

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 811 926**

51 Int. Cl.:

C12N 15/09 (2006.01)
C12N 1/19 (2006.01)
C12P 7/46 (2006.01)
C12N 9/04 (2006.01)
C12N 9/88 (2006.01)
C12N 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.06.2015** **PCT/JP2015/068589**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.01.2016** **WO16002680**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.06.2015** **E 15814080 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2020** **EP 3162896**

54 Título: **Transformante, procedimiento de producción del mismo y procedimiento de producción de ácido dicarboxílico C4**

30 Prioridad:

30.06.2014 JP 2014135043

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

15.03.2021

73 Titular/es:

JMTC ENZYME CORPORATION (100.0%)
8-17-5, Ginza, Chuo-ku
Tokyo 104-0061, JP

72 Inventor/es:

HARA FUTOSHI;
KIMURA SHUICHIRO;
KOTANI TETSUYA y
TANAKA TAKAYUKI

74 Agente/Representante:

SALVÀ FERRER, Joan

ES 2 811 926 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

Transformante, procedimiento de producción del mismo y procedimiento de producción de ácido dicarboxílico C4

5 Campo técnico

[0001] La presente solicitud describe un transformante, un procedimiento para fabricar el mismo y un procedimiento para fabricar un ácido dicarboxílico que tiene 4 átomos de carbono (ácido dicarboxílico C4). Más específicamente, la presente solicitud describe un transformante, que se obtiene mediante la incorporación de uno o
10 más genes extraños de uno o más tipos seleccionados del grupo que consiste en un gen de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (denominada en lo sucesivo PCK), un gen de la piruvato carboxilasa (denominada en lo sucesivo también PYC) y un gen de la malato deshidrogenasa (denominada en lo sucesivo también MDH) en *Schizosaccharomyces pombe* (denominada en lo sucesivo también *S. pombe*) y en el que algunos de los genes en un grupo de genes codificantes de la piruvato descarboxilasa (denominada en lo sucesivo, también PDC) y genes de la
15 enzima málica (denominada en lo sucesivo, también MAE) se han sometido a eliminación o desactivación, un procedimiento para fabricar el transformante y un procedimiento para fabricar un ácido dicarboxílico C4 en el que el transformante se cultiva en una solución de cultivo y se obtiene un ácido dicarboxílico C4 de la solución de cultivo.

Antecedentes de la técnica

20 [0002] El ácido málico ($\text{HOOCCH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{COOH}$) es un ácido dicarboxílico que consiste en 4 átomos de carbono (ácido dicarboxílico C4). En general, el ácido málico se fabrica comercialmente mediante síntesis química a partir de materias primas derivadas del petróleo o mediante fermentación microbiana a partir de materias primas renovables.

25 [0003] Se sabe que muchos microorganismos naturales o genéticos recombinantes son capaces de producir ácido málico como los principales organismos fermentativos. Por ejemplo, como un procedimiento para utilizar microorganismos de tipo salvaje, se ha descrito un procedimiento para producir ácido málico mediante el cultivo de *Aspergillus flavus* (documento no relacionado con patentes 1) y *Penicillium sclerotiorum* (documento no relacionado
30 con patentes 2).

[0004] Con respecto a un microorganismo cuya capacidad de producción de ácido málico mejora mediante recombinación génica, el documento de patente 1 describe que una capacidad de producción de ácido dicarboxílico C4 mejora mediante la introducción de un transportador de ácido dicarboxílico C4 en bacterias filamentosas tales como
35 *Aspergillus oryzae*.

[0005] En el documento de patente 2, el ácido málico se produce mediante el uso de un transformante que se obtiene mediante la eliminación de un gen PDC de *Saccharomyces cerevisiae* y la introducción de un gen PYC o un gen de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (denominada en lo sucesivo también PCK), un gen MDH y un gen de la proteína transportadora de ácido málico en la *Saccharomyces cerevisiae*.
40

[0006] En el documento no relacionado con patentes 3, el ácido málico se produce usando un transformante que se obtiene eliminando un gen PDC de *Saccharomyces cerevisiae* e introduciendo un gen PYC, un gen MDH y un gen de la proteína transportadora de ácido málico en la *Saccharomyces cerevisiae*. En el documento de patente 3, el
45 ácido málico se produce utilizando un transformante que se obtiene eliminando un gen enzimático PDC, un gen de la piruvato quinasa (PYK) y un gen de la hexoquinasa (HXK) de *Saccharomyces cerevisiae* e introduciendo un gen PYC, un gen MDH, un gen de la proteína transportadora de ácido málico y un gen PCK en la *Saccharomyces cerevisiae*.

[0007] En el documento no relacionado con patentes 4, se fabrica un transformante cuya capacidad de
50 producción de ácido málico mejora mediante la desactivación de una pluralidad de enzimas en *E. coli* que están implicadas en vías distintas a una vía a través de la cual se produce ácido málico a partir de ácido pirúvico. El documento no relacionado con patentes 4 describe que entre una cepa de eliminación de un gen de la enzima málica maeB y una cepa de no eliminación de este, la cepa de no eliminación del gen maeB tiene una mayor tasa de producción de ácido málico. El gen maeB de *E. coli* corresponde a un gen de la enzima málica mae2 de *S. pombe*.

55 Lista de referencias

Bibliografía de patentes

60 [0008]

[Documento de patente 1] Traducción al japonés publicada n.º 2013-503631 de la publicación internacional PCT
[Documento de patente 2] Traducción al japonés publicada n.º 2009-516526 de la publicación internacional PCT
[Documento de patente 3] Publicación Internacional PCT n.º WO2009/011974

65

Bibliografía no relacionada con patentes

[Documento no relacionado con patentes 1] Battat y col., *Biotechnology and Bioengineering*, 1991, vol. 37, págs. 1108-1116.

5 [Documento no relacionado con patentes 2] Wang y col., *Bioresource Technology*, 2013, vol. 143, págs. 674-677.
[Documento no relacionado con patentes 3] Zelle y col., *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, vol. 74, págs. 2766-2777.

[Documento no relacionado con patentes 4] Zhang y col., *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, vol. 77, págs. 427-434.

10

Resumen de la invención

Problema técnico

15 **[0010]** Todos los transformantes descritos en los documentos de patente 1 a 3 y en los documentos no relacionados con patentes 3 y 4 tienen una tasa de producción de ácido málico inferior a 1,0 g/(l·h). Por lo tanto, se desea el desarrollo de un microorganismo que tenga una mayor capacidad de producción de ácido málico.

20 **[0011]** Un objeto de la presente invención es proporcionar un transformante de *Schizosaccharomyces pombe*, que puede producir de manera excelente un ácido dicarboxílico C4 a través de fermentación microbiana a partir de materias primas renovables. También se describe un procedimiento para fabricar el transformante.

[0012] Otro objeto de la presente invención es proporcionar un procedimiento para fabricar un ácido dicarboxílico C4 que incluye ácido málico mediante el uso del transformante.

25

Solución al problema

[0013] Un transformante según la presente invención es un transformante que utiliza *Schizosaccharomyces pombe* como hospedador y, en el que se incorporan uno o más genes extraños de uno o más tipos seleccionados del grupo que consiste en un gen de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa y un gen de la piruvato carboxilasa, y en el que algunos de los genes en un grupo de genes codificantes de la piruvato descarboxilasa del hospedador de *Schizosaccharomyces pombe* se han sometido a eliminación o desactivación. El gen de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa codifica un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO:94 a 113, un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos obtenida mediante la sustitución, adición o eliminación de uno o una pluralidad de aminoácidos en una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO:94 a 113 y tiene una actividad de fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, o un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia igual o superior al 80 % con una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO:94 a 113 y tiene actividad de fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, el gen de la piruvato carboxilasa codifica un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO:1 a 16, un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos obtenida mediante la sustitución, adición o eliminación de uno o una pluralidad de aminoácidos en una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO:1 a 16 y tiene actividad de piruvato carboxilasa, o un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia igual o superior al 80 % con una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO:1 a 16 y tiene actividad de piruvato carboxilasa, y los genes codificantes de la piruvato descarboxilasa que se han sometido a eliminación o desactivación son genes *pdh2*.

[0014] Es preferible que uno o más genes extraños de la malato deshidrogenasa se incorporen adicionalmente al transformante según la presente invención.

50

[0015] Es preferible que en el transformante, los genes de la malato deshidrogenasa sean genes que codifican un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO:17 a 21, un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos obtenida mediante la sustitución, adición o eliminación de uno o una pluralidad de aminoácidos en una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO:17 a 21 y tiene actividad de malato deshidrogenasa, o un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que comparte identidad de secuencia igual o superior al 80 % con una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO:17 a 21 y tiene actividad de malato deshidrogenasa.

[0016] Es preferible que, en el transformante, los genes de la enzima málica también se hayan sometido a eliminación o desactivación.

60

[0017] Es preferible que en el transformante se incorporen uno o más genes extraños de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa o uno o más genes extraños de la piruvato carboxilasa y uno o más genes extraños de la malato deshidrogenasa, y todos los genes *pdh2* y el gen de la enzima málica se hayan sometido a eliminación o desactivación.

65

[0018] En el transformante según la presente invención, los genes extraños se incorporan en un cromosoma del hospedador.

[0019] Un procedimiento para fabricar un ácido dicarboxílico que tiene 4 átomos de carbono según la presente invención incluye cultivar el transformante en una solución de cultivo y obtener un ácido dicarboxílico que tiene 4 átomos de carbono del transformante cultivado o un sobrenadante de cultivo.

[0020] Es preferible que en el procedimiento para fabricar un ácido dicarboxílico que tiene 4 átomos de carbono según la presente invención, el ácido dicarboxílico que tiene 4 átomos de carbono sea ácido málico o ácido oxaloacético.

[0021] Es preferible que en el procedimiento para fabricar un ácido dicarboxílico que tiene 4 átomos de carbono según la presente invención, el cultivo continúe incluso después de que el pH de la solución de cultivo sea igual o inferior a 3,5. La invención está definida por las reivindicaciones.

Efectos ventajosos de la invención

[0022] El transformante de *Schizosaccharomyces pombe* según la presente invención puede producir un ácido dicarboxílico C4 que incluye ácido málico a una tasa de producción alta que no se logró en la técnica relacionada.

[0023] El transformante se puede obtener de una manera más simple mediante el procedimiento para fabricar un transformante.

[0024] El procedimiento para fabricar un ácido dicarboxílico C4 según la presente invención hace posible fabricar un ácido dicarboxílico C4 con mayor capacidad de producción mediante fermentación microbiana.

Breve descripción de los dibujos

[0025]

La figura 1 es una vista que muestra una constitución de un vector recombinante integrador monodentado pSMh. La figura 2 es una vista que muestra valores relativos de una cantidad de expresión de PYC de 16 tipos de transformante en los que se introduce un gen PYC. La figura 3 es una vista que muestra la actividad de PYC relativa por líquido enzimático (mU/ml) de 8 tipos de transformante en los que se introduce un gen PYC. La figura 4 es una vista que muestra valores relativos de una cantidad de expresión de MDH de 5 tipos de transformante en los que se introduce un gen MDH. La figura 5 es una vista que muestra la actividad de MDH por líquido enzimático (mU/ml) de 3 tipos de transformante en los que se introduce un gen MDH. La figura 6 es una vista que muestra cómo una concentración de glucosa (g/l), una concentración de etanol (g/l) y una concentración de ácido málico (g/l) de una cepa de tipo salvaje (cepa ARC010) cambian con el tiempo. La figura 7 es una vista que muestra cómo una concentración de glucosa (g/l), una concentración de etanol (g/l) y una concentración de ácido málico (g/l) de una cepa ASP4590 (Δ pdc2) cambian con el tiempo. La figura 8 es una vista que muestra cómo una concentración de glucosa (g/l), una concentración de etanol (g/l) y una concentración de ácido málico (g/l) de una cepa ASP4491 (Δ pdc2, +ScePYC, +DacMDH) cambian con el tiempo. La figura 9 es una vista que muestra cómo una concentración de glucosa (g/l), una concentración de etanol (g/l) y una concentración de ácido málico (g/l) de una cepa ASP4964 (Δ pdc2, Δ mae2, +ScePYC, +DacMDH) cambian con el tiempo. La figura 10 es una vista que muestra cómo una concentración de glucosa (g/l), una concentración de etanol (g/l) y una concentración de ácido málico (g/l) de una cepa ASP4933 (Δ pdc2, Δ fum1, +ScePYC, +DacMDH) cambian con el tiempo. La figura 11 es una vista de cómo una concentración de glucosa (g/l) y una concentración de ácido málico (g/l) de una solución de cultivo de cada una de una cepa ASP4491 y una cepa ASP4892 cambian con el tiempo. La figura 12 es una vista que muestra valores relativos de una cantidad de expresión de PCK de 20 tipos de transformante en los que se introduce un gen PCK.

Descripción de las realizaciones

60 [Gen recombinante]

[0026] El transformante según lo descrito en esta invención es un transformante que utiliza *Schizosaccharomyces pombe* como hospedador, en el que se incorporan uno o más genes extraños seleccionados del grupo que consiste en un gen de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PCK) y un gen de la piruvato carboxilasa (PYC), y en el que algunos de los genes en genes codificantes de la piruvato descarboxilasa del grupo génico del

hospedador de *Schizosaccharomyces pombe* se han sometido a eliminación o desactivación.

[0027] En la presente invención y la memoria descriptiva de la presente solicitud, un gen extraño significa un gen estructural que no es un gen estructural inherente a un hospedador (un gen estructural contenido en un cromosoma de un hospedador de tipo natural que no ha experimentado transformación) sino un gen estructural introducido en un hospedador a través de una operación de transformación o similar. Un gen inherente a un hospedador también se incluye en un gen extraño de la presente invención siempre y cuando el gen se introduzca en el hospedador a través de una operación de transformación o similar.

[0028] El ácido oxaloacético es una especie de ácido dicarboxílico C4. En *S. pombe*, el ácido oxaloacético es importante como materia prima para la síntesis de otros ácidos dicarboxílicos C4 tales como ácido málico. En *S. pombe* de tipo salvaje, el ácido oxaloacético se sintetiza principalmente a través de una vía en la que el ácido oxaloacético se sintetiza directamente a partir del ácido fosfoenolpirúvico mediante PCK y se sintetiza mediante PYC a través del ácido pirúvico. Por lo tanto, si se mejoran la actividad de PCK y la actividad de PYC, se podría aumentar una cantidad de ácido oxaloacético producido a partir de *S. pombe*.

[0029] El ácido pirúvico es importante en la fermentación de etanol. El ácido pirúvico se convierte en acetaldehído por la piruvato descarboxilasa, y a continuación el acetaldehído se convierte en etanol por la alcohol deshidrogenasa. Es decir, debido a que el ácido pirúvico se utiliza como materia prima de la fermentación de etanol, con el fin de aumentar una cantidad de ácido oxaloacético producido, no sólo es necesario mejorar la actividad de PCK y PYC, sino también la inhibición de la fermentación de etanol.

[0030] En el transformante según la presente invención, se incorpora al menos uno de los genes extraños que incluyen el gen PCK y el gen PYC. Además, en el transformante según la presente invención, al menos una de la actividad de PCK y la actividad de PYC se mejora, algunos o los genes en un grupo de genes codificantes de la piruvato descarboxilasa se han sometido a eliminación o desactivación y se reduce la eficiencia de fermentación de etanol.

[0031] Es decir, en el transformante según la presente invención, se inhibe la fermentación de etanol y se aumenta una cantidad de ácido pirúvico utilizable como matriz de PYC. Por lo tanto, el transformante tiene una excelente capacidad de producción de ácido oxaloacético y una excelente capacidad de producción de otros ácidos dicarboxílicos C4 sintetizados a partir de ácido oxaloacético.

[0032] En *S. pombe* de tipo salvaje, a través de una vía en la que el ácido pirúvico aeróbico se convierte en acetil CoA, ácido cítrico, ácido succínico y similares, el ácido málico se produce a través de la hidratación del ácido fumárico mediante la fumarato deshidratasa. El ácido oxaloacético es producido por la PYC anaeróbica, y el ácido málico se produce a partir del ácido oxaloacético por la malato deshidrogenasa (MDH). En el transformante según la presente invención, se aumenta una cantidad de ácido oxaloacético producido. Por lo tanto, el transformante también tiene una excelente capacidad de producción de ácido málico.

[0033] En el transformante según la presente invención, al menos un gen PCK o al menos un gen PYC debe introducirse como un gen extraño. El número de genes PYC a introducir no se limita a 1 y puede ser igual o superior a 2. Cuantos más genes extraños se introduzcan, mayor será la actividad de PYC del transformante obtenido.

[0034] En un caso en el que se introducen 2 o más genes PYC, se pueden introducir genes PYC del mismo tipo o se pueden introducir dos o más tipos de genes PYC. De manera similar, en el transformante según la presente invención, se puede introducir 1 gen PCK o se pueden introducir 2 o más genes PCK del mismo tipo o tipos diferentes.

[0035] Para provocar que el transformante según la presente invención tenga una capacidad de producción de ácido málico particularmente alta, es preferible inhibir la descomposición de ácido málico mediante la mejora de la actividad de MDH.

[0036] Específicamente, es preferible un transformante que se obtiene mediante la incorporación de al menos uno de los genes extraños que incluyen un gen PCK y un gen PYC y uno o más genes MDH extraños en *S. pombe* como hospedador, y en el que algunos de los genes en un grupo de genes codificantes de la piruvato descarboxilasa y genes de la enzima málica se han sometido a eliminación o desactivación. El transformante mencionado anteriormente es un transformante en el que se incorporan genes extraños tales como al menos el gen PCK o el gen PYC y los genes MDH, y en el que al menos la actividad de PCK o la actividad de PYC y la actividad de MDH se mejoran, algunos de los genes en un grupo de genes codificantes de la piruvato descarboxilasa se han sometido a eliminación o desactivación, y se reduce la eficiencia de fermentación de etanol. Es decir, en el transformante, la fermentación de ácido málico se acelera mientras que la fermentación de etanol se inhibe. Por lo tanto, el transformante tiene una excelente capacidad de producción de ácido málico.

[0037] En un caso en el que al menos 1 gen MDH se introduce como un gen extraño en el transformante según la presente invención, 1 gen MDH o 2 o más genes MDH del mismo tipo o tipos diferentes se pueden introducir en el

transformante según la presente invención.

[0038] Es preferible que al menos 1 gen PCK, al menos 1 gen PYC y al menos 1 gen MDH se introduzcan como genes extraños en el transformante según la presente invención. Mediante la incorporación de genes extraños
5 tales como el gen PCK, el gen PYC y el gen MDH, la capacidad de producción de ácido málico mejora aún más.

<*S. pombe*>

[0039] *S. pombe* utilizado como hospedador es la levadura (levadura de fisión) del género
10 *Schizosaccharomyces* y es un microorganismo que tiene una resistencia ácida particularmente excelente en comparación con otras levaduras. Debido a que *S. pombe* tiene inherentemente un gen mae1 (transportador de ácido dicarboxílico C4), incluso en un caso en el que se aumenta una cantidad de ácido dicarboxílico C4 producido en las células microbianas, se inhibe que un exceso de ácido dicarboxílico C4 afecte el crecimiento o similares de las células microbianas. Por lo tanto, en comparación con otras levaduras que no tienen el gen Mae1, tales como *Saccharomyces*
15 *cerevisiae*, *S. pombe* es adecuado para producir un ácido dicarboxílico C4.

[0040] Toda la secuencia de bases de un cromosoma de *S. pombe* ha sido publicada al aparecer como "Schizosaccharomyces pombe Gene DB (<http://www.genedb.org/genedb/pombe/>)" en la base de datos "Gene DB" del Instituto Sanger. Los datos de secuencia génica de *S. pombe* descritos en la presente memoria descriptiva se pueden
20 obtener mediante la búsqueda por el nombre del gen o el nombre de la cepa mencionado anteriormente a partir de la base de datos descrita anteriormente.

<Gen codificante de la piruvato descarboxilasa>

[0041] El grupo de genes codificantes de la piruvato descarboxilasa (genes de la piruvato descarboxilasa, denominados en lo sucesivo también "genes PDC") en *S. pombe* consiste en 4 tipos de genes que incluyen un gen que codifica la piruvato descarboxilasa 1 (denominado en lo sucesivo "gen PDC1"), un gen que codifica la piruvato
25 descarboxilasa 2 (denominado en lo sucesivo "gen PDC2"), un gen que codifica la piruvato descarboxilasa 3 (denominado en lo sucesivo "gen PDC3") y un gen que codifica de la piruvato descarboxilasa 4 (denominado en lo sucesivo "gen PDC4"). Entre ellos, el gen PDC2 y el
30

gen PDC4 son genes PDC que desempeñan un papel funcional clave en *S. pombe*.

[0042] El nombre de la cepa de cada uno de los genes PDC es el siguiente.

35 Gen PDC1 (pdc1); SPAC13A11. 06
Gen PDC2 (pdc2); SPAC1F8. 07c
Gen PDC3 (pdc3); SPAC186. 09
40 Gen PDC4 (pdc4); SPAC3G9. 11c

[0043] Los datos de la secuencia génica de PDC se pueden obtener a través de la búsqueda por el nombre del gen o el nombre de la cepa de la base de datos de genes de *S. pombe* mencionada anteriormente.

[0044] El transformante según la presente invención tiene un cromosoma en el que algunos de los genes en
45 un grupo de genes codificantes de la piruvato descarboxilasa se han sometido a eliminación o desactivación. Debido a la eliminación o desactivación de algunos de los genes en el grupo de genes PDC del transformante, se reduce la eficiencia de fermentación de etanol del transformante y disminuye la cantidad de ácido pirúvico que se convertirá en etanol. Por lo tanto, se mejora la productividad de un ácido dicarboxílico C4 que incluye ácido málico. Aquí, si el grupo de genes PDC se elimina totalmente o se desactiva, la fermentación de etanol no se realiza en absoluto, y el
50 crecimiento del transformante se inhibe. En consecuencia, sólo algunos de los genes en el grupo de genes PDC deben ser eliminados o desactivados.

[0045] Los genes PDC que se eliminarán o desactivarán son particularmente preferentemente genes PDC2. Los genes PDC2 son genes PDC que particularmente desempeñan un papel funcional clave. Una secuencia de
55 aminoácidos de PDC2 (SpoPDC2) codificada por los genes PDC2 de *S. pombe* está representada por la SEQ ID NO:22.

[0046] Como se describió anteriormente, si todos los genes PDC se eliminan o desactivan, el transformante no realiza la fermentación de etanol y, por lo tanto, se dificulta el crecimiento del transformante. Por lo tanto, la eliminación
60 o desactivación de los genes PDC debe realizarse manteniendo una capacidad de fermentación de etanol necesaria para el crecimiento con el fin de obtener una cantidad suficiente de transformante y simultáneamente disminuyendo la capacidad de fermentación de etanol con el fin de mejorar la eficiencia de fermentación de un ácido dicarboxílico C4.

[0047] Para eliminar o desactivar los genes PDC como se describió anteriormente, los inventores de la presente
65 invención llevaron a cabo una investigación. Como resultado, descubrieron que si los genes PDC2 se eliminan o

desactivan, los genes PDC4 se activan en cierta medida, y la capacidad de fermentación de etanol suficiente para obtener una cantidad suficiente de transformante y la producción de un ácido dicarboxílico C4 con alta eficiencia de fermentación se puede lograr simultáneamente.

5 <Gen de la enzima málica>

[0048] Un gen codificante de la enzima málica (gen de la enzima málica, denominado en lo sucesivo también "gen mae") en *S. pombe* es un gen que codifica la enzima málica 2 (denominado en lo sucesivo "gen mae2"). El nombre de la cepa del gen mae2 es el siguiente.

10

Gen mae2 (mae2); SPCC794. 12c

[0049] Los datos de la secuencia génica de mae2 se pueden obtener a través de la búsqueda por el nombre del gen o el nombre de la cepa de la base de datos de genes de *S. pombe* mencionada anteriormente. Una secuencia de aminoácidos de mae2 (Spomae2) codificada por el gen mae2 de *S. pombe* está representada por la SEQ ID NO:23.

15

[0050] En la *S. pombe*, de tipo salvaje, algunos de los ácidos málicos producidos se convierten en ácido pirúvico por mae2. En el transformante según la presente invención en el que el gen mae2 se ha sometido a eliminación o desactivación, el ácido málico producido en el transformante no se convierte en ácido pirúvico y, por lo tanto, la cantidad de ácido málico producido aumenta significativamente.

20

<Eliminación o desactivación del gen>

[0051] La eliminación o desactivación de los genes PDC y los genes mae2 se puede realizar mediante un procedimiento conocido. Por ejemplo, utilizando un procedimiento de Latour (descrito en la revista Nucleic Acids Research, 2006, vol. 34, p. e11, la publicación internacional PCT n.º WO2007/063919 y similares), los genes PDC y similares se pueden eliminar.

25

[0052] Además, a través de la eliminación, inserción, sustitución o adición inducida en una porción de una secuencia de bases de los genes PDC y similares, los genes PDC y similares se pueden desactivar. Solo se puede inducir una de las mutaciones que incluyen eliminación, inserción, sustitución y adición, o se pueden inducir dos o más mutaciones entre las anteriores.

30

[0053] Como procedimiento para introducir la mutación en una porción de los genes PDC y similares, se puede usar un procedimiento conocido.

35

[0054] Por ejemplo, se puede usar un procedimiento de separación por mutación usando un mutágeno (Experimental Method of Yeast Molecular Genetics, 1996, Gakkai Shuppan Center) y un procedimiento de mutación aleatoria usando una reacción en cadena de la polimerasa (RCP) (la revista PCR Methods Application, vol. 2, págs. 28-33, 1992).

40

[0055] Los genes PDC que portan la mutación introducida en una porción de los mismos pueden ser genes que expresan piruvato descarboxilasa tipo mutante sensible a la temperatura. La piruvato descarboxilasa mutante sensible a la temperatura es una enzima que muestra actividad equivalente a la actividad de la piruvato descarboxilasa de tipo salvaje a una temperatura de cultivo determinada, pero experimenta la pérdida o el deterioro de la actividad a una temperatura igual o superior a una temperatura de cultivo específica.

45

[0056] Una cepa mutante que expresa la piruvato descarboxilasa de tipo mutante se puede obtener seleccionándose de cepas cuya tasa de crecimiento es equivalente a la tasa de crecimiento de la levadura de tipo salvaje en las condiciones en las que la actividad no está limitada por la temperatura, pero que se reduce en gran medida en condiciones de temperatura específicas en las que la actividad está limitada.

50

[0057] De manera similar, los genes mae2 que portan la mutación introducida en una porción de los mismos pueden ser genes que expresan mae2 de tipo mutante sensible a la temperatura.

55

[0058] La eliminación o desactivación de genes no significa sólo la eliminación o desactivación de genes estructurales. No sólo un caso en el que se eliminan genes estructurales, sino también un caso en el que incluso si una proteína está codificada por un gen estructural y el gen estructural se expresa, la proteína no es una enzima que tiene actividad significa que los genes están desactivados.

60

[0059] En un caso en el que incluso si un dominio estructural de un gen codifica una enzima que tiene actividad, una proteína del dominio estructural del gen no se expresa debido a la eliminación de genes que codifican un dominio regulador o la mutación de la secuencia de los genes, significa que los genes se "eliminan o desactivan". Por lo tanto, los genes PDC o los genes mae2 que se eliminarán o desactivarán pueden ser uno o ambos de un dominio estructural y un dominio regulador de los genes PDC o los genes mae2.

65

<Gen PYC>

[0060] Los genes PYC introducidos como genes extraños en el transformante según la presente invención deben ser genes estructurales que puedan expresar una proteína que realiza actividad de PYC en un caso en el que los genes estructurales se introducen en *S. pombe* y pueden derivarse de cualquiera de las bioespecies.

[0061] Los ejemplos de PYC codificada por los genes PYC introducidos como genes extraños incluyen PYC derivada de *Aspergillus niger* (AniPYC) (n.º de ac.: CAC19838. 1.) (SEQ ID NO:1), PYC derivada de *Brevibacillus brevis* (BbrPYC) (SEQ ID NO:2), PYC derivada de *Debaryomyces hansenii* (DhaPYC) (n.º de ac.: CAG86153. 2.) (SEQ ID NO:3), PYC derivada de *Kluyveromyces lactis* (KlaPYC) (SEQ ID NO:4), PYC derivada de *Lachancea thermotolerans* (LthPYC) (SEQ ID NO:5), PYC derivada de *Lodderomyces elongisporus* (LeIPYC) (SEQ ID NO:6), PYC derivada de *Saccharomyces cerevisiae* (ScePYC) (SEQ ID NO:7), PYC derivada de *Candida orthopsilosis* (CorPYC) (n.º de ac.: CCG23801. 1.) (SEQ ID NO:8), PYC derivada de *Candida tropicalis* (CtrPYC) (n.º de ac.: EER35520. 1.) (SEQ ID NO:9), PYC derivada de *Naumovozyma castellii* (NcaPYC) (n.º de ac.: CCC71457. 1.) (SEQ ID NO:10), PYC derivada de *Naumovozyma dairenensis* (NdaPYC) (n.º de ac.: CCD26740. 1.) (SEQ ID NO:11), PYC derivada de *Saccharomyces kudriavzevii* (SkuPYC) (n.º de ac.: EJT41260. 1.) (SEQ ID NO:12), PYC derivada de *S. pombe* (SpoPYC) (n.º de ac.: BAA11239. 1., CAB52809. 1.) (SEQ ID NO:13), PYC derivada de *Tetrapisispora blattae* (TbiPYC) (n.º de ac.: CCH58779. 1.) (SEQ ID NO: 14), PYC derivada de *Torulaspora delbrueckii* (TdePYC) (n.º de ac.: CCE93722. 1.) (SEQ ID NO: 15), Y PYC derivada de *Zygosaccharomyces rouxii* (ZroPYC) (n.º de ac.: CAR26934. 1.) (SEQ ID NO:16).

[0062] Los genes PYC pueden ser genes que codifican un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos obtenida mediante la sustitución, adición o eliminación de uno o una pluralidad de aminoácidos en secuencias de aminoácidos (SEQ ID NO:1 a 16) de las PYC anteriores y tiene actividad de PYC.

[0063] Los genes PYC pueden ser genes que codifican un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia igual o superior al 80 %, preferentemente igual o superior al 85 %, más preferentemente igual o superior al 90 %, e incluso más preferentemente igual o superior al 95 % con las secuencias de aminoácidos (SEQ ID NO:1 a 16) de las PYC anteriores y tiene actividad de PYC.

[0064] En la memoria descriptiva de la presente solicitud, "n.º de ac." significa un número de acceso de una base de datos GenBank of National Center for Biotechnology Information (NCBI).

[0065] En la presente invención y la memoria descriptiva de la presente solicitud, "pluralidad de aminoácidos" significan de 2 a 20 aminoácidos y son preferentemente de 2 a 10 aminoácidos.

[0066] Los genes PYC introducidos en el transformante según la presente invención son preferentemente genes que codifican PYC que es la misma que BbrPYC, KlaPYC, LeIPYC, ScePYC, SpoPYC o TbiPYC o tiene una secuencia de aminoácidos similar a la de las PYC anteriores.

[0067] Específicamente, los genes PYC son preferentemente genes que codifican un polipéptido que incluye secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NO:2, 4 a 7 y 12 a 14, un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos obtenida mediante la sustitución, adición o eliminación de uno o una pluralidad de aminoácidos en secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NO:2, 4 a 7 y 12 a 14 y tiene actividad de PYC, o un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia igual o superior al 80 % con secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NO:2, 4 a 7 y 12 a 14 y tiene actividad de PYC.

[0068] Los genes PYC son más preferentemente un polipéptido que está representado por la SEQ ID NO:7, un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos obtenida mediante la sustitución, adición o eliminación de uno o una pluralidad de aminoácidos en una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO: 7 y tiene actividad de PYC, o un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia igual o superior al 80 % con una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO:7 y tiene actividad de PYC. Los genes PYC son incluso más preferentemente un polipéptido que está representado por la SEQ ID NO:7 o un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos obtenida mediante la sustitución, adición o eliminación de uno o una pluralidad de aminoácidos en una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO 7 y tiene actividad de PYC. <Gen MDH>

[0069] Los genes MDH introducidos como genes extraños en el transformante según la presente invención deben ser genes estructurales que puedan expresar una proteína que realiza actividad de MDH en un caso en el que los genes estructurales se introducen en *S. pombe* y pueden derivarse de cualquier bioespecie.

[0070] Los ejemplos de MDH codificada por los genes MDH introducidos como genes extraños incluyen MDH derivada de *Archaeoglobus fulgidus* (AfuMDH) (SEQ ID NO:17), MDH derivada de *Congregibacter litoralis* (CliMDH)

(SEQ ID NO:18), MDH derivada de *Delftia acidovorans* (DacMDH) (SEQ ID NO:19), MDH derivada de *Halomonas elongata* (HelMDH) (SEQ ID NO:20) y MDH derivada de *Shewanella putrefaciens* (SpuMDH) (SEQ ID NO:21).

[0071] Los genes MDH pueden ser genes que codifican un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos obtenida mediante la sustitución, adición o eliminación de uno o una pluralidad de aminoácidos en secuencias de aminoácidos (SEQ ID NO:17 a 21) de las MDH anteriores y tiene actividad de MDH. Además, los genes MDH pueden ser genes que codifican un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia igual o superior al 80 %, preferentemente igual o superior al 85 %, más preferentemente igual o superior al 90 %, e incluso más preferentemente igual o superior al 95 % con secuencias de aminoácidos (SEQ ID NO:17 a 21) de las MDH anteriores y tiene actividad de MDH.

[0072] Los genes MDH introducidos en el transformante según la presente invención son preferentemente genes que codifican MDH que es la misma que CliMDH, DacMDH o HelMDH o tiene una secuencia de aminoácidos similar a la de las MDH anteriores.

[0073] Específicamente, los genes MDH son preferentemente genes que codifican un polipéptido que incluye secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NO:18 a 20, un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos obtenida mediante la sustitución, adición o eliminación de uno o una pluralidad de aminoácidos en secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NO:18 a 20 y tiene actividad de MDH, o un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia igual o superior al 80 % con secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NO:18 a 20 y tiene actividad de MDH.

[0074] Los genes de MDH son más preferentemente genes que codifican un polipéptido representado por la SEQ ID NO:19, un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos obtenida mediante la sustitución, adición o eliminación de uno o una pluralidad de aminoácidos en una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO:19 y tiene actividad de MDH, o un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia igual o superior al 80 % con una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO:19 y tiene actividad de MDH. Los genes de MDH son incluso más preferentemente un polipéptido representado por la SEQ ID NO:19 o un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos obtenida mediante la sustitución, adición o eliminación de uno o una pluralidad de aminoácidos en una secuencia de aminoácidos representada por la SEQ ID NO:19 y tiene actividad de MDH.

<Genes PCK>

[0075] Los genes PCK introducidos como genes extraños en el transformante según la presente invención deben ser genes estructurales que pueden expresar una proteína que realiza actividad de PCK en un caso en el que los genes estructurales se introducen en *S. pombe* y pueden derivar de cualquier bioespecie.

[0076] Los ejemplos de PCK codificada por los genes PCK introducidos como genes extraños incluyen PCK derivada de *Candida glabrata* (CglPCK) (n.º de ac. : CAG60017. 1) (SEQ ID NO:94), PCK derivada de *Citrobacter koseri* (CkoPCK) (n.º de ac. : KGY18702. 1) (SEQ ID NO:95), PCK derivada de *Cronobacter sakazakii* (CsaPCK) (n.º de ac. : EGL73852. 1) (SEQ ID NO:96), PCK derivada de *Debaryomyces hansenii* (DhaPCK) (n.º de ac. : CAG88379. 1) (SEQ ID NO:97), PCK derivada de *Escherichia fergusonii* (EfePCK) (n.º de ac. : EGC96802. 1) (SEQ ID NO:98), PCK derivada de *Edwardsiella tarda* (EtaPCK) (n.º de ac. : GAC66070. 1) (SEQ ID NO:99), PCK derivada de *Kluyveromyces lactis* (KlaPCK) (n.º de ac. : AAC27661. 1) (SEQ ID NO:100), PCK derivada de *Lodderomyces elongisporus* (LeiPCK) (n.º de ac. : EDK41877. 1) (SEQ ID NO:101), PCK derivada de *Pectobacterium carotovorum* (PcaPCK) (n.º de ac. : ACT14911. 1) (SEQ ID NO:102), PCK derivada de *Photobacterium leiognathi* (PlePCK) (n.º de ac. : GAA03015. 1) (SEQ ID NO:103), PCK derivada de *Providencia rettgeri* (PrePCK) (n.º de ac. : EFE52670. 1) (SEQ ID NO:104), PCK derivada de *Saccharomyces cerevisiae* (ScePCK) (n.º de ac. : CAA31488. 1) (SEQ ID NO:105), PCK derivada de *Serratia odorifera* (SodPCK) (n.º de ac. : EFE97343. 1) (SEQ ID NO:106), PCK derivada de *Vanderwaltozyma polyspora* (VpoPCK) (n.º de ac. : EDO17884. 1) (SEQ ID NO:108), PCK derivada de *Vibrio tubiashii* (VtuPCK) (n.º de ac. : EIF04922. 1) (SEQ ID NO:109), PCK derivada de *Yersinia bercovieri* (YbePCK) (n.º de ac. : EEQ07887. 1) (SEQ ID NO:110), PCK derivada de *Yarrowia lipolytica* (YliPCK) (n.º de ac. : CAG82248. 1) (SEQ ID NO:111), PCK derivada de *Yersinia rohdei* (YroPCK) (n.º de ac. : AJJ11585. 1) (SEQ ID NO:112), y PCK derivada de *Zygosaccharomyces rouxii* (ZroPCK) (n.º de ac. : CAR26716. 1) (SEQ ID NO:113).

[0077] Los genes de PCK pueden ser genes que codifican un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos obtenida mediante la sustitución, adición o eliminación de uno o una pluralidad de aminoácidos en secuencias de aminoácidos (SEQ ID NO:94 a 113) de las PCK anteriores y tiene actividad de PCK. Además, los genes PCK pueden ser genes que codifican un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia igual o superior al 80 %, preferentemente igual o superior al 85 %, más preferentemente igual o superior al 90 % e incluso más preferentemente igual o superior al 95 % con secuencias de aminoácidos (SEQ ID NO:94 a 113) de las PCK anteriores y tiene actividad de PCK.

[0078] Dado que PCK, PYC y MDH tienen alta actividad, se conocen la PCK derivada de *Escherichia coli* (EcoPCK) (n.º de ac.: AAA58200. 1) (SEQ ID NO:154), la PYC derivada de *Gallus gallus* (GgIPYC) (n.º de ac.: AAM92771. 1.) (SEQ ID NO:155), y la MDH derivada de *Escherichia coli* (EcoMDH) (n.º de ac.: AAA58038. 1) (SEQ ID NO:156).

5

[Fabricación del transformante]

[0079] El transformante según la presente invención se obtiene mediante el uso de *S. pombe*, en el que algunos de los genes en un grupo de genes PDC se han sometido a eliminación o desactivación, como hospedador e introduciendo al menos uno de los genes extraños que incluyen un gen PCK y un gen PYC en el hospedador mediante un procedimiento de ingeniería genética. Además, el transformante según la presente invención también se puede obtener mediante la eliminación o desactivación de algunos de los genes en un grupo de genes PDC de un transformante que se obtiene mediante la introducción de al menos uno de los genes extraños que incluyen un gen PCK y un gen PYC en *S. pombe* utilizado como hospedador mediante un procedimiento de ingeniería genética.

15

[0080] El transformante según la presente invención en el que se introducen genes MDH extraños y en el que los genes mae2 se han sometido a eliminación o similares puede obtenerse mediante el uso de *S. pombe*, en el que algunos de los genes en un grupo de genes PDC se han sometido a eliminación o desactivación, como hospedador, introduciendo al menos uno de los genes extraños que incluyen un gen PCK y un gen PYC y al menos un gen MDH extraño en el hospedador mediante un procedimiento de ingeniería genética, y eliminando o desactivando un gen mae2 del hospedador.

20

[0081] Además, *S. pombe* en el que algunos de los genes en un grupo de genes PDC se han sometido a eliminación o desactivación puede utilizarse como hospedador, un gen mae2 del hospedador puede eliminarse o desactivarse y a continuación al menos uno de los genes extraños que incluyen un gen PCK y un gen PYC y al menos un gen MDH extraño puede incorporarse al hospedador mediante un procedimiento de ingeniería genética.

25

[0082] Además, el transformante según la presente invención también se puede obtener mediante la eliminación o desactivación de algunos de los genes en un grupo de genes PDC y un gen mae2 de un transformante que se obtiene mediante la introducción de al menos uno de los genes extraños que incluyen un gen PCK y un gen PYC y al menos un gen MDH extraño en *S. pombe* utilizado como hospedador mediante un procedimiento de ingeniería genética. En un caso en el que se introduce una pluralidad de genes extraños, todos los genes extraños pueden introducirse en el hospedador al mismo tiempo o introducirse secuencialmente en el hospedador (en orden aleatorio).

35

[0083] El procedimiento para fabricar el transformante se describirá en función, por ejemplo, de un procedimiento de uso de *S. pombe*, en el que algunos de los genes en un grupo de genes PDC se han sometido a eliminación o desactivación, como hospedador, introduciendo un gen PYC y un gen MDH en el hospedador, y a continuación eliminando o desactivando un gen mae2.

40

<Hospedador>

[0084] La *S. pombe* utilizada como hospedador puede ser un tipo salvaje o un tipo mutante en el que genes específicos se han sometido a eliminación o desactivación según la finalidad. Como un procedimiento para eliminar o desactivar los genes específicos, se puede usar un procedimiento conocido. Específicamente, mediante el uso del procedimiento de Latour descrito anteriormente, los genes se pueden eliminar.

45

[0085] Además, mediante un procedimiento de separación por mutación que utiliza un mutágeno (Experimental Method of Yeast Molecular Genetics, 1996, Gakkai Shuppan Center), un procedimiento de mutación aleatoria que utiliza RCP (la revista PCR Methods Application, vol. 2, págs. 28-33, 1992) y similares, se introduce una mutación en algunos de los genes, desactivando así los genes. El hospedador de levadura del género *Schizosaccharomyces* en el que se han eliminado o desactivado genes específicos se describe, por ejemplo, en la publicación internacional PCT n.º WO2002/101038 y la publicación internacional PCT n.º WO2007/015470.

50

[0086] La porción en la que se realiza la eliminación o desactivación de genes específicos puede ser una porción de marco de lectura abierto (ORF, por sus siglas en inglés) o una porción de secuencia reguladora de expresión. Es particularmente preferible utilizar un procedimiento de eliminación o desactivación mediante un procedimiento de recombinación homóloga mediado por RCP (la revista Yeast, vol. 14, págs. 943-951, 1998) en el que una porción de ORF de un gen estructural se sustituye con un gen marcador.

60

[0087] Un mutante en el que los genes PDC se han sometido a eliminación o desactivación puede usarse preferentemente como hospedador para fabricar el transformante según la presente invención. Además, la *S. pombe*, en la que los genes PDC y genes específicos distintos de los genes PDC se han sometido a eliminación o desactivación, también puede usarse como hospedador. Mediante la eliminación o desactivación de un gen de proteasa y similares, se puede mejorar la eficiencia de expresión de proteínas heterólogas, y si el hospedador obtenido

65

de esta manera se utiliza como hospedador en la presente invención, se podría mejorar la eficiencia de producción de un ácido dicarboxílico C4 tal como ácido málico.

[0088] Como *S. pombe* utiliza como hospedador, es preferible usar aquellos que tienen un marcador para seleccionar un transformante. Por ejemplo, es preferible usar un hospedador que esencialmente requiere un componente nutricional específico para el crecimiento debido a la falta de determinados genes. En un caso en el que un transformante se prepara mediante transformación usando un vector que incluye una secuencia génica diana, si el gen faltante (marcador auxotrófico complementario) se incorpora de antemano en el vector, la auxotrofia del hospedador desaparece en el transformante. Por la diferencia de auxotrofia entre el hospedador y el transformante, es posible hacer una diferenciación entre un hospedador y un transformante y obtener un transformante.

[0089] Por ejemplo, mediante el uso de *S. pombe*, que se convierte en uracilo auxotrófico debido a la eliminación o desactivación de un gen de orotidina fosfato descarboxilasa (gen *ura4*), como hospedador, realizando la transformación utilizando un vector que tiene un gen *ura4* (marcador auxotrófico complementario), y a continuación seleccionando un transformante en el que ha desaparecido la auxotrofia de uracilo, se puede obtener un transformante en el que se incorpora el vector. El gen faltante que hace auxotrófico al hospedador no se limita al gen *ura4* siempre y cuando el gen se pueda usar para seleccionar un transformante, y puede ser un gen de isopropilmalato deshidrogenasa (gen *leu1*) o similar.

[0090] Además, la *S. pombe* en la que un grupo de genes PDC no se han sometido a eliminación o desactivación se puede utilizar como hospedador para la fabricación de un transformante. En este caso, como hospedador, es posible utilizar un hospedador en el que el gen mencionado anteriormente (un marcador auxotrófico, un gen de proteasa o similares) distinto de los genes PDC se ha sometido a eliminación o desactivación. Al fabricar un transformante mediante el uso del hospedador y a continuación eliminar o desactivar algunos de los genes en un grupo de genes PDC del transformante obtenido, se puede obtener el transformante según la presente invención.

<Procedimiento de introducción de genes extraños>

[0091] Como un procedimiento para introducir genes extraños en un hospedador mediante un procedimiento de ingeniería genética, se puede usar un procedimiento conocido. Como un procedimiento en el que se utiliza *S. pombe* como hospedador y se introducen genes estructurales de proteínas heterólogas en el hospedador, por ejemplo, es posible utilizar los procedimientos descritos en la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º H05-15380, la publicación internacional PCT n.º WO95/09914, la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º H10-234375, la solicitud de patente japonesa no examinada, primera Publicación n.º 2000-262284, la solicitud de patente japonesa no examinada, primera Publicación n.º 2005-198612, la publicación internacional PCT n.º WO2011/021629, y similares.

<Casete de expresión>

[0092] Un casete de expresión es una combinación de ADN necesaria para expresar una proteína diana e incluye un gen estructural que codifica la proteína diana y un promotor y un terminador que funcionan en un hospedador. Un casete de expresión utilizado para fabricar el transformante según la presente invención incluye al menos un gen PYC o un gen MDH, así como un promotor y un terminador que funcionan en *S. pombe*.

[0093] El casete de expresión puede incluir uno o más dominios entre un dominio no traducido 5' y un dominio no traducido 3'. Además, el casete puede incluir el marcador auxotrófico complementario mencionado anteriormente. Una pluralidad de genes extraños puede estar presente en un casete de expresión simple. El número de genes extraños en un casete de expresión simple es preferentemente de 1 a 8, y más preferentemente de 1 a 5.

[0094] En un caso en el que se incluye una pluralidad de genes extraños en un casete de expresión simple, el casete puede incluir dos o más tipos de genes extraños. Como casete de expresión, es preferible un casete de expresión que incluye uno o una pluralidad de genes PYC y genes MDH, un promotor, un terminador, un dominio 5' no traducido, un dominio 3' no traducido y un marcador auxotrófico complementario.

[0095] En la fabricación del transformante según la presente invención, los genes PYC y los genes MDH se pueden introducir en el hospedador mediante casetes de expresión diferentes o mediante un casete de expresión simple. Como el casete de expresión que incluye los genes PYC y los genes MDH, por ejemplo, es preferible un casete de expresión que incluye un promotor, genes PYC, una secuencia de escisión, un marcador auxotrófico complementario (por ejemplo, un gen *Ura4*), genes MDH y un terminador desde el lado terminal 5'.

[0096] Como secuencia génica de los genes PYC o los genes MDH incluidos en el casete de expresión, se puede usar un gen codificado por un tipo salvaje tal como está. Para aumentar la cantidad de expresión en *S. pombe* utilizada como hospedador, la secuencia génica del tipo salvaje puede modificarse en un codón utilizado a alta frecuencia en *S. pombe*.

[0097] El promotor y el terminador que funciona en *S. pombe* deben ser capaces de funcionar en un transformante y mantener la expresión de una proteína codificada por genes extraños, incluso si se crea una condición ácida (pH igual o inferior a 6) debido a la acumulación de un ácido dicarboxílico C4 por el transformante según la presente invención. Como el promotor que funciona en *S. pombe*, es posible utilizar un promotor (preferentemente un promotor que tiene actividad de inicio de transcripción elevada) inherente a *S. pombe* o un promotor (tal como un promotor derivado de un virus) que no es inherente a *S. pombe*. En esta invención, dos o más tipos de promotor pueden estar presentes en un vector.

[0098] Los ejemplos del promotor inherente a *S. pombe* incluyen un promotor génico de la alcohol deshidrogenasa, un promotor génico nmt1 involucrado en el metabolismo de la tiamina, el promotor génico de la fructosa-1,6-bisfosfatasa involucrada en el metabolismo de la glucosa, un promotor génico de la invertasa involucrada en la represión por catabolitos (véase la publicación internacional PCT n.º WO99/23223), un promotor génico de la proteína de choque térmico (véase la publicación internacional PCT n.º. WO2007/26617) y similares.

[0099] Los ejemplos del promotor que no es inherente a *S. pombe* incluyen promotores derivados de virus de células animales, descritos en la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º H05-15380, la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º H07-163373, y la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º H10-234375. Como tales promotores, son preferibles un promotor de hCMV y un promotor de SV40.

[0100] Como el terminador que funciona en *S. pombe*, es posible utilizar un terminador inherente a *S. pombe* o un terminador que no es inherente a *S. pombe*. En esta invención, dos o más tipos de terminador pueden estar presentes en un vector.

[0101] Los ejemplos del terminador incluyen terminadores derivados de seres humanos, descritos en la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º H05-15380, la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º H07-163373, y la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º H10-234375. Como tales terminadores, es preferible un terminador de lipocortina I humana.

<Vector>

[0102] El transformante descrito en esta invención tiene un casete de expresión, que incluye genes extraños, en un cromosoma o tiene un casete de expresión como un gen extracromosómico. Tener el casete de expresión en un cromosoma significa un estado en el que el casete de expresión se incorpora en uno o más sitios en un cromosoma de la célula hospedadora. Tener el casete de expresión como un gen extracromosómico significa un estado en el que el transformante tiene un plásmido que incluye el casete de expresión en una célula. El transformante que tiene cada casete de expresión se obtiene transformando *S. pombe* como hospedador mediante el uso de un vector que incluye cada casete de expresión.

[0103] El vector se puede fabricar mediante la incorporación del casete de expresión en un vector que tiene una estructura de ADN cíclico o una estructura de ADN lineal. En un caso en el que se prepara un transformante en el que se retiene el casete de expresión como un gen extracromosómico en una célula hospedadora, el vector es preferentemente un plásmido que incluye una secuencia que se replica en la célula hospedadora, es decir, una secuencia de replicación autónoma (ARS, por sus siglas en inglés).

[0104] Por el contrario, en un caso en el que se prepara un transformante en el que se incorpora el casete de expresión en un cromosoma de una célula hospedadora, el vector es preferentemente un vector que tiene una estructura de ADN lineal, no tiene ARS y se introduce en la célula hospedadora. Por ejemplo, el vector puede ser un vector que consiste en ADN lineal o un vector que tiene una estructura de ADN cíclico que tiene una secuencia de reconocimiento de enzimas de restricción para cortar y abrir el vector en ADN lineal cuando se introduce en el hospedador. En un caso en el que el vector es un plásmido que tiene ARS, se puede establecer una estructura de ADN lineal mediante la eliminación de la porción de ARS o mediante la desactivación de la función de ARS mediante la escisión de la porción de ARS, y a continuación el vector se puede introducir en un hospedador.

[0105] El vector preferentemente tiene un marcador para seleccionar un transformante. Los ejemplos del marcador incluyen un gen *ura4* (marcador auxotrófico complementario) y un gen de la isopropilmalato deshidrogenasa (gen *leu1*).

[0106] Cada gen extraño se introduce preferentemente en un cromosoma de *S. pombe*. Mediante la introducción del gen extraño en el cromosoma, se obtiene un transformante que se mantiene excelentemente estable en un pasaje. Además, se puede introducir una pluralidad de genes extraños en el cromosoma. En el transformante según la presente invención, el número de genes *PYC* incorporados en un cromosoma es preferentemente de 1 a 20 y particularmente preferentemente de 1 a 8. Además, el número de genes *MDH* incorporados en un cromosoma del transformante es preferentemente de 1 a 20 y particularmente preferentemente de 1 a 8.

[0107] Como procedimiento para introducir genes extraños en un cromosoma, se puede usar un procedimiento conocido. Por ejemplo, mediante el procedimiento descrito en la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º 2000-262284, se puede introducir una pluralidad de genes extraños en un cromosoma. Por el mismo procedimiento, se puede introducir un único gen extraño en un cromosoma. Además, como se describirá más adelante, uno o una pluralidad de genes extraños se pueden introducir en una pluralidad de sitios de un cromosoma.

[0108] Como un procedimiento para introducir genes extraños en un cromosoma de *S. pombe*, es preferible un procedimiento en el que los genes extraños se introducen mediante un procedimiento de recombinación homóloga mediante el uso de un vector que tiene un casete de expresión, que tiene los genes extraños, y un sitio de recombinación.

[0109] El sitio de recombinación de un vector es un sitio que tiene una secuencia de bases que puede causar recombinación homóloga con un sitio diana de recombinación homóloga en un cromosoma de *S. pombe*. El sitio diana es un sitio en el que se incorpora un casete de expresión en un cromosoma de *S. pombe*. El sitio diana se puede establecer libremente mediante el diseño de la secuencia de bases del sitio de recombinación del vector de modo que el sitio de recombinación pueda causar recombinación homóloga con el sitio diana.

[0110] La secuencia de bases del sitio de recombinación y la secuencia de bases del sitio diana deben compartir identidad igual o superior al 70 %. Además, en vista de facilitar la aparición de la recombinación homóloga, la identidad compartida entre la secuencia de bases del sitio de recombinación y la secuencia de bases del sitio diana es preferentemente igual o superior al 90 %, y más preferentemente igual o superior al 95 %. Mediante el uso del vector que tiene el sitio de recombinación descrito anteriormente, se puede incorporar un casete de expresión en el sitio diana mediante recombinación homóloga.

[0111] La longitud (número de bases) del sitio de recombinación es preferentemente de 20 pb a 2.000 pb. Si la longitud del sitio de recombinación es igual o superior a 20 pb, se produce fácilmente una recombinación homóloga. Si la longitud del sitio de recombinación es igual o inferior a 2.000 pb, es fácil evitar un caso en el que el vector se hace demasiado largo y, por lo tanto, la recombinación homóloga no se produce fácilmente. La longitud del sitio de recombinación es más preferentemente igual o superior a 100 pb, e incluso más preferentemente igual o superior a 200 pb. Además, la longitud del sitio de recombinación es más preferentemente igual o inferior a 800 pb, e incluso más preferentemente igual o inferior a 400 pb.

[0112] El vector puede tener otros dominios de ADN además del casete de expresión y el sitio de recombinación mencionados anteriormente. Los ejemplos de los dominios de ADN incluyen un dominio de inicio de replicación llamado "ori" que es necesario para la replicación en *E. coli* y un gen de resistencia a antibióticos (un gen de resistencia a neomicina o similares). Estos son genes generalmente necesarios en un caso en el que un vector se construye usando *E. coli*. En este caso, es preferible que el dominio de inicio de replicación se elimine cuando el vector se incorpora en un cromosoma de un hospedador como se describirá más adelante.

[0113] En un caso en el que los genes extraños se incorporan en un cromosoma, el vector preferentemente tiene una estructura de ADN lineal cuando se introduce en una célula de *S. pombe*. Es decir, en un caso en el que el vector tiene una estructura de ADN cíclico tal como ADN de plásmido que se usa generalmente, es preferible que el vector se introduzca en la célula de *S. pombe* después de ser cortado y abierto para volverse lineal por una enzima de restricción.

[0114] En este caso, una posición en la que el vector que tiene una estructura de ADN cíclico se corta y abre se encuentra en el sitio de recombinación. Como resultado, en cada uno de los dos extremos del vector cortado y abierto, el sitio de recombinación está parcialmente presente, y a través de la recombinación homóloga, la totalidad del vector se incorpora en un sitio diana de un cromosoma.

[0115] Siempre que se pueda establecer una estructura lineal de ADN para el vector de manera que una porción del sitio de recombinación esté presente en cada uno de sus dos extremos, el vector se puede construir mediante un procedimiento distinto al procedimiento de cortar y abrir el vector que tiene una estructura cíclica de ADN.

[0116] Como vector, por ejemplo, los plásmidos derivados de *E. coli*, tales como pBR 322, pBR 325, pUC 118, pUC 119, pUC 18 y pUC 19, se pueden usar adecuadamente.

[0117] En este caso, es preferible que un dominio de inicio de replicación llamado "ori" necesario para la replicación en *E. coli* se elimine del vector plásmido utilizado en el momento de la recombinación homóloga. De esta manera, cuando el vector anteriormente mencionado se incorpora en un cromosoma, se puede mejorar la eficiencia de incorporación.

[0118] Un procedimiento para construir un vector, del cual se ha eliminado el dominio de inicio de replicación, no está particularmente limitado, pero es preferible utilizar el procedimiento descrito en la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º 2000-262284. Es decir, es preferible usar un procedimiento para construir de

antemano un vector precursor en el que se inserta un dominio de inicio de replicación en un sitio de escisión en un sitio de recombinación de modo que el vector tenga la estructura de ADN lineal descrita anteriormente y se corte el dominio de inicio de replicación. Mediante este procedimiento, se puede obtener fácilmente un vector del cual se ha eliminado un dominio de inicio de replicación.

5

[0119] Además, también es preferible utilizar un procedimiento en el que se construye un vector precursor que tiene un casete de expresión y un sitio de recombinación mediante el uso del vector de expresión descrito en la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º H05-15380, la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º H07-163373, la publicación internacional PCT n.º WO96/23890, la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º H10-234375, y similares o usando el procedimiento de construcción de los mismos, y un dominio de inicio de replicación se elimina del vector precursor mediante un procedimiento de ingeniería genética general para obtener un vector utilizado para la recombinación homóloga.

10

<Sitio diana>

15

[0120] El sitio diana en el que se incorpora el vector puede estar presente solo en un sitio o dos o más sitios en un cromosoma de *S. pombe*. En un caso en el que dos o más sitios diana están presentes, el vector se incorpora en dos o más sitios de un cromosoma de *S. pombe*. En un caso en el que se incluye una pluralidad de genes extraños en un casete de expresión simple, la pluralidad de genes extraños se puede incorporar en un sitio diana.

20

[0121] Además, mediante el uso de dos o más tipos de vector que tienen un sitio de recombinación correspondiente a cada uno de los sitios diana, el casete de expresión puede incorporarse en dos o más tipos de sitio diana. Mediante este procedimiento, se puede incorporar una pluralidad de genes extraños en un cromosoma de *S. pombe*. Como resultado, se puede aumentar una cantidad de expresión de PYC o MDH codificada por los genes extraños y se puede mejorar la productividad de un ácido dicarboxílico C4.

25

[0122] Por ejemplo, mediante la incorporación de un casete de expresión que incluye un gen PYC en un vector que tiene un primer sitio diana, la incorporación de un casete de expresión que incluye un gen MDH en un vector que tiene un segundo sitio diana, la realización de la transformación mediante el uso de los vectores y *S. pombe*, en la que algunos de los genes en un grupo de genes PDC se han sometido a eliminación o desactivación, como hospedador, y a continuación la eliminación o desactivación de genes *mae2* del transformante obtenido, se obtiene el transformante descrito en esta invención.

30

[0123] En un caso en el que un casete de expresión se incorpora en un sitio diana, por ejemplo, es posible utilizar el sitio diana que se muestra en el procedimiento descrito en la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º 2000-262284. Mediante el uso de dos o más tipos de vector que tienen diferentes sitios de incorporación, los vectores se pueden incorporar en diferentes sitios diana, respectivamente. Sin embargo, el procedimiento anterior es complicado para incorporar vectores en dos o más sitios de un cromosoma.

35

[0124] Siempre que una pluralidad de porciones, que está presente en un cromosoma y tiene secuencias de bases sustancialmente iguales entre sí, se pueden utilizar como sitios diana, y un vector se puede incorporar en cada uno de la pluralidad de sitios diana, el vector se puede incorporar en dos o más sitios en el cromosoma mediante el uso de un tipo de vector.

40

[0125] Las secuencias de bases sustancialmente iguales entre sí significan que las secuencias comparten una identidad igual o superior al 90 %. La identidad compartida entre los sitios diana es preferentemente igual o superior al 95 %. La longitud de cada una de las secuencias de bases sustancialmente iguales entre sí es una longitud que incluye el sitio de recombinación del vector mencionado anteriormente, que es preferentemente igual o mayor que 1.000 pb.

45

50

[0126] En un caso en el que los genes extraños se incorporan en una pluralidad de sitios diana en un estado disperso, incluso si se incorpora el mismo número de genes extraños en los sitios diana, un fenómeno en el que los genes extraños se separan todos a la vez de un cromosoma cuando el transformante crece se produce menos que en un caso en el que una pluralidad de genes extraños se incorpora en un único sitio diana. Por lo tanto, el transformante se mantiene de forma más estable en el pasaje.

55

[0127] Como la pluralidad de sitios diana presentes en un cromosoma, es preferible un gen de transposón Tf2. Tf2 es un gen de transposón presente en un total de 13 sitios en cada cromosoma de triple cadena (monoploide) de *S. pombe*. Se sabe que la longitud (número de bases) de este es de aproximadamente 4.900 pb, y se sabe que la identidad de secuencia de base compartida entre sus genes es de 99,7 % (véanse los siguientes documentos).

60

[0128] Nathan J. Bowen y col, "Retrotransposons and Their Recognition of pol II Promoters: A Comprehensive Survey of the Transposable Elements from the Complete Genome Sequence of *Schizosaccharomyces pombe*", Genome Res. 2003 13: 1984-1997

65

[0129] Es posible incorporar un vector en solo uno de los Tf2 presentes en 13 sitios en un cromosoma. En este caso, mediante la incorporación de un vector que tiene dos o más genes extraños, se puede obtener un transformante que tiene dos o más genes extraños. Además, mediante la incorporación de un vector en dos o más Tf2, se puede obtener un transformante que tiene dos o más genes extraños. En este caso, al incorporar el vector que tiene dos o más genes extraños, se puede obtener un transformante que tiene más genes extraños. Si se incorpora un vector en todos los 13 Tf2, se puede imponer demasiada carga sobre la supervivencia o el crecimiento del transformante. Por lo tanto, el vector se incorpora preferentemente en 8 o menos de los 13 Tf2, y más preferentemente se incorpora en 5 o menos Tf2.

10 <Procedimiento de transformación>

[0130] Como procedimiento de transformación, se puede usar cualquiera de los procedimientos de transformación conocidos. Los ejemplos del procedimiento de transformación incluyen los procedimientos conocidos en la técnica relacionada, tales como un procedimiento de acetato de litio, un procedimiento de electroporación, un procedimiento de esferoplasto y un procedimiento de perla de vidrio, y el procedimiento descrito en la solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación n.º 2005-198612. Además, se pueden usar kits de transformación de levadura disponibles en el mercado.

[0131] Como procedimiento para transformar el hospedador *S. pombe* mediante un procedimiento de recombinación homóloga, se puede usar un procedimiento de recombinación homóloga conocido. Como procedimiento de transformación en el momento de fabricar el transformante según la presente invención, es preferible un procedimiento donde *S. pombe* en la que algunos de los genes en un grupo de genes PDC descritos anteriormente se han sometido a eliminación o desactivación se utiliza como hospedador, y un casete de expresión se incorpora en un cromosoma de *S. pombe* a través de recombinación homóloga mediante el uso del vector descrito anteriormente.

[0132] En el momento de la fabricación del transformante, generalmente, después de realizar la recombinación homóloga, se selecciona el transformante obtenido. Como procedimiento de selección, por ejemplo, se puede usar el siguiente procedimiento. Mediante el uso de un medio que permite seleccionar transformantes mediante el uso del marcador auxotrófico mencionado anteriormente, se lleva a cabo el cribado, seleccionando así una pluralidad de transformantes de la colonia obtenida.

[0133] A continuación, cada uno de los transformantes se somete individualmente a cultivo líquido. Posteriormente, se investiga una cantidad de expresión de una proteína heteróloga en cada solución de cultivo y se seleccionan transformantes que muestran una mayor cantidad de expresión de la proteína heteróloga. A través de un procedimiento de electroforesis en gel de campo de pulso, se realiza un análisis genómico en los transformantes seleccionados y, de esta manera, se investiga el número de vectores o casetes de expresión incorporados en un cromosoma.

[0134] El número de vectores incorporados en un cromosoma se puede ajustar en cierta medida mediante el ajuste de las condiciones de incorporación o similares. Se considera que la eficiencia de incorporación o el número de vectores incorporados pueden variar con el tamaño (número de bases) o la estructura del vector.

[0135] El transformante según la presente invención tiene una capacidad de producción de ácido málico que es mejor que nunca. Una tasa de producción de ácido málico del transformante es preferentemente igual o superior a 2,0 g/(l·h), más preferentemente igual o superior a 5,0 g/(l·h), incluso más preferentemente igual o superior a 10 g/(l·h), y particularmente preferentemente de 15 g/(l·h) a 30 g/(l·h).

[Procedimiento de fabricación de ácido dicarboxílico C4]

[0136] Un procedimiento para fabricar un ácido dicarboxílico C4 según la presente invención incluye cultivar el transformante según la presente invención en una solución de cultivo y obtener un ácido dicarboxílico C4 de la solución de cultivo.

[0137] Mediante el cultivo del transformante según la presente invención en una solución de cultivo que contiene azúcar, se produce ácido oxaloacético a partir del ácido pirúvico obtenido a partir del azúcar mediante un sistema glicolítico con la ayuda de PYC o se produce a partir del ácido fosfoenolpirúvico con la ayuda de PCK. A partir del ácido oxaloacético producido, se produce ácido málico con la ayuda de MDH, y a partir del ácido málico producido, también se producen otros ácidos dicarboxílicos C4.

[0138] Aunque los ácidos dicarboxílicos C4, incluido el ácido málico producido, se acumulan en la célula microbiana, algunos de ellos se liberan a un sobrenadante de cultivo debido a Mae1 (transportador de ácido dicarboxílico C4). Al obtener ácidos dicarboxílicos C4 del transformante cultivado o el sobrenadante de cultivo, es posible fabricar ácidos dicarboxílicos C4. Los ejemplos de ácidos dicarboxílicos C4 fabricados a partir del transformante incluyen ácido oxaloacético, ácido málico, ácido fumárico, ácido succínico y similares, y entre estos, es preferible el ácido oxaloacético o el ácido málico.

[0139] Como la solución de cultivo utilizada para fabricar un ácido dicarboxílico C4, se puede usar un medio de cultivo conocido que contiene azúcar para levadura. Además, el medio de cultivo debe contener una fuente de nitrógeno, sales inorgánicas y similares que *S. pombe* puede utilizar y debe permitir que *S. pombe* se cultive eficientemente. Como solución de cultivo, se puede usar un medio natural o un medio sintético.

[0140] Los ejemplos del azúcar como fuente de carbono incluyen azúcares tales como glucosa, fructosa, sacarosa y maltosa. Los ejemplos de la fuente de nitrógeno incluyen amoníaco, una sal de amonio de un ácido inorgánico u orgánico, tal como cloruro de amonio o acetato de amonio, peptona, casaminoácido, extracto de levadura y similares. Los ejemplos de sales inorgánicas incluyen fosfato de magnesio, sulfato de magnesio, cloruro de sodio y similares. También es posible añadir adicionalmente un factor de aceleración de la fermentación tal como proteolípido.

