

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 803 208**

51 Int. Cl.:

C12N 9/10 (2006.01)

C12P 7/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.12.2016** **PCT/EP2016/081202**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.06.2017** **WO17102952**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.12.2016** **E 16822416 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2020** **EP 3390622**

54 Título: **Una célula acetogénica genéticamente modificada**

30 Prioridad:

17.12.2015 EP 15200673

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

25.01.2021

73 Titular/es:

EVONIK OPERATIONS GMBH (100.0%)

Rellinghauser Straße 1-11

45128 Essen, DE

72 Inventor/es:

HAAS, THOMAS;

BÜLTER, THOMAS y

HECKER, ANJA

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 803 208 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

Una célula acetogénica genéticamente modificada

CAMPO DE LA INVENCION

- 5 La presente invención se refiere a una célula recombinante para la producción de un alcohol superior a partir de una fuente de carbono. En particular, la célula es un microorganismo acetogénico. La presente invención también se refiere a un método para producir al menos un alcohol superior a partir de una fuente de carbono en presencia de la célula acetogénica recombinante.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 El butanol y los alcoholes superiores tienen varios usos incluyendo ser usados como combustible. Por ejemplo, el butanol puede reemplazar en el futuro a la gasolina ya que el contenido energético de los dos combustibles es casi el mismo. Además, el butanol tiene varias otras propiedades superiores como un combustible alternativo cuando se compara con el etanol. Estos incluyen que el butanol tiene un contenido energético superior, siendo el butanol menos "evaporativo" que el etanol o la gasolina y siendo el butanol fácilmente transportable en comparación con el etanol. Por estas razones y más, ya existe un mercado potencial existente para el butanol y/o alcoholes superiores relacionados. El butanol y otros alcoholes superiores también se usan como disolventes industriales. Los alcoholes superiores también se usan en la industria de los perfumes y cosméticos. Por ejemplo, el hexanol se usa comúnmente en la industria de los perfumes.

- 20 Actualmente, el butanol y otros alcoholes superiores se fabrican principalmente a partir de petróleo. Estos compuestos se obtienen al craquear gasolina o petróleo, lo que es perjudicial para el medio ambiente. Además, puesto que los costes para estas materias primas pueden estar relacionados con el precio del petróleo, con el incremento esperado en los precios del petróleo, el precio del butanol y otros alcoholes superiores también se puede incrementar con relación al incremento en los precios del petróleo.

- 25 Históricamente (1900s-1950s), el biobutanol se fabricaba a partir de maíz y melazas en un procedimiento de fermentación que también producía acetona y etanol y era conocido como una fermentación de ABE (acetona, butanol, etanol) típicamente con ciertas bacterias productoras de butanol tales como *Clostridium acetobutylicum* y *Clostridium beijerinckii*. Recientemente, este método ha ganado de nuevo popularidad con el interés renovado en las energías verdes. Sin embargo, el procedimiento de "producción de butanol con almidón de maíz" requiere un número de etapas que consumen mucha energía incluyendo el cultivo agrícola de mazorcas de maíz, la recolección del grano de maíz, el procesamiento del almidón del grano de maíz y la fermentación de almidón en azúcar en butanol. El procedimiento de "producción de butanol con almidón de maíz" probablemente gastaría casi tanta energía como el valor energético de su producto butanol.

- 35 El procedimiento para alcoholes Alfol® es un método usado para producir alcoholes superiores a partir de etileno usando un catalizador de organoaluminio. La reacción produce alcoholes primarios de cadena larga (C₂-C₂₈). El procedimiento usa un catalizador de aluminio para oligomerizar etileno y permitir que el grupo alquilo resultante se oxigene. Sin embargo, este método da un amplio espectro de alcoholes y el patrón de distribución se mantiene. Este patrón constante limita la capacidad del productor para elaborar solamente la gama de alcoholes específica que tiene la demanda más alta o tiene el mejor valor económico. Además, los gases necesarios en la reacción tienen que ser muy puros y se necesita una composición diferenciada de los gases para que la reacción se lleve a cabo satisfactoriamente.

- 45 El documento WO2009100434 también describe un método indirecto para producir butanol y hexanol a partir de un carbohidrato. El método incluye una fermentación homoacetogénica para producir un producto intermedio de ácido acético que a continuación se convierte químicamente en etanol. El etanol y una porción restante del producto intermedio de ácido acético se usan a continuación como un sustrato en una fermentación acidogénica para producir productos intermedios de ácido butírico y caproico que a continuación se convierten químicamente en butanol y hexanol. Sin embargo, este método usa carbohidratos costosos como materia prima y tiene dos etapas de procesamiento adicionales, la formación de los ésteres y la hidrogenación química de los ésteres, que hacen al método no solo más prolongado sino que también dan como resultado una pérdida de material útil mientras tienen lugar.

- 55 Pérez, J.M., 2012 divulga un método para convertir ácidos carboxílicos de cadena corta en sus alcoholes correspondientes en presencia de gas de síntesis con el uso de *Clostridium ljungdahlii*. Sin embargo, los ácidos carboxílicos de cadena corta se tienen que añadir como un sustrato para la conversión en el alcohol superior correspondiente.

Los métodos disponibles actualmente de producción de alcoholes superiores tienen así limitaciones en la transferencia de masa de los sustratos gaseosos al caldo de fermentación, una productividad inferior y concentraciones inferiores de productos finales, dando como resultado costes energéticos superiores para la purificación de productos.

- 5 Según esto, es deseable encontrar materias primas más sostenibles, distintas de las fuentes puramente basadas en petróleo o basadas en maíz, como materias primas para la producción de butanol y otros alcoholes superiores a través de medios biotecnológicos que también provoquen menos daño al medio ambiente. En particular, se necesita una producción biotecnológica en un paso simple y eficaz de butanol y otros alcoholes superiores a partir de una materia prima sostenible.

10 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

- La presente invención proporciona una célula que se ha modificado genéticamente para producir al menos un alcohol superior a partir de una fuente de carbono simple. En particular, la célula puede ser capaz de convertir CO y/o CO₂ en al menos un alcohol superior. A saber, la célula puede estar modificada genéticamente para expresar una butiril-CoA: acetato CoA transferasa (cat3) (E₈) con un nivel de expresión superior con relación a la célula silvestre. Esto es ventajoso ya que se puede usar una sola célula para producir un alcohol superior a partir de fuentes no basadas en petróleo. Además, usar la célula recombinante hace más eficaz el método para producir alcoholes superiores.

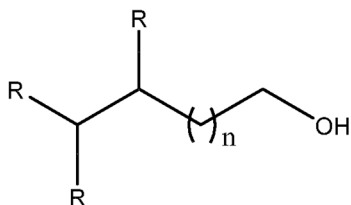
- Según un aspecto de la presente invención, se proporciona una célula microbiana acetogénica que es capaz de producir al menos un alcohol superior a partir de una fuente de carbono, en donde la célula microbiana acetogénica está modificada genéticamente para comprender una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de al menos una enzima, E₈, butiril-CoA: acetato CoA transferasa (cat3).

- La expresión "silvestre", según se usa en la presente junto con una célula o microorganismo, puede indicar una célula con una constitución genómica que está en una forma como la observada en la naturaleza. El término puede ser aplicable tanto para la célula entera como para genes individuales. Así, el término 'silvestre' también puede incluir células que se han modificado genéticamente en otros aspectos (es decir con respecto a uno o más genes) pero no en relación con los genes de interés. Por lo tanto, el término "silvestre" no incluye tales células o tales genes en los que las secuencias génicas hayan sido alteradas al menos parcialmente por el hombre usando métodos recombinantes. Una célula silvestre según cualquier aspecto de la presente invención puede referirse así a una célula que no tiene mutación genética con respecto a todo el genoma y/o un gen particular. Por lo tanto, en un ejemplo, una célula silvestre con respecto a la enzima E₈ se puede referir a una célula que tiene la expresión natural/no alterada de la enzima E₈ en la célula. La célula silvestre con respecto a la enzima E₂, E₃, E₄, E₅, E₆, E₇, E₉, E₁₀, E₁₁, E₁₂, etc. se puede interpretar del mismo modo y se puede referir a una célula que tenga la expresión natural/no alterada de la enzima E₂, E₃, E₄, E₅, E₆, E₇, E₉, E₁₀, E₁₁, E₁₂, etc. respectivamente, en la célula.

- Un experto sería capaz de usar cualquier método conocido en la técnica para modificar genéticamente una célula o un microorganismo. Según cualquier aspecto de la presente invención, la célula genéticamente modificada puede estar genéticamente modificada de modo que en un intervalo de tiempo definido, en 2 horas, en particular en 8 horas o 24 horas, forme al menos dos veces, especialmente al menos 10 veces, al menos 100 veces, al menos 1000 veces o al menos 10000 veces más alcohol superior que la célula silvestre. El incremento en la formación de producto se puede determinar, por ejemplo, al cultivar la célula según cualquier aspecto de la presente invención y la célula silvestre cada una separadamente bajo las mismas condiciones (misma densidad celular, mismo medio nutriente, mismas condiciones de cultivo) durante un intervalo de tiempo especificado en un medio nutriente adecuado y a continuación determinar la cantidad de producto elegido (alcohol superior, p. ej. butanol) en el medio nutriente.

- La célula o el microorganismo genéticamente modificado puede ser genéticamente diferente de la célula o el microorganismo silvestre. La diferencia genética entre el microorganismo genéticamente modificado según cualquier aspecto de la presente invención y el microorganismo silvestre puede estar en la presencia de un gen completo, un aminoácido, un nucleótido, etc., en el microorganismo genéticamente modificado que puede estar ausente en el microorganismo silvestre. En un ejemplo, el microorganismo genéticamente modificado según cualquier aspecto de la presente invención puede comprender enzimas que permitan que el microorganismo produzca alcoholes superiores. El microorganismo silvestre con relación al microorganismo genéticamente modificado de la presente invención puede no tener ninguna actividad o tener una actividad no detectable de las enzimas que permiten que el microorganismo genéticamente modificado produzca el al menos un alcohol superior. Según se usa en la presente, el término 'microorganismo genéticamente modificado' se puede usar intercambiabilmente con el término 'célula genéticamente modificada'. La modificación genética según cualquier aspecto de la presente invención se lleva a cabo sobre la célula del microorganismo.

- Según un aspecto de la presente invención, se proporciona una célula microbiana acetogénica que es capaz de producir al menos un alcohol superior a partir de una fuente de carbono, en donde la célula microbiana acetogénica está genéticamente modificada para comprender una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de al menos una enzima, E₈, butiril-CoA: acetato CoA transferasa (cat3), y en donde el alcohol superior comprende la fórmula I posterior y tiene de 4 a 10 átomos de carbono



Fórmula I

R= H, CH₃,

n=1- 6

y en donde el incremento en la actividad enzimática se consigue mediante

- 5 - una expresión de una enzima E₈ heteróloga,
- un incremento en el número de copias del gen que expresa la enzima E₈,
- una expresión de la enzima E₈ con un promotor heterólogo, o
- sus combinaciones.

La expresión "silvestre", según se usa en la presente junto con una célula o microorganismo, puede indicar una célula con una constitución genómica que está en una forma como la observada en la naturaleza. El término puede ser aplicable tanto para la célula entera como para genes individuales. Así, término 'silvestre' también puede incluir células que se han modificado genéticamente en otros aspectos (es decir con respecto a uno o más genes) pero no en relación con los genes de interés. Por lo tanto, el término "silvestre" no incluye tales células o tales genes en los que las secuencias génicas hayan sido alteradas al menos parcialmente por el hombre usando métodos recombinantes. Una célula silvestre según cualquier aspecto de la presente invención puede referirse así a una célula que no tiene mutación genética con respecto a todo el genoma y/o un gen particular. Por lo tanto, en un ejemplo, una célula silvestre con respecto a la enzima E₈ se puede referir a una célula que tiene la expresión natural/no alterada de la enzima E₈ en la célula. La célula silvestre con respecto a la enzima E₂, E₃, E₄, E₅, E₆, E₇, E₉, E₁₀, E₁₁, E₁₂, etc. se puede interpretar del mismo modo y se puede referir a una célula que tenga la expresión natural/no alterada de la enzima E₂, E₃, E₄, E₅, E₆, E₇, E₉, E₁₀, E₁₁, E₁₂, etc. respectivamente, en la célula.

Un experto sería capaz de usar cualquier método conocido en la técnica para modificar genéticamente una célula o un microorganismo. Según cualquier aspecto de la presente invención, la célula genéticamente modificada puede estar genéticamente modificada de modo que en un intervalo de tiempo definido, en 2 horas, en particular en 8 horas o 24 horas, forme al menos dos veces, especialmente al menos 10 veces, al menos 100 veces, al menos 1000 veces o al menos 10000 veces más alcohol superior que la célula silvestre. El incremento en la formación de producto se puede determinar, por ejemplo, al cultivar la célula según cualquier aspecto de la presente invención y la célula silvestre cada una separadamente bajo las mismas condiciones (misma densidad celular, mismo medio nutriente, mismas condiciones de cultivo) durante un intervalo de tiempo especificado en un medio nutriente adecuado y a continuación determinar la cantidad de producto elegido (alcohol superior, p. ej. butanol) en el medio nutriente.

La célula o el microorganismo genéticamente modificado puede ser genéticamente diferente de la célula o el microorganismo silvestre. La diferencia genética entre el microorganismo genéticamente modificado según cualquier aspecto de la presente invención y el microorganismo silvestre puede estar en la presencia de un gen completo, un aminoácido, un nucleótido, etc., en el microorganismo genéticamente modificado que puede estar ausente en el microorganismo silvestre. En un ejemplo, el microorganismo genéticamente modificado según cualquier aspecto de la presente invención puede comprender enzimas que permitan que el microorganismo produzca alcoholes superiores. El microorganismo silvestre con relación al microorganismo genéticamente modificado de la presente invención puede no tener ninguna actividad o tener una actividad no detectable de las enzimas que permiten que el microorganismo genéticamente modificado produzca el al menos un alcohol superior. Según se usa en la presente, se puede usar el término 'microorganismo genéticamente modificado'

Las células según cualquier aspecto de la presente invención se transforman genéticamente según cualquier método conocido en la técnica. En particular, las células se pueden producir según el método divulgado en el documento WO/2009/077461.

La expresión 'la célula genéticamente modificada tiene una actividad incrementada, en comparación con su tipo silvestre, en enzimas', según se usa en la presente, se refiere a que la actividad de la enzima respectiva se incrementa en un factor de al menos 2, en particular de al menos 10, más en particular de al menos 100, aún más en particular de al menos 1000 y todavía más en particular de al menos 10000.

La expresión "actividad incrementada de enzima", según se usa en la presente, se debe entender como actividad intracelular incrementada. Básicamente, un incremento en la actividad enzimática se puede conseguir al incrementar el número de copias de la secuencia génica o las secuencias génicas que codifican la enzima, usar un promotor fuerte o emplear un gen o alelo que codifica una enzima correspondiente con actividad incrementada y opcionalmente al combinar estas medidas. Las células genéticamente modificadas usadas en el método según la invención se producen, por ejemplo, mediante transformación, transducción, conjugación o una combinación de estos métodos con un vector que contiene el gen deseado, un alelo de este gen o sus partes y un vector que haga posible la expresión del gen. La expresión heteróloga se consigue en particular mediante la integración del gen o de los alelos en el cromosoma de la célula o un vector que se replica extracromosómicamente. Por ejemplo, una célula con un incremento en la expresión de una enzima tal como enzima E₈ con relación a una célula silvestre se puede referir a una célula que puede comprender:

- una expresión de una enzima E₈ heteróloga,
- un incremento en el número de copias del gen que expresa la enzima E₈,
- una expresión de la enzima E₈ con un promotor heterólogo, o
- sus combinaciones.

Un experto puede ser capaz de medir la actividad de cada una de estas enzimas usando métodos conocidos en la técnica. La expresión de las enzimas o los genes según cualquier aspecto de la presente invención se puede detectar en un gel con la ayuda de separación uni- o bidimensional de proteínas en gel y la posterior identificación visual de la concentración de proteínas usando un software de evaluación adecuado. Cuando el incremento en una actividad enzimática se basa exclusivamente en un incremento en la expresión del gen en cuestión, la cuantificación del incremento en la actividad enzimática se puede determinar de un modo simple al comparar las separaciones uni- o bidimensionales de proteínas entre la célula silvestre y la genéticamente modificada. Un método convencional para preparar los geles para proteínas en bacterias corineformales y para identificar las proteínas es el procedimiento descrito por Hermann y cols. (*Electrophoresis*, 22: 1712-23 (2001)). La concentración de proteínas también se puede analizar mediante hibridación por transferencia Western usando un anticuerpo que sea específico para la proteína que se vaya a detectar (Sambrook y cols., *Molecular Cloning: a laboratory manual*, 2ª Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. EE. UU. de A., 1989) seguido por evaluación visual con un software adecuado para determinar la concentración (Lohaus y Meyer (1989) *Biospektrum*, 5: 32-39; Lottspeich (1999), *Angewandte Chemie* 111: 2630-2647). La actividad de proteínas que se unen a ADN se puede medir por medio de ensayos de desplazamiento de bandas de ADN (también denominados retardo en gel) (Wilson y cols. (2001) *Journal of Bacteriology*, 183: 2151-2155). El efecto de las proteínas que se unen a ADN sobre la expresión de otros genes se puede detectar mediante diversos métodos descritos extensamente del ensayo del gen indicador (Sambrook y cols., *Molecular Cloning: a laboratory manual*, 2ª Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. EE. UU. de A., 1989). Las actividades enzimáticas intracelulares se pueden detectar mediante diversos métodos que se han descrito (Donahue y cols. (2000) *Journal of Bacteriology* 182 (19): 5624-5627; Ray y cols. (2000) *Journal of Bacteriology* 182 (8): 2277-2284; Freedberg y cols. (1973) *Journal of Bacteriology* 115 (3): 816-823). En caso de que no se detallen en lo que sigue métodos específicos para determinar la actividad de una enzima particular, la determinación del incremento en la actividad enzimática, y también la determinación de la reducción en una actividad enzimática, se puede llevar a cabo por medio de los métodos descritos en Hermann y cols., *Electrophoresis*, 22: 1712-23 (2001), Lohaus y cols., *Biospektrum* 5 32-39 (1998), Lottspeich, *Angewandte Chemie* 111: 2630-2647 (1999) y Wilson y cols. *Journal of Bacteriology*, 183: 2151-2155 (2001).

El término "bacteria acetogénica", según se usa en la presente, se refiere a un microorganismo que es capaz de realizar la ruta de Wood-Ljungdahl y así es capaz de convertir CO, CO₂ y/o hidrógeno en acetato. Estos microorganismos incluyen microorganismos que en su forma silvestre no tienen la ruta de Wood-Ljungdahl, pero han adquirido este rasgo como resultado de modificación genética. Estos microorganismos incluyen, pero no se limitan a, células de *E. coli*. Estos microorganismos también se pueden conocer como bacterias carboxidotróficas. Actualmente, se conocen en la técnica 21 géneros diferentes de las bacterias acetogénicas (Drake y cols., 2006), y estas pueden incluir algunas *clostridia* (Drake & Kusel, 2005). Estas bacterias son capaces de usar dióxido de carbono o monóxido de carbono como una fuente de carbono con hidrógeno como una fuente de energía (Wood, 1991). Además, alcoholes, aldehídos, ácidos carboxílicos así como numerosas hexosas también se pueden usar como una fuente de carbono (Drake y cols., 2004). La ruta reductiva que conduce a la formación de acetato se denomina ruta de acetil-CoA o de Wood-Ljungdahl.

En particular, las bacterias acetogénicas se pueden seleccionar del grupo que consiste en *Acetoanaerobium notera* (ATCC 35199), *Acetonema longum* (DSM 6540), *Acetobacterium carbinolicum* (DSM 2925), *Acetobacterium malicum* (DSM 4132), la especie de *Acetobacterium* nº 446 (Morinaga y cols., 1990, J. Biotechnol., Vol. 14, p. 187-194), *Acetobacterium wieringae* (DSM 1911), *Acetobacterium woodii* (DSM 1030), *Alkalibaculum bacchi* (DSM 22112), *Archaeoglobus fulgidus* (DSM 4304), *Blautia producta* (DSM 2950, anteriormente *Ruminococcus productus*, anteriormente *Peptostreptococcus productus*), *Butyribacterium methylotrophicum* (DSM 3468), *Clostridium aceticum* (DSM 1496), *Clostridium autoethanogenum* (DSM 10061, DSM 19630 y DSM 23693), *Clostridium carboxidivorans* (DSM 15243), *Clostridium coskatii* (ATCC no. PTA-10522), *Clostridium drakei* (ATCC BA-623), *Clostridium formicoaceticum* (DSM 92), *Clostridium glycolicum* (DSM 1288), *Clostridium ljungdahlii* (DSM 13528), *Clostridium ljungdahlii* C-01 (ATCC 55988), *Clostridium ljungdahlii* ERI-2 (ATCC 55380), *Clostridium ljungdahlii* O-52 (ATCC 55989), *Clostridium mayombeii* (DSM 6539), *Clostridium methoxybenzovorans* (DSM 12182), *Clostridium neopropionicum* sp, *Clostridium ragsdalei* (DSM 15248), *Clostridium scatologenes* (DSM 757), especie de *Clostridium* ATCC 29797 (Schmidt y cols., 1986, Chem. Eng. Commun., Vol. 45, p. 61-73), *Desulfotomaculum kuznetsovii* (DSM 6115), *Desulfotomaculum thermobezoicum* subesp. *thermosyntrophicum* (DSM 14055), *Eubacterium limosum* (DSM 20543), *Methanosarcina acetivorans* C2A (DSM 2834), *Moorella* sp. HUC22-1 (Sakai y cols., 2004, Biotechnol. Let., Vol. 29, p. 1607-1612), *Moorella thermoacetica* (DSM 521, anteriormente *Clostridium thermoaceticum*), *Moorella thermoautotrophica* (DSM 1974), *Oxobacter pfennigii* (DSM 322), *Sporomusa aerivorans* (DSM 13326), *Sporomusa ovata* (DSM 2662), *Sporomusa silvacetica* (DSM 10669), *Sporomusa sphaeroides* (DSM 2875), *Sporomusa termitida* (DSM 4440) y *Thermoanaerobacter kivui* (DSM 2030, anteriormente *Acetogenium kivui*).

En particular, la célula microbiana acetogénica usada según cualquier aspecto de la presente invención se puede seleccionar del grupo que consiste en *Clostridium ljungdahlii* y *Clostridium autoethanogenum*. En un ejemplo, una bacteria adecuada puede ser *Clostridium ljungdahlii*. En particular, se pueden usar cepas seleccionadas del grupo que consiste en *Clostridium ljungdahlii* PETC, *Clostridium ljungdahlii* ERI2, *Clostridium ljungdahlii* COL y *Clostridium ljungdahlii* O-52 en la conversión de gas de síntesis en ácido hexanoico. Estas cepas se describen, por ejemplo, en el documento WO 98/00558, el documento WO 00/68407, ATCC 49587, ATCC 55988 y ATCC 55989. En otro ejemplo, la bacteria acetogénica seleccionada puede ser *Clostridium autoethanogenum*.

La enzima, E₈, una butiril-CoA: acetato CoA transferasa (cat3), cuya expresión se incrementa en la célula según cualquier aspecto de la presente invención, con relación a una célula silvestre, cataliza la siguiente reacción entre otras:



Esta enzima es especialmente ventajosa en la célula acetogénica según cualquier aspecto de la presente invención ya que tiene una amplia especificidad para el sustrato (Stadtman ER (1953). J Biol Chem 203:501-512 y Stadtman ER (1953) Fed Proc 12:692-693.) y es capaz de catalizar la conversión de acil CoA para formar al menos un ácido graso (Seedorf y cols., (2007) PNAS. 105 (6):2128-2133). La producción de al menos un ácido a partir de una fuente de carbono que comprende CO y/o CO₂ es posible en presencia de la célula acetogénica según cualquier aspecto de la presente invención debido a la presencia de enzima, E₈. El ácido se puede producir a partir de la fuente de carbono a través de producción de acetato donde el acetato se puede usar como el aceptor de CoA. Así, esto puede permitir que la célula según cualquier aspecto de la presente invención sea más eficaz y efectiva en la producción de un ácido graso.

En la mayoría de las células acetogénicas, el butirato no se puede producir naturalmente. La producción de butirato se puede introducir en una célula acetogénica al modificar genéticamente una célula para que sea capaz de producir ácido butírico a partir de al menos una fuente de carbono que comprende CO y/o CO₂. En un ejemplo, células acetogénicas ya capaces de producir butirato se pueden usar en los aspectos de la presente invención para introducir enzima E₈ para permitir que la célula produzca al menos un ácido graso a partir de una fuente de carbono que comprende CO y/o CO₂. Por ejemplo, *C. carboxidivorans* puede ser una célula como esta. En un ejemplo, la célula según cualquier aspecto de la presente invención se puede modificar genéticamente para que comprenda una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de al menos una enzima adicional seleccionada del grupo que consiste en E₁ a E₇ y E₉ a E₁₁, en donde E₁ es una alcohol deshidrogenasa (adh), E₂ es una acetaldehído deshidrogenasa (ald), E₃ es una acetoacetil-CoA tiolasa (thl), E₄ es una 3-hidroxi-butiril-CoA deshidrogenasa (hbd), E₅ es una 3-hidroxi-butiril-CoA deshidratasa (crt), E₆ es una butiril-CoA deshidrogenasa (bcd), E₇ es una subunidad flavoproteínica de transferencia electrónica (etf), E₉ es una acetato cinasa (ack), E₁₁ es una transhidrogenasa y E₁₂ es una trans-2-enoil-CoA reductasa (TER) o crotonil-CoA reductasa (ccr). La célula también puede comprender una expresión incrementada con relación a la célula silvestre de E₁₀, fosfotransacetilasa (pta),

En particular, la actividad de las enzimas E₁ y E₂ se puede medir usando los ensayos mostrados al menos en Hillmer P., 1972, Lurz R., 1979; la actividad de la enzima E₂ también se puede medir usando el ensayo mostrado en Smith L.T., 1980; la actividad de las enzimas E₃ y E₄ se puede medir usando los ensayos mostrados al menos en Sliwowski M.X., 1984; la actividad de E₄ también se puede medir usando el ensayo mostrado en Madan, V.K., 1972; la actividad de E₅ también se puede medir usando el ensayo mostrado en Bartsch, R.G., 1961; la actividad de las enzimas E₆ y E₇

se puede medir usando el ensayo mostrado en Li, F., 2008; la actividad de E₇ también se puede medir usando el ensayo mostrado en Chowdhury, 2013; la actividad de E₈ se puede medir usando el ensayo mostrado en Stadman, 1953. En otro ejemplo, la actividad de E₈ se puede medir usando el ensayo mostrado en Barker, H. A., 1955. Methods Enzymol. 1:599-600; la actividad de E₉ se puede medir usando el ensayo mostrado en Winzer, K., 1997; la actividad de E₁₀ se puede medir usando el ensayo mostrado en Smith L.T., 1976; y la actividad de E₁₁ se puede medir usando el ensayo mostrado en Wang S, 2010. E₁₂ se puede medir usando el ensayo para la actividad de TER mostrado en Inui y cols. (1984) Eur. J. Biochem.142, 121-126 y/o Seubert y cols. (1968) Biochim. Biophys. Acta 164, 498-517 y/o Hoffmeister, M. (2005), J. Biol. Chem., 280 (6), 4329-4338.

Estos métodos entre otros conocidos en la técnica pueden ser usados por un experto para confirmar el incremento en la expresión y/o la actividad enzimática con relación a una célula silvestre.

En un ejemplo, la célula según cualquier aspecto de la presente invención se puede modificar genéticamente para que comprenda una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de todas las enzimas siguientes E₃ una acetoacetil-CoA tiolasa (thl), E₄ una 3-hidroxibutiril-CoA deshidrogenasa (hbd), E₅ una 3-hidroxibutiril-CoA deshidratasa (crt) y E₆ una butiril-CoA deshidrogenasa (bcd). En otro ejemplo, la expresión de E₇ una subunidad flavoproteínica de transferencia electrónica (etf) también se puede incrementar con relación a la célula silvestre. Así, la célula según cualquier aspecto de la presente invención puede tener una expresión incrementada con relación a la célula silvestre de las enzimas E₃-E₆ y E₈. En otro ejemplo, la célula según cualquier aspecto de la presente invención puede tener una expresión incrementada con relación a la célula silvestre de las enzimas E₃-E₈.

En la mayoría de las células acetogénicas, el butirato no se puede producir naturalmente. La producción de butirato se puede introducir en un célula acetogénica al modificar genéticamente una célula para que sea capaz de producir ácido butírico a partir de al menos una fuente de carbono que comprende CO y/o CO₂. En un ejemplo, células acetogénicas ya capaces de producir butirato se pueden usar en los aspectos de la presente invención para introducir la enzima E₈ para permitir que la célula produzca al menos un ácido graso a partir de una fuente de carbono que comprende CO y/o CO₂. Por ejemplo, *C. carboxidivorans* puede ser una célula como esta.

En un ejemplo, la célula según cualquier aspecto de la presente invención se puede modificar genéticamente para que comprenda una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de al menos una enzima adicional seleccionada del grupo que consiste en E₁ a E₇ y E₉ a E₁₁, en donde E₁ es una alcohol deshidrogenasa (adh), E₂ es una acetaldehído deshidrogenasa (ald), E₃ es una acetoacetil-CoA tiolasa (thl), E₄ es una 3-hidroxibutiril-CoA deshidrogenasa (hbd), E₅ es una 3-hidroxibutiril-CoA deshidratasa (crt), E₆ es una butiril-CoA deshidrogenasa (bcd), E₇ es una subunidad flavoproteínica de transferencia electrónica (etf), E₉ es una acetato cinasa (ack), E₁₁ es una transhidrogenasa y E₁₂ es una trans-2-enoil-CoA reductasa (TER) o crotonil-CoA reductasa (ccr) y en donde el incremento en la actividad enzimática de una cualquiera de las enzimas E₁ a E₇ y E₉, E₁₁ y E₁₂ se consigue mediante

- una expresión de una enzima heteróloga de una cualquiera de las enzimas E₁ a E₇ y E₉, E₁₁ y E₁₂
- un incremento en el número de copias del gen que expresa una cualquiera de las enzimas E₁ a E₇ y E₉, E₁₁ y E₁₂
- una expresión de una cualquiera de las enzimas E₁ a E₇ y E₉, E₁₁ y E₁₂ con un promotor heterólogo, o
- sus combinaciones.

La célula también puede comprender una expresión incrementada con relación a la célula silvestre de E₁₀, fosfotransacetilasa (pta),

En particular, la actividad de las enzimas E₁ y E₂ se puede medir usando los ensayos mostrados al menos en Hillmer P., 1972, Lurz R., 1979; la actividad de la enzima E₂ también se puede medir usando el ensayo mostrado en Smith L.T., 1980; la actividad de las enzimas E₃ y E₄ se puede medir usando los ensayos mostrados al menos en Sliwowski M.X., 1984; la actividad de E₄ también se puede medir usando el ensayo mostrado en Madan, V.K., 1972; la actividad de E₅ también se puede medir usando el ensayo mostrado en Bartsch, R.G., 1961; la actividad de las enzimas E₆ y E₇ se puede medir usando el ensayo mostrado en Li, F., 2008; la actividad de E₇ también se puede medir usando el ensayo mostrado en Chowdhury, 2013; la actividad de E₈ se puede medir usando el ensayo mostrado en Stadman, 1953. En otro ejemplo, la actividad de E₈ se puede medir usando el ensayo mostrado en Barker, H. A., 1955. Methods Enzymol. 1:599-600; la actividad de E₉ se puede medir usando el ensayo mostrado en Winzer, K., 1997; la actividad de E₁₀ se puede medir usando el ensayo mostrado en Smith L.T., 1976; y la actividad de E₁₁ se puede medir usando el ensayo mostrado en Wang S, 2010. E₁₂ se puede medir usando el ensayo para la actividad de TER mostrado en Inui y cols. (1984) Eur. J. Biochem.142, 121-126 y/o Seubert y cols. (1968) Biochim. Biophys. Acta 164, 498-517 y/o Hoffmeister, M. (2005), J. Biol. Chem., 280 (6), 4329-4338.

Estos métodos entre otros conocidos en la técnica pueden ser usados por un experto para confirmar el incremento en la expresión y/o la actividad enzimática con relación a una célula silvestre.

En un ejemplo, la célula según cualquier aspecto de la presente invención se puede modificar genéticamente para que comprenda una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de todas las enzimas siguientes E₃ una acetoacetil-CoA tiolasa (thl), E₄ una 3-hidroxi-butiril-CoA deshidrogenasa (hbd), E₅ una 3-hidroxi-butiril-CoA deshidratasa (crt) y E₆ una butiril-CoA deshidrogenasa (bcd) En otro

En otro ejemplo, la célula según cualquier aspecto de la presente invención se puede modificar genéticamente para que comprenda una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de las enzimas E₃, una acetoacetil-CoA tiolasa (thl), E₄, una 3-hidroxi-butiril-CoA deshidrogenasa (hbd), E₅, una 3-hidroxi-butiril-CoA deshidratasa (crt), E₆, una butiril-CoA deshidrogenasa (bcd), y E₈. En un ejemplo, E₃ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO:2, E₄ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO:3, E₅ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO: 4, E₆, puede comprender la secuencia de SEQ ID NO: 5.

En un ejemplo adicional, la célula según cualquier aspecto de la presente invención se puede modificar genéticamente para que comprenda una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de las enzimas E₃, una acetoacetil-CoA tiolasa (thl), E₄, una 3-hidroxi-butiril-CoA deshidrogenasa (hbd), E₅, una 3-hidroxi-butiril-CoA deshidratasa (crt), y E₈. En un ejemplo, E₃ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO:2, E₄ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO:3, E₅ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO: 4, y E₆, puede comprender la secuencia de SEQ ID NO: 5.

En otro ejemplo, la célula según cualquier aspecto de la presente invención se puede modificar genéticamente adicionalmente para que comprenda una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de las enzimas E₁, una alcohol deshidrogenasa (adh), y la enzima E₁₂, trans-2-enoil-CoA reductasa o crotonil-CoA reductasa (TER). En particular, E₁ puede ser una butirato-deshidrogenasa procedente de *C. acetobutylicum* o *E. coli*. Más en particular, la butanol-deshidrogenasa procedente de *C. acetobutylicum* puede comprender la secuencia de SEQ ID NO:18 y la butanol-deshidrogenasa procedente de *E. coli* puede comprender la secuencia de SEQ ID NO: 19. Más en particular, la enzima E₁₂ en la célula se puede seleccionar del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 14, 15 y 16.

La célula también puede comprender E₇ una subunidad flavoproteínica de transferencia electrónica (etf). Más en particular, E₇ puede ser etfB y etfA procedente de *C. acetobutylicum*. Aún más en particular, E₇ puede comprender la secuencia de SEQ ID NOs:10 y 11.

En un ejemplo, la célula según cualquier aspecto de la presente invención se puede modificar genéticamente adicionalmente para que comprenda una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de la enzima E₆, una butirato-deshidrogenasa. En particular, E₆ puede proceder de *C. kluyveri* y/o puede comprender la secuencia de SEQ ID NO:7. La célula también puede comprender una expresión incrementada con relación a la célula silvestre de una proteína de transferencia electrónica (E₇). En particular, E₇ puede comprender la secuencia de SEQ ID NOs: 12 y 13. La célula también puede comprender una expresión incrementada con relación a la célula silvestre de trans-2-enoil-CoA reductasa (TER) (E₁₂). En particular, la TER puede proceder de *Treponema denticola*, *Euglena gracilis* o *Caenorhabditis elegans*. Aún más en particular, E₁₂ puede ser una TER seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 14, 15 y 16. En otro ejemplo, E₁₂ puede ser una crotonil-CoA reductasa (ccr). En particular, la ccr puede proceder de *Streptomyces collinus*. Más en particular, la enzima E₁₂ puede ser una ccr que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 17.

ejemplo, la expresión de E₇ una subunidad flavoproteínica de transferencia electrónica (etf) también se puede incrementar con relación a la célula silvestre, en donde el incremento en la actividad enzimática se consigue mediante

- una expresión de una enzima heteróloga E₇,
- un incremento en el número de copias del gen que expresa la enzima E₇,
- una expresión de la enzima E₇ con un promotor heterólogo, o

sus combinaciones. Así, la célula según cualquier aspecto de la presente invención puede tener una expresión incrementada con relación a la célula silvestre de las enzimas E₃-E₆ y E₈, y en donde el incremento en la actividad enzimática de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₆ se consigue mediante

- una expresión de una enzima heteróloga de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₆,
- un incremento en el número de copias del gen que expresa una cualquiera de las enzimas E₃ a E₆,
- una expresión de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₆ con un promotor heterólogo, o

- sus combinaciones. En otro ejemplo, la célula según cualquier aspecto de la presente invención puede tener una expresión incrementada con relación a la célula silvestre de las enzimas E₃-E₈.

En otro ejemplo, la célula según cualquier aspecto de la presente invención se puede modificar genéticamente para que comprenda una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de las enzimas E₃, una acetoacetil-CoA tiolasa (thl), E₄, una 3-hidroxi-butiril-CoA deshidrogenasa (hbd), E₅, una 3-hidroxi-butiril-CoA deshidratasa (crt), E₆, una butiril-CoA deshidrogenasa (bcd) y E₈. En un ejemplo, E₃ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO:2, E₄ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO:3, E₅ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO: 4, E₆ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO: 5.

En un ejemplo adicional, la célula según cualquier aspecto de la presente invención se puede modificar genéticamente para que comprenda una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de las enzimas E₃, una acetoacetil-CoA tiolasa (thl), E₄, una 3-hidroxi-butiril-CoA deshidrogenasa (hbd), E₅, una 3-hidroxi-butiril-CoA deshidratasa (crt), y E₈, y en donde el incremento en la actividad enzimática de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₅ se consigue mediante

- una expresión de una enzima heteróloga de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₅,

- un incremento en el número de copias del gen que expresa una cualquiera de las enzimas E₃ a E₅,

- una expresión de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₅ con un promotor heterólogo, o

sus combinaciones. En un ejemplo, E₃ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO:2, E₄ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO:3, E₅ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO: 4, y E₆ puede comprender la secuencia de SEQ ID NO: 5.

