

(12) **Übersetzung der europäischen
Patentschrift**

(97) Veröffentlichungsnummer: EP 3929299

(96) Anmeldenummer: 2020182382
(96) Anmeldetag: 25.06.2020
(45) Ausgabetag: 27.10.2023

(51) Int. Cl.: **C12P 7/18** (2006.01)
C12N 1/14 (2006.01)
C12N 15/09 (2006.01)
C12N 9/04 (2006.01)

(97) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
29.12.2021 Patentblatt 21/52

(97) Bekanntmachung des Hinweises auf die
Patenterteilung:
10.08.2022 Patentblatt 22/32

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR
GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT
NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR

(56) Entgegenhaltungen:
Die Entgegenhaltungen entnehmen Sie bitte der
entsprechenden europäischen Druckschrift.

(73) Patentinhaber:
Conzil Estate GmbH
78351 Bodman-Ludwigshafen (DE)

(72) Erfinder:
Mach, Robert
1060 Vienna (AT)
Mach-Aigner, Astrid
1060 Vienna (AT)
Regnat, Katharina
1030 Vienna (AT)

(54) **ERYTHRITOL PRODUZIERENDER SAPROTROPH**

Anmerkung:

Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents im Europäischen Patentblatt kann jeder beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen)

Die Übersetzung ist gemäß §5 PatVEG vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Österreichischen Patentamt nicht geprüft!

BESCHREIBUNG

Erythritol produzierender Saprotroph

Die vorliegende Erfindung betrifft einen genetisch veränderten Saprotroph für die biotechnologische Herstellung von Erythritol und ein Verfahren zur Herstellung von Erythritol unter Verwendung dieses genetisch veränderten Saprotrophs.

In den letzten Jahren haben der Lebensstil der Menschen und der zunehmende Verzehr von Lebensmitteln mit hohem Zuckergehalt zu einem enormen Anstieg der mit dem Blutzuckerspiegel zusammenhängenden Krankheiten und Störungen, wie z. B. Diabetes mellitus Typ 2 (DMT2), geführt. Heutzutage wird davon ausgegangen, dass eine Ernährung mit niedrigem Blutzuckerspiegel und die Vermeidung übermäßiger Blutzuckerspitzen das Risiko für die Entwicklung bestimmter chronischer Krankheiten verringert und für die Erhaltung und Verbesserung der Gesundheit sowie für die Behandlung und/oder Vorbeugung zahlreicher blutzuckerbedingter Krankheiten und Störungen von Vorteil ist.

Erythritol ist ein natürlich vorkommender Vier-Kohlenstoff Zuckeralkohol, der aufgrund seiner spezifischen Eigenschaften und seiner vielfältigen Anwendungsbereiche in der Lebensmittelindustrie zunehmend an Bedeutung gewinnt. Er ist in verschiedenen Früchten wie Birnen, Trauben und Melonen, Pilzen, alkoholischen Getränken (Bier, Wein, Sake) und fermentierten Lebensmitteln wie Sojasauce und Miso-Bohnenpaste enthalten, kommt aber auch in Bioflüssigkeiten von Menschen und Tieren wie Augenlinsengewebe, Serum, Plasma, fötaler Flüssigkeit und Urin vor. Aufgrund seines geringen Molekulargewichts wird Erythritol bereits im oberen Darm leicht absorbiert und verursacht daher weniger Verdauungsbeschwerden als andere in der Lebensmittelindustrie verwendete Zuckeralkohole. Der Großteil des aufgenommenen Erythritols wird im menschlichen Körper nicht verstoffwechselt und unverändert über den Urin ausgeschieden, ohne den Blutzucker- und Insulinspiegel zu verändern (Regnat et al., Erythritol as sweetener-wherefrom and whereto?, 2018, Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 102). Außerdem ist Erythritol nicht kariogen, thermisch stabil, kristallisiert gut und ist weniger hygroskopisch als Saccharose. Aufgrund der negativen Lösungsenthalpie verursacht der Verzehr von Erythritol ein kühlendes Gefühl in der Mundhöhle. Eine 10%ige (w/v) Lösung von Erythritol hat 60-80% der Süße von Saccharose.

Im Gegensatz zu anderen Zuckeralkoholen wie Sorbitol, Xylitol, Mannitol, Lactitol und Maltitol, die seit vielen Jahren als Zuckeralternativen etabliert sind, kann Erythritol jedoch bisher nicht kommerziell sinnvoll chemisch hergestellt werden. Die Herstellung von Erythritol aus Dialdehydstärke unter Verwendung eines Nickelkatalysators bei hohen Temperaturen führt zu nicht zufriedenstellenden niedrigen Ausbeuten (Moon et al. Biotechnological production of erythritol and its applications, 2010, Appl. Microbiol. Biotechnol., Vol. 86).

In Hefe- und Pilzarten wird Erythritol über den sogenannten Pentosephosphatweg hergestellt. Es wird aus D-Erythrose-4-phosphat durch Dephosphorylierung und anschließende Reduktion von Erythrose synthetisiert. Darauf aufbauend wurde die Eignung osmophiler Hefen, wie *Aureobasidium* sp., *Trichosporonoides* sp. und *Candida magnoliae*, für die biotechnologische Produktion von Erythritol in mehreren Studien untersucht

(Ishizuka et al., Breeding of a mutant of *Aureobasidium* sp. with high erythritol production, 1989, J. Ferm. Bioeng., Vol. 68(5); Ishizuka et al., Purification and Some Properties of an Erythrose Reductase from an *Aureobasidium* sp. Mutant, 1992, Biosci. Biotech. Biochem., Vol. 56(6); US4939091A; US5962287 A; Oh et al., Increased erythritol production in fedbatch cultures of *Torula* sp. by controlling glucose concentration, 2001, JIM&B, Vol. 26; Koh et al., Scale-up of erythritol production by an osmophilic mutant of *Candida magnoliae*, 2003, Biotechnol. Lett., Vol. 25; Ryu et al., Optimization of erythritol production by *Candida magnoliae* in fed-batch culture, 2000, JIM&B, Vol. 25). In neueren Studien wurde das Potenzial von Fadenpilzen zur Herstellung von Erythritol untersucht (Jovanovic et al., 2013). EP 2 436 772 A1 offenbart die Herstellung von Erythritol durch Reduktion von Erythrose zu Erythritol unter Verwendung einer Erythrose-Reduktase aus *Hypocrea*, *Gibberella*, *Aspergillus* oder *Penicillium*. In Moon et al. (Biotechnological production of erythritol and its applications, 2010, Appl. Microbiol. Biotechnol., Vol. 86) werden mehrere Möglichkeiten zur Verbesserung der biotechnologischen Produktion von Erythritol erörtert, die die Verbesserung des Stammes, die Kontrolle der Substratkonzentration, die Optimierung der Kohlenstoffquellen, die Ergänzung von Vitaminen und Mineralien und die Beseitigung von Hemmstoffen und Nebenprodukten enthalten. Die mit den verschiedenen Stämmen erzielte Ausbeute an Erythritol war jedoch für eine Produktion im industriellen Maßstab nicht zufriedenstellend. Eine Studie von Véléz et al. (Mannitol metabolism in the phytopathogenic fungus *Alternaria alternata*, 2007, Fungal Genetics and Biology, Vol. 44) untersuchte den Einfluss der Störung des Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase-Gens auf die Produktion von Mannitol in *Alternaria alternata*.

Dementsprechend besteht nach wie vor Bedarf an einem biotechnologischen Verfahren zur Herstellung von Erythritol mit erhöhter Ausbeute. Die vorliegende Erfindung überwindet die Nachteile der Verfahren des Standes der Technik durch die Gegenstände der unabhängigen Ansprüche, insbesondere durch den genetisch veränderten Saprotroph gemäß der vorliegenden Erfindung und das Verfahren zur Herstellung von Erythritol gemäß der vorliegenden Erfindung.

Die vorliegende Erfindung betrifft insbesondere einen genetisch veränderten Saprotroph, der mindestens ein mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierendes Gen, mindestens ein mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierendes Gen, und mindestens ein Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase kodierendes inaktiviertes Gen, umfasst, wobei der Saprotroph ein filamentöser Pilz ausgewählt aus den Gattungen *Hypocrea*, *Gibberella*, *Aspergillus* und *Penicillium* ist..

Vorzugsweise ist der Saprotroph ein filamentöser Pilz, ausgewählt aus *Hypocrea jecorina* (*Trichoderma reesei*), *Gibberella zeae*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus oryzae* und *Penicillium chrysogenum*.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist der genetisch veränderte Saprotroph *Hypocrea jecorina* (*Trichoderma reesei*). Vorzugsweise basiert das genetisch veränderte Saprotroph auf dem *Trichoderma reesei*-Stamm QM6a Δ tmus53.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, *fps1*, insbesondere das kodon-

optimierte *fps1*. Vorzugsweise ist das mindestens eine mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, *fps1* aus *Saccharomyces cerevisiae*, insbesondere codon-optimiertes *fps1* aus *Saccharomyces cerevisiae*. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst das mindestens eine mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, die Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 1**, insbesondere besteht aus der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 1**. Vorzugsweise umfasst der membrangebundene Alditol-Transporter die Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 2**, insbesondere besteht aus der Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 2**.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierende Gen, *err1*, insbesondere codon-optimiertes *err1*. Vorzugsweise ist das mindestens eine mindestens eine Erythrose-Reduktase codierende Gen, *err1*, insbesondere codon-optimiertes *err1*, aus *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger* oder *Fusarium graminearum*. In einer bevorzugten Ausführungsform umfasst das mindestens eine mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierende Gen, die Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 3**, insbesondere besteht aus der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 3**. Vorzugsweise umfasst die Erythrose-Reduktase die Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 4**, insbesondere besteht aus der Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 4**.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase kodierende inaktivierte Gen, *mpdh*. Vorzugsweise umfasst das mindestens eine Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase kodierende Gen des genetisch veränderten Saprotrophs vor der Inaktivierung die Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 12**, insbesondere besteht aus der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 12** vor der Inaktivierung. Vorzugsweise umfasst die Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase, die von der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 12** kodiert wird, vor der Inaktivierung die Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 13**, insbesondere besteht aus der Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 13**.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase kodierende inaktivierte Gen des genetisch veränderten Saprotrophs deletiert.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase kodierende inaktivierte Gen des genetisch veränderten Saprotrophs funktionsunfähig.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform wird das mindestens eine Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase kodierende inaktivierte Gen des genetisch veränderten Saprotrophs durch Gen-Knock-out, insbesondere durch Genaustausch, inaktiviert. Vorzugsweise wird das mindestens eine Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase kodierende inaktivierte Gen des genetisch veränderten Saprotrophs durch Genaustausch unter Verwendung einer Deletionskassette inaktiviert.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird das mindestens eine Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase kodierende Gen des genetisch veränderten Saprotrophs durch Genome Editing, insbesondere durch Meganukleasen, Zink-Finger-Nukleasen (ZFNs), Transcription activator-like effector

nuclease (TALENs) oder durch das clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)-System inaktiviert, insbesondere funktionsunfähig gemacht.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform umfasst der genetisch veränderte Saprotoph mindestens ein, vorzugsweise mindestens zwei, vorzugsweise mindestens drei, vorzugsweise mindestens vier, vorzugsweise mindestens fünf, weitere inaktivierte Gene. Vorzugsweise ist das mindestens eine weitere inaktivierte Gen ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus einem Phospho-2-Dehydro-3-Desoxyheptonat-Aldolase 1 (Dhaps-1) kodierenden Gen, einem erythritol-utilization-factor (EUF) kodierenden Gen, ein Gen, einem Erythrose-Kinase (EYK1) kodierenden Gen, einem Erythritol-Dehydrogenase (EYD1) kodierenden Gen, einem Erythritol-Isomerase 1 (EYI1) kodierenden, und einem Erythritol-Isomerase 2 (EYI2) kodierenden Gen.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine weitere inaktivierte Gen ein Phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonat-Aldolase 1 (Dhaps-1) kodierendes Gen. Vorzugsweise umfasst das mindestens eine Phospho-2-Dehydro-3-Desoxyheptonat-Aldolase 1 (Dhaps1) kodierende Gen des genetisch veränderten Saprotophs vor der Inaktivierung die Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 14**, insbesondere besteht aus der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 14** vor der Inaktivierung. Vorzugsweise umfasst die von der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 14** kodierte Phospho-2-Dehydro-3-Desoxyheptonat-Aldolase 1 (Dhaps1) vor der Inaktivierung die Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 15**, insbesondere besteht aus der Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 15**.

In einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine weitere inaktivierte Gen ein erythritol-utilization-factor (EUF) kodierendes Gen. Vorzugsweise umfasst das mindestens eine erythritol-utilization-factor (Euf1) kodierende Gen des genetisch veränderten Saprotophs vor der Inaktivierung die Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 16**, insbesondere besteht aus der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 16** vor der Inaktivierung. Vorzugsweise umfasst der Erythritol-Verwertungsfaktor (Euf1), der von der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 16** vor der Inaktivierung kodiert wird, die Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 17**, insbesondere besteht aus der Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 17**.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine weitere inaktivierte Gen ein Erythrose-Kinase (EYK1) kodierendes Gen. Vorzugsweise umfasst das mindestens eine Erythrosekinase (Eyk1) kodierende Gen des genetisch veränderten Saprotophs vor der Inaktivierung die Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 18**, insbesondere besteht aus der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 18** vor der Inaktivierung. Vorzugsweise umfasst die Erythrose-Kinase (Eyk1), die von der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 18** kodiert wird, vor der Inaktivierung die Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 19**, insbesondere besteht aus der Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 19**.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine weitere inaktivierte Gen ein Erythritoldehydrogenase (EYD1) kodierendes Gen. Vorzugsweise umfasst das mindestens eine Erythritol-Dehydrogenase (Eyd1) kodierende Gen des genetisch veränderten Saprotophs vor der Inaktivierung die Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 20**, insbesondere besteht aus der Nukleotidsequenz der

SEQ ID Nr. 20 vor der Inaktivierung. Vorzugsweise umfasst die Erythritol-Dehydrogenase (Eyd1), die von der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 20** vor der Inaktivierung kodiert wird, die Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 21**, insbesondere besteht aus der Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 21**.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine weitere inaktivierte Gen ein Erythritol-Isomerase 1 (EYI1) kodierendes Gen. Vorzugsweise umfasst das mindestens eine Erythritol-Isomerase 1 (Eyi1) kodierende Gen des genetisch veränderten Saprotrophs vor der Inaktivierung die Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 22**, insbesondere besteht aus der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 22** vor der Inaktivierung. Vorzugsweise umfasst die Erythritol-Isomerase 1 (Eyi1), die von der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 22** vor der Inaktivierung kodiert wird, die Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 23**, insbesondere besteht aus der Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 23**.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine weitere inaktivierte Gen ein Erythritol-Isomerase 2 (EYI2) kodierendes Gen. Vorzugsweise umfasst das mindestens eine Isomerase 2 (Eyi2) kodierende Gen des genetisch veränderten Saprotrophs vor der Inaktivierung die Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 24**, insbesondere besteht aus der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 24** vor der Inaktivierung. Vorzugsweise umfasst die Isomerase 2 (Eyi2), die von der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 24** kodiert wird, vor der Inaktivierung die Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 25**, insbesondere besteht aus der Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 25**.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine weitere inaktivierte Gen ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus einem Phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonat-Aldolase 1 (Dhaps-1) kodierenden Gen, einem erythritol-utilization-factor (EUF) kodierenden Gen, einem Erythrulose-Kinase (EYK1) kodierenden Gen, einem Erythritol-Dehydrogenase (EYD1) kodierenden Gen, einem Erythritol-Isomerase (EYI1) kodierenden Gen, und einem Erythritol-Isomerase (EYI2) kodierenden Gen, des genetisch veränderten Saprotrophs deletiert.

Vorzugsweise ist das mindestens eine weitere inaktivierte Gen ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus einem Phospho-2-Dehydro-3-Desoxyheptonat-Aldolase 1 (Dhaps-1) kodierenden Gen, einem erythritol-utilization-factor (EUF) kodierenden Gen, einem Erythrulose-Kinase (EYK1) kodierenden Gen, einem Erythritol-Dehydrogenase (EYD1) kodierenden Gen, einem Erythritol-Isomerase (EYI1) kodierenden Gen, und einem Erythritol-Isomerase (EYI2) kodierenden Gen, des genetisch veränderten Saprotrophs funktionsunfähig.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform wird das mindestens eine weitere inaktivierte Gen ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus einem Phospho-2-Dehydro-3-Desoxyheptonat-Aldolase 1 (Dhaps-1) kodierenden Gen, einem erythritol-utilization-factor (EUF) kodierenden Gen, einem Erythrulose-Kinase (EYK1) kodierenden Gen, einem Erythritol-Dehydrogenase (EYD1) kodierenden Gen, einem Erythritol-Isomerase (EYI1) kodierenden Gen, und einem Erythritol-Isomerase (EYI2) kodierenden Gen, des genetisch veränderten Saprotrophs durch Gen-Knock-out, insbesondere durch Gen-Austausch, inaktiviert. Vorzugsweise wird das mindestens eine weitere inaktivierte Gen ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus einem Phospho-

2-Dehydro-3-Desoxyheptonat-Aldolase 1 (Dhps-1) kodierenden Gen, einem erythritol-utilization-factor (EUF) kodierenden Gen, einem Erythrose-Kinase (EYK1) kodierenden Gen, einem Erythritol-Dehydrogenase (EYD1) kodierenden Gen, einem Erythritol-Isomerase (EYI1) kodierenden Gen, und einem Erythritol-Isomerase (EYI2) kodierenden Gen, des genetisch veränderten Saprotophs durch Genaustausch unter Verwendung einer Deletionskassette inaktiviert.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird das mindestens eine weitere inaktivierte Gen ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus einem Phospho-2-Dehydro-3-Desoxyheptonat-Aldolase 1 (Dhps-1) kodierenden Gen, einem erythritol-utilization-factor (EUF) kodierenden Gen, einem Erythrose-Kinase (EYK1) kodierenden Gen, einem Erythritol-Dehydrogenase (EYD1) kodierenden Gen, einem Erythritol-Isomerase (EYI1) kodierenden Gen, und einem Erythritol-Isomerase (EYI2) kodierenden Gen, des genetisch veränderten Saprotophs durch Genome Editing, insbesondere durch Meganukleasen, Zink-Finger-Nukleasen (ZFNs), Transcription activator-like effector nuclease (TALENs) oder durch das clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)-System inaktiviert, insbesondere funktionsunfähig gemacht.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst das genetisch veränderte Saprotoph ferner mindestens ein mindestens eine Transketolase kodierendes Gen. Vorzugsweise ist das mindestens eine mindestens eine Transketolase kodierende Gen, *tkl1*, insbesondere kodon-optimiertes *tkl1*. Vorzugsweise umfasst der genetisch veränderte Saprotoph ferner mindestens ein *tkl1* aus *T. reesei* kodierendes Gen, insbesondere kodon-optimiertes *tkl1* aus *T. reesei*. In einer bevorzugten Ausführungsform umfasst das mindestens eine mindestens eine Transketolase kodierende Gen, die Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 5**, insbesondere besteht aus der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 5**. Vorzugsweise umfasst die mindestens eine Transketolase die Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 6**, insbesondere besteht aus der Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 6**.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst der genetisch veränderte Saprotoph ferner mindestens ein mindestens eine Transaldolase kodierendes Gen. Vorzugsweise ist das mindestens eine mindestens eine Transaldolase kodierende Gen, *tal1*, insbesondere codon-optimiertes *tal1*. Vorzugsweise umfasst der genetisch veränderte Saprotoph ferner mindestens ein *tal1* aus *T. reesei* kodierendes Gen, insbesondere kodon-optimiertes *tal1* aus *T. reesei*. In einer bevorzugten Ausführungsform umfasst das mindestens eine mindestens eine Transaldolase kodierende Gen, die Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 7**, insbesondere besteht aus der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 7**. Vorzugsweise umfasst die mindestens eine Transaldolase die Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 8**, insbesondere besteht aus der Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 8**.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst der genetisch veränderte Saprotoph ferner mindestens ein einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierendes Gen. Vorzugsweise ist das mindestens eine mindestens einen erythritol-utilization-factor kodierende Gen *euf1*, insbesondere kodon-optimiertes *euf1*. Vorzugsweise umfasst der genetisch veränderte Saprotoph ferner mindestens ein *euf1* aus *T. reesei* kodierendes Gen, insbesondere kodon-optimiertes *euf1* aus *T. reesei*. In einer bevorzugten

Ausführungsform umfasst das mindestens eine mindestens einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierende Gen, die Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 16**, insbesondere besteht aus der Nukleotidsequenz der **SEQ ID Nr. 16**. Vorzugsweise umfasst der mindestens eine erythritol-utilization-factor (EUF) die Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 17**, insbesondere besteht aus der Aminosäuresequenz der **SEQ ID Nr. 17**.

- 5 In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Transketolase kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Transaldolase kodierende Gen und/oder das mindestens eine mindestens einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierende Gen des genetisch veränderten Saprotrophs, eine exogene
10 Polynukleotidsequenz.

- Vorzugsweise ist das mindestens eine mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Transketolase kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Transaldolase kodierende Gen, und/oder das mindestens eine mindestens einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierende Gen des genetisch veränderten Saprotrophs, eine endogene Polynukleotidsequenz.
15

- In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst der genetisch veränderte Saprotroph gemäß der vorliegenden Erfindung mindestens ein exogenes mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierendes Gen. Vorzugsweise umfasst der genetisch veränderte Saprotroph nach der vorliegenden Erfindung mindestens ein endogenes mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter
20 kodierendes Gen.

Vorzugsweise umfasst er genetisch veränderte Saprotroph gemäß der vorliegenden Erfindung mindestens ein exogenes mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierendes Gen. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst der genetisch veränderte Saprotroph gemäß der vorliegenden Erfindung mindestens ein endogenes mindestens eine Erythrosereduktase kodierendes Gen.

- 25 Ferner bevorzugt umfasst er genetisch veränderte Saprotroph gemäß der vorliegenden Erfindung mindestens ein exogenes mindestens eine Transketolase kodierendes Gen. In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst der genetisch veränderte Saprotroph gemäß der vorliegenden Erfindung mindestens ein endogenes mindestens eine Transketolase kodierendes Gen.

- Vorzugsweise umfasst der genetisch veränderte Saprotroph gemäß der vorliegenden Erfindung mindestens
30 ein exogenes mindestens eine Transaldolase kodierendes Gen. Vorzugsweise umfasst er genetisch veränderte Saprotroph gemäß der vorliegenden Erfindung mindestens ein endogenes mindestens eine Transaldolase kodierendes Gen.