[0141] En el procedimiento para fabricar un ácido dicarboxílico C4 según la presente invención, es preferible usar una solución de cultivo que contenga particularmente glucosa o sacarosa como azúcar. Una concentración de glucosa o sacarosa en la solución de cultivo (100 % en masa) en la etapa inicial del cultivo es preferentemente igual o superior al 1 % en masa, más preferentemente del 1 % en masa al 50 % en masa, e incluso más preferentemente del 2 % en masa al 16 % en masa. Después de que la concentración de glucosa o la concentración de sacarosa se reduce debido al cultivo, es preferible continuar el cultivo añadiendo glucosa según sea necesario. En la etapa final del cultivo, la concentración de glucosa o similares puede llegar a ser igual o inferior al 1 % en masa.

[0142] En un caso en el que el cultivo continuo se realiza haciendo circular la solución de cultivo en un estado de separación de un ácido dicarboxílico C4, es preferible mantener la concentración de glucosa o similar. Si se establece que la concentración de glucosa es igual o superior al 2 % en masa, la productividad de un ácido dicarboxílico C4 mejora aún más. Además, si se establece que la concentración de glucosa o sacarosa en la solución de cultivo es igual o inferior al 16 % en masa, se mejora aún más la eficiencia de producción de un ácido dicarboxílico C4.

[0143] Para mejorar la productividad de la fabricación de un ácido dicarboxílico C4, es preferible realizar un cultivo de alta densidad. Durante el cultivo de alta densidad, la concentración inicial de células microbianas del transformante en la solución de cultivo, expresada en términos de un peso de células microbianas secas, se establece preferentemente en 0,1 g/l a 100 g/l. La concentración inicial de células microbianas del transformante en la solución de cultivo, expresada en términos de un peso de células microbianas secas, se establece más preferentemente en 20 g/l a 60 g/l. Si se establece que la concentración inicial de células microbianas es alta, se puede lograr una alta productividad en un corto período de tiempo. Además, si la concentración inicial de células microbianas es demasiado alta, puede producirse un problema tal como la agregación de células microbianas o la reducción de la eficiencia de purificación.

[0144] La concentración de células microbianas descrita en los ejemplos y similares, que se describirá más adelante, es un valor convertido a partir de una absorbancia (DO_{660}) de luz que tiene una longitud de onda de 660 nm medida por un espectrómetro ultravioleta visible V550 fabricado por JASCO Corporation. El valor de 1 que es igual a DO_{660} a 660 nm corresponde a un peso seco de 0,2 g y a un peso húmedo de 0,8 g de levadura de fisión.

[0145] Para el cultivo, se puede usar un procedimiento de cultivo de levadura conocido. Por ejemplo, se puede realizar cultivo de agitación o cultivo de agitación.

[0146] La temperatura de cultivo es preferentemente de 23 °C a 37 °C, y el tiempo de cultivo se puede determinar adecuadamente.

[0147] El cultivo puede ser cultivo por lotes o cultivo continuo. Por ejemplo, después de que se realiza el cultivo por lotes, al separar las células microbianas de la solución de cultivo, se puede obtener una solución de cultivo que contiene un ácido dicarboxílico C4. Además, los ejemplos del procedimiento de cultivo continuo incluyen un procedimiento para realizar de forma continua el cultivo mediante la repetición de un procedimiento para extraer una parte de la solución de cultivo de un tanque de cultivo en el que se realiza el cultivo, separar un ácido dicarboxílico C4 de la solución de cultivo tomada y recuperar el sobrenadante de cultivo, agregar glucosa o una nueva solución de cultivo al sobrenadante de cultivo y devolver el sobrenadante de cultivo al tanque de cultivo. Al realizar el cultivo continuo, la productividad de un ácido dicarboxílico C4 mejora aún más.

[0148] El transformante según la presente invención tiene una resistencia ácida particularmente excelente. Por lo tanto, incluso a un pH bajo (aproximadamente pH 2 a 4) resultante de la acumulación de un ácido dicarboxílico C4, el transformante puede producir

un ácido dicarboxílico C4 sin ser sometido a neutralización. Por consiguiente, incluso después de que el pH de la solución de cultivo resulte igual o inferior a 3,5, es posible fabricar un ácido dicarboxílico C4 mediante cultivo continuo en el que se continúa el cultivo. El pH de la última etapa del cultivo y el pH durante el cultivo continuo son preferentemente iguales o inferiores a 3,5 y particularmente preferentemente de 2,3 a 3,5. En algunos casos, el cultivo

se puede terminar antes de que el pH de la solución de cultivo sea igual o inferior a 3,5.

[0149] Se puede obtener un ácido dicarboxílico C4 de la solución de cultivo mediante un procedimiento conocido. Los ejemplos del procedimiento incluyen un procedimiento en el que las células microbianas se separan por centrifugación de la solución de cultivo después del final del cultivo, y se extrae un ácido dicarboxílico C4 usando éter dietílico o acetato de etilo después de que el pH resulte igual o menor que 1; un procedimiento en el que la solución de cultivo se absorbe en una resina de intercambio iónico y se lava, y a continuación se eluye un ácido dicarboxílico C4; un procedimiento en el que las impurezas se eliminan usando carbón activado; un procedimiento en el que la solución de cultivo se hace reaccionar con alcohol en presencia de un catalizador ácido y a continuación se somete a destilación; y un procedimiento en el que un ácido dicarboxílico C4 se separa usando una membrana de separación.

[0150] Además, en algunos casos, al neutralizar un ácido dicarboxílico C4 en la solución de cultivo y a continuación separar una sal de ácido dicarboxílico C4 de la solución de cultivo, se puede obtener un ácido dicarboxílico C4. Por ejemplo, mediante un procedimiento para convertir un ácido dicarboxílico C4 en la solución de cultivo en una sal de calcio o una sal de litio y cristalizar la sal neutralizada, también se puede obtener un ácido dicarboxílico C4.

[0151] El procedimiento para fabricar un ácido dicarboxílico C4 según la presente invención descrito anteriormente hace posible fabricar un ácido dicarboxílico C4 con alta productividad de una manera simple mediante el uso de un transformante que utiliza *S. pombe* como hospedador. Según el procedimiento de fabricación, una tasa de producción de un ácido dicarboxílico C4 resulte fácilmente igual o superior a 5 g/l/h y, en algunos casos, la tasa de producción de un ácido dicarboxílico C4 resulte igual o superior a 15 g/l/h. El procedimiento para fabricar un ácido dicarboxílico C4 según la presente invención también es adecuado para un cultivo de alta densidad que se realiza en presencia de glucosa de alta concentración mediante el uso de un transformante de alta concentración.

[Ejemplos]

[0152] En lo sucesivo, la presente invención se describirá específicamente al mostrar ejemplos y ejemplos comparativos. En los presentes ejemplos, a menos que se especifique lo contrario, "%" significa "% en masa".

<Preparación de la cepa de eliminación del gen PDC2 de *S. pombe*>

[0153] Una cepa ARC019 auxotrófica de uracilo de *S. pombe* (genotipo: *h⁻*, *leu1-32*, *ura4-D18*, *Ade6-M216*) (nombre de la cepa: JY741, NBRPID: FY7512) se transformó según un procedimiento de Latour (descrito en la revista *Nucleic Acids Research*, 2006, vol. 34, p. e11 y la publicación internacional PCT n.º WO2007/063919), preparando así una cepa de eliminación (cepa IGF836) de la que se eliminaron los genes PDC2 (nombre de la cepa: SPAC1F8. 07c).

[0154] Para preparar un fragmento de eliminación, se utilizó como plantilla el ADN genómico total preparado a partir de una cepa ARC032 de *S. pombe* (genotipo: *h⁻*) (véase la publicación internacional PCT n.º WO2007/015470) mediante el uso de DNeasy (fabricado por QUIAGEN), y se utilizaron 8 tipos de ADN oligo sintético (fabricado por Operon Biotechnologies) que tienen las secuencias de bases mostradas en la tabla 1.

[Tabla 1]

ADN de oligo	ADN de oligo para preparar el fragmento de eliminación de <i>pdc2</i> Secuencia de bases	SEQ. ID. NO
UF	5' - CTCTCCAGCTCCATCCATAAG - 3'	24
UR	5' - GACACAACCTTCCTACCAAAAAGCCTTTCTGCCCCATGTTTTCTGTC - 3'	25
OF	5' - GCTTTTTTGGTAGGAAGTTGTGTC - 3'	26
OR	5' - AGTGGGATTTGTAGCTAAGCTGTATCCATTTAGCCGTTTGTG - 3'	27
DF	5' - AAGTTTCGTCAATATCACAAGCTGACAGAAAACATGGGCAGAAAG - 3'	28
DR	5' - GTTCCTTAGAAAAAGCAACTTTGG - 3'	29
FF	5' - CATAAGCTTGCCACCACTTC - 3'	30
FR	5' - GAAAAAGCAACTTTGGTATTCTGC - 3'	31

[0155] Específicamente, mediante un procedimiento RCP usando KOD-Dash (fabricado por TOYOBO CO., LTD.), se preparó un dominio UP usando UF y UR, se preparó un dominio OL usando OF y OR, y se preparó un dominio DN usando DF y DR. A continuación, mediante el uso de estos como plantillas, se preparó un fragmento de eliminación de longitud completa mediante el mismo procedimiento de RCP usando FF y FR respectivamente. En el momento de preparar el fragmento de eliminación de longitud completa, se utilizaron 2 tipos de ADN oligo sintético (fabricado por Operon Biotechnologies) que tienen las secuencias de bases mostradas en la tabla 2, y se utilizó como plantilla el ADN genómico total preparado a partir de la cepa ARC032 de la misma manera que anteriormente. Además, un fragmento de un dominio de un marcador auxotrófico de uracilo *ura4* de *S. pombe* (nombre de la cepa enumerada en GeneDB: SPCC330.05c, gen orotidina-5'-fosfato descarboxilasa) preparado mediante el mismo procedimiento de RCP también se utilizó en combinación como plantilla.

[Tabla 2]

ADN de oligo para preparar el fragmento um4		
ADN de oligo	Secuencia de bases	SEQ ID NO
F	5'-AGCTTAGCTACAAATCCCACT-3'	32
R	5'-AGCTTAGCTACAAATCCCACT-3'	33

[0156] Mediante el uso de un fragmento de ADN obtenido mediante el tratamiento de un vector pSHh con una enzima de restricción PmaCI, se transformó la cepa de eliminación del gen PDC2 obtenida de *S. pombe* (cepa IGF836, h⁺ leu1-32 *ura4*-D18 ade6-M216 *pdv2*-D23), obteniéndose así una cepa ASP4590 en la que se restauraron la auxotrofia de uracilo y la auxotrofia de adenina.

[Ejemplo 2]

<Preparación de la cepa de introducción de genes extraños>

[0157] Se prepararon transformantes de *pombe* (tabla 24) en los que se introdujo PYC derivada de *Aspergillus niger* (AniPYC) (SEQ ID NO:1), PYC derivada de *Brevibacillus brevis* (BbrPYC) (SEQ ID NO:2), PYC derivada de *Debaryomyces hansenii* (DhaPYC) (SEQ ID NO:3), PYC derivada de *Kluyveromyces lactis* (KlaPYC) (SEQ ID NO:4), PYC derivada de *Lachancea thermotolerans* (LthPYC) (SEQ ID NO:5), PYC derivada de *Lodderomyces elongisporus* (LeIPYC) (SEQ ID NO:6), PYC derivada de *Saccharomyces cerevisiae* (ScePYC) (SEQ ID NO:7), PYC derivada de *Candida orthopsilosis* (CorPYC) (SEQ ID NO:8), PYC derivada de *Candida tropicalis* (CtrPYC) (SEQ ID NO:9), PYC derivada de *Naumovozyma castellii* (NcaPYC) (SEQ ID NO:10), PYC derivada de *Naumovozyma dairenensis* (NdaPYC) (SEQ ID NO:11), PYC derivada de *Saccharomyces kudriavzevii* (SkuPYC) (SEQ ID NO:12), PYC derivada de *S. pombe* (SpoPYC) (SEQ ID NO:13), PYC derivada de *Tetrapisispora blattae* (TbIPYC) (SEQ ID NO:14), PYC derivada de *Torulaspora delbrueckii* (TdePYC) (SEQ ID NO:15), PYC derivada de *Zygosaccharomyces rouxii* (ZroPYC) (SEQ ID NO:16), MDH derivada de *Archaeoglobus fulgidus* (AfuMDH) (SEQ ID NO:17), MDH derivada de *Congregibacter litralis* (CliMDH) (SEQ ID NO:18), MDH derivada de *Delftia acidovorans* (DacMDH) (SEQ ID NO:19), MDH derivada de *Halomonas elongata* (HelMDH) (SEQ ID NO:20) o MDH derivada de *Shewanella putrefaciens* (SpuMDH) (SEQ ID NO:21).

[0158] Específicamente, la cepa IGF836 (cepa de eliminación génica de *S. pombe*) preparada en el ejemplo 1 se transformó según el procedimiento de Bahler y col. (la revista Yeast, 1998, vol 14, págs. 943-951) mediante el uso de un digesto de una enzima de restricción BsiWI de un vector recombinante integrador monodentado pSLh-AniPYC que retiene un casete de expresión génica AniPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-BbrPYC que retiene un casete de expresión génica BbrPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-DhaPYC que retiene un casete de expresión génica DhaPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-KlaPYC que retiene un casete de expresión génica KlaPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-LthPYC que retiene un casete de expresión génica LthPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-LeIPYC que retiene un casete de expresión génica LeIPYC casete, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-ScePYC que retiene un casete de expresión génica ScePYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-CorPYC que retiene un casete de expresión génica CorPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-CtrPYC que retiene un casete de expresión génica CtrPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-NcaPYC que retiene un casete de expresión génica NcaPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-NdaPYC que retiene un casete de expresión génica NdaPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-SkuPYC que retiene un casete de expresión génica SkuPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-SpoPYC que retiene un casete de expresión génica SpoPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-TbIPYC que retiene un casete de expresión génica TbIPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-TdePYC que retiene un casete de expresión génica TdePYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-ZroPYC que retiene un casete de expresión génica ZroPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSMh-

AfuMDH que retiene un casete de expresión génica AfuMDH, un vector recombinante integrador monodentado pSMh-CliMDH que retiene un casete de expresión génica CliMDH, o un vector recombinante integrador monodentado pSMh-DacMDH que retiene un casete de expresión génica DacMDH, un vector recombinante integrador monodentado pSMh-HelMDH que retiene un casete de expresión génica HelMDH, o un vector recombinante integrador monodentado pSMh-SpuMDH que retiene un casete de expresión génica SpuMDH.

[0159] El vector recombinante integrador monodentado pSMh se puede preparar a través del siguiente procedimiento. En primer lugar, un fragmento obtenido por digestión de un fragmento de ADN (Fr. 1), que se preparó mediante la síntesis total de ADN y tenía una secuencia de bases representada por la SEQ ID NO:34, con una enzima de restricción BsiWI y un fragmento de ADN, que se obtuvo mediante la digestión de un vector pSE con una enzima de restricción BsiWI y la digestión doble del digesto obtenido con las enzimas de restricción KpnI y SnaBI, se sometieron a ligadura, preparando así pSMh (8.849 pb, figura 1) con una secuencia de bases (5'→3', cíclica) representada por la SEQ ID NO:35.

[0160] pSLh-AniPYC se preparó a través del siguiente procedimiento. En primer lugar, mediante el uso de ADN genómico total preparado por DNeasy (fabricado por QUIAGEN) a partir del cultivo de *S. Aspergillus niger* como plantilla y mediante el uso de 2 tipos de ADN oligo sintético (AniPYC-F y AniPYC-R fabricado por Operon Biotechnologies) descrito en la tabla 3, se obtuvo un fragmento de ORF de un gen AniPYC mediante un procedimiento de RCP utilizando KOD-Dash (fabricado por TOYOBO CO., LTD.). El fragmento de ORF codificaba AniPYC (SEQ ID NO:1).

[Tabla 3]

	Secuencia	SEQ ID NO:
AniPYC-F	5'-GACACTTTTCAAACATGGCTGCTCCCCGCC-3'	36
AniPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAATCGGCCTTGACGATCTTGACAGAC-3'	37
AniPYC	MAAPRQPEEAVDDTEFIDHDHQHRDSVHTRLRANS AIMQFQKILV ANRGEIPIRIERTAHESLQTVAVYSHEORLSMHRQKADEAYMIGK RGQYTFVGAYLAIDETVKIATLEHGVHLIHPGYGFLSENAEFARKVE QSGMVFGPTPQTIESLGDKVSARQLAIRCDVPVVPFTPGPVERYE EVKAFTDTYGF?IIKAAFGGGGRGMRVVRDQAE LRDSFERATSEA RSAPGNGTVFVERFLDRPKHIEVQLLGDNHGNNVHLFERDCSVQRR HQKVVEIAPAKDLPAQVDRILADAVKLAKSVNYRNAGTAEFLVDQ QNRYYPIEINPRIQVEHTITEEITGIDIVAAQIQIAAGATLEQLGL TQDRISTRGFAIQCRITTEDPSKGFSPDTGKIEVYRSAGCGNGVRLD GGNGFAGAIITPHYDSMLVKCTCRGSTYEIARRKVVRALVEFRI RG VKTNIPTLTSLLSHFVFVDGTCWTTTIFIDTPELFALVGSQNRQKL LAYLGDVAVNGSSIKGQIGEPKLGDI IKPVLHDAAGKPLDVSVPA TKGWKQILDSEGPEAFARAVRANKGCLIMDTTWRDAHQSLLATVR TIDLNLIAHETSHALANAYSLECWGGATFDVAMRFLYEDPWORLAK LRKAVPNIPFQMLLRGANGVAYSSLPD NAIYHFCKQAKKCGVDIFR VFDALNDVDQLEVGIAKAVHAAEGVVEATICYSGDMLNPSKKYNLPY YLDLVQKVVQFKPHVLGIKDMAGVLKPOAARLLIGSIRERYPDLFI HVHTHDSAGTGVASMIACAQAGADAVDAATDLSGMTSQPSIGAIL ASLEGTEHDFGLNSAQVRALDTYWAQLRLLYSFFEAGLTGPDPEVY ENEIPGGQLTNLIFQASQLGLGQQAETKKAYESANDLLGDVVKVT FTSKVVGDLAQFMVSNKLTAEDVIARAGELDFFGSVLEFLEGLMGQ PYGGFPEPLRSRALDRRKLDKRPGLYLEFLDLAKIKSQIRENYGA ATEYDVASAYAMPKVFEDYKKFVAKFGDLSVLPTRYFLAKPEIGEE FHVELEKGVILILALLATGFLSEQTGQREVFFYEVNGEVRQVSVDOK KASVENTARPKAELGDSQVQAPMSGVVVEIRVHDGLEVKKGDPITA VLSAMKMEMVISAPHSGKVSLLVKEGDSVDGQDLVCKIYKA*	1

[0161] Mediante el uso de un kit de clonación HD In-Fusion (marca registrada) (fabricado por Clontech Laboratories, Inc.), el fragmento amplificado obtenido se incorporó en pSLh, preparando así pSLh-AniPYC. El procedimiento In-Fusion se realizó según el manual incluido en el kit. Es decir, el producto de RCP obtenido se purificó usando una columna de centrifugación, se agregó a una solución de reacción In-Fusion junto con pSLh y se hizo

reaccionar durante 15 minutos a 50 °C.

[0162] Mediante el mismo procedimiento que se describió anteriormente, se prepararon un vector recombinante integrador monodentado pSLh-BbrPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-DhaPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-KlaPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-LthPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-LeiPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-ScePYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-CorPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-CtrPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-NcaPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-NdaPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-SkuPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-SpoPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-TblPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-TdePYC, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-ZroPYC, un vector recombinante integrador monodentado pSMh-AfuMDH, un vector recombinante integrador monodentado pSMh-CliMDH, un vector recombinante integrador monodentado pSMh-DacMDH, un vector recombinante integrador monodentado pSMh-HelMDH y un vector recombinante integrador monodentado pSMh-SpuMDH. A continuación, se enumerarán los conjuntos de cebadores que utilizan los vectores respectivos.

[0163] La cepa ASP4590 se transformó usando el vector recombinante integrador monodentado pSLh-ScePYC y el vector recombinante integrador monodentado pSMh-DacMDH, obteniendo así una cepa ASP4491 en la que se introdujeron un gen ScePYC y un gen DacMDH.

[Tabla 4]

	Secuencia	SEQ ID NO:
BbrPYC-F	5'-GACACTTTTTCAAACATGAAAAAGAGAAAAATCAATCGCCTAC TG-3'	38
BbrPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAATCCTCCATTTCATGAGCAGATCACCA-3'	39
BbrPYC	MKKRKINRLLVANRGEIAIRIFRAATELGIRTAVVYSEQDNVSIHR FKADESYLVGAGKGPIEAYLDIESIIEIAKRNDIDAVHPGYGFLAE NAEFAKRCQEGIIFIGPSPALIDKFGDKVEARRLAIEAEIPVIPG TEPIETLQEBALLFAKEYGYPIIIKGVSGGGGRGMRIVRSQEGLQD SLDRARSEARSSFGNAKVYLERYLEQPKHIEVQILGDNHGNIVVLY ERDCSVQRRHQKVVEVAPSLSLDDKLREDICQAALTLMKKAGYSNA GTVEFLLTPDKRFYFIEVNPRIQVEHTITELITGIDIVQSQIRVAE GHALSDEEIGIRAQSDIQMSGFAIQCRTTEDAENNFLPDAGRLSA WRSGGGFGVRLDGGNGYPGAIIITPFYDSLLVKISTYGASFDQAARK MLRTLREFRIRGVKTNLPFLENVVTHPDLGSGNYOTSFIDTKPELF IFPGRQDRGTKLLSYIGDTIVNGYPLPKSEKKPHFEDSPRIPTPF TQPYPDGKTQILDKEGADGLVRNIQAQKQVLVTDTFRDAHQSLFA TRVRTYDLASIAEATGKLGSGLFSLEMWGGATFDTTMRFLQESPWE RLQILRQRIPNVLFQMLLRGANGVGYTNYPDNAIHAFVKASAENGI DVFRIFDLSNLWLPQMOTAIEAVRESGKVAEAAICYTGDILDPTKT YTLAYYVNLAKLEKAGAHILATKDNAGLLKPYAAYSLVSALKQEI SIPILHHTHDTSGNAGAMLLKATIEAGVDIVDACVSSMSGLTSPSL NGLIASLAHTERETGLSLESFNKLSDYWEDVRFPYYQGFESGMKASN TEVYVHEMPGGQYTNLEQQAKAVGLEGRNDEVKHMVAVVNQMGDI VKVTPSSKVVGDMAFMVQNNLNEENIWEKGTRLDFPDSVIQFFQG YLGQPPGCGFPKKLQELVLKGRDAFTARPGELLAPIDFTQVAAELEA KIGREPSHLDVLSYIMYPQVYLQFEQRLKEYGDLVLNTGTFFYGL APGEETAITIERGKTLIIKLVAVGELHPDGRRIIYFELNGQPREIF IRDQSAKVSELIIRKAEAQNPALHGASMPGKVLKVLVAEGDKVRKG EHLVSEAMKMETTIQAPLOGKIKAVYVKAGEAIQTGDLLIEME*	2

[Tabla 5]

	Secuencia	SEQ ID NO:
DhaPYC-F	5'-GACACTTTTTCAAACATGAGTGACGGTAATGAACATAAGATCA A-3'	40
DhaPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAATCTTTAACAACACTTGCAATCAAATCGTTA GC-3'	41

(continuación)

	Secuencia	SEQ ID NO:
DhaPYC	MSDGNHKKINQMRRASTVMGFMNKILVANRGEIPIRIFRTAHELISM QTVAIFSHEDRLSMHRLKADESYVIGKKGQFSVPQAYLQIDEIINI AKEHGVNMHPGYGFLSENSEFARKVEEAGISWIGPTHKTIDAVGD KVSARTLAIQNGVPPVPGTGPPIADVEEAVKFVEKHGLPVIKAAF GGGGRGMRVVREGDSVGEAFERAVSEAKTSFGNGTCFIERFLDKPK HIEVQLLADNYGNVIHLFERDCSVQRRHQKVVEVAPAKTLTKSVRD AILTDAVKLARSANYRNAGTAEFLVDEQDRHYFIEINPRIQVEHTI TEBITGVDIVAAQIQIAAGASLKQLGLLQDKITTRGFATQCRITTE DPSKNFQPDGTGKIEVYRSAGNGVRLDGGNGFAGSIISPHYDSMLV KCSCSGSTYEIVRRKMLRALIEFRIRGVKTNIPFLMLTNETFIS GDCWTTFFIDDTPSLQFQIRSNRATKILSYLGLDVLNGSSIKGQIG EPKLNTEALIPDLHDPKTGKIEIHNEVAPRGWRQVLLQGGPEKFA QKVREFNGTLLMDTTWRDAHQSLLATRVRTIDLLNIAPTTAVALNG CPALECWGGATFDVCMRFLYEDPWSRLRQLRKLVPNIPFQMLLRGA NGVAYSSLPDNAIDQFVLQAKENGVDIFRVFDALNDLEQLKVGIDA VKKAGGVIEATVCYSGDMLKPGKKYNLEYLGVVDDIVKLGTHFLG IKDMAGTLKPKAAKILIGAIRERYPKLPIHVHTHDSAGTGVASMT AAKAGADVDDAASNSMSGMTSQPSINAILASFEGEVESGLQASLVR ELDNYWAQMRLLYSCEADLKGPDPEVYQHEIPGGQLTNLLFQAQQ LGLGSKWMLTKEAYKTANKLLGDIVKVTPTSKVVGDLAQFMVSNL SEEDVTKLASELDPPSSVLDMEGLMGTPTYGGFPEPLRTNLTGTR VKLNNRPGNLNPPIDFAAVKEELVSRYSNINECDIASYVMYPKVY EDFRELSKYGDLVLPTRFFLKACNINEEIVVDIEKGKTLIIKLL AIGEISQQTGTREVFELNGEMRSVTVDKTVSIETKTRPKATSPN EVGAPMAGVVVEIRSKVGNEVKKGDPIAVLSAMKMEMVISSPVS IGELIKEGDSVDANDLIASVVK*	3

[Tabla 6]

	Secuencia	SEQ ID NO:
KlaPYC-F	5'-GACACTTTTTCAAACATGTCATCTCAACTAGCTGGATTGC-3'	42
KlaPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAATCTTCCTTAGCTGGAGCTTCTTCC-3'	43
KlaPYC	MSSQLAGLRDNSNLMGEKNKLLVANRGEIPIRIFRTAHELISMKTVA IYSHEDRLSMHRLKADEAYVIGEQQKYTPVGAYLAIDEIINIAKSH GVNFIHPGYGFLSENSEFAEKVAASGITVVGPPAAVIDSVGDKVSA RNLAEKADVPVVPGTGPPIETVEEAQAFVDKYGFPVIAKAFGGGG RGMRVVREGDDISDAFQRAKSEAITAFNGTCFIERFLDKPKHIEV QLLADNYGNVVHLFERDCSVQRRHQKVVEVAPAKTLPEEVRDAILT DAVKLAKEAGYRNAGTAEFLVDNQRHYFIEINPRIQVEHTITEEI TGIDIVAAQIQIAAGATLEQLGLMQDKITTRGFATQCRITTEDPSK NFQPDTEGRIDVYRSAGNGVRLDGGNAFAGSVISPHYDSMLVKCSC SGSTYEIVRRKMLRALIEFRIRGVKTNIPFLTLTHPVFKSGEYW TTFIDDTFQLFEMVSSQNRAQKLLHYLADLAVNGSSIKGQIGLPKL TTHPTIPHLHNEGSLVDVSAKFPAGWRDVLDDYGPEEFAKQVRKF NGTLLMDTTWRDAHQSLLATRVRTYDLAAIAPTTAHAMSGAFALC WGGATFDVSMRFLHEDPWERLATLRKLVPNIPFQMLLRGANGVAYS SLPDNAIDHFVKQAKDNGVDIFRVFDALNDLEQLKVGVDVAVKAGG VVEATICYSGDMLAPGKKYNLDYYLDITEKIVNSGTHILGIKDMAG TLKPSAARLLIGSIRAKYPELPIHVHTHDSAGTGVASMAACALSGA DVVDVATNSMSGTSSQPSINALLAALDGEIDNNVNVGYVRELDAYW AEMRLLYSCFEADLKGPDPEVYVHEIPGGQLTNLLFQAQQQLGLGK WAETKRAYREANLLGLDLVKVTFTSKVVGDLAQFMVTNKLTSDDVR RLASSLDYFDSVMDFFELIGQPYGGFPEPLRTDVLNRKRRKLTQR PGLELAPFELEKIKEDLSTRFSIDIECDVASYNMYPKVYEDFRKIK EKYGDLSVLPTKNFLSPPVIGEEIVVTIEQGGKTLIIKPAIGDLNK ETGIREVYFELNGELRKVSADRSQKVETVSKPKADAHDPFQIGSP MAGVVVEVKVHKGSLIAKGQPVAVLSAMKMEMVISSPADGQVKEVL VKDGENVDASDLLVLEEAPAKE*	4

[Tabla 7]

	Secuencia	SEQ ID NO:
LthPYC-F	5'-GACACTTTTTCAAACATGTCCAAACTGGCAGGACTG-3'	44
LthPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAATCTTCTTTTGGTGGGACAGATTCTCTC-3'	45
LthPYC	MSKLAGLRDSSNLLGEKNKLLVANRGEIPIRIFRSHAELSMKTVAI YSHEDRLSMHRLKADEAYMIGKEGKYTPVGAYLAIDEILKIAKEHN VDFIHPGYGFLSENSEFAQKVEAAGITWIGPSAEVIESVGDKVSAR NLAADADVPVPGTGPIDSVEEAQAQFVEEYGYPVIIKAAAYGGGGR GMRVVREGDDIADAFQATSEAKTAFNGTCTFIERFLNKPKEHIEVQ LLADGYGNVHLFERDCSVQRRHQKVVEVAPAKTLPKDVDRDAITD AVKLAKVAGYKNAGTAEFLVDDQNRHYFIEINPRIQVEHTITEEIT GIDIVAAQIQIAAGASLQELGLLQDKIITRGFAIQCRITTEDPAKN FQPDGTGRIEVYRSAGGNGVRLDGGNAYAGSIIISPHYDSMLVKCSCS GSTYEIVRRKMLRALIEFRIRGVKTNIPFLTLTNPFVFDGSYWT TFIDDTPELFKMVSSQNRAQKLLHYLADLAVNGSSIKQMGLPKLH TQPSVPTLHDSNGEVIDVLTPFPSPGWRQVLLBQGPQAFKAVRHY KGTLLMDTTWRDAHQSLLATRVRTYDLAAIAPTAAHALSCAFALC WGGATFDVAMRFLHEDPWERLRILRLKLVNIPFQMLLRGANGVAYS SLPDNAIDHFVEQAKENGVDIFRVFDALNDLEQLKVGVDVAVKKANG VVEATICYSGDMLQPGKKYNLDYYLEITDKIVQMGTIILGKDMAG TLKPSAAKLLIGSIRAKYPDLPIHVHTHDSAGTAVASMAACAFAGA DVVDVATNSMSGMTSQPSINALLASLDGEIDTGVNVNMVRELDAYW AQMRLLYSCEADLKGPDPEVYEHEIPGGQLTNLLFQAQQLGLGK WAETKRAYRDANYLLGDLVKVTPTSKVVGDLAQFMVSNKLTPODVR RLASSLDFFPDSVMDFFEGLEGQPYGGFPEPLRSDVLKNKRRKLTCT PGLELAPFDLAGIKEDLQDRFGDIDECDVASYNMYPKVYEDERKMR ETYGLSVLPTKNFLSPPTVGEIIVVTIEKGKTLIIKPQAIGELNK ETGLREVYFDLNGELRKVSVIDKSQKVDTLSPKADANDPFIQIGAP MAGVIEEVKVKHKGSLVKKGQPIAVLSAMKMEMVISSPTDQVVKDVL VKDGENVDASDLLVFLEESVFPKE*	5

[Tabla 8]

	Secuencia	SEQ ID NO:
LelPYC-F	5'-GACACTTTTTCAAACATGACATCAATTGCTTCATCAAACACTC-3'	46
LelPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAATCATGTTTCAAAATACTGGTGATCAAATCATTTG-3'	47
LelPYC	MTSIASSNTQDGRINQMRDSTVLGPMNKILVANRGEIPIRIFRTA HELSMQTVAIYSHEDRLSMHRLKADESYAIGKKGQFTPVGAYLQID EIIDIAKKHNVMNIHPGYGFLSENSEFAKKVEQNGIVWIGPSHKTI DAVGDKVSARTLAIENDVPVPGTGPIDDVSDARKFVEKYGYPVII KAAAFGGGGRGMRVVREGDDIEDAFKRAATSEAKTAFNGTCTFIER LDKPKHIEVQLIADNYGNVHLFERDCSVQRRHQKVVEIAPAKNLF REVRDAILTDAVKLAKSANYRNAGTAEFLVDEQNRHYFIEINPRIQ VEHTITEEITGVDIVAAQIQIAAGASLQQLGLLQDKIITRGFAIQ RITTEDPAKNFQPDGTGKIEVYRSAGGNGVRLDGGNGFAGSIIISPHY DSNLVKCSGSGTTEIARRKMIRALIEFRIRGVKTNIPFLALLTN QTVEGDCWTTTFIDDTFSLFQMISSQNRAKLLLYLADLVNGSSI KGQIGYPKLDEALIPELHEPRTGIAIDVNHTPPRGWRQVLLBEG PAKFAKKVREFKGLITDTTWRDAHQSLLATRVRTIDLLNIAPTTA PALNGAFSLCAGGATFDVCMRFLYEDPVRRLRQLRALVPNIPFQM LLRGANGVAYSSLPDNDIDQFVKEAKENGVDIFRVFDALNDLEQLK VGVDAVKKAGGVVEATVCYSGDMLKPGKKYNLEYLNFVDEVVKMG THFLGKDMAGTLKFAAKLLVGEIRKRHPDLPIHVHTHDSAGTGV ASMTECAKAGADVDDAASNSMSGMTSQPSISAILASFEGSIESGLS EQLVRELDYWAQMRLLYSCEADLKGPDPEVYSHEIPGGQLTNLL FQAQQLGLGKTLTKRAYRIANKILGDLVKVTPTSKVVGDLAQFM VSNSTEEEDINRLAGELDFPDSVYDFMEGLMGQPYGGFPEPLRTNM LGNKRQKLTQRPGLSLPPVKFDEIKQELQSRYGTVSETDIASVYM YPKVYEAARKQVEKYGDLVSLPTRYFLKPPANIGQEIIVVDIEQKTL IIKLLAVGELSEKTSREIFFELNGEMRSVTVEDKTASVETKTRPK AQQPNDVGAPMSGVVIIEVRTHKHQEVKKGDPIAVLSAMKMEMIISA PVSQGVVDILVKEGDSVDANDLITSILKH*	6

[Tabla 9]

	Secuencia	SEQ ID NO.
ScePYC-F	5'-GACACTTTTTCAAACATGTCGCAAAGAAAATTCGCCG-3'	48
ScePYC-R	5'-ATCATCCTTGTAATCTGCCTTAGTTTCAACAGGAACCTGG-3'	49
ScePYC	MSKLAGLRDSSNLLGEKNKLLVANRGEIPIRIFRSAHEL SMKTVAI YSHEDRLSMHRLKADEAYMIGKEGKYTPVGAYLAIDEILKIAKEHN VDFIHPGYGFLSENSEFAQKVEAAGITNIGPSAEVIESVGDKVSAR NLAAKADVPPVPGTGPIDSVEEAQAFVEEYGPVVIKAAAYGGGGR GMRVVREGDDIADAFQRTSEAKTAFNGTCFIERFLNKPKHIEVQ LLADGYGNVHLFERDCSVQRRHQKVVEVAPAKTLPKDVRDAILTD AVKLAKVAGYKNAGTAEFLVDDQNRHYFIEINPRIQVEHTITEEIT GIDIVAAQIQIAAGASLQELGLLQDKIITRGFAIQCRITTEDPAKN FQPDGTGRIEYRSAGGNGVRLDGGNAYAGSIIISPHYDSMLVKCSCS GSTYEIVRRKMLRALIEFRIRGVKTNIPFLTLTLNPNVFDGYSWT TFIDDTPELFKMWSSQNRAQKLLHYLADLAVNGSSIKGQMLPKLH TQPSVPTLHDSNGEVIDVLTTPPFSGNRQVLEQGPQAFKAVRHY KGTLLMDTTWRDAHQSLEATRVRTYDLAAIAPTTHALSGAFALEC WGGATFDVAMRFLHEDPWERLRILKLVNIPFQMLLRGANGVAYS SLPDNAIDHFVEQAKENGVDIFRVFDALNDLEQLKVGVDVAVKKANG VVEATICYSGDMLQPGKKYNLDYILEITDKIVQMGTILGIKDMAG TLKPSAAKLLIGSIRAKYPDLPIHVHTHDSAGTAVASMAACAFAGA DVVDVATNSMSGMTSQPSINALLASLDGEIDTGVNVNMVRELDAYW AQMRLLYSCFEADLKGPDPEVYSEIIPGGQLTNLLFQAQQLGLGK WAETKRAYRDANYLLGDLVKVTPTS KVVGD LAQFMVSNKLTDPDVR RLASSIDFPDSVMDFFEGLEGQPYGGFPEPLRSDVLKNKRRKLTOR PGLELAPFDLAGIKEDLQDRFGDIDECDVASYNMYPKVYEDFRKMR ETYGDLSVLPTKNFLSPPTVGEIIVVTIEKGTLLIKPQAIQELNK ETGLREVYFDLNGELRKVSVIDKSQKVDTLSPKADAHDPFQIGAP MAGVIEVKVHKGLVKKGPPIAVLSAMKMEMVVISPTDGGQVKDVL VKDGENVDASDLLVFLVESVPPKE*	7

[Tabla 10]

	Secuencia	SEQ ID NO.
CorPYC-F	5'-CACCTTTTCAAACATGATTTTATAAATTCATCATCAATTTCT ACAAAATCTCC-3'	50
CorPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAATCGGCTTTCAAATACTGGTGATTAAATCA TTAG-3'	51
CorPYC	MIFINSSSISTKSFLNSISLSSTQLLFFCQIYSPFITMTSLQPTAT QDQINQMRRASSVLGPMNKILVANRGEIPIRIFRTAHEL SMQTV IYSHEDRLSMHRLKADES YVIGKKGQYSPVGAYLQIDEI IDIAKQH NVNMIHPGYGFLSENSEFAKKEENGILWVGPSYKTIDAVGDKVSA RTLAIENDVPVPGTGPIDVDIARKFVEKYGFVVIKAAFGGGG RGMVVVREGDDIEDAFKRATSEAKTAFNGTCFIERFLDKPKHIEV QLLADNYGNVHLFERDCSVQRRHQKVVEIAPAKNLPKEVRDAILT DAVKLAKSANYRNAGTAEFLVDEQNRHYFIEINPRIQVEHTITEEI TGVDIVAAQIQIAAGASLQELGLLQDKIITRGFAIQCRITTEDPAK NFQPDGTGRIEYRSAGGNGVRLDGGNGFAGSVISPHYDSMLVKCSC SGSTFEIARRKMLRALIEFRIRGVKTNIPFLALLTNETFIKGDW TTFIDDTFSLFQMVSSQNRAKLLSYLADLYVNGSSIKGQIGYPKL NEEALIPVLHDPKTIPIIDVAHIPPFRGWRQVLEEGPDAFARKVR QYNGTLITDITWRDAHQSLEATRVRTIDLLNIAPTTFALNGAFSL ECWGGATFDVCMRFLYEDPWRRLRKLALVFNIPFQMLLRGANGVA YSSLPDNAIDQFVKEAKGNGVDIFRVFDALNDLEQLKVGIDAVKKA GGVVVATVCYSGDMLKPGKKYNLEYLSVDEVVKMGTHFLGIKDM AGTLKPAARLLVGEIRNRYPELPIHVHTHDSAGTGVASMTCAKA GADVDAASNSMSGMTSQPSISAILASFECSIDTGLSELVRELD YWAQMRLLYSCFEADLKGPDPEVYSSEIIPGGQLTNLLFQAQQLGLG EKWLQTKETKIANKILGDLVKVTPTS KVVGD LAQFMVSNLSTEED VNRLASLDFPDSVLDMEGLMGKPYGGFPEPLRTNMLGNKRQKLD KRPGLYLKPVDFAAIRKELISRYGSQIDETDVASYVMYKVF EAFR KQVEKYGDLSVLPTFFLKPANIGEEIIVVDIEKGTLLIKLLAVGE ISEKTGIREVFFELNGEMRSVSVEDNTVSVETKTRPKASAPNDVGA PMAGVVIEVRTHKHEQVKKGDPPIAVLSAMKMEMVISPVSGLVDOL LVREGDSVDANDLITSILKA*	8

[Tabla 11]

	Secuencia	SEQ ID NO.
CtrPYC-F	5'-CACTTTTTCAAACatGTCTGTACCAGTCCAAAAAGCTAAC-3'	52
CtrPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAAATCATGTTGAATAATGTTAGTAATCAAATCA TTAGCATC-3'	53
CtrPYC	MSVPVQKANSQDTRISQMRRDSTVLGPMNKILVANRGEIPIRIFRT AHELSTQTVAIYSHEDRLSMHRLKADES YVIGKKGQFSPVGAYLQI DEIINI AKKHVNMIHPGYGFLSENSEFARKVEENGIWIGPSYKT IDAVGDKVSARTLAIENDVPVVPPTPGPIETVEEAKAFVDKYGLPV IIKAAFGGGGRGMRVVRREGDDIEDAFKRATSEAKTAFNGTCTCFIER FLVKPKHIEVQLLADNYGNVIHLFERDCSVQRRHQKVVEIAPAKSL PKHVRDAILTDAVKLAKSANYRNAGTAEFLVDAQDRHYFIEINPRI QVEHTITEITGVDLVAAQIQIAAGASLQQLGLLQDKITTRGFAIQ CRITTEDPTKNFQPD TGKIEVYRSAGGNGVRLDGGNGEVGSIISPH YDSMLVKCSCSGSTYEIARRKMLRALIEFRIRGVKTNIPFLALLT NDIFIKGDCWTTFIDDTPSLQMISSQNRAKMLSYLADLVVNGSS IKGQGVYPKLETEPVVVDIHEPKTGIVIDVNNTPAPRGWRQVLLLE GPEAFKKVRAFPGTTLITD TWRDAHQSLLATRVRTIDL VNIASTI AFALNGAFSLECWGGATFDVCMRFLYEDPWARLRKLRALVNI PFQ MLLRGANGVAYSSLPDNAIDQFVKEAKDNGVDIFRVFDALNDLEQL KVGIDAVKKAGGVVEATVCYSGDMLKPGKKYNLEYLNVVDEIVKL GTHFLGIKDMAGTLKPAAAKILIGEIRSRYPDLPIHVHTDSAGTG VASMTQCAVSGADVVDAAASNMSGMTSQPSISALLASFECSIDTGL SESMVRELDNYWAQMRLLYSCFDADLKGPDPEVYQHEIPGGQLTNL LFQAQQLGLGSGQVQTKAYRVANSILGDLVKVTPTSKVVGDLAQF MVSNTL TEEDVNRLAAELDFPDSVLDFQGLMGTPYGGFPEPLRTN ILGSKRQKLNERPGLTLPVDFVGIREELSSRYGGQITETDIASYV MYPKVFEQFRNIIDKYGDL SVLPTKYFLKPCAIGEELSVDEIQGKT LI IKLLAVGDISDKTGNREVFELNGEMRSVSVEDKAAAVETRVKP KASSPNDVGAPMAGVIEIRAHRHQEVKKGDPIAVLSAMKMEMVIS SPCDGEVGEIVIHEDGSDVANDLITNIQH*	9

[Tabla 12]

	Secuencia	SEQ ID NO.
NcaPYC-F	5'-CACTTTTTCAAACatGTCCATAAACA AAAA ACTAAACGGCC- 3'	54
NcaPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAAATCAGATGGAGGCGTAGATTCTTCTAAAAG- 3'	55
NcaPYC	MSINKKLNGLRDNFNLLGTRNKILVANRGEIPIRIFRS AHELSTQ VAIYSHEDRLSTHRLKADES YVIGEPHOFTPVGAYLAIDEIINI AK RHGVDYIHPGYGFLSENSEFADKVAKAGITWIGPPASVIDSVGDKV SARNLATKANVPTVPCTPGPIRTVQDAQDFVNEYGYPVIIKAAFEGG GGRGMRVNVNEGDDLADAFQRASSEALTAFGDGTCTFVERFLNKP KHIEVQLLADTHGNVIHLFERDCSVQRRHQKVVEVAPAKTLPREVRDAI LTDAVKLAKECGYQNGTAEFLVDDQNRHYFIEINPRIQVEHTITE EITGIDIVAAQIQIAAGASLEQLGLLQDKITTRGFAIQCRITTEDP AKNFQPD TGRLEVYDSAGGNGVRLDGGNAYAGATISPHYDSMLVK SCSGSTYEVVRRKMIRALIEFRIRGVKTNIPFLTLLTHPVFIAGD YWTTFIDDT PQLFKMVSSQNRAQKLLHYLADLAVNGSSIKGQVGIP QLKKVPDIPHIHDAQGNVIDVTNVPPAGWRQVLLLEQGPEEFAKQV RQFGTLLMDTTWRDAHQSLLATRVTHDLAKIAPTTHALASAF LECWGGATFDVAMRFLHEDPWKR LTLRLKLVNIPFQMLLRGANGV AYSSLPDNAIDHFVKQAKDNGVDIFRVFDALNDLDQLKVGVDVAVK AGGVVEATVCYSGDMLQPGKKYNLDYILEVTEKIVQMGTHILGIKD MAGTMKPAARLLIGSIRAKYPDLPIHVHTDSAGTAVASMSAAAY AGADVIVATNSMSGLTSQPSINALLASLDGEINTSINVQHVRELD AYWAEMRLLYSCFGADLKGPDPEVYEHEIPGGQLTNLLFQAQQLGL GEQWTE TRAYKEANMLLGDIVKVTPTS KVVGDLAQFMVSNKLTSE DVKRLANS LDFPDSVMDFFEGLMGQPYGGFPEPLRSDILRNKRRL TCRPGLELVFPFELNNIKEDLQTRFGDINECDIASYNMYPKVYEDFQ KMKEYGDL SVLPTKSFLAPAEIGEEILVTIQGKTLI IKLQAIGD LNKETGKREVFELNGEMRKISVTDKRSQKVETVAKPKADTHDFQI GAPMAGVIVEVKVHKGSLVKKGEAVAVLSAMKMEMVISSPADGLVK EVLVNESENV DASDLVLVLEESTPPS*	10

[Tabla 13]

	Secuencia	SEQ ID NO.
NdaPYC-F	5'-CACTTTTTCAAACATGTCGAACAAAAAATTCAATGGTATCAGAG-3'	56
SdaPYC-a	5'-ATCATCCTTGTAATCTGCTTCTTCCGGAATTCAGTTTCTT-3'	57
NdaPYC	MSNKKFNGIRDNFNLLGPKNKILVANRGEIPIRIERTSHELMSMTV AIYSHEDRLSTHRLKADESIVVIGEPNQFTPVGAYLAIDEIINIAKK HNVDFIHPGYGFLSENSEFADKVAKNGIWVGPPASVIDSVGDKVS ARHLAERANVPTVPGTPGPIKSAKEAEFVAKYGFVPIKAAAFGGG GRGMRVVREGDDIADAFQRASSEAVTAFNGNCTCFVERFLNPKKHIE VQLLADNYGNVHLEFERDCSVQRRHQKVVEVAPAKTLPRDIRNAIL TDAVKLAKECGYKNAGTAEFLVDDQNRHYFIEINPRIQVEHTITEE ITGIDIVAAQIQIAAGASLEQLGLLQDKITTRGFAIQCRITTEDPA KNFQPDGTGRIEYVGSAGNGVRLDGGNAYAGAIISPHYDSMLVKCS CSGSTYEVVRRKMIRALIEFRIRGVKTNIPFLTLTLTHPVFISGQY WTTFFIDDTPQLFQMVSSQNRAQKLLHYLADIWNGSSIKGQVGIPIR LTKIPDIPPLYDTNNNKIDVLKTPPPAGWRQVLLKGPVEFAKQVR QFQGTLLMDTTWRDAHQSLLATRVRTYDLATIAPTTAHALSGAFAL ECWGGATFDVAMRFLHEDPWARLRLTRKLVNIPFQMLLRGANGVA YSSLPDNAIDHFVKQAKDNGVDIFRVFDALNDLDQLKVGVDVAVKKA GGVVEATLCYSGDMLAKGKKYNLDYYLEVTDKIVQMGTHTFLGIKDM AGTMKPAAAKLLIGSIRAKYPCPIHVHTHDSAGTAVSSMAAAVVS GADVVDVAINSMSGLTSQPSINALLASLDGEIDTGINVQHVRLDLD YWAEMRLLYSCFGADLKGPDPEVYQHEIPGGQLTNLLFQAQQLGLG EQWAETKRAYREANHLGLDIVKVTPTS KVVGDLAQFMVSNKLTSD VKRLANSIDFPDSVMDFFELGMPQPYGGFPEPLRS DILRNKRRKLT SRPGLLELAPFDLNTIREDLQTRFGDDIDECVASYNMYPRVYEDFQ KIRETYGDLVLPKTNFLAPAEIGEEIEIVIEQGKTLIVKLQAIGD LNKKTGIREVYFELNGEMRKIGTLDRSQKVETVAKPKADGHNPFQI GAPMAGVIVEVRVHKGSILVKKGEAVAVLSAMKMEMIISSTGQGVK DVLVNDGENVEASDLLVLEETEIPPEA*	11

[Tabla 14]

	Secuencia	SEQ ID NO:
SkuPYC-F	5'-CACTTTTTCAAACATGTCGCAAAAGAAATTCGCTGG-3'	58
SkuPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAATCTGCTTTAGTTTCAGCTGGAACCTTGAT-3'	59
SkuPYC	MSQKKFAGLRDNFNLLGPKNKILVANRGEIPIRIERTAHLSMTQTV AIYSHEDRLSTHKKQKADAEYVIGEAGQYTPVGAYLAIDEIISIAQK HQVDFIHPGYGFLSENSEFADKVARAGITWIGPPAEVINSVGDVKS ARNLAERANVPTVPGTPGPIESVQEALDFVGEYGPVPIKAAAFGGG GRGMRVVREGDDVADAFQRATSEARTAFNGNCTCFVERFLVPKKHIE VQLLADNHGNVHLEFERDCSVQRRHQKVVEVAPAKTLPREVRDAIL TDAVKLAKECGYRNAGTAEFLVDNQNRHYFIEINPRIQVEHTITEE ITGIDIVAAQIQIAAGASLPQLGLFQDKITTRGFAIQCRITTEDPA KNFQPDGTGRIEYVRSAGNGVRLDGGNAYAGTIISPHYDSMLVKCS CSGSTYEVVRRKMIRALIEFRIRGVKTNIPFLTLTLTHPVFIDGTY WTTFFIDDTPQLFQMVSSQNRAQKLLHYLADVAVNGSSIKGQIGSPK LGSNFSIPHLHDSQGNVINVTTPPSGWRQVLLKGPFAEFAKQVR QFNGTLLMDTTWRDAHQSLLATRVRTHDLATIAPTTAHALAGAFAL ECWGGATFDVAMRFLHEDPWERLRLRALVNPFPQMLLRGANGVA YSSLPDNAIDHFVKQAKDNGVDIFRVFDALNDLDQLKVGVDVAVKKA GGVVEATVCFSGDMLQPGKKYNLDYYLEIAEKIVKMGTHILGIKDM AGTMKPAAAKLLIGSLRAKYPDLPIHVHTHDSAGTAVASMAACALA GADVVDVAINSMSGLTSQPSINALLASLEGNIDTGINVEHVRELD YWAEMRLLYSCFEADLKGPDPEVYQHEIPGGQLTNLLFQAQQLGLG EQWAETKRAYREANYLLGLDIVKVTPTS KVVGDLAQFMVSNKLT VKRLANSIDFPDSVMDFFELIGQPYGGFPEPFRSDVLRNRRKLT CRPGLLELFPDLEKIREDLQNRFGDINECDVASYNMYPRVYEDFQK MRETYGDLVLPTRSPFLSPLETDEEIEVIEQGKTLI IKLQAVGDL NKKTGEREVYFDLNGEMRKIRVVDRSLKVATVTKSKADMHDFLHIG APMAGVIVEVRVHKGSILVKKGPVAVLSAMKMEMIISSTGQGVKE VFVSEGENVDSDLLVLEEDQVPAETKA*	12

[Tabla 15]

	Secuencia	SEQ ID NO.
SpoPYC-F	5'-CACTTTTTCAAACATGACTTCTAAATATGATGCGTTGTTGC-3'	60
SpoPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAATCCTCGTGTTCAAGAACAGCACACA-3'	61
SpoPYC	MTSKYDALLHNQSTNTNPFPSKLQDRSSLLGEKFTKVLVANRSEIAI RVPTAHLSMHTVAIYSYEDRLSMHRQKADESYPGKVGQYSPVG AYLAIDEIVSIAKRTGANLVHPGYGFLSENAEFARKVNEAGMQFVG PSPEVIDSLGDKTKARAIIRCVPVPGTGGPVEHYEEAEAFVKE YGLPVIIKAAMGGGGGRGMRVRSADTLKESPERARSEALASFGDGT VFIERFLDKPKHIEIQLMADKAGNVIHLHERDCSVQRRHQKVVEIA PAKDLPKIRQALYDDAIKIAKEVKYCNAAGTAFLDQKGRHYFIE INPRIQVEHTITEEITGVDIVSAQLHVAAGFTLFEIGLTQDKISTR GFAIQCRVTTEDPNNGFAPDIGKIEVYRSAGGNGVRLDGANGFAGS VITPHYDSMLVKCTCHDATYEYTRKMRSLIEFRVRGVKTNIPFV LRLLMHDTFIQGNCTTFIDDTPELFQLYRSRNRQAQKLLAYLGDLA VNGSSIKGQNGEPALKSEIVMPVLLDSTGNQIDVSHPEKGRKLL LDNGPAAFAKAVRNHKGRLIMDTWRDAHQSLLATRVRTIDLNVIA PYTSHALASAYSLEMWGGATFDVSMRFLHECPWDRRLRLKLPVNI PFQMLLRGANGLCYSSLPDNVIYFFCEQAKKNGIDIFRVFDALNDV NNLSLGIDAARAGGVVEATMCYSGDMLNPKKKYNLDYYVNLVDKM VEMGIHILGIKDMAGVMKPKAARLLISALREKHPELPIHVHTHDSA GTAVASMAAALEAGADVVDVATDSMSGLTSQPSFGAVLASVDGTDK QLEFDNNQLREIDSYWAQMRLLYSPFESEIKGTDSDVYNHEIPGGQ LTNLKFQATSLGLGTQWAETKKAYIEANKLLGDIKVTPTSKVVG LAQFMVQNKLSAEDVENRATTLDFPASVLDFFQGLMGQPYGGFPEP LRTNVLKGRRQPLTDRPGKFLPAADFDAIRKLLSEKFGVSSDCDIA AYTQFPVGFEEYRQFVDRYGDLTTVPTEKFLSRPEMNEEMHVEIDQ GKTLIVKFVALGPLNPRTCQREVYPFELNGENRHVTVEDKKALETY TRPADPGNPGHVAAAPMSGTIVEIRVKEGAKVKKGDIIAVLSAMKM EIVISAPHSGVLKSLAVVQGDVNGGDLCAVLEHE*	13

[Tabla 16]

	Secuencia	SEQ ID NO.
TbIPYC-F	5'-CACTTTTTCAAACATGACAAATAAGAAATTCTCTGGTCTAAGA-3'	62
TbIPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAATCTTTTGGTGGTTCTGGATCTTCTAATGTG-3'	63
TbIPYC	MTNKKFSGLRDNFSLGKKNKVLVANRGEIPIRIFRTAHLSMRTV AIYSHEDRLAMHRLKADESIVIGAENQYTPVGAYLAIDEIINIAKK HNVDFIHPGYGFLSENSEFARKVTESGITWIGPPAAVIDSVGDKVS ARNLAAKVNVPTVPGTGPIDTVEEAKAFVEKHGFPVIIKAAFGGG GRGMRVVREGDDIADAFQRTSARTAFNGTCTFIERFLDHPKHIE VQLLADNYGNVVHLFERDCSVQRRHQKVVEVAPAKTLPREVRDSIL TDAVKLAKEAGYTNAGTAFLVONLGRHYFIEINPRIQVEHTITEE ITGIDIVAAQIQIAAGASLEDLGLLQDRITYRGFAIQCRITTEDPS KNFQPDGTGRLEVYRSAGGNGVRLDGGNAYVGATISPHYDSMLVKCS CSGSTYEIVRRKMLRSLIEFRINGVKTNIFFLLTLLTHPVFVSGDY WTTTFIDTTPQLFQMVSSKNRAQKLLHYLADLAVNGSSIKQIGLPK LATRFDIPALHDKNGEVINVTNAEPFSGWRKALLEKGPKEFAKQVR EFNGCLIMDTWRDAHQSLLATRLRTYDLAAIAPTTSFALAGAPAL ECWGGATFDVAMRFLHEDPWERLRLTRKLLVPNIIPFQMLLRGANGVA YSSLPDNAINHFVKQAKDNGVDIFRVFDSLNDVEQLKVGIEAVKLA GGVVEATMCYSGDMLQPGKKYNLDYYLELSEKIVGLGTHILGIKDM AGTMKFAAKLLISSLRKKYPDLPIHVHSHDSAGTAVTSMVACAKY GADVVDVAINSMSGLTSQGSINALLASLDGDIETNINAQHVRELD YWAEMRLLYSCFEADLKGPDPVEVYEHEIPGGQLTNLLFQAQQLGLG EKWKETKRAYREANYLLGDIVKVTPTSKVVGDLAQFMVNTKLTSD VRRANS�DFPDVMDFFEGLLGQPYGGFPEPLRTDILKGRKKMT SRPGLELQPFDAIAIKEDLQNRFGDIDECDVASYNMYPKVYEDFQK IREKYGDLVLPKTNFLAPPVTGEEIEVTTIEQGKTLIIKCAQVGD NKATGTREVPYFELNGELRKIPVVDRLKVDIVAKPKADTHDPYQIG APMAGVIVEVKVHKGSLVKKQGPVAVLSAMKMEMVISSPSDGLVKN VTVADGENVDASDLLITLEDREPPK*	14

[Tabla 17]

	Secuencia	SEQ ID NO:
TdePYC-F	5'-CACTTTTTTCAAACATGTCCAAGAACAAGAGGTTTGCT-3'	64
TdaPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAATCGTTTTTCAGCTGGGACAGCCTC-3'	65
TdePYC	MSKNKRFAGLRDNFSLGKKNKLLVANRGEIPIRIFRSAHELSMRT VAIYSHEDRLSMHKLKSDAYVIGEEGKYTPVGAYLAIDEIIEIAK QHNVDFIHPGYGFLSENSEFAKKVADNGITWIGPPADVIDAVGDKV SARNLALKADVPTVPGTPGPIENVQEAKAFVEKYGPVVIKAAFGG GGRGMRVVREGDDIEDAFQRTASEARTAFGNGTCFIERFLVKPKHI EVQLLADNYGNVVHLFERDCSVQRRHQKVVEVAFKILPVEVRNAI LTDAVKLAHTAGYRNAGTAFLVDNQNRHYFIEINPRIQVEHTITE EITGIDIVAAQIQIAAGASLEQLGLMQDRITTRGFQAIQCRITTEDP SKNFQPDGTGRLEVYRSAGGNGVRLDGGNAFAGAIISPHYDSMLVKC SCSSGTYEIVRRKMIRALIEFRIAGVKTNIFFLLTLLTNPFVNGD YWTTFIDDTFQLFQMISSQNRAQKLLHYLADLAVNGSSIKQLGVP KLTTHTPTIPLHDAQGEIINVNSAAPPAGWRQILLDYGPKEFAKQV RDFDGLIMDTTWRDAHQSLLATRVRTYDLAAIAPTTAHALSGAFA LECWGGATFDVAMRFLHEDPWERLRILRLVLPNIPFQMLLRGANGV AYSSLPDNAIDHFVKQAKENGVDIFRVFDALNDLEQLKVGVDVAVK AGGVVEATVCYSGDMLQPGKKYNLDYYLEVTEGKIVEMGTHILGKD MAGTMKPSAARLLIGSIRAKYFDLPPIHVHTHDSAGTAVASMAACAL AGADVVDVATNSMSGTSSQPSMNALLASLDGQINTNIDVQHTRELD AYWAEMRLLYSCFEADLKGPDPVEVYEHEIPGGQLTNLLFQAQQLGL GEKWAETKRAYKEANYLLGDLVKVTPTSKVVGDLAQFMVSNKLTSG DVKRLASSLDPFDSVMDFFEGGLIGQPYGGFPEPLRTDILKNKRAKL TCRPGLLELAPFDLEKIREDLQDRFGDIDECDVASYNMYPKVYEDFH KIKERYGDLVLPSTKNFLSPPKIGEEIEVTIEQKTLIIKHQAVGD LNKETGVREVYFELNGELRKIPVVDKRSQKVESVAKPKADGHDPLQV GAPMAGVIVEVKVHKGSILVKKGEPVAVLSAMKMEMVISAQADGQVK EVYINDGDNVDASDLLVULEEAVPAEN*	15

[Tabla 18]

	Secuencia	SEQ ID NO.
ZroPYC-F	5'-CACTTTTTTCAAACATGAGTACCAAGAAGTTCTCTGGTCT-3'	66
ZroPYC-R	5'-ATCATCCTTGTAATCATTCTCCTTTGGTGGGACGG-3'	67
ZroPYC	MSTKKFSGLRDNFSLGKKNKLLVANRGEIPIRIFRSAHELSMRSV AVYSHEDRLSMHRLKADEAYVIGEEGKYTPVGAYLAIDEIIEIAK HNVDFIHPGYGFLSENSEFAKKVEANGITWIGPPAEVIDSVGDKVS ARNLAAKAHVATVPGTPGPIESVDEAIEFTKKYGFVVIKAAFGGG GRGMRVVREGDDVADAFQRASSEARSSFGNGTCFIERFLVKPKHIE VQLLADNYGNVVHLFERDCSVQRRHQKVVELAPAKALPVETRNAI TDAVKLAKTAGYRNAGTAFLVDNENRHYFIEINPRIQVEHTITEE ITGIDIVAAQIQIAAGASLDQLGLLQDRITTRGFQAIQCRITTEDPS KNFQPDGTGRIEYVRSSGGNGVRLDGGNTYAGAVISPHYDSMLVKCS CSGSTYEIVRRKMIRALVEFRIAGVKTNIFFLLTLLTHPTFVQGGF WTTFIDDTFQLFQMISSQNRAQKLLHYLADLAVNGSSIKGQVGLPK LKTHPTVPRLHGSNGEVIDVLATPPPSGWRQVLEHGPEEFAKRV QFNGCLIMDTTWRDAHQSLLATRVRTYDLAAIAPTTAHALSGAFSL ECWGGATFDVAMRFLHEDPWERLRILRLVLPNVFFQMLLRGANGVA YSSLPDNAIDHFVKQAKENGVDIFRVFDALNDLDQLKVGVDVAVKKA GGVVEATVCYSGDMLQPGKKYNLDYYLEVTEQIVKMGTFLGIDKM AGTMKFAAAKLLVGSIRAKYPNLPPIHVHTHDSAGTGVASMAACAVS GADVVDVAVNSMSGTSSQPCMNALLASLDGEINTGINANYARELDA YWAEMRLLYSCFDTDLKGPDPVEVYEHEIPGGQLTNLLFQAQQLGLG EKWIETKAYKEANYLLGDLVKVTPTSKVVGDLAQFMVSNKLTSSD VRRLANSLDPFDSVMDFFEGGLIGQPYGGFPEPLRSDVLNKNRKL NRPGLDLAPFDLEAVREDLQDRFGDTDECDVASYNMYPKVYEDFQK IKEQPGDLSVLPTKNFLSPPGIGEEIEVTIEQKTLIIKHQAVGDL NKETGMREVYFELNGELRKIPVVDKRSQKVEIVSKPKADGHDVQVQ APMAGVIVEIKVHKGSILVKKGEPVAVLSAMKMEMVISAQTDGQVKE VLANGDNVDASDLLVTLEDVAPPKEN*	16

[Tabla 19]

	Secuencia	SEQ ID NO:
AfuMDH-F	5'-ACTTTTTCAAACATGAAACTCGGTTTTGTTGGTGC-3'	68
AfuMDH-R	5'-ATCATCATCATCCTTGTAATCATATCCGAGTTCCTCAAGCCTC TC-3'	69
AfuMDH	MKLGFPVGAGRVGSTSAFTCLLNLDVDEIALVDIAEDLAVGEAMDLA HAAAGIDKYPKIVGGADYSLLKGSEIIVVTAGLARKPGMTRLDLAH KNAGI IKDI AKKIVENAPESKILVVTNPMDMVTYIMWKESGKPRNE VFGMGNLDSQRLKERLYNAGARNIRRAWIIGEHGDSMEFAKSLAD FDGEVDWEAVENDVRFVAAEVIKRKGATIFGPAVAIYRMVKAVVED TGEI IPTSMILQGEYGIENVAVGVPKLGKNGAEVADIKLSDEEIE KLRNSAKILRERLEELGY*	17

[Tabla 20]

	Secuencia	SEQ ID NO:
CliMDH-F	5'-ACTTTTTCAAACATGAAAGCACCTGTTCCGCGT-3'	70
CliMDH-R	5'-ATCATCATCATCCTTGTAATCGGGCAGAAGGTCTGCCACG-3'	71
CliMDH	MKAPVRVTVTGAAGQIGYALLFRIASGAMLGDDQPVLHLLDITPA MDALEGVRMELDDCAFFLLAGIVCTDDPNVGFKDADYALLVGARPR GPGMERKDLLEANAIFSVQGKAINDHASRDIRVLVVGNPANTNAL ITQRNAPDIDPRNFTAMMRDLHNRAKTQIAQKLDAPVTAVSTMTVW GNHSATQYPDLHSTVNGKVAVDAVEQQWYEDEFIPTVQQRGAII KARGASSAASAANAIDHMRDWAIGTFEGDWVSMGVYSDGSYGIAE GLIYSFPCCRCSGGDWSIVQGLEINDFSRGRMQATEQELTEERDAVA DLLP*	18

[Tabla 21]

	Secuencia	SEQ ID NO:
DacMDH-F	5'-ACTTTTTCAAACATGAGCAAGAAGCCCGTTCG-3'	72
DacMDH-R	5'-ATCATCATCATCCTTGTAATCCAGCAGGTGCTTGACGCC-3'	73
DacMDH	MSKKPVRVAVTGAAGQIGYALLFRIASGEMLGKDDQPVLQLEIPD EKAQNALKGVIMELEDCAFFLLAGIEAHSDDLQAFKDTDYALLVGA RPRGPGMERADLLAANAQIFTAQGKALNAAASRNKVLVVGNPANT NAYIAMKSAPOLPKNFTAMLRDLHNRAASQLAAKAGEKVGDIRKL TVWGNHSPTMYADYRFATVNGESVKAINDQAWNKDVELPTVGKRG AAIIAARGLSSAASAANAIDHMRDWAIGSGGEWVTMGVPSNGEYG IPAGIVFGFPVTTENGKEYKIVEGLEIDAFSQECIDKTLAELQGEQD GVKHL*	19

[Tabla 22]

	Secuencia	SEQ ID NO:
HeiMDH-F	5'-ACTTTTTCAAACATGAAAGACCCCGTCCGTATAGC-3'	74
HeiMDH-R	5'-ATCATCATCATCCTTGTAATCGCCAAGCAGATGCTCGACG-3'	75
HeiMDH	MKDFVRIAITGAAGQISYSLAFRIASGDMLGKDDQPVLQLEIPPA MDALNGVVMELNDCAFFLVQDIVASDDPNVAFKDAFALLVGARPR GPGMERKDLLEANAIFSVQGKALNDHASRDVRVLVVGNPANTNAL IASCNAPDLDAQOFTAMMRDLHNRAKTQLAQKVGKHVTDVESMIVW GNHSATQYPDLAHCKVDGKPALELVQAWYENDFIPTVQQRGAII KARGASSAASAASAANAIDHMRDWAIGSDGIVSMGIPADGSYGIEPGI MYSYPVVKNGQYEIVQDLEIGDPSRERMNATEQELREERDAVEHL LG*	20

[Tabla 23]

	Secuencia	SEQ ID NO:
SpuMDH-F	5'-ACTTTTTCAAACATGAAAGTTGCTGTACTTGGTGC-3'	76
SpuMDH-R	5'-ATCATCATCATCCTTGTAACTTTAAGAAATCAACGCCTAGT TTGATATC-3'	77
SpuMDH	MKVAVLGAAGGIGQALALLKLTQLPAGSKLSLYDIAPVTPGVAVDL SHIPTAVEIKGFAGEDPTPALVGADVVLISAGVARKPGMDRSDLFN INAGIVRNLIKVAATCPKALVGIITNPVNTTVAIAAEVMKKAGVY DKNRLFVVTTLDVIRSETFAELKGLNVADVKNINVICGHSVLTLP LLSQVEGVTFSDDEVASLTKRIQAGTEVVEAKAGGGSATLSMGQA ACRFGMSLVRLQGEANVVECAVVDGGSEHAEFFAQPVLLGKNGIE KVLPHYGEVSAFEANARDSMLDITLKGDIKLGVDVVK*	21

[0164] El nombre y el hospedador de cada uno de los transformantes fabricados y el nombre del gen extraño introducido se muestran en la tabla 24.