En otro ejemplo, la célula según cualquier aspecto de la presente invención se puede modificar genéticamente adicionalmente para que comprenda una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de las enzimas E₁, una alcohol deshidrogenasa (adh), y la enzima E₁₂, trans-2-enoil-CoA reductasa o crotonil-CoA reductasa (TER), y en donde el incremento en la actividad enzimática de una cualquiera de las enzimas E₁ y E₁₂ se consigue mediante

- una expresión de una enzima heteróloga de una cualquiera de las enzimas E₁ y E₁₂,

- un incremento en el número de copias del gen que expresa una cualquiera de las enzimas E₁ y E₁₂,

- una expresión de una cualquiera de las enzimas E₁ y E₁₂ con un promotor heterólogo, o

sus combinaciones. En particular, E₁ puede ser una butirato-deshidrogenasa procedente de *C. acetobutylicum* o *E. coli*. Más en particular, la butanol-deshidrogenasa procedente de *C. acetobutylicum* puede comprender la secuencia de SEQ ID NO:18 y la butanol-deshidrogenasa procedente de *E. coli* puede comprender la secuencia de SEQ ID NO: 19. Más en particular, la enzima E₁₂ en la célula se puede seleccionar del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 14, 15 y 16.

La célula también puede comprender E₇ una subunidad flavoproteínica de transferencia electrónica (etf). Más en particular, E₇ puede ser etfB y etfA procedente de *C. acetobutylicum*. Aún más en particular, E₇ puede comprender la secuencia de SEQ ID NOs:10 y 11.

En un ejemplo, la célula según cualquier aspecto de la presente invención se puede modificar genéticamente adicionalmente para que comprenda una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de la enzima E₆, una butirato-deshidrogenasa. En particular, E₆ puede proceder de *C. kluyveri* y/o puede comprender la secuencia de SEQ ID NO:7. La célula también puede comprender una expresión incrementada con relación a la célula silvestre de una proteína de transferencia electrónica (E₇). En particular, E₇ puede comprender la secuencia de SEQ ID NOs: 12 y 13. La célula también puede comprender una expresión incrementada con relación a la célula silvestre En un ejemplo adicional, la célula según cualquier aspecto de la presente invención se puede modificar genéticamente adicionalmente para que comprenda una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de la enzima E₆, una butirato-deshidrogenasa. En particular, E₆ puede proceder de *C. kluyveri* y/o puede comprender la secuencia de SEQ ID NO:5. La célula también puede comprender una expresión incrementada con relación a la célula silvestre de una proteína de transferencia electrónica (E₇). En particular, E₇ puede comprender la secuencia de SEQ ID NOs: 8 y 9. La célula también puede comprender una expresión incrementada con relación a la célula silvestre del promotor y/o terminador de fosfotransacetilasa (pta).

En particular, la célula según cualquier aspecto de la presente invención puede comprender una expresión incrementada con relación a la célula silvestre de las siguientes enzimas E₃E₈, E₄E₈, E₅E₈, E₆E₈, E₇E₈, E₃E₄E₈, E₃E₅E₈,

E3E6E8, E3E7E8, E4E5E8, E4E6E8, E4E7E8, E5E6E8, E5E7E8, E3E4E5E8, E3E4E6E8, E3E4E7E8, E4E5E6E8, E4E5E7E8, E5E6E7E8, E3E4E5E6E8, E3E4E5E7E8, E4E5E6E7E8, E3E4E5E6E7E8, E3E8E12, E4E8E12, E5E8E12, E6E8E12, E7E8E12, E3E4E8E12, E3E5E8E12, E3E6E8E12, E3E7E8E12, E4E5E8E12, E4E6E8E12, E4E7E8E12, E5E6E8E12, E5E7E8E12, E3E4E5E8E12, E3E4E6E8E12, E3E4E7E8E12, E4E5E6E8E12, E4E5E7E8E12, E5E6E7E8E12, E3E4E5E6E8E12, E3E4E5E7E8E12, E4E5E6E7E8E12, E3E4E5E6E7E8E12, E3E8E1, E4E8E1, E5E8E1, E6E8E1, E7E8E1, E3E4E8E1, E3E5E8E1, E3E6E8E1, E3E7E8E1, E4E5E8E1, E4E6E8E1, E4E7E8E1, E5E6E8E1, E5E7E8E1, E3E4E5E8E1, E3E4E6E8E1, E3E4E7E8E1, E4E5E6E8E1, E4E5E7E8E1, E5E6E7E8E1, E3E4E5E6E8E1, E3E4E5E7E8E1, E4E5E6E7E8E1, E3E8E12E1, E4E8E12E1, E5E8E12E1, E6E8E12E1, E7E8E12E1, E3E4E8E12E1, E3E5E8E12E1, E3E6E8E12E1, E3E7E8E12E1, E4E5E8E12E1, E4E6E8E12E1, E4E7E8E12E1, E5E6E8E12E1, E5E7E8E12E1, E3E4E5E8E12E1, E3E4E6E8E12E1, E3E4E7E8E12E1, E4E5E6E8E12E1, E4E5E7E8E12E1, E5E6E7E8E12E1, E3E4E5E6E8E12E1, E3E4E5E7E8E12E1, E4E5E6E7E8E12E1, E3E4E5E6E7E8E12E1, x y similares.

En particular, E₈ se puede seleccionar del grupo que consiste en butiril-CoA: acetato CoA transferasa, succinil-CoA:coenzima A transferasa, 4-hidroxibutiril-CoA: coenzima A transferasa y similares. Más en particular, E₈ puede comprender una identidad de secuencia de al menos 50% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_3595, CKL_3016, CKL_3018 y similares. Más en particular, E₈ puede comprender un polipéptido con una identidad de secuencia de al menos 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 94, 95, 98 o 100% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_3595, CKL_3016 y CKL_3018. E₈ puede comprender una secuencia de aminoácidos que tiene 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1. En particular, E₈ puede proceder de *Clostridium kluyveri* o *Clostridium carboxidivorans*. Más en particular, E₈ puede proceder de *Clostridium kluyveri*. Aún más en particular, E₈ puede proceder de la cepa de *Clostridium kluyveri* ATCC 8527.

En particular, E₁ se puede seleccionar del grupo que consiste en alcohol deshidrogenasa 1, alcohol deshidrogenasa 2, alcohol deshidrogenasa 3, alcohol deshidrogenasa B y sus combinaciones. Más en particular, E₁ puede comprender una identidad de secuencia de al menos 50% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_1075, CKL_1077, CKL_1078, CKL_1067, CKL_2967, CKL_2978, CKL_3000, CKL_3425 y CKL_2065. Aún más en particular, E₁ puede comprender un polipéptido con una identidad de secuencia de al menos 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 94, 95, 98 o 100% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_1075, CKL_1077, CKL_1078 y CKL_1067. E₁ puede comprender una secuencia de aminoácidos que tiene 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 18 o SEQ ID NO: 19. En particular, E₁ se puede seleccionar del grupo que consiste en *C. acetobutylicum* y *E. coli*.

En particular, E₂ se puede seleccionar del grupo que consiste en acetaldehído deshidrogenasa 1, alcohol deshidrogenasa 2 y sus combinaciones. En particular, E₂ puede comprender una identidad de secuencia de al menos 50% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_1074, CKL_1076 y similares. Más en particular, E₂ puede comprender un polipéptido con una identidad de secuencia de al menos 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 94, 95, 98 o 100% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_1074 y CKL_1076.

E₃ se puede seleccionar del grupo que consiste en acetoacetil-CoA tiolasa A1, acetoacetil-CoA tiolasa A2, acetoacetil-CoA tiolasa A3 y sus combinaciones. En particular, E₃ puede comprender una identidad de secuencia de al menos 50% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_3696, CKL_3697, CKL_3698 y similares. Más en particular, E₃ puede comprender un polipéptido con una identidad de secuencia de al menos 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 94, 95, 98 o 100% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_3696, CKL_3697 y CKL_3698. Más en particular, E₃ puede comprender una secuencia de aminoácidos que tiene 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2. En particular, E₃ puede proceder de *C. acetobutylicum*.

E₄ puede ser 3-hidroxibutiril-CoA deshidrogenasa 1, 3-hidroxibutiril-CoA deshidrogenasa 2 y similares. En particular, E₄ puede comprender una identidad de secuencia de al menos 50% con un polipéptido CKL_0458, CKL_2795 y similares. Más en particular, E₄ puede comprender un polipéptido con una identidad de secuencia de al menos 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 94, 95, 98 o 100% con el polipéptido CKL_0458 o CKL_2795. Más en particular, E₄ puede comprender una secuencia de aminoácidos que tiene 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 3. En particular, E₄ puede proceder de *Clostridium kluyveri*.

E₅ puede ser 3-hidroxibutiril-CoA deshidratasa 1, 3-hidroxibutiril-CoA deshidratasa 2 y sus combinaciones. En particular, E₅ puede comprender una identidad de secuencia de al menos 50% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_0454, CKL_2527 y similares. Más en particular, E₅ puede comprender un polipéptido con una identidad de secuencia de al menos 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 94, 95, 98 o 100% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_0454 y CKL_2527. Más en particular, E₅ puede comprender una secuencia de aminoácidos que tiene 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 4. En particular, E₅ puede proceder de *Clostridium kluyveri*.

E₆ se puede seleccionar del grupo que consiste en butiril-CoA deshidrogenasa 1, butiril-CoA deshidrogenasa 2 y similares. En particular, E₆ puede comprender una identidad de secuencia de al menos 50% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_0455, CKL_0633 y similares. Más en particular, E₆ puede comprender

un polipéptido con una identidad de secuencia de al menos 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 94, 95, 98 o 100% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_0455 y CKL_0633. Más en particular, E₆ puede comprender una secuencia de aminoácidos que tiene 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO:6 o SEQ ID NO: 7. En particular, E₆ se puede seleccionar del grupo que

E₇ se puede seleccionar del grupo que consiste en la subunidad 1 de flavoproteína alfa de transferencia electrónica, la subunidad 2 de flavoproteína alfa de transferencia electrónica, la subunidad 1 de flavoproteína beta de transferencia electrónica y la subunidad 2 de flavoproteína beta de transferencia electrónica. En particular, E₇ puede comprender una identidad de secuencia de al menos 50% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_3516, CKL_3517, CKL_0456, CKL_0457 y similares. Más en particular, E₇ puede comprender un polipéptido con una identidad de secuencia de al menos 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 94, 95, 98 o 100% con un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en CKL_3516, CKL_3517, CKL_0456 y CKL_0457. Más en particular, E₇ puede comprender una secuencia de aminoácidos que tiene 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12 o SEQ ID NO: 13. En particular, E₇ se puede seleccionar del grupo que consiste en *Clostridium kluyveri* y *C. acetobutylicum*.

E₉ puede ser una acetato cinasa A (ack A). En particular, E₉ puede comprender una identidad de secuencia de al menos 50% con una secuencia polipeptídica de CKL_1391 y similares. Más en particular, E₉ puede comprender un polipéptido con una identidad de secuencia de al menos 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 94, 95, 98 o 100% con un polipéptido de CKL_1391.

E₁₀ puede ser fosfotransacetilasa (pta). En particular, E₁₀ puede comprender una identidad de secuencia de al menos 50% con una secuencia polipeptídica de CKL_1390 y similares. Más en particular, E₁₀ puede comprender un polipéptido con una identidad de secuencia de al menos 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 94, 95, 98 o 100% con un polipéptido de CKL_1390. En particular, E₁₀ se puede seleccionar de *C. acetobutylicum*.

E₁₁ puede ser una transhidrogenasa. En particular, E₁₁ puede ser la transhidrogenasa divulgada en Hatefi, Y., (1977) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74 (3). 846-850 y/o Anderlund M. (1999), Appl Environ Microbiol., 65(6): 2333-2340

E₁₂ puede comprender una secuencia de aminoácidos que tiene 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16 o SEQ ID NO: 17. En particular, E₁₂ se puede seleccionar del grupo que consiste en *Treponema denticola*, *Euglena gracilis*, *Caenorhabditis elegans* y *Streptomyces collinus*.

A lo largo de esta solicitud, cualquier código de bases de datos, a menos que se especifique lo contrario, se refiere a una secuencia disponible de las bases de datos del NCBI, más específicamente la versión en línea de 12 de junio de 2014, y comprende, si esta secuencia es una secuencia nucleotídica, la secuencia polipeptídica obtenida al traducir la primera.

Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para producir un alcohol superior, comprendiendo el método

- poner en contacto una célula microbiana recombinante según cualquier aspecto de la presente invención con un medio que comprende una fuente de carbono.

El término "poner en contacto", según se usa en la presente, significa llevar a cabo un contacto directo entre la célula según cualquier aspecto de la presente invención y el medio que comprende la fuente de carbono. Por ejemplo, la célula y el medio que comprende la fuente de carbono pueden estar en diferentes compartimentos. En particular, la fuente de carbono puede estar en estado gaseoso y añadirse al medio que comprende las células según cualquier aspecto de la presente invención.

El término "acetato", según se usa en la presente, se refiere tanto a ácido acético como a sus sales, que resultan inevitablemente, debido, como se sabe en la técnica, los microorganismos trabajan en un ambiente acuoso y siempre existe un equilibrio entre la sal y el ácido presentes.

El término 'aproximadamente', según se usa en la presente, se refiere a una variación dentro del 20 por ciento. En particular, el término "aproximadamente", según se usa en la presente, se refiere a +/- 20%, más en particular, +/- 10%, aún más en particular, +/- 5% de una medida o valor dados.

Todos los porcentajes (%), a menos que se especifique otra cosa, son porcentaje en volumen.

La fuente de carbono usada según cualquier aspecto de la presente invención puede ser cualquier fuente de carbono conocida en la técnica. En particular, la fuente de carbono se puede seleccionar del grupo que consiste en carbohidratos tales como, por ejemplo, glucosa, sacarosa, lactosa, fructosa, maltosa, melazas, almidón y celulosa. En un ejemplo, se pueden usar como una fuente de carbono hidrocarburos tales como metano, aminoácidos tales como L-glutamato o L-valina o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético. Estas sustancias se pueden usar

individualmente o como una mezcla. Se prefiere especialmente emplear carbohidratos, en particular monosacáridos, oligosacáridos o polisacáridos, según se describe en la Pat. EE. UU. N° 601.494 y la Pat. EE. UU. N° 6.136.576, o azúcares C5, o glicerol. En un ejemplo, la fuente de carbono puede comprender dióxido de carbono y/o monóxido de carbono. Un experto entenderá que existen muchas posibles fuentes para el aporte de CO y/o CO₂ como una fuente de carbono. Se puede observar que, en la práctica, se puede usar como la fuente de carbono según cualquier aspecto de la presente invención cualquier gas o cualquier mezcla de gases que sea capaz de suministrar a los microorganismos suficientes cantidades de carbono, de modo que se puedan formar acetato y/o etanol a partir de la fuente de CO y/o CO₂.

Generalmente, para el cultivo mixto según cualquier aspecto de la presente invención, la fuente de carbono comprende al menos 50% en volumen, al menos 70% en volumen, particularmente al menos 90% en volumen de CO y/o CO₂, en donde los porcentajes en % en volumen se refieren a todas las fuentes de carbono que estén disponibles para el primer microorganismo del cultivo mixto. En un ejemplo, la fuente de carbono puede ser una mezcla de gases que comprende 5 - 25% en volumen de CO, 25 - 35% en volumen de CO₂ y 50 - 65 de H₂ gaseoso. En otro ejemplo, la fuente de carbono puede ser una mezcla de gases que comprende 22% en volumen de CO, 6% en volumen de CO₂ y 44% de H₂ gaseoso. En un ejemplo adicional, la fuente de carbono puede ser una mezcla de gases que comprende 33% en volumen de CO₂ y 67% de H₂ gaseoso. En un particular ejemplo, la fuente de carbono puede ser una mezcla de gases que comprende 25% en volumen de CO, 25% en volumen de CO₂ y 50% de H₂ gaseoso. En el cultivo mixto según cualquier aspecto de la presente invención, se puede proporcionar la fuente de material carbonado. Ejemplos de fuentes de carbono en formas gaseosas incluyen gases de escape tales como gas de síntesis, gas de combustión y gases de refinado de petróleo producidos mediante fermentación de levaduras o fermentación clostridiana. Estos gases de escape se forman a partir de la gasificación de materiales que contienen celulosa o gasificación de hulla. En un ejemplo, estos gases de escape pueden no producirse necesariamente como subproductos de otros procedimientos sino que se pueden producir específicamente para el uso con el cultivo mixto según cualquier aspecto de la presente invención.

Según cualquier aspecto de la presente invención, la fuente de carbono puede ser gas de síntesis. El gas de síntesis se puede producir, por ejemplo, como un subproducto de la gasificación de hulla. Según esto, el microorganismo del cultivo mixto según cualquier aspecto de la presente invención puede ser capaz de convertir una sustancia que es un producto residual en un recurso valioso. En otro ejemplo, el gas de síntesis puede ser un subproducto de la gasificación de materias primas agrícolas de bajo coste ampliamente disponibles para el uso con el cultivo mixto de la presente invención para producir al menos un alcohol superior.

Existen numerosos ejemplos de materias primas que se pueden convertir en gas de síntesis, ya que casi todas las formas de vegetación se pueden usar con este propósito. En particular, las materias primas se seleccionan del grupo que consiste en hierbas perennes tales como eulalia, residuos de maíz, residuos de procesamiento tales como serrín y similares.

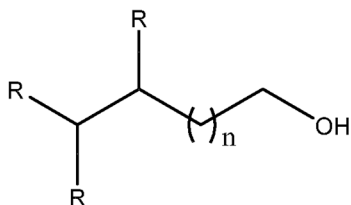
En general, el gas de síntesis se puede obtener en un aparato de gasificación de biomasa deshidratada, principalmente a través de pirólisis, oxidación parcial y reformado al vapor de agua, en donde los principales productos del gas de síntesis son CO, H₂ y CO₂. El gas de síntesis también puede ser un producto de la electrolisis de CO₂. Un experto conocerá las condiciones adecuadas para llevar a cabo la electrolisis de CO₂ para producir gas de síntesis que comprende CO en una cantidad deseada.

Habitualmente, una porción del gas de síntesis obtenido del procedimiento de gasificación se procesa en primer lugar a fin de optimizar los rendimientos de productos, y para evitar la formación de alquitrán. El craqueo de alquitrán no deseado y el CO en el gas de síntesis se puede llevar a cabo usando cal y/o dolomita. Estos procedimientos se describen con detalle, por ejemplo, en Reed, 1981.

Se pueden usar mezclas de fuentes como una fuente de carbono.

Según cualquier aspecto de la presente invención, se puede suministrar un agente reductor, por ejemplo hidrógeno, junto con la fuente de carbono. En particular, este hidrógeno se puede suministrar cuando el C y/o CO₂ se suministra y/o se usa. En un ejemplo, el hidrógeno gaseoso es parte del gas de síntesis presente según cualquier aspecto de la presente invención. En otro ejemplo, cuando el hidrógeno gaseoso en el gas de síntesis sea insuficiente para el método de la presente invención, se puede suministrar hidrógeno gaseoso adicional.

'Alcoholes superiores', según se usa en la presente, se refiere a alcoholes que contienen de 4 a 12 átomos de carbono, en particular, de 4 a 10 átomos de carbono, de 4 a 8 átomos de carbono, de 6 a 10 átomos de carbono y pueden ser algo viscosos, u oleosos, y tener olores frutales más fuertes. Más en particular, el 'alcohol superior' puede comprender la fórmula I posterior y tiene de 4 a 10 átomos de carbono



Fórmula I

R= H, CH₃,

n=1- 6

Los alcoholes superiores pueden incluir, pero no se limitan a, hexanol, heptanol, octanol, nonanol, decanol y similares. Más en particular, el alcohol superior se puede seleccionar del grupo que consiste en 1-butanol, 2-metil-1-butanol, isobutanol, 3-metil-1-butanol, 1-hexanol, 1-octanol, 1-pentanol, 1-heptanol, 3-metil-1-pentanol, 4-metil-1-hexanol, 5-metil-1-heptanol, 4-metil-1-pentanol, 5-metil-1-hexanol, 6-metil-1-heptanol y sus combinaciones.

Un experto conocerá las otras condiciones necesarias para llevar a cabo el método según cualquier aspecto de la presente invención. En particular, las condiciones en el recipiente (p. ej. fermentador) se pueden variar dependiendo de los microorganismos primero y segundo usados. La variación de las condiciones para que sean adecuadas para el funcionamiento óptimo de los microorganismos está dentro del conocimiento de un experto.

En un ejemplo, el método según cualquier aspecto de la presente invención se puede llevar a cabo en un medio acuoso con un pH entre 5 y 8, 5,5 y 7. La presión puede estar entre 1 y 10 bar.

En particular, el medio acuoso puede comprender una fuente de carbono que comprende CO y/o CO₂. Más en particular, la fuente de carbono que comprende CO y/o CO₂ se proporciona al medio acuoso en un flujo gaseoso continuo. Aún más en particular, el flujo gaseoso continuo comprende gas de síntesis. En un ejemplo, los gases son parte del mismo flujo/corriente. En otro ejemplo, cada gas es un flujo/corriente separado proporcionado al medio acuoso. Estos gases se pueden dividir, por ejemplo, usando toberas separadas que se abren dentro del medio acuoso, fritas, membranas dentro del tubo que suministra el gas al medio acuoso y similares.

Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona un uso de la célula según cualquier aspecto de la presente invención para la producción de un alcohol superior.

En la mezcla de reacción según cualquier aspecto de la presente invención, puede haber oxígeno presente. Según esto, los microorganismos según cualquier aspecto de la presente invención pueden desarrollarse aeróbicamente. En particular, se puede proporcionar oxígeno al medio acuoso según cualquier aspecto de la presente invención en un flujo gaseoso continuo. Más en particular, la concentración de O₂ en el flujo gaseoso puede estar presente en menos de 1% en volumen de la cantidad total de gas en el flujo gaseoso. En particular, el oxígeno puede estar presente en un intervalo de concentración de 0,000005 a 2% en volumen, en un intervalo de 0,00005 a 2% en volumen, de 0,0005 a 2% en volumen, de 0,005 a 2% en volumen, de 0,05 a 2% en volumen, de 0,00005 a 1,5% en volumen, de 0,0005 a 1,5% en volumen, de 0,005 a 1,5% en volumen, de 0,05 a 1,5% en volumen, de 0,5 a 1,5% en volumen, de 0,00005 a 1% en volumen, de 0,0005 a 1% en volumen, de 0,005 a 1% en volumen, de 0,05 a 1% en volumen, de 0,5 a 1% en volumen, de 0,55 a 1% en volumen, de 0,60 a 1% en volumen, particularmente en un intervalo de 0,60 a 1,5%, de 0,65 a 1% y de 0,70 a 1% en volumen. En particular, el microorganismo acetogénico es particularmente adecuado cuando la proporción de O₂ en la fase/el flujo gaseoso es aproximadamente 0,00005, 0,0005, 0,005, 0,05, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2% en volumen en relación con el volumen del gas en el flujo gaseoso. Un experto será capaz de usar uno cualquiera de los métodos conocidos en la técnica para medir la concentración en volumen de oxígeno en el flujo gaseoso. En particular, el volumen de oxígeno se puede medir usando cualquier método conocido en la técnica. En un ejemplo, una concentración de oxígeno en fase gaseosa se puede medir mediante una sonda de inmersión para oxígeno vestigial de PreSens Precision Sensing GmbH. La concentración de oxígeno se puede medir mediante extinción de fluorescencia, donde el grado de extinción se correlaciona con la presión parcial de oxígeno en la fase gaseosa. Aún más en particular, los microorganismos primero y segundo según cualquier aspecto de la presente invención son capaces de trabajar óptimamente en el medio acuoso cuando el oxígeno se suministra mediante un flujo gaseoso con concentración de oxígeno de menos de 1% en volumen del gas total, en aproximadamente 0,015% en volumen del volumen total de gas en el flujo gaseoso suministrado a la mezcla de reacción.

El medio acuoso según cualquier aspecto de la presente invención puede comprender oxígeno. El oxígeno se puede disolver en el medio mediante cualesquiera medios conocidos en la técnica. En particular, el oxígeno puede estar presente en 0,5 mg/l. En particular, la concentración disuelta de oxígeno libre en el medio acuoso puede ser al menos 0,01 mg/l. En otro ejemplo, el oxígeno disuelto puede ser aproximadamente 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 mg/l. En particular, la concentración de oxígeno disuelto puede ser 0,01-0,5 mg/l, 0,01-0,4 mg/l, 0,01-0,3 mg/l,

0,01-0,1 mg/l. En particular, el oxígeno se puede proporcionar en el medio acuoso en un flujo gaseoso continuo. Más en particular, el medio acuoso puede comprender oxígeno y una fuente de carbono que comprende CO y/o CO₂. Más en particular, el oxígeno y una fuente de carbono que comprende CO y/o CO₂ se proporcionan al medio acuoso en un flujo gaseoso continuo. Aún más en particular, el flujo gaseoso continuo comprende gas de síntesis y oxígeno. En un ejemplo, ambos gases son parte del mismo flujo/corriente. En otro ejemplo, cada gas es un flujo/corriente separado proporcionado al medio acuoso. Estos gases se pueden dividir, por ejemplo, usando toberas separadas que se abren dentro del medio acuoso, fritas, membranas dentro del tubo que suministra el gas al medio acuoso y similares. El oxígeno puede ser oxígeno libre. Según cualquier aspecto de la presente invención, 'una mezcla de reacción que comprende oxígeno libre' se refiere a la mezcla de reacción que comprende oxígeno elemental en la forma de O₂. El O₂ puede ser oxígeno disuelto en la mezcla de reacción. En particular, el oxígeno disuelto puede estar en la concentración de ≥ 5 ppm (0,000005% en vol; 5×10^{-6}). Un experto puede ser capaz de usar cualquier método conocido en la técnica para medir la concentración de oxígeno disuelto. En un ejemplo, el oxígeno disuelto se puede medir mediante sondas de inmersión para oxígeno (Tipo PSt6 de PreSens Precision Sensing GmbH, Regensburg, Alemania).

En un ejemplo según cualquier aspecto de la presente invención, la fuente de carbono es gas de síntesis y la fuente de carbono se puede combinar con el oxígeno gaseoso antes de suministrarse al medio acuoso. Esta etapa de combinación puede proporcionar la eficacia y la producción de alcoholes superiores en la reacción. La eficacia global, la productividad del alcohol y/o la captura de carbono global del método de la presente invención pueden depender de la estequiometría del CO₂, el CO, el H₂ y el O₂ en el flujo gaseoso continuo. Los flujos gaseosos continuos aplicados pueden ser de composición O₂, CO₂ y H₂. En particular, en el flujo gaseoso continuo, el intervalo de concentración de O₂ puede estar dentro de 0,000005 a 1% en volumen, CO/CO₂ aproximadamente 10 - 50 %, en particular 33% en volumen, y el H₂ estaría dentro de 44% a 84%, en particular, de 64 a 66,04% en volumen. Más en particular, la concentración de gases en el flujo gaseoso continuo puede ser 0,15% en volumen de O₂, 32% en volumen de CO/CO₂ y 64% en volumen de H₂. En otro ejemplo, el flujo gaseoso continuo también puede comprender gases inertes como N₂, hasta una concentración de N₂ de 50% en volumen.

Un experto conocerá lo que puede ser necesario para comprobar la composición y los caudales de las corrientes a intervalos relevantes. El control de la composición de la corriente se puede conseguir al variar las proporciones de las corrientes constituyentes para conseguir una composición elegida o deseable. La composición y el caudal de la corriente combinada se puede comprobar mediante cualesquiera medios conocidos en la técnica. En un ejemplo, el sistema está adaptado para comprobar continuamente los caudales y las composiciones de al menos dos corrientes y combinarlas para producir una sola corriente de sustrato combinada en un flujo gaseoso continuo de composición óptima, y medios para hacer pasar la corriente de sustrato optimizada al cultivo mixto según cualquier aspecto de la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 es el vector pSOS95

EJEMPLOS

Lo precedente describe realizaciones preferidas, que, como se entenderá por los expertos en la técnica, se pueden someter a variaciones o modificaciones en el diseño, la construcción o el funcionamiento sin apartarse del alcance de las reivindicaciones. Estas variaciones, a modo de ejemplo, están destinadas a ser cubiertas por el alcance de las reivindicaciones.

Todas las secuencias dentro de los ejemplos son de los genes conectados entre sí y no incluyen la secuencia del esqueleto del vector pSOS95 real.

Ejemplo 1*Generación de una bacteria acetogénica genéticamente modificada para la formación de butanol*

• Vectores pATH-LEM-04 y pATH-LEM-14

Los genes tiolasa procedente de *C. acetobutylicum* ATTC 824 (thl_Ca) (SEQ ID NO:28), hidroxibutiril-CoA deshidrogenasa procedente de *C. kluyveri* (hbd1_Ck) (SEQ ID NO: 29), crotonasa procedente de *C. kluyveri* (crt1_Ck) (SEQ ID NO:30) y butiril-CoA deshidrogenasa procedente de *C. kluyveri* (bcd1_Ck) (SEQ ID NO:31) se amplifican a partir del genoma correspondiente y se insertaron en el vector pEmpty al usar *KasI* y *BamHI*. Este plásmido (pEmpty) se basaba en el esqueleto plasmídico pSOS95 (Figura 1). Para usar pSOS95, se digirió con *BamHI* y *KasI*. Esto retiraba el operón ctfA-ctfB-adc, pero deja el promotor thl y el terminador independiente de rho de adc. El vector recientemente generado, que soportaba los genes mencionados, se denominó pATH-LEM-02 (SEQ ID NO:51 se refiere a las secuencias de los genes conectados entre sí en pATH-LEM-02 sin la secuencia del vector real).

En una segunda etapa de clonación, el vector pATH-LEM-02 se digirió con *EcoRI* y *KasI* y la CoA-transferasa procedente de *C. kluyveri* (cat3_Ck) (SEQ ID NO:26) se amplificó a partir de ADN genómico y se integró en el vector. El vector recientemente diseñado se denominó pATH-LEM-04. Para crear el vector pATH-LEM-14, el vector pATH-LEM-04 se digirió con *KasI* y *BspEI*. Los genes *etfBA* se amplificaron a partir de ADN genómico de *Clostridium kluyveri* al usar los oligonucleótidos de SEQ ID NOs: 46 y 47.

Un fragmento de cat3 se amplificó a partir de pATH-LEM-04 al usar los oligonucleótidos de SEQ ID NOs: 48 y 49. El fragmento resultante tiene la secuencia de SEQ ID NO:52. A continuación, los dos fragmentos de *cat3* y *etfBA* se fusionaron usando PCR con cebadores de SEQ ID NO: 50 y 49. A continuación, esta inserción de fusión de *cat3* y *etfBA* se añadió al vector abierto por *KasI* y *BspEI*, pATH-LEM-04. El vector resultante se denominó pATH-LEM-14 (SEQ ID NO:20 es la secuencia de los genes buscados fusionados entre sí que se pueden insertar fácilmente en el vector).

• Vectores pATH-Syn4-03 y pATH-LEM-23

Para generar un vector denominado pATH-Syn4-03, se formó en primer lugar un casete con SEQ ID NO:53. Este casete comprendía los genes: tiolasa procedente de *C. acetobutylicum* ATTC 824 (thl_Ca) (SEQ ID NO:28), hidroxibutiril-CoA deshidrogenasa procedente de *C. kluyveri* (hbd1_Ck) (SEQ ID NO: 29) y crotonasa procedente de *C. kluyveri* (crt1_Ck) (SEQ ID NO:30). A continuación, el casete con SEQ ID NO:53 se insertó en el vector pEmpty al usar *KasI* y *BamHI*.

Este plásmido (pEmpty) se basaba en el esqueleto plasmídico pSOS95 (Figura 1). Para usar pSOS95, se digirió con *BamHI* y *KasI*. Esto retira el operón ctfA-ctfB-adc, pero deja el promotor thl y el terminador independiente de rho de adc. En una segunda etapa, el promotor thl se retiró del vector al digerirlo con *SbfI* y *BamHI*. El fragmento del promotor pta (SEQ ID NO: 25 (Ueki y cols. (2014) mBio. 585): 1636-14) se sintetizó y se ligó al vector digerido con *BamHI/SbfI*. El vector recientemente generado, que soporta los genes mencionados y el promotor pta, se denominó pATH-Syn4-14.

El vector pATH-Syn4-14 se abrió con *KasI* y *EcoRI* y se ligó con SEQ ID NO:54 que se sintetizó a partir de CoA-transferasa procedente de *C. kluyveri*. El vector generado se denominó pATH-LEM-23 (SEQ ID NO:21)

• Vectores pATH-LEM-15, pATH-LEM-16, pATH-LEM-24, pATH-LEM-25, pATH-LEM-26

Un casete que contiene tiolasa procedente de *C. acetobutylicum* ATTC 824 (thl_Ca) (SEQ ID NO:29), hidroxibutiril-CoA deshidrogenasa procedente de *C. kluyveri* (hbd1_Ck) (SEQ ID NO: 29) y crotonasa procedente de *C. kluyveri* (crt1_Ck) (SEQ ID NO:30) se sintetizaron y se insertaron en el vector pEmpty al usar *KasI* y *BamHI*. Este plásmido (pEmpty) se basa en el esqueleto plasmídico pSOS95 (Figura 1). Para usar pSOS95, se digirió con *BamHI* y *KasI*. Esto retira el operón ctfA-ctfB-adc, pero deja el promotor thl y el terminador independiente de rho de adc. El vector recientemente generado, que soporta los genes mencionados, se denominó pATH-Syn4-03.

El vector pATH-Syn4-03 se abrió con *KasI* y un casete que contiene butirato-deshidrogenasa procedente de *C. acetobutylicum* (bcd_Ca) (SEQ ID NO:34), proteína de transferencia electrónica procedente de *C. acetobutylicum* (etfBA_Ca) (SEQ ID NOs: 35 y 36) y CoA-transferasa procedente de *C. kluyveri* (cat3_Ck) (SEQ ID NO:26) se ligó mediante clonación *in vitro*. El vector recientemente construido se denomina pATH-LEM-15 (SEQ ID NO:55).

El vector pATH-Syn4-03 se abrió con *KasI/EcoRI* y se ligó con un casete (SEQ ID NO:56 sin la secuencia completa del vector que contiene butirato-deshidrogenasa procedente de *C. kluyveri* (bcd1_Ck) (SEQ ID NO:5), proteína de transferencia electrónica procedente de *C. kluyveri* (etfBA1_Ck) (SEQ ID NOs:8 y 9) y CoA-transferasa procedente de *C. kluyveri* (cat3_Ck) (SEQ ID NO:1). El vector recientemente construido se denomina pATH-LEM-16.

El vector pATH-Syn4-03 se abrió con *KasI* y *EcoRI*. Un fragmento de ADN de CoA-transferasa procedente de *C. kluveri* (SEQ ID NO:57) se sintetizó y se ligó al vector preparado. El vector generado se denominó pATH-LEM-24 (SEQ ID NO:22).

5 Para generar el vector pATH-LEM-25, el plásmido pATH-Syn4-24 se abrió con *AsiSI* y *EcoRI*. Un fragmento de ADN que contiene la butanol deshidrogenasa B procedente de *C. acetobutylicum* (bdhB_Ca) (SEQ ID NO:44) se sintetizó y se ligó al vector preparado. El vector generado se denominó pATH-LEM-25 (SEQ ID NO:23).

10 Para generar el vector pATH-LEM-26, el plásmido pATH-Syn4-25 (SEQ ID NO:23) se abrió con *AsiSI* y *Ascl*. La butanol deshidrogenasa procedente del codón de *E. coli* optimizado para *C. ljungdahlii* (YghD_E(coCl)) (SEQ ID NO:58) se amplificó, se fusionó con un sitio de unión al ribosoma y se ligó al vector preparado. El vector generado se denominó pATH-LEM-26 (SEQ ID NO:24).

• Vectores pATH-LEM-17, pATH-LEM-18, pATH-LEM-19, pATH-LEM-20, pATH-LEM-21

15 El vector pATH-LEM-16 se abrió con *KasI* y *NotI*. Un fragmento de ADN de SEQ ID NO: 59 que contiene butirato-deshidrogenasa 2 procedente de *C. kluveri* (bcd2_Ck) (SEQ ID NO:37) y proteína de transferencia electrónica 2 procedente de *C. klyuveri* (etfBA2_Ck) (SEQ ID NOs: 39 y 38) se ligó. El vector recientemente construido se denominó pATH-LEM-17.

20 Para crear pATH-LEM-18, el vector pATH-LEM-16 se abrió con *KasI* y *NotI*. El fragmento de ADN que contiene la trans-2-enoil-CoA reductasa procedente de *Treponema denticola* (TER_Td(coCl)) (SEQ ID NO:41) optimizada codónicamente se ligó. El vector recientemente construido se denomina pATH-LEM-18.

25 Para crear pATH-LEM-19, el vector pATH-LEM-16 se abrió con *Not* y *AarI*. El fragmento de ADN que contiene la trans-2-enoil-CoA reductasa procedente de *Euglena gracilis* (TER_Eg(coCl)) (SEQ ID NO:40) optimizada codónicamente se ligó. El vector recientemente construido se denominó pATH-LEM-19.

30 El vector pATH-LEM-16 se abrió con *AarI* y *NotI*. El fragmento de ADN que contiene la trans-2-enoil-CoA reductasa procedente de *Caenorhabditis elegans* (TER_Ce(coCl)) (SEQ ID NO:42) optimizada codónicamente se ligó. El vector recientemente construido se denominó pATH-LEM-20.

El vector pATH-LEM-16 se abrió con *FseI* y *NotI*. El fragmento de ADN sintético que contiene la crotonil-CoA reductasa procedente de *Streptomyces collinus* (Ccr_Sc(coCl)) (SEQ ID NO:43) optimizada codónicamente se ligó. El vector recientemente construido se denominó pATH-LEM-21.

35 • Vector pATH-LEM-22

40 Un fragmento de ADN (SEQ ID NO: 60) que contiene la butiril-CoA deshidrogenasa procedente de *C. klyveri* (bcd1_Ck) (SEQ ID NO:31), proteína de transferencia electrónica procedente de *C. kluveri* (etfBA1_Ck) (SEQ ID NOs:32 y 33), la CoA-transferasa procedente de *C. kluveri* (cat3_Ck) (SEQ ID NO:26) y elementos de transcripción (promotor pta y un terminador). El vector originario pATH-Syn4-03 se abrió con *EcoRI* / *XhoI* y el fragmento de ADN (SEQ ID NO: 60) se ligó para producir el vector pATH-LEM-22.

