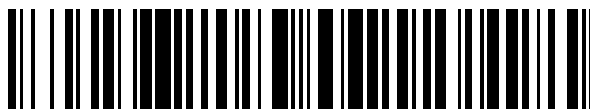


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 579 806**

51 Int. Cl.:

A61K 38/00	(2006.01)	C12N 15/62	(2006.01)
A61K 38/46	(2006.01)		
C07K 14/47	(2006.01)		
C12N 1/06	(2006.01)		
C12N 9/36	(2006.01)		
C12N 9/50	(2006.01)		
A61K 38/47	(2006.01)		
A61L 2/00	(2006.01)		
C07K 14/005	(2006.01)		
C12N 15/52	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.06.2010** **E 10730139 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.04.2016** **EP 2445515**

54 Título: **Agentes antimicrobianos**

30 Prioridad:

26.06.2009 EP 09163953

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

16.08.2016

73 Titular/es:

**KATHOLIEKE UNIVERSITEIT LEUVEN, K.U.
LEUVEN R&D (50.0%)
Minderbroedersstraat 8a, bus 5105
3000 Leuven, BE y
LYSANDO AG (50.0%)**

72 Inventor/es:

**LAVIGNE, ROB;
MILLER, STEFAN;
BRIERS, YVES;
VOLCKAERT, GUIDO y
WALMAGH, MAARTEN**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 579 806 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Agentes antimicrobianos

La presente invención se refiere a agentes antimicrobianos frente a bacterias Gram negativas, en particular, a proteínas de fusión compuestas de una enzima que tiene la actividad de degradar la pared celular de las bacterias Gram negativas y un tramo peptídico adicional fusionado a la enzima en el extremo N o C. Además, la presente invención se refiere a moléculas de ácido nucleico que codifican dicha proteína de fusión, a vectores que comprenden dichas moléculas de ácido nucleico y a células huésped que comprenden cualquiera de dichas moléculas de ácido nucleico o dichos vectores. Además, la presente invención se refiere a dicha proteína de fusión para su uso como un medicamento, en particular, para el tratamiento o la prevención de infecciones bacterianas Gram negativas, como medio de diagnóstico o como sustancia cosmética. La presente invención también se refiere al tratamiento o a la prevención de contaminación bacteriana Gram negativa de productos alimentarios, de los equipos de procesamiento de alimentos, de plantas de procesamiento de alimentos, de las superficies que entran en contacto con productos alimentarios, de dispositivos médicos, de superficies de hospitales y quirófanos. Además, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas o cosméticas que comprenden dicha proteína de fusión.

Las bacterias Gram negativas poseen una membrana externa, con su característica bicapa asimétrica distintiva. La bicapa de la membrana externa consiste en una monocapa interna que contiene fosfolípidos (principalmente fosfatidil etanolamina) y una monocapa externa que está principalmente compuesta por un solo glicolípido, lipopolisacárido (LPS). En el reino de las bacterias, existe una inmensa diversidad de estructuras de LPS, y la estructura de LPS se puede modificar en respuesta a las condiciones ambientales reinantes. La estabilidad de la capa de LPS y la interacción entre diferentes moléculas de LPS se consigue principalmente por la interacción electrostática de iones divalentes (Mg^{2+} , Ca^{2+}) con los componentes aniónicos de la molécula de LPS (grupos fosfato del lípido A y el núcleo interno y grupos carboxilo de KDO). Además, la compactación densa y ordenada del resto hidrófobo del lípido A, favorecida por la ausencia de ácidos grasos insaturados, forma una estructura rígida con alta viscosidad. Esto le hace menos permeable a moléculas lipófilas y confiere estabilidad adicional a la membrana externa (ME).

Se conocen diversos tipos de agentes que tienen actividad bactericida o bacteriostática, por ejemplo, antibióticos, endolisinas, péptidos antimicrobianos y defensinas. No obstante, cada vez más, la resistencia microbiana a los antibióticos está creando dificultades en el tratamiento de cada vez más infecciones causadas por bacterias. En concreto, surgen dificultades con las infecciones causadas por las bacterias Gram negativas como *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacteriaceae*.

Las endolisinas son peptidoglicano hidrolasas codificadas por bacteriófagos (o virus bacterianos). Se sintetizan durante la expresión génica tardía en el ciclo lítico de multiplicación de los fagos, y median la liberación de los viriones de la progenie de las células infectadas a través de la degradación del péptidoglicano bacteriano. Son bien $\beta(1,4)$ -glicosidasas (lisozimas), transglicosidasas, amidasas o endopeptidasas. Ya se sugirió la aplicación antimicrobiana de las endolisinas en 1991 por parte de Gasson (documento GB2243611). Aunque la capacidad destructora de las endolisinas se conoce desde hace mucho tiempo, el uso de estas enzimas como agentes antibacterianos se ignoraba debido al éxito y al predominio de los antibióticos. Solo fue tras la aparición de bacterias resistentes a múltiples antibióticos que este sencillo concepto de combatir patógenos humanos con endolisinas cobró interés. Surgió una necesidad apremiante de desarrollar clases de agentes antibacterianos totalmente nuevas y las endolisinas usadas como “enzibióticos” - un término híbrido entre “enzimas” y “antibióticos” - cubrió perfectamente esta necesidad. En 2001, Fischetti *et al* demostraron por primera vez el potencial terapéutico de la endolisina del bacteriófago CI contra los estreptococos del grupo A (Nelson *et al.*, 2001). Desde entonces, muchas publicaciones han establecido a las endolisinas como una alternativa atractiva y complementaria para el control de las infecciones bacterianas, particularmente las producidas por bacterias Gram positivas. Posteriormente, diferentes endolisinas contra otros patógenos Gram positivos, tales como *Streptococcus pneumoniae* (Loeffler *et al.*, 2001), *Bacillus anthracis* (Schuch *et al.*, 2002), *S. agalactiae* (Cheng *et al.*, 2005) y *Staphylococcus aureus* (Rashel *et al*, 2007) han demostrado su eficacia como enziantibióticos. Actualmente, el reto más importante de la terapia con endolisinas reside en la insensibilidad de las bacterias Gram negativas hacia la acción exógena de las endolisinas, pues la membrana externa blindada el acceso de las endolisinas del peptidoglicano. Esto normalmente impide la expansión de una selección de endolisinas eficaces contra importantes patógenos Gram negativos. El documento WO 2005/108563 desvela la lisis de *E. coli* usando una fusión de gp61/STM0016.

Los péptidos antimicrobianos (AMP) representan una amplia selección de antibióticos peptídicos codificados por genes, cortos, catiónicos, que se pueden encontrar en casi todos los organismos. Los diferentes AMP muestran propiedades diferentes, y muchos péptidos de esta clase se están investigando intensamente no solo como antibióticos, sino también como moldes para péptidos penetrantes en células. A pesar de compartir algunas características comunes (por ejemplo, carácter catiónico, anfipaticidad y longitud corta), las secuencias de AMP varían mucho, y se han propuesto al menos cuatro grupos estructurales (α -helicoidal, lámina β , extendidos y en bucle) para dar cabida a la diversidad de las configuraciones observadas de los AMP. Del mismo modo, se han propuesto varios modos de acción como antibióticos, y se demostró, por ejemplo, que la diana principal de muchos

de estos péptidos es la membrana celular, mientras que para otros péptidos, la diana principal es la invasión citoplasmática y la interrupción de las funciones metabólicas básicas. Los AMP se pueden concentrar lo suficiente como para mostrar actividad cooperativa a pesar de la ausencia de unión a la diana específica; por ejemplo, mediante la formación de un poro en la membrana, como es el caso de la mayoría de los AMP. Sin embargo, este fenómeno solo se ha observado en bicapas de fosfolípidos modelo, y en algunos casos, para que tuvieran lugar estos acontecimientos, se requirieron concentraciones de AMP en la membrana tan elevadas como una molécula de péptido por seis moléculas de fosfolípidos. Estas concentraciones están cerca de, si no en, la saturación de toda la membrana. Dado que la concentración inhibidora mínima (CIM) para los AMP normalmente está en el intervalo micromolar inferior, comprensiblemente, ha surgido el escepticismo en cuanto a la relevancia de estos umbrales y de su importancia *in vivo* (Melo *et al.*, *Nature Reviews, Microbiology*, 2009, 245).

Las defensinas son una gran familia de péptidos antimicrobianos ricos en cisteína y arginina pequeños, catiónicos, que se encuentra tanto en vertebrados como en invertebrados. Las defensinas se dividen en cinco grupos de acuerdo con el patrón de espaciado de las cisteínas: plantas, invertebrados, α -, β -, y θ -defensinas. Las tres últimas se encuentran principalmente en los mamíferos, las α -defensinas son proteínas que se encuentran en los neutrófilos y los epitelios intestinales. Las β -defensinas son las más ampliamente distribuidas, y son secretadas por los leucocitos y las células epiteliales de muchos tipos. Las θ -defensinas rara vez se han encontrado hasta ahora, por ejemplo, en los leucocitos de macacos rhesus. Las defensinas son activas contra bacterias, hongos y muchos virus con envoltura y sin envoltura. Sin embargo, las concentraciones necesarias para exterminar eficazmente las bacterias son principalmente altas, es decir, en el intervalo de μ -molar. La actividad de muchos péptidos se puede limitar en presencia de condiciones fisiológicas salinas, cationes divalentes y suero. Dependiendo del contenido de restos de aminoácidos hidrófobos, las defensinas también muestran actividad hemolítica.

Por lo tanto, existe la necesidad de nuevos agentes antimicrobianos.

Este objetivo se consigue con la materia objeto definida en las reivindicaciones.

El término "proteína", como se usa en el presente documento, se refiere al sinónimo de "polipéptido". El término "proteína", como se usa en el presente documento, se refiere a un polímero lineal de restos de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos en una secuencia específica. Los restos de aminoácidos de una proteína se pueden modificar, por ejemplo, mediante uniones covalentes de diversos grupos tales como hidratos de carbono y fosfato. Otras sustancias se pueden asociar más débilmente con las cadenas polipeptídicas, tales como hemo o lípidos, dando lugar a proteínas conjugadas, que también se incluyen en el término "proteína" como se usa en el presente documento. Se han dilucidado los diversos modos en que se pliegan las cadenas polipeptídicas, particularmente con respecto a la presencia de hélices alfa y láminas beta plegadas. El término "proteína", como se usa en el presente documento, se refiere a las cuatro clases de proteínas que son todas alfa, todas beta, alfa/beta y alfa más beta. Además, el término "proteína" se refiere a un complejo, refiriéndose el complejo a un homómero.

La expresión "proteína de fusión", como se usa en el presente documento, se refiere a un producto de expresión resultante de la fusión de dos secuencias de ácido nucleico. Dicha proteína se puede producir, por ejemplo, en sistemas de expresión de ADN recombinante. Además, la expresión "proteína de fusión", como se usa en el presente documento, se refiere a una fusión de una primera secuencia de aminoácidos, como, por ejemplo, una enzima, con una segunda o más secuencias de aminoácidos. La segunda o más secuencias de aminoácidos se puede definir como un dominio o cualquier tipo de tramo peptídico. Preferentemente, dicha segunda y/o más secuencias de aminoácidos es foránea a, y esencialmente no homóloga con, cualquier dominio de la primera secuencia de aminoácidos.

La expresión "tramo peptídico", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier tipo de péptido unido a una proteína tal como una enzima.

El término "péptido", como se usa en el presente documento, se refiere a polipéptidos cortos que consisten de aproximadamente 2 a aproximadamente 100 restos de aminoácidos, más preferentemente de aproximadamente 4 a aproximadamente 50 restos de aminoácidos, más preferentemente de aproximadamente 5 a 30 restos de aminoácidos, en el que el grupo amino de un resto de aminoácido está unido al grupo carboxilo de otro resto de aminoácido mediante un enlace peptídico. Un péptido puede tener una función específica. Un péptido puede ser un péptido de origen natural o puede ser un péptido producido y diseñado sintéticamente. El péptido puede, por ejemplo, derivar o extraerse de una proteína natural por escisión enzimática o química, o puede prepararse usando técnicas de síntesis de péptidos convencionales (por ejemplo, síntesis en fase sólida) o técnicas de biología molecular (véase Sambrook, J. *et al.*, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (1989)). Los ejemplos de péptidos de origen natural son los péptidos antimicrobianos, defensinas, péptidos sushi. Los ejemplos de péptidos producidos sintéticamente son péptidos policatiónicos, anfipáticos o hidrófobos. Un péptido en el sentido de la presente invención no se refiere a marcadores de His, marcadores de Strep, tiorredoxina ni proteínas de unión a maltosa (MBP) o similares, que se usan para purificar o localizar proteínas.