Vorzugsweise umfasst der genetisch veränderte Saprotroph gemäß der vorliegenden Erfindung mindestens ein exogenes mindestens einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierendes Gen. Vorzugsweise umfasst der

genetisch veränderte Saprotroph gemäß der vorliegenden Erfindung mindestens ein endogenes mindestens einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierendes Gen.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird das mindestens eine mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Transketolase kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Transaldolase kodierende Gen, und/oder das mindestens eine mindestens einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierende Gen, stabil oder transient in das Genom des genetisch veränderten Saprotrophs eingebracht.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird das mindestens eine mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Transketolase kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Transaldolase kodierende Gen und/oder das mindestens eine mindestens einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierende Gen, überexprimiert.

Vorzugsweise wird das mindestens eine mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, insbesondere das mindestens eine exogene oder endogene mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, überexprimiert. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird das mindestens eine mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierende Gen, insbesondere das mindestens eine exogene oder endogene mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierende Gen, überexprimiert. Vorzugsweise wird das mindestens eine mindestens eine Transketolase kodierende Gen, insbesondere das mindestens eine exogene oder endogene mindestens eine Transketolase kodierende Gen, überexprimiert. Ferner bevorzugt wird das mindestens eine mindestens eine Transaldolase kodierende Gen, insbesondere das mindestens eine exogene oder endogene mindestens eine Transaldolase kodierende Gen, überexprimiert. Vorzugsweise wird das mindestens eine mindestens einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierende Gen, insbesondere das mindestens eine exogene oder endogene mindestens einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierende Gen, überexprimiert.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Transketolase kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Transaldolase kodierende Gen und/oder das mindestens eine mindestens einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierende Gen, unter der Kontrolle eines konstitutiven oder induzierbaren Promotors. In einer bevorzugten Ausführungsform ist der konstitutive oder induzierbare Promotor ein natürlich vorkommender Promotor. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist der konstitutive oder induzierbare Promotor ein synthetischer Promotor. Vorzugsweise ist der konstitutive Promotor ausgewählt aus *pki*, *tef*, *gpd*. Der induzierbare Promotor ist vorzugsweise ausgewählt aus *bga1*, *bxl1*, *cbh1*, *cbh2*, *xyn1*, *xyn2*. Vorzugsweise ist das mindestens eine mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, unter der Kontrolle eines Promotors, ausgewählt aus *pki*, *tef*, *gpd*, vorzugsweise unter der Kontrolle eines *pki*-Promotors. Vorzugsweise ist das mindestens eine mindestens eine

Erythrosereduktase kodierende Gen, unter der Kontrolle eines Promotors, ausgewählt aus *pki*, *tef*, *gpd*, vorzugsweise unter der Kontrolle eines *tef*-Promotors. Vorzugsweise ist das mindestens eine mindestens eine Transketolase kodierende Gen, unter der Kontrolle eines Promotors, ausgewählt aus *pki*, *tef*, *gpd*, vorzugsweise unter der Kontrolle eines *tef*-Promotors. Vorzugsweise ist das mindestens eine mindestens eine

5 Transaldolase kodierende Gen, unter der Kontrolle eines Promotors, ausgewählt aus *pki*, *tef*, *gpd*, vorzugsweise unter der Kontrolle eines *tef*-Promotors. Vorzugsweise ist das mindestens eine mindestens einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierende Gen, unter der Kontrolle eines Promotors, ausgewählt aus *pki*, *tef*, *gpd*, vorzugsweise unter der Kontrolle eines *tef*-Promotors.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das mindestens eine

10 mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Transketolase kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Transaldolase kodierende Gen und/oder das mindestens eine mindestens einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierende Gen, auf einem Plasmid vorhanden. Vorzugsweise ist jedes des mindestens einen mindestens einen membrangebundenen Alditol-

15 Transporter kodierenden Gens, des mindestens einen mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierenden Gens, des mindestens einen mindestens eine Transketolase kodierenden Gens, des mindestens einen mindestens eine Transaldolase kodierenden Gens, und/oder des mindestens einen mindestens einen erythritol-utilization-factor (EUF) kodierenden Gens, auf einem eigenen Plasmid vorhanden.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist der genetisch veränderte

20 Saprotroph der Stamm *Trichoderma reesei*, der beim Westerdijk Fungal Biodiversity Institute unter der CBS-Nummer 146708 hinterlegt ist.

Die vorliegende Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Herstellung von Erythritol umfassend die Schritte:

- a) Bereitstellen mindestens eines genetisch veränderten Saprotrophs gemäß der vorliegenden Erfindung,
- b) Kultivieren des mindestens einen in Schritt a) bereitgestellten genetisch veränderten Saprotrophen in

25 Gegenwart eines Kulturmediums zum Erhalt von Erythritol in dem Kulturmedium,

- c) Gewinnen von Erythritol aus dem Kulturmedium.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst das Kulturmedium Lignozellulose-haltige Biomasse, insbesondere Stroh, und/oder mindestens einen Rückstand aus der Milchproduktherstellung, insbesondere Molke. Besonders bevorzugt umfasst das Kulturmedium

30 Lignozellulose-haltige Biomasse, insbesondere Stroh, vorzugsweise hydrolysiertes Stroh. Gemäß dieser besonderen Ausführungsform ist der genetisch veränderte Saprotroph in der Lage, auf Lignocellulose-haltiger Biomasse als Kohlenstoffquelle zu wachsen, insbesondere auf Lignocellulose-haltiger Biomasse als einziger Kohlenstoffquelle. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst das Kulturmedium mindestens einen Rückstand aus der Milchproduktherstellung. Besonders bevorzugt umfasst

das Kulturmedium Molke. Auf diese Weise nutzt das erfindungsgemäße Verfahren vorteilhaft kostengünstige, reichlich vorhandene und erneuerbare Substrate als Edukte für die Herstellung von Erythritol.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst das Kulturmedium Ammonium als Stickstoffquelle. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst das
5 Kulturmedium Nitrat als Stickstoffquelle.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst das Kulturmedium Glycerin.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird der in Schritt a) bereitgestellte mindestens eine genetisch veränderte Saprotroph in Schritt b) bei einer Temperatur von 25 bis 35 °C,
10 vorzugsweise 26 bis 34 °C, vorzugsweise 27 bis 33 °C, vorzugsweise 28 bis 32 °C, vorzugsweise 29 bis 31 °C, vorzugsweise 30 °C kultiviert.

Vorzugsweise ist der pH-Wert des Kulturmediums in Schritt b) im Bereich von 3 bis 8, vorzugsweise 3 bis 7, vorzugsweise 3,5 bis 6,5, vorzugsweise 3,5 bis 6, vorzugsweise 4 bis 5,5, vorzugsweise 4 bis 5.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird Schritt b) durchgeführt, bis
15 eine Konzentration von Erythritol im Kulturmedium von mindestens 1 g/L, vorzugsweise mindestens 1,5 g/L, vorzugsweise mindestens 2 g/L, vorzugsweise mindestens 2,5 g/L, vorzugsweise mindestens 3 g/L, erreicht ist.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird in Schritt b) mindestens ein osmotischen Stress verursachendes Substrat dem Kulturmedium hinzugefügt. Vorzugsweise wird das
20 mindestens eine osmotischen Stress verursachendes Substrat dem Kulturmedium nach 10 Stunden Kultivieren, vorzugsweise nach 12 Stunden Kultivieren, vorzugsweise nach 14 Stunden Kultivieren, vorzugsweise nach 16 Stunden Kultivieren hinzugefügt.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird das osmotischen Stress verursachende Substrat aus Glycerin und Natriumchlorid oder einer Kombination davon ausgewählt.
25 Vorzugsweise ist das osmotischen Stress verursachende Substrat Glycerin. Vorzugsweise ist das osmotischen Stress verursachende Substrat Natriumchlorid.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird in Schritt c) Erythritol durch Kristallisation gewonnen. Besonders bevorzugt umfasst das Gewinnen von Erythritol aus dem Kulturmedium in Schritt c) die Schritte:

- 30 i) Entfernen der Biomasse, vorzugsweise Entfernen der Biomasse durch Filtration,
- ii) Entfärben des Kulturmediums, vorzugsweise Entfärben des Kulturmediums mit Aktivkohle,

iii) Entsalzen des Kulturmediums, vorzugsweise Entsalzen und Entfärben des Kulturmediums mit mindestens einem Ionenaustauscherharz, und

iv) Aufkonzentrieren und Kristallisieren des Erythritols.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch die Verwendung eines genetisch veränderten Saprotophs gemäß der
5 vorliegenden Erfindung zur Herstellung von Erythritol.

Der Begriff "genetisch verändert" und seine grammatikalischen Äquivalente, wie sie hier verwendet werden, beziehen sich auf eine oder mehrere Veränderungen einer Nukleinsäure, z. B. der Nukleinsäure im Genom eines Organismus, insbesondere im Genom eines Saprotophs. Ein "genetisch veränderter" Saprotoph kann sich auf einen Saprotoph mit einem hinzugefügten, gelöschten und/oder veränderten, insbesondere
10 inaktivierten, Gen beziehen.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung bezieht sich der Begriff "Erythrose-Reduktase" auf jedes Enzym, das die Reduktion einer Aldose zu einem Alditol reversibel katalysiert, wobei das Enzym eine überwiegende spezifische Aktivität für die Reduktion von Erythrose zu Erythritol aufweist. Eine erfindungsgemäße "Erythrose-Reduktase" weist somit eine hohe Spezifität und Affinität für das Substrat
15 Erythrose auf. Insbesondere hat die "Erythrose-Reduktase" eine höhere Spezifität für Erythrose als für jedes andere Substrat, wie z. B. Glycerin.

Der Begriff "membrangebundener Alditol-Transporter", wie er im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung verwendet wird, bezeichnet ein Membranprotein, das geeignet ist, Alditole reversibel durch die äußere Membran zu transportieren, insbesondere um intrazellulär produzierte Alditole in das Kulturmedium zu
20 transportieren. Gemäß der vorliegenden Erfindung ist ein "membrangebundener Alditol-Transporter" geeignet, intrazellulär produziertes Erythritol durch die Membran in das Kulturmedium zu transportieren.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung bezieht sich der Begriff "Transketolase" auf ein Enzym des Pentosephosphatwegs, das den thiaminabhängigen reversiblen Transfer einer C-2-Einheit von einem Ketose-Donor zu einem Akzeptor-Aldopentose katalysiert. Insbesondere katalysiert die "Transketolase" den Transfer
25 einer C-2-Einheit von Xylulose-5-phosphat zu Ribose-5-phosphat unter Bildung von Seduheptulose-7-phosphat und Glyceraldehyd-3-phosphat.

Der Begriff "Transaldolase" bezeichnet ein Enzym des nicht-oxidativen Zweigs des Pentosephosphatwegs, das den reversiblen Transfer einer C-3-Einheit von einem Ketose-Donor zu einer Akzeptor-Aldose katalysiert. Insbesondere katalysiert die "Transketolase" den Transfer einer C-3-Einheit von Seduheptulose-7-phosphat
30 zu Glyceraldehyd-3-phosphat unter Bildung von Erythrose-4-phosphat und Fructose-6-phosphat.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ist ein "inaktiviertes" Gen ein Gen, das vorübergehend oder dauerhaft nicht transkribiert wird oder transkribiert werden kann, aber das Transkript ist für die Gentranslation nicht zugänglich. Die Inaktivierung eines Gens gemäß der vorliegenden Erfindung enthält unter anderem die Inaktivierung durch partielle oder vollständige Gendeletion, partiellen oder vollständigen

Genersatz, Genrepression, Geninsertion und Genmutation. "Inaktivierung" im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung enthält ferner jede posttranskriptionale Genregulation, insbesondere durch RNAi oder siRNA, die zu einer Hemmung der Translation des Transkripts in das Genprodukt führt.

5 Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ist ein "funktionsunfähiges" Gen ein Gen, das im Genom eines Organismus oder eines Plasmid in einem Organismus vorhanden ist, wobei das Gen entweder nicht transkribiert wird oder transkribiert wird, das Transkript aber nicht in das Genprodukt translatiert wird.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ist ein "deletiertes" Gen ein Gen, das zuvor im Genom eines Organismus oder eines Plasmids in einem Organismus vorhanden war, aber vollständig aus dem Genom des Organismus oder des Plasmids im Organismus entfernt wurde.

10 Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung bezieht sich das Verb "überexprimieren" auf die künstliche Expression eines Gens in erhöhter Menge. Dies enthält die induzierbare Überexpression eines Gens, die mit Hilfe eines induzierbaren Promotors reguliert werden kann, und die konstante Überexpression eines Gens mit Hilfe eines konstitutiven Promotors.

15 Im Rahmen der vorliegenden Erfindung soll der Begriff "a" die Bedeutung von "ein" oder "ein oder mehrere" enthalten.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung hat der Begriff "umfassend" vorzugsweise die Bedeutung von "aufweisend" oder "enthaltend", das heißt die spezifisch identifizierten Elemente enthaltend, ohne das Vorhandensein weiterer Elemente auszuschließen. In einer bevorzugten Ausführungsform ist der Begriff "umfassend" jedoch auch im Sinne von "im Wesentlichen bestehend aus" und in einer weiteren bevorzugten
20 Ausführungsform im Sinne von "bestehend aus" zu verstehen.

Der Begriff "und/oder" wird hier verwendet, um die Offenbarung einer beliebigen Kombination von Einzelelementen auszudrücken, die innerhalb einer Auflistung verbunden sind. Lediglich zur Veranschaulichung kann der Ausdruck "A, B, und/oder C" A einzeln, B einzeln, C einzeln, (A und B), (B und C), (A und C) und (A, B und C) bedeuten.

25 Weitere bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung sind Gegenstand der Unteransprüche.

Die Erfindung wird anhand des folgenden Beispiels und der beigefügten Figuren näher beschrieben.

Fig. 1 zeigt einen Vergleich der Trockenbiomasse eines *T. reesei* Wildtyp-Stammes (WT), eines *T. reesei*-Stammes (Stamm 1), der das Alditol-Transporter-Gen *fps1* überexprimiert und ein Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase (*mpdh*) kodierendes inaktiviertes Gen umfasst, und eines *T. reesei*-Stammes (Stamm 2), der das Alditol-Transporter-Gen *fps1* und das Erythrose-Reduktase kodierende Gen *err1* überexprimiert sowie ein Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase (*mpdh*) kodierendes inaktiviertes Gen umfasst, nach 40 Stunden Kultivierung.
30

Fig. 2 zeigt die Glucosekonzentration im Kulturmedium nach 18, 28, 30, 32, 34, 36, 38 und 40 Stunden Kultivieren des Wildtyp-Stammes (WT) und der Stämme 1 und 2.

Fig. 3 zeigt die Glycerinkonzentration im Kulturmedium nach 18, 28, 30, 32, 34, 36, 38 und 40 Stunden Kultivieren des Wildtyp-Stammes (WT) und der Stämme 1 und 2.

5 **Fig. 4** zeigt die Erythritolkonzentration im Kulturmedium nach 18, 28, 30, 32, 34, 36, 38 und 40 Stunden Kultivieren des Wildtyp-Stammes (WT) und der Stämme 1 und 2.

Fig. 5 zeigt eine Plasmidkarte von pKR_ReAsl1fps1 (siehe auch SEQ ID Nr. 9).

Fig. 6 zeigt eine Plasmidkarte von pKR_Rpyr4err1 (siehe auch SEQ ID Nr. 10).

Fig. 7 zeigt eine Deletionskassette zur Deletion von *mpdh* (siehe auch SEQ ID Nr. 11).

10

Beispiel

1.1 Vergleich von *T. reesei*-Stämmen

Für die Charakterisierung des Phänotyps wurden die folgenden Stämme verwendet:

- 15 - der Wildtyp-Stamm QM6aΔ*tmus53*, kurz "WT" genannt,
- QM6aΔ*tmus53fps1*(*Reas1*)Δ*mpdh*(*hygR*), kurz "Stamm 1" genannt, und
- QM6aΔ*tmus53fps1*(*Reas1*)OEerr1(*Repyr4*)Δ*mpdh*(*hygR*), kurz "Stamm 2" genannt. Dieser Stamm wurde am 25.05.2020 in der eingeschränkten CBS-Sammlung des Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, Niederlande, vom Hinterleger, der Technischen Universität Wien (Gumpendorfer Straße 1a, 1060 Wien, Österreich), gemäß den Bestimmungen des Budapester Vertrags über die internationale Anerkennung der Hinterlegung von Mikroorganismen für die Zwecke von Patentverfahren hinterlegt. Das entsprechende Lebensfähigkeitszertifikat wurde ausgestellt und der Stamm erhielt die Zugangsnummer CBS 146708.
- 20

1.2 Materialien und Methoden

1.2.1 Erzeugung von *T. reesei*-Stämmen

- 25 Der in den Experimenten verwendete *T. reesei*-Elternstamm ist auxotroph für Uridin (Fehlen der Funktion *pyr4*), Arginin (Fehlen der Funktion *asl1*), Histidin (Fehlen der Funktion 80820 HisG) und ist weiter resistent gegen Hygromycin (*hygR*). Die erste Transformation mit dem Plasmid pKR_Reas1fps1 (siehe Fig. 5) zur Wiederherstellung des *asl1*-Locus führt nicht nur das *fps1*-Gen in das Genom ein, sondern macht den Stamm

auch wieder Hygromycin-empfindlich. Das Erythrose-Reduktase kodierende *err1*-Gen, wurde mit dem Plasmid pKR_Repyr4err1 eingeführt (siehe Abb. 6). Die Deletion von *mpdh* erfolgte durch Transformation einer Deletionskassette (siehe Abb. 7), um die Hygromycinresistenz durch homologe Rekombination wiederherzustellen. Alle Transformationen werden als Protoplastentransformationen durchgeführt. In der Regel wurden 30 bis 50 µg verdaute Plasmid-DNA (in 15 µl sterilem doppelt destilliertem Wasser) für die Transformation von 10^7 Protoplasten (in 200 µl) verwendet. Für die Selektion auf Resistenz gegen Hygromycin B wurden 100 µl bis 2 ml des Transformationsreaktionsgemisches in 10 ml geschmolzenen, 50 °C warmen Malzextrakt (MEX)-Agar mit 1,2 M Sorbitol gegeben. Dieses Gemisch wurde in sterile Petrischalen gegossen und nach dem Verfestigen 5 Stunden lang bei 30 °C inkubiert. Anschließend wurden 10 ml geschmolzener, 50 °C warmer MEX-Agar, der 1,2 M Sorbitol und eine doppelte Konzentration von Hygromycin B enthielt, auf die Protoplasten enthaltende Schicht gegossen. Die Platten wurden bei 30 °C 2 bis 5 Tage lang inkubiert, bis Kolonien sichtbar wurden. Zur Selektion auf Prototrophie wurden 100 µl bis 2 ml des Transformationsreaktionsgemisches zu 20 ml geschmolzenem, 50 °C warmem Minimalmedium-Agar gegeben, das 1,2 M Sorbitol und im Falle der *as1*-Rücktransformation zusätzlich 0,25 mM L-Arginin enthielt. Dieses Gemisch wurde in sterile Petrischalen gegossen und nach dem Verfestigen für 3 bis 7 Tage bei 30 °C inkubiert, bis Kolonien sichtbar waren.

1.2.2 Kultivieren von *T. reesei* und Induktion der Erythritol-Synthese

In dem Versuch wurde Ammonium als Stickstoffquelle und Glucose als Kohlenstoffquelle unter osmotischem Stress verwendet. Die Gesamtdauer des Kultivierens betrug 40 Stunden. Nach 10 Stunden des Kultivierens zur Biomasseproduktion wurde dem Medium Natriumchlorid zugegeben, um osmotischen Stress auszulösen. Die Proben der Kulturbrühe wurden zum Zeitpunkt dieser Zugabe und nach 28 Stunden Gesamtkultivierungszeit und dann alle zwei Stunden bis zum Ende des Kultivierens entnommen. Die Proben wurden zentrifugiert, um das Myzel vom Überstand zu trennen.

Das Kultivieren erfolgte mit dem Wildtyp-Stamm (WT), QM6a_fm (Stamm 1) und QM6a_fem (Stamm 2) in 100 ml Schüttelkolben, die 25 ml Kultiviermedium ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2,80 g/l, KH_2PO_4 4,00 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1,0 g/l, NaCl 0,5 g/l, Pepton aus Casein 0,1 g/l, Tween®80 0,5 g/l), ergänzt mit 1,5 ml/l Spurenelementlösung ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,90 mM, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,50 mM, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,24 mM, $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,68 mM). Für die Inokulation wurden 10^9 Konidiosporen pro Liter verwendet. Allen Kolben wurden 0,3 ml 0,2 M Histidin und 0,25 ml 0,2 M Uridin zugegeben. Nach 10 Stunden wurden 0,5 ml 5 M NaCl zugegeben. Die Schüttelgeschwindigkeit betrug 180 U/min, die Temperatur war 30 °C.

Nach dem Kultivieren wurde die gesamte Kulturbrühe durch Miracloth filtriert, die Myzelien wurden mit Whatman-Filterpapier trocken gepresst und über Nacht bei 80 °C getrocknet.

Die Konzentrationen von Glucose, Glycerin, Mannitol und Erythritol wurden mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) quantifiziert (Shimadzu Prominence Series mit einem RID-

20A Brechungsindexdetektor). Die Kulturüberstände wurden durch 0,20-µm-Membranen filtriert und mittels HPLC unter Verwendung einer Rezex RCM-Monosaccharid-Säule (300 mm x 7,8 mm; Phenomenex, Torrance, CA, USA) gemessen. Die mobile Phase war 30% Acetonitril (HPLC-Qualität). Für die Probenanalyse wurde die Säule bei 60 °C mit 30 % Acetonitril (HPLC-Qualität) bei einer Flussrate von 0,6 ml/min eluiert.

5

1.3 *Ergebnisse*

Die Biomasseproduktion am Ende der Kultivierung ist bei allen Stämmen nahezu gleich. Der WT-Stamm produziert etwas mehr Biomasse (Fig. 1). Der Glucoseverbrauch ist bei Stamm 2 im Vergleich zu WT und Stamm 1 schneller, was sich aus Konzentrationsmessungen in den jeweiligen Überständen ableiten lässt (Fig. 2).

10

Die Glycerinkonzentration im Überstand von Stamm 1 ist aufgrund der Deletion der Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase immer höher als im WT (Fig. 3), da diese Deletion zur Eliminierung der Produktion von Mannitol führt und die Stämme mehr von dem Osmolyt Glycerin produzieren. Während Stamm 1 einen konstanten Anstieg der Glycerinproduktion aufweist, zeigt Stamm 2 mit dem überexprimierten *err1*-Gen eine schwankende Anhäufung von Glycerin über die Zeit (Fig. 3). Erythritol ist nur in den Überständen von Stämmen, die den Transporter FPS1 von *Saccharomyces cerevisiae* tragen, nachweisbar (Fig. 4). Untersuchungen zum Verbrauch von Erythritol zeigten, dass alle Stämme, einschließlich WT, auf Erythritol als einziger Kohlenstoffquelle wachsen können (Daten nicht gezeigt). Das Vorhandensein von Erythritol im Überstand scheint mit der Sekretion von Glycerin zusammenzufallen und ist bei Stamm 2 höher (Fig. 3 und Fig. 4).