Transformación de Acetógenos:

La transformación de *C. ljungdahlii* DSMZ 13528 y *C. autoethanogenum* DSMZ 10061 se realizó según se divulga en Leang y cols. (2013) Applied and Environmental Microbiology 79(4): 1102-1109.

Ejemplo 2

45 *Fermentación de cepas genéticamente modificadas sobre mezclas de H₂, CO₂ y CO que muestran formación de ácidos y alcoholes superiores.*

Para el cultivo celular de

pATH-LEM-04 de *C. ljungdahlii*

pATH-LEM-14 de *C. ljungdahlii*

50 pATH-LEM-15 de *C. ljungdahlii*

- pATh-LEM-16 de *C. ljungdahlii*
- pATh-LEM-17 de *C. ljungdahlii*
- pATh-LEM-18 de *C. ljungdahlii*
- pATh-LEM-19 de *C. ljungdahlii*
- 5 pATh-LEM-20 de *C. ljungdahlii*
- pATh-LEM-21 de *C. ljungdahlii*
- pATh-LEM-22 de *C. ljungdahlii*
- pATh-LEM-23 de *C. ljungdahlii*
- pATh-LEM-24 de *C. ljungdahlii*
- 10 pATh-LEM-25 de *C. ljungdahlii*
- pATh-LEM-26 de *C. ljungdahlii*
- pEmpty de *C. ljungdahlii*
- pATh-LEM-04 de *C. autoethanogenum*
- pATh-LEM-14 de *C. autoethanogenum*
- 15 pATh-LEM-15 de *C. autoethanogenum*
- pATh-LEM-16 de *C. autoethanogenum*
- pATh-LEM-17 de *C. autoethanogenum*
- pATh-LEM-18 de *C. autoethanogenum*
- pATh-LEM-19 de *C. autoethanogenum*
- 20 pATh-LEM-20 de *C. autoethanogenum*
- pATh-LEM-21 de *C. autoethanogenum*
- pATh-LEM-22 de *C. autoethanogenum*
- pATh-LEM-23 de *C. autoethanogenum*
- pATh-LEM-24 de *C. autoethanogenum*
- 25 pATh-LEM-25 de *C. autoethanogenum*
- pATh-LEM-26 de *C. autoethanogenum*
- pEmpty de *C. autoethanogenum*

5 ml del cultivo se desarrollarán anaeróbicamente en 500 ml de medio LM33 con 100 mg/l de eritromicina.

El medio LM 33 se preparó a pH 5,5 como sigue en las tablas 1-3. Todos los ingredientes con la excepción del HCl de cisteína se mezclaron en dH₂O hasta un volumen total de 1 l. Esta solución se hizo anaerobia al calentar hasta el punto de ebullición y permitir que se enfriara hasta temperatura ambiente bajo un flujo constante de N₂ gaseoso. Una vez frío, el HCl de cisteína (0,5 g/l) se añadió y el pH de la solución se ajustó hasta 5,5; la anaerobicidad se mantuvo a lo largo de los experimentos.

5

Tabla 1. Componente del medio (LM-33) usado en el Ejemplo 1

Componente del medio	concentración	
MgCl ₂ x 6 H ₂ O	0,5	g/l
NaCl	0,2	g/l
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,135	g/l
NaH ₂ PO ₄ x 2 H ₂ O	2,65	g/l
KCl	0,5	g/l
NH ₄ Cl	2,5	g/l
MES	20,0	g/l
Solución de elementos vestigiales LS06	10	ml/l
Solución de vitaminas LS03	10	ml/l
Solución de FeCl ₃	2	ml/l

10

Tabla 2. Solución de elementos vestigiales LS06

componentes	concentración
Ácido nitriloacético	1,5 g/l
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	3 g/l
MnSO ₄ x H ₂ O	0,5 g/l
NaCl	1 g/l
FeSO ₄ x 7 H ₂ O	0,1 g/l
Fe(SO ₄) ₂ (NH ₄) ₂ x 6 H ₂ O	0,8 g/l
CoCl ₂ x 6 H ₂ O	0,2 g/l
ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	0,2 g/l
CuCl ₂ x 2 H ₂ O	0,02 g/l
KAl(SO ₄) ₂ x 12 H ₂ O	0,02 g/l
H ₃ BO ₃	0,3 g/l
Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,03 g/l
Na ₂ SeO ₃	0,02 g/l
NiCl ₂ x 6 H ₂ O	0,02 g/l
Na ₂ WO ₄ x 6 H ₂ O	0,02 g/l

Tabla 3 Solución de vitaminas LS03

Biotina	20	mg/l
Ácido fólico	20	mg/l
HCl de piridoxina	10	mg/l
HCl de tiamina	50	mg/l
Riboflavina	50	mg/l
Ácido nicotínico	50	mg/l
D-(+)-Pantotenato cálcico	50	mg/l
Vitamina B12	50	mg/l
Ácido p-aminobenzoico	50	mg/l
Ácido lipoico	50	mg/l

El cultivo se lleva a cabo por duplicado en botellas de vidrio de 1 l con una mezcla de gases premezclados compuesta aproximadamente por H₂, CO₂ y CO en un agitador de baño de agua abierto a 37°C, 150 rpm y aireación de 3 l/h durante 70 h. El gas entrará en el medio a través de un filtro con un tamaño de poro de 10 micras, que se montará en el medio del reactor, en un tubo de gasificación. Cuando muestrea, cada 5 ml de muestra se retirarán para la determinación de la OD₆₀₀ nm, el pH y la gama de productos. La determinación de la concentración del producto se realizará mediante espectroscopía de ¹H-NMR semicuantitativa. Como un patrón de cuantificación interno se usará trimetilsililpropionato sódico. En contraste con los controles negativos pEmpty de *C. ljungdahlii* y pEmpty de *C. autoethanogenum*, las cepas modificadas producirán butirato, butanol, hexanoato, hexanol, octanoato y octanol.

Ejemplo 3

Materiales y Métodos

En los siguientes ejemplos, se cultivaron *Clostridium ljungdahlii* o *Clostridium autoethanogenum* genéticamente modificadas a fin de producir butanol y/o los precursores 3-hidroxibutirato y/o butirato. Se usó un medio complejo con 5 g/l de fructosa, que consistía en 1 g/l de NH₄Cl, 0,1 g/l de KCl, 0,2 g/l de MgSO₄ x 7 H₂O, 0,8 g/l de NaCl, 0,1 g/l de KH₂PO₄, 20 mg/l de CaCl₂ x 2 H₂O, 20 g/l de MES, 1 g/l de extracto de levadura, 0,4 g/l de HCl de L-cisteína, 0,4 g/l de Na₂S x 9 H₂O, 20 mg/l de ácido nitrilotriacético, 10 mg/l de MnSO₄ x H₂O, 8 mg/l de (NH₄)₂Fe(SO₄)₂ x 6 H₂O, 2 mg/l de CoCl₂ x 6 H₂O, 2 mg/l de ZnSO₄ x 7 H₂O, 0,2 mg/l de CuCl₂ x 2 H₂O, 0,2 mg/l de Na₂MoO₄ x 2 H₂O, 0,2 mg/l de NiCl₂ x 6 H₂O, 0,2 mg/l de Na₂SeO₄, 0,2 mg/l de Na₂WO₄ x 2 H₂O, 20 µg/l de biotina, 20 µg/l de ácido fólico, 100 µg/l de HCl de piridoxina, 50 µg/l de HCl de tiamina x H₂O, 50 µg/l de riboflavina, 50 µg/l de ácido nicotínico, 50 µg/l de ácido pantoténico Ca, 1 µg/l de vitamina B12, 50 µg/l de ácido p-aminobenzoico, 50 µg/l de ácido lipoico.

Los cultivos heterotróficos se realizaron en 50 ml de medio en una botella para suero de 250 ml. La botella para suero se agitó continuamente en un baño de agua abierto Innova 3100 de New Brunswick Scientific a 37°C y una velocidad de agitación de 150 min⁻¹.

Los experimentos se inocularon con 5 ml de suspensión celular desarrollada en tubos de Hungate en el medio descrito anteriormente. Durante el experimento, se tomaron muestras de 5 ml para la determinación de la OD₆₀₀, el pH y las concentraciones de productos. Las últimas se determinaron mediante espectroscopía de ¹H-NMR-cuantitativa.

Resultados y Análisis:

Ejemplo 3a

Cultivo de pATH-LEM-14 de *Clostridium ljungdahlii* genéticamente modificada

pATH-LEM-14 de *C. ljungdahlii* genéticamente modificada según se muestra en los Ejemplos 1 y 2 se cultivó heterotróficamente bajo las condiciones descritas anteriormente.

Después de la inoculación, las células se desarrollaban hasta una densidad óptica máxima de 1,82 después de 56,6 horas. Aparte de los productos naturales acetato y etanol, se midió una concentración máxima de butanol de 59 mg/l después de 56,6 h. Se produjo butirato hasta una concentración de 200 mg/l. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultados de la fermentación de pATH-LEM-14 de *C. ljungdahlii* (n.d. = no detectado)

Tiempo procesamiento, h	de	pH	OD ₆₀₀	Analítica por NMR				
				Acetato, mg/l	Etanol, mg/l	3-Hidroxibutirato, mg/l	n-Butanol, mg/l	Butirato, mg/l
0,0		5,96	0,14	160	17	n.d.	n.d.	41
56,6		5,01	1,82	2650	500	n.d.	59	190
117,7		5,03	1,21	2700	490	n.d.	59	200

Ejemplo 3b

Cultivo de pATH-LEM-23 de *Clostridium ljungdahlii* genéticamente modificada

pATH-LEM-23 de *C. ljungdahlii* genéticamente modificada se cultivó heterotróficamente bajo las condiciones descritas anteriormente. Después de la inoculación, las células se desarrollaban hasta una densidad óptica máxima de 1,21

después de 113,6 horas. Aparte de los productos naturales acetato y etanol, se midió una concentración máxima de butanol de 8 mg/l después de 113,6 h. Se produjeron 3-hidroxibutirato y butirato hasta concentraciones de 230 mg/l y 15 mg/ml, respectivamente. Los resultados se muestran en la Tabla 6.

5 Tabla 5. Resultados de la fermentación de pATH-LEM-23 de *C. ljungdahlii* (n.d. = no detectado)

Tiempo de procesamiento, h	pH	OD ₆₀₀	Analítica por NMR				
			Acetato, mg/l	Etanol, mg/l	3-Hidroxibutirato, mg/l	n-Butanol, mg/l	Butirato, mg/l
0,0	5,91	0,14	210	25	25	n.d.	n.d.
113,6	4,99	1,21	2950	520	230	8	15

Ejemplo 3c

Cultivo de pATH-LEM-24 de *Clostridium ljungdahlii* genéticamente modificada

10 pATH-LEM-24 de *C. ljungdahlii* genéticamente modificada se cultivó heterotróficamente bajo las condiciones descritas anteriormente. Después de la inoculación, las células se desarrollaban hasta una densidad óptica máxima de 1,92 después de 113,6 horas. Aparte de los productos naturales acetato y etanol, se midió una concentración máxima de butanol de 7 mg/l después de 113,6 h. Se produjeron 3-hidroxibutirato y butirato hasta concentraciones de 170 mg/l y 12 mg/ml, respectivamente. Los resultados se muestran en la Tabla 7.

15 Tabla 6. Resultados de la fermentación de pATH-LEM-24 de *C. ljungdahlii* (n.d. = no detectado)

Tiempo de procesamiento, h	de pH	OD ₆₀₀	Analítica por NMR				
			Acetato, mg/l	Etanol, mg/l	3-Hidroxibutirato, mg/l	n-Butanol, mg/l	Butirato, mg/l
0,0	5,94	0,06	91	15	17	n.d.	n.d.
113,6	4,95	1,92	3000	580	170	7	12

Ejemplo 3d

Cultivo de pATH-LEM-25 de *Clostridium ljungdahlii* genéticamente modificada

20 pATH-LEM-25 de *C. ljungdahlii* genéticamente modificada se cultivó heterotróficamente bajo las condiciones descritas anteriormente. Después de la inoculación, las células se desarrollaban hasta una densidad óptica máxima de 1,52 después de 117,4 horas. Aparte de los productos naturales acetato y etanol, no se detectaba butanol. El butirato tenía un pico de 13 mg/l después de 51,1 horas, pero se consumía de nuevo posteriormente. El 3-hidroxibutirato precursor se producía hasta una concentración de 73 mg/l. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

25 Tabla 7. Resultados de la fermentación de pATH-LEM-25 de *C. ljungdahlii* (n.d. = no detectado)

Tiempo de procesamiento, h	de pH	OD ₆₀₀	Analítica por NMR				
			Acetato, mg/l	Etanol, mg/l	3-Hidroxibutirato, mg/l	n-Butanol, mg/l	Butirato, mg/l
0,0	6,01	0,07	88	19	17	n.d.	n.d.
51,1	5,82	0,61	730	320	55	n.d.	13
117,4	5,04	1,52	2800	640	73	n.d.	n.d.

Ejemplo 3e

Cultivo de pATH-LEM-23 de *Clostridium autoethanogenum* genéticamente modificada

30 En este ejemplo, pATH-LEM-23 de *C. autoethanogenum* genéticamente modificada se cultivó heterotróficamente bajo las condiciones descritas anteriormente.

Después de la inoculación, las células se desarrollaban hasta una densidad óptica máxima de 0,98 después de 117,4 horas. Aparte de los productos naturales acetato y etanol, no se detectaba butanol. El butirato precursor tenía un pico de 6 mg/l después de 51,1 horas, pero se consumía de nuevo posteriormente. El 3-hidroxibutirato precursor se producía hasta una concentración de 140 mg/l. Los resultados se muestran en la Tabla 9.

5

Tabla 8. Resultados de la fermentación de pATh-LEM-23 de *C. autoethanogenum* (n.d. = no detectado)

Tiempo procesamiento, h	de	pH	OD ₆₀₀	Analítica por NMR				
				Acetato, mg/l	Etanol, mg/l	3-Hidroxibutirato, mg/l	n-Butanol, mg/l	Butirato, mg/l
0,0		5,98	0,08	120	31	12	n.d.	n.d.
51,1		5,93	0,27	350	180	16	n.d.	6
117,4		5,26	0,98	2200	760	140	n.d.	n.d.

Ejemplo 3f

Cultivo de *Clostridium ljungdahlii* DSM 13528 silvestre (silvestre)

- 10 El tipo silvestre de *C. ljungdahlii* (DSM 13528) se cultivó heterotróficamente bajo las condiciones descritas anteriormente. Después de la inoculación, las células empezaban a desarrollarse hasta una densidad óptica máxima de 1,20 después de 68,5 horas. Solamente se medían los productos naturales acetato y etanol después de 68,5 h hasta concentraciones máximas de 1197 mg/l y etanol, respectivamente.

15

Tabla 9. Resultados de la fermentación de *C. ljungdahlii* silvestre (n.d. = no detectado)

Tiempo procesamiento, h	de	pH	OD ₆₀₀	Analítica por NMR				
				Acetato, mg/l	Etanol, mg/l	3-Hidroxibutirato, mg/l	n-Butanol, mg/l	Butirato, mg/l
0,0		6,00	0,11	156	15	n.d.	n.d.	n.d.
68,5		5,61	1,20	1197	402	n.d.	n.d.	n.d.

Listado de secuencias

<110> Evonik Degussa GmbH

- 20 <120> UNA CÉLULA ACETOGENICA GENÉTICAMENTE MODIFICADA

<130> 201500216

<150> EP15200673

< 151> 2015-12-17

<160> 60

- 25 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

< 211> 437

< 212> PRT

< 213> *Clostridium kluyveri*

ES 2 803 208 T3

<400> 1

```

Met Val Phe Lys Asn Trp Gln Asp Leu Tyr Lys Ser Lys Ile Val Ser
1              5              10              15

Ala Asp Glu Ala Val Ser Lys Val Ser Cys Gly Asp Ser Ile Ile Leu
20              25              30

Gly Asn Ala Cys Gly Ala Ser Leu Thr Leu Leu Asp Ala Leu Ala Ala
35              40              45

Asn Lys Glu Lys Tyr Lys Ser Val Lys Ile His Asn Leu Ile Leu Asn
50              55              60

Tyr Lys Asn Asp Ile Tyr Thr Asp Pro Glu Ser Glu Lys Tyr Ile His
65              70              75              80

Gly Asn Thr Phe Phe Val Ser Gly Gly Thr Lys Glu Ala Val Asn Cys
85              90              95

Asn Arg Thr Asp Tyr Thr Pro Cys Phe Phe Tyr Glu Ile Pro Lys Leu
100             105             110

Leu Lys Gln Lys Tyr Ile Asn Ala Asp Val Ala Phe Ile Gln Val Ser
115             120             125

Lys Pro Asp Ser His Gly Tyr Cys Ser Phe Gly Val Ser Thr Asp Tyr
130             135             140

Ser Gln Ala Met Val Gln Ser Ala Lys Leu Ile Ile Ala Glu Val Asn
145             150             155             160

Asp Gln Met Pro Arg Val Leu Gly Asp Asn Phe Ile His Ile Ser Asp

```

ES 2 803 208 T3

165	170	175
Met Asp Tyr Ile Val Glu Ser Ser Arg Pro Ile Leu Glu Leu Thr Pro		
180	185	190
Pro Lys Ile Gly Glu Val Glu Lys Thr Ile Gly Lys Tyr Cys Ala Ser		
195	200	205
Leu Val Glu Asp Gly Ser Thr Leu Gln Leu Gly Ile Gly Ala Ile Pro		
210	215	220
Asp Ala Val Leu Leu Phe Leu Lys Asp Lys Lys Asp Leu Gly Ile His		
225	230	240
Ser Glu Met Ile Ser Asp Gly Val Val Glu Leu Val Glu Ala Gly Val		
245	250	255
Ile Thr Asn Lys Lys Lys Ser Leu His Pro Gly Lys Ile Ile Ile Thr		
260	265	270
Phe Leu Met Gly Thr Lys Lys Leu Tyr Asp Phe Ile Asn Asp Asn Pro		
275	280	285
Met Val Glu Gly Tyr Pro Val Asp Tyr Val Asn Asp Pro Lys Val Ile		
290	295	300
Met Gln Asn Ser Lys Met Val Cys Ile Asn Ser Cys Val Glu Val Asp		
305	310	315
Phe Thr Gly Gln Val Cys Ala Glu Ser Val Gly Phe Lys Gln Ile Ser		
325	330	335
Gly Val Gly Gly Gln Val Asp Tyr Met Arg Gly Ala Ser Met Ala Asp		
340	345	350
Gly Gly Lys Ser Ile Leu Ala Ile Pro Ser Thr Ala Ala Gly Gly Lys		
355	360	365
Ile Ser Arg Ile Val Pro Ile Leu Thr Glu Gly Ala Gly Val Thr Thr		
370	375	380
Ser Arg Tyr Asp Val Gln Tyr Val Val Thr Glu Tyr Gly Ile Ala Leu		
385	390	395
Leu Lys Gly Lys Ser Ile Arg Glu Arg Ala Lys Glu Leu Ile Lys Ile		
405	410	415
Ala His Pro Lys Phe Arg Glu Glu Leu Thr Ala Gln Phe Glu Lys Arg		
420	425	430
Phe Ser Cys Lys Leu		
435		

<210> 2

< 211> 392

< 212> PRT

< 213> Clostridium acetobutylicum

5 <400> 2

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

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

Ala Ile Lys Glu Ala Val Lys Lys Ala Gly Ile Lys Pro Glu Asp Val
35 40 45

Asn Glu Val Ile Leu Gly Asn Val Leu Gln Ala Gly Leu Gly Gln Asn
50 55 60

Pro Ala Arg Gln Ala Ser Phe Lys Ala Gly Leu Pro Val Glu Ile Pro
65 70 75 80

Ala Met Thr Ile Asn Lys Val Cys Gly Ser Gly Leu Arg Thr Val Ser
85 90 95

Leu Ala Ala Gln Ile Ile Lys Ala Gly Asp Ala Asp Val Ile Ile Ala
100 105 110

Gly Gly Met Glu Asn Met Ser Arg Ala Pro Tyr Leu Ala Asn Asn Ala
115 120 125

Arg Trp Gly Tyr Arg Met Gly Asn Ala Lys Phe Val Asp Glu Met Ile
130 135 140

Thr Asp Gly Leu Trp Asp Ala Phe Asn Asp Tyr His Met Gly Ile Thr
145 150 155 160

Ala Glu Asn Ile Ala Glu Arg Trp Asn Ile Ser Arg Glu Glu Gln Asp
165 170 175

Glu Phe Ala Leu Ala Ser Gln Lys Lys Ala Glu Glu Ala Ile Lys Ser
180 185 190

ES 2 803 208 T3

Gly Gln Phe Lys Asp Glu Ile Val Pro Val Val Ile Lys Gly Arg Lys
195 200 205

Gly Glu Thr Val Val Asp Thr Asp Glu His Pro Arg Phe Gly Ser Thr
210 215 220

Ile Glu Gly Leu Ala Lys Leu Lys Pro Ala Phe Lys Lys Asp Gly Thr
225 230 235 240

Val Thr Ala Gly Asn Ala Ser Gly Leu Asn Asp Cys Ala Ala Val Leu
245 250 255

Val Ile Met Ser Ala Glu Lys Ala Lys Glu Leu Gly Val Lys Pro Leu
260 265 270

Ala Lys Ile Val Ser Tyr Gly Ser Ala Gly Val Asp Pro Ala Ile Met
275 280 285

Gly Tyr Gly Pro Phe Tyr Ala Thr Lys Ala Ala Ile Glu Lys Ala Gly
290 295 300

Trp Thr Val Asp Glu Leu Asp Leu Ile Glu Ser Asn Glu Ala Phe Ala
305 310 315 320

Ala Gln Ser Leu Ala Val Ala Lys Asp Leu Lys Phe Asp Met Asn Lys
325 330 335

Val Asn Val Asn Gly Gly Ala Ile Ala Leu Gly His Pro Ile Gly Ala
340 345 350

Ser Gly Ala Arg Ile Leu Val Thr Leu Val His Ala Met Gln Lys Arg
355 360 365

Asp Ala Lys Lys Gly Leu Ala Thr Leu Cys Ile Gly Gly Gly Gln Gly
370 375 380

Thr Ala Ile Leu Leu Glu Lys Cys
385 390

<210> 3

< 211> 282

< 212> PRT

5 < 213> Clostridium kluyveri

<400> 3

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

ES 2 803 208 T3

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

<210> 4

5 <211> 258

ES 2 803 208 T3

< 212> PRT

< 213> Clostridium kluyveri

<400> 4

```

Met Glu Phe Lys Asn Ile Ile Leu Glu Lys Asp Gly Asn Val Ala Ser
 1              5              10              15

Ile Thr Leu Asn Arg Pro Lys Ala Leu Asn Ala Leu Asn Ala Ala Thr
      20              25              30

Leu Lys Glu Ile Asp Ala Ala Ile Asn Asp Ile Ala Glu Asp Asp Asn
      35              40              45

Val Tyr Ala Val Ile Ile Thr Gly Ser Gly Lys Ala Phe Val Ala Gly
      50              55              60

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

Phe Ser Val Leu Gly Asn Lys Ile Phe Arg Lys Leu Glu Asn Leu Glu
      85              90              95

Lys Pro Val Ile Ala Ala Ile Asn Gly Phe Ala Leu Gly Gly Gly Cys
      100              105              110

Glu Leu Ser Leu Ser Cys Asp Ile Arg Ile Ala Ser Ser Lys Ala Lys
      115              120              125

Phe Gly Gln Pro Glu Val Gly Leu Gly Ile Thr Pro Gly Phe Gly Gly
      130              135              140

Thr Gln Arg Leu Ala Arg Ala Ile Gly Val Gly Met Ala Lys Glu Leu
145              150              155              160

Ile Tyr Thr Gly Lys Val Ile Asn Ala Glu Glu Ala Leu Arg Ile Gly
      165              170              175

Leu Val Asn Lys Val Val Glu Pro Asp Lys Leu Leu Glu Glu Ala Lys
      180              185              190

Ala Leu Val Asp Ala Ile Ile Val Asn Ala Pro Ile Ala Val Arg Met
      195              200              205

```

ES 2 803 208 T3

Cys Lys Ala Ala Ile Asn Gln Gly Leu Gln Cys Asp Ile Asp Thr Gly
210 215 220

Val Ala Tyr Glu Ala Glu Val Phe Gly Glu Cys Phe Ala Thr Glu Asp
225 230 235 240

Arg Val Glu Gly Met Thr Ala Phe Val Glu Lys Arg Asp Lys Ala Phe
245 250 255

Lys Asn

<210> 5

< 211> 379

< 212> PRT

5 < 213> Clostridium kluyveri

<400> 5

Met Asp Phe Thr Leu Thr Asn Glu Gln Lys Phe Val Glu Gln Met Val
1 5 10 15

Ser Glu Phe Thr Glu Asn Glu Val Lys Pro Ile Ala Ala Glu Ile Asp
20 25 30

Glu Thr Glu Arg Phe Pro Leu Glu Thr Val Glu Lys Phe Ala Lys Tyr
35 40 45

Gly Met Met Gly Met Pro Phe Pro Val Glu Tyr Gly Gly Ser Gly Thr
50 55 60

Asp Tyr Leu Ser Tyr Ile Ile Ala Val Glu Gly Leu Ala Lys Ser Cys
65 70 75 80

Thr Ser Ser Ser Thr Ile Leu Ser Ala His Thr Ser Leu Cys Ala Ala
85 90 95

Pro Ile Tyr Asp Trp Gly Thr Glu Glu Gln Lys Gln Lys Tyr Leu Val
100 105 110

Pro Leu Ala Lys Gly Glu Lys Leu Gly Ala Phe Gly Leu Thr Glu Pro
115 120 125

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

Gly Asp His Tyr Val Leu Asn Gly Gln Lys Ile Phe Ile Thr Asn Gly
145 150 155 160

ES 2 803 208 T3

Ala Tyr Ala Asp Thr Phe Val Ile Phe Ala Met Thr Asp Arg Ser Lys
165 170 175

Gly Thr Arg Gly Ile Thr Ala Phe Ile Val Glu Lys Asp Phe Pro Gly
180 185 190

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

Thr Thr Glu Leu Ile Phe Glu Asn Cys Ile Val Pro Lys Glu Asn Met
210 215 220

Leu Gly Lys Glu Gly Lys Gly Phe Thr Val Ala Met His Thr Leu Asp
225 230 235 240

Gly Gly Arg Ile Gly Ile Ala Ala Gln Ala Leu Gly Leu Ala Glu Gly
245 250 255

Ala Leu Ala Glu Ala Leu Asn Tyr Met Lys Glu Arg Lys Gln Phe Gly
260 265 270

Lys Ala Leu Tyr Lys Phe Gln Gly Leu Ala Trp Met Val Ala Glu Leu
275 280 285

Asp Thr Lys Ile Glu Ala Val Lys Gln Leu Val Tyr Lys Ala Ala Val
290 295 300

Asn Lys Gln Met Gly Leu Pro Tyr Ser Val Glu Ala Ala Arg Ala Lys
305 310 315 320

Leu Ala Ala Ala Thr Val Ala Met Glu Thr Thr Thr Lys Val Val Gln
325 330 335

Ile Phe Gly Gly Tyr Gly Phe Thr Lys Asp Tyr Pro Val Glu Arg Met
340 345 350

Met Arg Asp Ala Lys Ile Thr Glu Ile Tyr Glu Gly Thr Ser Gln Val
355 360 365

Gln Lys Met Val Ile Ser Ala Asn Leu Phe Lys
370 375

<210> 6

< 211> 379

< 212> PRT

5 < 213> Clostridium acetobutylicum

<400> 6

ES 2 803 208 T3

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

ES 2 803 208 T3

Ala Phe Asn Glu Ala Arg Ala Tyr Met Lys Glu Arg Lys Gln Phe Gly
260 265 270

Arg Ser Leu Asp Lys Phe Gln Gly Leu Ala Trp Met Met Ala Asp Met
275 280 285

Asp Val Ala Ile Glu Ser Ala Arg Tyr Leu Val Tyr Lys Ala Ala Tyr
290 295 300

Leu Lys Gln Ala Gly Leu Pro Tyr Thr Val Asp Ala Ala Arg Ala Lys
305 310 315 320

Leu His Ala Ala Asn Val Ala Met Asp Val Thr Thr Lys Ala Val Gln
325 330 335

Leu Phe Gly Gly Tyr Gly Tyr Thr Lys Asp Tyr Pro Val Glu Arg Met
340 345 350

Met Arg Asp Ala Lys Ile Thr Glu Ile Tyr Glu Gly Thr Ser Glu Val
355 360 365

Gln Lys Leu Val Ile Ser Gly Lys Ile Phe Arg
370 375

<210> 7

< 211> 562

< 212> PRT

5 < 213> Clostridium kluyveri

<400> 7

Met Asn Phe Glu Leu Thr Lys Glu Gln Gln Met Ile Arg Asp Asn Val
1 5 10 15

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

Glu Lys Asn Ile Phe Pro Glu Glu Ile Val Asn Glu Met Gly Asp Leu
35 40 45

Ser Ile Met Gly Leu Pro Tyr Pro Lys Glu Tyr Gly Gly Ala Gly Lys
50 55 60

Asp Val Leu Ser Tyr Ala Ile Ala Val Glu Glu Leu Ser Arg Val Asp
65 70 75 80

Ala Gly Val Gly Val Ile Leu Ser Ala His Thr Ser Leu Gly Thr Trp
85 90 95

ES 2 803 208 T3

Pro Ile Met Glu Phe Gly Thr Lys Glu Gln Lys Glu Lys Tyr Leu Val
 100 105 110

Pro Leu Ala Ser Gly Lys Lys Ile Ala Ala Phe Gly Leu Thr Glu Pro
 115 120 125

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

Gly Asp His Tyr Val Ile Asn Gly Ser Lys Val Phe Ile Thr Asn Ala
 145 150 155 160

Asp Tyr Ala Asp Thr Tyr Val Ile Phe Ala Val Thr Thr Pro Gly Leu
 165 170 175

Gly Thr Lys Gly Ile Ser Ala Phe Ile Ile Glu Lys Gly Met Asp Gly
 180 185 190

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

Thr Ala Glu Leu Leu Phe Lys Asn Leu Lys Val Pro Lys Tyr Asn Leu
 210 215 220

Leu Gly Lys Glu Asn Glu Gly Phe Lys Ile Ala Met Gln Thr Leu Glu
 225 230 235 240

Gly Gly Arg Ile Gly Ile Ala Ala Gln Ala Leu Gly Ile Ala Gln Gly
 245 250 255

Ala Tyr Glu Lys Ala Leu Ser Tyr Ser Lys Glu Arg Val Gln Phe Gly
 260 265 270

Lys Pro Ile Ser Arg Gln Gln Ser Ile Ala Phe Lys Leu Ala Asp Met
 275 280 285

Ala Thr Lys Ile Arg Ala Ala Arg Phe Met Val Tyr Ser Ala Ala Val
 290 295 300

Leu Lys Gln Glu His Lys Asn Tyr Gly Met Glu Ser Ala Met Ala Lys
 305 310 315 320

Leu Tyr Ala Ser Asp Ile Cys Leu Glu Val Val Asn Asp Ala Val Gln
 325 330 335

Ile Tyr Gly Gly Ser Gly Phe Ile Lys Gly Phe Pro Val Glu Arg Met

ES 2 803 208 T3

340	345	350
Tyr Arg Asp Ala Lys Ile Cys Thr Ile Tyr Glu Gly Thr Asn Glu Ile		
355	360	365
Gln Arg Leu Ile Ile Ser Asn Asp Ile Leu Gly Lys Pro Lys Lys Glu		
370	375	380
Pro Ile Glu Glu Asn Lys Glu Asn Lys Val Asn Lys Ala Lys Pro Ile		
385	390	400
Thr Gly Asn Arg Arg Arg Val Ile Ile Lys Glu Gly Ser Pro Lys Glu		
	405	410
		415
Lys Val Asp Ala Phe Leu Asn Tyr Ile Lys Ser Glu Asn Ile Asp Ile		
	420	425
		430
Asn Lys Ser Glu Ala Ser Lys Gly Ser Ile Ala Asp Ala Asp Lys Val		
	435	440
		445
Cys Ser Ile Gly Leu Gly Leu Lys Asp Lys Lys Asp Leu Pro Leu Ile		
	450	455
		460
Gln Ser Leu Ala Asp Thr Val Gly Ala Glu Leu Gly Cys Ser Arg Pro		
	465	470
		475
		480
Val Ala Glu Glu Arg Glu Trp Leu Pro Leu Asp Arg Tyr Val Gly Ile		
	485	490
		495
Ser Gly Gln Lys Phe Gly Gly Thr Phe Tyr Leu Ala Ile Gly Ile Ser		
	500	505
		510
Gly Gln Val Gln His Leu Lys Gly Ile Glu Asn Ala Gly Ile Ile Thr		
	515	520
		525
Ala Ile Asn Ile Asp Glu Asp Ala Pro Ile Phe Lys Ser Ser Asp Tyr		
	530	535
		540
Gly Ile Val Gly Asp Leu Tyr Glu Ile Val Pro Leu Leu Ile Glu Ala		
	545	550
		555
		560

Leu Lys

<210> 8

< 211> 259

< 212> PRT

5 < 213> Clostridium kluyveri

<400> 8

ES 2 803 208 T3

Met Lys Ile Val Val Cys Leu Lys Gln Val Pro Asp Thr Thr Glu Val
1 5 10 15

Lys Ile Asp Pro Lys Thr Gly Thr Leu Ile Arg Glu Gly Val Pro Ser
20 25 30

Ile Ile Asn Pro Asp Asp Lys Asn Ala Leu Glu Glu Ser Ile Ala Leu
35 40 45

Lys Glu Lys Val Gly Gly Thr Val Thr Val Val Ser Met Gly Pro Pro
50 55 60

Gln Ala Val Asp Ala Leu Arg Glu Ala Leu Ala Met Gly Ala Asp Glu
65 70 75 80

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

Thr Ser Tyr Ala Leu Ala Gly Ala Leu Lys Asn Leu Glu Tyr Asp Leu
100 105 110

Ile Phe Ala Gly Arg Gln Ala Ile Asp Gly Asp Thr Ala Gln Val Gly
115 120 125

Pro Gln Ile Ala Glu Lys Leu Gly Ile Pro Gln Ile Thr Tyr Val Glu
130 135 140

Lys Val Asp Val Asp Gly Asp Thr Leu Thr Val Gln Arg Ala Trp Glu
145 150 155 160

Asp Gly Tyr Glu Val Ala Lys Ile Lys Thr Pro Cys Met Leu Thr Ala
165 170 175

Ile Lys Glu Leu Asn Gln Pro Arg Tyr Met Asn Met Lys Asn Ile Phe
180 185 190

Glu Val Phe Lys Lys Glu Val Lys Ile Trp Ser Ala Asp Asp Leu Asp
195 200 205

Val Asp Lys Asn Lys Leu Gly Leu Asn Gly Ser Cys Thr Lys Val Lys
210 215 220

Arg Ser His Thr Lys Glu Ala Lys Gly Ala Gly Glu Ile Val Asn Lys
225 230 235 240

Pro Ile Lys Glu Ala Val Ala Tyr Ser Ile Ser Lys Leu Arg Glu Lys
245 250 255

His Val Ile

<210> 9

5 <211> 334

ES 2 803 208 T3

< 212> PRT

< 213> Clostridium kluyveri

<400> 9

Met Asn Leu Ala Glu Tyr Lys Gly Val Trp Val Phe Ala Glu Gln Arg
1 5 10 15

Asp Gly Glu Leu Gln Lys Val Ala Leu Gln Leu Val Gly Lys Gly Arg
20 25 30

Glu Leu Ala Asp Thr Leu Gly Val Glu Leu Thr Ala Val Leu Leu Gly
35 40 45

Ser Glu Val Asp Asp Leu Ala Lys Glu Leu Val Ala Tyr Gly Ala Asp
50 55 60

Asn Val Leu Tyr Ala Asp Ser Pro Leu Leu Lys His Tyr Thr Thr Asp
65 70 75 80

Gly Tyr Thr Lys Val Ile Asp Glu Leu Ile Lys Glu Arg Lys Pro Glu
85 90 95

Ile Leu Leu Ile Gly Ala Thr Phe Ile Gly Arg Asp Leu Gly Pro Arg
100 105 110

Val Ala Gly Arg Val Phe Thr Gly Leu Thr Ala Asp Cys Thr Gly Leu
115 120 125

Asp Ile Asp Glu Ala Thr Lys Asn Leu Met Met Thr Arg Pro Ala Phe
130 135 140

Gly Gly Asn Leu Met Ala Thr Ile Ala Cys Glu Lys Thr Arg Pro Gln
145 150 155 160

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

Ser Arg Thr Gly Lys Ile Glu Lys Ile Ala Ala Asn Val Ala Lys Asp
180 185 190

ES 2 803 208 T3

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

Ile Asp Ile Ser Glu Ala Asp Val Ile Val Ser Gly Gly Arg Gly Leu
210 215 220

Gly Gly Pro Asp Gly Phe Lys Val Leu Lys Glu Leu Ala Asp Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Thr Ile Gly Gly Ser Arg Ala Thr Ile Asp Ala Gly Trp Ile
245 250 255