- El término "endolisina", como se usa en el presente documento, se refiere a una enzima que es adecuada para hidrolizar las paredes celulares bacterianas. Las "endolisinas" comprenden de al menos un "dominio enzimáticamente activo" (DEA) que tiene al menos una de las siguientes actividades: endopeptidasa, quitinasa, muraminidasa de tipo T4, muraminidasa de tipo lambda, *N*-acetil-muramoil-L-alanina amidasa (amidasa), muramoil-L-alanina amidasa, muramidasa, transglicosilasa lítica (C), transglicosilasa lítica (M), *N*-acetil-muramidasa, *N*-acetil-glucosaminidasa (lisozima) o transglicosilasas como, por ejemplo, KZ144 y EL188. Además, las endolisinas también pueden contener regiones que son enzimáticamente inactiva, y unirse a la pared celular de la bacteria huésped, los denominados CBD (dominios de unión a la pared celular).
- El término "DEA", como se usa en el presente documento, se refiere al dominio enzimáticamente activo de una endolisina. El DEA es responsable de hidrolizar los peptidoglicanos bacterianos. Presenta al menos una actividad enzimática de una endolisina. El DEA también puede estar compuesto por más de un módulo enzimáticamente activo.
- El término "autolisinas" se refiere a enzimas relacionadas con las endolisinas, pero codificadas por bacterias e implicadas, por ejemplo, en la división celular. En "Bacterial peptidoglycan (murein) hydrolases". Vollmer W., Joris B., Charlier P., Foster S. FEMS Microbiol Rev. Marzo de 2008; 32(2): 259-86, se puede encontrar una revisión general sobre las autolisinas.
- El término "bacteriocina", como se usa en el presente documento, se refiere a sustancias de tipo proteína, de tipo polipéptido o de tipo péptido que son capaces de inhibir el crecimiento de otras bacterias. Preferentemente, dicha inhibición se realiza específicamente por medio de la absorción de dichas otras bacterias a receptores específicos de la bacteriocina. En general, las bacteriocinas son producidas por microorganismos. Sin embargo, el término "bacteriocina", como se usa en el presente documento, se refiere tanto a una forma aislada por un microorganismo como a una forma producida sintéticamente, y también se refiere a variantes que conservan esencialmente las actividades de sus bacteriocinas precursoras, pero cuyas secuencias se han modificado por inserción o delección de uno o más restos de aminoácidos.
- La expresión "péptido antimicrobiano" (AMP), como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier péptido que tiene actividad microbiocida y/o microbiostática. Por lo tanto, la expresión "péptido antimicrobiano", como se usa en el presente documento, se refiere en particular a cualquier péptido que tenga actividad antibacteriana, antifúngica, antimicótica, antiparasitaria, antiprotozoaria, antiviral, antiinfecciosa, antiinfectiva y/o propiedades germicidas, algicidas, amebicidas, microbiocidas, bactericidas, fungicidas, parasiticidas y protozocidas.
- El término "defensina", como se usa en el presente documento, se refiere a un péptido presente en animales, preferentemente en mamíferos, más preferentemente en seres humanos, en el que la defensina desempeña un papel en el sistema de defensa innato del huésped como la destrucción de sustancias foráneas tales como bacterias infecciosas y/o virus infecciosos y/u hongos. Una defensina es un microbicida no de anticuerpo y/o una proteína, péptido o polipéptido tumorocida. Los ejemplos de "defensinas" son "defensinas de mamíferos", alfa-defensinas, beta-defensinas, indolicidina y magaininas. El término "defensinas", como se usa en el presente documento, se refiere tanto a una forma aislada de células animales o a una forma producida sintéticamente, y también se refiere a las variantes que conservan esencialmente las actividades citotóxicas de sus proteínas precursoras, pero cuyas secuencias han sido modificadas por inserción o delección de uno o más restos de aminoácidos.
- La expresión "péptido sushi", como se usa en el presente documento, se refiere a proteínas de control del complemento (PCC) que tienen repeticiones de consenso cortas. El módulo sushi de los péptidos sushi funciona como un dominio de interacción proteína-proteína en muchas proteínas diferentes. Los péptidos que contienen un dominio sushi han demostrado tener actividad antimicrobiana.
- Como se usa en el presente documento, la expresión "péptido catiónico" se refiere a un péptido que tiene restos de aminoácidos cargados positivamente. Preferentemente, un péptido catiónico tiene un valor de pKa de 9,0 o superior. Por lo general, al menos cuatro de los restos de aminoácidos del péptido catiónico pueden estar cargados positivamente, por ejemplo, lisina o arginina. "Cargado positivamente" se refiere a las cadenas laterales de los restos de aminoácidos que tienen una carga positiva neta en condiciones aproximadamente fisiológicas. Los ejemplos de péptidos catiónicos naturales que se pueden producir de forma recombinante son defensinas, magaininas, melitina o cecropinas.
- La expresión "péptido policatiónico", como se usa en el presente documento, se refiere a un péptido producido sintéticamente compuesto principalmente de restos de lisina y/o de arginina.
- La expresión "péptido anfipático", como se usa en el presente documento, se refiere a péptidos que tienen ambos grupos funcionales hidrófilos e hidrófobos. Preferentemente, la expresión "péptido anfipático", como se usa en el presente documento, se refiere a un péptido que tiene una disposición definida de grupos hidrófilos e hidrófobos, por ejemplo, los péptidos anfipáticos pueden ser, por ejemplo, helicoidales alfa, que tienen cadenas laterales predominantemente no polares a lo largo de la hélice y restos polares a lo largo del resto de su superficie.

La expresión "grupo hidrófobo", como se usa en el presente documento, se refiere a grupos químicos tales como cadenas de aminoácidos laterales que son esencialmente insolubles en agua, pero solubles en una fase de aceite, siendo la solubilidad en la fase oleosa superior a la solubilidad en agua o en una fase acuosa. En el agua, los aminoácidos que tienen una cadena lateral hidrófoba interactúan entre sí para generar un entorno no acuoso. Los ejemplos de aminoácidos con cadenas laterales hidrófobas son alanina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, histidina, triptófano y tirosina.

El término "deleción", como se usa en el presente documento, se refiere a la eliminación de 1, 2, 3, 4, 5 o más restos de aminoácidos de la respectiva secuencia de partida.

El término "inserción" o "adición", como se usa en el presente documento, se refiere a la inserción o adición de 1, 2, 3, 4, 5 o más restos de aminoácidos a la respectiva secuencia de partida.

El término "sustitución", como se usa en el presente documento, se refiere al intercambio de un resto de aminoácido, ubicado en una determinada posición, por otro diferente.

La presente invención se refiere a nuevos agentes antibacterianos contra bacterias Gram negativas, en particular, a proteínas de fusión compuestas de una enzima que tiene la actividad de degradación de la pared celular de las bacterias Gram negativas y un tramo peptídico fusionado a la enzima en el extremo N o C, o en ambos extremos.

En un aspecto de la presente invención, la enzima que tiene la actividad de degradación de la pared celular de las bacterias Gram negativas es una endolisina.

En otro aspecto de la presente invención, la enzima de acuerdo con la presente invención puede comprender además regiones que son enzimáticamente inactivas, y que se unen a la pared celular de la bacteria huésped, los denominados CBD (dominios de unión a la pared celular).

Las proteínas de fusión preferidas de acuerdo con la presente invención se representan en SEQ ID NO: 46, 57, 60, 63. Las proteínas de fusión de acuerdo con SEQ ID NO: 46, 57, 60, 63 pueden comprender uno o más restos de aminoácido en el extremo N. Preferentemente, el resto de aminoácido adicional es metionina.

Preferentemente, la endolisina está codificada por bacteriófagos específicos de bacterias Gram negativas tales como bacterias Gram negativas de los grupos, familias, géneros o especies de bacterias que comprenden cepas patógenas para los seres humanos o animales tales como *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, especialmente *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, especialmente *K. pneumoniae*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia*, *Yersinia*), *pseudomonadaceae* (*Pseudomonas*, especialmente *P. aeruginosa*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Shewanella*, *Sphingomonas*, *Comamonas*), *Neisseria*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Brucella*, *Francisella*, *Bordetella*, *Legionella*, *Bartonella*, *Coxiella*, *Haemophilus*, *Pasteurella*, *Mannheimia*, *Actinobacillus*, *Gardnerella*, *Spirochaetaceae* (*Treponema* y *Borrelia*), *Leptospiraceae*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Spirillum*, *Streptobacillus*, *Bacteroidaceae* (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*), *Acinetobacter*, especialmente *A. baumannii*.

Preferentemente, la autolisina está codificada por bacterias Gram negativas tales como bacterias Gram negativas de grupos, familias, géneros y especies de bacterias que comprenden cepas patógenas para los seres humanos o animales tales como *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, especialmente *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, especialmente *K. pneumoniae*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia*, *Yersinia*), *pseudomonadaceae* (*Pseudomonas*, especialmente *P. aeruginosa*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Shewanella*, *Sphingomonas*, *Comamonas*), *Neisseria*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Brucella*, *Francisella*, *Bordetella*, *Legionella*, *Bartonella*, *Coxiella*, *Haemophilus*, *Pasteurella*, *Mannheimia*, *Actinobacillus*, *Gardnerella*, *Spirochaetaceae* (*Treponema* y *Borrelia*), *Leptospiraceae*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Spirillum*, *Streptobacillus*, *Bacteroidaceae* (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*), *Acinetobacter*, especialmente *A. baumannii*.

La bacteriocina es preferentemente específica de bacterias Gram negativas tales como las mencionadas anteriormente, pero también puede ser menos específica.

El enzima de acuerdo con la presente invención tiene actividad de degradación de la pared celular contra bacterias Gram negativas de grupos, familias, géneros y especies de bacterias que comprenden cepas patógenas para los seres humanos o animales tales como *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, especialmente *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, especialmente *K. pneumoniae*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia*, *Yersinia*), *pseudomonadaceae* (*Pseudomonas*, especialmente *P. aeruginosa*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Shewanella*, *Sphingomonas*, *Comamonas*), *Neisseria*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Brucella*, *Francisella*, *Bordetella*, *Legionella*, *Bartonella*, *Coxiella*, *Haemophilus*, *Pasteurella*, *Mannheimia*, *Actinobacillus*, *Gardnerella*, *Spirochaetaceae* (*Treponema* y *Borrelia*), *Leptospiraceae*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Spirillum*, *Streptobacillus*, *Bacteroidaceae* (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*), *Acinetobacter*, especialmente *A. baumannii*.

En la siguiente tabla, se representan ejemplos específicos de una parte endolisina derivada de un fago o que es una endolisina de tipo silvestre:

Tabla 1:

Fago	Publicación	Endolisina de tipo silvestre	Función prevista de la endolisina
ΦV10	Perry, L. L. y Applegate, B. M.	PhiV10p30	quitinasa
FELS-1	McClelland, M. y Wilson, R. K.	STM0907.Fels0	quitinasa
ε15	Kropinski, A. M. y McConnel, M. R.	epsilon15p25	quitinasa
YUA	Ceyssens, P. (Laboratory for Gene technology)	YuA20	transglicosilasa lítica (C)/1 dominio transmembrana (N)
B3	Braid, M. D. y Kitts, C. L.	ORF23	transglicosilasa lítica (C)/2 dominios transmembrana (N)
BCEPμ	Summer, E. J. y Young, R.	BcepMu22	transglicosilasa lítica (M)/1 dominio transmembrana (N)
F116	Byrne, M. y Kropinski, A. M.	F116p62	muraminidasa (de tipo T4)
FELS-2	McClelland, M. y Wilson, R. K.	STM2715.S.Fels2	muraminidasa (de tipo T4)
ES18	Casjens, S. R. y Hendrix, R. W.	gp76	muraminidasa (de tipo T4)
SETP3	De Lappe, N. y Cormican, M.	SPSV3_gp23	muraminidasa (de tipo T4)
ΦECO32	Savalia, D. y Severinov, K.	phi32_17	muraminidasa (de tipo T4)
HK022	Juhala, R. y Hendrix, R. W.	HK022p54	muraminidasa (de tipo lambda)
HK97	Juhala, R. y Hendrix, R. W.	HK97p58	muraminidasa (de tipo lambda)
HK620	Clark, A. J. y Dhillon, T. S.	HK620p36	muraminidasa (de tipo lambda)
E1	Pickard, D. y Dougan, G	VIP0007	muraminidasa (de tipo lambda)
SF6	Casjens, S. y Clark, A. J.	Sf6p62	muraminidasa (de tipo lambda)
SFV	Allison, G. E. y Verma, N. K.	R (SfVp40)	muraminidasa (de tipo lambda)
BCEPC6B	Summer, E. J. y Young, R.	gp22	muraminidasa (de tipo lambda)
BCEPNAZGUL	Summer, E. J. y Young, R.	Nazgul38	muraminidasa (de tipo lambda)
P2	Christie, G. E. y Calender, R.	K (P2p09)	muraminidasa (de tipo lambda)
WΦ	Christie, G. E. y Esposito, D.	K (Wphi09)	muraminidasa (de tipo lambda)
RV5	Kropinski, A. M. y Johnson	rv5_gp085	muraminidasa (de tipo lambda)
JS98	Zuber, S. y Denou, E.	EpJS98_gp116	muraminidasa (de tipo T4)
13A	Savalia, D. y Molineux, I.	gp3.5	muramoil-L-alanina amidasa
BA14	Savalia, D. y Molineux, I.	gp3.5	muramoil-L-alanina amidasa
ECODS1	Savalia, D. y Molineux, I.	gp3.5	muramoil-L-alanina amidasa
K1F	Scholl, D. y Merrill, C.	CKV1F_gpl6	muramoil-L-alanina amidasa
T3	Pajunen, M. I. y Mollieux, L. J.	T3p18	muramoil-L-alanina amidasa
GH-1	Kropinski, A. M. y Kovalyova, L. V.	gh-1p12	muramoil-L-alanina amidasa
K11	Molineux, I. y Savalia, D.	gp3.5	muramoil-L-alanina amidasa
ΦCTX	Nakayama, K. y Hayashi, T.	ORF12	dominio de unión a PG (N)/muramidasa (C)
BCEP43	Summer, E. J. y Young, R.	Bcep43-27	dominio de unión a PG (N)/muramidasa (C)
BCEP781	Summer, E. J. y Young, R.	Bcep781 -27	dominio de unión a PG (N)/muramidasa (C)
BCEP1	Summer, E. J. y Young, R.	Bcep1-28	dominio de unión a PG (N)/muramidasa (C)

BCEPNY3	Summer, E. J. y Young, R.	BcepNY3gene26	dominio de unión a PG (N)/muramidasa (C)
ΦE12-2	DeShazer, D. y Niernan, W. C.	gp45	dominio de unión a PG (N) muramidasa (C)
Φ52237	DeShazer, D. y Niernan, W. C.	gp28	dominio de unión a PG (N)/muramidasa (C)
ΦPP27	Recktenwald, J. y Schmidt, H.	P27p30	endopeptidasa
RB49	Monod, C. y Krisch, H. M.	RB49p102	endopeptidasa
Φ1	Arbiol, C. y Comeau, A. M.	phi1-p102	endopeptidasa
T5	Pankova, N. V. y Ksenzenko, V. N.	lys (T5.040)	endopeptidasa
201phi2-1	Thomas <i>et al.</i> , 2008		dominio de unión a PG (N)/dominio catalítico desconocido (C)
Aeh1	Monod, C. y Krisch, H. M.	Aeh1p339	muraminidasa (de tipo T4)
YYZ-2008	Kropinski, A. M.	YYZgp45	muraminidasa (de tipo lambda)

También se prefiere la parte endolisina derivada de las endolisinas de los fagos ΦKZ y EL de *Pseudomonas aeruginosa*, del fago de *Pseudomonas putida*, del fago N4 de *E. coli*, del fago LUZ24, de la muramidasa de gp61, de la endolisina de STM0016 y de la endolisina de PSP3.

