

REIVINDICACIONES

1. Un método para incrementar la estabilidad de una α/β -hidrolasa, comprendiendo la α/β -hidrolasa una secuencia que corresponde a las posiciones 145 a 218 de la SEQ ID NO: 1 o una secuencia que tiene 80 % o más de identidad de secuencia con una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de SEQ ID NO: 1, que comprende
- sustituir al menos un aminoácido
- en una posición correspondiente a una posición 160 a 205 de SEQ ID NO: 1, o
 - en una posición correspondiente a una posición 159 a 204 de SEQ ID NO: 2, o
 - en una posición correspondiente a una posición 160 a 205 de SEQ ID NO: 3, 4, o 5, o
 - en una posición correspondiente a una posición 176 a 222 de SEQ ID NO: 6,
- en donde el(los) aminoácido(s) está(n) sustituido(s) con un aminoácido, el cual tiene un índice de hidropatía más negativo que el aminoácido sustituido, en donde el índice de hidropatía está determinado mediante el índice de hidropatía de Kyte y Doolittle,
- obteniendo de ese modo una α/β -hidrolasa con estabilidad incrementada comparada con la α/β -hidrolasa antes de sustituir dicho(s) aminoácido(s).
2. El método de la reivindicación 1, en donde el método comprende sustituir al menos un aminoácido
- en una posición correspondiente a una posición 185 a 191 de SEQ ID NO: 1, y/o
 - en una posición correspondiente a una posición 184 a 190 de SEQ ID NO: 2 y/o
 - en una posición correspondiente a una posición 185 a 191 de SEQ ID NO: 3, 4 o 5 y/o
 - en una posición correspondiente a una posición 201 a 208 de SEQ ID NO: 6.
3. El método de la reivindicación 1 o 2, en donde el(los) aminoácido(s) está(n) sustituido(s) con un aminoácido seleccionado de R, K, N, Q, D, E, H, P, Y, W, S, T, G,

A, M, C, F, L o V, preferiblemente el aminoácido está seleccionado de R, K, N, Q, D, E, H, P, Y, W, S, T o G, más preferiblemente R, K, N, Q, D, E, H o P.

4. El método de las reivindicaciones 1-3, en donde el(los) aminoácido(s) está(n) sustituido(s) con un aminoácido seleccionado de R, D, H, G, N o P, preferiblemente R, D, H, G o N, más preferiblemente el aminoácido está seleccionado de R o N.
5. El método de las reivindicaciones 1-4, en donde la sustitución de aminoácidos está seleccionada de una o más de V→A, G→R, G→S, A→P, A→R, A→D, A→H, A→N, A→G, S→D, P→H, M→D, G→E, I→A, I→V, H→N, Q→K, F→Y y/o V→C, preferiblemente la sustitución de aminoácidos está seleccionada de una o más de V160A, G185R, G185S, A186P, A186R, A188D, A188H, A188N, A188G, A188R, S189D, P190H, M191D, G199E, I200A, I200V, H203N, Q205K, F183Y y/o V197C, más preferiblemente la sustitución de aminoácidos está seleccionada de G185R, A186R, A188R, A188D, A188H, A188N y/o M191D.
6. El método de las reivindicaciones 1-5, en donde la estabilidad incrementada es un valor GRAVY disminuido, un incremento en la estabilidad frente a pH y/o un incremento en la estabilidad térmica.
7. Una α/β -hidrolasa obtenible por el método de una cualquiera de las reivindicaciones 4, 5 o 6, en donde la α/β -hidrolasa tiene 95 % o más de identidad de secuencia para una secuencia que corresponde a las posiciones 145 a 218 de SEQ ID NO: 1.
8. Una α/β -hidrolasa que tiene una secuencia polipeptídica que comprende una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de SEQ ID NO: 1 o una secuencia que tiene más de 95% de identidad de secuencia con una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de SEQ ID NO: 1, en donde la secuencia polipeptídica comprende al menos una sustitución de aminoácidos
 - en una posición correspondiente a una posición 160 a 205 de SEQ ID NO: 1, o
 - en una posición correspondiente a una posición 159 a 204 de SEQ ID NO: 2, o

- en una posición correspondiente a una posición 160 a 205 de SEQ ID NO: 3, 4 o 5,
o

- en una posición correspondiente a una posición 176 a 222 de SEQ ID NO: 6,

5 en donde la α/β -hidrolasa tiene un valor GRAVY más negativo de al menos 0,6% comparado con un valor GRAVY de una α/β -hidrolasa que tiene una secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 1.