Asp Lys Ser Tyr Gln Val Gly Gln Thr Gly Lys Thr Val Arg Pro Gly
260 265 270

Leu Tyr Ile Ala Cys Gly Ile Ser Gly Gln Ile Gln His Leu Ala Gly
275 280 285

Met Gln Asp Ser Gly Phe Ile Val Ala Ile Asn Lys Asp Glu Asn Ala
290 295 300

Pro Met Met Gln Val Ala Asp Leu Ala Ile Val Gly Asp Leu Tyr Lys
305 310 315 320

Val Val Pro Glu Phe Val Glu Gln Val Lys Ala Leu Asn Leu
325 330

<210> 10

< 211> 336

< 212> PRT

5 < 213> Clostridium acetobutylicum

<400> 10

Met Asn Lys Ala Asp Tyr Lys Gly Val Trp Val Phe Ala Glu Gln Arg
1 5 10 15

Asp Gly Glu Leu Gln Lys Val Ser Leu Glu Leu Leu Gly Lys Gly Lys
20 25 30

Glu Met Ala Glu Lys Leu Gly Val Glu Leu Thr Ala Val Leu Leu Gly
35 40 45

His Asn Thr Glu Lys Met Ser Lys Asp Leu Leu Ser His Gly Ala Asp
50 55 60

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

ES 2 803 208 T3

Gly Tyr Ala Lys Val Ile Cys Asp Leu Val Asn Glu Arg Lys Pro Glu
85 90 95

Ile Leu Phe Ile Gly Ala Thr Phe Ile Gly Arg Asp Leu Gly Pro Arg
100 105 110

Ile Ala Ala Arg Leu Ser Thr Gly Leu Thr Ala Asp Cys Thr Ser Leu
115 120 125

Asp Ile Asp Val Glu Asn Arg Asp Leu Leu Ala Thr Arg Pro Ala Phe
130 135 140

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

Met Ala Thr Val Arg Pro Gly Val Phe Glu Lys Leu Pro Val Asn Asp
165 170 175

Ala Asn Val Ser Asp Asp Lys Ile Glu Lys Val Ala Ile Lys Leu Thr
180 185 190

Ala Ser Asp Ile Arg Thr Lys Val Ser Lys Val Val Lys Leu Ala Lys
195 200 205

Asp Ile Ala Asp Ile Gly Glu Ala Lys Val Leu Val Ala Gly Gly Arg
210 215 220

Gly Val Gly Ser Lys Glu Asn Phe Glu Lys Leu Glu Glu Leu Ala Ser
225 230 235 240

Leu Leu Gly Gly Thr Ile Ala Ala Ser Arg Ala Ala Ile Glu Lys Glu
245 250 255

Trp Val Asp Lys Asp Leu Gln Val Gly Gln Thr Gly Lys Thr Val Arg
260 265 270

Pro Thr Leu Tyr Ile Ala Cys Gly Ile Ser Gly Ala Ile Gln His Leu
275 280 285

Ala Gly Met Gln Asp Ser Asp Tyr Ile Ile Ala Ile Asn Lys Asp Val
290 295 300

Glu Ala Pro Ile Met Lys Val Ala Asp Leu Ala Ile Val Gly Asp Val
305 310 315 320

Asn Lys Val Val Pro Glu Leu Ile Ala Gln Val Lys Ala Ala Asn Asn
325 330 335

<210> 11

< 211> 259

< 212> PRT

5 < 213> Clostridium acetobutylicum

ES 2 803 208 T3

<400> 11

Met Asn Ile Val Val Cys Leu Lys Gln Val Pro Asp Thr Ala Glu Val
1 5 10 15

Arg Ile Asp Pro Val Lys Gly Thr Leu Ile Arg Glu Gly Val Pro Ser
20 25 30

Ile Ile Asn Pro Asp Asp Lys Asn Ala Leu Glu Glu Ala Leu Val Leu
35 40 45

Lys Asp Asn Tyr Gly Ala His Val Thr Val Ile Ser Met Gly Pro Pro
50 55 60

Gln Ala Lys Asn Ala Leu Val Glu Ala Leu Ala Met Gly Ala Asp Glu
65 70 75 80

Ala Val Leu Leu Thr Asp Arg Ala Phe Gly Gly Ala Asp Thr Leu Ala
85 90 95

Thr Ser His Thr Ile Ala Ala Gly Ile Lys Lys Leu Lys Tyr Asp Ile
100 105 110

Val Phe Ala Gly Arg Gln Ala Ile Asp Gly Asp Thr Ala Gln Val Gly
115 120 125

Pro Glu Ile Ala Glu His Leu Gly Ile Pro Gln Val Thr Tyr Val Glu
130 135 140

Lys Val Glu Val Asp Gly Asp Thr Leu Lys Ile Arg Lys Ala Trp Glu
145 150 155 160

Asp Gly Tyr Glu Val Val Glu Val Lys Thr Pro Val Leu Leu Thr Ala
165 170 175

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

Gly Ala Phe Asp Lys Glu Val Lys Met Trp Thr Ala Asp Asp Ile Asp
195 200 205

Val Asp Lys Ala Asn Leu Gly Leu Lys Gly Ser Pro Thr Lys Val Lys
210 215 220

Lys Ser Ser Thr Lys Glu Val Lys Gly Gln Gly Glu Val Ile Asp Lys
225 230 235 240

Pro Val Lys Glu Ala Ala Ala Tyr Val Val Ser Lys Leu Lys Glu Glu
245 250 255

His Tyr Ile

5 <210> 12

ES 2 803 208 T3

< 211> 262

< 212> PRT

< 213> Clostridium kluyveri

<400> 12

Met Phe Asn Leu Pro Glu Glu Val Thr Tyr Thr Ile Asn Leu Lys Asn
1 5 10 15

Leu Ile Lys Asp Ile Lys Pro Glu Ile Phe Leu Ile Gly Ala Thr Thr
20 25 30

Leu Gly Arg Ser Leu Ala Pro Arg Leu Ala Ala Ser Leu Asn Thr Gly
35 40 45

Leu Thr Ala Asp Cys Thr Gly Leu Glu Ile Asp Glu Asp Arg Lys Leu
50 55 60

Val Gln Ile Arg Pro Ala Phe Ser Glu Asn Ile Leu Ala His Ile Lys
65 70 75 80

Thr Tyr Thr Tyr Pro Gln Met Ala Thr Val Arg Tyr Lys Glu Phe Asp
85 90 95

Glu Gly Thr Arg Asp Ala Lys Arg Gln Gly Asp Ile Leu Lys Val Glu
100 105 110

Ala Leu Arg Leu Glu Asn Glu Leu Val Lys Val Ile Thr Gln Leu Arg
115 120 125

Ser Gln Glu Ile Asn Ile Ser Asp Ala Asn Val Val Val Ala Ala Gly
130 135 140

Lys Gly Leu Lys Lys Ala Glu Asp Met Ala Met Leu Lys Glu Leu Ala
145 150 155 160

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

5

ES 2 803 208 T3

Gly Phe Ile Ser Lys Asp Phe Gln Val Gly Tyr Ser Gly Asn Arg Val
180 185 190

Lys Pro Lys Leu Tyr Ile Ala Cys Gly Ile Ser Gly Ala Pro Gln His
195 200 205

Leu Ala Gly Met Lys Glu Ser Gly Phe Ile Val Ala Ile Asn Thr Asp
210 215 220

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

Met Tyr Lys Val Ile Pro Asp Leu Ile Thr Lys Ile Lys Glu Ser Ser
245 250 255

Leu Glu Thr Ile Asn Cys
260

<210> 13

< 211> 297

< 212> PRT

5 < 213> Clostridium kluyveri

<400> 13

Met Gly Gly Thr Ala Ala Asp Ile Ser Pro Gln Arg Asn Arg Ser Val
1 5 10 15

Phe Leu Phe Ala Ile Cys Leu Arg Glu Arg Lys Glu Ala Leu Met Asp
20 25 30

Ile Ile Val Leu Val Lys Gln Val Pro Asp Met Glu Lys Val Lys Phe
35 40 45

Asp Arg Glu Lys Gly Val Val Asp Arg Thr Ser Ala Ser Ala Glu Ile
50 55 60

Asn Pro Phe Asp Leu Asn Ala Leu Glu Thr Ala Val Gln Ile Ala Glu
65 70 75 80

Asn Ile Asp Ala Arg Val Thr Ala Val Ser Met Gly Pro Pro Asn Thr
85 90 95

Glu Ser Ala Leu Lys Glu Cys Ile Ala Arg Gly Ala His Glu Gly Val
100 105 110

Leu Val Ser Asp Arg Lys Phe Gly Gly Ser Asp Thr Lys Ala Thr Ser
115 120 125

ES 2 803 208 T3

Lys Ile Leu Ala Ser Ala Ile Lys Lys Leu Gly Ala Tyr Asp Leu Val
130 135 140

Ile Ala Gly Glu Lys Thr Val Asp Gly Asp Thr Gly Gln Val Gly Pro
145 150 155 160

Glu Val Ala Glu Phe Leu Asn Ile Pro His Ala Ser Tyr Val Ser Lys
165 170 175

Ile Thr Glu Met Asn Lys Asp Ser Met Glu Val His Ser Glu Ile Trp
180 185 190

Glu Gly Thr Tyr Leu Lys Ser Ile Lys Phe Pro Cys Leu Ile Thr Val
195 200 205

Thr Lys Asp Ile Asn His Pro Arg Leu Pro Ser Phe Lys Asn Lys Met
210 215 220

Lys Ala Arg Lys Ala Glu Ile Lys Ile Leu Lys Leu Glu Asp Leu Glu
225 230 235 240

Glu Phe Leu Asn Glu Asp Asn Val Gly Phe Lys Gly Ser Pro Thr Lys
245 250 255

Val Lys Lys Ile Glu Ile Pro Gln Ile Glu Lys Arg Gln Gly Lys Ile
260 265 270

Tyr Arg Glu Ser Asp Thr Val Glu Ala Glu Asn Glu Leu Ile Asn Ile
275 280 285

Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Glu Val
290 295

<210> 14

< 211> 539

< 212> PRT

5 < 213> Euglena gracilis

<400> 14

Met Ser Cys Pro Ala Ser Pro Ser Ala Ala Val Val Ser Ala Gly Ala
1 5 10 15

Leu Cys Leu Cys Val Ala Thr Val Leu Leu Ala Thr Gly Ser Asn Pro
20 25 30

Thr Ala Leu Ser Thr Ala Ser Thr Arg Ser Pro Thr Ser Leu Val Arg
35 40 45

ES 2 803 208 T3

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

ES 2 803 208 T3

Thr Tyr Thr Asn Arg Thr Val Asn Thr Asp Lys Ala Glu Val Thr Asp
305 310 315 320

Val Ser Ile Glu Pro Ala Ser Pro Glu Glu Ile Ala Asp Thr Val Lys
325 330 335

Val Met Gly Gly Glu Asp Trp Glu Leu Trp Ile Gln Ala Leu Ser Glu
340 345 350

Ala Gly Val Leu Ala Glu Gly Ala Lys Thr Val Ala Tyr Ser Tyr Ile
355 360 365

Gly Pro Glu Met Thr Trp Pro Val Tyr Trp Ser Gly Thr Ile Gly Glu
370 375 380

Ala Lys Lys Asp Val Glu Lys Ala Ala Lys Arg Ile Thr Gln Gln Tyr
385 390 395 400

Gly Cys Pro Ala Tyr Pro Val Val Ala Lys Ala Leu Val Thr Gln Ala
405 410 415

Ser Ser Ala Ile Pro Val Val Pro Leu Tyr Ile Cys Leu Leu Tyr Arg
420 425 430

Val Met Lys Glu Lys Gly Thr His Glu Gly Cys Ile Glu Gln Met Val
435 440 445

Arg Leu Leu Thr Thr Lys Leu Tyr Pro Glu Asn Gly Ala Pro Ile Val
450 455 460

Asp Glu Ala Gly Arg Val Arg Val Asp Asp Trp Glu Met Ala Glu Asp
465 470 475 480

Val Gln Gln Ala Val Lys Asp Leu Trp Ser Gln Val Ser Thr Ala Asn
485 490 495

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

Leu Phe Gly Phe Gly Ile Asp Gly Val Asp Tyr Asp Gln Pro Val Asp
515 520 525

Val Glu Ala Asp Leu Pro Ser Ala Ala Gln Gln
530 535

<210> 15

< 211> 397

< 212> PRT

5 < 213> Treponema denticola

<400> 15

ES 2 803 208 T3

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

ES 2 803 208 T3

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

<210> 16

< 211> 344

< 212> PRT

5 < 213> Caenorhabditis elegans

<400> 16

Met Leu Lys Val Leu Ser Leu Arg Ser Ala Leu Gln Arg Ala Ala Ser
 1 5 10 15
 Thr Arg Gln Leu Val Tyr Glu Gly Tyr Arg Asn Pro Pro Glu Ala Ile
 20 25 30
 Gln Leu Lys Thr Val Thr Ile Ala Asp Lys Pro Ser Ala Asp Gln Val
 35 40 45
 Leu Val Gln Trp Ile Ala Ala Pro Ile Asn Pro Ala Asp Leu Asn Gln

ES 2 803 208 T3

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

ES 2 803 208 T3

Trp Met Lys Ser Gly Glu Ile Lys Lys Gln Glu Ile Val Lys Asn Arg
305 310 315 320

Leu Glu Asp His Ala Lys Ala Leu Asp Thr Ala Leu Ser Lys Phe Asp
325 330 335

Lys Lys Gln Phe Phe Val Leu Glu
340

<210> 17

< 211> 447

< 212> PRT

5 < 213> Streptomyces collinus

<400> 17

Val Thr Val Lys Asp Ile Leu Asp Ala Ile Gln Ser Lys Asp Ala Thr
1 5 10 15

Ser Ala Asp Phe Ala Ala Leu Gln Leu Pro Glu Ser Tyr Arg Ala Ile
20 25 30

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

Asp Lys Asp Pro Arg Lys Ser Ile His Leu Asp Glu Val Pro Val Pro
50 55 60

Glu Leu Gly Pro Gly Glu Ala Leu Val Ala Val Met Ala Ser Ser Val
65 70 75 80

Asn Tyr Asn Ser Val Trp Thr Ser Ile Phe Glu Pro Val Ser Thr Phe
85 90 95

Ala Phe Leu Glu Arg Tyr Gly Lys Leu Ser Pro Leu Thr Lys Arg His
100 105 110

Asp Leu Pro Tyr His Ile Ile Gly Ser Asp Leu Ala Gly Val Val Leu
115 120 125

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

Ala His Cys Leu Ser Val Glu Leu Glu Ser Pro Asp Gly His Asp Asp
145 150 155 160

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

ES 2 803 208 T3

Gly Gly Leu Ala Glu Ile Ala Leu Val Lys Thr Asn Gln Leu Met Pro
 180 185 190
 Lys Pro Lys His Leu Thr Trp Glu Glu Ala Ala Ala Pro Gly Leu Val
 195 200 205
 Asn Ser Thr Ala Tyr Arg Gln Leu Val Ser Arg Asn Gly Ala Ala Met
 210 215 220
 Lys Gln Gly Asp Asn Val Leu Ile Trp Gly Ala Ser Gly Gly Leu Gly
 225 230 235 240
 Ser Tyr Ala Thr Gln Phe Ala Leu Ala Gly Gly Ala Asn Pro Ile Cys
 245 250 255
 Val Val Ser Ser Pro Gln Lys Ala Glu Ile Cys Arg Ser Met Gly Ala
 260 265 270
 Glu Ala Ile Ile Asp Arg Asn Ala Glu Gly Tyr Lys Phe Trp Lys Asp
 275 280 285
 Glu His Thr Gln Asp Pro Lys Glu Trp Lys Arg Phe Gly Lys Arg Ile
 290 295 300
 Arg Glu Leu Thr Gly Gly Glu Asp Ile Asp Ile Val Phe Glu His Pro
 305 310 315 320
 Gly Arg Glu Thr Phe Gly Ala Ser Val Tyr Val Thr Arg Lys Gly Gly
 325 330 335
 Thr Ile Thr Thr Cys Ala Ser Thr Ser Gly Tyr Met His Glu Tyr Asp
 340 345 350
 Asn Arg Tyr Leu Trp Met Ser Leu Lys Arg Ile Ile Gly Ser His Phe
 355 360 365
 Ala Asn Tyr Arg Glu Ala Tyr Glu Ala Asn Arg Leu Ile Ala Lys Gly
 370 375 380
 Lys Ile His Pro Thr Leu Ser Lys Thr Tyr Ser Leu Glu Glu Thr Gly
 385 390 395 400
 Gln Ala Ala Tyr Asp Val His Arg Asn Leu His Gln Gly Lys Val Gly
 405 410 415
 Val Leu Cys Leu Ala Pro Glu Glu Gly Leu Gly Val Arg Asp Ala Glu
 420 425 430
 Met Arg Ala Gln His Ile Asp Ala Ile Asn Arg Phe Arg Asn Val
 435 440 445

<210> 18

5 <211> 245

ES 2 803 208 T3

< 212> PRT

< 213> Clostridium acetobutylicum

<400> 18

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

Ile Ala Ala His Pro Asp Met Ala Pro Lys Phe Ser Ile Leu Asp Pro
20 25 30

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

Asp Ile Met Ser His Ile Phe Glu Val Tyr Phe Ser Asn Thr Lys Thr
50 55 60

Ala Tyr Leu Gln Asp Arg Met Ala Glu Ala Leu Leu Arg Thr Cys Ile
65 70 75 80

Lys Tyr Gly Gly Ile Ala Leu Glu Lys Pro Asp Asp Tyr Glu Ala Arg
85 90 95

Ala Asn Leu Met Trp Ala Ser Ser Leu Ala Ile Asn Gly Leu Leu Thr
100 105 110

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

Ser Ala Tyr Tyr Asp Ile Thr His Gly Val Gly Leu Ala Ile Leu Thr
130 135 140

Pro Asn Trp Met Glu Tyr Ile Leu Asn Asn Asp Thr Val Tyr Lys Phe
145 150 155 160

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

Tyr Asp Ile Ala His Gln Ala Ile Gln Lys Thr Arg Asp Tyr Phe Val
180 185 190

Asn Val Leu Gly Leu Pro Ser Arg Leu Arg Asp Val Gly Ile Glu Glu
195 200 205

5

Glu Lys Leu Asp Ile Met Ala Lys Glu Ser Val Lys Leu Thr Gly Gly
210 215 220

Thr Ile Gly Asn Leu Arg Pro Val Asn Ala Ser Glu Val Leu Gln Ile
225 230 235 240

Phe Lys Lys Ser Val
245

ES 2 803 208 T3

<210> 19

< 211> 387

< 212> PRT

< 213> Escherichia coli

5 <400> 19

Met Asn Asn Phe Asn Leu His Thr Pro Thr Arg Ile Leu Phe Gly Lys
1 5 10 15

Gly Ala Ile Ala Gly Leu Arg Glu Gln Ile Pro His Asp Ala Arg Val
20 25 30

Leu Ile Thr Tyr Gly Gly Gly Ser Val Lys Lys Thr Gly Val Leu Asp
35 40 45

Gln Val Leu Asp Ala Leu Lys Gly Met Asp Val Leu Glu Phe Gly Gly
50 55 60

Ile Glu Pro Asn Pro Ala Tyr Glu Thr Leu Met Asn Ala Val Lys Leu
65 70 75 80

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

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

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

Ser Ala Ile Pro Met Gly Cys Val Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gly Ser
130 135 140

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

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

ES 2 803 208 T3

Pro Val Tyr Thr Tyr Thr Leu Pro Pro Arg Gln Val Ala Asn Gly Val
180 185 190

Val Asp Ala Phe Val His Thr Val Glu Gln Tyr Val Thr Lys Pro Val
195 200 205

Asp Ala Lys Ile Gln Asp Arg Phe Ala Glu Gly Ile Leu Leu Thr Leu
210 215 220

Ile Glu Asp Gly Pro Lys Ala Leu Lys Glu Pro Glu Asn Tyr Asp Val
225 230 235 240

Arg Ala Asn Val Met Trp Ala Ala Thr Gln Ala Leu Asn Gly Leu Ile
245 250 255

Gly Ala Gly Val Pro Gln Asp Trp Ala Thr His Met Leu Gly His Glu
260 265 270

Leu Thr Ala Met His Gly Leu Asp His Ala Gln Thr Leu Ala Ile Val
275 280 285

Leu Pro Ala Leu Trp Asn Glu Lys Arg Asp Thr Lys Arg Ala Lys Leu
290 295 300

Leu Gln Tyr Ala Glu Arg Val Trp Asn Ile Thr Glu Gly Ser Asp Asp
305 310 315 320

Glu Arg Ile Asp Ala Ala Ile Ala Ala Thr Arg Asn Phe Phe Glu Gln
325 330 335

Leu Gly Val Pro Thr His Leu Ser Asp Tyr Gly Leu Asp Gly Ser Ser
340 345 350

Ile Pro Ala Leu Leu Lys Lys Leu Glu Glu His Gly Met Thr Gln Leu
355 360 365

Gly Glu Asn His Asp Ile Thr Leu Asp Val Ser Arg Arg Ile Tyr Glu
370 375 380

Ala Ala Arg
385

<210> 20

< 211> 7546

< 212> ADN

5 < 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> pATh-LEM-14

<400> 20

ES 2 803 208 T3

tcgactttttt aacaaaatat attgataaaa ataataatag tgggtataat taagttgtta	60
gagaaaacgt ataaattagg gataaactat ggaacttatg aaatagattg aaatggttta	120
tctgttacct cgtaggatcc aggaggtag ttagaatgaa agaagttgta atagctagtg	180
cagtaagaac agcgattgga tcttatggaa agtctcttaa ggatgtacca gcagtagatt	240
taggagctac agctataaag gaagcagta aaaaagcagg aataaaacca gaggatgtta	300
atgaagtcat tttaggaaat gttcttcaag caggttttagg acagaatcca gcaagacagg	360
catcttttaa agcaggatta ccagttgaaa ttccagctat gactattaat aaggtttgtg	420
gttcaggact tagaacagtt agcttagcag cacaaattat aaaagcagga gatgctgacg	480
taataatagc aggtggtatg gaaaatatgt ctagagctcc ttacttagcg aataacgcta	540
gatggggata tagaatggga aacgctaaat ttgttgatga aatgatcact gacggattgt	600
gggatgcatt taatgattac cacatggga taacagcaga aaacatagct gagagatgga	660
acatttcaag agaagaacaa gatgagtttg ctcttgcac acaaaaaaaaa gctgaagaag	720
ctataaaatc aggtcaattt aaagatgaaa tagttcctgt agtaattaaa ggcagaaagg	780
gagaaactgt agttgataca gatgagcacc ctagatttgg atcaactata gaaggacttg	840
caaaattaaa acctgccttc aaaaagatg gaacagttac agctggtaat gcatcaggat	900
taaatgactg tgcagcagta cttgtaatca tgagtgcaga aaaagctaaa gagcttggag	960
taaaaccact tgctaagata gtttcttatg gttcagcagg agttgacca gcaataatgg	1020
gatatggacc tttctatgca acaaaagcag ctattgaaaa agcaggttgg acagttgatg	1080
aattagattt aatagaatca aatgaagctt ttgcagctca aagtttagca gtagcaaaag	1140
atttaaaatt tgatatgaat aaagtaaatg taaatggagg agctattgcc cttggtcatc	1200
caattggagc atcagggtga agaatactcg ttactcttgt acacgcaatg caaaaaagag	1260
atgcaaaaaa aggcttagca actttatgta taggtggcgg acaaggaaca gcaatattgc	1320
tagaaaagtg ctagggccgg ccaaagtatt gttaaaaagg gaggtctgtt taatgagtat	1380
taaaagtgta gcggttttag gtagtggaac tatgtctcgt ggaattgtgc aggcttttgc	1440
agaagcaggt atagatgtaa ttatccgtgg aagaactgaa ggtagtattg gaaaaggtct	1500
agcagcagta aagaaagctt atgataaaaa agtatcaaag gggaaaattt cccaggaaga	1560
tgctgataaa atagttggaa gagtaagtac aacaactgaa cttgaaaaat tggctgattg	1620
tgatcttata atagaagcag catcagagga tatgaatata aagaaagact attttgaaa	1680
attagaagaa atatgcaagc ctgaaacaat ttttgctact aatacttctt cattatctat	1740
aactgaagta gcaacagcta caaagagacc agataaatc ataggaatgc atttctttaa	1800

ES 2 803 208 T3

tccagcaaat gttatgaaat tagttgaaat cataagaggt atgaatactt cacaagaaac	1860
ttttgatatt ataaaaagag cttccattaa aataggaaaa actcctgtag aagttgcaga	1920
agctccagga tttgttgtaa acaagatatt agtaccaatg atcaatgaag cagtaggaat	1980
tttggcagaa ggaatatgctt cagcagaaga tatcgataca gctatgaaat taggcgctaa	2040
tcacccaatg ggtccttttag cattaggaga tcttattgga cttgatgtag ttcttgcagt	2100
tatggatgta ctttatagtg aaactggaga ttcaaatat agagctcata cattacttag	2160
aaaatatgta agagcaggat ggcttggag aaaatcagga aaaggattct tcgcttatta	2220
attaattaag tttaacaaga tggcgcttta ggaggattag tcatggaatt taaaaatct	2280
attcttgaaa aggatggaaa tgtggcttca ataacgttga atagacctaa ggcattaaat	2340
gcattaaatg cagcaacttt aaaagagata gatgccgcaa taaacgacat tgctgaagat	2400
gataacgtat atgctgtgat aattactggg tcaggtaaag cttttgtagc aggagcagat	2460
atagctgaga tgaaagatct tactgcagtt gagggaagaa agttttcagt tcttggcaat	2520
aaaatattta gaaaattaga aaatttagaa aaaccagtta tagcagctat aaatggattt	2580
gcactgggtg gtggctgtga attgtcattg tcttgcgata taagaatagc ttcatcaaag	2640
gctaagtttg gtcaaccaga ggttggctt ggaattactc cagggtttgg aggtactcaa	2700
agacttgcaa gagcaatagg cgttggtagt gctaaggaac ttatatatac cggaaaagta	2760
attaatgctg aagaggcatt aagaataggt ttggtaaata aagtagttga gccagataaa	2820
ttatttgaag aagctaaagc tttagtagat gctattattg ttaatgcacc tatagctgtt	2880
agaatgtgta aggtctgtat aaatcaagga cttcagtggt atatatagac aggtgtagct	2940
tatgaagcag aagtatttgg ggaatgtttt gctacagaag atagagtaga aggaatgaca	3000
gcattttagt aaaaaagaga caaggctttt aaaaataagt aaaccggtga ggtaagtta	3060
tatggatttt acattaacaa acgagcaaaa atttgtagaa caaatggtaa gtgaatttac	3120
tgaaaatgaa gttaaaccta tagctgctga aatagatgaa acagaaaggt ttctcttga	3180
gacagtagaa aaatttgcata aatacggat gatgggtatg ccttttccag ttgaatacgg	3240
cggctcaggt acagattatt tctctatat aatagcagta gaaggacttg caaagagttg	3300
tacttcatca tcaactatat tgtcagcaca tacttcaact tgtgcagcac ctatttatga	3360
ttgggttaca gaagaacaga aacaaaaata cttagtctct cttgcaaagg gagaaaaact	3420
tggagcattt ggtttaactg aacctaatgc aggtactgat gctgctggac agcagacaac	3480
agctgtttta gaaggggatc attatgtatt aaatggacaa aaaaatttta ttacaaatgg	3540
tgcatatgca gatacttttg taatatgtgc aatgacagac agaagcaagg gtacaagagg	3600
aataacagca ttatatagttg aaaaagattt ccttggtttc tccataggaa aatctgaaga	3660
taagttggga attagagctt cctcaactac agaacttata tttgagaatt gcatagttcc	3720

ES 2 803 208 T3

aaaagaaaat atgttaggaa aagaaggaaa aggatttact gtagcaatgc atactcttga	3780
tggaggaaga attggtatag cagcacaagc gttaggttta gcagaaggcg cattagctga	3840
agcacttaat tatatgaaag aaagaaaaca atttggaaaa gctctttaca aattccaggg	3900
attagcatgg atggttgacag aattagatac taaaatagaa gctgttaaac aacttgttta	3960
taaagcagca gtaataaac aaatgggtct tccatattca gtggaagctg caagagctaa	4020
attagctgcg gctactgtag ctatggaaac aactactaaa gttgttcaaa tctttggtgg	4080
atatggattc actaaggatt atccagtaga aagaatgatg agagatgcta agataactga	4140
aatatatgaa ggaacttcac aagtacaaaa gatggttatt tcagcaaatt tatttaaata	4200
aatttaaatt ttaagggcg cctaccccggt aggatccagg aggttagtta gaatgaaat	4260
agtagtttgc ttaaagcaag taccagatac aactgaagtt aaaatagatc caaaaacagg	4320
aacattaata agagaaggcg ttccatcaat aataaaccca gatgataaaa atgcacttga	4380
agaatcaatt gctttaaaag aaaaagtagg gggtagctt acagtagtaa gcatggggcc	4440
tccacaggca gtggatgcac ttagagaagc tctagctatg ggagctgatg aagcaatatt	4500
agtttcagac agagcttttg caggagcaga tactcaagct acttcctatg cattagcagg	4560
agcacttaaa aatttagaat atgatttaat atttgcagga agacaagcta tagatggaga	4620
tactgcacag gttggacctc aaatagcaga aaaattagga atacctcaga taacatatgt	4680
agaaaaagtt gatgtagatg gagatacttt aacagttcaa agagcttggg aagatggata	4740
tgaagtagca aaaattaaaa ctccatgcat gttaactgct ataaaagagt taaatcaacc	4800
aagatatatg aacatgaaga acatatttga agttttcaaag aaagaagtta aaatatggag	4860
tgctgacgac ttagatgtag ataaaaataa acttggctctt aatggttcct gcacaaaagt	4920
taagagatca catacaaaaag aagcaaaaag agcaggagaa atcgttaata aaccaataaa	4980
agaagcagta gcatattcaa tttcaaaatt aagagaaaaa catgtcattt aatatatagg	5040
aggggtttag aatgaactta gcagaatata aaggcgtatg ggtatttgct gaacaaaggg	5100
atggagaact acaaaaagta gcacttcaat tagttggaaa aggaagagaa ttggcagaca	5160
ctttaggagt agaattaact gctgtattac ttggtagtga agtagatgat ttggcaaaag	5220
aattagttgc atatggagca gacaatgttt tatacgcaga tagtcctctt ttaaaacatt	5280
atactacaga tggatacact aaagtaatag atgaacttat aaaagaaaga aaaccagaaa	5340
tattacttat aggagctaca tttatcgga gagacttagg accaagagtt gcaggtagag	5400
tttttacagg tcttacagca gactgtacag gacttgatat agatgaggca acaaaaaatt	5460
tgatgatgac aagacctgca tttggtggaa acttaatggc aactatagct tgcgaaaaaa	5520
caagacctca aatgtcaaca gtaagaccag gagtttttaa tgcgcttcca agagatgctt	5580

ES 2 803 208 T3

caagaactgg	aaaaatagaa	aaaatagctg	caaatgttgc	aaaagatgac	atcagaattg	5640
aagtgccttg	agtagttaa	tctgctggcg	atacaataga	tatttcagaa	gcagatgtaa	5700
ttgtatcagg	tggaagagga	cttgggtggc	cagatggatt	caaagttctt	aaagaattag	5760
cagattttatt	aggtggaact	ataggtggat	cccgtgcaac	tatagatgct	ggctggatag	5820
ataagagcta	tcaggttggg	caaaactggta	aaacagtaag	accaggtctt	tatattgcat	5880
gcggaatatc	aggtcaaata	caacatttag	ctggatatgca	ggatagtggg	tttatcgtag	5940
ctatcaataa	agatgaaaac	gctccaatga	tgcaagtagc	ggatcttgca	attgtaggag	6000
atttatataa	ggttgttcca	gaattttag	aacaagttaa	agcttttaaat	ctttaaggta	6060
ccccgtagga	tccaggaggt	tagttagaat	ggttttttaa	aattggcagg	atctttataa	6120
aagtaaaatt	gttagtgag	acgaagctgt	atctaaagta	agctgtggag	atagcataat	6180
tttaggcaat	gcttgtggag	catctcttac	acttttagat	gccttggctg	caaataagga	6240
aaagtataag	agtgtaaaga	tacacaatct	tatacttaat	tataaaaatg	atatatatac	6300
tgatccggaa	tcagaaaagt	atattcatgg	aaatacttcc	tttgtaagt	gaggtaaaaa	6360
ggaagcagtt	aattgttaata	gaacagatta	tactccatgc	tttttttatg	aaataccaaa	6420
attattaaaa	caaaagtata	taaatgcaga	tgtagctttt	attcaagtaa	gtaagcctga	6480
tagccatgga	tactgtagct	ttggagtatc	aaccgattat	tcacaggcaa	tggtacagtc	6540
tgcaaagcct	ataattgcag	aagtaaacga	tcagatgccg	agagtttttag	gagacaattt	6600
tatacacatt	tctgatatgg	attacatagt	agaaagttca	cgtccaattc	tagaattgac	6660
tcctcctaaa	ataggagaag	tagagaagac	aataggaaaa	tactgtgcat	ctcttgtaga	6720
agatggttct	acacttcagc	ttggaatagg	agctattcca	gatgcagtac	ttttattctt	6780
gaaggataaa	aaggatttgg	gtatacattc	agaaatgata	tccgatggtg	ttgttgaatt	6840
agttgaagca	ggggttaatta	caaataagaa	aaagtccctt	catccaggaa	aaataattat	6900
tacattctta	atgggaacta	agaaattata	tgatttcata	aatgataatc	ctatggtaga	6960
aggataccct	gtagattatg	taaatgatcc	taaggttatt	atgcaaaatt	ctaagatggt	7020
atgtataaac	tcctgtgtag	aagtggattt	cacaggacaa	gtgtgtgctg	aaagtgtagg	7080
atttaaacaa	ataagcgggtg	taggtggaca	agttgattac	atgagaggag	ctagcatggc	7140
tgatggagga	aaatcaattc	ttgctatacc	atctactgca	gctggcgcca	aaatttcaag	7200
aatagttcct	attttaactg	aaggagcggg	ggttactact	tcaagatatg	atgttcaata	7260
tgttgttaca	gaatatggta	ttgcacttct	caagggcaaa	tccataagag	aaagagctaa	7320
ggagcttata	aaaattgcac	atcctaatt	tagggaagaa	ttacagctc	aatttgaaaa	7380
aagattcagt	tgtaagcttt	aaacttaatg	atttgccagt	aaaagagatt	gtttctagct	7440
ctcacattct	tgcatagata	atattgccta	gagctgaagt	tatatatgat	tatcttaagt	7500
aataaaaaata agagttacct taaatggtaa ctcttatttt tttaat						7546

<210> 21

5 <211> 4832

< 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> pATh-LEM-23

5 <400> 21

ggcatttgtc aactatagat ggtgaacctc tttgcacgaa gttaccactc ataactgcta	60
ttacagcatc acatttttga gcagaacgag cactttcaat atgatattta tgtccattgt	120
gaaagggatt atattcaact attattccag ttacgttcat agaaattttc ctttctaaaa	180
tattttattc catgtcaaga actctgttta tttcattaaa gaactataag taaaaagtat	240
agggcatttg aaaaaatagg ctagtatatt gattgattat ttatttttaa atgcctaagt	300
gaaatatata catattataa caataaaata agtatttagtg taggattttt aaatagagta	360
tctattttca gattaaattt ttgcttattt gatttacatt atataatatt gagtaaagta	420
ttgactagca aaattttttg atactttaat ttgtgaaatt tcttatcaaa agttatattt	480
ttgaatgatt tttattgaaa aatacaacta aaaaggatta tagtataagt gtgtgtaatt	540
ttgtgttaaa tttaaaggat ccaggagggt agttagaatg gaatttaaaa atatcattct	600
tgaaaaggat ggaaatgtgg cttcaataac gttgaataga cctaaggcat taaatgcatt	660
aatgcagca actttaaaag agatagatgc cgcaataaac gacattgctg aagatgataa	720
cgtatatgct gtgataatta ctgggtcagg taaagctttt gtagcaggag cagatatagc	780
tgagatgaaa gatcttactg cagttgaggg aagaaagttt tcagttcttg gcaataaaat	840
atttagaaaa ttagaaaatt tagaaaaacc agttatagca gctataaatg gatttgcact	900
gggtggtggc tgtgaattgt cattgtcttg cgatataaga atagcttcat caaaggctaa	960
gtttggtcaa ccagagggtg gtcttggaat tactccaggg tttggaggta ctcaaagact	1020
tgcaagagca ataggcggtg gtatggctaa ggaacttata tataccggaa aagtaattaa	1080
tgctgaagag gcattaagaa taggtttggt aaataaagta gttgagccag ataaattatt	1140
ggaagaagct aaagctttag tagatgctat tattgttaat gcacctatag ctgttagaat	1200
gtgtaaggct gctataaatc aaggacttca gtgtgatata gatacagggt tagcttatga	1260
agcagaagta tttggggaat gttttgctac agaagataga gtagaaggaa tgacagcatt	1320
tgtagaaaaa agagacaagg ctttttaaaa taagtaaggc cggccaaagt attgttaaaa	1380
agggaggtct gtttaatgag tattaaaagt gtagcgggtt taggtagtgg aactatgtct	1440
cgtggaattg tgcaggcttt tgcagaagca ggtatagatg taattatccg tggaagaact	1500

ES 2 803 208 T3

gaaggtagta ttggaaaagg tctagcagca gtaaagaaag cttatgataa aaaagtatca	1560
aaggggaaaa tttcccagga agatgctgat aaaatagttg gaagagtaag tacaacaact	1620
gaacttgaaa aattggctga ttgtgatctt ataatagaag cagcatcaga ggatatgaat	1680
ataaagaaag actattttgg aaaattagaa gaaatatgca agcctgaaac aatttttgct	1740
actaatactt cttcattatc tataactgaa gtagcaacag ctacaaagag accagataaa	1800
ttcataggaa tgcatttctt taatccagca aatgttatga aattagttga aatcataaga	1860
ggtatgaata cttcacaaaga aacttttgat attataaaag aagcttccat taaaatagga	1920
aaaactcctg tagaagttgc agaagctcca ggatttggtg taaacaagat attagtagca	1980
atgatcaatg aagcagtagg aattttggca gaaggaatag cttcagcaga agatatcgat	2040
acagctatga aattaggcgc taatcaccca atgggtcctt tagcattagg agatcttatt	2100
ggacttgatg tagttcttgc agttatggat gtactttata gtgaaactgg agattcaaaa	2160
tatagagctc atacattact tagaaaaat gtaagagcag gatggcttgg aagaaaatca	2220
ggaaaaggat tcttcgctta ttaattaatt aagtttacia gaatggcgct ttaggaggat	2280
tagtcatgaa agaagttgta atagctagt gagtaagaac agcgattgga tcttatggaa	2340
agtctcttaa ggatgtacca gcagtagatt taggagctac agctataaag gaagcagtta	2400
aaaaagcagg aataaaacca gaggatgta atgaagtcac tttaggaaat gttcttcaag	2460
caggtttagg acagaatcca gcaagacagg catcttttaa agcaggatta ccagttgaaa	2520
ttccagctat gactattaat aaggtttgtg gttcaggact tagaacagtt agcttagcag	2580
cacaaattat aaaagcagga gatgctgacg taataatagc aggtggtatg gaaaaatgt	2640
ctagagctcc ttacttagcg aataacgcta gatggggata tagaatggga aacgctaaat	2700
ttgttgatga aatgatcact gacggattgt gggatgcatt taatgattac cacatgggaa	2760
taacagcaga aaacatagct gagagatgga acatttcaag agaagaacaa gatgagtttg	2820
ctcttgcatc acaaaaaaaaa gctgaagaag ctataaaatc aggtcaatth aaagatgaaa	2880
tagttcctgt agtaattaaa ggcagaaagg gagaaactgt agttgataca gatgagcacc	2940
ctagatttgg atcaactata gaaggacttg caaaattaaa acctgccttc aaaaaagatg	3000
gaacagttac agctggtaat gcatcaggat taaatgactg tgcagcagta cttgtaatca	3060
tgagtgcaga aaaagctaaa gagcttggag taaaaccact tgctaagata gtttcttatg	3120
gttcagcagg agttgaccca gcaataatgg gatatggacc tttctatgca acaaaagcag	3180
ctattgaaaa agcagggttg acagttgatg aattagattt aatagaatca aatgaagctt	3240
ttgcagctca aagtttagca gtagcaaaag atttaaaatt tgatatgaat aaagtaaatg	3300
taaatggagg agctattgcc cttggctatc caattggagc atcaggtgca agaatactcg	3360
ttactcttgt acacgcaatg caaaaaagag atgcaaaaaa aggottagca actttatgta	3420