15

20

SEQUENZPROTOKOLL

<110> Conzil Estate GmbH

<120> Erythritol produzierender Saprotroph

<130> 208477

<160> 25

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 2010

<212> DNA

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 1

atgagcaatc cccaaaaggc actgaacgac ttcctcagct ccgagagcgt ccacaccac	60
gactcctcac gtaagcagtc caacaagcaa tcctcggacg agggccgtag ctcgagccag	120
ccctcccacc atcactccgg aggaactaat aacaataaca acaataacaa caacaacaac	180
aacagcaaca acaacaacaa cggtaacgat ggcggaacg acgacgacta tgactacgag	240
atgcaggact accgtccctc cccacagtct gctaggccta ctcccaccta cgtgccccaa	300
tacagtgtcg agtcgggcac cgcattcccc attcaagagg tcattccctc ggcctacatt	360
aacacccaag acatcaacca caaggacaac ggccccctt ccgcatcgtc aaaccgcgct	420
ttccgcccc gcggccagac gaccgtcagc gccaacgtcc tgaacataga ggactttctac	480
aagaatgcgg acgatgcaca cacaattcca gagtgcgcatc tgagccggcg tcgctcccga	540
tcacgggcca cgtcaaatgc aggccactcc gccaacaccg gcgccaccaa tggctgtact	600
acgggcgccc agaccaacat ggagagcaac gagtccccca ggaacgtgcc gataatggtc	660
aagcctaaga ccctctacca gaaccgcgag acccccacag ttctccctc aacttaccac	720
ccgattaaca agtggagctc cgttaagaat acctatttaa aagagttcct cgccgagttt	780
atgggtacga tggatcatgat catcttcggc agcgccgtcg tatgccaggt caacgtcgcc	840
ggcaagatcc agcaggacaa cttcaacgta gccctcgaca acctcaatgt cacgggctct	900
tccgccgaga caatcgacgc catgaagagc ctgactagcc tagtctcctc tgtcgccggt	960
ggcaccttcg atgacgttgc cctcgggtgg gccgctgccg tggtaatggg ctacttttgt	1020
gcaggtggct cggcaatctc tggagcccac ctgaacccat caatcacct cgctaacctc	1080
gtttatcgag gctttcccct gaagaaggtc ccatattact tcgcaggcca gctgattgg	1140

gctttcacgg gagccctcat tctgttcatt tgggtacaaga gggtccttca ggaggcatac 1200
 tcggactggt ggatgaacga atccgtcgct ggcatgtttt gtgtcttccc aaagccctac 1260
 ctgagctctg ggcggcagtt ttttagcgag ttcctctgcg gcgccatgct ccaggccggg 1320
 acattcgccc tgacggatcc ctacacgtgc ttgagctcag atgtatttcc cctgatgatg 1380
 ttcatcttca ttttcatcat taacgcttcg atggcatatc agacaggtac tgcgatgaac 1440
 ctggcacggg atctgggccc cgcctcgcc ctctacgcag tgggcttcga ccacaagatg 1500
 ctctgggtcc accaccacca cttcttttgg gtgccgatgg tagggccgtt tattggtgcc 1560
 ctgatggggg gcctcgtcta cgacgtctgt atctaccaag gccacgaatc accggttaac 1620
 tggctctctc ccgtgtacaa ggaaatgatt atgcgcgcat ggtttaggcg ccccggatgg 1680
 aagaagcggg accgagctag gaggacttct gacctctccg acttctctta caataatgac 1740
 gacgacgagg aattcggcga acgcatggcg cttcagaaga cgaagacgaa gtctagcatt 1800
 tccgacaacg agaacgaggc cggcgagaag aaggttcagt tcaagtccgt tcagcgaggg 1860
 aagcggacct tcggcggcat cccgacaatt cttgaggagg aggatagcat cgagactgcc 1920
 agcctcggcg ccacgacaac ggattctatt ggtctctctg acactagctc tgaggacagc 1980
 cactacggca acgcgaagaa agtcacctga 2010

<210> 2
 <211> 669
 <212> PRT
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 2

Met Ser Asn Pro Gln Lys Ala Leu Asn Asp Phe Leu Ser Ser Glu Ser
1 5 10 15

Val His Thr His Asp Ser Ser Arg Lys Gln Ser Asn Lys Gln Ser Ser
20 25 30

Asp Glu Gly Arg Ser Ser Ser Gln Pro Ser His His His Ser Gly Gly
35 40 45

Thr Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Ser Asn Asn
50 55 60

Asn Asn Asn Gly Asn Asp Gly Gly Asn Asp Asp Asp Tyr Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Met Gln Asp Tyr Arg Pro Ser Pro Gln Ser Ala Arg Pro Thr Pro Thr
 85 90 95

Tyr Val Pro Gln Tyr Ser Val Glu Ser Gly Thr Ala Phe Pro Ile Gln
 100 105 110

Glu Val Ile Pro Ser Ala Tyr Ile Asn Thr Gln Asp Ile Asn His Lys
 115 120 125

Asp Asn Gly Pro Pro Ser Ala Ser Ser Asn Arg Ala Phe Arg Pro Arg
 130 135 140

Gly Gln Thr Thr Val Ser Ala Asn Val Leu Asn Ile Glu Asp Phe Tyr
 145 150 155 160

Lys Asn Ala Asp Asp Ala His Thr Ile Pro Glu Ser His Leu Ser Arg
 165 170 175

Arg Arg Ser Arg Ser Arg Ala Thr Ser Asn Ala Gly His Ser Ala Asn
 180 185 190

Thr Gly Ala Thr Asn Gly Arg Thr Thr Gly Ala Gln Thr Asn Met Glu
 195 200 205

Ser Asn Glu Ser Pro Arg Asn Val Pro Ile Met Val Lys Pro Lys Thr
 210 215 220

Leu Tyr Gln Asn Pro Gln Thr Pro Thr Val Leu Pro Ser Thr Tyr His
 225 230 235 240

Pro Ile Asn Lys Trp Ser Ser Val Lys Asn Thr Tyr Leu Lys Glu Phe
 245 250 255

Leu Ala Glu Phe Met Gly Thr Met Val Met Ile Ile Phe Gly Ser Ala
 260 265 270

Val Val Cys Gln Val Asn Val Ala Gly Lys Ile Gln Gln Asp Asn Phe
 275 280 285

Asn Val Ala Leu Asp Asn Leu Asn Val Thr Gly Ser Ser Ala Glu Thr
 290 295 300

Ile Asp Ala Met Lys Ser Leu Thr Ser Leu Val Ser Ser Val Ala Gly
 305 310 315 320

Gly Thr Phe Asp Asp Val Ala Leu Gly Trp Ala Ala Ala Val Val Met
 325 330 335

Gly Tyr Phe Cys Ala Gly Gly Ser Ala Ile Ser Gly Ala His Leu Asn
 340 345 350

Pro Ser Ile Thr Leu Ala Asn Leu Val Tyr Arg Gly Phe Pro Leu Lys
 355 360 365

Lys Val Pro Tyr Tyr Phe Ala Gly Gln Leu Ile Gly Ala Phe Thr Gly
 370 375 380

Ala Leu Ile Leu Phe Ile Trp Tyr Lys Arg Val Leu Gln Glu Ala Tyr
 385 390 395 400

Ser Asp Trp Trp Met Asn Glu Ser Val Ala Gly Met Phe Cys Val Phe
 405 410 415

Pro Lys Pro Tyr Leu Ser Ser Gly Arg Gln Phe Phe Ser Glu Phe Leu
 420 425 430

Cys Gly Ala Met Leu Gln Ala Gly Thr Phe Ala Leu Thr Asp Pro Tyr
 435 440 445

Thr Cys Leu Ser Ser Asp Val Phe Pro Leu Met Met Phe Ile Leu Ile
 450 455 460

Phe Ile Ile Asn Ala Ser Met Ala Tyr Gln Thr Gly Thr Ala Met Asn
 465 470 475 480

Leu Ala Arg Asp Leu Gly Pro Arg Leu Ala Leu Tyr Ala Val Gly Phe
 485 490 495

Asp His Lys Met Leu Trp Val His His His His Phe Phe Trp Val Pro
 500 505 510

Met Val Gly Pro Phe Ile Gly Ala Leu Met Gly Gly Leu Val Tyr Asp
 515 520 525

Val Cys Ile Tyr Gln Gly His Glu Ser Pro Val Asn Trp Ser Leu Pro
 530 535 540

Val Tyr Lys Glu Met Ile Met Arg Ala Trp Phe Arg Arg Pro Gly Trp
 545 550 555 560

Lys Lys Arg Asn Arg Ala Arg Arg Thr Ser Asp Leu Ser Asp Phe Ser
 565 570 575

Tyr Asn Asn Asp Asp Asp Glu Glu Phe Gly Glu Arg Met Ala Leu Gln
 580 585 590

Lys Thr Lys Thr Lys Ser Ser Ile Ser Asp Asn Glu Asn Glu Ala Gly
 595 600 605

Glu Lys Lys Val Gln Phe Lys Ser Val Gln Arg Gly Lys Arg Thr Phe
 610 615 620

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

Ser Leu Gly Ala Thr Thr Thr Asp Ser Ile Gly Leu Ser Asp Thr Ser
 645 650 655

Ser Glu Asp Ser His Tyr Gly Asn Ala Lys Lys Val Thr
 660 665

<210> 3
 <211> 996
 <212> DNA
 <213> Trichoderma reesei

<400> 3
 atgtcttccg gaaggaccgt caccctcaac accggctaca agatcccca gatcggctac 60
 ggcacctggc aggccgctcc cggcgaggtc ggcgctggtg tctttgaggc cctcaaggtt 120
 ggctaccgcc acctcgacct ggccaaggtc tacggcaacc agaaggaggt tggtgagggc 180
 atcaagaagg ctcttgctga ggtccccggc ctgaagcgcg aggatatttt catcacctcc 240
 aagctgtgga acaactccca caagcccgag gacgtcgagc ccgctctcga cgacaccctg 300
 gccgagcttg gcctcgacta ccttgacctc tacctcatcc actggcccgt tgcctttgct 360

```

cccggcgcgcg acctcttccc caagtccgag gacggctccg aggtgcagct caaccagaat      420
gtgtccattg tccagacctg gaaggccatg accgagctgc ccaagtccaa ggtccgctcc      480
gtcgggtgtct ccaactttac catagagcac ctcgacgccg tcatcgaggc caccggcgctc      540
gtccccgcgcg tcaaccagat cgagcgccac ccccgctcc ccaaccagcc tctgatcgac      600
tactgcgcca agaagggcat catcatcacc gcctactccg cctttggcaa caacacaaag      660
ggcctgcccc tgctcgtcag ctccgacgag gtcaaggccg tcgccgacaa cctgtccaag      720
aagcagggca agaccgtcac tcccgccag gtcacctcg cctgggtcca gattggtggc      780
cacaccgtca ttcccaagtc cgtcaccaag gcgcgcattg cggagaactt ccaggaggtt      840
gagctggatg acgaggccat tgctgcgctg aacaagttgg gcgagaagcc tcagcggttc      900
aacattcctt acacctataa gcctaggtgg aacattaacc tgttcaacac cgaggaggag      960
aaggccgctg cccacactgc tgtcatcaag ctgtaa      996

```

<210> 4

<211> 331

<212> PRT

<213> Trichoderma reesei

<400> 4

```

Met Ser Ser Gly Arg Thr Val Thr Leu Asn Thr Gly Tyr Lys Ile Pro
1           5           10          15

```

```

Gln Ile Gly Tyr Gly Thr Trp Gln Ala Ala Pro Gly Glu Val Gly Ala
          20          25          30

```

```

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

```

```

Lys Val Tyr Gly Asn Gln Lys Glu Val Gly Glu Gly Ile Lys Lys Ala
          50          55          60

```

```

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

```

```

Lys Leu Trp Asn Asn Ser His Lys Pro Glu Asp Val Glu Pro Ala Leu
          85          90          95

```

```

Asp Asp Thr Leu Ala Glu Leu Gly Leu Asp Tyr Leu Asp Leu Tyr Leu
          100         105         110

```

Ile His Trp Pro Val Ala Phe Ala Pro Gly Ala Asp Leu Phe Pro Lys
 115 120 125

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

Gln Thr Trp Lys Ala Met Thr Glu Leu Pro Lys Ser Lys Val Arg Ser
 145 150 155 160

Val Gly Val Ser Asn Phe Thr Ile Glu His Leu Asp Ala Val Ile Glu
 165 170 175

Ala Thr Gly Val Val Pro Ala Val Asn Gln Ile Glu Arg His Pro Arg
 180 185 190

Leu Pro Asn Gln Pro Leu Ile Asp Tyr Cys Ala Lys Lys Gly Ile Ile
 195 200 205

Ile Thr Ala Tyr Ser Ala Phe Gly Asn Asn Thr Lys Gly Leu Pro Leu
 210 215 220

Leu Val Ser Ser Asp Glu Val Lys Ala Val Ala Asp Asn Leu Ser Lys
 225 230 235 240

Lys Gln Gly Lys Thr Val Thr Pro Ala Gln Val Ile Leu Ala Trp Ser
 245 250 255

Gln Ile Gly Gly His Thr Val Ile Pro Lys Ser Val Thr Lys Ala Arg
 260 265 270

Ile Ala Glu Asn Phe Gln Glu Val Glu Leu Asp Asp Glu Ala Ile Ala
 275 280 285

Ala Leu Asn Lys Leu Gly Glu Lys Pro Gln Arg Phe Asn Ile Pro Tyr
 290 295 300

Thr Tyr Lys Pro Arg Trp Asn Ile Asn Leu Phe Asn Thr Glu Glu Glu
 305 310 315 320

Lys Ala Ala Ala His Thr Ala Val Ile Lys Leu
 325 330

<210> 5
 <211> 2055
 <212> DNA
 <213> *Trichoderma reesei*

<400> 5
 atgggctaca cagaggttga ccagaaggcc atcaacacca tccgcctgct cgcggtcgat 60
 gccaccttca agagcaactc gggccacccg ggtgccccca tgggcatggc tcccgttgcc 120
 cacgtccttt gggacaagtt catgaggttc aacccaaga accccaagtg gctgaaccgt 180
 gaccgattcg ttctctcaa cggccacggc tgcattgctc agtatgctct gcttcacctg 240
 ttcggctacg acctgacct cgatgacctc aaggccttcc gaaccgtcga cagcaagact 300
 cctggtcacc ccgaggccca cgatactccc ggtgtcgagg tcaccaccgg cccctgggt 360
 cagggtatct ccaatgccgt cggctctggc atggcccagg cccacaccgc cgccaccttc 420
 aacaagccc gcttcacct gtgtgacaac tacacctact gcttcctcgg cgatggctgc 480
 ttgatggagg gtgtctctgc cgaggcctcg tccctggccg gccacctcca gctcggcaac 540
 ctcatctgca tctacgatga caaccacatc tccattgacg gcgacaccaa ctgtgccttc 600
 accgaggacg tggccaagcg ctacgaggcc tacggctggc acgtcgaggt cgtcgagaac 660
 ggcgaccacg acctcgaggc catggaggcc gccatcaaga agtgccagga ggtcaaggac 720
 aagccctcaa tcatcaagct gcgcaccacc attggcttcg gctctctcca ggagggcacc 780
 cacggagtcc acggctctcc cctcaaggcc gacgacatca agcagctcaa gcagaagttt 840
 ggcttcaacc ccgacgagag cttcgtcgtc cccaaggagg tctccgacct ctacgcccg 900
 cactcagccg agggcgccgc cgccgaggag gagggaaca agctgttcgc caagtacgcc 960
 gagaagtacc ccgccgaggc tgctgacctc cagcgccgcc tcaaggcgga gctgcccag 1020
 ggctgggaga agaacctgcc cgtctactcg cccagcgatg ctgccattgc cagccgaaag 1080
 ctgtccgaga cggctctcac caagatccac gacgtcctgc ccgagctcca ggggtggttc 1140
 gccgatctga ctggttccaa cctgaccgc tggaaggacg ctgttgactt ccagcccccc 1200
 gccaccggcc tcggtgacta ctccggacga tacatccgct acggtgtccg cgagcacggc 1260
 atgggcgcca tcatgaacgg cctggccgcc tacggcacca tcatccccta cggcggtacc 1320
 ttctcaact tcgtctccta cgccgccggg gccgtccgcc tgtccgctct gtccgcgctc 1380
 cgcgtcatct gggctgccac ccacgactcc attggcctgg gcgaggacgg tcctactcac 1440

cagcctatcg agactctggc tcacttccgc gccctgcca actgcatggt gtggcgcccc 1500
 gccgacggca acgagaccag cgctgcctac tacattgccc tgacctcaa gcacaccccc 1560
 agcatcattg ccctgtctcg ccagaacctg cccagctcg agggctccgt catcgagaag 1620
 gccatcaagg gaggatacgt cctgcaggag gtcgagggtg cccagatcac cctggtctcc 1680
 accggttccg aggtttccat cgccgtggat gccgccaagt acctcctgga gaagcacaac 1740
 gtcaaggccc gcgtcgtctc catgccctgc ttcgaggttt tcgatgctca gcccaaggag 1800
 tacagactct ccgtcctgcc cgacggcatc ccctctctgt ccattgaggt gatgagcacc 1860
 atgggctggg agcgatacac tcacgagcag tttggtctca accgattcgg tgcctctggc 1920
 gcctacaagg atgtctacaa gaagttcgag ttcacccccg agggcatcac caagcgcgct 1980
 cttctcacca ttgacttctg gaaggacgtc cccaacgtcc gctctcccat caaccgtgcc 2040
 ttccagcagc tcatc 2055

<210> 6
 <211> 685
 <212> PRT
 <213> Trichoderma reesei

<400> 6

Met Gly Tyr Thr Glu Val Asp Gln Lys Ala Ile Asn Thr Ile Arg Leu
1 5 10 15

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

Pro Met Gly Met Ala Pro Val Ala His Val Leu Trp Asp Lys Phe Met
35 40 45

Arg Phe Asn Pro Lys Asn Pro Lys Trp Leu Asn Arg Asp Arg Phe Val
50 55 60

Leu Ser Asn Gly His Gly Cys Met Leu Gln Tyr Ala Leu Leu His Leu
65 70 75 80

Phe Gly Tyr Asp Leu Thr Ile Asp Asp Leu Lys Ala Phe Arg Thr Val
85 90 95

Asp Ser Lys Thr Pro Gly His Pro Glu Ala His Asp Thr Pro Gly Val
100 105 110

Glu Val Thr Thr Gly Pro Leu Gly Gln Gly Ile Ser Asn Ala Val Gly
 115 120 125

Leu Ala Met Ala Gln Ala His Thr Ala Ala Thr Phe Asn Lys Pro Gly
 130 135 140

Phe Thr Leu Cys Asp Asn Tyr Thr Tyr Cys Phe Leu Gly Asp Gly Cys
 145 150 155 160

Leu Met Glu Gly Val Ser Ala Glu Ala Ser Ser Leu Ala Gly His Leu
 165 170 175

Gln Leu Gly Asn Leu Ile Cys Ile Tyr Asp Asp Asn His Ile Ser Ile
 180 185 190

Asp Gly Asp Thr Asn Cys Ala Phe Thr Glu Asp Val Ala Lys Arg Tyr
 195 200 205

Glu Ala Tyr Gly Trp His Val Glu Val Val Glu Asn Gly Asp His Asp
 210 215 220

Leu Glu Ala Met Glu Ala Ala Ile Lys Lys Cys Gln Glu Val Lys Asp
 225 230 235 240

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

Gln Glu Gly Thr His Gly Val His Gly Ser Pro Leu Lys Ala Asp Asp
 260 265 270

Ile Lys Gln Leu Lys Gln Lys Phe Gly Phe Asn Pro Asp Glu Ser Phe
 275 280 285

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

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

Glu Lys Tyr Pro Ala Glu Ala Ala Asp Leu Gln Arg Arg Leu Lys Gly
 325 330 335

Glu Leu Pro Glu Gly Trp Glu Lys Asn Leu Pro Val Tyr Ser Pro Ser
 340 345 350

Asp Ala Ala Ile Ala Ser Arg Lys Leu Ser Glu Thr Val Leu Thr Lys
 355 360 365

Ile His Asp Val Leu Pro Glu Leu Gln Gly Gly Ser Ala Asp Leu Thr
 370 375 380

Gly Ser Asn Leu Thr Arg Trp Lys Asp Ala Val Asp Phe Gln Pro Pro
 385 390 395 400

Ala Thr Gly Leu Gly Asp Tyr Ser Gly Arg Tyr Ile Arg Tyr Gly Val
 405 410 415

Arg Glu His Gly Met Gly Ala Ile Met Asn Gly Leu Ala Ala Tyr Gly
 420 425 430

Thr Ile Ile Pro Tyr Gly Gly Thr Phe Leu Asn Phe Val Ser Tyr Ala
 435 440 445

Ala Gly Ala Val Arg Leu Ser Ala Leu Ser Arg Val Arg Val Ile Trp
 450 455 460

Val Ala Thr His Asp Ser Ile Gly Leu Gly Glu Asp Gly Pro Thr His
 465 470 475 480

Gln Pro Ile Glu Thr Leu Ala His Phe Arg Ala Leu Pro Asn Cys Met
 485 490 495

Val Trp Arg Pro Ala Asp Gly Asn Glu Thr Ser Ala Ala Tyr Tyr Ile
 500 505 510

Ala Leu Thr Ser Lys His Thr Pro Ser Ile Ile Ala Leu Ser Arg Gln
 515 520 525

Asn Leu Pro Gln Leu Glu Gly Ser Val Ile Glu Lys Ala Ile Lys Gly
 530 535 540

Gly Tyr Val Leu Gln Glu Val Glu Gly Ala Gln Ile Thr Leu Val Ser
 545 550 555 560

Thr Gly Ser Glu Val Ser Ile Ala Val Asp Ala Ala Lys Tyr Leu Leu
 565 570 575

Glu Lys His Asn Val Lys Ala Arg Val Val Ser Met Pro Cys Phe Glu
 580 585 590

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

Gly Ile Pro Ser Leu Ser Ile Glu Val Met Ser Thr Met Gly Trp Glu
 610 615 620

Arg Tyr Thr His Glu Gln Phe Gly Leu Asn Arg Phe Gly Ala Ser Gly
 625 630 635 640

Ala Tyr Lys Asp Val Tyr Lys Lys Phe Glu Phe Thr Pro Glu Gly Ile
 645 650 655

Thr Lys Arg Ala Leu Leu Thr Ile Asp Phe Trp Lys Asp Val Pro Asn
 660 665 670

Val Arg Ser Pro Ile Asn Arg Ala Phe Gln Gln Leu Ile
 675 680 685

<210> 7

<211> 975

<212> DNA

<213> Trichoderma reesei

<400> 7

atgagtcct ctcttgacca gctcaaggcc actggcaccg ttgtcgtctc tgacactggt 60

gactttgctg ccatcgccaa gtacaagccc caggatgcca ccaccaaccc ctccctcatc 120

ctggccgcct ccaagaagcc cgagtacgcc aagctgatag acgtcgccat cgactacgcc 180

aagcagaagg gcggcgacat tgagcagcag gtcgacgatg ccctcgaccg cctgctggtc 240

gagttcggca aggagattct caagattgtt cccggcaagg tctccaccga ggctgacgcc 300

cggttctcct ttgacaccaa ggcctctgtc gacaaggccc tccacattat cgagctctac 360

aaggagctcg gcatccccaa ggagcgcgtc ctcatcaaga tcgcctccac ctgggagggc 420

atcaaggccg ccgagatcct gcagcgcgac cacggcatca actgcaacct gacgctcatg 480

```

ttctccctgc cccaggccat cggcgccgcc gaggccggcg ccttcctcat ctcccccttc      540
gttggccgca tcctcgactg gttcaaggcg agcaccaaga aggactactc caaggaggag      600
gacccccggtg tcgcctccgt caagagcatc ttcaactact acaagaagtt tggctacaag      660
accattgtca tgggtgcctc gttccgcaac acgggcgaga ttaccgagct cgctggctgc      720
gactacctga ccatttctcc caacctgctc gaggagctcc tcaactccac cgagcccgtc      780
ccaagaagc tcgacgccgc cgccgctgcc tcccttaaca ttgagaagaa gtcgtacatc      840
aacgacgagt ccctgttccg cttcgacttc aacgaggacc agatggccgt cgagaagctg      900
cgcgagggca tcagcaagtt tgccgccgac gccgtcacc tcaaggacat tctgaggcag      960
aagctgtctg cttaa                                                                975