5

[Tabla 24]

Nombre de la cepa transformante	Nombre de la cepa hospedadora	Nombre de los genes extraños introducidos
1	IGF836	AniPYC
2	IQFB36	BbrPYC
3	IGF836	DhaPYG
4	1GFS3B	KlaPYC
5	JGJF836	LthPYC
6	1GFS36	LeiPYC
7	IGF83 β	ScePYC
8	IGF836	CorPYC
9	IGF836	CtrPYC
10	Σ GF836	NcaPYC
11	IQP83 β	NdaPYC
12	IGFS36	SkuPYC
13	IGF836	SpoPYC
14	IGF836	TblPYC
15	EGF83 β	TdePYC
16	IGFS36	ZroPYC
17	IGF83 β	AfuMDH
18	IGF836	CliMDH
19	1GF836	DacMDH
20	1GF83S	Hs1MDH
21	IGF836	SpuMDH
ASP4491	1GF836	ScePYC. DacMDH

<Confirmación de la expresión de PYC>

- 10 **[0165]** Para 16 tipos de transformante en los que solo se introdujo el gen PYC, se confirmó una cantidad de expresión de PYC. Específicamente, cada uno de los transformantes se cultivó con agitación durante 44 horas en 20 ml de un medio YPD6, y las células microbianas cultivadas a continuación se recogieron y pulverizaron usando un amortiguador de múltiples perlas. El lisado de células microbianas obtenido se purificó según un protocolo mediante el uso de gel de afinidad de agarosa al M1 de ANTI-FLAG (marca registrada) (fabricado por Sigma-Aldrich Co. LLC.).
- 15 La SDS-PAGE se realizó usando un líquido enzimático purificado, y la banda detectada se digitalizó usando un dispositivo de análisis de imágenes LAS 4000, calculando así una cantidad de expresión relativa. Los resultados de la cantidad de expresión de PYC (valores relativos) para cada uno de los transformantes se muestran en la figura 2. Los resultados muestran que la expresión de PYC se confirmó en todos los transformantes.

20 <Confirmación de la actividad de PYC>

[0166] Entre los 16 tipos de transformante en los que solo se introdujo el gen PYC, se investigaron 8 tipos de transformante que provocaron la expresión de BbrPYC, KluPYC, LthPYC, LeiPYC, ScePYC, SkuPYC, SpoPYC o TblPYC con respecto a la actividad de PYC. Específicamente, el líquido enzimático purificado mencionado anteriormente se mezcló con una solución de reacción mantenida

a 30 °C (Tris-HCl 100 mM (pH 7,5), ATP 2 mM, MgCl₂ 100 mM, KCl 100 mM, ácido pirúvico 5 mM, NaHCO₃ 5 mM, acetil-CoA 0,1 mM, NADH 0,15 mM), y a continuación se midió a lo largo del tiempo mediante el uso de un absorptómetro que tiene una función de mezcla. A partir del cambio temporal de absorbancia obtenido, se calculó una actividad relativa (mU/ml) por líquido enzimático. Los resultados de la actividad de PYC por líquido enzimático calculados para cada uno de los transformantes se muestran en la figura 3. Los resultados muestran que la actividad de PYC se confirmó en todos los transformantes.

<Confirmación de la expresión de MDH>

[0167] Para 5 tipos de transformante en los que solo se introdujo el gen MDH, se confirmó una cantidad de expresión de MDH. Específicamente, cada uno de los transformantes se cultivó de la misma manera que se describe en, <Confirmación de la expresión de PYC>, se preparó un líquido enzimático purificado, se realizó la SDS-PAGE usando el líquido enzimático y se calculó una cantidad de expresión relativa. Los resultados de la cantidad de expresión de MDH (valores relativos) para cada uno de los transformantes se muestran en la figura 4. Los resultados muestran que la expresión de MDH se confirmó en todos los transformantes. <Confirmación de la actividad de MDH>

[0168] Entre los 5 tipos de transformadores en los que solo se introdujo el gen MDH, se investigaron 3 tipos de transformante que provocaron la expresión de CiiMDH, DacMDH o HelMDH con respecto a la actividad de MDH. Específicamente, el líquido enzimático purificado mencionado anteriormente se mezcló con una solución de reacción mantenida a 30 °C (Tris-HCl 90 mM (pH 9,0), oxaloacetato 0,5 mM, NADH 0,25 mM) y a continuación se midió a lo largo del tiempo mediante el uso de un absorptómetro que tiene una función de mezcla. A partir del cambio temporal de absorbancia obtenido, se calculó una actividad relativa (mU/ml) por líquido enzimático. Los resultados de la actividad de MDH por líquido enzimático calculados para cada uno de los transformantes se muestran en la figura 5. Los resultados muestran que la actividad de MDH se confirmó en todos los transformantes.

[Ejemplo 3] Preparación de la cepa de eliminación de mae2

[0169] Al eliminar un gen mae2 de la cepa ASP4491 en la que se introdujeron un gen ScePYC y un gen DacMDH, se preparó una cepa de eliminación (cepa ASP4964). Un procedimiento para preparar un fragmento de eliminación de mae2 fue el mismo que el procedimiento para preparar el fragmento de eliminación del que se eliminó pdc2.

[0170] La cepa ASP4491 (genotipo: h⁻, leu1-32, ura4-D18, Ade6-M216, Δpdc2, +ScePYC, +DacMDH) de *S. pombe* se transformó según el procedimiento de Latour, preparando así una cepa ASP4964 de la que se eliminó un gen mae2 (nombre de la cepa:SPCC794. 12c).

[0171] Para preparar un fragmento de eliminación, se utilizó como plantilla el ADN genómico total preparado a partir de una cepa ARC032 de *S. pombe* mediante el uso de DNeasy (fabricado por QUIAGEN), y se utilizaron 8 tipos de ADN oligo sintético (fabricado por Operon Biotechnologies) con las secuencias de bases mostradas en la tabla 25.

[Tabla 25]

ADN de oligo para preparar el fragmento de eliminación de name2		
ADN de oligo	Secuencia de bases	SEQ ID NO:
UF	5'-AGGCTTTGATAGCCACTGGT-3'	78
UR	5' -TGGGATTTGTAGCTAAGCTTTAAATAAAAGGCFTTTATAC-3'	79
OF	5'-TTCGTCAATATCACAAGCTTAGGTCGACTGGGCTAATCG-3'	80
OR	5'-TAAATAAAAGGCTTTATACAGGCATTTTCAAACCTTCAAG-3'	81
DF	5'-CTTGAAGTTTGAAATGCCTGTATAAGCCTTTTATTTTA-3'	82
DR	5' -TTCATTCAATACATAACGGTTTACGGT-3'	83
FF	5'-ATTCGTGAAATGAGCAAGCA-3'	84
FR	5'-TGCGATTACTATTTGTTTGTTC-3'	85

[Ejemplo 4] Preparación de la cepa de eliminación de fum1

[0172] Al eliminar un gen fum1 de la cepa ASP4491 en la que se introdujeron un gen ScePYC y un gen DacMDH, se preparó una cepa de eliminación (cepa ASP4933). Fum1 es una enzima que produce ácido fumárico mediante el uso de ácido málico como matriz. Un procedimiento para preparar un fragmento de eliminación de fum1 es el mismo que el procedimiento para preparar el fragmento de eliminación del que se eliminó pdc2.

[0173] La cepa ASP4491 de *S. pombe* se transformó según el procedimiento de Latour, preparando así una cepa ASP4933 de la que se eliminó un gen fum1 (nombre de la cepa: SPCC18. 18c/SPCC290. 01c).

[0174] Para preparar un fragmento de eliminación, se utilizó como plantilla el ADN genómico total preparado a partir de una cepa ARC032 de *S. pombe* mediante el uso de DNeasy (fabricado por QUIAGEN), y se utilizaron 8 tipos de ADN oligo sintético (fabricado por Operon Biotechnologies) con las secuencias de bases mostradas en la tabla 26.

[Tabla 26]

ADN de oligo para preparar el fragmento de eliminación de fum1		
ADN de oligo	Secuencia de bases	SEQ ID NO:
UF	5'-CTCAAGTAATGGGCAATCATGCCA-3'	86
UR	5'-TGGGATTTGTAGCTAAGCTTAGAGTGGTAAAAAATTATAC-3'	87
OF	5'-TTCGTCAATATCACAAAGCTTAATAAAATACACAAACTGT-3'	88
OR	5'-AGAGTGGTAAAAAATTATACAGCCATGTGGGTATTTTAA-3'	89
DF	5'-TTAAAATAACCCACATGGCTGTATAATTTTTTACCACTCT-3'	90
DR	5'-GAGCAACCGAATATCAAGGAAATACACA-3'	91
FF	5'-AGGCGAATTGATCCTTCCTGCTA-3'	92
FR	5'-TGGTAAGCCTGGTATGAGTTCTATACTAT-3'	93

<Confirmación de la capacidad de producción de ácido málico>

[0175] Para una cepa salvaje (cepa ARC010) de *S. pombe*, la cepa de eliminación del gen PDC2 (cepa ASP4590, ΔPDC2), la cepa ASP4491 obtenida mediante la introducción de un gen ScePYC y un gen DacMDH en la cepa ASP4590, la cepa ASP4964 (ΔPDC2, Δmae2, +ScePYC, +DacMDH) obtenida mediante la eliminación de un gen mae2 de la cepa ASP4491 y la cepa ASP4933 (ΔPDC2, Δfum1, +ScePYC, +DacMDH) obtenida mediante la eliminación de un gen fum1 de la cepa ASP4491, se investigó una tasa de producción de ácido málico.

[0176] Específicamente, las células microbianas se sembraron en una placa YES y se cultivaron durante 96 horas a 30 °C, obteniendo así una colonia. La colonia obtenida se subcultivó en 5 ml de un medio YES (tubo de ensayo) y se cultivó con agitación durante 24 horas a 30 °C. La solución microbiana obtenida se subcultivó en 100 ml de un medio YPD6 (matraz Sakaguchi) y se cultivó con agitación durante 44 horas a 30 °C.

[0177] Las células microbianas obtenidas de esta manera se recogieron, se agregaron a 3 ml de un medio de fermentación (100 g/l de glucosa, 111 g/l de carbonato de calcio) en el tubo de ensayo para proporcionar 36 g (peso de células microbianas secas)/l y se fermentaron a 30 °C en condiciones de agitación. Se recogió una muestra en el tiempo del líquido fermentado.

[0178] Para la muestra obtenida, se midieron una concentración de glucosa y una concentración de etanol usando un biosensor BF-7 (fabricado por Oji Scientific Instruments) basado en un procedimiento de electrodo enzimático, y se midió una concentración de ácido málico mediante HPLC. Durante la medición de HPLC, se utilizó un cromatógrafo líquido de alto rendimiento Prominence (fabricado por Shimadzu Corporation), se utilizó Aminex HPX-87H 300 3 7,8 mm (fabricado por Bio-Rad Laboratories, Inc.) como columna, se estableció un volumen de inyección a 10 ml, se utilizó H₂SO₄ 10 mM como disolvente, se estableció un caudal a 0,6 ml/min, se estableció un tiempo de medición a 35 minutos, se estableció una temperatura de medición a 60 °C y se utilizó un detector de matriz de diodos (210 nm) y un detector refractométrico diferencial para la detección. Cada concentración es una concentración por solución de cultivo o líquido fermentado.

[0179] Los resultados medidos de la concentración de glucosa (g/l), la concentración de etanol (g/l) y una concentración de ácido málico (g/l) se muestran en las figuras 6 a 10. Los resultados muestran que la producción de ácido málico se confirmó solo en la cepa ASP4964 (ΔPDC2, Δmae2, +ScePYC, +DacMDH).

<Medición de la tasa de producción de ácido málico>

[0180] Para la cepa ASP4491 (Δ PDC2, +ScePYC, +DacMDH) y la cepa ASP4892 (Δ PDC2, Δ mae2, +ScePYC, +DacMDH), se midió una tasa de producción de ácido málico.

5

[0181] Específicamente, cada cepa se fermentó de la misma manera que en, <Confirmación de la capacidad de producción de ácido málico>, se recogió una muestra en el tiempo del líquido fermentado y se midieron una concentración de glucosa y una concentración de ácido málico. Los resultados medidos se muestran en la figura 11. En la figura 11, "Glu-4892" y "Glu-4491" muestran un cambio temporal de una concentración de glucosa de la cepa ASP4892 y la cepa ASP4491 respectivamente, y "MA-4892" y "MA-4491" muestran un cambio temporal de una concentración de ácido málico de la cepa ASP4892 y la cepa ASP4491 respectivamente. Como resultado, se confirmó que en un momento en el que transcurrió 1 hora desde el inicio de la fermentación, una concentración de ácido málico del líquido fermentado de la cepa ASP4892 superó los 20 g/l, y una tasa de producción de ácido málico de la misma fue igual o superior a 20 g/(l·h). Además, en un momento en el que transcurrieron 2 horas, una concentración de ácido málico del líquido fermentado se convirtió en 28,9 g/l. En contraste, en el líquido fermentado de la cepa ASP4491, una concentración de ácido málico fue de 3,9 g/l en un momento en el que transcurrieron 2 horas.

[Ejemplo 5] Preparación de la cepa de introducción de PCK

[0182] Se prepararon transformantes de *pombe* (tabla 47) en los que se introdujo PCK derivada de *Candida glabrata* (CglPCK) (SEQ ID NO:94), PCK derivada de *Citrobacter koseri* (CkoPCK) (SEQ ID NO:95), PCK derivada de *Cronobacter sakazaki* (CsaPCK) (SEQ ID NO:96), PCK derivada de *Debaryomyces hansenii* (DhaPCK) (SEQ ID NO:97), PCK derivada de *Escherichia fergusonii* (EfePCK) (SEQ ID NO:98), PCK derivada de *Edwardsiella tarda* (EtaPCK) (SEQ ID NO:99), PCK derivada de *Kluyveromyces lactis* (KlaPCK) (SEQ ID NO:100), PCK derivada de *Lodderomyces elongisporus* (LelPCK) (SEQ ID NO:101), PCK derivada de *Pectobacterium carotovorum* (PcaPCK) (SEQ ID NO:102), PCK derivada de *Photobacterium leiognathi* (PlePCK) (SEQ ID NO:103), PCK derivada de *Providencia rettgeri* (Pre-PCK) (SEQ ID NO:104), PCK derivada de *Saccharomyces cerevisiae* (ScePCK) (SEQ ID NO:105), PCK derivada de *Serratia odorifera* (SodPCK) (SEQ ID NO:106), PCK derivada de *Vibrio orientalis* (VorPCK) (SEQ ID NO:107), PCK derivada de *Vanderwaltozyma polyspora* (VpoPCK) (SEQ ID NO:108), PCK derivada de *Vibrio tubiashii* (VtuPCK) (SEQ ID NO:109), PCK derivada de *Yersinia bercovieri* (YbePCK) (SEQ ID NO:110), PCK derivada de *Yarrowia lipolytica* (YliPCK) (SEQ ID NO:111), PCK derivada de *Yersinia rohdei* (YroPCK) (SEQ ID NO:112) o PCK derivada de *Zygosaccharomyces rouxii* (ZroPCK) (SEQ ID NO:113).

[0183] Específicamente, la cepa IGF836 (cepa de eliminación génica de *S. pombe*) preparada en el ejemplo 1 se transformó según el procedimiento de Bahler y col. (la revista Yeast, 1998, vol. 14, págs. 943-951) mediante el uso de un digesto de una enzima de restricción BsiWI de cada vector recombinante integrador monodentado que retiene cada casete de expresión del gen PCK descrito en la tabla 47.

[0184] pSLh-CglPCK se preparó a través del siguiente procedimiento. En primer lugar, mediante el uso de ADN genómico total preparado por DNeasy (fabricado por QUIAGEN) a partir del cultivo de *Candida glabrata* como plantilla y el uso de 2 tipos de ADN oligo sintético (CglPCK-F y CglPCK-R, fabricado por Operon Biotechnologies) descrito en la tabla 27, se obtuvo un fragmento de ORF de un gen CglPCK mediante un procedimiento de RCP utilizando KOD-Dash (fabricado por TOYOBO CO., LTD.). El fragmento de ORF codificaba CglPCK (SEQ ID NO:94).

45

[Tabla 27]

	Sequence	SEQ ID NO:
CglPCK-F	5'- GACACTTTTTCAAAATGCCATCTAAATCTAGTGTTTCTGGG-3'	114
CglPCK-R	5'-GAAATCAACTTTTGTTCGAATTGTGGACCAGCAGCCAA-3'	115
CglPCK	MPSKSSVSGNSVEERIRSELGLSKEVTLIRRNAPAAVLYQDALKEK KTVISSAGALIAYSGETGRSPKDKRIVEEETSRDNVWVWGPVKNKPC SERTWAINRERAADYLRTRTLYVDAFAGWDPKYRIKVRVVCARA YHALFMTNMLIRPTEELANFGEPDFTVWNAGQFPANARTQDMTSK TTIEINFKAMENVILGTEYAGEMKKGIFTVMFYLMFVHHNVLTLS SCNQGIKNGDVTLLFFGLSGTGKTTLSADPHRLIGDDHCWSDEGV FNIEGGCYAKCINLSREKEPEIFDAIRFGSVLENVIIYDSSESHEVDY DDSSITENTRCAYPIDFIPSAKIPCLAPAHKNIILLTCDASGVLP PVSKLTPEQVMYHFISGYTSKMAGTEQGVTEPEPTFSSCFGQPFLS LHPMRYATMLAEKMHESANAWLINTGWTGSSYVSGGKRCALKYTR AILDAIHGSLAKAEFESLPIFNLQVPKAVEGVPSSELLNPARNWSE GEAKYQSAVSKLAGLFVENFKTYQDKATSDVLAAGPQL*	94

[0185] Mediante el mismo procedimiento que se describió anteriormente, se prepararon un vector recombinante integrador monodentado pSLh-CkoPCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-CsaPCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-DhaPCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-EfePCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-EtaPCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-KlaPCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-LeiPCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-PcaPCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-PlePCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-PrePCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-ScePCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-SodPCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-VorPCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-VpoPCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-VtuPCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-YbePCK, un vector recombinante integrador monodentado pSMh-YliPCK, un vector recombinante integrador monodentado pSMh-YroPCK y un vector recombinante integrador monodentado pSMh-ZroPCK. A continuación, se enumerarán los conjuntos de cebadores que utilizan los vectores respectivos.

15

[Tabla 28]

Secuencia	SEQ ID NO:	
CkoPCK-F	5'-GACACTTTTTCAAATGCGCGTTAACAGCTTAACCC-3'	116
CkoPCK-R	5'-GAAATCAACTTTTGTTCAGCTTCGGCCCGGC-3'	117
CkoPGK	MRVNSLTPQDLKAYGINDVQDIVYNPSYDLLYQEELDPTLEGYERG VLTNLGAVAVDTGIFTGRSPKDKYIVRDDTTTRDTLWWSGKGGKND NKPLSQETWQHLKGLVTQQLSGKRLFIIDAFCGANADTRLSVRFIT EVAWQAHFVKNMFIRPADEELVDFKPDFIVMNGAKCTNPQWKEQGL NSENFAFNLTERIQIGGTWYGGEMKKGMFVSMNYLLPLKGIASM HCSANVGEKGDVAVFFGLSGTGKTTLSTDPKRRLIGDDEHGWDDDG VFNFEGGCYAKTIKLSKEAPEIYNNAIRRDALLENVTVREDGSIDE DDGSKTENTRVSYPIYHIDNIVKPVSKAGHATKVIIFLTADAFGVLP PVSRLTADQTQYHFLSGFTAKLAGTERGVTEPTPTFSACFGAAFLS LHPTQYAEVLVKRMQAAGAQAYLVNTGWNNGTGKRISIKDTRAIIDA ILNGSLDNAETFNLPMDLAIPTLPGVETRILDPNTYASPEQWQ EKATALAKLFVENFEKYTDTPAGEALVSAGPKL*	95

[Tabla 29]

	Secuencia	SEQ ID NO.
CsaPCK-F	5'-GACACTTTTTCAAATGCGAGTTACAGGCATAACCC-3'	118
CsaPCK-R	5'-GAAATCAACTTTTGTTCGCGCTGTGGGCCTGC-3'	119
CsaPCK	MRTVGITPQDLKAYGINDVQEVVYNPDYDTLYREELDPSLEGYERG VLTDLGAVAVDTGIFTGRSPKDKYIVRDDTTTRDTLWWSGNGKGGKND NKPLTPETWQHLKGLVTQQLSGKRLFIIDAFCGANPDSRLSVRFIT EVAWQAHFVKNMFIRPSEDELEGFEFDFIVMNGAKCTNPDWQEQGL NSENFAFNLTERMQLIGGTWYGGEMKKGMFSIMNYLLPLKGIASM HCSANVGEKGDVAVFFGLSGTGKTTLSTDPKRRLIGDDEHGWDDDG VFNFEGGCYAKTIRLSEEAEPDIYHAIRRDALLENVTVRDDGSIDE DDASKTENTRVSYPIYHIDNIVKPVSKAGHATKVIIFLTADAFGVLP PVSRLTASQTQYHFLSGFTAKLAGTERGVTEPTPTFSACFGAAFLM LHPTQYSEVLVKRMQAAGAQAYLVNTGWNNGTGKRISIKDTRAIIDA ILNGSLDDAETFTLPLFNLAIPTSLPGVDERILDPNTYASPEQWQ EKAQOLAOLFISNFEKYTDTPAGEALVSAGPQR*	96

[Tabla 30]

	Secuencia	SEQ ID NO:
DhaPCK-F	5'-GACACTTTTTCAAATGACACCTCCTACTGCTGTTGA-3'	120
DhaPCK-R	5'-GAAATCAACTTTTGTTCAGCATCAGGACCAGCAGC-3'	121

(continuación)

	Secuencia	SEQ ID NO:
PhaPCK	MTPPTAVESSINFGGHPTIKSTAEPVVKQLSLADDTVIRHNAPPPT LYEDGLLEKGTVISSTGALMAYSGKKTGRSPKDKRIVDEETSTQNI WWGPVNKQVDELTWKISRSRALDYLRTREKLFVVDDAYAGWDPYRL KIRVICARAYHALFMTNMLIRPTEBELKNFGEPTFTIYNAGQFPAN VHTKGMTSSTSVEINFKDMEMVILGTEYAGEMKKGIFTVMFYLMPI KHKILTLHSSANQGEQKGDVTLFFGLSGTGKTTLSADPNRKLIGDD EHCWSDNGVFNIEGGCYAKCLDLAEKEPEIFNSIKFGAILENVVY DQNSKVVDYADSTITENTRCAYPIDFIPSAKIPCLADEHPTNIVLL TCDASGVLPPVSKLTNAQVMYHFISGYTSKMAGTEEGVTEPQATFS ACFGQPFVLVHPMKYAQQLSDKISKHNANAWLLNTGWVGASAAQGG NRCSLKYTRAILDAIHSGELSKVEFENFPTFNLNVPKSCPNVPSEI LNPTKAWTEGDASFQKEIKSLAGKFAENFTKYADQATTEVKAAGPD A*	97

[Tabla 31]

	Secuencia	SEQ ID NO:
EfePCK-F	5'-GACACTTTTTTCAAAATGCGCGTGAACAAAAGTTTAACC-3'	122
EfePCK-R	5' - GAAATCAACTTTTGTTCATCTTCGGACCTGCTTCTACCA - 3'	123
EfePCK	MRVNSLTPQDL MAYGINDVQDIVYNPSYDLLFQEELDENLKG YER GVLTLN LGAVAVDTGVFTGRSPKDKYIVRDDTTTRDTFWWADKKGKGN DNKPLSPETWQHLKGLVTNQLSGKRLFFVDAFCGANADTRLSVRFI TEVAWQAHFVKNMFI RPTDEELVDPEPDI VMNGAKCTNPQWKEQG LNSENFVAFNLTERMQ LIGGTWYGGEMKKG MFSMMNYLLPLKGIAS MHCSANVGEKGDVAVFFGLSGTGKTTLSTDPKRR LIGDDEHGWDDD GVFNFE GGCYAKTIKLSKEAEPEIYNAI RR DALLE NVTVREDGTID FDDGSKTENTRVSYPIYHIDNIVKPVSKAGHATKVIFLTADAFGV L SLHPTQYAEVLVKRMQAAGAQA YLVNTGWN GTGKRISIKDTRAILD AILNGSLD NAETFTLPMFNLAIFTELP GVDTEILDPRNTYASPEQW QEKAETLAKLFIDNFDKYTDT PAGAALVEAGPKM*	98

[Tabla 32]

	Secuencia	SEQ ID NO:
EtaPCK-F	5'-GACACTTTTTTCAAAATGCATGCCACTGGCTTAAC-3'	124
EtaPCK-R	5'-GAAATCAACTTTTGTTCACGTTGTGGGCCGGCA-3'	125
EtaPCK	MHATGLTAADLAS YGISDVTEIVYNPDYDLLFKEETAPGLQGYERG TVTTLGAVAVDTGI FTGRSPKDKYLVRDDTTTRDTVWWS DQGKGKND NHPLSPEIWQHLKGLVTRQLSNKRLFFVDAYCGANPDSRLKVRFIT EVAWQAHFVKNMFI RPTDELAGFEPDI VMNGAKCTNPQWQE QGL NSENFVAFNLTERIQLIGGTWYGGEMKKG MFSIMNYLLPLKGIASM HCSANVGEKGDVAVFFGLSGTGKTTLSTDPKRR LIGDDEHGWDDD VFNFE GGCYAKTIKLSAEAEPIYHAI TRDALLE NVTVRADGSVDF DDGSKTENTRVSYPIYHIKNIVKPVSKAGHAKKVIFLTADAFGVLP FVSRLTADQTQYHFLSGFTAKLAGTERGVTEPTPTFSACFGAAFLT LHPTQYAEVLVKRMQAAGAQA YLVNTGWN GSGKRISIKDTRAIIDA ILNGDIDKEETFTLPIFNLA VPTALPGVNPAILDPRD TYASPEMWQ EKADDLAQRFITNFDKYTDT PAGAALVHAGPQR*	99

[Tabla 33]

	Secuencia	SEQ ID NO:
KlaPCK-F	5' - GACACTTTTTTCAAAATGTCACTCACTAAGACACAAAATTCTG - 3'	126

(continuación)

	Secuencia	SEQ ID NO:
KlaPCK-R	5' - GAAATCAACTTTTGTCTAATTGCGGACCAGCAGCTAAG - 3'	127
KlaPCK	MSPTKTQNSAEENIRAEGLSABEVVTIRRNAPALLYEDALKERDT AISNAGALIAYS GDKTGRSPDKRIVEEETSKDNVWVGFPVKNPCSE RTWEINRERAADYLRTRDHIYIVDAYAGWDPYRIKVRVVCARAYH ALFMTNMLIRPSKEELENFGE PDFTVWVWAGQFPANTHTSGMTSKTT VEINFKQMEMVILGTEYAGEMKKGIFTVMFYLMFVNHNVLTLHSSA NQGIQDNDVTLFFGLSGTGKTTLSADPHRLIGDDEHCWSDHGVFN IEGGCYAKCLGLSAEKEPEIFNAIKFGSVLENIIYDPNTRVEDYED STITENTRCAYPIEYIPSAKIPCLADHHPKNIVLLTCDASGVLPV SKLTPDQVMYHFISGYTSKMAGTEQGVTEPEATFSSCFGQPFSLH PMKYATMLAEKMAEHNANAWLINTGWTGSSYVAGGKRCPLKYTRAI LDAIHGSLAKEEYEVLPFI FNLQIPKAVGDKVPASLLNPSKNWABG EAKYTSNVKSLANLFVENFKTYQDKATEQVLAAGPQL*	100

[Tabla 34]

	Secuencia	SEQ ID NO:
LeiPCK-F	5'-GACACTTTTTCAAATGGCACCCCCAGCAGTA -3'	128
LeiPGK-R	5'-GAAATCAACTTTTGTTCACATCGGGTCCAGCAGCT -3'	129
LeiPCK	MAPPVESTINFEGHPSIKTTVDPLVKKLNLKGD TVIRHNAPPPTL YEDGLLEKGT TISSTGALMAYSGEKTGRSPDKRIVDEETSSQHIW WGPVKNQVDEL TWKISRSRALDYLR TREKLFVVD AFAGWDPKYRIK VRIICARAYHALFMTNMLIRPTKEELENFGE PDFTIYNAGQFPANV HTKGMTSSTSVEINFKDMEMVILGTEYAGEMKKGIFTVMFYLMPIK NKVLT LHSSANEGESGDVTLFFGLSGTGKTTLSADPNRKLIGDDEH CWS DHGVFNIEGGCYAKCLDLSAEKEPEIFNSIRFGSVLENVYDP ATKVVDYEDSSITENTRC SYPIEYIPSLKIPCVGGHHPKNIVLLTCD ASGVLPVSKLTPAQVMYHFISGYTSKMAGTEMGITEPTPAFSACF GQPFVLVHPMKYAQQLAEKIEQHKANAYLLNTGWSGVGAAGGKRC PLKYTRAILDAIHSGELDSADTQVFSTFNLHVPKEIKGVPLEVLHP EVDKKEVAALAAKFAENFVKYADQATAEVKAAGPDV*	101

[Tabla 35]

	Secuencia	SEQ ID NO:
PcaPCK-F	5'-GACACTTTTTCAAATGCAGATCAACGGTATTACCCC-3'	130
PcaPCK-R	5'-GAAATCAACTTTTGTTCGCGCTTCGGCCCTGC-3'	131
PcaPCK	MAPPVESTINFEGHPSIKTTVDPLVKKLNLKGD TVIRHNAPPPTL YEDGLLEKGT TISSTGALMAYSGEKTGRSPDKRIVDEETSSQHIW WGPVKNQVDEL TWKISRSRALDYLR TREKLFVVD AFAGWDPKYRIK VRIICARAYHALFMTNMLIRPTKEELENFGE PDFTIYNAGQFPANV HTKGMTSSTSVEINFKDMEMVILGTEYAGEMKKGIFTVMFYLMPIK NKVLT LHSSANEGESGDVTLFFGLSGTGKTTLSADPNRKLIGDDEH CWS DHGVFNIEGGCYAKCLDLSAEKEPEIFNSIRFGSVLENVYDP ATKVVDYEDSSITENTRC SYPIEYIPSLKIPCVGGHHPKNIVLLTCD ASGVLPVSKLTPAQVMYHFISGYTSKMAGTEMGITEPTPAFSACF GQPFVLVHPMKYAQQLAEKIEQHKANAYLLNTGWSGVGAAGGKRC PLKYTRAILDAIHSGELDSADTQVFSTFNLHVPKEIKGVPLEVLHP EVDKKEVAALAAKFAENFVKYADQATAEVKAAGPDV*	102

[Tabla 36]

	Secuencia	SEQ ID NO:
PlePCK-F	5' - GACACTTTTTCAAATGAGCAGATGTGTGTCGATAATAA - 3'	132
PlePCK-R	5' - GAAATCAACTTTTGTTCGTCTAACTGTGGTCCGGCTTAAAC -3'	133
PlePCK	MSTMCVDNKVATNMDSLQYGI LNVTDVIRNPSYEMLFEEETKAELEK GFEKGIVTELGA VAVDTGIFTGRSPQDKFIVKDDTTKDTLWWSDDQ KNDNKALSQGA WNDLKS LVTTLQSLNKRLEFVVDGYCGANPDTRLCIR VITEVAVQAHFVKNM FIRPTEAELDTFEPDFVIMNGSKCTNPKWQE HGMNSENFTTVFNLSEKMLIGGTWYGGEMKKGMFAMMNYFLPLKDI ASMHC SANMGEAGDVAIFFGLSGTGKTTLSTDPKRALIGDDEHGWN DNGVFNFEGGCYAKTINLSKEAEPDIYNAIIRDALLENVTVRGDGS IDFNDNSKTENTRVSYP IYHIDNIVKPVSKGGHANKVIFLSADAFG VLPPVSKLTPEQTKYHFLSGFTAKLAGTERGITEPTPTFSACFGNA FLTLHPTQYAEVLVKRMEAGAEAYLVNTGWNGTGKRISIQDTRGI IDAILDGSIDTAPTKQIPIFNLTVPTALPGVDPEILDPRDITYDPL QWESKATDLAGRFIANFDKRYTDTTEGKSLVKAGPQLD*	103

[Tabla 37]

	Secuencia	SEQ ID NO:
PrePCK-F	5'-GACACTTTTTCAAATGAGCGCTAAAAGCATTACCCT-3'	134
PrePCK-R	5'-GAAATCAACTTTTGTTCAGTTTTGGCCCTGCTTTCAC-3'	135
PrePCK	MSAKSITLKELEKYGIHDVTEVVYNPSYELLFTEETKPCLEGYERG TYTTLGA VAVDTGIFTGRSPKDKYIVRDDVTRDTVWVADQGGKGN NKPMSEQE VAWDLKHLVTEQLSGKRLFIIDAFCGANADTRLKVRFIT EVAWQAHFVKNM FIRPSDEELVGFEPDFIVMNGAKCTNPNWKAQGL NSENFVAFNLTERMQLIGGSWYGGEMKKGMFSMMNYLLPLKGIASM HCSANVGEKGDVAIFFGLSGTGKTTLSTDPKRKLIGDDEHGWDG VFNFEGGCYAKTINLSKEAEPDIYGAIKRDALLENVMVLADGSVDF NDGSKTENTRVSYP IYHIENIVKPVSKAGHATKVIFLTADAFGVLP PVSRLTPEQTQYHFLSGFTAKLAGTERGVTEPTPTFSACFGAAFLS LHPTQYAEVLVKRMEAGAKAYLVNTGWNGTGKRISIKDTRAIIDA ILSGDIEKADMIKLPVFDLEIPTALPGVDTNILDPRNTYADKAQWD EKAQDLAERFVNNFDKYTDTPAGAALVKAGPKL*	104

[Tabla 38]

	Secuencia	SEQ ID NO:
ScePCK-F	5' - GACACTTTTTCAAATGTCCCTTCTAAAATGAATGCTACAG -3'	136
ScePCK-R	5'- GAAATCAACTTTTGTTCCTCGAATTGAGGACCAGCGGC -3'	137
ScePCK	MSPSKMNATVGSTSEVEQKIRQELALSDEVTTIRRNAPAAVLYEDG LKENKTVISSSGALIAYS GVKTRSPKDKRIVEEPTSKDEIWWGPV NKPCERTWSINRERAA DYLRTRDHIYIVDAFAGWDPKYRIKVRV CARAYHALFMTNMLIRPTEEE LAHFGEPDFTVWNAGQFPANLHTQD MSSKSTIEINFKAMEMIILGTEYAGEMKKGIFTVMFYLMFVHHNV TLHSSANQGIQNGDVTLLFFGLSGTGKTTLSADPHRLIGDDEHCWS DHGVFNIEGGCYAKCINLSAEKEPEIFDAIKFGSVLENVIYDEKSH VVDYDDSSITENTRCAYPIDYIPSAKIPCLADSHPKNIILLTCDAS GVLPVSKLTPEQVMYHFISGYTSKMAGTEQGVTEPEPTFSSCFGQ PFLALHPIRYATMLATKMSQHKANAYLINTGWTGSSYVSGGKRCPL KYTRAILDSIHDGSLANETYETLPIFNLQVPTKVNGVPAELLNPAK NWSQGESKYRGAVTNLANLFVQNFKIYQDRATFDVLAAGPQFE*	105

[Tabla 39]

	Secuencia	SEQ ID NO:
SodPCK-F	5'-GACACTTTTTCAAATGCGTGCTAAAGGTATCACCC-3'	138
SodPCK-R	5'-GAAATCAACTTTTGTTCAGCTTCGGCCGGCG-3'	139
SodPCK	MMRAKGITHQDLAAYGIHDIGEIIHNPSYDLLFEEETDPSLTGYERG VVTKLGAVAVDTGIFTGRSPKDKYIVRDDTTRDTVWWADQGGKND NKPMSPFVWASLKTIVTEQLSGKRLFFVDTFCGANADSRLKVRFIT EVANQAHFVKNMFIRPSDELADFEPDFVVMNGAKCTNFDWQQQGL NSENFAFNLTERMQLIGGTWYGGEMKKGMSIMNYLLFLKGIASM HCSANVGEQGDVAIFFGLSGTGKTTLSTDPKRLIGDDEHGWDDDG VNFEGGCYAKTIKLSQAEPDIYRAIKRDALLENVTVLADGSVDF NDGSKTENTRVSYPYIYHIQNIKVPVSKAGHATKVIPLTADAFGVLP PVSRLTADQTQYHFLSGFTAKLAGTERGVTEPTPTFSACFGAFLS LHPTQYAEVLVKKMQAAGAQAAYLVNTGWNNGSGKRISIQDTRGIIDA ILSGEIDNAETITLPIFDLAVPTALPGVNPAILDPRATYQSEAQWE DKAKDLAQRFITNFDKYTDTPAGEALIGAGPKL*	106

[Tabla 40]

	Secuencia	SEQ ID NO:
VorPCK-F	5' - GACACTTTTTCAAATGACCGTTATGGAACATACTAAGGC - 3'	140
VorPCK-R	5'- GAAATCAACTTTTGTTCATCTAGCTGAGGACCTGCAGC -3'	141
vorPCK	MTVMENTKAATIDLTKHGLHNKVEIRNPSYEMLFEEETRADLEGY EKGVVTELGAVALDTGIFTGRSPKDKYIVKDATTEHMWWTSDAVK NDNKPIDQAVWNLKAQVTEQLSGKRVFVIDGYCGANPDTRLIRV ITEVAVQAHFVKNMFIRPSEELTTFEPDFVVMNGAKCTNQRWEQH GLNSENFTVFNLTTERMQLIGGTWYGGEMKKGFMAMNYFLPLKDIA SMHCSANKCKENGDAIIFGLSGTGKTTLSTDPKRELIGDDEHGWDD DDGVNFEGGCYAKTIKLSKEAEPDIYNARRDALLENVTVRNDGS IDFDDGSKTENTRVSYPYIEHNIKVPVSRAGHANKVIFLSADAFG VLPPVSKLTPEQTKYHFLSGFTAKLAGTERGITEPTPTFSACFGAA FLTLPHTKYAEVLVKKRMAAGAEAYLVNTGWNNGSGKRISIQDTRGI IDAILDGSIEEAETKHIPIFNLEVPALHDVDPISILDPRETYTDPDL QWESKAKDLASRFINNFDKYTDNDDEGKSLVAGPOLD*	107

[Tabla 41]

	Secuencia	SEQ ID NO:
VpoPCK-F	5' - GACACTTTTTCAAATGGCTCCAATAAAATAGAAGATTACT CT -3'	142
VpoPCK	MAPTKIEDYSLNERENIKNLKSNSNVKLDNVKCLYNKDITIKRN PPIAELYEDGLKEDSTLSSSTGALMAYSGVKTGRSPKDKRIVEEPS SKDNIWWGFPVKNKPCSELTWSINRERAIIDYLNTRKILYVIDAYAGWD ANYRIKIRVVCARPYHALFMNNMLIRPTTELENFGEPDFTIWNAG SFYANSLTKDMTSKTSIEINFKSMEMVILGTEYAGEMKKGIFTVMF YLMFVYHNVLTLSHSSANQGVNNGDVTLFFGLSGTGKTTLSADPHRE LIGDDEHCWSDHGVFNIEGGCYAKCIGLTEEKEPEIFNAIKFGSVL ENCVDENTHVVYDSDSRITENTRCAYPIDFIESAKIPCLTDKHPT NLILLTCDASGVLPVSKLTPEQVMYHFISGYTSKMAGTEQGVTEP EPTFSACFGQFFLALHPMKYAQMLADKMNHHKASANLINTGWTGAS YTAGGKRCPLKYTRAILDAIHNGSLANEYETLPVFNLPIPKNVEN VPSELLNPSKTSWSDPDVTYSQAVKKLGSFLVQNFETIYQDQATDDVI AAGPAL*	108

[Tabla 42]

	Secuencia	SEQ ID NO:
VtuPCK-F	5' - GACACTTTTTCAAATGACCGTTATGGAACATACAAAGGC - 3'	144

(continuación)

	Secuencia	SEQ ID NO:
VtuPCK-R	5'-GAAATCAACTTTTGTTCATCTAGCTGAGGTCCAGCCG-3'	145
VtuPCK	MTVMEHTKAATIDLTQHGLQNVKEVIRNPSYEMLFEEETRADLEGY EKGVVTELGAVALVDGTGFTGRSPKDKYIVKDATTEHMMWTSDAVK NONKPIDQAVVNDLKQLVTNQLSGKRVFVIDGYCGANPDTRLSIRV ITEVAWQAHFVKNMFIKPESEKELATFEPDFVVMNGAKCTNQKWEH GLNSENFTVFNLTTERMQLIGGTWYGGEMKKGMFAMMNYFLPLKDIA SMHCSANKCKENGDDVAVFFGLSGTGKTTLSTDPKRELIGDDEHGW DDGIFNFEGGCYAKTIKLSKEAEPDIYNAIRRDALLENVTVRSDGS IDFDDGSKTENTRVSYPHIEHINIVKPVSKAGHANKVIFLSADAFG VLPPVSKLTPEQTKYHFLSGFTAKLAGTERGITEPTPTFSACFGAA FLTLHPTKYAEVLVKRMEAAGABAYLVNTGWNGSGKRISIQDTRGI IDAILDGSIEAETKHIFIFNLEVPTALHDVDPAILDPRDTYTDPL QWESKAKDLAERFINNFDDKYTDNDDEGKSLVAAGPQLD*	109

[Tabla 43]

	Secuencia	SEQ ID NO:
YbePCK-F	5' - GACACTTTTTCAAAATGAGTGTTAAAGGAATTACCCCGC - 3'	146
YbePCK-R	5' - GAAATCAACTTTTGTTCGATCTTCGGCCCTGCGCT -3'	147
YbePCK	MSVKGITPQELAAAGIHNVSIEIVNPSYDILLFQEEETKPTLEGYERG TLTTTGAIIVDTGTGFTGRSPKDKYIVRDAITQDVTWVWADQGGKGN NKPLSQETWVSHLKLGLVTEQLSGKRLFFVVDTCGANADSRLQVREVT EVANQAHFVKNMFIKPTDEELADFEPDFIVMNGAKCTNPNWKEQGL NSENFAFNLTERMQLIGGTWYGGEMKKGMFSMMNYLLEPLKGIASM HCSANVGEKGDVAIFFGLSGTGKTTLSTDPKRLIGDDEHGWDDDG VFNFEGGCYAKTIKLSKEAEPDIYHAIRRDALLENVVLPDGTVD NDSSKTENTRVSYPHIEHINIVKPVSKAGHATKVIFLTADAFGVLP PVSRLTANQTQYHFLSGFTAKLAGTERGVTEPTPTFSACFGAAFLS LHPTQYAEVLVKRMQAVGAQAYLVNTGWNGTGKRISIKDTRAIIDA ILNGEIDKAETFTLPIFDLAVPMALPGVDPAILDPRDTYADIAQWQ EKAEDLARRETTNFDDKYTDTPAGAALMSAGPKI*	110

[Tabla 44]

	Secuencia	SEQ ID NO:
YliPCK-F	5'-GACACTTTTTCAAAATGTCTCCCCCGTCAACC-3'	148
YliPCK-R	5'-GAAATCAACTTTTGTTCAGCCTTAGGGCCGGCA-3'	149
YliPCK	MSPPVNQTLHFKGVEPTFAAEEIEKELYDIAHIEYERVNIDHNPS VASLYEDALVQESGAINSTGALVASSGKKTGRSPKDKRIVEEPGS VEHIWVGPNKKLSEQSWLINRERAVDYLNRKRIYVVDAYAGWDP KYRIKVRIVCARAYHALFMRNMLIRPTAEELKNFGKPDFTIYNAGA FPANRYTSGMTSNTSIDINFKSMEMLILGTEYAGEMKKGIFTVMFY LMPVKHQVLTLLHSSANEGKGDVTLFFGLSGTGKTTLSADPNRLLI GDDEHCWSDTGVFNIEGGCYAKCLGLSREKEPDIFDAIKFGSVLEN VVFDPITREVDYDDATLTENTRCSYPIEYIPNAKLPCVTESHPTNI ILLTCDARGVIPPISKLINEQVMYHFIISGYTSKMAGTEEGVTEPEA TFSACFGQPFVLVHPMAYAKMLSDKMTQHNANAWLLNTGWTGQSYT NGGKRCPLKYTRSLDAIHSGELAKVEYENFDVFNLQVPKTA PNVP SEILNPARAWSGGKQFTEBVTCLGKLFNENFEKYKDMAIPEVIAA GPKA*	111

[Tabla 45]

	Secuencia	SEQ ID NO:
YroPCK-F	5' - GACACTTTTTCAAAATGAGTGTAAAGGAATTACCCCGC - 3'	150
YroPCK-R	5'-GAAATCAACTTTTGTTCGACTTTTGGCCCAGCACTGA-3'	151
YroPCK	MSVKGITPQELAAYGIHNVSEIVYNPSYDLFQEETKPTLEGYERG TLTTTGAIADVTGIFTGRSPKDKYIVRDDITRDVWVADQKGKND NKPLSQETWAHLRGLVTQQLSGKRLFVVDTFCCGANADTRLQVRFVT EVANQAHFVKNMFIRPTDEELAHFEPDFIVMNGAKCTNPNWKEQGL NSENFVAFNLTERMQLIGGTWYGGEMKKGMFSMMNYLLPLKGIASM HCSANVGEKGDVAIFFGLSGTGKTTLSDFPKRKLIGDDEHGWDDDG VFNFEGGCYAKTIKLSEEAEPDIYHAIKRDALLENVVLDPDGTVD NDGSKTENTRVSYPIYHINIENIVKPVSKAGHATKVIPLTADAFGVLP PVSRLTASQTQYHFLSGFTAKLAGTERGVTEPTPTFSACFGAFLS LHPTQYAEVLLKRMQAVGAQAYLVNTGWNVTGKRISIKDTRGIIDA ILNGSIDKAETFTLPIFDLAVPMALPGVNPDIIDPRDITYADVAQWQ EKAEDLAKRFTTNFDKYTDTTPAGAALVSAGPKV*	112

[Tabla 46]

	Secuencia	SEQ ID NO:
ZroPCK-F	5'-GACACTTTTTCAAAATGTCGCCCTCCAAAGTTCC-3'	152
ZroPCK-R	5' - GAAATCAACTTTTGTTCGAATTGAGGACCAGCTGCAAGAA - 3'	153
ZroPCK	MSPSKVPVPITDTAEVEEQIRKELALGSEVVVTIRHNAPAAATLYEDG LKEKKTAVVSSGALAAYSGSKTGRSPKDKRIIEETSKEVWVWGPV NKPASEKTWSINRERAADYLRTRDHLVYIDAYAGWDFRYRIKVRVI CARAYHALFMTNMLIRPSPEELANFGEPTFTVWVAGQFPANRTEG MTSKTTVEINFKAMEMIILGTEYAGEMKKGIFTVMFYLMFVHHNVL TLHSSANQGIERGDTVLFGLSGTGKTTLSADPHRALIGDDEHCWS DHGVFNIEGGCYAKCIDLTAEKEPEIYNAIKFGSVLENVVFDASNR EVDYTDNSITENTRCAYPIDYIPSAKIPCLADKHPSNIVLLTCDAS GVLPPVSKLTPEQVMYHFISGYTSKMAGTEQGVTEPETTFSSCFGQ PFLALHPMRYATMLAKKMHQHNAWLVNTGWTGSSYTAGGKRCPL KYTRAILDSIHDGSLSKADYETLPIFNLHTPAKVNGVPDSLNPAPK SWVEGPTKYNSAVKTLATKFTENFKIYQDQATPDVLAAGPQF*	113

[Tabla 47]

Nombre de la cepa transformante	Nombre de la cepa hospedadora	Nombre de los genes extraños introducidos
32	IGF836	PrePCK
33	IGF836	ScePCK
34	IGF836	SodPCK
35	IGF836	VorPCK
36	IGF836	VpoPCK
37	IGF836	VtuPCK
38	IGF836	YbePCK
39	IGF836	YIIPCK
40	IQF836	YroPCK
41	IGF836	ZroPCK

<Confirmación de la expresión de PCK>

[0186] Para 20 tipos de transformante en los que solo se introdujo el gen PCK, se confirmó una cantidad de expresión de PCK. Específicamente, cada uno de los transformantes se cultivó con agitación durante 44 horas en 20 ml de un medio YPD6, y las células microbianas cultivadas a continuación se recogieron y pulverizaron usando un amortiguador de múltiples perlas. El lisado de células microbianas obtenido se purificó según un protocolo mediante el uso de gel de afinidad de agarosa al M1 de ANTI-FLAG (marca registrada) (fabricado por Sigma-Aldrich Co. LLC.). La SDS-PAGE se realizó usando un líquido enzimático purificado, y la banda detectada se digitalizó usando un dispositivo de análisis de imágenes LAS 4000, calculando así una cantidad de expresión relativa. Los resultados de la cantidad de expresión de PCK (valor relativo) calculada para cada uno de los transformantes se muestran en la figura 12. Los resultados muestran que la expresión de PCK se confirmó en todos los transformantes.

[Ejemplo 6] Preparación de la cepa de introducción EcoPCK, la cepa de introducción GglPYC y la cepa de introducción EcoMDH

[0187] Se prepararon transformantes de *pombe* en los que se introdujeron PCK derivada de *Escherichia coli* (EcoPCK) (SEQ ID NO:154), PYC derivada de *Gallus gallus* (GglPYC) (SEQ ID NO:155) y MDH derivada de *Escherichia coli* (EcoMDH) (SEQ ID NO:156).

[0188] Específicamente, la cepa IGF836 (cepa de eliminación génica de *S. pombe*) preparada en el ejemplo 1 se transformó según el procedimiento de Bahler y col. (la revista *Yeast*, 1998, vol. 14, págs. 943-951) mediante el uso de un digesto de una enzima de restricción BsiWI de un vector recombinante integrador monodentado pSNh-EcoPCK que retiene un casete de expresión génica EcoPCK, un vector recombinante integrador monodentado pSLh-GglPYC que retiene un casete de expresión génica GglPYC, o un vector recombinante integrador monodentado pSMh-EcoMDH que retiene un casete de expresión génica EcoMDH.

[0189] pSNh-EcoPCK se preparó a través del siguiente procedimiento. En primer lugar, mediante el uso de ADN genómico total preparado por DNeasy (fabricado por QIAGEN) a partir del cultivo de *Escherichia coli* como plantilla y mediante el uso de 2 tipos de ADN oligo sintético (EcoPCK-F y EcoPCK-R, fabricado por Operon Biotechnologies) descrito en la tabla 48, se obtuvo un fragmento de ORF de un gen EcoPCK mediante un procedimiento de RCP utilizando KOD-Dash (fabricado por TOYOBO CO., LTD.). El fragmento de ORF codificaba EcoPCK (SEQ ID NO:154).

[Tabla 48]

	Sequence	SEQ ID NO:
EcoPCK-F	5'-GACACTTTTTCAAAATGCGCGTTAACAATGGTTTG ACC-3'	157
EcoPCK-R	5'-GAAATCAACTTTTGTTCAGCTTCGGACCAGC-3'	158
EcoPCK	MRVNNGLTTPQELEAYGISDVHDIVYNPSYDLIYQEEL DPSLTGYERGVLTNLGAVAVDTGIFTGRSPKDKYIVRD DTTRDTFWWADKKGKNDNKPLSPETWQHKGGLVT KQLSGKRLFVVDACGANPDTRL SVRFITEVAWQAHF VKNMFI RPSDEELAGPKPDFIVMNGAKCTNPQWKEQ GLNSEN FVAFNLTERMQLIGCTWYGGEMKKGMFSM MNYLLPLKGIASMHCSANVGEKCDVAVFFGLSGTGK TTLSTD PKRRRLIGDDEHGWDGDDGVFNFE GGCYAKTIK LSKEAEPEIYN AIRRDALLENVTVREDGTIDFDDGSKT ENTRVSYPIYHIDNIVKPVSKAGHATKVIFLTADAFGV LPPVSRLTADQTQYHFLSGFTAKLAGTERGITEPTPTF SACFGAAFLSLHPIQYAEVLVKRMQAAGAQA YLVNTG WNGTGKRISIKDTRAIDAILNGSLDNAETFTLPMFNL AIPTELPGVDTKILDPRNTYASPEQWQEKAETLAKLFI DNFDKYTDTPAGAALVAAGPKL	154

[0190] Mediante el uso de un kit de clonación HD In-Fusion (marca registrada) (fabricado por Clontech Laboratories, Inc.), el fragmento amplificado obtenido se incorporó en pSNh, preparando así pSNh-EcoPCK. El procedimiento In-Fusion se realizó según el manual incluido en el kit. Es decir, el producto de RCP obtenido se purificó

usando una columna de centrifugación, se agregó a una solución de reacción In-Fusion junto con pSNh y se hizo reaccionar durante 15 minutos a 50 °C.

- [0191]** Mediante el mismo procedimiento que se describió anteriormente, se prepararon un vector recombinante integrador monodentado pSLh-GalPYC y un vector recombinante integrador monodentado pSMh-EcoMDH. A continuación, se enumerarán los conjuntos de cebadores que utilizan los vectores respectivos.

[Tabla 49]

	Secuencia	SEQ ID NO:
GgIPYC F	5'-CATCTTTTCAAACATGTCGCAGCTGTGTGTCCC-3'	159
GgIPYC- R	5'-ATCATCATCATCCTTGTAACTCTCGATCTCGGCGAT G-3'	160
GgIPYC	MSQLCVPRGGRALLGAWRLPLLPPPGSVRSASCQPI RKVLVANRGEIAIRVFRACTELGLRTVAVYSEQDTGQM HRQKADEAYLVGRGLPPVQAYLHVPDIHRVARENAVD AIHPGYGFLSERADFAQACVDAGVRFVGPPEVVRKM GDKVEARSIAAAGVPVPGTSAPVATLGEAQDFAARV GFPIIFKAAHGGGGRGMRAVRGPQELESFSRASSEA LAAFGDGALFVEKLMERPRHIEGQILGDKHGNVHL YERDCSIQRRHQKVVEIAPAARLDPQLRAQLASDAVRI AQQVGYENAGTVEFLVDRDGKHYFIEVNSRLQVEHT VTEEITGVDLVQAQLLVAAGRSLSELGLQQDSVRVNG CAIQCRVTTEDPARGFQPDGTGRIEVRSGEGMGIRLD GASAFQGALISPHYDSLVLKVIAGHPDQPSAAAKMSR ALGEFRIRGVKTNIPFLQNVLAHPQFLGGAVDTQFIDE NPELFHLRPSQNRQAQKLLHYLGHVMVNGPSTPLPVK AKAAVVEPVPPVPMGSPPEGLRAVLQREGPAGFARA LRGHRGLLLXDTTFRDAHQSLLATRVTRDLARIAPFV AHSLSPLCSMETWGGATFDVAMRFLHECPWERLREL RRLVPNIPFQMLLRGANAVGYTNYPDNVTYRFCEVAA ANGMDIFRIFDALNYLPNLLGVEAVGRAGAVVEAAL SYTGDVADPTRTKYSLDYLLGLAKELVAAGTHILCIKD MAGLLTPAAARLLVSSLRDRFPDVPIHVHTHDTAGAAI ATLLAAANADADVVDVAVDAMSGMTSQPSMGALVAC ARGTPLDTGIALERVFEYSEYWEAGRLYAAFDCAT MKSGNADVYENEIPGGQYTNLHFQAHAMGLGHKFK EVKKAYAEANKLLGDLIKVTPSSKVVGDLAQFMVQN GLSREEAEARADELSFPLSVVEFLQGYIGTPPGGFPEP FRSKVLKDLPRVEGRPGASLPPLDFEALSQELGARDG TPSPEDLLSAALYPKVYAEFRDFTSTFGPVSCLGTRL FLEGPTIAEEFEVELERGKTLHIKALALGDLNAAGQR EAFFELNGQLRSILVRDTQALKEMHVHPKADRSAGK QVGAPMPGEVVEVRVKEGEAVEKGAPLCVLSAMKME TVVTAPRGGTVSRLHVRPGMSLEGDDLIAEIE	155

[Tabla 50]

	Secuencia	SEQ ID NO:
EcoMDH-F	5'-ACTTTTTCAAACATGAAAGTCGCAGTCCTCGG-3'	161

(continuación)

	Secuencia	SEQ ID NO:
EcoMDH-R	<u>5'-ATCATCATCATCCTTGTAATCCTTATTAACGAACTC TTCGCCC-3'</u>	162
EcoMDH	MKVAVLGAAGGIGQALALLKTLPSGSELSYDIAPV TPGVAVDLSHIPTAVKIKGFGEDATPALEGADVVLISA GVARKPGMDRSDLFNVNAGIVKNLVQVAKTCPKACI GIITNPVNTTVAIAAEVLKKAGVYDKNKLFGVTTLDII RSNTFVAELKKGKQPGVEVPVIGGHSGVTILPLLSQVP GVSFTEQEVADLTAKRIQAGTEVVEAKAGGGSATLSM GQAAARFGLSLVRALQGEQGVVECAVVEGDGQYARFF SQPLLKGKNGVEERKSIGTILSAFEQNALEGMLDTLKK DIALGEEFVNK	156

[0192] El nombre y el hospedador de cada uno de los transformantes fabricados y el nombre de los genes extraños introducidos se muestran en la tabla 51.

5

[Tabla 51]

Nombre de la cepa transformante	Nombre de la cepa hospedadora	Genes extraños introducidos
42	IGF836	EcoPCK
43	IGF836	GglPYC
44	IGF836	EcoMDH

<Confirmación de la expresión de PCK, PYC, o MDH>

[0193] Para 3 tipos de transformante en los que solo se introdujo el gen PCK, el gen PYC o el gen MDH, se confirmó una cantidad de expresión de PCK, PYC o MDH. Específicamente, cada uno de los transformantes se cultivó con agitación durante 44 horas en 20 ml de un medio YPD6, y las células microbianas cultivadas a continuación se recogieron y pulverizaron usando un amortiguador de múltiples perlas. El lisado de células microbianas obtenido se purificó según un protocolo mediante el uso de gel de afinidad de agarosa al M1 de ANTI-FLAG (marca registrada) (fabricado por Sigma-Aldrich Co. LLC.). La SDS-PAGE se realizó usando un líquido enzimático purificado. Como resultado, no se detectó ninguna banda en ninguno de los líquidos enzimáticos. Este resultado muestra que incluso si el gen EcoPCK, el gen GglPYC o el gen EcoMDH se introducen en *S. pombe*, estas enzimas no se expresan y, por lo tanto, no se obtiene actividad eficaz.

[Ejemplo 7] Preparación de la cepa de producción de ácido málico

20

[0194] Según el procedimiento descrito en los ejemplos 2, 3 y 5, se prepararon los transformantes mostrados en la tabla 52.

[Tabla 52]

Nombre de la cepa transformante	Nombre de la cepa hospedadora	Nombre de los genes extraños introducidos o nombre de los genes eliminados
ASP5127	IGF836	Δ mae2
ASP5125	IGF836	SoePYC, Δ mae2
ASP5126	IGF836	DacMDH, Δ mae2
ASP5087	IGF836	SoePCK, DacMDH, Δ mae2
AS P5088	IGF836	PlePCK, DacMDH, Δ mae2
ASP5089	IG F836	YbePCK, DacMDH, Δ mae2
ASP5132	IGF836	KlaPYC, DacMDH, Δ mae2

(continuación)

Nombre de la cepa transformante	Nombre de la cepa hospedadora	Nombre de los genes extraños introducidos o nombre de los genes eliminados
ASP5135	IGF836	SpoPYC, DacMDH, Δ mae2
ASP5215	IGF836	ClIMDH, SoePYC, Δ mae2
ASP5216	IGF836	HeIMDH, ScePYC, Δ mae2
ASP5217	IGF836	SpuMDH, ScePYC, Δ mae2
ASP5129	IGF836	ClIMDH, ScePYC, Δ mae2
ASP5131	IGF836	SpuMDH, ScePYC, Δ mae2
ASP5235	IGF836	ScePYC, LeiPYC, DacMDH, HeIMDH, Δ mae2

[Ejemplo 8] Confirmación del efecto resultante de la eliminación de mae2

[0195] Para confirmar el efecto resultante de la eliminación de mae2, se realizó la producción fermentativa de 5 ácido málico utilizando la cepa ASP4491, la cepa ASP4964, la cepa ASP4933 y la cepa ASP5127.

[0196] Específicamente, las células microbianas se sembraron en una placa YES y se cultivaron durante 96 horas a 30 °C, obteniendo así una colonia. La colonia obtenida se subcultivó en 5 ml de un medio YES (tubo de ensayo) y se cultivó con agitación durante 24 horas a 30 °C. La solución microbiana obtenida se subcultivó en 100 ml de un medio YPD6 (matraz Sakaguchi) y se cultivó con agitación durante 44 horas a 30 °C.

[0197] Las células microbianas obtenidas de esta manera se recogieron, se agregaron a 3 ml de un medio de fermentación (100 g/l de glucosa, 111 g/l de carbonato de calcio) en el tubo de ensayo para proporcionar 36 g (peso de células microbianas secas)/l y se fermentaron a 30 °C en condiciones de agitación. Se recogió una muestra en el 15 tiempo del líquido fermentado.

[0198] Para la muestra obtenida, se midieron una concentración de glucosa y una concentración de etanol usando un biosensor BF-7 (fabricado por Oji Scientific Instruments) basado en un procedimiento de electrodo enzimático, y se midió una concentración de ácido málico mediante HPLC. Durante la medición de HPLC, se utilizó un cromatógrafo líquido de alto rendimiento Prominence (fabricado por Shimadzu Corporation), se utilizó Aminex HPX-87H 300 3 7,8 mm (fabricado por Bio-Rad Laboratories, Inc.) como columna, se estableció un volumen de inyección a 10 ml, se utilizó H₂SO₄ 10 mM como disolvente, se estableció un caudal a 0,6 ml/min, se estableció un tiempo de medición a 35 minutos, se estableció una temperatura de medición a 60 °C y se utilizó un detector de matriz de diodos (210 nm) y un detector refractométrico diferencial para la detección. Cada concentración es una concentración por 25 solución de cultivo o líquido fermentado. Los resultados se muestran en la tabla 53.

[Tabla 53]

Nombre de la cepa	Tiempo de fermentación [hora]	Concentración de glucosa [g/l]	Concentración de etanol [g/l]	Concentración de ácido málico [g/l]
ASP4491	0	100,0	0,0	0,0
	1	33,2	21,1	2,9
	3	0,0	34,3	0,0
	20	0,0	24,7	0,0
ASP4964	0	100,0	0,0	0,0
	1	26,6	13,8	19,0
	3	0,4	19,2	26,7
	20	0,3	8,0	28,1
ASP4933	0	100,0	0,0	0,0
	1	57,9	10,6	0,0
	3	11,8	27,2	3,0
	20	0,0	23,4	0,0
ASP5127	0	100,0	0,0	0,0
	1	27,0	23,3	2,0
	2	0,1	32,9	3,0
	31	0,1	0,0	5,3

[0199] Como resultado, en la cepa ASP4964 de la que se eliminó mae2, la cantidad de ácido málico producido aumentó adicionalmente en aproximadamente 10 veces que en la cepa ASP4491. En contraste, en la cepa ASP4933 obtenida mediante la eliminación de fum1, que utiliza ácido málico como una matriz al igual que mae2, de la cepa ASP4491, la cantidad de ácido málico producido prácticamente no aumentó. Además, en la cepa ASP5127 de la que solo se eliminaron mae2 y pdc2 y en la que no se introdujeron PYC y MDH, se confirmó la producción de ácido málico en una cantidad de aproximadamente 5 g/l.

[Ejemplo 9] Confirmación del efecto resultante de la introducción de PCK

[0200] Para confirmar el efecto resultante de la introducción de PCK, se realizó la producción fermentativa de ácido málico utilizando la cepa ASP5126, la cepa ASP5087, la cepa ASP5088 y la cepa ASP5089.

[0201] La producción fermentativa de ácido málico se realizó de la misma manera que en el ejemplo 7. Los resultados se muestran en la tabla 54.

[Tabla 54]

Nombre de la cepa	Tiempo de fermentación [hora]	Concentración de glucosa [g/l]	Concentración de etanol [g/l]	Concentración de ácido málico [g/l]
ASP5126	0	100,0	0,0	0,0
	1	36,8	19,2	12,5
	2	3,5	30,8	19,5
	31	0,0	0,0	22,2
ASP5087	0	100,0	0,0	0,0
	1	78,6	5,8	8,7
	2	45,9	12,9	18,5
	4	2,7	22,8	31,1
ASP5088	0	100,0	0,0	0,0
	1	44,8	9,7	13,3
	3	0,5	20,4	22,2
	20	0,3	2,0	23,6
ASP5089	0	100,0	0,0	0,0
	1	38,3	11,7	13,6
	3	0,3	20,6	20,4
	20	0,3	4,3	21,3

[0202] Se confirmó que en la cepa ASP5087 en la que se introdujo PCK derivada de *Saccharomyces cerevisiae* (ScePCK), la cepa ASP5088 en la que se introdujo PCK derivada de *Photobacterium leiognathi* (PlePCK), y la cepa ASP5089 en la que se introdujo PCK derivada de *Yersinia bercovieri* (YbePCK), se mejoró aún más una tasa de producción de ácido málico y una concentración final de ácido málico que en la cepa ASP5126 en la que no se introdujo PCK ni PYC.

[Ejemplo 10] Confirmación del efecto resultante de la introducción de PYC

[0203] Para confirmar el efecto resultante de la introducción de PYC, se realizó la producción fermentativa de ácido málico utilizando la cepa ASP5126, la cepa ASP4964, la cepa ASP5132 y la cepa ASP5135.

[0204] La producción fermentativa de ácido málico se realizó de la misma manera que en el ejemplo 7. Los resultados se muestran en la tabla 55.