5

Otros ejemplos de la parte endolisina se seleccionan del grupo que consiste en phiKZgp144 de acuerdo con la SEQ ID NO: 1, ELgp188 de acuerdo con la SEQ ID NO: 2, endolisina de *Salmonella* de acuerdo con la SEQ ID NO: 3, endolisina del fago T4 de *Enterobacteria* de acuerdo con la SEQ ID NO: 4, endolisina de *Acinetobacter baumannii* de acuerdo con la SEQ ID NO: 5, endolisina del Fago K1F de *E. coli* de acuerdo con la SEQ ID NO: 18, OBPgpLYS de acuerdo con la SEQ ID NO: 34, endolisina PSP3 de *Salmonella* (PSP3gp10) de acuerdo con la SEQ ID NO: 20, la endolisina del Fago P2 de *E. coli* (P2gp09) de acuerdo con la SEQ ID NO: 21, muramidasa de fago de *Salmonella typhimurium* STM0016 de acuerdo con SEQ ID NO:22, muramidasa de Fago N4 de *E. coli* N4-gp61 de acuerdo con SEQ ID NO:23 y N4-gp61 trunc. de acuerdo con SEQ ID NO: 24, KZ144 de acuerdo con SEQ ID NO: 25.

10

15

En otra realización preferida de la presente invención las endolisinas de la proteína de fusión de acuerdo con la presente invención comprenden modificaciones y/o alteraciones de la secuencias de aminoácidos. Dichas alteraciones y/o modificaciones pueden comprender mutaciones tales como delecciones, inserciones y adiciones, sustituciones o combinaciones de las mismas y/o cambios químicos de los restos de aminoácidos, por ejemplo, biotilación, acetilación, PEGilación, cambios químicos de los grupos amino, SH o carboxilo. Dichas endolisinas de la proteína de fusión de acuerdo con la presente invención presentan la actividad lítica de la endolisina de tipo silvestre respectiva. Sin embargo, dicha actividad puede ser igual, superior o inferior a la actividad de la endolisina de tipo silvestre respectiva. Dicha actividad puede ser del aproximadamente 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 20 170, 180, 190 o del aproximadamente 200 % de la actividad de la endolisina de tipo silvestre respectiva o incluso más. La actividad se puede medir mediante ensayos muy conocidos en la técnica por un experto en la materia, tale como, por ejemplo, el ensayo de lisis en placa o el ensayo lisis en líquidos, descritos, por ejemplo, en Briers *et al.*, *J. Biochem. Biophys Methods* 70: 531 -533, (2007) o Donovan D. M., Lardeo M., Foster-Frey *J. FEMS Microbiol Lett.* Diciembre de 2006; 265 (1) o publicaciones similares.

20

25

30

Preferentemente, el tramo peptídico de la proteína de fusión de acuerdo con la invención se fusiona al extremo N-terminal y/o al extremo C-terminal de la endolisina. En una realización preferida particular, dicho tramo peptídico solo se fusiona al extremo N-terminal de la enzima. En otra realización preferida, el tramo peptídico solo se fusiona al extremo C-terminal de la enzima. Sin embargo, también se prefieren las proteínas de fusión modificadas que tienen un tramo peptídico tanto en el extremo N-terminal como en el extremo C-terminal. Dichos tramos peptídicos en el extremo N-terminal y en el extremo C-terminal pueden ser tramos peptídicos iguales o diferentes. El tramo peptídico puede estar ligado a la enzima por restos de aminoácidos adicionales, por ejemplo, por razones de clonación. Preferentemente, dicho tramo peptídico puede estar ligado a la proteína de fusión por al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 restos de aminoácidos adicionales. En una realización preferida, el tramo peptídico está ligado a la enzima por los restos de aminoácidos adicionales glicina y serina (Gly-Ser) o leucina y ácido glutámico (Glu Leu). Por otra parte, el tramo peptídico de la proteína de fusión de acuerdo con la invención comprende, además, aminoácidos adicionales en su extremo N-terminal. Preferentemente, el tramo peptídico comprende el aminoácido metionina (Met), alanina y metionina y glicina (Ala-Met-Gly-Ser) o alanina y metionina y glicina y serina (Ala-Met-Gly-Ser).

35

40

El tramo peptídico de la proteína de fusión de acuerdo con la presente invención está preferentemente unido covalentemente a la enzima. Preferentemente, dicho tramo peptídico consiste en al menos 5, más preferentemente al menos 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97,

98, 99 o al menos 100 restos de aminoácidos. Es especialmente preferido un tramo peptídico que comprende de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 restos de aminoácidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 o de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 restos de aminoácidos. Es más preferido un tramo peptídico que comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 42 restos de aminoácidos, de aproximadamente 6 a aproximadamente 39 restos de aminoácidos, de aproximadamente 6 a aproximadamente 38 restos de aminoácidos, de aproximadamente 6 a aproximadamente 31 restos de aminoácidos, de aproximadamente 6 a aproximadamente 25 restos de aminoácidos, de aproximadamente 6 a aproximadamente 24 restos de aminoácidos, de aproximadamente 6 a aproximadamente 22 restos de aminoácidos, de aproximadamente 6 a aproximadamente 21 restos de aminoácidos, de aproximadamente 6 a aproximadamente 20 restos de aminoácidos, de aproximadamente 6 a aproximadamente 19 restos de aminoácidos, de aproximadamente 6 a aproximadamente 16 restos de aminoácidos, de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 restos de aminoácidos, de aproximadamente 6 a aproximadamente 12 restos de aminoácidos, de aproximadamente 6 a aproximadamente 10 restos de aminoácidos o de aproximadamente 6 a aproximadamente 9 restos de aminoácidos.

Preferentemente, el tramo peptídico no es un marcador tal como un marcador de His, un marcador de Strep, un marcador de Avi, un marcador de Myc, un marcador de Gst, un marcador de JS, un marcador de cisteína, un marcador de FLAG u otros marcadores conocidos en la técnica, y no es proteínas de unión a la tiorredoxina o a la maltosa (MBP). Sin embargo, el tramo peptídico y/o la endolisina, la autolisina o la bacteriocina de acuerdo con la presente invención pueden comprender además dicho marcador o marcadores.

Más preferentemente, el tramo peptídico tiene la función de dirigir la proteína de fusión a través de la membrana exterior, pero puede tener actividad o puede no tener ninguna actividad o tener solo una baja actividad cuando se administra sin estar fusionado a la enzima. La función de dirigir la proteína de fusión a través de la membrana externa de las bacterias Gram negativas es causada por el potencial de la membrana exterior, o la actividad de interrupción o permeabilización o desestabilización de los LPS de dicho tramo peptídico.

En un aspecto de la presente invención, el tramo peptídico fusionado es un péptido anfipático que comprende uno o más de los restos de aminoácidos cargados positivamente de lisina, arginina y/o histidina, combinados con uno o más de los restos de aminoácidos hidrófobos de valina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, cisteína, alanina, tirosina, histidina, treonina, serina, prolina y/o glicina. Las cadenas laterales de los restos de aminoácidos están orientadas preferentemente para que las superficies catiónicas e hidrófobas se agrupen en los lados opuestos del péptido. Preferentemente, más del aproximadamente 30, 40, 50, 60 o 70 % de los restos de aminoácidos de dicho péptido son aminoácidos cargados positivamente. Preferentemente, más del aproximadamente 30, 40, 50, 60 o 70 %, de los restos de aminoácidos de dicho péptido son restos de aminoácidos hidrófobos. Ventajosamente, el péptido anfipático se fusiona al extremo N-terminal y/o al extremo C-terminal de la enzima que tiene actividad de degradación de la pared celular, mejorando así la anfipaticidad de las últimas proteínas.

En otra realización de la invención, el péptido anfipático fusionado a la enzima consiste en al menos 5, más preferentemente al menos 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 restos de aminoácidos. En una realización preferida, al menos aproximadamente el 30, 40, 50, 60 o 70 % de dichos restos de aminoácidos del péptido anfipático son bien restos de arginina o de lisina y/o al menos aproximadamente el 30, 40, 50, 60 o 70 % de dichos restos de aminoácidos del péptido anfipático son de los aminoácidos hidrófobos valina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, cisteína, alanina, tirosina, histidina, treonina, serina, prolina y/o glicina.

Los péptidos anfipáticos preferidos son Pleurocidina de acuerdo con SEQ ID NO: 6, Cecropina P1 de acuerdo con SEQ ID NO: 7, Buforina II de acuerdo con SEQ ID NO: 8, Buforina I de acuerdo con SEQ ID NO: 19 y Magainina de acuerdo con SEQ ID NO: 9. Otros péptidos anfipáticos preferidos son Catelidicina, por ejemplo, LL-37 de acuerdo con SEQ ID NO: 10, Nigrocina 2 de acuerdo con SEQ ID NO: 26 y Ascafina 5 de acuerdo con SEQ ID NO: 27.

En un aspecto adicional de la presente invención, el tramo peptídico fusionado es un péptido antimicrobiano que comprende una carga neta positiva y aproximadamente el 50 % de los aminoácidos hidrófobos. Los péptidos antimicrobianos son anfipáticos, con una longitud de aproximadamente 12 a aproximadamente 50 restos de aminoácidos.

En la siguiente tabla, se enumeran ejemplos específicos de péptidos antimicrobianos de acuerdo con la presente invención.

Tabla 2:

Péptido	Secuencia	
LL-37	LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES	SEQ ID NO: 10
SMAP-29	RGLRRLGRKIAHGVKKYGPTVLRRIIAG	SEQ ID NO: 11

Indolicidina	ILPWKWPWWPWRR	SEQ ID NO: 12
Protegrina	RGGRLCYCRRRFCVCVGR	SEQ ID NO: 13
Cecropina P1	SWLSKTAKKLENSAKKRISSEGIAIAIQGGPR	SEQ ID NO: 7
Magainina	GIGKFLHSAKKFGKAFVGEIMNS	SEQ ID NO: 9
Pleurocidina	GWGSFFKKAHVGHVGAALHYL	SEQ ID NO: 6
Cecropina A (<i>A. aegypti</i>)	GGLKKLGKKLEGAGKRVFNAAEKALPVPVAGAKALRK	SEQ ID NO: 14
Cecropina A (<i>D. melanogaster</i>)	GWLKKIGKKIERVQGHTRDATIQGLGIPQQAANVAATARG	SEQ ID NO: 15
Buforina II	TRSSRAGLQFPVGRVHRLLRK	SEQ ID NO: 8
Sarcotoxina IA	GWLKKIGKKIERVQGHTRDATIQGLGIAQQAANVAATAR	SEQ ID NO: 16
Apidaecina	ANRPVYIPPPRPPHPRL	SEQ ID NO: 28
Ascafina 5	GIKDWIKGAACKLIKTASHIANQ	SEQ ID NO: 27
Nigrocina 2	GLLSKVLGVGKKVLCGVSLVC	SEQ ID NO: 26
Pseudina 1	GLNTLKKVFQGLH EAIKLINNHVQ	SEQ ID NO: 29
Ranalexina	FLGGLIVPAMICAVTKKC	SEQ ID NO: 30
Melitina	GIGAVLKVLTGLPALISWIKRKRQQ	SEQ ID NO: 31

En un aspecto adicional de la presente invención, el tramo peptídico fusionado es un péptido sushi, descrito por J. L. Ding, Li P., Ho B. *Cell Mol Life Sci.*, abril de 2008; 65(7-8): 1202-19. "The Sushi peptides: structural characterization and mode of action against Gram-negative bacteria". Se prefiere especialmente el péptido sushi 1 de acuerdo con SEQ ID NO: 32.

Los péptidos sushi preferidos son los péptidos sushi S1 y S3, y los múltiplos de los mismos; *FASEB J.*, septiembre de 2000; 14(12): 1801-13.

En un aspecto adicional de la presente invención, el tramo peptídico fusionado es una defensina, preferentemente Catelicidina, Cecropina P1, Cecropina A o Magainina II.

