



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: 2 578 103

61 Int. Cl.:

C12P 19/34 (2006.01) C12Q 1/68 (2006.01) C12N 9/12 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 24.04.2014 E 14165903 (7)
 Fecha y número de publicación de la concesión europea: 15.06.2016 EP 2813576
- (54) Título: Mutantes de ADN polimerasa de phi29 que tienen mayor termoestabilidad y capacidad de procesamiento que comprenden M8R, V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L
- (30) Prioridad:

25.04.2013 US 201361815893 P 20.12.2013 US 201314135860

Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: **20.07.2016**

(73) Titular/es:

THERMO FISHER SCIENTIFIC BALTICS UAB (100.0%)
V.A. Graiciuno 8
02241 Vilnius, LT

(72) Inventor/es:

POVILAITIS, TADAS y SKIRGAILA, REMIGIJUS

(74) Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

DESCRIPCIÓN

Mutantes de ADN polimerasa de phi29 que tienen mayor termoestabilidad y capacidad de procesamiento que comprenden M8R, V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L

Mutantes y métodos que utilizan tales mutantes, de ADN polimerasa del bacteriófago phi29 (mutantes de ADN polimerasa de phi29). Tales mutantes tienen mayor termoestabilidad y dan como resultado mayor capacidad de procesamiento.

5

20

25

30

35

40

45

50

55

60

La ADN polimerasa del bacteriófago phi29 es una enzima monomérica de 66 kDa, una replicasa dependiente de ADN cebada con proteína perteneciente a la familia de ADN polimerasas de tipo eucariótico (familia B) (Bernad et al., 1987). Al igual que otras ADN polimerasas, lleva a cabo la síntesis de ADN mediante la adición de nucleótidos al grupo 3'-OH de la cadena de ADN en crecimiento con valores de discriminación de la inserción que oscilan de 10⁴ a 10⁶ (Esteban et al., 1993). Contiene un dominio exonucleasa que cataliza la exonucleolisis 3' → 5' de nucleótidos emparejados erróneamente. Esta característica de corrección de pruebas mejora la fidelidad de replicación 10² veces (Esteban et al., 1994).

La ADN polimerasa de phi29 tiene características funcionales distintivas en comparación con otras replicasas. (1) *In vivo*, puede iniciar la síntesis de ADN mediante la adición de dAMP al grupo hidroxilo de la Ser²³² de la proteína terminal (PT) de fagos (Salas y da Vega 2006). (2) A diferencia de la mayoría de replicasas que se basan en proteínas accesorias que se van a unir de forma estable al ADN, la propia ADN polimerasa de phi29 tiene muy fuerte capacidad de unión a ADN de hebra sencilla, y lleva a cabo la síntesis de ADN sin factores de capacidad de procesamiento, lo que representa la capacidad de procesamiento más alta conocido (>70 kb) entre otras ADN polimerasas (Blanco et al., 1989). (3) Desenrolla la hélice de ADN parental, utilizando la energía de escisión de dNTP para la polimerización de ADN que acompaña el desenrollamiento del ADN y que le permite replicar el genoma de doble hebra sin ninguna proteína desenrolladora.

En comparación con la estructura de otras ADN polimerasas de la familia B, la ADN polimerasa de phi29 muestra subdominios palma, pulgar y los dedos que contienen pliegues (mano derecha) comunes (Kamtekar et al., 2004). La principal diferencia estructural entre la ADN polimerasa de phi29 y las ADN polimerasas de la familia B es la presencia de dos subdominios adicionales, llamados TPR1 y TPR2 que son inserciones entre los subdominios dedos y palma (Dufour et al., 2000). El TPR2 ayuda a formar un túnel estrecho alrededor del ADN aguas abajo, forzando la separación de la segunda hebra antes de su entrada al sitio activo de la polimerasa (Rodríguez et al. 2005). Adicionalmente palma, pulgar, TPR1, y TPR2 forman una estructura en forma de rosquilla alrededor del producto dúplex aguas arriba, proporcionando máxima estabilidad de unión a ADN que potencialmente mejora la capacidad de procesamiento de una manera análoga a las proteínas abrazadera deslizante (Berman et al. 2007). Tal peculiaridad estructural proporciona alta capacidad de procesamiento y actividad de desplazamiento de la hebra que permite que la ADN polimerasa de phi29 sea utilizada en la amplificación de desplazamiento múltiple isotérmica (MDA) (Dean et al. 2002), o la amplificación por círculo rodante (RCA) (Lizardi et al. 1998).

Las tecnologías de amplificación basadas en ADN polimerasa de phi29 tienen varias ventajas en comparación con los métodos amplificación de ADN por PCR clásicos. Cualquier muestra de ADN se puede amplificar, porque no se requiere información de la secuencia: en su lugar, se utilizan cebadores hexaméricos aleatorios para la iniciación de la síntesis de ADN. Los amplicones sintetizados por la ADN polimerasa de phi29 pueden ser mucho más grande en comparación con los obtenidos mediante PCR. Las reacciones de amplificación de ADN isotérmicas no requieren equipo especial de laboratorio tales como termocicladores. Estas ventajas hacen que la ADN polimerasa de phi29 sea adecuada para la detección y el análisis de genomas virales circulares conocidos y desconocidos (Johne et al. 2009), la replicación de plásmidos patógenos (Hutchison et al. 2005), la amplificación de muestras muy pequeñas de ADN, p. ej., la replicación de muestras puntuales de sangre en papel de filtro, y para la descripción de nuevos metagenomas. La capacidad de utilizar pequeñas muestras de ADN circulares (sondas candado) se puede aplicar para la generación de nanomoldes de ADN periódicos (Simmel et al. 2005) o la detección de ARN (Lagunavicius et al. 2010). La alta capacidad de procesamiento, la fuerte actividad de desplazamiento de la hebra, y la alta precisión permiten que la enzima amplifique los genomas completos con sesgo de amplificación o pérdida del alelo mínimos (Lasken et al. 2003; Weissman et al. 2008) en comparación con los métodos de amplificación del genoma completo basados en PCR (WGA), tal como polimerización degenerada de oligonucleótidos (DOP-PCR) o la reacción de polimerización por extensión del cebador (PEP-PCR). La estabilidad de los complejos de ADN polimerasa de phi29-ADN hace que la ADN polimerasa de phi29 sea atractiva para las técnicas de una sola molécula. Los complejos ADN polimerasa de phi29-ADN son estables cuando se capturan en un campo eléctrico a través de nanoporos de αhemolisina, y se pueden utilizar para estudiar el ácido nucleico mediante su extracción a través del lumen de los nanoporos durante la replicación (Akeson et al. 2010).

Para aplicaciones tales como las descritas, la capacidad de realizar reacciones a temperatura elevada sería ventajosa para que la cinética de la reacción de amplificación fuera más rápida. La ADN polimerasa de phi29 es una enzima mesófila típica con una temperatura óptima de reacción de 30°C. Una temperatura de reacción de 30°C

puede causar problemas durante la amplificación de ADN con alto contenido de G/C. Las temperaturas de reacción elevadas podrían mejorar la eficiencia de amplificación de ADN y disminuir la formación de productos de reacción no específicos, independientes del molde en la reacción de amplificación del genoma completo (WGA) (Alsmadi et al. 2009). La temperatura de trabajo de 30°C relativamente baja de la ADN polimerasa de phi29 limita su aplicación; se podría utilizar una enzima más termoestable en muchas más técnicas de amplificación de ADN, generar más producto, funcionar más rápido, y aumentar la sensibilidad de la reacción de amplificación.

10

15

20

25

45

Se realizaron intentos para mejorar las características de la ADN polimerasa de phi29. Se insertaron mutaciones de aminoácidos, o la ADN polimerasa de phi29 se fusionó con motivos de unión a ADN (de Vega et al. 2010). En la determinación de la secuencia de bases de nucleótidos de una molécula de ADN, se utilizó ADN polimerasa de phi29 no natural en el que el radical de aminoácido en la posición 12, 14, o 16 de la polimerasa fue remplazado por alanina, lo que dio como resultado la reducción de la actividad exonucleasa, conservando la actividad de la ADN polimerasa sin cambios (Patente de Estados Unidos Núm. 5.198.543). Se describen reactivos y modificaciones de la ADN polimerasa de phi29 que aumentan los tiempos de residencia para los análogos de nucleótidos, para su uso en operaciones analíticas tales como el análisis y la determinación de la secuencia de ácido nucleico (EP2089517A2). Se generó una ADN polimerasa de phi29 modificada para obtener la incorporación más eficiente de los nucleótidos marcados utilizados para generar la señal de FRET en la incorporación (WO2009091847A2). Típicamente, el donador de FRET se conecta a la polimerasa, y el aceptor de FRET se ancla al nucleótido entrante. La emisión de FRET se produce cuando la polimerasa se une al nucleótido entrante y el donador de FRET se pone en estrecha proximidad con el aceptor de FRET. Los nucleótidos incorporados pueden ser identificados mediante el espectro de emisión del aceptor de FRET. Tal estrategia se puede utilizar en la reacción de secuenciación de una sola molécula. Se describió una ADN polimerasa de phi29 modificada con mayor resistencia al fotodaño (Publicación de Patente de los Estados Unidos Núm. 2010009355); el método cambió radicales de aminoácidos susceptibles de fotodaño por aminoácidos menos sensibles. La resistencia al fotodaño es muy importante en sistemas de análisis que utilizan marcadores ópticas, p. ej., reacción de secuenciación de una sola molécula. La exposición prolongada de los reaccionantes químicos y bioquímicos a energía de radiación durante la excitación y la detección de marcadores ópticos puede dañar la polimerasa mediante la oxidación de los radicales de aminoácidos sensibles.

La presente invención proporciona una DNA-polimerasa del bacteriófago phi29 que comprende una mutación M8R, en donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 tiene mayor estabilidad de proteínas en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje, y, opcionalmente, en donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 comprende adicionalmente al menos una mutación seleccionada entre V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L.

La presente invención proporciona adicionalmente un método para amplificar un ácido desoxirribonucleico (ADN), comprendiendo el método poner en contacto el ADN que va a ser amplificado una ADN polimerasa del bacteriófago phi29 que comprende una mutación M8R, e incubar la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 mutante y ADN en condiciones para dar lugar un ADN amplificado, en donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 tiene mayor estabilidad de proteínas en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje, y, opcionalmente, en donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 comprende adicionalmente al menos una mutación seleccionada entre V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L.

Los mutantes de la ADN polimerasa de phi29 la invención tienen mayor estabilidad de proteínas y una mayor vida media, en comparación con ADN polimerasa de tipo salvaje. Son más estables en mezclas de reacción con o sin ADN. Los mutantes de ADN polimerasa de phi29 de la invención generan más producto de amplificación. Los mutantes de ADN polimerasa de phi29 de la invención amplifican el ADN genómico con menos sesgo en comparación con la ADN polimerasa de tipo salvaje.

Se proporciona adicionalmente una ADN polimerasa del bacteriófago phi29 aislada que comprende al menos una mutación seleccionada del grupo que consiste en M8R, V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L.

También se proporciona un ADN polimerasa del bacteriófago phi29 aislada que comprende una secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 10 con al menos una mutación seleccionada del grupo que consiste en M8R, V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L, opcionalmente en donde la secuencia de aminoácidos de la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 comprende una o más mutaciones adicionales, siempre que la secuencia de aminoácidos conserve al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95 %, o al menos 98% de identidad de secuencia con el SEQ ID NO: 10.

60 La ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la presente invención tiene mejores propiedades funcionales en comparación con ADN polimerasa de tipo salvaje.

En particular, la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la presente invención puede tener mayor termoestabilidad de proteínas en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.

Además o alternativamente, la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la presente invención puede producir una mayor cantidad de producto de amplificación de ADN en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.

- Además o alternativamente, la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la presente invención puede tener una vida media más larga en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje. Preferiblemente, la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 exhibe la vida media más larga en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje a 37°C y/o a 40°C. Más preferiblemente, la vida media es al menos 1½ veces, incluso más preferiblemente al menos dos veces más larga, en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.
 - Además o alternativamente, la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la presente invención puede tener una mayor afinidad por el ADN en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.
- Además o alternativamente, la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la presente invención puede tener un mayor grado de fidelidad de la ADN polimerasa en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.
 - Además o alternativamente, la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la presente invención puede presentar un aumento de catálisis en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.
- Las comparaciones con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje mencionada anteriormente se pueden realizar utilizando ensayos conocidos en la técnica. En particular, la comparación se puede realizar utilizando los métodos establecidos en los Ejemplos. Por ejemplo, la vida media de la enzima polimerasa se puede medir para evaluar la termoestabilidad de las proteínas (p. ej. de acuerdo con el Ejemplo 2), la eficacia de la reacción mediante amplificación de desplazamiento múltiple (MDA) se puede evaluar para determinar la estabilidad de la polimerasa en mezclas de reacción, la actividad a temperaturas elevadas y la cantidad de producto de amplificación generado (por ejemplo de acuerdo con el ejemplo 3), el sesgo de la amplificación se puede determinar mediante la secuenciación de los productos de amplificación del genoma completo obtenido utilizando la ADN polimerasa de phi29 (p. ej., de acuerdo con el ejemplo 4), y se puede utilizar análisis de cambio de movilidad electroforética para determinar que la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la invención tiene mayor afinidad por el sustrato en comparación con la de tipo salvaje (p. ej., de acuerdo con el Ejemplo 5).

Preferiblemente, la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje referida en la presente memoria y utilizada para la comparación tiene el SEQ ID NO: 10. Preferiblemente, la mejora de las propiedades funcionales es a 37°C y/o a 40°C.

De acuerdo con la descripción al menos una mutación mencionada anteriormente puede ser al menos dos mutaciones seleccionadas del grupo que consiste en M8R, V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L. Las al menos dos mutaciones pueden ser M8R y V51A. Alternativamente, las al menos dos mutaciones pueden ser:

- (A) M8R y al menos una mutación seleccionada entre V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L;
- (B) V51A y al menos una mutación seleccionada entre M8R, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L;
- (C) M97T y al menos una mutación seleccionada entre M8R, V51A, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L;
- (D) G197D y al menos una mutación seleccionada entre M8R, V51A, M97T, L123S, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L;
- (E) E221K y al menos una mutación seleccionada entre M8R, V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L.

La ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la invención puede comprender las mutaciones M8R, V51A, M97T, G197D, y E221K. En otras palabras, la al menos una mutación seleccionada del grupo que consiste en M8R, V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L puede ser M8R, V51A, M97T, G197D, y E221K.

La ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la invención puede comprender las mutaciones M8R, V51A, M97T, G197D, E221K, Q497P, K512E, y F526L. En otras palabras, la al menos una mutación seleccionada del grupo que consiste de M8R, V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L puede ser M8R, V51A, M97T, G197D, E221K, Q497P, K512E, y F526L,

Una realización preferida de la invención es una ADN polimerasa del bacteriófago phi29 aislada del SEQ ID NO: 14.

Una realización preferida adicional es una ADN polimerasa del bacteriófago phi29 aislada que comprende: (i) el SEQ

4

40

35

10

45

50

55

ID NO: 14; o (ii) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, o al menos 98% de identidad de secuencia con el SEQ ID NO: 14 (es decir, variantes del SEQ ID NO: 14) en donde la secuencia de aminoácidos conserva los aminoácidos que se muestran en tipo de letra de color blanco en un fondo de color negro para M4 (que tiene el SEC ID NO: 14) en la FIG. 2, es decir, en donde la secuencia de aminoácidos conserva los aminoácidos R8, S107, S123, G239, A434, E478, P497, L526 y R553 del SEQ ID NO: 14.

Un aspecto preferido de la descripción es una ADN polimerasa del bacteriófago phi29 aislada del SEQ ID NO: 15. Otro aspecto preferido adicional de la descripción es una ADN polimerasa del bacteriófago phi29 aislada que comprende: (i) el SEQ ID NO: 15; o (ii) una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, o al menos 98% de identidad de secuencia con el SEQID NO: 15 (es decir, variantes del SEQ ID NO: 15) en donde la secuencia de aminoácidos conserva los aminoácidos que se muestran en tipo de letra de color blanco en un fondo de color negro para M5 (que tiene la SEC ID NO: 15) en la FIG. 2, es decir, en donde la secuencia de aminoácidos conserva los aminoácidos A51, T97, D197, K221, E478, A515 y L526 del SEQ ID NO: 15.

En particular, la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 aislada de los dos párrafos anteriores tienen una o más de las propiedades mejoradas anteriormente mencionadas. Preferiblemente, la propiedad mejorada es una mayor termoestabilidad de proteínas en comparación con la ADN polimerasa de tipo salvaje.

La una o más mutaciones adicionales antes mencionadas pueden ser sustituciones, adiciones o deleciones de aminoácidos. En particular, la una o más mutaciones adicionales son, por ejemplo, sustituciones de aminoácidos conservativas, mutaciones en las posiciones de aminoácidos que proporcionan mejores propiedades de la ADN polimerasa de phi29 como se conoce en la técnica (y en particular las destacadas en color gris en la FIG. 2, y citado más abajo, que se encontraron en el procedimiento de selección descrito en la presente memoria), y adiciones de aminoácidos en los extremo N y/o C terminales. La una o más mutaciones adicionales mejoran o al menos no alteran las propiedades funcionales mejoradas de la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la presente invención como se define anteriormente. Las características de este párrafo también se aplicarán en relación con las variantes mencionadas en los párrafos anteriores, que comprenden las mutaciones en el SEQ ID NO: 14 y el SEQ ID NO: 15.

La presente invención proporciona adicionalmente un método para amplificar un ácido desoxirribonucleico (ADN), comprendiendo el método

poner en contacto el ADN que va a ser amplificado con una ADN polimerasa del bacteriófago phi29 como se ha descrito anteriormente (que puede ser considerado como ADN polimerasa del bacteriófago phi29 mutante, por ejemplo un mutante del SEQ ID NO: 10), y

incubar de la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 y el ADN a una temperatura mayor de 30°C en condiciones que dan como resultado un ADN amplificado.

La presente invención también proporciona un método para amplificar un ácido desoxirribonucleico (ADN), comprendiendo el método poner en contacto el ADN que va ser amplificado con una ADN polimerasa del bacteriófago phi29 que comprende una mutación M8R, e incubar la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 mutante y el ADN en condiciones que dan como resultado un ADN amplificado, en donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 tiene mayor estabilidad de proteínas en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje, y, opcionalmente, en donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 comprende adicionalmente al menos una mutación seleccionada entre V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L.

En particular, en los métodos anteriores la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 puede comprender las mutaciones M8R, V51A, M97T, G197D, y E221K.

En particular, en los métodos anteriores la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 puede comprender las mutaciones M8R, V51A, M97T, G197D, E221K Q497P, K512E, y F526L.

En los métodos descritos anteriormente la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 mutante puede generar una mayor cantidad de producto de amplificación de ADN en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.

Además o alternativamente la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 mutante puede tener un mayor grado de fidelidad de la ADN polimerasa en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.

Además o alternativamente la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 mutante puede tener una vida media más larga en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.

Además o alternativamente la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 puede tener mayor catálisis en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.

5

40

45

30

35

5

10

El ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la invención descrita en la presente memoria se puede usar en los métodos anteriores.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

5

10

15

20

25

30

35

40

- La FIG. 1 muestra sustituciones de residuos de aminoácidos en clones seleccionados.
- La FIG. 2 muestra el alineamiento CLUSTALW de 30 secuencias de proteínas seleccionadas (SEQ ID NO 10-40, respectivamente, en orden de aparición).
- Las FIG. 3A-F comparan la vida media $(T_{1/2})$ de las actividades entre las variantes de tipo salvaje y mutantes de la ADN polimerasa de phi29.
- Las FIG. 4A-B comparan las actividades de $T_{1/2}$ entre las variantes de tipo salvaje y mutantes de la ADN polimerasa de phi29 que contienen mutaciones individuales.
- Las FIG. 5A-C comparan la eficacia de la reacción de amplificación del desplazamiento múltiple (MDA) entre las variantes de tipo salvaje y mutantes de la ADN polimerasa de phi29.
- La FIG. 6 compara la uniformidad de cobertura entre las variantes de tipo salvaje y mutantes de la ADN polimerasa de phi29.
- La FIG. 7 compara el contenido GC entre tras el análisis del genoma completo (WGA) entre las variantes de tipo salvaje y mutantes de la ADN polimerasa de phi29.
- La FIG. 8 compara la unión de ADN entre las variantes de tipo salvaje y mutantes de la ADN polimerasa de phi29.

Se llevó a cabo la mutagénesis aleatoria del gen de la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje y se creó una biblioteca mutante. Las ADN polimerasas de phi29 mutantes se seleccionaron utilizando un esquema de autoreplicación compartimentada (CSR) modificado. Se utilizó reacción de amplificación de desplazamiento múltiple (MDA) para escrutar una biblioteca de ADN polimerasa de phi29 mutante para encontrar enzimas que eran más termoestables y catalíticamente más rápidas. Se llevaron a cabo siete rondas de escrutinio aumentando la temperatura de reacción de 40°C a 50°C y acortando el tiempo de reacción de 16 horas a 4 horas. Los clones seleccionados de ADN polimerasa de phi29 mutada aleatoriamente se secuenciaron y se analizaron. Los datos de secuenciación revelaron posibles mutaciones con un efecto estabilizador sobre la proteína de la polimerasa del ADN de phi29 y posibilitaron actividad enzimática a temperaturas más altas en comparación con la enzima de tipo salvaje.

