

Volume 77 (2021)

Supporting information for article:

Structure of a C1/C4-oxidizing AA9 lytic polysaccharide monooxygenase from the thermophilic fungus *Malbranchea cinnamomea* 

Scott Mazurkewich, Andrea Seveso, Silvia Hüttner, Gisela Brändén and Johan Larsbrink

**Table S1Comparison of** *Mc*AA9F to other structurally determined AA9 enzymes. The list ofAA9 enzymes, structurally aligned to *Mc*AA9F using the Dali server, is ordered according to theshown root mean square deviation (RMSD) value and the structure-based sequence identity. Thethree-residue motif facilitating the formation of the succinimide in *Mc*AA9F is shown along with thecorresponding motifs in other AA9 LPMOs.

Organism	Enzyme	PDB accession	RMSD (Å)	Identity (%)	Motif	
Malbranchea cinnamonea	McAA9F	7ntl	/	/	ADG	
Thermoascus aurantiacus	TaAA9A	2yet	1.1	54	IDG	
Aspergillus fumigatus	AfAA9B	6h1z	1.2	55	ADG	
Trichoderma reesei	<i>Н</i> јАА9А	502w	1.2	52	ING	
Trichoderma reesei	HjAA9B	2vtc	1.4	46	ING	
Neurospora crassa	NcAA9M	4eis	1.5	40	IGG	
Heterobasidion irregulare	HiAA9B	5nns	1.6	40	LAG	
Collariella virescens	CvAA9A	5nlt	1.6	35	VNG	
Neurospora crassa	NcAA9A	5foh	1.6	33	ADG	
Neurospora crassa	NcAA9C	4d7u	1.7	35	VNG	
Thermothielavioides terrestris	TtAA9E	3eii	1.8	35	NDG	
Neurospora crassa	NcAA9D	4eir	1.8	33	VNG	
Neurospora crassa	NcAA9F	4qi8	1.8	32	ANS	
Lentinus similis	LsAA9B	6rs6	1.8	29	VNG	
Lentinus similis	LsAA9A	5acf	1.9	33	VNG	
Thermothelomyces thermophilus	MtPMO3	5ufv	2.1	34	IAG	
Phanerochaete chrysosporium	PcAA9D	4b5q	2.2	31	PSG	

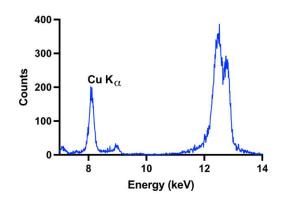
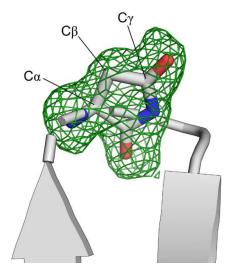
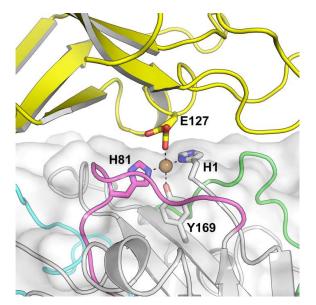


Figure S1 Energy scan of the *Mc*AA9F crystal. A peak corresponding to the copper  $K_{\alpha}$  absorption edge was observed.



**Figure S2** Succinimide observed in place of Asp10 in *Mc*AA9F. Electron density calculated in the form of a polder map (Liebschner *et al.*, 2017) where the succinimide was omitted is displayed around the succinimide and contoured at  $3\sigma$ .



**Figure S3** Crystal packing at the substrate binding face in *Mc*AA9F. Crystal contacts between a symmetry related molecule (yellow) and the substrate binding face of *Mc*AA9F (coloured as in Figure 3 with the loops L2, L3, and LC coloured green, magenta, and cyan).