En un aspecto adicional de la presente invención, el tramo peptídico fusionado es un péptido hidrófobo, por ejemplo, Apidaecina, que tiene la secuencia de aminoácidos de acuerdo con SEQ ID NO: 28, la variante WLBU2, que tiene la secuencia de aminoácidos de acuerdo con SEQ ID NO: 33, y Walmagh1, que tiene la secuencia de aminoácidos de acuerdo con SEQ ID NO: 35. El péptido hidrófobo que tiene la secuencia de aminoácidos Phe-Phe-Val-Ala-Pro (SEQ ID NO: 17) no forma parte de la presente invención.

En otra realización preferida de la presente invención, los tramos peptídicos de la proteína de fusión de acuerdo con la presente invención comprenden modificaciones y/o alteraciones de las secuencias de aminoácidos. Dichas alteraciones y/o modificaciones pueden comprender mutaciones tales como deleciones, inserciones y adiciones, sustituciones o combinaciones de las mismas y/o cambios químicos de los restos de aminoácidos, por ejemplo, biotilación, acetilación, PEGilación, cambios químicos de los grupos amino, SH o carboxilo.

Los ejemplos específicos de las proteínas de fusión de acuerdo con la presente invención se enumeran en la siguiente tabla:

Tabla 3:

Proteína de fusión	Proteína de fusión	Parte enzimática	Tramo peptídico (extremo N-terminal, a menos que se indique lo contrario)
P1-E6	SEQ ID NO: 36	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Ascafina 5 (SEQ ID NO:27)
P2-E6	SEQ ID NO: 37	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Apiadaecina (SEQ ID NO:28)
P3-E6	SEQ ID NO: 38	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Nigrocina 2 (SEQ ID NO:26)

ES 2 579 806 T3

P4-E6	SEQ ID NO: 39	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Pseudina 1 (SEQ ID NO:29)
P7-E6	SEQ ID NO: 40	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Ranalexina (SEQ ID NO:30)
P8-E6	SEQ ID NO: 41	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Variante WLBU2 (SEQ ID NO:33)
P9-E6	SEQ ID NO: 42	KZ144 (SEQ ID NO:25)	sushi 1 (SEQ ID NO:32)
P10-E6	SEQ ID NO: 43	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Meliltina (SEQ ID NO:31)
P11-E6	SEQ ID NO: 44	KZ144 (SEQ ID NO:25)	LL-37 (SEQ ID NO:10)
P12-E6	SEQ ID NO: 45	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Indolicidina (SEQ ID NO:12)
P13-E6	SEQ ID NO: 46	KZ144 (SEQ ID NO:25)	SMAP-29 (SEQ ID NO:11)
P14-E6	SEQ ID NO: 47	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Protegrina (SEQ ID NO:13)
P15-E6	SEQ ID NO: 48	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Cecropina P1 (SEQ ID NO:7)
P16-E6	SEQ ID NO: 49	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Magainina (SEQ ID NO:9)
P17-E6	SEQ ID NO: 50	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Pleurocidina (SEQ ID NO:6)
P18-E6	SEQ ID NO: 51	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Cecropina A (A. aegypti) (SEQ ID NO:14)
P19-E6	SEQ ID NO: 52	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Cecropina A (A. melanogaster) (SEQ ID NO:15)
P20-E6	SEQ ID NO: 53	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Buforina II (SEQ ID NO:8)
P21-E6	SEQ ID NO: 54	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Sarcotoxina IA (SEQ ID NO: 16)
P1-E3	SEQ ID NO: 55	STM0016 (SEQ ID NO:22)	Ascafina 5 (SEQ ID NO:27)
	SEQ ID NO: 56	STM0016 (SEQ ID NO:22)	Nigrocina 2 (SEQ ID NO:26)
	SEQ ID NO: 57	STM0016 (SEQ ID NO:22)	SMAP-29 (SEQ ID NO:11)
	SEQ ID NO: 58	STM0016 (SEQ ID NO:22)	Sarcotoxina IA (SEQ ID NO: 16)
P10-E4	SEQ ID NO: 59	N4-gp61 (SEQ ID NO:23)	Melitina (SEQ ID NO:31)
	SEQ ID NO: 60	N4-gp61 (SEQ ID NO:23)	SMAP-29 SEQ ID NO:11)
P10-E5	SEQ ID NO: 61	N4-gp61 trunc. (SEQ ID NO:24)	Melitina (SEQ ID NO:31)

	SEQ ID NO: 62	N4-gp61 trunc. (SEQ ID NO:24)	Cecropina P1 (SEQ ID NO:7)
	SEQ ID NO: 63	N4-gp61 trunc. (SEQ ID NO:24)	SMAP-29 (SEQ ID NO:11)

La proteína de fusión de acuerdo con la presente invención, y por tanto, en particular, las proteínas de fusión especialmente preferidas de acuerdo con SEQ ID NO: 46, 57, 60, 63, pueden comprender además una metionina en el extremo N-terminal.

5

La proteína de fusión de acuerdo con la presente invención, y por tanto, en particular, las proteínas de fusión especialmente preferidas de acuerdo con SEQ ID NO: 46, 57, 60, 63 pueden comprender además un marcador, por ejemplo, para la purificación. Se prefiere un marcador de His₆, preferentemente en el extremo C-terminal y/o el extremo N-terminal de la proteína de fusión. Dicho marcador puede estar unido a la proteína de fusión por restos de aminoácidos adicionales, por ejemplo, debido a razones de clonación. Preferentemente, dicho marcador se puede unir a la proteína de fusión por al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 restos de aminoácidos adicionales. En una realización preferida, la proteína de fusión comprende un marcador de His₆ en su extremo C-terminal unido a la proteína de fusión por los restos de aminoácidos adicionales lisina y glicina (Lys-Gly) o leucina y ácido glutámico (Leu-Glu). En otra realización preferida, la proteína de fusión comprende un marcador de His₆ en su extremo N-terminal unido a la proteína de fusión por los restos de aminoácidos adicionales lisina y glicina (Lys-Gly) o leucina y ácido glutámico (Leu-Glu). En otra realización preferida, la proteína de fusión comprende un marcador de His₆ en su extremo N- y C-terminal unido a la proteína de fusión por los restos de aminoácidos adicionales lisina y glicina (Lys-Gly) o leucina y ácido glutámico (Leu-Glu).

10

15

20

25

En una realización más preferida, la proteína de fusión comprende un marcador de His₆ en su extremo C-terminal unido a la proteína de fusión por los restos de aminoácidos adicionales leucina y ácido glutámico (Leu-Glu) y el tramo peptídico de la proteína de fusión de acuerdo con la invención está unido con el extremo N-terminal de la enzima por los restos de aminoácidos adicionales glicina y serina. En otra realización preferida, la proteína de fusión comprende un marcador de His₆ en su extremo C-terminal unido a la proteína de fusión por los restos de aminoácidos adicionales leucina y ácido glutámico (Leu-Glu) y el tramo peptídico de la proteína de fusión de acuerdo con la invención está unido al extremo N-terminal de la enzima por los restos de aminoácidos adicionales glicina y serina (Gly-Ser) y la proteína de fusión comprende, en el extremo N-terminal, los restos de aminoácidos adicionales metionina (Met) o alanina, metionina y glicina (Ala-Met-Gly) o alanina, metionina, glicina y serina (Ala-Met-Gly-Ser). Preferentemente, las proteínas de fusión son de acuerdo a SEQ ID NO: 77-90.

30

Las proteínas de fusión se construyen mediante la unión de al menos dos secuencias de ácido nucleico usando técnicas de clonación convencionales según lo descrito, por ejemplo, por Sambrook *et al.* 2001, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual". Dicha proteína se puede producir, por ejemplo, en sistemas de expresión de ADN recombinante. Dichas proteínas de fusión de acuerdo con la presente invención se pueden obtener mediante la fusión de los ácidos nucleicos para la endolisina y el respectivo tramo peptídico.

35

Las proteínas de fusión de acuerdo con la presente invención se pueden fusionar o unir a otras proteínas adicionales. Un ejemplo de esta otra proteína adicional es la tiorredoxina.

40

La presente invención se refiere además a una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la proteína de fusión de acuerdo con la presente invención. La presente invención se refiere además a un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención. Dicho vector puede proporcionar la expresión constitutiva o inducible de dicha proteína de fusión de acuerdo con la presente invención.

45

La invención también se refiere a un método de obtención de dichas proteínas de fusión a partir de un microorganismo, tal como una célula huésped adecuada modificada genéticamente que exprese dichas proteínas de fusión. Dicha célula huésped puede ser un microorganismo tal como bacterias o levaduras, o una célula animal como, por ejemplo, una célula de mamífero, en particular, una célula humana. En una realización de la presente invención, la célula huésped es una célula de *Pichia pastoris*. El huésped se puede seleccionar debido a meras razones biotecnológicas, por ejemplo, rendimiento, solubilidad, costes, etc., pero también se puede seleccionar desde un punto de vista médico, por ejemplo, bacterias o levaduras no patológicas, células humanas.

50

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método de transformación genética de una célula huésped adecuada para obtener la expresión de las proteínas de fusión de acuerdo con la invención, en el que la célula huésped se modifica genéticamente mediante la introducción de un material genético que codifica dichas proteínas de fusión en la célula huésped, y obtener su traducción y expresión mediante métodos de ingeniería genética bien conocidos por el experto en la materia.

55

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición, preferentemente una composición farmacéutica, que comprende una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención y/o un huésped

60

transformado con una molécula de ácido nucleico o un vector que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención.

En una realización preferida de la presente invención, la composición comprende además agentes permeabilizantes de la membrana externa de las bacterias Gram negativas tales como quelantes metálicos como, por ejemplo, EDTA, TRIS, ácido láctico, lactoferrina, polimixina, ácido cítrico y/u otras sustancias según lo descrito, por ejemplo, por Vaara ("Agents that increase the permeability of the outer membrane". Vaara M. *Microbiol Rev.*, septiembre de 1992; 56(3):395-441). También se prefieren las composiciones que comprendan combinaciones de los agentes permeabilizantes mencionados anteriormente. Se prefiere en especial una composición que comprenda EDTA de aproximadamente 10 μ M a aproximadamente 100 mM, más preferentemente EDTA de aproximadamente 50 μ M a aproximadamente 10 mM, más preferentemente EDTA de aproximadamente 0,5 mM a aproximadamente 10 mM, más preferentemente EDTA de aproximadamente 0,5 mM a aproximadamente 2 mM, más preferentemente EDTA de aproximadamente 0,5 mM a 1 mM. Sin embargo, también se prefieren las composiciones que comprenden EDTA de aproximadamente 10 μ M a aproximadamente 0,5 mM. También se prefiere una composición que comprende EDTA de aproximadamente 0,5 mM a aproximadamente 2 mM, más preferentemente EDTA aproximadamente 1 mM y además TRIS de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mM.

La presente invención también se refiere a una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención y/o a un huésped transformado con un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención, para su uso como un medicamento. En un aspecto adicional, la presente invención se refiere al uso de una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención y/o a un huésped transformado con un vector que comprende una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de fusión, modificada, de acuerdo con la presente invención, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de un trastorno, una enfermedad o una afección asociado con bacterias Gram negativas. En particular, el tratamiento y/o la prevención del trastorno, de la enfermedad o de la afección puede producirse por bacterias Gram negativas de grupos, familias, géneros o especies de bacterias que comprenden cepas patógenas para los seres humanos o animales como *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, especialmente *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, especialmente *K. pneumoniae*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia*, *Yersinia*), *Pseudomonadaceae* (*Pseudomonas*, especialmente *P. aeruginosa*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Shewanella*, *Sphingomonas*, *Comamonas*), *Neisseria*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Brucella*, *Francisella*, *Bordetella*, *Legionella*, *Bartonella*, *Coxiella*, *Haemophilus*, *Pasteurella*, *Mannheimia*, *Actinobacillus*, *Gardnerella*, *Spirochaetaceae* (*Treponema* y *Borrelia*), *Leptospiraceae*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Spirillum*, *Streptobacillus*, *Bacteroidaceae* (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*), *Acinetobacter*, especialmente, *A. baumannii*.

La presente invención se refiere además a un medicamento que comprende una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención y/o un huésped transformado con un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una proteína de fusión para su uso en un método de tratamiento de un trastorno, de una enfermedad o de una afección en un sujeto que necesita el tratamiento y/o la prevención, método que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención y/o una cantidad eficaz de un huésped transformado con un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención o una composición de acuerdo con la presente invención. El sujeto puede ser un ser humano o un animal.

En particular, dicho método de tratamiento puede ser para el tratamiento y/o la prevención de infecciones de la piel, de tejidos blandos, del sistema respiratorio, los pulmones, el tracto digestivo, los ojos, los oídos, los dientes, la nasofaringe, la boca, los huesos, la vagina, heridas de bacteriemia y/o endocarditis causadas por bacterias Gram negativas, en particular, por las bacterias Gram negativas enumeradas anteriormente.

La dosis y la vía de administración usadas en un método de tratamiento (o profilaxis) de acuerdo con la presente invención dependen de la enfermedad/del sitio de infección específicos que se vayan a tratar. La vía de administración puede ser, por ejemplo, oral, tópica, nasofaríngea, parenteral, intravenosa, rectal o cualquier otra vía de administración.