- La FIG. 1 muestra sustituciones de aminoácidos que se encuentran en los clones seleccionados. Se identificaron doce mutaciones encontradas con más frecuencia, éstas fueron M8R; V51A; M97T; L123S; G197D; K209E; E221K; E239G; Q497P; K512E; E515A; F526L.
- La FIG. 2 muestra alineamiento de secuencias múltiples, utilizando Clustalw, de 30 secuencias de proteínas de tipo salvaje y mutantes. Como se conoce en la técnica, tal alineamiento identifica regiones de similitud que puede ser una consecuencia de la relación funcional, estructural, o evolutiva. La secuencia ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje, designada como wt, se proporciona como primera secuencia. Las mutaciones están marcadas con tipo de letra de color blanco en un fondo de color negro. Las posiciones de aminoácidos, cuyas mutaciones proporcionan propiedades mejoradas de ADN polimerasa de phi29 como se conoce en la técnica, están marcados como columnas de aminoácidos (tipo de letra de color negro) resaltadas en gris. Las mutaciones procedentes de la selección

actualmente descrita y ubicadas en las columnas de color gris indican que el procedimiento de selección de la

- invención se dirige precisamente a los sitios recurrentemente mutados "hot spot" beneficiosos o incluso al cambio de aminoácido exacto descrito en otro lugar. Las posiciones de aminoácidos y las referencias son: T15, C22, N62, K132, K135, D169, V250, Y254, P255, C290, L351, K371, E375, A377, K379, Q380, K383, L384, N387, S388, C448, D456, D458, K478, E486, K512, K525, C530 referidas en el documento WO 2009091847A2;
 - N62, K135, T368, E375, E486, K512 referidas en el documento EP 1963536A2;
 - K135, T368, T372, K478, L480, K512 referidas en el documento EP 2089517A2;
- K64, F69, I70, I71, N72, W73, L74, E75, R76, T92, Y101, F128, K143, P153, I179, Q183, M188, T189, G191, F198, F211, R236, D249, N251, L253, Y254, P255, Y259, Q303, K305, N313, F360, F363, D365, T368, I370, K371, T372, T373, S374, E375, G376, A377, I378, K379, Q380, L381, A382, K383, L384, M385, L386, N387, S388, L389, Y390, G391, K392, F393, A394, S395, N396, P397, K402, Y405, L406, K407, E408, N409, G410, A411, L412, G413, F414, K422, I433, D458, K478, L480, A484, E486, R496, Q497, Y500, i504, K507, E508, V509, D510, G511, K512, L513, V514, C529, A531, G532, T534, K538,
 - K555, P558, Q560, V561, P562, G563, G564, D570, F572, 1574, K575 referidas en el documento US 20100112645A1; y
 - N62, F128, F230, W232, M246, F248, Y254, P300, Y315, F363, W367, T368, Y369, I378, M385, Y454, H461, Y482, W483, H485, F489, Y494, Y500, Y505, M506, Y521, F526 referidas en el documento US 20100093555A1.
- 60 Los mutantes descritos aumentaron la estabilidad de proteínas. Las ADN polimerasas de phi29 mutantes funcionaron a temperaturas elevadas, definidas como temperaturas superiores a 30°C y tenían mayor estabilidad, definida en mezclas de reacción sin sustrato.

Los mutantes descritos mostraron síntesis de ADN más rápida y más eficiente. Esto dio como resultado un tiempo

más corto de síntesis de ADN, generación de más producto, y aumento de umbral de sensibilidad.

Los mutantes descritos aumentan la estabilidad del complejo de ADN polimerasa de phi29 y ADN, debido a una mayor afinidad por el sustrato de ADN.

5

15

Los mutantes descritos aumentaron capacidad de procesamiento. Los mutantes mostraron mayor afinidad por el ADN y mayor velocidad de reacción, que podría sintetizar más producto sin disociación del ADN.

Los mutantes descritos mostraron amplificación no sesgada del genoma completo. La elevación de la temperatura 10 de las reacciones de WGA podría dar como resultado en un menor sesgo de amplificación, mediante la eliminación de los efectos de las diferencias de contenido de GC.

Los mutantes descritos mostraron resistencia a los inhibidores. Debido a su efecto estabilizador sobre la ADN polimerasa de phi29, los mutantes pueden aumentar la resistencia a inhibidores tales como heparina, formamida, hidrocloruro de guanidina, y/o daños foto-oxidativos.

Los mutantes descritos mostraron una mayor precisión; es probable que se produzca mayor fidelidad de la ADN polimerasa con una mayor estabilidad y capacidad de procesamiento del complejo de ADNP de phi29-ADN.

20 En un aspecto de la descripción, las variantes de la ADN polimerasa de phi29 contenían cualquier mutación única entre M8R; V51A; M97T; L123S; G197D; K209E; E221K; E239G; Q497P; K512E; E515A; F526L, o cualquier combinación de mutaciones entre M8R; V51A; M97T; L123S; G197D; K209E; E221 K; E239G; Q497P; K512E; E515A; F526L. En un aspecto, Mut 4 comprende cinco de estas 12 mutaciones: M8R, V51A, M97T, G197D, E221K. En un aspecto, Mut 5 comprende ocho de estos 12 mutaciones: M8R, V51A, M97T, G197D, E221K, Q497P, K512E, 25 F526L. La descripción incluye el uso de estas mutaciones, individualmente o combinadas.

Los siguientes ejemplos no limitantes ilustran el uso de los mutantes y métodos.

Ejemplo 1

30

Selección de mutantes de ADN polimerasa de phi29 termoestables y más rápidos

Un esquema de selección de la ADN polimerasa de phi29 termoestable y más rápido se basó en la estrategia de autoreplicación compartimentada (CSR) (Ghadessy et al. 2001) con modificaciones.

35

40

45

50

60

El gen de la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaie se mutó utilizando PCR propensa error. La biblioteca de genes mutados se transformó en células de Escherichia coli ER2566 y se expresó la ADN polimerasa de phi29. Las células de E. coli inducidas que expresaban en exceso las polimerasas mutantes se lavaron dos veces con 1 x tampón Tango y se añadieron 0,5 mg/ml de lisozima. La suspensión se incubó durante cinco minutos a temperatura

ambiente. Las células transformadas y otros componentes de la reacción se emulsionaron utilizando el siguiente protocolo:

Se añadieron aproximadamente 0.3 ml de la mezcla de CSR que contenía 1 x tampón Tango (Tris-acetato 330 mM (pH 7,9 a 25°C), Mg-acetato 100 mM, K-acetato 660 mM, 1 mg/ml de BSA), mezcla de cebadores al azar resistente a Exo 25 mM (5'-NpNpNpNpNpNpNpNpNpNpNn '), 0,3 M de cebadores núm. 1 (5'-CTG CAG CAT TAA TGA ATC GGC CAAP^SCp^SG-3') (SEQ ID NO: 1) y núm. 2 (5'-TTA GCA GCC GGA TCT CAGp^STp^SG-3') (SEQ ID NO: 2), dNTP 1 mM y 1 x 10' de células de E. coli inducidas que expresaban en exceso polimerasas mutantes a 0,7 ml de la fase oleosa que contenía ABIL EM 90 al 2% (vol/vol), Triton X-100 0,055 (vol/vol)en aceite mineral con agitación constante (1714 rpm) a + 4°C (ps = fosforotioato). Después de la adición de la fase acuosa (gradualmente durante dos min), la agitación continuó durante cinco min. A continuación, la emulsión se congeló a -80°C y se descongeló a 37°C - 50°C (la temperatura se aumentó gradualmente después de cada ronda de selección). Se realizaron cinco ciclos de congelación-descongelación. La emulsión se incubó después durante 16-2 horas (el tiempo de incubación se redujo gradualmente después de cada ronda de selección).

- 55 Después de la incubación la fase acuosa se extrajo utilizando el siguiente protocolo:
 - 1. Transferir 400 µl de emulsión al tubo de 1,5 ml e incubar a 75°C durante 10 minutos y centrifugar durante tres minutos a 13 000 rpm a temperatura ambiente, desechar la fase superior (oleosa).
 - 2. Añadir 700 µl de éter dietílico saturado con agua, someter a vórtice el tubo, centrifugar durante un minuto a 13000 rpm y desechar la fase superior (disolvente).
 - 3. Añadir 750 µl de acetato de etilo saturado con agua, someter a vórtice el tubo, centrifugar durante un minuto a 13000 rpm y desechar la fase superior (disolvente).
 - 4. Repetir el paso 2.
 - 5. Eliminar el disolvente residual de la emulsión rota centrifugando a vacío durante diez minutos a 37°C.

El ADN se extrajo de la fase acuosa utilizando el siguiente protocolo:

- 1. Añadir un volumen igual de solución de fenol/cloroformo (1:1) a la fase acuosa, someter a vórtice y centrifugar durante cinco minutos a 13000 rpm.
- 2. Retirar la fase acuosa a un tubo nuevo y añadir un volumen igual de cloroformo, someter a vórtice y centrifugar durante cinco minutos a 13000 rpm.
- 3. Retirar la fase acuosa a un tubo nuevo y añadir 0,1 volúmenes de acetato de sodio 3 M, pH 5,2, a la fase acuosa y después 2,5 volúmenes de etanol absoluto. Incubar a -20°C durante la noche o durante 30 60 min, centrifugar durante diez minutos a 13000 rpm.
- 4. Eliminar el sobrenadante y añadir 180 μ l de etanol del 70% (v/v), centrifugar durante dos minutos a 13000 rpm.
- 5. Eliminar el sobrenadante y secar el precipitado a temperatura ambiente. Disolver el precipitado en 37 µl de 1 x tampón de Fast Digest (Thermo Fisher Scientific).
- Después de la extracción con cloroformo/fenol y la precipitación con etanol el ADN genómico de *E. coli* se digirió y el producto de MDA se linealizó mediante la adición de 1,5 µl de endonucleasas de restricción FD Dpnl y FD AlwNI. La mezcla de reacción se incubó durante 30 min a 37°C y cinco minutos a 65°C.
- Los productos de selección se amplificaron con cebadores núm. 3 (5'-GCG AGC CCG ATC TTC CCC ATC G-3')

 (SEQ ID NO: 3) y núm. 4 (5'-TTA GCA GCC GGA TCT CAG TG-3') (SEQ ID NO: 4). Después de la amplificación de los productos de PCR que contenían los genes de ADN polimerasa de phi29 mutados se volvieron a clonar y se transformaron en células de *Escherichia coli* ER2566 para las rondas sucesivas de selección.

Ejemplo 2

5

10

25

30

35

40

Medición de la media vida (T_{1/2}) de mutantes de ADN polimerasa de phi29

El aumento de la termoestabilidad de la proteína se evaluó mediante la medición de la vida media (T_{1/2}) de la actividad de la enzima a una temperatura concreta. Una vida media más larga indica una enzima más estable.

Se construyeron dos variantes mutantes de ADN polimerasa de phi29. La variante Mut_4 de la ADN polimerasa de phi contiene 5 mutaciones (M8R, V51A, M97T, G197D, E221K), éstas nunca se habían caracterizado antes. La variante Mut_5 de la ADN polimerasa de phi29 contiene 8 reemplazos de aminoácidos seleccionados más frecuentemente (FIG. 1 y 2) (M8R, V51A, M97T, G197D, E221K, Q497P, K512E, F526L). Cinco mutaciones son las mismas que en la enzima Mut_4 (mutaciones subrayadas). Tres mutaciones introducidas adicionalmente son conocidas (Publicaciones U.S. Núm. 2010009355A1, 20100112645A1 y documento EP2089517A2); los también son importantes para la mejora de propiedades de la ADN polimerasa de phi29. Las variantes de ADN polimerasa de tipo salvaje y mutantes de phi29 se purificaron hasta más del 95% de homogeneidad de proteínas utilizando cinco etapas de cromatografía de intercambio iónico. La termoestabilidad de las enzimas de tipo salvaje, Mut_4 y Mut_5 con y sin sustrato se midió a 30°C, 37°C y 40°C.

En este ejemplo, la vida media $(T_{1/2})$ de diferentes ADN polimerasas de phi29 sin sustrato se determinó utilizando el siguiente protocolo.

45 1. Preparar la siguiente mezcla de reacción:

	Para 1 análisis	Para 10 análisis	
10x tampón para phi29	4 μΙ	40 µl	
H ₂ O	35 µl	350 µl	
ADN polimerasa de phi29 (100 ng/l)	1 µl	10 µl	
Total	40 µl	400 μΙ	
(40) to real for a control (20). This control (200 cmM of L.7.0 Mg control (400 cmM K of L. 200 cmM Ture of 200 cl 40/ (4/4)			

(10x tampón para phi29: Tris-acetato 330 mM, pH 7,9, Mg-acetato 100 mM, K-etilo 660 mM, Tween 20 al 1% (v/v), DTT 10 mM)

- 2. Incubar las muestras a la temperatura apropiada durante 0 h-16 h (las muestras de control que se incuban durante 0 horas se refieren a 100% de actividad).
- 3. Después de la incubación, transferir muestras a un baño de hielo y añadir 10 µl de solución A.

Solución A	Para 1 análisis	Para 10 análisis
10 x tampón para phi29	1 µl	10 μΙ
Cebador al azar resistente a Exo (500 μM)	2,5 µl	25 μΙ
mezcla de dNTP (10 mM)	5 µl	50 μl
dCTP- ³ H (37 μM)	0,25 µl	2,5 µl
ADN plasmídico de hebra sencilla del bacteriófago M13 (0,805 mg/ml)	1,25 µl	12,5 µl
Total	10 µl	100 μΙ

- 4. Incubar las muestras a 30°C durante 10 min
- 5. Detener la reacción mediante la adición de 5 µl de EDTA (0,5 M)
- 5 6. Transferir 40 μl de mezcla de reacción en el papel de filtro DE-81 (1,5 x 1,5 cm).
 - 7. Secar los papeles
 - 8. Lavar tres veces los papeles con Na₂HPO₄ al 7,5% x 10 H_2O
 - 9. Lavar una vez con agua destilada
 - 10. Secar los papeles
- 10 11. Transferir los papeles a viales de centelleo y medir las cpm. La actividad residual se calcula utilizando la siguiente fórmula:

Actividad residual (%) = [cpm (muestra) - cpm (blanco)] * 100% / `cpm (muestra de control - cpm (blanco)].

- La vida media (T_{1/2}) de diferentes ADN polimerasas de phi29 con sustrato se determinó utilizando el siguiente protocolo:
 - 1. Preparar la siguiente mezcla de reacción:

	Para 1 análisis	Para 10 análisis	
10 x tampón para phi29	4,45 µl	44,5 µl	
ADN plasmídico de hebra sencilla del bacteriófago M13 (0,805 mg/ml)	1,25 µl	12,5 µl	
Cebador al azar resistente a Exo (500 M)	2,5 µl	25 µl	
H ₂ O	35 µl	350 µl	
ADN polimerasa de phi29 (100 ng/l)	1 µl	10 µl	
Total:	44,2 µl	442 µl	
(10x tampón para phi29: Tris-acetato 330 mM, pH 7.9, Mg-acetato 100 mM, K-etilo 660 mM. Tween 20 al 1% (v/v)			

(10x tampón para phi29: Tris-acetato 330 mM, pH 7,9, Mg-acetato 100 mM, K-etilo 660 mM, Tween 20 al 1% (v/v), DTT 10 mM)

- 20 2. Incubar las muestras a la temperatura apropiada durante 0 h -16 h (las muestras de control que se incuban durante 0 horas refieren actividad de 100%).
 - 3. Después de la incubación transferir las muestras a un baño de hielo y añadir 5,8 µl de solución B.

Solución B	Para 1 análisis	Para 10 análisis
10 x tampón para phi29	0,55 µl	5,5 µl
mezcla de dNTP (10 mM)	5 µl	50 µl
dCTP-3H (37 mM)	0,25 µl	2,5 µl
Total	5,8 µl	58 µl

- 4. Incubar las muestras a 30°C durante diez min.
 - 5. Detener la reacción mediante la adición de 5 µl de EDTA (0,5 M).
 - 6. Transferir 40 µl de mezcla de reacción en el papel de filtro DE-81 (1,5 x 1,5 cm).
 - 7. Secar los papeles
 - 8. Lavar tres veces los papeles con Na_2HPO_4 al 7,5% x 10 H_2O .
- 30 9. Lavar una vez con agua destilada
 - 10. Secar los papeles

11. Transferir los papeles a viales de centelleo y medir las cpm. La actividad residual se calcula utilizando la siguiente fórmula:

Actividad residual (%) = [cpm (muestra) - cpm (blanco)] * 100% / `cpm (muestra de control - cpm (blanco)].

5

10

15

20

25

30

35

Las vidas medias ($T_{1/2}$) de la actividad de las enzimas ADN polimerasas de phi29 de tipo salvaje y mutantes Mut_4 y Mut_5 se midieron en presencia (FIG. 3D-F) y ausencia de sustrato (FIG. 3A-C), a 30°C (FIG. 3A, D), 37°C (FIG. 3B, E) o 40°C (FIG. 3C, F). Las vidas medias ($T_{1/2}$) de la actividad de las ADN polimerasas de phi29 de tipo salvaje sin sustrato a 30°C y 37°C fueron 18 min y <3 minutos, respectivamente (Fig. 3, Tabla 1).

Tabla 1. Vidas medias (T_{1/2}) de la actividad de las ADN polimerasas de phi29 de tipo salvaje y mutantes sin sustrato

	T _{1/2} a 30°C	T _{1/2} a 37°C	T _{1/2} a 40°C
Peso	18 min	<3 min	-
Mut_4	16 hr	20 min	8 min
Mut_5	> 16 hr	16 hr	15 min

mutante Mut_4 con las mutaciones M8R, V51A, M97T, G197D, E221K; mutante Mut_5 con las mutaciones M8R, V51A, M97T, G197D, E221K, Q497P, K512E, F526L

Las enzimas mutantes Mut_4 y Mut_5 fueron sustancialmente más termoestables y perdieron la mitad de su actividad después de 16 horas a 30°C, y después de 20 minutos a 37°C. Las vidas medias (T_{1/2}) de la actividad de Mut_4 y Mut_5 también se midieron a 40°C y fueron 8 min y 15 min, respectivamente. La enzima de tipo salvaje a 40°C pierde su actividad inmediatamente.

Todas las variantes de la enzima de phi29 se estabilizaron en el complejo con el sustrato. Las vidas medias ($T_{1/2}$) de la actividad de ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje con sustrato a 30°C y 37°C fueron de 100 min y 15 minutos, respectivamente (Fig. 3, Tabla 2).

Tabla 2. Vida media (T_{1/2}) de la actividad de las ADN polimerasas de phi29 de tipo salvaje y mutantes con sustrato

	T _{1/2} a 30°C	T _{1/2} a 37°C	T _{1/2} a 40°C	
en peso	100 min	15 min	-	
Mut_4	> 16 hr	16 horas	1 hr	
Mut_5	> 16 hr	> 16 hr	16 hr	

mutante Mut_4 con las mutaciones M8R, V51A, M97T, G197D, E221K; mutante Mut_5 con las mutaciones M8R, V51A, M97T, G197D, E221K, Q497P, K512E, F526L

Las enzimas mutantes Mut_4 y Mut_5 fueron aún más termoestables teniendo vidas medias (T_{1/2}) de la actividad con sustrato de 16 h y más a 30 - 37°C, y 1 h o 16 h a 40°C. La enzima de tipo salvaje, incluso en un complejo con el sustrato, pierde su actividad a 40°C inmediatamente.

La variante mutante de ADN polimerasa de phi29 Mut_4 fue sustancialmente más estable en comparación con la enzima de tipo salvaje (Fig. 3, Tablas 1 y 2). Fue así como se llegó a la conclusión de que cambios en los aminoácidos M8R, V51A, M97T, G197D, y E221K están directamente implicados y son responsables de la mayor termoestabilidad de la enzima con y sin sustrato.

La variante de la ADN polimerasa de phi 29 Mut_5 fue aún más termoestable en comparación con la ADN polimerasa de phi 29 Mut_4 (Fig. 3, Tablas 1 y 2). Por lo tanto, se concluyó que las mutaciones Q497P, K512E, y F526L adicionales también son importantes en la termoestabilización proteína con y sin sustrato.

Medición de la media vida (T_{1/2}) de mutantes de ADN polimerasa de phi29 que contienen mutaciones individuales

Se construyeron nueve variantes mutantes que contenían la sustitución de un solo aminoácido (M8R, V51A, M97T, G197D, E221K, Q497P, K512E, E515A, F526L). Seis residuos de histidina (6xHis) (SEQ ID NO: 5) que contenían las etiquetas se fusionaron al extremo C terminal de ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje y mutantes. Las polimerasas etiquetadas con His se purificaron a más de 95% de homogeneidad de proteínas utilizando la cromatografía de afinidad de iones metálicos inmovilizados. La termoestabilidad de las de tipo salvaje y las mutantes sin y con sustrato, se midió a 30°C y 40°C.

En este ejemplo, la vida media (T_{1/2}) de diferentes ADN polimerasas de phi29 sin sustrato se determinó utilizando el siguiente protocolo.

1. Preparar la siguiente mezcla de reacción:

	Para 1 análisis	Para 10 análisis
10x tampón Tango	4 µl	40 µl
H ₂ O	35 µl	350 µl
ADN polimerasa de phi29 (100 ng/l)	1 μΙ	10 µl
Total	40 μΙ	400 µl
(10x tampón Tango: Tris-acetato 330 mM, pH 7,9, Mg-acetato 100 mM, K-etilo 660 mM 1 mg/ml de BSA).		

2. Incubar las muestras a 30°C durante 0 a 150 min (las muestras de control que se incuban durante 0 horas se refieren a 100% de actividad).

3. Después de la incubación, transferir muestras a un baño de hielo y añadir 10 µl de solución A.

Solución A	Para 1 análisis	Para 10 análisis
10 x tampón Tango	1 µl	10 μΙ
Cebador al azar resistente a Exo (500 M)	2,5 µl	25 µl
mezcla de dNTP (10 mM)	5 µl	50 µl
dCTP-3H (37 mM)	0,25 µl	2,5 µl
ADN plasmídico de hebra sencilla del bacteriófago M13 (0,805 mg/ml)	1,25 µl	12,5 µl
Total	10 μΙ	100 µl

10

20

25

30

5

- 4. Incubar las muestras a 30°C durante 10 min
- 5. Detener la reacción mediante la adición de 5 µl de EDTA (0,5 M)
- 6. Transferir 40 µl de mezcla de reacción en el papel de filtro DE-81 (1,5 x 1,5 cm).
- 7. Secar los papeles
- 8. Lavar tres veces los papeles con Na₂HPO₄ al 7,5% x 10 H₂O. 15
 - 9. Lavar una vez con agua destilada
 - 10. Secar los papeles
 - 11. Transferir los papeles a viales de centelleo y medir las cpm. La actividad residual se calcula utilizando la siguiente fórmula:

Actividad residual (%) = [cpm (muestra) - cpm (blanco)] * 100% / `cpm (muestra de control - cpm (blanco)].