[Tabla 55]

Nombre de la cepa	Tiempo de fermentación [hora]	Concentración de glucosa [g/l]	Concentración de etanol [g/l]	Concentración de ácido málico [g/l]
ASP5126	0	100,0	0,0	0,0
	1	36,8	19,2	12,5
	2	3,5	30,8	19,5
	31	0,0	0,0	22,2

(continuación)

Nombre de la cepa	Tiempo de fermentación [hora]	Concentración de glucosa [g/l]	Concentración de etanol [g/l]	Concentración de ácido málico [g/l]
ASP4964	0	100,0	0,0	
	1	20,6	14,1	26,9
	2	0,1	18,5	35,3
	4	0,0	14,6	35,1
ASP5132	0	100,0	0,0	0,0
	1	25,9	8,6	29,7
	2	0,0	15,9	42,8
	4	0,0	12,0	42,8
ASP5135	0	100,0	0,0	0,0
	1	41,6	6,5	27,8
	2	9,6	13,0	50,4
	4	0,4	14,0	54,5

- [0205]** Se confirmó que en la cepa ASP4964 en la que se introdujo PYC derivada de *Saccharomyces cerevisiae*, la cepa ASP5132 en la que se introdujo PYC derivada de *Kluyveromyces lactis* (KlaPYC), y la cepa ASP5135 en la que se introdujo PYC derivada de *S. pombe* (SpoPYC), se mejoró aún más una tasa de producción de ácido málico y una concentración final de ácido málico que en la cepa ASP5126 en la que no se introdujo ninguno de PCK y PYC.

[Ejemplo 11] Confirmación del efecto resultante de la introducción de MDH

10

- [0206]** Para confirmar el efecto resultante de la introducción de MDH, se realizó la producción fermentativa de ácido málico utilizando la cepa ASP5125, la cepa ASP5215, la cepa ASP5216, la cepa ASP5127, la cepa ASP4964, la cepa ASP5129 y la cepa ASP5131.

- 15 **[0207]** La producción fermentativa de ácido málico se realizó de la misma manera que en el ejemplo 7. Los resultados se muestran en la tabla 56.

[Tabla 56]

Nombre de la cepa	Tiempo de fermentación (hora)	Concentración de glucosa [g/l]	Concentración de etanol [g/l]	Concentración de ácido málico [g/l]
ASP51E5	0	100,0	0,0	0,0
	1	36,6	20,4	0,2
	2	4,6	33,6	0,5
	31	0,1	0,0	3,2
ASP5215	0	100,0	0,0	0,0
	1	68,8	8,8	13,5
		34,8	17,0	24,5
	4	0,0	24,6	32,6
ASP5216	0	100,0	0,0	0,0
	1	73,7	8,3	13,8
	2	37,7	16,7	24,9
	4	0,0	23,4	37,1
ASP5217	0	100,0	0,0	0,0
	1	71,0	8,0	12,9
	2	34,8	18,8	24,2
	4	0,0	23,7	35,1
ASP4364	0	100,0	0,0	0,0
	1	28,6	13,7	24,0
	3	0,3	18,2	35,5
	6	0,1	13,7	37,0

(continuación)

Nombre de la cepa	Tiempo de fermentación (hora)	Concentración de glucosa [g/l]	Concentración de etanol [g/l]	Concentración de ácido málico [g/l]
ASP5129	0	100,0	0,0	0,0
	1	24,6	15,9	25,5
	3,5	0,0	18,6	35,9
	24	0,0	0,0	47,2
ASP5131	0	100,0	0,0	0,0
	1	29,1	14,2	28,0
	5	0,1	19,8	13,2
	6	0,1	13,2	39,5

[0208] Se confirmó que en la cepa ASP5215 en la que se introdujeron ClIMDH y PCK, la cepa ASP5216 en la que se introdujeron HeIMDH y PCK, la cepa ASP5217 en la que se introdujeron SpuMDH y PCK, la cepa ASP4964 en la que se introdujeron HeIMDH y PYC, la cepa ASP5129 en la que se introdujeron ClIMDH y PYC, y la cepa ASP5131 en la que se introdujeron SpuMDH y PYC, se mejoró aún más una tasa de producción de ácido málico y una concentración final de ácido málico que en la cepa ASP5125 en la que no se introdujo MDH pero se introdujo PYC.

[Ejemplo 12] Confirmación del efecto resultante del aumento del número de copias de genes introducidos

[0209] Para confirmar el efecto resultante del aumento del número de copias de los genes introducidos, se realizó la producción fermentativa de ácido málico usando la cepa ASP4964 y la cepa ASP5235.

[0210] La producción fermentativa de ácido málico se realizó de la misma manera que en el ejemplo 7. Los resultados se muestran en la tabla 57.

[Tabla 57]

Nombre de la cepa	Tiempo de fermentación [hora]	Concentración de glucosa [g/l]	Concentración de etanol [g/l]	Concentración de ácido málico [g/l]
ASP4964	0	100,0	0,0	0,0
	1	35,5	15,0	22,2
	2	0,0	22,6	36,9
	4	0,0	19,1	38,4
ASP5235	0	100,0	0,0	0,0
	1	49,7		28,4
	2	3,7	19,4	53,6
	4	0,0	17,7	56,9

[0211] Se confirmó que en la cepa ASP5235 en la que se introdujeron 2 copias de PYC y 2 copias de MDH, se mejoró aún más una tasa de producción de ácido málico y una concentración final de ácido málico que en la cepa ASP4964 en la que se introdujeron una copia de PYC y una copia de MDH.

[Ejemplo 13] Producción fermentativa de ácido málico en condiciones de no neutralización

[0212] Para confirmar la producción de ácido málico en condiciones de no neutralización, la producción fermentativa de ácido málico se realizó utilizando la cepa ASP4964 y la cepa ASP5235.

[0213] Específicamente, se agregaron células microbianas cultivadas mediante el mismo procedimiento que en el ejemplo 7 a 3 ml de un medio de fermentación (100 g/l de glucosa) en un tubo de ensayo para proporcionar 36 g (peso de células microbianas secas)/l y se fermentaron a 30 °C en condiciones de agitación. Se recogió una muestra en el tiempo del líquido fermentado.

[0214] La muestra obtenida se midió de la misma manera que en el ejemplo 7. Los resultados se muestran en la tabla 58. Como resultado, se confirmó que todas las cepas producían ácido málico en condiciones de no neutralización. El pH de la muestra de cepa ASP4964 que se recogió después de que se realizó la fermentación durante 1 hora fue de 3,5, y el pH de la muestra que se recogió después de que se realizó la fermentación durante 2 horas fue de 3,0. Además, el pH de la muestra de cepa ASP5235 que se recogió después de que se realizó la fermentación durante 1 hora fue de 3,0, y el pH de la muestra que se recogió después de que se realizó la fermentación

durante 2 horas fue de 2,8.

[Tabla 58]

Nombre de la cepa	Tiempo de fermentación [hora]	Concentración de glucosa [g/l]	Concentración de etanol [g/l]	Concentración de ácido málico [g/l]
ASP4964	0	100,0	0,0	0,0
	1	45,9	12,1	14,3
	2	11,5	20,5	21,5
	4	0,0	23,1	23,3
ASP523S	0	100,0	0,0	0,0
	1	51,8	7,6	22,5
	2	26,1	14,7	33,6
	4	6,0	10,1	38,3
	5	1,2	17,6	40,7

- 5 [0215] La prioridad se reivindica en la solicitud de patente japonesa n.º 2014-135043, depositada el 30 de junio de 2014.

LISTADO DE SECUENCIAS

[0216]

- 5 <110> ASAHI GLASS COMPANY, LIMITED
 <120> TRANSFORMANTE Y PROCEDIMIENTO DE PRODUCCIÓN DEL MISMO, Y PROCEDIMIENTO DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDO DICARBOXÍLICO C4
 <130> F20150192
 <150> JP2014-135043
 10 <151> 30/06/2014
 <160> 162
 <210> 1
 <211> 1192
 <212> PRT
 15 <213> *Aspergillus niger*
 <220>
 <223> AniPYC
 <400> 1

```

Met Ala Ala Pro Arg Gln Pro Glu Glu Ala Val Asp Asp Thr Glu Phe
      5              10              15
Ile Asp Asp His His Asp Gln His Arg Asp Ser Val His Thr Arg Leu
      20              25              30
Arg Ala Asn Ser Ala Ile Met Gln Phe Gln Lys Ile Leu Val Ala Asn
      35              40              45
Arg Gly Glu Ile Pro Ile Arg Ile Phe Arg Thr Ala His Glu Leu Ser
      50              55              60
Leu Gln Thr Val Ala Val Tyr Ser His Glu Asp Arg Leu Ser Met His
      65              70              75              80
Arg Gln Lys Ala Asp Glu Ala Tyr Met Ile Gly Lys Arg Gly Gln Tyr
      85              90              95
Thr Pro Val Gly Ala Tyr Leu Ala Ile Asp Glu Ile Val Lys Ile Ala
      100             105             110
Leu Glu His Gly Val His Leu Ile His Pro Gly Tyr Gly Phe Leu Ser
      115             120             125
Glu Asn Ala Glu Phe Ala Arg Lys Val Glu Gln Ser Gly Met Val Phe
      130             135             140
Val Gly Pro Thr Pro Gln Thr Ile Glu Ser Leu Gly Asp Lys Val Ser
      145             150             155             160
Ala Arg Gln Leu Ala Ile Arg Cys Asp Val Pro Val Val Pro Gly Thr
      165             170             175
Pro Gly Pro Val Glu Arg Tyr Glu Glu Val Lys Ala Phe Thr Asp Thr
      180             185             190
Tyr Gly Phe Pro Ile Ile Ile Lys Ala Ala Phe Gly Gly Gly Gly Arg
      195             200             205
Gly Met Arg Val Val Arg Asp Gln Ala Glu Leu Arg Asp Ser Phe Glu
      210             215             220
Arg Ala Thr Ser Glu Ala Arg Ser Ala Phe Gly Asn Gly Thr Val Phe
      225             230             235             240
Val Glu Arg Phe Leu Asp Arg Pro Lys His Ile Glu Val Gln Leu Leu
      245             250             255
Gly Asp Asn His Gly Asn Val Val His Leu Phe Glu Arg Asp Cys Ser
      260             265             270
Val Gln Arg Arg His Gln Lys Val Val Glu Ile Ala Pro Ala Lys Asp
      275             280             285
Leu Pro Ala Asp Val Arg Asp Arg Ile Leu Ala Asp Ala Val Lys Leu
      290             295             300
Ala Lys Ser Val Asn Tyr Arg Asn Ala Gly Thr Ala Glu Phe Leu Val
      305             310             315             320

```


Asp	Gln	Gln	Asn	Arg	Tyr	Tyr	Phe	Ile	Glu	Ile	Asn	Pro	Arg	Ile	Gln		
				325					330					335			
Val	Glu	His	Thr	Ile	Thr	Glu	Glu	Ile	Thr	Gly	Ile	Asp	Ile	Val	Ala		
			340					345					350				
Ala	Gln	Ile	Gln	Ile	Ala	Ala	Gly	Ala	Thr	Leu	Glu	Gln	Leu	Gly	Leu		
			355				360					365					
Thr	Gln	Asp	Arg	Ile	Ser	Thr	Arg	Gly	Phe	Ala	Ile	Gln	Cys	Arg	Ile		
	370					375					380						
Thr	Thr	Glu	Asp	Pro	Ser	Lys	Gly	Phe	Ser	Pro	Asp	Thr	Gly	Lys	Ile		
385					390					395					400		
Glu	Val	Tyr	Arg	Ser	Ala	Gly	Gly	Asn	Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Gly	Gly		
			405						410					415			
Asn	Gly	Phe	Ala	Gly	Ala	Ile	Ile	Thr	Pro	His	Tyr	Asp	Ser	Met	Leu		
			420					425					430				
Val	Lys	Cys	Thr	Cys	Arg	Gly	Ser	Thr	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg	Arg	Lys		
	435						440					445					
Val	Val	Arg	Ala	Leu	Val	Glu	Phe	Arg	Ile	Arg	Gly	Val	Lys	Thr	Asn		
	450					455					460						
Ile	Pro	Phe	Leu	Thr	Ser	Leu	Leu	Ser	His	Pro	Val	Phe	Val	Asp	Gly		
465					470					475					480		
Thr	Cys	Trp	Thr	Thr	Phe	Ile	Asp	Asp	Thr	Pro	Glu	Leu	Phe	Ala	Leu		
				485					490						495		
Val	Gly	Ser	Gln	Asn	Arg	Ala	Gln	Lys	Leu	Leu	Ala	Tyr	Leu	Gly	Asp		
			500					505					510				
Val	Ala	Val	Asn	Gly	Ser	Ser	Ile	Lys	Gly	Gln	Ile	Gly	Glu	Pro	Lys		
	515						520					525					
Leu	Lys	Gly	Asp	Ile	Ile	Lys	Pro	Val	Leu	His	Asp	Ala	Ala	Gly	Lys		
	530					535					540						
Pro	Leu	Asp	Val	Ser	Val	Pro	Ala	Thr	Lys	Gly	Trp	Lys	Gln	Ile	Leu		
545					550					555					560		
Asp	Ser	Glu	Gly	Pro	Glu	Ala	Phe	Ala	Arg	Ala	Val	Arg	Ala	Asn	Lys		
				565					570					575			
Gly	Cys	Leu	Ile	Met	Asp	Thr	Thr	Trp	Arg	Asp	Ala	His	Gln	Ser	Leu		
			580					585					590				
Leu	Ala	Thr	Arg	Val	Arg	Thr	Ile	Asp	Leu	Leu	Asn	Ile	Ala	His	Glu		
	595						600					605					
Thr	Ser	His	Ala	Leu	Ala	Asn	Ala	Tyr	Ser	Leu	Glu	Cys	Trp	Gly	Gly		
	610					615					620						
Ala	Thr	Phe	Asp	Val	Ala	Met	Arg	Phe	Leu	Tyr	Glu	Asp	Pro	Trp	Asp		
625					630					635					640		
Arg	Leu	Arg	Lys	Leu	Arg	Lys	Ala	Val	Pro	Asn	Ile	Pro	Phe	Gln	Met		
				645					650					655			
Leu	Leu	Arg	Gly	Ala	Asn	Gly	Val	Ala	Tyr	Ser	Ser	Leu	Pro	Asp	Asn		
			660					665					670				
Ala	Ile	Tyr	His	Phe	Cys	Lys	Gln	Ala	Lys	Lys	Cys	Gly	Val	Asp	Ile		
	675						680					685					
Phe	Arg	Val	Phe	Asp	Ala	Leu	Asn	Asp	Val	Asp	Gln	Leu	Glu	Val	Gly		
	690					695					700						
Ile	Lys	Ala	Val	His	Ala	Ala	Glu	Gly	Val	Val	Glu	Ala	Thr	Ile	Cys		
705					710					715					720		
Tyr	Ser	Gly	Asp	Met	Leu	Asn	Pro	Ser	Lys	Lys	Tyr	Asn	Leu	Pro	Tyr		
				725					730					735			
Tyr	Leu	Asp	Leu	Val	Asp	Lys	Val	Val	Gln	Phe	Lys	Pro	His	Val	Leu		
			740					745					750				
Gly	Ile	Lys	Asp	Met	Ala	Gly	Val	Leu	Lys	Pro	Gln	Ala	Ala	Arg	Leu		
	755						760					765					
Leu	Ile	Gly	Ser	Ile	Arg	Glu	Arg	Tyr	Pro	Asp	Leu	Pro	Ile	His	Val		
	770					775					780						
His	Thr	His	Asp	Ser	Ala	Gly	Thr	Gly	Val	Ala	Ser	Met	Ile	Ala	Cys		
785					790					795					800		
Ala	Gln	Ala	Gly	Ala	Asp	Ala	Val	Asp	Ala	Ala	Thr	Asp	Ser	Leu	Ser		

ES 2 811 926 T3

				805					810					815			
Gly	Met	Thr	Ser	Gln	Pro	Ser	Ile	Gly	Ala	Ile	Leu	Ala	Ser	Leu	Glu		
			820					825					830				
Gly	Thr	Glu	His	Asp	Pro	Gly	Leu	Asn	Ser	Ala	Gln	Val	Arg	Ala	Leu		
		835					840					845					
Asp	Thr	Tyr	Trp	Ala	Gln	Leu	Arg	Leu	Leu	Tyr	Ser	Pro	Phe	Glu	Ala		
	850					855					860						
Gly	Leu	Thr	Gly	Pro	Asp	Pro	Glu	Val	Tyr	Glu	His	Glu	Ile	Pro	Gly		
865					870					875					880		
Gly	Gln	Leu	Thr	Asn	Leu	Ile	Phe	Gln	Ala	Ser	Gln	Leu	Gly	Leu	Gly		
				885					890						895		
Gln	Gln	Trp	Ala	Glu	Thr	Lys	Lys	Ala	Tyr	Glu	Ser	Ala	Asn	Asp	Leu		
			900					905					910				
Leu	Gly	Asp	Val	Val	Lys	Val	Thr	Pro	Thr	Ser	Lys	Val	Val	Gly	Asp		
		915					920					925					
Leu	Ala	Gln	Phe	Met	Val	Ser	Asn	Lys	Leu	Thr	Ala	Glu	Asp	Val	Ile		
	930					935					940						
Ala	Arg	Ala	Gly	Glu	Leu	Asp	Phe	Pro	Gly	Ser	Val	Leu	Glu	Phe	Leu		
945					950					955					960		
Glu	Gly	Leu	Met	Gly	Gln	Pro	Tyr	Gly	Gly	Phe	Pro	Glu	Pro	Leu	Arg		
				965					970						975		
Ser	Arg	Ala	Leu	Arg	Asp	Arg	Arg	Lys	Leu	Asp	Lys	Arg	Pro	Gly	Leu		
			980					985					990				
Tyr	Leu	Glu	Pro	Leu	Asp	Leu	Ala	Lys	Ile	Lys	Ser	Gln	Ile	Arg	Glu		
	995						1000					1005					
Asn	Tyr	Gly	Ala	Ala	Thr	Glu	Tyr	Asp	Val	Ala	Ser	Tyr	Ala	Met	Tyr		
	1010					1015				1020							
Pro	Lys	Val	Phe	Glu	Asp	Tyr	Lys	Lys	Phe	Val	Ala	Lys	Phe	Gly	Asp		
1025					1030					1035					1040		
Leu	Ser	Val	Leu	Pro	Thr	Arg	Tyr	Phe	Leu	Ala	Lys	Pro	Glu	Ile	Gly		
				1045					1050						1055		
Glu	Glu	Phe	His	Val	Glu	Leu	Glu	Lys	Gly	Lys	Val	Leu	Ile	Leu	Lys		
			1060					1065					1070				
Leu	Leu	Ala	Ile	Gly	Pro	Leu	Ser	Glu	Gln	Thr	Gly	Gln	Arg	Glu	Val		
		1075					1080					1085					
Phe	Tyr	Glu	Val	Asn	Gly	Glu	Val	Arg	Gln	Val	Ser	Val	Asp	Asp	Lys		
	1090					1095					1100						
Lys	Ala	Ser	Val	Glu	Asn	Thr	Ala	Arg	Pro	Lys	Ala	Glu	Leu	Gly	Asp		
1105					1110					1115					1120		

 $\langle 210 \rangle$ 2

$\langle 211 \rangle$ 1148

<212> PRT

5 <213> *Brevibacillus brevis*

 $\langle 220 \rangle$

<223> BbrPYC

 $\langle 400 \rangle$ 2

ES 2 811 926 T3

Met Lys Lys Arg Lys Ile Asn Arg Leu Leu Val Ala Asn Arg Gly Glu
5 10 15
Ile Ala Ile Arg Ile Phe Arg Ala Ala Thr Glu Leu Gly Ile Arg Thr

[illegible]

Gly	Thr	Lys	Gln	Ile	Leu	Asp	Lys	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Leu	Val	Arg	
		515					520					525				
Trp	Ile	Gln	Ala	Gln	Lys	Gln	Val	Leu	Val	Thr	Asp	Thr	Thr	Phe	Arg	
	530					535					540					
Asp	Ala	His	Gln	Ser	Leu	Phe	Ala	Thr	Arg	Val	Arg	Thr	Tyr	Asp	Leu	
545					550					555					560	
Ala	Ser	Ile	Ala	Glu	Ala	Thr	Gly	Lys	Leu	Gly	Ser	Gly	Leu	Phe	Ser	
				565					570					575		
Leu	Glu	Met	Trp	Gly	Gly	Ala	Thr	Phe	Asp	Thr	Thr	Met	Arg	Phe	Leu	
			580					585					590			
Gln	Glu	Ser	Pro	Trp	Glu	Arg	Leu	Gln	Ile	Leu	Arg	Gln	Arg	Ile	Pro	
		595					600					605				
Asn	Val	Leu	Phe	Gln	Met	Leu	Leu	Arg	Gly	Ala	Asn	Gly	Val	Gly	Tyr	
610						615					620					
Thr	Asn	Tyr	Pro	Asp	Asn	Ala	Ile	His	Ala	Phe	Val	Lys	Ala	Ser	Ala	
625					630					635					640	
Glu	Asn	Gly	Ile	Asp	Val	Phe	Arg	Ile	Phe	Asp	Ser	Leu	Asn	Trp	Leu	
				645					650					655		
Pro	Gly	Met	Gln	Thr	Ala	Ile	Glu	Ala	Val	Arg	Glu	Ser	Gly	Lys	Val	
			660					665					670			
Ala	Glu	Ala	Ala	Ile	Cys	Tyr	Thr	Gly	Asp	Ile	Leu	Asp	Pro	Thr	Lys	
		675					680					685				
Thr	Lys	Tyr	Thr	Leu	Ala	Tyr	Tyr	Val	Asn	Leu	Ala	Lys	Glu	Leu	Glu	
	690					695					700					
Lys	Ala	Gly	Ala	His	Ile	Leu	Ala	Ile	Lys	Asp	Met	Ala	Gly	Leu	Leu	
705					710					715					720	
Lys	Pro	Tyr	Ala	Ala	Tyr	Ser	Leu	Val	Ser	Ala	Leu	Lys	Gln	Glu	Ile	
				725					730					735		
Ser	Ile	Pro	Ile	His	Leu	His	Thr	His	Asp	Thr	Ser	Gly	Asn	Ala	Gly	
			740					745					750			
Ala	Met	Leu	Leu	Lys	Ala	Ile	Glu	Ala	Gly	Val	Asp	Ile	Val	Asp	Ala	
	755						760					765				
Cys	Val	Ser	Ser	Met	Ser	Gly	Leu	Thr	Ser	Gln	Pro	Ser	Leu	Asn	Gly	
	770					775					780					
Leu	Ile	Ala	Ser	Leu	Ala	His	Thr	Glu	Arg	Glu	Thr	Gly	Leu	Ser	Leu	
785					790					795					800	
Glu	Ser	Phe	Asn	Lys	Leu	Ser	Asp	Tyr	Trp	Glu	Asp	Val	Arg	Pro	Tyr	
			805						810					815		
Tyr	Gln	Gly	Phe	Glu	Ser	Gly	Met	Lys	Ala	Ser	Asn	Thr	Glu	Val	Tyr	
			820					825					830			
Val	His	Glu	Met	Pro	Gly	Gly	Gln	Tyr	Thr	Asn	Leu	Glu	Gln	Gln	Ala	
	835						840					845				
Lys	Ala	Val	Gly	Leu	Glu	Gly	Arg	Trp	Asp	Glu	Val	Lys	His	Met	Tyr	
	850					855					860					
Ala	Val	Val	Asn	Gln	Met	Cys	Gly	Asp	Ile	Val	Lys	Val	Thr	Pro	Ser	
865					870					875					880	
Ser	Lys	Val	Val	Gly	Asp	Met	Ala	Leu	Phe	Met	Val	Gln	Asn	Asn	Leu	
				885					890					895		
Asn	Glu	Glu	Asn	Ile	Trp	Glu	Lys	Gly	Thr	Arg	Leu	Asp	Phe	Pro	Asp	
			900					905					910			
Ser	Val	Ile	Gln	Phe	Phe	Gln	Gly	Tyr	Leu	Gly	Gln	Pro	Pro	Gly	Gly	
	915						920					925				
Phe	Pro	Lys	Lys	Leu	Gln	Glu	Leu	Val	Leu	Lys	Gly	Arg	Asp	Ala	Phe	
	930					935					940					
Thr	Ala	Arg	Pro	Gly	Glu	Leu	Leu	Ala	Pro	Ile	Asp	Phe	Thr	Gln	Val	
945					950					955					960	
Ala	Ala	Glu	Leu	Glu	Ala	Lys	Ile	Gly	Arg	Glu	Pro	Ser	His	Leu	Asp	
				965					970					975		
Val	Leu	Ser	Tyr	Ile	Met	Tyr	Pro	Gln	Val	Tyr	Leu	Gln	Phe	Glu	Gln	
			980					985					990			
Arg	Leu	Lys	Glu	Tyr	Gly	Asp	Leu	Ser	Val	Leu	Asn	Thr	Gly	Thr	Phe	

[illegible] $\langle 210 \rangle$ 3

<211> 1173

<212> PRT

5 <213> *Debaryomyces hansenii*

$\langle 220 \rangle$

<223> DhaPYC

$\langle 400 \rangle$ 3

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

	Ser	Val	Arg	Asp	Ala	Ile	Leu	Thr	Asp	Ala	Val	Lys	Leu	Ala	Arg	Ser
			275					280					285			
Ala	Asn	Tyr	Arg	Asn	Ala	Gly	Thr	Ala	Glu	Phe	Leu	Val	Asp	Glu	Gln	
		290				295					300					
Asp	Arg	His	Tyr	Phe	Ile	Glu	Ile	Asn	Pro	Arg	Ile	Gln	Val	Glu	His	
305				310					315						320	
Thr	Ile	Thr	Glu	Glu	Ile	Thr	Gly	Val	Asp	Ile	Val	Ala	Ala	Gln	Ile	
				325					330					335		
Gln	Ile	Ala	Ala	Gly	Ala	Ser	Leu	Lys	Gln	Leu	Gly	Leu	Leu	Gln	Asp	
			340					345					350			
Lys	Ile	Thr	Thr	Arg	Gly	Phe	Ala	Ile	Gln	Cys	Arg	Ile	Thr	Thr	Glu	
		355				360						365				
Asp	Pro	Ser	Lys	Asn	Phe	Gln	Pro	Asp	Thr	Gly	Lys	Ile	Glu	Val	Tyr	
		370			375						380					
Arg	Ser	Ala	Gly	Gly	Asn	Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Gly	Gly	Asn	Gly	Phe	
385				390					395						400	
Ala	Gly	Ser	Ile	Ile	Ser	Pro	His	Tyr	Asp	Ser	Met	Leu	Val	Lys	Cys	
				405					410					415		
Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Glu	Ile	Val	Arg	Arg	Lys	Met	Leu	Arg	
			420					425					430			
Ala	Leu	Ile	Glu	Phe	Arg	Ile	Arg	Gly	Val	Lys	Thr	Asn	Ile	Pro	Phe	
			435				440					445				
Leu	Leu	Ala	Met	Leu	Thr	Asn	Glu	Thr	Phe	Ile	Ser	Gly	Asp	Cys	Trp	
						455					460					
Thr	Thr	Phe	Ile	Asp	Asp	Thr	Pro	Ser	Leu	Phe	Gln	Met	Ile	Arg	Ser	
465				470					475						480	
Gln	Asn	Arg	Ala	Thr	Lys	Ile	Leu	Ser	Tyr	Leu	Gly	Asp	Leu	Ile	Val	
				485					490					495		
Asn	Gly	Ser	Ser	Ile	Lys	Gly	Gln	Ile	Gly	Glu	Pro	Lys	Leu	Asn	Thr	
			500					505					510			
Glu	Ala	Leu	Ile	Pro	Asp	Leu	His	Asp	Pro	Lys	Thr	Gly	Ile	Lys	Ile	
			515				520					525				
Glu	Ile	His	Asn	Glu	Val	Ala	Pro	Arg	Gly	Trp	Arg	Gln	Val	Leu	Leu	
						535					540					
Glu	Gln	Gly	Pro	Glu	Lys	Phe	Ala	Gln	Lys	Val	Arg	Glu	Phe	Asn	Gly	
545					550					555					560	
Thr	Leu	Leu	Met	Asp	Thr	Thr	Trp	Arg	Asp	Ala	His	Gln	Ser	Leu	Leu	
				565					570					575		
Ala	Thr	Arg	Val	Arg	Thr	Ile	Asp	Leu	Leu	Asn	Ile	Ala	Pro	Thr	Thr	
				580				585					590			
Ala	Val	Ala	Leu	Asn	Gly	Cys	Phe	Ala	Leu	Glu	Cys	Trp	Gly	Gly	Ala	
				595			600					605				
Thr	Phe	Asp	Val	Cys	Met	Arg										

Ile	Gly	Ala	Ile	Arg	Glu	Arg	Tyr	Pro	Lys	Leu	Pro	Ile	His	Val	His
		755					760					765			
Thr	His	Asp	Ser	Ala	Gly	Thr	Gly	Val	Ala	Ser	Met	Thr	Glu	Ala	Ala
		770					775				780				
Lys	Ala	Gly	Ala	Asp	Val	Val	Asp	Ala	Ala	Ser	Asn	Ser	Met	Ser	Gly
785					790					795					800
Met	Thr	Ser	Gln	Pro	Ser	Ile	Asn	Ala	Ile	Leu	Ala	Ser	Phe	Glu	Gly
				805					810					815	
Glu	Val	Glu	Ser	Gly	Leu	Gln	Ala	Ser	Leu	Val	Arg	Glu	Leu	Asp	Asn
				820				825					830		
Tyr	Trp	Ala	Gln	Met	Arg	Leu	Leu	Tyr	Ser	Cys	Phe	Glu	Ala	Asp	Leu
		835					840					845			
Lys	Gly	Pro	Asp	Pro	Glu	Val	Tyr	Gln	His	Glu	Ile	Pro	Gly	Gly	Gln
		850					855				860				
Leu	Thr	Asn	Leu	Leu	Phe	Gln	Ala	Gln	Gln	Leu	Gly	Leu	Gly	Ser	Lys
865					870					875					880
Trp	Met	Leu	Thr	Lys	Glu	Ala	Tyr	Lys	Thr	Ala	Asn	Lys	Leu	Leu	Gly
				885					890					895	
Asp	Ile	Val	Lys	Val	Thr	Pro	Thr	Ser	Lys	Val	Val	Gly	Asp	Leu	Ala
			900					905					910		
Gln	Phe	Met	Val	Ser	Asn	Asn	Leu	Ser	Glu	Glu	Asp	Val	Thr	Lys	Leu
		915					920					925			
Ala	Ser	Glu	Leu	Asp	Phe	Pro	Ser	Ser	Val	Leu	Asp	Phe	Met	Glu	Gly
		930				935				940					
Leu	Met	Gly	Thr	Pro	Tyr	Gly	Gly	Phe	Pro	Glu	Pro	Leu	Arg	Thr	Asn
945					950					955					960
Ile	Leu	Gly	Thr	Lys	Arg	Val	Lys	Leu	Asn	Asn	Arg	Pro	Gly	Leu	Asn
				965					970					975	
Leu	Pro	Pro	Ile	Asp	Phe	Ala	Ala	Val	Lys	Glu	Glu	Leu	Val	Ser	Arg
			980					985					990		
Tyr	Gly	Ser	Asn	Ile	Asn	Glu	Cys	Asp	Ile	Ala	Ser	Tyr	Val	Met	Tyr
		995					1000					1005			
Pro	Lys	Val	Tyr	Glu	Asp	Phe	Arg	Glu	Leu	Ser	Glu	Lys	Tyr	Gly	Asp
		1010				1015					1020				
Leu	Ser	Val	Leu	Pro	Thr	Arg	Phe	Phe	Leu	Lys	Ala	Cys	Asn	Ile	Asn
1025					1030					1035					1040
Glu	Glu	Ile	Val	Val	Asp	Ile	Glu	Lys	Gly	Lys	Thr	Leu	Ile	Ile	Lys
				1045					1050					1055	
Leu	Leu	Ala	Ile	Gly	Glu	Ile	Ser	Gln	Gln	Thr	Gly	Thr	Arg	Glu	Val
			1060					1065					1070		
Phe	Phe	Glu	Leu	Asn	Gly	Glu	Met	Arg	Ser	Val	Thr	Val	Asp	Asp	Lys
		1075					1080					1085			
Thr															

<210> 4

<211> 1173

<212> PRT

5 <213> *Kluyveromyces lactis*

 $\langle 220 \rangle$

<223> K1aPYC
<400> 4

Met	Ser	Ser	Gln	Leu	Ala	Gly	Leu	Arg	Asp	Asn	Ser	Asn	Leu	Met	Gly	5	10	15
Glu	Lys	Asn	Lys	Leu	Leu	Val	Ala	Asn	Arg	Gly	Glu	Ile	Pro	Ile	Arg	20	25	30
Ile	Phe	Arg	Thr	Ala	His	Glu	Leu	Ser	Met	Lys	Thr	Val	Ala	Ile	Tyr	35	40	45
Ser	His	Glu	Asp	Arg	Leu	Ser	Met	His	Arg	Leu	Lys	Ala	Asp	Glu	Ala	50	55	60
Tyr	Val	Ile	Gly	Glu	Gln	Gly	Lys	Tyr	Thr	Pro	Val	Gly	Ala	Tyr	Leu	65	70	75
Ala	Ile	Asp	Glu	Ile	Ile	Asn	Ile	Ala	Lys	Ser	His	Gly	Val	Asn	Phe	85	90	95
Ile	His	Pro	Gly	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Glu	Asn	Ser	Glu	Phe	Ala	Glu	100	105	110
Lys	Val	Ala	Ala	Ser	Gly	Ile	Thr	Trp	Val	Gly	Pro	Pro	Ala	Ala	Val	115	120	125
Ile	Asp	Ser	Val	Gly	Asp	Lys	Val	Ser	Ala	Arg	Asn	Leu	Ala	Glu	Lys	130	135	140
Ala	Asp	Val	Pro	Val	Val	Pro	Gly	Thr	Pro	Gly	Pro	Ile	Glu	Thr	Val	145	150	155
Glu	Glu	Ala	Gln	Ala	Phe	Val	Asp	Lys	Tyr	Gly	Phe	Pro	Val	Ile	Ile	165	170	175
Lys	Ala	Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Gly	Arg	Gly	Met	Arg	Val	Val	Arg	Glu	180	185	190
Gly	Asp	Asp	Ile	Ser	Asp	Ala	Phe	Gln	Arg	Ala	Lys	Ser	Glu	Ala	Ile	195	200	205
Thr	Ala	Phe	Gly	Asn	Gly	Thr	Cys	Phe	Ile	Glu	Arg	Phe	Leu	Asp	Lys	210	215	220
Pro	Lys	His	Ile	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Ala	Asp	Asn	Tyr	Gly	Asn	Val	225	230	235
Val	His	Leu	Phe	Glu	Arg	Asp	Cys	Ser	Val	Gln	Arg	Arg	His	Gln	Lys	245	250	255
Val	Val	Glu	Val	Ala	Pro	Ala	Lys	Thr	Leu	Pro	Glu	Glu	Val	Arg	Asp	260	265	270
Ala	Ile	Leu	Thr	Asp	Ala	Val	Lys	Leu	Ala	Lys	Glu	Ala	Gly	Tyr	Arg	275	280	285
Asn	Ala	Gly	Thr	Ala	Glu	Phe	Leu	Val	Asp	Asn	Gln	Asn	Arg	His	Tyr	290	295	300
Phe	Ile	Glu	Ile	Asn	Pro	Arg	Ile	Gln	Val	Glu	His	Thr	Ile	Thr	Glu	305	310	315
Glu	Ile	Thr	Gly	Ile	Asp	Ile	Val	Ala	Ala	Gln	Ile	Gln	Ile	Ala	Ala	325	330	335
Gly	Ala	Thr	Leu	Glu	Gln	Leu	Gly	Leu	Met	Gln	Asp	Lys	Ile	Thr	Thr	340	345	350
Arg	Gly	Phe	Ala	Ile	Gln	Cys	Arg	Ile	Thr	Thr	Glu	Asp	Pro	Ser	Lys	355	360	365
Asn	Phe	Gln	Pro	Asp	Thr	Gly	Arg	Ile	Asp	Val	Tyr	Arg	Ser	Ala	Gly	370	375	380
Gly	Asn	Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Gly	Gly	Asn	Ala	Phe	Ala	Gly	Ser	Val	385	390	395
Ile	Ser	Pro	His	Tyr	Asp	Ser	Met	Leu	Val	Lys	Cys	Ser	Cys	Ser	Gly	405	410	415
Ser	Thr	Tyr	Glu	Ile	Val	Arg	Arg	Lys	Met	Leu	Arg	Ala	Leu	Ile	Glu	420	425	430
Phe	Arg	Ile	Arg	Gly	Val	Lys	Thr	Asn	Ile	Pro	Phe	Leu	Leu	Thr	Leu	435	440	445
Leu	Thr	His	Pro	Val	Phe	Lys	Ser	Gly	Glu	Tyr	Trp	Thr	Thr	Phe	Ile	450	455	460
Asp	Asp	Thr	Pro	Gln	Leu	Phe	Glu	Met	Val	Ser	Ser	Gln	Asn	Arg	Ala	465	470	475
																		480

Gln	Lys	Leu	Leu	His	Tyr	Leu	Ala	Asp	Leu	Ala	Val	Asn	Gly	Ser	Ser	
				485					490					495		
Ile	Lys	Gly	Gln	Ile	Gly	Leu	Pro	Lys	Leu	Thr	Thr	His	Pro	Thr	Ile	
			500					505					510			
Pro	His	Leu	His	Asn	Glu	Asp	Gly	Ser	Leu	Val	Asp	Val	Ser	Ala	Lys	
		515					520					525				
Pro	Pro	Ala	Gly	Trp	Arg	Asp	Val	Leu	Leu	Asp	Tyr	Gly	Pro	Glu	Glu	
	530					535					540					
Phe	Ala	Lys	Gln	Val	Arg	Lys	Phe	Asn	Gly	Thr	Leu	Leu	Met	Asp	Thr	
545					550					555					560	
Thr	Trp	Arg	Asp	Ala	His	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Thr	Arg	Val	Arg	Thr	
				565						570					575	
Tyr	Asp	Leu	Ala	Ala	Ile	Ala	Pro	Thr	Thr	Ala	His	Ala	Met	Ser	Gly	
			580					585					590			
Ala	Phe	Ala	Leu	Glu	Cys	Trp	Gly	Gly	Ala	Thr	Phe	Asp	Val	Ser	Met	
		595					600					605				
Arg	Phe	Leu	His	Glu	Asp	Pro	Trp	Glu	Arg	Leu	Arg	Thr	Leu	Arg	Lys	
	610					615					620					
Leu	Val	Pro	Asn	Ile	Pro	Phe	Gln	Met	Leu	Leu	Arg	Gly	Ala	Asn	Gly	
625				630						635					640	
Val	Ala	Tyr	Ser	Ser	Leu	Pro	Asp	Asn	Ala	Ile	Asp	His	Phe	Val	Lys	
				645					650					655		
Gln	Ala	Lys	Asp	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Phe	Arg	Val	Phe	Asp	Ala	Leu	
			660					665					670			
Asn	Asp	Leu	Glu	Gln	Leu	Lys	Val	Gly	Val	Asp	Ala	Val	Lys	Lys	Ala	
		675					680					685				
Gly	Gly	Val	Val	Glu	Ala	Thr	Ile	Cys	Tyr	Ser	Gly	Asp	Met	Leu	Ala	
	690					695					700					
Pro	Gly	Lys	Lys	Tyr	Asn	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Ile	Thr	Glu	Lys	
705				710						715					720	
Ile	Val	Asn	Ser	Gly	Thr	His	Ile	Leu	Gly	Ile	Lys	Asp	Met	Ala	Gly	
			725						730					735		
Thr	Leu	Lys	Pro	Ser	Ala	Ala	Arg	Leu	Leu	Ile	Gly	Ser	Ile	Arg	Ala	
			740					745					750			
Lys	Tyr	Pro	Glu	Leu	Pro	Ile	His	Val	His	Thr	His	Asp	Ser	Ala	Gly	
		755					760					765				
Thr	Gly	Val	Ala	Ser	Met	Ala	Ala	Cys	Ala	Leu	Ser	Gly	Ala	Asp	Val	
	770					775					780					
Val	Asp	Val	Ala	Thr	Asn	Ser	Met	Ser	Gly	Leu	Thr	Ser	Gln	Pro	Ser	
785				790						795					800	
Ile	Asn	Ala	Leu	Leu	Ala	Ala	Leu	Asp	Gly	Glu	Ile	Asp	Asn	Asn	Val	
			805						810					815		
Asn	Val	Gly	Tyr	Val	Arg	Glu	Leu	Asp	Ala	Tyr	Trp	Ala	Glu	Met	Arg	
			820					825					830			
Leu	Leu	Tyr	Ser	Cys	Phe	Glu	Ala	Asp	Leu	Lys	Gly	Pro	Asp	Pro	Glu	
		835					840					845				
Val	Tyr	Val	His	Glu	Ile	Pro	Gly	Gly	Gln	Leu	Thr	Asn	Leu	Leu	Phe	
	850					855					860					
Gln	Ala	Gln	Gln	Leu	Gly	Leu	Gly	Glu	Lys	Trp	Ala	Glu	Thr	Lys	Arg	
865				870						875					880	
Ala	Tyr	Arg	Glu	Ala	Asn	Leu	Leu	Leu	Gly	Asp	Leu	Val	Lys	Val	Thr	
			885						890					895		
Pro	Thr	Ser	Lys	Val	Val	Gly	Asp	Leu	Ala	Gln	Phe	Met	Val	Thr	Asn	
			900					905					910			
Lys	Leu	Thr	Ser	Asp	Asp	Val	Arg	Arg	Leu	Ala	Ser	Ser	Leu	Asp	Phe	
		915					920					925				
Pro	Asp	Ser	Val	Met	Asp	Phe	Glu	Gly	Leu	Ile	Gly	Gln	Pro	Tyr		
	930					935					940					
Gly	Gly	Phe	Pro	Glu	Pro	Leu	Arg	Thr	Asp	Val	Leu	Arg	Asn	Lys	Arg	
945				950						955					960	
Arg	Lys	Leu	Thr	Gln	Arg	Pro	Gly	Leu	Glu	Leu	Ala	Pro	Phe	Glu	Leu	

				965				970				975			
Glu	Lys	Ile	Lys	Glu	Asp	Leu	Ser	Thr	Arg	Phe	Ser	Asp	Ile	Asp	Glu
980				985				990							
Cys	Asp	Val	Ala	Ser	Tyr	Asn	Met	Tyr	Pro	Lys	Val	Tyr	Glu	Asp	Phe
995				1000				1005							
Arg	Lys	Ile	Lys	Glu	Lys	Tyr	Gly	Asp	Leu	Ser	Val	Leu	Pro	Thr	Lys
1010				1015				1020							
Asn	Phe	Leu	Ser	Pro	Pro	Val	Ile	Gly	Glu	Glu	Ile	Val	Val	Thr	Ile
1025				1030				1035				1040			
Glu	Gln	Gly	Lys	Thr	Leu	Ile	Ile	Lys	Pro	Gln	Ala	Ile	Gly	Asp	Leu
1045				1050				1055							
Asn	Lys	Glu	Thr	Gly	Ile	Arg	Glu	Val	Tyr	Phe	Glu	Leu	Asn	Gly	Glu
1060				1065				1070							
Leu	Arg	Lys	Val	Ser	Val	Ala	Asp	Arg	Ser	Gln	Lys	Val	Glu	Thr	Val
1075				1080				1085							
Ser	Lys	Pro	Lys	Ala	Asp	Ala	His	Asp	Pro	Phe	Gln	Ile	Gly	Ser	Pro
1090				1095				1100							
Met	Ala	Gly	Val	Val	Val	Glu	Val	Lys	Val	His	Lys	Gly	Ser	Leu	Ile
1105				1110				1115				1120			
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Val	Ala	Val	Leu	Ser	Ala	Met	Lys	Met	Glu	Met
1125				1130				1135							
Val	Ile	Ser	Ser	Pro	Ala	Asp	Gly	Gln	Val	Lys	Glu	Val	Leu	Val	Lys
1140				1145				1150							
Asp	Gly	Glu	Asn	Val	Asp	Ala	Ser	Asp	Leu	Leu	Val	Val	Leu	Glu	Glu
1155				1160				1165							
Ala	Pro	Ala	Lys	Glu											
1170															

$\langle 210 \rangle$ 5

<211> 1174

<212> PRT

5 <213> *Lachancea thermotolerans*

<220>

<223> LthPYC

$\langle 400 \rangle$ 5

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

Ala	Phe	Gly	Asn	Gly	Thr	Cys	Phe	Ile	Glu	Arg	Phe	Leu	Asn	Lys	Pro
210						215					220				
Lys	His	Ile	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Ala	Asp	Gly	Tyr	Gly	Asn	Val	Val
225					230					235					240
His	Leu	Phe	Glu	Arg	Asp	Cys	Ser	Val	Gln	Arg	Arg	His	Gln	Lys	Val
				245					250					255	
Val	Glu	Val	Ala	Pro	Ala	Lys	Thr	Leu	Pro	Lys	Asp	Val	Arg	Asp	Ala
			260					265					270		
Ile	Leu	Thr	Asp	Ala	Val	Lys	Leu	Ala	Lys	Val	Ala	Gly	Tyr	Lys	Asn
		275					280					285			
Ala	Gly	Thr	Ala	Glu	Phe	Leu	Val	Asp	Asp	Gln	Asn	Arg	His	Tyr	Phe
290						295					300				
Ile	Glu	Ile	Asn	Pro	Arg	Ile	Gln	Val	Glu	His	Thr	Ile	Thr	Glu	Glu
305					310					315					320
Ile	Thr	Gly	Ile	Asp	Ile	Val	Ala	Ala	Gln	Ile	Gln	Ile	Ala	Ala	Gly
			325						330					335	
Ala	Ser	Leu	Gln	Glu	Leu	Gly	Leu	Leu	Gln	Asp	Lys	Ile	Ile	Thr	Arg
			340				345						350		
Gly	Phe	Ala	Ile	Gln	Cys	Arg	Ile	Thr	Thr	Glu	Asp	Pro	Ala	Lys	Asn
		355					360					365			
Phe	Gln	Pro	Asp	Thr	Gly	Arg	Ile	Glu	Val	Tyr	Arg	Ser	Ala	Gly	Gly
370						375					380				
Asn	Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Gly	Gly	Asn	Ala	Tyr	Ala	Gly	Ser	Ile	Ile
385					390					395					400
Ser	Pro	His	Tyr	Asp	Ser	Met	Leu	Val	Lys	Cys	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser
			405						410					415	
Thr	Tyr	Glu	Ile	Val	Arg	Arg	Lys	Met	Leu	Arg	Ala	Leu	Ile	Glu	Phe
		420						425					430		
Arg	Ile	Arg	Gly	Val	Lys	Thr	Asn	Ile	Pro	Phe	Leu	Leu	Thr	Leu	Leu
		435					440					445			
Thr	Asn	Pro	Val	Phe	Ile	Asp	Gly	Ser	Tyr	Trp	Thr	Thr	Phe	Ile	Asp
450						455					460				
Asp	Thr	Pro	Glu	Leu	Phe	Lys	Met	Val	Ser	Ser	Gln	Asn	Arg	Ala	Gln
465					470					475					480
Lys	Leu	Leu	His	Tyr	Leu	Ala	Asp	Leu	Ala	Val	Asn	Gly	Ser	Ser	Ile
			485						490					495	
Lys	Gly	Gln	Met	Gly	Leu	Pro	Lys	Leu	His	Thr	Gln	Pro	Ser	Val	Pro
		500					505					510			
Thr	Leu	His	Asp	Ser	Asn	Gly	Glu	Val	Ile	Asp	Val	Leu	Thr	Thr	Pro
		515					520					525			
Pro	Pro	Ser	Gly	Trp	Arg	Gln	Val	Leu	Leu	Glu	Gln	Gly	Pro	Ala	Gln
530						535					540				
Phe	Ala	Lys	Ala	Val	Arg	His	Tyr	Lys	Gly	Thr	Leu	Leu	Met	Asp	Thr
545					550					555					560
Thr	Trp	Arg	Asp	Ala	His	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Thr	Arg	Val	Arg	Thr
			565						570					575	
Tyr	Asp	Leu	Ala	Ala	Ile	Ala	Pro	Thr	Thr	Ala	His	Ala	Leu	Ser	Gly
		580						585					590		
Ala	Phe	Ala	Leu	Glu	Cys	Trp	Gly	Gly	Ala	Thr	Phe	Asp	Val	Ala	Met
		595					600					605			
Arg	Phe	Leu	His	Glu	Asp	Pro	Trp	Glu	Arg	Leu	Arg	Ile	Leu	Arg	Lys
610						615					620				
Leu	Val	Pro	Asn	Ile	Pro	Phe	Gln	Met	Leu	Leu	Arg	Gly	Ala	Asn	Gly
625					630					635					640
Val	Ala	Tyr	Ser	Ser	Leu	Pro	Asp	Asn	Ala	Ile	Asp	His	Phe	Val	Glu
			645						650					655	
Gln	Ala	Lys	Glu	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Phe	Arg	Val	Phe	Asp	Ala	Leu
		660						665					670		
Asn	Asp	Leu	Glu	Gln	Leu	Lys	Val	Gly	Val	Asp	Ala	Val	Lys	Lys	Ala
		675					680					685			
Asn	Gly	Val	Val	Glu	Ala	Thr	Ile	Cys	Tyr	Ser	Gly	Asp	Met	Leu	Gln

690		695		700
Pro Gly Lys Lys Tyr Asn	Leu Asp Tyr Tyr Leu Glu Ile Thr Asp Lys			
705	710	715		720
Ile Val Gln Met Gly Thr	His Ile Leu Gly Ile Lys Asp Met Ala Gly			
	725	730		735
Thr Leu Lys Pro Ser Ala Ala Lys Leu Leu Ile Gly Ser Ile Arg Ala				
	740	745		750
Lys Tyr Pro Asp Leu Pro Ile His Val His Thr His Asp Ser Ala Gly				
	755	760		765
Thr Ala Val Ala Ser Met Ala Ala Cys Ala Phe Ala Gly Ala Asp Val				
	770	775		780
Val Asp Val Ala Thr Asn Ser Met Ser Gly Met Thr Ser Gln Pro Ser				
785	790	795		800
Ile Asn Ala Leu Leu Ala Ser Leu Asp Gly Glu Ile Asp Thr Gly Val				
	805	810		815
Asn Val Asn Met Val Arg Glu Leu Asp Ala Tyr Trp Ala Gln Met Arg				
	820	825		830
Leu Leu Tyr Ser Cys Phe Glu Ala Asp Leu Lys Gly Pro Asp Pro Glu				
	835	840		845
Val Tyr Glu His Glu Ile Pro Gly Gly Gln Leu Thr Asn Leu Leu Phe				
	850	855		860
Gln Ala Gln Gln Leu Gly Leu Gly Glu Lys Trp Ala Glu Thr Lys Arg				
865	870	875		880
Ala Tyr Arg Asp Ala Asn Tyr Leu Leu Gly Asp Leu Val Lys Val Thr				
	885	890		895
Pro Thr Ser Lys Val Val Gly Asp Leu Ala Gln Phe Met Val Ser Asn				
	900	905		910
Lys Leu Thr Pro Asp Asp Val Arg Arg Leu Ala Ser Ser Leu Asp Phe				
	915	920		925
Pro Asp Ser Val Met Asp Phe Phe Glu Gly Leu Ile Gly Gln Pro Tyr				
	930	935		940
Gly Gly Phe Pro Glu Pro Leu Arg Ser Asp Val Leu Lys Asn Lys Arg				
945	950	955		960
Arg Lys Leu Thr Cys Arg Pro Gly Leu Glu Leu Ala Pro Phe Asp Leu				
	965	970		975
Ala Gly Ile Lys Glu Asp Leu Gln Asp Arg Phe Gly Asp Ile Asp Glu				
	980	985		990
Cys Asp Val Ala Ser Tyr Asn Met Tyr Pro Lys Val Tyr Glu Asp Phe				
	995	1000		1005
Arg Lys Met Arg Glu Thr Tyr Gly Asp Leu Ser Val Leu Pro Thr Lys				
	1010	1015		1020
Asn Phe Leu Ser Pro Pro Thr Val Gly Glu Glu Ile Val Val Thr Ile				
1025	1030	1035		1040
Glu Lys Gly Lys Thr Leu Ile Ile Lys Pro Gln Ala Ile Gly Glu Leu				
	1045	1050		1055
Asn Lys Glu Thr Gly Leu Arg Glu Val Tyr Phe Asp Leu Asn Gly Glu				
	1060	1065		1070
Leu Arg Lys Val Ser Val Ile Asp Lys Ser Gln Lys Val Asp Thr Leu				
	1075	1080		1085
Ser Lys Pro Lys Ala Asp Ala His Asp Pro Phe Gln Ile Gly Ala Pro				
	1090	1095		1100
Met Ala Gly Val Ile Ile Glu Val Lys Val His Lys Gly Ser Leu Val				
1105	1110	1115		1120
Lys Lys Gly Gln Pro Ile Ala Val Leu Ser Ala Met Lys Met Glu Met				
	1125	1130		1135
Val Ile Ser Ser Pro Thr Asp Gly Gln Val Lys Asp Val Leu Val Lys				
	1140	1145		1150
Asp Gly Glu Asn Val Asp Ala Ser Asp Leu Leu Val Phe Leu Glu Glu				
	1155	1160		1165
Ser Val Pro Pro Lys Glu				
1170				

<210> 6
<211> 1179
<212> PRT
<213> *Lodderomyces elongisporus*
5 <220>
<223> LeIPYC
<400> 6

Met	Thr	Ser	Ile	Ala 5	Ser	Ser	Asn	Thr	Gln 10	Asp	Gly	Arg	Ile	Asn 15	Gln
Met	Arg	Arg	Asp 20	Ser	Thr	Val	Leu	Gly 25	Pro	Met	Asn	Lys	Ile 30	Leu	Val
Ala	Asn	Arg	Gly 35	Glu	Ile	Pro	Ile 40	Arg	Ile	Phe	Arg	Thr 45	Ala	His	Glu
Leu	Ser	Met	Gln	Thr	Val	Ala 55	Ile	Tyr	Ser	His	Glu 60	Asp	Arg	Leu	Ser
Met 65	His	Arg	Leu	Lys 70	Ala	Asp	Glu	Ser	Tyr 75	Ala	Ile	Gly	Lys	Lys 80	Gly
Gln	Phe	Thr	Pro	Val 85	Gly	Ala	Tyr	Leu	Gln 90	Ile	Asp	Glu	Ile 95	Ile	Asp
Ile	Ala	Lys	Lys 100	His	Asn	Val	Asn 105	Met	Ile	His	Pro	Gly 110	Tyr	Gly	Phe
Leu	Ser	Glu 115	Asn	Ser	Glu	Phe 120	Ala	Lys	Lys	Val	Glu 125	Gln	Asn	Gly	Ile
Val	Trp 130	Ile	Gly	Pro	Ser	His 135	Lys	Thr	Ile	Asp	Ala 140	Val	Gly	Asp	Lys
Val 145	Ser	Ala	Arg	Thr 150	Leu	Ala	Ile	Glu	Asn	Asp 155	Val	Pro	Val	Val	Pro
Gly	Thr	Pro	Gly	Pro 165	Ile	Asp	Asp	Val	Ser 170	Asp	Ala	Arg	Lys	Phe 175	Val
Glu	Lys	Tyr	Gly 180	Tyr	Pro	Val	Ile 185	Ile	Lys	Ala	Ala	Phe 190	Gly	Gly	Gly
Gly	Arg	Gly 195	Met	Arg	Val	Val 200	Arg	Glu	Gly	Asp	Asp 205	Ile	Glu	Asp	Ala
Phe	Lys 210	Arg	Ala	Thr	Ser	Glu 215	Ala	Lys	Thr	Ala	Phe 220	Gly	Asn	Gly	Thr
Cys 225	Phe	Ile	Glu	Arg 230	Phe	Leu	Asp	Lys	Pro	Lys 235	His	Ile	Glu	Val	Gln
Leu	Leu	Ala	Asp 245	Asn	Tyr	Gly	Asn	Val	Ile 250	His	Leu	Phe	Glu	Arg 255	Asp
Cys	Ser	Val	Gln 260	Arg	His	Gln	Lys 265	Val	Val	Val	Glu	Ile 270	Ala	Pro	Ala
Lys	Asn	Leu 275	Pro	Arg	Glu	Val 280	Arg	Asp	Ala	Ile	Leu 285	Thr	Asp	Ala	Val
Lys	Leu 290	Ala	Lys	Ser	Ala	Asn 295	Tyr	Arg	Asn	Ala	Gly 300	Thr	Ala	Glu	Phe
Leu 305	Val	Asp	Glu	Gln 310	Asn	Arg	His	Tyr	Phe 315	Ile	Glu	Ile	Asn	Pro	Arg
Ile	Gln	Val	Glu	His 325	Thr	Ile	Thr	Glu	Glu 330	Ile	Thr	Gly	Val	Asp 335	Ile
Val	Ala	Ala	Gln 340	Ile	Gln	Ile	Ala 345	Ala	Gly	Ala	Ser	Leu 350	Gln	Gln	Leu
Gly	Leu 355	Leu	Gln	Asp	Lys	Ile 360	Thr	Thr	Arg	Gly	Phe 365	Ala	Ile	Gln	Cys
Arg	Ile 370	Thr	Thr	Glu	Asp 375	Pro	Ala	Lys	Asn	Phe 380	Gln	Pro	Asp	Thr	Gly
Lys 385	Ile	Glu	Val	Tyr 390	Arg	Ser	Ala	Gly	Gly 395	Asn	Gly	Val	Arg	Leu	Asp
Gly	Gly	Asn	Gly 405	Phe	Ala	Gly	Ser	Ile 410	Ile	Ser	Pro	His	Tyr 415	Asp	Ser

Met	Leu	Val	Lys	Cys	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Thr	Phe	Glu	Ile	Ala	Arg
			420					425					430		
Arg	Lys	Met	Ile	Arg	Ala	Leu	Ile	Glu	Phe	Arg	Ile	Arg	Gly	Val	Lys
		435					440					445			
Thr	Asn	Ile	Pro	Phe	Leu	Leu	Ala	Leu	Leu	Thr	Asn	Gln	Thr	Phe	Val
	450					455					460				
Glu	Gly	Asp	Cys	Trp	Thr	Thr	Phe	Ile	Asp	Asp	Thr	Pro	Ser	Leu	Phe
465					470					475					480
Gln	Met	Ile	Ser	Ser	Gln	Asn	Arg	Ala	Thr	Lys	Leu	Leu	Leu	Tyr	Leu
				485					490					495	
Ala	Asp	Leu	Tyr	Val	Asn	Gly	Ser	Ser	Ile	Lys	Gly	Gln	Ile	Gly	Tyr
			500					505					510		
Pro	Lys	Leu	Asp	Thr	Glu	Ala	Leu	Ile	Pro	Glu	Leu	His	Glu	Pro	Arg
		515					520					525			
Thr	Gly	Ile	Ala	Ile	Asp	Val	Asn	His	Thr	Pro	Pro	Pro	Arg	Gly	Trp
	530					535					540				
Arg	Gln	Val	Leu	Leu	Glu	Glu	Gly	Pro	Ala	Lys	Phe	Ala	Lys	Lys	Val
545					550					555					560
Arg	Glu	Phe	Lys	Gly	Cys	Leu	Ile	Thr	Asp	Thr	Thr	Trp	Arg	Asp	Ala
				565					570					575	
His	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Thr	Arg	Val	Arg	Thr	Ile	Asp	Leu	Leu	Asn
			580					585					590		
Ile	Ala	Pro	Thr	Thr	Ala	Phe	Ala	Leu	Asn	Gly	Ala	Phe	Ser	Leu	Glu
		595					600					605			
Cys	Trp	Gly	Gly	Ala	Thr	Phe	Asp	Val	Cys	Met	Arg	Phe	Leu	Tyr	Glu
	610					615					620				
Asp	Pro	Trp	Val	Arg	Leu	Arg	Gln	Leu	Arg	Ala	Leu	Val	Pro	Asn	Ile
625					630					635					640
Pro	Phe	Gln	Met	Leu	Leu	Arg	Gly	Ala	Asn	Gly	Val	Ala	Tyr	Ser	Ser
			645					650						655	
Leu	Pro	Asp	Asn	Ala	Ile	Asp	Gln	Phe	Val	Lys	Glu	Ala	Lys	Glu	Asn
			660					665					670		
Gly	Val	Asp	Ile	Phe	Arg	Val	Phe	Asp	Ala	Leu	Asn	Asp	Leu	Glu	Gln
		675					680					685			
Leu	Lys	Val	Gly	Val	Asp	Ala	Val	Lys	Lys	Ala	Gly	Gly	Val	Val	Glu
	690					695					700				
Ala	Thr	Val	Cys	Tyr	Ser	Gly	Asp	Met	Leu	Lys	Pro	Gly	Lys	Lys	Tyr
705					710					715					720
Asn	Leu	Glu	Tyr	Tyr	Leu	Asn	Phe	Val	Asp	Glu	Val	Val	Lys	Met	Gly
			725						730					735	
Thr	His	Phe	Leu	Gly	Ile	Lys	Asp	Met	Ala	Gly	Thr	Leu	Lys	Pro	Ala
			740					745					750		
Ala	Ala	Lys	Leu	Leu	Val	Gly	Glu	Ile	Arg	Lys	Arg	His	Pro	Asp	Leu
		755					760					765			
Pro	Ile	His	Val	His	Thr	His	Asp	Ser	Ala	Gly	Thr	Gly	Val	Ala	Ser
	770					775					780				
Met	Thr	Glu	Cys	Ala	Lys	Ala	Gly	Ala	Asp	Val	Val	Asp	Ala	Ala	Ser
785					790					795					800
Asn	Ser	Met	Ser	Gly	Met	Thr	Ser	Gln	Pro	Ser	Ile	Ser	Ala	Ile	Leu
			805					810					815		
Ala	Ser	Phe	Glu	Gly	Ser	Ile	Glu	Ser	Gly	Leu	Ser	Glu	Gln	Leu	Val
			820					825					830		
Arg	Glu	Leu	Asp	Glu	Tyr	Trp	Ala	Gln	Met	Arg	Leu	Leu	Tyr	Ser	Cys
		835					840					845			
Phe	Glu	Ala	Asp	Leu	Lys	Gly	Pro	Asp	Pro	Glu	Val	Tyr	Ser	His	Glu
	850					855					860				
Ile	Pro	Gly	Gly	Gln	Leu	Thr	Asn	Leu	Leu	Phe	Gln	Ala	Gln	Gln	Leu
865					870					875					880
Gly	Leu	Gly	Thr	Lys	Trp	Leu	Glu	Thr	Lys	Lys	Ala	Tyr	Arg	Ile	Ala
			885						890					895	
Asn	Lys	Ile	Leu	Gly	Asp	Leu	Val	Lys	Val	Thr	Pro	Thr	Ser	Lys	Val

[illegible]

<210> 7

<211> 1174

<212> PRT

5 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

$\langle 220 \rangle$

<223> ScePYC

<400> 7

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

130	135	140
Asp Val Pro Val Val	Pro Gly Thr Pro Gly	Pro Ile Asp Ser Val Glu
145	150	155
Glu Ala Gln Ala Phe	Val Glu Glu Tyr Gly Tyr	Pro Val Ile Ile Lys
165	170	175
Ala Ala Tyr Gly Gly	Gly Gly Arg Gly Met Arg	Val Val Arg Glu Gly
180	185	190
Asp Asp Ile Ala Asp	Ala Phe Gln Arg Ala Thr	Ser Glu Ala Lys Thr
195	200	205
Ala Phe Gly Asn Gly	Thr Cys Phe Ile Glu Arg	Phe Leu Asn Lys Pro
210	215	220
Lys His Ile Glu Val	Gln Leu Leu Ala Asp Gly	Tyr Gly Asn Val Val
225	230	235
His Leu Phe Glu Arg	Asp Cys Ser Val Gln Arg	Arg His Gln Lys Val
245	250	255
Val Glu Val Ala Pro	Ala Lys Thr Leu Pro	Lys Asp Val Arg Asp Ala
260	265	270
Ile Leu Thr Asp Ala	Val Lys Leu Ala Lys	Val Ala Gly Tyr Lys Asn
275	280	285
Ala Gly Thr Ala Glu	Phe Leu Val Asp Asp	Gln Asn Arg His Tyr Phe
290	295	300
Ile Glu Ile Asn Pro	Arg Ile Gln Val Glu His	Thr Ile Thr Glu Glu
305	310	315
Ile Thr Gly Ile Asp	Ile Val Ala Ala Gln	Ile Gln Ile Ala Ala Gly
325	330	335
Ala Ser Leu Gln Glu	Leu Gly Leu Leu Gln	Asp Lys Ile Ile Thr Arg
340	345	350
Gly Phe Ala Ile Gln	Cys Arg Ile Thr Thr	Glu Asp Pro Ala Lys Asn
355	360	365
Phe Gln Pro Asp Thr	Gly Arg Ile Glu Val Tyr	Arg Ser Ala Gly Gly
370	375	380
Asn Gly Val Arg Leu	Asp Gly Gly Asn Ala Tyr	Ala Gly Ser Ile Ile
385	390	395
Ser Pro His Tyr Asp	Ser Met Leu Val Lys	Cys Ser Cys Ser Gly Ser
405	410	415
Thr Tyr Glu Ile Val	Arg Arg Lys Met Leu	Arg Ala Leu Ile Glu Phe
420	425	430
Arg Ile Arg Gly Val	Lys Thr Asn Ile Pro	Phe Leu Leu Thr Leu Leu
435	440	445
Thr Asn Pro Val Phe	Ile Asp Gly Ser Tyr Trp	Thr Thr Phe Ile Asp
450	455	460
Asp Thr Pro Glu Leu	Phe Lys Met Val Ser	Ser Gln Asn Arg Ala Gln
465	470	475
Lys Leu Leu His Tyr	Leu Ala Asp Leu Ala	Val Asn Gly Ser Ser Ile
485	490	495
Lys Gly Gln Met Gly	Leu Pro Lys Leu His	Thr Gln Pro Ser Val Pro
500	505	510
Thr Leu His Asp Ser	Asn Gly Glu Val Ile	Asp Val Leu Thr Thr Pro
515	520	525
Pro Pro Ser Gly Trp	Arg Gln Val Leu Leu	Glu Gln Gly Pro Ala Gln
530	535	540
Phe Ala Lys Ala Val	Arg His Tyr Lys Gly	Thr Leu Leu Met Asp Thr
545	550	555
Thr Trp Arg Asp Ala	His Gln Ser Leu Leu	Ala Thr Arg Val Arg Thr
565	570	575
Tyr Asp Leu Ala Ala	Ile Ala Pro Thr Thr	Ala His Ala Leu Ser Gly
580	585	590
Ala Phe Ala Leu Glu	Cys Trp Gly Gly Ala	Thr Phe Asp Val Ala Met
595	600	605
Arg Phe Leu His Glu	Asp Pro Trp Glu Arg	Leu Arg Ile Leu Arg Lys
610	615	620

