	Pro	Arg	
	930					935					940					
Val	Ala	Ala	Gln	Pro	Thr	Val	Val	Glu	Asp	Asn	Gly	Glu	Lys	Leu	Thr	
945					950					955					960	
Ile	Lys	Ala	Gly	Gln	Val	Val	Met	Cys	Asn	Leu	Val	Ser	Ala	Cys	Met	
				965					970					975		
Asp	Pro	Thr	Ala	Phe	Pro	Asp	Pro	Glu	Lys	Val	Lys	Leu	Asp	Arg	Asp	
			980					985					990			
Met	Asn	Leu	Tyr	Ala	His	Phe	Gly	Phe	Gly	Pro	His	Lys	Cys	Leu	Gly	
		995					1000					1005				
Leu	Asp	Leu	Cys	Lys	Thr	Gly	Leu	Ser	Thr	Met	Leu	Lys	Val	Leu		
	1010					1015					1020					
Gly	Arg	Leu	Asp	Asn	Leu	Arg	Arg	Ala	Pro	Gly	Ala	Gln	Gly	Gln		
	1025					1030					1035					

ES 2 827 193 T3

Leu Lys Lys Leu Ser Gly Pro Gly Gly Ile Ala Lys Tyr Met Asn  
1040 1045 1050

Glu Asp Gln Ser Gly Phe Thr Pro Phe Pro Ser Thr Met Lys Ile  
1055 1060 1065

Gln Trp Asp Gly Glu Leu Pro Gln Leu Lys Glu Asp Phe His His  
1070 1075 1080

His His His His  
1085

## REIVINDICACIONES

1. Una composición detergente que comprende:

a) una o más diol sintasas capaces de convertir uno o más ácidos grasos insaturados en una o más oxilipinas, preferiblemente las diol sintasas se seleccionan del grupo que consiste en linoleato diol sintasas, oleato diol sintasas, y mezclas de estas, más preferiblemente donde las diol sintasas se seleccionan del grupo que consiste en: linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.44), 5,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.5), 7,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.6), 9,14-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.B1), 8,11-linoleato diol sintasas, oleato diol sintasas y mezclas de estas; aún más preferiblemente, 5,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.5), y mezclas de estas; y

b) un sistema tensioactivo que comprende:

i) uno o más tensioactivos aniónicos; y

ii) uno o más tensioactivos auxiliares seleccionados del grupo que consiste en tensioactivo anfótero, tensioactivo de ion híbrido y mezclas de estos; donde la relación de peso de los tensioactivos aniónicos a los tensioactivos auxiliares es inferior a 9:1, más preferiblemente de 5:1 a 1:1, más preferiblemente de 4:1 a 2:1;

donde la composición detergente es una composición detergente líquida para el lavado manual de vajillas.

2. La composición según la reivindicación 1, en donde los ácidos grasos insaturados se seleccionan del grupo que consiste en: ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos diinsaturados, ácidos grasos triinsaturados, ácidos grasos tetrainsaturados, ácidos grasos pentainsaturados, ácidos grasos hexainsaturados y mezclas de estos; preferiblemente, ácido miristoleico, ácido palmitoleico, ácido sapiénico, ácido oleico, ácido elaídico, ácido vaccénico, ácido linoleico, ácido linoelaídico, ácido  $\alpha$ -linoléico, ácido  $\gamma$ -linoléico, ácido gadoleico, ácido  $\alpha$ -eleosteárico, ácido  $\beta$ -eleosteárico, ácido ricinoleico, ácido eicosénico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico, ácido erúcico, ácido docosadienoico, ácido docosahexaenoico, ácido tetracosenoico y mezclas de estos; preferiblemente, ácido palmitoleico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido  $\alpha$ -linoléico, ácido  $\gamma$ -linoléico, y mezclas de estos; más preferiblemente ácido oleico.