La vida media (T_{1/2}) de diferentes ADN polimerasas de phi29 con sustrato se determinó utilizando el siguiente protocolo:

1. Preparar la siguiente mezcla de reacción:

	Para 1 análisis	Para 10 análisis	
10 x tampón Tango	4,45 µl	44,5 µl	
ADN plasmídico de hebra sencilla del bacteriófago M13 (0,805 mg/ml)	1,25 µl	12,5 µl	
Cebador al azar resistente a Exo (500 M)	2,5 µl	25 µl	
H ₂ O	35 µl	350 µl	
ADN polimerasa de phi29 (100 ng/l)	1 µl	10 μΙ	
Total	44,2 µl	442 µl	
(10x tampón Tango: Tris-acetato 330 mM, pH 7,9, Mg-acetato 100 mM, 1 mg K-etilo 660 mM/ml BSA).			

- 2. Incubar las muestras a 40°C durante 0 a 900 min (las muestras de control que se incuban durante 0 horas se refieren a la actividad de 100%).
- 3. Después de la incubación transferir las muestras a un baño de hielo y añadir 5,8 µl de solución B.

Solución B	Para 1 análisis	Para 10 análisis
10 x tampón Tango	0,55 µl	5,5 µl
mezcla de dNTP (10 mM)	5 µl	50 µl
dCTP-3H (37 mM)	0,25 µl	2,5 µl
Total	5,8 µl	58 µl

- 4. Incubar las muestras a 30°C durante 10 min.
- 5. Detener la reacción mediante la adición de 5 µl de EDTA (0,5 M).
- 6. Transferir 40 µl mezcla de reacción en el papel de filtro DE-81 (1,5 x 1,5 cm).
 - 7. Secar los papeles
 - 8. Lavar tres veces los papeles con Na₂HPO₄ al 7,5% x 10 H₂O.
 - 9. Lavar una vez con agua destilada
 - 10. Secar los papeles
- 10 11. Transferir los papeles a viales de centelleo y medir las cpm. La actividad residual se calcula utilizando la siguiente fórmula:

Actividad residual (%) = [cpm (muestra) - cpm (blanco)] * 100% / `cpm (muestra de control - cpm (blanco)].

Las vidas medias (T_{1/2}) de la actividad de enzimas ADN polimerasas de phi29 de tipo salvaje y mutantes (que contenían mutaciones individuales) se midieron en presencia (Fig. 4B) y ausencia (Fig. 4A) de sustrato. Las vidas medias (T_{1/2}) de la actividad de las ADN polimerasas de phi29 de tipo salvaje sin sustrato a 30°C fueron 18 min (Fig. 4A, Tabla 3). Ocho enzimas mutantes que contenían mutaciones individuales (M8R, V51A, M97T, G197D, E221K, Q497P, E515A, F526L) eran más termoestables y pierden la mitad de su actividad a 30°C después de 26, 26, 38, 40, 65, 58, 52, 48 min, respectivamente (Fig. 4A, Tabla 3).

Tabla 3. Vida media $(T_{1/2})$ de la actividad de las ADN polimerasas de phi29 de tipo salvaje y mutantes con y sin sustrato

	T _{1/2} (min) sin sustrato, medida a 30°C (+/- 1 DT)	T _{1/2} (min) con sustrato, medida a 40°C (+/- 1 DT)
Tipo salvaje	18 (2,8)	37 (2,9)
M8R	26 (2,2)	195 (3)
V51A	26 (4,1)	90 (5,5)
M97T	38 (4,3)	22 (5,7)
G197D	40 (2,7)	400 (2,8)
E221K	65 (5,1)	58 (1,9)
Q497P	58 (3,9)	145 (3,3)
K512E	18 (2,5)	37 (1,2)
E515A	52 (2,8)	220 (2,7)
F526L	48 (2,1)	120 (5,1)

Todas las variantes de la enzima de phi29 se estabilizan en el complejo con el sustrato, por lo tanto, las vidas medias (T_{1/2}) de la actividad se podrían medir a 40°C. Las vidas medias (T_{1/2}) de la actividad de la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje con el sustrato a 40°C fueron 37 min (Fig. 4B, Tabla 3). Siete enzimas mutantes que contenían mutaciones individuales M8R, V51A, G197D, E221K, Q497P, E515A, F526L eran más termoestables teniendo vidas medias (T_{1/2}) de la actividad con sustrato de 195, 90, 400, 58, 145, 220, 120 min respectivamente (Fig. 4B, Tabla 3).

Ejemplo 3

35

Medición de la eficacia de la reacción de MDA a temperaturas elevadas

La eficacia de la reacción de amplificación de desplazamiento múltiple (MDA) se midió a diferentes temperaturas. La generación de más producto de MDA indica amplificación más eficiente.

En este ejemplo la eficacia de la reacción de MDA de diferentes ADN polimerasas de phi29 se evaluó utilizando el siguiente protocolo:

1. Preparar la siguiente mezcla de reacción de MDA:

	Para 1 análisis	Para 10 análisis
10x tampón para phi29	10 µl	100 μΙ
Mezcla de dNTP 10 mM	10 µl	100 μΙ
Cebador al azar resistente a Exo (500 M)	5 μl	50 μl
ADN del plásmido pUC19 (10 ng/l)	1 µl	10 μΙ
ADN polimerasa de phi29 (100 ng/l)	1 µl	10 μΙ
H ₂ O	a 100 µl	Para 1000 µl
Total	100 μΙ	1000

(10x tampón para phi29: Tris-acetato 330 mM, pH 7,9, Mq-acetato 100 mM, K-etilo 660 mM, Tween 20 al 1% (v/v), DTT 10 mM)

5

- 2. Incubar las muestras a temperaturas de 30°C, 37°C, 42°C, 45°C durante 0,5, 1 y 2 horas y a continuación detener la reacción incubando durante 15 min a 75°C. Posteriormente los productos de MDA se linealizan añadiendo 2 µl de endonucleasa de restricción FD AlwNI (Thermo Fisher Scientific) e incubando durante 3 horas a 37°C y durante 10 minutos a 70°C.
- 10 3. Para evaluar las multiplicidades de amplificación del plásmido pUC19, los productos de MDA fueron analizados mediante qPCR.

La mezcla de reacción de qPCR se preparó como sigue:

	Para 1 análisis	Para 10 análisis
Maxima SYBR Green qPCR Master Mix (2X)	12,5 µl	125 µl
cebador directo 5'-GTTGGGAAGGGCGATCG-3' (SEQ ID NO: 6)	0,75 µl	7,5 µl
Cebador inverso 5'-ACTTTATGCTTCCGGCTCGTA-3' (SEQ ID NO: 7)	0,75 µl	7,5 µl
H ₂ O	6 µl	60 µl
Producto de MDA diluido con tampón TE	5 µl	-
Total	25 µl	200 μΙ

Las multiplicidades de amplificación del plásmido pUC19 se calcularon utilizando la siguiente fórmula: Multiplicidad de amplificación = número de copias de pUC19 después de MDA/número de copias de pUC19 antes de MDA

15 La reacción de MDA a diferentes temperaturas se realizó utilizando ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje (Fig. 5A) y las enzimas mutantes Mut 4 (Fig. 5B) y Mut 5 (Fig. 5C). Las multiplicidades de amplificación del plásmido pUC19 utilizado como sustrato en la reacción de MDA fueron evaluadas mediante qPCR después de 0,5, 1 y 2 horas de reacción de MDA realizada a diferentes temperaturas. Los resultados indicaron que la reacción de MDA impulsada por ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje era más eficiente a 30°C en comparación con 37°C (Fig. 5A, 20 Tabla 4). Las enzimas mutantes Mut 4 y Mut 5 fueron capaces de realizar la reacción de MDA a 37°C, 42°C y 45°C (Fig. 5B, C, Tabla 4). La acumulación de producto de MDA fue aproximadamente dos veces más alta utilizando Mut 4 a 37°C y Mut 5 a 42°C en comparación con la enzima de tipo salvaje a 30°C (temperatura óptima) (Fig. 5, Tabla 4). Este ejemplo mostró que las ADN polimerasas de phi29 mutantes que tiene la estructura de proteínas más estables eran más estables en la mezcla de reacción, pudieron trabajar a mayores temperaturas (37°C - 45°C), y 25

pudieron generar más producto de amplificación en comparación con la enzima de tipo salvaje.

Tabla 4. La comparación de la eficiencia de MDA entre las variantes de tipo salvaje y mutantes de ADN polimerasa de phi29. Las multiplicidades de amplificación del plásmido pUC19 se determinaron mediante QPCR.

Dratatina de polimerose (temperatura de recesión)	Duración de la reacción de MDA (hr								
Prototipo de polimerasa (temperatura de reacción)	0,5	1	2						
WT (30°C)	49 (12)	509 (277)	988 (290)						
WT (37°C)	25 (19)	131 (10)	241 (113)						
Mut_4 (37°C)	77 (30)	425 (98)	1754 (343)						
Mut_4 (42°C)	117 (74)	288 (108)	786 (386)						
Mut_5(42°C)	248 (91)	1099 (317)	2585 (249)						
Mut_5(45°C)	257 (79)	772 (213)	1537 (416)						

Ejemplo 4

Amplificación no sesgada del genoma completo

El sesgo de la amplificación del genoma completo (WGA) se evaluó mediante la secuenciación de los productos de WGA obtenidos utilizando ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje y enzimas mutantes Mut_4 y Mut_5. Se llevó a cabo el siguiente esquema:

- 1. Se amplificaron aproximadamente el 20 ng de ADNg de *E. colil* de la cepa JM109 utilizando enzimas de tipo salvaje y mutantes Mut_4 y Mut_5. Las reacciones WGA se realizaron a 30°C, 37°C y 42°C durante 8 horas, 4 horas y 3 horas utilizando enzimas de tipo salvaje, y mutantes Mut_4 Mut_5 respectivamente. Típicamente, como resultado de la reacción de WGA se sintetizaron 35 g 55 g de ADN.
- 2. El ADN sintetizado en la reacción WGA se sometió a sonicación para obtener fragmentos de una longitud óptima (300 pb 400 pb). Los extremos de los fragmentos de ADN compartidos se repararon y se ligaron adaptadores de secuenciación Illumina utilizando el protocolo A de ClaSeek Biblioteca Preparation Kit (Thermo Scientific). Antes de la amplificación de puente y después de la reacción de secuenciación los fragmentos de ADN se purificaron utilizando cuentas magnéticas Agencourt y un protocolo de selección por tamaño.
- 3. Las bibliotecas de NGS generadas se cuantificaron utilizando el kit Kapa Biosystems Library Quantification y se secuenciaron utilizando la plataforma de secuenciación Illumina MiSeq. Se utilizaron el kit de secuenciación v2 2x150 pb (extremo emparejado) y el protocolo de resecuenciación. Las secuencias fueron alineadas frente a la cepa de ADN genómico de *E. coli* K12. Se generaron un total de 13,8 millones de lecturas con 94,5 por ciento de las bases convocadas con Q30 y por encima.

Como "patrón oro" para la amplificación no sesgada, se secuenció el genoma de *E. coli* de referencia que no se había amplificado (biblioteca de NGS libre de PCR). Se compararon los datos de cobertura del genoma secuenciado del genoma de *E. coli* no amplificado ("patrón oro") y los genomas amplificados de WGA. El gráfico de uniformidad de cobertura mostrado en la FIG. 6 demostró que el promedio de cobertura (normalizado a 1, eje de las X) es característico para una porción concreta del genoma (eje de las Y), donde la uniformidad de cobertura (E) muestra que la porción de las bases afectadas es similar al promedio de cobertura (1,0). En este ejemplo, ~80% de las regiones elegidas como diana del ADNg libre de PCR estaban cubiertas con >0,8 de cobertura media y ~20% de las lecturas tenían >1,2 de cobertura media. El número de uniformidad de cobertura se calculó como describen Mokry et al. 2010. Cuanto más próximo esté el valor a 1 mejor uniformidad de cobertura. El valor de uniformidad cobertura de secuenciación para la biblioteca de ADN amplificada por WGA generado utilizando ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje fue de 0,39; los valores de E para las bibliotecas de Mut_4 y Mut_5 amplificadas fueron 0,70 y 0,76, respectivamente (E de ADNg de E. coli = 0,91 (ADNg de *E. coli* no amplificado), E de WT = 0,39 (0,04) (producto WGA que se amplificó en condiciones convencionales utilizando ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje), E de Mut_5 = 0,76 (0,01) (producto de WGA que se amplificó a 37°C utilizando la polimerasa mutante).

El porcentaje de CG en fragmentos de 100 pb de secuencias de las lecturas se calculó para las cuatro rondas de secuenciación (Fig. 7). La FIG. 7 representa el porcentaje de fragmentos de 100 pb de longitud y el contenido de GC en las lecturas. La biblioteca de WGA que se preparó utilizando la enzima de tipo salvaje contiene más fragmentos con menor contenido de GC y menos porcentaje de fragmentos con mayor contenido de GC. La biblioteca de NGS amplificada con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje tuvo un ligero desplazamiento del pico de porcentaje de CG a un menor contenido de GC. El desplazamiento del pico de porcentaje de CG de la biblioteca de NGS amplificada por la enzima Mut_4 fue menor en comparación con la polimerasa de phi29 wt. El porcentaje del pico de CG de la biblioteca de NGS amplificada por la enzima Mut_5 fue casi idéntico a los datos de ADNg de *E. coli* (Fig. 7).

15

10

5

20

25

30

35

45

50

Es muy probable que la enzima de tipo salvaje que lleva a cabo la reacción de WGA a 30°C tienda a amplificar las regiones del genoma con un menor contenido de CG. El sesgo de la amplificación de CG podría ser reducido significativamente realizando WGA con las polimerasas Mut_4 y Mut_5 a 37°C y 42°C respectivamente. La reducción del sesgo de amplificación también debe dar lugar a disminución del efecto de la pérdida de alelo (ADO).

Ejemplo 5

5

30

35

Análisis de unión a ADN de mutantes de polimerasa de phi29

El análisis de desplazamiento de la movilidad electroforética (EMSA) se realizó utilizando como sustrato la molécula 10 de ADN de 15 unidades/21 unidades híbrida marcada para determinar si nuevas mutaciones de la ADN polimerasa de phi29 potenciaron la unión de la enzima al ADN. El oligonucleótido de 15 unidades (5'-GATCACAGTGAGTAC-3') (SEQ ID NO: 8) se marcó en 5' con ATP [γ - 32 P]utilizando polinucleótido quinasa de T4 y se hibridó con el oligonucleótido de 21 unidades (5'-TCTATTGTACTCACTGTGATC-3') (SEQ ID NO: 9) en presencia de NaCl 0,2 M y 15 Tris-HCl 60 mM, pH 7,5 (De Vega, M. et al., 2010). La molécula híbrida de 15 unidades/21 unidades marcado en 5' resultante se utilizó como cebador/molde de ADN para analizar la interacción con las enzimas de phi29 de tipo salvaje o mutantes que contenían mutaciones únicas o múltiples. La mezcla de incubación contenía, en un volumen final de 20 µl, Tris-acetato 33 mM de pH 7,9, acetato de potasio 66 mM, glicerol al 10%, 0,1 mg/ml de BSA, 2 pM del sustrato de ADN de 15 unidades/21 unidades/ADN, y cantidades crecientes de la enzima correspondiente (0,10, 20, 40, 80, 160, 300, 600 pM). Después de incubación durante cinco minutos a 30°C, las muestras se sometieron a 20 electroforesis en geles de poliacrilamida al 10% (p/v) (29:1, acrilamida: bisacrilamida) que contenían Tris-acetato 40 mM de pH 8,4, EDTA 1 mM (tampón 1XTAE). La electroforesis se realizó en el mismo tampón 1XTAE a temperatura ambiente durante dos horas a aproximadamente 8-9 V/cm. Los geles de EMSA fueron analizados mediante Soporte Lógico de Análisis de Imágenes Typhoon Trio y OptiQuant[™]. Los valores de Kd del complejo enzima-oligonucleótido se calcularon mediante soporte lógico GraphPad Prism versión 4.03 utilizando la ecuación: [E-ADN] = ([DNA₀] + [E₀] 25 + K_d - (([DNA_o] + [E_o] + K_d)² - 4 [DNA_o] [E_o]^{0.5})/2; donde [DNA-E] - es la concentración del complejo enzima-oligonucleótido, [DNA_o] - Concentración total de oligonucleótidos (2 pM), [E_o] - concentración total de enzima.

La FIG. La figura 8 muestra un EMSA representativo de la unión de enzima wt, Mu_4 y Mut_5 a ADN. La molécula híbrida marcada en 5' de 15 unidades/21 unidades (ADNdh) se incubó con ADN polimerasa de phi29 o con la ADN polimerasa mutante. Después de la electroforesis en gel, la movilidad de ADNdh libre y del complejo de la polimerasa-ADN se detectó mediante autorradiografía. La FIG. 8 es representativa de diversos experimentos (experimentos con mutantes que contienen mutaciones individuales no mostrados). Todos los valores numéricos de la constante de disociación determinada mediante análisis EMSA se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5. Constantes de disociación (Kd) de los mutantes de la ADN polimerasa de phi29

	Kd (DT)		Kd (DT)
WT	76 (5,7)	Q497P	73 (50,2)
M8R	43 (2,1)	K512E	54 (27,6)
V51A	52 (10,8)	E515A	97 (56,5)
M97T	37 (2,5)	F526L	53 (24,2)
G197D	51 (25,7)	Mut_4	67 (10,6)
E221K	67(18,4)	Mut_5	23 (7,4)

Las enzimas mutantes mostraron una mejor unión al ADN (menor Kd), requiriendo una concentración de enzima aproximadamente dos veces o tres veces menor en comparación con la polimerasa de tipo salvaje para generar una cantidad similar de complejo de proteína y ADN. Los valores de la constante de disociación (Kd) de algunos mutantes que contenían mutaciones individuales (M8R, V51A, M97T), así como de la polimerasa Mut_5 fueron más bajos que los de la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje (Tabla 5). De Vega et al. 2010 mostraron que la ADN polimerasa de phi29 con dominio de unión a ADN adicional tenían mayor afinidad por el sustrato, y posteriormente también se mejoraron otras características de enzimas como la capacidad de procesamiento y el rendimiento de amplificación. Puesto que los mutantes de ADN polimerasa de phi29 descritos también poseen una mayor afinidad por el sustrato, sería razonable esperar que tales mutantes muestren mejoras en otras características importantes de esta enzima.

Referencias:

50

45

- 1. Akeson et al. (2010) Processive Replication of single DNA molecules in a nanopore catalyzed by phi29 DNA polymerase. J. Am. Chem. Soc. Vol. 132 Núm. 50 págs. 17961-17972
- 2. Alsmadi et al. (2009) Specific and complete human genome amplification with improved yield achieved by

- phi29 DNA polymerase and a novel primer at elevated temperature. BMC Reaserch Notes. 2:48.
- 3. Blanco et al. (1989) Highly efficient DNA synthesis by phage phi29 DNA polymerase. Symmetrical mode of DNA replication. J Biol Chem. Vol. 264, Núm. 15, págs. 8935-8940
- 4. Bernad et al. (1987) Structural and functional relationships between prokaryotic and eukaryotic DNA polymerases. EMBO J. Vol. 6, Núm. 13, págs. 4219-4225.
- 5. Berman et al. (2007) Structures of phi29 DNA polymerase complexed with substrate: the mechanism of translocation in B-family polymerase. EMBO J. Vol. 26, Núm. 14, págs. 3494-3505, ISSN 0261-4189 (Print).
- 6. Dufour et al. (2000) An aspartic acid residue in TPR-1, a specific region of protein-priming DNA polymerase, is required for the functional interaction with primer terminal protein. J Mol Biol. Vol 304, Núm. 3, págs. 289-300
- 7. Esteban et al. (1993) Fidelity of phi29 DNA polymerase. Comparison between protein-primed initiation and DNA polymerization. J Biol Chem. Vol. 268, Núm. 4, págs. 2719-2726.
- 8. Esteban et al. (1994) 3'-5' exonuclease active site of phi29 DNA polymerase. Evidence favoring a metal ion-assisted reaction mechanism. J Biol Chem. Vol. 269, Núm. 50, págs. 31946-31954
- 9. Ghadessy et al. (2001) Directed evolution of polymerase function by compartmentalized self-replication Proc. Natl Acad. Sci. USA, 98, 4552-4557.
 - 10. Hutchison et al. (2005) Cell-free cloning using phi29 DNA polymerase. PNAS. Vol. 102, Núm. 48, págs. 17332-17336.
- 11. Johne et al. (2009) Rolling-circle amplification of viral DNA genomes using phi29 polymerase. Trends in Microbiology. Vol 17, No 5, págs. 205 211.
- 12. Kamtekar et al. (2004) Insights into strand displacement and processivity from the crystal structure of the protein-primed DNA polymerase of bacteriophage phi29. Mol Cell. Vol. 16, Núm. 4, págs. 609-618
- 13. Lagunavicius et al. (2010) Direct detection of RNA in vitro and in situ by target-primed RCA: The impact of E. coli RNase III on the detection efficiency of RNA sequences distanced far from the 3'-end. RNA. Vol. (16) Núm. 8 págs. 1508-1515
- 14. Lasken et al. (2003) Unbiased whole-genome amplification directly from clinical samples. Genome Research. Vol. 13 págs. 954-964
- 15. Lizardi et al. (1998) Mutation detection and single-molecule counting using isothermal rolling-circle amplification. Nat Genet, 19, 225-232
- 30 16. De Vega et al. (2010) Improvement of phi29 DNA polymerase amplification by fusion of DNA binding motifs. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. Vol. 107, Núm. 38, págs. 16506-16511.
 - 17. Mokry et al. (2010) Accurate SNP and mutation detection by targeted custom microarray-based genomic enrichment of short-fragment sequencing libraries. Nucleic Acids Res. Vol. 38, Núm. 10, págs. e116.
 - 18. Rodriguez et al. (2005) A specific subdomain in phi29 DNA polymerase confers both processivity and strand-displacement capacity. Proc Natl Acad Sci USA. Vol. 102, Núm. 18, págs. 6407-6412
 - 19. Salas and de Vega (2006) Bacteriophage protein-primed DNA replication. In Recent advances in DNA virus replication. Hefferon, K.L., págs. 259-288, Reasearch Signpost, ISBN 81-3080042-X, Kerala (India) 20. Simmel et al. (2005) Periodic DNA Nanotemplates Synthesized by Rolling Circle Amplification. Nano
 - Letters. 4, -págs. 719-722
- 40 21. Weissman et al. (2008) A procedure for highly specific, sensitive, and unbiased whole-genome amplification. PNAS. Vol. 105 Núm. 40 págs. 15499-15504