Para la aplicación de una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención y/o de una cantidad eficaz de un huésped transformado con un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención o una composición de acuerdo con la presente invención, en un sitio de infección (o en un sitio con peligro de infectarse), se puede usar una formulación que proteja los compuestos activos de las influencias ambientales, tales como proteasas, oxidación, respuesta inmunitaria, etc., hasta que alcance el sitio de infección. Por lo tanto, la formulación puede ser una cápsula, una gragea, una píldora, un polvo, un supositorio, una emulsión, una suspensión, un gel, una loción, una crema, una pomada, una solución inyectable, un jarabe, un pulverizado, un inhalante o cualquier otra formulación galénica razonable desde el punto de vista médico. Preferentemente, la formulación galénica puede comprender vehículos, estabilizantes, aromatizantes, tampones u otros reactivos adecuados. Por ejemplo, para la aplicación tópica, la formulación puede ser una loción,

una crema, un gel, una pomada o un parche; para la aplicación nasofaríngea, la formulación puede ser solución salina aplicada mediante un pulverizador en la nariz. Para la administración oral, en caso del tratamiento y/o de la prevención de un sitio de infección específico, por ejemplo, en el intestino, puede ser necesario proteger una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención del adverso medio digestivo del tracto gastrointestinal hasta que se alcance el sitio de infección. Por lo tanto, como vehículos, se pueden usar bacterias, que sobrevivan a las etapas iniciales de la digestión en el estómago y que secreten posteriormente en el medio intestinal una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención.

En una realización específica de la presente invención, se usa una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención y/o un huésped transformado con un vector que comprende una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de un trastorno, una enfermedad o una afección causada por *Pseudomonas*, particularmente *Pseudomonas aeruginosa*, en particular, afecciones intestinales, en particular, en niños, infección de las meninges, por ejemplo meningitis hemorrágica, infecciones del oído medio, la piel (*Ecthyma gangraenosum*), en particular, quemaduras, tracto urinario, rinitis, neumonía bacterémica, en particular, en la que el paciente padece fibrosis quística o tumores hematológicos tales como leucemia, o pacientes con neutropenia de terapia inmunosupresora, septicemia, en particular, por cateterización intravenosa o urinaria a largo plazo, procedimientos quirúrgicos invasivos y quemaduras graves, endocarditis, en particular, cuando el paciente usa fármacos intravenosos o en un paciente con complicaciones de cirugía cardíaca, infecciones oculares muy destructivas, en particular, tras el uso de soluciones oftalmológicas contaminadas o quemaduras faciales graves, osteocondritis, en particular, como consecuencia de un traumatismo grave o heridas por punción a través de ropa contaminada.

En otra realización específica de la presente invención, el trastorno, la enfermedad o la afección están causados por *Burkholderia pseudomallei*, en particular, la enfermedad de Whitmore, neumonía crónica, septicemia, en particular, cuando el paciente tiene una lesión cutánea por traumatismo.

En otra realización específica de la presente invención, el trastorno, la enfermedad o la afección están causados por *Salmonella thyphimurium* y *Salmonella enteritidis*, en particular, gastroenteritis aguda y procesos purulentos locales, particularmente osteomielitis, endocarditis, colecistitis y, especialmente, meningitis causada por *Salmonella thyphimurium*, en particular, cuando el paciente es menor de dos años.

En otra realización específica de la presente invención, el trastorno, la enfermedad o la afección están causados por *Salmonella typhi*, en particular, tifosis.

En otra realización específica de la presente invención, el trastorno, la enfermedad o la afección están causados por *Salmonella paratyphi*, en particular, paratifosis.

En otra realización específica de la presente invención, el trastorno, la enfermedad o la afección están causados por *Acinetobacter baumannii*, en particular, bronquitis, neumonía, infecciones de heridas y septicemia, en particular, como consecuencia de cateterización intravenosa.

En otra realización específica de la presente invención el trastorno, la enfermedad o la afección están causados por *Escherichia coli*, en particular, infecciones extraintestinales, particularmente apendicitis, colecistitis purulenta, peritonitis, meningitis purulenta e infecciones del tracto urinario, infecciones intraintestinales por *E. coli*, particularmente enteritis epidémica y enfermedades infecciosas similares a la disentería, septicemia, enterotoxemia, mastitis y disentería.

En otra realización específica de la presente invención, el trastorno, la enfermedad o la afección están causados por *Klebsiella pneumoniae*, en particular, neumonía, bacteriemia, meningitis e infecciones del tracto urinario.

Preferentemente, se usa una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención para el tratamiento médico, si la infección que se va a tratar (o prevenir) está causada por cepas bacterianas multirresistentes, en particular, por cepas resistentes contra uno o más de los siguientes antibióticos: estreptomicina, tetraciclina, cefalotina, gentamicina, cefotaxime, cefalosporina, ceftazidime o imipenem. Además, se puede usar una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención en métodos de tratamiento mediante su administración en combinación con agentes antibacterianos convencionales tales como antibióticos, lantibióticos, bacteriocinas o endolisinas, etc.

La presente invención también se refiere a un envase farmacéutico que comprende uno o más compartimentos, en el que al menos un compartimento comprende una o más proteínas de fusión de acuerdo con la presente invención y/o uno o más huéspedes transformados con un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención o una composición de acuerdo con la presente invención.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un proceso de preparación de una composición farmacéutica, comprendiendo dicho proceso mezclar una o más proteínas de fusión de acuerdo con la presente invención y/o uno

o más huéspedes transformados con un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención, con un diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto adicional más, la composición de acuerdo con la presente invención es una composición cosmética. Son varias las especies bacterianas que pueden causar irritaciones en superficies corporales del paciente, como la piel, que se exponen al medioambiente. Para prevenir dichas irritaciones o para eliminar las manifestaciones menos importantes de dichos patógenos bacterianos, se pueden emplear preparados cosméticos especiales que comprendan cantidades suficientes de la proteína de fusión de acuerdo con la presente invención, para degradar las bacterias Gram negativas patógenas ya existentes o las recién asentadas.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a la proteína de fusión de acuerdo con la presente invención para su uso como un medio de diagnóstico en el diagnóstico médico, alimentario o alimentario para animales o ambiental, en particular, como un medio de diagnóstico para el diagnóstico de infecciones bacterianas causadas, en particular, por bacterias Gram negativas. En este sentido, la proteína de fusión de acuerdo con la presente invención se puede usar como una herramienta para degradar específicamente las bacterias patógenas, en particular, bacterias patógenas Gram negativas. La degradación de las células bacterianas por la proteína de fusión de acuerdo con la presente invención puede apoyarse de la adición de detergentes como Triton X-100 u otros aditivos que debiliten la envoltura de las células bacterianas, como la polimixina B. La degradación celular específica es necesaria como una etapa inicial para la detección específica posterior de bacterias usando métodos basados en ácidos nucleicos, como la PCR, hibridación de ácidos nucleicos o NASBA (amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos), métodos inmunológicos como IMS, inmunofluorescencia o técnicas de ELISA, u otros métodos basados en el contenido celular de las células bacterianas, como ensayos enzimáticos que usan proteínas específicas de distintos grupos o especies de bacterias (por ejemplo, β -galactosidasa para enterobacterias, coagulasa para cepas positivas en coagulasa).

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere al uso de la proteína de fusión de acuerdo con la presente invención para el tratamiento, la eliminación, la reducción o la prevención de contaminación de bacterias Gram negativas de productos alimentarios, de equipos de procesamiento de alimentos, de plantas de procesamiento de alimentos, de superficies que se ponen en contacto con productos alimentarios, tales como estanterías y zonas de almacén de alimentos y en cualquier otra situación, en la que las bacterias patógenas, patógenas facultativas u otras no deseables puedan infectar material alimentario, dispositivos médicos y cualquier tipo de superficies en hospitales y quirófanos.

En particular, una proteína de fusión de la presente invención se puede usar profilácticamente como agente desinfectante. Dicho agente desinfectante se puede usar antes o después de una cirugía o, por ejemplo, durante la hemodiálisis. Además, se pueden tratar bebés prematuros y personas inmunocomprometidas, o aquellos sujetos que necesiten dispositivos protésicos, con una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención. Dicho tratamiento bien se puede realizar profilácticamente o durante una infección aguda. En el mismo contexto, se pueden tratar infecciones nosocomiales, especialmente por cepas resistentes a antibióticos como *Pseudomonas aeruginosa* (FQRP), especies de *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* tales como especies de *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Hyfina*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia* y *Yersinia*, profilácticamente o durante fases agudas con una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención. Por lo tanto, como desinfectante, también se puede usar una proteína de fusión de acuerdo con la presente invención, en combinación con otros ingredientes útiles en una solución desinfectante como detergentes, tensioactivos, disolventes, antibióticos, lantibióticos o bacteriocinas.

Para el uso de la proteína de fusión de acuerdo con la presente invención como un desinfectante, por ejemplo, en hospitales, cirugía dental, veterinaria, cocinas o baños, la proteína de fusión se puede preparar en una composición en forma de, por ejemplo, un líquido, un polvo, un gel o un ingrediente de una toallita húmeda o en un producto laminar de desinfección. Además, dicha composición puede comprender vehículos, aditivos, agentes de dilución y/o excipientes adecuados para su uso y forma respectivos, respectivamente, pero también agentes que mantengan la actividad antimicrobiana, como EDTA, o agentes que potencien la actividad antimicrobiana de las proteínas de fusión. También se puede usar la proteína de fusión con agentes desinfectantes habituales como alcoholes, aldehídos, agentes oxidantes, fenólicos, compuestos de amonio cuaternario o luz UV. Para desinfectar, por ejemplo, superficies, objetos y/o dispositivos, la proteína de fusión se puede aplicar sobre dichas superficies, objetos y/o dispositivos. La aplicación puede realizarse, por ejemplo, humedeciendo, mediante pulverización o vertido, cualquier medio, tal como un paño o un trapo, con la composición desinfectante. Las proteínas de fusión se pueden usar a diversas concentraciones dependiendo de la aplicación y del "tiempo de reacción" respectivos para obtener una actividad antimicrobiana completa.

Otro aspecto de la presente invención es que la invención se puede usar como una caja de herramientas, es decir, se puede fusionar cualquier tramo peptídico desvelado anteriormente a cualquier endolisina, autolisina o bacteriocina desvelada en el presente documento. Así pues, es posible combinar el tramo peptídico respectivo, lo que permite la unión de la proteína de fusión a las bacterias respectivas y la endolisina, autolisina o bacteriocina, lo que inhibe el crecimiento de las respectivas bacterias. Por consiguiente, es posible construir una proteína de fusión

adecuada para cualquier bacteria que se deba eliminar.

Otro ámbito de aplicabilidad de la presente invención será evidente a partir de la descripción detallada dada de aquí en adelante en el presente documento; sin embargo, se ha de entender que, aunque la descripción detallada y los ejemplos específicos indiquen realizaciones preferidas de la invención, se proporcionan solo a modo ilustrativo. Debe entenderse que, tanto la anterior descripción general como la siguiente descripción detallada son solo ilustrativas y explicativas, y no limitantes de la invención, como se reivindica.

Los siguientes ejemplos explican la presente invención, pero no se consideran limitantes. Salvo que se indique de otra manera, se usaron métodos convencionales de Biología molecular, según lo descrito, por ejemplo, por Sambrook *et al.*, 1989, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York.

EJEMPLO 1. Clonación, expresión y purificación de gp144 y gp188 modificadas con un péptido anfipático

Como prueba preliminar, se demuestra el potencial de la actividad de alteración por LPS de los péptidos anfipáticos para dirigir a gp144 y gp188 a través de la membrana externa y la consiguiente actividad antibacteriana contra las bacterias Gram negativas. gp144 y gp188 son endolisinas modulares procedentes de los fagos Φ KZ y EL de *Pseudomonas aeruginosa* con un dominio de unión al peptidoglicano N-terminal y un dominio catalítico C-terminal (Briers *et al.*, 2007).

Para extender el extremo 5' del marco de lectura abierto que codifica gp144 o gp188 con un fragmento de gen que codifica la hélice α 4 anfipática de la lisozima T4 (aa 143-155: Pro-Asn-Arg-Ala-Lys-Arg-Val-Ile-Thr-Thr-Phe-Arg-Thr de acuerdo con SEQ ID NO: 92), se aplicó una PCR de cola con un cebador 5' extendido y un cebador 3' convencional. El producto de PCR se clonó en el vector de expresión pEXP5CT/TOPO® (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE.UU.).

La expresión de todas las construcciones se realizó en células BL21 (DE3) pLysS de *E. coli*. Todas las proteínas se purificaron mediante cromatografía de afinidad de Ni^{2+} usando el marcador 6xHis C-terminal. En la Tabla 4, se muestran los rendimientos para las diferentes purificaciones. Sorprendentemente, la producción de α 4-KZ144 no fue tóxica para el huésped, en contraste con KZ144, lo que da lugar a un mayor rendimiento significativo.

Las soluciones madre purificadas resultaron tener una pureza del ~90 %. Todos los derivados de gp144 mostraron la formación de multímeros que se pudieron convertir en monómeros mediante la adición de β -mercapto-etanol, lo que indica que los enlaces de interdisulfuro provocan multimerización.

*Tabla 4 - Rendimientos de purificación recombinante de endolisinas modificadas con un péptido anfipático**

Fusión	Endolisina	
	gp144	gp188
Hélice α 4	179 mg	38 mg

*Se muestra el rendimiento total de la proteína recombinante purificada por litro de cultivo de expresión de *E. coli*. Este valor se determinó mediante la medición espectrofotométrica de la concentración de proteína y el volumen total de la solución madre purificada. La purificación de los derivados de gp188 se realizó en condiciones más rigurosas (imidazol 65 mM) en comparación con los derivados de gp144 (imidazol 50 mM) para garantizar una pureza alta.