3. La composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde las 5,8-linoleato diol sintasas (EC 1.13.11.60 y EC 5.4.4.5) tienen al menos el 80 %, preferiblemente al menos el 85 %, preferiblemente al menos el 90 %, preferiblemente al menos el 95 %, preferiblemente al menos el 98 % o preferiblemente incluso el 100 % de identidad, calculada sobre toda la longitud de la secuencia alineada frente a toda la longitud de al menos una secuencia de referencia de las diol sintasas naturales seleccionadas del grupo que consiste en *Emericella nidulans* PpoA (sec. con núm. de ident.: 1), *Aspergillus fumigatus* PpoA (sec. con núm. de ident.: 2), *Aspergillus terreus* PpoA (sec. con núm. de ident.: 3), *Aspergillus kawachii* PpoA (sec. con núm. de ident.: 4), *Aspergillus clavatus* PpoA (sec. con núm. de ident.: 5), *Aspergillus niger* PpoA (sec. con núm. de ident.: 6), y mezclas de estas; más preferiblemente *Emericella nidulans* PpoA (sec. con núm. de ident.: 1).

4. La composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde las oxilipinas se seleccionan del grupo que consiste en: ácidos grasos hidroperoxidicos, ácidos grasos monohidroxilados, ácidos grasos dihidroxilados, ácidos grasos trihidroxilados, ácidos grasos polihidroxilados, sus derivados, y mezclas de estos; preferiblemente, las oxilipinas se seleccionan del grupo que consiste en: ácidos grasos monohidroxilados insaturados, ácidos grasos dihidroxilados insaturados, ácidos grasos 8R-hidroperoxidicos insaturados, ácidos grasos 9R-hidroperoxidicos insaturados, sus derivados, y mezclas de estos; más preferiblemente, ácidos grasos dihidroxilados insaturados; aún más preferiblemente, ácido 5,8-dihidroxioléico.

5. La composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende, además, una o más coenzimas seleccionadas del grupo que consiste en: ácido graso peroxidasas (EC 1.11.1.3), peroxigenasas inespecíficas (EC 1.11.2.1), peroxigenasas de semillas de plantas (EC 1.11.2.3), ácido graso peroxigenasas (EC 1.11.2.4), linoleato 13S-lipoxigenasas (EC 1.13.11.12), araquidonato 12-lipoxigenasas (E.C. 1.13.11.31), araquidonato 15-lipoxigenasa (EC 1.13.11.33), araquidonato 5-lipoxigenasas (EC 1.13.11.34), araquidonato 8-lipoxigenasas (EC 1.13.11.40), linoleato 11-lipoxigenasas (EC 1.13.11.45), linoleato 9S-lipoxigenasas (EC 1.13.11.58), linoleato 8R-lipoxigenasas (EC 1.13.11.60), linoleato 9R-lipoxigenasas (EC 1.13.11.61), linoleato 10R-lipoxigenasas (EC 1.13.11.62), oleato 10S-lipoxigenasas (EC 1.13.11.77), linoleato 9/13-lipoxigenasas (EC 1.13.11.B6), linoleato 10S-lipoxigenasas, monooxigenasa inespecífica (EC 1.14.14.1), alcanos 1-monooxigenasa (EC 1.14.15.3), oleato 12-hidroxilasas (EC 1.14.18.4), ciclooxigenasas (EC 1.14.99.1), hidrolasa de amida de ácido graso (EC 3.5.1.99), oleato hidratatas (EC 4.2.1.53), aleno óxido sintasas (EC 4.2.1.92), hidroperóxido isomerasas (EC 4.2.1.92, EC 5.3.99.1, EC 5.4.4.5, EC 5.4.4.6), hidroperóxido liasas (EC 4.2.1.92), hidroperóxido dehidratatas (EC 4.2.1.92), divinil éter sintasas (EC 4.2.1.121, EC 4.2.1.B8, EC 4.2.1.B9), linoleato isomerasas (EC 5.2.1.5), linoleato (10E,12Z)-isomerasas