LISTA DE SECUENCIAS

5

10

15

20

25

35

- 45 <110> Skirgaila, Remigijus Povilaitis, Tadas
 - <120> Mutantes de ADN polimerasa de phi29 que tienen mayor termoestabilidad y capacidad de procesamiento
- 50 <130> 335939EP/CJS

<140>

<141>

55 <150> 61/815,893 <151> 25-04-2013

<160> 40

60 <170> PatentIn Versión 3.5

<210> 1 <211> 26 <212> ADN

	<213> Secuencia Artificial
_	<220> <223> Descripción de la secuencia artificial: Cebador sintético
5	<220> <221> rasgo_misc <222> (24) (26)
10	<223> fosforotioato entre las posiciones <400> 1
	cagctgcatt aatgaatcgg ccaacg 26 <210> 2
15	<211> 20 <212> ADN <213> Secuencia Artificial
20	<220> <223> Descripción de la secuencia artificial: Cebador sintético
25	<220> <221> rasgo_misc <222> (18)(20) <223> fosforotioato entre las posiciones
	<400> 2 ttagcagccg gatctcagtg 20
30	<210> 3 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia Artificial
35	<220> <223> Descripción de la secuencia artificial: Cebador sintético
40	<400> 3 gcgagcccga tcttccccat cg 22
	<210> 4 <211> 20 <212> ADN
45	<213> Secuencia Artificial <220> <223> Descripción de la secuencia artificial: Cebador sintético
50	<400> 4 ttagcagccg gatctcagtg 20
55	<210> 5 <211> 6 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
	<220> <223> Descripción de la Secuencia Artificial: etiqueta 6xHis sintética
60	<400> 5 His His His His His His 1 5 <210> 6 <211> 17

	<212> ADN <213> Secuencia Artificial	
5	<220> <223> Descripción de la secuencia	artificial: Cebador sintético
	<400> 6 gttgggaagg gcgatcg	17
10	<210> 7 <211> 21 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
15	<220> <223> Descripción de la secuencia	artificial: Cebador sintético
20	<400> 7 actttatgct tccggctcgt a	21
	<210> 8 <211> 15 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
25	<220> <223> Descripción de la Secuencia	a Artificial: oligonucleótido sintético
30	<400> 8 agtac gatcacagtg	15
35	<210> 9 <211> 21 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
	<220> <223> Descripción de la Secuencia	a Artificial: oligonucleótido sintético
40	<400> 9 tctattgtac tcactgtgat c	21
45	<210> 10 <211> 575 <212> PRT <213> Fago phi29 de bacillus	
	<400> 10	

Met	Lys	His	Met	Pro	Arg	Lys	Met	Tyr	Ser	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr	Thr
1				5					10					15	

Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met Asn Ile 20 25 30

Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Phe Met 35 40 45

Ala Trp Val Leu Lys Val Gln Ala Asp Leu Tyr Phe His Asn Leu Lys 50 60

Phe Asp Gly Ala Phe Ile Ile Asn Trp Leu Glu Arg Asn Gly Phe Lys 65 70 75 80

Trp Ser Ala Asp Gly Leu Pro Asn Thr Tyr Asn Thr Ile Ile Ser Arg 85 90 95

Met Gly Gln Trp Tyr Met Ile Asp Ile Cys Leu Gly Tyr Lys Gly Lys 100 105 110

Pro Val Lys Lys Ile Ala Lys Asp Phe Lys Leu Thr Val Leu Lys Gly

	130					135					140				
Asp 145	Ile	Asp	Tyr	His	Lys 150	Glu	Arg	Pro	Val	Gly 155	Tyr	Lys	Ile	Thr	Pro 160
Glu	Glu	Tyr	Ala	Tyr 165	Ile	Lys	Asn	Asp	Ile 170	Gln	Ile	Ile	Ala	Glu 175	Ala
Leu	Leu	Ile	Gln 180	Phe	Lys	Gln	Gly	Leu 185	Asp	Arg	Met	Thr	Ala 190	Gly	Ser
Asp	Ser	Leu 195	Lys	Gly	Phe	Lys	Asp 200	Ile	Ile	Thr	Thr	Lys 205	Lys	Phe	Lys
Lys	Val 210	Phe	Pro	Thr	Leu	Ser 215	Leu	Gly	Leu	Asp	Lys 220	Glu	Val	Arg	Tyr
Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Phe	Lys	Glu	Lys 240
Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
Gln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glu
Gly	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	Ile 285	Gln	His	Ile
Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
Tyr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu

	Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
	Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
	Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
	Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
	Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
	Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
	Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
	Gln	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Lys
	Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Phe	Ser	Val
	Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
<210> 1 <211> 5	11	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
<212> F <213> F		phi29	de b	acillu	s											
<400> 1		Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Met	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
	Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
	Glu	Asp	His	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp	Glu	Phe	Met

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

Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
Lys 305		Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Туг 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
Tyr	370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
Met 385		Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
Tyr	450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
Thr 465		Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	. Glr 560
Val	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys	

<210> 12 <211> 575 <212> PRT

<213> Fago phi29 de bacillus

<4	0	0	>	1	2

Met Lys His Met Pro Arg Lys Met Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Thr Thr 1 5 10 15

Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met Asn Ile 20 25 30

Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Phe Met 35 40 45

Ala Trp Ala Leu Lys Val Gln Ala Asp Leu Tyr Phe His Asn Leu Lys 50 60

Phe Asp Gly Ala Phe Ile Ile Asn Trp Leu Glu Arg Asn Gly Phe Lys 65 70 75 80

Trp Ser Ala Asp Gly Leu Pro Asn Thr Tyr Asn Thr Ile Ile Ser Arg 85 90 95

Thr Gly Gln Trp Tyr Met Ile Asp Ile Cys Leu Gly Tyr Lys Gly Lys 100 105 110

Arg Lys Ile His Thr Val Ile Tyr Asp Ser Leu Lys Lys Leu Pro Phe 115 120 125

Pro Val Lys Lys Ile Ala Lys Asp Phe Lys Leu Thr Val Leu Lys Gly 130 135

Asp Ile Asp Tyr His Lys Glu Arg Pro Val Gly Tyr Lys Ile Thr Pro 145 150 155 160

Glu Glu Tyr Ala Tyr Ile Lys Asn Asp Ile Gln Ile Ile Ala Glu Ala 165 170 175

Leu Leu Ile Gln Phe Lys Gln Gly Leu Asp Arg Met Thr Ala Gly Ser 180 185 190

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

	Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
	Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
	Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
	Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
	Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
	Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
<210> 1		Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
<211> 5 <212> F <213> F	PRT	phi29	de b	acillu	s											
<400> 1	-	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Arg	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Ala 15	Thr
	Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
	Glu	Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met
	Thr	Trp 50	Ala	Leu	Gln	Val	Gln 55	Ala	Asp	Leu	Tyr	Phe 60	His	Asn	Leu	Lys
	Phe 65	Asp	Gly	Ala	Phe	Ile 70	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu 75	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys 80
	Trp	Ser	Ala	Asp	Gly 85	Leu	Pro	Asn	Thr	Tyr 90	Asn	Thr	Ile	Ile	Ser 95	Arg

Thr	Gly	Gln	Trp 100	Tyr	Met	Ile	Asp	Ile 105	Cys	Leu	Gly	Tyr	Lys 110	Gly	Lys
Arg	Lys	Ile 115	His	Thr	Val	Ile	Tyr 120	Asp	Ser	Leu	Lys	Lys 125	Leu	Pro	Phe
Pro	Val 130	Lys	Lys	Ile	Ala	Lys 135	Asp	Phe	Lys	Leu	Thr 140	Val	Leu	Lys	Gly
Asp 145	Ile	Asp	Tyr	His	Lys 150	Glu	Arg	Pro	Val	Gly 155	Tyr	Lys	Ile	Thr	Pro 160
Glu	Glu	Tyr	Ala	Tyr 165	Ile	Lys	Asn	Asp	Ile 170	Gln	Ile	Ile	Ala	Glu 175	Ala
Leu	Leu	Ile	Gln 180	Phe	Lys	Gln	Gly	Leu 185	Asp	Arg	Met	Thr	Ala 190	Gly	Ser
Asp	Ser	Leu 195	Lys	Asp	Phe	Lys	Asp 200	Ile	Ile	Thr	Thr	Lys 205	Lys	Phe	Lys
Lys	Val 210	Phe	Pro	Thr	Leu	Ser 215	Leu	Gly	Leu	Asp	Lys 220	Lys	Val	Arg	Tyr
Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Phe	Lys	Glu	Lys 240
Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
Gln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glu
Gly	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	Ile 285	Gln	His	Ile
Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Ser	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys

	Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
	Tyr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
	Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
	Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
	Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
	Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
	Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
	Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
	Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
	Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
	Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	туг	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
	Lys	Phe 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
.040: 4		Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
<210> 1 <211> 5																
<212> F																
<213> F	ago	phi29	de b	acillu	s											

<400> 14

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

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

Pro Lys Thr Tyr Ile Gln Asp Ile Tyr Met Lys Glu Val Asp Gly Lys 500 505 510

	Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
	Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Arg	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
5	val <210> 15 <211> 577 <212> PRT <213> Fago	Pro			565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
	<400> 15															
	Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Met	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
	Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
	Glu	Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met
	Ala	Trp 50	Ala	Leu	Lys	Val	Gln 55	Ala	Asp	Leu	Tyr	Phe 60	His	Asn	Leu	Lys
	Phe 65	Asp	Gly	Ala	Phe	Ile 70	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu 75	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys 80
	Trp	Ser	Ala	Asp	Gly 85	Leu	Pro	Asn	Thr	Tyr 90	Asn	Thr	Ile	Ile	Ser 95	Arg
	Thr	Gly	Gln	Trp 100	Tyr	Met	Ile		Ile 105		Leu	Gly	Tyr	Lys 110	Gly	Lys
	Arg	Lys	Ile 115	His	Thr	Val	Ile	Tyr 120	Asp	Ser	Leu	Lys	Lys 125	Leu	Pro	Phe
	Pro	Val 130	Lys	Lys	Ile	Ala	Lys 135	Asp	Phe	Lys	Leu	Thr 140	Val	Leu	Lys	Gly
10	Asp 145	Ile	Asp	Tyr	His	Lys 150	Glu	Arg	Pro	Val	Gly 155	Tyr	Lys	Ile	Thr	Pro 160

Glu	Glu	Tyr	Ala	Tyr 165	Ile	Lys	Asn	Asp	11e 170	Gln	Ile	Ile	Ala	Glu 175	Ala
Leu	Leu	Ile	Gln 180	Phe	Lys	Gln	Gly	Leu 185	Asp	Arg	Met	Thr	Ala 190	Gly	Sei
Asp	Ser	Leu 195	Lys	Asp	Phe	Lys	Asp 200	Ile	Ile	Thr	Thr	Lys 205	Lys	Phe	Lys
Lys	Val 210	Phe	Pro	Thr	Leu	Ser 215	Leu	Gly	Leu	Asp	Lys 220	Lys	Val	Arg	Туз
Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Phe	Lys	Glu	Lys 240
Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
Gln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glı
Gly	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	Ile 285	Gln	His	Ile
Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gl ₃ 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thi
Tyr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Let
Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Th:

Gly Lys Val Pro Tyr Leu Lys Glu Asn Gly Ala Leu Gly Phe Arg Leu 405 410 410 415

	Il€	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
	Туг	450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
	Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Glu	Lys	Leu 480
	Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
	Glr	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Lys
	Leu	ı Val	Ala 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
	Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	Asr 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
	Val	. Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	Gln
	Thr	•														
5	<210> 16 <211> 575 <212> PRT <213> Fago	phi29) de b	acillu	s											
	<400> 16															
	Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Met	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
	Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
10	Glu	. Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met

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

Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
Tyr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	G1u 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
Tyr	Asp 4 50	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
Asn	Phe	Lys	Val	Gly	Phe	Ser	Arg	Lys	Met	Lys	Pro	Lys	Pro	Val	Gln
545					550					555					560
Val	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	

5

<210> 17 <211> 575 <212> PRT

<213>	Fago	phi29	de	bacillus
-210	. ugo	priizo	uc	Daomao

<400> 17

Met Lys His Met Pro Arg Lys Met Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Thr Thr 1 5 10 15

Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met Asn Ile 20 25 30

Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Phe Met 35 40 45

Ala Trp Ala Leu Lys Val Gln Ala Asn Leu Tyr Phe His Asn Leu Lys 50 55

Phe Asp Gly Ala Phe Ile Ile Asn Trp Leu Glu Arg Asn Gly Phe Lys 65 70 75 80

Trp Ser Ala Asp Gly Leu Pro Asn Thr Tyr Asn Thr Ile Ile Ser Arg 85 90 95

Thr Gly Gln Trp Tyr Met Ile Asp Ile Cys Leu Gly Tyr Lys Gly Lys 100 105 110

Arg Lys Ile His Thr Val Ile Tyr Asp Ser Leu Lys Lys Leu Pro Phe 115 120 125

Pro Val Lys Lys Ile Ala Lys Asp Phe Lys Leu Thr Val Leu Lys Gly 130 135

Asp Ile Asp Tyr His Lys Glu Arg Pro Val Gly Tyr Lys Ile Thr Pro 145 150 155 160

Glu Glu Tyr Ala Tyr Ile Lys Asn Asp Ile Gln Ile Ile Ala Glu Ala 165 170 175

Leu Leu Ile Gln Phe Lys Gln Gly Leu Asp Arg Met Thr Ala Gly Ser

Asp Ser Leu Lys Asp Phe Lys Asp Ile Ile Thr Thr Lys Lys Phe Lys 195 200 205

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

460

		Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
		Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
		Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
		Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
		Lys	C ys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
		Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
5	<210> 1 <211> 5 <212> F <213> F	18 575 PRT	Pro ohi29			565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
	<400> 1	18															
		Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Met	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
		Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
		Glu	Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met
		Ala	Trp 50	Ala	Leu	Lys	Val	Gln 55	Ala	Asp	Leu	Tyr	Phe 60	His	Asn	Leu	Lys
		Phe 65	Asp	Gly	Ala	Phe	Ile 70	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu 75	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys 80
		Trp	Ser	Ala	Asp	Gly 85	Leu	Pro	Asn	Thr	Tyr 90	Asn	Thr	Ile	Ile	Ser 95	Arg
10		Thr	Gly	Gln	Trp 100	Tyr	Met	Ile	Asp	Ile 105	Cys	Leu	Gly	Tyr	Lys 110	Gly	Lys

Arg	Lys	11e 115	His	Thr	Val	Ile	Tyr 120	Asp	Ser	Leu	Lys	Lys 125	Leu	Pro	Phe
Pro	Val 130	Lys	Lys	Ile	Ala	Lys 135	Asp	Phe	Lys	Leu	Thr 140	Val	Leu	Lys	Gly
Asp 145	Ile	Asp	Tyr	His	Lys 150	Glu	Arg	Pro	Val	Gly 155	Tyr	Lys	Ile	Thr	Pro 160
Glu	Glu	Tyr	Ala	Tyr 165	Ile	Lys	Asn	Asp	Ile 170	Gln	Ile	Ile	Ala	Glu 175	Ala
Leu	Leu	Ile	Gln 180	Phe	Lys	Gln	Gly	Leu 185	Asp	Arg	Met	Thr	Ala 190	Gly	Ser
Asp	Ser	Leu 195	Lys	Asp	Phe	Lys	Asp 200	Ile	Ile	Thr	Thr	Lys 205	Lys	Phe	Lys
Glu	Val 210	Phe	Pro	Thr	Leu	Ser 215	Leu	Gly	Leu	Asp	Lys 220	Lys	Val	Arg	Tyr
Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Phe	Lys	Glu	Lys 240
Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
Gln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glu
Gly	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	Ile 285	Gln	His	Ile
Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
Phe	Lys	Ala	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp	Lys	\mathtt{Trp}	Thr

		Tyr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
		Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
		Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
		Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
		Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
		Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
		Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
		Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
		Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
		Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
		Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
		Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
	<210> ° <211> 5 <212> F	19 575	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
5	<213> F		phi29	de b	acillu	S											
	<400>	19															
10		Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Arg	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr

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

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

Leu Val Glu Gly Ser Pro Asp Asp Tyr Thr Asp Ile Lys Leu Ser Val

			515					520					525			
	Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
<210> 2 <211> 5 <212> F <213> F	20 575 PRT		_	_	565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
<400> 2	20															
	Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Arg	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
	Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
	Glu	Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met
	Ala	Trp 50	Ala	Leu	Lys	Val	Gln 55	Ala	Asp	Leu	Tyr	Phe 60	His	Asn	Leu	Lys
	Phe 65	Asp	Gly	Ala	Phe	Ile 70	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu 75	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys 80
	Trp	Ser	Ala	Asp	Gly 85	Leu	Pro	Asn	Thr	Tyr 90	Asn	Thr	Ile	Ile	Ser 95	Arg
	Thr	Gly	Gln	Trp 100	Tyr	Met	Ile	Asp	Ile 105	Cys	Leu	Gly	Tyr	Lys 110	Gly	Lys
	Arg	Lys	Ile 115	His	Thr	Val	Ile	Tyr 120	Asp	Ser	Leu	Lys	Lys 125	Leu	Pro	Phe
	Pro	Val 130	Lys	Lys	Ile	Ala	Lys 135	Asp	Phe	Lys	Leu	Thr 140	Val	Leu	Lys	Gly
	Asp 145	Ile	Asp	Tyr	His	Lys 150	Glu	Arg	Pro	Val	Gly 155	Tyr	Lys	Ile	Thr	Pro 160
	Glu	Glu	Tyr	Ala	Tyr	Ile	Lys	Asn	Asp	Ile	Gln	Ile	Ile	Ala	Glu	Ala

5

				165					170					175	
Leu	Leu	Ile	Gln 180	Phe	Lys	Gln	Gly	Leu 185	Asp	Arg	Met	Thr	Ala 190	Gly	Ser
Asp	Ser	Leu 195	Lys	Asp	Phe	Lys	Asp 200	Ile	Ile	Thr	Thr	Lys 205	Lys	Phe	Lys
Lys	Val 210	Phe	Pro	Thr	Leu	Ser 215	Leu	Gly	Leu	Asp	Lys 220	Lys	Val	Arg	Tyr
Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Phe	Lys	Glu	Lys 240
Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
Gln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glu
Gly	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	Ile 285	Gln	His	Ile
Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
Tyr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Val	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu

Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
<210> 21 <211> 575 <212> PRT	Pro		_	565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
<213> Fago <400> 21	phi29	de b	acıllu	S											
	Lys	His	Met	Pro 5	-	-	-	_		-	Asp				Thr
Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
Glu	Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met
Ala	Trp 50	Ala	Leu	Lys	Val	Gln 55	Ala	Asp	Leu	Tyr	Phe 60	His	Asn	Leu	Lys
Phe	Asp	Gly	Ala	Phe	Thr	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys

65	70	75	80
Trp Ser Ala Asp Gly 85	Leu Pro Asn	Thr Tyr Asn Thr Ile	e Ile Ser Arg 95
Thr Gly Gln Trp Tyr	-	Ile Cys Leu Gly Ty:	Lys Gly Lys
100		105	110
Arg Lys Ile His Thr 115	Val Ile Tyr 120	Asp Ser Leu Lys Ly: 129	
Pro Val Lys Lys Ile	Ala Lys Asp	Phe Lys Leu Thr Va.	ı Leu Lys Gly
130	135	140	
Asp Ile Asp Tyr His	Lys Glu Arg	Pro Val Gly Tyr Ly:	s Ile Thr Pro
145	150	155	160
Glu Glu Tyr Ala Tyr	=	Asp Ile Gln Ile Ile	e Ala Glu Ala
165		170	175
Leu Leu Ile Gln Phe		Leu Asp Arg Met Th	r Ala Gly Ser
180		185	190
Asp Ser Leu Lys Asp	Phe Lys Asp	Ile Ile Thr Thr Ly:	
195	200	209	
Lys Val Phe Pro Thr	Ser Ser Leu	Gly Leu Asp Lys Ly:	s Val Arg Tyr
210	215	220	
Ala Tyr Arg Gly Gly	Phe Thr Trp	Leu Asn Asp Arg Phe	e Lys Glu Lys
225	230	235	240
Glu Ile Gly Glu Gly	Met Val Phe	Asp Val Asn Ser Let	ı Tyr Pro Ala
245		250	255
Gln Met Tyr Ser Arg		Tyr Gly Glu Pro Ile	e Val Phe Glu
260		265	270
Gly Lys Tyr Val Trp	Asp Glu Asp	Tyr Pro Leu His Ile	
275	280	28	
Arg Cys Glu Phe Glu	Leu Lys Glu	Gly Tyr Ile Pro The	: Ile Gln Ile
290	295	300	
Lys Arg Ser Arg Phe	Tyr Lys Gly	Asn Glu Tyr Leu Ly: 315	s Ser Ser Gly 320

	Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
	Glu	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
	Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
	туг	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
	Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
	Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
	Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
	Ile	Ala	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
	Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
	Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
	Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
	Gln	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Lys
	Leu	Ile	Ala 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Phe	Ser	Val
	Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Pro	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
	Val	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Arg 575	
<210> 22 <211> 57 <212> PF	7 5															