ES 2 803 208 T3

taggtggcgg acaaggaaca gcaatattgc tagaaaagtg ctaggaggta agtttatggc	3480
gcctaccccg taggatccag gaggttagtt agaatgggtt ttaaaaattg gcaggatcctt	3540
tataaaagta aaattgttag tgcagacgaa gctgtatcta aagtaagctg tggagatagc	3600
ataatttttag gcaatgcttg tggagcatct cttacacttt tagatgcctt ggctgcaaat	3660
aaggaaaagt ataagagtgt aaagatacac aatcttatac ttaattataa aaatgatata	3720
tatactgatc cggaatcaga aaagtatatc catggaaata ctttctttgt aagtggagggt	3780
acaaaggaag cagttaattg taatagaaca gattatactc catgcttttt ttatgaaata	3840
ccaaaattat taaaacaaaa gtatataaat gcagatgtag cttttattca agtaagtaag	3900
cctgatagcc atggatactg tagcttttga gtatcaaccg attattcaca ggcaatggta	3960
cagtctgcaa agcttataat tgcagaagta aacgatcaga tgccaagagt tttaggagac	4020
aattttatac acatttctga tatggattac atagtagaaa gttcacgtcc aattctagaa	4080
ttgactcctc ctaaaatagg agaagtagag aagacaatag gaaaatactg tgcactctct	4140
gtagaagatg gttctacact tcagcttggg ataggagcta ttccagatgc agtactttta	4200
ttcttgaagg ataaaaagga tttgggtata cattcagaaa tgatatccga tgggtgtgtt	4260
gaattagttg aagcaggggt aattacaaat aagaaaaagt cccttcatcc aggaaaaata	4320
attattacat tcttaatggg aactaagaaa ttatatgatt tcataaatga taatcctatg	4380
gtagaaggat accctgtaga ttatgtaaat gatcctaagg ttattatgca aaattctaag	4440
atggtatgta taaactcctg tgtagaagtg gatttcacag gacaagtgtg tgctgaaagt	4500
gtaggattta aacaaataag cgggtgtagg ggacaagttg attacatgag aggagctagc	4560
atggctgatg gagggaaatc aattcttgct ataccatcta ctgcagctgg cggcaaaatt	4620
tcaagaatag ttcctatttt aactgaagga gcgggggtta ctacttcaag atatgatgtt	4680
caatatgttg ttacagaata tggatttgca cttctcaagg gcaaaccat aagagaaaga	4740
gctaaggagc ttataaaaat tgcacatcct aaatttaggg aagaattaac agctcaattt	4800
gaaaaaagat tcagttgtaa gctttaagcg at	4832

<210> 22

< 211> 4255

< 212> ADN

5 < 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> pATH-LEM-24

<400> 22

atggaattta aaaatatcat tottgaaaag gatggaaatg tggcttcaat aacgttgaat	60
agacctaagg cattaaatgc attaaatgca gcaactttaa aagagataga tgccgcaata	120

ES 2 803 208 T3

aacgacattg	ctgaagatga	taacgtatat	gctgtgataa	ttactgggtc	aggtaaagct	180
ttttagcag	gagcagatat	agctgagatg	aaagatctta	ctgcagttga	gggaagaaag	240
ttttcagttc	ttggcaataa	aatatcttaga	aaattagaaa	atttagaaaa	accagttata	300
gcagctataa	atggattttgc	actgggtggt	ggtgtggaat	tgtcattgtc	ttgcgatata	360
agaatagctt	catcaaaggc	taagtttggt	caaccagagg	ttggtcttgg	aattactcca	420
gggtttggag	gtactcaaag	acttgcaaga	gcaataggcg	ttggtatggc	taaggaactt	480
atatataccg	gaaaagtaat	taatgctgaa	gaggcattaa	gaataggttt	ggtaaataaa	540
gtagttagc	cagataaatt	attggaagaa	gctaaagctt	tagtagatgc	tattattgtt	600
aatgcaccta	tagctgttag	aatgtgtaag	gctgctataa	atcaaggact	tcagtgtgat	660
atagatacag	gtgtagctta	tgaagcagaa	gtatttgggg	aatgttttgc	tacagaagat	720
agagtagaag	gaatgacagc	atttgtagaa	aaaagagaca	aggcttttaa	aaataagtaa	780
ggccggccaa	agtattgtta	aaaaggagg	tctgtttaat	gagtattaaa	agtgtagcgg	840
ttttaggtag	tggaaactatg	tctcgtggaa	ttgtgcaggc	ttttgcagaa	gcaggatatag	900
atgtaattat	ccgtggaaga	actgaaggta	gtattggaag	aggtctagca	gcagtaaaga	960
aagcttatga	taaaaaagta	tcaaagggga	aaatttccca	ggaagatgct	gataaaatag	1020
ttggaagagt	aagtacaaca	actgaacttg	aaaaattggc	tgattgtgat	cttataatag	1080
aagcagcatc	agaggatatg	aatataaaga	aagactatct	tggaaaatta	gaagaaatat	1140
gcaagcctga	aacaattttt	gctactaata	cttcttcatt	atctataact	gaagtagcaa	1200
cagctacaaa	gagaccagat	aaattcatag	gaatgcattt	ctttaatcca	gcaaatgtta	1260
tgaaattagt	tgaaatcata	agaggatatga	atacttcaca	agaaactttt	gatattataa	1320
aagaagcttc	cattaaaata	ggaaaaactc	ctgtagaagt	tcgagaagct	ccaggatttg	1380
ttgtaacaa	gatattagta	ccaatgatca	atgaagcagt	aggaattttg	gcagaaggaa	1440
tagcttcagc	agaagatatc	gatacagcta	tgaaattagg	cgctaatac	ccaatgggtc	1500
ctttagcatt	aggagatctt	attggacttg	atgtagttct	tcagttatg	gatgtacttt	1560
atagtgaac	tggagattca	aaatatagag	ctcatacatt	acttagaaaa	tatgtaagag	1620
caggatggct	tggaaagaaa	tcaggaaaag	gattcttcgc	ttattaatta	attaagttta	1680
caagaatggc	gctttaggag	gattagtcat	gaaagaagtt	gtaatagcta	gtgcagtaag	1740
aacagcgatt	ggatcttatg	gaaagtctct	taaggatgta	ccagcagtag	atttaggagc	1800
tacagctata	aaggaaagcag	ttaaaaaagc	aggaataaaa	ccagaggatg	ttaatgaagt	1860
catttttagga	aatgttcttc	aagcagggtt	aggacagaat	ccagcaagac	aggcatcttt	1920
taaagcagga	ttaccagttg	aaattccagc	tatgactatt	aataagggtt	gtgggttcagg	1980
acttagaaca	gttagcttag	cagcacaaat	tataaaagca	ggagatgctg	acgtaataat	2040

ES 2 803 208 T3

agcaggtggt atggaataa tgtctagagc tccttactta gcgaataacg ctagatgggg	2100
atatagaatg ggaaacgcta aatttggtga tgaaatgac actgacggat tgtgggatgc	2160
atttaaatgat taccacatgg gaataacagc agaaaacata gctgagagat ggaacatttc	2220
aagagaagaa caagatgagt ttgctcttgc atcacaaaaa aaagctgaag aagctataaa	2280
atcaggtcaa tttaaagatg aaatagttcc tgtagtaatt aaaggcagaa agggagaaac	2340
tgtagttgat acagatgagc accctagatt tggatcaact atagaaggac ttgcaaaatt	2400
aaaacctgcc ttcaaaaaag atggaacagt tacagctggt aatgcatcag gattaaatga	2460
ctgtgcagca gtacttgtaa tcatgagtgc agaaaaagct aaagagcttg gagtaaaacc	2520
acttgctaag atagtttctt atggttcagc aggagttgac ccagcaataa tgggatatgg	2580
acctttctat gcaacaaaag cagctattga aaaagcaggt tggacagttg atgaattaga	2640
tttaatagaa tcaaatgaag cttttgcagc tcaaagttta gcagtagcaa aagatttaaa	2700
atgtgatatg aataaagtaa atgtaaatgg aggagctatt gcccttggct atccaattgg	2760
agcatcaggt gcaagaatac tcgttactct tgtacacgca atgcaaaaaa gagatgcaaa	2820
aaaaggctta gcaactttat gtataggtgg cggacaagga acagcaatat tgctagaaaa	2880
gtgctaggag gtaagtttat ggcgcctacc ccgtaggatc caggagggtta gttagaatgg	2940
tttttaaaaa ttggcaggat ctttataaaa gtaaaattgt tagtgcagac gaagctgtat	3000
ctaaagtaag ctgtggagat agcataatth taggcaatgc ttgtggagca tctcttacac	3060
ttttagatgc cttggctgca aataaggaaa agtataagag tgtaaagata cacaatctta	3120
tacttaatta taaaaatgat atatatactg atccggaatc agaaaagtat attcatggaa	3180
atactttctt tgtaagtgga ggtacaaaag aagcagttaa ttgtaataga acagattata	3240
ctccatgctt tttttatgaa ataccaaaat tattaataca aaagtatata aatgcagatg	3300
tagcttttat tcaagtaagt aagcctgata gccatggata ctgtagcttt ggagtatcaa	3360
ccgattattc acaggcaatg gtacagtctg caaagcttat aattgcagaa gtaaacgatc	3420
agatgccaa agtttttaga gacaatttta tacacatttc tgatatggat tacatagtag	3480
aaagttcacg tccaattcta gaattgactc ctcctaaaat aggagaagta gagaagacaa	3540
taggaaaata ctgtgcatct cttgtagaag atggttctac acttcagctt ggaataggag	3600
ctattccaga tgcagtactt ttattcttga aggataaaaa ggatttgggt atacattcag	3660
aatgatatc cgatgggtgt gttgaattag ttgaagcagg ggtaattaca aataagaaaa	3720
agtcccttca tccaggaaaa ataattatta cattcttaat gggaaactaag aaattatatg	3780
atttcataaa tgataatcct atggtagaag gataccctgt agattatgta aatgatccta	3840
aggttattat gcaaaattct aagatgggat gtataaactc ctgtgtagaa gtggatttca	3900

ES 2 803 208 T3

caggacaagt	gtgtgctgaa	agtgtaggat	ttaaacaat	aagcgggtga	ggtggacaag	3960
ttgattacat	gagaggagct	agcatggctg	atggaggaaa	atcaattctt	gctataccat	4020
ctactgcagc	tggcggcaaa	atttcaagaa	tagttcctat	tttaactgaa	ggagcggggg	4080
ttactacttc	aagatatgat	gttcaatatg	ttgttacaga	atatggtatt	gcacttctca	4140
agggcaaatc	cataagagaa	agagctaagg	agcttataaa	aattgcacat	cctaaattta	4200
gggaagaatt	aacagctcaa	tttgaaaaaa	gattcagttg	taagctttaa	gcgat	4255

<210> 23

< 211> 4255

< 212> ADN

5 < 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> pATh-LEM-25

<400> 23

atggaattta	aaaatatcat	tcttgaaaag	gatggaaatg	tggcttcaat	aacgttgaat	60
agacctaagg	cattaaatgc	attaaatgca	gcaactttta	aagagataga	tgccgcaata	120
aacgacattg	ctgaagatga	taacgtatat	gctgtgataa	ttactgggtc	aggtaaagct	180
tttgtagcag	gagcagatat	agctgagatg	aaagatctta	ctgcagttga	gggaagaaag	240
ttttcagttc	ttggcaataa	aatatttaga	aaattagaaa	atttagaaaa	accagttata	300
gcagctataa	atggatttgc	actgggtggt	ggctgtgaat	tgtcattgtc	ttgcgatata	360
agaatagctt	catcaaaggc	taagtttggt	caaccagagg	ttggtcttgg	aattactcca	420
gggtttggag	gtactcaaag	acttgcaaga	gcaataggcg	ttggtatggc	taaggaaactt	480
atatataccg	gaaaagtaat	taatgctgaa	gaggcattaa	gaataggttt	ggtaaataaa	540
gtagttgagc	cagataaatt	attggaagaa	gctaaagctt	tagtagatgc	tattattggt	600
aatgcacctt	tagctgttag	aatgtgtaag	gctgctataa	atcaaggact	tcagtgtgat	660
atagatacag	gtgtagctta	tgaagcagaa	gtatttgggg	aatgttttgc	tacagaagat	720
agagtagaag	gaatgacagc	atttgtagaa	aaaagagaca	aggcttttaa	aaataagtaa	780
ggccggccaa	agtattgtta	aaaagggagg	tctgtttaat	gagtattaaa	agtgtagcgg	840
ttttaggtag	tggaactatg	tctcgtggaa	ttgtgcaggc	ttttgcagaa	gcaggtatag	900
atgtaattat	ccgtggaaga	actgaaggta	gtattggaaa	aggtctagca	gcagtaaaga	960
aagcttatga	taaaaaagta	tcaaagggga	aaatttccca	ggaagatgct	gataaaatag	1020
ttggaagagt	aagtacaaca	actgaacttg	aaaaattggc	tgattgtgat	cttataaatag	1080
aagcagcatc	agaggatatg	aatataaaga	aagactatct	tggaaaatta	gaagaaatat	1140
gcaagcctga	aacaattttt	gctactaata	cttcttcatt	atctataact	gaagtagcaa	1200
cagctacaaa	gagaccagat	aaattcatag	gaatgcattt	ctttaatcca	gcaaatgtta	1260

ES 2 803 208 T3

tgaaattagt tgaaatcata agaggtatga atacttcaca agaaactttt gatattataa	1320
aagaagcttc cattaaaata ggaaaaactc ctgtagaagt tgcagaagct ccaggatttg	1380
ttgtaaaca gatattagta ccaatgatca atgaagcagt aggaattttg gcagaaggaa	1440
tagcttcagc agaagatata gatacagcta tgaaattagg cgctaatacac ccaatgggtc	1500
ctttagcatt aggagatctt attggacttg atgtagttct tgcagttatg gatgtacttt	1560
atagtgaac tggagattca aaatatagag ctcatacatt acttagaaaa tatgtaagag	1620
caggatggct tggaagaaaa tcaggaaaag gattcttcgc ttattaatta attaagtta	1680
caagaatggc gctttaggag gattagtcat gaaagaagtt gtaatagcta gtgcagtaag	1740
aacagcgatt ggatcttatg gaaagtctct taaggatgta ccagcagtag atttaggagc	1800
tacagctata aaggaagcag ttaaaaaagc aggaataaaa ccagaggatg ttaatgaagt	1860
cattttagga aatgttcttc aagcagggtt aggcagaat ccagcaagac aggcattctt	1920
taaagcagga ttaccagttg aaattccagc tatgactatt aataagggtt gtggttcagg	1980
acttagaaca gttagcttag cagcacaat tataaaagca ggagatgctg acgtaataat	2040
agcaggtggt atggaaaata tgtctagagc tccttactta gcgaataacg ctagatgggg	2100
atatagaatg ggaacgcta aatttggtga tgaaatgac actgacggat tgtgggatgc	2160
atttaatgat taccacatgg gaataacagc agaaaacata gctgagagat ggaacatttc	2220
aagagaagaa caagatgagt ttgctcttgc atcacaaaa aaagctgaag aagctataaa	2280
atcaggtcaa tttaaagatg aaatagttcc tgtagtaatt aaaggcagaa agggagaaac	2340
tgtagttgat acagatgagc accctagatt tggatcaact atagaaggac ttgcaaaatt	2400
aaaacctgcc ttcaaaaaag atggaacagt tacagctggt aatgcatcag gattaaatga	2460
ctgtgcagca gtacttgtaa tcatgagtgc agaaaaagct aaagagcttg gagtaaaacc	2520
acttgctaag atagtttctt atggttcagc aggagttgac ccagcaataa tgggatatgg	2580
acctttctat gcaacaaaag cagctattga aaaagcaggt tggacagttg atgaattaga	2640
tttaatagaa tcaaatgaag cttttgcagc tcaaagtta gcagtagcaa aagatttaa	2700
atttgatatg aataaagtaa atgtaaatgg aggagctatt gcccttggtt atccaattgg	2760
agcatcaggt gcaagaatac tcgttactct tgtacacgca atgcaaaaa gagatgcaa	2820
aaaaggctta gcaactttat gtataggttg cggacaagga acagcaatat tgctagaaaa	2880
gtgctaggag gtaagtttat ggcgctacc ccgtaggatc caggaggtta gttagaatgg	2940
tttttaaaaa ttggcaggat ctttataaaa gtaaaattgt tagtgcagac gaagctgtat	3000
ctaaagtaag ctgtggagat agcataattt taggcaatgc ttgtggagca tctcttacac	3060
ttttagatgc cttggctgca aataaggaaa agtataagag tgtaaagata cacaatctta	3120

ES 2 803 208 T3

tacttaatta taaaaatgat atatatactg atccggaatc agaaaagtat attcatggaa	3180
atacttttctt tgtaagtggg ggtacaaaagg aagcagttaa ttgtaataga acagattata	3240
ctccatgctt tttttatgaa ataccaaaat tattaataca aaagtatata aatgcagatg	3300
tagcttttat tcaagtaagt aagcctgata gccatggata ctgtagcttt ggagtatcaa	3360
ccgattattc acaggcaatg gtacagtctg caaagcttat aattgcagaa gtaaacgac	3420
agatgccaaag agtttttagga gacaatttta tacacatttc tgatatggat tacatagtag	3480
aaagttcacg tccaattcta gaattgactc ctctaaaat aggagaagta gagaagacaa	3540
taggaaaata ctgtgcatct cttgtagaag atgggtctac acttcagctt ggaataggag	3600
ctattccaga tgcagtactt ttattcttga aggataaaaa ggatttgggt atacattcag	3660
aatgatatc cgatggtggt gttgaattag ttgaagcagg ggtaattaca aataagaaaa	3720
agtccttca tccaggaaaa ataattatta cattcttaat gggaactaag aaattatatg	3780
atttcataaa tgataatcct atggtagaag gataccctgt agattatgta aatgatccta	3840
aggttattat gcaaaattct aagatggtat gtataaaactc ctgtgtagaa gtggatttca	3900
caggacaagt gtgtgctgaa agtgtaggat ttaaacaaat aagcgggtga ggtggacaag	3960
ttgattacat gagaggagct agcatggctg atggaggaaa atcaattctt gctataccat	4020
ctactgcagc tggcggcaaa atttcaagaa tagttcctat ttttaactgaa ggagcggggg	4080
ttactacttc aagatatgat gttcaatatg ttgttacaga atatggtatt gcacttctca	4140
agggcaaatc cataagagaa agagctaagg agcttataaa aattgcacat cctaaattta	4200
gggaagaatt aacagctcaa tttgaaaaaa gattcagttg taagctttaa gcgat	4255

<210> 24

< 211> 4255

< 212> ADN

5 < 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> pATh-LEM-26

<400> 24

atggaattta aaaatatcat tcttgaaaag gatggaaatg tggcttcaat aacgttgaat	60
agacctaagg cattaaatgc attaaatgca gcaactttaa aagagataga tgccgcaata	120
aacgacattg ctgaagatga taacgtatat gctgtgataa ttactgggtc aggtaaagct	180
tttgtagcag gagcagatat agctgagatg aaagatctta ctgcagttga gggaagaaag	240
ttttcagttc ttggcaataa aatatttaga aaattagaaa atttagaaaa accagttata	300
gcagctataa atggatttgc actgggtggt ggctgtgaat tgtcattgtc ttgcgatata	360
agaatagctt catcaaaggc taagtttgggt caaccagagg ttggtcttgg aattactcca	420
gggtttggag gtactcaaag acttgcaaga gcaataggcg ttggtatggc taaggaaactt	480

ES 2 803 208 T3

atatataccg gaaaagtaat taatgctgaa gaggcattaa gaatagggtt ggtaaataaa	540
gtagttgagc cagataaatt attggaagaa gctaaagctt tagtagatgc tattattggt	600
aatgcaccta tagctgttag aatgtgtaag gctgctataa atcaaggact tcagtgtgat	660
atagatacag gtgtagctta tgaagcagaa gtatttgggg aatgttttgc tacagaagat	720
agagtagaag gaatgacagc attttagtaa aaaagagaca aggcttttaa aaataagtaa	780
ggccggccaa agtattgtta aaaagggagg tctgtttaat gattattaaa agttagcgg	840
ttttaggtag tggaactatg tctcgtggaa ttgtgcaggc ttttgcagaa gcaggtatag	900
atgtaattat ccgtggaaga actgaaggta gtattggaaa aggtctagca gcagtaaaga	960
aagcttatga taaaaaagta tcaaagggga aaatttccca ggaagatgct gataaaatag	1020
ttggaagagt aagtacaaca actgaacttg aaaaattggc tgattgtgat cttataatag	1080
aagcagcatc agaggatatg aatataaaga aagactattt tggaaaatta gaagaaatat	1140
gcaagcctga aacaattttt gctactaata cttcttcatt atctataact gaagtagcaa	1200
cagctacaaa gagaccagat aaattcatag gaatgcattt ctttaatcca gcaaatgtta	1260
tgaaattagt tgaaatcata agaggtatga atacttcaca agaaactttt gatattataa	1320
aagaagcttc cattaaaata ggaaaaactc ctgtagaagt tgcagaagct ccaggatttg	1380
ttgtaacaa gatattagta ccaatgatca atgaagcagt aggaattttg gcagaaggaa	1440
tagcttcagc agaagatc gatacagcta tgaaattagg cgtaatcac ccaatgggtc	1500
cttttagcatt aggagatctt attggacttg atgtagttct tgcagttatg gatgtacttt	1560
atagtgaac tggagattca aaatatagag ctcatcatt acttagaaaa tatgtaagag	1620
caggatggct tggaagaaaa tcaggaaaag gattcttcgc ttattaatta attaagtta	1680
caagaatggc gcttttaggag gattagtcac gaaagaagt gtaatagcta gtgcagtaag	1740
aacagcgatt ggatcttatg gaaagtctct taaggatgta ccagcagtag atttaggagc	1800
tacagctata aaggaagcag ttaaaaaagc aggaataaaa ccagaggatg ttaatgaagt	1860
catttttaga aatgttcttc aagcagggtt aggcagaaat ccagcaagac aggcattctt	1920
taaagcagga ttaccagttg aaattccagc tatgactatt aataagggtt gtggttcagg	1980
acttagaaca gttagcttag cagcacaaat tataaaagca ggagatgctg acgtaaat	2040
agcaggtggt atggaaaata tgtctagagc tccttactta gcgaataacg ctagatgggg	2100
atatagaatg ggaacgcta aatttgttga tgaaatgat actgacggat tgtgggatgc	2160
atttaaatgat taccacatgg gaataacagc agaaaacata gctgagagat ggaacatttc	2220
aagagaagaa caagatgagt ttgctcttgc atcacaaaaa aaagctgaag aagctataaa	2280
atcaggtcaa tttaaagatg aaatagttcc tgtagtaatt aaaggcagaa agggagaaac	2340

ES 2 803 208 T3

tgtagttgat acagatgagc accctagatt tggatcaact atagaaggac ttgcaaaatt	2400
aaaacctgcc ttcaaaaaag atggaacagt tacagctggt aatgcatcag gattaaatga	2460
ctgtgcagca gtacttgtaa tcatgagtgc agaaaaagct aaagagcttg gagtaaaacc	2520
acttgctaag atagtttctt atggttcagc aggagttgac ccagcaataa tgggatatgg	2580
acctttctat gcaacaaaag cagctattga aaaagcaggt tggacagttg atgaattaga	2640
tttaatagaa tcaaatgaag cttttgcagc tcaaagtta gcagtagcaa aagattttaa	2700
atttgatatg aataaagtaa atgtaaatgg aggagctatt gcccttggtt atccaattgg	2760
agcatcaggt gcaagaatac tcgttactct tgtacacgca atgcaaaaa gagatgcaaa	2820
aaaaggctta gcaactttat gtatagtggt cggacaagga acagcaatat tgctagaaaa	2880
gtgctaggag gtaagtttat ggcgcctacc ccgtaggac caggaggtta gttagaatgg	2940
tttttaaaaa ttggcaggat cttttataaaa gtaaaattgt tagtgcagac gaagctgtat	3000
ctaaagtaag ctgtggagat agcataattt taggcaatgc ttgtggagca tctcttacac	3060
ttttagatgc cttggctgca aataaggaaa agtataagag tgtaaagata cacaatctta	3120
tacttaatta taaaaatgat atatatactg atccggaatc agaaaagtat attcatggaa	3180
atactttctt tgtaagtggg ggtacaaagg aagcagttaa ttgtaataga acagattata	3240
ctccatgctt tttttatgaa ataccaaaat tattaataca aaagtatata aatgcagatg	3300
tagcttttat tcaagtaagt aagcctgata gccatggata ctgtagcttt ggagtatcaa	3360
ccgattattc acaggcaatg gtacagctctg caaagcttat aattgcagaa gtaaacgac	3420
agatgccaa agtttttagga gacaatttta tacacatttc tgatatggat tacatagtag	3480
aaagtccacg tccaattcta gaattgactc ctccataaat aggagaagta gagaagacaa	3540
taggaaaata ctgtgcatct cttgtagaag atggttctac acttcagctt ggaataggag	3600
ctattccaga tgcagtactt ttattcttga aggataaaaa ggatttgggt atacattcag	3660
aatgatatc cgatgggtgtt gttgaattag ttgaagcagg ggttaattaca aataagaaaa	3720
agtcccttca tccaggaaaa ataattatta cattcttaat gggaaactaag aaattatatg	3780
atttcataaa tgataatcct atggtagaag gataccctgt agattatgta aatgatccta	3840
aggttattat gcaaaattct aagatgggtat gtataaaactc ctgtgtagaa gtggatttca	3900
caggacaagt gtgtgctgaa agtgtaggat ttaacaaat aagcgggtgta ggtggacaag	3960
ttgattacat gagaggagct agcatggctg atggaggaaa atcaattctt gctataccat	4020
ctactgcagc tggcgccaaa atttcaagaa tagttctctat tttaactgaa ggagcggggg	4080
ttactacttc aagatatgat gttcaatatg ttgttacaga atatgggtatt gcacttctca	4140
agggcaaatc cataagagaa agagctaagg agcttataaa aattgcacat cctaaattta	4200
gggaagaatt aacagctcaa tttgaaaaaa gattcagttg taagctttaa gcgat	4255

<210> 25

< 211> 568

< 212> ADN

5 < 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> fragmento del promotor pta

<400> 25

cctgcaggca tttgtcaact atagatggtg aacctctttg cacgaagtta ccactcataa	60
ctgctattac agcatcacat tttgtagcag aacgagcact ttcaatatga tatttatgtc	120
cattgtgaaa gggattatat tcaactatta ttccagttac gttcatagaa attttccttt	180
ctaaaatatt ttattccatg tcaagaactc tgtttatttc attaaagaac tataagtaca	240
aagtataggg catttgaaaa aataggctag tatattgatt gattatttat tttaaaatgc	300
ctaagtgaat tatatacata ttataacaat aaaataagta ttagtgtagg atttttaaat	360
agagtatcta ttttcagatt aaatttttgc ttatttgatt tacattatat aatattgagt	420
aaagtattga ctagcaaaat tttttgatac tttaatttgt gaaatttctt atcaaaagtt	480
atatttttga atgattttta ttgaaaaata caactaaaaa ggattatagt ataagtgtgt	540
gtaattttgt gttaaattta aaggatcc	568

5 <210> 26

< 211> 1314

< 212> ADN

< 213> Clostridium kluyveri

<400> 26

atggttttta aaaattggca ggatctttat aaaagtaaaa ttgttagtgc agacgaagct	60
gtatctaaag taagctgtgg agatagcata attttaggca atgcttgtgg agcatctctt	120
acacttttag atgccttggc tgcaaataag gaaaagtata agagtgtaaa gatacacaat	180
cttatactta attataaaaa tgatatatat actgatccgg aatcagaaaa gtatattcat	240
ggaaataactt tctttgtaag tggaggtaca aaggaagcag ttaattgtaa tagaacagat	300
tatactccat gcttttttta tgaaatacca aaattattaa aacaaaagta tataaatgca	360
gatgtagctt ttattcaagt aagtaagcct gatagccatg gatactgtag ctttgagta	420
tcaaccgatt attcacaggc aatggtacag tctgcaaagc ttataattgc agaagtaaac	480
gatcagatgc caagagtttt aggagacaat ttatacaca tttctgatat ggattacata	540
gtagaaaagt caggtccaat tctagaattg actcctocta aaataggaga agtagagaag	600
acaataggaa aatactgtgc atctcttgta gaagatggtt ctacacttca gcttggaata	660
ggagctattc cagatgcagt acttttatcc ttgaaggata aaaaggattt gggatatacat	720
tcagaaatga tatccgatgg tgttggtgaa ttagttgaag caggggtaat tacaaataag	780

10

ES 2 803 208 T3

```

aaaaagtccc ttcatccagg aaaaataatt attacattct taatgggaac taagaaatta      840
tatgatttca taaatgataa tcctatggta gaaggatacc ctgtagatta tgtaaatgat      900
cctaaggtta ttatgcaaaa ttctaagatg gtatgtataa actcctgtgt agaagtggat      960
ttcacaggac aagtgtgtgc tgaaagtgtg ggattttaac aaataagcgg tgtaggtgga     1020
caagttgatt acatgagagg agctagcatg gctgatggag gaaaatcaat tcttgctata     1080
ccatctactg cagctggcgg caaaatttca agaatagttc ctattttaac tgaaggagcg     1140
ggggttacta cttcaagata tgatgttcaa tatgttggtt cagaatatgg tattgcactt     1200
ctcaagggca aatccataag agaaagagct aaggagctta taaaaattgc acatcctaaa     1260
tttagggaag aattaacagc tcaatttgaa aaaagattca gttgtaagct ttaa           1314

```

<210> 27

< 211> 433

< 212> PRT

5 < 213> C. carboxidivorans

<400> 27

```

Met Asp Trp Lys Lys Leu Tyr Lys Ser Lys Leu Val Ser Ala Lys Glu
1          5          10          15

Ala Val Ser Asn Ile Lys Ser Asn Ser Arg Val Val Val Ser Ile Ala
          20          25          30

Val Ala Glu Pro Thr Glu Leu Ile Asp Ala Leu Val Ala Asn Lys Glu
          35          40          45

Asn Tyr Glu Asn Val Glu Val Val His Met Val Asp Met Gly Lys Ser
          50          55          60

Glu Tyr Ala Gln Glu Gly Met Glu Lys Tyr Phe Lys Tyr Asn Ser Ile
65          70          75          80

Phe Val Gly Ala Ser Thr Lys Asp Ala Val Asn Ser Gly Arg Ser Asp
          85          90          95

Phe Thr Pro Cys Cys Phe Tyr Glu Leu Pro Arg Leu Phe Glu Glu Gly
          100          105          110

Tyr Leu Pro Val Asp Val Val Leu Ile Gln Val Ser Lys Pro Asp Lys
          115          120          125

His Gly Tyr Cys Ser Phe Gly Val Ser Asn Asp Tyr Thr Lys Pro Ala
          130          135          140

```

ES 2 803 208 T3

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

ES 2 803 208 T3

Ser Leu Lys Glu Arg Ala Arg Ala Leu Ile Asn Ile Ala His Pro Asp
405 410 415

Phe Arg Ala Trp Leu Ile Asp Glu Tyr Glu Lys Arg Phe Lys Thr Lys
420 425 430

Phe

<210> 28

< 211> 1179

< 212> ADN

5 < 213> Clostridium acetobutylicum

<400> 28

atgaaagaag ttgtaatagc tagtgcagta agaacagcga ttggatccta tggaaagtct	60
cttaaggatg taccagcagt agatttagga gctacagcta taaaggaagc agttaaaaaa	120
gcaggaataa aaccagagga tgttaatgaa gtcatttttag gaaatgttct tcaagcaggt	180
ttaggacaga atccagcaag acaggcatct tttaaagcag gattaccagt tgaaattoca	240
gctatgacta ttaataaggt ttgtggttca ggacttagaa cagttagctt agcagcacia	300
attataaaag caggagatgc tgacgtaata atagcaggtg gtatggaaaa tatgtctaga	360
gctccttact tagcgaataa cgctagatgg ggatatagaa tgggaaacgc taaatttggt	420
gatgaaatga tcactgacgg attgtgggat gcatttaatg attaccacat gggaataaca	480
gcagaaaaca tagctgagag atggaacatt tcaagagaag aacaagatga gtttgctctt	540
gcatcacaaa aaaaagctga agaagctata aaatcaggtc aatttaaaga tgaaatagtt	600
cctgtagtaa ttaaaggcag aaaggagaa actgtagttg atacagatga gcaccctaga	660
tttgatcaa ctatagaagg acttgcaaaa ttaaaacctg ccttcaaaaa agatggaaca	720
gttacagctg gtaatgcatc aggattaaat gactgtgcag cagtacttgt aatcatgagt	780
gcagaaaaag ctaaagagct tggagtaaaa ccacttgcta agatagtttc ttatggttca	840
gcaggagttg acccagcaat aatgggatat ggacctttct atgcaacaaa agcagctatt	900
gaaaaagcag gttggacagt tgatgaatta gatttaatag aatcaaatga agcttttgca	960
gctcaaagtt tagcagtagc aaaagattta aaatttgata tgaataaagt aaatgtaaat	1020
ggaggagcta ttgcccttgg tcatccaatt ggagcatcag gtgcaagaat actcgttact	1080
cttgtagacg caatgcaaaa aagagatgca aaaaaaggct tagcaacttt atgtataggt	1140
ggcggacaag gaacagcaat attgctagaa aagtgctag	1179

<210> 29

< 211> 849

10 < 212> ADN

< 213> Clostridium kluyveri

<400> 29

atgagtatta aaagtgtagc ggtttttaggt agtggaaacta tgtctcgtgg aattgtgcag	60
gcttttgcag aagcaggtat agatgtaatt atccgtggaa gaactgaagg tagtattgga	120
aaaggtctag cagcagtaaa gaaagcttat gataaaaaag tatcaaaggg gaaaatttcc	180
caggaagatg ctgataaaat agttggaaga gtaagtacaa caactgaact tgaaaaattg	240
gctgattgtg atcttataat agaagcagca tcagaggata tgaatataaa gaaagactat	300
tttggaatat tagaagaaat atgcaagcct gaaacaattt ttgctactaa tactttctca	360
ttatctataa ctgaagtagc aacagctaca aagagaccag ataaattcat aggaatgcat	420
ttctttaata cagcaaatgt tatgaaatta gttgaaatca taagaggatg gaatacttca	480
caagaaactt ttgatattat aaaagaagct tccattaaaa taggaaaaac tcctgtagaa	540
gttgacagaag ctccaggatt tgttgtaaac aagatattag taccaatgat caatgaagca	600
gtaggaattt tggcagaagg aatagcttca gcagaagata tcgatacagc tatgaaatta	660
ggcgctaata acccaatggg tccttttagca ttaggagatc ttattggact tgatgtagtt	720
cttgacagtta tggatgtact ttatagttaa actggagatt caaaatatag agctcataca	780
ttacttagaa aatatgtaag agcaggatgg cttggaagaa aatcaggaaa aggattcttc	840
gcttatttaa	849