Leu	Val	Pro	Asn	Ile	Pro	Phe	Gln	Met	Leu	Leu	Arg	Gly	Ala	Asn	Gly
625					630					635					640
Val	Ala	Tyr	Ser	Ser	Leu	Pro	Asp	Asn	Ala	Ile	Asp	His	Phe	Val	Glu
				645					650					655	
Gln	Ala	Lys	Glu	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Phe	Arg	Val	Phe	Asp	Ala	Leu
			660					665					670		
Asn	Asp	Leu	Glu	Gln	Leu	Lys	Val	Gly	Val	Asp	Ala	Val	Lys	Lys	Ala
		675						680					685		
Asn	Gly	Val	Val	Glu	Ala	Thr	Ile	Cys	Tyr	Ser	Gly	Asp	Met	Leu	Gln
	690					695					700				
Pro	Gly	Lys	Lys	Tyr	Asn	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Leu	Glu	Ile	Thr	Asp	Lys
705					710						715				720
Ile	Val	Gln	Met	Gly	Thr	His	Ile	Leu	Gly	Ile	Lys	Asp	Met	Ala	Gly
				725					730					735	
Thr	Leu	Lys	Pro	Ser	Ala	Ala	Lys	Leu	Leu	Ile	Gly	Ser	Ile	Arg	Ala
			740					745					750		
Lys	Tyr	Pro	Asp	Leu	Pro	Ile	His	Val	His	Thr	His	Asp	Ser	Ala	Gly
		755					760					765			
Thr	Ala	Val	Ala	Ser	Met	Ala	Ala	Cys	Ala	Phe	Ala	Gly	Ala	Asp	Val
	770					775					780				
Val	Asp	Val	Ala	Thr	Asn	Ser	Met	Ser	Gly	Met	Thr	Ser	Gln	Pro	Ser
785					790					795					800
Ile	Asn	Ala	Leu	Leu	Ala	Ser	Leu	Asp	Gly	Glu	Ile	Asp	Thr	Gly	Val
				805					810					815	
Asn	Val	Asn	Met	Val	Arg	Glu	Leu	Asp	Ala	Tyr	Trp	Ala	Gln	Met	Arg
			820					825					830		
Leu	Leu	Tyr	Ser	Cys	Phe	Glu	Ala	Asp	Leu	Lys	Gly	Pro	Asp	Pro	Glu
		835					840					845			
Val	Tyr	Glu	His	Glu	Ile	Pro	Gly	Gly	Gln	Leu	Thr	Asn	Leu	Leu	Phe
	850					855					860				
Gln	Ala	Gln	Gln	Leu	Gly	Leu	Gly	Glu	Lys	Trp	Ala	Glu	Thr	Lys	Arg
865					870					875					880
Ala	Tyr	Arg	Asp	Ala	Asn	Tyr	Leu	Leu	Gly	Asp	Leu	Val	Lys	Val	Thr
				885					890					895	
Pro	Thr	Ser	Lys	Val	Val	Gly	Asp	Leu	Ala	Gln	Phe	Met	Val	Ser	Asn
			900					905					910		
Lys	Leu	Thr	Pro	Asp	Asp	Val	Arg	Arg	Leu	Ala	Ser	Ser	Leu	Asp	Phe
		915					920					925			
Pro	Asp	Ser	Val	Met	Asp	Phe	Phe	Glu	Gly	Leu	Ile	Gly	Gln	Pro	Tyr
	930					935					940				
Gly	Gly	Phe	Pro	Glu	Pro	Leu	Arg	Ser	Asp	Val	Leu	Lys	Asn	Lys	Arg
945					950					955					960
Arg	Lys	Leu	Thr	Cys	Arg	Pro	Gly	Leu	Glu	Leu	Ala	Pro	Phe	Asp	Leu
				965					970					975	
Ala	Gly	Ile	Lys	Glu	Asp	Leu	Gln	Asp	Arg	Phe	Gly	Asp	Ile	Asp	Glu
			980					985					990		
Cys	Asp	Val	Ala	Ser	Tyr	Asn	Met	Tyr	Pro	Lys	Val	Tyr	Glu	Asp	Phe
		995					1000					1005			
Arg	Lys	Met	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Asp	Leu	Ser	Val	Leu	Pro	Thr	Lys
	1010					1015					1020				
Asn	Phe	Leu	Ser	Pro	Pro	Thr	Val	Gly	Glu	Glu	Ile	Val	Val	Thr	Ile
1025					1030					1035					1040
Glu	Lys	Gly	Lys	Thr	Leu	Ile	Ile	Lys	Pro	Gln	Ala	Ile	Gly	Glu	Leu
				1045					1050					1055	
Asn	Lys	Glu	Thr	Gly	Leu	Arg	Glu	Val	Tyr	Phe	Asp	Leu	Asn	Gly	Glu
		1060						1065					1070		
Leu	Arg	Lys	Val	Ser	Val	Ile	Asp	Lys	Ser	Gln	Lys	Val	Asp	Thr	Leu
		1075					1080						1085		
Ser	Lys	Pro	Lys	Ala	Asp	Ala	His	Asp	Pro	Phe	Gln	Ile	Gly	Ala	Pro
	1090					1095					1100				
Met	Ala	Gly	Val	Ile	Ile	Glu	Val	Lys	Val	His	Lys	Gly	Ser	Leu	Val

1105		1110		1115		1120									
Lys	Lys	Gly	Gln	Pro	Ile	Ala	Val	Leu	Ser	Ala	Met	Lys	Met	Glu	Met
				1125					1130					1135	
Val	Ile	Ser	Ser	Pro	Thr	Asp	Gly	Gln	Val	Lys	Asp	Val	Leu	Val	Lys
				1140				1145					1150		
Asp	Gly	Glu	Asn	Val	Asp	Ala	Ser	Asp	Leu	Leu	Val	Phe	Leu	Glu	Glu
				1155				1160					1165		
Ser	Val	Pro	Pro	Lys	Glu										

<210> 8

<211> 1216

<212> PRT

5 <213> *Candida orthopsilosis*

<220>

<223> CorPYC

<400> 8

Met	Ile	Phe	Ile	Asn	Ser	Ser	Ser	Ile	Ser	Thr	Lys	Ser	Pro	Leu	Asn	
				5					10					15		
Ser	Ile	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Gln	Leu	Leu	Phe	Phe	Cys	Gln	Ile	Tyr	
			20					25					30			
Ser	Pro	Pro	Ile	Thr	Met	Thr	Ser	Leu	Gln	Pro	Thr	Ala	Thr	Gln	Asp	
			35				40					45				
Gly	Gln	Ile	Asn	Gln	Met	Arg	Arg	Ala	Ser	Ser	Val	Leu	Gly	Pro	Met	
			50			55					60					
Asn	Lys	Ile	Leu	Val	Ala	Asn	Arg	Gly	Glu	Ile	Pro	Ile	Arg	Ile	Phe	
65					70				75						80	
Arg	Thr	Ala	His	Glu	Leu	Ser	Met	Gln	Thr	Val	Ala	Ile	Tyr	Ser	His	
			85					90					95			
Glu	Asp	Arg	Leu	Ser	Met	His	Arg	Leu	Lys	Ala	Asp	Glu	Ser	Tyr	Val	
			100				105					110				
Ile	Gly	Lys	Lys	Gly	Gln	Tyr	Ser	Pro	Val	Gly	Ala	Tyr	Leu	Gln	Ile	
			115				120					125				
Asp	Glu	Ile	Ile	Asp	Ile	Ala	Lys	Gln	His	Asn	Val	Asn	Met	Ile	His	
			130			135					140					
Pro	Gly	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Glu	Asn	Ser	Glu	Phe	Ala	Arg	Lys	Val	
145					150					155					160	
Glu	Glu	Asn	Gly	Ile	Leu	Trp	Val	Gly	Pro	Ser	Tyr	Lys	Thr	Ile	Asp	
			165					170						175		
Ala	Val	Gly	Asp	Lys	Val	Ser	Ala	Arg	Thr	Leu	Ala	Ile	Glu	Asn	Asp	
			180					185					190			
Val	Pro	Val	Val	Pro	Gly	Thr	Pro	Gly	Pro	Ile	Asp	Asp	Val	Thr	Asp	
			195				200					205				
Ala	Arg	Lys	Phe	Val	Glu	Lys	Tyr	Gly	Phe	Pro	Val	Ile	Ile	Lys	Ala	
			210			215					220					
Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Gly	Arg	Gly	Met	Arg	Val	Val	Arg	Glu	Gly	Asp	
225					230					235					240	
Asp	Ile	Glu	Asp	Ala	Phe	Lys	Arg	Ala	Thr	Ser	Glu	Ala	Lys	Thr	Ala	
			245					250						255		
Phe	Gly	Asn	Gly	Thr	Cys	Phe	Ile	Glu	Arg	Phe	Leu	Asp	Lys	Pro	Lys	
			260					265					270			
His	Ile	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Ala	Asp	Asn	Tyr	Gly	Asn	Val	Ile	His	
			275				280					285				
Leu	Phe	Glu	Arg	Asp	Cys	Ser	Val	Gln	Arg	Arg	His	Gln	Lys	Val	Val	
			290			295					300					
Glu	Ile	Ala	Pro	Ala	Lys	Asn	Leu	Pro	Lys	Glu	Val	Arg	Asp	Ala	Ile	
305					310					315					320	
Leu	Thr	Asp	Ala	Val	Lys	Leu	Ala	Lys	Ser	Ala	Asn	Tyr	Arg	Asn	Ala	
			325					330						335		
Gly	Thr	Ala	Glu	Phe	Leu	Val	Asp	Glu	Gln	Asn	Arg	His	Tyr	Phe	Ile	
			340					345					350			

Glu	Ile	Asn	Pro	Arg	Ile	Gln	Val	Glu	His	Thr	Ile	Thr	Glu	Glu	Ile
		355					360					365			
Thr	Gly	Val	Asp	Ile	Val	Ala	Ala	Gln	Ile	Gln	Ile	Ala	Ala	Gly	Ala
	370					375					380				
Ser	Leu	Gln	Gln	Leu	Gly	Leu	Leu	Gln	Asp	Lys	Ile	Thr	Thr	Arg	Gly
385					390				395						400
Phe	Ala	Ile	Gln	Cys	Arg	Ile	Thr	Thr	Glu	Asp	Pro	Ala	Lys	Asn	Phe
				405					410					415	
Gln	Pro	Asp	Thr	Gly	Lys	Ile	Glu	Val	Tyr	Lys	Ser	Ala	Gly	Gly	Asn
			420					425						430	
Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Gly	Gly	Asn	Gly	Phe	Ala	Gly	Ser	Val	Ile	Ser
		435					440					445			
Pro	His	Tyr	Asp	Ser	Met	Leu	Val	Lys	Cys	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Thr
	450					455					460				
Phe	Glu	Ile	Ala	Arg	Arg	Lys	Met	Leu	Arg	Ala	Leu	Ile	Glu	Phe	Arg
465					470				475						480
Ile	Arg	Gly	Val	Lys	Thr	Asn	Ile	Pro	Phe	Leu	Leu	Ala	Leu	Leu	Thr
				485					490					495	
Asn	Glu	Thr	Phe	Ile	Lys	Gly	Asp	Cys	Trp	Thr	Thr	Phe	Ile	Asp	Asp
			500					505					510		
Thr	Pro	Ser	Leu	Phe	Gln	Met	Val	Ser	Ser	Gln	Asn	Arg	Ala	Thr	Lys
		515					520					525			
Leu	Leu	Ser	Tyr	Leu	Ala	Asp	Leu	Tyr	Val	Asn	Gly	Ser	Ser	Ile	Lys
	530					535					540				
Gly	Gln	Ile	Gly	Tyr	Pro	Lys	Leu	Asn	Glu	Glu	Ala	Leu	Ile	Pro	Val
545					550				555						560
Leu	His	Asp	Pro	Lys	Thr	Gly	Ile	Pro	Ile	Asp	Val	Ala	His	Ile	Pro
				565					570					575	
Pro	Pro	Arg	Gly	Trp	Arg	Gln	Val	Leu	Leu	Glu	Glu	Gly	Pro	Asp	Ala
			580					585					590		
Phe	Ala	Lys	Lys	Val	Arg	Gln	Tyr	Asn	Gly	Thr	Leu	Ile	Thr	Asp	Thr
		595				600						605			
Thr	Trp	Arg	Asp	Ala	His	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Thr	Arg	Val	Arg	Thr
	610					615					620				
Ile	Asp	Leu	Leu	Asn	Ile	Ala	Pro	Thr	Thr	Ala	Phe	Ala	Leu	Asn	Gly
625					630					635					640
Ala	Phe	Ser	Leu	Glu	Cys	Trp	Gly	Gly	Ala	Thr	Phe	Asp	Val	Cys	Met
				645					650					655	
Arg	Phe	Leu	Tyr	Glu	Asp	Pro	Trp	Asp	Arg	Leu	Arg	Lys	Leu	Arg	Ala
			660					665					670		
Leu	Val	Pro	Asn	Ile	Pro	Phe	Gln	Met	Leu	Leu	Arg	Gly	Ala	Asn	Gly
		675					680					685			
Val	Ala	Tyr	Ser	Ser	Leu	Pro	Asp	Asn	Ala	Ile	Asp	Gln	Phe	Val	Lys
	690					695					700				
Glu	Ala	Lys	Gly	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Phe	Arg	Val	Phe	Asp	Ala	Leu
705					710					715					720
Asn	Asp	Leu	Glu	Gln	Leu	Lys	Val	Gly	Ile	Asp	Ala	Val	Lys	Lys	Ala
				725					730					735	
Gly	Gly	Val	Val	Glu	Ala	Thr	Val	Cys	Tyr	Ser	Gly	Asp	Met	Leu	Lys
			740					745					750		
Pro	Gly	Lys	Lys	Tyr	Asn	Leu	Glu	Tyr	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Asp	Glu
		755					760					765			
Val	Val	Lys	Met	Gly	Thr	His	Phe	Leu	Gly	Ile	Lys	Asp	Met	Ala	Gly
	770					775					780				
Thr	Leu	Lys	Pro	Ala	Ala	Ala	Arg	Leu	Leu	Val	Gly	Glu	Ile	Arg	Asn
785					790					795					800
Arg	Tyr	Pro	Glu	Leu	Pro	Ile	His	Val	His	Thr	His	Asp	Ser	Ala	Gly
				805					810					815	
Thr	Gly	Val	Ala	Ser	Met	Thr	Glu	Cys	Ala	Lys	Ala	Gly	Ala	Asp	Val
			820					825					830		
Val	Asp	Ala	Ala	Ser	Asn	Ser	Met	Ser	Gly	Leu	Thr	Ser	Gln	Pro	Ser

		835					840					845					
Ile	Ser	Ala	Ile	Leu	Ala	Ser	Phe	Glu	Gly	Ser	Ile	Asp	Thr	Gly	Leu		
	850						855				860						
Ser	Glu	Ser	Leu	Val	Arg	Glu	Leu	Asp	Thr	Tyr	Trp	Ala	Gln	Met	Arg		
865					870					875					880		
Leu	Leu	Tyr	Ser	Cys	Phe	Glu	Ala	Asp	Leu	Lys	Gly	Pro	Asp	Pro	Glu		
				885					890					895			
Val	Tyr	Ser	His	Glu	Ile	Pro	Gly	Gly	Gln	Leu	Thr	Asn	Leu	Leu	Phe		
		900						905					910				
Gln	Ala	Gln	Gln	Leu	Gly	Leu	Gly	Glu	Lys	Trp	Leu	Gln	Thr	Lys	Glu		
	915						920						925				
Thr	Tyr	Lys	Ile	Ala	Asn	Lys	Ile	Leu	Gly	Asp	Leu	Val	Lys	Val	Thr		
930					935						940						
Pro	Thr	Ser	Lys	Val	Val	Gly	Asp	Leu	Ala	Gln	Phe	Met	Val	Ser	Asn		
945				950						955					960		
Ser	Leu	Thr	Glu	Glu	Asp	Val	Asn	Arg	Leu	Ala	Ser	Glu	Leu	Asp	Phe		
			965					970						975			
Pro	Asp	Ser	Val	Leu	Asp	Phe	Met	Glu	Gly	Leu	Met	Gly	Lys	Pro	Tyr		
		980					985						990				
Gly	Gly	Phe	Pro	Glu	Pro	Leu	Arg	Thr	Asn	Met	Leu	Gly	Asn	Lys	Arg		
	995						1000					1005					
Gln	Lys	Leu	Asp	Lys	Arg	Pro	Gly	Leu	Tyr	Leu	Lys	Pro	Val	Asp	Phe		
1010					1015					1020							
Ala	Ala	Ile	Arg	Lys	Glu	Leu	Ile	Ser	Arg	Tyr	Gly	Ser	Gln	Ile	Asp		
1025				1030					1035					1040			
Glu	Thr	Asp	Val	Ala	Ser	Tyr	Val	Met	Tyr	Pro	Lys	Val	Phe	Glu	Ala		
			1045					1050						1055			
Phe	Arg	Lys	Gln	Val	Glu	Lys	Tyr	Gly	Asp	Leu	Ser	Val	Leu	Pro	Thr		
	1060						1065						1070				
Arg	Phe	Phe	Leu	Lys	Pro	Ala	Asn	Ile	Gly	Glu	Glu	Ile	Val	Val	Asp		
	1075				1080							1085					
Ile	Glu	Lys	Gly	Lys	Thr	Leu	Ile	Ile	Lys	Leu	Leu	Ala	Val	Gly	Glu		
1090					1095							1100					
Ile	Ser	Glu	Lys	Thr	Gly	Thr	Arg	Glu	Val	Phe	Phe	Glu	Leu	Asn	Gly		
1105				1110						1115				1120			
Glu	Met	Arg	Ser	Val	Ser	Val	Glu	Asp	Asn	Thr	Val	Ser	Val	Glu	Thr		
			1125					1130						1135			
Lys	Thr	Arg	Pro	Lys	Ala	Ser	Ala	Pro	Asn	Asp	Val	Gly	Ala	Pro	Met		
		1140					1145						1150				
Ala	Gly	Val	Val	Ile	Glu	Val	Arg	Thr	His	Lys	His	Gln	Glu	Val	Lys		
	1155						1160					1165					
Lys	Gly	Asp	Pro	Ile	Ala	Val	Leu	Ser	Ala	Met	Lys	Met	Glu	Met	Val		
1170				1175						1180							
Ile	Ser	Ala	Pro	Val	Ser	Gly	Leu	Val	Asp	Asp	Leu	Leu	Val	Arg	Glu		
1185				1190					1195					1200			
Gly	Asp	Ser	Val	Asp	Ala	Asn	Asp	Leu	Ile	Thr	Ser	Ile	Leu	Lys	Ala		
			1205					1210						1215			

<210> 9

<211> 1180

<212> PRT

5 <213> *Candida tropicalis*

<220>

<223> CtrPYC

<400> 9

ES 2 811 926 T3

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

Glu	Leu	Ser	Met	Gln	Thr	Val	Ala	Ile	Tyr	Ser	His	Glu	Asp	Arg	Leu
	50					55					60				
Ser	Met	His	Arg	Leu	Lys	Ala	Asp	Glu	Ser	Tyr	Val	Ile	Gly	Lys	Lys
65					70					75					80
Gly	Gln	Phe	Ser	Pro	Val	Gly	Ala	Tyr	Leu	Gln	Ile	Asp	Glu	Ile	Ile
				85					90					95	
Asn	Ile	Ala	Lys	Lys	His	Asn	Val	Asn	Met	Ile	His	Pro	Gly	Tyr	Gly
			100					105					110		
Phe	Leu	Ser	Glu	Asn	Ser	Glu	Phe	Ala	Arg	Lys	Val	Glu	Glu	Asn	Gly
		115					120					125			
Ile	Ile	Trp	Ile	Gly	Pro	Ser	Tyr	Lys	Thr	Ile	Asp	Ala	Val	Gly	Asp
	130					135					140				
Lys	Val	Ser	Ala	Arg	Thr	Leu	Ala	Ile	Glu	Asn	Asp	Val	Pro	Val	Val
145					150					155					160
Pro	Gly	Thr	Pro	Gly	Pro	Ile	Glu	Thr	Val	Glu	Glu	Ala	Lys	Ala	Phe
				165					170					175	
Val	Asp	Lys	Tyr	Gly	Leu	Pro	Val	Ile	Ile	Lys	Ala	Ala	Phe	Gly	Gly
			180					185					190		
Gly	Gly	Arg	Gly	Met	Arg	Val	Val	Arg	Glu	Gly	Asp	Asp	Ile	Glu	Asp
	195					200					205				
Ala	Phe	Lys	Arg	Ala	Thr	Ser	Glu	Ala	Lys	Thr	Ala	Phe	Gly	Asn	Gly
	210					215					220				
Thr	Cys	Phe	Ile	Glu	Arg	Phe	Leu	Val	Lys	Pro	Lys	His	Ile	Glu	Val
225					230					235					240
Gln	Leu	Leu	Ala	Asp	Asn	Tyr	Gly	Asn	Val	Ile	His	Leu	Phe	Glu	Arg
				245					250					255	
Asp	Cys	Ser	Val	Gln	Arg	Arg	His	Gln	Lys	Val	Val	Glu	Ile	Ala	Pro
			260					265					270		
Ala	Lys	Ser	Leu	Pro	Lys	His	Val	Arg	Asp	Ala	Ile	Leu	Thr	Asp	Ala
			275				280					285			
Val	Lys	Leu	Ala	Lys	Ser	Ala	Asn	Tyr	Arg	Asn	Ala	Gly	Thr	Ala	Glu
	290					295				300					
Phe	Leu	Val	Asp	Ala	Gln	Asp	Arg	His	Tyr	Phe	Ile	Glu	Ile	Asn	Pro
305					310					315					320
Arg	Ile	Gln	Val	Glu	His	Thr	Ile	Thr	Glu	Glu	Ile	Thr	Gly	Val	Asp
				325					330					335	
Leu	Val	Ala	Ala	Gln	Ile	Gln	Ile	Ala	Ala	Gly	Ala	Ser	Leu	Gln	Gln
			340					345					350		
Leu	Gly	Leu	Leu	Gln	Asp	Lys	Ile	Thr	Thr	Arg	Gly	Phe	Ala	Ile	Gln
		355					360					365			
Cys	Arg	Ile	Thr	Thr	Glu	Asp	Pro	Thr	Lys	Asn	Phe	Gln	Pro	Asp	Thr
	370					375					380				
Gly	Lys	Ile	Glu	Val	Tyr	Arg	Ser	Ala	Gly	Gly	Asn	Gly	Val	Arg	Leu
385					390					395					400
Asp	Gly	Gly	Asn	Gly	Phe	Val	Gly	Ser	Ile	Ile	Ser	Pro	His	Tyr	Asp
				405					410					415	
Ser	Met	Leu	Val	Lys	Cys	Ser	Cys	Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Glu	Ile	Ala
			420					425					430		
Arg	Arg	Lys	Met	Leu	Arg	Ala	Leu	Ile	Glu	Phe	Arg	Ile	Arg	Gly	Val
			435				440					445			
Lys	Thr	Asn	Ile	Pro	Phe	Leu	Leu	Ala	Leu	Leu	Thr	Asn	Asp	Ile	Phe
	450					455					460				
Ile	Lys	Gly	Asp	Cys	Trp	Thr	Thr	Phe	Ile	Asp	Asp	Thr	Pro	Ser	Leu
465					470					475					480
Phe	Gln	Met	Ile	Ser	Ser	Gln	Asn	Arg	Ala	Thr	Lys	Met	Leu	Ser	Tyr
				485					490					495	
Leu	Ala	Asp	Leu	Val	Val	Asn	Gly	Ser	Ser	Ile	Lys	Gly	Gln	Val	Gly
			500					505					510		
Tyr	Pro	Lys	Leu	Glu	Thr	Glu	Pro	Val	Val	Pro	Asp	Ile	His	Glu	Pro
		515					520					525			
Lys	Thr	Gly	Ile	Val	Ile	Asp	Val	Asn	Asn	Thr	Pro	Ala	Pro	Arg	Gly

530	535	540
Trp Arg Gln Val Leu	Leu Glu Glu Gly Pro	Glu Ala Phe Ala Lys Lys
545	550	555
Val Arg Ala Phe Lys	Gly Thr Leu Ile Thr	Asp Thr Thr Trp Arg Asp
565	570	575
Ala His Gln Ser Leu	Leu Ala Thr Arg Val	Arg Thr Ile Asp Leu Val
580	585	590
Asn Ile Ala Ser Thr	Thr Ala Phe Ala Leu	Asn Gly Ala Phe Ser Leu
595	600	605
Glu Cys Trp Gly Gly	Ala Thr Phe Asp Val	Cys Met Arg Phe Leu Tyr
610	615	620
Glu Asp Pro Trp Ala	Arg Leu Arg Lys Leu	Arg Ala Leu Val Pro Asn
625	630	635
Ile Pro Phe Gln Met	Leu Leu Arg Gly Ala	Asn Gly Val Ala Tyr Ser
645	650	655
Ser Leu Pro Asp Asn	Ala Ile Asp Gln Phe	Val Lys Glu Ala Lys Asp
660	665	670
Asn Gly Val Asp Ile	Phe Arg Val Phe Asp	Ala Leu Asn Asp Leu Glu
675	680	685
Gln Leu Lys Val Gly	Ile Asp Ala Val Lys	Lys Ala Gly Gly Val Val
690	695	700
Glu Ala Thr Val Cys	Tyr Ser Gly Asp Met	Leu Lys Pro Gly Lys Lys
705	710	715
Tyr Asn Leu Glu Tyr	Tyr Leu Asn Val Val	Asp Glu Ile Val Lys Leu
725	730	735
Gly Thr His Phe Leu	Gly Ile Lys Asp Met	Ala Gly Thr Leu Lys Pro
740	745	750
Ala Ala Ala Lys Ile	Leu Ile Gly Glu Ile	Arg Ser Arg Tyr Pro Asp
755	760	765
Leu Pro Ile His Val	His Thr His Asp Ser	Ala Gly Thr Gly Val Ala
770	775	780
Ser Met Thr Gln Cys	Ala Val Ser Gly Ala	Asp Val Val Asp Ala Ala
785	790	795
Ser Asn Ser Met Ser	Gly Met Thr Ser Gln	Pro Ser Ile Ser Ala Leu
805	810	815
Leu Ala Ser Phe Glu	Gly Ser Ile Asp Thr	Gly Leu Ser Glu Ser Met
820	825	830
Val Arg Glu Leu Asp	Asn Tyr Trp Ala Gln	Met Arg Leu Leu Tyr Ser
835	840	845
Cys Phe Asp Ala Asp	Leu Lys Gly Pro Asp	Pro Glu Val Tyr Gln His
850	855	860
Glu Ile Pro Gly Gly	Gln Leu Thr Asn Leu	Leu Phe Gln Ala Gln Gln
865	870	875
Leu Gly Leu Gly Ser	Gln Trp Val Gln Thr	Lys Glu Ala Tyr Lys Val
885	890	895
Ala Asn Ser Ile Leu	Gly Asp Leu Val Lys	Val Thr Pro Thr Ser Lys
900	905	910
Val Val Gly Asp Leu	Ala Gln Phe Met Val	Ser Asn Thr Leu Thr Glu
915	920	925
Glu Asp Val Asn Arg	Leu Ala Glu Leu Asp	Phe Pro Asp Ser Val
930	935	940
Leu Asp Phe Phe Gln	Gly Leu Met Gly Thr	Pro Tyr Gly Gly Phe Pro
945	950	955
Glu Pro Leu Arg Thr	Asn Ile Leu Gly Ser	Lys Arg Gln Lys Leu Asn
965	970	975
Glu Arg Pro Gly Leu	Thr Leu Pro Pro Val	Asp Phe Val Gly Ile Arg
980	985	990
Glu Glu Leu Ser Ser	Arg Tyr Gly Gly Gln	Ile Thr Glu Thr Asp Ile
995	1000	1005
Ala Ser Tyr Val Met	Tyr Pro Lys Val Phe	Glu Gln Phe Arg Asn Ile
1010	1015	1020

Ile	Asp	Lys	Tyr	Gly	Asp	Leu	Ser	Val	Leu	Pro	Thr	Lys	Tyr	Phe	Leu
1025					1030					1035					1040
Lys	Pro	Cys	Ala	Ile	Gly	Glu	Glu	Leu	Ser	Val	Asp	Ile	Glu	Gln	Gly
				1045					1050						1055
Lys	Thr	Leu	Ile	Ile	Lys	Leu	Leu	Ala	Val	Gly	Asp	Ile	Ser	Asp	Lys
			1060					1065					1070		
Thr	Gly	Asn	Arg	Glu	Val	Phe	Phe	Glu	Leu	Asn	Gly	Glu	Met	Arg	Ser
		1075				1080						1085			
Val	Ser	Val	Glu	Asp	Lys	Ala	Ala	Ala	Val	Glu	Thr	Arg	Val	Lys	Pro
	1090					1095					1100				
Lys	Ala	Ser	Ser	Pro	Asn	Asp	Val	Gly	Ala	Pro	Met	Ala	Gly	Val	Val
1105					1110					1115					1120
Ile	Glu	Ile	Arg	Ala	His	Arg	His	Gln	Glu	Val	Lys	Lys	Gly	Asp	Pro
			1125					1130						1135	
Ile	Ala	Val	Leu	Ser	Ala	Met	Lys	Met	Glu	Met	Val	Ile	Ser	Ser	Pro
		1140						1145					1150		
Cys	Asp	Gly	Glu	Val	Gly	Glu	Ile	Val	Ile	His	Glu	Gly	Asp	Ser	Val
	1155						1160					1165			
Asp	Ala	Asn	Asp	Leu	Ile	Thr	Asn	Ile	Ile	Gln	His				
	1170					1175					1180				

<210> 10

<211> 1176

<212> PRT

5 <213> *Naumovozya castellii*

<220>

<223> NcaPYC

<400> 10

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

Gln	Lys	Val	Val	Glu	Val	Ala	Pro	Ala	Lys	Thr	Leu	Pro	Arg	Glu	Val
		260						265					270		
Arg	Asp	Ala	Ile	Leu	Thr	Asp	Ala	Val	Lys	Leu	Ala	Lys	Glu	Cys	Gly
		275					280					285			
Tyr	Gln	Asn	Ala	Gly	Thr	Ala	Glu	Phe	Leu	Val	Asp	Asp	Gln	Asn	Arg
		290				295					300				
His	Tyr	Phe	Ile	Glu	Ile	Asn	Pro	Arg	Ile	Gln	Val	Glu	His	Thr	Ile
305					310					315					320
Thr	Glu	Glu	Ile	Thr	Gly	Ile	Asp	Ile	Val	Ala	Ala	Gln	Ile	Gln	Ile
				325					330					335	
Ala	Ala	Gly	Ala	Ser	Leu	Glu	Gln	Leu	Gly	Leu	Leu	Gln	Asp	Lys	Ile
			340					345					350		
Thr	Thr	Arg	Gly	Phe	Ala	Ile	Gln	Cys	Arg	Ile	Thr	Thr	Glu	Asp	Pro
		355					360					365			
Ala	Lys	Asn	Phe	Gln	Pro	Asp	Thr	Gly	Arg	Leu	Glu	Val	Tyr	Asp	Ser
		370				375					380				
Ala	Gly	Gly	Asn	Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Gly	Gly	Asn	Ala	Tyr	Ala	Gly
385					390					395					400
Ala	Ile	Ile	Ser	Pro	His	Tyr	Asp	Ser	Met	Leu	Val	Lys	Cys	Ser	Cys
				405					410					415	
Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Glu	Val	Val	Arg	Arg	Lys	Met	Ile	Arg	Ala	Leu
			420				425					430			
Ile	Glu	Phe	Arg	Ile	Arg	Gly	Val	Lys	Thr	Asn	Ile	Pro	Phe	Leu	Leu
		435					440					445			
Thr	Leu	Leu	Thr	His	Pro	Val	Phe	Ile	Ala	Gly	Asp	Tyr	Trp	Thr	Thr
		450				455					460				
Phe	Ile	Asp	Asp	Thr	Pro	Gln	Leu	Phe	Lys	Met	Val	Ser	Ser	Gln	Asn
465					470					475					480
Arg	Ala	Gln	Lys	Leu	Leu	His	Tyr	Leu	Ala	Asp	Leu	Ala	Val	Asn	Gly
				485					490					495	
Ser	Ser	Ile	Lys	Gly	Gln	Val	Gly	Ile	Pro	Gln	Leu	Lys	Lys	Val	Pro
			500				505					510			
Asp	Ile	Pro	His	Ile	His	Asp	Ala	Gln	Gly	Asn	Val	Ile	Asp	Val	Thr
		515					520					525			
Asn	Val	Pro	Pro	Pro	Ala	Gly	Trp	Arg	Gln	Val	Leu	Leu	Glu	Gln	Gly
		530				535					540				
Pro	Glu	Glu	Phe	Ala	Lys	Gln	Val	Arg	Gln	Phe	Gln	Gly	Thr	Leu	Leu
545					550					555					560
Met	Asp	Thr	Thr	Trp	Arg	Asp	Ala	His	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Thr	Arg
				565					570					575	
Val	Arg	Thr	His	Asp	Leu	Ala	Lys	Ile	Ala	Pro	Thr	Thr	Ala	His	Ala
			580				585						590		
Leu	Ala	Ser	Ala	Phe	Ala	Leu	Glu	Cys	Trp	Gly	Gly	Ala	Thr	Phe	Asp
		595					600					605			
Val	Ala	Met	Arg	Phe	Leu	His	Glu	Asp	Pro	Trp	Lys	Arg	Leu	Arg	Thr
		610				615					620				
Leu	Arg	Lys	Leu	Val	Pro	Asn	Ile	Pro	Phe	Gln	Met	Leu	Leu	Arg	Gly
625					630					635					640
Ala	Asn	Gly	Val	Ala	Tyr	Ser	Ser	Leu	Pro	Asp	Asn	Ala	Ile	Asp	His
				645					650					655	
Phe	Val	Lys	Gln	Ala	Lys	Asp	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Phe	Arg	Val	Phe
			660				665					670			
Asp	Ala	Leu	Asn	Asp	Leu	Asp	Gln	Leu	Lys	Val	Gly	Val	Asp	Ala	Val
		675					680					685			
Lys	Lys	Ala	Gly	Gly	Val	Val	Glu	Ala	Thr	Val	Cys	Tyr	Ser	Gly	Asp
		690				695					700				
Met	Leu	Gln	Pro	Gly	Lys	Lys	Tyr	Asn	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Leu	Glu	Val
705					710					715					720
Thr	Glu	Lys	Ile	Val	Gln	Met	Gly	Thr	His	Ile	Leu	Gly	Ile	Lys	Asp
				725					730					735	
Met	Ala	Gly	Thr	Met	Lys	Pro	Ala	Ala	Ala	Arg	Leu	Leu	Ile	Gly	Ser

740										745					750				
Ile	Arg	Ala	Lys	Tyr	Pro	Asp	Leu	Pro	Ile	His	Val	His	Thr	His	Asp				
		755					760					765							
Ser	Ala	Gly	Thr	Ala	Val	Ala	Ser	Met	Ser	Ala	Ala	Ala	Tyr	Ala	Gly				
		770					775					780							
Ala	Asp	Val	Ile	Asp	Val	Ala	Thr	Asn	Ser	Met	Ser	Gly	Leu	Thr	Ser				
785					790					795					800				
Gln	Pro	Ser	Ile	Asn	Ala	Leu	Leu	Ala	Ser	Leu	Asp	Gly	Glu	Ile	Asn				
				805					810					815					
Thr	Ser	Ile	Asn	Val	Gln	His	Val	Arg	Glu	Leu	Asp	Ala	Tyr	Trp	Ala				
			820					825					830						
Glu	Met	Arg	Leu	Leu	Tyr	Ser	Cys	Phe	Gly	Ala	Asp	Leu	Lys	Gly	Pro				
		835					840					845							
Asp	Pro	Glu	Val	Tyr	Glu	His	Glu	Ile	Pro	Gly	Gly	Gln	Leu	Thr	Asn				
		850				855					860								
Leu	Leu	Phe	Gln	Ala	Gln	Gln	Leu	Gly	Leu	Gly	Glu	Gln	Trp	Thr	Glu				
865					870					875					880				
Thr	Lys	Arg	Ala	Tyr	Lys	Glu	Ala	Asn	Met	Leu	Leu	Gly	Asp	Ile	Val				
				885					890					895					
Lys	Val	Thr	Pro	Thr	Ser	Lys	Val	Val	Gly	Asp	Leu	Ala	Gln	Phe	Met				
			900					905					910						
Val	Ser	Asn	Lys	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Val	Lys	Arg	Leu	Ala	Asn	Ser				
		915					920					925							
Leu	Asp	Phe	Pro	Asp	Ser	Val	Met	Asp	Phe	Phe	Glu	Gly	Leu	Met	Gly				
		930				935					940								
Gln	Pro	Tyr	Gly	Gly	Phe	Pro	Glu	Pro	Leu	Arg	Ser	Asp	Ile	Leu	Arg				
945					950					955					960				
Asn	Lys	Arg	Arg	Lys	Leu	Thr	Cys	Arg	Pro	Gly	Leu	Glu	Leu	Val	Pro				
				965					970					975					
Phe	Glu	Leu	Asn	Asn	Ile	Lys	Glu	Asp	Leu	Gln	Thr	Arg	Phe	Gly	Asp				
			980					985					990						
Ile	Asn	Glu	Cys	Asp	Ile	Ala	Ser	Tyr	Asn	Met	Tyr	Pro	Lys	Val	Tyr				
		995				1000					1005								
Glu	Asp	Phe	Gln	Lys	Met	Lys	Glu	Lys	Tyr	Gly	Asp	Leu	Ser	Val	Leu				
	1010					1015					1020								
Pro	Thr	Lys	Ser	Phe	Leu	Ala	Pro	Ala	Glu	Ile	Gly	Glu	Glu	Ile	Leu				
1025					1030					1035					1040				
Val	Thr	Ile	Gln	Gln	Gly	Lys	Thr	Leu	Ile	Ile	Lys	Leu	Gln	Ala	Ile				
				1045					1050					1055					
Gly	Asp	Leu	Asn	Lys	Glu	Thr	Gly	Lys	Arg	Glu	Val	Phe	Phe	Glu	Leu				
			1060					1065				1070							
Asn	Gly	Glu	Met	Arg	Lys	Ile	Ser	Val	Thr	Asp	Lys	Ser	Gln	Lys	Val				
		1075					1080												

<210> 11
<211> 1178
<212> PRT

<213> *Naumovozyma dairenensis*

<220>

<223> NdaPYC

<400> 11

Met	Ser	Asn	Lys	Lys	Phe	Asn	Gly	Ile	Arg	Asp	Asn	Phe	Asn	Leu	Leu		
				5					10					15			
Gly	Pro	Lys	Asn	Lys	Ile	Leu	Val	Ala	Asn	Arg	Gly	Glu	Ile	Pro	Ile		
			20					25					30				
Arg	Ile	Phe	Arg	Thr	Ser	His	Glu	Leu	Ser	Met	Lys	Thr	Val	Ala	Ile		
		35					40					45					
Tyr	Ser	His	Glu	Asp	Arg	Leu	Ser	Thr	His	Arg	Leu	Lys	Ala	Asp	Glu		
	50					55					60						
Ser	Tyr	Val	Ile	Gly	Glu	Pro	Asn	Gln	Phe	Thr	Pro	Val	Gly	Ala	Tyr		
65					70					75					80		
Leu	Ala	Ile	Asp	Glu	Ile	Ile	Asn	Ile	Ala	Lys	Lys	His	Asn	Val	Asp		
				85					90					95			
Phe	Ile	His	Pro	Gly	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Glu	Asn	Ser	Glu	Phe	Ala		
			100					105					110				
Asp	Lys	Val	Ala	Lys	Asn	Gly	Ile	Ala	Trp	Val	Gly	Pro	Pro	Ala	Ser		
		115					120					125					
Val	Ile	Asp	Ser	Val	Gly	Asp	Lys	Val	Ser	Ala	Arg	His	Leu	Ala	Glu		
	130					135					140						
Arg	Ala	Asn	Val	Pro	Thr	Val	Pro	Gly	Thr	Pro	Gly	Pro	Ile	Lys	Ser		
145					150					155					160		
Ala	Lys	Glu	Ala	Glu	Glu	Phe	Val	Ala	Lys	Tyr	Gly	Phe	Pro	Val	Ile		
				165					170					175			
Ile	Lys	Ala	Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Gly	Arg	Gly	Met	Arg	Val	Val	Arg		
			180					185					190				
Glu	Gly	Asp	Asp	Ile	Ala	Asp	Ala	Phe	Gln	Arg	Ala	Ser	Ser	Glu	Ala		
		195					200					205					
Val	Thr	Ala	Phe	Gly	Asn	Gly	Thr	Cys	Phe	Val	Glu	Arg	Phe	Leu	Asn		
	210				215						220						
Lys	Pro	Lys	His	Ile	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Ala	Asp	Asn	Tyr	Gly	Asn		
225				230						235					240		
Val	Ile	His	Leu	Phe	Glu	Arg	Asp	Cys	Ser	Val	Gln	Arg	Arg	His	Gln		
			245					250						255			
Lys	Val	Val	Glu	Val	Ala	Pro	Ala	Lys	Thr	Leu	Pro	Arg	Asp	Ile	Arg		
			260					265					270				
Asn	Ala	Ile	Leu	Thr	Asp	Ala	Val	Lys	Leu	Ala	Lys	Glu	Cys	Gly	Tyr		
		275					280					285					
Lys	Asn	Ala	Gly	Thr	Ala	Glu	Phe	Leu	Val	Asp	Asp	Gln	Asn	Arg	His		
	290					295					300						
Tyr	Phe	Ile	Glu	Ile	Asn	Pro	Arg	Ile	Gln	Val	Glu	His	Thr	Ile	Thr		
305				310						315					320		
Glu	Glu	Ile	Thr	Gly	Ile	Asp	Ile	Val	Ala	Ala	Gln	Ile	Gln	Ile	Ala		
				325					330					335			
Ala	Gly	Ala	Ser	Leu	Glu	Gln	Leu	Gly	Leu	Leu	Gln	Asp	Lys	Ile	Thr		
			340					345					350				
Thr	Arg	Gly	Phe	Ala	Ile	Gln	Cys	Arg	Ile	Thr	Thr	Glu	Asp	Pro	Ala		
		355					360					365					
Lys	Asn	Phe	Gln	Pro	Asp	Thr	Gly	Arg	Ile	Glu	Val	Tyr	Gly	Ser	Ala		
	370					375					380						
Gly	Gly	Asn	Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Gly	Gly	Asn	Ala	Tyr	Ala	Gly	Ala		
385				390						395					400		
Ile	Ile	Ser	Pro	His	Tyr	Asp	Ser	Met	Leu	Val	Lys	Cys	Ser	Cys	Ser		
			405					410						415			
Gly	Ser	Thr	Tyr	Glu	Val	Val	Arg	Arg	Lys	Met	Ile	Arg	Ala	Leu	Ile		
			420					425					430				
Glu	Phe	Arg	Ile	Arg	Gly	Val	Lys	Thr	Asn	Ile	Pro	Phe	Leu	Leu	Thr		
		435					440					445					
Leu	Leu	Thr	His	Pro	Val	Phe	Ile	Ser	Gly	Gln	Tyr	Trp	Thr	Thr	Phe		
	450					455					460						

Ile	Asp	Asp	Thr	Pro	Gln	Leu	Phe	Gln	Met	Val	Ser	Ser	Gln	Asn	Arg
465					470					475					480
Ala	Gln	Lys	Leu	Leu	His	Tyr	Leu	Ala	Asp	Ile	Ala	Val	Asn	Gly	Ser
				485					490					495	
Ser	Ile	Lys	Gly	Gln	Val	Gly	Ile	Pro	Arg	Leu	Thr	Lys	Ile	Pro	Asp
			500					505					510		
Ile	Pro	Pro	Leu	Tyr	Asp	Thr	Asn	Asn	Asn	Lys	Ile	Asp	Val	Leu	Lys
			515				520					525			
Thr	Pro	Pro	Pro	Ala	Gly	Trp	Arg	Gln	Val	Leu	Leu	Glu	Lys	Gly	Pro
			530			535						540			
Val	Glu	Phe	Ala	Lys	Gln	Val	Arg	Gln	Phe	Gln	Gly	Thr	Leu	Leu	Met
545				550						555					560
Asp	Thr	Thr	Trp	Arg	Asp	Ala	His	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Thr	Arg	Val
				565					570					575	
Arg	Thr	Tyr	Asp	Leu	Ala	Thr	Ile	Ala	Pro	Thr	Thr	Ala	His	Ala	Leu
			580					585					590		
Ser	Gly	Ala	Phe	Ala	Leu	Glu	Cys	Trp	Gly	Gly	Ala	Thr	Phe	Asp	Val
			595				600					605			
Ala	Met	Arg	Phe	Leu	His	Glu	Asp	Pro	Trp	Ala	Arg	Leu	Arg	Thr	Leu
	610					615					620				
Arg	Lys	Leu	Val	Pro	Asn	Ile	Pro	Phe	Gln	Met	Leu	Leu	Arg	Gly	Ala
625				630						635					640
Asn	Gly	Val	Ala	Tyr	Ser	Ser	Leu	Pro	Asp	Asn	Ala	Ile	Asp	His	Phe
				645					650					655	
Val	Lys	Gln	Ala	Lys	Asp	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Phe	Arg	Val	Phe	Asp
			660					665					670		
Ala	Leu	Asn	Asp	Leu	Asp	Gln	Leu	Lys	Val	Gly	Val	Asp	Ala	Val	Lys
			675				680					685			
Lys	Ala	Gly	Gly	Val	Val	Glu	Ala	Thr	Leu	Cys	Tyr	Ser	Gly	Asp	Met
	690					695					700				
Leu	Ala	Lys	Gly	Lys	Lys	Tyr	Asn	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Leu	Glu	Val	Thr
705				710						715					720
Asp	Lys	Ile	Val	Gln	Met	Gly	Thr	His	Phe	Leu	Gly	Ile	Lys	Asp	Met
				725					730					735	
Ala	Gly	Thr	Met	Lys	Pro	Ala	Ala	Ala	Lys	Leu	Leu	Ile	Gly	Ser	Ile
			740					745					750		
Arg	Ala	Lys	Tyr	Pro	Asp	Leu	Pro	Ile	His	Val	His	Thr	His	Asp	Ser
			755				760					765			
Ala	Gly	Thr	Ala	Val	Ser	Ser	Met	Ala	Ala	Ala	Ala	Val	Ser	Gly	Ala
	770					775					780				
Asp	Val	Val	Asp	Val	Ala	Ile	Asn	Ser	Met	Ser	Gly	Leu	Thr	Ser	Gln
785				790						795					800
Pro	Ser	Ile	Asn	Ala	Leu	Leu	Ala	Ser	Leu	Asp	Gly	Glu	Ile	Asp	Thr
			805						810					815	
Gly	Ile	Asn	Val	Gln	His	Val	Arg	Asp	Leu	Asp	Ala	Tyr	Trp	Ala	Glu
			820					825					830		
Met	Arg	Leu	Tyr	Ser	Cys	Phe	Gly	Ala	Asp	Leu	Lys	Gly	Pro	Asp	
			835			840					845				
Pro	Glu	Val	Tyr	Gln	His	Glu	Ile	Pro	Gly	Gly	Gln	Leu	Thr	Asn	Leu
	850					855					860				
Leu	Phe	Gln	Ala	Gln	Gln	Leu	Gly	Leu	Gly	Glu	Gln	Trp	Ala	Glu	Thr
865				870						875					880
Lys	Arg	Ala	Tyr	Arg	Glu	Ala	Asn	His	Leu	Leu	Gly	Asp	Ile	Val	Lys
				885					890					895	
Val	Thr	Pro	Thr	Ser	Lys	Val	Val	Gly	Asp	Leu	Ala	Gln	Phe	Met	Val
			900					905					910		
Ser	Asn	Lys	Leu	Thr	Ser	Asp	Asp	Val	Lys	Arg	Leu	Ala	Asn	Ser	Leu
			915				920					925			
Asp	Phe	Pro	Asp	Ser	Val	Met	Asp	Phe	Phe	Glu	Gly	Leu	Met	Gly	Gln
	930					935					940				
Pro	Tyr	Gly	Gly	Phe	Pro	Glu	Pro	Leu	Arg	Ser	Asp	Ile	Leu	Arg	Asn

945		950		955		960
Lys Arg Arg Lys	Leu Thr Ser Arg Pro Gly	Leu Glu Leu Ala Pro Phe				
	965	970		975		
Asp Leu Asn Thr	Ile Arg Glu Asp Leu Gln Thr Arg Phe Gly Asp Asp					
	980	985		990		
Ile Asp Glu Cys Asp	Val Ala Ser Tyr Asn Met Tyr Pro Lys Val Tyr					
	995	1000		1005		
Glu Asp Phe Gln Lys	Ile Arg Glu Thr Tyr Gly Asp Leu Ser Val Leu					
1010	1015	1020				
Pro Thr Lys Asn Phe	Leu Ala Pro Ala Glu Ile Gly Glu Glu Ile Glu					
1025	1030	1035		1040		
Ile Val Ile Glu Gln Gly Lys Thr	Leu Ile Val Lys Leu Gln Ala Ile					
	1045	1050		1055		
Gly Asp Leu Asn Lys Lys Thr Gly	Ile Arg Glu Val Tyr Phe Glu Leu					
	1060	1065		1070		
Asn Gly Glu Met Arg Lys Ile Gly Thr	Leu Asp Arg Ser Gln Lys Val					
	1075	1080		1085		
Glu Thr Val Ala Lys Pro Lys Ala Asp Gly	His Asn Pro Phe Gln Ile					
1090	1095	1100				
Gly Ala Pro Met Ala Gly Val Ile Val Glu Val Arg Val His Lys Gly						
1105	1110	1115		1120		
Ser Leu Val Lys Lys Gly Glu Ala Val Ala Val Leu Ser Ala Met Lys						
	1125	1130		1135		
Met Glu Met Ile Ile Ser Ser Pro Thr Asp Gly Gln Val Lys Asp Val						
	1140	1145		1150		
Leu Val Asn Asp Gly Glu Asn Val Glu Ala Ser Asp Leu Leu Val Leu						
	1155	1160		1165		
Leu Glu Glu Thr Glu Ile Pro Glu Glu Ala						
1170	1175					

<210> 12

<211> 1178

<212> PRT

5 <213> *Saccaromyces kudriavzevii*

<220>

<223> SkuPYC

<400> 12

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

[illegible]

Ala	Leu	Asn	Asp	Leu	Asp	Gln	Leu	Lys	Val	Gly	Val	Asp	Ala	Val	Lys	675	680	685
Lys	Ala	Gly	Gly	Val	Val	Glu	Ala	Thr	Val	Cys	Phe	Ser	Gly	Asp	Met	690	695	700
Leu	Gln	Pro	Gly	Lys	Lys	Tyr	Asn	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Leu	Glu	Ile	Ala	705	710	720
Glu	Lys	Ile	Val	Lys	Met	Gly	Thr	His	Ile	Leu	Gly	Ile	Lys	Asp	Met	725	730	735
Ala	Gly	Thr	Met	Lys	Pro	Ala	Ala	Ala	Lys	Leu	Leu	Ile	Gly	Ser	Leu	740	745	750
Arg	Ala	Lys	Tyr	Pro	Asp	Leu	Pro	Ile	His	Val	His	Thr	His	Asp	Ser	755	760	765
Ala	Gly	Thr	Ala	Val	Ala	Ser	Met	Ala	Ala	Cys	Ala	Leu	Ala	Gly	Ala	770	775	780
Asp	Val	Val	Asp	Val	Ala	Ile	Asn	Ser	Met	Ser	Gly	Leu	Thr	Ser	Gln	785	790	795
Pro	Ser	Ile	Asn	Ala	Leu	Leu	Ala	Ser	Leu	Glu	Gly	Asn	Ile	Asp	Thr	805	810	815
Gly	Ile	Asn	Val	Glu	His	Val	Arg	Glu	Leu	Asp	Ala	Tyr	Trp	Ala	Glu	820	825	830
Met	Arg	Leu	Leu	Tyr	Ser	Cys	Phe	Glu	Ala	Asp	Leu	Lys	Gly	Pro	Asp	835	840	845
Pro	Glu	Val	Tyr	Gln	His	Glu	Ile	Pro	Gly	Gly	Gln	Leu	Thr	Asn	Leu	850	855	860
Leu	Phe	Gln	Ala	Gln	Gln	Leu	Gly	Leu	Gly	Glu	Gln	Trp	Ala	Glu	Thr	865	870	875
Lys	Arg	Ala	Tyr	Arg	Glu	Ala	Asn	Tyr	Leu	Leu	Gly	Asp	Ile	Val	Lys	885	890	895
Val	Thr	Pro	Thr	Ser	Lys	Val	Val	Gly	Asp	Leu	Ala	Gln	Phe	Met	Val	900	905	910
Ser	Asn	Lys	Leu	Thr	Pro	Asp	Asp	Val	Lys	Arg	Leu	Ala	Asn	Ser	Leu	915	920	925
Asp	Phe	Pro	Asp	Ser	Val	Met	Asp	Phe	Phe	Glu	Gly	Leu	Ile	Gly	Gln	930	935	940
Pro	Tyr	Gly	Gly	Phe	Pro	Glu	Pro	Phe	Arg	Ser	Asp	Val	Leu	Arg	Asn	945	950	955
Lys	Arg	Arg	Lys	Leu	Thr	Cys	Arg	Pro	Gly	Leu	Glu	Leu	Glu	Pro	Phe	965	970	975
Asp	Leu	Glu	Lys	Ile	Arg	Glu	Asp	Leu	Gln	Asn	Arg	Phe	Gly	Asp	Ile	980	985	990
Asn	Glu	Cys	Asp	Val	Ala	Ser	Tyr	Asn	Met	Tyr	Pro	Arg	Val	Tyr	Glu	995	1000	1005
Asp	Phe	Gln	Lys	Met	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Asp	Leu	Ser	Val	Leu	Pro	1010	1015	1020
Thr	Arg	Ser	Phe	Leu	Ser	Pro	Leu	Glu	Thr	Asp	Glu	Glu	Ile	Glu	Val	1025	1030	1035
Ile	Ile	Glu	Gln	Gly	Lys	Thr	Leu	Ile	Ile	Lys	Leu	Gln	Ala	Val	Gly	1045	1050	1055
Asp	Leu	Asn	Lys	Thr	Gly	Glu	Arg	Glu	Val	Tyr	Phe	Asp	Leu	Asn		1060	1065	1070
Gly	Glu	Met	Arg	Lys	Ile	Arg	Val	Val	Asp	Arg	Ser	Leu	Lys	Val	Ala	1075	1080	1085
Thr	Val	Thr	Lys	Ser	Lys	Ala	Asp	Met	His	Asp	Pro	Leu	His	Ile	Gly	1090	1095	1100
Ala	Pro	Met	Ala	Gly	Val	Ile	Val	Glu	Val	Lys	Val	His	Lys	Gly	Ser	1105	1110	1115
Leu	Ile	Lys	Lys	Gly	Gln	Pro	Val	Ala	Val	Leu	Ser	Ala	Met	Lys	Met	1125	1130	1135
Glu	Met	Ile	Ile	Ser	Ser	Pro	Ser	Asp	Gly	Gln	Val	Lys	Glu	Val	Phe	1140	1145	1150
Val	Ser	Glu	Gly	Glu	Asn	Val	Asp	Ser	Ser	Asp	Leu	Leu	Val	Leu	Leu			

<210> 13
 <211> 1185
 <212> PRT
 5 <213> *Schizosaccharomyces pombe*
 <220>
 <223> SpoPYC
 <400> 13

	1155	1160	1165
Met	Thr	Ser	Lys
			5
Asn	Pro	Phe	Ser
			20
Phe	Thr	Lys	Val
			35
Phe	Arg	Thr	Ala
			50
Tyr	Glu	Asp	Arg
			65
Pro	Ile	Gly	Lys
			85
Ile	Asp	Glu	Ile
			100
His	Pro	Gly	Tyr
			115
Val	Asn	Glu	Ala
			130
Asp	Ser	Leu	Gly
			145
Gly	Val	Pro	Val
			165
Glu	Ala	Glu	Ala
			180
Ala	Ala	Met	Gly
			195
Asp	Thr	Leu	Lys
			210
Ser	Phe	Gly	Asp
			225
Lys	His	Ile	Glu
			245
His	Leu	His	Glu
			260
Val	Glu	Ile	Ala
			275
Leu	Tyr	Asp	Asp
			290
Ala	Gly	Thr	Ala
			305
Ile	Glu	Ile	Asn
			325
Ile	Thr	Gly	Val
			340
Phe	Thr	Leu	Pro
			355
Gly	Phe	Ala	Ile
			370
Phe	Ala	Pro	Asp
			385

385					390					395				400
Asn	Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Gly	Ala	Asn	Gly	Phe	Ala	Gly	Ser	Val
				405					410					415
Thr	Pro	His	Tyr	Asp	Ser	Met	Leu	Val	Lys	Cys	Thr	Cys	His	Asp
			420					425					430	
Thr	Tyr	Glu	Tyr	Thr	Arg	Arg	Lys	Met	Ile	Arg	Ser	Leu	Ile	Glu
		435					440					445		Phe
Arg	Val	Arg	Gly	Val	Lys	Thr	Asn	Ile	Pro	Phe	Val	Leu	Arg	Leu
	450					455					460			Leu
Met	His	Asp	Thr	Phe	Ile	Gln	Gly	Asn	Cys	Trp	Thr	Thr	Phe	Ile
465					470					475				480
Asp	Thr	Pro	Glu	Leu	Phe	Gln	Leu	Tyr	Arg	Ser	Arg	Asn	Arg	Ala
				485					490					495
Lys	Leu	Leu	Ala	Tyr	Leu	Gly	Asp	Leu	Ala	Val	Asn	Gly	Ser	Ser
			500					505					510	Ile
Lys	Gly	Gln	Asn	Gly	Glu	Pro	Ala	Leu	Lys	Ser	Glu	Ile	Val	Met
		515					520					525		Pro
Val	Leu	Leu	Asp	Ser	Thr	Gly	Asn	Gln	Ile	Asp	Val	Ser	His	Pro
	530					535					540			Ser
Glu	Lys	Gly	Trp	Arg	Lys	Leu	Leu	Leu	Asp	Asn	Gly	Pro	Ala	Ala
545					550					555				Phe
Ala	Lys	Ala	Val	Arg	Asn	His	Lys	Arg	Gly	Leu	Ile	Met	Asp	Thr
				565					570					575
Trp	Arg	Asp	Ala	His	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Thr	Arg	Val	Arg	Thr
			580					585					590	Ile
Asp	Leu	Val	Asn	Ile	Ala	Pro	Tyr	Thr	Ser	His	Ala	Leu	Ala	Ser
		595					600					605		Ala
Tyr	Ser	Leu	Glu	Met	Trp	Gly	Gly	Ala	Thr	Phe	Asp	Val	Ser	Met
	610					615					620			Arg
Phe	Leu	His	Glu	Cys	Pro	Trp	Asp	Arg	Leu	Arg	Arg	Leu	Arg	Lys
625					630					635				640
Val	Pro	Asn	Ile	Pro	Phe	Gln	Met	Leu	Leu	Arg	Gly	Ala	Asn	Gly
				645					650					655
Cys	Tyr	Ser	Ser	Leu	Pro	Asp	Asn	Val	Ile	Tyr	Phe	Phe	Cys	Glu
			660					665					670	Gln
Ala	Lys	Lys	Asn	Gly	Ile	Asp	Ile	Phe	Arg	Val	Phe	Asp	Ala	Leu
		675					680				685			Asn
Asp	Val	Asn	Asn	Leu	Ser	Leu	Gly	Ile	Asp	Ala	Ala	Lys	Arg	Ala
	690					695					700			Gly
Gly	Val	Val	Glu	Ala	Thr	Met	Cys	Tyr	Ser	Gly	Asp	Met	Leu	Asn
705					710					715				720
Lys	Lys	Lys	Tyr	Asn	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Val	Asn	Leu	Val	Asp	Lys
				725					730					735
Val	Glu	Met	Gly	Ile	His	Ile	Leu	Gly	Ile	Lys	Asp	Met	Ala	Gly
			740					745					750	Val
Met	Lys	Pro	Lys	Ala	Ala	Arg	Leu	Leu	Ile	Ser	Ala	Ile	Arg	Glu
		755					760					765		Lys
His	Pro	Glu	Leu	Pro	Ile	His	Val	His	Thr	His	Asp	Ser	Ala	Gly
	770					775					780			Thr
Ala	Val	Ala	Ser	Met	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	Ala	Gly	Ala	Asp	Val
785					790					795				800
Asp	Val	Ala	Thr	Asp	Ser	Met	Ser	Gly	Leu	Thr	Ser	Gln	Pro	Ser
				805					810					815
Gly	Ala	Val	Leu	Ala	Ser	Val	Asp	Gly	Thr	Asp	Lys	Gln	Leu	Glu
			820					825					830	Phe
Asp	Asn	Asn	Gln	Leu	Arg	Glu	Ile	Asp	Ser	Tyr	Trp	Ala	Gln	Met
		835					840					845		Arg
Leu	Leu	Tyr	Ser	Pro	Phe	Glu	Ser	Glu	Ile	Lys	Gly	Thr	Asp	Ser
	850					855					860			Asp
Val	Tyr	Asn	His	Glu	Ile	Pro	Gly	Gly	Gln	Leu	Thr	Asn	Leu	Lys
865					870					875				880

Gln Ala Thr Ser Leu Gly Leu Gly Thr Gln Trp Ala Glu Thr Lys Lys
885 890 895
Ala Tyr Ile Glu Ala Asn Lys Leu Leu Gly Asp Ile Ile Lys Val Thr
900 905 910
Pro Thr Ser Lys Val Val Gly Asp Leu Ala Gln Phe Met Val Gln Asn
915 920 925
Lys Leu Ser Ala Glu Asp Val Glu Asn Arg Ala Thr Leu Asp Phe
930 935 940
Pro Ala Ser Val Leu Asp Phe Phe Gln Gly Leu Met Gly Gln Pro Tyr
945 950 955 960
Gly Gly Phe Pro Glu Pro Leu Arg Thr Asn Val Leu Lys Gly Arg Arg
965 970 975
Gln Pro Leu Thr Asp Arg Pro Gly Lys Phe Leu Pro Ala Ala Asp Phe
980 985 990
Asp Ala Ile Arg Lys Leu Leu Ser Glu Lys Phe Gly Val Ser Ser Asp
995 1000 1005
Cys Asp Ile Ala Ala Tyr Thr Gln Phe Pro Gly Val Phe Glu Glu Tyr
1010 1015 1020
Arg Gln Phe Val Asp Arg Tyr Gly Asp Leu Thr Thr Val Pro Thr Lys
1025 1030 1035 1040
Phe Phe Leu Ser Arg Pro Glu Met Asn Glu Glu Met His Val Glu Ile
1045 1050 1055
Asp Gln Gly Lys Thr Leu Ile Val Lys Phe Val Ala Leu Gly Pro Leu
1060 1065 1070
Asn Pro Arg Thr Gly Gln Arg Glu Val Tyr Phe Glu Leu Asn Gly Glu
1075 1080 1085
Asn Arg His Val Thr Val Glu Asp Lys Lys Ala Ala Ile Glu Thr Val
1090 1095 1100
Thr Arg Pro Arg Ala Asp Pro Gly Asn Pro Gly His Val Ala Ala Pro
1105 1110 1115 1120
Met Ser Gly Thr Ile Val Glu Ile Arg Val Lys Glu Gly Ala Lys Val
1125 1130 1135
Lys Lys Gly Asp Ile Ile Ala Val Leu Ser Ala Met Lys Met Glu Ile
1140 1145 1150
Val Ile Ser Ala Pro His Ser Gly Val Leu Lys Ser Leu Ala Val Val
1155 1160 1165

<210> 14

<211> 1175

<212> PRT

5 <213> *Tetrapispora blattae*

<220>

<223> TbIPYC

<400> 14

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

Phe	Ile	His	Pro	Gly	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Glu	Asn	Ser	Glu	Phe	Ala
			100					105					110		
Arg	Lys	Val	Thr	Glu	Ser	Gly	Ile	Thr	Trp	Ile	Gly	Pro	Pro	Ala	Ala
		115					120					125			
Val	Ile	Asp	Ser	Val	Gly	Asp	Lys	Val	Ser	Ala	Arg	Asn	Leu	Ala	Ala
	130					135					140				
Lys	Val	Asn	Val	Pro	Thr	Val	Pro	Gly	Thr	Pro	Gly	Pro	Ile	Asp	Thr
145					150					155					160
Val	Glu	Glu	Ala	Lys	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	His	Gly	Phe	Pro	Val	Ile
			165						170					175	
Ile	Lys	Ala	Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Gly	Arg	Gly	Met	Arg	Val	Val	Arg
		180						185					190		
Glu	Gly	Asp	Asp	Ile	Ala	Asp	Ala	Phe	Gln	Arg	Ala	Thr	Ser	Glu	Ala
	195					200						205			
Arg	Thr	Ala	Phe	Gly	Asn	Gly	Thr	Cys	Phe	Ile	Glu	Arg	Phe	Leu	Asp
	210					215					220				
His	Pro	Lys	His	Ile	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Ala	Asp	Asn	Tyr	Gly	Asn
225					230					235					240
Val	Val	His	Leu	Phe	Glu	Arg	Asp	Cys	Ser	Val	Gln	Arg	Arg	His	Gln
			245						250					255	
Lys	Val	Val	Glu	Val	Ala	Pro	Ala	Lys	Thr	Leu	Pro	Arg	Glu	Val	Arg
			260					265					270		
Asp	Ser	Ile	Leu	Thr	Asp	Ala	Val	Lys	Leu	Ala	Lys	Glu	Ala	Gly	Tyr
	275					280						285			
Thr	Asn	Ala	Gly	Thr	Ala	Glu	Phe	Leu	Val	Asp	Asn	Leu	Gly	Arg	His
	290					295					300				
Tyr	Phe	Ile	Glu	Ile	Asn	Pro	Arg	Ile	Gln	Val	Glu	His	Thr	Ile	Thr
305					310					315					320
Glu	Glu	Ile	Thr	Gly	Ile	Asp	Ile	Val	Ala	Ala	Gln	Ile	Gln	Ile	Ala
			325						330					335	
Ala	Gly	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Leu	Leu	Gln	Asp	Arg	Ile	Thr
		340						345					350		
Tyr	Arg	Gly	Phe	Ala	Ile	Gln	Cys	Arg	Ile	Thr	Thr	Glu	Asp	Pro	Ser
	355					360						365			
Lys	Asn	Phe	Gln	Pro	Asp	Thr	Gly	Arg	Leu	Glu	Val	Tyr	Arg	Ser	Ala
	370					375					380				
Gly	Gly	Asn	Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Gly	Gly	Asn	Ala	Tyr	Val	Gly	Ala
385					390					395					400
Thr	Ile	Ser	Pro	His	Tyr	Asp	Ser	Met	Leu	Val	Lys	Cys	Ser	Cys	Ser
			405						410					415	
Gly	Ser	Thr	Tyr	Glu	Ile	Val	Arg	Arg	Lys	Met	Leu	Arg	Ser	Leu	Ile
			420					425					430		
Glu	Phe	Arg	Ile	Arg	Gly	Val	Lys	Thr	Asn	Ile	Pro	Phe	Leu	Leu	Thr
	435						440					445			
Leu	Leu	Thr	His	Pro	Val	Phe	Val	Ser	Gly	Asp	Tyr	Trp	Thr	Thr	Phe
	450					455					460				
Ile	Asp	Asp	Thr	Pro	Gln	Leu	Phe	Gln	Met	Val	Ser	Ser	Lys	Asn	Arg
465					470					475					480
Ala	Gln	Lys	Leu	Leu	His	Tyr	Leu	Ala	Asp	Leu	Ala	Val	Asn	Gly	Ser
			485						490					495	
Ser	Ile	Lys	Gly	Gln	Ile	Gly	Leu	Pro	Lys	Leu	Ala	Thr	Arg	Pro	Asp
		500						505					510		
Ile	Pro	Ala	Leu	His	Asp	Lys	Asn	Gly	Glu	Val	Ile	Asn	Val	Thr	Asn
	515						520					525			
Ala	Glu	Pro	Pro	Ser	Gly	Trp	Arg	Lys	Ala	Leu	Leu	Glu	Lys	Gly	Pro
	530					535					540				
Lys	Glu	Phe	Ala	Lys	Gln	Val	Arg	Glu	Phe	Asn	Gly	Cys	Leu	Ile	Met
545					550					555					560
Asp	Thr	Thr	Trp	Arg	Asp	Ala	His	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Thr	Arg	Leu
			565					570						575	
Arg	Thr	Tyr	Asp	Leu	Ala	Ala	Ile	Ala	Pro	Thr	Thr	Ser	Phe	Ala	Leu