<400> 22

<213> Fago phi29 de bacillus

Met 1	цуs	HIS	Met	5	Arg	тÀг	Met	Tyr	10	Cys	Asp	Pne	GIU	15	Thi
Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
Glu	Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met
Ala	Trp 50	Ala	Leu	Lys	Val	Gln 55	Ala	Asp	Leu	Tyr	Phe 60	His	Asn	Leu	Lys
Phe 65	Asp	Gly	Ala	Phe	Ile 70	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu 75	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys 80
Trp	Ser	Ala	Asp	Gly 85	Leu	Pro	Asn	Thr	Tyr 90	Asn	Thr	Ile	Ile	Ser 95	Arg
Thr	Gly	Gln	Trp 100	Tyr	Met	Ile	Asp	Ile 105	Cys	Leu	Gly	Tyr	Lys 110	Gly	Lys
Arg	Lys	Ile 115	His	Thr	Val	Ile	Tyr 120	Asp	Ser	Leu	Lys	Lys 125	Leu	Pro	Ph€
Pro	Val 130	Lys	Lys	Ile	Ala	Lys 135	Asp	Phe	Lys	Leu	Thr 140	Val	Leu	Lys	Gly
Asp 145	Ile	Asp	Tyr	His	Lys 150	Glu	Arg	Pro	Val	Gly 155	Tyr	Lys	Ile	Thr	Pro 160
Glu	Glu	Tyr	Ala	Туг 165	Ile	Lys	Asn	Asp	Ile 170	Gln	Ile	Ile	Ala	Glu 175	Ala
Leu	Leu	Ile	Gln 180	Phe	Lys	Gln	Gly	Leu 185	Asp	Arg	Met	Thr	Ala 190	Gly	Ser

Asp Ser Leu Lys Asp Phe Lys Asp Ile Ile Thr Thr Lys Lys Phe Lys 195

Glu Val Phe Pro Thr Leu Ser Leu Gly Leu Asp Lys Lys Val Arg Tyr 210 215

Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Phe	Lys	Glu	Lys 240
Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
Gln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glu
Gly	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	11e 285	Gln	His	Ile
Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
-	370	-			Ser	375	_			-	380			-	
385					Tyr 390	_	_			395			_		400
				405	Leu				410					415	
			420		Lys			425					430		
		435			Arg	-	440					445			-
_	450				Tyr	455					460				
Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480

	GIY	TYL	шр	ALG	485	GIU	261		FIIG	490	ALG	ALG	цуз	TYL	495	ALG
	Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
	Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
	Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
<210> 2 <211> 5 <212> F <213> F	23 575 PRT			Gly acillu:	565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
<400> 2	23															
	Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Arg	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
	Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
	Glu	Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met
	Ala	Trp 50	Val	Leu	Lys	Val	Gln 55	Ala	Asp	Leu	Tyr	Phe 60	His	Asn	Leu	Lys
	Phe 65	Asp	Gly	Ala	Phe	Ile 70	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu 75	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys 80
	Trp	Ser	Ala	Asp	Gly 85	Leu	Pro	Asn	Thr	Tyr 90	Asn	Thr	Ile	Ile	Ser 95	Arg
	Thr	Gly	Gln	Trp 100	Tyr	Met	Ile	Asp	Ile 105	Cys	Leu	Gly	Tyr	Lys 110	Gly	Lys
	Arg	Lys	Ile 115	His	Thr	Val	Ile	Tyr 120	Asp	Ser	Leu	Lys	Lys 125	Leu	Pro	Phe

Pro	130	ьys	туѕ	тте	Ата	Lуs 135	Asp	Pne	туѕ	ьeu	140	vaı	ьеu	ьys	GTĀ
Asp 145	Ile	Asp	Tyr	His	Lys 150	Glu	Arg	Pro	Val	Gly 155	Tyr	Lys	Ile	Thr	Pro 160
Glu	Glu	Tyr	Ala	Tyr 165	Ile	Lys	Asn	Asp	Ile 170	Gln	Ile	Ile	Ala	Glu 175	Ala
Leu	Leu	Ile	Gln 180	Phe	Lys	Gln	Gly	Leu 185	Asp	Arg	Met	Thr	Ala 190	Gly	Ser
Asp	Ser	Leu 195	Lys	Asp	Phe	Lys	Asp 200	Ile	Ile	Thr	Thr	Lys 205	Lys	Phe	Lys
Lys	Val 210	Phe	Pro	Thr	Leu	Ser 215	Leu	Gly	Leu	Asp	Lys 220	Lys	Val	Arg	Tyr
Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Phe	Lys	Glu	Lys 240
Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
Gln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glu
Gly	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	Ile 285	Gln	His	Ile
_	290		Phe			295		_	-		300				
305	-		Arg		310	-	-			315		-			320
-			Ala	325		-			330		-			335	
			Tyr 340					345					350		
		355	Thr				360					365			
Tyr	Ile		Thr	Thr		Glu 375		Ala	fle	Ĺys	Gln		Ala	Ĺys	Leu

	Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
	Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
	Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
	Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
	Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
	Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
	Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
	Gln	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Lys
	Leu	Ile	Ala 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Phe	Ser	Val
	Lys	C ys 530	Ala	Gly	Met	Pro	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
<210> 24 <211> 5 <212> P <213> Fa	4 75 RT				565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Arg 575	
<400> 24	4															
	Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Met	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
	Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile

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

Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
Lys 305		Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Туг 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
Tyr	370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
Met 385		Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Суѕ
Tyr	450	Arg	Ile	Val	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
Thr 465		Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
Gln	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Lys
Leu	Ile	Ala 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Phe	Ser	Val
Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Pro	Asp 535	Arg	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	A rg 555		Lys	Pro	Val	. Glr 560
Val	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Arg 575	

<210> 25 <211> 575 <212> PRT

<213> Fago phi29 de bacillus	<213>	Fago	phi29	de	bacillus
------------------------------	-------	------	-------	----	----------

<400> 25

Met Lys His Met Pro Arg Lys Arg Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Ala Thr 1 5 10 15

Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met Asn Ile 20 25 30

Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Phe Met 35 40 45

Ala Trp Ala Leu Gln Val Gln Ala Asp Leu Tyr Phe His Asn Leu Lys 50 55 60

Phe Asp Gly Ala Phe Ile Ile Asn Trp Leu Glu Arg Asn Gly Phe Lys 65 70 75 80

Trp Ser Ala Asp Gly Leu Pro Asn Thr Tyr Asn Thr Ile Ile Ser Arg 85 90 95

Thr Gly Gln Trp Tyr Met Ile Asp Ile Cys Leu Gly Tyr Lys Gly Lys 100 105 110

Arg Lys Ile His Thr Val Ile Tyr Asp Ser Leu Lys Lys Leu Pro Phe 115 120 125

Pro Val Lys Lys Ile Ala Lys Asp Phe Lys Leu Thr Val Leu Lys Gly

Asp Ile Asp Tyr His Lys Glu Arg Pro Val Gly Tyr Lys Ile Thr Pro 145 150 155 160

Glu Glu Tyr Ala Tyr Ile Lys Asn Asp Ile Gln Ile Ile Ala Glu Ala 165 170 175

Leu Leu Ile Gln Phe Lys Gln Gly Leu Asp Arg Met Thr Ala Gly Ser 180 185 190

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

T	'yr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
	hr 165	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Let 480
G	Sly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
F	ro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
I	eu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
I	lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	sn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	G1r 560
<210> 26 <211> 57 <212> PF <213> Fa	5 RT Igo I				565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
<400> 26																
M 1		Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Arg	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Ala 15	Thr
T	hr.	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
G	lu	Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	_	Ile 40	_	Asn	Ser		Asp 45	Glu	Phe	Met
A	la	Trp 50	Ala	Leu	Gln	Val	Gln 55	Ala	Asp	Leu	Tyr	Phe 60	His	Asn	Leu	Lys
	he 55	Asp	Gly	Ala	Phe	Ile 70	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu 75	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys 80
I	'rp	Ser	Ala	Asp	Gly 85	Leu	Pro	Asn	Thr	Tyr 90	Asn	Thr	Ile	Ile	Ser 95	Arç

Thr	Gly	Gln	Trp 100	Tyr	Met	Ile	Asp	Ile 105	Cys	Leu	Gly	Tyr	Lys 110	Gly	Lys
Arg	Lys	Ile 115	His	Thr	Val	Ile	Tyr 120	Asp	Ser	Leu	Lys	Lys 125	Leu	Pro	Phe
Pro	Val 130	Lys	Lys	Ile	Ala	Lys 135	Asp	Phe	Lys	Leu	Thr 140	Val	Leu	Lys	Gly
Asp 145	Ile	Asp	Tyr	His	Lys 150	Glu	Arg	Pro	Val	Gly 155	Tyr	Lys	Ile	Thr	Pro 160
Glu	Glu	Tyr	Ala	Tyr 165	Ile	Lys	Asn	Asp	Ile 170	Gln	Ile	Ile	Ala	Glu 175	Ala
Leu	Leu	Ile	Gln 180	Phe	Lys	Gln	Gly	Leu 185	Asp	Arg	Met	Thr	Ala 190	Gly	Ser
Asp	Ser	Leu 195	Lys	Asp	Phe	Lys	Asp 200	Ile	Ile	Thr	Thr	Lys 205	Lys	Phe	Lys
Lys	Val 210	Phe	Pro	Thr	Leu	Ser 215	Leu	Gly	Leu	Asp	Lys 220	Lys	Val	Arg	Tyr
Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Phe	Lys	Glu	Lys 240
Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
Gln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glu
Gly	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	Ile 285	Gln	His	Ile
Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys

Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Ser	9he 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Th
Tyr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Le
Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Th:
Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Let
Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Су
Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Le:
Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arq
Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glı
Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Va:
Lys	C ys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glı
Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gl: 560

5

<210> 27 <211> 575

<212> PRT

<213> Fago phi29 de bacillus

<400> 27

Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Lys 565 575

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

Glu Ile Gly Glu Gly Met Val Phe Asp Val Asn Ser Leu Tyr Pro Ala 245 250 255

GIn	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	GTA	GLu	Pro	тте	270	Phe	GLu
			200					200					2,0		

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

Leu Val Glu Gly Ser Pro Asp Asp Tyr Thr Asp Ile Lys Leu Ser Val 515

	Ly	s Cys 530		Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	A s 54	n Phe 15	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
5	<pre> va <210> 28 <211> 575 <212> PR' <213> Fag</pre>	Γ			565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
	<400> 28															
	Ме 1	et Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Met	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
	Tì	ır Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
	G]	u Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met
	A.I	a Trp 50	Ala	Leu	Lys	Val	Gln 55	Ala	Asp	Leu	Tyr	Phe 60	His	Asn	Leu	Lys
	P1 65	ne Asp	Gly	Ala	Phe	Ile 70	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu 75	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys 80
	Tı	p Ser	Ala	Asp	Gly 85	Leu	Pro	Asn	Thr	Tyr 90	Asn	Thr	Ile	Ile	Ser 95	Arg
	Tì	ır Gly	Gln	Trp 100	Tyr	Met	Ile	Asp	Ile 105	Cys	Leu	Gly	Tyr	Lys 110	Gly	Lys
	Ar	g Lys	Ile 115		Thr	Val	Ile	Tyr 120	Asp	Ser	Leu	Lys	Lys 125	Leu	Pro	Phe
	Pı	o Val 130		Lys	Ile	Ala	Lys 135	Asp	Phe	Lys	Leu	Thr 140	Val	Leu	Lys	Gly
10	As 14	sp Ile 15	Asp	Tyr	His	Lys 150	Glu	Arg	Pro	Val	Gly 155	Tyr	Lys	Ile	Thr	Pro 160

GIU	GIU	Tyr	Ата	165	тте	тÀг	Asn	Asp	170	GIN	TTE	тте	АІА	175	АТА
Leu	Leu	Ile	Gln 180	Phe	Lys	Gln	Gly	Leu 185	Gly	Arg	Met	Thr	Ala 190	Gly	Ser
Asp	Ser	Leu 195	Lys	Asp	Phe	Lys	Asp 200	Ile	Ile	Thr	Thr	Lys 205	Lys	Phe	Lys
Lys	Val 210	Phe	Pro	Thr	Leu	Ser 215	Leu	Gly	Leu	Asp	Lys 220	Lys	Val	Arg	Tyr
Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Phe	Lys	Glu	Lys 240
Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
Gln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glu
Gly	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	Ile 285	Gln	His	Ile
Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Туr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
_			340	_		-		345		-	Ile		350		-
		355					360				Ile	365			
Tyr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	G1u 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400

Gly Lys Val Pro Tyr Leu Lys Glu Asn Gly Ala Leu Gly Phe Arg Leu

Pro Lys Thr Tyr Ile Gln Asp Ile Tyr Met Lys Glu Val Asp Gl 510 Leu Val Glu Gly Ser Pro Asp Asp Tyr Thr Asp Ile Lys Leu Se 515 Lys Cys Ala Gly Met Thr Asp Lys Ile Lys Lys Glu Val Thr Ph 530 Asn Phe Lys Val Gly Phe Ser Arg Lys Met Lys Pro Lys Pro Va 545 Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 565 Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 575 <210> 29 <211> 575 <212> PRT <213> Fago phi29 de bacillus <400> 29 Met Lys His Met Pro Arg Lys Met Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Th 1 Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met As 30 Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Ph 45		4	405	410	415
Tyr Asp Arg Ile Ile Tyr Cys Asp Thr Asp Ser Ile His Leu Th 450 Thr Glu Ile Pro Asp Val Ile Lys Asp Ile Val Asp Pro Lys Ly 465 Thr Glu Ile Pro Asp Val Ile Lys Asp Ile Val Asp Pro Lys Ly 465 Gly Tyr Trp Ala His Glu Ser Thr Phe Lys Arg Ala Lys Tyr Le 485 Pro Lys Thr Tyr Ile Gln Asp Ile Tyr Met Lys Glu Val Asp Gl 500 Leu Val Glu Gly Ser Pro Asp Asp Tyr Thr Asp Ile Lys Leu Se 515 Lys Cys Ala Gly Met Thr Asp Lys Ile Lys Lys Glu Val Thr Ph 530 Asn Phe Lys Val Gly Phe Ser Arg Lys Met Lys Pro Lys Pro Va 545 Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 565 Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 575 <210> 29 <211> 575 <212> PRT <213> Fago phi29 de bacillus <400> 29 Met Lys His Met Pro Arg Lys Met Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Th 1 Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met As 20 Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Ph 35 400 Hasp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Ph 35	Gly Gl	_	Thr Lys Asp Pro	_	_
### The Glu Ile Pro Asp Val Ile Lys Asp Ile Val Asp Pro Lys Ly #### Af5 ### Glu Ile Pro Asp Val Ile Lys Asp Ile Val Asp Pro Lys Ly ### Af5 ### Glu Ile Pro Asp Val Ile Lys Asp Ile Val Asp Pro Lys Ly ### Af5 ### Glu Tyr Trp Ala His Glu Ser Thr Phe Lys Arg Ala Lys Tyr Le ### Af5 ### Af5 ### Pro Lys Thr Tyr Ile Gln Asp Ile Tyr Met Lys Glu Val Asp Gl ### Lys Glu Gly Ser Pro Asp Asp Tyr Thr Asp Ile Lys Leu Se ### 520 ### Lys Cys Ala Gly Met Thr Asp Lys Ile Lys Lys Glu Val Thr Ph ### 530 ### Asn Phe Lys Val Gly Phe Ser Arg Lys Met Lys Pro Lys Pro Va ### 545 ### Val Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly ### 565 ### Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly ### 565 ### Val Pro Arg Lys Met Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Th ### 1	Ile Th				_
465 470 475 Gly Tyr Trp Ala His Glu Ser Thr Phe Lys Arg Ala Lys Tyr Le 485 Pro Lys Thr Tyr Ile Gln Asp Ile Tyr Met Lys Glu Val Asp Gl 510 Leu Val Glu Gly Ser Pro Asp Asp Tyr Thr Asp Ile Lys Leu Se 525 Lys Cys Ala Gly Met Thr Asp Lys Ile Lys Lys Glu Val Thr Ph 530 Asn Phe Lys Val Gly Phe Ser Arg Lys Met Lys Pro Lys Pro Va 545 Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 565 Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 575 <210> 29 <211> 575 <212> PRT <213> Fago phi29 de bacillus <400> 29 Met Lys His Met Pro Arg Lys Met Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Th 1 Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met As 30 Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Ph 45 Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Ph 45				-	His Leu Thr Gly
### Pro Lys Thr Tyr Ile Gln Asp Ile Tyr Met Lys Glu Val Asp Glu Val Sp Glu Val Glu Gly Ser Pro Asp Asp Tyr Thr Asp Ile Lys Leu Se 525 Lys Cys Ala Gly Met Thr Asp Lys Ile Lys Lys Glu Val Thr Ph 530 Asn Phe Lys Val Gly Phe Ser Arg Lys Met Lys Pro Lys Pro Va 545 Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 565 Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 575 <210> 29 <211> 575 <212> PRT <213> Fago phi29 de bacillus 4400> 29 Met Lys His Met Pro Arg Lys Met Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Th 1 Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met As 20 Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Ph 35					Pro Lys Lys Leu 480
Leu Val Glu Gly Ser Pro Asp Asp Tyr Thr Asp Ile Lys Leu Se 515 Lys Cys Ala Gly Met Thr Asp Lys Ile Lys Lys Glu Val Thr Ph 530 Asn Phe Lys Val Gly Phe Ser Arg Lys Met Lys Pro Lys Pro Va 545 Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 565 Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 575 <210> 29 <211> 575 <212> PRT <213> Fago phi29 de bacillus <400> 29 Met Lys His Met Pro Arg Lys Met Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Th 10 Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met As 30 Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Ph 45	Gly Ty				Lys Tyr Leu Arg 495
Lys Cys Ala Gly Met Thr Asp Lys Ile Lys Lys Glu Val Thr Ph 530 Asn Phe Lys Val Gly Phe Ser Arg Lys Met Lys Pro Lys Pro Va 545 Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 565	Pro Ly		Ile Gln Asp Ile		
Asn Phe Lys Val Gly Phe Ser Arg Lys Met Lys Pro Lys Pro Va 545 Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 57 <210> 29 <211> 575 <212> PRT <213> Fago phi29 de bacillus <400> 29 Met Lys His Met Pro Arg Lys Met Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Th 1 Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met As 20 Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Ph 45	Leu Va	-		-	-
Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 565 Val Pro Gly Gly Val Val Leu Val Asp Asp Thr Phe Thr Ile Ly 570 <210> 29 <211> 575 <212> PRT <213> Fago phi29 de bacillus <400> 29 Met Lys His Met Pro Arg Lys Met Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Th 10 Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met As 20 Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Ph 35					Val Thr Phe Glu
<pre></pre>		-			Lys Pro Val Gln 560
<pre><211> 575 <212> PRT <213> Fago phi29 de bacillus <400> 29 Met Lys His Met Pro Arg Lys Met Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Th 1</pre>	Val Pr				Thr Ile Lys 575
Met Lys His Met Pro Arg Lys Met Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Th 1 5 10 10 15 Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met As 20 25 30 Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Ph 35 40 45	1> 575 2> PRT	5 RT			
1 5 10 15 Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met As 20 25 30 Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Ph 35 40 45	0> 29				
20 25 30 Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Ph 35 40 45	_				Phe Glu Thr Thr 15
35 40 45 	Thr Ly	-	Asp Cys Arg Val		
	Glu As			=	⁻
Ala Trp Ala Leu Lys Val Gln Ala Asp Leu Tyr Phe His Asn Le 50 55 60			_		His Asn Leu Lys

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

Lys Arg Ser Arg Phe Tyr Lys Gly Asn Glu Tyr Leu Lys Ser Ser Gly

3	305					310					315					320
G	€ly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
I	Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
F	?he	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
т	Гуr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
	1et 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
G	€ly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
G	€ly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
I	le	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
ī	ľyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
	Thr 165	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
G	∃ly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
F	?ro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
I	Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
I	Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	As p 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
7	Val	Pro	Gly	Gly	-		l Le	u Va	al A	_	_	hr I	he	Thr	Ile	_
565 570 <210> 30														575		
<211> 575 212 PR																
<212> FR		hi29	de ba	acillus	3											

<400> 30

Met	Lys	His	Met	Pro	Arg	Lys	Arg	${ t Tyr}$	Ser	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr	Thr
1				5					10					15	

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

	210					215					220				
Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Ser	Lys	Glu	Lys 240
Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
Gln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glu
Gly	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	Ile 285	Gln	His	Ile
Arg	Cys 290	Gly	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
Tyr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 4 15	Leu
Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly

	465	0_0	116	Pro	Asp	470	ше	цуs	Asp	iie	475	Asp	PIO	туѕ	тАг	480
	Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
	Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
	Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
	Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
	Val	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
<210> 3 <211> 5 <212> F <213> F	575 PRT	phi29	de b	acillu	s											
<400> 3	31															
	Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Met	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
	Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
		-		20	As p Glu	_	_		25		-		-	30		
	Glu	Asp	His 35	20 Ser		Tyr	Lys	Ile 40	25 Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 4 5	30 Glu	Phe	Met
	Glu Ala	Asp Trp 50	His 35 Ala	20 Ser Leu	Glu	Tyr Val	Lys Gln 55	Ile 40 Ala	Gly Asp	Asn Leu	Ser Tyr	Leu Phe 60	Asp 45 His	30 Glu Asn	Phe Leu	Met Lys
	Glu Ala Phe 65	Asp Trp 50	His 35 Ala Gly	20 Ser Leu Ala	Glu Lys	Tyr Val Ile 70	Lys Gln 55	Ile 40 Ala Asn	Gly Asp	Asn Leu Leu	Ser Tyr Glu 75	Leu Phe 60	Asp 45 His	30 Glu Asn Gly	Phe Leu Phe	Met Lys Lys
	Glu Ala Phe 65 Trp	Asp Trp 50 Asp	His 35 Ala Gly Ala	20 Ser Leu Ala Asp	Glu Lys Phe	Tyr Val Ile 70 Leu	Lys Gln 55 Ile	Ile 40 Ala Asn	Gly Asp Trp	Asn Leu Leu Tyr 90	Ser Tyr Glu 75	Leu Phe 60 Arg	Asp 45 His Asn	30 Glu Asn Gly Ile	Phe Leu Phe Ser 95	Met Lys Lys 80

		115					120					125			
Pro	Val 130	Lys	Lys	Ile	Ala	Lys 135	Asp	Phe	Lys	Leu	Thr 140	Val	Leu	Lys	Gly
Asp 145	Ile	Asp	Tyr	His	Lys 150	Glu	Arg	Pro	Val	Gly 155	Tyr	Lys	Ile	Thr	Pro 160
Glu	Glu	Tyr	Ala	Tyr 165	Ile	Lys	Asn	Asp	Ile 170	Gln	Ile	Ile	Ala	Glu 175	Ala
Leu	Leu	Ile	Gln 180	Phe	Lys	Gln	Gly	Leu 185	Asp	Arg	Met	Thr	Ala 190	Gly	Ser
Asp	Ser	Leu 195	Lys	Asp	Phe	Lys	Asp 200	Ile	Ile	Thr	Thr	Lys 205	Lys	Phe	Lys
Lys	Val 210	Phe	Pro	Thr	Leu	Ser 215	Leu	Gly	Leu	Asp	Lys 220	Lys	Val	Arg	Tyr
Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Phe	Lys	Glu	Lys 240
Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
Gln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glu
Gly	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	Ile 285	Gln	His	Ile
Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr

	Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
	Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
	Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
	Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
	Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
	Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
	Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
	Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
	Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
	Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	As n 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
5	va1 <210> 32 <211> 575 <212> PRT <213> Fago	Pro phi29			565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
	<400> 32															
	Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Met	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
10	Thr	Lys	Val	Glu	Asp	Cys	Arg	Val	Trp	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met	Asn	Ile

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

GIĀ	ьys	1yr 275	vai	Trp	Asp	GIU	280	Tyr	Pro	ьеu	HIS	285	GIN	HIS	116
Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
Tyr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Суз
Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu

Leu Val Glu Gly Ser Pro Asp Asp Tyr Thr Asp Ile Lys Leu Ser Val 515 520 525

Lys Cys Ala Gly Met Thr Asp Lys Ile Lys Lys Glu Val Thr Phe Glu 530

		Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Glr 560
		Val	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
5	<210> 33 <211> 575 <212> PRT <213> Fago phi2	29 de	bacill	us													
	<400> 33																
		Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Met	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
		Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
		Glu	Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met
		Ala	Trp 50	Ala	Leu	Lys	Val	Gln 55	Ala	Asp	Leu	Tyr	Phe 60	His	Asn	Leu	Lys
		Phe 65	Asp	Gly	Ala	Phe	Ile 70	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu 75	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys 80
		Trp	Ser	Ala	Asp	Gly 85	Leu	Pro	Asn	Thr	Tyr 90	Asn	Thr	Ile	Ile	Ser 95	Arg
		Thr	Gly	Gln	Trp 100	Tyr	Met	Ile	Asp	Ile 105	Cys	Leu	Gly	Tyr	Glu 110	Gly	Lys
		Arg	Lys	Ile 115	His	Thr	Val	Ile	Tyr 120	Asp	Ser	Leu	Lys	Lys 125	Leu	Pro	Phe
		Pro	Val 130	Lys	Lys	Ile	Ala	Lys 135	Asp	Phe	Lys	Leu	Thr 140	Val	Leu	Lys	Gly
		Asp 145	Ile	Asp	Tyr	His	Lys 150	Glu	Arg	Pro	Val	Gly 155	Tyr	Lys	Ile	Thr	Pro
10		Glu	Glu	Tyr	Ala	Tyr 165	Ile	Lys	Asn	Asp	Ile 170	Gln	Ile	Ile	Ala	Glu 175	Ala

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

	Il	e Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
	Ту	r Asp 450	_	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
	Th 46	r Glu 5	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
	Gl	y Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
	Pr	o Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
	Le	u Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
	Ly	s Cys 530		Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
	As 54	n Phe 5	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
	Va	l Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
5	<210> 34 <211> 575 <212> PR1 <213> Fag		de b	acillu	s											
	<400> 34															
	<u>М</u> е	t Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Arg	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
	Th	r Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
	G1	u Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met
	Al	a Trp 50	Val	Leu	Lys	Val	Gln 55	Ala	Asp	Leu	Tyr	Phe 60	His	Asn	Leu	Lys
10	Ph 65	e Asp	Gly	Ala	Phe	Ile 70	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu 75	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys 80

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

Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
Tyr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
Ile	Ala	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Glu	Lys	Leu 480
Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
	-		Tyr 500					505		_			510		-
		515	Gly			-	520	-		-		525			
	530		Gly			535					540				
545			Val		550					555					Gln 560
Val	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	

5

<210> 35 <211> 575

<212> PRT <213> Fago phi29 de bacillus

<400> 35

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

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

		Leu	Ile	Ala 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Phe	Ser	Val
		Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Pro	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glı
		Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Glr 560
		Val	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
5	<210> 3 <211> 5 <212> F <213> F	575 PRT	phi29	de b	acillu	s											
	<400> 3	36															
		Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Met	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
		Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
		Glu	Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met
		Ala	Trp 50	Ala	Leu	Lys	Val	Gln 55	Ala	Asp	Leu	Tyr	Phe 60	His	Asn	Leu	Lys
		Phe 65	Asp	Gly	Ala	Phe	Ile 70	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu 75	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys 80
		Trp	Ser	Ala	Asp	Gly 85	Leu	Pro	Asn	Thr	Tyr 90	Asn	Thr	Ile	Ile	Ser 95	Arç
		Thr	Gly	Gln	Trp 100	Tyr	Met	Ile	Asp	Ile 105	Cys	Leu	Gly	Tyr	Lys 110	Gly	Lys
		Arg	Lys	Ile 115	His	Thr	Val	Ile	Tyr 120	Asp	Ser	Leu	Lys	Lys 125	Leu	Pro	Phe
10		Pro	Val 130	Lys	Lys	Ile	Ala	Lys 135	Asp	Phe	Lys	Leu	Thr 140	Val	Leu	Lys	Gl

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

Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
Lys	C ys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
Val	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
<210> 37 <211> 575 <212> PRT <213> Fago (phi29	de ba	acillus	S											
<400> 37															
Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Arg	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
Glu	Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met

АІА	50	vai	ьеu	туs	vai	55	АТА	Asp	Leu	Tyr	60	HIS	Asn	Leu	ьγ
Phe 65	Asp	Gly	Ala	Phe	Ile 70	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu 75	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys 80
Trp	Ser	Ala	Asp	Gly 85	Leu	Pro	Asn	Thr	Tyr 90	Ser	Thr	Ile	Ile	Ser 95	Arç
Met	Gly	Gln	Trp 100	Туг	Met	Ile	Asp	Ile 105	Суѕ	Leu	Gly	Tyr	Lys 110	Gly	Lуs
Arg	Lys	Ile 115	His	Thr	Val	Ile	Tyr 120	Asp	Ser	Ser	Lys	Lys 125	Leu	Pro	Phe
Pro	Val 130	Lys	Lys	Ile	Ala	Lys 135	Asp	Phe	Lys	Leu	Thr 140	Val	Leu	Lys	Gl
Asp 145	Ile	Asp	Tyr	His	Lys 150	Glu	Arg	Pro	Val	Gly 155	Tyr	Lys	Ile	Thr	Pro 160
Glu	Glu	Tyr	Ala	Tyr 165	Ile	Lys	Asn	Asp	Ile 170	Gln	Ile	Ile	Ala	Glu 175	Ala
Leu	Leu	Ile	Gln 180	Phe	Lys	Gln	Gly	Leu 185	Asp	Arg	Val	Thr	Ala 190	Gly	Ser
Asp	Ser	Leu 195	Lys	Gly	Phe	Lys	Asp 200	Ile	Ile	Thr	Thr	Lys 205	Lys	Phe	Lys
Lys	Val 210	Phe	Pro	Thr	Leu	Ser 215	Leu	Gly	Leu	Asp	Lys 220	Glu	Val	Arg	Туз
Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Phe	Lys	Gly	Lys 240
Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
Gln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glu
Gly	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	Ile 285	Gln	His	Ile

Arg Cys Glu Phe Glu Leu Lys Glu Gly Tyr Ile Pro Thr Ile Gln Ile 290 295 300

Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
Phe	Glu	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
Tyr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
Tyr	Asp 4 50	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
Asn	Phe	Lys	Val	Gly	Phe	Ser	Arg	Lys	Met	Lys	Pro	Lys	Pro	Val	Gln
545					550					555					560
Val	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	

5

<210> 38 <211> 575 <212> PRT

<213>	Fago	phi29	de	bacillus

<400> 38

Met Lys His Met Pro Arg Lys Met Tyr Ser Cys Asp Phe Glu Thr Thr 1 5 10 15

Thr Lys Val Glu Asp Cys Arg Val Trp Ala Tyr Gly Tyr Met Asn Ile 20 25 30

Glu Asp His Ser Glu Tyr Lys Ile Gly Asn Ser Leu Asp Glu Phe Met 35 40 45

Ala Trp Ala Leu Lys Val Gln Ala Asp Leu Tyr Phe His Asn Leu Lys 50 55

Phe Asp Gly Ala Phe Ile Ile Asn Trp Leu Glu Arg Asn Gly Phe Lys 65 70 75 80

Trp Ser Ala Asp Gly Leu Pro Asn Thr Tyr Asn Thr Ile Ile Ser Arg 85 90 95

Thr Gly Gln Trp Tyr Met Ile Asp Ile Cys Leu Gly Tyr Lys Gly Lys 100 105 Leu Gly Tyr Lys Gly Lys

Arg Lys Ile His Thr Val Ile Tyr Asp Ser Leu Lys Lys Leu Pro Phe 115 120 125

Pro Val Lys Lys Ile Ala Lys Asp Phe Lys Leu Thr Val Leu Lys Gly 130 135

Asp Ile Asp Tyr His Lys Glu Arg Pro Val Gly Tyr Lys Ile Thr Pro 145 150 155 160

Glu Glu Tyr Ala Tyr Ile Lys Asn Asp Ile Gln Ile Ile Ala Glu Ala 165 170 175

Leu Leu Ile Gln Phe Lys Gln Gly Leu Asp Arg Met Thr Ala Gly Ser

Asp Ser Leu Lys Asp Phe Lys Asp Ile Ile Thr Thr Lys Lys Phe Lys 195 200 205

]	Lys	Val 210	Phe	Pro	Thr	Leu	Ser 215	Leu	Gly	Leu	Asp	Lys 220	Lys	Val	Arg	Tyr
	Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Phe	Lys	Glu	Lys 240
C	Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
(3ln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glu
(З1у	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	Ile 285	Gln	His	Ile
2	Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
	Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Туг 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
(Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	Asn 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
]	Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys
I	Phe	Lys	Ala 355	Thr	Thr	Gly	Leu	Phe 360	Lys	Asp	Phe	Ile	Asp 365	Lys	Trp	Thr
7	Гуr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
	Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
(Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
(Зlу	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
I	Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
7	Гуr	Asp	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile	His	Leu	Thr	Gly

		Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
		Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
		Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
		Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
		Lys	Cys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
		Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
		Val	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
5	<210> 3 <211> 5 <212> F <213> F	575 PRT	phi29	de b	acillu	S											
	<400> 3	39															
		Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Met	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr
		Thr	Lys	Val	Glu 20	Asp	Cys	Arg	Val	Trp 25	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Met 30	Asn	Ile
		Glu	Asp	His 35	Ser	Glu	Tyr	Lys	Ile 40	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp 45	Glu	Phe	Met
		Ala	Trp 50	Ala	Leu	Lys	Val	Gln 55	Ala	Asp	Leu	Tyr	Phe 60	His	Asn	Leu	Lys
		Phe 65	Asp	Gly	Ala	Phe	Ile 70	Ile	Asn	Trp	Leu	Glu 75	Arg	Asn	Gly	Phe	Lys 80
		Trp	Ser	Ala	Asp	Gly 85	Leu	Pro	Asn	Thr	Tyr 90	Asn	Thr	Ile	Ile	Ser 95	Arg
10		Thr	Gly	Gln	Trp 100	Tyr	Met	Ile	Asp	Ile 105	Cys	Leu	Gly	Tyr	Lys 110	Gly	Lys

7	Arg	Lys	Ile 115	His	Thr	Val	Ile	Tyr 120	Asp	Ser	Leu	Lys	Lys 125	Leu	Pro	Phe
I	?ro	Val 130	Lys	Lys	Ile	Ala	Lys 135	Asp	Phe	Lys	Leu	Thr 140	Val	Leu	Lys	Gly
	Asp 145	Ile	Asp	Tyr	His	Lys 150	Glu	Arg	Pro	Val	Gly 155	Tyr	Lys	Ile	Thr	Pro 160
(Glu	Glu	Tyr	Ala	Tyr 165	Ile	Lys	Asn	Asp	Ile 170	Gln	Ile	Ile	Ala	Glu 175	Ala
]	Leu	Leu	Ile	Gln 180	Phe	Lys	Gln	Gly	Leu 185	Asp	Arg	Met	Thr	Ala 190	Gly	Ser
7	Asp	Ser	Leu 195	Lys	Asp	Phe	Lys	Asp 200	Ile	Ile	Thr	Thr	Lys 205	Lys	Phe	Lys
1	Lys	Val 210	Phe	Pro	Thr	Leu	Ser 215	Leu	Gly	Leu	Asp	Lys 220	Lys	Val	Arg	Tyr
	Ala 225	Tyr	Arg	Gly	Gly	Phe 230	Thr	Trp	Leu	Asn	Asp 235	Arg	Phe	Lys	Glu	Lys 240
(Glu	Ile	Gly	Glu	Gly 245	Met	Val	Phe	Asp	Val 250	Asn	Ser	Leu	Tyr	Pro 255	Ala
(Gln	Met	Tyr	Ser 260	Arg	Leu	Leu	Pro	Tyr 265	Gly	Glu	Pro	Ile	Val 270	Phe	Glu
(Gly	Lys	Tyr 275	Val	Trp	Asp	Glu	Asp 280	Tyr	Pro	Leu	His	Ile 285	Gln	His	Ile
2	Arg	Cys 290	Glu	Phe	Glu	Leu	Lys 295	Glu	Gly	Tyr	Ile	Pro 300	Thr	Ile	Gln	Ile
	Lys 305	Arg	Ser	Arg	Phe	Tyr 310	Lys	Gly	Asn	Glu	Tyr 315	Leu	Lys	Ser	Ser	Gly 320
(Gly	Glu	Ile	Ala	Asp 325	Leu	Trp	Leu	Ser	As n 330	Val	Asp	Leu	Glu	Leu 335	Met
]	Lys	Glu	His	Tyr 340	Asp	Leu	Tyr	Asn	Val 345	Glu	Tyr	Ile	Ser	Gly 350	Leu	Lys

Phe Lys Ala Thr Thr Gly Leu Phe Lys Asp Phe Ile Asp Lys Trp Thr

				355					360					365			
		Tyr	Ile 370	Lys	Thr	Thr	Ser	Glu 375	Gly	Ala	Ile	Lys	Gln 380	Leu	Ala	Lys	Leu
		Met 385	Leu	Asn	Ser	Leu	Tyr 390	Gly	Lys	Phe	Ala	Ser 395	Asn	Pro	Asp	Val	Thr 400
		Gly	Lys	Val	Pro	Tyr 405	Leu	Lys	Glu	Asn	Gly 410	Ala	Leu	Gly	Phe	Arg 415	Leu
		Gly	Glu	Glu	Glu 420	Thr	Lys	Asp	Pro	Val 425	Tyr	Thr	Pro	Met	Gly 430	Val	Phe
		Ile	Thr	Ala 435	Trp	Ala	Arg	Tyr	Thr 440	Thr	Ile	Thr	Ala	Ala 445	Gln	Ala	Cys
		Tyr	Asp 450	Arg	Ile	Ile	Tyr	Cys 455	Asp	Thr	Asp	Ser	Ile 460	His	Leu	Thr	Gly
		Thr 465	Glu	Ile	Pro	Asp	Val 470	Ile	Lys	Asp	Ile	Val 475	Asp	Pro	Lys	Lys	Leu 480
		Gly	Tyr	Trp	Ala	His 485	Glu	Ser	Thr	Phe	Lys 490	Arg	Ala	Lys	Tyr	Leu 495	Arg
		Pro	Lys	Thr	Tyr 500	Ile	Gln	Asp	Ile	Tyr 505	Met	Lys	Glu	Val	Asp 510	Gly	Glu
		Leu	Val	Glu 515	Gly	Ser	Pro	Asp	Asp 520	Tyr	Thr	Asp	Ile	Lys 525	Leu	Ser	Val
		Lys	C ys 530	Ala	Gly	Met	Thr	Asp 535	Lys	Ile	Lys	Lys	Glu 540	Val	Thr	Phe	Glu
		Asn 545	Phe	Lys	Val	Gly	Phe 550	Ser	Arg	Lys	Met	Lys 555	Pro	Lys	Pro	Val	Gln 560
		Val	Pro	Gly	Gly	Val 565	Val	Leu	Val	Asp	Asp 570	Thr	Phe	Thr	Ile	Lys 575	
5	<210> 4 <211> 5 <212> F <213> F	75 PRT	ohi29	de b	acillu	s											
	<400> 4	0															
10		Met 1	Lys	His	Met	Pro 5	Arg	Lys	Met	Tyr	Ser 10	Cys	Asp	Phe	Glu	Thr 15	Thr

Thr	Lys	Val	GLu	Asp	Cys	Arg	Val	${\tt Trp}$	Ala	Tyr	GLY	Tyr	Met	Asn	ITe
			20					25					30		

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

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

Leu Val Glu Gly Ser Pro Asp Asp Tyr Thr Asp Ile Lys Leu Ser Val 515 520 525

Lys Cys Ala Gly Met Thr Asp Lys Ile Lys Lys Glu Val Thr Phe Glu 530 535 540

Asn Phe Lys Val Gly Phe Ser Arg Lys Met Lys Pro Lys Pro Val Gln 545 550 555 560

REIVINDICACIONES

- 1. Una ADN polimerasa del bacteriófago phi29 que comprende una mutación M8R, en donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 tiene mayor estabilidad de proteínas en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje, y, opcionalmente, en donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 comprende adicionalmente al menos una mutación seleccionada de V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526I
- 2. La ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la reivindicación 1, que tiene al menos una de una mayor termoestabilidad de proteínas, que produce una mayor cantidad de producto de amplificación de ADN, vida media más larga, mayor afinidad por el sustrato de ADN, un mayor grado de fidelidad de ADN polimerasa, aumento de la catálisis, o aumento capacidad de procesamiento, en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.
- 3. La ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 comprende las mutaciones M8R, V51A, M97T, G197D, y E221K.
 - 4. La ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 comprende las mutaciones M8R, V51A, M97T, G197D, E221K, Q497P, K512E, y F526L.
- 20 5. La ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la reivindicación 3 que tiene el SEQ ID NO: 14.

5

30

35

55

- 6. La ADN polimerasa del bacteriófago phi29 de la reivindicación 1, en donde la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje es el SEQ ID NO: 10.
- 25 7. Un método para amplificar un ácido desoxirribonucleico (ADN), comprendiendo el método

poner en contacto el ADN que va a ser amplificado con una ADN polimerasa del bacteriófago phi29 que comprende una mutación M8R, y

incubar la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 mutante y el ADN en condiciones para dar como resultado un ADN amplificado,

en donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 tiene mayor estabilidad de proteínas en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje,

- y, opcionalmente, en donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 comprende adicionalmente al menos una mutación seleccionada entre V51A, M97T, L123S, G197D, K209E, E221K, E239G, Q497P, K512E, E515A, y F526L.
 - 8. El método de la reivindicación 7, donde las condiciones comprenden una temperatura mayor de 30°C.
- 9. El método de la reivindicación 7, donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 comprende las mutaciones 40 M8R, V51A, M97T, G197D, y E221K.
 - 10. El método de la reivindicación 7, donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 comprende las mutaciones M8R, V51A, M97T, G197D, E221K Q497P, K512E, y F526L.
- 45 11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 mutante genera una mayor cantidad de producto de amplificación de ADN en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.
- 12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29
 50 mutante tiene un mayor grado de fidelidad de la ADN polimerasa en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.
 - 13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12, donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 mutante tiene una vida media más larga en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.
 - 14. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 13, donde la ADN polimerasa del bacteriófago phi29 tiene mayor catálisis en comparación con la ADN polimerasa de phi29 de tipo salvaje.