```

```

<210> 8
<211> 324
<212> PRT
<213> Trichoderma reesei

```

```
<400> 8
```

```

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

```

```

Ser Asp Thr Gly Asp Phe Ala Ala Ile Ala Lys Tyr Lys Pro Gln Asp
          20          25          30

```

```

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

```

```

Tyr Ala Lys Leu Ile Asp Val Ala Ile Asp Tyr Ala Lys Gln Lys Gly
          50          55          60

```

```

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

```

```

Glu Phe Gly Lys Glu Ile Leu Lys Ile Val Pro Gly Lys Val Ser Thr
          85          90          95

```

```

Glu Val Asp Ala Arg Phe Ser Phe Asp Thr Lys Ala Ser Val Asp Lys
          100         105         110

```

```

Ala Leu His Ile Ile Glu Leu Tyr Lys Glu Leu Gly Ile Pro Lys Glu
          115         120         125

```

Arg Val Leu Ile Lys Ile Ala Ser Thr Trp Glu Gly Ile Lys Ala Ala
 130 135 140

Glu Ile Leu Gln Arg Asp His Gly Ile Asn Cys Asn Leu Thr Leu Met
 145 150 155 160

Phe Ser Leu Pro Gln Ala Ile Gly Ala Ala Glu Ala Gly Ala Phe Leu
 165 170 175

Ile Ser Pro Phe Val Gly Arg Ile Leu Asp Trp Phe Lys Ala Ser Thr
 180 185 190

Lys Lys Asp Tyr Ser Lys Glu Glu Asp Pro Gly Val Ala Ser Val Lys
 195 200 205

Ser Ile Phe Asn Tyr Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Lys Thr Ile Val Met
 210 215 220

Gly Ala Ser Phe Arg Asn Thr Gly Glu Ile Thr Glu Leu Ala Gly Cys
 225 230 235 240

Asp Tyr Leu Thr Ile Ser Pro Asn Leu Leu Glu Glu Leu Leu Asn Ser
 245 250 255

Thr Glu Pro Val Pro Lys Lys Leu Asp Ala Ala Ala Ala Ala Ser Leu
 260 265 270

Asn Ile Glu Lys Lys Ser Tyr Ile Asn Asp Glu Ser Leu Phe Arg Phe
 275 280 285

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

Ser Lys Phe Ala Ala Asp Ala Val Thr Leu Lys Asp Ile Leu Arg Gln
 305 310 315 320

Lys Leu Ser Ala

<210> 9

<211> 9538

<212> DNA

<213> artifizielle Sequenz

 $\langle 220 \rangle$

<223> pKR ReAs11fps1

<400> 9

ctaaattgta	agcgttaata	ttttgttaaa	attcgcgtta	aatttttggt	aatcagctc	60
attttttaac	caataggccg	aaatcggcaa	aatcccttat	aatcaaaaag	aatagaccga	120
gatagggttg	agtggccgct	acagggcgct	cccattcgcc	attcaggctg	cgcaactgtt	180
gggaagggcg	tttcggtgcg	ggcctcttcg	ctattacgcc	agctggcgaa	aggggggatgt	240
gctgcaaggc	gattaagttg	ggtaacgcca	gggttttccc	agtcacgacg	ttgtaaaaacg	300
acggccagtg	agcgcgacgt	aatacgactc	actatagggc	gaattgagtg	aaggccgtca	360
aggcctaggc	gcgccagcgg	ccgcgaaata	gaagacgaag	acgagaggag	gagaggggtgc	420
gagaggggtgc	gaaactgcgc	ccttcagctc	gctaattccg	cccattacat	tcagcgcaca	480
cttggtggta	catacatacc	tacatacgta	cccgtagtgt	tgcgaagcga	gtcgagccag	540
cggtcggatg	tgccaatatg	taccttgtag	gtactcatga	tagtcagcag	gaagccgagg	600
gatgatagca	cgcacagcca	gtctgggtgtt	tgtgctctgg	attcagcccc	tagattcact	660
gaccaaaaaga	agcaagagaa	gggaaaggga	aaaggaagcc	ctaaaaaaga	gcaggggttgt	720
ccttcggcac	caccccgaaa	gcaacagcag	tgatggacgg	gactacgaca	ctgtagtaca	780
tacgccaacc	caaagattcc	gagttgcaat	cattgccaca	aaattgctcg	actgtggcgg	840
gagaggggaa	agtctccgcg	agggcattct	tgatgagtcc	cgtgccacgc	cgggtttctt	900
gccttgaatc	accacaaaat	gtctcagcgc	ggctcatcca	tggccgcctt	tttgggcgtt	960
tcgtattact	cttgggtttg	actgtattat	cgggtcaagag	ccaaaggcca	ctcggctttt	1020
ccgcccttgc	ctctcttcca	tttcccaggg	cgctgatagt	atgatagttt	cccctcattg	1080
cagctttgga	cgtcaatgcc	aataactgta	ttgtattgac	aatcatttg	tccaaagacg	1140
accgacacct	ctgatatcac	atacgagtag	tagtacatac	aatccccccc	aaactccgcc	1200
tttttggcgc	gtgtgtgccg	cgtagctcgt	gcacaatgtc	gggccgccgc	cgccagcggc	1260
cacttgctta	gcaggaacct	agtcagccgt	ccttggtgtga	ttaatataac	ggtgagacta	1320
gcggccggtc	ccttatccag	ctgtccacgt	tggcctgccc	tcagttagcg	ctcaactcat	1380
gccctcactg	gcgaggcgag	ggcaaggatg	gaggggcagc	atgcctgag	ttggagcaaa	1440
gcgccgccat	gggagcagcg	aaccaacgga	gggatgccgt	gctttgtcgt	ggctgctgtg	1500

gccaatccgg gcccttggtt ggctcacaga gcgttgctgt gagaccatga gctattattg	1560
ctaggtacag tatagagaga ggagagagag agagagagtg tgagagggaa aaggtgaggt	1620
tgaagtgagg tagtaagtga aaaaaaaaaa aaaatcaaca ctgacggctg ccgtctgcc	1680
ccctcctcca cccagccacc tgcacactca gcgcgcagca tcacctaatac ttggctcgcc	1740
ttccgcagct cagggtgttt tttttttttc tctctcctcg tcgaagccgc cttgtttccc	1800
ttatttattt ccctctccta ctttgtctgc ctttgggtcca tctgcccctt tgtctgcatc	1860
tcttttgac gcatcgctt atcgtcgtct cttttttcac tcacgggagc ttgacgaaga	1920
cctgactcgt gagcctcacc tgctgatttc tctcccccc tcccgaccgg cttgactttt	1980
gtttctcctc cagtacctta tcgcgaagcc ggaagaacct tcttaacctc tagaatgagc	2040
aatccccaaa aggactgaa cgacttcctc agctccgaga gcgtccacac ccacgactcc	2100
tcacgtaagc agtccaacaa gcaatcctcg gacgagggcc gtagctcgag ccagccctcc	2160
caccatcact ccggaggaac taataacaat aacaacaata acaacaacaa caacaacagc	2220
aacaacaaca acaacggtaa cgatggcggc aacgacgacg actatgacta cgagatgcag	2280
gactaccgtc cttccccaca gtctgctagg cctactccca cctacgtgcc ccaatacagt	2340
gtcgagtcgg gcaccgcatt cccatttcaa gaggtcattc cctcggccta cattaacacc	2400
caagacatca accacaagga caacggcccc ctttcgcat cgtcaaaccg cgctttccgc	2460
ccccgcggcc agacgaccgt cagcgccaac gtcctgaaca tagaggactt ctacaagaat	2520
gcggacgatg cacacacaat tccagagtcg catctgagcc ggctgcgtc ccgatcacgg	2580
gccacgtcaa atgcaggcca ctccgccaac accggcgcca ccaatggctg tactacgggc	2640
gcccagacca acatggagag caacgagtcc cccaggaacg tgccgataat ggtcaagcct	2700
aagaccctct accagaacct gcagaccccc acagtttctc cctcaactta ccacccgatt	2760
aacaagtgga gtcctgttaa gaatacctat ttaaaagagt tcctcgccga gtttatgggt	2820
acgatgggtca tgatcatctt cggcagcgcc gtcgtatgcc aggtcaacgt cgccggcaag	2880
atccagcagg acaacttcaa cgtagccctc gacaacctca atgtcacggg ctcttcgcc	2940
gagacaatcg acgcatgaa gagcctgact agcctagtct cctctgtcgc cgggtggcacc	3000
ttcgatgacg ttgccctcgg gtgggcccgt gccgtggtaa tgggctactt ttgtgcaggt	3060
ggctcggcaa tctctggagc ccacctgaac ccatcaatca ccctcgctaa cctcgtttat	3120
cgaggctttc ccctgaagaa ggtcccatat tacttcgcag gccagctgat tgggtgctttc	3180

acgggagccc	tcattctgtt	catttggtac	aagagggtcc	ttcaggaggc	atactcggac	3240
tggtggatga	acgaatccgt	cgctggcatg	ttttgtgtct	tcccaaagcc	ctacctgagc	3300
tctgggcggc	agtttttttag	cgagttcctc	tgcggcgcca	tgctccaggc	cgggacattc	3360
gccctgacgg	atccctacac	gtgcttgagc	tcagatgtat	ttcccctgat	gatgttcatt	3420
ctcattttca	tcattaacgc	ttcgaaggca	tatcagacag	gtactgcatg	gaacctggca	3480
cgggatctgg	gccccgcct	cgccctctac	gcagtgggct	tcgaccacaa	gatgctctgg	3540
gtccaccacc	accacttctt	ttgggtgccg	atggtagggc	cgtttattgg	tgccctgatg	3600
gggggcctcg	tctacgacgt	ctgtatctac	caaggccacg	aatcaccggt	taactggtct	3660
ctccccgtgt	acaaggaaat	gattatgctc	gcatggttta	ggcgccccgg	atggaagaag	3720
cggaaccgag	ctaggaggac	ttctgacctc	tccgacttct	cttacaataa	tgacgacgac	3780
gaggaattcg	gcgaacgcat	ggcgcttcag	aagacgaaga	cgaagtctag	catttccgac	3840
aacgagaacg	aggccggcga	gaagaagggt	cagttcaagt	ccgttcagcg	agggaagcgg	3900
accttcggcg	gcatcccgac	aattcttgag	gaggaggata	gcatcgagac	tgccagcctc	3960
ggcgccacga	caacggattc	tattggtctc	tctgacacta	gctctgagga	cagccactac	4020
ggcaacgcga	agaaagtcac	ctgaatgcat	ggctttcgtg	accgggcttc	aaacaatgat	4080
gtgcgatggg	gtggttcccc	gttggcggag	tctttgtcta	ctttggttgt	ctgtcgcagg	4140
tcggtagacc	gcaaatgagc	aactgatgga	ttgttgccag	cgatactata	attcacatgg	4200
atgggtctttg	cgatcagtag	ctagttagag	agagagaaca	tctatccaca	atgtcgagtg	4260
tctattagac	atactccgag	aataaagtca	actgtgtctg	tgatctaaag	atcgattcgg	4320
cagtcgagta	gcgtataaca	actccgagta	ccagcaaaag	cacgtcgtga	caggagcagg	4380
ctttgccaac	tgcgcaacct	tgcttgaatg	aggatacacg	gggtgcaaca	tggtgtgtact	4440
gatccatcgc	aacaaaaatt	tctgtttata	gatcaagctg	gtagattcca	attactccac	4500
ctcttgcgct	tctccatgac	atgtaagtgc	acgtaggaaa	ccatacccaa	attgcctaca	4560
gctgcggagc	atgagcctat	ggcgatcagt	ctgggtcatgt	taaccagcct	gtgctctgac	4620
gttaatgcag	aatagaaagc	cgcggttgca	atgcaaatga	tgatgccttt	gcagaaatgg	4680
cttgctcgct	gactgatacc	agtaacacct	ttgcttggcc	gtctagcgct	gttgattgta	4740
ttcatcacia	cctcgtctcc	ctcctttggg	ttgagctctt	tggtatggctt	tccaaacgtt	4800
aatagcgctg	ttttctccac	aaagtattcg	tatggacgcg	cttttggtg	tattgcgtga	4860

gctaccagca	gccaattgg	cgaagtcttg	agccgcactc	gcatagaata	attgattgcg	4920
catttgatgc	gatttttgag	cggctgtttc	aggcgacatt	tcgcccggcc	ttatttgctc	4980
cattatatca	tcgacggcat	gtccaatagc	ccgggtgatag	tcttgctgaa	tatggctgtc	5040
gtgaataacc	catcggcagc	agatgataat	gattccgcag	cacgctagcg	agctctccgg	5100
agcccaaaat	agaagcacc	gaattcaggg	cctttttctc	cacaccaatc	accaaattca	5160
ctgatttcaa	ggttgtagc	cgcctcttat	cactaggtag	actagcacct	aattttaccg	5220
atatgtgtag	tccatacatg	tatgagatat	acatcatgat	ctcgaagtaa	aacccggtac	5280
gaagaggat	aaaagccgcg	gaacaacaac	ttgcagatgc	catcacgcaa	gacgcagaca	5340
cggctctctt	ctcgcgggca	tcaccagagc	ccaatcacct	ggtcctcagg	tggccacttg	5400
agcgccgtca	gaatggccgc	acagcagcag	cagcatcacc	acagatcttg	gcctcaactc	5460
ttgatatttc	ggcgagaata	caattactag	tctagtctat	ggaaattgga	tgttggtcgg	5520
ctctttggag	actggtagta	cataagccac	gaacatgata	ttggcgggga	aggtttagct	5580
ggaaattgga	acaagtcaga	gaagtcgccg	cgtatttagct	tgggtgtagt	agacacagca	5640
agtcaagagt	gggagttaga	tttctgaatt	gagtgacgca	gatggatgta	gtattcatta	5700
ttgaagacag	agcctttcca	tcaacgtgca	gagccatgaa	atgcaatgac	cttaaggagg	5760
ggcatctctc	cgctttccat	ctgactgaga	tactaaccgc	attccatctc	cattttctag	5820
cacacacata	cctggagtca	tacctcaacc	ggccttcagt	agctaaacag	ctatgtagcg	5880
catccgcgct	aagccgctta	ggcgataacg	ttggccggtg	tcggccatac	aattcttgcc	5940
tatgactctg	tctcgactaa	ctgattgacc	aacgtcaatt	ccttatcaaa	gttttcgacc	6000
ttgataactc	tcgatcttaa	tctcgagctt	tttatttcct	caacatcatt	cacagtaacg	6060
actcaagccc	ttggacttgg	ccagcaattg	acacaaccac	gcgccatctg	ctccattggc	6120
ctcatcgatc	ccatcgactt	cgtcagcctc	gacaacgcat	ccaacgcaat	cacaaatact	6180
tcaacatggc	tgagaaaaag	gcggacgccc	cggcagccgg	catgctctgg	ggtggcaggt	6240
tcacaggttg	cagcctcgca	aatctagctg	cggattcagt	atactgacct	ctcgcgatgc	6300
gcaggtgcaa	ttgatcctct	catgcacaag	tacaatgcct	ccatcgggta	cgacaaggcc	6360
ctgtacaagg	aagatatcct	tggatccatt	gcctttgcga	gggccaattc	aaaggctggc	6420
atcatcagcg	aagacgaatt	ccaggcgatc	gagcgtggct	tgctccaagt	gatggaagaa	6480
tggaagcagg	gcactttcgc	catcatgccg	aatgacgaag	atgtgagagg	gcacactcga	6540

ttctaattctc aaactttctt cgaggctgac acaatggacc agattcatac ggcaaacgaa	6600
cgctgcctgg gagaggtcat cggcaaggac atcgcgggaa agcttcacac aggtcgcagc	6660
cgcaacgagc aagttgtctg tgatatgctc atgtggcttc gcgatcggat ccgcgaaatc	6720
gacagccaac tcgttgcttt cctcaaggtc attatcacac gtgccgaatc tgaaatgtaa	6780
gcccagccgt acctttccag ctaaattgccc ccccccccc cccccctc tcttactgac	6840
ggacaacctc agcgactaca tcatgcccgg atacacccat ctccagcgcg ctcagccagt	6900
tcggtggtct caatggctca tgtcctatgc cgctgcgttc aagcaggatc tcgagcggtt	6960
gctcaagtc ttcgagaggg tcaacctcag tccacttggc tgtggcgcct tggccggcaa	7020
tccattcgga atcgaccgag actcaatagc tgcggagctt ggcttcagcg gaatcacctt	7080
gaactccatg aatacttcgg ccgaccgca tttcctcgtc gatttcctgt cctggaactc	7140
catcttcacc aaccacgtca gcaggtgggc tgaggacctc atcatctact cgacctctga	7200
gttcagtttc gtccgtctgg ccgacgccta ttccacgggc agctctctca tgcccaacaa	7260
attcaacccg gactcgttgg agcttcttcg cggcaagtca gggcgtgctt tcggccaaat	7320
ggctggtttg atgatggtga gtcctcatat caaacatctc agccagtttg acttggtttt	7380
tgagggtgac cgcggccgcc gttccggtaa ttaactggcc tcatgggcct tcaattcact	7440
gcccgccttc cagtcgggaa acctgtcgtg ccagctgcat taacatggtc atagctgttt	7500
ccttgcgtat tgggcgctct ccgcttcctc gctcactgac tcgctgcgct cggctgcttcg	7560
ggtaaagcct ggggtgccta atgagcaaaa ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag	7620
gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga	7680
cgctcaagtc agaggtggcg aaacccgaca ggactataaa gataccaggc gtttccccct	7740
ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg accctgccgc ttaccggata cctgtccgcc	7800
tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct catagctcac gctgtaggta tctcagttcg	7860
gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc	7920
tgcgccttat ccgtaacta tcgtcttgag tccaacccgg taagacacga cttatcgcca	7980
ctggcagcag cactggtaa caggattagc agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag	8040
ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagaa cagtatttgg tatctgcgct	8100
ctgctgaagc cagttacctt cgaaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc	8160
accgctggta gcggtggttt ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaaagga	8220

tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggctctgacg ctcaagtggaa cgaaaactca 8280
 cgttaaggga ttttgggtcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat ctttttaaata 8340
 taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagttat 8400
 tatttaccca ccactttggt aatttcgcct ttcacgtaat gcacaaattc ttccagctga 8460
 tccgcacggc tggccagacg atcttcttcc tggcccagat acgcctgacg cgcttccaga 8520
 atcaccggct gatactgcgc cggcagacgt tccatggccc aatccgccgc cacatctttc 8580
 ggcgcaattt tgccggtcac cgcgctatac caaatacggc tcagggtcag caccacgttg 8640
 cgttcatcac ccgccaatc cggcgggctg ttccacaggg tcagggtttc gttcagcgct 8700
 tcaaacaggt cctgttccgg caccggatca aacagttctt ccgctgccgg accaaccagc 8760
 gccacgctat gttcacgcgc tttggctcagc agaatggcca gatcgatatc aatggtcgcc 8820
 ggttcaaaaa tgccggccag aatatcgta cgctgccatt cgccaaactg cagctcacgt 8880
 ttcgccggat aacgccacgg aataatgtca tcatgcacca cgatgggtcac ttccaccgca 8940
 cgcagaattt cgctttcacc cgggctcgcg ctggttttcca gcagatcggt aatcagcgca 9000
 cgacgggtgg tttcatccag acgcacggtc acggtcacca gcagatcaat atcgctatgc 9060
 ggtttcaggc cgccatccac cgcgctgcca tacagatgca cggccagcag ggtcggttcc 9120
 agatgacgtt caatcacgcc caccacttca gacagctggg tgctcacttc cgcaatcacc 9180
 gttcacgca taatgttcag tttggttttc ggacggctgc cctgctgggt cacatcgttg 9240
 ctgctccaca gcatcaggca acggcccacc gcataacgcg cctgctgttt gctcgcacgc 9300
 ggcatgctct gcacgcaaaa aaagcaatca tagcacgcca taaacaccgc caccgcacca 9360
 ttaccgccgc tacgttcggt cagggtacgg ctccaattac ggctacgcat actcttcctt 9420
 tttcaatatt attgaagcat ttatcagggt tattgtctca tgagcggata catatttgaa 9480
 tgtatttaga aaaataaaca aataggggtt ccgcgcacat ttccccgaaa agtgccac 9538