[illegible]

Gly	Glu	Leu	Arg	Lys	Ile	Pro	Val	Val	Asp	Arg	Ser	Leu	Lys	Val	Asp
		1075					1080					1085			
Ile	Val	Ala	Lys	Pro	Lys	Ala	Asp	Thr	His	Asp	Pro	Tyr	Gln	Ile	Gly
	1090					1095					1100				
Ala	Pro	Met	Ala	Gly	Val	Ile	Val	Glu	Val	Lys	Val	His	Lys	Gly	Ser
1105					1110					1115					1120
Leu	Val	Lys	Lys	Gly	Gln	Pro	Val	Ala	Val	Leu	Ser	Ala	Met	Lys	Met
				1125					1130					1135	
Glu	Met	Val	Ile	Ser	Ser	Pro	Ser	Asp	Gly	Leu	Val	Lys	Asn	Val	Thr
			1140					1145					1150		
Val	Ala	Asp	Gly	Glu	Asn	Val	Asp	Ala	Ser	Asp	Leu	Leu	Ile	Thr	Leu
		1155					1160					1165			
Glu	Asp	Pro	Glu	Pro	Pro	Lys									
	1170					1175									

<210> 15

<211> 1177

<212> PRT

5 <213> *Torulaspora delbrueckii*

<220>

<223> TdePYC

<400> 15

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

His	Tyr	Phe	Ile	Glu	Ile	Asn	Pro	Arg	Ile	Gln	Val	Glu	His	Thr	Ile
305					310					315					320
Thr	Glu	Glu	Ile	Thr	Gly	Ile	Asp	Ile	Val	Ala	Ala	Gln	Ile	Gln	Ile
				325					330						335
Ala	Ala	Gly	Ala	Ser	Leu	Glu	Gln	Leu	Gly	Leu	Met	Gln	Asp	Arg	Ile
			340					345							350
Thr	Thr	Arg	Gly	Phe	Ala	Ile	Gln	Cys	Arg	Ile	Thr	Thr	Glu	Asp	Pro
		355					360						365		
Ser	Lys	Asn	Phe	Gln	Pro	Asp	Thr	Gly	Arg	Leu	Glu	Val	Tyr	Arg	Ser
	370					375					380				
Ala	Gly	Gly	Asn	Gly	Val	Arg	Leu	Asp	Gly	Gly	Asn	Ala	Phe	Ala	Gly
385				390						395					400
Ala	Ile	Ile	Ser	Pro	His	Tyr	Asp	Ser	Met	Leu	Val	Lys	Cys	Ser	Cys
			405						410						415
Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Glu	Ile	Val	Arg	Arg	Lys	Met	Ile	Arg	Ala	Leu
			420					425							430
Ile	Glu	Phe	Arg	Ile	Arg	Gly	Val	Lys	Thr	Asn	Ile	Pro	Phe	Leu	Leu
		435					440						445		
Thr	Leu	Leu	Thr	Asn	Pro	Val	Phe	Val	Asn	Gly	Asp	Tyr	Trp	Thr	Thr
	450					455					460				
Phe	Ile	Asp	Asp	Thr	Pro	Gln	Leu	Phe	Gln	Met	Ile	Ser	Ser	Gln	Asn
465				470						475					480
Arg	Ala	Gln	Lys	Leu	Leu	His	Tyr	Leu	Ala	Asp	Leu	Ala	Val	Asn	Gly
			485						490						495
Ser	Ser	Ile	Lys	Gly	Gln	Leu	Gly	Val	Pro	Lys	Leu	Thr	Thr	His	Pro
		500						505							510
Thr	Ile	Pro	His	Leu	His	Asp	Ala	Gln	Gly	Glu	Ile	Ile	Asn	Val	Asn
		515					520						525		
Ser	Ala	Ala	Pro	Pro	Ala	Gly	Trp	Arg	Gln	Ile	Leu	Leu	Asp	Tyr	Gly
	530					535					540				
Pro	Lys	Glu	Phe	Ala	Lys	Gln	Val	Arg	Asp	Phe	Asp	Gly	Thr	Leu	Ile
545				550						555					560
Met	Asp	Thr	Thr	Trp	Arg	Asp	Ala	His	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Thr	Arg
			565						570						575
Val	Arg	Thr	Tyr	Asp	Leu	Ala	Ala	Ile	Ala	Pro	Thr	Thr	Ala	His	Ala
			580					585							590
Leu	Ser	Gly	Ala	Phe	Ala	Leu	Glu	Cys	Trp	Gly	Gly	Ala	Thr	Phe	Asp
		595					600					605			
Val	Ala	Met	Arg	Phe	Leu	His	Glu	Asp	Pro	Trp	Glu	Arg	Leu	Arg	Ile
	610					615					620				
Leu	Arg	Lys	Leu	Val	Pro	Asn	Ile	Pro	Phe	Gln	Met	Leu	Leu	Arg	Gly
625				630						635					640
Ala	Asn	Gly	Val	Ala	Tyr	Ser	Ser	Leu	Pro	Asp	Asn	Ala	Ile	Asp	His
			645						650						655
Phe	Val	Lys	Gln	Ala	Lys	Glu	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Phe	Arg	Val	Phe
			660					665							670
Asp	Ala	Leu	Asn	Asp	Leu	Glu	Gln	Leu	Lys	Val	Gly	Val	Asp	Ala	Val
		675					680					685			
Lys	Lys	Ala	Gly	Gly	Val	Val	Glu	Ala	Thr	Val	Cys	Tyr	Ser	Gly	Asp
	690					695					700				
Met	Leu	Gln	Pro	Gly	Lys	Lys	Tyr	Asn	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Leu	Glu	Val
705				710						715					720
Thr	Gly	Lys	Ile	Val	Glu	Met	Gly	Thr	His	Ile	Leu	Gly	Ile	Lys	Asp
			725						730						735
Met	Ala	Gly	Thr	Met	Lys	Pro	Ser	Ala	Ala	Arg	Leu	Leu	Ile	Gly	Ser
			740					745							750
Ile	Arg	Ala	Lys	Tyr	Pro	Asp	Leu	Pro	Ile	His	Val	His	Thr	His	Asp
		755					760					765			
Ser	Ala	Gly	Thr	Ala	Val	Ala	Ser	Met	Ala	Ala	Cys	Ala	Leu	Ala	Gly
	770					775					780				
Ala	Asp	Val	Val	Asp	Val	Ala	Thr	Asn	Ser	Met	Ser	Gly	Leu	Thr	Ser

785					790					795				800	
Gln	Pro	Ser	Met	Asn	Ala	Leu	Leu	Ala	Ser	Leu	Asp	Gly	Gln	Ile	Asn
				805					810					815	
Thr	Asn	Ile	Asp	Val	Gln	His	Thr	Arg	Glu	Leu	Asp	Ala	Tyr	Trp	Ala
			820					825					830		
Glu	Met	Arg	Leu	Leu	Tyr	Ser	Cys	Phe	Glu	Ala	Asp	Leu	Lys	Gly	Pro
		835					840					845			
Asp	Pro	Glu	Val	Tyr	Glu	His	Glu	Ile	Pro	Gly	Gly	Gln	Leu	Thr	Asn
	850					855					860				
Leu	Leu	Phe	Gln	Ala	Gln	Gln	Leu	Gly	Leu	Gly	Glu	Lys	Trp	Ala	Glu
865					870					875					880
Thr	Lys	Arg	Ala	Tyr	Lys	Glu	Ala	Asn	Tyr	Leu	Leu	Gly	Asp	Leu	Val
				885					890					895	
Lys	Val	Thr	Pro	Thr	Ser	Lys	Val	Val	Gly	Asp	Leu	Ala	Gln	Phe	Met
			900					905					910		
Val	Ser	Asn	Lys	Leu	Thr	Ser	Gly	Asp	Val	Lys	Arg	Leu	Ala	Ser	Ser
		915					920						925		
Leu	Asp	Phe	Pro	Asp	Ser	Val	Met	Asp	Phe	Phe	Glu	Gly	Leu	Ile	Gly
	930					935					940				
Gln	Pro	Tyr	Gly	Gly	Phe	Pro	Glu	Pro	Leu	Arg	Thr	Asp	Ile	Leu	Lys
945					950					955					960
Asn	Lys	Arg	Arg	Lys	Leu	Thr	Cys	Arg	Pro	Gly	Leu	Glu	Leu	Ala	Pro
				965					970					975	
Phe	Asp	Leu	Glu	Lys	Ile	Arg	Glu	Asp	Leu	Gln	Asp	Arg	Phe	Gly	Asp
			980					985					990		
Ile	Asp	Glu	Cys	Asp	Val	Ala	Ser	Tyr	Asn	Met	Tyr	Pro	Lys	Val	Tyr
	995						1000					1005			
Glu	Asp	Phe	His	Lys	Ile	Lys	Glu	Arg	Tyr	Gly	Asp	Leu	Ser	Val	Leu
	1010				1015						1020				
Pro	Thr	Lys	Asn	Phe	Leu	Ser	Pro	Pro	Lys	Ile	Gly	Glu	Glu	Ile	Glu
1025					1030					1035					1040
Val	Thr	Ile	Glu	Lys	Gly	Lys	Thr	Leu	Ile	Ile	Lys	His	Gln	Ala	Val
				1045					1050					1055	
Gly	Asp	Leu	Asn	Lys	Glu	Thr	Gly	Val	Arg	Glu	Val	Tyr	Phe	Glu	Leu
		1060						1065					1070		
Asn	Gly	Glu	Leu	Arg	Lys	Ile	Pro	Val	Val	Asp	Lys	Ser	Gln	Lys	Val
	1075						1080					1085			
Glu	Ser	Val	Ala	Lys	Pro	Lys	Ala	Asp	Gly	His	Asp	Pro	Leu	Gln	Val
	1090					1095					1100				
Gly	Ala	Pro	Met	Ala	Gly	Val	Ile	Val	Glu	Val	Lys	Val	His	Lys	Gly
1105					1110					1115					1120
Ser	Leu	Val	Lys	Lys	Gly	Glu	Pro	Val	Ala	Val	Leu	Ser	Ala	Met	Lys
				1125					1130					1135	
Met	Glu	Met	Val	Ile	Ser	Ala	Gln	Ala	Asp	Gly	Gln	Val	Lys	Glu	Val
		1140						1145					1150		
Tyr	Ile	Asn	Asp	Gly	Asp	Asn	Val	Asp	Ala	Ser	Asp	Leu	Leu	Val	Val
		1155					1160					1165			
Leu	Glu	Glu	Ala	Val	Pro	Ala	Glu	Asn							
	1170					1175									

<210> 16

<211> 1177

<212> PRT

5 <213> *Zygosaccharomyces rouxii*

<220>

<223> ZroPYC

<400> 16

ES 2 811 926 T3

Met	Ser	Thr	Lys	Lys	Phe	Ser	Gly	Leu	Arg	Asp	Asn	Phe	Ser	Leu	Leu
				5				10						15	
Gly	Glu	Lys	Asn	Lys	Ile	Leu	Val	Ala	Asn	Arg	Gly	Glu	Ile	Pro	Ile
			20					25					30		

```

Arg Ile Phe Arg Ser Ala His Glu Leu Ser Met Arg Ser Val Ala Val
    35          40          45
Tyr Ser His Glu Asp Arg Leu Ser Met His Arg Leu Lys Ala Asp Glu
    50          55          60
Ala Tyr Val Ile Gly Glu Gly Lys Tyr Thr Pro Val Gly Ala Tyr
    65          70          75          80
Leu Ala Ile Asp Glu Ile Ile Ala Ile Ala Lys Lys His Asn Val Asp
    85          90          95
Phe Ile His Pro Gly Tyr Gly Phe Leu Ser Glu Asn Ser Glu Phe Ala
    100         105         110
Lys Lys Val Glu Ala Asn Gly Ile Thr Trp Ile Gly Pro Pro Ala Glu
    115         120         125
Val Ile Asp Ser Val Gly Asp Lys Val Ser Ala Arg Asn Leu Ala Ala
    130         135         140
Lys Ala His Val Ala Thr Val Pro Gly Thr Pro Gly Pro Ile Glu Ser
    145         150         155         160
Val Asp Glu Ala Ile Glu Phe Thr Lys Lys Tyr Gly Phe Pro Val Ile
    165         170         175
Ile Lys Ala Ala Phe Gly Gly Gly Gly Arg Gly Met Arg Val Val Arg
    180         185         190
Glu Gly Asp Asp Val Ala Asp Ala Phe Gln Arg Ala Ser Ser Glu Ala
    195         200         205
Arg Ser Ser Phe Gly Asn Gly Thr Cys Phe Met Glu Arg Phe Leu Val
    210         215         220
Lys Pro Lys His Ile Glu Val Gln Leu Leu Ala Asp Asn Tyr Gly Asn
    225         230         235         240
Val Val His Leu Phe Glu Arg Asp Cys Ser Val Gln Arg Arg His Gln
    245         250         255
Lys Val Val Glu Leu Ala Pro Ala Lys Ala Leu Pro Val Glu Thr Arg
    260         265         270
Asn Ala Ile Leu Thr Asp Ala Val Lys Leu Ala Lys Thr Ala Gly Tyr
    275         280         285
Arg Asn Ala Gly Thr Ala Glu Phe Leu Val Asp Asn Glu Asn Arg His
    290         295         300
Tyr Phe Ile Glu Ile Asn Pro Arg Ile Gln Val Glu His Thr Ile Thr
    305         310         315         320
Glu Glu Ile Thr Gly Ile Asp Ile Val Ala Ala Gln Ile Gln Ile Ala
    325         330         335
Ala Gly Ala Ser Leu Asp Gln Leu Gly Leu Leu Gln Asp Arg Ile Thr
    340         345         350
Thr Arg Gly Phe Ala Ile Gln Cys Arg Ile Thr Thr Glu Asp Pro Ser
    355         360         365
Lys Asn Phe Gln Pro Asp Thr Gly Arg Ile Glu Val Tyr Arg Ser Ser
    370         375         380
Gly Gly Asn Gly Val Arg Leu Asp Gly Gly Asn Thr Tyr Ala Gly Ala
    385         390         395         400
Val Ile Ser Pro His Tyr Asp Ser Met Leu Val Lys Cys Ser Cys Ser
    405         410         415
Gly Ser Thr Tyr Glu Ile Val Arg Arg Lys Met Ile Arg Ala Leu Val
    420         425         430
Glu Phe Arg Ile Arg Gly Val Lys Thr Asn Ile Pro Phe Leu Leu Thr
    435         440         445
Leu Leu Thr His Pro Thr Phe Val Gln Gly Gln Phe Trp Thr Thr Phe
    450         455         460
Ile Asp Asp Thr Pro Gln Leu Phe Gln Met Ile Ser Ser Gln Asn Arg
    465         470         475         480
Ala Gln Lys Leu Leu His Tyr Leu Ala Asp Leu Ala Val Asn Gly Ser
    485         490         495
Ser Ile Lys Gly Gln Val Gly Leu Pro Lys Leu Lys Thr His Pro Thr
    500         505         510
Val Pro Arg Leu His Gly Ser Asn Gly Glu Val Ile Asp Val Leu Ala

```

		515						520						525				
Thr	Pro	Pro	Pro	Ser	Gly	Trp	Arg	Gln	Val	Leu	Leu	Glu	His	Gly	Pro			
	530					535					540							
Glu	Glu	Phe	Ala	Lys	Arg	Val	Arg	Gln	Phe	Asn	Gly	Cys	Leu	Ile	Met			
545					550					555					560			
Asp	Thr	Thr	Trp	Arg	Asp	Ala	His	Gln	Ser	Leu	Leu	Ala	Thr	Arg	Val			
				565					570					575				
Arg	Thr	Tyr	Asp	Leu	Ala	Ala	Ile	Ala	Pro	Thr	Thr	Ala	His	Ala	Leu			
			580					585					590					
Ser	Gly	Ala	Phe	Ser	Leu	Glu	Cys	Trp	Gly	Gly	Ala	Thr	Phe	Asp	Val			
		595					600					605						
Ala	Met	Arg	Phe	Leu	His	Glu	Asp	Pro	Trp	Glu	Arg	Leu	Arg	Ile	Leu			
	610					615					620							
Arg	Arg	Leu	Val	Pro	Asn	Val	Pro	Phe	Gln	Met	Leu	Leu	Arg	Gly	Ala			
625					630					635					640			
Asn	Gly	Val	Ala	Tyr	Ser	Ser	Leu	Pro	Asp	Asn	Ala	Ile	Asp	His	Phe			
				645					650					655				
Val	Lys	Gln	Ala	Lys	Glu	Asn	Gly	Val	Asp	Ile	Phe	Arg	Val	Phe	Asp			
			660				665						670					
Ala	Leu	Asn	Asp	Leu	Asp	Gln	Leu	Lys	Val	Gly	Val	Asp	Ala	Val	Lys			
		675					680					685						
Lys	Ala	Gly	Gly	Val	Val	Glu	Ala	Thr	Val	Cys	Tyr	Ser	Gly	Asp	Met			
	690					695					700							
Leu	Gln	Pro	Gly	Lys	Lys	Tyr	Asn	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Leu	Glu	Val	Thr			
705					710					715					720			
Glu	Gln	Ile	Val	Lys	Met	Gly	Thr	His	Phe	Leu	Gly	Ile	Lys	Asp	Met			
				725					730					735				
Ala	Gly	Thr	Met	Lys	Pro	Ala	Ala	Ala	Lys	Leu	Leu	Val	Gly	Ser	Ile			
			740				745						750					
Arg	Ala	Lys	Tyr	Pro	Asn	Leu	Pro	Ile	His	Ile	His	Thr	His	Asp	Ser			
		755					760					765						
Ala	Gly	Thr	Gly	Val	Ala	Ser	Met	Ala	Ala	Cys	Ala	Val	Ser	Gly	Ala			
	770					775					780							
Asp	Val	Val	Asp	Val	Ala	Val	Asn	Ser	Met	Ser	Gly	Leu	Thr	Ser	Gln			
785					790					795					800			
Pro	Cys	Met	Asn	Ala	Leu	Leu	Ala	Ser	Leu	Asp	Gly	Glu	Ile	Asn	Thr			
				805					810					815				
Gly	Ile	Asn	Ala	Asn	Tyr	Ala	Arg	Glu	Leu	Asp	Ala	Tyr	Trp	Ala	Glu			
			820				825						830					
Met	Arg	Leu	Leu	Tyr	Ser	Cys	Phe	Asp	Thr	Asp	Leu	Lys	Gly	Pro	Asp			
		835					840					845						
Pro	Glu	Val	Tyr	Glu	His	Glu	Ile	Pro	Gly	Gly	Gln	Leu	Thr	Asn	Leu			
	850					855					860							
Leu	Phe	Gln	Ala	Gln	Gln	Leu	Gly	Leu	Gly	Glu	Lys	Trp	Ile	Glu	Thr			
865																		

```

Asp Phe Gln Lys Ile Lys Glu Gln Phe Gly Asp Leu Ser Val Leu Pro
1010                      1015                      1020
Thr Lys Asn Phe Leu Ser Pro Pro Gly Ile Gly Glu Glu Ile Glu Val
1025                      1030                      1035                      1040
Thr Ile Glu Gln Gly Lys Thr Leu Ile Ile Lys His Gln Ala Val Gly
                      1045                      1050                      1055
Asp Leu Asn Lys Glu Thr Gly Met Arg Glu Val Tyr Phe Glu Leu Asn
                      1060                      1065                      1070
Gly Glu Leu Arg Lys Ile Pro Val Val Asp Arg Ser Gln Lys Val Glu
                      1075                      1080                      1085
Ile Val Ser Lys Pro Lys Ala Asp Gly His Asp Pro Tyr Gln Val Gly
                      1090                      1095                      1100
Ala Pro Met Ala Gly Val Ile Val Glu Ile Lys Val His Lys Gly Ser
1105                      1110                      1115                      1120
Leu Ile Lys Lys Gly Gln Pro Val Ala Val Leu Ser Ala Met Lys Met
                      1125                      1130                      1135
Glu Met Val Ile Ser Ala Gln Thr Asp Gly Gln Val Lys Glu Val Leu
                      1140                      1145                      1150
Ala Asn Gly Gly Asp Asn Val Asp Ala Ser Asp Leu Leu Val Thr Leu
                      1155                      1160                      1165
Glu Asp Ala Val Pro Pro Lys Glu Asn
1170                      1175

```

<210> 17

<211> 294

<212> PRT

5 <213> *Archaeoglobus fulgidus*

<220>

<223> AfuMDH

<400> 17

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

<210> 18

<211> 326

<212> PRT

5 <213> *Congregibacter litoralis*

<220>

<223> ClIMDH

<400> 18

[illegible]

<210> 19

<211> 328

<212> PRT

5 <213> *Delftia acidovorans*

$\langle 220 \rangle$

<223> DacMDH

<400> 19


```

Met Ser Lys Lys Pro Val Arg Val Ala Val Thr Gly Ala Ala Gly Gln
      5              10              15
Ile Gly Tyr Ala Leu Leu Phe Arg Ile Ala Ser Gly Glu Met Leu Gly
      20              25              30
Lys Asp Gln Pro Val Ile Leu Gln Leu Leu Glu Ile Pro Asp Glu Lys
      35              40              45
Ala Gln Asn Ala Leu Lys Gly Val Ile Met Glu Leu Glu Asp Cys Ala
      50              55              60
Phe Pro Leu Leu Ala Gly Ile Glu Ala His Ser Asp Pro Leu Gln Ala
      65              70              75              80
Phe Lys Asp Thr Asp Tyr Ala Leu Leu Val Gly Ala Arg Pro Arg Gly
      85              90              95
Pro Gly Met Glu Arg Ala Asp Leu Leu Ala Ala Asn Ala Gln Ile Phe
      100             105             110
Thr Ala Gln Gly Lys Ala Leu Asn Ala Ala Ala Ser Arg Asn Val Lys
      115             120             125
Val Leu Val Val Gly Asn Pro Ala Asn Thr Asn Ala Tyr Ile Ala Met
      130             135             140
Lys Ser Ala Pro Asp Leu Pro Ala Lys Asn Phe Thr Ala Met Leu Arg
      145             150             155             160
Leu Asp His Asn Arg Ala Ala Ser Gln Leu Ala Ala Lys Ala Gly Phe
      165             170             175
Lys Val Gly Asp Ile Arg Lys Leu Thr Val Trp Gly Asn His Ser Pro
      180             185             190
Thr Met Tyr Ala Asp Tyr Arg Phe Ala Thr Val Asn Gly Glu Ser Val
      195             200             205
Lys Ala Lys Ile Asn Asp Gln Ala Trp Asn Lys Asp Val Phe Leu Pro
      210             215             220
Thr Val Gly Lys Arg Gly Ala Ala Ile Ile Ala Ala Arg Gly Leu Ser
      225             230             235             240
Ser Ala Ala Ser Ala Ala Asn Ala Ala Ile Asp His Met Arg Asp Trp
      245             250             255
Ala Leu Gly Ser Gly Gly Glu Trp Val Thr Met Gly Val Pro Ser Asn
      260             265             270
Gly Glu Tyr Gly Ile Pro Ala Gly Ile Val Phe Gly Phe Pro Val Thr
      275             280             285
Thr Glu Asn Gly Glu Tyr Lys Ile Val Glu Gly Leu Glu Ile Asp Ala
      290             295             300
Phe Ser Gln Glu Cys Ile Asp Lys Thr Leu Ala Glu Leu Gln Gly Glu
      305             310             315             320
Gln Asp Gly Val Lys His Leu Leu
      325

```

<210> 20

<211> 324

<212> PRT

5 <213> *Halomonas elongata*

<220>

<223> HelMDH

<400> 20

```

Met Lys Asp Pro Val Arg Ile Ala Ile Thr Gly Ala Ala Gly Gln Ile
      5              10              15

```

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

<210> 21

<211> 311

<212> PRT

5 <213> *Shewanella putrefaciens*

<220>

<223> SpuMDH

<400> 21

[illegible]

<210> 22

<211> 569

<212> PRT

5 <213> *Schizosaccharomyces pombe*

$\langle 220 \rangle$

<223> SpoPDC2

 $\langle 400 \rangle$ 22

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

```

Pro Glu Ile Ser Asp Lys Glu Ser Leu Glu Lys Ala Thr Asp Ile Ala
    195                                200                205
Ala Glu Leu Ile Ser Lys Lys Glu Lys Pro Ile Leu Leu Ala Gly Pro
    210                                215                220
Lys Leu Arg Ala Ala Gly Ala Glu Ser Ala Phe Val Lys Leu Ala Glu
    225                                230                235                240
Ala Leu Asn Cys Ala Ala Phe Ile Met Pro Ala Ala Lys Gly Phe Tyr
    245                                250                255
Ser Glu Glu His Lys Asn Tyr Ala Gly Val Tyr Trp Gly Glu Val Ser
    260                                265                270
Ser Ser Glu Thr Thr Lys Ala Val Tyr Glu Ser Ser Asp Leu Val Ile
    275                                280                285
Gly Ala Gly Val Leu Phe Asn Asp Tyr Ser Thr Val Gly Trp Arg Ala
    290                                295                300
Ala Pro Asn Pro Asn Ile Leu Leu Asn Ser Asp Tyr Thr Ser Val Ser
    305                                310                315                320
Ile Pro Gly Tyr Val Phe Ser Arg Val Tyr Met Ala Glu Phe Leu Glu
    325                                330                335
Leu Leu Ala Lys Lys Val Ser Lys Lys Pro Ala Thr Leu Glu Ala Tyr
    340                                345                350
Asn Lys Ala Arg Pro Gln Thr Val Val Pro Lys Ala Ala Glu Pro Lys
    355                                360                365
Ala Ala Leu Asn Arg Val Glu Val Met Arg Gln Ile Gln Gly Leu Val
    370                                375                380
Asp Ser Asn Thr Thr Leu Tyr Ala Glu Thr Gly Asp Ser Trp Phe Asn
    385                                390                395                400
Gly Leu Gln Met Lys Leu Pro Ala Gly Ala Lys Phe Glu Val Glu Met
    405                                410                415
Gln Trp Gly His Ile Gly Trp Ser Val Pro Ser Ala Met Gly Tyr Ala
    420                                425                430
Val Ala Ala Pro Glu Arg Arg Thr Ile Val Met Val Gly Asp Gly Ser
    435                                440                445
Phe Gln Leu Thr Gly Gln Glu Ile Ser Gln Met Ile Arg His Lys Leu
    450                                455                460
Pro Val Leu Ile Phe Leu Leu Asn Asn Arg Gly Tyr Thr Ile Glu Ile
    465                                470                475                480
Gln Ile His Asp Gly Pro Tyr Asn Arg Ile Gln Asn Trp Asp Phe Ala
    485                                490                495
Ala Phe Cys Glu Ser Leu Asn Gly Glu Thr Gly Lys Ala Lys Gly Leu
    500                                505                510
His Ala Lys Thr Gly Glu Glu Leu Thr Ser Ala Ile Lys Val Ala Leu
    515                                520                525
Gln Asn Lys Glu Gly Pro Thr Leu Ile Glu Cys Ala Ile Asp Thr Asp
    530                                535                540
Asp Cys Thr Gln Glu Leu Val Asp Trp Gly Lys Ala Val Arg Ser Ala
    545                                550                555                560
Asn Ala Arg Pro Pro Thr Ala Asp Asn
    565

```

<210> 23

<211> 565

<212> PRT

5 <213> *Schizosaccharomyces pombe*

<220>

<223> Spomae2

<400> 23

ES 2 811 926 T3

Met	Pro	Ala	Gly	Thr	Lys	Glu	Gln	Ile	Glu	Cys	Pro	Leu	Lys	Gly	Val
				5					10					15	
Thr	Leu	Leu	Asn	Ser	Pro	Arg	Tyr	Asn	Lys	Asp	Thr	Ala	Phe	Thr	Pro
			20					25					30		

Glu	Glu	Arg	Gln	Lys	Phe	Glu	Ile	Ser	Ser	Arg	Leu	Pro	Pro	Ile	Val
		35					40					45			
Glu	Thr	Leu	Gln	Gln	Gln	Val	Asp	Arg	Cys	Tyr	Asp	Gln	Tyr	Lys	Ala
	50					55					60				
Ile	Gly	Asp	Glu	Pro	Leu	Gln	Lys	Asn	Leu	Tyr	Leu	Ser	Gln	Leu	Ser
65					70					75					80
Val	Thr	Asn	Gln	Thr	Leu	Phe	Tyr	Ala	Leu	Ile	Ser	Gln	His	Leu	Ile
				85					90					95	
Glu	Met	Ile	Pro	Ile	Ile	Tyr	Thr	Pro	Thr	Glu	Gly	Asp	Ala	Ile	Lys
			100					105					110		
Gln	Phe	Ser	Asp	Ile	Tyr	Arg	Tyr	Pro	Glu	Gly	Cys	Tyr	Leu	Asp	Ile
		115					120					125			
Asp	His	Asn	Asp	Leu	Ser	Tyr	Ile	Lys	Gln	Gln	Leu	Ser	Glu	Phe	Gly
	130					135					140				
Lys	Ser	Asp	Ser	Val	Glu	Tyr	Ile	Ile	Ile	Thr	Asp	Ser	Glu	Gly	Ile
145				150						155					160
Leu	Gly	Ile	Gly	Asp	Gln	Gly	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ile	Ser	Val	Ala
				165					170					175	
Lys	Gly	His	Leu	Met	Thr	Leu	Cys	Ala	Gly	Leu	Asp	Pro	Asn	Arg	Phe
			180					185					190		
Leu	Pro	Ile	Val	Leu	Asp	Val	Gly	Thr	Asn	Asn	Glu	Thr	His	Arg	Lys
		195					200					205			
Asn	His	Gln	Tyr	Met	Gly	Leu	Arg	Lys	Asp	Arg	Val	Arg	Gly	Glu	Gln
	210				215						220				
Tyr	Asp	Ser	Phe	Leu	Asp	Asn	Val	Ile	Lys	Ala	Ile	Arg	Glu	Val	Phe
225				230						235					240
Pro	Glu	Ala	Phe	Ile	His	Phe	Glu	Asp	Phe	Gly	Leu	Ala	Asn	Ala	Lys
				245					250					255	
Arg	Ile	Leu	Asp	His	Tyr	Arg	Pro	Asp	Ile	Ala	Cys	Phe	Asn	Asp	Asp
			260					265					270		
Ile	Gln	Gly	Thr	Gly	Ala	Val	Ala	Leu	Ala	Ala	Ile	Ile	Gly	Ala	Leu
	275					280						285			
His	Val	Thr	Lys	Ser	Pro	Leu	Thr	Glu	Gln	Arg	Ile	Met	Ile	Phe	Gly
	290					295					300				
Ala	Gly	Thr	Ala	Gly	Val	Gly	Ile	Ala	Asn	Gln	Ile	Val	Ala	Gly	Met
305				310						315					320
Val	Thr	Asp	Gly	Leu	Ser	Leu	Asp	Lys	Ala	Arg	Gly	Asn	Leu	Phe	Met
				325					330					335	
Ile	Asp	Arg	Cys	Gly	Leu	Leu	Leu	Glu	Arg	His	Ala	Lys	Ile	Ala	Thr
			340					345					350		
Asp	Gly	Gln	Lys	Pro	Phe	Leu	Lys	Lys	Asp	Ser	Asp	Phe	Lys	Glu	Val
		355				360						365			
Pro	Ser	Gly	Asp	Ile	Asn	Leu	Glu	Ser	Ala	Ile	Ala	Leu	Val	Lys	Pro
	370					375					380				
Thr	Ile	Leu	Leu	Gly	Cys	Ser	Gly	Gln	Pro	Gly	Lys	Phe	Thr	Glu	Lys
385				390						395					400
Ala	Ile	Arg	Glu	Met	Ser	Lys	His	Val	Glu	Arg	Pro	Ile	Ile	Phe	Pro
				405					410					415	
Ile	Ser	Asn	Pro	Thr	Thr	Leu	Met	Glu	Ala	Lys	Pro	Asp	Gln	Ile	Asp
			420					425					430		
Lys	Trp	Ser	Asp	Gly	Lys	Ala	Leu	Ile	Ala	Thr	Gly	Ser	Pro	Leu	Pro
		435				440						445			
Pro	Leu	Asn	Arg	Asn	Gly	Lys	Lys	Tyr	Val	Ile	Ser	Gln	Cys	Asn	Asn
	450					455					460				
Ala	Leu	Leu	Tyr	Pro	Ala	Leu	Gly	Val	Ala	Cys	Val	Leu	Ser	Arg	Cys
465				470						475					480
Lys	Leu	Leu	Ser	Asp	Gly	Met	Leu	Lys	Ala	Ala	Ser	Asp	Ala	Leu	Ala
				485					490					495	
Thr	Val	Pro	Arg	Ser	Leu	Phe	Ala	Ala	Asp	Glu	Ala	Leu	Leu	Pro	Asp
			500					505					510		
Leu	Asn	Asn	Ala	Arg	Glu	Ile	Ser	Arg	His	Ile	Val	Phe	Ala	Val	Leu

		515					520						525				
	Lys	Gln	Ala	Val	Ser	Glu	Gly	Met	Ser	Thr	Val	Asp	Leu	Pro	Lys	Asp	
	530						535					540					
	Asp	Ala	Lys	Leu	Lys	Glu	Trp	Ile	Ile	Glu	Arg	Glu	Trp	Asn	Pro	Glu	
	545					550					555					560	
	Tyr	Lys	Pro	Phe	Val												
					565												

- <210> 24
 <211> 21
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: UF para el fragmento eliminado pdc2
 <400> 24
 ctctccagct ccatcataa g 21
 10 <210> 25
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Descripción de la secuencia artificial: UR para el fragmento eliminado pdc2
 <400> 25
 gacacaactt cctaccaaaa agcctttctg cccatgtttt ctgtc 45
 <210> 26
 <211> 23
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: OF para el fragmento eliminado pdc2
 <400> 26
 25 gcttttgggt aggaagttgt gtc 23
 <210> 27
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: OR para el fragmento eliminado pdc2
 <400> 27
 agtgggattt gtagctaagc tgtatccatt tcagccgttt gtc 43
 <210> 28
 35 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: DF para el fragmento eliminado pdc2
 40 <400> 28
 aagtttcgtc aatatcaca gctgacagaa aacatgggca gaaag 45
 <210> 29
 <211> 24
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: DR para el fragmento eliminado pdc2
 <400> 29
 gttccttaga aaaagcaact ttgg 24
 50 <210> 30
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 55 <223> Descripción de la secuencia artificial: FF para el fragmento eliminado pdc2
 <400> 30
 cataagcttg ccaccacttc 20

<210> 31
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: FR para el fragmento eliminado pdc2
 <400> 31
 gaaaaagcaa ctttggtatt ctgc 24
 <210> 32
 10 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: F para el fragmento ura4
 15 <400> 32
 agcttagcta caaatccac t 21
 <210> 33
 <211> 23
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: R para el fragmento ura4
 <400> 33
 agcttgat attgacgaaa ctt 23
 25 <210> 34
 <211> 5400
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de la secuencia artificial: Fr.1 para pSMh
 <400> 34
 tggggagcct ggggactttc cacacocctaa ctgacacaca ttccacagga cattgattat 60
 tgactagggt taaaccacgt ggggtgaccaa attgtcaagc gtgagcttgc cactgggtgtc 120
 cccattgtct accacttggg caaggacggc aagtagctct ccaaggagct cattgacaac 180
 tagatttcct actagatttt agtcgcctat tttaacgaca tatacactgt ttttctacac 240
 taactcattt ctatgatgtt gtataatgca atttcttttt ttgaaatcaa atcaaaactac 300
 aaggtagacg aaataataga gtaattatga gggagtaaca agggagtaac ggggtggtgg 360
 aagaagtgag tgagttggta gtgcaaggag agagaatcgt accaatacat taggaggaag 420
 aaaaagtatc gatttagtag aaagaaatag cattatcgta ctgtgtgaag agtttacagt 480
 cttgctagtt attaatagta atcaattacg gggtcattag ttcataagccc atatatggag 540
 ttccgcgtta cataacttac ggtaaatggc ccgcctggct gaccgcccac cgacccccgc 600
 ccattgacgt caataatgac gtatgttccc atagtaacgc caatagggac tttccattga 660
 cgtcaatggg tggagtattt acggtaaaact gccacttgg cagtacatca agtgtatcat 720
 atgccaagta cgcacctat tgacgtcaat gaoggtaaat ggcccgctg gcattttgcc 780
 cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca tctacgtatt agtcacgct 840
 attaccatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc gtggatagcg gtttgactca 900
 cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga gtttggtttg gcacaaaaat 960

caacgggact	ttccaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	tgacgcaaat	gggcggtagg	1020
cgtgtacggf	gggaggtcta	tataagcaga	tttctcttta	gttcttttga	agaaggtaga	1080
gataaagaca	ctttttcaaa	tatgagcgaa	aaacagggtg	tagggatcct	tggaggtggt	1140
caattgggoc	gaatgatggt	agaggcagcc	catogcttaa	acatcaaag	catcatcttg	1200
gatgcagcaa	attctctctg	caaacaaatt	gatggaggac	gtgagcacat	tgatgcatca	1260
tttactgacc	cogatgcaat	tggtgaactg	tctaagaagt	gcacgttatt	aacaactgaa	1320
attgagcata	ttaacactga	tgccctggca	gccgttaoga	aatctgttgc	tggtgaaccc	1380
tctctgcaa	ctctgcatg	cattcaagac	aaatatotto	aaaaacagca	tttacagggt	1440
tttaagattg	cacttctctg	attttgcatg	gcacctgacc	aggaaagtgt	tgaaaaagca	1500
ggccaagagt	ttggttatcc	ttttgtactg	aaaagtaaaa	cattggctta	cgacggctcg	1560
ggaaattacg	ttgttcatca	accatctgag	attcctactg	ccatcaaagc	acttggtgat	1620
cgtccgcttt	atgttgaaaa	gttcgttcc	ttctccatgg	aaattgcagt	gatggtagta	1680
cgcagtttag	acggaaaagt	ttatgcttat	cctacaactg	agaccattca	aaaggataat	1740
gtttgtcatt	tagtatatgc	cctgtctcgt	cttcccttct	caattcaaca	gcgtgctcaa	1800
acccttgcca	tggatgcggt	gcgcactttt	gaaggcgctg	gtatatatgg	tgtagagatg	1860
ttgttttgc	aagatgggtg	gaccttttta	ctcaacgaaa	ttgctcctcg	gcttcacaa	1920
tcaggtcact	acaccattga	agcttgccca	acttctcagt	ttgaagctca	cttacggggc	1980
atatgtgggtc	ttcctttcag	cgaaatcaac	acccaactct	cgacttccac	aactcatgcg	2040
ttgatggtaa	atattttagg	tactgatgat	cctgattatg	tttcaaagat	cgctaaacgt	2100
tctctgtcca	ttcccggtgc	aactttgcat	ctttatggta	aagctgaatc	tagaaagggt	2160
cgcaagatgg	gacacgttac	catcatttct	gattcacctc	aagaatgtga	acgtaggtat	2220
cagatgcttc	ttgacgtcaa	agatcctgtc	gaatcacctg	ttgttggtat	tatcatgggt	2280
tcggattctg	atttaagcaa	gatgaaagat	gctgccgtca	tttttagatga	attcaagggtg	2340
ccttacgaac	ttactattgt	ttcagctcac	cgcacaccag	atcgcatggg	tacttatgct	2400
cgtaccgcag	cttcaagagg	gttgctgtgt	attattgtct	gtgctgggtg	tgccgctcat	2460
ttgcctggta	tggttgcctg	aatgacacct	cttcacgtta	tcggcgcttc	tgtaaaagga	2520
agcactcttg	acggagttga	ctctcttcac	tctattgttc	agatgcctcg	aggtgtccct	2580
gtcgccactg	ttgttatcaa	taatagccaa	aatgcgggta	ttttagcctg	tcgtatactt	2640
gctacatttc	aaccctccct	tttggtgctg	atggagagct	ttatggacaa	tatgaaagag	2700
attgttttag	aaaaggctga	taaattagaa	aaagttgggt	ggaaaaatta	ttctgcatag	2760
atggatgcta	gagtatttca	aagctattca	gctagagctg	aggggatgaa	aaatcccatt	2820
gccaaaggaat	tggttgcttt	gatggaagaa	aagcaaaagc	acttgctcag	cgcggtcgat	2880
ttgacgaaga	aatccgaaat	cttagaattg	gtagataaaa	ttggacccta	tgctctgtgt	2940
atcaagacac	atattgacgt	tgctgaggat	ttcgaccagg	atatggtaga	aaaactggtg	3000
gccttaggta	aaaagcatcg	ttttcttctc	tttgaggatc	gcaaatctgc	agacattgga	3060
aataccgtca	atgacaata	tgcatctgtg	gtgtacaata	ttgcttcttg	ggctcatatc	3120
acaaattgcc	atacagtgcc	aggcgagggt	attatacaag	gcctcaaaga	agttggttta	3180
cctttgggac	gtggtctctt	gcttttggct	gaaatgtctt	ccaaaggctc	tttggtactt	3240
ggttcctaca	cagagaaaao	cttagaatgg	tttgagaagc	ataccgattt	ttgctttggc	3300
tttatagctg	gtcgtcgatt	tcctaacctt	caaagcgact	acataactat	gtcccctggt	3360
atcggttggt	atgttaaagg	agacgggctg	ggacagcaat	atcgtactcc	tgaagaagtg	3420
attgtaaact	gcggttagcg	tatcatcatt	gttggtcgtg	gagtcctatg	agctggtcgt	3480
aatcctgttg	tcgaagccaa	gagatataga	gaagctgggt	ggaaggcata	tcagcaaaag	3540
ctttctcagc	attaaaaaaa	gactaatgta	aaattttttt	ggttggttat	tgaaaaagtc	3600
gatgccttgt	ttgcgtttgt	tttcttaggc	gttttatgtc	agaaggcatt	ttagaattag	3660
atacaagtac	tcttttgtaa	aattttatgt	agcgactaaa	atattaacta	ttatagataa	3720
acaccttggtg	aataaaaagt	aattttgctat	agtaatttat	taaacatgct	cctacaacat	3780
taoctctagt	tattaatagt	aatcaattac	ggggtcatta	gttcatagcc	catatatgga	3840
gttccgcgtt	acataactta	cggtaaatgg	cccgcctggc	tgaccgcccc	acgacccccg	3900
cccatgacg	tcaataatga	cgtatgttcc	catagtaacg	ccaataggga	ctttccattg	3960
acgtcaatgg	gtggagtatt	tacggtaaac	tgcccacttg	gcagtacatc	aagtgtatca	4020
tatgccaagt	acgcccccta	ttgacgtcaa	tgacggtaaa	tgccccgcct	ggcattttgc	4080
ccagtacatg	accttatggg	actttcctac	ttggcagtac	atctacgtat	tagtcatcgc	4140
tattaccatg	gtgatgcggt	tttggcagta	catcaatggg	cgtggatagc	ggtttgactc	4200
acggggatgt	ccaagtctcc	accccatgga	cgtcaatggg	agttttgttt	ggcaccacaa	4260
tcaacgggac	tttccaaaaa	gtcgtaaaca	ctcgcctcca	ttgacgcaaa	tgggcggtag	4320
gcgtgtacgg	tgggaggtct	atataagcag	atttctcttt	agttctttgc	aagaaggtag	4380
agataaagac	actttttcaa	acatgtcgat	tacaaggatg	atgatgataa	gtaagaattc	4440
gagctcggta	cccggggatc	ctctagagtc	gacctgcagg	catgcaagct	taaataggaa	4500
agttttcttca	acaggattac	agtgtageta	cctacatgct	gaaaaatata	gccttttaaat	4560
catttttata	ttataactct	gtataataga	gataagtcca	tttttttaaa	atgttttccc	4620

caaaccataa	aaccctatac	aagttgttct	agtaacaata	catgagaaag	atgtctatgt	4680
agctgaaaat	aaaatgacgt	cacaagacga	tctgcctcgc	gcgtttcggg	gatgacgggtg	4740
aaaacctctg	acacatgcag	ctcccggaga	cggtcacagc	ttgtctgtaa	gcggatgccg	4800
ggagcagaca	agcccgtcag	ggcgcgtcag	cgggtgttgg	cgggtgtcgg	ggcgcagcca	4860
tgacccagtc	acgtagcgat	agcggagtgt	aatcgtttgt	gaagagttta	cagtcttgca	4920
gcaagtttct	caatgcttta	gagtgcctat	gtctacgatg	gatgctacgt	cttcctctga	4980
atagtctatt	aaaaatcaac	aatacctttt	tgttacaagg	tgttgagtgt	cattaaaaga	5040
caaagtgaag	tacaagggga	ttattaagaa	attatagtgc	ggcggagcaa	agtagactag	5100
tagtccattt	tctatgcaca	gtagaaaaca	aaaagtattc	aacaaaaaaa	aaaaaaaaaca	5160
gaatacattg	caaggattag	aaagcaaaca	acccttcttt	acaaggatgt	aatgaagcat	5220
atttttatta	tcaaaaacat	tgatgatgaa	attgggtatgc	ttttggatac	tactattgct	5280
ttttactcta	cgacaatgac	atttcacatt	caattgggtt	aaaccacgtg	gattactggc	5340
ttaactatgc	ggcatcagag	cagattgtac	tgagagtgca	ccatatgcgg	tgtgaaatac	5400

<210> 35

<211> 8849

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: pSMh

<400> 35

gaattgttgt	tgtaacttg	tttattgcag	cttataatgg	ttacaaataa	agcaatagca	60
tcacaaatth	cacaaataaa	gcattthttt	cactgcattc	tagttgtggt	ttgtccaaac	120
tcacaaatgt	atcttatcat	gtctggatcg	atcccggcag	gttgggctgc	gcttggctcg	180
tcatttcgaa	ccccagagtc	ccgctcagaa	gaactcgtca	agaaggcgat	agaaggcgat	240
gcgctgcgaa	tcgggagcgg	cgataccgta	aagcacgagg	aagcggtcag	cccattcgcc	300
gccaaagctct	tcagcaatat	cacgggtagc	caacgctatg	tcctgatagc	ggtcgcgcac	360
accagccggg	ccacagtcga	tgaatccaga	aaagcggcca	ttttccacca	tgatattcgg	420
caagcaggca	tcgccatggg	tcacgacgag	atcctcgccg	tcgggcatgc	gcgccttgag	480
cctggcgaaac	agttcggctg	gcgcgagccc	ctgatgctct	tcgtccagat	catcctgatc	540
gacaagaccg	gcttccatcc	gagtacgtgc	tcgctcgatg	cgatgtttcg	cttgggtggc	600
gaatgggcag	gtagccggat	caagcgtatg	cagccgcgcg	attgcatcag	ccatgatgga	660
tactttctcg	gcaggagcaa	ggtgagatga	caggagatcc	tgccccggca	cttcgccccaa	720
tagcagccag	tcctttcccg	cttcagtgcg	aacgtcgagc	acagctgcgc	aaggaacgcc	780
cgtcgtggcc	agccacgata	gccgcgctgc	ctcgtcctgc	agttcattca	gggcaccgga	840
caggctcggc	ttgacaaaaa	gaaccggggc	cccctgcgct	gacagccgga	acacggcggc	900
atcagagcag	ccgattgtct	gttggtgccc	gtcatagccg	aatagcctct	ccacccaagc	960
ggccggagaa	cctgcgtgca	atccatcttg	ttcaatcatg	cgaaacgatc	ctcatcctgt	1020
ctcttgatca	gatccgggac	ctgaaataaa	agacaaaaag	actaaactta	ccagttaact	1080
ttctggtttt	tcagttcctc	gaggagcttt	ttgcaaaagc	ctaggcctcc	aaaaaagcct	1140
cctcactact	tctggaatag	ctcagaggcc	gaggcgccct	cggcctctgc	ataaataaaa	1200
aaaattagtc	agccatgggg	cggagaatgg	gcggaactgg	gcggagttag	gggagggtatg	1260
ggcggagtta	ggggcgggac	tatggttgct	gactaattga	gatgcatgct	ttgcatactt	1320
ctgcctgctg	gggagcctgg	ggactttcca	cacctgggtg	ctgactaatt	gagatgcatag	1380
ctttgcatac	ttctgcctgc	tggggagcct	ggggactttc	cacaccctaa	ctgacacaca	1440
ttccacagga	cattgattat	tgactagggt	taaaccacgt	gggtgaccaa	attgtcaagc	1500
gtgagcttgc	cactggtgtc	cccattgtct	accacttgga	caaggacggc	aagtacgtct	1560
ccaaggagct	cattgacaac	tagatttctc	actagatttt	agtcgcctat	tttaacgaca	1620
tatacactgt	ttttctacac	taactcattt	ctatgatgtt	gtataatgca	atttcttttt	1680
ttgaaatcaa	atcaaaactac	aaggtagacg	aaataataga	gtaattatga	gggagtaaca	1740
agggagtaac	ggggtggtgg	aagaagttag	tgagttggta	gtgcaaggag	agagaatcgt	1800
accaatacat	taggaggaag	aaaaagtatc	gatttagtag	aaagaaatag	cattatcgta	1860
ctgtgtgaag	agtttacagt	cttgctagtt	attaatagta	atcaattacg	gggtcattag	1920
ttcatagccc	atataatggg	ttccgcgtta	cataacttac	ggtaaattggc	ccgcctggct	1980
gaccgccccaa	cgacccccgc	ccattgacgt	caataatgac	gtatgttccc	atagtaacgc	2040
caatagggac	tttccattga	cgtcaatggg	tggagtattt	acggtaaact	gcccacttgg	2100
cagtacatca	agtgtatcat	atgccaaagta	cgccccctat	tgacgtcaat	gacggtaaat	2160
ggcccgctcg	gcattttgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	2220
totacgtatt	agtcacgcgt	attaccatgg	tgatgcgggt	ttggcagtag	atcaatgggc	2280
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2340

gtttgtttttg	gcacccaaaat	caacgggact	ttccaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2400
tgacgcaaat	gggocggtagg	cgtgtacggt	gggaggtota	tataagcaga	tttctcttta	2460
gttcttttga	agaaggtaga	gataaagaca	ctttttcaaa	tatgagcgaa	aaacaggttg	2520
tagggatcct	tggaggtggt	caattggggc	gaatgatggt	agaggcagcc	catcgcttaa	2580
acatcaaatg	catcatcttg	gatgcagcaa	attctcctgc	caaacaaatt	gatggaggac	2640
gtgagcacat	tgatgcacat	tttactgacc	ccgatgcaat	tgttgaactg	tctaagaagt	2700
gcacgttatt	aacaactgaa	attgagcata	ttaacactga	tgccttggca	gccgttaoga	2760
aatctgttgc	tgttgaaccc	tctcctgcaa	ctctgcgatg	cattcaagac	aaatatcttc	2820
aaaaacagca	tttacagggt	tttaagattg	cacttcctga	atthttgcgat	gcacctgacc	2880
aggaaagtgt	tgaaaaagca	ggccaagagt	ttggttatcc	ttttgtactg	aaaagtaaaa	2940
cattggctta	cgacggtcgt	ggaaattacg	ttgttcatca	accatctgag	attcctactg	3000
ccatcaaagc	acttgggtgat	cgtccgcttt	atgttgaaaa	gttcggttcc	ttctccatgg	3060
aaattgcagt	gatggttagta	cgcagtttag	acggaaaagt	ttatgcttat	cctacaaccg	3120
agaccattca	aaaggataat	gtttgtcatt	tagtatatgc	ccctgctcgt	cttcccttct	3180
caattcaaca	gcgtgctcaa	acccttgcca	tggatgocgt	gcgcactttt	gaaggcgtcg	3240
gtatatatgg	tgtagagatg	tttgttttgc	aagatggtga	gaccatttta	ctcaacgaaa	3300
ttgctcctcg	gcctcacaat	tcaggctact	acaccattga	agcttgccca	acttctcagt	3360
ttgaagctca	cttacggggc	atatgtggtc	ttcctttcag	cgaatcaaac	acccaactct	3420
cgactccac	aactcatgog	ttgatggtaa	atatttttag	tactgatgat	cctgattatg	3480
tttcaaaagt	cgctaaacgt	tctctgtcca	ttcccggtgc	aactttgcat	ctttatggta	3540
aagctgaatc	tagaaagggg	cgcaagatgg	gacacgttac	catcatttct	gattcacctc	3600
aagaatgtga	acgtaggtat	cagatgcttc	ttgacgtcaa	agatcctgtc	gaatcacctg	3660
ttgttgggtat	tatcatgggt	tcggattctg	atttaagcaa	gatgaaagat	gtgcgcgtca	3720
ttttagatga	attcaagggt	ccttacgaac	ttactattgt	ttcagctcac	cgcacaccag	3780
atcgcatggt	tacttatgct	cgtaccgcag	cttcaagagg	gttgctgtgt	attattgtctg	3840
gtgctggtgg	tgcgcgtcat	ttgcctggta	tgggtgctgc	aatgacacct	cttccagtaa	3900
tcggcggttcc	tgtaaaagga	agcactcttg	acggagttga	ctctcttcac	tctattgttc	3960
agatgcctcg	aggtgtccct	gtcgccactg	ttgctatcaa	taatagccaa	aatgcccgtta	4020
ttttagcctg	togtatactt	gtacatttcc	aaccctccct	tttggtctgt	atggagagct	4080
ttatggacaa	tatgaaagag	attgttttag	aaaaggctga	taaattagaa	aaagttgggt	4140
ggaaaaatta	ttctgcatag	atggatgeta	gagtatttca	aagctattca	gctagagctg	4200
aggggatgaa	aaatcccat	gccaaggaat	tgttggcttt	gatggaagaa	aagcaaaagca	4260
acttgtcagt	cgcggtcgat	ttgacgaaga	aatccgaaat	cttagaattg	tagataaaaa	4320
ttggacccta	tgtctgtgtt	atcaagacac	atattgacgt	tgtcgaggat	ttcgaccagg	4380
atatggtaga	aaaactggtg	gccttaggta	aaaagcatcg	ttttcttctc	tttgaggatc	4440
gcaaatctgc	agacattgga	aataccgtca	agctacaata	tgcactctgt	gtgtacaaaa	4500
ttgcttcttg	ggctcatatc	acaaattgcc	atacagtgc	aggcgagggt	attatacaag	4560
gcctcaaaga	agttgggtta	cctttgggac	gtggtctctt	gcttttggct	gaaatgtctt	4620
ccaaaggctc	tttggctact	ggttcctaca	cagagaaaac	cttagaattg	tttgagaagc	4680
ataccgattt	ttgctttggc	tttatagctg	gtcgtcgatt	tcctaaccct	caaagcgact	4740
acataactat	gtcccttggt	atcggttggt	atgttaaagg	agacgggctg	ggacagcaat	4800
atogtactcc	tgaagaagtg	attgtaaact	gggttagoga	tatcatcatt	gttggtcgtg	4860
gagtctatgg	agctggtcgt	aatcctggtg	tcgaagccaa	gagatataga	gaagctgggt	4920
ggaaaggcata	tcagcaaaaga	ctttctcagc	attaaaaaaa	gactaatgta	aaattttttt	4980
ggttgggttat	tgaaaaagtc	gatgccttgt	ttgcgtttgt	tttcttaggc	gttttatgtc	5040
agaaggcatt	tagaattagt	atacaagtac	tctttggtaa	aattttatgt	agcgactaaa	5100
atattaacta	ttatagataa	acacettggg	aataaaaaag	aatttgctat	agtaatttat	5160
taaacatgct	cctacaacat	tacctctagt	tattaatagt	aatcaattac	gggttcatta	5220
gttcatagcc	catatatgga	gttccgcgtt	acataactta	cggtaaatgg	cccgctggc	5280
tgaccgcca	acgacccccg	cccattgacg	tcaataatga	cgtatgttcc	catagtaaac	5340
ccaataggga	ctttccattg	acgtcaatgg	gtggagtatt	tacggtaaac	tgcccaactg	5400
gcagtacatc	aagtgtatca	tatgccaaat	acgcccccta	ttgacgtcaa	tgacggtaaa	5460
tggcccgctc	ggcatttttg	ccagtacatg	accttatggg	actttcctac	ttggcagtac	5520
atctacgtat	tagtcatcgc	tattaccatg	gtgatgcggg	tttggcagta	catcaattgg	5580
cgtggatagc	ggtttgactc	acggggattt	ccaagtctcc	acccatttga	cgtcaattgg	5640
agtttgtttt	ggcaccaaaa	tcaacgggac	tttccaaaat	gtcgtacaaa	ctccgccccca	5700
ttgacgcaaa	tgggcggtag	gcgtgtacgg	tgggaggtct	atataagcag	atttctcttt	5760
agttctttgc	aagaaggtag	agataaagac	actttttcaa	acatgtcgat	tacaaggatg	5820
atgatgataa	gtaagaattc	gagctcgtga	cccgggggatc	ctctagagtc	gacctgcagg	5880
catgcaagct	taaataggaa	agtttcttca	acaggattac	agtgtagcta	cctacatgct	5940
gaaaaatata	gccttttaaat	cattttttata	ttataactct	gtataataga	gataagtcca	6000

ttttttaaaa	atgtttttccc	caaaccataa	aaccctatac	aagttgttct	agtaacaata	6060
catgagaaag	atgtctatgt	agctgaaaat	aaaatgacgt	cacaagacga	tctgcctcgc	6120
gcgtttcggg	gatgacgggtg	aaaacctctg	acacatgcag	ctcccggaga	cggtcacagc	6180
ttgtctgtaa	gcggatgccg	ggagcagaca	agcccgtcag	ggcgcgtcag	cggtgtgttg	6240
cggtgtcgg	ggcgcagcca	tgaccagtc	acgtagcgat	agcggagtgt	aatcgtttgt	6300
gaagagttta	cagtcttgca	gcaagtttct	caatgcttta	gagtgcctat	gtctacgatg	6360
gatgctacgt	cttccctctga	atagtctatt	aaaaatcaac	aatacctttt	tgttacaagg	6420
tgttgagtgt	cattaaaaaga	caaagtgaag	tacaagggga	ttattaagaa	attatagtgc	6480
ggcggagcaa	agtagactag	tagtccattt	tctatgcaca	gtagaaaaca	aaaagtattc	6540
aacaaaaaaa	aaaaaaaaaca	gaatacattg	caaggattag	aaagcaaaca	acccttcttt	6600
acaaggatgt	aatgaagcat	atttttatta	tcaaaaacat	tgatgatgaa	attggtatgc	6660
ttttggatac	tactattgct	ttttactcta	cgacaatgac	atttcacatt	caattggttt	6720
aaaccacgtg	gattactggc	ttactactgc	ggcatcagag	caagattgtac	tgagagtcca	6780
ccatatgcgg	tgtgaaatac	cgcacagatg	cgtaaggaga	aaataccgca	tcaggcgctc	6840
ttccgcttcc	tcgctcactg	actcgtctgc	ctcgttctgt	cggtctcggc	gagcgggtatc	6900
agctcactca	aaggcggtaa	tacgggttatc	cacagaatca	ggggataacg	caggaaagaa	6960
catgcatgtg	agcaaaaagg	cagcaaaaagg	ccaggaaccg	taaaaaggcc	gcgttgctgg	7020
cgtttttcca	taggctccgc	ccccctgacg	agcatcaca	aaatcgacgc	tcaagtcaga	7080
ggtggcgaaa	cccgacagga	ctataaagat	accaggcggt	tccccctgga	agctccctcg	7140
tgcgctctcc	tgttccgacc	ctgccgctta	ccggatacct	gtccgccttt	ctcccttcgg	7200
gaagcgtggc	gctttctcat	agctcacgct	gtaggtatct	cagttcgggtg	taggtcgctc	7260
gctccaagct	gggctgtgtg	cacgaacccc	ccgttcagcc	cgaccgctgc	gccttatccg	7320
gtaactatcg	tcttgagtc	aaccgggtaa	gacacgactt	atcgccactg	gcagcagcca	7380
ctggttaacag	gattagcaga	gcgaggtatg	taggcgggtgc	tacagagttc	ttgaagtggg	7440
ggcctaacta	cggtctacact	agaaggacag	tatttggtat	ctgcgctctg	ctgaagccag	7500
ttaccttcgg	aaaaagagtt	ggtagctctt	gatccggcaa	acaaaccacc	gctggtagcg	7560
gtggtttttt	tgtttgcaag	cagcagatta	cgcgagaaa	aaaaggatct	caagaagatc	7620
ctttgatctt	ttctacgggg	tctgacgctc	agtggaaacga	aaactcacgt	taagggaattt	7680
tggtcatgag	attatcaaaa	aggatcttca	cctagatcct	tttaaattaa	aaatgaagtt	7740
ttaaatcaat	ctaaagtata	tatgagtaaa	cttggctctga	cagttacca	tgcttaattca	7800
gtgaggcacc	tatctcagcg	atctgtctat	ttcgtttcatc	catagttgcc	tgactccccg	7860
tcgtgtagat	aactacgata	cgggagggtct	taccatctgg	ccccagtgtc	gcaatgatac	7920
cgcgagaccc	acgctcaccg	gctccagatt	tatcagcaat	aaaccagcca	gcgggaaggg	7980
ccgagcgcag	aagtggctct	gcaactttat	ccgctctcat	ccagtctatt	aattgttgcc	8040
gggaagctag	agtaagtagt	tcgccagtta	atagtttgcg	caacgttggt	gccattgctg	8100
caggcatcgt	ggtgtcacgc	tcgtcgtttg	gtatggcttc	attcagctcc	ggttcccaac	8160
gatcaaggcg	agttacatga	tcccccatgt	tgtgcaaaaa	agcggttagc	tccttcggtc	8220
ctccgatcgt	tgtcagaagt	aagttggccg	cagtgttatc	actcatgggt	atggcagcac	8280
tgcataattc	tcttactgtc	atgccatccg	taagatgctt	ttctgtgact	ggtgagtact	8340
caaccaagtc	attctgagaa	tagtgtatgc	ggcgaccgag	ttgctcttgc	ccggcgctca	8400
cacgggataa	taccgcgcca	catagcagaa	ctttaaaagt	gctcatcatt	ggaaaacggt	8460
cttcggggcg	aaaactctca	aggatcttac	cgctgttgag	atccagttcg	atgtaacca	8520
ctcgtgcacc	caactgatct	tcagcatctt	ttactttcac	cagcgtttct	gggtgagcaa	8580
aaacaggaag	gcaaaaatgcc	gcaaaaaagg	gaataagggc	gacacggaaa	tgttgataac	8640
tcatactctt	cctttttcaa	tattattgaa	gcatttatca	gggttattgt	ctcatgagcg	8700
gatacatatt	tgaatgtatt	tagaaaaata	aacaaatagg	ggttcgcgcg	acatttcccc	8760
gaaaagtgcc	acctgacgtc	taagaaacca	ttattatcat	gacattaacc	tataaaaaata	8820
ggcgtatcac	gaggcccttt	cgtcttcaa				8849

<210> 36

<211> 31

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: AniPYC-F

<400> 36

gacactttt caaacatggc tgctccccgc c 31

10 <210> 37

<211> 36

<212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: AniPYC-R
 <400> 37
 5 atcatccttg taatcggcct tgacgatctt gcagac 36
 <210> 38
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: BbrPYC-F
 <400> 38
 gacacttttt caaacatgaa aaagagaaaa atcaatcgcc tactg
 <210> 39
 15 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: BbrPYC-R
 20 <400> 39
 atcatccttg taatcctcca ttcaatgag cagatcacca 40
 <210> 40
 <211> 44
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: DhaPYC-F
 <400> 40
 gacacttttt caaacatgag tgacggtaat gaacataaga tcaa
 30 <210> 41
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Descripción de la secuencia artificial: DhaPYC-R
 <400> 41
 atcatccttg taatctttaa caacacttgc aatcaaatcg ttagc
 <210> 42
 <211> 40
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: KlaPYC-F
 <400> 42
 45 gacacttttt caaacatgtc atctcaacta gctggattgc 40
 <210> 43
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: KlaPYC-R
 <400> 43
 atcatccttg taatcttcct tagctggagc ttctcc 37
 <210> 44
 55 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: LthPYC-F
 60 <400> 44
 gacacttttt caaacatgtc caaactggca ggactg 36
 <210> 45
 <211> 39
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: LthPYC-R
 <400> 45
 atcatccttg taatctctt ttggtgggac agattcctc 39
 5 <210> 46
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: LeiPYC-F
 <400> 46
 gacactttt caaacatgac atcaattgct tcatcaaaca ctc 43
 <210> 47
 <211> 47
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: LeiPYC-R
 <400> 47
 20 atcatccttg taatcatgtt tcaaaatact ggtgatcaaa tcatttg 47
 <210> 48
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: ScePYC-F
 <400> 48
 gacactttt caaacatgtc gcaaagaaaa ttcgccg 37
 <210> 49
 30 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: ScePYC-R
 35 <400> 49
 atcatccttg taatctgcct tagtttaac aggaacttg 40
 <210> 50
 <211> 54
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: CorPYC-F
 <400> 50
 cactttca aacatgattt ttataaatc atcatcaatt tctacaat ctcc
 45 <210> 51
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 50 <223> Descripción de la secuencia artificial: CorPYC-R
 <400> 51
 atcatccttg taatcggtt tcaaaatact ggtgattaaa tcattag 47
 <210> 52
 <211> 40
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: CtrPYC-F
 <400> 52
 60 cactttca aacatgtctg taccagtcca aaaagctaac 40
 <210> 53
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 65 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: CtrPYC-R
 <400> 53
 atcatccttg taatcatggt gaataatggt agtaatcaaa tcattagcat c 51
 <210> 54
 5 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: NcaPYC-F
 10 <400> 54
 cactttca aacatgtcca taaacaaaaa actaaacggc c 41
 <210> 55
 <211> 42
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: NcaPYC-R
 <400> 55
 atcatccttg taatcagatg gaggcgtaga ttcttctaaa ag 42
 20 <210> 56
 <211> 44
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Descripción de la secuencia artificial: NdaPYC-F
 <400> 56
 cactttca aacatgtcga acaaaaaatt caatggtatc agag 44
 <210> 57
 <211> 41
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: NdaPYC-R
 <400> 57
 35 atcatccttg taatctgctt ctccggaat ttcagtttct t 41
 <210> 58
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: SkuPYC-F
 <400> 58
 cactttca aacatgtcgc aaaagaaatt cgctgg 36
 <210> 59
 45 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: SkuPYC-R
 50 <400> 59
 atcatccttg taatctgctt tagtttcagc tggaaactga t 41
 <210> 60
 <211> 41
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: SpoPYC-F
 <400> 60
 cactttca aacatgactt ctaaataatga tgcgtgttg c 41
 60 <210> 61
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 65 <223> Descripción de la secuencia artificial: SpoPYC-R