FIG. 1. Sustituciones de residuos de aminoácidos encontradas en ciones seleccionados

Grapo 4 M3	13	mutaciones	8M->R, 15T->A, 49A->T, 51V->A, 53K->Q, 97M->T, 197G->D, 221E->K,
Grapo 10 M11	13	mutaciones	312G->S, 497Q->P, 512K->E, 526F->L, 530C->F 8M->R, 51V->A, 70I->T, 97M->T, 197G->D, 214L->S, 221E->K, 337K->E,
OTTPO TO MITT		11112000100	434T->A, 514V->I, 515E->A, 534T->P, 575K->R
G14po 12 M14	13	mutaciones	51V->A, 97M->T, 197G->D, 221E->K, 247V->A, 260S->N, 453I->V, 514V->I,
•			515E->A, 534T->P, 536K->R, 555K->R, 575K->R
Grapo 14 M16	11	mutaciones	8M->R, 15T->A, 51V->A, 53K->Q, 97M->T, 197G->D, 221E->K, 359L->S,
•			497Q:>P, 512K:>E, 526F:>L
Grapo 18 M24	11	m utaciones	8M->R, 107L->S, 123L->S, 172I->V, 239E->G, 272E->K, 434T->A, 478K->E,
			497Q->P, 526F->L, 553K->R
Grapo 13 M15	10	mutaciones	8M->R, 15T->A, 51V->A, 53K->Q, 97M->T, 197G->D, 221E->K, 497Q->P,
0			512K->E, 526F->L
Gripo 16 M20	10	mutaciones	8M->R, 51V->A, 97M->T, 197G->D, 221E->K, 237F->S, 291E->G, 497Q->P,
Grupo 5 M4	9	mutaciones	512K->E, 526F->L 8M->R, 107L->S, 123L->S, 239E->G, 434T->A, 478K->E, 497Q->P, 526F->L,
014p03184	9	III 4 MOINTES	553K->R
Grapo 7 M7	9	mutaciones	51V->A, 57D->N, 97M->T, 197G->D, 221E->K, 280D->G, 497Q->P, 512K->E,
Orapo i mir		III 1 EDODUCE	526F->L
Grapo 8 M9	9	mutaciones	8M->R, 51V->A, 97M->T, 197G->D, 221E->K, 246M->T, 497Q->P, 512K->E,
			526F->L
Gripo 9 M10	9	mutaciones	8M->R, 51V->A, 97M->T, 197G->D, 221E->K, 378I->V, 497Q->P, 512K->E.
			526F->L
Grapo 11 M13	9	mutaciones	8M->R, 97M->T, 197G->D, 221E->K, 337K->E, 514V->I, 515E->A, 534T->P,
			575K->R
Grupo 17 M23	9	mutaciones	51V->A, 97M->T, 110K->E, 197G->D, 221E->K, 410G->E, 497Q->P, 512K->E,
•			528F->L
Gripo 19 M25	9	m utaciones	8M->R, 117T->A, 123L->S, 239E->G, 437A->G, 490K->R, 514V->I, 515E->A,
			534T->P
Grapo 21 M27	9	m utaciones	8M->R, 91N->S, 123L->S, 188M->V, 239E->G, 354K->E, 497Q->P, 512K->E,
CHROCOLL NO MO MAO			526F->L
G ripo 2 M1, M6, M8, M12	8	mutaciones	51V->A, 97M->T, 197G->D, 209K->E, 221E->K, 497Q->P, 512K->E, 526F->L
Grupo 15 M18	8	mutaciones	51V->A, 97M->T, 186D->G, 197G->D, 221E->K, 497Q->P, 512K->E, 526F->L
Grapo io milis	0	III 4 ESCHORES	514-54, 57 M-51, 1000-50, 1570-50, 2210-51, 4570-5-F, 51214-5, 5201-50
G rapo 20 M26	8	mutaciones	51V->A, 97M->T, 197G->D, 221E->K, 276V->A, 497Q->P, 512K->E, 526F->L
			and the state of the second se
G rtpo 3 M2, M17, M19, M21-22, M28-30	7	mutaciones	51V->A, 97M->T, 197G->D, 221E->K, 497Q->P, 512K->E, 526F->L
Gripo 6 M5	7	mutaciones	51V->A, 97M->T, 197G->D, 221E->K, 478K->E, 515E->A, 526F->L
Crano de tipo emirale	0	mutaciones	
Grupo de tipo saluaje		III 4 IBOIO 865	

FIG. 2. El allueam leuto CLUSTALOU de 30 secrencias de proteínas se leccionadas

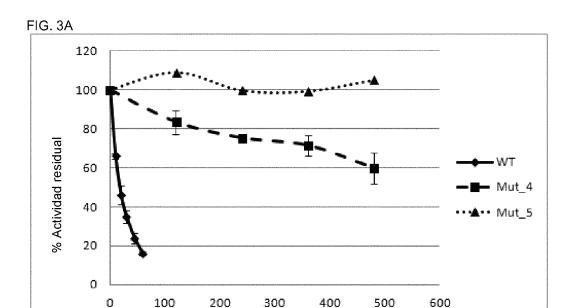
Wt	1	MKHMPRRMYS	CDFERTIKVE	DCRVWAYGYN	MIEDHSBYKI	GNSLDEFHAN	VLKVQADLYF	HNLKFDGAFI	INWLESOMER	WSADGLPNTY	MAIISBROOM
M1	1	MKHMPRENYS	CDFETTKVE	DÖRVKAYGYM	NIEDHSEYKI	CHSLDEFMAN	PLKYQADLYF	HELEFDGAFT	INNLESHGYK	WSADGLIWITY	NTIISTEGOM
H2	1	MKHMPRKNYS	CDFETTKVE	DČRVKAYGYM	MIEDHSEYKI	GNSLDBFHAK	MIKVOADLYF	HNLKFDGAFI	INMLERNGER	WSADGLPWTY	NTIISH GOW
мз	1	MKHMPRETYS	CDFETTKVE	DÜRVWAYGYH	MIEDHSEYKI	CHSIDEFHON	PLEVOADLYF	HELEFDGAFT	INMLERNOFK	WSADGLPWTY	HTIISH GOW
M4	1	ИКНИРКК ЗҮ8	COPETTTKVE	DÜRVKAYGYM	NIEDHSEYKI	CHSLOBENAN	VIEWQADLYF	BRLEFDGAYE	INNLERNSFK	WSADSLPHTY	MRIISRMGQW
M5	1	MKHMPRKNYS	COPETTKVE	DÜRVWAYGYM	NIEDHSEYKI	GNSLDEFHAN	PLKYQADLYF	HRLKFDGAPT	INNLERNGFK	WSADGLPWTY	HTIISH GOW
M6	1	HKHMPRKNYS	COPETTIEVE	DÖRVKAYGYH	NIEDHSBYKI	CHSLDEFHAR	BLKVQADLYF	HNINFDGAPT	INNLERNOPK	WSADGLPWTY	HTIISHOOM
M7	1	ИКНИРКК МҮ8	COPETTIEVE	DÖRVWAYGYH	NIEDHSBYKI	CHSLDEFHAN	MLKVQAELYF	HELEPDGAPY	INMLERNOPK	WSADGLPWTY	HTIISH GOW
MB	1	HKHMPRKNYS	COPETTIEVE	DCRVWAYGYM	NIEDHSEYKI	GNSLDEFHAN	MLKVQADLYF	HMLRFDGAPT	INWLERNGEN	WSADGLPWTY	NTIISREGON
N9	1	икнирак уз	COPETTRVE	DERVWAYGYM	NIEDHSEYKI	GNSLOBFNAW	MIKVOADLYF	HNLKFDGAPI	INWLERNGEN	WSADGLPWTY	NTI ISPEGON
H10	1	икни Ркк ∑ ұз	COPETTYKVE	DÜRVWAYGYM	NIEDHSEYKI	GNSLOBFNAW	LKVQADLYF	HNLEFDGAPI	INMLERNGER	WSADGLPWTY	итт такооом
HII	1	нкни ≥ка∰ұз	COFESTRIKVE	DÜRVWAYGYM	NIEDHSEYKI	GNSLOBFNAW	LKVQADLYF	HELEFDGAPE	INMLERNGER	WSADGLPWTY	итттака
M12	1	HKHMPRKNYS	COPETTKVE	DCKVWAYGYM	NIEDHSEYKI	GNSLDEFHAN	LKVQADLYF	HNLEFDGAFT	INMLERNGEN	WSADGLPWTY	HTTISKOOM
M13	1	икнирккогу 8	COPETTIEVE	DCKVWAYGYM	NIEDHSEYKI	GHSLOBFNAN	VIEWQADLYF	BRILKFOGAFT	INNLERNSFK	WSADSLPHTY	NETI SEEGON
M14	1	HKHMPRKNYS	COPETTKVE	DCRVWAYGYM	NIEDHSEYKI	GNSLDEFHAN	PLKYQADLYF	HULKFDSAFT	INMLERNGFK	WSADGLPWTY	HTIISHOOM
N15	1	икимерке∰ұя	COPERTRIE	DCRVWAYGYM	NIEDHSEYKI	GNSLDEFNAW	PLEVOLDLYF	HELEFDGAFT	INSILERNGFE	WSADGLPNTY	NTIISROOM
H16	1	икиирек уч	COPERTRIE	DCRVWAYGYM	NIEDHSEYKI	GNSLDEFNAW	TENOMOTAL.	HKLKFDGAPI	INSILERNGFE	WSADGLPRTY	HTIISPAGON
H17	1	HURMPROMYS	CDFETTIKVE	DCRVWAYGYN	MIEDHSEYKI	GNSLDEFNAN	PLEVOLDLYF	HELEFDSAFT	INMLERNGEN	WSADGLPSTY	NTIISROOM
N18	1	HIGHPRINYS	CDFETTIEVE	DÖRVWAYGYN	MIEDHSEYKI	GRSLDEFHAN	PLEVOLDLYF	HRLEFDSAFT	INWLERNGEN	WSADGLPSTY	NTIISROGOW
H19	1	HKHMPRIMYS	CDFETTIKVE	DÖRVWAYGYN	NIEDHSEYKI	GNSLDEFHAN	PLEVOADLYF	HRLEFDGAFT	THRUBERNGEN	WSADGLPNTY	NTITISPEGON
H20	1	икимерки∰ұз	CDRESTRIKVE	DÖRVWAYGYN	NIEDHSEYKI	GNSLDEFNAW	PLEVOADLYF	HNLKFDGAPT	INMLERNGEN	WSADGLPWTY	NETTSPEGON
H21	1	HKHMPRIMYS	COPERTIEVE	DÖRVWAYGYN	HIEDHSEYKI	GNSLDEFHAN	PLEVOADLYF	HNLEFDSAFT	INMLERNGEN	WSADGLPWTY	NTITSPOON
M22	1	HUDBPRINTS	CDFETTIKVE	DÖRVWAYGYN	NIRDHSEYKI	GNSLDEFNAN	ELKVOADLYF	HELEFDGAFT	INMLERNGEN	WSADGLPNTY	NTIISRAGOW
H23	1	MUMPROMYS	CDFETTIKVE	DCRVWAYGYN	MIRDHSRYKI	GNSLDEFNAN	BLKVQADLYF	HHLKFDGAFT	INWERRIGEN	WSADGLPSTY	NTIISRAGOW
M24	1	жимеже	CDFETTEVE	DÖRVWAYGYN	MIRDHSEYKI	GHISLDEFHAN	VIEWGADLYF	HHLEFDGAFI	INVLUENGER	WSADGLPHTY	NEITSRMGQW
N25	1	икимеек∰ұѕ	CDFERTIKVE	DCRVWAYGYN	MIEDHSEYKI	GHISLDEFMAN	VIEWQADLYF	HRLEFDGAYI	INWLERNGER	WSADGLPHTY	RTIISRMGQW
N26	1	MUMPROMYS	CDFETTIKVE	DCRVWAYGYN	NIEDHSEYKI	GRSLDEFNAN	PLHYQUELYF	HELKFDGAFT	INMLERNGEN	WSADGLPSTY	NETISEGOW
M27	1	икимпикатуру.	COURTTRVE	DERVKAYGYH	NIEDNSEYKI	CHSLOSIDIAN	VIEWGABLYF	BRILKFOGAFT	INVLERSIGEN	WSADGLPNTY	TIISPMGOW
M28	1	MKIDIFFROMYS	CDFETTIKVE	DÇRVKAYGYH	NIEDUSEYKI	GRSLDETMAN	PLKYQADLYF	HELEFDGAFT	INWLERNGIN	WSADGLPWTY	NTIISPOOM
N29	1	MKIDIFFRMYS	CDFETTIKVE	DERVKAYGYH	NIEDUSEYKI	CHSLDETMAN	ELKVOADLYF	HELEFDGAFT	INNLERNGIN	WSADGLPWTY	NTI ISPOOM
н30	1	HURMPRIMYS	CDFETTIKVE	DORVWAYGYM	HIEDHSEYKI	GNSLDEFNAN	PLHYQADLYF	HNLEFDSAFT	INMLERNGIN	WSADGLPBTY	NTIISPEGOW

wt	101	YMIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLRGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLKGFKD
м1	101	YMIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLKGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLK FKD
M2	101	YMIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLKGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLEDEKD
мз	101	YMIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLKGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLEDEKD
M4	101	YMIDIC SGYK	GKRKIHTVIY	DSSKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLKGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLKGFKD
м5	101	YMIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLRGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLKDFKD
м6	101	YMIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLKGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLEDFKD
м7	101	YMIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLKGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLKEKD
м8	101	YMIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLKGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLEDFKD
м9	101	YMIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLKGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLEDFKD
M10	101	YMIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLKGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLE_FKD
M11	101	YMIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLRGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLED FKD
M12	101	YMIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLKGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLK D FKD
M13	101		GKRKIHTVIY								
M14	101	YMIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPFPV	KKIAKDFKLT	VLKGDIDYHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLIQ	FKQGLDRMTA	GSDSLEDFKD
M15	101		GKRKIHTVIY								
M16	101		GKRKIHTVIY								
M17	101		GKRKIHTVIY								
M18	101		GKRKIHTVIY								
M19	101		GKRKIHTVIY								
M20	101		GKRKIHTVIY								
M21	101		GKRKIHTVIY								
M22	101		GKRKIHTVIY								
M23	101		GKRKIHTVIY								
M24	101		GKRKIHTVIY								
M25	101		GKRKIH <mark>T</mark> VIY								
M26	101		GKRKIHTVIY								
M27	101		GKRKIHTVIY								
M28	101		GKRKIHTVIY								
M29	101		GKRKIHTVIY								
м30	101	MIDICLGYK	GKRKIHTVIY	DSLKKLPEPV	KKIAKDFKLT	ATKCDIDAHK	ERPVGYKITP	EEYAYIKNDI	QIIAEALLEQ	FKQGLDRMTA	GSDSLKEFKD
wt	201	TTTTKKFKKV	PPTI.SI.GI.DK	EVRYAYRGGE	TWI.ND REKEK	ETGECMVEDV	NST.VPAOMVS	RIJPYCEPTV	FECKYVMDED	VPI.HTOHTRE	EFELKEGYTÉ
wt M1	201		FPTLSLGLDK								
м1	201	IITTKKFKEV	FPTLSLGLDK	VRYAYRGGE	TWLNDRFKEK	EIGEGMVFDV	nslypaqmys	RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRC	EFELKEGYIP
	201 201	IITTKKFK <mark>E</mark> V IITTKKFKKV	FPTLSLGLDK FPTLSLGLDK	KVRYAYRGGF KVRYAYRGGF	TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK	EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV	nslypaqmys nslypaqmys	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED FEGKYVWDED	YPLHIQHIRC	EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3	201 201 201	IITTKKFK <mark>S</mark> V IITTKKFKKV IITTKKFKKV	FPTLSLGLDK FPTLSLGLDK FPTLSLGLDK	VRYAYRGGF VRYAYRGGF VRYAYRGGF	TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK	EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV	nslypaomys nslypaomys nslypaomys	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED	Abrhiöhikc Abrhiöhikc Abrhiöhikc	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4	201 201 201 201	IITTKKFKEV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV	PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK	VRYAYRGGE VRYAYRGGE VRYAYRGGE EVRYAYRGGE	TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK TWLNDRFK <mark>E</mark> K	EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV	nslypaomys nslypaomys nslypaomys nslypaomys	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED	YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5	201 201 201 201 201	IITTKKFKEV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV	PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK	KVRYAYRGGE KVRYAYRGGE KVRYAYRGGE EVRYAYRGGE KVRYAYRGGE	TMLNDRFKEK TMLNDRFKEK TWLNDRFKEK TWLNDRFK <mark>E</mark> K TWLNDRFKEK	EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV	nslypaomys nslypaomys nslypaomys nslypaomys	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED	YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4	201 201 201 201	IITTKKFKEV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV	PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK	KVRYAYRGGF KVRYAYRGGF KVRYAYRGGF EVRYAYRGGF KVRYAYRGGF KVRYAYRGGF	TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK	EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV	NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED	YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6	201 201 201 201 201 201	IITTKKFKEV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV	PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK	MVRYAYRGGF KVRYAYRGGF KVRYAYRGGF EVRYAYRGGF MVRYAYRGGF KVRYAYRGGF KVRYAYRGGF	TMLNDRFKEK TMLNDRFKEK TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK TWLNDRFKEK	EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV	HSTABYOWAS HSTABYOWAS HSTABYOWAS HSTABYOWAS HSTABYOWAS	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED	YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6	201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFK©V IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFK©V IITTKKFKKV	PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK	VRYAYRGGF VRYAYRGGF VRYAYRGGF EVRYAYRGGF VRYAYRGGF VRYAYRGGF VRYAYRGGF VRYAYRGGF	THLINDRFKEK THLINDRFKEK THLINDRFKEK THLINDRFKEK THLINDRFKEK THLINDRFKEK THLINDRFKEK THLINDRFKEK THLINDRFKEK	EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV	NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED	YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7	201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFKD IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKD IITTKKFKD IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV	PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK	VRYAYRGGF VRYAYRGGF VRYAYRGGF EVRYAYRGGF VRYAYRGGF VRYAYRGGF VRYAYRGGF VRYAYRGGF VRYAYRGGF	THINDRFKEK	EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV	NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS NSLYPAOMYS	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED	YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8	201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFKD IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKD IITTKKFKD IITTKKFKD IITTKKFKD IITTKKFKKV IITTKKFKKV	PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK PPTLSLGLDK	WRYAYRGGF WRYAYRGGF WRYAYRGGF EVRYAYRGGF WRYAYRGGF WRYAYRGGF WRYAYRGGF WRYAYRGGF WRYAYRGGF WRYAYRGGF	THLNDRFKEK	EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV	NSLYPAQMYS NSLYPAQMYS NSLYPAQMYS NSLYPAQMYS NSLYPAQMYS NSLYPAQMYS NSLYPAQMYS NSLYPAQMYS NSLYPAQMYS	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRC	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFKDV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKDV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV	PPTLSLGLDK	WYRYRGGE WYRYRGGE WYRYRYRGGE EVRYAYRGGE WYRYRGGE WYRYRGGE WYRYRYRGGE WYRYAYRGGE WYRYRYGGE WYRYRYGGE WYRYRYGGE WYRYRYGGE	THINDRIFKEK	EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV EIGEGMVFDV	NSLYPAQMYS	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC YPLHIQHIRC	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFKV IITTKKFKKV	PPTLSLGLDK	VRYAYRGGF	TÄLNDRFKEK	EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY	NSLYPAOMYS	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYVWDED FEGKYWDED FEGKYWDED FEGKYWDED FEGKYWDED	YPLHIQHIRC	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFFKV IITTKKFKKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKFFKV IITTKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV	PPTLSLGLDK	VRYAYRGGE	THINDRIKEK TWILDDRIKEK TWINDRIKEK	EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY EIGEGMYFDY	NSLYPAQMYS	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED FEGKYWDED FEGKYWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFKEV IITTKKFKKV	FPTLSLGLDK	WRYAYRGGE	THINDRIKEK TWILDDRIKEK TWINDRIKEK	EIGEGMYFDY	NSLYPAQMYS	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRC	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFKEV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKEV IITTKKFKEV IITTKKFKKV IITTKKFKV IITTKKFKV IITTKKFKV IITTKKFKV IITTKKFKV IITTKKFKV IITTKKFKV IITTKKFKV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF WYRYAYRGGF EVRYAYRGGF EVRYAYRGGF WYRYAYRGGF EVRYAYRGGF	THINDRIKEK TWILDRIKEK	EIGEGMYEDY	NSLYPAOM'S	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRC	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFENV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFFKV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF WYRYAYRGGF EVRYAYRGGF WYRYAYRGGF	THINDRIKEK TWILDRIFEK TWINDRIFEK	EIGEGMYFDY	NSLYPAOM'S	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFKEV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFKKV IITTKKFFKKV IITTKKFFKKV IITTKKFFKKV IITTKKFFKKV IITTKKFFKKV IITTKKFFKKV IITTKKFFKKV	FPTLSLGLDK	WRYAYRGGE	THINDRIKEK TWILDDRIKEK TWILDDRIKEK TWILDDRIKEK TWILDDRIKEK TWILDDRIKEK TWILDDRIKEK TWILDDRIKEK TWILDRIKEK	EIGEGMYFDY	NSLYPAQMYS	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFKEV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKEV IITTKKFKEV IITTKKFKEV IITTKKFKV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF WYRYAYRGGF EVRYAYRGGF EVRYAYRGGF WYRYAYRGGF	THINDRIKEK TWILDRIKEK	EIGEGMYEDY	NSLYPAOM'S	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M18	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFKEV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKKV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF WYRYAYRGGF EVRYAYRGGF WYRYAYRGGF	THINDRIKEK TWILDRIKEK	EIGEGMYEDY	NSLYPAOM'S	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFELKEGYIP EFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP EFFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M112 M13 M14 M15 M16 M17 M18 M19 M20 M21	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFENV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFKKV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF WYRYAYRGGF EVRYAYRGGF EVRYAYRGGF WYRYAYRGGF	THINDRIKEK TWILDRIFEK	EIGEGMYFDY	NSLYPAOM'S	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M18 M19 M21 M22	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFKEV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKEV IITTKKFKEV IITTKKFKEV IITTKKFKEV IITTKKFKEV IITTKFFKEV IITTKKFFKEV IITTKKFFKEV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF WYRYAYRGGF EVRYAYRGGF EVRYAYRGGF WYRYAYRGGF	THINDRIKEK TWILDRIKEK	EIGEGMYEDY	NSLYPAOM'S	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M17 M18 M19 M20 M21 M22 M23	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKKFFKV IITTKFFKV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF WYRYAYRGGF EVRYAYRGGF WYRYAYRGGF	THINDRIFEK TWILDRIFEK TWINDRIFEK	EIGEGMYEDY	NSLYPAOM'S	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M18 M19 M18 M19 M10 M12 M12 M12 M12 M13 M14 M15 M16 M16 M17 M10 M10 M10 M10 M10 M10 M10 M10 M10 M10	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFKEV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFFKV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF	THINDRIKEK TWILDRIFEK	EIGEGMYFDY	NSLYPAOM'S	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M18 M19 M20 M21 M22 M23 M24 M25	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFKEV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKEV IITTKKFKEV IITTKKFKEV IITTKKFKEV IITTKKFKEV IITTKFFKEV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF WYRYAYRGGF EVRYAYRGGF EVRYAYRGGF WYRYAYRGGF	THINDRIKEK TWILDRIKEK	EIGEGMYEDY	NSLYPAOM'S	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M17 M16 M17 M19 M20 M21 M22 M23 M24 M25 M26	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFKEV IITTKKFKKV IITTKKFKKV IITTKKFKEV IITTKKFKEV IITTKKFKEV IITTKKFKKV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF WYRYAYRGGF EVRYAYRGGF EVRYAYRGGF WYRYAYRGGF	THINDRYKEK TWILDRYKEK	EIGEGMYEDY	NSLYPAOM'S	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M17 M18 M19 M20 M21 M22 M22 M23 M24 M25 M27	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFFKV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF	THINDRIKEK TWILDRIFEK TWINDRIFEK	EIGEGMYPDY	NSLYPAQMYS	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M18 M19 M20 M21 M21 M22 M23 M24 M25 M27 M28	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFERV IITTKKFERV IITTKKFERV IITTKKFERV IITTKKFERV IITTKKFERV IITTKFFERV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF WYRYAYRGGF EVRYAYRGGF EVRYAYRGGF WYRYAYRGGF EVRYAYRGGF EVRYAYRGGF EVRYAYRGGF EVRYAYRGGF EVRYAYRGGF WYRYAYRGGF	THINDRIKEK TWILDRIKEK	EIGEGMYEDY	NSLYPAOM'S	RLLPYGEPIV RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M17 M18 M19 M20 M21 M20 M22 M23 M24 M25 M26 M27 M26 M27 M27 M28	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFFKV IITTKFFKV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF	THINDRYKEK TWILDRYKEK	EIGEGNYEDY	NSLYPAOM'S	RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M18 M19 M20 M21 M21 M22 M23 M24 M25 M27 M28	201 201 201 201 201 201 201 201 201 201	IITTKKFFKV IITTKFFKV	FPTLSLGLDK	WYRYAYRGGF	THINDRYKEK TWILDRYKEK	EIGEGNYEDY	NSLYPAOM'S	RLLPYGEPIV	FEGKYVWDED	YPLHIQHIRG	EFELKEGYIP