Caracterización de gp144 y gp188 modificadas con un péptido anfipático

1. A. Actividad enzimática de gp144 y gp188 modificadas con un péptido anfipático

Para evaluar la influencia de la modificación sobre la actividad enzimática de gp144 o gp188, se midió la actividad específica de las variantes en células de *Pseudomonas aeruginosa* permeabilizadas con cloroformo y se compararon con la endolisina no modificada correspondiente. Se ensayaron diferentes cantidades graduales de todas las endolisinas modificadas para determinar la curva de saturación correspondiente. La pendiente de la regresión lineal de la región lineal de esta curva es una medida de la actividad específica, y se expresó con relación a la pendiente de gp144 o gp188 sin modificar (Tabla 5).

*Tabla 5 - Actividad enzimática de gp144 o gp188 modificada con un péptido anfipático**

Fusión	Endolisina	
	gp144	gp188
Hélice α 4	23 %	146 %

*Se determinó la actividad enzimática específica de las diferentes variantes y se expresó con relación a la actividad específica de la endolisina original correspondiente (= 100 %), que se ensayó simultáneamente. Las condiciones del tampón del ensayo fueron las condiciones óptimas de las endolisinas correspondientes ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ = 120 mM, pH 6,2 e I = 80 mM a pH 7,3 para gp144 y gp188, respectivamente).

1.B. Actividad antibacteriana de gp144 y gp188 modificadas con un péptido anfipático

Se incubaron células PAO1 de *P. aeruginosa* exponenciales ($\sim 10^6/\text{ml}$) a temperatura ambiente con gp144/gp188 sin modificar y modificadas. Después de 1 hora, se diluyeron las suspensiones celulares y se sembraron. Se contaron las colonias residuales tras una incubación durante la noche (Tabla 6). gp188 y gp144 sin modificar no reducen el número de células significativamente en comparación con el control negativo. Esta observación ilustra la eficacia de la membrana externa como barrera. Las proteínas de fusión con la hélice $\alpha 4$ anfipática inactivaron las células exponenciales con 50 ± 11 y 34 ± 11 % para $\alpha 4$ -KZ144 y $\alpha 4$ -EL188, respectivamente. Cuando se usan células estacionarias con una densidad superior a 100 veces, estos valores son similares (35 ± 18 y 32 ± 17 %, respectivamente). A pesar de la variabilidad más elevada entre las diferentes repeticiones, estos valores difieren significativamente de las células no tratadas ($\alpha = 0,05$). En general, los derivados de gp144 modificados tienden a tener una actividad antibacteriana más alta que los derivados de gp188.

Tabla 6 - Efecto antibacteriano de las endolisinas gp144 y gp188 y sus derivados*

Células con crecimiento exponencial	Endolisinas			
	gp144		gp188	
Fusión	%	log	%	log
Sin modificar	0 ± 15	$0,00 \pm 0,06$	10 ± 13	$0,05 \pm 0,06$
Hélice $\alpha 4$	50 ± 11	$0,31 \pm 0,09$	34 ± 11	$0,19 \pm 0,07$

*Se diluyeron 100 veces células PAO1 de *P. aeruginosa* en crecimiento exponencial y se incubaron (densidad final de $\sim 10^6/\text{ml}$) con 10 μg de proteína no dializada (concentración final de 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, tampón: NaH_2PO_4 - NaOH 30 mM, pH 7,4; NaCl 0,5 M; imidazol 0,5 M) durante 1 hora a temperatura ambiente. Las alícuotas se diluyen y se siembran. La actividad antibacteriana se expresa como la inactivación relativa (%) ($= 100 - (\text{Ni}/\text{No}) * 100$ con No = número de células no tratadas y Ni = número de células tratadas) y en unidades logarítmicas ($= \log_{10} \text{No}/\text{Ni}$). Todas las muestras se replicaron seis veces. Se representan las medias/desviaciones estándar. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba t de Student.

Ejemplo 2. Clonación, expresión y purificación de gp144 y gp188 modificadas con un péptido hidrófobo.

Como prueba preliminar, se demuestra el potencial de la actividad de alteración por LPS de pentapéptidos hidrófobos para dirigir a gp144 y gp188 a través de la membrana externa y la consiguiente actividad antibacteriana contra las bacterias Gram negativas. gp144 y gp188 son endolisinas modulares procedentes de los fagos ΦKZ y EL de *Pseudomonas aeruginosa* con un dominio de unión al peptidoglicano N-terminal y un dominio catalítico C-terminal (Briers *et al.*, 2007).

Para extender el extremo 5' del marco de lectura abierto que codifica gp144 o gp188 con un fragmento de gen que codifica 5 restos hidrófobos (Phe-Phe-Val-Ala-Pro), se aplicó una PCR de cola con un cebador 5' extendido y un cebador 3' convencional. El producto de PCR se clonó en el vector de expresión pEXP5CTHOPO® (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE.UU.).

La expresión de todas las construcciones se realizó en células BL21 (DE3) pLysS de *E. coli*. Todas las proteínas se purificaron mediante cromatografía de afinidad de Ni^{2+} usando el marcador 6xHis C-terminal. En la Tabla 7, se muestran los rendimientos para las diferentes purificaciones.

Las soluciones madre purificadas resultaron tener una pureza del ~ 90 %. Todos los derivados de gp144 mostraron la formación de multímeros que se pudieron convertir en monómeros mediante la adición de β -mercapto-etanol, lo que indica que los enlaces de interdisulfuro provocan multimerización.

Tabla 7 - Rendimientos de purificación recombinante de derivados de endolisina*

Fusión	Endolisina	
	gp144	gp188
Phe-Phe-Val-Ala-Pro	25 mg	85 mg

*Se muestra el rendimiento total de la proteína recombinante purificada por litro de cultivo de expresión de *E. coli*. Este valor se determinó mediante la medición espectrofotométrica de la concentración de proteína y el volumen total de la solución madre purificada. La purificación de los derivados de gp188 se realizó en condiciones más rigurosas (imidazol 65 mM) en comparación con los derivados de gp144 (imidazol 50 mM) para garantizar una pureza alta.

Caracterización de gp144 y gp188 modificadas con un pentapéptido hidrófobo

2.A. Actividad enzimática de gp144 y gp188 modificadas con un pentapéptido hidrófobo

Para evaluar la influencia de las modificaciones sobre la actividad enzimática de gp144 o gp188, se midió la actividad específica de las variantes en células de *Pseudomonas aeruginosa* permeabilizadas con cloroformo y se compararon con la endolisina no modificada correspondiente. Se ensayaron diferentes cantidades graduales de todas las endolisinas modificadas para determinar la curva de saturación correspondiente. La pendiente de la regresión lineal de la región lineal de esta curva es una medida de la actividad específica, y se expresó con relación a la pendiente de gp144 o gp188 sin modificar (Tabla 8).

Tabla 8 - Actividad enzimática de gp144 o gp188 modificadas con un péptido hidrófobo*

Fusión	Endolisina	
	gp144	gp188
	gp144	gp188
Pentapéptido hidrófobo	150 %	100 %

*Se determinó la actividad enzimática específica de las diferentes variantes y se expresó con relación a la actividad específica de la endolisina original correspondiente (= 100 %), que se ensayó simultáneamente. Las condiciones del tampón del ensayo fueron las condiciones óptimas de las endolisinas correspondientes ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ = 120 mM, pH 6,2 e I = 80 mM a pH 7,3 para gp144 y gp188, respectivamente).

2.B. Actividad antibacteriana de gp144 y gp188 modificadas con un pentapéptido hidrófobo

Se incubaron células PAO1 de *P. aeruginosa* exponenciales ($\sim 10^6/\text{ml}$) a temperatura ambiente con gp144/gp188 sin modificar y modificadas. Después de 1 hora, se diluyeron las suspensiones celulares y se sembraron. Se contaron las colonias residuales tras una incubación durante la noche (Tabla 9). gp188 y gp144 sin modificar no reducen el número de células significativamente en comparación con el control negativo. Esta observación ilustra la eficacia de la membrana externa como barrera. La incubación con las proteínas de fusión de pentapéptidos hidrófobos causa una reducción significativa ($\alpha = 0,05$) del número de células bacterianas (83 ± 7 y 69 ± 21 % para gp144 y gp188 modificadas, respectivamente). En general, los derivados de gp144 modificados tienden a tener una actividad antibacteriana más alta que los derivados de gp188.

Tabla 9 - Efecto antibacteriano de endolisinas gp144 y gp188 y sus derivados*

Células en crecimiento exponencial	Endolisina			
	gp144		gp188	
Fusión	%	log	%	log
Sin modificar	0 ± 15	$0,00 \pm 0,06$	10 ± 13	$0,05 \pm 0,06$
Pentapéptido hidrófobo	83 ± 7	$0,9 \pm 0,2$	69 ± 21	$0,7 \pm 0,3$

*Se diluyeron 100 veces células PAO1 de *P. aeruginosa* en crecimiento exponencial y se incubaron (densidad final de $\sim 10^6/\text{ml}$) con 10 μg de proteína no dializada (concentración final de 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, tampón: NaH_2PO_4 -NaOH 30 mM, pH 7,4; NaCl 0,5 M; imidazol 0,5 M) durante 1 hora a temperatura ambiente. Las alícuotas se diluyen y se siembran. La actividad antibacteriana se expresa como la inactivación relativa (%) (= $100 - (\text{N}_i/\text{N}_0) * 100$ con N_0 = número de células no tratadas y N_i = número de células tratadas) y en unidades logarítmicas (= $\log_{10} \text{N}_0/\text{N}_i$). Todas las muestras se replicaron seis veces. Se representan las medias/desviaciones estándar. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba t de Student.

Ejemplo 3 Clonación, expresión y purificación de KZ144 y STM0016 modificadas con diversos tramos peptídicos en el extremo N-terminal de la endolisina

KZ144 de acuerdo con SEQ ID NO: 25 es una endolisina modular procedente del fago de *Pseudomonas aeruginosa* ΦKZ con un dominio de unión al peptidoglicano N-terminal y un dominio catalítico C-terminal (Briers *et al.*, 2007). La endolisina KZ144 está codificada por la molécula de ácido nucleico de acuerdo con SEQ ID NO: 64. La molécula de ácido nucleico de acuerdo con SEQ ID NO: 64 se produjo sintéticamente con un sitio de restricción de BamH I (5'-GGA TCC-3') en el extremo 5' de la molécula de ácido nucleico y un sitio de restricción de Xho I (5'-CTC GAG-3') en

el extremo 3' de la molécula de ácido nucleico.

STM0016 es una hipotética proteína con homología con la endolisina N4-gp61 del fago N4 de *E. coli*. La endolisina STM0016 está codificada por la molécula de ácido nucleico de acuerdo con SEQ ID NO: 65. La molécula de ácido nucleico de acuerdo con SEQ ID NO: 65 se produjo sintéticamente con un sitio de restricción de BamH I (5'-GGA TCC-3') en el extremo 5' de la molécula de ácido nucleico y un sitio de restricción de Xho I (5'-CTC GAG-3') en el extremo 3' de la molécula de ácido nucleico.

N4-gp61 es una endolisina del fago N4 de *E. coli*. La endolisina está codificada por el ácido nucleico de acuerdo con SEQ ID NO: 91. La molécula de ácido nucleico de acuerdo con SEQ ID NO: 91 se produjo sintéticamente con un sitio de restricción de BamH I (5'-GGA TCC-3') en el extremo 5' de la molécula de ácido nucleico y un sitio de restricción de Xho I (5'-CTC GAG-3') en el extremo 3' de la molécula de ácido nucleico.

Los siguientes tramos peptídicos de la Tabla 10 se usaron para la producción de proteínas de fusión con la endolisina KZ144 o STM0016:

Tabla 10:

Tramo peptídico	Molécula de ácido nucleico que codifica el tramo peptídico
Pseudina 1 (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO: 66
Ranalexina (SEQ ID NO:30)	SEQ ID NO: 67
sushi 1 (SEQ ID NO:32)	SEQ ID NO: 68
Variante de WLB2 (SEQ ID NO:33)	SEQ ID NO: 69
Melitina (SEQ ID NO:31)	SEQ ID NO: 70
SMAP-29 (SEQ ID NO:11)	SEQ ID NO: 71
Pleurocidina (SEQ ID NO: 6)	SEQ ID NO: 72
Cecropina A (<i>A. aegypti</i>) (SEQ ID NO:14)	SEQ ID NO: 73
Cecropina A (<i>A. melanogaster</i>) (SEQ ID NO: 15)	SEQ ID NO: 74
Buforina II (SEQ ID NO:8)	SEQ ID NO: 75
Sarcotoxina IA (SEQ ID NO:16)	SEQ ID NO: 76

Las moléculas de ácido nucleico que codifican los respectivos tramos peptídicos se produjeron sintéticamente con un sitio de restricción de Nde I (5'-CAT ATG-3') en el extremo 5' de la molécula de ácido nucleico y un sitio de restricción de BamH I (5'-GGA TCC-3') en el extremo 3' de la molécula de ácido nucleico, excepto la molécula de ácido nucleico que codifica el péptido sushi 1, que se produjo con un sitio de restricción Nco I más dos nucleótidos adicionales (5'-CCA TGG GC-3') en el extremo 5' de la molécula de ácido nucleico.