MCAA9F-7ntl	$\beta_1 \qquad \beta_2 \qquad \beta_3 \qquad \beta_3 \qquad \beta_4 $	20	30 4	η1 η2 200 2000 0 50	β3	$\beta 4 \rightarrow 7.9$	80	β5	η3 202 100
McA39F-7ntl PaA33 PaA39 PaA39 PaA39 PaA39 PaA39 PaA39 PaA39 PaA39 PaA39 PaA39 PaA39 PaA39 RcA398 HJA39B-2vtc McA394 CA398 HJA39B-2vtc McA394 TtA39E-3ei1 McA394 TtA39E-3ei1 McA394 TtA39E-3ei1 McA394 PaA39 PaA39 PaA39 PaA39 NcA392-4d18 NcA392-4d18 NcA392-4d18 NcA392-4d18 NcA392-4d18 NcA392-5ch PaA398 NcA392-4d17 NcA392-4d18 NcA392-5ch PaA398 NcA392-4d17 NcA392-4d18 NcA392-5ch PaA398 NcA392-5ch PaA398 NcA392-5ch PaA398 NcA392-5ch	G H VS HI	GADP INP WEES NYDETTHEYC. PNPETV AYDETTHEYC. SNPETV OYDETTSEYT. ONPETV GYLUNGYPYM. SNPETV GYLUNGYPYM. SNPET GYLUNGYPYM. SNPEDY GYLUNGYPYM. SNPEDY GYLUNGYPYM. SNPEDY GYLUNGYPYM. GNNKPOR GYLPYDPYM. GNNKPOR GYLPYDPYM. GNNKPOR GYLLDYYYCKONTGHEPNV GFILDYYYCKONTGHEPNV GFILDYYYCKONTGHEPNV GYLLDYYCKONTGHEPNV GYLLDYYYCKONTGHEPNV GYLLDYYYCKONTGHEPNV GYLLDYYYCKONTGHEPNV GYLLDYYYCKONTGHEPNV GYLLDYYYCKONTGHEPNV GYLLDYYYCKONTGHEPNV GYLLDYYYCKONTGHEPNV GYLLDYYYCKONTGHEPNV GYLLDYYYCKONTGHEPNV GYCGFAP. CODV GYLLDYYCKONTGHEPNV GYLLDYYCKONTGHEPNV GYLLDYYCKONTGHEPNV GYLLDYYCKONTGHEPNV GYLCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC	CWSALQQDKGFV (WTAADLDKGFV) (AWTASNTDKGFV) (AWTADKNGFV) AWSTTATDLGFV) (CWSTTATDLGFV) (CWSTTATDLGFV) (CWSTTATDLGFV) (SRSIPGNG (SRKIPGNG ERPIPGNG ERPIPGNG (SWYAEDLDGFI (VRAADN.WQNNG (SWYAEDLDGFI (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQNNG (VRAADN.WQN	$ \begin{array}{c} \hline c \\ c \\$	HSA  APEGGGATW    HKNA  TNAKGHASW    HKNA  TNAKGHASW    HKSA  RPAGGHATW    HKSA  RPAGGHATW    HRGA  RPAGGHATW    HRGA  RPAGGHATW    HRDA  KNGKLTATW    HRDA  SAGATA    NAGS  PPAPLHAPA    NAGS  TPAPLHAPA    NASS  PPAPLHAPA    NGSGS  CTPAPLIASA    GGWQNSGSAPAPLVATLASA    GGWQNSGSAPAPLVATLASA    YSPGT  PAGAQDYTW    YSPGT  PAGAQDYTW    YSPGT  PASATLASA    YGSGY  QGAPQTWOW    YSLVEG  GANGTCNW    YSLVEG  GANTCYWTW    NGGAS  GANTCYWTW    NGGSS  GANTCYWTW    NGGSS  GANCYCNW    NGGAS  GANCYCNW    NKGGSS  GANCYCNW    NGGPN  TTSSDKITW    NGGPN  TTSSDKITW    NGGPN  TTSSVITW    NGSPN  MSSWITW	NACDRISISIVWTPE KARODTILFEVWNP AARODSVFVQWDT AARODSVFVQWDT SAROSVFVQWDT SAROSVFVQWDT AAROSVTWLQWD AAROSVTWLWT AAROSVTWLWT AAROSVTWLWT AAROSVTWLWT AAROSVTWLWT AAROSVTWLWT AAROSVTWLWT AAROSVTWLWT AAROSVTWLWT AAROSVTWLWT AAROSVTWLWT AAROSVTWLWT AAROSV SUUTSV AAROSVTWLWT AAROSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV SUUTSV	W PES W PES	II G PVI DYLANCNG . PCE PG PT VDYLANCNG . DCE HG PVI DYLANCNG . DCE HG PVI DYLANCNG . DCE HG PVI TYLAPCNG . DCS HG PVI TYLAPCNG . DCS HG PVI TYLAPCNG . DCS HG PVI TYLAPCNG . DCS TYG PVI TYLAPCNG . DCS KONT . STORE NO STANDARD . STORE YG PVI TYLAR CP . TGCO YG PVI TYLAR V BS . NTDIT YG PVI TYLAR V BS . STOVT YG PVI TYLAR V BS . STOVT YG PVI TYLAR V BS . STOVT FO PMO FYLAR V BG DCS B. BYG PI VTYV V SCS . SCT DC PU OFYLAR V BG DCS B. DC PU OFYLAR V BG DCS B. CO STORE . STOVT DC PVI TYLAR V BS . STOVT STOVE . STOVE . STOVE STOVE . STOVE . STOVE . STOVE . STOVE . STOVE . STOVE . STOVE . STOVE . ST	$\begin{array}{c} {} {} {} {} {} {} {} {} {} {} {} {} {}$
			L2				L3		
McAA9F-7nt1	β6	α1 β7	β8	<b>→</b>	β9	<b>→</b>	η4 200		