wt	301	TIQIKRSRFY	KGNEYLKSSG	GEIADLWLSN	VDLELMKEHY	DLYNVEYISG	LKFKATTGLF	KDFIDKWTYI	KTTSEGAIKQ	LAKLMLNSLY	GKFASNPDVT
М1	301	TIQIKRSRFY	KGNEYLKSSG	GEIADLWLSN	VDLELMKEHY	DLYNVEYISG	LKFKATTGLF	KDFIDKWTYI	KTTSEGAIKQ	LAKLMLNSLY	GKFASNPDVT
M2	301					DLYNVEYISG					
мз	301					DLYNVEYISG					
M4	301					DLYNVEYISG					
м5	301					DLYNVEYISG					
м6	301					DLYNVEYISG					
м7	301					DLYNVEYISG					
м8	301					DLYNVEYISG					
м9	301					DLYNVEYISG					
M10	301					DLYNVEYISG					
M11	301					DLYNVEYISG					
M12	301					DLYNVEYISG					
M13 M14	301 301					DLYNVEYISG DLYNVEYISG					
M14 M15	301					DLYNVEYISG					
M16	301					DLYNVEYISG					
M17	301					DLYNVEYISG					
M18	301					DLYNVEYISG					
M19	301					DLYNVEYISG					
M20	301					DLYNVEYISG					
M21	301					DLYNVEYISG					
M22	301					DLYNVEYISG					
M23	301					DLYNVEYISG					
M24	301					DLYNVEYISG					
M25	301					DLYNVEYISG					
M26	301					DLYNVEYISG					
M27	301					DLYNVEYISG					
M28	301	TIQIKRSRFY	KGNEYLKSSG	GEIADLWLSN	VDLELMKEHY	DLYNVEYISG	LKFKATTGLE	KDFIDKWTYI	KTTSEGAIKQ	LAKIMLNSLY	GKFASNPDVT
M29	301	TIQIKRSRFY	KGNEYLKSSG	GEIADLWLSN	VDLELMKEHY	DLYNVEYISG	LKFKATTGLF	KDFIDKWTYI	KTTSEGAIKQ	LAKLMLNSLY	GKFASNPDVT
м30	301	TIQIKRSRFY	KGNEYLKSSG	GEIADLWLSN	VDLELMKEHY	DLYNVEYISG	LKFKATTGLF	KDFIDKWTYI	KTTSEGAIKQ	LAKLMLNSLY	GKFASNPDVT
	401	évinyi vena	ATOENI CEEE	mgo or amore	terrir ma tra parm	mima a Oassan	DITTOSMECT	Fit mome t pour	TWOTIMOPWE	Christian Children	DARKI BARIN
wt	401					TITAAQACYD					
M1	401	GKVPYLKENG	ALGFRLGEEE	TKDPVYTPMG	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYCDTDSI	HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL	GYWAHESTFK	rakyl e kty
M1 M2	401 401	GKVPYLKENG GKVPYLKENG	ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE	TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG	VFITAWARYT VFITAWARYT	TITAAQACYD TITAAQACYD	RII¥CDTDSI RII¥CDTDSI	HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL	GYWAHESTFK GYWAHESTFK	rakyle <mark>e</mark> kty rakyle <mark>e</mark> kty
M1 M2 M3	401 401 401	GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG	ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE	TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG	VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT	TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD	RIIÝCDTDSI RIIÝCDTDSI RIIÝCDTDSI	HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKI IKDIVDPKKI IKDIVDPKKI	GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK	RAKYLP <mark>E</mark> KTY RAKYLP <mark>E</mark> KTY RAKYLP <mark>E</mark> KTY
M1 M2 M3 M4	401 401 401 401	GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG	ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE	TEDPVYTPMG TEDPVYTPMG TEDPVYTPMG TEDPVYTPMG	VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT	TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI	HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIADЬKKT IKDIADЬKKT IKDIADЬККТ	GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK	RAKYLAEKTY RAKYLAEKTY RAKYLAEKTY RAKYLAEKTY
M1 M2 M3	401 401 401 401 401	GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG	ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE	TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG	VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT	TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI	HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIADŁSKI IKDIADŁSKI IKDIADŁKKI IKDIADŁKKI	GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK	RAKYLAEKTY RAKYLAEKTY RAKYLAEKTY RAKYLAEKTY RAKYLAGKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6	401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG	ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE	TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG	VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT	TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI	HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKI IKDIVDPKKI IKDIVDPKKI IKDIVDPKKI IKDIVDPKKI IKDIVDPKKI	GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK	RAKYLEEKTY RAKYLEEKTY RAKYLEEKTY RAKYLEEKTY RAKYLEEKTY RAKYLEEKTY
M1 M2 M3 M4 M5	401 401 401 401 401	GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG	ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE ALGFRLGEEE	TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG TKDPVYTPMG	VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT	TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI	HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPRKI IKDIVDPRKI IKDIVDPRKI IKDIVDPRKI IKDIVDPRKI IKDIVDPRKI IKDIVDPRKI IKDIVDPRKI IKDIVDPRKI IKDIVDPRKI IKDIVDPRKI	GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK	RAKYLEEKTY RAKYLEEKTY RAKYLEEKTY RAKYLEEKTY RAKYLEEKTY RAKYLEEKTY RAKYLEEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7	401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE	TEDEVYTPMG TEDEVYTPMG TEDEVYTPMG TEDEVYTPMG TEDEVYTPMG TEDEVYTPMG TEDEVYTPMG TEDEVYTPMG TEDEVYTPMG	VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT VFITAWARYT	TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI	HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL	GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK	RAKYLE KTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7	401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE ALGFRIGEEE	TEDEVYTPMG	VFITAWARYT	TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD	RIIYCDTDSI	HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL	GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK GYWAHESTFK	RAKYLETKTY RAKYLETKTY RAKYLETKTY RAKYLETKTY RAKYLETKTY RAKYLETKTY RAKYLETKTY RAKYLETKTY RAKYLETKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8	401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG	ALGFRLGEEE	TED PVYTPMG	VFITAWARYT	TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI	HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKI.	GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK	RAKYLECKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVITPMG	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI	ALTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV	IKDIVDPKKI	GYWARESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK	RAKYLE-KTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVYTPMG	VFITAWARYT	TITANQACYD	RIIYODTSI RIIYODTSI RIIYODTSI RIIYODTSI RIIYODTSI RIIYODTSI RIIYODTSI RIIYODTSI RIIYODTSI RIIYODTSI RIIYODTSI RIIYODTSI RIIYODTSI	ALTGTEIPDV ALTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL IKDIVDPKKL IKDIVDPEKL IKDIVDPEKL IKDIVDPKKL	GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKUPYLKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVITING	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI RIIYCDTDSI	ALTGTEIPDV ALTGTEIPDV ALTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL	GYWARESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK GYWAHESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYIKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVYTPMG	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYODTSI	BLTGTEIPDV RLTGTEIPDV RLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL	GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVYTPMG	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYODTSI	BLTGTEIPDV ÉLTGTEIPDV HLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKI IKDIVDPKI IKDIVDPKI IKDIVDPKI IKDIVDRI IKD	GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYIKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVYTPMG	VFITAWARYT	TITAAQAÇYD	RIIYODTSI	BLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL	GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVYTPMG	VFITAWARYT	TITAAQACTD	RIIYODTSI	BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL	GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M18	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVYTPMG	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYODTSI	BLTGTEIPDV ÉLTGTEIPDV HLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL	GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M17 M18	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVITING	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTSI	BLTGTEIPDV ÄLTGTEIPDV HLTGTEIPDV BLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL	GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M18 M18	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKUPYIKENG	ALGFRIGEEE	TED PVYTPMG TED PV	VFITAWARYT	TITAQAÇYD TITAAQAÇYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTSI	BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL	GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M18 M19 M20 M21 M22	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVYTPMG	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTSI RIIYCDTSSI	BLTGTEIPDV GLTGTEIPDV HLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL	GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M16 M17 M18 M19 M20 M21 M22 M23	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVYTPMG	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTSI	BLTGTEIPDV ÉLTGTEIPDV HLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL	GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M18 M19 M20 M21 M21 M22 M23	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TED PVYTPMG TED PV	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTSSI RIIYCDTDSI	BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV	IKDIVDPKKI IKDIVDPKI IKDI IKDIVDPKI IKDIVDPKI IKDIVDPKI IKDIVDPKI IKDIVDPKI IKDIVDPKI IKDIV IKDIVDPKI IKDIVDPK	GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M18 M19 M20 M21 M22 M23 M23 M25	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVYTPMG	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTSSI	BLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV GLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL IKDIVDPKCL IKDIVDPKKL IKDIVDPKC IKDIVDR IKDIV	GYWAHESTEK GYWAHESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M18 M19 M20 M21 M20 M21 M22 M23 M24 M25 M26 M26	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVYTPMG	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTSI	BLTGTEIPDV ÉLTGTEIPDV HLTGTEIPDV BLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL	GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M15 M16 M17 M18 M19 M21 M22 M24 M25 M26 M27	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TED PVYTPMG TED PV	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTSI	BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL	GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M15 M16 M17 M18 M19 M20 M21 M20 M21 M22 M23 M24 M25	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVYTPMG	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYODTSI	BLTGTEIPDV GLTGTEIPDV GLTGTEIPDV BLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL IKDIVDPKL	GYWAHESTEK GYWAHESTEK	RAKYLEKTY
M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8 M9 M10 M11 M12 M13 M14 M19 M20 M21 M22 M23 M24 M25 M26 M27 M28 M26 M27 M28 M26 M27 M28 M26 M27 M28	401 401 401 401 401 401 401 401 401 401	GKVPYLKENG	ALGFRIGEEE	TEDPVITING	VFITAWARYT	TITAAQACYD	RIIYCDTDSI RIIYCDTSI	BLTGTEIPDV ÉLTGTEIPDV ÉLTGTEIPDV BLTGTEIPDV BLTGTEIPDV HLTGTEIPDV	IKDIVDPKKL IKDIVDR IKDIV	GYWARESTEK GYWARESTEK	RAKYLEKTY

wt	501	IQDIYMKEVD	GKLVEGSPDD	YTDIKFSVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
м1	501	IQDIYMKEVD	GLVEGSPDD	YTDIK <mark>I</mark> SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TETIK
M2	501	IQDIYMKEVD	GLVEGSPDD	YTDIK SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TETIK
мз	501	IQDIYMKEVD	GLVEGSPDD	YTDIK SVK	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TETIK
м4	501	IQDIYMKEVD	GKLVEGSPDD	YTDIK SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRRMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
M 5	501	IQDIYMKEVD	GKLV <u>∓</u> GSPDD	YTDIK SVKC	AGMT DKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIKQT
м6	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIK <mark>I</mark> SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TETIK
м7	501	IQDIYMKEVD	G_LVEGSPDD	YTDIK SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
8M	501	IQDIYMKEVD	GLVEGSPDD	YTDIKISVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
м9	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIK SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TETIK
M10	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIK <mark>I</mark> SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
M11	501	IQDIYMKEVD	GKLTAGSPDD	YTDIKFSVKC	AGMEDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTDR
M12	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIK SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TETIK
M13	501	IQDIYMKEVD	GKL <mark>TA</mark> GSPDD	YTDIKFSVKC	AGMEDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TETER
M14	501	IQDIYMKEVD	GKLTAGSPDD	YTDIKFSVKC	AGMEDRIKKE	VTFENFKVGF	SRKMRPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIR
M15	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIK <mark>O</mark> SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
M16	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIK	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
M17	501	IQDIYMKEVD	GLVEGSPDD	YTDIKUSVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TETIK
м18	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIKISVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
M19	501	IODIAWKEAD	GELVEGSPDD	YTDIK	AGMT DKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
M20	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIK SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
M21	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIK SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TETIK
M22	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIK <mark>I</mark> SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TETIK
M23	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIK <mark>T</mark> SVKC	AGMT DKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TETIK
M24	501	IQDIYMKEVD	GKLVEGSPDD	YTDIK	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRRMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
M25	501	IQDIYMKEVD	GKL <mark>TA</mark> GSPDD	YTDIKFSVKC	AGMEDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
M26	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIK <mark>I</mark> SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TETIK
M27	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIK <mark>I</mark> SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
M28	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIKUSVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
M29	501	IQDIYMKEVD	GELVEGSPDD	YTDIK	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK
M30	501	IQDIYMKEVD	GLVEGSPDD	YTDIK SVKC	AGMTDKIKKE	VTFENFKVGF	SRKMKPKPVQ	VPGGVVLVDD	TFTIK

FIG. 3A-F. Comparación de la vida media (T1/2) de las actividades entre las variantes de tipo salvaje y mutantes de la ADN polimerasa de phi29

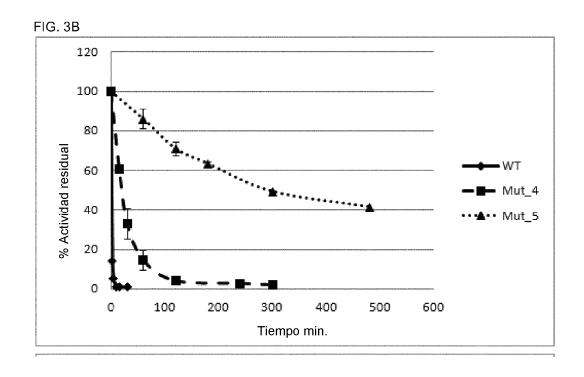


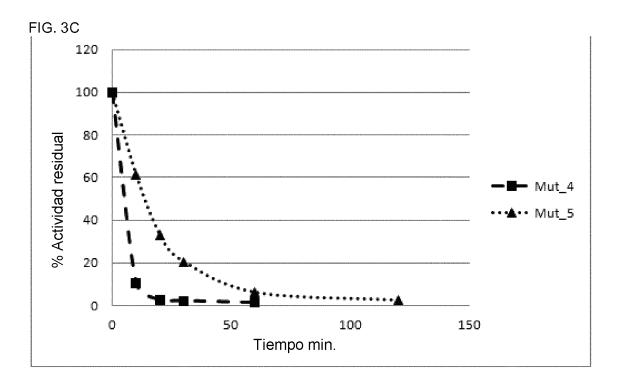
Tiempo min.

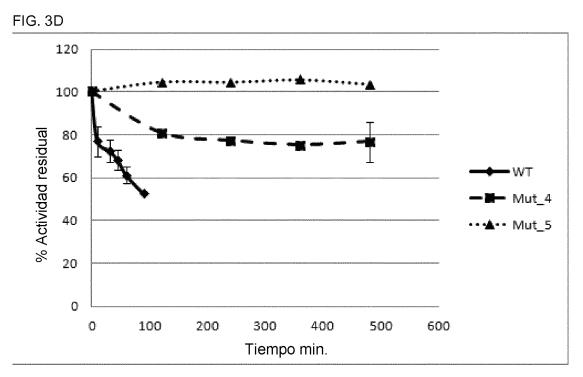
400

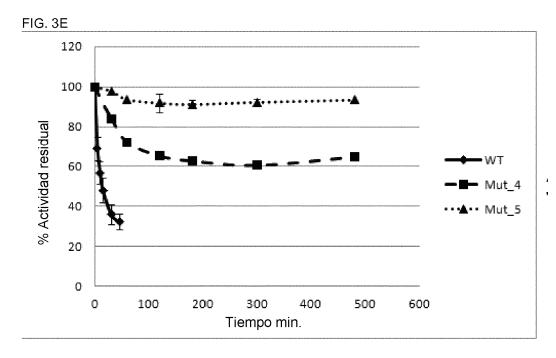
500

600









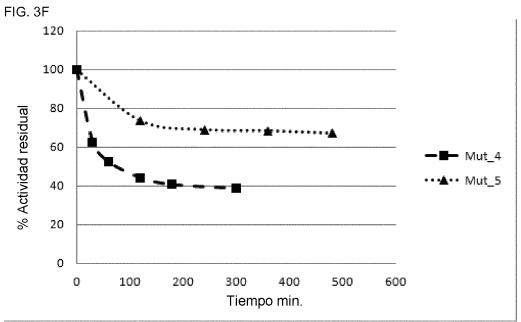


FIG. 4A-B. Comparación de la vida media (T1/2) de las actividades entre las variantes de tipo salvaje y mutantes que contienen mutaciones únicas G197D, E221K

FIG. 4A

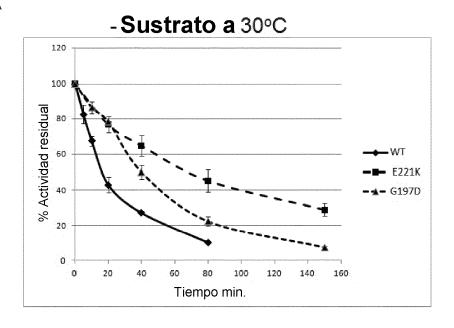


FIG. 4B

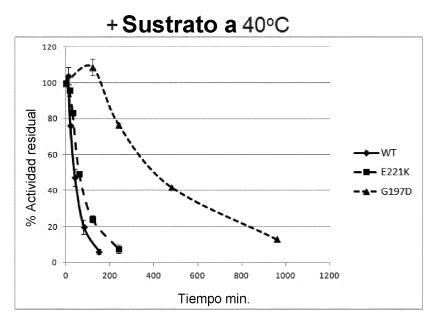


FIG. 5A-C. Comparación de la eficacia de MDA entre variantes de tipo salvaje y mutantes de ADN polimerasa de phi29

FIG. 5A

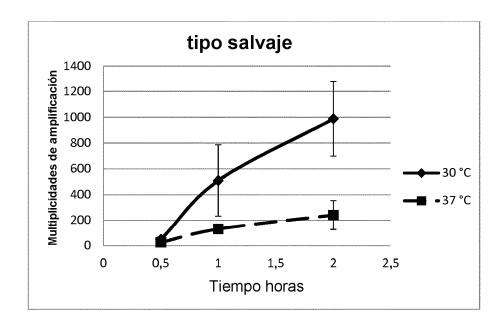


FIG. 5B

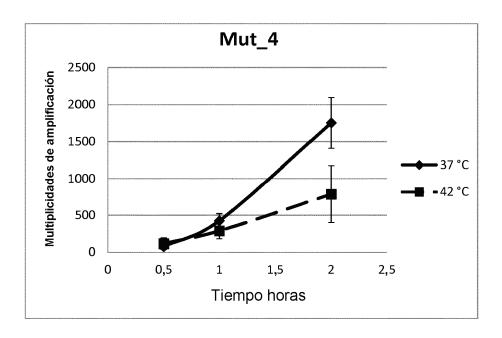


FIG. 5C

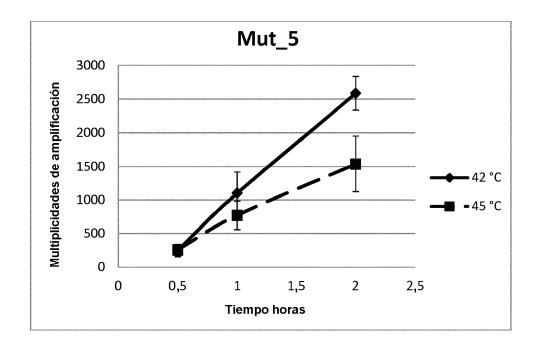


FIG. 6. Uniformidad de cobertura

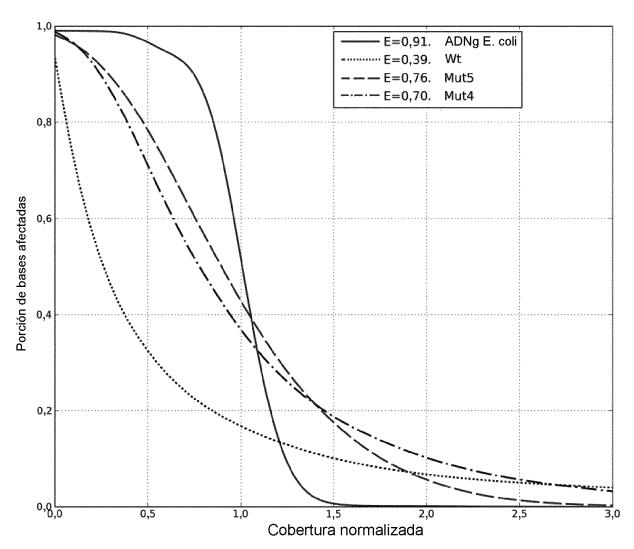


FIG. 7. Contenido de CG de las secuencias leídas

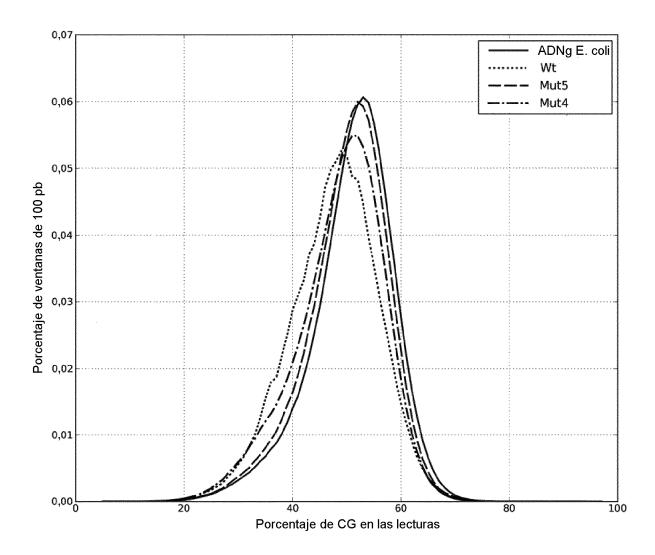


FIG. 8. Análisis de unión a ADN de mutantes de polimerasa de phi29