<210> 10
 <211> 11413
 <212> DNA
 <213> artifizielle Sequenz

<220>
 <223> pKR_Rpyr4err1

<400> 10
 ctaaattgta agcgtaata ttttgtaaaa attcgcgtta aatttttggt aaatcagctc 60

attttttaac caataggccg aaatcggcaa aatcccttat aaatcaaaag aatagaccga	120
gataggggttg agtggccgct acagggcgct cccattcgcc attcaggctg cgcaactgtt	180
gggaagggcg tttcgggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa aggggggatgt	240
gctgcaaggc gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg	300
acggccagtg agcgcgacgt aatacgactc actatagggc gaattgagtg aaggccgtca	360
aggcctaggc gcgccagcgg ccgccagatc tcgagatagt atctcattca gtaaaatact	420
cgtacgagtt tgagggggcg cgaggctaag ctgcaagcgg gcgcggcaac actacctgta	480
tgtattaata aagcagcaga gagagagaga gccctggact gccggcaatc ctgagaaggg	540
gggatcgacc ggaccatctg cacgcagcag ggctgctgct gccaacatgg agagactaaa	600
gatgggattg gtggtacata gcaagacgct tggatgcttg ttgacgggct gctccaataa	660
gcaagctcac aagcagtgct ttgggggtcc gcacggacgg tcgagagggc tcggacggct	720
gatattgcag acctggacga gtcagttgtg caggtaggca ctcgtatgtg tgtctttgtg	780
cttgatcaac cttgagtaag tattattagg gtgatggctt aggtaggtag gttaggtagg	840
tagtttaggt acaggagagt gaggagggga gacgtccagc tgccatatgc gccacttgca	900
gcctcaactc tgcaaaagcc agccccgatc acggcatgtc gtacatactg taaggtagta	960
cctagtagta gaacgaatgc taaaggtgca gagcaactaa cttgagcaaa accccccctc	1020
cccccatcga gattgattgc cctctacgct gaaaatagtc tcgccagccg gcgacgctta	1080
gccgtggcgc taccgcgaca tggcgcttgt tagcctgcgg tccaggttga tgcgaagcat	1140
gtcgcagggc gggctctcgtg cgtgccgaca gccagcagag agacagaaga gagcgagaga	1200
gcgagagagc gagagagaga gagagagaga aagacgcctc gggggtttggt ctggtggctt	1260
cgatgcttgt ccgtgtcaag gggttcacgaa agacgggacg gctgagttgg tgactggcgg	1320
cggtagcatc gaggctggag tccaggcaca tgcattggcg aaggcatgtc aggccatgtc	1380
gtgtcatgcc ccggcacagc tgaagggaat actactattg agagctgttc tccaaggcgt	1440
caagcatgtg agcaaaaact cgagttgtct agactcgact cgacttgagg ctgcagtaca	1500
acaatacagt actactcgta cacgtatgta cagcaaggag caggtggatc agcaaagttg	1560
catgataatg gactggaccg gcaacgctca aagttcgctt tgcagctccg gcatgaaggg	1620
cagacccccg ccattattag cgatgactag ccgtggaggc cactttggct ttagtgattt	1680
aaaccccgag attcatgctc gatgctctac aggtatgtat gtactagctc agctcagcct	1740

tagtagtag	gtattgaagt	ctggtggtgc	gaggaggacc	tgcaggtggg	agttttgggg	1800
gaaaaagatg	atgctcacca	actaaaataa	atagtcaggc	cacacacaca	acctactgag	1860
cagaaccacc	acaaccagt	aagagctact	ccggaattct	cgactccgga	gagttgggca	1920
aaatcaggcg	cggaccagcg	ccaaggtgtg	ggtggattgg	gtcgtagaag	aaagaggcat	1980
ccctacatgc	agcaaccggc	tggagacgag	ccagcccag	caactggcagc	ctcagaccag	2040
aggcatctcg	accacggctt	caagtatcag	actgggagct	gtgccgagtt	tgctggctac	2100
ttacctagtc	aaaaaggtcg	ccgctgactg	tctgtgtcat	attaacgagc	caggtctcaa	2160
ccttctgtcg	aatgaaatgg	aaagcggcga	atgactcttc	ggggttggcc	agaaacaacg	2220
acgaccactg	agggatcggg	acgatgtaca	tctactgcga	tatgccgggc	tcgaatgtga	2280
ctgcacacac	cacacacaca	cacacacacg	gacacatctg	agcagtacta	tcaaagcggg	2340
gggagtgcac	ctgcactggg	cacccttact	gtaggtagga	aggataccta	aggtagaggg	2400
ctcgctgctg	caagttgata	tgacggccac	caatcgggaag	ggtgtcgtat	ctcacatcac	2460
cagcgtcagg	acacgcttca	caaaattccc	acaagttcca	gttgaaatga	cccgtaggag	2520
agcgctcga	gggacagaat	gtacagtact	atactaccta	ccttagatgc	catcacccct	2580
tcgcaggcca	tggaatttct	ggcaagtcgc	acccttcagc	catgcctgtc	cgccatcatc	2640
ataccagatc	gtgtcgtggc	gggcacttgg	gaaggacgag	ctccaaccgc	cgccgctgat	2700
tggcctgatc	cgccacagcc	actggcgctc	gcggcgagga	aaaaaaaaaa	tcttgcgggt	2760
gtgcagcagc	attgagtggg	aagcgggagc	cgctgcacga	cgctgattcg	tccgggctgc	2820
ctcgttaggg	ctagaccagc	aggcgggagc	cgcttatttt	gcccctcctc	aggctttttt	2880
tcacaagccc	cgttttgctg	ccccgcgcgt	ggcagaaaaa	aaaaatacag	cacgagccac	2940
tggcacttgc	accctccac	ccctccgccg	accacctttt	aaatctcctc	ctcccaccat	3000
ctgctttcga	aattttctct	cttctgctct	tcgtctcgca	taccggttc	aagcatccga	3060
tctgcgaatt	tgtatgtgct	gcctctccct	ctgaccttct	ggtctggtga	taccatcctc	3120
cctcagtttg	gatcatcgcc	ttattcttct	tccctcttct	gcatctgctt	cctgctcggt	3180
tgaggaacat	cgccagctga	ctctgcttgc	ctcgcagcga	tctagtcaag	aacaacacag	3240
ctctcacgct	acatcacact	taagtctaga	atgtcttccg	gaaggaccgt	caccctcaac	3300
accggctaca	agatcccca	gatcggctac	ggcacctggc	aggccgctcc	cggcgaggtc	3360
ggcgctggtg	tctttgaggc	cctcaagggt	ggctaccgcc	acctcgacct	ggccaagggtc	3420

tacggcaacc agaaggaggt tggtaggggc atcaagaagg ctcttgctga ggtccccggc	3480
ctgaagcgcg aggatatttt catcacctcc aagctgtgga acaactccca caagcccgag	3540
gacgtcgagc ccgctctcga cgacaccctg gccgagcttg gcctcgacta ccttgacctc	3600
tacctcatcc actggcccgt tgcctttgct cccggcgccg acctcttccc caagtccgag	3660
gacggctccg aggtgcagct caaccagaat gtgtccattg tccagacctg gaaggccatg	3720
accgagctgc ccaagtccaa ggtccgctcc gtcggtgtct ccaactttac catagagcac	3780
ctcgacgccg tcatcgaggc caccggcgtc gtccccgccg tcaaccagat cgagcgccac	3840
ccccgcctcc ccaaccagcc tctgatcgac tactgcgcca agaaggcat catcatcacc	3900
gcctactccg cttttggcaa caacacaaag ggcctgcccc tgctcgtcag ctccgacgag	3960
gtcaaggccg tcgccgacaa cctgtccaag aagcagggca agaccgtcac tccgcccag	4020
gtcatcctcg cctgggtccca gattgggtggc cacaccgtca ttcccaagtc cgtcaccaag	4080
gcgcgcattg cggagaactt ccaggagggt gagctggatg acgaggccat tgctgcgctg	4140
aacaagttgg gcgagaagcc tcagcgggtt aacattcctt acacctataa gcctaggtgg	4200
aacattaacc tgttcaacac cgaggaggag aaggccgctg cccacactgc tgtcatcaag	4260
ctgtaaaacta gtgaattctg gatcctttcg tgaccgggct tcaaacaatg atgtgcgatg	4320
gtgtggttcc cggttggcgg agtctttgtc tactttgggt gtctgtcgca ggtcggtaga	4380
ccgcaaatga gcaactgatg gattgttgcc agcgatacta taattcacat ggatggctctt	4440
tgcgatcagt agctagttag agagagagaa catctatcca caatgtcgag tgtctattag	4500
acatactccg agaataaagt caactgtgtc tgtgatctaa agatcgattc ggcagtcgag	4560
tagcgtataa caactccgag taccagcaaa agcacgtcgt gacaggagca ggctttgcca	4620
actgcgcaac cttgcttgaa tgaggataca cggggtgcaa catggctgta ctgatccatc	4680
gcaaccaaaa tttctgttta tagatcaagc tggtagattc caattactcc acctcttgcg	4740
cttctccatg acatgtaagt gcacgtagga aaccataccc aaattgccta cagctgcgga	4800
gcatgagcct atggcgatca gtctgggtcat gttaaccagc ctgtgctctg acgttaatgc	4860
agaatagaaa gccgcggttg caatgcaaat gatgatgcct ttgcagaaat ggcttgctcg	4920
ctgactgata ccagtaacac ctttgcttg gctctagcg ctgttgattg tattcatcac	4980
aacctcgtct ccctccttg ggttgagctc tttggatggc tttccaaacg ttaatagcgc	5040
tagtagtaga aatggagggt aaactgaaca tcagtcaaaa gacgtcgaga cgcagatact	5100

actagatacc	tatcccagcg	acggaaaatg	gacaaggtgt	cgccgccgcc	aagctctcag	5160
atgcgctatc	gtgcatgatg	cctctcatca	acaaacggcg	ccagtgcagg	gctagccgtg	5220
ggattgactc	gagctcgcct	cttctttgtg	cttttctcct	gtcgacatcc	cggcttgcg	5280
ttggacctcg	ccgggacgtg	caaacgaaca	catcactttc	aaagagagtg	tttgatgctc	5340
acgctcggat	gctccagccc	ccccttgctt	gcttgtccat	cattgaggct	cgaaggggca	5400
gttgctcccc	attccctctg	ctccaacagg	aactgtaacc	gaaaaaaaaag	ccatcctcct	5460
tcttcctctt	cctcttccgc	ctcctcctct	tcctcctcct	actaatacct	actcctcctc	5520
tcctcatcga	ctagactgac	ccccccggtt	gggcccctcg	tcccgtctcc	aacagagcac	5580
caccagacaa	agaccctgc	ccgcgcgaat	ccagaccccc	ccagcaattc	cgggcctcgt	5640
tgatcctcct	ctactgtagt	tgtacataca	tacctaccga	ctgcattgca	ttggtacagc	5700
tgcaggcact	tccaggcacg	gccaccaa	tgcagcggcc	cttgcttgct	tgcttggttc	5760
gagaactagg	atctgtgtct	tttgccttgc	cttgtcttgt	ctgggttcct	gctcgtctgc	5820
ggcaatcgga	acgccgccag	tgcggtgcca	agcaaaccag	ccaaggtagg	tacctaccac	5880
taggcttctt	ttctcgttgt	ctcactctct	cttttcctct	ttgtcctctc	ttatcccat	5940
cttttctctc	tctctctgct	cctttcctaa	ccacttcctt	acctttctct	ttttcctttt	6000
cttgtcatct	ccatcttggc	tgacgaaaaa	ggtctgactg	ggtaggtatt	atctggcaga	6060
cttgtgtgta	tcattcaccc	tattttctgct	tcatagtaca	tgtactgtac	ctgaacggct	6120
caaccgctat	ttacgactct	tatttttttg	tggcgttggg	cacgtttgcc	agctgttgct	6180
cgtctttcta	gggctcctca	aacttgacct	gaccgagctc	cctttctgga	cccgggtgggc	6240
ttcacttcca	gctgctgagc	gacctgagcc	gaacatcctc	agtccttgct	cagcgcaatt	6300
cattttcttt	ccttttcttt	ttttttattc	ctttctttac	ttttattctc	tctttttctc	6360
ctcttcctct	tcttcttctt	tctcctcctc	ctccatatcc	tcactctcgt	ctccctcatt	6420
actaccctct	cggctcctca	ggtccaccaa	ccctcccgc	cccaaacctc	tgccgctgaa	6480
acccattcgg	tggtcgccgt	tttttttttt	ttttttttct	cacccccaaa	gtcgaatat	6540
cgggtatcgc	cgccggcatt	gaatcgctt	ctccgctagc	atcgactact	gctgctctgc	6600
tctcgttgcc	agcgctgctc	cctagaattt	tgaccagggg	acgagcccga	cattaaagca	6660
actccctcgc	ctcgagacga	ctcggatcgc	acgaaattct	cccaatcgcc	gacagttcct	6720
actcctcttc	ctccgcacg	gctgtcgcgc	ttccaacgtc	attcgcacag	cagaattgtg	6780

ccatctctct	cttttttttc	ccccctcta	aaccgccaca	acggcaccct	aagggttaaa	6840
ctatccaacc	agccgcagcc	tcagcctctc	tcagcctcat	cagccatggc	accacacccg	6900
acgctcaagg	ccaccttcgc	ggccaggagc	gagacggcga	cgcacccgct	gacggcttac	6960
ctgttcaagc	tcatggacct	caaggcgtcc	aacctgtgcc	tgagcgccga	cgtgccgaca	7020
gcgcgcgagc	tgctgtacct	ggccgacaag	attggcccgt	cgattgtcgt	gctcaagacg	7080
cactacgaca	tggtctcggg	ctgggacttc	cacccggaga	cgggcacggg	agcccagctg	7140
gcgtcgctgg	gcgcaagca	cggcttcctc	atcttcgagg	accgcaagtt	tggcgacatt	7200
ggccacaccg	tcgagctgca	gtacacgggc	gggtcggcgc	gcatcatcga	ctgggcgcac	7260
attgtcaacg	tcaacatggg	gcccggcaag	gcgtcggtgg	cctcgctggc	ccagggcgcc	7320
aagcgctggc	tcgagcgcta	cccctgcgag	gtcaagacgt	ccgtcaccgt	cggcacgccc	7380
accatggact	cgtttgacga	cgacgccgac	tccagggacg	ccgagcccgc	cggcgccgtc	7440
aacggcatgg	gctccattgg	cgtcctggac	aagcccatct	actcgaaccg	gtccggcgac	7500
ggccgcaagg	gcagcatcgt	ctccatcacc	accgtcacc	agcagtacga	gtccgtctcc	7560
tcgccccggg	taacaaaggc	catcgccgag	ggcgacgagt	cgctcttccc	gggcatcgag	7620
gaggcgccgc	tgagccgcgg	cctcctgata	ctcgcccaaa	tgtccagcca	gggcaacttc	7680
atgaacaagg	agtacacgca	ggcctgcgtc	gaggccgccc	gggagcacia	ggactttgtc	7740
atgggcttca	tctcgagga	gacgtcaac	accgagccc	acgatgcctt	tatccacatg	7800
acgcccggct	gccagctgcc	ccccgaagac	gaggaccagc	agaccaacgg	atcggtcggg	7860
ggagacggcc	agggccagca	gtacaacacg	ccgcacaagc	tgattggcat	cgccggcagc	7920
gacattgcca	ttgtgggccc	gggcatcctc	aaggcctcag	accccgtaga	ggaggcagag	7980
cggtagcgat	cagcagcgtg	gaaagcctac	accgagaggc	tgctgcgata	ggggagggaa	8040
gggaagaaa	aagtaaagaa	aggcatttag	caagaagggg	gaaaagggag	ggaggacaaa	8100
cggagctgag	aaagagctct	tgtccaaagc	ccggcatcat	agaatgcagc	tgtatttagg	8160
cgacctcttt	ttccatcttg	tcgatttttg	ttatgacgta	ccagttggga	tgatggatga	8220
ttgtaccca	gctgcgattg	atgtgtatct	ttgcatgcaa	caacacgcga	tggcggaggc	8280
gaactgcaca	ttggaagggt	catatatggg	cctgacatat	ctggtggatc	tggaagcatg	8340
gaattgtatt	tttgatttgg	catttgcttt	tgcgctggga	gggaacatat	caccctcggg	8400
catttttcat	ttggtaggat	ggtttggatg	cagttgtcga	cgatatcagc	ttccatatat	8460

acggaattgt tcaattgagt attacctgat ggctatttgt gtcgatcctt tgtgacattg	8520
acatgtgatg ggcctgtac ctctaaatgt atgcagcgta acatcttcag agcacggcgg	8580
catgttctcc cctctacaat attcagataa gcagtacttg tgctgtgaga aaccattga	8640
tcgctggtgg caaccaaggc gatatgtctc caggagagga aattgcacga tcattgatcg	8700
tttgtgctac tcgtttcgtg tccaagcgaa cagagtatta atatatacca ttatatcata	8760
tgcatcgtgg agtcgttact atgcagccta acctaaggta cctacaaatc ggcatcccgg	8820
agttaacgcg gaggctctca tcgccgggcg tctccaccaa ttcgacatat caatgcta	8880
cgggcgcaaa ggctccaacg cggatgctgg tcgcattgag gttccgcatt ctttttcctc	8940
cttccgaccc tctttcttac atctcactct cacatcccgt ttgccggccc gctccccacc	9000
gagacacgaa acggacggca acaatcaacc gtcccccg gaacagcgacc tgacctcccc	9060
tcccccata tacgattacg agctgaacga gacgagagag agagagagag agaagaagaa	9120
gacagagaag aggcatggcc gacattgagg tggcagtcaa cgtacgggcc gagcggggcc	9180
cgactaagaa gcggagacgg atcgtcatct cgtgcaccga gtgccatcga aggaagcaaa	9240
aggtcaggct tctttcttac caagaaacaa agtgaagctt attaattaac tggcctcatg	9300
ggccttcact tcaactgccc ctttccagtc gggaaacctg tcgtgccagc tgcattaaca	9360
tggtcatagc tgtttccttg cgtattgggc gctctccgct tcctcgctca ctgactcgct	9420
gcgctcggtc gttcgggtaa agcctggggc gcctaagtag caaaaggcca gcaaaaggcc	9480
aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgcc ccctgacgag	9540
catcacaaaa atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc cgacaggact ataaagatac	9600
caggcgtttc cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg ttccgaccct gccgcttacc	9660
ggatacctgt ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc tttctcatag ctcacgtgt	9720
aggtatctca gttcgggtga ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca cgaaccccc	9780
gttcagcccc accgctgcgc cttatccggt aactatcgtc ttgagtcaa cccggtaaga	9840
cacgacttat cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta	9900
ggcggtgcta cagagtctt gaagtgggtg cctaactacg gctacactag aagaacagta	9960
tttggtatct gcgctctgct gaagccagtt accttcggaa aaagagttgg tagctcttga	10020
tccggcaaac aaaccaccgc tggtagcggg ggtttttttg tttgcaagca gcagattacg	10080
cgcagaaaaa aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggtc tgacgctcag	10140

```

tggaacgaaa actcacgtta agggattttg gtcacgatgat tatcaaaaag gatcttcacc 10200
tagatccttt taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtatata tgagtaaact 10260
tggtctgaca gttattattht acccaccact ttggtaattht cgcctttcac gtaatgcaca 10320
aattcttcca gctgatccgc acggctggcc agacgatctt cttcctggcc cagatacgcc 10380
tgacgcgctt ccagaatcac cggctgatac tgcgccggca gacgttccat ggcccaatcc 10440
gccgccacat ctttcggcgc aattttggcg gtcaccgcgc tataccaaat acggctcagg 10500
gtcagcacca cgttgcgttc atcaccgcc caatccggcg ggctgttcca cagggtcagg 10560
gtttcgttca gcgcttcaaa caggtcctgt tccggcaccg gatcaaacag ttcttccgct 10620
gccggaccaa ccagcgccac gctatgttca cgcgctttgg tcagcagaat ggccagatcg 10680
atatcaatgg tcgccggttc aaaaatgccg gccagaatat cgttacgctg ccattcgcca 10740
aactgcagct cacgtttcgc cggataacgc cacggaataa tgtcatcatg caccacgatg 10800
gtcacttcca ccgcacgcag aatttcgctt tcaccggggc tcgcgctggt ttccagcaga 10860
tcgttaatca gcgcacgacg ggtggtttca tccagacgca cggtcacggt caccagcaga 10920
tcaatatcgc tatgcggttt caggccgcca tccaccgcgc tgccatacag atgcacggcc 10980
agcagggtcg gttccagatg acgttcaatc acgcccacca cttcagacag ctgggtgctc 11040
acttccgcaa tcaccgcttc acgcataatg ttcagtttgg ttttcggacg gctgccctgc 11100
tgggtcacat cgttgctgct ccacagcatc aggcaacggc ccaccgcata acgcgcctgc 11160
tgtttgctcg cacgcggcat gctctgcacg ccaaaaaagc aatcatagca cgccataaac 11220
accgccaccg caccattacc gccgctacgt tcggtcaggg tacggctcca attacggcta 11280
cgcatactct tcctttttca atattattga agcatttatc agggttattg tctcatgagc 11340
ggatacatat ttgaatgtat ttagaaaaat aaacaaatag gggttccgcg cacatttccc 11400
cgaaaagtgc cac 11413

```

```

<210> 11
<211> 4768
<212> DNA
<213> artifizielle Sequenz

```

```

<220>
<223> mpdh deletion cassette

```

```

<400> 11
aaagacatga accaggctgg agacgagata gtcaggcacc agatggcgag atgggacgag 60