Las proteínas de fusión se construyen mediante la unión de al menos dos secuencias de ácido nucleico usando técnicas de clonación convencionales según lo descrito, por ejemplo, por Sambrook *et al.* 2001, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual". Por lo tanto, las moléculas de ácido nucleico que codifican los tramos peptídicos se escindieron en un producto de digestión con las respectivas enzimas de restricción Nde I y BamH I, y en el caso de la molécula de ácido nucleico que codifica el tramo peptídico sushi 1, el producto de digestión se realizó con las enzimas de restricción Nco I y BamH I. Posteriormente, se ligaron los ácidos nucleicos escindidos codificantes de los tramos peptídicos al vector de expresión pET21 b (Novagen, Darmstadt, Alemania), que también se escindió en un producto de digestión con las respectivas enzimas de restricción Nde I y BamH I anteriores. La molécula de ácido nucleico escindida que codifica el tramo peptídico sushi 1 se ligó a un vector de expresión pET32 b modificado (vector no modificado que se puede obtener en Novagen, Darmstadt, Alemania), que también se escindió en un producto de digestión con las respectivas enzimas de restricción Nco I y BamH I anteriores. La modificación del vector de expresión pET32b se refiere a la delección de la secuencia que codifica un marcador de S y el marcador de His central.

Tras ello, se escindió la molécula de ácido nucleico codificante de la endolisina KZ144 en un producto de digestión con la enzima de restricción BamH I y Xho I, de modo que la endolisina se pudiera ligar al vector de expresión pET21b (Novagen, Darmstadt, Alemania) y al vector de expresión pET32 b modificado, respectivamente, que también se escindieron en un producto de digestión con las respectivas enzimas de restricción BamH I y Xho I anteriores. La molécula de ácido nucleico codificante de la endolisina STM0016 y la molécula de ácido nucleico codificante de la endolisina N4gp61 se escindieron en un producto de digestión con la enzima de restricción BamH I y Xho I, de modo que la endolisina respectiva se pudiera ligar al vector de expresión pET21b (Novagen, Darmstadt ,

Alemania).

Por lo tanto, la molécula de ácido nucleico codificante del tramo peptídico se ligó al vector respectivo en el extremo 5' de la molécula de ácido nucleico codificante de la endolisina KZ144 o STM0016. Por otra parte, la molécula de ácido nucleico codificante de la endolisina KZ144 o STM0016 se ligó al plásmido respectivo, de modo que una molécula de ácido nucleico codificante de un marcador de His que consistía en seis restos de histidina se asociara al extremo 3' de la molécula de ácido nucleico codificante de la endolisina.

Como algunas proteínas de fusión bien pueden ser tóxicas tras la expresión en bacterias o no homogéneas debido a la degradación proteica, la estrategia podría ser expresar estas proteínas de fusión fusionadas o enlazadas a otras proteínas adicionales. Un ejemplo de estas otras proteínas adicionales es la tiorredoxina, que demostró mediar en la expresión de péptidos antimicrobianos tóxicos en *E. coli* ("TrxA mediating fusion expression of antimicrobial peptide CM4 from multiple joined genes in *Escherichia coli*". Zhou L., Zhao Z., Li B., Cai Y., Zhang S. *Protein Expr Purif.*, abril de 2009; 64(2): 225-230). En el caso de la proteína de fusión que consiste en el péptido sushi 1 N-terminal y la endolisina KZ144, el péptido sushi 1 se liga al vector de expresión pET32 b modificado, de modo que una tiorredoxina adicional se asocia con el extremo 5' del péptido sushi 1. La tiorredoxina se podría retirar de la proteína de fusión expresada mediante el uso de enteroquinasa, por lo tanto, entre la molécula de ácido nucleico codificante del péptido sushi y la que codifica la tiorredoxina se introduce un sitio de restricción de enteroquinasa.

La secuencia de las fusiones de endolisina-péptido se controló a través de la secuenciación de ADN, y se transformaron los clones correctos en BL21 (DE3) de *E. coli* (Novagen, Darmstadt, Alemania) para la expresión de las proteínas.

La expresión recombinante de las proteínas de fusión de acuerdo con SEQ ID NO: 77 a 90 se realiza en células BL21 (DE3) pLysS de *E. coli* y BL21 (DE3) de *E. coli* (Novagen, Darmstadt, Alemania). Las células se cultivaron hasta que se alcanzó una densidad óptica DO600nm de 0,5 a 0,8. A continuación, se indujo la expresión de la proteína de fusión con IPTG 1 mM (isopropiltiogalactósido) y se realizó la expresión a 37 °C durante un período de 4 horas.

Se cosecharon las células BL21 de *E. coli* por centrifugación durante 20 min a 6.000 g y se rompieron mediante sonicación en hielo. Se separaron la fracción soluble e insoluble del extracto en bruto de *E. coli* por centrifugación (Sorvall, SS34, 30 min, 15.000 rpm). Todas las proteínas se purificaron mediante cromatografía de afinidad de Ni²⁺ (Akta FPLC, GE Healthcare) usando el marcador de 6xHis C-terminal, codificado por los vectores pET21b o pET32b.

Como se ha descrito anteriormente, algunas de las proteínas de fusión se expresaron usando un vector pET32b modificado (marcador de S y marcador de His central eliminados), que fusiona la tiorredoxina en el extremo N-terminal de las proteínas de interés. El vector también contiene un sitio de escisión de enteroquinasa justo antes de la proteína de interés. Este sitio permite la escisión proteolítica entre la tiorredoxina y la proteína de interés, que puede purificarse a través del marcador de His C-terminal restante. Para la función antimicrobiana de la proteína de fusión sushi 1-KZ144 puede ser necesario retirar la tiorredoxina mediante escisión proteolítica. Por lo tanto, se escindió la proteína de fusión con 2-4 unidades/mg de enteroquinasa recombinante (Novagen, Darmstadt, Alemania) para eliminar la tiorredoxina siguiendo el protocolo proporcionado por el fabricante. Tras la escisión de la enteroquinasa, se purificó la proteína de fusión a través de la purificación con el marcador de His como se describe a continuación.

La cromatografía de afinidad de Ni²⁺ se realiza en 4 etapas posteriores, todas a temperatura ambiente:

1. *Equilibrado* de la columna de 5 ml *Histrap FF* (GE Healthcare) con hasta 10 volúmenes de columna de tampón de lavado (imidazol 20 mM, NaCl 1 M y Hepes 20 mM a pH 7,4) a un caudal de 3-5 ml/min.
2. *Carga* del lisado total (con la proteína de fusión deseada) en la columna de 5 ml *Histrap FF* a un caudal de 3-5 ml/min.
3. Lavado de la columna con hasta 10 volúmenes de columna de tampón de lavado para retirar la muestra no unida, seguido de una segunda etapa de lavado con tampón de elución al 10 % (imidazol 500 mM, NaCl 0,5 M y Hepes 20 mM a pH 7,4) a un caudal de 3-5 ml/min.
4. Elución de las proteínas de fusión unidas de la columna con un gradiente lineal de 4 volúmenes de columna de tampón de elución (imidazol 500 mM, NaCl 0,5 M y Hepes 20 mM a pH 7,4) hasta el 100 % a un caudal de 3-5 ml/min.

Las soluciones madre purificadas de proteínas de fusión en tampón de elución (Hepes 20 mM, pH 7,4; NaCl 0,5 M; imidazol 500 mM) resultaron tener una pureza del al menos 90 %, determinada visualmente en geles de SDS-PAGE (datos no mostrados).

Ejemplo 4: Actividad antimicrobiana de la endolisina KZ144 modificada con diversos tramos peptídicos en el extremo N-terminal.

Se construyó la proteína de fusión que consistía en KZ144 y el tramo peptídico de hélice $\alpha 4$ como se describe en el Ejemplo 1. Las otras proteínas de fusión que consistían en KZ144 y los respectivos tramos peptídicos se construyeron como se describe en el Ejemplo 3.

Como las cepas de ensayo, se usaron células DSMZ 11753 de *E. coli*, DSMZ 30007 de *Acinetobacter baumannii* y PAO1p de *Pseudomonas aeruginosa* (aislado de herida de quemadura, Queen Astrid Hospital, Brussels; Pirnay J. P. et al. (2003), *J Clin Microbiol.*, 41(3):1192-1202). Se diluyeron diez veces cultivos de una noche en medio LB recién preparado y se cultivaron a $DO_{600} = 0,6$. Se centrifugó el cultivo y se diluyó 10 veces en tampón de dilución (HEPES 10 mM, EDTA 0,5 mM; pH 7,4). Se incubaron las bacterias a temperatura ambiente con 10 μ g de cada proteína de fusión no dializada a una concentración final de 100 μ g/ml en tampón (NaH_2PO_4 -NaOH 20 mM a pH 7,4; NaCl 0,5 M; imidazol 0,5 M). Tras 1 hora, se prepararon series de dilución de las células en PBS y se sembraron en LB. Además, se sembró un control negativo usando tampón (NaH_2PO_4 -NaOH 20 mM a pH 7,4; NaCl 0,5 M; imidazol 0,5 M). Se contaron las colonias residuales tras una incubación durante la noche a 37 °C. Basándose en el recuento del número de células, se calculó la actividad antibacteriana como unidades logarítmicas ($= \log_{10} N_0/N_i$ con N_0 = número de células no tratadas y N_i = número de células tratadas) (Tabla 11). Todas las muestras se replicaron cuatro veces.

La actividad antimicrobiana de estas proteínas de fusión se da en la siguiente tabla.

Tabla 11. Actividad antimicrobiana de KZ144 modificada con diversos tramos peptídicos frente a bacterias Gram negativas

Proteína de fusión	Parte enzimática	Tramo peptídico (N-terminal a menos que se indique lo contrario)	Actividad contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Actividad contra DSMZ 11753 de <i>E. coli</i>	Actividad contra DSMZ 30007 de <i>Acinetobacter baumannii</i>
SEQ ID NO: 77	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Pseudina 1 (SEQ ID NO:29)	+	n.d.	n.d.
SEQ ID NO: 78	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Ranalexina (SEQ ID NO:30)	+	n.d.	n.d.
SEQ ID NO: 79	KZ144 (SEQ ID NO:25)	sushi 1 (SEQ ID NO:32)	+	n.d.	++
SEQ ID NO: 80	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Variante de WLBU2 (SEQ ID NO:33)	n.d.	+	n.d.
SEQ ID NO: 81	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Melitina (SEQ ID NO:31)	+	n.d.	n.d.
SEQ ID NO: 82	KZ144 (SEQ ID NO:25)	SMAP-29 (SEQ ID NO: 11)	+++	+++	n.d.
SEQ ID NO: 83	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Cecropina A (<i>A. aegypti</i>) (SEQ ID NO: 14)	++	+	++
SEQ ID NO: 84	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Pleurocidina (SEQ ID NO: 6)	+	n.d.	n.d.
SEQ ID NO: 85	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Cecropina A (<i>A. melanogaster</i>) (SEQ ID NO:15)	+	n.d.	n.d.
SEQ ID NO: 86	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Buforina II (SEQ ID NO:8)	+	n.d.	n.d.
(SEQ ID NO: 87)	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Sarcotoxina IA (SEQ ID NO:16)	++	++	++
SEQ ID NO: 93	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Hélice $\alpha 4$ (SEQ ID NO:92)	$\pm$	n.d.	n.d.
Abreviaturas: $\pm$ < 1 registro; +: 1 registro; ++: 2-3 registros; +++: 4 o más registros; n.d. significa que esta cepa no se ensayó con la proteína de fusión respectiva.					

Ejemplo 5: Actividad antimicrobiana de la endolisina STM0016 modificada con diversos tramos peptídicos en el extremo N-terminal

- 5 Las proteínas de fusión que consistían en STM0016 y el tramo peptídico Sarcotoxina IA o SMAP-29 se construyeron como se describe en el Ejemplo 3. Como las cepas de ensayo, se usaron células DSMZ 11753 de *E. coli*, DSMZ 17058 de *Salmonella typhimurium* y PAO1p de *Pseudomonas aeruginosa* (aislado de herida de quemadura, Queen Astrid Hospital, Brussels; Pirnay J. P. *et al.* (2003), *J Clin Microbiol.*, 41(3):1192-1202). La actividad antimicrobiana de las proteínas de fusión que consisten en la endolisina STM0016 y el péptido Sarcotoxina IA o SMAP-29 se examinó como se describe en el Ejemplo 4. La actividad antimicrobiana de estas proteínas de fusión se da en la siguiente tabla.

Tabla 12:

Proteína de fusión	Parte enzimática	Tramo peptídico (N-terminal a menos que se indique lo contrario)	Actividad contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Actividad contra DSMZ 11753 de <i>E. coli</i>	Actividad contra DSMZ 17058 de <i>Salmonella typhimurium</i>
SEQ ID NO: 88	STM0016 (SEQ ID NO: 22)	Sarcotoxina IA (SEQ ID NO:16)	+	n.d.	+
(SEQ ID NO: 89	STM0016 (SEQ ID NO: 22)	SMAP-29 (SEQ ID NO: 11)	+	+	+
Abreviaturas: +: 1 registro; n.d. significa que esta cepa no se ensayó con la proteína de fusión respectiva.					

15 Ejemplo 6: Actividad antimicrobiana de la endolisina N4gp61 modificada con un tramo peptídico en el extremo N-terminal

- 20 La proteína de fusión que consistía en N4gp61 y el tramo peptídico SMAP-29 se construyó como se describe en el Ejemplo 3. Como las cepas de ensayo, se usaron células DSMZ 11753 de *E. coli*, DSMZ 17058 de *Salmonella typhimurium* y PAO1p de *Pseudomonas aeruginosa* (aislado de herida de quemadura, Queen Astrid Hospital, Brussels; Pirnay J. P. *et al.* (2003), *J Clin Microbiol.*, 41(3):1192-1202). La actividad antimicrobiana de la proteína de fusión que consiste en la endolisina N4gp61 y el péptido SMAP-29 se examinó como se describe en el Ejemplo 4. La actividad antimicrobiana de esta proteína de fusión se da en la siguiente tabla.