- (EC 5.3.3.B2), 9,12-octadecadienoato 8-hidroperóxido 8R-isomerasas (EC 5.4.4.5), 9,12-octadecadienoato 8-hidroperóxido 8S-isomerasas (EC 5.4.4.6), 7,10-hidroperóxido diol sintasas, ácido graso decarboxilasas (de tipo OleT), decarboxilasas dependientes de hierro (de tipo UndA), epoxi alcohol sintasas, amilasas, lipasas, proteasas, celulasas, y mezclas de estas, preferiblemente linoleato 9S-lipoxigenasas (EC 1.13.11.58), linoleato 8R-lipoxigenasas (EC 1.13.11.60), linoleato 9R-lipoxigenasas (EC 1.13.11.61), linoleato 10R-lipoxigenasas (EC 1.13.11.62), oleato 10S-lipoxigenasas (EC 1.13.11.77), linoleato 9/13-lipoxigenasas (EC 1.13.11.B6), linoleato 10S-lipoxigenasas, oleato hidratatas (EC 4.2.1.53), hidroperóxido isomerasas (EC 4.2.1.92, EC 5.3.99.1, EC 5.4.4.5, EC 5.4.4.6), hidroperóxido liasas (EC 4.2.1.92), hidroperóxido desidratatas (EC 4.2.1.92), 9,12-octadecadienoato 8-hidroperóxido 8R-isomerasas (EC 5.4.4.5), 9,12-octadecadienoato 8-hidroperóxido 8S-isomerasas (EC 5.4.4.6), 7,10-hidroperóxido diol sintasas, ácido graso decarboxilasas (de tipo OleT), decarboxilasas dependientes de hierro (de tipo UndA), y mezcla de estas, más preferiblemente oleato 10S-lipoxigenasas (EC 1.13.11.77), 9,12-octadecadienoato 8-hidroperóxido 8R-isomerasas (EC 5.4.4.5), 9,12-octadecadienoato 8-hidroperóxido 8S-isomerasas (EC 5.4.4.6), 7,10-hidroperóxido diol sintasas, y mezclas de estas.
- 5 6. La composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde:
- 10 a) las diol sintasas están presentes en una cantidad del 0,0001 % en peso al 1 % en peso, preferiblemente del 0,001 % en peso al 0,2 % en peso, en peso de la composición de limpieza basada en la proteína activa.
- 15 7. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde:
- 20 b) el sistema tensioactivo está presente en una cantidad del 1 % en peso al 60 % en peso, preferiblemente del 5 % en peso al 50 % en peso, en peso de la composición de limpieza.
- 25 8. La composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el tensioactivo anfótero es tensioactivo de tipo óxido de amina y el tensioactivo de ion híbrido es tensioactivo de tipo betaína.
- 30 9. La composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende, además, un estabilizador de enzima seleccionado del grupo que consiste en estabilizadores químicos y físicos, preferiblemente el estabilizador físico comprende enzima encapsulada.
- 35 10. La composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende, además, un quelante, preferiblemente seleccionado del grupo que comprende quelantes de tipo carboxilato, quelantes de tipo amino carboxilato, quelantes de tipo amino fosfonato y mezclas de estos, preferiblemente seleccionado del grupo de MGDA (ácido metilglicin-N,N-diacético), GLDA (ácido glutámico-N,N-diacético), y mezclas de estos.
- 40 11. La composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde los tensioactivos aniónicos se seleccionan del grupo que consiste en alquilsulfatos, alquilalcoxisulfatos, preferiblemente alquiletoxisulfatos, y mezclas de estos, preferiblemente los tensioactivos aniónicos son una combinación de alquilsulfatos y alquiletoxisulfatos con un grado de etoxilación promedio combinado de menos de 5, preferiblemente menos de 3, más preferiblemente menos de 2 y más de 0,5 y un nivel de ramificación promedio del 5 % al 40 %, más preferiblemente del 10 % al 35 % y, aún más preferiblemente, del 20 % al 30 %.
- 45 12. La composición según cualquiera de las reivindicaciones, en donde los tensioactivos aniónicos son una combinación de alquilsulfato y alquiletoxisulfato y los tensioactivos auxiliares son tensioactivos de tipo óxido de amina, preferiblemente, óxido de alquildimetilamina o tensioactivo de óxido de alquilamidopropildimetilamina, y donde los tensioactivos aniónicos y los tensioactivos de tipo óxido de amina están en una relación de peso de entre 3:1 a 2,5:1.
- 50 13. Un método de lavado manual de vajilla que comprende las etapas de suministrar una composición detergente según cualquiera de las reivindicaciones anteriores a un volumen de agua para formar una solución de lavado y sumergir la vajilla en la solución.
- 55 14. El método según la reivindicación 13, en donde las diol sintasas están presentes a una concentración de 0,005 ppm a 15 ppm, preferiblemente de 0,02 ppm a 0,5 ppm, en una solución de lavado acuosa durante el proceso de lavado.