McAA9F-7ntl PaAA9A HjA39A-5o2w PaAA9D NCU07760 TaA39A-2yet AfA39B-5nfs McA39A HiA39B-5nfs GtA39B McA39M-4eis GtA39B McA39M McA39B-2vtC MtA39S-2vtC MtA39S-3vtC MtA39S-3vtC McA39H McA39H McA39H McA39H McA39H	$ \begin{array}{l} \mathbb{R} \end{tabular} \mathbb{R} & \mathbb{I} \end{tabular} \end{tabular} \mathbb{R} & \mathbb{R} \end{tabular} \end{tabular} \mathbb{R} & \mathbb{R} \end{tabular} \end{tabular} \mathbb{R} \end{tabular} \end{tabular} \mathbb{R} \end{tabular} \end{tabular} \end{tabular} \end{tabular} \mathbb{R} \end{tabular} \e$	120  130    .SNPG.FWAADELINGNSKEVTO	$\begin{array}{c} 0 \\ \hline 0 \\ 0 \\$	160 170 170 170 170 170 170 170 17	DG A G W P C G N W NG A G W P C F N T NG A G W P C F N T NG A G W P C F N T P G A G W P C F N C P G A G W P C G W C P G A G W P C G G C P G A G W P C G C C P G A G W P C G C C P G A G W P C C C C P G A G W P C C C C C G A G W P C C C C N G W C C C V T C G G A G W P C C V N T G G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C G A G W P C C V N T C C A C W P C C V N T C C A C W P C C V N T C C A C W P C C V N T C C A C W P C C V N T C C A C W P C C V N T C C A C W P C C V N T C C A C W P C C V N T C C A C W P C C V N T C C A C W P C C V N T C C A C W P C C V N T C C A C W P C C V V N T C C A C W P C C V V T C C A C W P C C V V V C V V V V V V V V V V V V V	WY CSCSL () PS WY CSCS () P () P () P () C () C () C () C () C () C () C () C	GUAGUS AGUS LYRANDAGT GVLGUD LYRANDAGT GVLGUD LYRANDAGT GVLGUS LYRNDAGT GTAGUS LYRNDAGT GTAGUS LYRNDAGT GULGUS LYRNDAGT GVLGUS LYRNDAGT LYSPGAYKSTDPGY LYSPGAYKSTDPGY LYSPGAYKSTDPGY LYSPGAYKSTDPGY LYSPGAYKSTDPGY LYSPGAYKSTDPGY LYSPGAYKSTDPGT LYSPGAYSATDPGT LYSPGAYSATDPGT LYSPGAYSATDPGT LYSPGAYSATDPGT LYSPGAYSATDPGT LYSPGAYSATDPGT	210 LFNLYQS	P   D c   AL P A G F A   P v c   AL I A G A S   P c c   AL I A G A S   P c c   AL V T .   P c c   AL Y T .   P c c   AL Y T .   F c   AL V T .   F c   AL V T .   F c   AL V T .   P c   AL V .   P c   AL V .   P c   AL V .   P c .   P c   AL V .   P c
Panass Nchass Panass Nchass Nchass Nchass Nchass Panas Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nchass Nch	TWFKITERKPQFEN. GWFKIKDWGATFFG. TWFKIKDWGATFFG. GWFKIFDTWAKKFSSSGC GWFKIFDTWAKKFSSGGVGI GWFKIVEDCYNNC. GWFKIVEDCYNNC. GWFKIVEDCYNNC. GWFKIVEDCSSG. KWFKVAEACLSNC. WFKVAEACLSNC. WFKVAEACCLSNC. KWFKIWEDTFNP. GWFKIWEDTFNP. GWFKIWEDTFNP. GWFKIWEDTFNP. GWFKIWEDTFNP. GWFKIWEDTFNP. GWFKIWEDTFNP. GWFKIWEDTFNP. GWFKIWEDTFNP. GWFKIWEDTGNCC.	DAI. TFAS. SGLTVVSVT GQL VFD. TTQQEVTFT GQW. TLSDTVTFT GQW. TLSDTVTFT DDFWG.VKDLN. SCCGKMQVK DDFWG.VKDLN. ACCGKMVK DDFWG.TKDLN. ACCGKMVK DDNWG.TRDLN. ACCGKMVVE UWGTSNVINNGGCSIP VWGTSNVINNGGGNISIK KWAVDDLINNGKGHYFD STK. TWGVDNLINNGKWYFD STK. TWGVDNLINNGKWYFD STK. TWGVDNLINNGGWYFD STK. TWGVDNLINNGGWYFD STK. TWGVDNLINNGGWYFD STK. TWGVDNLINNGGWYFD STK. TWGVDNLINNGGNYFT	$\begin{array}{c} S \\ S $		G A C YMT C Y O I G G A C YMT C Y O I G G A C YMT C Y O I A C A C YM F C A O I A C A C YM F C A O I P G A C YM F C A O I A C A C YM F C A O I G A A C YM F C A O I G A C YM F C A O I G A C YM F C A O I NN P C Y P F C A O I	NYENGCINGT, PCP SYTGGGSN, PS SYTGGGSN, PS TYGGGSN, PS TYGGGSN, PA TYGGGSN, PA YGGGSN, YA NYEGGGSN, YA NYEGGGSN, YA NYEGGGS, ST YGGGSN, SYT NYEGGGS, PT PS TYGGGSN, PS TYGGST, PLP TYGGGSST, PLP TINSDDT, PLP	LVSIPGVYTGVEPGI TVSIPGAFK&TDPGY GVAIPGAFK&TDPGY TVSFPGAFK&TDPGY TVSIPGHFKADPGU TVSIPGHFKADPGU TYSIPGIYKATDPGI TYSIPGIYKATDPGI TVSFPGAYGADPGU TVSFPGAYGADPGU TVSFPGAYGADPGU TVSFPGAYGADPGU TVSFPGAYGADPGU TVSFPGAYGADPGU GVFPGAYCADPGI GVFPGAYCDPD	LINIYNLPK. NFTGY PANIYSN. PNNY PANIYSN. PNNY UNDIHSA. MSTY DINIHGA. MSTY DINIHGA. MSTY UNIYSM. SPTY LINIYSM. SPTY LINIYSMT. SSSTY LINIYGCSCKT. DNGCKPY LINIYGCGC. RFTM.	P A PC PAVWQG TV PC PEVFTCS. TV PC PEVFTCS. TV PC PEVYSCG. VI PC PAVYSGG. VI PC PAVYGG. TI PC PAVYAGG. TI PC PAVYAGG. TI PC PAVFTC Q PC PAVYAGG. COP PC PAVFTC TAPC PAVFTC TAPC PAVFTC TAPC PAVFTC PIPC PAVWGA.