<210> 30

5 < 211> 780

< 212> ADN

< 213> Clostridium kluyveri

<400> 30

atggaattta aaaatatcat tcttgaaaag gatggaaatg tggcttcaat aacgttgaat	60
agacctaagg cattaaatgc attaaatgca gcaactttta aagagataga tgccgcaata	120
aacgacattg ctgaagatga taacgtatat gctgtgataa ttactgggtc aggtaaagct	180
tttgtagcag gagcagatat agctgagatg aaagatctta ctgcagttga gggaagaaag	240
ttttcagttc ttggcaataa aatatttaga aaattagaaa atttagaaaa accagttata	300
gcagctataa atggatttgc actgggtggt ggctgtgaat tgcattgtc ttgcgatata	360
agaatagctt catcaaaggc taagtttggt caaccagagg ttggtcttgg aattactcca	420
gggtttggag gtactcaaag acttgcaaga gcaataggcg ttggtatggc taaggaactt	480
atatataccg gaaaagtaat taatgctgaa gaggcattaa gaataggttt ggtaaataaa	540
gtagttgagc cagataaatt attggaagaa gctaaagctt tagtagatgc tattattgtt	600
aatgcaccta tagctgttag aatgtgtaag gctgctataa atcaaggact tcagtgtgat	660
atagatacag gtgtagctta tgaagcagaa gtatttgggg aatgttttgc tacagaagat	720

agagtagaag gaatgacagc atttgtagaa aaaagagaca aggcttttaa aaataagtaa 780

<210> 31

< 211> 1140

5 < 212> ADN

< 213> Clostridium kluyveri

<400> 31

atggatttta cattaacaaa cgagcaaaaa tttgtagaac aaatggtaag tgaatttact	60
gaaaaatgaag ttaaacctat agctgctgaa atagatgaaa cagaaagggt tcctcttgag	120
acagtagaaa aatttgctaa atacggaatg atgggtatgc cttttccagt tgaatacggc	180
ggctcaggta cagattatatt atcctatata atagcagtag aaggacttgc aaagagttgt	240
acttcatcat caactatatt gtcagcacat acttcacttt gtgcagcacc tatttatgat	300
tgggggtacag aagaacagaa acaaaaatac ttagttcctc ttgcaaaggg agaaaaactt	360
ggagcatttg gttaactga acctaatgca ggtactgatg ctgctggaca gcagacaaca	420
gctgttttag aaggggatca ttatgtatta aatggacaaa aaatatttat tacaatgggt	480
gcatatgcag atacttttgt aatatttgca atgacagaca gaagcaaggg tacaagagga	540
ataacagcat ttatagttga aaaagatttc cctggtttct ccataggaaa atctgaagat	600
aagttgggaa ttagagcttc ctcaactaca gaacttatat ttgagaattg catagttcca	660
aaagaaaata tgtaggaaa agaaggaaaa ggatttactg tagcaatgca tactcttgat	720
ggaggaagaa ttggtatagc agcacaagcg ttaggtttag cagaaggcgc attagctgaa	780
gcacttaatt atatgaaaga aagaaaacaa tttggaaaag ctctttacaa attccaggga	840
ttagcatgga tggttgcaga attagatact aaaatagaag ctgttaaaca acttgtttat	900
aaagcagcag taaataaaca aatgggtctt ccatattcag tggaagctgc aagagctaaa	960
ttagctgcgg ctactgtagc tatggaaaca actactaaag ttgttcaaact ctttggtgga	1020
tatggattca ctaaggatta tccagtagaa agaattgatga gagatgctaa gataactgaa	1080
atatatgaag gaacttcaca agtacaaaag atgggtatatt cagcaaattt atttaaataa	1140

<210> 32

10 < 211> 780

< 212> ADN

< 213> Clostridium kluyveri

<400> 32

ES 2 803 208 T3

atgaaaatag tagtttgctt aaagcaagta ccagatacaa ctgaagttaa aatagatcca	60
aaaacaggaa cattaataag agaaggcggtt ccatcaataa taaaccaga tgataaaaat	120
gcacttgaag aatcaattgc tttaaaagaa aaagtagggg gtacagttac agtagtaagc	180
atggggcctc cacaggcagt ggatgcactt agagaagctc tagctatggg agctgatgaa	240
gcaatattag tttcagacag agcttttgca ggagcagata ctcaagctac ttcctatgca	300
ttagcaggag cacttaaaaa tttagaatat gatttaatat ttgcaggaag acaagctata	360
gatggagata ctgcacaggt tggacctcaa atagcagaaa aattaggaat acctcagata	420
acatatgtag aaaaagttga tgtagatgga gatactttaa cagttcaaag agcttgggaa	480
gatggatatg aagtagcaaa aattaaaact ccatgcatgt taactgctat aaaagagtta	540
aatcaaccaa gatatatgaa catgaagaac atatttgaag ttttcaagaa agaagttaa	600
atatggagtg ctgacgactt agatgtagat aaaaataaac ttggtcttaa tggttcctgc	660
acaaaagtta agagatcaca taaaaagaa gcaaaaggag caggagaaat cgtaataaa	720
ccaataaaaag aagcagtagc atattcaatt tcaaaattaa gagaaaaaca tgtcatttaa	780

<210> 33

5 < 211> 1005

< 212> ADN

< 213> Clostridium kluyveri

<400> 33

ES 2 803 208 T3

atgaacttag cagaatacaa aggcgtatgg gtatttgctg aacaaagga tggagaacta	60
caaaaagtag cacttcaatt agttggaaaa ggaagagaat tggcagacac tttaggagta	120
gaattaactg ctgtattact tggtagtgaa gtagatgatt tggcaaaaga attagttgca	180
tatggagcag acaatgtttt atacgcagat agtcctcttt taaaacatta tactacagat	240
ggatacacta aagtaataga tgaacttata aaagaaagaa aaccagaaat attacttata	300
ggagctacat ttatcggaag agacttagga ccaagagttg caggtagagt ttttacaggt	360
cttacagcag actgtacagg acttgatata gatgaggcaa caaaaaattt gatgatgaca	420
agacctgcat ttggtggaat cttaatggca actatagctt gcgaaaaaac aagacctcaa	480
atgtcaacag taagaccagg agtttttaaat gcgcttccaa gagatgcttc aagaactgga	540
aaaatagaaa aaatagctgc aaatggtgca aaagatgaca tcagaattga agtgcttgaa	600
gtagttaaat ctgctggcga tacaatagat atttcagaag cagatgtaat tgtatcaggt	660
ggaagaggac ttggtggtcc agatggattc aaagttctta aagaattagc agatttatta	720
ggtggaacta taggtggatc ccgtgcaact atagatgctg gctggataga taagagctat	780
cagggtggac aaactggtaa aacagtaaga ccagggtctt atattgcatg cggaatatca	840
ggtcaaatac aacatttagc tggtagcag gatagtggtt ttatcgtagc tatcaataaa	900
gatgaaaacg ctccaatgat gcaagtagcg gatcttgcaa ttgtaggaga tttatataag	960
gttggtccag aatttgtaga acaagttaaa gctttaaatc ttttaa	1005

<210> 34

< 211> 1140

< 212> ADN

5 < 213> Clostridium acetobutylicum

<400> 34

atggatttta atttaacaag agaacaagaa ttagtaagac agatggtttag agaatttgct	60
gaaaaatgaag ttaaacctat agcagcagaa attgatgaaa cagaaagatt tccaatggaa	120
aatgtaaaga aaatgggtca gtatggtatg atgggaattc cattttcaaa agagtatggt	180
ggcgcaggtg gagatgtatt atcttatata atcgccgttg aggaattatc aaaggtttgc	240
ggtactacag gagttattct ttcagcacat acatcacttt gtgcttcatt aataaatgaa	300
catggtacag aagaacaaaa acaaaaatat ttagtacctt tagctaaagg tgaaaaaata	360
ggtgcttatg gattgactga gccaaatgca ggaacagatt ctggagcaca acaaacagta	420
gctgtacttg aaggagatca ttatgtaatt aatggttcaa aaatattcat aactaatgga	480
ggagttgcag atacttttgt tatatttgca atgactgaca gaactaaagg aacaaaaggt	540
atatcagcat ttataataga aaaaggcttc aaaggtttct ctattggtaa agttgaacaa	600
aagcttggaa taagagcttc atcaacaact gaacttgat ttgaagatat gatagtacca	660
gtagaaaaca tgattggtaa agaaggaaaa ggcttcccta tagcaatgaa aactcttgat	720
ggaggaagaa ttggtatagc agctcaagct ttaggtatag ctgaagggtgc tttcaacgaa	780
gcaagagctt acatgaagga gagaaaacaa tttggaagaa gccttgacaa attccaaggt	840
cttgcatgga tgatggcaga tatggatgta gctatagaat cagctagata tttagtatat	900
aaagcagcat atcttaaaca agcaggactt ccatacacag ttgatgctgc aagagctaag	960
cttcagtctg caaatgtagc aatggatgta acaactaagg cagtacaatt atttggtgga	1020
tacggatata caaaagatta tccagttgaa agaatgatga gagatgctaa gataactgaa	1080
atatatgaag gaacttcaga agttcagaaa ttagttattt caggaaaaat ttttagataa	1140

<210> 35

< 211> 1011

< 212> ADN

5 < 213> Clostridium acetobutylicum

<400> 35

atgaataaag cagattacaa gggcgtatgg gtgtttgctg aacaaagaga cggagaatta	60
caaaagggtat cattggaatt attaggtaaa ggtaaggaaa tggctgagaa attaggcgtt	120
gaattaacag ctgttttact tggacataat actgaaaaaa tgtcaaagga tttattatct	180
catggagcag ataagggtttt agcagcagat aatgaacttt tagcacattt ttcaacagat	240
ggatattgcta aagttatatg tgatttagtt aatgaaagaa agccagaaat attattcata	300
ggagctactt tcataggaag agatttagga ccaagaatag cagcaagact ttctactggt	360
ttaactgctg attgtacatc acttgacata gatgtagaaa atagagattt attggctaca	420
agaccagcgt ttggtggaaa tttgatagct acaatagttt gttcagacca cagaccacaa	480

ES 2 803 208 T3

atggctacag taagacctgg tgtgtttgaa aaattacctg ttaatgatgc aaatgtttct	540
gatgataaaa tagaaaaagt tgcaattaaa ttaacagcat cagacataag aacaaaagtt	600
tcaaaagttg ttaagcttgc taaagatatt gcagatatcg gagaagctaa ggtattagtt	660
gctggtggta gaggagttgg aagcaaagaa aactttgaaa aacttgaaga gtttagcaagt	720
ttacttggtg gaacaatagc cgcttcaaga gcagcaatag aaaaagaatg ggttgataag	780
gaccttcaag taggtcaaac tggtaaaact gtaagaccaa ctctttatat tgcattgtgt	840
atatcaggag ctatccagca tttagcaggt atgcaagatt cagattacat aattgctata	900
aataaagatg tagaagcccc aataatgaag gtagcagatt tggctatagt tggatgatga	960
aataaagttg taccagaatt aatagctcaa gttaaagctg ctaataatta a	1011

<210> 36

< 211> 780

< 212> ADN

5 < 213> Clostridium acetobutylicum

<400> 36

atgaatatag ttgtttgttt aaaacaagtt ccagatacag cggaagttag aatagatcca	60
gttaaggga cacttataag agaaggagtt ccatcaataa taaatccaga tgataaaaac	120
gcacttgagg aagctttagt attaaaagat aattatggtg cacatgtaac agttataagt	180
atgggacctc cacaagctaa aaatgcttta gtagaagctt tggctatggg tgctgatgaa	240
gctgtacttt taacagatag agcatttgga ggagcagata cacttgcgac ttcacataca	300
attgcagcag gaattaagaa gctaaaatat gatatatgtt ttgctggaag gcaggctata	360
gatggagata cagctcaggt tggaccagaa atagctgagc atcttggaat acctcaagta	420
acttatgttg agaaagttga agttgatgga gatactttaa agattagaaa agcttgggaa	480
gatggatatg aagttgttga agttaagaca ccagttcttt taacagcaat taaagaatta	540
aatgttccaa gatatatgag tgtagaaaaa atattcggag catttgataa agaagtaaaa	600
atgtggactg ccgatgatat agatgtagat aaggctaatt taggtcttaa aggttcacca	660
actaaagtta agaagtcac aactaaagaa gttaaaggac agggagaagt tattgataag	720
cctgttaagg aagcagctgc atatgttgtc tcaaaattaa aagaagaaca ctatatttaa	780

<210> 37

< 211> 1689

10 < 212> ADN

< 213> Clostridium kluyveri

<400> 37

ES 2 803 208 T3

```

atgaactttg aactcaccaa agaacaacaa atgattagag ataatgttcg aaagtttgca      60
gaagcaaaaa tcgagcctat tgcatttcaa ctagatgaga aaaatatatt tcctgaagaa      120

atagttaatg agatggggga tctatctatt atgggtcttc catacccaaa agaatatggt      180
ggagcgggaa aagatgtatt gagctatgct attgcggtag aagaactatc aagggtagat      240
gcaggtgtgg gtgttatatt atctgcacac acatctcttg gaacttggcc tattatggag      300
tttgggacaa aagaacaaaa agaaaaatat ctagttccac tggcctcggg caagaaaatt      360
gctgcttttg gtcttacaga acctaagtct ggaagtgatg ccggcaagac agaaactaca      420
gcggttttag aaggcgatca ttatgtcata aatggttcta aggtatttat aacaaatgcg      480
gattatgcag atacttatgt aatatttgcg gttacaactc caggtttggg aaccaagggg      540
ataagtgcct ttattattga gaagggtatg gatggattta cttttggtac tcattataat      600
aaaatgggta tacgttcttc cgctacagca gagcttttat ttaaaaattt gaaggtacca      660
aatataatc ttttgggaaa agaaaatgag ggctttaaaa ttgccatgca gaccctagaa      720
ggtgggcgca taggtattgc ggcacaggca cttggaattg cccaggggtgc atatgagaaa      780
gcactaagct actccaagga aagagttcag tttgaaaac ctatttcaag acaacaatcc      840
atagcattta aacttgcgga tatggctact aaaattcggg cggctagatt tatggtatat      900
agtgcagctg tattaaagca ggaacataaa aattatggaa tggaatccgc tatggcgaaa      960
ttgtatgctt ctgatatttg ccttgaagtt gttaatgatg cagtgc aaat atatgggggc      1020
tcaggattta ttaaaggatt tcctgtagag cgtatgtacc gtgatgctaa gatctgtaca      1080
atatatgaag gaactaatga gattcaaaga cttattatct ccaatgatat tttaggtaaa      1140
cctaaaaaag aacctattga ggaaaataaa gaaaataaag ttaataaagc aaaacctata      1200
acgggaaacc gtaggagggg cattataaaa gaaggctctc caaaagaaaa ggtggatgca      1260
tttttaaatt atattaaaag tgaaaatata gatattaata aaagtgaagc ttctaagga      1320
agtatagcag acgcagataa agtatgcagt ataggactgg gattaaagga taaaaaagac      1380
ttgcctttaa tacaatcact agcggataca gttggtgctg aacttggctg ttccagacct      1440
gtggctgaag aaagggaatg gctgccactt gatcgttatg taggcataatc gggtcagaaa      1500
ttcggtggaa cattttatct tgccattggt atatcaggac aagttcaaca tttaaaggga      1560
attgaaaatg ctggaattat aactgctata aacatagatg aggatgctcc tatatttaag      1620
agttcagatt atggtattgt aggagatcta tatgaaattg tgccgctgct tattgaggct      1680
ttaaataatg                                     1689

```

<210> 38

5 < 211> 789

< 212> ADN

< 213> Clostridium kluyveri

<400> 38

atgtttaatc taccagaaga agtaacctat acaattaacc tgaagaattt aattaaagat	60
atcaaacctg aaatTTTTTT gattggtgcc actaccctgg gaagatcatt ggcacctagg	120
ctggcagcgt ccttaaatac gggacttaca gcagattgta caggctctga aatcgatgaa	180
gatagaaaat tggttcagat aagaccggct tttagcgaaa atatactggc tcatataaaa	240
acatacacat atccccagat ggctacagtg agatataaag aatttgacga gggcacaaga	300
gatgctaaaa ggcagggaga tattttaaaag gtagaggctt taagactcga aaatgaactg	360
gtaaaagtga taacacaact tagatcccag gaaattaata tatctgatgc aaatgtagta	420
gtggcagcgg gtaaaggatt gaaaaggca gaagatatgg ctatgttaaa ggagttagcg	480
gatttgctgg gaggtgtagt tggagccagc agggaaatag ttgaagaagg gtttatatcc	540
aaggactttc aagtaggata cagcggcaac agggtaaaac cttaaattata tatagcttgt	600
ggaatttcag gagcaccgca gcaccttgca ggaatgaaag aatcgggggtt tattgttgca	660
atcaatacag atccttcagc tcctatatTTT aatatagcag actacggaat agttgatgat	720
atgtataagg taataacctga tttgataact aagataaaag aaagcagttt agaaactata	780
aattgttaa	789

5 <210> 39

< 211> 894

< 212> ADN

< 213> Clostridium kluyveri

<400> 39

ES 2 803 208 T3

```

atgggtggta ccgcggcaga catttcgccc cagcgaaata ggtctgtctt tttatttgcc      60
at ttgtttga gagaaaggaa agaagcttta atggatatta tagttttagt taaacaagtt      120
ccggatatgg aaaaagtaaa atttgacaga gaaaaggag tagtagatag aacatctgcc      180
agtgcagaaa tcaatccttt tgatttaaat gcactggaaa cagcagttca aatagctgaa      240
aatatcgatg ccagagttac tgctgtaagt atggggcctc caaatacaga aagtgcgtta      300
aaagaatgta ttgcaagggg tgctcatgaa ggagtgttg taagtgatag aaaatttgga      360
ggttcagata caaaggcgac ttctaaaata cttgccagtg ccattaataaa gttgggagcc      420
tatgatctgg taatcgctgg agaaaagact gtagatggag atacaggaca ggttggtccc      480
gaagttgcag aatttttaaa tatacctcat gcaagttatg taagtaaaat tacagaaatg      540
aataaggaca gcatggaggt acattctgaa atctgggaag gaacttattt aaaaagtata      600
aaatttccat gtcttattac agttacaaag gatatcaatc atccaagatt gccttctttt      660
aaaaataaga tgaaagccag aaaagcagag attaagatat taaagcttga ggatttagaa      720
gaatttttga atgaggataa tgttggcttt aagggttcac ctacaaaagt aaagaaaata      780
gaaattcccc aaatagaaaa aagacagga aaaatttata gggagtcaga tactgttgag      840
gcagagaatg aattaattaa tatatttaaa aagattaagg ttttgagggt gtag      894

```

<210> 40

< 211> 2524

< 212> ADN

5 < 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> trans-2-enoil-CoA reductasa (TER_Eg(coCl)) optimizada codónicamente

<400> 40

ES 2 803 208 T3

gcaggtggta	tggaaaatat	gtctagagct	ccttacttag	cgaataacgc	tagatgggga	60
tatagaatgg	gaaacgctaa	atttggtgat	gaaatgatca	ctgacggatt	gtgggatgca	120
tttaatgatt	accacatggg	aataacagca	gaaaacatag	ctgagagatg	gaacatttca	180
agagaagaac	aagatgagtt	tgctcttgca	tcacaaaaaa	aagctgaaga	agctataaaa	240
tcaggtcaat	ttaaagatga	aatagttcct	gtagtaatta	aaggcagaaa	gggagaaact	300
gtagttgata	cagatgagca	ccctagattt	ggatcaacta	tagaaggact	tgcaaaaatta	360
aaacctgcct	tcaaaaaaga	tggaacagtt	acagctggta	atgcatcagg	attaaatgac	420
tgtgcagcag	tacttgtaat	catgagtgca	gaaaaagcta	aagagcttgg	agtaaaacca	480
cttgctaaga	tagtttctta	tggttcagca	ggagttgacc	cagcaataat	gggatatgga	540
cctttctatg	caacaaaagc	agctattgaa	aaagcagggt	ggacagttga	tgaattagat	600
ttaatagaat	caaatgaagc	ttttgcagct	caaagtttag	cagtagcaaa	agatttaaaa	660
tttgatatga	ataaagtaaa	tgtaaattgga	ggagctattg	cccttggtta	tccaattgga	720
gcatcagggtg	caagaatact	cgttactctt	gtacacgcaa	tgcaaaaaag	agatgcaaaa	780
aaaggcttag	caactttatg	tataggtggc	ggacaaggaa	cagcaatatt	gctagaaaag	840
tgctaggagg	taagtttatg	gcgcctaccc	cgtaggatcc	aggagggttag	ttagaatgtc	900
gtgccccgcc	tcgccgtctg	ctgccgtggt	gtctgccggc	gccctctgcc	tgtgcgtggc	960
aacggtattg	ttggcgactg	gatccaaccc	caccgccctg	tccactgctt	ccactcgttc	1020
tccgacctca	ctggctccgtg	gggtggacag	gggcttgatg	aggccaacca	ctgcagcggc	1080
tctgacgaca	atgagagagg	tgccccagat	ggctgaggga	ttttcaggcg	aagccacgtc	1140
tgcatggggc	gccgcggggc	cgcagtgggc	ggcgccgctc	gtggccgcgg	cctcctccgc	1200
actggcgctg	tgggtggtgg	cgcgcaggcg	tagcgtgagg	aggccgctgg	cagcgctggc	1260
ggagctgccc	accgcggtca	cccacctggc	ccccccgatg	gcgatgttca	ccaccacagc	1320
gaaggtcatc	cagcccaaga	ttcgtggctt	catctgcacg	accacccacc	cgatcggtcg	1380
tgagaagagg	gtccaggagg	agatcgcgta	cgcccgctgc	caccgcgcca	ccagccctgg	1440
cccgaagagg	gtgctggtca	tgggtgcag	taccggctac	gggctctcca	cccgtatcac	1500
cgctgccttc	ggctaccagg	ccgccacgct	ggcgctgttc	ctggcggggc	ccccgacgaa	1560
gggccgtccc	gccgcggcgg	gctggtacaa	caccgtggcg	ttcgagaagg	ccgccctgga	1620

ES 2 803 208 T3

```

ggccgggctg tacgccagga gccttaatgg cgacgccttc gactccacaa cgaaggcgag 1680
gacggtcgag gcgatcaaga gggacctcgg caggtggac ctctgtgtgt acagcatcgc 1740
cgccccgaag aggacggacc ctgccaccgg cgtcctccac aaggcctgcc tgaagcccat 1800
cggcgccacg tacaccaacc gtactgtgaa caccgacaag gcggagggtga ccgacgtcag 1860
cattgagccg gcctcccccg aagagatcgc ggacacggtg aaggtgatgg gcggggagga 1920
ctgggagctc tggatccagg cgctgtcgga ggccggcgtg ctggcggagg gggccaagac 1980
ggtggcgtag tcctacatcg gcccgcagat gacgtggcct gtctactggt ccggcaccat 2040
cggggaggcc aagaaggacg tggagaaggc tgccaagcgt atcacgcagc agtacggctg 2100
cccggcgtag ccggtggtgg ccaaggcctt ggtcaccacg gccagctccg ccatcccgtt 2160
ggtgccgctc tacatctgcc tgctgtaccg tgttatgaag gagaagggca ccacgaggg 2220
ctgcatcgag cagatggtga ggctgctcac caggaagctg taccgccaga acggggcccc 2280
catcgtcgat gaggccggac gtgtgagggt ggatgactgg gagatggcgg aggatgtgca 2340
gcaggctgtt aaggacctct ggagccaggt gagcactgcc aacctcaagg acatctccga 2400
cttcgctggg tatcaaaactg agttcctgag gctgttcggg ttccggcattg acggcgtgga 2460
ctacgaccag ccggtggacg tggaggcgga cctccccagt gctgccacg agtaggcggc 2520
cgct 2524

```

<210> 41

< 211> 1238

< 212> ADN

5 < 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> trans-2-enol-CoA reductasa procedente de Treponema denticola (TER_Td(coCl)) optimizada codónicamente

<400> 41

```

ggcgctacc ccgtaggatc caggaggtta gttagaatga tagtaaaacc aatggtaaga 60
aataatatat gtcttaatgc tcctcctcag ggttgtaaga aaggcgtaga ggatcaaata 120
gagtatacta agaaaagaat tacagctgag gttaaagctg gagcaaaagc tcctaaaaac 180
gtattagtac ttggatgttc aaatggatat ggtcttgcat ctagaataac agcagcattt 240
ggatatggag cagccacaat tgggtgttca ttgaaaagg ctggatcaga acaaagtat 300
ggaactcctg gttggtacaa taatcttgca ttcgatgaag ctgctaagag agagggactt 360
tatagtgtta ctatagacgg tgatgcgttt tctgacgaga ttaaagctca ggtaatagaa 420
gaagccaaga aaaaggggat aaagtttgat ctaatagttt attctttagc atctcctgtt 480
aggacagacc cagatacagg aattatgcat aaaagtgtac tgaaaccttt tgggaaaaca 540
tttaccggca aaactgttga tocatttact ggggaattga aagaaataag tgctgaacca 600

```


ES 2 803 208 T3

```

gcaaatgatg aagaagcggc agcaactggt aaagtaatgg gtggagagga ttgggaacgt      660
tggataaagc aactatcaaa agaaggatta ttagaggaag gctgcataac attagcttac      720
agctacatag gaccagaggc tacgcaagct ctttatagaa aggggtacaat tggaaaggca      780
aaggaacatt tagaagcaac cgcacataga ctcaataaag aaaacccttc cattagagca      840
tttgtagtg tcaataaagg tttagtaact agagctagcg ctgttatccc agtgattcct      900
ttgtatcttg cttcattatt caaagttatg aaagagaaag gtaatcacga aggggtgcata      960
gaacaaatta ctagattata tgcggaaga ttgtatagaa aagatggaac aattcctggt     1020
gatgaagaaa atagaataag aatagatgat tgggaattag aagaagatgt gcaaaaagct     1080
gtaagtgcac taatggaaaa agtgacaggt gagaatgcag agtctttaac tgatctagcc     1140
ggatataggg atgattttct tgcaagtaat ggatttgatg ttgaaggcat aaactatgaa     1200
gcagaagtag aaagatttga taggatttaa gcggccgc                                1238

```

<210> 42

< 211> 1938

< 212> ADN

5 < 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> trans-2-enol-CoA reductasa procedente de Caenorhabditis elegans (TER_Ce(coCI)) optimizada codónicamente

<400> 42

```

gcaggtggtg tggaaaatat gtctagagct ccttacttag cgaataacgc tagatgggga      60
tatagaatgg gaaacgctaa atttgttgat gaaatgatca ctgacggatt gtgggatgca     120
tttaatgatt accacatggg aataacagca gaaaacatag ctgagagatg gaacatttca     180
agagaagaac aagatgagtt tgctcttgca tcacaaaaaa aagctgaaga agctataaaa     240
tcaggtcaat ttaaagatga aatagttcct gtagtaatta aaggcagaaa gggagaaact     300
gtagttgata cagatgagca ccctagattt ggatcaacta tagaaggact tgcaaaatta     360
aaacctgcct tcaaaaaaga tggaacagtt acagctggta atgcatcagg attaaatgac     420
tgtgcagcag tacttgtaat catgagtgca gaaaaagcta aagagcttgg agtaaaacca     480
cttgctaaga tagtttctta tggttcagca ggagttgacc cagcaataat gggatatgga     540
cctttctatg caacaaaagc agctattgaa aaagcagggt ggacagttga tgaattagat     600
ttaatagaat caaatgaagc ttttgcagct caaagtttag cagtagcaaa agatttaaaa     660
tttgatatga ataaagtaaa tgtaaatgga ggagctattg cccttggtta tccaattgga     720
gcatcagggt caagaatact cgttactctt gtacacgcaa tgcaaaaaag agatgcaaaa     780
aaaggcttag caactttatg tataggtggc ggacaaggaa cagcaatatt gctagaaaag     840
10 tgctaggagg taagtttatg gcgcctaccc cgtaggatcc aggagggttag ttagaatggt     900

```

```

aaaagttctc agtctacgat ctgcgctcca gagagctgcc tcgacaagac aactagtcta      960
tgaaggatat agaaaccctc ccgaggcaat acaattgaaa actgtcacaa ttgcggacaa      1020
gccgtctgcg gatcagggtcc tggttcaatg gatagcagct ccaatcaacc cggcagactt      1080
gaatcagatt caaggtgtgt accctgtgaa gccagcttta ccggcggttg gtggaaatga      1140
aggatttggg aaagtgatta gtgttgatc caatgtgagc tcgattaaag ttggagacca      1200
tgtaattccc gacagatctg gcctaggaac atggagagag ctcgggctcc accaggaaaa      1260
tgatcttttt ccgattgata atactctttc catggagtat gctgcaacat tccaggtgaa      1320
tcctcccaca gcttatcgta tgcttaaaga ctttatcgac ctgaaaaaag gagacacagt      1380
ggctcaaaac ggagccaatt cggctgtcgg gaagcacgtt attcaaattt gcaggatcct      1440
tggcatcaaa actgtgaatg ttgtgagaag tcgtgataat ctggaagaat tggtgaaaga      1500
gctgaaagat ttgggcgccg acgaagtat cacacaggaa gaggttgtata gtcgaaagaa      1560
gaaattccca ggagtcaagt tagcattaaa ctgcgttggg ggcagaagct ccctgttttt      1620
ggcgagtctc ctggaccacg gaggatgtat ggtgacctac ggtggaatga gcaagcagcc      1680
tgtcgattgt ccaaccgggc cactgatctt caaggatata tcgcttcgtg gattctggat      1740
gtcaagatgg tacgatattc agaaatcccc ggaaaagagg catgagatgt accaggagct      1800
tgccggttgg atgaagagtg gagagatcaa gaagcaggag attgtgaaga atcgattgga      1860
agatcatgca aaagctctcg atactgcgct gagcaaattc gacaagaagc aattcttcgt      1920
tttggaaata gcggccgc

```

<210> 43

< 211> 3508

5 < 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> crotonil-CoA reductasa procedente de Streptomyces collinus (Ccr_Sc (coCl)) optimizada codónicamente

<400> 43

```

ggccggccaa agtattgtta aaaagggagg tctgtttaat gagtattaaa agtgtagcgg      60
ttttaggttag tggaactatg tctcgtggaa ttgtgcaggc ttttgcagaa gcaggatatag      120
atgtaattat ccgtggaaga actgaaggta gtattggaaa aggtctagca gcagtaaaga      180
aagcttatga taaaaagta tcaaagggga aaatttccca ggaagatgct gataaaatag      240
ttggaagagt aagtacaaca actgaacttg aaaaattggc tgatttgtgat cttataatag      300
aagcagcatc agaggatatg aatataaaga aagactatct tggaataaata gaagaaatat      360
gcaagcctga aacaattttt gctactaata cttcttcatt atctataact gaagtagcaa      420
cagctacaaa gagaccagat aaattcatag gaatgcattt ctttaatcca gcaaatgtta      480

```

10

ES 2 803 208 T3

tgaaattagt tgaaatcata agaggtatga atacttcaca agaaactttt gatattataa	540
aagaagcttc cattaaaata ggaaaaactc ctgtagaagt tgcagaagct ccaggatttg	600
ttgtaaaca gatattagta ccaatgatca atgaagcagt aggaattttg gcagaaggaa	660
tagcttcagc agaagatata gatacagcta tgaaattagg cgctaatacac ccaatgggtc	720
ctttagcatt aggagatctt attggacttg atgtagttct tgcagttatg gatgtacttt	780
atagtgaac tggagattca aaatatagag ctcatacatt acttagaaaa tatgtaagag	840
caggatggct tggagaaaa tcaggaaaag gattcttcgc ttattaatta attaagtta	900
caagaatggc gctttaggag gattagtcat gaaagaagtt gtaatagcta gtgcagtaag	960
aacagcgatt ggatcttatg gaaagtctct taaggatgta ccagcagtag atttaggagc	1020
tacagctata aaggaagcag ttaaaaaagc aggaataaaa ccagaggatg ttaatgaagt	1080
cattttagga aatgttcttc aagcagggtt aggcagaat ccagcaagac aggcattctt	1140
taaagcagga ttaccagttg aaattccagc tatgactatt aataagggtt gtggttcagg	1200
acttagaaca gttagcttag cagcacaaat tataaaagca ggagatgctg acgtaataat	1260
agcaggtggt atggaaaaata tgtctagagc tccttactta gcgaataacg ctagatgggg	1320
atatagaatg gaaacgcta aatttggtga tgaaatgac actgacggat tgtgggatgc	1380
atttaatgat taccacatgg gaataacagc agaaaacata gctgagagat ggaacatttc	1440
aagagaagaa caagatgagt ttgctcttgc atcacaaaa aaagctgaag aagctataaa	1500
atcaggtcaa tttaaagatg aaatagttcc tgtagtaatt aaaggcagaa agggagaaac	1560
tgtagttgat acagatgagc accctagatt tggatcaact atagaaggac ttgcaaaatt	1620
aaaacctgcc ttcaaaaaag atggaacagt tacagctggt aatgcatcag gattaaatga	1680
ctgtgcagca gtacttghaa tcatgagtgc agaaaaagct aaagagcttg gagtaaaacc	1740
acttgctaag atagtttctt atggttcagc aggagttgac ccagcaataa tgggatatgg	1800
acctttctat gcaacaaaag cagctattga aaaagcaggt tggacagttg atgaattaga	1860
tttaatagaa tcaaatgaag cttttgcagc tcaaagtta gcagtagcaa aagatttaa	1920
atttgatatg aataaagtaa atgtaaatgg aggagctatt gcccttggtt atccaattgg	1980
agcatcaggt gcaagaatac tcgttactct tgtacacgca atgcaaaaa gagatgcaaa	2040
aaaaggctta gcaactttat gtataggtgg cggacaagga acagcaatat tgctagaaaa	2100
gtgctaggag gtaagtttat ggcgcctacc ccgtaggatc caggagggtta gttagagtga	2160
ccgtgaagga catcctggac gcgatccagt cgaaggacgc cacgtccgcc gacttcgccg	2220
ccctgcagct ccccgagtgc taccgtgcga tcaccgtgca caaggacgag acggagatgt	2280
tcgcgggtct ggagaccctg gacaaggacc cgagaaagtc gatccacctc gacgaggtgc	2340

ES 2 803 208 T3

ccgtgccgga actggggcccg ggcgaagccc tgggtggcgt catggcctcc tcggtcaact	2400
acaactcgggt gtggacctcg atcttcgagc cgggtgtcgac gttcgccttc ctggagagat	2460
acggcaagct gtccgcgctg accaagagac acgacctgcc gtaccacatc atcggctccg	2520
acctcgcggg cgtcgtcctg cgtaccggcc ccggcgctcaa cgcctggcag cccggtgacg	2580
aggctcgtcg cactgcctg agcgtcgagc tggagtcgcc cgacggccac gacgacacca	2640
tgctcgaccc cgagcagaga atctggggct tcgagaccaa cttcggcggc ctcgcggaga	2700
tcgcgctggt caagacgaac cagctgatgc cgaagccgaa gcacctcacc tgggaggagg	2760
ccgcggcccc gggcctggtg aactccaccg cctaccgtca gctggtctcc agaaacggcg	2820
ccgccatgaa gcagggcgac aacgtcctga tctggggcgc gagcggcggg ctcggtcgt	2880
acgccacgca gttcgcgctc gcgggcggtg ccaaccgat ctgtgtcgtc tcctcgcccc	2940
agaagcgga gatctgcaga tcgatggcg ccgaggcgat catcgaccgt aacgccgagg	3000
gctacaagtt ctggaaggac gagcacacc aggaccccaa ggagtggaa agattcggca	3060
agcgtatcag agagctgacc ggcggcgagg acatcgacat cgtcttcgag cccccggca	3120
gagagacctt cggcgcctcc gtctacgtca cccgtaaggg cggcaccatc accacctgcg	3180
cctcgacctc gggctacatg cagcagtagc acaacaggta cctgtggatg tcctgaaga	3240
ggatcatcgg ctgcgacttc gccaaactaca gagaggcgta cgaggccaac cgtctgatcg	3300
ccaagggcaa gatccacccg acgctgtcga agacgtactc cctggaggag accggccagg	3360
cggcgtacga cgtccaccgt aacctgcacc agggcaaggc cggcgtcctg tgcctcgcg	3420
cggaggaagg cctcggcgtg agagacgcgg agatgcgtgc ccagcacatc gacgccatca	3480
acagattccg taacgtctga gcggccgc	3508

<210> 44

< 211> 938

< 212> ADN

5 < 213> Clostridium acetobutylicum

<400> 44

gcgatcgccc attgctgcaa caggatcaga aatggatacg tgggcagtaa taaataatat	60
ggatacaaac gaaaaactaa ttgcggcaca tccagatatg gctcctaagt tttctatat	120
agatccaacg tatacgtata ccgtacctac caatcaaaca gcagcaggaa cagctgat	180
tatgagtcac atattttgagg tgtatttttag taatacaaaa acagcatatt tgcaggatag	240
aatggcagaa gcgttattaa gaacttgtat taaatatgga ggaatagctc ttgagaagcc	300
ggatgattat gaggcaagag ccaatctaata gtgggcttca agtcttgcca taaatggact	360
tttaacatat ggtaaagaca ctaattggag tgtacactta atggaacatg aattaagtgc	420
ttattacgac ataacacacg gcgtagggct tgcaatttta acacctaatt ggatggagta	480

ES 2 803 208 T3

tatttttaaat aatgatacag tgtacaagtt tgttgaatat ggtgtaaag tttggggaat	540
agacaaagaa aaaaatcact atgacatagc acatcaagca atacaaaaaa caagagatta	600
ctttgtaaat gtactaggtt taccatctag actgagagat gttggaattg aagaagaaaa	660
attggacata atggcaaagg aatcagtaaa gcttacagga ggaaccatag gaaacctaag	720
accagtaaac gcctccgaag tcctacaaat attcaaaaaa tctgtgtaag gcgcgccact	780
taatgatttg ccagtaaaag agattgtttc tagctctcac attcttgagc atataatatt	840
gcctagagct gaagttatat atgattatct taagtaataa aaataagagt taccttaaat	900
ggtaactcct atttttttta tgctgactca tagaattc	938

<210> 45

< 211> 1164

< 212> ADN

5 < 213> Escherichia coli

<400> 45

atgaacaact ttaatctgca caccccaacc agaattctgt ttggtaaagg cgcaatcgct	60
ggtttaagag aacaaattcc tcacgatgct agagtattga ttacctacgg cggcggcagc	120
gtgaaaaaaa ccggcggttct cgatcaagtt ctggatgcc tgaaaggcat ggacgtgctg	180
gaatttggcg gtattgagcc aaaccggct tatgaaacgc tgatgaacgc cgtgaaactg	240
gttagagaac agaaagtac ttctctgctg gcggttggcg gcggttctgt actggacggc	300
accaaattta tcgcgcgagc ggctaactat ccggaaaata tcgatccgtg gcacattctg	360
caaacgggcg gtaaagagat taaaagcgc atcccgatgg gctgtgtgct gacgctgcca	420
gcaaccggtt cagaatccaa cgcaggcgcg gtgatctccc gtaaaaccac aggcgacaag	480
caggcggtcc attctgcccc tgttcagccg gtatttgccg tgctcgatcc ggtttatacc	540
tacaccctgc cgcgcgctca ggtggctaac ggcgtagtgg acgcctttgt acacaccgtg	600
gaacagtatg ttaccaaacc ggttgatgcc aaaattcagg accgtttcgc agaaggcatt	660
ttgctgacgc taatogaaga tgggccgaaa gccctgaaag agccagaaaa ctacgatgtg	720
agagccaacg tcattgtggc ggcgactcag gcgctgaacg gtttgattgg cgctggcgta	780
ccgcaggact gggcaacgca tatgctgggc cacgaactga ctgcgatgca cggctctggat	840
cacgcgcaaa cactggctat cgtcctgcct gcactgtgga atgaaaaaag agataccaag	900
agagctaagc tgctgcaata tgctgaaaga gtctggaaca tcaactgaag ttccgatgat	960
gagcgtattg acgcgcgat tgccgcaacc agaaatttct ttgagcaatt aggcgtgccg	1020
accacacctc ccgactacgg tctggacggc agctccatcc cggctttgct gaaaaaactg	1080
gaagagcacg gcattgacca actgggcgaa aatcatgaca ttacgttgga tgctcagcaga	1140
cgtatatacg aagccgcag ataa	1164