```

gaagaacccat ggacgaggcg aagaatgagg caaagttgga atgacggact gcagtgagtg	120
gatggagttc aaagtacctg ggtacctaca tactgcgtgc atgggccacg ataccggcaa	180
ggaccagcga cacggcaggt acgaagcacg aaccagcaag cacgaaccag catcgtccgt	240
aaatgcaggt gcgttcctgc cttctagacg gcggtaccag ataagagacg ctgcaccgca	300
cataacggaa ggtcactcga cccgctttca aggtggctct tgcgccacgg cctgctggaa	360
gccacgcccc atgattggcc agcagagagg ctcatgccac tggacagctg tactgggtacc	420
tgctgcttct cacctcatgc cctgatgcgt tgttggtactg atgggatggt ctcacccgta	480
cgacgtagca cgaggcctgg accactctgg cattgacacg gcactcaatg caacaatggc	540
atccgatggc cgctgtatgt tgtatcatgt agagcatcga gtactttcac tcgtacctgt	600
acctgcgctc tcgaatgggg accccccctg tggatctggc ggtacaagct gcatgtactc	660
cctggactcg gtccacaccc cccctgctgt gacgatggtc gatcagcttc aaagtccttc	720
catcttcttc gcctgttga cccgattgag gcgccatcgt catcgggacc ccctacctga	780
cctctggcct gtaatactgt cctggctgta tgtcctgcta ccacctggag cagcctttcg	840
gtggctctcg tgcttctcgt ggactctgtc aaactcatcc tcgaattatt ataaagctgg	900
ccggactccc gtcctccta cttgactctt agttcctctc catcatcaac cagctttcac	960
cacacaaaaa ctcccatttc tctttctctt tctcttcctc ctacaaccac cacatcgcca	1020
actcttcctt ctgcaactcc aactccttca cttctcttct ctgttctact cttctccacc	1080
tacttcacct accgcaatcg agagctacct tacatcaata tggccagcac ctcttcggcg	1140
atacatactc gccacccag ccggggcgat tgtgtgtact aggtaggctc gtactatacc	1200
agcaggagag gtgctgcttg gcaatcgtgc tcagctgtta ggttggtactt gtatggtact	1260
tgtaagggtg tcatgcagtt gctaaggtag ctagggaggg attcaacgag ccctgcttcc	1320
aatgtccatc tggataggat ggcggctggc ggggccgaag ctgggaactc gccaacagtc	1380
atatgtaata gctcaagttg atgataccgt tttgccagga ttaggatgcg agaagcagca	1440
tgaatgtcgc tcatccgatg ccgcatcacc gttgtgtcag aaacgaccaa gctaagcaac	1500
taaggtagct taccgtccac tatctcaggt aaccaggtac taccagctac cctacctgcc	1560
gtgcctacct gctttagtat taatctttcc acctccctcc tcaatcttct tttccctcct	1620
ctcctctttt tttttcttc ctcctcttct tctccataac cattcctaac aacatcgaca	1680
ttctctccta atcaccagcc tcgcaaattc tcaggtagt attactacta ctacaatcat	1740

caccacgatg ctccgcccga cgatgcggct tctgttcgcc tgcccctcct ctactcgtg	1800
cccttgacga gctaccccg cagactctcc tgcgtcacca atttttttcc ctatttaccc	1860
ctcctccctc tctccctctc gtttcttcct aacaaacaac caccacaaa atctcttttg	1920
aagctcacga ctacgcaag ctcaattcgc agatacaaat ctagaatgaa aaagcctgaa	1980
ctcaccgca cgtctgtcga gaagtttctg atcgaaaagt tcgacagcgt ctccgacctg	2040
atgcagctct cggagggcga agaattctgt gctttcagct tcgatgtagg agggcgtgga	2100
tatgtcctgc gggtaaatag ctgcgccgat ggtttctaca aagatcgta tgtttatcgg	2160
cactttgcat cggccgcgct cccgattccg gaagtgcttg acattgggga attcagcgag	2220
agcctgacct attgcatctc ccgccgtgca cagggtgtca cgttgcaaga cctgcctgaa	2280
accgaactgc ccgctgttct gcagccggtc gcggaggcca tggatgcgat cgctgcggcc	2340
gatcttagcc agacgagcgg gttcggccca ttcggaccgc aaggaatcgg tcaatacact	2400
acatggcgtg atttcatatg cgcgattgct gatcccatg tgtatcactg gcaaaactgtg	2460
atggacgaca ccgtcagtgc gtccgtcgcg caggctctcg atgagctgat gctttgggcc	2520
gaggactgcc ccgaagtccg gcacctcgtg cacgcggatt tcggctcaa caatgtcctg	2580
acggacaatg gccgcataac agcggtcatt gactggagcg aggcgatgtt cggggattcc	2640
caatacgagg tcgccaacat cttcttctgg aggccgtggt tggcttgtat ggagcagcag	2700
acgcgtact tcgagcggag gcatccggag cttgcaggat cgccgcggct ccgggcgtat	2760
atgtccgca ttggtcttga ccaactctat cagagcttgg ttgacggcaa tttcgatgat	2820
gcagcttggg cgagggtcg atgcgacga atcgtccgat ccggagccgg gactgtcggg	2880
cgtacacaaa tcgcccgcag aagcgcggcc gtctggaccg atggctgtgt agaagtactc	2940
gccgatagt gaaaccgacg ccccagcact cgtccgaggg caaaggaata atgcatgtgc	3000
tgtgttcctc agaatgggcc ccagaagggc gtcgagcatt gtctatgaat gcaaacaaaa	3060
atagtaaata aatagtaatt ctggccatga cgaatagagc caatctgctc cacttgacta	3120
tccttgtgac tgtatcgtat gtcgaaccct tgactgccc ttcaaacaat tgtaaaggaa	3180
tatgagctac aagttatgtc tcacgtttgc gtgcgagccc gtttgtacgt tattttgaga	3240
aagcgttgcc atcacatgct cacagtcact tggcttacga tcatgtttgc gatctttcgg	3300
taagaataca cagagtaacg attatacatc catcgctttc tatgattagg tactcagaca	3360
acacatggga aacaagataa ccatcgcatg caaggtcgat tccaatcatg atctggactg	3420

gggtattcca tctaagccat agtacccttg cgatggctct tctggcgttc tagctcggca 3480
 tcactcacgg cgctgagtgg tgaccggcct actgcatctg gctttgggct tcttttgatc 3540
 ttttacttct actttttctc ttctacaact tgtgttaaga atgcacgaat gaacggcaag 3600
 gcgctgggtt ccgggttaat agagcatcgt ctcttttggt ttctatTTTT tttgtactct 3660
 gctagggcat tccttgacgg gaacaaaagg tgctcgggat atcttcatgg gaagcttcag 3720
 tctatagatg gactgagcag gcagcataac ggggtcaagat accacatcaa taaaagcaga 3780
 cttgatcatg accttccttt tcatccatca ttgcaatgtc ctcgtagatg tagctctagt 3840
 agcaggcaat ctaaagtga ggtcaccatg atctcaagct gaagtttcca cagccagtag 3900
 tagacttctt aacgatgcaa atgcagccac cccgtccaat acggctcggg aggaacattt 3960
 cctccaatcc gtcaaccaac ccatctcacg ttccggctcg gcagctaatt aatcagccca 4020
 ggccatgaca ggcgacacat tggatggaag ttccgtcaca cacatccgct aaagcatgcc 4080
 ataccttttg ctagcacacc acccacacc aaccagtc at gccgttccgt cccaccaccc 4140
 cctcttaatc ttgggtacgt atatggatgg atggatggac agacggctgg aaggacggat 4200
 ggatggatgc atccctgaga attacccaat taggaagggc acgatgtgtg gccggctgat 4260
 tgggtccctga gcatttcatt cctagtggcc ttctttttcc ttcttcttct attttctcaa 4320
 ggggcagcct tacgctaggt attccaatac gtaacatggt gtctcgaggt atgtcactgc 4380
 agagcaggtc aaagcaagac aaggctgagt ctacaggcac ctgcctccat tctcgtctct 4440
 ccgcatagta gtagtactac ctatttaacc aaatcccga ctacgccgac catggacaac 4500
 atgatgtgag acacatctgg acagaagtgg gcaatgccat ttacagcctc atgcatgcca 4560
 cttcagcagc ttgagccctt gctgcagcat tatcacagca cctactggga cagtacatag 4620
 gtagtaggta ggaagtatgc aggtagcact acatggacat gccccctcgt gggccccctat 4680
 ttctgcgcgc atttcacgca cgacaattcc tcacacgagt tggggaacgg aaagattact 4740
 gacaggccct tgttttatgc cgactcgg 4768

<210> 12
 <211> 1615
 <212> DNA
 <213> *Trichoderma reesei*

<400> 12
 ctacaaccac cacatcgcca actcttcctt ctgcaactcc aactccttca cttctcttct 60

ctgttctact cttctccacc tacttcacct accgcaatca tggccaacgc aactggcaag	120
aaggcagtcc actttggcgc cggcaacatc ggccgtggct tcgttgcttg cttcctccac	180
aactcgggct atgaggtcgt ttttgccgac gtcaacggag acctgattga taccatcaac	240
tctacccccct cctacaaagt catcgaggtc ggctccgagg gcacctcaga aaacgtcatc	300
accaactacc gggccatcaa ctctcggact cacgaggaag acctcgttga ggagatccgc	360
actgccgacg tcgtcacctg ctccgtcggc cccaacatcc tcaagttcat cgctcccgtc	420
atcgcaaagg gcatcgaccg ccgctccgac gacgagacgc ccctgcacgt cattgcctgc	480
gagaacgcca ttggcgccac cgacacgctg gccagctaca tcaaggatgc caagaacacg	540
gacctgccc gtctcgagac gcaccacctg cgtgcccgtc acgccaactc ggctattgac	600
cggatcgtgc cggcgcagga cccaatgcc ggccttgacg tgaagctgga gaagttcttt	660
gagtgggttg tcgacaagac cccctttgag gacattggca tcccgcccat tgagggcac	720
cagtgggtcg acaacctgga gcccttcacg gagcgcaagc tgtacacggt caacactggc	780
cacgctacgg ctgcctacca cggctactac cgcagaaagc gcaccgtcta cgatgctctc	840
caggacaagg agatcatggc tgaggtccgt ggcgccctga ccgagaccaa gaacctgctc	900
gttgccaagc acggcatcga cgaggaggcc cagctcgcct acatgaacaa gattatcaag	960
cgcacgggca acccccattt ggaggatgct gtcgagcgtg tcggccgcgc tcccctgagg	1020
aagctgtcgc gcaaggagcg cttcatcggc cccgccgccg aggccgccga gaacgacatg	1080
cccgtcaagt acctcctcga cgccatcgag atgacgttcc gcttccagga cgtcgagggt	1140
gacgacgagt ccaaggagct ctctaccatc atgtccgaga acacccccga ggacgttgctc	1200
gccaaggctc gcggcatcaa gccgacggag aagatctacc ctcgcctggt cgaggttgtc	1260
aagcgtgtgc aggctgacag ccaggaggag taacttgca tggctcttct ggcgttctag	1320
ctcggcatca ctcacggcgc tgagtgggtga ccggcctact gcatctggct ttgggcttct	1380
tttgatcttt tacttctact ttttctcttc tacaacttgt gttaagaatg cacgaatgaa	1440
cggcaaggcg ctgggttccg ggtaataaga gcatcgtctc ttttgttttc tatttttttt	1500
gtactctgct agggcattcc ttgacgggaa caaaaggtgc tcgggatatc ttcattgggaa	1560
gcttcagtct atagatggac tgagcaggca gcataacggg tcaagatacc acatc	1615

<210> 13
 <211> 397
 <212> PRT

<213> Trichoderma reesei

<400> 13

Met Ala Asn Ala Thr Gly Lys Lys Ala Val His Phe Gly Ala Gly Asn
1 5 10 15

Ile Gly Arg Gly Phe Val Ala Cys Phe Leu His Asn Ser Gly Tyr Glu
20 25 30

Val Val Phe Ala Asp Val Asn Gly Asp Leu Ile Asp Thr Ile Asn Ser
35 40 45

Thr Pro Ser Tyr Lys Val Ile Glu Val Gly Ser Glu Gly Thr Ser Glu
50 55 60

Asn Val Ile Thr Asn Tyr Arg Ala Ile Asn Ser Arg Thr His Glu Glu
65 70 75 80

Asp Leu Val Glu Glu Ile Arg Thr Ala Asp Val Val Thr Cys Ser Val
85 90 95

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

Asp Arg Arg Ser Asp Asp Glu Thr Pro Leu His Val Ile Ala Cys Glu
115 120 125

Asn Ala Ile Gly Ala Thr Asp Thr Leu Ala Ser Tyr Ile Lys Asp Ala
130 135 140

Lys Asn Thr Asp Pro Ala Arg Leu Glu Thr His His Leu Arg Ala Arg
145 150 155 160

Tyr Ala Asn Ser Ala Ile Asp Arg Ile Val Pro Ala Gln Asp Pro Asn
165 170 175

Ala Gly Leu Asp Val Lys Leu Glu Lys Phe Phe Glu Trp Val Val Asp
180 185 190

Lys Thr Pro Phe Glu Asp Ile Gly Ile Pro Pro Ile Glu Gly Ile Gln
195 200 205

Trp Val Asp Asn Leu Glu Pro Phe Ile Glu Arg Lys Leu Tyr Thr Val
210 215 220

Asn Thr Gly His Ala Thr Ala Ala Tyr His Gly Tyr Tyr Arg Arg Lys
225 230 235 240

Arg Thr Val Tyr Asp Ala Leu Gln Asp Lys Glu Ile Met Ala Glu Val
245 250 255

Arg Gly Ala Leu Thr Glu Thr Lys Asn Leu Leu Val Ala Lys His Gly
260 265 270

Ile Asp Glu Glu Ala Gln Leu Ala Tyr Met Asn Lys Ile Ile Lys Arg
275 280 285

Ile Gly Asn Pro His Leu Glu Asp Ala Val Glu Arg Val Gly Arg Ala
290 295 300

Pro Leu Arg Lys Leu Ser Arg Lys Glu Arg Phe Ile Gly Pro Ala Ala
305 310 315 320

Glu Ala Ala Glu Asn Asp Met Pro Val Lys Tyr Leu Leu Asp Ala Ile
325 330 335

Glu Met Thr Phe Arg Phe Gln Asp Val Glu Gly Asp Asp Glu Ser Lys
340 345 350

Glu Leu Ser Thr Ile Met Ser Glu Asn Thr Pro Glu Asp Val Val Ala
355 360 365

Lys Val Cys Gly Ile Lys Pro Thr Glu Lys Ile Tyr Pro Arg Leu Val
370 375 380

Glu Val Val Lys Arg Val Gln Ala Asp Ser Gln Glu Glu
385 390 395

<210> 14

<211> 1418

<212> DNA

<213> Trichoderma reesei

<400> 14

cagacaacta caaacaagat gggtggcggtt gacgcagaga ttatcgccga tgataccaga

60

```

atcctgggtc aggatccttt gatcccccg gctctgctca tctccgagat ccccatgact      120
cccaatgccc tccagaccgt cgtcaagggc cggagagacg ctgcccagat catcatgggc      180
cagaacgaca ggctattagt cgtcgtcggc ccctgctcca tccacgaccc cgaagccgcc      240
cacgagtacg ccgcccgcct caagcagctc tccgagaagc tcgccgacga cctctgcatc      300
gtgatgcgcg cctacctgga gaagcctcgc acgaccgtcg gctggaaggg cctgatcaac      360
gatcccgata tcgactcgtc cttccagatc aacaagggcc tgcgcgtctc ccgccggctc      420
ttcgtcgacc tgacctcaa cggcatgccc attgccaccg agatgctcga caccatctcc      480
ccccagttcc tcgccgactg catctccgtc ggcgccattg gcgcgcgaac gaccgagtcc      540
cagctgcacc gtgagctcgc ttccggcctg tccttccccg tgggcttcaa gaacggaacc      600
gacggcagcc ttggcgtcgc cattgatgcc attggcgctg ccgcggccaa gcaccacttc      660
atgggtgtga cgaagcaggg cctggctgcc attaccgcga ccaagggcaa cgagcacggc      720
ttcgtgatcc tgagaggcgg aagcaagggc cccaactttg acaaggagag cgtccaggcg      780
gccaagaaga tgctgacgga caagggccag aagctggcca ttatgattga ctgttctcac      840
ggcaactctc agaagaacca caacaaccag cccaaggttg ccaaggccat tgccgaccag      900
ctgcgcgagg gcgagcgagc cattgtcggc gtcatgatcg agtccaacat caacgagggc      960
aaccaaaagg tccctgctga gggtcggcc ggtctcaagc gcggcgttag catcacggat     1020
gcatgcatca actgggagga cacagtcacg gtcctcgagg accttgccgc tgccgtccgc     1080
acccgacgcg aggtcaactc gggtgctcct agcgcagagg ccaaggtgag cactctggag     1140
gaggactaga cgtagtttta ccggaagggg cgtatgtgtg tacgatgaga gagaggaacg     1200
aaaagcatga gggtcggttt gttgattttg aacattacga tgcgtgagtt tatgcgcgcg     1260
aatcctggct tcctccctgg ccagcgtaaa taagaaaagt tttagggaga gcattcgaca     1320
cggatatcga gaaattggcg caccaaagga acatgtatga aggcataatat tgttggctgt     1380
ccactttgtc acagacggcg cacacgaacc agtttcag                                1418

```

```

<210> 15
<211> 376
<212> PRT
<213> Trichoderma reesei

```

```
<400> 15
```

```

Met Val Gly Val Asp Ala Glu Ile Ile Ala Asp Asp Thr Arg Ile Leu
1           5           10          15

```

Gly Gln Asp Pro Leu Ile Pro Pro Ala Leu Leu Ile Ser Glu Ile Pro
 20 25 30

Met Thr Pro Asn Ala Leu Gln Thr Val Val Lys Gly Arg Arg Asp Ala
 35 40 45

Ala Gln Ile Ile Met Gly Gln Asn Asp Arg Leu Leu Val Val Val Gly
 50 55 60

Pro Cys Ser Ile His Asp Pro Glu Ala Ala His Glu Tyr Ala Ala Arg
 65 70 75 80

Leu Lys Gln Leu Ser Glu Lys Leu Ala Asp Asp Leu Cys Ile Val Met
 85 90 95

Arg Ala Tyr Leu Glu Lys Pro Arg Thr Thr Val Gly Trp Lys Gly Leu
 100 105 110

Ile Asn Asp Pro Asp Ile Asp Ser Ser Phe Gln Ile Asn Lys Gly Leu
 115 120 125

Arg Val Ser Arg Arg Leu Phe Val Asp Leu Thr Ser Asn Gly Met Pro
 130 135 140

Ile Ala Thr Glu Met Leu Asp Thr Ile Ser Pro Gln Phe Leu Ala Asp
 145 150 155 160

Cys Ile Ser Val Gly Ala Ile Gly Ala Arg Thr Thr Glu Ser Gln Leu
 165 170 175

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

Gly Thr Asp Gly Ser Leu Gly Val Ala Ile Asp Ala Ile Gly Ala Ala
 195 200 205

Ala Ala Lys His His Phe Met Gly Val Thr Lys Gln Gly Leu Ala Ala
 210 215 220

Ile Thr Arg Thr Lys Gly Asn Glu His Gly Phe Val Ile Leu Arg Gly
 225 230 235 240

Gly Ser Lys Gly Pro Asn Phe Asp Lys Glu Ser Val Gln Ala Ala Lys
245 250 255

Lys Met Leu Thr Asp Lys Gly Gln Lys Leu Ala Ile Met Ile Asp Cys
260 265 270

Ser His Gly Asn Ser Gln Lys Asn His Asn Asn Gln Pro Lys Val Ala
275 280 285

Lys Ala Ile Ala Asp Gln Leu Arg Glu Gly Glu Arg Ala Ile Val Gly
290 295 300

Val Met Ile Glu Ser Asn Ile Asn Glu Gly Asn Gln Lys Val Pro Ala
305 310 315 320

Glu Gly Pro Ala Gly Leu Lys Arg Gly Val Ser Ile Thr Asp Ala Cys
325 330 335

Ile Asn Trp Glu Asp Thr Val Thr Val Leu Glu Asp Leu Ala Ala Ala
340 345 350

Val Arg Thr Arg Arg Glu Val Asn Ser Gly Ala Pro Ser Ala Glu Ala
355 360 365

Lys Val Ser Thr Leu Glu Glu Asp
370 375

<210>	16
<211>	3267
<212>	DNA
<213>	Trichoderma reesei

<400>	16						
atgacaacgc	tgctcaacaa	cccgccggat	tcgggtcccc	cgccgcgcca	gattcgcttc		60
gtacataacc	agggccagcc	gccgtccaag	cgacgcagga	tcaatgcagc	gtatgttctt		120
ctgggggcttc	tctcgccttg	cttcgtctgt	cttgccgcgt	cacccttggt	ggcaaattggc		180
tgtcctagac	agataagtgc	aagatggcgc	gagcatcaac	accatgcggg	taccagtga		240
gctataagta	tgtagagcta	acctcgtctt	gcgcgcagat	gcttgacctg	tcgaagacga		300
aagacgagat	gcgccggcga	acgaccgctt	tgcaccacat	gcactaagaa	cgggcaccaa		360

tgccctcggtt atccccgagga caggagagat ggcgaggcag cggcaaggac gggcgacgag	420
gaaacgacgc caagggagga tgtcaaccaa ggcgaggacg acgtcgcctc tagaaaaccc	480
gctgcttcgg ggcttgcgaa ccgtccgacg tcctctgggg gcagcaatct gcaagctacg	540
catgctgctg cctctgctgc ctctgcttca cggccgcccgc ggcgcaatat caagcagact	600
atcgaagtcg gcgccgatgc caaccggggc gacgcagagc cgcaacagtc tcccgtacta	660
catcaccacc accagagcca ccaccagaat caccatcctc atcatcaagc tcatctctca	720
gtcacgtccg atgacttgcc cagttcgccc accctccgcc gatcggcccc cagccgtcgc	780
atccccctatt tccgctactt tggctccacg gccatcgtcc ccggcttcaa gcaaatggtg	840
gtctctgttc gcgaccgtcg ccgttcgacg gcaggctcac attccggcgc ctctcttcat	900
tcgacgcca gcggggcgat ggccagtggc tcggccattg acagcgacat tgtccgcgaa	960
gacattccct cctacgacc caacaactcc gccccgttc atcccttaat cattcagcta	1020
gtcaatacgt tttttgttca cgtcgggtgc aattaccctt ttctcaaaca agacaagttt	1080
ctgcaacatg taaaggagaa acgggtcgag ccgatacttg tcgatgccgt ctgcgccatc	1140
gcggcgcgct tctcggaaca tcacatcctg acgggcggca acgacaagat gccccggaca	1200
gagagaggcc aggtctttgc gcaacggggc aggcaggcca ccgtcgacac tttcccttgc	1260
ccttctgtgg gtgcgggtcca ggcttgccctg ctgatggcat acgagggtt cggggcggcc	1320
caggatagcg cgctgtggat gtatctgggc ttggccattc gcatggcggt tgatctcggt	1380
ctccaaaagt gcgtgggctg tcaatatcaa ggcgaaaagg acccttggtta caccggcat	1440
cgaagtcggg ccaacgacga tgatcaggac agcccagagg cgacaaggc ggatgccgtc	1500
gacggcccta gcccggagga acagaaggag gtagagcagg agcgcatata taccttctgg	1560
tccgtcttca tcctggaccg gtcacatctc tctggcactg gacggccggt cacgatccgc	1620
gacggcgact acgagctcgc ctttcccgaa tccagcgtcg acctcgctac cggatggccg	1680
aaccattttc ctgttctcct ccagatcatc cacctctacg gtcaagtgtg cgatgtgctg	1740
aacaatctcc acgacgcca agaccttacc caggacaagt gggatcagct atccgagatg	1800
gagcatcgac tcacgagaat gtacaagcac tgggacccgc ggcttcagtt caacgtcaac	1860
aactttaaga cgtacctcgg catgggccag ggcaccaact ttatcctcct ccacttttgg	1920
ttccacgcgc tcttcatcat attgcatcaa ccgactcttc ttacccctt ttgcgaactg	1980
cggagcgagc tccagctgct ctcggacagc cgtgagctga gcatgagcag cgcaaagacc	2040

atctgcgaca ttttgtcctt tgccgacttg atagatccga cgagttttat tggcaaccca 2100
 ttcacgaatc agcccattta tatcgcgga tgcgcatttc tcatggaatc gagcgccaac 2160
 aatgcatctg agggctcgtc caggaggaggc tcgcctccca ctcaagcgag tcgctccagg 2220
 caacagacga agcactttaa caagcagtct cggcattcgc ttctcgcgtc ggccgccaac 2280
 cagaattacc agcgaatgta caactccctg cagcagatcc aggcgtactg gggcggagta 2340
 ggctatatcc tcaccgcgtt ggaccagaag tcaaagggca agtgggactg cgagacgtat 2400
 accgtggagg agtatgagag caccaagctg cccctcctc ggccgtcgat tggtagagcag 2460
 ctgtcgcggt tcgagaagca gtcgtcgcgc aagattgccg gctcaccgat tgcttgaggt 2520
 ctgtccggca cggccaattc gcccaactcc agcctgacac tcatgtatca ggctctcaac 2580
 gccagcgcag gcggccacac tggattccct ccgcctgtgc agtccgtggc gagggctgcc 2640
 aatggttcgc cggggagcat cgcgctggac cccattcgac acacgatgcc ggaagtggga 2700
 atgtttacgt cggcggttcc gcagccaaac atgtctgcca ttcgaaactc tcctcggcgg 2760
 ccatatgctg ccaattctat gaatgccgcg ggggcgaact cgcggaatca gaatatcatg 2820
 ggcttcgaag acattccgga agagtcgccg gatgcaaagg gtctgatgtc caattactca 2880
 acctctggcc agccctacga tggatataat gcatccccga ccagcggcaa ttcgggcatg 2940
 ggcaattcta cagccgtgac gagggtcccc agtggaacaa cgacgtcgaa tgcgaatacc 3000
 cacaacaata acaacaacaa cagcaccacc accaccagca gcagcaacag caacagcatg 3060
 tatttcgcgc aaaacatggc atcatatcaa gcctgggggc cgatgacggg caacatggac 3120
 gccatcacgt tcgacagcca ggacattgac attgaggcgc tggggctgca gcagccggac 3180
 ctgatgagcg ggtggctcga gtatcttccc agtgatgtgc tggggctgtt tgacgagcat 3240
 ggcgagtcgg ggcagggcgg ccattga 3267