<400> 61
 atcatccttg taatcctcgt gttcaagaac agcacaca 38
 <210> 62
 <211> 45
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: TblPYC-F
 <400> 62
 10 cactttca aacatgacaa ataagaaatt ctctgggtcta agaga 45
 <210> 63
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: TblPYC-R
 <400> 63
 atcatccttg taatcttttg gtgggtcttg atcttctaata gtg 43
 <210> 64
 20 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: TdePYC-F
 25 <400> 64
 cactttca aacatgtcca agaacaagag gtttgct 37
 <210> 65
 <211> 36
 <212> ADN
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: TdePYC-R
 <400> 65
 atcatccttg taatcgtttt cagctgggac agcctc 36
 35 <210> 66
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <223> Descripción de la secuencia artificial: ZroPYC-F
 <400> 66
 cactttttca aacatgagta ccaagaagtt ctctctgtgtct 39
 <210> 67
 <211> 35
 45 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: ZroPYC-R
 <400> 67
 50 atcatccttg taatcattct cctttgggtgg gacgg 35
 <210> 68
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: AfuMDH-F
 <400> 68
 actttcaa acatgaaact cggttttgtt ggtgc 35
 <210> 69
 60 <211> 45
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: AfuMDH-R
 65 <400> 69

atcatcatcatca tccttgaat catatccgag ttctcaagc ctctc 45
 <210> 70
 <211> 32
 <212> ADN
 5 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: CtiMDH-F
 <400> 70
 actttcaa acatgaaagc acctgttcgc gt 32
 10 <210> 71
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> Descripción de la secuencia artificial: CtiMDH-R
 <400> 71
 atcatcatca tccttgaat cgggcagaag gtctgccacg 40
 <210> 72
 <211> 32
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: DacMDH-F
 <400> 72
 25 actttcaa acatgagcaa gaagcccgtt cg 32
 <210> 73
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: DacMDH-R
 <400> 73
 atcatcatca tccttgaat ccagcagggtg ctgacgcc 39
 <210> 74
 35 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: HeiMDH-F
 40 <400> 74
 actttcaa acatgaaaga ccccgctccgtcgt atagc 35
 <210> 75
 <211> 40
 <212> ADN
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: HeiMDH-R
 <400> 75
 atcatcatca tccttgaat cgccaagcag atgctcgacg 40
 50 <210> 76
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 55 <223> Descripción de la secuencia artificial: SpuMDH-F
 <400> 76
 actttcaa acatgaaagt tgctgtactt ggtgc 35
 <210> 77
 <211> 46
 60 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: SpuMDH-R
 <400> 77
 65 atcatcatca tccttgaat cttaacgaa atcaacgcct agtttg 46

<210> 78
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: UF para el fragmento eliminado mae2
 <400> 78
 aggctttgat agccactggt 20
 <210> 79
 10 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: UR para el fragmento eliminado mae2
 15 <400> 79
 tgggatttgt agctaagctt taaaataaaa ggctttatac 40
 <210> 80
 <211> 39
 <212> ADN
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: OF para el fragmento eliminado mae2
 <400> 80
 ttctgaata tcacaagctt aggtcgactg ggctaatacg 39
 25 <210> 81
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de la secuencia artificial: OR para el fragmento eliminado mae2
 <400> 81
 taaaataaaa ggctttatac aggcatttca aaactcaag 40
 <210> 82
 <211> 40
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: DF para el fragmento eliminado mae2
 <400> 82
 40 ctgaagttt gaaaatgcct gtataaagcc tttatttta 40
 <210> 83
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: DR para el fragmento eliminado mae2
 <400> 83
 ttcatcaat acataacggt ttacggt 27
 <210> 84
 50 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: FF para el fragmento eliminado mae2
 55 <400> 84
 attcgtgaaa tgagcaagca 20
 <210> 85
 <211> 25
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: FR para el fragmento eliminado mae2
 <400> 85
 tgcgatttac tattgtttg ttca 25
 65 <210> 86

<211> 24
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Descripción de la secuencia artificial: UF para el fragmento eliminado fum1
 <400> 86
 ctcaagtaat gggcaatcat gccca 24
 <210> 87
 <211> 40
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: UR para el fragmento eliminado fum1
 <400> 87
 15 tgggatttgt agctaagctt agagtggtaa aaaattatac 40
 <210> 88
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: OF para el fragmento eliminado fum1
 <400> 88
 ttctgaata tcacaagctt aataaaatac acaaaactgt 40
 <210> 89
 25 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: OR para el fragmento eliminado fum1
 30 <400> 89
 agagtggtaa aaaattatac agccatgtgg gttattttaa 40
 <210> 90
 <211> 40
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: DF para el fragmento eliminado fum1
 <400> 90
 ttaaataaac ccacatggct gtataatttt ttaccactct 40
 40 <210> 91
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Descripción de la secuencia artificial: DR para el fragmento eliminado fum1
 <400> 91
 gagcaaccga atatcaagga aatacaca 28
 <210> 92
 <211> 23
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: FF para el fragmento eliminado fum1
 <400> 92
 55 aggcgaattg atccttctg cta 23
 <210> 93
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: FR para el fragmento eliminado fum1
 <400> 93
 tggtgaagcct ggtatgagtt ctatactat 29
 <210> 94
 65 <211> 544

<212> PRT
<213> *Candida glabrata*
<220>
<223> CgIPCK
<400> 94

5 <400> 94

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

Ala	Asp	Pro	His	Arg	Leu	Leu	Ile	Gly	Asp	Asp	Glu	His	Cys	Trp	Ser		
			260					265					270				
Asp	Glu	Gly	Val	Phe	Asn	Ile	Glu	Gly	Gly	Cys	Tyr	Ala	Lys	Cys	Ile		
		275					280					285					
Asn	Leu	Ser	Arg	Glu	Lys	Glu	Pro	Glu	Ile	Phe	Asp	Ala	Ile	Arg	Phe		
	290					295					300						
Gly	Ser	Val	Leu	Glu	Asn	Val	Ile	Tyr	Asp	Ser	Glu	Ser	His	Glu	Val		
305					310					315					320		
Asp	Tyr	Asp	Asp	Ser	Ser	Ile	Thr	Glu	Asn	Thr	Arg	Cys	Ala	Tyr	Pro		
				325					330						335		
Ile	Asp	Phe	Ile	Pro	Ser	Ala	Lys	Ile	Pro	Cys	Leu	Ala	Pro	Ala	His		
			340					345					350				
Pro	Lys	Asn	Ile	Ile	Leu	Leu	Thr	Cys	Asp	Ala	Ser	Gly	Val	Leu	Pro		
		355					360					365					
Pro	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Val	Met	Tyr	His	Phe	Ile	Ser		
	370					375					380						
Gly	Tyr	Thr	Ser	Lys	Met	Ala	Gly	Thr	Glu	Gln	Gly	Val	Thr	Glu	Pro		
385					390					395					400		
Glu	Pro	Thr	Phe	Ser	Ser	Cys	Phe	Gly	Gln	Pro	Phe	Leu	Ser	Leu	His		
			405					410							415		
Pro	Met	Arg	Tyr	Ala	Thr	Met	Leu	Ala	Glu	Lys	Met	His	Glu	His	Ser		
			420					425					430				
Ala	Asn	Ala	Trp	Leu	Ile	Asn	Thr	Gly	Trp	Thr	Gly	Ser	Ser	Tyr	Val		
		435					440					445					
Ser	Gly	Gly	Lys	Arg	Cys	Ala	Leu	Lys	Tyr	Thr	Arg	Ala	Ile	Leu	Asp		
	450					455					460						
Ala	Ile	His	Asp	Gly	Ser	Leu	Ala	Lys	Ala	Glu	Phe	Glu	Ser	Leu	Pro		
465					470					475					480		
Ile	Phe	Asn	Leu	Gln	Val	Pro	Lys	Ala	Val	Glu	Gly	Val	Pro	Ser	Glu		
			485						490						495		
Leu	Leu	Asn	Pro	Ala	Arg	Asn	Trp	Ser	Glu	Gly	Glu	Ala	Lys	Tyr	Gln		
		500					505						510				
Ser	Ala	Val	Ser	Lys	Leu	Ala	Gly	Leu	Phe	Val	Glu	Asn	Phe	Lys	Thr		
		515					520					525					
Tyr	Gln	Asp	Lys	Ala	Thr	Ser	Asp	Val	Leu	Ala	Ala	Gly	Pro	Gln	Leu		
	530					535						540					

<210> 95

<211> 539

<212> PRT

5 <213> *Citrobacter koseri*

<220>

<223> CkoPCK

<400> 95

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

130		135		140
His Phe Val Lys Asn Met Phe Ile Arg Pro Ala Asp Glu Glu Leu Val				
145		150		155
Asp Phe Lys Pro Asp Phe Ile Val Met Asn Gly Ala Lys Cys Thr Asn				
	165		170	
Pro Gln Trp Lys Glu Gln Gly Leu Asn Ser Glu Asn Phe Val Ala Phe				
	180		185	
Asn Leu Thr Glu Arg Ile Gln Leu Ile Gly Gly Thr Trp Tyr Gly Gly				
	195		200	
Glu Met Lys Lys Gly Met Phe Ser Val Met Asn Tyr Leu Leu Pro Leu				
	210		215	
Lys Gly Ile Ala Ser Met His Cys Ser Ala Asn Val Gly Glu Lys Gly				
225		230		235
Asp Val Ala Val Phe Phe Gly Leu Ser Gly Thr Gly Lys Thr Thr Leu				
	245		250	
Ser Thr Asp Pro Lys Arg Arg Leu Ile Gly Asp Asp Glu His Gly Trp				
	260		265	
Asp Asp Asp Gly Val Phe Asn Phe Glu Gly Gly Cys Tyr Ala Lys Thr				
	275		280	
Ile Lys Leu Ser Lys Glu Ala Glu Pro Glu Ile Tyr Asn Ala Ile Arg				
	290		295	
Arg Asp Ala Leu Leu Glu Asn Val Thr Val Arg Glu Asp Gly Ser Ile				
305		310		315
Asp Phe Asp Asp Gly Ser Lys Thr Glu Asn Thr Arg Val Ser Tyr Pro				
	325		330	
Ile Tyr His Ile Asp Asn Ile Val Lys Pro Val Ser Lys Ala Gly His				
	340		345	
Ala Thr Lys Val Ile Phe Leu Thr Ala Asp Ala Phe Gly Val Leu Pro				
	355		360	
Pro Val Ser Arg Leu Thr Ala Asp Gln Thr Gln Tyr His Phe Leu Ser				
	370		375	
Gly Phe Thr Ala Lys Leu Ala Gly Thr Glu Arg Gly Val Thr Glu Pro				
385		390		395
Thr Pro Thr Phe Ser Ala Cys Phe Gly Ala Ala Phe Leu Ser Leu His				
	405		410	
Pro Thr Gln Tyr Ala Glu Val Leu Val Lys Arg Met Gln Ala Ser Gly				
	420		425	
Ala Gln Ala Tyr Leu Val Asn Thr Gly Trp Asn Gly Thr Gly Lys Arg				
	435		440	
Ile Ser Ile Lys Asp Thr Arg Ala Ile Ile Asp Ala Ile Leu Asn Gly				
	450		455	
Ser Leu Asp Asn Ala Glu Thr Phe Asn Leu Pro Met Phe Asp Leu Ala				
465		470		475
Ile Pro Thr Glu Leu Pro Gly Val Glu Thr Arg Ile Leu Asp Pro Arg				
	485		490	
Asn Thr Tyr Ala Ser Pro Glu Gln Trp Gln Glu Lys Ala Thr Ala Leu				
	500		505	
Ala Lys Leu Phe Val Glu Asn Phe Glu Lys Tyr Thr Asp Thr Pro Ala				
	515		520	
Gly Glu Ala Leu Val Ser Ala Gly Pro Lys Leu				
	530		535	

<210> 96

<211> 539

<212> PRT

5 <213> *Cronobacter sakazakii*

<220>

<223> CsaPCK

<400> 96

Met Arg Val Thr Gly Ile Thr Pro Gln Asp Leu Lys Ala Tyr Gly Ile
5 10 15

```

Asn Asp Val Gln Glu Val Val Tyr Asn Pro Asp Tyr Asp Thr Leu Tyr
      20      25      30
Arg Glu Glu Leu Asp Pro Ser Leu Glu Gly Tyr Glu Arg Gly Val Leu
      35      40      45
Thr Asp Leu Gly Ala Val Ala Val Asp Thr Gly Ile Phe Thr Gly Arg
      50      55      60
Ser Pro Lys Asp Lys Tyr Ile Val Arg Asp Asp Thr Thr Arg Asp Thr
      65      70      75      80
Leu Trp Trp Ser Asp Asn Gly Lys Gly Lys Asn Asp Asn Lys Pro Leu
      85      90      95
Thr Pro Glu Thr Trp Gln His Leu Lys Gly Leu Val Thr Gln Gln Leu
      100      105      110
Ser Gly Lys Arg Leu Phe Ile Ile Asp Ala Phe Cys Gly Ala Asn Pro
      115      120      125
Asp Ser Arg Leu Ser Val Arg Phe Ile Thr Glu Val Ala Trp Gln Ala
      130      135      140
His Phe Val Lys Asn Met Phe Ile Arg Pro Ser Glu Asp Glu Leu Glu
      145      150      155      160
Gly Phe Glu Pro Asp Phe Ile Val Met Asn Gly Ala Lys Cys Thr Asn
      165      170      175
Pro Asp Trp Gln Glu Gln Gly Leu Asn Ser Glu Asn Phe Val Ala Phe
      180      185      190
Asn Leu Thr Glu Arg Met Gln Leu Ile Gly Gly Thr Trp Tyr Gly Gly
      195      200      205
Glu Met Lys Lys Gly Met Phe Ser Ile Met Asn Tyr Leu Leu Pro Leu
      210      215      220
Lys Gly Ile Ala Ser Met His Cys Ser Ala Asn Val Gly Glu Lys Gly
      225      230      235      240
Asp Val Ala Val Phe Phe Gly Leu Ser Gly Thr Gly Lys Thr Thr Leu
      245      250      255
Ser Thr Asp Pro Lys Arg Arg Leu Ile Gly Asp Asp Glu His Gly Trp
      260      265      270
Asp Asp Asp Gly Val Phe Asn Phe Glu Gly Gly Cys Tyr Ala Ly sThr
      275      280      285
Ile Arg Leu Ser Glu Glu Ala Glu Pro Asp Ile Tyr His Ala Ile Arg
      290      295      300
Arg Asp Ala Leu Leu Glu Asn Val Thr Val Arg Asp Asp Gly Ser Ile
      305      310      315      320
Asp Phe Asp Asp Ala Ser Lys Thr Glu Asn Thr Arg Val Ser Tyr Pro
      325      330      335
Ile Tyr His Ile Asp Asn Ile Val Lys Pro Val Ser Lys Ala Gly His
      340      345      350
Ala Thr Lys Val Ile Phe Leu Thr Ala Asp Ala Phe Gly Val Leu Pro
      355      360      365
Pro Val Ser Arg Leu Thr Ala Ser Gln Thr Gln Tyr His Phe Leu Ser
      370      375      380
Gly Phe Thr Ala Lys Leu Ala Gly Thr Glu Arg Gly Val Thr Glu Pro
      385      390      395      400
Thr Pro Thr Phe Ser Ala Cys Phe Gly Ala Ala Phe Leu Met Leu His
      405      410      415
Pro Thr Gln Tyr Ser Glu Val Leu Val Lys Arg Met Gln Ala Ala Gly
      420      425      430
Ala Gln Ala Tyr Leu Val Asn Thr Gly Trp Asn Gly Thr Gly Lys Arg
      435      440      445
Ile Ser Ile Lys Asp Thr Arg Ala Ile Ile Asp Ala Ile Leu Asn Gly
      450      455      460
Ser Leu Asp Asp Ala Glu Thr Phe Thr Leu Pro Leu Phe Asn Leu Ala
      465      470      475      480
Ile Pro Thr Ser Leu Pro Gly Val Asp Glu Arg Ile Leu Asp Pro Arg
      485      490      495
Asn Thr Tyr Ala Ser Pro Glu Gln Trp Gln Glu Lys Ala Gln Gln Leu

```

ES 2 811 926 T3

			500					505						510			
Ala	Gln	Leu	Phe	Ile	Ser	Asn	Phe	Glu	Lys	Tyr	Thr	Asp	Thr	Pro	Ala		
		515					520					525					
Gly	Ala	Ala	Leu	Val	Ser	Ala	Gly	Pro	Gln	Arg							
	530					535											

<210> 97

<211> 553

<212> PRT

5 <213> *Debaryomyces hansenii*

<220>

<223> DhaPCK

<400> 97

Met	Thr	Pro	Pro	Thr	Ala	Val	Glu	Ser	Ser	Ile	Asn	Phe	Gly	Gly	His	
				5					10					15		
Pro	Thr	Ile	Lys	Ser	Thr	Ala	Glu	Pro	Val	Val	Lys	Gln	Leu	Ser	Leu	
			20					25					30			
Ala	Asp	Asp	Thr	Val	Ile	Arg	His	Asn	Ala	Pro	Pro	Pro	Thr	Leu	Tyr	
		35					40					45				
Glu	Asp	Gly	Leu	Leu	Glu	Lys	Gly	Thr	Val	Ile	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	
	50					55					60					
Leu	Met	Ala	Tyr	Ser	Gly	Lys	Lys	Thr	Gly	Arg	Ser	Pro	Lys	Asp	Lys	
65					70					75					80	
Arg	Ile	Val	Asp	Glu	Glu	Thr	Ser	Thr	Gln	Asn	Ile	Trp	Trp	Gly	Pro	
				85					90					95		
Val	Asn	Lys	Gln	Val	Asp	Glu	Leu	Thr	Trp	Lys	Ile	Ser	Arg	Ser	Arg	
			100					105					110			
Ala	Leu	Asp	Tyr	Leu	Arg	Thr	Arg	Glu	Lys	Leu	Phe	Val	Val	Asp	Ala	
		115					120					125				
Tyr	Ala	Gly	Trp	Asp	Pro	Arg	Tyr	Arg	Leu	Lys	Ile	Arg	Val	Ile	Cys	
	130					135					140					
Ala	Arg	Ala	Tyr	His	Ala	Leu	Phe	Met	Thr	Asn	Met	Leu	Ile	Arg	Pro	
145					150					155					160	
Thr	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Asn	Phe	Gly	Glu	Pro	Asp	Phe	Thr	Ile	Tyr	
				165				170						175		
Asn	Ala	Gly	Gln	Phe	Pro	Ala	Asn	Val	His	Thr	Lys	Gly	Met	Thr	Ser	
			180					185					190			
Ser	Thr	Ser	Val	Glu	Ile	Asn	Phe	Lys	Asp	Met	Glu	Met	Val	Ile	Leu	
		195					200					205				
Gly	Thr	Glu	Tyr	Ala	Gly	Glu	Met	Lys	Lys	Gly	Ile	Phe	Thr	Val	Met	
	210					215					220					
Phe	Tyr	Leu	Met	Pro	Ile	Lys	His	Lys	Ile	Leu	Thr	Leu	His	Ser	Ser	
225					230					235					240	
Ala	Asn	Gln	Gly	Glu	Gln	Lys	Gly	Asp	Val	Thr	Leu	Phe	Phe	Gly	Leu	
				245					250					255		
Ser	Gly	Thr	Gly	Lys	Thr	Thr	Leu	Ser	Ala	Asp	Pro	Asn	Arg	Lys	Leu	
			260					265					270			
Ile	Gly	Asp	Asp	Glu	His	Cys	Trp	Ser	Asp	Asn	Gly	Val	Phe	Asn	Ile	
	275						280					285				
Glu	Gly	Gly	Cys	Tyr	Ala	Lys	Cys	Leu	Asp	Leu	Ser	Ala	Glu	Lys	Glu	
	290					295					300					
Pro	Glu	Ile	Phe	Asn	Ser	Ile	Lys	Phe	Gly	Ala	Ile	Leu	Glu	Asn	Val	
305					310					315					320	
Val	Tyr	Asp	Gln	Asn	Ser	Lys	Val	Val	Asp	Tyr	Ala	Asp	Ser	Thr	Ile	
				325					330					335		
Thr	Glu	Asn	Thr	Arg	Cys	Ala	Tyr	Pro	Ile	Asp	Phe	Ile	Pro	Ser	Ala	
			340					345					350			
Lys	Ile	Pro	Cys	Leu	Ala	Asp	Glu	His	Pro	Thr	Asn	Ile	Val	Leu	Leu	
	355					360						365				
Thr	Cys	Asp	Ala	Ser	Gly	Val	Leu	Pro	Pro	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Asn	
	370					375						380				

Ala	Gln	Val	Met	Tyr	His	Phe	Ile	Ser	Gly	Tyr	Thr	Ser	Lys	Met	Ala	385		390		395		400
Gly	Thr	Glu	Glu	Gly	Val	Thr	Glu	Pro	Gln	Ala	Thr	Phe	Ser	Ala	Cys		405		410		415	
Phe	Gly	Gln	Pro	Phe	Leu	Val	Leu	His	Pro	Met	Lys	Tyr	Ala	Gln	Gln		420		425		430	
Leu	Ser	Asp	Lys	Ile	Ser	Lys	His	Asn	Ala	Asn	Ala	Trp	Leu	Leu	Asn		435		440		445	
Thr	Gly	Trp	Val	Gly	Ala	Ser	Ala	Ala	Gln	Gly	Gly	Asn	Arg	Cys	Ser		450		455		460	
Leu	Lys	Tyr	Thr	Arg	Ala	Ile	Leu	Asp	Ala	Ile	His	Ser	Gly	Glu	Leu	465		470		475		480
Ser	Lys	Val	Glu	Phe	Glu	Asn	Phe	Pro	Thr	Phe	Asn	Leu	Asn	Val	Pro		485		490		495	
Lys	Ser	Cys	Pro	Asn	Val	Pro	Ser	Glu	Ile	Leu	Asn	Pro	Thr	Lys	Ala		500		505		510	
Trp	Thr	Glu	Gly	Asp	Ala	Ser	Phe	Gln	Lys	Glu	Ile	Lys	Ser	Leu	Ala		515		520		525	
Gly	Lys	Phe	Ala	Glu	Asn	Phe	Thr	Lys	Tyr	Ala	Asp	Gln	Ala	Thr	Thr		530		535		540	
Glu	Val	Lys	Ala	Ala	Gly	Pro	Asp	Ala								545		550				

<210> 98

<211> 540

<212> PRT

5 <213> *Escherichia fergusonii*

<220>

<223> EfePCK

<400> 98

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

				245					250					255			
Leu	Ser	Thr	Asp	Pro	Lys	Arg	Arg	Leu	Ile	Gly	Asp	Asp	Glu	His	Gly		
			260					265					270				
Trp	Asp	Asp	Asp	Gly	Val	Phe	Asn	Phe	Glu	Gly	Gly	Cys	Tyr	Ala	Lys		
		275					280					285					
Thr	Ile	Lys	Leu	Ser	Lys	Glu	Ala	Glu	Pro	Glu	Ile	Tyr	Asn	Ala	Ile		
		290				295					300						
Arg	Arg	Asp	Ala	Leu	Leu	Glu	Asn	Val	Thr	Val	Arg	Glu	Asp	Gly	Thr		
305					310					315					320		
Ile	Asp	Phe	Asp	Asp	Gly	Ser	Lys	Thr	Glu	Asn	Thr	Arg	Val	Ser	Tyr		
			325						330					335			
Pro	Ile	Tyr	His	Ile	Asp	Asn	Ile	Val	Lys	Pro	Val	Ser	Lys	Ala	Gly		
			340					345					350				
His	Ala	Thr	Lys	Val	Ile	Phe	Leu	Thr	Ala	Asp	Ala	Phe	Gly	Val	Leu		
		355					360					365					
Pro	Pro	Val	Ser	Arg	Leu	Thr	Ala	Asp	Gln	Thr	Gln	Tyr	His	Phe	Leu		
		370				375					380						
Ser	Gly	Phe	Thr	Ala	Lys	Leu	Ala	Gly	Thr	Glu	Arg	Gly	Ile	Thr	Glu		
385					390					395					400		
Pro	Thr	Pro	Thr	Phe	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Ala	Ala	Phe	Leu	Ser	Leu		
				405				410					415				
His	Pro	Thr	Gln	Tyr	Ala	Glu	Val	Leu	Val	Lys	Arg	Met	Gln	Ala	Ala		
			420					425					430				
Gly	Ala	Gln	Ala	Tyr	Leu	Val	Asn	Thr	Gly	Trp	Asn	Gly	Thr	Gly	Lys		
		435					440					445					
Arg	Ile	Ser	Ile	Lys	Asp	Thr	Arg	Ala	Ile	Ile	Asp	Ala	Ile	Leu	Asn		
		450				455					460						
Gly	Ser	Leu	Asp	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Leu	Pro	Met	Phe	Asn	Leu		
465				470						475					480		
Ala	Ile	Pro	Thr	Glu	Leu	Pro	Gly	Val	Asp	Thr	Glu	Ile	Leu	Asp	Pro		
				485				490					495				
Arg	Asn	Thr	Tyr	Ala	Ser	Pro	Glu	Gln	Trp	Gln	Glu	Lys	Ala	Glu	Thr		
			500					505					510				
Leu	Ala	Lys	Leu	Phe	Ile	Asp	Asn	Phe	Asp	Lys	Tyr	Thr	Asp	Thr	Pro		
		515					520					525					
Ala	Gly	Ala	Ala	Leu	Val	Glu	Ala	Gly	Pro	Lys	Met						
		530				535					540						

<210> 99

<211> 539

<212> PRT

5 <213> *Edwardsiella tarda*

<220>

<223> EtaPCK

<400> 99

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

Asp	Ser	Arg	Leu	Lys	Val	Arg	Phe	Ile	Thr	Glu	Val	Ala	Trp	Gln	Ala		
130						135					140						
His	Phe	Val	Lys	Asn	Met	Phe	Ile	Arg	Pro	Thr	Glu	Asp	Glu	Leu	Ala		
145				150						155					160		
Gly	Phe	Glu	Pro	Asp	Phe	Ile	Val	Met	Asn	Gly	Ala	Lys	Cys	Thr	Asn		
				165					170					175			
Pro	Gln	Trp	Gln	Glu	Gln	Gly	Leu	Asn	Ser	Glu	Asn	Phe	Val	Ala	Phe		
			180					185					190				
Asn	Leu	Thr	Glu	Arg	Ile	Gln	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Trp	Tyr	Gly	Gly		
	195						200					205					
Glu	Met	Lys	Lys	Gly	Met	Phe	Ser	Ile	Met	Asn	Tyr	Leu	Leu	Pro	Leu		
	210					215					220						
Lys	Gly	Ile	Ala	Ser	Met	His	Cys	Ser	Ala	Asn	Val	Gly	Glu	Lys	Gly		
225					230					235					240		
Asp	Val	Ala	Val	Phe	Phe	Gly	Leu	Ser	Gly	Thr	Gly	Lys	Thr	Thr	Leu		
				245					250					255			
Ser	Thr	Asp	Pro	Lys	Arg	Arg	Leu	Ile	Gly	Asp	Asp	Glu	His	Gly	Trp		
			260					265					270				
Asp	Asp	Asp	Gly	Val	Phe	Asn	Phe	Glu	Gly	Gly	Cys	Tyr	Ala	Lys	Thr		
	275					280						285					
Ile	Lys	Leu	Ser	Ala	Glu	Ala	Glu	Pro	Asp	Ile	Tyr	His	Ala	Ile	Thr		
	290					295					300						
Arg	Asp	Ala	Leu	Leu	Glu	Asn	Val	Thr	Val	Arg	Ala	Asp	Gly	Ser	Val		
305					310					315					320		
Asp	Phe	Asp	Asp	Gly	Ser	Lys	Thr	Glu	Asn	Thr	Arg	Val	Ser	Tyr	Pro		
				325					330					335			
Ile	Tyr	His	Ile	Lys	Asn	Ile	Val	Lys	Pro	Val	Ser	Lys	Ala	Gly	His		
		340						345					350				
Ala	Lys	Lys	Val	Ile	Phe	Leu	Thr	Ala	Asp	Ala	Phe	Gly	Val	Leu	Pro		
		355						360				365					
Pro	Val	Ser	Arg	Leu	Thr	Ala	Asp	Gln	Thr	Gln	Tyr	His	Phe	Leu	Ser		
		370				375					380						
Gly	Phe	Thr	Ala	Lys	Leu	Ala	Gly	Thr	Glu	Arg	Gly	Val	Thr	Glu	Pro		
385					390					395					400		
Thr	Pro	Thr	Phe	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Ala	Ala	Phe	Leu	Thr	Leu	His		
				405					410					415			
Pro	Thr	Gln	Tyr	Ala	Glu	Val	Leu	Val	Lys	Arg	Met	Gln	Ala	Ala	Gly		
			420					425					430				
Ala	Gln	Ala	Tyr	Leu	Val	Asn	Thr	Gly	Trp	Asn	Gly	Ser	Gly	Lys	Arg		
		435					440					445					
Ile	Ser	Ile	Lys	Asp	Thr	Arg	Ala	Ile	Ile	Asp	Ala	Ile	Leu	Asn	Gly		
	450					455					460						
Asp	Ile	Asp	Lys	Glu	Glu	Thr	Phe	Thr	Leu	Pro	Ile	Phe	Asn	Leu	Ala		
465					470					475					480		
Val	Pro	Thr	Ala	Leu	Pro	Gly	Val	Asn	Pro	Ala	Ile	Leu	Asp	Pro	Arg		
				485					490					495			
Asp	Thr	Tyr	Ala	Ser	Pro	Glu	Met	Trp	Gln	Glu	Lys	Ala	Asp	Asp	Leu		
		500						505					510				
Ala	Gln	Arg	Phe	Ile	Thr	Asn	Phe	Asp	Lys	Tyr	Thr	Asp	Thr	Pro	Ala		
		515					520					525					
Gly	Ala	Ala	Leu	Val	His	Ala	Gly	Pro	Gln	Arg							
	530					535											

<210> 100

<211> 543

<212> PRT

5 <213> *Kluyveromyces lactis*

<220>

<223> KlapCK

<400> 100

ES 2 811 926 T3

Met Ser Pro Thr Lys Thr Gln Asn Ser Ala Glu Glu Asn Ile Arg Ala

				5					10					15			
Glu	Leu	Gly	Leu	Ser	Ala	Glu	Val	Val	Thr	Ile	Arg	Arg	Asn	Ala	Pro		
			20					25					30				
Ala	Ala	Leu	Leu	Tyr	Glu	Asp	Ala	Leu	Lys	Glu	Arg	Asp	Thr	Ala	Ile		
		35					40					45					
Ser	Asn	Ala	Gly	Ala	Leu	Ile	Ala	Tyr	Ser	Gly	Asp	Lys	Thr	Gly	Arg		
	50					55					60						
Ser	Pro	Arg	Asp	Lys	Arg	Ile	Val	Glu	Glu	Glu	Thr	Ser	Lys	Asp	Asn		
65					70					75					80		
Val	Trp	Trp	Gly	Pro	Val	Asn	Lys	Pro	Cys	Ser	Glu	Arg	Thr	Trp	Glu		
				85					90					95			
Ile	Asn	Arg	Glu	Arg	Ala	Ala	Asp	Tyr	Leu	Arg	Thr	Arg	Asp	His	Ile		
		100						105					110				
Tyr	Ile	Val	Asp	Ala	Tyr	Ala	Gly	Trp	Asp	Pro	Arg	Tyr	Arg	Ile	Lys		
		115					120					125					
Val	Arg	Val	Val	Cys	Ala	Arg	Ala	Tyr	His	Ala	Leu	Phe	Met	Thr	Asn		
	130					135					140						
Met	Leu	Ile	Arg	Pro	Ser	Lys	Glu	Glu	Leu	Glu	Asn	Phe	Gly	Glu	Pro		
145					150					155					160		
Asp	Phe	Thr	Val	Trp	Asn	Ala	Gly	Gln	Phe	Pro	Ala	Asn	Thr	His	Thr		
			165						170					175			
Ser	Gly	Met	Thr	Ser	Lys	Thr	Thr	Val	Glu	Ile	Asn	Phe	Lys	Gln	Met		
		180						185					190				
Glu	Met	Val	Ile	Leu	Gly	Thr	Glu	Tyr	Ala	Gly	Glu	Met	Lys	Lys	Gly		
		195					200					205					
Ile	Phe	Thr	Val	Met	Phe	Tyr	Leu	Met	Pro	Val	Asn	His	Asn	Val	Leu		
	210					215					220						
Thr	Leu	His	Ser	Ser	Ala	Asn	Gln	Gly	Ile	Gln	Asp	Asn	Asp	Val	Thr		
225					230					235					240		
Leu	Phe	Phe	Gly	Leu	Ser	Gly	Thr	Gly	Lys	Thr	Thr	Leu	Ser	Ala	Asp		
			245						250					255			
Pro	His	Arg	Leu	Leu	Ile	Gly	Asp	Asp	Glu	His	Cys	Trp	Ser	Asp	His		
			260				265						270				
Gly	Val	Phe	Asn	Ile	Glu	Gly	Gly	Cys	Tyr	Ala	Lys	Cys	Leu	Gly	Leu		
		275					280					285					
Ser	Ala	Glu	Lys	Glu	Pro	Glu	Ile	Phe	Asn	Ala	Ile	Lys	Phe	Gly	Ser		
	290					295					300						
Val	Leu	Glu	Asn	Ile	Ile	Tyr	Asp	Pro	Asn	Thr	Arg	Glu	Val	Asp	Tyr		
305					310					315					320		
Glu	Asp	Ser	Thr	Ile	Thr	Glu	Asn	Thr	Arg	Cys	Ala	Tyr	Pro	Ile	Glu		
			325						330					335			
Tyr	Ile	Pro	Ser	Ala	Lys	Ile	Pro	Cys	Leu	Ala	Asp	His	His	Pro	Lys		
			340					345					350				
Asn	Ile	Val	Leu	Leu	Thr	Cys	Asp	Ala	Ser	Gly	Val	Leu	Pro	Pro	Val		
		355					360					365					
Ser	Lys	Leu	Thr	Pro	Asp	Gln	Val	Met	Tyr	His	Phe	Ile	Ser	Gly	Tyr		
	370					375					380						
Thr	Ser	Lys	Met	Ala	Gly	Thr	Glu	Gln	Gly	Val	Thr	Glu	Pro	Glu	Ala		
385					390					395					400		
Thr	Phe	Ser	Ser	Cys	Phe	Gly	Gln	Pro	Phe	Leu	Ser	Leu	His	Pro	Met		
			405						410					415			
Lys	Tyr	Ala	Thr	Met	Leu	Ala	Glu	Lys	Met	Ala	Glu	His	Asn	Ala	Asn		
			420					425					430				
Ala	Trp	Leu	Ile	Asn	Thr	Gly	Trp	Thr	Gly	Ser	Ser	Tyr	Val	Ala	Gly		
		435					440					445					
Gly	Lys	Arg	Cys	Pro	Leu	Lys	Tyr	Thr	Arg	Ala	Ile	Leu	Asp	Ala	Ile		
		450				455					460						
His	Asp	Gly	Ser	Leu	Ala	Lys	Glu	Glu	Tyr	Glu	Val	Leu	Pro	Ile	Phe		
465					470					475					480		
Asn	Leu	Gln	Ile	Pro	Lys	Ala	Val	Gly	Asp	Lys	Val	Pro	Ala	Ser	Leu		
				485					490					495			

Leu	Asn	Pro	Ser	Lys	Asn	Trp	Ala	Glu	Gly	Glu	Ala	Lys	Tyr	Thr	Ser
			500					505					510		
Asn	Val	Lys	Ser	Leu	Ala	Asn	Leu	Phe	Val	Glu	Asn	Phe	Lys	Thr	Tyr
		515					520					525			
Gln	Asp	Lys	Ala	Thr	Glu	Gln	Val	Leu	Ala	Ala	Gly	Pro	Gln	Leu	
	530					535					540				

<210> 101

<211> 542

<212> PRT

5 <213> *Lodderomyces elongisporus*<220>

<223> LeIPCK

<400> 101

Met	Ala	Pro	Pro	Ala	Val	Glu	Ser	Thr	Ile	Asn	Phe	Glu	Gly	His	Pro	
				5					10					15		
Ser	Ile	Lys	Thr	Thr	Val	Asp	Pro	Leu	Val	Lys	Lys	Leu	Asn	Leu	Lys	
			20					25					30			
Gly	Asp	Thr	Val	Ile	Arg	His	Asn	Ala	Pro	Pro	Pro	Thr	Leu	Tyr	Glu	
		35					40					45				
Asp	Gly	Leu	Leu	Glu	Lys	Gly	Thr	Thr	Ile	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Leu	
	50					55					60					
Met	Ala	Tyr	Ser	Gly	Glu	Lys	Thr	Gly	Arg	Ser	Pro	Lys	Asp	Lys	Arg	
65					70					75					80	
Ile	Val	Asp	Glu	Glu	Thr	Ser	Ser	Gln	His	Ile	Trp	Trp	Gly	Pro	Val	
				85					90					95		
Asn	Lys	Gln	Val	Asp	Glu	Leu	Thr	Trp	Lys	Ile	Ser	Arg	Ser	Arg	Ala	
			100					105					110			
Leu	Asp	Tyr	Leu	Arg	Thr	Arg	Glu	Lys	Leu	Phe	Val	Val	Asp	Ala	Phe	
		115					120					125				
Ala	Gly	Trp	Asp	Pro	Lys	Tyr	Arg	Ile	Lys	Val	Arg	Ile	Ile	Cys	Ala	
	130					135					140					
Arg	Ala	Tyr	His	Ala	Leu	Phe	Met	Thr	Asn	Met	Leu	Ile	Arg	Pro	Thr	
145					150					155					160	
Lys	Glu	Glu	Leu	Glu	Asn	Phe	Gly	Glu	Pro	Asp	Phe	Thr	Ile	Tyr	Asn	
				165					170					175		
Ala	Gly	Gln	Phe	Pro	Ala	Asn	Val	His	Thr	Lys	Gly	Met	Thr	Ser	Ser	
			180					185					190			
Thr	Ser	Val	Glu	Ile	Asn	Phe	Lys	Asp	Met	Glu	Met	Val	Ile	Leu	Gly	
		195					200					205				
Thr	Glu	Tyr	Ala	Gly	Glu	Met	Lys	Lys	Gly	Ile	Phe	Thr	Val	Met	Phe	
	210					215					220					
Tyr	Leu	Met	Pro	Ile	Lys	Asn	Lys	Val	Leu	Thr	Leu	His	Ser	Ser	Ala	
225					230					235					240	
Asn	Glu	Gly	Glu	Ser	Gly	Asp	Val	Thr	Leu	Phe	Phe	Gly	Leu	Ser	Gly	
				245					250					255		
Thr	Gly	Lys	Thr	Thr	Leu	Ser	Ala	Asp	Pro	Asn	Arg	Lys	Leu	Ile	Gly	
			260					265					270			
Asp	Asp	Glu	His	Cys	Trp	Ser	Asp	His	Gly	Val	Phe	Asn	Ile	Glu	Gly	
		275					280					285				
Gly	Cys	Tyr	Ala	Lys	Cys	Leu	Asp	Leu	Ser	Ala	Glu	Lys	Glu	Pro	Glu	
	290					295					300					
Ile	Phe	Asn	Ser	Ile	Arg	Phe	Gly	Ser	Val	Leu	Glu	Asn	Val	Val	Tyr	
305					310					315					320	
Asp	Pro	Ala	Thr	Lys	Val	Val	Asp	Tyr	Glu	Asp	Ser	Ser	Ile	Thr	Glu	
				325					330					335		
Asn	Thr	Arg	Cys	Ser	Tyr	Pro	Ile	Glu	Tyr	Ile	Pro	Ser	Leu	Lys	Ile	
			340					345					350			
Pro	Cys	Val	Gly	Gly	His	Pro	Lys	Asn	Ile	Val	Leu	Leu	Thr	Cys	Asp	
		355					360					365				
Ala	Ser	Gly	Val	Leu	Pro	Pro	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Pro	Ala	Gln	Val	

370						375						380					
Met	Tyr	His	Phe	Ile	Ser	Gly	Tyr	Thr	Ser	Lys	Met	Ala	Gly	Thr	Glu		
385					390					395					400		
Met	Gly	Ile	Thr	Glu	Pro	Thr	Pro	Ala	Phe	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Gln		
				405					410					415			
Pro	Phe	Leu	Val	Leu	His	Pro	Met	Lys	Tyr	Ala	Gln	Gln	Leu	Ala	Glu		
			420					425					430				
Lys	Ile	Glu	Gln	His	Lys	Ala	Asn	Ala	Tyr	Leu	Leu	Asn	Thr	Gly	Trp		
	435						440					445					
Ser	Gly	Val	Gly	Ala	Ala	Lys	Gly	Gly	Lys	Arg	Cys	Pro	Leu	Lys	Tyr		
450						455					460						
Thr	Arg	Ala	Ile	Leu	Asp	Ala	Ile	His	Ser	Gly	Glu	Leu	Asp	Ser	Ala		
465					470					475					480		
Asp	Thr	Gln	Val	Phe	Ser	Thr	Phe	Asn	Leu	His	Val	Pro	Lys	Glu	Ile		
			485					490					495				
Lys	Gly	Val	Pro	Leu	Glu	Val	Leu	His	Pro	Glu	Val	Asp	Lys	Lys	Glu		
			500					505				510					
Val	Ala	Ala	Leu	Ala	Ala	Lys	Phe	Ala	Glu	Asn	Phe	Val	Lys	Tyr	Ala		
	515					520					525						
Asp	Gln	Ala	Thr	Ala	Glu	Val	Lys	Ala	Ala	Gly	Pro	Asp	Val				
530						535					540						

<210> 102

<211> 542

<212> PRT

5 <213> *Pectobacteria carotovorum*

<220>

<223> PcaPCK

<400> 102

Thr	Gly	Lys	Thr	Thr	Leu	Ser	Ala	Asp	Pro	Asn	Arg	Lys	Leu	Ile	Gly
			260					265					270		
Asp	Asp	Glu	His	Cys	Trp	Ser	Asp	His	Gly	Val	Phe	Asn	Ile	Glu	Gly
		275					280					285			
Gly	Cys	Tyr	Ala	Lys	Cys	Leu	Asp	Leu	Ser	Ala	Glu	Lys	Glu	Pro	Glu
	290					295					300				
Ile	Phe	Asn	Ser	Ile	Arg	Phe	Gly	Ser	Val	Leu	Glu	Asn	Val	Val	Tyr
305					310					315					320
Asp	Pro	Ala	Thr	Lys	Val	Val	Asp	Tyr	Glu	Asp	Ser	Ser	Ile	Thr	Glu
				325					330					335	
Asn	Thr	Arg	Cys	Ser	Tyr	Pro	Ile	Glu	Tyr	Ile	Pro	Ser	Leu	Lys	Ile
			340					345					350		
Pro	Cys	Val	Gly	Gly	His	Pro	Lys	Asn	Ile	Val	Leu	Leu	Thr	Cys	Asp
		355					360					365			
Ala	Ser	Gly	Val	Leu	Pro	Pro	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Pro	Ala	Gln	Val
	370					375					380				
Met	Tyr	His	Phe	Ile	Ser	Gly	Tyr	Thr	Ser	Lys	Met	Ala	Gly	Thr	Glu
385					390					395					400
Met	Gly	Ile	Thr	Glu	Pro	Thr	Pro	Ala	Phe	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Gln
			405					410					415		
Pro	Phe	Leu	Val	Leu	His	Pro	Met	Lys	Tyr	Ala	Gln	Gln	Leu	Ala	Glu
			420					425					430		
Lys	Ile	Glu	Gln	His	Lys	Ala	Asn	Ala	Tyr	Leu	Leu	Asn	Thr	Gly	Trp
		435					440					445			
Ser	Gly	Val	Gly	Ala	Ala	Lys	Gly	Gly	Lys	Arg	Cys	Pro	Leu	Lys	Tyr
	450					455					460				
Thr	Arg	Ala	Ile	Leu	Asp	Ala	Ile	His	Ser	Gly	Glu	Leu	Asp	Ser	Ala
465					470					475					480
Asp	Thr	Gln	Val	Phe	Ser	Thr	Phe	Asn	Leu	His	Val	Pro	Lys	Glu	Ile
			485					490					495		
Lys	Gly	Val	Pro	Leu	Glu	Val	Leu	His	Pro	Glu	Val	Asp	Lys	Lys	Glu
			500					505				510			
Val	Ala	Ala	Leu	Ala	Ala	Lys	Phe	Ala	Glu	Asn	Phe	Val	Lys	Tyr	Ala
		515					520					525			
Asp	Gln	Ala	Thr	Ala	Glu	Val	Lys	Ala	Ala	Gly	Pro	Asp	Val		
	530					535					540				

<210> 103

<211> 543

<212> PRT

5 <213> *Photobacterium leiognathi*

<220>

<223> PlePCK

<400> 103

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

130		135		140											
Trp	Gln	Ala	His	Phe	Val	Lys	Asn	Met	Phe	Ile	Arg	Pro	Thr	Glu	Ala
145					150					155					160
Glu	Leu	Asp	Thr	Phe	Glu	Pro	Asp	Phe	Val	Ile	Met	Asn	Gly	Ser	Lys
				165						170					175
Cys	Thr	Asn	Pro	Lys	Trp	Gln	Glu	His	Gly	Met	Asn	Ser	Glu	Asn	Phe
			180					185					190		
Thr	Val	Phe	Asn	Leu	Ser	Glu	Lys	Met	Gln	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Trp
		195					200					205			
Tyr	Gly	Gly	Glu	Met	Lys	Lys	Gly	Met	Phe	Ala	Met	Met	Asn	Tyr	Phe
210						215					220				
Leu	Pro	Leu	Lys	Asp	Ile	Ala	Ser	Met	His	Cys	Ser	Ala	Asn	Met	Gly
225					230					235					240
Glu	Ala	Gly	Asp	Val	Ala	Ile	Phe	Phe	Gly	Leu	Ser	Gly	Thr	Gly	Lys
			245						250					255	
Thr	Thr	Leu	Ser	Thr	Asp	Pro	Lys	Arg	Ala	Leu	Ile	Gly	Asp	Asp	Glu
			260					265					270		
His	Gly	Trp	Asn	Asp	Asn	Gly	Val	Phe	Asn	Phe	Glu	Gly	Gly	Cys	Tyr
		275					280					285			
Ala	Lys	Thr	Ile	Asn	Leu	Ser	Lys	Glu	Ala	Glu	Pro	Asp	Ile	Tyr	Asn
290						295					300				
Ala	Ile	Arg	Arg	Asp	Ala	Leu	Leu	Glu	Asn	Val	Thr	Val	Arg	Gly	Asp
305					310					315					320
Gly	Ser	Ile	Asp	Phe	Asn	Asp	Asn	Ser	Lys	Thr	Glu	Asn	Thr	Arg	Val
			325					330					335		
Ser	Tyr	Pro	Ile	Tyr	His	Ile	Asp	Asn	Ile	Val	Lys	Pro	Val	Ser	Lys
		340					345					350			
Gly	Gly	His	Ala	Asn	Lys	Val	Ile	Phe	Leu	Ser	Ala	Asp	Ala	Phe	Gly
		355					360					365			
Val	Leu	Pro	Pro	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Thr	Lys	Tyr	His
370						375					380				
Phe	Leu	Ser	Gly	Phe	Thr	Ala	Lys	Leu	Ala	Gly	Thr	Glu	Arg	Gly	Ile
385					390					395					400
Thr	Glu	Pro	Thr	Pro	Thr	Phe	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Asn	Ala	Phe	Leu
			405						410					415	
Thr	Leu	His	Pro	Thr	Gln	Tyr	Ala	Glu	Val	Leu	Val	Lys	Arg	Met	Glu
		420						425					430		
Ala	Ala	Gly	Ala	Glu	Ala	Tyr	Leu	Val	Asn	Thr	Gly	Trp	Asn	Gly	Thr
		435					440					445			
Gly	Lys	Arg	Ile	Ser	Ile	Gln	Asp	Thr	Arg	Gly	Ile	Ile	Asp	Ala	Ile
450						455					460				
Leu	Asp	Gly	Ser	Ile	Asp	Thr	Ala	Pro	Thr	Lys	Gln	Ile	Pro	Ile	Phe
465					470					475					480
Asn	Leu	Thr	Val	Pro	Thr	Ala	Leu	Pro	Gly	Val	Asp	Pro	Glu	Ile	Leu
			485						490					495	
Asp	Pro	Arg	Asp	Thr	Tyr	Thr	Asp	Pro	Leu	Gln	Trp	Glu	Ser	Lys	Ala
		500						505					510		
Thr	Asp	Leu	Ala	Gly	Arg	Phe	Ile	Ala	Asn	Phe	Asp	Lys	Tyr	Thr	Asp
		515					520					525			
Thr	Thr	Glu	Gly	Lys	Ser	Leu	Val	Lys	Ala	Gly	Pro	Gln	Leu	Asp	
530						535					540				

Met	Ser	Ala	Lys	Ser	Ile	Thr	Leu	Lys	Glu	Leu	Glu	Lys	Tyr	Gly	Ile
				5					10					15	

His	Asp	Val	Thr	Glu	Val	Val	Tyr	Asn	Pro	Ser	Tyr	Glu	Leu	Leu	Phe
			20					25					30		
Thr	Glu	Glu	Thr	Lys	Pro	Gly	Leu	Glu	Gly	Tyr	Glu	Arg	Gly	Thr	Val
		35					40					45			
Thr	Thr	Leu	Gly	Ala	Val	Ala	Val	Asp	Thr	Gly	Ile	Phe	Thr	Gly	Arg
		50					55				60				
Ser	Pro	Lys	Asp	Lys	Tyr	Ile	Val	Arg	Asp	Asp	Val	Thr	Arg	Asp	Thr
65					70					75					80
Val	Trp	Trp	Ala	Asp	Gln	Gly	Lys	Gly	Lys	Asn	Asp	Asn	Lys	Pro	Met
			85						90					95	
Ser	Gln	Glu	Val	Trp	Ala	Asp	Leu	Lys	His	Leu	Val	Thr	Glu	Gln	Leu
			100					105					110		
Ser	Gly	Lys	Arg	Leu	Phe	Ile	Ile	Asp	Ala	Phe	Cys	Gly	Ala	Asn	Ala
		115					120					125			
Asp	Thr	Arg	Leu	Lys	Val	Arg	Phe	Ile	Thr	Glu	Val	Ala	Trp	Gln	Ala
		130					135					140			
His	Phe	Val	Lys	Asn	Met	Phe	Ile	Arg	Pro	Ser	Asp	Glu	Glu	Leu	Val
145					150					155					160
Gly	Phe	Glu	Pro	Asp	Phe	Ile	Val	Met	Asn	Gly	Ala	Lys	Cys	Thr	Asn
				165					170					175	
Pro	Asn	Trp	Lys	Ala	Gln	Gly	Leu	Asn	Ser	Glu	Asn	Phe	Val	Ala	Phe
			180					185					190		
Asn	Leu	Thr	Glu	Arg	Met	Gln	Leu	Ile	Gly	Gly	Ser	Trp	Tyr	Gly	Gly
		195					200					205			
Glu	Met	Lys	Lys	Gly	Met	Phe	Ser	Met	Met	Asn	Tyr	Leu	Leu	Pro	Leu
		210				215					220				
Lys	Gly	Ile	Ala	Ser	Met	His	Cys	Ser	Ala	Asn	Val	Gly	Glu	Lys	Gly
225					230					235					240
Asp	Val	Ala	Ile	Phe	Phe	Gly	Leu	Ser	Gly	Thr	Gly	Lys	Thr	Thr	Leu
				245					250					255	
Ser	Thr	Asp	Pro	Lys	Arg	Lys	Leu	Ile	Gly	Asp	Asp	Glu	His	Gly	Trp
			260					265					270		
Asp	Asp	Asp	Gly	Val	Phe	Asn	Phe	Glu	Gly	Gly	Cys	Tyr	Ala	Lys	Thr
		275					280					285			
Ile	Asn	Leu	Ser	Lys	Glu	Ala	Glu	Pro	Asp	Ile	Tyr	Gly	Ala	Ile	Lys
		290				295					300				
Arg	Asp	Ala	Leu	Leu	Glu	Asn	Val	Met	Val	Leu	Ala	Asp	Gly	Ser	Val
305					310					315					320
Asp	Phe	Asn	Asp	Gly	Ser	Lys	Thr	Glu	Asn	Thr	Arg	Val	Ser	Tyr	Pro
				325					330					335	
Ile	Tyr	His	Ile	Glu	Asn	Ile	Val	Lys	Pro	Val	Ser	Lys	Ala	Gly	His
			340					345					350		
Ala	Thr	Lys	Val	Ile	Phe	Leu	Thr	Ala	Asp	Ala	Phe	Gly	Val	Leu	Pro
		355					360					365			
Pro	Val	Ser	Arg	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Thr	Gln	Tyr	His	Phe	Leu	Ser
					375						380				
Gly	Phe	Thr	Ala	Lys	Leu	Ala	Gly	Thr	Glu	Arg	Gly	Val	Thr	Glu	Pro
385					390					395					400
Thr	Pro	Thr	Phe	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Ala	Ala	Phe	Leu	Ser	Leu	His
				405					410					415	
Pro	Thr	Gln	Tyr	Ala	Glu	Val	Leu	Val	Lys	Arg	Met	Glu	Ala	Ala	Gly
			420					425					430		
Ala	Lys	Ala	Tyr	Leu	Val	Asn	Thr	Gly	Trp	Asn	Gly	Thr	Gly	Lys	Arg
		435					440					445			
Ile	Ser	Ile	Lys	Asp	Thr	Arg	Ala	Ile	Ile	Asp	Ala	Ile	Leu	Ser	Gly
		450				455				460					
Asp	Ile	Glu	Lys	Ala	Asp	Met	Ile	Lys	Leu	Pro	Val	Phe	Asp	Leu	Glu
465					470					475					480
Ile	Pro	Thr	Ala	Leu	Pro	Gly	Val	Asp	Thr	Asn	Ile	Leu	Asp	Pro	Arg
				485					490					495	
Asn	Thr	Tyr	Ala	Asp	Lys	Ala	Gln	Trp	Asp	Glu	Lys	Ala	Gln	Asp	Leu

				500					505						510			
	Ala	Glu	Arg	Phe	Val	Asn	Asn	Phe	Asp	Lys	Tyr	Thr	Asp	Thr	Pro	Ala		
			515					520					525					
	Gly	Ala	Ala	Leu	Val	Lys	Ala	Gly	Pro	Lys	Leu							
		530					535											

<210> 105

<211> 549

<212> PRT

5 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<220>

<223> ScePCK

<400> 105

370		375		380
His Phe Ile Ser Gly Tyr Thr Ser Lys Met Ala Gly Thr Glu Gln Gly				
385		390		395
Val Thr Glu Pro Glu Pro Thr Phe Ser Ser Cys Phe Gly Gln Pro Phe				
	405		410	415
Leu Ala Leu His Pro Ile Arg Tyr Ala Thr Met Leu Ala Thr Lys Met				
	420		425	430
Ser Gln His Lys Ala Asn Ala Tyr Leu Ile Asn Thr Gly Trp Thr Gly				
	435		440	445
Ser Ser Tyr Val Ser Gly Gly Lys Arg Cys Pro Leu Lys Tyr Thr Arg				
	450		455	460
Ala Ile Leu Asp Ser Ile His Asp Gly Ser Leu Ala Asn Glu Thr Tyr				
465		470		475
Glu Thr Leu Pro Ile Phe Asn Leu Gln Val Pro Thr Lys Val Asn Gly				
	485		490	495
Val Pro Ala Glu Leu Leu Asn Pro Ala Lys Asn Trp Ser Gln Gly Glu				
	500		505	510
Ser Lys Tyr Arg Gly Ala Val Thr Asn Leu Ala Asn Leu Phe Val Gln				
	515		520	525
Asn Phe Lys Ile Tyr Gln Asp Arg Ala Thr Pro Asp Val Leu Ala Ala				
	530		535	540
Gly Pro Gln Phe Glu				
545				

<210> 106

<211> 539

<212> PRT

5 <213> *Serratia odorifera*

<220>

<223> SodPCK

<400> 106

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

Asp Val Ala Ile Phe Phe Gly Leu Ser Gly Thr Gly Lys Thr Thr Leu
 245 250 255
 Ser Thr Asp Pro Lys Arg Gln Leu Ile Gly Asp Asp Glu His Gly Trp
 260 265 270
 Asp Asp Asp Gly Val Phe Asn Phe Glu Gly Gly Cys Tyr Ala Lys Thr
 275 280 285
 Ile Lys Leu Ser Glu Gln Ala Glu Pro Asp Ile Tyr Arg Ala Ile Lys
 290 295 300
 Arg Asp Ala Leu Leu Glu Asn Val Thr Val Leu Ala Asp Gly Ser Val
 305 310 315 320
 Asp Phe Asn Asp Gly Ser Lys Thr Glu Asn Thr Arg Val Ser Tyr Pro
 325 330 335
 Ile Tyr His Ile Gln Asn Ile Val Lys Pro Val Ser Lys Ala Gly His
 340 345 350
 Ala Thr Lys Val Ile Phe Leu Thr Ala Asp Ala Phe Gly Val Leu Pro
 355 360 365
 Pro Val Ser Arg Leu Thr Ala Asp Gln Thr Gln Tyr His Phe Leu Ser
 370 375 380
 Gly Phe Thr Ala Lys Leu Ala Gly Thr Glu Arg Gly Val Thr Glu Pro
 385 390 395 400
 Thr Pro Thr Phe Ser Ala Cys Phe Gly Ala Ala Phe Leu Ser Leu His
 405 410 415
 Pro Thr Gln Tyr Ala Glu Val Leu Val Lys Arg Met Gln Ala Ala Gly
 420 425 430
 Ala Gln Ala Tyr Leu Val Asn Thr Gly Trp Asn Gly Ser Gly Lys Arg
 435 440 445
 Ile Ser Ile Gln Asp Thr Arg Gly Ile Ile Asp Ala Ile Leu Ser Gly
 450 455 460
 Glu Ile Asp Asn Ala Glu Thr Ile Thr Leu Pro Ile Phe Asp Leu Ala
 465 470 475 480
 Val Pro Thr Ala Leu Pro Gly Val Asn Pro Ala Ile Leu Asp Pro Arg
 485 490 495
 Ala Thr Tyr Gln Ser Glu Ala Gln Trp Glu Asp Lys Ala Lys Asp Leu

<210> 107

<211> 543

<212> PRT

5 <213> *Vibrio orientalis*

<220>

<223> VorPCK

<400> 107

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

		115					120					125				
Asn	Pro	Asp	Thr	Arg	Leu	Ser	Ile	Arg	Val	Ile	Thr	Glu	Val	Ala	Trp	
	130					135					140					
Gln	Ala	His	Phe	Val	Lys	Asn	Met	Phe	Ile	Arg	Pro	Ser	Glu	Glu	Glu	
145					150					155					160	
Leu	Thr	Thr	Phe	Glu	Pro	Asp	Phe	Val	Val	Met	Asn	Gly	Ala	Lys	Cys	
]				165					170					175		
Thr	Asn	Gln	Lys	Trp	Glu	Gln	His	Gly	Leu	Asn	Ser	Glu	Asn	Phe	Thr	
			180					185					190			
Val	Phe	Asn	Leu	Thr	Glu	Arg	Met	Gln	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Trp	Tyr	
		195					200					205				
Gly	Gly	Glu	Met	Lys	Lys	Gly	Met	Phe	Ala	Met	Met	Asn	Tyr	Phe	Leu	
	210					215					220					
Pro	Leu	Lys	Asp	Ile	Ala	Ser	Met	His	Cys	Ser	Ala	Asn	Lys	Cys	Lys	
225				230					235						240	
Glu	Asn	Gly	Asp	Val	Ala	Ile	Phe	Phe	Gly	Leu	Ser	Gly	Thr	Gly	Lys	
			245						250					255		
Thr	Thr	Leu	Ser	Thr	Asp	Pro	Lys	Arg	Glu	Leu	Ile	Gly	Asp	Asp	Glu	
			260					265					270			
His	Gly	Trp	Asp	Asp	Asp	Gly	Val	Phe	Asn	Phe	Glu	Gly	Gly	Cys	Tyr	
		275				280					285					
Ala	Lys	Thr	Ile	Lys	Leu	Ser	Lys	Glu	Ala	Glu	Pro	Asp	Ile	Tyr	Asn	
	290					295					300					
Ala	Ile	Arg	Arg	Asp	Ala	Leu	Leu	Glu	Asn	Val	Thr	Val	Arg	Asn	Asp	
305				310						315					320	
Gly	Ser	Ile	Asp	Phe	Asp	Asp	Gly	Ser	Lys	Thr	Glu	Asn	Thr	Arg	Val	
			325					330						335		
Ser	Tyr	Pro	Ile	Glu	His	Ile	Glu	Asn	Ile	Val	Lys	Pro	Val	Ser	Arg	
			340					345				350				
Ala	Gly	His	Ala	Asn	Lys	Val	Ile	Phe	Leu	Ser	Ala	Asp	Ala	Phe	Gly	
		355				360					365					
Val	Leu	Pro	Pro	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Thr	Lys	Tyr	His	
J	370					375					380					
Phe	Leu	Ser	Gly	Phe	Thr	Ala	Lys	Leu	Ala	Gly	Thr	Glu	Arg	Gly	Ile	
385				390						395					400	
Thr	Glu	Pro	Thr	Pro	Thr	Phe	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Ala	Ala	Phe	Leu	
			405						410					415		
Thr	Leu	His	Pro	Thr	Lys	Tyr	Ala	Glu	Val	Leu	Val	Lys	Arg	Met	Glu	
			420					425				430				
Ala	Ala	Gly	Ala	Glu	Ala	Tyr	Leu	Val	Asn	Thr	Gly	Trp	Asn	Gly	Ser	
		435				440					445					
Gly	Lys	Arg	Ile	Ser	Ile	Gln	Asp	Thr	Arg	Gly	Ile	Ile	Asp	Ala	Ile	
	450					455					460					
Leu	Asp	Gly	Ser	Ile	Glu	Glu	Ala	Glu	Thr	Lys	His	Ile	Pro	Ile	Phe	
465				470						475						

<210> 108

<211> 558

<212> PRT

5 <213> *Vanderwaltozyma polyspora*<220>

<223> VpoPCK

<400> 108

Met	Ala	Pro	Thr	Lys	Ile	Glu	Asp	Tyr	Ser	Leu	Asn	Glu	Arg	Glu	Asn	5	10	15
Ile	Ile	Lys	Asn	Leu	Lys	Ser	Asn	Ser	Asn	Val	Lys	Leu	Asp	Asn	Val	20	25	30
Met	Lys	Cys	Leu	Tyr	Asn	Lys	Asp	Ile	Thr	Ile	Lys	Arg	Asn	Pro	Pro	35	40	45
Ile	Ala	Glu	Leu	Tyr	Glu	Asp	Gly	Leu	Lys	Glu	Asp	Ser	Thr	Thr	Leu	50	55	60
Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Leu	Met	Ala	Tyr	Ser	Gly	Val	Lys	Thr	Gly	Arg	65	70	75
Ser	Pro	Lys	Asp	Lys	Arg	Ile	Val	Glu	Glu	Pro	Ser	Ser	Lys	Asp	Asn	85	90	95
Ile	Trp	Trp	Gly	Pro	Val	Asn	Lys	Pro	Cys	Ser	Glu	Leu	Thr	Trp	Ser	100	105	110
Ile	Asn	Arg	Glu	Arg	Ala	Ile	Asp	Tyr	Leu	Asn	Thr	Arg	Lys	Ile	Leu	115	120	125
Tyr	Val	Ile	Asp	Ala	Tyr	Ala	Gly	Trp	Asp	Ala	Asn	Tyr	Arg	Ile	Lys	130	135	140
Ile	Arg	Val	Val	Cys	Ala	Arg	Pro	Tyr	His	Ala	Leu	Phe	Met	Asn	Asn	145	150	155
Met	Leu	Ile	Arg	Pro	Thr	Thr	Glu	Glu	Leu	Glu	Asn	Phe	Gly	Glu	Pro	165	170	175
Asp	Phe	Thr	Ile	Trp	Asn	Ala	Gly	Ser	Phe	Tyr	Ala	Asn	Ser	Leu	Thr	180	185	190
Lys	Asp	Met	Thr	Ser	Lys	Thr	Ser	Ile	Glu	Ile	Asn	Phe	Lys	Ser	Met	195	200	205
Glu	Met	Val	Ile	Leu	Gly	Thr	Glu	Tyr	Ala	Gly	Glu	Met	Lys	Lys	Gly	210	215	220
Ile	Phe	Thr	Val	Met	Phe	Tyr	Leu	Met	Pro	Val	Tyr	His	Asn	Val	Leu	225	230	235
Thr	Leu	His	Ser	Ser	Ala	Asn	Gln	Gly	Val	Asn	Asn	Gly	Asp	Val	Thr	245	250	255
Leu	Phe	Phe	Gly	Leu	Ser	Gly	Thr	Gly	Lys	Thr	Thr	Leu	Ser	Ala	Asp	260	265	270
Pro	His	Arg	Glu	Leu	Ile	Gly	Asp	Glu	His	Cys	Trp	Ser	Asp	His		275	280	285
Gly	Val	Phe	Asn	Ile	Glu	Gly	Gly	Cys	Tyr	Ala	Lys	Cys	Ile	Gly	Leu	290	295	300
Thr	Glu	Glu	Lys	Glu	Pro	Glu	Ile	Phe	Asn	Ala	Ile	Lys	Phe	Gly	Ser	305	310	315
Val	Leu	Glu	Asn	Cys	Val	Tyr	Asp	Glu	Asn	Thr	His	Val	Val	Asp	Tyr	325	330	335
Asp	Asp	Ser	Arg	Ile	Thr	Glu	Asn	Thr	Arg	Cys	Ala	Tyr	Pro	Ile	Asp	340	345	350
Phe	Ile	Glu	Ser	Ala	Lys	Ile	Pro	Cys	Leu	Thr	Asp	Lys	His	Pro	Thr	355	360	365
Asn	Leu	Ile	Leu	Leu	Thr	Cys	Asp	Ala	Ser	Gly	Val	Leu	Pro	Pro	Val	370	375	380
Ser	Lys	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Val	Met	Tyr	His	Phe	Ile	Ser	Gly	Tyr	385	390	395
Thr	Ser	Lys	Met	Ala	Gly	Thr	Glu	Gln	Gly	Val	Thr	Glu	Pro	Glu	Pro	405	410	415
Thr	Phe	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Gln	Pro	Phe	Leu	Ala	Leu	His	Pro	Met	420	425	430
Lys	Tyr	Ala	Gln	Met	Leu	Ala	Asp	Lys	Met	Asn	His	His	Lys	Ala	Ser	435	440	445
Ala	Trp	Leu	Ile	Asn	Thr	Gly	Trp	Thr	Gly	Ala	Ser	Tyr	Thr	Ala	Gly	450	455	460
Gly	Lys	Arg	Cys	Pro	Leu	Lys	Tyr	Thr	Arg	Ala	Ile	Leu	Asp	Ala	Ile	465	470	475
His	Asn	Gly	Ser	Leu	Ala	Asn	Glu	Glu	Tyr	Glu	Thr	Leu	Pro	Val	Phe			

ES 2 811 926 T3

				485					490					495			
Asn	Leu	Pro	Ile	Pro	Lys	Asn	Val	Glu	Asn	Val	Pro	Ser	Glu	Leu	Leu		
			500					505					510				
Asn	Pro	Ser	Lys	Thr	Trp	Ser	Asp	Pro	Asp	Val	Thr	Tyr	Ser	Gln	Ala		
		515					520					525					
Val	Lys	Lys	Leu	Gly	Ser	Leu	Phe	Val	Gln	Asn	Phe	Thr	Ile	Tyr	Gln		
	530					535					540						
Asp	Gln	Ala	Thr	Asp	Asp	Val	Ile	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Leu				
545					550					555							

<210> 109
 <211> 543
 <212> PRT
 5 <213> *Vibrio tubiashii*
 <220>
 <223> VtuPCK
 <400> 109