<210> 46

< 211> 53

< 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

5 < 223> 2072_etfBA_fp

<400> 46

cttgctttaa gcaaactact atttcatta tgaactcctc ctattattt aaa 53

<210> 47

< 211> 30

10 < 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> 2072_etfBA_rp

<400> 47

15 ttaaagattt aaagctttaa ctgttctac 30

<210> 48

< 211> 53

< 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

20 <220>

< 223> 2072_cat3_fp

<400> 48

acttatgaaa tagattgaaa tggtttatct gttaccccggt aggatccagg agg 53

<210> 49

25 < 211> 38

< 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> 2072_cat3_rp_BspEI

<400> 49

gattccggat cagtatatat atcatttta taattaag 38

<210> 50

5 < 211> 52

< 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> 2072-fp-RBS_KasI

10 <400> 50

agggg'gcgcct accccgtagg atccaggagg ttagtagaa tgaaaatagt ag 52

<210> 51

< 211> 4080

< 212> ADN

15 < 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> pATh-LEM-02

<400> 51

ggatccagga ggtagttag aatgaaagaa gttgtaatag ctagtgcagt aagaacagcg	60
attggatcctt atggaaagtc tcttaaggat gtaccagcag tagatttagg agctacagct	120
ataaaggaag cagttaaaaa agcaggaata aaaccagagg atgttaatga agtcatttta	180
ggaaatgttc ttcaagcagg tttagcacag aatccagcaa gacaggcatc ttttaaagca	240
ggattaccag ttgaaattcc agctatgact attaataagg tttgtggttc aggacttaga	300
acagttagct tagcagcaca aattataaaa gcaggagatg ctgacgtaat aatagcaggt	360
ggatatgaaa atatgtctag agctccttac ttagcgaata acgctagatg gggatataga	420
atgggaaacg ctaaatattgt tgatgaaatg atcactgacg gattgtggga tgcatttaat	480
gattaccaca tgggaataac agcagaaaac atagctgaga gatggaacat ttcaagaaa	540
gaacaagatg agtttgcctc tgcacacaaa aaaaaagctg aagaagctat aaaatcaggt	600
caatttaag atgaaatagt tctgttagta attaaaggca gaaagggaga aactgtagtt	660
gatacagatg agcaccctag atttgatca actatagaag gacttgcaaa attaaaacct	720
gccttcaaaa aagatggaac agttacagct ggtaatgcat caggattaaa tgactgtgca	780
gcagtacttg taatcatgag tgcagaaaaa gctaaagagc ttggagtaaa accacttgct	840
aagatagttt cttatggttc agcaggagtt gaccacagca taatgggata tggacctttc	900
tatgcaaaa aagcagctat tgaaaaagca ggtaggacag ttgatgaatt agatttaata	960
gaatcaaatg aagcttttgc agctcaaagt ttagcagtag caaaagattt aaaatttgat	1020
atgaataaag taaatgtaaa tggaggagct attgcccttg gtcacccaat tggagcatca	1080
ggtagcaaga tactcggtac tctgtacac gcaatgcaaa aaagagatgc aaaaaaggc	1140
ttagcaactt tatgtatagg tggcggacaa ggaacagcaa tattgctaga aaagtgctag	1200
aaagtattgt taaaaaggga ggtctgttta atgagtatta aaagtgtagc ggttttaggt	1260
agtggaaacta tgtctcgtgg aattgtgcag gcttttgacg aagcaggat agatgtaatt	1320
atccgtggaa gaactgaagg tagtattgga aaaggctag cagcagtaaa gaaagcttat	1380
gataaaaaag tatcaaagg gaaaatttcc caggaagatg ctgataaaat agttggaaga	1440
gtaagtacaa caactgaact tgaaaaattg gctgattgtg atcttataat agaagcagca	1500
tcagaggata tgaatataaa gaaagactat tttggaaaat tagaagaaat atgcaagcct	1560
gaaacaattt ttgctactaa tacttcttca ttatctataa ctgaagtagc aacagctaca	1620
aagagaccag ataaattcat aggaatgcat ttctttaatc cagcaaatgt tatgaaatta	1680

ES 2 803 208 T3

gttgaaatca	taagaggtat	gaatacttca	caagaaactt	ttgatattat	aaaagaagct	1740
tccattaaaa	taggaaaaac	tcctgtagaa	gttgcagaag	ctccaggatt	tgttgtaaac	1800
aagatattag	taccaatgat	caatgaagca	gtaggaatth	tggcagaagg	aatagcttca	1860
gcagaagata	tcgatacagc	tatgaaatta	ggcgctaata	acccaatggg	tccttttagca	1920
ttaggagatc	ttattggact	tgatgtagtt	cttgcagtta	tggatgtact	ttatagttaa	1980
actggagatt	caaaatatag	agctcataca	ttacttagaa	aatatgtaag	agcaggatgg	2040
cttggaagaa	aatcaggaaa	aggattcttc	gcttattaat	taattaagtt	tacaagaatg	2100
ggcgttttag	aggattagtc	atggaattta	aaaatatcat	tcttgaaaag	gatggaaatg	2160
tggcttcaat	aacgttgaat	agacctaaag	cattaaatgc	attaaatgca	gcaactttta	2220
aagagataga	tgccgcaata	aacgacattg	ctgaagatga	taacgtatat	gctgtgataa	2280
ttactgggtc	aggtaaagct	tttgtagcag	gagcagatat	agctgagatg	aaagatctta	2340
ctgcagttga	gggaagaaa	ttttcagttc	ttggcaataa	aatatttaga	aaattagaaa	2400
atttagaaaa	accagttata	gcagctataa	atggatttgc	actgggtggg	ggctgtgaat	2460
tgtcattgtc	ttgcgatata	agaatagctt	catcaaaggc	taagtttggg	caaccagagg	2520
ttggtcttgg	aattactcca	gggtttggag	gtactcaaag	acttgcaaga	gcaataggcg	2580
ttggtatggc	taaggaactt	atatataccg	gaaaagtaat	taatgctgaa	gaggcattaa	2640
gaatagggtt	ggtaaaataa	gtagttgagc	cagataaatt	attggaagaa	gctaaagctt	2700
tagtagatgc	tattattgtt	aatgcacctt	tagctgttag	aatgtgtaag	gctgctataa	2760
atcaaggact	tcagtgtgat	atagatacag	gtgtagctta	tgaagcagaa	gtatttgggg	2820
aatgttttgc	tacagaagat	agagtagaag	gaatgacagc	atttgtagaa	aaaagagaca	2880
aggcttttta	aaataagtaa	accggtgagg	taagtttata	tggattttac	attaacaaac	2940
gagcaaaaat	ttgtagaaca	aatggttaagt	gaatttactg	aaaatgaagt	taaacctata	3000
gctgctgaaa	tagatgaaac	agaaaagggtt	cctcttgaga	cagtagaaaa	atttgctaaa	3060
tacggaatga	tggttatgcc	ttttccagtt	gaatacggcg	gctcaggtag	agattattta	3120
tcctatataa	tagcagtaga	aggacttgca	aagagttgta	cttcatcatc	aactatattg	3180
tcagcacata	cttcaactttg	tgacgacctt	atttatgatt	ggggtacaga	agaacagaaa	3240
caaaaatact	tagttcctct	tgcaaaagga	gaaaaacttg	gagcatttgg	tttaactgaa	3300
cctaattgcg	gtactgatgc	tgctggacag	cagacaacag	ctgtttttaga	aggggatcat	3360
tatgtattaa	atggacaaaa	aatatttatt	acaaatgggtg	catatgcaga	tacttttgta	3420
atattttgca	tgacagacag	aagcaagggt	acaagaggaa	taacagcatt	tatagttgaa	3480
aaagatttcc	ctggtttctc	cataggaaaa	tctgaagata	agttgggaat	tagagcttcc	3540
tcaactacag	aacttatatt	tgagaattgc	atagttccaa	aagaaaatat	gttaggaaaa	3600

gaaggaag	gatttactgt	agcaatgcat	actcttgatg	gaggaagaat	tggtatagca	3660
gcacaagcgt	taggttttagc	agaaggcgca	ttagctgaag	cacttaatta	tatgaaagaa	3720
agaaaacaat	ttggaagc	tctttacaaa	ttccagggat	tagcatggat	ggttgacagaa	3780
ttagatacta	aaatagaagc	tggttaacaa	cttggtttata	aagcagcagt	aaataaacia	3840
atgggtcttc	catattcagt	ggaagctgca	agagctaaat	tagctgcggc	tactgtagct	3900
atggaacaa	ctactaaagt	tggtcaaact	tttgggtgat	atggattcac	taaggattat	3960
ccagtagaaa	gaatgatgag	agatgctaag	ataactgaaa	tatatgaag	aacttcacaa	4020
gtacaaaaga	tggttatttc	agcaaattta	tttaataaaa	tttaaatatt	aagggcgcc	4080

<210> 52

< 211> 1511

< 212> ADN

5 < 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> fragmento de cat3 (corte con EcoRI y KsI)

<400> 52

ggcgctacc	ccgtaggac	caggaggta	gttagaatgg	tttttaaaaa	ttggcaggat	60
ctttataaaa	gtaaaattgt	tagtgacag	gaagctgtat	ctaaagtaag	ctgtggagat	120
agcataattt	taggcaatgc	ttgtggagca	tctcttacac	tttttagatgc	cttggtgca	180
aataaggaaa	agtataagag	tgtaaagata	cacaatctta	tacttaatta	taaaaatgat	240
atatatactg	atccggaatc	agaaaagtat	attcatggaa	atactttctt	tgtaagtgga	300
ggtacaaagg	aagcagttaa	ttgtaataga	acagattata	ctccatgctt	tttttatgaa	360
ataccaaaat	tattaaaaca	aaagtatata	aatgcagatg	tagcttttat	tcaagtaagt	420
aagcctgata	gccatggata	ctgtagcttt	ggagtatcaa	ccgattattc	acaggcaatg	480
gtacagtctg	caaagcttat	aattgcagaa	gtaaacgac	agatgccaa	agtttttagga	540
gacaatttta	tacacatttc	tgatatggat	tacatagtag	aaagtccacg	tccaattcta	600
gaattgactc	ctcctaaaat	aggagaagta	gagaagacaa	taggaaaata	ctgtgcatct	660
cttgtagaag	atggttctac	acttcagctt	ggaataggag	ctattccaga	tgcaagtactt	720
ttattcttga	aggataaaaa	ggatttgggt	atacattcag	aatgatatc	cgatggtgtt	780
gttgaattag	ttgaagcagg	ggtaattaca	aataagaaaa	agtccttca	tccaggaaaa	840
ataattatta	cattcttaat	gggaactaag	aaattatatg	atttcataaa	tgataatcct	900
atggtagaag	gataccctgt	agattatgta	aatgatccta	aggttattat	gcaaaattct	960
aagatggtat	gtataaactc	ctgtgtagaa	gtggatttca	caggacaagt	gtgtgctgaa	1020
agtgtaggat	ttaaacaaat	aagcgggtga	ggtggacaag	ttgattacat	gagaggagct	1080

```

agcatggctg atggaggaaa atcaattcctt gctataccat ctactgcagc tggcggcaaa 1140
atttcaagaa tagttcctat tttaactgaa ggagcggggg ttactacttc aagatatgat 1200
gttcaatatg ttgttacaga atatggtatt gcacttctca agggcaaadc cataagagaa 1260
agagctaagg agcttataaa aattgcacat cctaaattta gggaagaatt aacagctcaa 1320
tttgaaaaaa gattcagttg taagctttaa acttaaatgat ttgccagtaa aagagattgt 1380
ttctagctct cacttctctg cagatataat attgcctaga gctgaagtta tatatgatta 1440
tcttaagtaa taaaaataag agttacctta aatggtaact cttatctttt taatgtcgac 1500
tcatagaatt c 1511

```

<210> 53

< 211> 2927

< 212> ADN

5 < 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> pATh-Syn4-03

<400> 53

```

ggatccagga ggtaggttag aatggaattt aaaaatatca ttcttgaaaa ggatggaaat 60
gtggccttcaa taacgttgaa tagacctaag gcattaaatg cattaaatgc agcaacttta 120
aaagagatag atgccgcaat aaacgacatt gctgaagatg ataacgtata tgctgtgata 180
attactgggt caggtaaagc tttttagtca ggagcagata tagctgagat gaaagatctt 240
actgcagttg agggaagaaa gttttcagtt cttggcaata aaatatttag aaaattagaa 300
aatttagaaa aaccagttat agcagctata aatggatttg cactgggttg tggctgtgaa 360
ttgtcattgt cttgcgatat aagaatagct tcatcaaagg ctaagtttg tcaaccagag 420
gttggctctg gaattactcc agggtttgga ggtactcaaa gacttgcaag agcaataggc 480
gttggtagtg ctaaggaact tatatatacc ggaaaagtaa ttaatgctga agaggcatta 540
agaatagggt tggtaaataa agtagttgag ccagataaat tattggaaga agctaaagct 600
ttagtagatg ctattattgt taatgcacct atagctgtta gaatgtgtaa ggctgtcata 660
aatcaaggac ttcagtgtga tatagataga ggtgtagctt atgaagcaga agtatttggg 720
gaatgttttg ctacagaaga tagagtagaa ggaatgacag catttgtaga aaaaagagac 780
aaggctttta aaaataagta aggccggcca aagtattgtt aaaaaggag gtctgtttta 840
tgagtattaa aagtgtagcg gttttaggta gtggaactat gtctcgtgga attgtgcagg 900
cttttcgaga agcaggtata gatgtaatta tccgtggaag aactgaaggt agtattggaa 960
aaggcttagc agcagtaaag aaagcttatg ataaaaaagt atcaaagggg aaaatttccc 1020
aggaagatgc tgataaata gttggaagag taagtacaac aactgaactt gaaaaattgg 1080
ctgattgtga tcttataata gaagcagcat cagaggatat gaatataaag aaagactatt 1140

```

ES 2 803 208 T3

ttggaaaatt agaagaaata tgcaagcctg aaacaatttt tgctactaat acttcttcat	1200
tatctataac tgaagtagca acagctacaa agagaccaga taaattcata ggaatgcatt	1260
tctttaatcc agcaaagtgt atgaaattag ttgaaatcat aagaggtatg aatacttcac	1320
aagaaacttt tgatattata aaagaagctt ccattaaaat aggaaaaact cctgtagaag	1380
ttgcagaagc tccaggattt gttgtaaaca agatattagt accaatgatc aatgaagcag	1440
taggaatttt ggcagaagga atagcttcag cagaagatat cgatacagct atgaaattag	1500
gcgctaatac cccaatgggt ccttttagcat taggagatct tattggactt gatgtagttc	1560
ttgcagttat gtagtactt tatagtgaac ctggagattc aaaatataga gctcatatcat	1620
tacttagaaa atatgtaaga gcaggatggc ttggaagaaa atcaggaaaa ggattcttctg	1680
cttattaatt aattaagtgt acaagaatgg cgcttttagga ggattagtca tgaaagaagt	1740
tgtaaatgct agtgcagtaa gaacagcgat tggatcttat ggaaagtctc ttaaggatgt	1800
accagcagta gatttaggag ctacagctat aaaggaagca gttaaaaaag caggaataaa	1860
accagaggat gttaatagaag tcatttttagg aaatgttctt caagcagggt taggacagaa	1920
tccagcaaga caggcatctt ttaaagcagg attaccagtt gaaattccag ctatgactat	1980
taataagggt tgtgggttcag gacttagaac agttagctta gcagcacaaa ttataaaagc	2040
aggagatgct gacgtaataa tagcagggtg tatggaaaat atgtctagag ctcttactt	2100
agcgaataac gctagatggg gatatagaat gggaaacgct aaatttggtg atgaaatgat	2160
cactgacgga ttgtgggatg catttaatga ttaccacatg ggaataacag cagaaaacat	2220
agctgagaga tggaacattt caagagaaga acaagatgag tttgctcttg catcacaaaa	2280
aaaagctgaa gaagctataa aatcaggtca atttaaagat gaaatagttc ctgtagtaat	2340
taaaggcaga aagggagaaa ctgtagttga tacagatgag caccctagat ttggatcaac	2400
tatagaagga cttgcaaaat taaaacctgc cttcaaaaaa gatggaacag ttacagctgg	2460
taatgcatac ggattaaatg actgtgcagc agtacttgta atcatgagtg cagaaaaagc	2520
taaagagctt ggagtaaaac cacttgctaa gatagtttct tatgggttcag caggagtga	2580
cccagcaata atgggatatg gacctttcta tgcaacaaaa gcagctattg aaaaagcagg	2640
ttggacagtt gatgaattag atttaataga atcaaatgaa gcttttgacag ctcaaagttt	2700
agcagtagca aaagatttaa aatttgatat gaataaagta aatgtaaagtg gaggagctat	2760
tgcccttggc catccaattg gagcatcagg tgcaagaata ctggttactc ttgtacacgc	2820
aatgcaaaaa agagatgcaa aaaaaggctt agcaacttta tgtataggtg gcggacaagg	2880
aacagcaata ttgctagaaa agtgctagga ggtaagttaa tggcgcc	2927

<210> 54

< 211> 1519

5 < 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> cat3 fragment

<400> 54

```

ggcgcctacc ccgtaggata caggaggtta gttagaatgg tttttaaaaa ttggcaggat      60
ctttataaaa gtaaaattgt tagtgcagac gaagctgtat ctaaagtaag ctgtggagat      120
agcataatth taggcaatgc ttgtggagca tctcttacac ttttagatgc cttggctgca      180
aataaggaaa agtataagag tgtaaagata cacaatctta tacttaatta taaaaatgat      240
atatatactg atccggaatc agaaaagtat attcatggaa atactttctt tgtaagtggg      300
ggtacaaaagg aagcagttaa ttgtaataga acagattata ctccatgctt tttttatgaa      360
ataccaaaat tattaanaa aaagtatata aatgcagatg tagcttttat tcaagtaagt      420
aagcctgata gccatggata ctgtagcttt ggagtatcaa ccgattattc acaggcaatg      480
gtacagtctg caaagcttat aattgcagaa gtaaaccgatc agatgccaaag agtttttagga      540
gacaatttta tacacatttc tgatatggat tacatagtag aaagttcacg tccaattcta      600
gaattgactc ctccataaat aggagaagta gagaagacaa taggaaaata ctgtgcatct      660
cttgtagaag atggttctac acttcagctt ggaataggag ctattccaga tgcagtactt      720
ttattcttga aggataaaaa ggatttgggt atacattcag aaatgatatc cgatggtgtt      780
gttgaattag ttgaagcagg ggtaattaca aataagaaaa agtcccttca tccaggaaaa      840
ataattatta cattcttaat gggaactaag aaattatatg atttcataaa tgataatcct      900
atggtagaag gataccctgt agattatgta aatgatccta aggttattat gcaaaattct      960
aagatggtat gtataaactc ctgtgtagaa gtggatttca caggacaagt gtgtgctgaa     1020
agtgtaggat ttaaacaaat aagcgggtga ggtggacaag ttgattacat gagaggagct     1080
agcatggctg atggaggaaa atcaattctt gctataccat ctactgcagc tggcggcaaa     1140
atttcaagaa tagttcctat tttactgaa ggagcggggg ttactacttc aagatatgat     1200
gttcaatatg ttgttacaga atatggtatt gcacttctca agggcaaata cataagagaa     1260
agagctaagg agcttataaa aattgcacat cctaaattta gggaagaatt aacagctcaa     1320
tttgaaaaaa gattcagttg taagctttaa gcatcgcac ttaatgattt gccagtaaaa     1380
gagattgttt ctagctctca cattcttgca gatataatat tgcctagagc tgaagttata     1440
tatgattatc ttaagtaata aaaataagag ttaccttaaa tggttaactct tattttttta     1500
atgtcgactc atagaattc

```

5 <210> 55

< 211> 4385

< 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

ES 2 803 208 T3

< 223> vector pATH-LEM-15

<400> 55

gaaaagtgct aggaggtgtaag tttatggcgc cgaggtgtaagt ttatatggat ttttaatttaa	60
caagagaaca agaattagta agacagatgg ttagagaatt tgctgaaaat gaagttaaac	120
ctatagcagc agaaattgat gaaacagaaa gatttccaat ggaaaatgta aagaaaatgg	180
gtcagtatgg tatgatggga attccatttt caaaagagta tgggtggcgca ggtggagatg	240
tattatctta tataatcgcc gttgaggaat tatcaaaggt ttgcgggtact acaggagtta	300
ttcttttcagc acatacatca ctttgtgctt cattaataaa tgaacatggt acagaagaac	360
aaaaacaaaa atatttagta ccttttagcta aaggtgaaaa aataggtgct tatggattga	420
ctgagccaaa tgcaggaaca gattctggag cacaacaaac agtagctgta cttgaaggag	480
atcattatgt aattaatggt tcaaaaatat tcataactaa tggaggagt ttgcagatactt	540
ttgttatatt tgcaatgact gacagaacta aaggaacaaa aggtatatca gcatttataa	600
tagaaaaagg cttcaaaggt ttctctattg gtaaagttga acaaaagctt ggaataagag	660
cttcatcaac aactgaactt gtatttgaag atatgatagt accagtagaa aacatgattg	720
gtaaagaagg aaaaggcttc cctatagcaa tgaaaactct tgatggagga agaattggta	780
tagcagctca agcttttaggt atagctgaag gtgctttcaa cgaagcaaga gcttacatga	840
aggagagaaa acaatttggga agaagccttg acaaattcca aggtcttgca tggatgatgg	900
cagatatgga tgtagctata gaatcagcta gatatttagt atataaagca gcatatctta	960
aacaagcagg acttccatac acagttgatg ctgcaagagc taagcttcat gctgcaaatg	1020
tagcaatgga tgtaacaact aaggcagtac aattatttgg tggatacgga tatacaaaag	1080
attatccagt tgaaagaatg atgagagatg ctaagataac tgaaatatat gaaggaaactt	1140
cagaagttca gaaattagtt atttcaggaa aaatttttag ataatttaag gaggttaaga	1200
ggatgaatat agttgtttgt ttaaaacaag ttccagatac agcggaagt agaatagatc	1260
cagttaaggg aacacttata agagaaggag ttccatcaat aataaatcca gatgataaaa	1320
acgcacttga ggaagcttta gtattaaaag ataattatgg tgcacatgta acagttataa	1380
gtatgggacc tccacaagct aaaaatgctt tagtagaagc tttggctatg ggtgctgatg	1440
aagctgtact tttaacagat agagcatttg gaggagcaga tacacttgcg acttcacata	1500
caattgcagc aggaattaag aagctaaaat atgatatagt ttttgctgga aggcaggcta	1560
tagatggaga tacagctcag gttggaccag aaatagctga gcatcttgga atacctcaag	1620
taacttatgt tgagaaagtt gaagttgatg gagatacttt aaagattaga aaagcttggg	1680

ES 2 803 208 T3

aagatggata tgaagttggt gaagttaaga caccagttct tttaacagca attaaagaat	1740
taaatgttcc aagatatatg agtgtagaaa aaatattcgg agcatttgat aaagaagtaa	1800
aatgtggac tgccgatgat atagatgtag ataaggctaa tttaggtctt aaaggttcac	1860
caactaaagt taagaagtca tcaactaaag aagttaaagg acagggagaa gttattgata	1920
agcctgttaa ggaagcagct gcatatgttg tctcaaaatt aaaagaagaa cactatattt	1980
aagttaggag ggatttttca atgaataaag cagattacaa gggcgtatgg gtgtttgctg	2040
aacaaagaga cggagaatta caaaaggat cattggaatt attaggtaaa ggtaaggaaa	2100
tggctgagaa attaggcgtt gaattaacag ctgttttact tggacataat actgaaaaaa	2160
tgtcaaagga tttattatct catggagcag ataaggtttt agcagcagat aatgaacttt	2220
tagcacattt ttcaacagat ggatattgcta aagttatatg tgatttagtt aatgaaagaa	2280
agccagaat attattcata ggagctactt tcataggaag agatttagga ccaagaatag	2340
cagcaagact ttctactggg ttaactgctg attgtacatc acttgacata gatgtagaaa	2400
atagagattt attggctaca agaccagcgt ttgggtgaaa tttgatagct acaatagttt	2460
gttcagacca cagaccacaa atggctacag taagacctgg tgtgtttgaa aaattacctg	2520
ttaatgatgc aaatgtttct gatgataaaa tagaaaaagt tgcaattaaa ttaacagcat	2580
cagacataag aacaaaagtt tcaaaagttg ttaagcttgc taaagatatt gcagatatcg	2640
gagaagctaa ggtattagtt gctggtggtg gaggagtgg aagcaaagaa aactttgaaa	2700
aacttgaaga gttagcaagt ttacttgggt gaacaatagc cgcttcaaga gcagcaatag	2760
aaaaagaatg ggttgataag gaccttcaag taggtcaaac tggtaaaaact gtaagaccaa	2820
ctctttatat tgcattgggt atatcaggag ctatccagca tttagcaggt atgcaagatt	2880
cagattacat aattgctata aataaagatg tagaagcccc aataatgaag gtagcagatt	2940
tggctatagt tgggtgatgta aataaagttg taccagaatt aatagctcaa gttaaagctg	3000
ctaataatta agcggccgct accccgtagg atccaggagg ttagttagaa tggtttttaa	3060
aaattggcag gatctttata aaagtaaaat tgttagtga gacgaagctg tatctaaagt	3120
aagctgtgga gatagcataa ttttaggcaa tgcttgtgga gcatctctta cacttttaga	3180
tgccctggct gcaataaagg aaaagtataa gagtgtaaag atacacaatc ttatacttaa	3240
ttataaaaaat gatatatata ctgatccgga atcagaaaag tatattcatg gaaatacttt	3300
ctttgtaagt ggaggtacaa aggaagcagt taattgtaat agaacagatt ataactcatg	3360
ctttttttat gaaataccaa aattattaaa acaaaagtat ataaatgcag atgtagcttt	3420
tattcaagta agtaagcctg atagccatgg atactgtagc tttggagtat caaccgatta	3480
ttcacaggca atgggtacagt ctgcaaagct tataattgca gaagtaaacg atcagatgcc	3540
aagagtttta ggagacaatt ttatacacat ttctgatatg gattacatag tagaaagttc	3600

acgtccaatt ctagaattga ctccctcctaa aataggagaa gtagagaaga caataggaaa	3660
atactgtgca tctctttag aagatgggtc tacacttcag cttggaatag gagctattcc	3720
agatgcagta cttttattct tgaaggataa aaaggatttg ggtatacatt cagaaatgat	3780
atccgatggt gttgttgaat tagttgaagc aggggtaatt acaaataaga aaaagtcctc	3840
tcatccagga aaaataatta ttacattctt aatgggaact aagaaattat atgatttcat	3900
aatgataat cctatggtag aaggataccc tgtagattat gtaaataatc ctaaggttat	3960
tatgcaaaat tctaagatgg tatgtataaa ctctgtgta gaagtggatt tcacaggaca	4020
agtgtgtgct gaaagtgtag gatttaaaca aataagcggg taggtggac aagttgatta	4080
catgagagga gctagcatgg ctgatggagg aaaatcaatt cttgctatac catctactgc	4140
agctggcggc aaaatttcaa gaatagttcc tattttaact gaaggagcgg gggttactac	4200
ttcaagatat gatgttcaat atgttgttac agaatatggg attgcacttc tcaagggcaa	4260
atccataaga gaaagagcta aggagcttat aaaaattgca catcctaaat ttagggaaga	4320
attaacagct caatttgaaa aaagattcag ttgtaagctt taagcgccac ttaatgattt	4380
gccag	4385

<210> 56

< 211> 4512

< 212> ADN

5 < 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> vector pATH-LEM-16

<400> 56

gcgcctaccc cgtaggatcc aggaggttag ttagaatgga ttttacatta acaaacgagc	60
aaaaatttgt agaacaaatg gtaagtgaat ttactgaaaa tgaagttaaa cctatagctg	120
ctgaaataga tgaacagaa aggtttcctc ttgagacagt agaaaaattt gctaaatacg	180
gaatgatggg tatgcctttt ccagttgaat acggcggctc aggtacagat tatttatcct	240
atataatagc agtagaagga cttgcaaaga gttgtacttc atcatcaact atattgtcag	300
cacatacttc actttgtgca gcacctatit atgattgggg tacagaagaa cagaaacaaa	360
aatacttagt tcctcttgca aaggagagaa aacttggagc atttgggtta actgaaccta	420
atgcaggtag tgatgctgct ggacagcaga caacagctgt tttagaaggg gatcattatg	480
tattaaatgg acaaaaaata tttattacaa atgggtgcata tgcagatact tttgtaatat	540
ttgcaatgac agacagaagc aagggtacaa gaggaataac agcatttata gttgaaaaag	600
atttcctctg tttctccata ggaaaatctg aagataagtt gggaattaga gcttcctcaa	660
ctacagaact tatatttgag aattgcatag ttccaaaaga aaatatgtta ggaaaagaag	720

ES 2 803 208 T3

gaaaaggatt tactgtagca atgcatactc ttgatggagg aagaattggt atagcagcac	780
aagcgtagg tttagcagaa ggcgcattag ctgaagcact taattatatg aaagaaagaa	840
aacaatttgg aaaagctctt tacaaattcc agggattagc atggatggtt gcagaattag	900
atactaaaat agaagctggt aaacaacttg tttataaagc agcagtaaat aaacaaatgg	960
gtcttccata ttcagtggaa gctgcaagag ctaaattagc tgcggctact gtagctatgg	1020
aaacaactac taaagtgtt caaatctttg gtggatatgg attcactaag gattatccag	1080
tagaagaat gatgagagat gctaagataa ctgaaatata tgaaggaaact tcacaagtac	1140
aaaagatggt tatttcagca aatttattta aataaatagg aggagttcat aatgaaaata	1200
gtagtttgct taaagcaagt accagatata actgaagtta aaatagatcc aaaaacagga	1260
acattaataa gagaaggcgt tccatcaata ataaaccag atgataaaaa tgcacttgaa	1320
gaatcaattg ctttaaaaga aaaagtaggg ggtacagtta cagtagtaag catggggcct	1380
ccacaggcag tggatgcact tagagaagct ctagctatgg gagctgatga agcaatatta	1440
gtttcagaca gagcttttgc aggagcagat actcaagcta cttcctatgc attagcagga	1500
gcacttaaaa atttagaata tgatttaata tttgcaggaa gacaagctat agatggagat	1560
actgcacagg ttggacctca aatagcagaa aaattaggaa tacctcagat aacatatgta	1620
gaaaaagttg atgtagatgg agatacttta acagttcaaa gagcttgga agatggatat	1680
gaagtagcaa aaattaaaac tccatgcatg ttaactgcta taaaagagtt aaatcaacca	1740
agatatatga acatgaagaa catatttgaa gttttcaaga aagaagttaa aatatggagt	1800
gctgacgact tagatgtaga taaaaataaa cttggtctta atggttctctg cacaaaagtt	1860
aagagatcac atacaaaaga agcaaaaagga gcaggagaaa tcgttaataa accaataaaa	1920
gaagcagtag catattcaat ttcaaaaatta agagaaaaac atgtcattta atatatagga	1980
ggggtttaga atgaacttag cagaatacaa aggcgtatgg gtatttgctg aacaaaggga	2040
tggagaacta caaaaagtag cacttcaatt agttggaaaa ggaagagaat tggcagacac	2100
tttaggagta gaattaaactg ctgtattact tggtagtgaa gtagatgatt tggcaaaaga	2160
attagttgca tatggagcag acaatgtttt atacgcagat agtcctcttt taaaacatta	2220
tactacagat ggatacacta aagtaataga tgaacttata aaagaaagaa aaccagaaat	2280
attacttata ggagctacat ttatcggaag agacttagga ccaagagttg caggtagagt	2340
ttttacaggt ottacagcag actgtacagg acttgatata gatgaggcaa caaaaaattt	2400
gatgatgaca agacctgcat ttggtggaaa cttaatggca actatagctt gcgaaaaaac	2460
aagacctcaa atgtcaacag taagaccagg agtttttaaat gcgcttccaa gagatgcttc	2520
aagaactgga aaaatagaaa aaatagctgc aaatgttgca aaagatgaca tcagaattga	2580
agtgcttgaa gtagttaaat ctgctggcga tacaatagat atttcagaag cagatgtaat	2640

ES 2 803 208 T3

tgatcaggt ggaagaggac ttggtggtcc agatggatcc aaagttctta aagaattagc	2700
agatttatta ggtggaacta taggtggatc ccgtgcaact atagatgctg gctggataga	2760
taagagctat caggttggtac aaactggtaa aacagtaaga ccaggtcttt atattgcatg	2820
cggaatatca ggtcaaatac aacatttagc tggtagcag gatagtggtt ttatcgtagc	2880
tatcaataaa gatgaaaacg ctccaatgat gcaagtagcg gatcttgcaa ttgtaggaga	2940
tttatataag gttgttccag aatttgtaga acaagttaaa gctttaaatc ttttaagcggc	3000
cgctaccccg taggatccag gaggttagtt agaaggtttt ttaaaaattg gcaggatctt	3060
tataaaaagta aaattgttag tgcagacgaa gctgtatcta aagtaagctg tggagatagc	3120
ataatttttag gcaatgcttg tggagcatct cttacacttt tagatgcctt ggctgcaa	3180
aagggaaagt ataagagtgt aaagatacac aatcttatac ttaattataa aaatgatata	3240
tatactgatc cggaatcaga aaagtatatt catggaaata ctttctttgt aagtggaggt	3300
acaaaaggaag cagtttaattg taatagaaca gattatactc catgcttttt ttatgaaata	3360
ccaaaattat taaaacaaaa gtatataaat gcagatgtag cttttattca agtaagtaag	3420
cctgatagcc atggatactg tagctttgga gtatcaaccg attattcaca ggcaatggta	3480
cagctgcaa agcttataat tgcagaagta aacgatcaga tgccaagagt tttaggagac	3540
aattttatac acatttctga tatggattac atagtagaaa gttcacgtcc aattctagaa	3600
ttgactcctc ctaaaatagg agaagtagag aagacaatag gaaaatactg tgcactctct	3660
gtagaagatg gttctacact tcagcttgga ataggagcta ttccagatgc agtactttta	3720
ttcttgaagg ataaaaagga tttgggtata cattcagaaa tgatatccga tgggtgtggt	3780
gaattagttg aagcaggggt aattacaaat aagaaaaagt cccttcatcc agggaaaaata	3840
attattacat tcttaatggg aactaagaaa ttatatgatt tcataaatga taatcctatg	3900
gtagaaggat accctgtaga ttatgtaaat gatcctaagg ttattatgca aaattctaag	3960
atggtatgta taaactcctg tgtagaagtg gatttcacag gacaagtgtg tgctgaaagt	4020
gtaggattta aacaaataag cgggtgtaggt ggacaagttg attacatgag aggagctagc	4080
atggctgatg gaggaaaatc aattcttgct ataccatcta ctgcagctgg cggcaaaatt	4140
tcaagaatag ttctattttt aactgaagga gggggggtta ctacttcaag atatgatggt	4200
caatatgttg ttacagaata tggatttgca cttctcaagg gcaaaccat aagagaaaga	4260
gctaaggagc ttataaaaaat tgcacatcct aaatttaggg aagaattaac agctcaattt	4320
gaaaaaagat tcagttgtaa gctttaagcg ccacttaatg atttgccagt aaaagagatt	4380
gtttctagct ctacattct tgcagatata atattgccta gagctgaagt tatatatgat	4440
tatcttaagt aataaaaaata agagttacct taaatggtaa ctcttatttt tttaatgtcg	4500
actcatagaa tt	4512

<210> 57

5 <211> 1519

< 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> ADN fragment de cat3

5 <400> 57

```

ggcgcctacc ccgtaggata caggagggtta gttagaatgg tttttaaaaa ttggcaggat      60
ctttataaaa gtaaaattgt tagtgcagac gaagctgtat cttaaagtaag ctgtggagat      120
agcataatth taggcaatgc ttgtggagca tctcttacac ttttagatgc cttggctgca      180
aataaggaaa agtataagag tgtaaagata cacaatctta tacttaatta taaaaatgat      240
atatatactg atccggaatc agaaaagtat attcatggaa atactttctt tgtaagtgga      300
ggtacaaaagg aagcaggtta ttgtaataga acagattata ctccatgctt tttttatgaa      360
ataccaaaat tattaaaaca aaagtatata aatgcagatg tagcttttat tcaagtaagt      420
aagcctgata gccatggata ctgtagcttt ggagtatcaa ccgattattc acaggcaatg      480
gtacagtctg caaagcttat aattgcagaa gtaaacgata agatgccaaag agtttttagga      540
gacaatttta tacacatttc tgatatggat tacatagtag aaagttcacg tccaattcta      600
gaattgactc ctccataaat aggagaagta gagaagacaa taggaaaata ctgtgcatct      660
cttgtagaag atggttctac acttcagctt ggaataggag ctattccaga tgcagtactt      720
ttattcttga aggataaaaa ggatttgggt atacattcag aaatgatata cgatggtgtt      780
gttgaattag ttgaagcagg ggtaattaca aataagaaaa agtcccttca tccaggaaaa      840
ataattatta cattcttaat gggaactaag aaattatatg atttcataaa tgataatcct      900
atggtagaag gataccctgt agattatgta aatgatccta aggttattat gcaaaattct      960
aagatggtat gtataaactc ctgtgtagaa gtggatttca caggacaagt gtgtgctgaa     1020
agtgtaggat ttaaacaaat aagcgggtga ggtggacaag ttgattacat gagaggagct     1080
agcatggctg atggaggaaa atcaattctt gctataccat ctactgcagc tggcggcaaa     1140
atttcaagaa tagttcctat tttaactgaa ggagcggggg ttactacttc aagatatgat     1200
gttcaatatg ttgttacaga atatggtatt gcacttctca agggcaaata cataagagaa     1260
agagctaagg agcttataaa aattgcacat cctaaattta gggaagaatt aacagctcaa     1320
tttgaaaaaa gattcagttg taagctttaa gcgatcgac ttaatgattt gccagtaaaa     1380
gagattgttt ctagctctca cattcttgca gatataatat tgcctagagc tgaagttata     1440
tatgattatc ttaagtaata aaaataagag ttaccttaaa tggttaactct tattttttta     1500
atgtcgactc atagaattc                                     1519