<210> 17

<211> 983

<212> PRT

<213> Trichoderma reesei

<400> 17

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

Gln Ile Arg Phe Val His Asn Gln Gly Gln Pro Pro Ser Lys Arg Arg
 20 25 30

Arg Ile Asn Ala Ala Cys Leu Thr Cys Arg Arg Arg Lys Thr Arg Cys
 35 40 45

Ala Gly Glu Arg Pro Leu Cys Thr Thr Cys Thr Lys Asn Gly His Gln
 50 55 60

Cys Leu Gly Tyr Pro Glu Asp Arg Arg Asp Gly Glu Ala Ala Ala Arg
 65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Glu Thr Thr Pro Arg Glu Asp Val Asn Gln Gly Glu
 85 90 95

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

Pro Thr Ser Ser Gly Gly Ser Asn Leu Gln Ala Thr His Ala Ala Ala
 115 120 125

Ser Ala Ala Ser Ala Ser Arg Pro Pro Arg Arg Asn Ile Lys Gln Thr
 130 135 140

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

Asp Asp Leu Pro Ser Ser Pro Thr Leu Arg Arg Ser Ala Pro Ser Arg
 165 170 175

Arg Ile Pro Tyr Phe Arg Tyr Phe Gly Ser Thr Ala Ile Val Pro Gly
 180 185 190

Phe Lys Gln Met Val Val Ser Val Arg Asp Arg Arg Arg Ser Thr Ala
 195 200 205

Gly Ser His Ser Gly Ala Ser Leu His Ser Thr Pro Ser Gly Ala Met
 210 215 220

Ala Ser Gly Ser Ala Ile Asp Ser Asp Ile Val Arg Glu Asp Ile Pro
 225 230 235 240

Ser Tyr Asp Pro Asn Asn Ser Ala Pro Val His Pro Leu Ile Ile Gln
 245 250 255

Leu Val Asn Thr Phe Phe Val His Val Gly Cys Asn Tyr Pro Phe Leu
 260 265 270

Lys Gln Asp Lys Phe Leu Gln His Val Lys Glu Lys Arg Val Glu Pro
 275 280 285

Ile Leu Val Asp Ala Val Cys Ala Ile Ala Ala Arg Phe Ser Asp His
 290 295 300

His Ile Leu Thr Gly Gly Asn Asp Lys Met Pro Arg Thr Glu Arg Gly
 305 310 315 320

Gln Val Phe Ala Gln Arg Ala Arg Gln Ala Thr Val Asp Thr Phe Pro
 325 330 335

Cys Pro Ser Val Gly Ala Val Gln Ala Cys Leu Leu Met Ala Tyr Glu
 340 345 350

Gly Phe Gly Ala Ala Gln Asp Ser Ala Leu Trp Met Tyr Leu Gly Leu
 355 360 365

Ala Ile Arg Met Ala Val Asp Leu Gly Leu Gln Lys Cys Val Gly Val
 370 375 380

Gln Tyr Gln Gly Glu Lys Asp Pro Trp Tyr Thr Arg His Arg Ser Arg
 385 390 395 400

Ala Asn Asp Asp Asp Gln Asp Ser Pro Glu Ala His Lys Ala Asp Ala
 405 410 415

Val Asp Ala Pro Ser Pro Glu Glu Gln Lys Glu Val Glu Gln Glu Arg
 420 425 430

Ile Tyr Thr Phe Trp Ser Val Phe Ile Leu Asp Arg Leu Ile Ser Ser
 435 440 445

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

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

Pro Val Leu Leu Gln Ile Ile His Leu Tyr Gly Gln Val Cys Asp Val
 485 490 495

Leu Asn Asn Leu His Asp Ala Gln Asp Leu Thr Gln Asp Lys Trp Asp
 500 505 510

Gln Leu Ser Glu Met Glu His Arg Leu Thr Arg Met Tyr Lys His Trp
 515 520 525

Asp Pro Arg Leu Gln Phe Asn Val Asn Asn Phe Lys Thr Tyr Leu Gly
 530 535 540

Met Gly Gln Gly Thr Asn Phe Ile Leu Leu His Phe Trp Phe His Ala
 545 550 555 560

Leu Phe Ile Ile Leu His Gln Pro Thr Leu Leu Thr Pro Phe Cys Glu
 565 570 575

Leu Arg Ser Glu Leu Gln Leu Leu Ser Asp Ser Arg Glu Leu Ser Met
 580 585 590

Ser Ser Ala Lys Thr Ile Cys Asp Ile Leu Ser Phe Ala Asp Leu Ile
 595 600 605

Asp Pro Thr Ser Phe Ile Gly Asn Pro Phe Thr Asn Gln Pro Ile Tyr
 610 615 620

Ile Ala Ala Cys Ala Phe Leu Met Glu Ser Ser Ala Asn Asn Ala Ser
 625 630 635 640

Glu Gly Ser Ser Arg Glu Gly Ser Pro Pro Thr Gln Ala Ser Arg Ser
 645 650 655

Arg Gln Gln Thr Lys His Phe Asn Lys Gln Ser Arg His Ser Leu Leu
 660 665 670

Ala Ser Ala Ala Asn Gln Asn Tyr Gln Arg Cys Tyr Asn Ser Leu Gln
 675 680 685

Gln Ile Gln Ala Tyr Trp Gly Gly Val Gly Tyr Ile Leu Thr Ala Leu
 690 695 700

Asp Gln Lys Ser Lys Gly Lys Trp Asp Cys Glu Thr Tyr Thr Val Glu
705 710 715 720

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

Gln Leu Ser Arg Phe Glu Lys Gln Ser Ser Pro Lys Ile Ala Gly Ser
740 745 750

Pro Ile Ala Trp Ser Leu Ser Gly Thr Ala Asn Ser Pro Asn Ser Ser
755 760 765

Leu Thr Leu Met Tyr Gln Ala Leu Asn Ala Ser Ala Gly Gly His Thr
770 775 780

Gly Phe Pro Pro Pro Val Gln Ser Val Ala Arg Ala Ala Asn Gly Ser
785 790 795 800

Pro Gly Ser Ile Ala Leu Asp Pro Ile Arg His Thr Met Pro Glu Val
805 810 815

Gly Met Phe Thr Ser Ala Val Pro Gln Pro Asn Met Ser Ala Ile Arg
820 825 830

Asn Ser Pro Arg Arg Pro Tyr Ala Ala Asn Ser Met Asn Ala Ala Gly
835 840 845

Ala Asn Ser Arg Asn Gln Asn Ile Met Gly Phe Glu Asp Ile Pro Glu
850 855 860

Glu Ser Pro Asp Ala Lys Gly Leu Met Ser Asn Tyr Ser Thr Ser Gly
865 870 875 880

Gln Pro Tyr Asp Gly Tyr Asn Ala Ser Pro Thr Ser Gly Asn Ser Gly
885 890 895

Met Gly Asn Ser Thr Ala Val Thr Ser Ala Pro Ser Gly Asn Thr Thr
900 905 910

Asn Ser Met Tyr Phe Ala Gln Asn Met Ala Ser Tyr Gln Ala Trp Gly
915 920 925

Pro Met Thr Gly Asn Met Asp Ala Ile Thr Phe Asp Ser Gln Asp Ile
 930 935 940

Asp Ile Glu Ala Leu Gly Leu Gln Gln Pro Asp Leu Met Ser Gly Trp
 945 950 955 960

Leu Glu Tyr Leu Pro Ser Asp Val Leu Gly Leu Phe Asp Glu His Gly
 965 970 975

Glu Ser Gly Gln Gly Gly His
 980

<210> 18
 <211> 1773
 <212> DNA
 <213> Trichoderma reesei

<400> 18
 atgtcaacca gacacatttt tacgtcatgt gacggcctcg tcaacaaggc catccgaggc 60
 atcattacct acaacccttc tctcagccta gacgaaagca accgggtcgt ctatgacacc 120
 acatacgaca agtccaaagt cgtcatcata agcggaggcg gctccggaca tgagcctgcg 180
 tggacaggct atgtcgggtca aaacatgctc gcagcttcgg ttcaaggaga catctttgcc 240
 agccccagca caaagcaaatt cttgcagca gtggacgctg ttccgagtga caagggcacc 300
 attctggtca tcacaaacta cactggtgac tgtctgcact ttgggctggc caacgagaaa 360
 gccaatgcca aaggccacaa ctgccggacc atcatctgcg gcgacgatgt ctctgtcggc 420
 aagaacggga gcatggttgg tcgcagaggt ttggctggac agatgggtgt cctcaaagtc 480
 atgggaggag ctgctggtgc tggaggctcg ctggacgaag ttacaatct tgggtgtcga 540
 ttctcgcagc agattgtgtc tattgcggca accttgatc attgccatgt tccaggacgt 600
 gctgaacatg gcatgcttca agaaggcgtt gttgaactcg gcaccggccc tcataacgaa 660
 cccggataca agaaactatc ccctgcgcca tctgcgtctg atctcgtctc ccagattcta 720
 caatactgtc tgaatgaaaa ggatccggaa agaggctacg ttacttcgc ccctagtgat 780
 gaagtcatac tacttctcag caactacggc ggcatatcg acctggagat gggcgctctg 840
 gttgacgaaa ttctcgagca gcttgcaaga gactggaaga ttgagccggt gagggtatgc 900
 gccggcttca tcgagacgtc actcaatgct ccagcctttt ctgtctccgt catcaatgtg 960

```

actgctgccg caaagaattg cagttactct gtcgaagaga tcaagtcctt ctttgatgcc      1020
aggacgacga cgttttggga gtccatgact gggtcgcaga cacggcggag gacgagacag      1080
cagcagattg ttcagccccc ggaggaagag gtcaaggcag ttgatgagtc aaaagatctg      1140
actattgatc ccacgctctt agagaagatg ttgaggaacg cttgtgaagc gctcgtcaag      1200
gctgagccag atctcaccaa gtgggatacc gtcatgggtg atggagattg cggagagacg      1260
ctcaggactg gagccacatc tttgctcacg gcccttgatt cgggattggc gaaatctggg      1320
tcagttgtga gagtactatt ggaactcgaa gacatcgtgg agagcaagat gggcgggtact      1380
ctgggcggca tattgggcat cttttttgtc tccttgctg cagctgtcga gaagaatatt      1440
ggactggccc aaagcccggg cttgctctgg ggaacagctc ttgcaacagc tctggagagt      1500
ctcaggaggt atacgcctgc caaggtcgga gatcgtactg tcatggacac actcatcccg      1560
tttgctaccg tcatgtgtga gtcgggcttt gataacggcg tcaaggcggc acaggatgga      1620
gcggatgcga ccaagacgat gaagccgaga ctgggaagag caacgtatgt tggcgtgtcg      1680
agtgagaaca aggagtggcc tcctgatccc ggtgcttggg gggccatggt ggccattcgc      1740
ggtttgcgac aaggtctggt tgaagcgatc tag                                  1773

```

```

<210> 19
<211> 590
<212> PRT
<213> Trichoderma reesei

```

```
<400> 19
```

```

Met Ser Thr Arg His Ile Phe Thr Ser Cys Asp Gly Leu Val Asn Lys
1           5           10          15

```

```

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

```

```

Ser Asn Arg Val Val Tyr Asp Thr Thr Tyr Asp Lys Ser Lys Val Val
          35          40          45

```

```

Ile Ile Ser Gly Gly Gly Ser Gly His Glu Pro Ala Trp Thr Gly Tyr
50           55           60

```

```

Val Gly Gln Asn Met Leu Ala Ala Ser Val Gln Gly Asp Ile Phe Ala
65           70           75          80

```

Ser Pro Ser Thr Lys Gln Ile Leu Ala Ala Val Asp Ala Val Pro Ser
85 90 95

Asp Lys Gly Thr Ile Leu Val Ile Thr Asn Tyr Thr Gly Asp Cys Leu
100 105 110

His Phe Gly Leu Ala Asn Glu Lys Ala Asn Ala Lys Gly His Asn Cys
115 120 125

Arg Thr Ile Ile Cys Gly Asp Asp Val Ser Val Gly Lys Asn Gly Ser
130 135 140

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

Met Gly Gly Ala Ala Gly Ala Gly Gly Ser Leu Asp Glu Val Tyr Asn
165 170 175

Leu Gly Val Ala Phe Ser Gln Gln Ile Val Ser Ile Ala Ala Thr Leu
180 185 190

Asp His Cys His Val Pro Gly Arg Ala Glu His Gly Met Leu Gln Glu
195 200 205

Gly Val Val Glu Leu Gly Thr Gly Pro His Asn Glu Pro Gly Tyr Lys
210 215 220

Lys Leu Ser Pro Ala Pro Ser Ala Ser Asp Leu Val Ser Gln Ile Leu
225 230 235 240

Gln Tyr Cys Leu Asn Glu Lys Asp Pro Glu Arg Gly Tyr Val His Phe
245 250 255

Ala Pro Ser Asp Glu Val Ile Leu Leu Leu Ser Asn Tyr Gly Gly Ile
260 265 270

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

Ala Arg Asp Trp Lys Ile Glu Pro Val Arg Val Cys Ala Gly Phe Ile
290 295 300

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

Thr Ala Ala Ala Lys Asn Cys Ser Tyr Ser Val Glu Glu Ile Lys Ser
 325 330 335

Phe Phe Asp Ala Arg Thr Thr Thr Phe Trp Glu Ser Met Thr Gly Ser
 340 345 350

Gln Thr Arg Arg Arg Thr Arg Gln Gln Gln Ile Val Gln Pro Pro Glu
 355 360 365

Glu Glu Val Lys Ala Val Asp Glu Ser Lys Asp Leu Thr Ile Asp Pro
 370 375 380

Thr Leu Leu Glu Lys Met Leu Arg Asn Ala Cys Glu Ala Leu Val Lys
 385 390 395 400

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

Cys Gly Glu Thr Leu Arg Thr Gly Ala Thr Ser Leu Leu Thr Ala Leu
 420 425 430

Asp Ser Gly Leu Ala Lys Ser Gly Ser Val Val Arg Val Leu Leu Glu
 435 440 445

Leu Glu Asp Ile Val Glu Ser Lys Met Gly Gly Thr Leu Gly Gly Ile
 450 455 460

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

Gly Leu Ala Gln Ser Pro Val Leu Leu Trp Gly Thr Ala Leu Ala Thr
 485 490 495

Ala Leu Glu Ser Leu Arg Arg Tyr Thr Pro Ala Lys Val Gly Asp Arg
 500 505 510

Thr Val Met Asp Thr Leu Ile Pro Phe Ala Thr Val Met Cys Glu Ser
 515 520 525

Gly Phe Asp Asn Gly Val Lys Ala Ala Gln Asp Gly Ala Asp Ala Thr
 530 535 540

Lys Thr Met Lys Pro Arg Leu Gly Arg Ala Thr Tyr Val Gly Val Ser
 545 550 555 560

Ser Glu Asn Lys Glu Leu Pro Pro Asp Pro Gly Ala Trp Gly Ala Met
 565 570 575

Val Ala Ile Arg Gly Leu Arg Gln Gly Leu Val Glu Ala Ile
 580 585 590

<210> 20
 <211> 1326
 <212> DNA
 <213> Trichoderma reesei

<400> 20
 ttaggtgagg gtgtaaccgc catcaacgcg aatatcggca ccggtcacat agcggctggc 60
 atcagacagc aggaaagcca ctgggcccac gagatcctga ggcagacca tcttgccctg 120
 aggaatgagg gacaccatt tcttcttcag gtcaggcttt tcatccagga ttttctcggc 180
 cctagttaag gatttgagtt agccggccga ggtcacggct accgttcaag aacagagaag 240
 agtgggttca actcaciaag ccgtcagcat gtatcccggc gagatacagt tgactcggat 300
 gccagcatgc gccactcaa cggcgagcga agccgcgaga tggcggactg cggccttgga 360
 ggcgttatag ggcctagtcc agttcaacc gttagctgtc ttatgctctg ctcacccatg 420
 tctccttttt ttctttcttt cttttttccg tcgtggaagg gactcacgct tgaggctggg 480
 ggacgttgac aatggcccc gacatgctgc ctatcatgac catgctacca gggctcttcc 540
 tctccatgag gtgacgagca accgatgtag cgaagagata tgtgccgtcg acgttgacgc 600
 cccagagctt gcgaactcta tcaatggggg agttggtggc ctcgaagttc tcggtgaagc 660
 cagccgaggt gaccaggttg tcaatcttgc catgttgctg gatgatctcg gcgatacacg 720
 cctcaacgga atcggcatct gagacgtcgg cgtaatgcgc cgtcactttg ggaacgctag 780
 accgggtgtc agccgtctgc ctgcaaagcc gtgttacgtg cagagcggag cggcagctca 840
 ctcaccgttt tgcgttgggg ttctccttga gaaaggcatc cacgagcagt ttcgtctgct 900
 tctcggcctc ctctctgtgc gctgcgtcag ctgtctggcc tggggtacga gcgaccgga 960
 actggcacgc ggaatctcac tgttcatgtc gacgagggcc aggtcggcgc cagagaagac 1020

cattccctgg ccaatcacca gtcccagccc tcttgcgccg ccggtgacga caccgacgtt 1080
 tccatcgagg gagaagccgg caagcgtagg cttgacatac tggccgccgg tgccagagac 1140
 gggctcgctg ctcggaagct catgctccgg aggatactcg aactcgacct cggcgtcggt 1200
 tcgagagtgg ctgccgggct tatcctgccg cggcgggggc acactatgga acttcctcgc 1260
 agcggccagc ggcaggcgtc tggcggggcg ggaggcaaag gttcggcgag ccgcaagccg 1320
 cagcat 1326

<210> 21
 <211> 334
 <212> PRT
 <213> *Trichoderma reesei*

<400> 21

Met Leu Arg Leu Ala Ala Arg Arg Thr Phe Ala Ser Ala Pro Ala Arg
1 5 10 15

Arg Leu Pro Leu Ala Ala Ala Arg Lys Phe His Ser Val Pro Pro Pro
20 25 30

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

Phe Glu Tyr Pro Pro Glu His Glu Leu Pro Ser Ser Glu Pro Val Ser
50 55 60

Gly Thr Gly Gly Gln Tyr Val Lys Pro Thr Leu Ala Gly Phe Ser Leu
65 70 75 80

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

Val Ile Gly Gln Gly Met Val Phe Ser Gly Ala Asp Leu Ala Leu Val
100 105 110

Asp Met Asn Ser Glu Ile Pro Arg Ala Ser Ser Gly Ser Leu Thr Ala
115 120 125

Asp Thr Arg Ser Ser Val Pro Lys Val Thr Ala His Tyr Ala Asp Val
130 135 140

Ser Asp Ala Asp Ser Val Glu Ala Cys Ile Ala Glu Ile Ile Gln Gln
 145 150 155 160

His Gly Lys Ile Asp Asn Leu Val Thr Ser Ala Gly Phe Thr Glu Asn
 165 170 175

Phe Glu Ala Thr Asn Tyr Pro Ile Asp Arg Val Arg Lys Leu Trp Gly
 180 185 190

Val Asn Val Asp Gly Thr Tyr Leu Phe Ala Thr Ser Val Ala Arg His
 195 200 205

Leu Met Glu Arg Lys Ser Pro Gly Ser Met Val Met Ile Gly Ser Met
 210 215 220

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

Ser Lys Ala Ala Val Arg His Leu Ala Ala Ser Leu Ala Val Glu Trp
 245 250 255

Ala His Ala Gly Ile Arg Val Asn Cys Ile Ser Pro Gly Tyr Met Leu
 260 265 270

Thr Ala Leu Thr Glu Lys Ile Leu Asp Glu Lys Pro Asp Leu Lys Lys
 275 280 285

Lys Trp Val Ser Leu Ile Pro Gln Gly Lys Met Gly Leu Pro Gln Asp
 290 295 300

Leu Met Gly Pro Val Ala Phe Leu Leu Ser Asp Ala Ser Arg Tyr Val
 305 310 315 320

Thr Gly Ala Asp Ile Arg Val Asp Gly Gly Tyr Thr Leu Thr
 325 330

<210> 22

<211> 640

<212> DNA

<213> Trichoderma reesei

<400> 22

tcatgcctca agatgcccaa tctcttcac cttcttcgca ctcgcactcg atggatcaaa

60

```

ctcatacccc agccactcag tagccaacct cctcgcaact tccagcccaa caaccctctc      120
ccccatacac aacacctgcg cattattgct ctttacactg cgctcaacgc taaagctatc      180
atgtgccgta accgctcgta tgcccttgac cttgttggca gaaatggcga cgcctagacc      240
tgtgccgcag atgagcagag cgcggtccgc tttgccctcg gcgacgaggc gggcggcggc      300
ggcggcgcgc tggggatagg gtgtcttgtc ggagggctcg tcggatccta cgtcgatgac      360
ttgggtctacg cgggcgtcgc tttcaaagtc ttttttgatg gtgtttttgt agctgacgcc      420
ggcgtcctgc ggaagcgtga gtgagctcgt gtcagtgact gcccgttctg atgacctaga      480
ttatgcaatc ttgacgatga agagaccgat agtcatgaag acttatgaag ttgacacttg      540
atctcgttgt gatatgagat gtgctggttc tggcagccga aacagaagca cttacatcgc      600
agcccatggc gattctccat ttcggtgcca tcgtatatgt      640