**Figure S4** Structure-based sequence alignment of AA9 LPMOs. The sequences of AA9 enzymes biochemically characterized but lacking a structure were aligned with Promals3D to the structure-based alignment of AA9 LPMOs with known structures obtained from Dali. Entries with a structure are noted with a pdb accession. The sequence numbering refers to *Mc*AA9F. Fully conserved residues are shown in white on a red background, blue frames indicate residues with similar physicochemical properties. The typical loop regions of LPMO, named L2, L3, LS, L8 and LC, are marked with blue, cyan, green, yellow and orange respectively. The conserved copper-binding residues are indicated by a red arrow below the alignment. Sequences are listed with the name assigned to the corresponding protein, and the PDB accession code is also written for structurally determined AA9 LPMOs. The sequences shown are from *M. Cinnamomea* (*Mc*), *Podospora anserina* (*Pa*), *T. reesei* (*Hj*), *Neurospora crassa* (*Nc*), *Heterobasidion irregulare* (*Hi*), *L. similis* (*Ls*), *Phanerochaete chrysosporium* (*Pc*), *T. aurantiacus* (*Ta*), *Myceliophthora thermophila* (*Mt*), *Gloeophyllum trabeum* (*Gt*), *Pestalotiopsis sp. NCi6* (*Ps*), *A. fumigatus* (*Af*), *Heterobasidion irregulare* (*Hi*), *Thielavia terrestris* (*Tt*), *Aspergillus nidulans* (*An*), and *C. virescens* (*Cv*).

## Reference

Liebschner, D., Afonine, P. V., Moriarty, N. W., Poon, B. K., Sobolev, O. V., Terwilliger, T. C., Adams, P. D. (2017). Acta Cryst D 73, 148-157.