```

<210> 58

< 211> 1210

< 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> Butanol deshidrogenasa procedente del codón de E. coli optimizado para C. ljungdahlii (YghD_E(coCl))

<400> 58

```

gcgatcgcta ccccgtagga tccaggaggt tagttagaat gaacaacttt aatctgcaca      60
ccccaaccag aattctgttt ggtaaaggcg caatcgctgg ttaagagaa caaattcctc      120
acgatgctag agtattgatt acctacggcg gcggcagcgt gaaaaaacc ggcggttctcg      180
atcaagtctt ggatgccctg aaaggcatgg acgtgctgga atttggcggg attgagccaa      240
acccggctta tgaacgctg atgaacgccg tgaaactggg tagagaacag aaagtgactt      300
tcctgctggc ggttggcggc ggttctgtac tggacggcac caaatattat gccgcagcgg      360
ctaactatcc ggaaaatata gatccgtggc acattctgca aacgggaggg aaagagatta      420
aaagcgccat cccgatgggc tgtgtgctga cgctgccagc aacgggttca gaatccaacg      480
caggcgcggt gatctcccg aaaccacag gcgacaagca ggcggtccat tctgcccatt      540
ttcagccggg atttgccgtg ctcgatccgg tttataccta caccctgccg ccgcgtcagg      600
tggttaacgg cgtagtggac gcccttgtac acaccgtgga acagtatgtt accaaaccgg      660
ttgatgcaa aattcaggac cgtttcgcag aaggcatttt gctgacgcta atcgaagatg      720
gtccgaaagc cctgaaagag ccagaaaact acgatgtgag agccaacgtc atgtgggagg      780
cgactcaggc gctgaacggg ttgattggcg ctggcgtagc gcaggactgg gcaacgcata      840
tgctgggcca cgaactgact gcgatgcacg gtctggatca cgcgcaaaca ctggctatcg      900
tcctgcctgc actgtggaat gaaaaaagag ataccaagag agctaagctg ctgcaatatg      960
ctgaaagagt ctggaacatc actgaagggt ccgatgatga gcgtattgac gccgcgattg     1020
ccgcaaccag aaatttcttt gagcaattag gcgtgccgac ccacctctcc gactacgggc     1080
tggaacggcg ctccatcccg gctttgctga aaaaactgga agagcacggc atgacccaac     1140
tgggcgaaaa tcatgacatt acgttggatg tcagcagacg tatatacgaa gccgccagat     1200
aaggcgcgcc                                     1210

```

5

<210> 59

< 211> 3658

< 212> ADN

< 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> pATH-LEM-17

<400> 59

10

ES 2 803 208 T3

ggcgctacc ccgtaggac caggaggta gttagaatga actttgaact caccaaagaa	60
caacaaatga ttagagataa tggtcgaaag tttgcagaag caaaaatcga gcctattgca	120
tttcaactag atgagaaaaa tatatttcct gaagaaatag ttaatgagat gggggatcta	180
tctattatgg gtcttccata cccaaaagaa tatgggtggag cgggaaaaga tgtattgagc	240
tatgctattg cggtagaaga actatcaagg gtagatgcag gtgtgggtgt tatattatct	300
gcacacacat ctcttggaac ttggcctatt atggagtttg ggacaaaaga acaaaaagaa	360
aaatatctag ttccactggc ctcgggcaag aaaattgctg cttttggtct tacagaacct	420
aatgctggaa gtgatgccg caagacagaa actacagcgg ttttagaagg cgatcattat	480
gtcataaatg gttctaaggt atttataaca aatgcggatt atgcagatac ttatgtaata	540
tttgcggtta caactccagg tttggaacc aagggaataa gtgcctttat tattgagaag	600
ggtaggatg gatttacttt tggtactcat tataataaaa tgggtatacg ttcttccgct	660
acagcagagc ttttatttaa aaatttgaag gtacccaaat ataatctttt gggaaaagaa	720
aatgagggct ttaaaattgc catgcagacc ctagaagggtg ggcgcatagg tattgcggca	780
caggcacttg gaattgccca ggggtcatat gagaaagcac taagctactc caaggaaaga	840
gttcagtttg gaaaacctat ttcaagacaa caatccatag catttaaact tgcgatatg	900
gctactaaaa ttccggcggc tagatttatg gtatatagtg cagctgtatt aaagcaggaa	960
cataaaaatt atggaatgga atccgctatg gcgaaattgt atgcttctga tatttgcctt	1020
gaagttgtta atgatgcagt gcaaatatat gggggctcag gatttattaa aggatttcct	1080
gtagagcgta tgtaccgtga tgctaagatc tgtacaatat atgaaggaac taatgagatt	1140
caaagactta ttatctccaa tgatatttta ggtaaaccta aaaaagaacc tattgaggaa	1200
aataaagaaa ataaagttaa taaagcaaaa cctataacgg gaaaccgtag gagggtcatt	1260
ataaaagaag gctctccaaa agaaaagggtg gatgcatttt taaattatat taaaagttaa	1320
aatatagata ttaataaaag tgaagcttct aaaggaagta tagcagacgc agataaagta	1380
tgcagtatag gactgggatt aaaggataaa aaagacttgc ctttaataca atcactagcg	1440
gatacagttg gtgctgaact tggctgttcc agacctgtgg ctgaagaaag ggaatggctg	1500
ccacttgatc gttatgtagg catatcgggt cagaaattcg gtggaacatt ttatcttgcc	1560
attggtatat caggacaagt tcaacattta aagggaattg aaaatgctgg aattataact	1620
gctataaaca tagatgagga tgctcctata tttaagagtt cagattatgg tattgtagga	1680
gatctatatg aaattgtgcc gctgcttatt gaggctttaa aatagtaccc cgtaggatcc	1740
aggaggttag ttagaatggg tggtagccgc gcagacattt cgcgccagcg aaataggtct	1800
gtctttttat ttgccatttg tttgagagaa aggaaagaag ctttaatgga tattatagtt	1860

ES 2 803 208 T3

ttagttaaac aagttccgga tatggaaaaa gtaaaatttg acagagaaaa gggagtagta	1920
gatagaacat ctgccagtgc agaaatcaat ccttttgatt taaatgcact ggaaacagca	1980
gttcaaatag ctgaaaatat ccatgccaga gttactgctg taagtatggg gcctccaaat	2040
acagaaagtg cgttaaaaga atgtattgca aggggtgctc atgaaggagt gcttgtaagt	2100
gatagaaaat ttggagggttc agatacaaag gcgacttcta aaatacttgc cagtgccatt	2160
aaaaagttag gagcctatga tctggtaatc gctggagaaa agactgtaga tggagataca	2220
ggacagggtg gtcccgaagt tgcagaatth ttaaatatac ctcatgcaag ttatgtaagt	2280
aaaattacag aaatgaataa ggacagcatg gaggtacatt ctgaaatctg ggaaggaact	2340
tatttaaaaa gtataaaatt tocatgtctt attacagtta caaaggatat caatcatcca	2400
agattgcctt cttttaaaaa taagatgaaa gccagaaaag cagagattaa gatattaaag	2460
cttgaggatt tagaagaatt tttgaatgag gataatgttg gctttaaggg ttcacctaca	2520
aaagtaaaga aaatagaaat tccccaaata gaaaaaagac agggaaaaat ttatagggag	2580
tcagatactg ttgaggcaga gaatgaatta attaatatat ttaaaaagat taaggttttg	2640
gagggttagt agtgggtaag gaatatagtg gtatatgttg atttgcagaa caaaaaaatg	2700
gacaaattca taaagtcagt tatgaacttc tgggaaaagc aaggcagctt tctgataaat	2760
taaatgctcc ggtgtacagt gttgtgttag gagcagatgg tatagaggcc gaagaactta	2820
tatatagggg agcagataag gtattttata tacaggatga tatgtttaat ctaccagaag	2880
aagtaaccta tacaattaac ctgaagaatt taattaaaga tatcaaacct gaaatTTTTT	2940
tgattgggtg cactaccctg ggaagatcat tggcacctag gctggcagcg tccttaaata	3000
cgggacttac agcagattgt acaggctctg aaatcgatga agatagaaaa ttgggttcaga	3060
taagaccggc ttttagcgaa aatatactgg ctcatataaa aacatacaca tatccccaga	3120
tggctacagt gagatataaa gaatttgacg agggcacaag agatgctaaa aggcagggag	3180
atattttaaa ggtagaggct ttaagactcg aaaatgaact ggtaaaagtg ataacacaac	3240
ttagatccca ggaaattaat atatctgatg caaatgtagt agtggcagcg ggtaaaggat	3300
tgaaaaaggc agaagatatg gctatgttaa aggagttagc ggatttgctg ggaggttag	3360
ttggagccag cagggaaata gttgaagaag ggtttatatc caaggacttt caagtaggat	3420
acagcgccaa cagggtaaaa cctaaattat atatagcttg tggaatttca ggagcaccgc	3480
agcaccttgc aggaatgaaa gaatcggggt ttattgttgc aatcaataca gatccttcag	3540
ctcctatatt taatatagca gactacggaa tagttgatga tatgtataag gtaatacctg	3600
atttgataac taagataaaa gaaagcagtt tagaaactat aaattgttaa gcggccgc	3658

<210> 60

< 211> 9316

< 212> ADN

5 < 213> Secuencia Artificial

<220>

< 223> vector pATH-LEM-22

<400> 60

ctcgagcgtc gatccgattc acaaaaaata ggtacacgaa aaacaagtta agggatgcag	60
tttatgcato ccttaactta cttattaaat aatttatagc tattgaaaag agataagaat	120
tgttcaaagc taatattggt taaatcgtca attcctgcat gttttaagga attgttaa	180
tgattttttg taaatatttt cttgtattct ttgttaaccc atttcataac gaaataatta	240
tacttctggt tatctttgtg tgatattctt gatttttttc tatttaattct gataagt	300
ctattcactt taggttttag atgaaaatat tctcttgga ccataactta tatagaaata	360
tcaacttctg ccattaaaa taatgccaat gagcgttttg tatttaataa tcttttagca	420
aaccctgatt ccacgattaa ataaatctca tcagctatac tatcaaaaac aattttgcgt	480
attatatccg tacttatggt ataaggtata ttaccaaata ttttatagga ttggttttta	540
ggaaatttaa actgcaatat atccttgttt aaaacttggg aattatcgtg atcaacaagt	600
ttattttctg tagttttgca taatttatgg tctatttcaa tggcagttac gaaattacac	660
ctctgtacta attcaagggg aaaatgccct tttcctgagc cgatttcaa gatattatca	720
tgttcattta atcttatatt tgtcattatt ttatctatat tatgttttga agtaataaag	780
ttttgactgt gttttatatt tttctcgttc attataaccc tctttatttt ttctctotta	840
taaaattagt ataattatag cagcagctct gataaatatg aacatgatga gtgatcgtta	900
aatttatact gcaatctgat gcgattattg aataaaagat atgagagatt tatctagttt	960
ctttttttac aagaaaaaag aaagttctta aaggttttat acttttggtc gtagagcaca	1020
cggtttaacg acttaattac gaagtaaata agtctagtgt gttagacttt aatgtttttt	1080
taaggcatta gtgcatttaa gcgtcagagc atggctttat gccgagaaaa ctattggttg	1140
gaatggcgtg tgtgttagcc aaagctcctg caggtcgact ttttaacaaa atatattgat	1200
aaaaataata atagtgggta taattaagtt gttagagaaa acgtataaat tagggataaa	1260
ctatggaact tatgaaatag attgaaatgg tttatctggt accccgtagg atccaggagg	1320
ttagttagaa tggaatttaa aaatatcatt cttgaaaagg atggaaatgt ggcttcaata	1380
acgttgaata gacctaaggc attaaatgca ttaaagtcag caactttaaa agagatagat	1440
gccgcaataa acgacattgc tgaagatgat aacgtatatg ctgtgataat tactgggtca	1500
ggtaaagctt ttgtagcagg agcagatata gctgagatga aagatcttac tgcagttgag	1560
ggaagaaagt tttcagttct tggcaataaa atatttagaa aattagaaaa tttagaaaa	1620
ccagttatag cagctataaa tggatttgca ctgggtggtg gctgtgaatt gtcattgtct	1680

ES 2 803 208 T3

tgcgatataa	gaatagcttc	atcaaaggct	aagtttggtc	aaccagaggt	tggtcttggga	1740
attactccag	ggtttggagg	tactcaaaga	cttgcaagag	caataggcgt	tggtatggct	1800
aaggaactta	tatataccgg	aaaagtaatt	aatgctgaag	aggcattaag	aataggtttg	1860
gtaaaataag	tagttgagcc	agataaatta	ttggaagaag	ctaaagcttt	agtagatgct	1920
attattgtta	atgcacctat	agctgttaga	atgtgtaagg	ctgctataaa	tcaaggactt	1980
cagtgtgata	tagatacagg	tgtagcttat	gaagcagaag	tatttgggga	atgttttgct	2040
acagaagata	gagtagaagg	aatgacagca	tttgtagaaa	aaagagacaa	ggctttttaa	2100
aataagtaag	gccggccaaa	gtattgttaa	aaagggaggt	ctgtttaatg	agtattaaaa	2160
gtgtagcggg	tttaggtagt	ggaactatgt	ctcgtggaat	tgtgcaggct	tttgcagaag	2220
caggatata	tgtaattatc	cgtggaagaa	ctgaaggtag	tattggaaaa	ggtctagcag	2280
cagtaagaa	agcttatgat	aaaaaagtat	caaaggggaa	aatttccag	gaagatgctg	2340
ataaaatagt	tggaagagta	agtacaacaa	ctgaacttga	aaaattggct	gattgtgatc	2400
ttataataga	agcagcatca	gaggatatga	atataaagaa	agactatttt	ggaaaattag	2460
aagaaatatg	caagcctgaa	acaatttttg	ctactaatac	ttcttcatta	tctataactg	2520
aagtagcaac	agctacaaa	agaccagata	aattcatagg	aatgcatttc	tttaatccag	2580
caaagtgtat	gaaattagtt	gaaatcataa	gaggtatgaa	tacttcacaa	gaaacttttg	2640
atattataaa	agaagcttcc	attaaaatag	gaaaaactcc	tgtagaagtt	gcagaagctc	2700
caggatttgt	tgtaaaaca	atattagtac	caatgatcaa	tgaagcagta	ggaatttttg	2760
cagaaggaat	agcttcagca	gaagatatcg	atacagctat	gaaattaggg	gctaataacc	2820
caatgggtcc	tttagcatta	ggagatctta	ttggacttga	tgtagtctct	gcagttatgg	2880
atgtacttta	tagtgaaact	ggagattcaa	aatatagagc	tcatacatta	cttagaaaat	2940
atgtaagagc	aggatggctt	ggaagaaaat	caggaaaagg	attcttcgct	tattaattaa	3000
ttaagtttac	aagaatggcg	ctttaggagg	attagtcatg	aaagaagttg	taatagctag	3060
tgcaagtaag	acagcgattg	gatcttatgg	aaagtctctt	aaggatgtac	cagcagtaga	3120
tttaggagct	acagctataa	aggaagcagt	taaaaaagca	ggaataaaac	cagaggatgt	3180
taatgaagtc	attttaggaa	atgttcttca	agcaggttta	ggacagaatc	cagcaagaca	3240
ggcatctttt	aaagcaggat	taccagttga	aattccagct	atgactatta	ataaggtttg	3300
tggttcagga	ottagaacag	ttagcttagc	agcacaaaat	ataaaagcag	gagatgctga	3360
cgtataata	gcaggtggta	tggaataat	gtctagagct	ccttacttag	cgaataacgc	3420
tagatgggga	tatagaatgg	gaaacgctaa	atgtgttgat	gaaatgatca	ctgacggatt	3480
gtgggatgca	tttaatgatt	accacatggg	aataacagca	gaaaacatag	ctgagagatg	3540
gaacatttca	agagaagaac	aagatgagtt	tgctcttgca	tcacaaaaaa	aagctgaaga	3600

ES 2 803 208 T3

agctataaaa	tcaggtcaat	ttaaagatga	aatagttcct	gtagtaatta	aaggcagaaa	3660
gggagaaaact	gtagttgata	cagatgagca	ccctagat	ggatcaacta	tagaaggact	3720
tgcaaaaatta	aaacctgcct	tcaaaaaaga	tggaacagtt	acagctggta	atgcatcagg	3780
attaaatgac	tgtgcagcag	tacttgtaat	catgagtgc	gaaaaagcta	aagagcttgg	3840
agtaaaacca	cttgctaaga	tagtttctta	tggttcagca	ggagttgacc	cagcaataat	3900
gggatatgga	cctttctatg	caacaaaagc	agctattgaa	aaagcagggt	ggacagttga	3960
tgaattagat	ttaatagaat	caaatgaagc	ttttgcagct	caaagtttag	cagtagcaaa	4020
agatttataa	tttgatatga	ataaagtaaa	tgtaaatgga	ggagctattg	cccttggtta	4080
tccaattgga	gcatcagggt	caagaatact	cgttactctt	gtacacgcaa	tgcaaaaaag	4140
agatgcacaa	aaaggcttag	caactttatg	tataggtggc	ggacaaggaa	cagcaatatt	4200
gctagaaaa	tgctaggagg	taagtttatg	gcgccactta	atgatttgcc	agtaaaagag	4260
attgtttcta	gctctcacat	tcttcagat	ataatattgc	ctagagctga	agttatatat	4320
gattatctta	agtaataaaa	ataagagtta	ccttaaatgg	taactcttat	ttttttaatg	4380
tcgactcata	ggcgcgctt	aaagcttaca	actgaatctt	ttttcaaatt	gagctgttaa	4440
ttcttcccta	aatttaggat	gtgcaatttt	tataagctcc	ttagctcttt	ctcttatgga	4500
tttgcccttg	agaagtgcaa	taccatattc	tgtaacaaca	tattgaacat	catatcttga	4560
agtagtaacc	ccgctcctt	cagttaaaat	aggaactatt	cttgaaattt	tgccgccagc	4620
tgtagtagat	ggtatagcaa	gaattgattt	tcctccatca	gccatgctag	ctcctctcat	4680
gtaatcaact	tgccaccta	caccgcttat	ttgtttaaat	cctacacttt	cagcacacac	4740
ttgtcctgtg	aaatccactt	ctacacagga	gtttatacat	accatcttag	aattttgcat	4800
aataacotta	ggatcattta	cataatctac	agggatcct	tctaccatag	gattatcatt	4860
tatgaaatca	tataatttct	tagttcccat	taagaatgta	ataattattt	ttcctggatg	4920
aagggaactt	ttcttatttg	taattacccc	tgcttcaact	aattcaacaa	caccatcgga	4980
tatcatttct	gaatgtatac	ccaaatcctt	tttatccttc	aagaataaaa	gtactgcatc	5040
tggaatagct	cctattccaa	gctgaagtgt	agaaccatct	tctacaagag	atgcacagta	5100
ttttcctatt	gtcttctcta	cttctcctat	tttaggagga	gtcaattcta	gaattggacg	5160
tgaactttct	actatgtaat	ccatatacga	aatgtgtata	aaattgtctc	ctaaaactct	5220
tggcatctga	tcgtttactt	ctgcaattat	aagctttgca	gactgtacca	ttgcctgtga	5280
ataatcggtt	gatactccaa	agctacagta	tccatggcta	tcaggcttac	ttacttgaat	5340
aaaagctaca	tctgcattta	tatacttttg	ttttaataat	tttggatttt	cataaaaaaa	5400
gcatggagta	taatctgttc	tattacaatt	aactgcttcc	tttgtacctc	cacttacaaa	5460

ES 2 803 208 T3

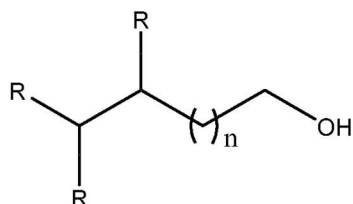
gaaagtat	ccatgaat	atctttctga	ttccggatca	gtatatatat	catttttata	5520
attaagtata	agattgtgta	tctttacact	cttatacttt	tccttatttg	cagccaaggc	5580
atctaaaagt	gtaagagatg	ctccacaagc	attgcctaaa	attatgctat	ctccacagct	5640
tacttttagat	acagcttcgt	ctgcactaac	aattttactt	ttataaagat	cctgcccaatt	5700
tttaaaaacc	attctaacta	acctcctgga	tcctacgggg	tagcggccgc	ttaaagattt	5760
aaagctttaa	cttgttctac	aaattctgga	acaaccttat	ataaatctcc	tacaattgca	5820
agatccgcta	cttgcacat	tggagcgttt	tcactctttat	tgatagctac	gataaatcca	5880
ctatcctgca	taccagctaa	atgttgtatt	tgacctgata	ttccgcatgc	aatataaaga	5940
cctggtctta	ctgttttacc	agtttgtcca	acctgatagc	tcttatctat	ccagccagca	6000
tctatagttg	cacgggatcc	acctatagtt	ccaccttaata	aatctgctaa	ttctttaaga	6060
actttgaatc	catctggacc	accaagtcct	cttccacctg	atacaattac	atctgcttct	6120
gaaatatcta	ttgtatcgcc	agcagattta	actacttcaa	gcacttcaat	tctgatgtca	6180
tcttttgcaa	catttgcagc	tattttttct	atttttccag	ttcttgaagc	atctcttgga	6240
agcgcattaa	aaactcctgg	tcttactggt	gacatttgag	gtcttgtttt	ttcgcaagct	6300
atagttgcca	ttaagtttcc	accaaagtca	ggtcttgcca	tcatacaatt	ttttgttgcc	6360
tcactctatat	caagtcctgt	acagtcctgt	gtaagacctg	taaaaactct	acctgcaact	6420
cttggtccta	agtctcttcc	gataaatgta	gctcctataa	gtaatatctc	tggttttctt	6480
tcttttataa	gttcatctat	tacttttagt	tatccatctg	tagtataatg	ttttaaaaga	6540
ggactatctg	cgtataaaaac	attgtctgct	ccatatgcaa	ctaattcttt	tgccaaatca	6600
tctacttcac	taccaagtaa	tacagcagtt	aattctactc	ctaaagtgtc	tgccaattct	6660
cttctttttc	caactaattg	aagtgcact	ttttgtagtt	ctccatccct	ttgttcagca	6720
aatacccata	cgccttttga	ttctgctaag	ttcattctaa	acctctccta	tatattaaat	6780
gacatgtttt	tctcttaatt	ttgaaattga	atatgctact	gcttctttta	ttggtttatt	6840
aacgatttct	cctgctcctt	ttgcttcttt	tgtatgtgat	ctcttaactt	ttgtgcagga	6900
accattaaga	ccaagtttat	ttttatctac	atctaagtcg	tcagcactcc	atattttaac	6960
ttctttcttg	aaaacttcaa	atatgttctt	catgttcata	tatcttggtt	gatttaactc	7020
ttttatagca	gttaacatgc	atggagtttt	aatttttgct	acttcatact	catcttccca	7080
agctctttga	actgtttaaag	tatctccatc	tacatcaact	ttttctacat	atgttatctg	7140
aggtatttct	aatttttctg	ctatttgagg	tccaacctgt	gcagtatctc	catctatagc	7200
ttgtcttctc	gcaaatatta	aatcatattc	taaattttta	agtgtctcctg	ctaatgcata	7260
ggaagtagct	tgagtatctg	ctcctgcaaa	agctctgtct	gaaactaata	ttgcttcact	7320
agctcccata	gctagagctt	ctctaagtcg	atccactgcc	tgtggaggcc	ccatgcttac	7380

ES 2 803 208 T3

tactgtaact gtaccccca ctttttcttt taaagcaatt gattcttcaa gtgcattttt	7440
atcatctggg tttattattg atggaacgcc ttctcttatt aatgttcctg tttttggatc	7500
tattttaact tcagttgtat ctggtacttg ctttaagcaa actactattt tcattatgaa	7560
ctcctcctat ttattttaa aaatttgctg aaataacat cttttgtact tgtgaagtgc	7620
cttcatatat ttcagttatc ttagcatctc tcatcattct ttctactgga taatccttag	7680
tgaatccata tccaccaaag atttgaacaa ctttagtagt tgtttccata gctacagtag	7740
cgcagctaa tttagctctt gcagcttcca ctgaatatgg aagaaccatt tgtttattta	7800
ctgctgcttt ataaacaagt tgtttaacag cttctatttt agtatcta tctgcaacca	7860
tccatgctaa tccctggaat ttgtaaagag cttttccaaa ttgttttctt tctttcatat	7920
aattaagtgc ttcagcta atgcgcttctg ctaaacctaa cgcttggtgc gctataccaa	7980
ttcttctctc atcaagagta tgcattgcta cagtaaatcc ttttcttct tttcctaaca	8040
tattttcttt tggaactatg caattctcaa atataagttc tgtagttgag gaagctctaa	8100
ttcccaactt atcttcagat tttcctatgg agaaaccagg gaaatctttt tcaactataa	8160
atgctgttat tctcttcta cccttgcttc tgtctgtcat tgcaaatatt acaaaagtat	8220
ctgcatatgc accatttcta ataaatattt tttgtccatt taatacataa tgatccctt	8280
ctaaaacagc tgttgtctgc tgtccagcag catcagtaac tgcattaggt tcagttaaac	8340
caaatgctcc aagtttttct ccctttgcaa gaggaactaa gtatttttgt ttctgttctt	8400
ctgtacccca atcataaata ggtgctgcac aaagtgaagt atgtgctgac aatatagttg	8460
atgatgaagt acaactcttt gcaagtcctt ctactgctat tatataggat aaataatctg	8520
tacctgagcc gccgtattca actggaaaag gcatacccat cattccgtat ttagcaaatt	8580
tttctactgt ctcaagagga aacctttctg tttcatctat ttcagcagct ataggtttta	8640
cttcattttc agtaaattca cttaccattt gttctacaaa tttttgctcg tttgttaatg	8700
taaaatccat tctaactaac ctctggatc ctacgggta gcgatcgctt taaatttaac	8760
acaaaattac acacacttat actataatcc tttttagttg tatttttcaa taaaaatcat	8820
tcaaaaatat aacttttgat aagaaatttc acaaattaaa gtatcaaaaa attttgctag	8880
tcaatacttt actcaatatt atataatgta aatcaaataa gcaaaaattt aatctgaaaa	8940
tagatactct atttaaaaat cctacactaa tacttatttt attgttataa tatgtatata	9000
tttcaactag gcatttttaa ataaataatc aatcaatata ctagcctatt ttttcaaatg	9060
ccctatactt tgtacttata gttctttaat gaaataaaca gagttcttga catggaataa	9120
aatattttag aaaggaaaat ttctatgaac gtaactggaa taatagttga atataatccc	9180
tttcacaatg gacataaata tcatattgaa agtgctcggt ctgctacaaa atgtgatgct	9240
gtaatagcag ttatgagtgg taacttcgtg caaagaggtt caccatctat agttgacaaa	9300
tgctgcagg gaattc	9316

REIVINDICACIONES

1. Una célula microbiana acetogénica que es capaz de producir al menos un alcohol superior a partir de una fuente de carbono, en donde la célula microbiana acetogénica está genéticamente modificada para comprender una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de al menos una enzima, E₈, butiril-CoA: acetato CoA transferasa (cat3), y en donde el alcohol superior comprende la fórmula I posterior y tiene de 4 a 10 átomos de carbono



Fórmula I

R= H, CH₃,

n=1- 6

y en donde el incremento en la actividad enzimática se consigue mediante

- una expresión de una enzima E₈ heteróloga,
- un incremento en el número de copias del gen que expresa la enzima E₈,
- una expresión de la enzima E₈ con un promotor heterólogo, o
- sus combinaciones.

2. La célula según la reivindicación 1, en donde la célula está genéticamente modificada para comprender una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de al menos una enzima adicional seleccionada del grupo que consiste en E₁ a E₇ y E₉ a E₁₁, en donde E₁ es una alcohol deshidrogenasa (adh), E₂ es una acetaldehído deshidrogenasa (ald), E₃ es una acetoacetil-CoA tiolasa (thl), E₄ es una 3-hidroxi butiril-CoA deshidrogenasa (hbd), E₅ es una 3-hidroxi butiril-CoA deshidratasa (crt), E₆ es una butiril-CoA deshidrogenasa (bcd), E₇ es una subunidad flavoproteínica de transferencia electrónica (etf), E₉ es una acetato cinasa (ack), E₁₁ es una transhidrogenasa y E₁₂ es una trans-2-enoil-CoA reductasa o crotonil-CoA reductasa, y en donde el incremento en la actividad enzimática de una cualquiera de las enzimas E₁ a E₇ y E₉, E₁₁ y E₁₂ se consigue mediante

- una expresión de una enzima heteróloga de una cualquiera de las enzimas E₁ a E₇ y E₉, E₁₁ y E₁₂,
- un incremento en el número de copias del gen que expresa una cualquiera de las enzimas E₁ a E₇ y E₉, E₁₁ y E₁₂,
- una expresión de una cualquiera de las enzimas E₁ a E₇ y E₉, E₁₁ y E₁₂ con un promotor heterólogo, o

- sus combinaciones.

3. La célula según cualquier reivindicación 1 o 2, en donde E₈ comprende 60% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1.

4. La célula según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde E₈ procede de *Clostridium kluyveri*.

5. La célula según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la célula está genéticamente modificada para comprender una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de las enzimas E₃, una acetoacetil-CoA tiolasa (thl), E₄, una 3-hidroxi butiril-CoA deshidrogenasa (hbd), E₅, una 3-hidroxi butiril-CoA deshidratasa (crt), y E₆, una butiril-CoA deshidrogenasa (bcd), y en donde el incremento en la actividad enzimática de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₆ se consigue mediante

- una expresión de una enzima heteróloga de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₆,
- un incremento en el número de copias del gen que expresa una cualquiera de las enzimas E₃ a E₆,

- una expresión de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₆ con un promotor heterólogo, o
 - sus combinaciones.
- 5 6. La célula según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la célula está genéticamente modificada para comprender una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de las enzimas E₃, una acetoacetyl-CoA tiolasa (thl), E₄, una 3-hidroxiacetyl-CoA deshidrogenasa (hbd), y E₅, una 3-hidroxiacetyl-CoA deshidratasa (crt), y en donde el incremento en la actividad enzimática de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₅ se consigue mediante
- una expresión de una enzima heteróloga de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₅,
 - un incremento en el número de copias del gen que expresa una cualquiera de las enzimas E₃ a E₅,
 - una expresión de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₅ con un promotor heterólogo, o
- 10 - sus combinaciones.
- 15 7. La célula según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la célula está genéticamente modificada para comprender una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de las enzimas E₃, una acetoacetyl-CoA tiolasa (thl), E₄, una 3-hidroxiacetyl-CoA deshidrogenasa (hbd), E₅, una 3-hidroxiacetyl-CoA deshidratasa (crt), E₆, una butiril-CoA deshidrogenasa (bcd), y E₇ es una subunidad flavoproteínica de transferencia electrónica (etf), y en donde el incremento en la actividad enzimática de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₇ se consigue mediante
- una expresión de una enzima heteróloga de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₇,
 - un incremento en el número de copias del gen que expresa una cualquiera de las enzimas E₃ a E₇,
 - una expresión de una cualquiera de las enzimas E₃ a E₇ con un promotor heterólogo, o
 - sus combinaciones.
- 20 8. La célula según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde la célula está genéticamente modificada adicionalmente para comprender una expresión incrementada con relación a su célula silvestre de al menos una de las enzimas seleccionadas del grupo que consiste en E₁, una alcohol deshidrogenasa (adh), y la enzima E₁₂, trans-2-enoil-CoA reductasa o crotonil-CoA reductasa, y en donde el incremento en la actividad enzimática de una cualquiera de las enzimas E₁ y E₁₂ se consigue mediante
- 25 - una expresión de una enzima heteróloga de una cualquiera de las enzimas E₁ y E₁₂,
- un incremento en el número de copias del gen que expresa una cualquiera de las enzimas E₁ y E₁₂,
 - una expresión de una cualquiera de las enzimas E₁ y E₁₂ con un promotor heterólogo, o
 - sus combinaciones.
9. La célula según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, en donde las enzimas
- 30 - E₁ se selecciona del grupo que consiste en *C. acetobutylicum* y *E. coli* y/o E₁ comprende 60% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 18 o SEQ ID NO: 19;
- E₃ procede de *C. acetobutylicum* y/o E₃ comprende 60% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2;
 - E₄ procede de *Clostridium kluyveri* y/o E₄ comprende 60% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 3;
 - E₅ procede de *Clostridium kluyveri* y/o E₅ comprende 60% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 4;

- E₆ se selecciona del grupo que consiste en *Clostridium kluyveri* y *C. acetobutylicum* y/o E₆ comprende 60% de identidad de secuencia con al menos una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 5- 7;

5 - E₇ se selecciona del grupo que consiste en *Clostridium kluyveri* y *C. acetobutylicum* y/o E₇ comprende 60% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 8- 13;

- E₁₂ se selecciona del grupo que consiste en *Treponema denticola*, *Euglena gracilis*, *Caenorhabditis elegans* y *Streptomyces collinus* y/o E₁₂ comprende 60% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 15- 17.

10 10. La célula según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la célula microbiana acetogénica se selecciona del grupo que consiste en *Acetoanaerobium notera* (ATCC 35199), *Acetonema longum* (DSM 6540), *Acetobacterium carbinolicum* (DSM 2925), *Acetobacterium malicum* (DSM 4132), la especie de *Acetobacterium* n° 446, *Acetobacterium wieringae* (DSM 1911), *Acetobacterium woodii* (DSM 1030), *Alkalibaculum bacchi* (DSM 22112), *Archaeoglobus fulgidus* (DSM 4304), *Blautia producta* (DSM 2950), *Butyribacterium methylotrophicum* (DSM 3468),
15 *Clostridium aceticum* (DSM 1496), *Clostridium autoethanogenum* (DSM 10061, DSM 19630 y DSM 23693), *Clostridium carboxidivorans* (DSM 15243), *Clostridium coskatii* (ATCC no. PTA-10522), *Clostridium drakei* (ATCC BA-623), *Clostridium formicoaceticum* (DSM 92), *Clostridium glycolicum* (DSM 1288), *Clostridium ljungdahlii* (DSM 13528), *Clostridium ljungdahlii* C-01 (ATCC 55988), *Clostridium ljungdahlii* ERI-2 (ATCC 55380), *Clostridium ljungdahlii* O-52 (ATCC 55989), *Clostridium mayombeii* (DSM 6539), *Clostridium methoxybenzovorans* (DSM 12182), *Clostridium neopropionicum* sp, *Clostridium ragsdalei* (DSM 15248), *Clostridium scatologenes* (DSM 757), *Clostridium species* ATCC 29797, *Desulfotomaculum kuznetsovii* (DSM 6115), *Desulfotomaculum thermobezoicum* subesp. *thermosyntrophicum* (DSM 14055), *Eubacterium limosum* (DSM 20543), *Methanosarcina acetivorans* C2A (DSM 2834), *Moorella* sp. HUC22-1, *Moorella thermoacetica* (DSM 521), *Moorella thermoautotrophica* (DSM 1974), *Oxobacter pfennigii* (DSM 322), *Sporomusa aerivorans* (DSM 13326), *Sporomusa ovata* (DSM 2662), *Sporomusa silvacetica* (DSM 10669), *Sporomusa sphaeroides* (DSM 2875), *Sporomusa termitida* (DSM 4440) y *Thermoanaerobacter kivui* (DSM 2030).

11. La célula según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la célula microbiana acetogénica es *Clostridium ljungdahlii* o *Clostridium autoethanogenum*.

30 12. La célula según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el alcohol superior se selecciona del grupo que consiste en 1-butanol, 2-metil-1-butanol, isobutanol, 3-metil-1-butanol, 1-hexanol, 1-octanol, 1-pentanol, 1-heptanol, 3-metil-1-pentanol, 4-metil-1-hexanol, 5-metil-1-heptanol, 4-metil-1-pentanol, 5-metil-1-hexanol, 6-metil-1-heptanol y sus combinaciones.

13. Un método para producir al menos un alcohol superior, comprendiendo el método

35 - poner en contacto una célula microbiana recombinante según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 con un medio que comprende una fuente de carbono.

14. El método según la reivindicación 13, en donde la fuente de carbono comprende CO y/o CO₂.

15. Uso de la célula según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para la producción de al menos un alcohol superior.

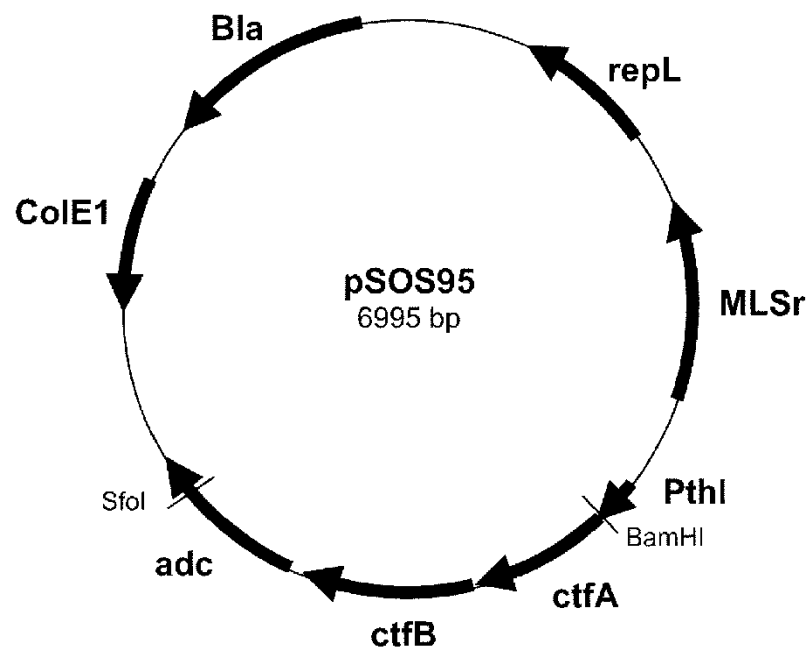


FIGURA 1