```

```

<210> 23
<211> 156
<212> PRT
<213> Trichoderma reesei

```

```

<400> 23

```

```

Thr Tyr Thr Met Ala Pro Lys Trp Arg Ile Ala Met Gly Cys Asp Asp
1           5           10           15

```

```

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

```

```

Ala Arg Val Asp Gln Val Ile Asp Val Gly Ser Asp Glu Pro Ser Asp
          35           40           45

```

```

Lys Thr Pro Tyr Pro Gln Arg Ala Ala Ala Ala Ala Arg Leu Val Ala
50           55           60

```

```

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

```

```

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

```

```

His Asp Ser Phe Ser Val Glu Arg Ser Val Lys Ser Asn Asn Ala Gln
          100          105          110

```

Val Leu Cys Met Gly Glu Arg Val Val Gly Leu Glu Val Ala Arg Arg
 115 120 125

Leu Ala Thr Glu Trp Leu Gly Tyr Glu Phe Asp Pro Ser Ser Ala Ser
 130 135 140

Ala Lys Lys Val Glu Glu Ile Gly His Leu Glu Ala
 145 150 155

<210> 24
 <211> 726
 <212> DNA
 <213> Trichoderma reesei

<400> 24
 tcacgcttca gctacttcct gtatcgtctt gacaaactgc tccggatcgt gtccgaaccg 60
 ccccaggaac aatccgtcca gtccgctctt caacttctcg tagagccccg gcccggcact 120
 cccccatac aaaaccctcg tcgtccccgc ctcctccca acggactcca accctctgat 180
 cccagcaaca acatcgagga tgtgcttctc tccagcaggt tgactggcac caatcgccca 240
 tacaggctca tacgcaaaa tgacctctgc ctcggcgggc acagcattca tgacagcatc 300
 aacctgcacc cgacactcct caaccgcgat atgcacgtcg ccttgagtct tttctccaat 360
 gcacacaagc ggtatcatgc cattgcgact tacagcggca gccttattcg caaccatggt 420
 gtcgtcctcg ccaaagatgc tcctgcgctc tgcattgtccg acttccacga gcttgacgcc 480
 tgcgctgcgc aacacggagg ggctgacttc gccggtgaat gcgccttggt cttcccagtg 540
 gcagtcttga gcgccggtcc aaatggcaac ggagctggac ttaagctggg cgattgtggt 600
 ggtcagggag acgaagtcgg ggatgatgaa gatgtcaatg tgggagagga gctctatcgg 660
 gacgtctgcc agcttgata agaagctgtt tgtgaagtct cttgtttgct ggagagaaaa 720
 gtacat 726

<210> 25
 <211> 241
 <212> PRT
 <213> Trichoderma reesei

<400> 25

Met Tyr Phe Ser Leu Gln Gln Thr Arg Asp Phe Thr Asn Ser Phe Leu
 1 5 10 15

Ser Lys Leu Ala Asp Val Pro Ile Glu Leu Leu Ser His Ile Asp Ile
 20 25 30

Phe Ile Ile Pro Asp Phe Val Ser Leu Thr Thr Thr Ile Ala Gln Leu
 35 40 45

Lys Ser Ser Ser Val Ala Ile Trp Thr Gly Ala Gln Asp Cys His Trp
 50 55 60

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

Ser Ala Gly Val Lys Leu Val Glu Val Gly His Ala Glu Arg Arg Ser
 85 90 95

Ile Phe Gly Glu Asp Asp Thr Met Val Ala Asn Lys Ala Ala Val
 100 105 110

Ser Arg Asn Gly Met Ile Pro Leu Val Cys Ile Gly Glu Lys Thr Gln
 115 120 125

Gly Asp Val His Ile Ala Val Glu Glu Cys Arg Val Gln Val Asp Ala
 130 135 140

Val Met Asn Ala Val Pro Ala Glu Ala Glu Val Ile Leu Ala Tyr Glu
 145 150 155 160

Pro Val Trp Ala Ile Gly Ala Ser Gln Pro Ala Gly Glu Lys His Ile
 165 170 175

Leu Asp Val Val Ala Gly Ile Arg Gly Leu Glu Ser Val Gly Arg Arg
 180 185 190

Ala Gly Thr Thr Arg Val Leu Tyr Gly Gly Ser Ala Gly Pro Gly Leu
 195 200 205

Tyr Glu Lys Leu Lys Ser Gly Leu Asp Gly Leu Phe Leu Gly Arg Phe
 210 215 220

Gly His Asp Pro Glu Gln Phe Val Lys Thr Ile Gln Glu Val Ala Glu
 225 230 235 240

Ala

Ansprüche

1. Gentechnisch veränderter Saprotrroph, der mindestens ein mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierendes Gen, mindestens ein mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierendes Gen, und mindestens ein Mannitol-1-Phosphat-5-Dehydrogenase kodierendes inaktiviertes Gen, umfasst,
5 wobei der Saprotrroph ein filamentöser Pilz ausgewählt aus den Gattungen *Hypocrea*, *Gibberella*, *Aspergillus* und *Penicillium* ist.
2. Gentechnisch veränderter Saprotrroph nach Anspruch 1, wobei der Saprotrroph ein filamentöser Pilz ausgewählt aus *Hypocrea jecorina* (*Trichoderma reesei*), *Gibberella zeae*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus oryzae* und *Penicillium chrysogenum* ist.
- 10 3. Gentechnisch veränderter Saprotrroph nach Anspruch 1 oder 2, wobei der Saprotrroph *Hypocrea jecorina* (*Trichoderma reesei*) ist.
4. Gentechnisch veränderter Saprotrroph nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das mindestens eine mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, *fps1* aus *Saccharomyces cerevisiae* ist.
- 15 5. Gentechnisch veränderter Saprotrroph nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das mindestens eine mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierende Gen, *err1* aus *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger* oder *Fusarium graminearum* ist.
6. Gentechnisch veränderter Saprotrroph nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Saprotrroph ferner mindestens ein mindestens eine Transketolase kodierendes Gen, insbesondere *tkl1* aus
20 *Hypocrea jecorina* (*T. reesei*), umfasst.
7. Gentechnisch veränderter Saprotrroph nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Saprotrroph ferner mindestens ein mindestens eine Transaldolase kodierendes Gen, insbesondere *tal1* aus *Hypocrea jecorina* (*T. reesei*), umfasst.
8. Gentechnisch veränderter Saprotrroph nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der
25 Saprotrroph ferner mindestens ein Phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonat-Aldolase 1 (Dhaps-1) kodierendes inaktiviertes Gen umfasst.
9. Gentechnisch veränderter Saprotrroph nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das mindestens eine mindestens einen membrangebundenen Alditol-Transporter kodierende Gen, das mindestens eine mindestens eine Erythrose-Reduktase kodierende Gen, das mindestens eine mindestens

eine Transketolase kodierende Gen, und/oder das mindestens eine Transaldolase kodierende Gen, überexprimiert wird.

10. Verfahren zur Herstellung von Erythritol umfassend die Schritte:
 - a) Bereitstellen mindestens eines gentechnisch veränderten Saprotrophen nach einem der Ansprüche 1 bis 9,
 - b) Kultivieren des mindestens einen in Schritt a) bereitgestellten gentechnisch veränderten Saprotrophen in Gegenwart eines Kulturmediums zum Erhalt von Erythritol in dem Kulturmedium,
 - c) Gewinnen von Erythritol aus dem Kulturmedium.
11. Verfahren nach Anspruch 10, wobei das Kulturmedium Lignozellulose-haltige Biomasse, insbesondere Stroh, und/oder mindestens einen Rückstand aus der Milchproduktherstellung, insbesondere Molke, umfasst.
12. Verfahren nach Anspruch 10 oder 11, wobei das Kulturmedium Nitrat als Stickstoffquelle umfasst.
13. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 12, wobei das Kulturmedium Glycerin umfasst.
14. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 13, wobei Schritt b) durchgeführt wird, bis eine Konzentration von Erythritol im Kulturmedium von mindestens 1 g/L, vorzugsweise mindestens 1,5 g/L, vorzugsweise mindestens 2 g/L, vorzugsweise mindestens 2,5 g/L, vorzugsweise mindestens 3 g/L, erreicht ist.
15. Verfahren nach Anspruch 10 oder 14, wobei in Schritt b) mindestens ein osmotischen Stress verursachendes Substrat dem Kulturmedium nach 14 Stunden Kultivieren hinzugefügt wird.
16. Verfahren nach Anspruch 15, wobei das osmotischen Stress verursachende Substrat, Glycerin und/oder Natriumchlorid ist.
17. Verwendung eines gentechnisch veränderten Saprotrophen nach einem der Ansprüche 1 bis 9 zur Herstellung von Erythritol.

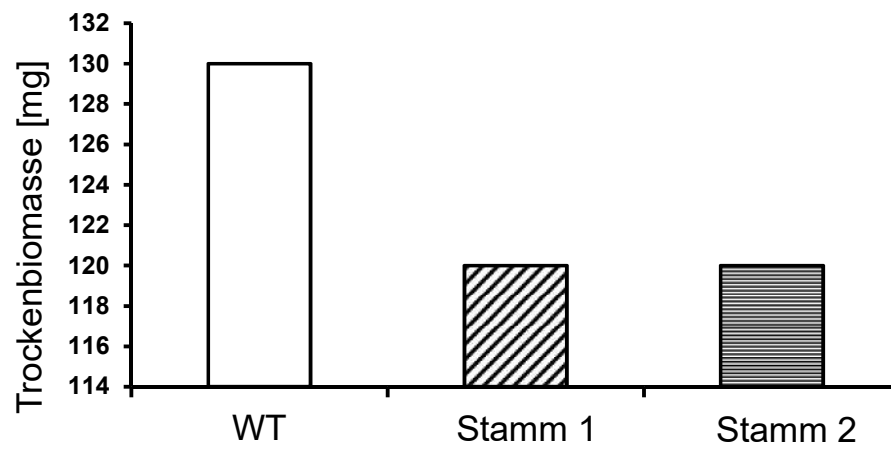
1/7

Fig. 1

2/7

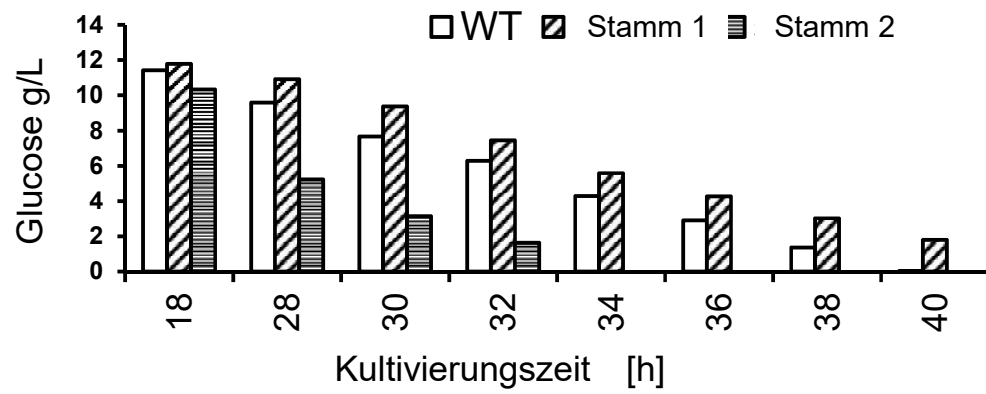


Fig. 2

3/7

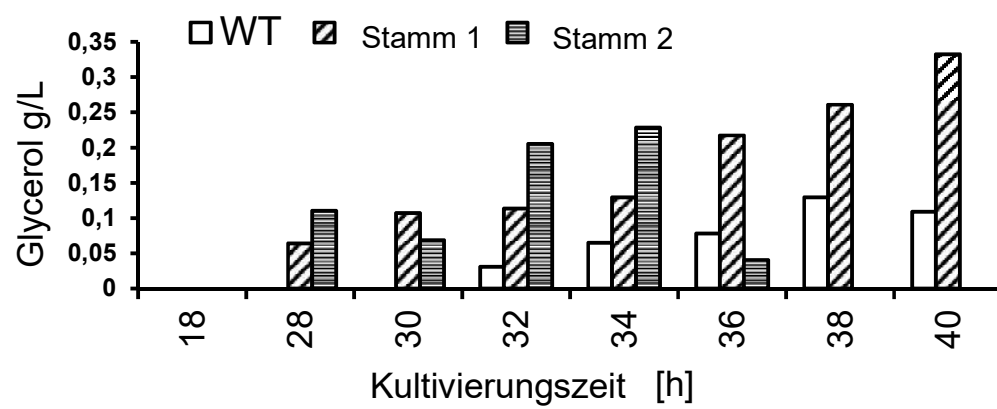


Fig. 3

4/7

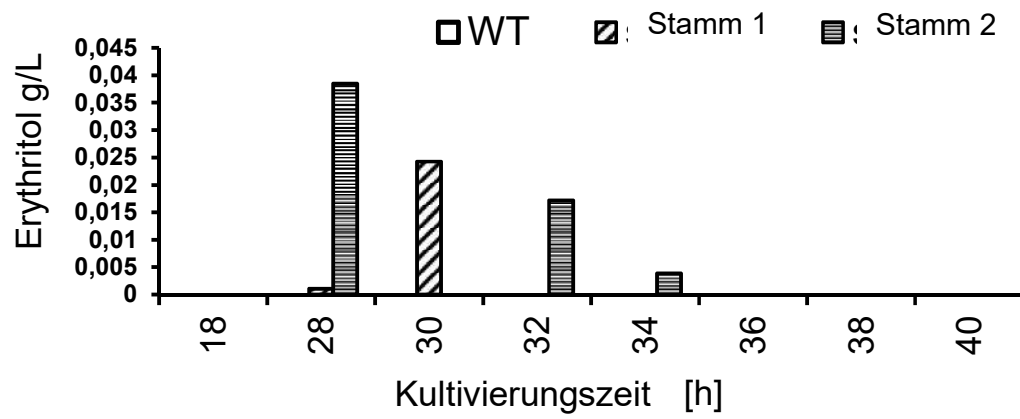


Fig. 4

5/7

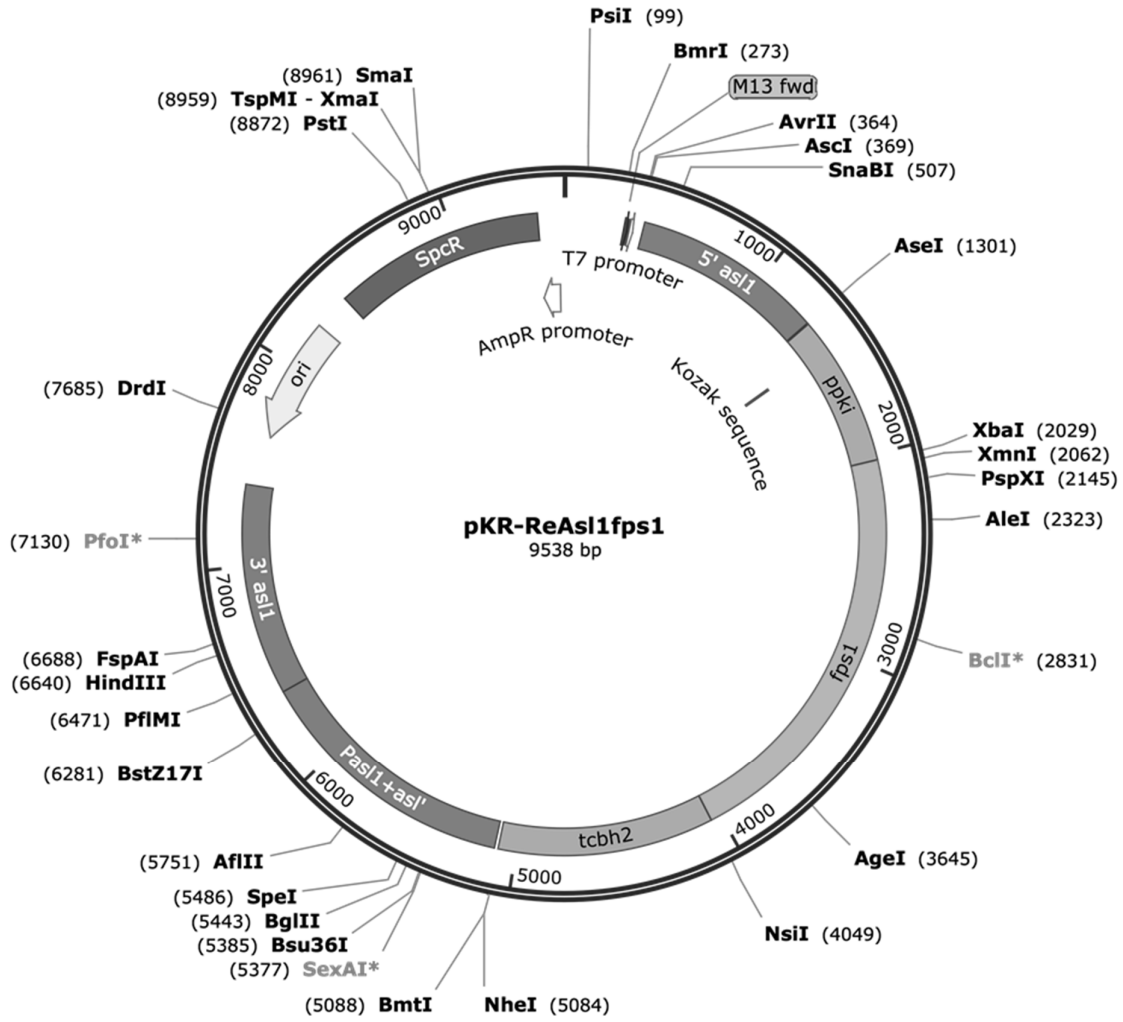


Fig. 5

6/7

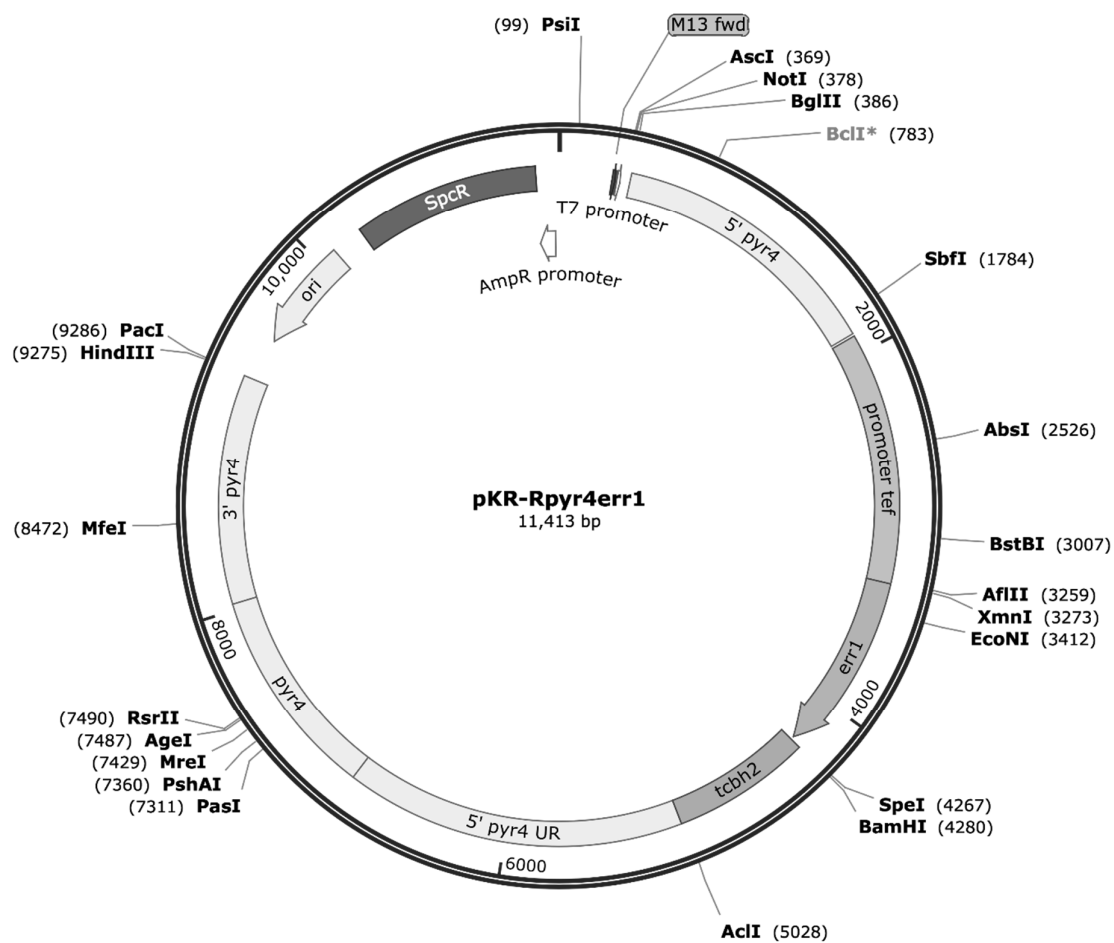


Fig. 6

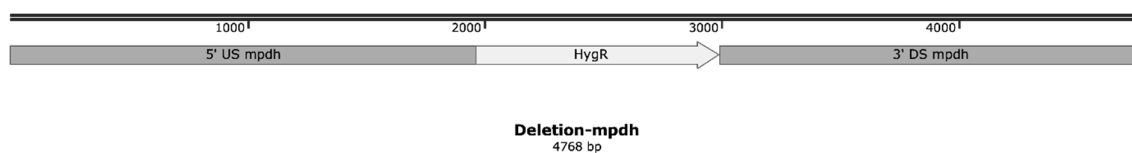


Fig. 7