Ala	Gly	His	Ala	Asn	Lys	Val	Ile	Phe	Leu	Ser	Ala	Asp	Ala	Phe	Gly
		355					360					365			
Val	Leu	Pro	Pro	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Thr	Lys	Tyr	His
		370				375					380				
Phe	Leu	Ser	Gly	Phe	Thr	Ala	Lys	Leu	Ala	Gly	Thr	Glu	Arg	Gly	Ile
385					390					395					400
Thr	Glu	Pro	Thr	Pro	Thr	Phe	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Ala	Ala	Phe	Leu
				405					410					415	
Thr	Leu	His	Pro	Thr	Lys	Tyr	Ala	Glu	Val	Leu	Val	Lys	Arg	Met	Glu
			420					425					430		
Ala	Ala	Gly	Ala	Glu	Ala	Tyr	Leu	Val	Asn	Thr	Gly	Trp	Asn	Gly	Ser
		435					440					445			
Gly	Lys	Arg	Ile	Ser	Ile	Gln	Asp	Thr	Arg	Gly	Ile	Ile	Asp	Ala	Ile
	450					455					460				
Leu	Asp	Gly	Ser	Ile	Glu	Asn	Ala	Glu	Thr	Lys	His	Ile	Pro	Ile	Phe
465					470					475					480
Asn	Leu	Glu	Val	Pro	Thr	Ala	Leu	His	Asp	Val	Asp	Pro	Ala	Ile	Leu
				485					490					495	
Asp	Pro	Arg	Asp	Thr	Tyr	Thr	Asp	Pro	Leu	Gln	Trp	Glu	Ser	Lys	Ala
			500					505						510	
Lys	Asp	Leu	Ala	Glu	Arg	Phe	Ile	Asn	Asn	Phe	Asp	Lys	Tyr	Thr	Asp
		515					520					525			
Asn	Asp	Glu	Gly	Lys	Ser	Leu	Val	Ala	Ala	Gly	Pro	Gln	Leu	Asp	
		530				535					540				

$\langle 210 \rangle$ 110

<211> 539

<212> PRT

5 <213> *Yersinia bercovieri*

$\langle 220 \rangle$

<223> YbePCK

$\langle 400 \rangle$ 110

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

225					230					235					240
Asp	Val	Ala	Ile	Phe	Phe	Gly	Leu	Ser	Gly	Thr	Gly	Lys	Thr	Thr	Leu
				245					250					255	
Ser	Thr	Asp	Pro	Lys	Arg	Lys	Leu	Ile	Gly	Asp	Asp	Glu	His	Gly	Trp
			260					265					270		
Asp	Asp	Asp	Gly	Val	Phe	Asn	Phe	Glu	Gly	Gly	Cys	Tyr	Ala	Lys	Thr
		275					280					285			
Ile	Lys	Leu	Ser	Glu	Glu	Ala	Glu	Pro	Asp	Ile	Tyr	His	Ala	Ile	Arg
	290					295					300				
Arg	Asp	Ala	Leu	Leu	Glu	Asn	Val	Val	Val	Leu	Pro	Asp	Gly	Thr	Val
305					310					315					320
Asp	Phe	Asn	Asp	Ser	Ser	Lys	Thr	Glu	Asn	Thr	Arg	Val	Ser	Tyr	Pro
				325					330					335	
Ile	Tyr	His	Ile	Glu	Asn	Ile	Val	Lys	Pro	Val	Ser	Lys	Ala	Gly	His
			340					345					350		
Ala	Thr	Lys	Val	Ile	Phe	Leu	Thr	Ala	Asp	Ala	Phe	Gly	Val	Leu	Pro
		355					360					365			
Pro	Val	Ser	Arg	Leu	Thr	Ala	Asn	Gln	Thr	Gln	Tyr	His	Phe	Leu	Ser
	370					375					380				
Gly	Phe	Thr	Ala	Lys	Leu	Ala	Gly	Thr	Glu	Arg	Gly	Val	Thr	Glu	Pro
385					390					395					400
Thr	Pro	Thr	Phe	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Ala	Ala	Phe	Leu	Ser	Leu	His
				405					410					415	
Pro	Thr	Gln	Tyr	Ala	Glu	Val	Leu	Val	Lys	Arg	Met	Gln	Ala	Val	Gly
			420					425					430		
Ala	Gln	Ala	Tyr	Leu	Val	Asn	Thr	Gly	Trp	Asn	Gly	Thr	Gly	Lys	Arg
		435					440					445			
Ile	Ser	Ile	Lys	Asp	Thr	Arg	Ala	Ile	Ile	Asp	Ala	Ile	Leu	Asn	Gly
	450					455					460				
Glu	Ile	Asp	Lys	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Leu	Pro	Ile	Phe	Asp	Leu	Ala
465					470					475					480
Val	Pro	Met	Ala	Leu	Pro	Gly	Val	Asp	Pro	Ala	Ile	Leu	Asp	Pro	Arg
				485					490					495	
Asp	Thr	Tyr	Ala	Asp	Ile	Ala	Gln	Trp	Gln	Glu	Lys	Ala	Glu	Asp	Leu
			500					505					510		
Ala	Arg	Arg	Phe	Thr	Thr	Asn	Phe	Asp	Lys	Tyr	Thr	Asp	Thr	Pro	Ala
			515				520					525			
Gly	Ala	Ala	Leu	Met	Ser	Ala	Gly	Pro	Lys	Ile					
	530					535									

<210> 111

<211> 556

<212> PRT

5 <213> *Yarrowia lipolytica*

<220>

<223> YliPCK

<400> 111

ES 2 811 926 T3

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

Asn	Arg	Glu	Arg	Ala	Val	Asp	Tyr	Leu	Asn	Thr	Arg	Lys	Arg	Ile	Tyr	115	120	125
Val	Val	Asp	Ala	Tyr	Ala	Gly	Trp	Asp	Pro	Lys	Tyr	Arg	Ile	Lys	Val	130	135	140
Arg	Ile	Val	Cys	Ala	Arg	Ala	Tyr	His	Ala	Leu	Phe	Met	Arg	Asn	Met	145	150	155
Leu	Ile	Arg	Pro	Thr	Ala	Glu	Glu	Leu	Lys	Asn	Phe	Gly	Lys	Pro	Asp	165	170	175
Phe	Thr	Ile	Tyr	Asn	Ala	Gly	Ala	Phe	Pro	Ala	Asn	Arg	Tyr	Thr	Ser	180	185	190
Gly	Met	Thr	Ser	Asn	Thr	Ser	Ile	Asp	Ile	Asn	Phe	Lys	Ser	Met	Glu	195	200	205
Met	Leu	Ile	Leu	Gly	Thr	Glu	Tyr	Ala	Gly	Glu	Met	Lys	Lys	Gly	Ile	210	215	220
Phe	Thr	Val	Met	Phe	Tyr	Leu	Met	Pro	Val	Lys	His	Gln	Val	Leu	Thr	225	230	235
Leu	His	Ser	Ser	Ala	Asn	Glu	Gly	Lys	Asp	Gly	Asp	Val	Thr	Leu	Phe	245	250	255
Phe	Gly	Leu	Ser	Gly	Thr	Gly	Lys	Thr	Leu	Ser	Ala	Asp	Pro	Asn		260	265	270
Arg	Leu	Leu	Ile	Gly	Asp	Asp	Glu	His	Cys	Trp	Ser	Asp	Thr	Gly	Val	275	280	285
Phe	Asn	Ile	Glu	Gly	Gly	Cys	Tyr	Ala	Lys	Cys	Leu	Gly	Leu	Ser	Arg	290	295	300
Glu	Lys	Glu	Pro	Asp	Ile	Phe	Asp	Ala	Ile	Lys	Phe	Gly	Ser	Val	Leu	305	310	315
Glu	Asn	Val	Val	Phe	Asp	Pro	Ile	Thr	Arg	Glu	Val	Asp	Tyr	Asp	Asp	325	330	335
Ala	Thr	Leu	Thr	Glu	Asn	Thr	Arg	Cys	Ser	Tyr	Pro	Ile	Glu	Tyr	Ile	340	345	350
Pro	Asn	Ala	Lys	Leu	Pro	Cys	Val	Thr	Glu	Ser	His	Pro	Thr	Asn	Ile	355	360	365
Ile	Leu	Leu	Thr	Cys	Asp	Ala	Arg	Gly	Val	Ile	Pro	Pro	Ile	Ser	Lys	370	375	380
Leu	Thr	Asn	Glu	Gln	Val	Met	Tyr	His	Phe	Ile	Ser	Gly	Tyr	Thr	Ser	385	390	395
Lys	Met	Ala	Gly	Thr	Glu	Glu	Gly	Val	Thr	Glu	Pro	Glu	Ala	Thr	Phe	405	410	415
Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Gln	Pro	Phe	Leu	Val	Leu	His	Pro	Met	Gln	Tyr	420	425	430
Ala	Lys	Met	Leu	Ser	Asp	Lys	Met	Thr	Gln	His	Asn	Ala	Asn	Ala	Trp	435	440	445
Leu	Leu	Asn	Thr	Gly	Trp	Thr	Gly	Gln	Ser	Tyr	Thr	Asn	Gly	Gly	Lys	450	455	460
Arg	Cys	Pro	Leu	Lys	Tyr	Thr	Arg	Ser	Ile	Leu	Asp	Ala	Ile	His	Ser	465	470	475
Gly	Glu	Leu	Ala	Lys	Val	Glu	Tyr	Glu	Asn	Phe	Asp	Val	Phe	Asn	Leu	485	490	495
Gln	Val	Pro	Lys	Thr	Ala	Pro	Asn	Val	Pro	Ser	Glu	Ile	Leu	Asn	Pro	500	505	510
Ala	Arg	Ala	Trp	Ser	Gly	Gly	Lys	Glu	Gln	Phe	Thr	Glu	Glu	Val	Thr	515	520	525
Lys	Leu	Gly	Lys	Leu	Phe	Asn	Glu	Asn	Phe	Glu	Lys	Tyr	Lys	Asp	Met	530	535	540
Ala	Ile	Pro	Glu	Val	Ile	Ala	Ala	Gly	Pro	Lys	Ala					545	550	555

<211> 539
<212> PRT
<213> *Yersinia rohdei*
<220>
5 <223> YroPCK
<400> 112

Met	Ser	Val	Lys	Gly	Ile	Thr	Pro	Gln	Glu	Leu	Ala	Ala	Tyr	Gly	Ile
				5					10					15	
His	Asn	Val	Ser	Glu	Ile	Val	Tyr	Asn	Pro	Ser	Tyr	Asp	Leu	Leu	Phe
			20					25					30		
Gln	Glu	Glu	Thr	Lys	Pro	Thr	Leu	Glu	Gly	Tyr	Glu	Arg	Gly	Thr	Leu
		35					40					45			
Thr	Thr	Thr	Gly	Ala	Ile	Ala	Val	Asp	Thr	Gly	Ile	Phe	Thr	Gly	Arg
	50				55						60				
Ser	Pro	Lys	Asp	Lys	Tyr	Ile	Val	Arg	Asp	Asp	Ile	Thr	Arg	Asp	Thr
65					70					75					80
Val	Trp	Trp	Ala	Asp	Gln	Gly	Lys	Gly	Lys	Asn	Asp	Asn	Lys	Pro	Leu
				85					90					95	
Ser	Gln	Glu	Thr	Trp	Ala	His	Leu	Lys	Gly	Leu	Val	Thr	Gln	Gln	Leu
			100					105					110		
Ser	Gly	Lys	Arg	Leu	Phe	Val	Val	Asp	Thr	Phe	Cys	Gly	Ala	Asn	Ala
		115					120					125			
Asp	Thr	Arg	Leu	Gln	Val	Arg	Phe	Val	Thr	Glu	Val	Ala	Trp	Gln	Ala
	130					135					140				
His	Phe	Val	Lys	Asn	Met	Phe	Ile	Arg	Pro	Thr	Asp	Glu	Glu	Leu	Ala
145					150					155					160
His	Phe	Glu	Pro	Asp	Phe	Ile	Val	Met	Asn	Gly	Ala	Lys	Cys	Thr	Asn
				165					170					175	
Pro	Asn	Trp	Lys	Glu	Gln	Gly	Leu	Asn	Ser	Glu	Asn	Phe	Val	Ala	Phe
			180					185					190		
Asn	Leu	Thr	Glu	Arg	Met	Gln	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Trp	Tyr	Gly	Gly
		195					200					205			
Glu	Met	Lys	Lys	Gly	Met	Phe	Ser	Met	Met	Asn	Tyr	Leu	Leu	Pro	Leu
	210					215					220				
Lys	Gly	Ile	Ala	Ser	Met	His	Cys	Ser	Ala	Asn	Val	Gly	Glu	Lys	Gly
225					230					235					240
Asp	Val	Ala	Ile	Phe	Phe	Gly	Leu	Ser	Gly	Thr	Gly	Lys	Thr	Thr	Leu
				245					250					255	
Ser	Thr	Asp	Pro	Lys	Arg	Lys	Leu	Ile	Gly	Asp	Asp	Glu	His	Gly	Trp
			260					265					270		
Asp	Asp	Asp	Gly	Val	Phe	Asn	Phe	Glu	Gly	Gly	Cys	Tyr	Ala	Lys	Thr
		275					280					285			
Ile	Lys	Leu	Ser	Glu	Glu	Ala	Glu	Pro	Asp	Ile	Tyr	His	Ala	Ile	Lys
	290					295					300				
Arg	Asp	Ala	Leu	Leu	Glu	Asn	Val	Val	Val	Leu	Pro	Asp	Gly	Thr	Val
305					310					315					320
Asp	Phe	Asn	Asp	Gly	Ser	Lys	Thr	Glu	Asn	Thr	Arg	Val	Ser	Tyr	Pro
				325					330					335	
Ile	Tyr	His	Ile	Glu	Asn	Ile	Val	Lys	Pro	Val	Ser	Lys	Ala	Gly	His
			340					345					350		
Ala	Thr	Lys	Val	Ile	Phe	Leu	Thr	Ala	Asp	Ala	Phe	Gly	Val	Leu	Pro
		355					360					365			
Pro	Val	Ser	Arg	Leu	Thr	Ala	Ser	Gln	Thr	Gln	Tyr	His	Phe	Leu	Ser
						375					380				
Gly	Phe	Thr	Ala	Lys	Leu	Ala	Gly	Thr	Glu	Arg	Gly	Val	Thr	Glu	Pro
385					390					395					400
Thr	Pro	Thr	Phe	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	Ala	Ala	Phe	Leu	Ser	Leu	His
				405					410					415	
Pro	Thr	Gln	Tyr	Ala	Glu	Val	Leu	Leu	Lys	Arg	Met	Gln	Ala	Val	Gly
			420					425					430		
Ala	Gln	Ala	Tyr	Leu	Val	Asn	Thr	Gly	Trp	Asn	Gly	Thr	Gly	Lys	Arg
		435					440					445			
Ile	Ser	Ile	Lys	Asp	Thr	Arg	Gly	Ile	Ile	Asp	Ala	Ile	Leu	Asn	Gly
	450					455					460				

Glu Ile Asp Lys Ala Glu Thr Phe Thr Leu Pro Ile Phe Asp Leu Ala
 465 470 475 480
 Val Pro Met Ala Leu Pro Gly Val Asn Pro Asp Ile Leu Asp Pro Arg
 485 490 495
 Asp Thr Tyr Ala Asp Val Ala Gln Trp Gln Glu Lys Ala Glu Asp Leu
 --- --- ---

<210> 113

<211> 548

<212> PRT

5 <213> *Zygosaccharomyces rouxii*

<220>

<223> ZroPCK

<400> 113

Met Ser Pro Ser Lys Val Pro Val Pro Ile Thr Asp Thr Ala Glu Val
 5 10 15
 Glu Glu Gln Ile Arg Lys Glu Leu Ala Leu Gly Ser Glu Val Val Thr
 20 25 30
 Ile Arg His Asn Ala Pro Ala Ala Thr Leu Tyr Glu Asp Gly Leu Lys
 35 40 45
 Glu Lys Lys Thr Ala Val Val Ser Ser Gly Ala Leu Ala Ala Tyr Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Thr Gly Arg Ser Pro Lys Asp Lys Arg Ile Ile Glu Glu
 65 70 75 80
 Glu Thr Ser Lys Asn Glu Val Trp Trp Gly Pro Val Asn Lys Pro Ala
 85 90 95
 Ser Glu Lys Thr Trp Ser Ile Asn Arg Glu Arg Ala Ala Asp Tyr Leu
 100 105 110
 Arg Thr Arg Asp His Leu Tyr Ile Ile Asp Ala Tyr Ala Gly Trp Asp
 115 120 125
 Pro Arg Tyr Arg Ile Lys Val Arg Val Ile Cys Ala Arg Ala Tyr His
 130 135 140
 Ala Leu Phe Met Thr Asn Met Leu Ile Arg Pro Ser Pro Glu Glu Leu
 145 150 155 160
 Ala Asn Phe Gly Glu Pro Asp Phe Thr Val Trp Asn Ala Gly Gln Phe
 165 170 175
 Pro Ala Asn Arg Asn Thr Glu Gly Met Thr Ser Lys Thr Thr Val Glu
 180 185 190
 Ile Asn Phe Lys Ala Met Glu Met Ile Ile Leu Gly Thr Glu Tyr Ala
 195 200 205
 Gly Glu Met Lys Lys Gly Ile Phe Thr Val Met Phe Tyr Leu Met Pro
 210 215 220
 Val His His Asn Val Leu Thr Leu His Ser Ser Ala Asn Gln Gly Ile
 225 230 235 240
 Glu Arg Gly Asp Val Thr Leu Phe Phe Gly Leu Ser Gly Thr Gly Lys
 245 250 255
 Thr Thr Leu Ser Ala Asp Pro His Arg Ala Leu Ile Gly Asp Asp Glu
 260 265 270
 His Cys Trp Ser Asp His Gly Val Phe Asn Ile Glu Gly Gly Cys Tyr
 275 280 285
 Ala Lys Cys Ile Asp Leu Thr Ala Glu Lys Glu Pro Glu Ile Tyr Asn
 290 295 300
 Ala Ile Lys Phe Gly Ser Val Leu Glu Asn Val Val Phe Asp Ala Ser
 305 310 315 320
 Asn Arg Glu Val Asp Tyr Thr Asp Asn Ser Ile Thr Glu Asn Thr Arg
 325 330 335
 Cys Ala Tyr Pro Ile Asp Tyr Ile Pro Ser Ala Lys Ile Pro Cys Leu

				340					345					350					
Ala	Asp	Lys	His	Pro	Ser	Asn	Ile	Val	Leu	Leu	Thr	Cys	Asp	Ala	Ser				
		355					360					365							
Gly	Val	Leu	Pro	Pro	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Val	Met	Tyr				
		370				375					380								
His	Phe	Ile	Ser	Gly	Tyr	Thr	Ser	Lys	Met	Ala	Gly	Thr	Glu	Gln	Gly				
385				390					395						400				
Val	Thr	Glu	Pro	Glu	Thr	Thr	Phe	Ser	Ser	Cys	Phe	Gly	Gln	Pro	Phe				
			405						410						415				
Leu	Ala	Leu	His	Pro	Met	Arg	Tyr	Ala	Thr	Met	Leu	Ala	Lys	Lys	Met				
		420						425						430					
His	Gln	His	Asn	Ala	Asn	Ala	Trp	Leu	Val	Asn	Thr	Gly	Trp	Thr	Gly				
		435					440					445							
Ser	Ser	Tyr	Thr	Ala	Gly	Gly	Lys	Arg	Cys	Pro	Leu	Lys	Tyr	Thr	Arg				
		450				455					460								
Ala	Ile	Leu	Asp	Ser	Ile	His	Asp	Gly	Ser	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr				
465				470					475						480				
Glu	Thr	Leu	Pro	Ile	Phe	Asn	Leu	His	Thr	Pro	Ala	Lys	Val	Asn	Gly				
			485					490						495					
Val	Pro	Asp	Ser	Leu	Leu	Asn	Pro	Ala	Lys	Ser	Trp	Val	Glu	Gly	Pro				
		500					505						510						
Thr	Lys	Tyr	Asn	Ser	Ala	Val	Lys	Thr	Leu	Ala	Thr	Lys	Phe	Thr	Glu				
		515					520					525							
Asn	Phe	Lys	Ile	Tyr	Gln	Asp	Gln	Ala	Thr	Pro	Asp	Val	Leu	Ala	Ala				
		530				535					540								
Gly	Pro	Gln	Phe																
		545																	

<210> 114

<211> 41

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: CglPCK-F

<400> 114

gacacttttt caaaatgccca tctaaatcta gtgtgtttctgg g 41

10 <210> 115

<211> 38

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Descripción de la secuencia artificial: CglPCK-R

<400> 115

gaaatcaact ttgttccaa ttgtggacca gcagccaa 38

<210> 116

<211> 36

20 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: CkoPCK-F

<400> 116

25 gacacttttt caaaatgcgc gtaacagct taacc 36

<210> 117

<211> 32

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

30 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: CkoPCK-R

<400> 117

gaaatcaact ttgttccag cttcgcccg gc 32

35 <210> 118

<211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Descripción de la secuencia artificial: CsaPCK-F
 <400> 118
 gacacttttt caaaatgcga gttacaggca taaccc 36
 <210> 119
 <211> 32
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: CsaPCK-R
 <400> 119
 15 gaaatcaact ttgttcgcg ctgtgggcct gc 32
 <210> 120
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: DhaPCK-F
 <400> 120
 gacacttttt caaaatgaca cctcctactg ctgttga 37
 <210> 121
 25 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: DhaPCK-R
 30 <400> 121
 gaaatcaact ttgttcagc atcaggacca gcagc 35
 <210> 122
 <211> 38
 <212> ADN
 35 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: EfePCK-F
 <400> 122
 gacacttttt caaaatgcgc gtgaacaaaa gttaacc 38
 40 <210> 123
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 45 <223> Descripción de la secuencia artificial: EfePCK-R
 <400> 123
 gaaatcaact ttgttccat ctctggacct gctctacca 40
 <210> 124
 <211> 35
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: EtaPCK-F
 <400> 124
 55 gacacttttt caaaatgcat gccactggct taact 35
 <210> 125
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 60 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: EtaPCK-R
 <400> 125
 gaaatcaact ttgttcacg ttgtgggccg gca 33
 <210> 126
 65 <211> 42

<212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: KlapCK-F
 5 <400> 126
 gacacttttt caaaatgtca ccaactaaga cacaaaattc tg 42
 <210> 127
 <211> 39
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: KlapCK-R
 <400> 127
 gaaatcaact ttgttctaa ttgcggacca gcagctaag 39
 15 <210> 128
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 20 <223> Descripción de la secuencia artificial: LepCK-F
 <400> 128
 gacacttttt caaaatggca cccccagcag ta 32
 <210> 129
 <211> 36
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: LepCK-R
 <400> 129
 30 gaaatcaact ttgttcaac atcggtcca gcagct 36
 <210> 130
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: PacCK-F
 <400> 130
 gacacttttt caaaatgcag atcaacggta ttacc 37
 <210> 131
 40 <211> 32
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: PacCK-R
 45 <400> 131
 gaaatcaact ttgttcgcg ctcggccct gc 32
 <210> 132
 <211> 40
 <212> ADN
 50 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: LepCK-F
 <400> 132
 gacacttttt caaaatgagc acgatgtgtg tcgataataa 40
 55 <210> 133
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 60 <223> Descripción de la secuencia artificial: LepCK-R
 <400> 133
 gaaatcaact ttgttcgtc taactgtgt cggctttaa c 41
 <210> 134
 <211> 37
 65 <212> ADN

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: PrePCK-F
 <400> 134
 5 gacacttttt caaaatgagc gctaaaagca ttaccct 37
 <210> 135
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: PrePCK-R
 <400> 135
 gaaatcaact ttgttccag tttggccct gctttcac 38
 <210> 136
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: ScePCK-F
 20 <400> 136
 gacacttttt caaaatgtcc ccttctaaa tgaatgctac ag 42
 <210> 137
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: ScePCK-R
 <400> 137
 gaaatcaact ttgttcttc gaattgagga ccagcggc 38
 30 <210> 138
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 35 <223> Descripción de la secuencia artificial: SodPCK-F
 <400> 138
 gacacttttt caaaatgcgt gctaaaggta tcacc 36
 <210> 139
 <211> 33
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: SodPCK-R
 <400> 139
 45 gaaatcaact ttgttccag cttcgaccg gcg 33
 <210> 140
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: VorPCK-F
 <400> 140
 gacacttttt caaaatgacc gttatgaac atactaaggc 40
 <210> 141
 55 <211> 38
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: VorPCK-R
 60 <400> 141
 gaaatcaact ttgttcac tagctgagga cctgcagc 38
 <210> 142
 <211> 44
 <212> ADN
 65 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: VpoPCK-F
 <400> 142
 gacacttttt caaatggct ccaactaaaa tagaagatta ctct 44
 5 <210> 143
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> Descripción de la secuencia artificial: VpoPCK-R
 <400> 143
 gaaatcaact ttgttctag ggctggacca gctgc 35
 <210> 144
 <211> 40
 15 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: VtuPCK-F
 <400> 144
 20 gacacttttt caaatgacc gttatggaac atacaaaggc 40
 <210> 145
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: VtuPCK-R
 <400> 145
 gaaatcaact ttgttcac tagctgaggt ccagccg 37
 <210> 146
 30 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: YbePCK-F
 35 <400> 146
 gacacttttt caaatgagt gttaaaggaa ttaccgc 39
 <210> 147
 <211> 35
 <212> ADN
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: YbePCK-R
 <400> 147
 gaaatcaact ttgttcgat ctccggccct gcgct 35
 45 <210> 148
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 50 <223> Descripción de la secuencia artificial: YliPCK-F
 <400> 148
 gacacttttt caaatgtct ccccccgtca acc 33
 <210> 149
 <211> 33
 55 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: YliPCK-R
 <400> 149
 60 gaaatcaact ttgttcagc cttagggccg gca 33
 <210> 150
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 65 <220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: YroPCK-F
 <400> 150
 gacacttttt caaaatgagt gttaaaggaa ttaccgc 39
 <210> 151
 5 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: YroPCK-R
 10 <400> 151
 gaaatcaact ttgttcgac ttgtgccca gcactga 37
 <210> 152
 <211> 34
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: ZroPCK-F
 <400> 152
 gacacttttt caaaatgtcg ccctccaaag ttcc 34
 20 <210> 153
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Descripción de la secuencia artificial: ZroPCK-R
 <400> 153
 gaaatcaact ttgttcgaa ttgaggacca gctgcaagaa 40
 <210> 154
 <211> 540
 30 <212> PRT
 <213> *Escherichia coli*
 <220>
 <223> EcoPCK
 <400> 154

ES 2 811 926 T3

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

ES 2 811 926 T3

115		120		125
Pro Asp Thr Arg Leu Ser Val Arg Phe Ile Thr Glu Val Ala Trp Gln				
130		135		140
Ala His Phe Val Lys Asn Met Phe Ile Arg Pro Ser Asp Glu Glu Leu				
145		150		155
Ala Gly Phe Lys Pro Asp Phe Ile Val Met Asn Gly Ala Lys Cys Thr				
		165		170
Asn Pro Gln Trp Lys Glu Gln Gly Leu Asn Ser Glu Asn Phe Val Ala				
		180		185
Phe Asn Leu Thr Glu Arg Met Gln Leu Ile Gly Gly Thr Trp Tyr Gly				
		195		200
Gly Glu Met Lys Lys Gly Met Phe Ser Met Met Asn Tyr Leu Leu Pro				
		210		215
Leu Lys Gly Ile Ala Ser Met His Cys Ser Ala Asn Val Gly Glu Lys				
		225		230
Gly Asp Val Ala Val Phe Phe Gly Leu Ser Gly Thr Gly Lys Thr Thr				
		245		250
Leu Ser Thr Asp Pro Lys Arg Arg Leu Ile Gly Asp Asp Glu His Gly				
		260		265
Trp Asp Asp Asp Gly Val Phe Asn Phe Glu Gly Gly Cys Tyr Ala Lys				
		275		280
Thr Ile Lys Leu Ser Lys Glu Ala Glu Pro Glu Ile Tyr Asn Ala Ile				
		290		295
Arg Arg Asp Ala Leu Leu Glu Asn Val Thr Val Arg Glu Asp Gly Thr				
		305		310
Ile Asp Phe Asp Asp Gly Ser Lys Thr Glu Asn Thr Arg Val Ser Tyr				
		325		330
Pro Ile Tyr His Ile Asp Asn Ile Val Lys Pro Val Ser Lys Ala Gly				
		340		345
His Ala Thr Lys Val Ile Phe Leu Thr Ala Asp Ala Phe Gly Val Leu				
		355		360
				365

Pro Pro Val Ser Arg Leu Thr Ala Asp Gln Thr Gln Tyr His Phe Leu
370 375 380

Ser Gly Phe Thr Ala Lys Leu Ala Gly Thr Glu Arg Gly Ile Thr Glu
385 390 395 400

Pro Thr Pro Thr Phe Ser Ala Cys Phe Gly Ala Ala Phe Leu Ser Leu
405 410 415

His Pro Ile Gln Tyr Ala Glu Val Leu Val Lys Arg Met Gln Ala Ala
420 425 430

Gly Ala Gln Ala Tyr Leu Val Asn Thr Gly Trp Asn Gly Thr Gly Lys
435 440 445

Arg Ile Ser Ile Lys Asp Thr Arg Ala Ile Ile Asp Ala Ile Leu Asn
450 455 460

Gly Ser Leu Asp Asn Ala Glu Thr Phe Thr Leu Pro Met Phe Asn Leu
465 470 475 480

Ala Ile Pro Thr Glu Leu Pro Gly Val Asp Thr Lys Ile Leu Asp Pro
485 490 495

Arg Asn Thr Tyr Ala Ser Pro Glu Gln Trp Gln Glu Lys Ala Glu Thr
500 505 510

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

Ala Gly Ala Ala Leu Val Ala Ala Gly Pro Lys Leu
530 535 540

<210> 155

<211> 1178

<212> PRT

5 <213> *Gallus gallus*

<220>

<221> misc_feature

<222> (566).. (566)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

10 <223> GgIPYC

<400> 155

Met Ser Gln Leu Cys Val Pro Arg Gly Gly Arg Ala Leu Leu Gly Ala
1 5 10 15

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

ES 2 811 926 T3

Val Val His Leu Tyr Glu Arg Asp Cys Ser Ile Gln Arg Arg His Gln
260 265 270

Lys Val Val Glu Ile Ala Pro Ala Ala Arg Leu Asp Pro Gln Leu Arg
275 280 285

Ala Gln Leu Ala Ser Asp Ala Val Arg Ile Ala Gln Gln Val Gly Tyr
290 295 300

Glu Asn Ala Gly Thr Val Glu Phe Leu Val Asp Arg Asp Gly Lys His
305 310 315 320

Tyr Phe Ile Glu Val Asn Ser Arg Leu Gln Val Glu His Thr Val Thr
325 330 335

Glu Glu Ile Thr Gly Val Asp Leu Val Gln Ala Gln Leu Leu Val Ala
340 345 350

Ala Gly Arg Ser Leu Ser Glu Leu Gly Leu Gln Gln Asp Ser Val Arg
355 360 365

Val Asn Gly Cys Ala Ile Gln Cys Arg Val Thr Thr Glu Asp Pro Ala
370 375 380

Arg Gly Phe Gln Pro Asp Thr Gly Arg Ile Glu Val Phe Arg Ser Gly
385 390 395 400

Glu Gly Met Gly Ile Arg Leu Asp Gly Ala Ser Ala Phe Gln Gly Ala
405 410 415

Leu Ile Ser Pro His Tyr Asp Ser Leu Leu Val Lys Val Ile Ala His
420 425 430

Gly Pro Asp Gln Pro Ser Ala Ala Ala Lys Met Ser Arg Ala Leu Gly
435 440 445

Glu Phe Arg Ile Arg Gly Val Lys Thr Asn Ile Pro Phe Leu Gln Asn
450 455 460

Val Leu Ala His Pro Gln Phe Leu Gly Gly Ala Val Asp Thr Gln Phe
465 470 475 480

Ile Asp Glu Asn Pro Glu Leu Phe His Leu Arg Pro Ser Gln Asn Arg
485 490 495

ES 2 811 926 T3

Ala Gln Lys Leu Leu His Tyr Leu Gly His Val Met Val Asn Gly Pro
500 505 510

Ser Thr Pro Leu Pro Val Lys Ala Lys Ala Ala Val Val Glu Pro Val
515 520 525

Pro Pro Pro Val Pro Met Gly Ser Pro Pro Glu Gly Leu Arg Ala Val
530 535 540

Leu Gln Arg Glu Gly Pro Ala Gly Phe Ala Arg Ala Leu Arg Gly His
545 550 555 560

Arg Gly Leu Leu Leu Xaa Asp Thr Thr Phe Arg Asp Ala His Gln Ser
565 570 575

Leu Leu Ala Thr Arg Val Arg Thr Arg Asp Leu Ala Arg Ile Ala Pro
580 585 590

Phe Val Ala His Ser Leu Ser Pro Leu Cys Ser Met Glu Thr Trp Gly
595 600 605

Gly Ala Thr Phe Asp Val Ala Met Arg Phe Leu His Glu Cys Pro Trp
610 615 620

Glu Arg Leu Arg Glu Leu Arg Arg Leu Val Pro Asn Ile Pro Phe Gln
625 630 635 640

Met Leu Leu Arg Gly Ala Asn Ala Val Gly Tyr Thr Asn Tyr Pro Asp
645 650 655

Asn Val Ile Tyr Arg Phe Cys Glu Val Ala Ala Ala Asn Gly Met Asp
660 665 670

Ile Phe Arg Ile Phe Asp Ala Leu Asn Tyr Leu Pro Asn Leu Leu Leu
675 680 685

Gly Val Glu Ala Val Gly Arg Ala Gly Ala Val Val Glu Ala Ala Leu
690 695 700

Ser Tyr Thr Gly Asp Val Ala Asp Pro Thr Arg Thr Lys Tyr Ser Leu
705 710 715 720

Asp Tyr Tyr Leu Gly Leu Ala Lys Glu Leu Val Ala Ala Gly Thr His
725 730 735

Ile Leu Cys Ile Lys Asp Met Ala Gly Leu Leu Thr Pro Ala Ala Ala

ES 2 811 926 T3

740					745					750					
Arg	Leu	Leu	Val	Ser	Ser	Leu	Arg	Asp	Arg	Phe	Pro	Asp	Val	Pro	Ile
	755						760					765			
His	Val	His	Thr	His	Asp	Thr	Ala	Gly	Ala	Ala	Ile	Ala	Thr	Leu	Leu
	770					775					780				
Ala	Ala	Ala	Asn	Ala	Asp	Ala	Asp	Val	Val	Asp	Val	Ala	Val	Asp	Ala
785					790					795					800
Met	Ser	Gly	Met	Thr	Ser	Gln	Pro	Ser	Met	Gly	Ala	Leu	Val	Ala	Cys
				805					810					815	
Ala	Arg	Gly	Thr	Pro	Leu	Asp	Thr	Gly	Ile	Ala	Leu	Glu	Arg	Val	Phe
			820					825					830		
Glu	Tyr	Ser	Glu	Tyr	Trp	Glu	Gly	Ala	Arg	Gly	Leu	Tyr	Ala	Ala	Phe
		835					840					845			
Asp	Cys	Thr	Ala	Thr	Met	Lys	Ser	Gly	Asn	Ala	Asp	Val	Tyr	Glu	Asn
	850					855					860				
Glu	Ile	Pro	Gly	Gly	Gln	Tyr	Thr	Asn	Leu	His	Phe	Gln	Ala	His	Ala
865					870					875					880
Met	Gly	Leu	Gly	His	Lys	Phe	Lys	Glu	Val	Lys	Lys	Ala	Tyr	Ala	Glu
				885					890					895	
Ala	Asn	Lys	Leu	Leu	Gly	Asp	Leu	Ile	Lys	Val	Thr	Pro	Ser	Ser	Lys
			900					905					910		
Val	Val	Gly	Asp	Leu	Ala	Gln	Phe	Met	Val	Gln	Asn	Gly	Leu	Ser	Arg
		915					920					925			
Glu	Glu	Ala	Glu	Ala	Arg	Ala	Asp	Glu	Leu	Ser	Phe	Pro	Leu	Ser	Val
	930					935					940				
Val	Glu	Phe	Leu	Gln	Gly	Tyr	Ile	Gly	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly	Phe	Pro
945					950					955					960
Glu	Pro	Phe	Arg	Ser	Lys	Val	Leu	Lys	Asp	Leu	Pro	Arg	Val	Glu	Gly
				965					970					975	
Arg	Pro	Gly	Ala	Ser	Leu	Pro	Pro	Leu	Asp	Phe	Glu	Ala	Leu	Ser	Gln
			980					985					990		

Glu Leu Gly Ala Arg Asp Gly Thr Pro Pro Ser Pro Glu Asp Leu Leu
 995 1000 1005

Ser Ala Ala Leu Tyr Pro Lys Val Tyr Ala Glu Phe Arg Asp Phe
 1010 1015 1020

Thr Ser Thr Phe Gly Pro Val Ser Cys Leu Gly Thr Arg Leu Phe
 1025 1030 1035

Leu Glu Gly Pro Thr Ile Ala Glu Glu Phe Glu Val Glu Leu Glu
 1040 1045 1050

Arg Gly Lys Thr Leu His Ile Lys Ala Leu Ala Leu Gly Asp Leu
 1055 1060 1065

Asn Ala Ala Gly Gln Arg Glu Ala Phe Phe Glu Leu Asn Gly Gln
 1070 1075 1080

Leu Arg Ser Ile Leu Val Arg Asp Thr Gln Ala Leu Lys Glu Met
 1085 1090 1095

His Val His Pro Lys Ala Asp Arg Ser Ala Lys Gly Gln Val Gly
 1100 1105 1110

Ala Pro Met Pro Gly Glu Val Val Glu Val Arg Val Lys Glu Gly
 1115 1120 1125

Glu Ala Val Glu Lys Gly Ala Pro Leu Cys Val Leu Ser Ala Met
 1130 1135 1140

Lys Met Glu Thr Val Val Thr Ala Pro Arg Gly Gly Thr Val Ser
 1145 1150 1155

Arg Leu His Val Arg Pro Gly Met Ser Leu Glu Gly Asp Asp Leu
 1160 1165 1170

Ile Ala Glu Ile Glu
 1175

<210> 156

<211> 312

<212> PRT

5 <213> *Escherichia coli*

<220>

<223> EcoMDH

<400> 156

ES 2 811 926 T3

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

Ala Leu Gln Gly Glu Gln Gly Val Val Glu Cys Ala Tyr Val Glu Gly
245 250 255

Asp Gly Gln Tyr Ala Arg Phe Phe Ser Gln Pro Leu Leu Leu Gly Lys
260 265 270

Asn Gly Val Glu Glu Arg Lys Ser Ile Gly Thr Leu Ser Ala Phe Glu
275 280 285

Gln Asn Ala Leu Glu Gly Met Leu Asp Thr Leu Lys Lys Asp Ile Ala
290 295 300

Leu Gly Glu Glu Phe Val Asn Lys
305 310

<210> 157

<211> 38

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: EcoPCK-F

<400> 157

gacactttt caaaatgctg gtaacaatg gtttgacc 38

10 <210> 158

<211> 32

<212> ADN

<213> Descripción de la secuencia artificial: EcoPCK-R

<400> 158

15 gaaatcaact ttgttccag ctctggacca gc 32

<210> 159

<211> 34

<212> ADN

<213> Descripción de la secuencia artificial: GgIPYC-F

20 <400> 159

catctttc aaacatgtcg cagctgtgtg tccc 34

<210> 160

<211> 37

<212> ADN

25 <213> Descripción de la secuencia artificial: GgIPYC-R

<400> 160

atcatcatca tccttgaat cctcgatctc ggcgatg 37

<210> 161

<211> 32

30 <212> ADN

<213> Descripción de la secuencia artificial: EcoMDH-F

<400> 161

actttcaa acatgaaagt cgcagtctc gg 32

<210> 162

35 <211> 43

<212> ADN

<213> Descripción de la secuencia artificial: EcoMDH-R

<400> 162

atcatcatca tccttgaat ccttattaac gaactctcg ccc 43

40

REIVINDICACIONES

1. Un transformante que comprende uno o más genes extraños de uno o más tipos seleccionados del grupo que consiste en un gen de fosfoenolpiruvato carboxiquinasa y un gen de piruvato carboxilasa que se incorporan en un cromosoma de *Schizosaccharomyces pombe* como hospedador,
 5 en el que se ha eliminado o desactivado un gen que codifica piruvato descarboxilasa 2 en el hospedador, el gen de fosfoenolpiruvato carboxiquinasa codifica un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO: 94 a 113, o un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia igual o superior al 80 % con una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO: 94 a 113 y tiene actividad de fosfoenolpiruvato carboxiquinasa,
 10 el gen de piruvato carboxilasa codifica un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 16, o un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia igual o superior al 80 % con una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 16 y tiene actividad de piruvato carboxilasa, y
 15 se ha eliminado o desactivado adicionalmente un gen que codifica la enzima málica 2 en el hospedador.
2. El transformante según la reivindicación 1, en el que uno o más genes extraños de la malato deshidrogenasa se incorporan adicionalmente en el mismo.
- 20 3. El transformante según la reivindicación 2, en el que los genes de la malato deshidrogenasa codifican un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO: 17 a 21, o un polipéptido que incluye una secuencia de aminoácidos que comparte una identidad de secuencia igual o superior al 80 % con una secuencia de aminoácidos representada por cualquiera de las SEQ ID NO: 17 a 21 y tiene actividad de malato deshidrogenasa.
- 25 4. El transformante según la reivindicación 1, en el que uno o más genes extraños de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa o uno o más genes extraños de la piruvato carboxilasa y uno o más genes extraños de la malato deshidrogenasa se incorporan en el cromosoma del hospedador.
- 30 5. Un procedimiento de fabricación de un ácido dicarboxílico que tiene 4 átomos de carbono, que comprende: cultivar el transformante, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en una solución de cultivo; y obtener un ácido dicarboxílico que tiene 4 átomos de carbono del transformante cultivado o un sobrenadante de cultivo.
- 35 6. El procedimiento de fabricación de un ácido dicarboxílico que tiene 4 átomos de carbono, según la reivindicación 5, en el que el ácido dicarboxílico que tiene 4 átomos de carbono es ácido málico o ácido oxaloacético.
7. El procedimiento de fabricación de un ácido dicarboxílico que tiene 4 átomos de carbono, según la reivindicación 5 o 6, en el que el cultivo continúa incluso después de que el pH de la solución de cultivo resulte igual o inferior a 3,5.
- 40

FIG. 1

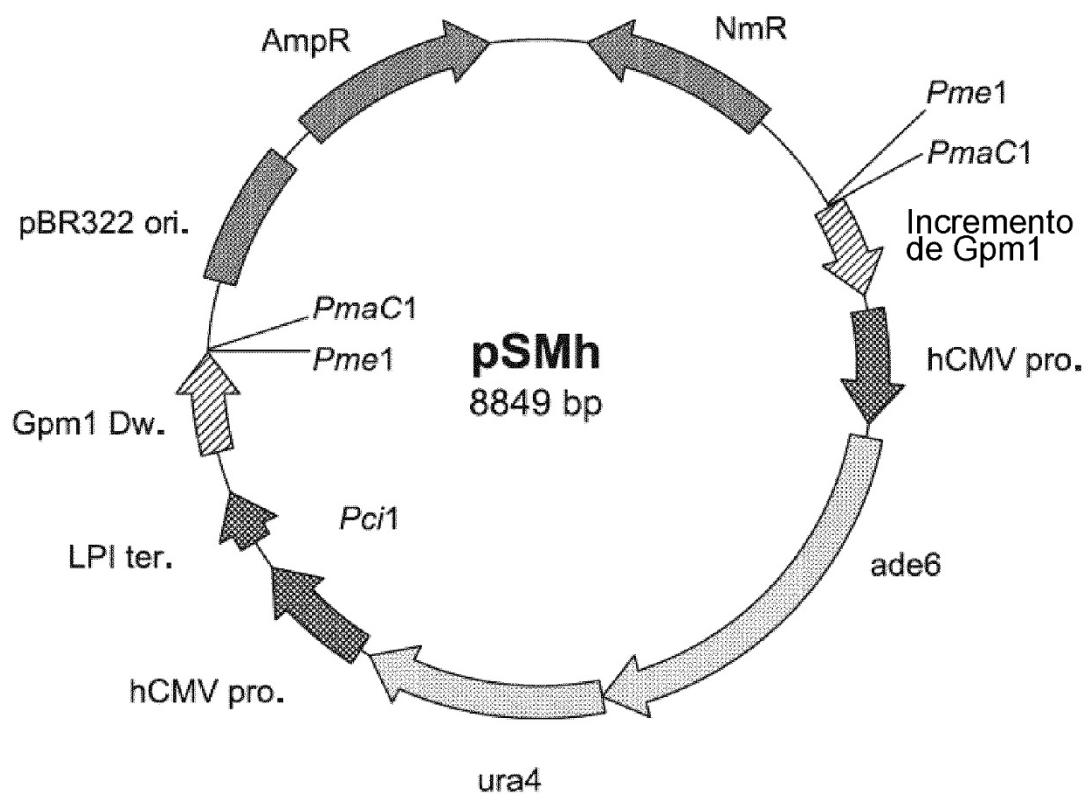


FIG. 2

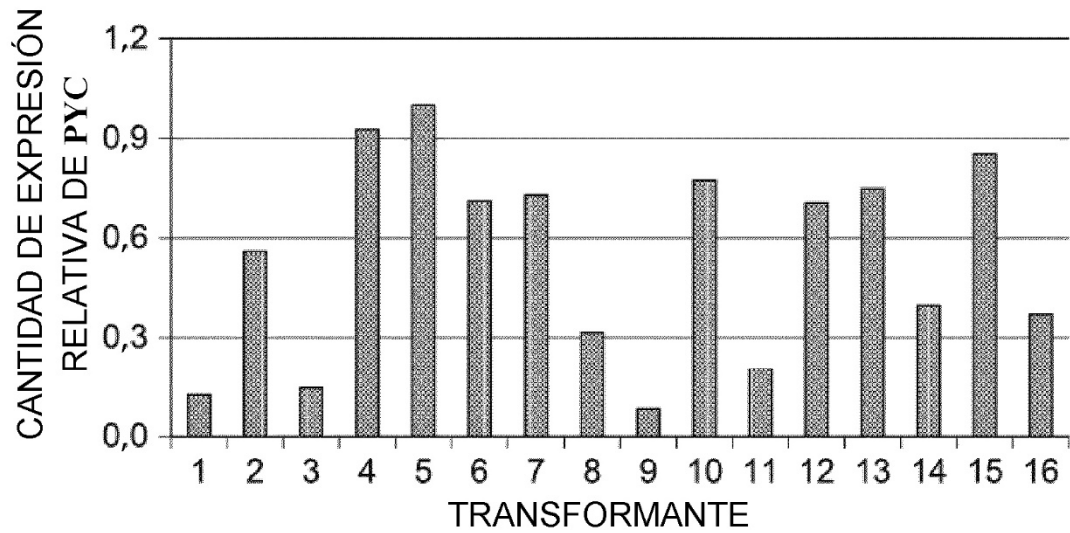


FIG. 3

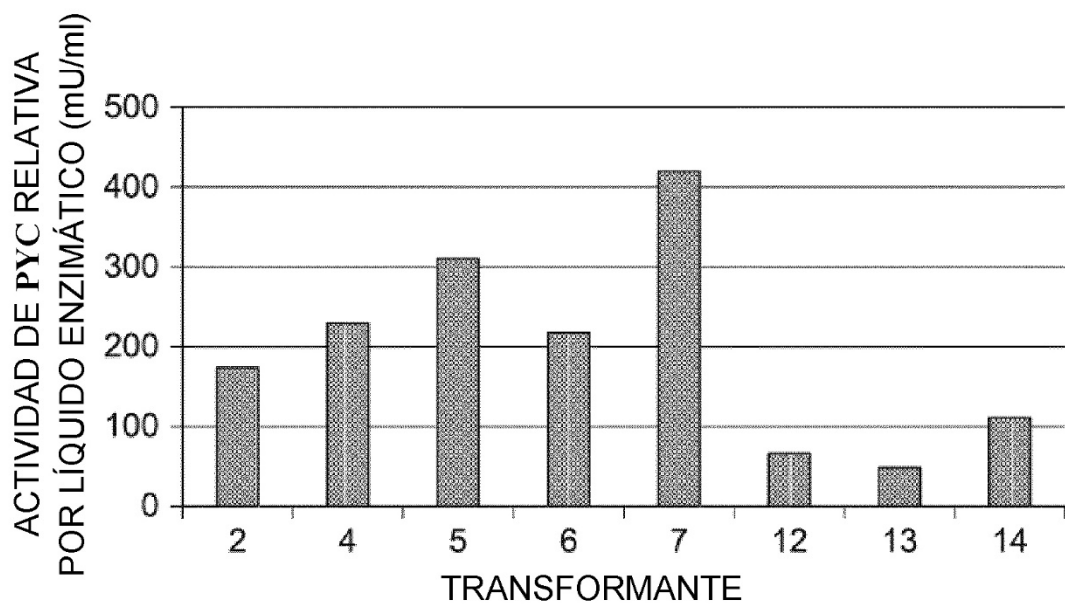


FIG. 4

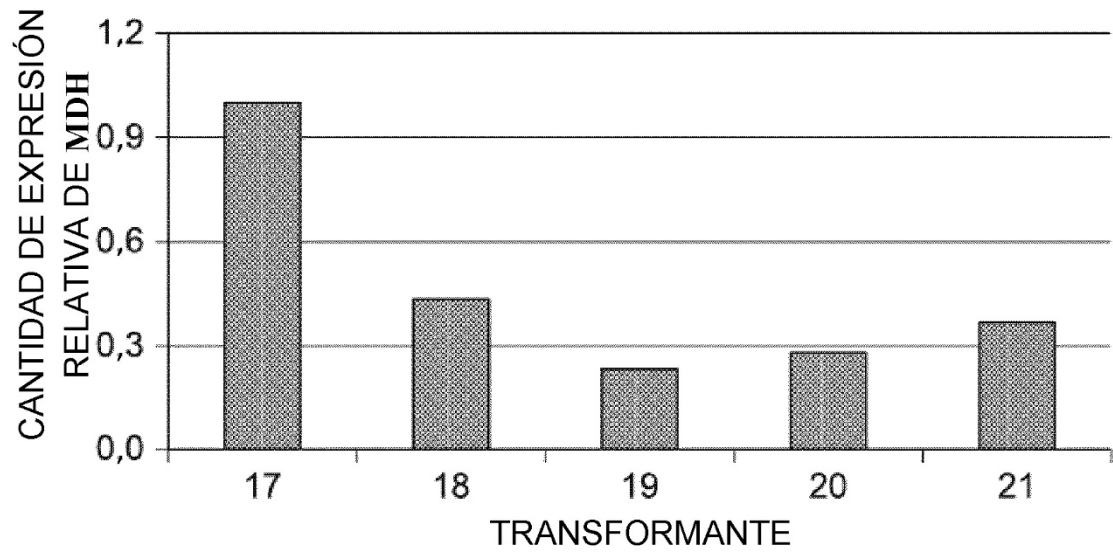


FIG. 5

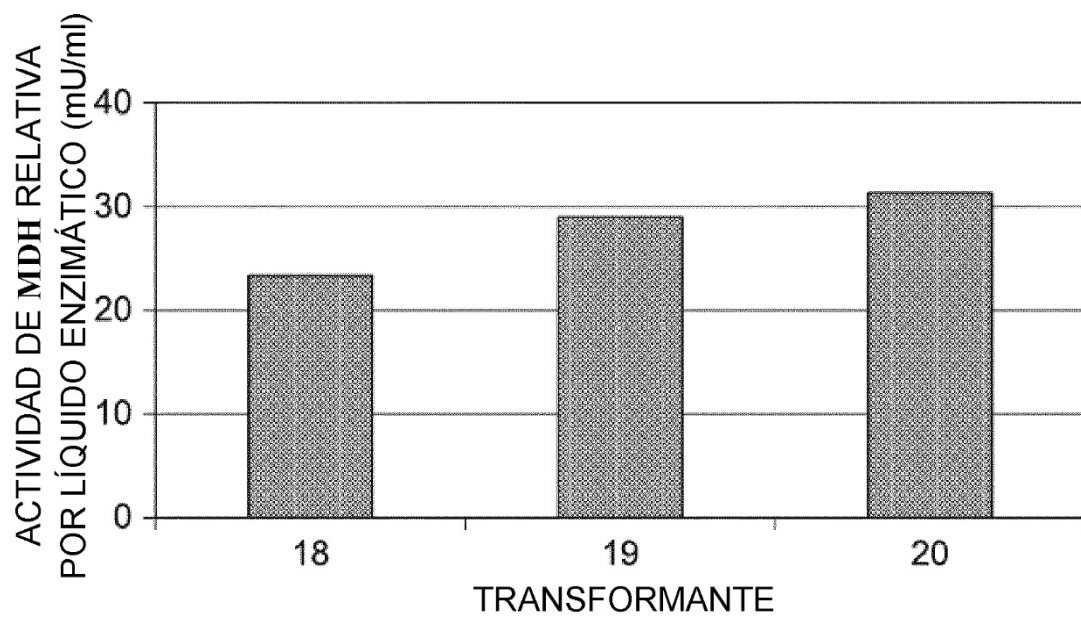


FIG. 6

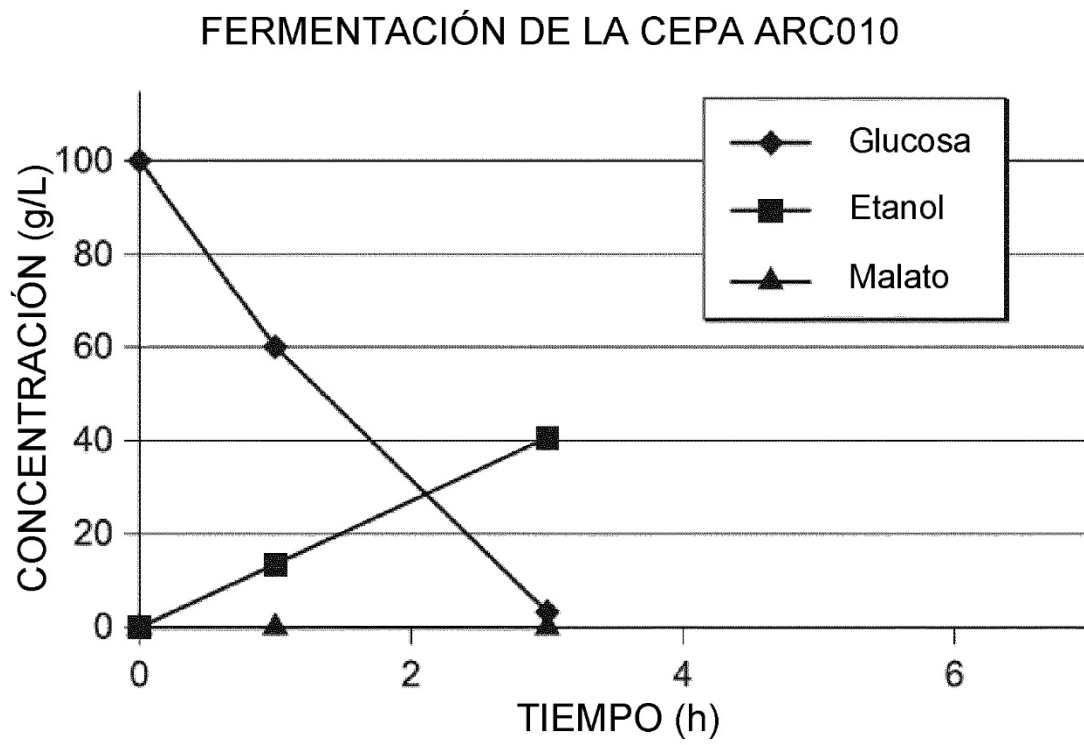


FIG 7

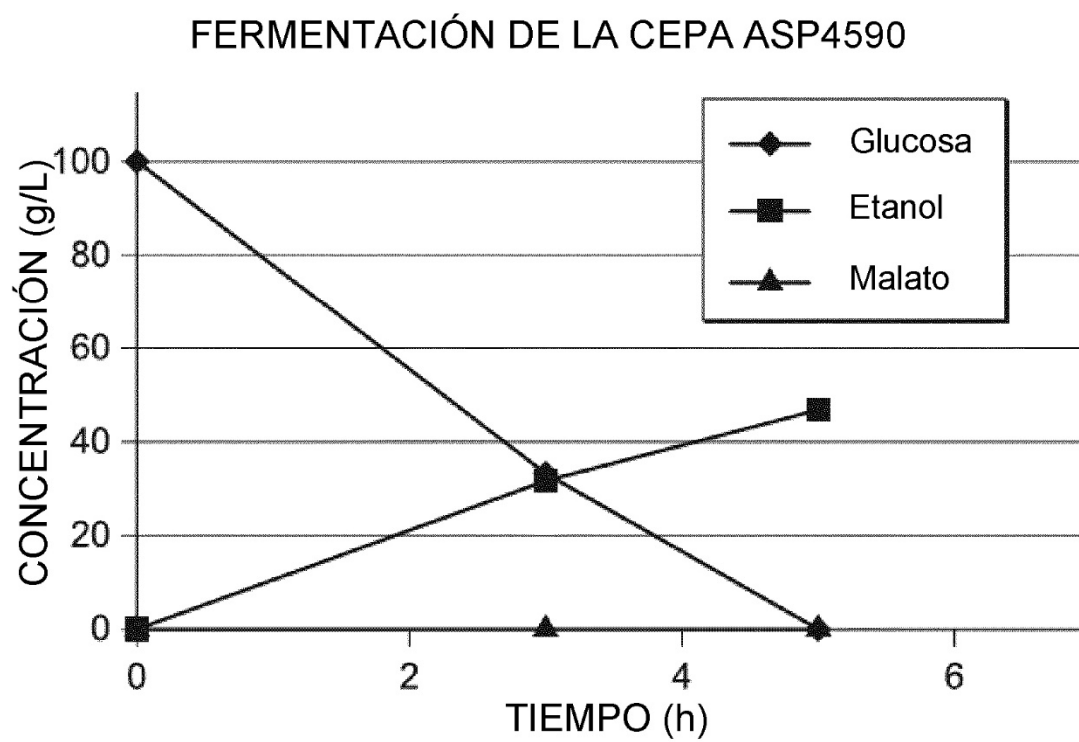


FIG. 8

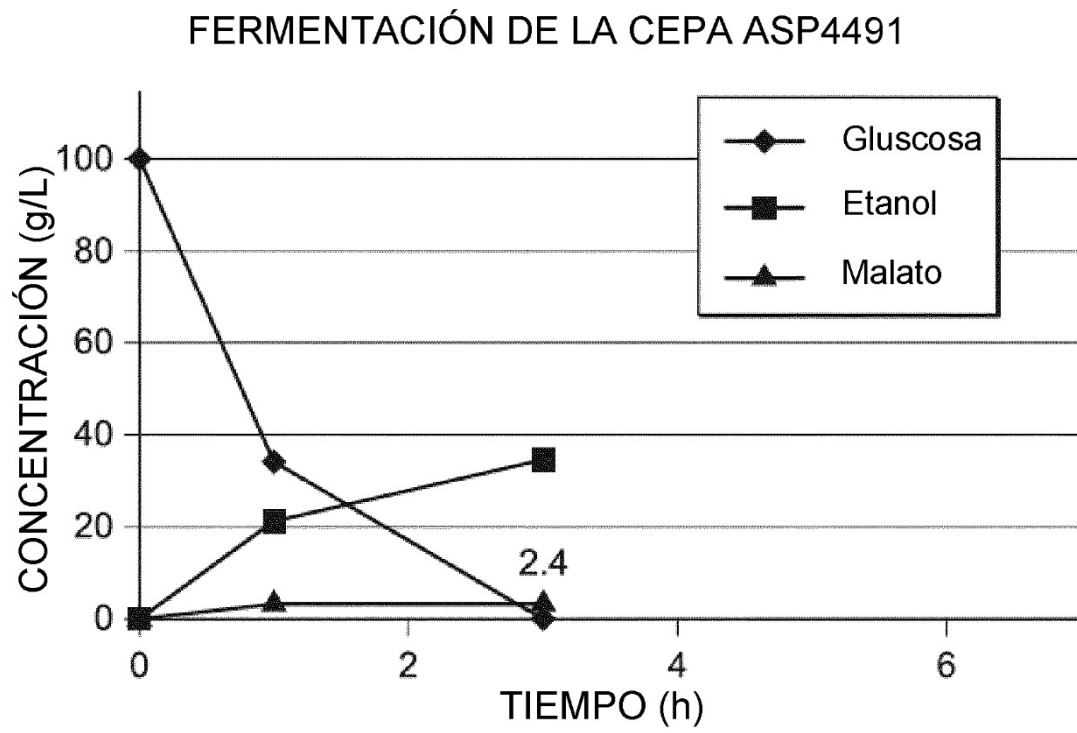


FIG. 9

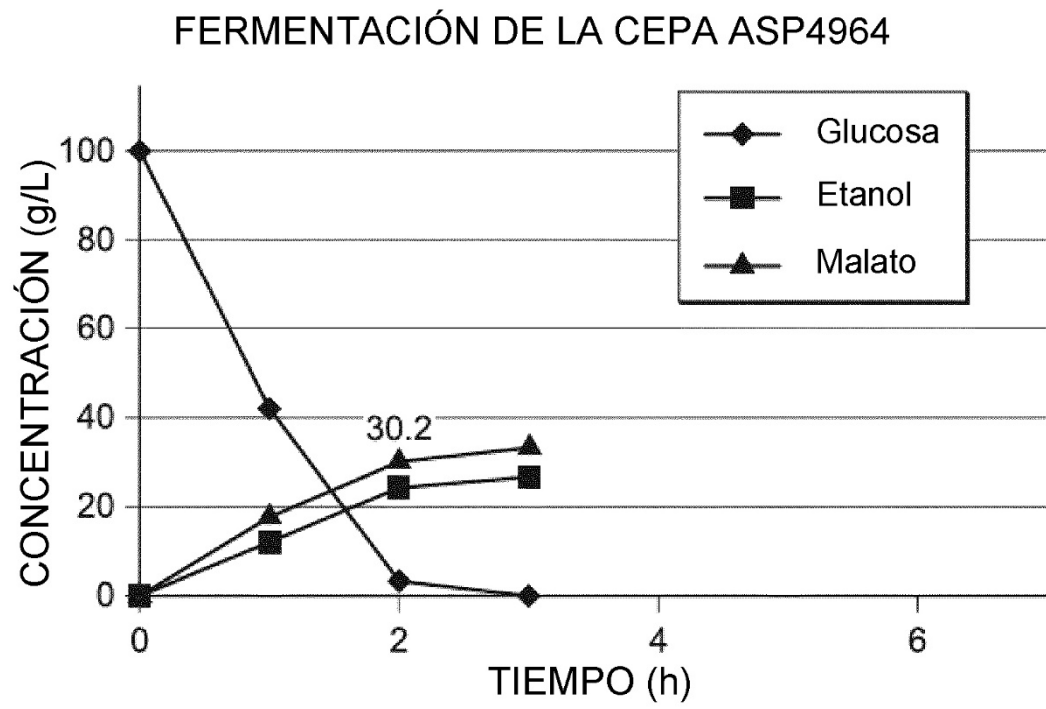


FIG. 10

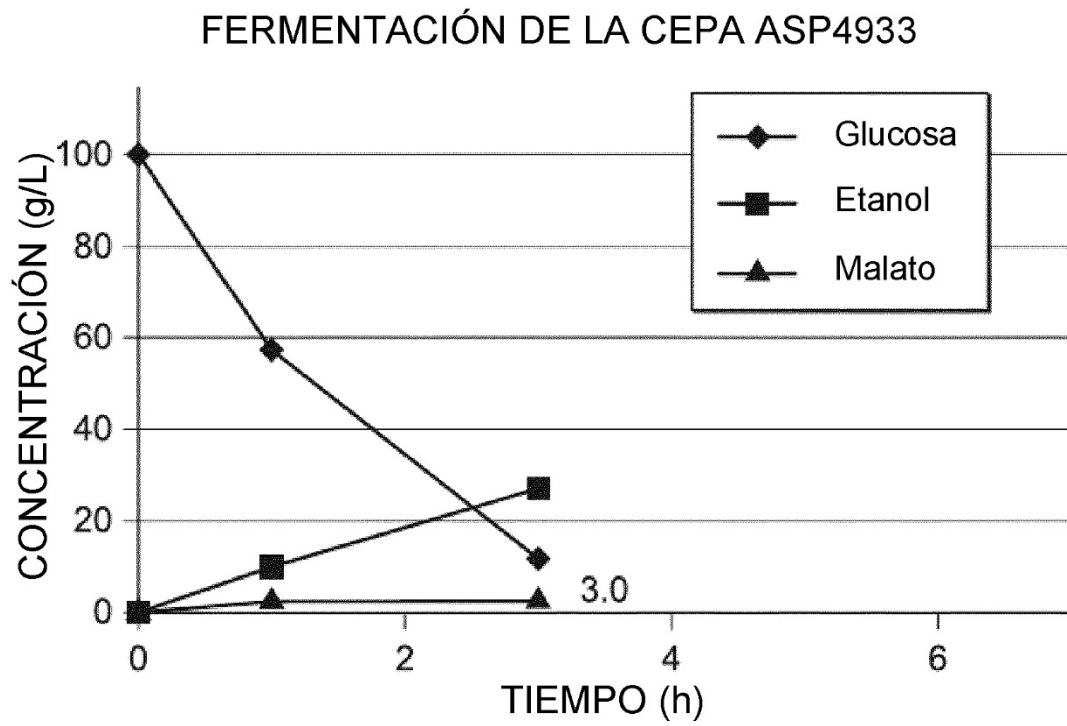


FIG. 11

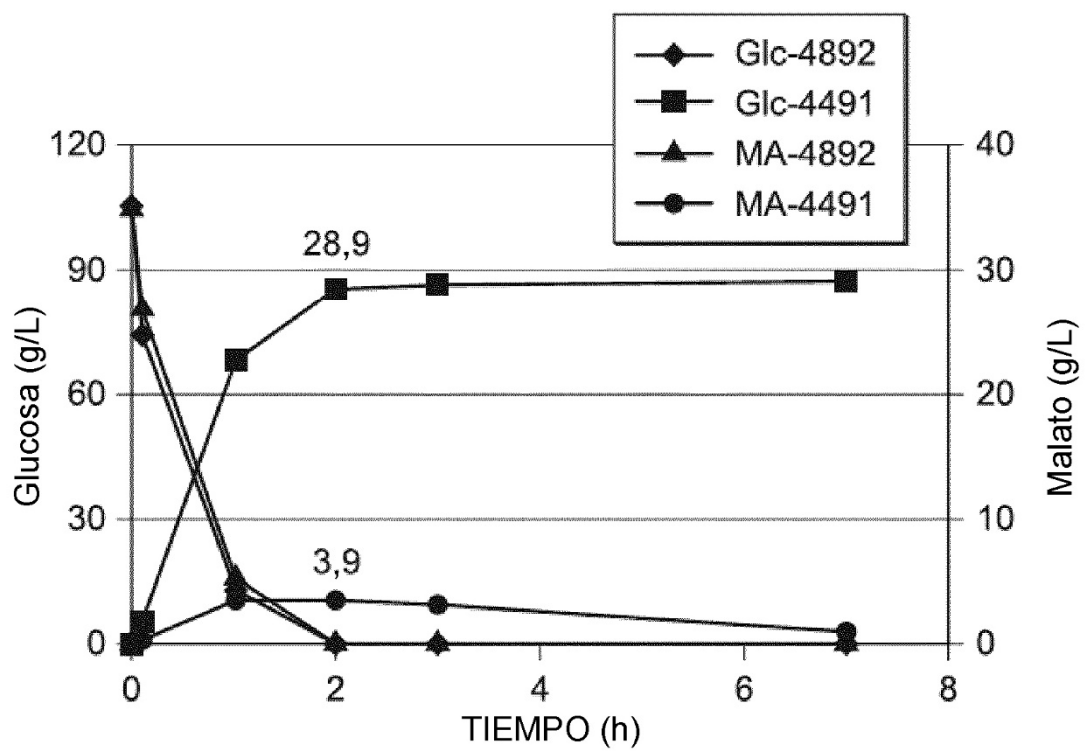


FIG. 12