10 9. Una α/β -hidrolasa que tiene una secuencia polipeptídica que comprende una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de SEQ ID NO: 1 o una secuencia que tiene más de 80 % de identidad de secuencia con una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de SEQ ID NO: 1,

15 en donde la secuencia polipeptídica comprende al menos una sustitución de aminoácidos

- en una posición correspondiente a una posición 185 a 191 de SEQ ID NO: 1, o

- en una posición correspondiente a una posición 184 a 190 de SEQ ID NO: 2 o

- en una posición correspondiente a una posición 185 a 191 de SEQ ID NO: 3, 4 o 5,
o

20 - en una posición correspondiente a una posición de 201 a 208 de SEQ ID NO: 6,

en donde la sustitución de aminoácidos está seleccionada de V→A, G→R, G→S, A→P, A→R, A→D, A→H, A→N, A→G, S→D, P→H, M→D, G→E, I→A, I→V, H→N y Q→K y/o

25 en donde el(los) aminoácido(s) está(n) sustituido(s) con un aminoácido seleccionado de P, R, D, H, G o N, preferiblemente el aminoácido está seleccionado de R, D, H, G o N, más preferiblemente el aminoácido está seleccionado de R o N, en donde la α/β -hidrolasa tiene una estabilidad incrementada comparada con una α/β -hidrolasa antes de sustituir dicho(s) aminoácido(s).

30

10. Una α/β -hidrolasa que tiene una secuencia polipeptídica que comprende una secuencia que corresponde a las posiciones 161 a 235 de la SEQ ID NO: 6 o una

secuencia que tiene más de 99% de identidad de secuencia correspondiente a las posiciones 161 a 235 de la SEQ ID NO: 6,

en donde la secuencia polipeptídica comprende al menos una sustitución de aminoácidos

- en una posición correspondiente a una posición 176 a 222 de SEQ ID NO: 6,

en donde la α/β -hidrolasa tiene un valor GRAVY más negativo de al menos 0,6% comparado con un valor GRAVY de una α/β -hidrolasa que tiene una secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 6.

11. La α/β -hidrolasa de las reivindicaciones 7-10, en donde la α/β -hidrolasa comprende las sustituciones de aminoácidos

- G→R y A→N, preferiblemente G185R y A188N;

- G→S y A→R, preferiblemente G185S y A188R;

- G→R, A→R, A→H, S→D, P→H y M→D, preferiblemente G185R, A186R, A188H, S189D, P190H y M191D;

- V→A, G→R, A→N, G→E, I→A, H→N y Q→K, preferiblemente V160A, G185R, A188N, G199E, I200A, H203N y Q205K;

- V→A, G→S, A→R, G→E, I→A, H→N y Q→K, preferiblemente V160A, G185S, A188R, G199E, I200A, H203N y Q205K;

- V→A, G→E, I→A, H→N y Q→K, preferiblemente V160A, G199E, I200A, H203N y Q205K

- V→A, G→R, A→R, A→H, G→E, I→V, H→N y Q→K, preferiblemente V160A, G185R, A186R, A188H, G199E, I200V, H203N y Q205K;

- V→A, G→R, A→R, A→H, S→D, P→H, M→D, G→E, I→V, H→N y Q→K, preferiblemente V160A, G185R, A186R, A188H, S189D, P190H, M191D, G199E, I200V, H203N y Q205K y/o

F→Y y V→C, preferiblemente F183Y y V197C.

12. Un uso de una α/β -hidrolasa de las reivindicaciones 7-11 para degradar zearalenona (ZEN).

13. Una composición que comprende una α/β -hidrolasa de las reivindicaciones 7-11, preferiblemente la composición es un o aditivo alimenticio o de alimentación animal o un producto alimenticio o de alimentación animal.
- 5 14. La α/β -hidrolasa o la composición de las reivindicaciones 7-11 o la composición de reivindicación 13 para uso en el tratamiento o profilaxis de una enfermedad.
15. Kit que comprende la α/β -hidrolasa de las reivindicaciones 7-11 o 14 o la composición de las reivindicaciones 13-14.