Tabla 13:

Proteína de fusión	Parte enzimática	Tramo peptídico (N-terminal a menos que se indique lo contrario)	Actividad contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Actividad contra DSMZ 11753 de <i>E. coli</i>	Actividad contra DSMZ 17058 de <i>Salmonella typhimurium</i>
SEQ ID NO: 90	N4-gp61 (SEQ ID NO:23)	SMAP-29 (SEQ ID NO: 11)	+	+	+
Abreviaturas: +: 1 registro; n.d. significa que esta cepa no se ensayó con la proteína de fusión respectiva.					

Ejemplo 7: Actividad antimicrobiana de la endolisina gp188 modificada con un tramo peptídico en el extremo N-terminal

- 30 Las proteínas de fusión que consistían en la endolisina gp188 y los tramos peptídicos hélice $\alpha 4$, SMAP-29 o Sarcotoxina IA se construyeron como se describe en el Ejemplo 1. Como las cepas de ensayo, se usaron células DSMZ 11753 de *E. coli*, DSMZ 30007 de *Acinetobacter baumannii* y PAO1p de *Pseudomonas aeruginosa* (aislado de herida de quemadura, Queen Astrid Hospital, Brussels; Pirnay J. P. *et al.* (2003), *J Clin Microbiol.*, 41(3):1192-1202). La actividad antimicrobiana de las proteínas de fusión que consisten en la endolisina gp188 y los respectivos tramos peptídicos se examinó como se describe en el Ejemplo 4. La actividad antimicrobiana de estas proteínas de fusión se da en la siguiente tabla.

Tabla 14:

Proteína de fusión	Parte enzimática	Tramo peptídico (N-terminal a menos que se indique lo contrario)	Actividad contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Actividad contra DSMZ 11753 de <i>E. coli</i>	Actividad contra DSMZ 30007 de <i>Acinetobacter baumannii</i>
SEQ ID NO: 94	gp188 (SEQ ID NO:2)	hélice α 4 (SEQ ID NO: 92)	6	n.d.	n.d.
SEQ ID NO: 95	gp188 (SEQ ID NO:2)	SMAP-29 (SEQ ID NO:11)	++	++	++
SEQ ID NO: 96	gp188 (SEQ ID NO:2)	Sarcotoxina IA (SEQ ID NO: 16)	+	+	+
Abreviaturas: $\pm$ < 1 registro; +: 1 registro; ++: 2-3 registros; n.d. significa que esta cepa no se ensayó con la proteína de fusión respectiva.					

Ejemplo 8: Actividad antimicrobiana de la endolisina de *Salmonella* modificada con el tramo peptídico SMAP-29 en el extremo N-terminal

Las proteínas de fusión que consistían en la endolisina de *Salmonella* que tiene una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 3 y el tramo peptídico SMAP-29 se construyeron de manera análoga a la del Ejemplo 3. Como cepas de ensayo, se usaron DSMZ 11753 de *E. coli* y DSMZ 17058 de *Salmonella typhimurium*. La actividad antimicrobiana de la proteína de fusión se examinó como se describe en el Ejemplo 4. La actividad antimicrobiana de esta proteína de fusión se da en la siguiente tabla.

Tabla 15:

Proteína de fusión	Parte enzimática	Tramo peptídico (N-terminal a menos que se indique lo contrario)	Actividad contra DSMZ 11753 de <i>E. coli</i>	Actividad contra DSMZ 17058 de <i>Salmonella typhimurium</i>
SEQ ID NO: 97	Endolisina de <i>Salmonella</i> (SEQ ID NO:3)	SMAP-29 (SEQ ID NO: 11)	+	+
Abreviaturas: +: 1 registro;				

Ejemplo 9: La actividad antimicrobiana de la endolisina de *Acinetobacter baumannii* modificada con diversos tramos peptídicos en el extremo N-terminal

Las proteínas de fusión que consistían en la endolisina de *Acinetobacter baumannii* que tiene una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 5 y los tramos peptídicos SMAP-29, Pseudina 1 y sushi 1 se construyeron de manera análoga a la del Ejemplo 3. Como cepas de ensayo, se usaron células DSMZ 30007 de *Acinetobacter baumannii* y PAO1p de *Pseudomonas aeruginosa* (aislado de herida de quemadura, Queen Astrid Hospital, Brussels; Pirnay J. P. et al. (2003), *J Clin Microbiol.*, 41(3):1192-1202). La actividad antimicrobiana de las proteínas de fusión se examinó como se describe en el Ejemplo 4. La actividad antimicrobiana de estas proteínas de fusión se da en la siguiente tabla.

Tabla 16:

Proteína de fusión	Parte enzimática	Tramo peptídico (N-terminal a menos que se indique lo contrario)	Actividad contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Actividad contra DSMZ 30007 de <i>Acinetobacter baumannii</i>
(SEQ ID NO: 98)	Endolisina de <i>Acinetobacter baumannii</i> (SEQ ID NO:5)	Pseudina 1 (SEQ ID NO: 29)	$\pm$	n.d.
SEQ ID NO: 99	Endolisina de <i>Acinetobacter baumannii</i> (SEQ ID NO:5)	SMAP-29 (SEQ ID NO: 11)	++	++
SEQ ID NO: 100	Endolisina de <i>Acinetobacter baumannii</i> (SEQ ID NO:5)	sushi 1 (SEQ ID NO: 32)	+	+

Abreviaturas: $\pm$ < 1 registro; +: 1 registro; ++: 2-3 registros; n.d. significa que esta cepa no se ensayó con la proteína de fusión respectiva.

También se ensayaron las proteínas de fusión de la Tabla 11 a 16 sin marcador ni enlazador con los ensayos de actividad descritos anteriormente. Todas ellas mostraron actividad antimicrobiana contra las cepas bacterianas usadas (datos no mostrados)

5

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Katholieke Universiteit Leuven Lysando Holding Est.

10

<120> AGENTES ANTIMICROBIANOS

<130> LYS-002 PCT

15

<140> desconocido

<141> 28-06-2010

<150> 09 163 953.4

<151> 26-06-2009

20

<160> 100

<170> PatentIn versión 3.3

25

<210> 1

<211> 260

<212> PRT

<213> desconocida

30

<220>

<223> phiKZgp144

<400> 1

Met	Lys	Val	Leu	Arg	Lys	Gly	Asp	Arg	Gly	Asp	Glu	Val	Cys	Gln	Leu	1	5	10	15
Gln	Thr	Leu	Leu	Asn	Leu	Cys	Gly	Tyr	Asp	Val	Gly	Lys	Pro	Asp	Gly	20	25	30	
Ile	Phe	Gly	Asn	Asn	Thr	Phe	Asn	Gln	Val	Val	Lys	Phe	Gln	Lys	Asp	35	40	45	
Asn	Cys	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ile	Val	Gly	Lys	Asn	Thr	Trp	Ala	Glu	50	55	60	
Leu	Phe	Ser	Lys	Tyr	Ser	Pro	Pro	Ile	Pro	Tyr	Lys	Thr	Ile	Pro	Met	65	70	75	80
Pro	Thr	Ala	Asn	Lys	Ser	Arg	Ala	Ala	Ala	Thr	Pro	Val	Met	Asn	Ala	85	90	95	
Val	Glu	Asn	Ala	Thr	Gly	Val	Arg	Ser	Gln	Leu	Leu	Leu	Thr	Phe	Ala	100	105	110	
Ser	Ile	Glu	Ser	Ala	Phe	Asp	Tyr	Glu	Ile	Lys	Ala	Lys	Thr	Ser	Ser	115	120	125	
Ala	Thr	Gly	Trp	Phe	Gln	Phe	Leu	Thr	Gly	Thr	Trp	Lys	Thr	Met	Ile	130	135	140	

Glu Asn Tyr Gly Met Lys Tyr Gly Val Leu Thr Asp Pro Thr Gly Ala
145 150 155 160

Leu Arg Lys Asp Pro Arg Ile Ser Ala Leu Met Gly Ala Glu Leu Ile
165 170 175

Lys Glu Asn Met Asn Ile Leu Arg Pro Val Leu Lys Arg Glu Pro Thr
180 185 190

Asp Thr Asp Leu Tyr Leu Ala His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg
195 200 205

Arg Phe Leu Thr Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe Pro
210 215 220

Lys Glu Ala Gln Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser
225 230 235 240

Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val Ala
245 250 255

Ala His Arg Lys
260

<210> 2
<211> 292
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> ELgp188

<400> 2

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

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

Pro Thr Tyr Asp Ile Ala Trp Ser Gly Lys Val Ser Pro Ala Phe Thr
115 120 125

Ala Lys Val Lys Asp Trp Cys Gly Val His Val Pro Asn His Arg Ala
130 135 140

Pro His Trp Leu Met Ala Cys Met Ala Phe Glu Thr Gly Gln Thr Phe
145 150 155 160

Ser Pro Ser Ile Lys Asn Ala Ala Gly Ser Glu Ala Tyr Gly Leu Ile
165 170 175

Gln Phe Met Ser Pro Ala Ala Asn Asp Leu Asn Val Pro Leu Ser Val
180 185 190

Ile Arg Ser Met Asp Gln Leu Thr Gln Leu Asp Leu Val Phe Lys Tyr
195 200 205

Phe Glu Met Trp Met Lys Arg Gly Lys Arg Tyr Thr Gln Leu Glu Asp
210 215 220

Phe Tyr Leu Thr Ile Phe His Pro Ala Ser Val Gly Lys Lys Ala Asp
225 230 235 240

Glu Val Leu Phe Leu Gln Gly Ser Lys Ala Tyr Leu Gln Asn Lys Gly
245 250 255

Phe Asp Val Asp Lys Asp Gly Lys Ile Thr Leu Gly Glu Ile Ser Ser
260 265 270

Thr Leu Tyr Thr Thr Tyr Tyr Lys Gly Leu Leu Pro Glu Asn Arg His
275 280 285

Val Ile Ser Tyr
290

<210> 3
<211> 181
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Endolisina de *Salmonella*

<400> 3

Met Lys Pro Lys Asp Glu Ile Phe Asp Glu Ile Leu Gly Lys Glu Gly
1 5 10 15

Gly Tyr Val Asn His Pro Asp Asp Lys Gly Gly Pro Thr Lys Trp Gly
20 25 30

Ile Thr Glu Lys Val Ala Arg Ala His Gly Tyr Arg Gly Asp Met Arg
35 40 45

Asn Leu Thr Arg Gly Gln Ala Leu Glu Ile Leu Glu Thr Asp Tyr Trp
50 55 60

Tyr Gly Pro Arg Phe Asp Arg Val Ala Lys Ala Ser Pro Asp Val Ala
65 70 75 80

Ala Glu Leu Cys Asp Thr Gly Val Asn Met Gly Pro Ser Val Ala Ala
85 90 95

Lys Met Leu Gln Arg Trp Leu Asn Val Phe Asn Gln Gly Gly Arg Leu
100 105 110

Tyr Pro Asp Met Asp Thr Asp Gly Arg Ile Gly Pro Arg Thr Leu Asn
115 120 125

Ala Leu Arg Val Tyr Leu Glu Lys Arg Gly Lys Asp Gly Glu Arg Val
130 135 140

Leu Leu Val Ala Leu Asn Cys Thr Gln Gly Glu Arg Tyr Leu Glu Leu
145 150 155 160

Ala Glu Lys Arg Glu Ala Asp Glu Ser Phe Val Tyr Gly Trp Met Lys
165 170 175

Glu Arg Val Leu Ile
180

<210> 4
<211> 163
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Endolisina del fago T4 de *Enterobacteria*
<400> 4

Met Asn Ile Phe Glu Met Leu Arg Ile Asp Glu Gly Leu Arg Leu Lys
1 5 10 15

Ile Tyr Lys Asp Thr Glu Gly Tyr Tyr Thr Ile Gly Ile Gly His Leu
20 25 30

Leu Thr Lys Ser Pro Ser Leu Asn Ala Ala Lys Ser Glu Leu Asp Lys

35

40

45

Ala Ile Gly Arg Asn Cys Asn Gly Val Ile Thr Lys Asp Glu Ala Glu
50 55 60

Lys Leu Phe Asn Gln Asp Val Asp Ala Ala Val Arg Gly Ile Leu Arg
65 70 75 80

Asn Ala Lys Leu Lys Pro Val Tyr Asp Ser Leu Asp Ala Val Arg Arg
85 90 95

Cys Ala Leu Ile Asn Met Val Phe Gln Met Gly Glu Thr Gly Val Ala
100 105 110

Gly Phe Thr Asn Ser Leu Arg Met Leu Gln Gln Lys Arg Trp Asp Glu
115 120 125

Ala Ala Val Asn Leu Ala Lys Ser Arg Trp Tyr Asn Gln Thr Pro Asn
130 135 140

Arg Ala Lys Arg Val Ile Thr Thr Phe Arg Thr Gly Thr Trp Asp Ala
145 150 155 160

Tyr Lys Asn

<210> 5

<211> 280

<212> PRT

<213> desconocida

<220>

<223> Endolisina de *Acinetobacter baumannii*

<400> 5

Met Glu Tyr Asp Met Ile Leu Lys Phe Gly Ser Lys Gly Asp Ala Val
1 5 10 15

Ala Thr Leu Gln Lys Gln Leu Ala Lys Met Gly Tyr Lys Gly Val Lys
20 25 30

Asp Lys Pro Leu Ser Val Asp Gly His Phe Gly Glu Ser Thr Glu Phe
35 40 45

Ala Val Ile Gln Leu Gln Arg Lys Phe Gly Leu Val Ala Asp Gly Lys
50 55 60

Val Gly Asp Lys Thr Arg Gln Ala Leu Ala Gly Asp Ser Val Ser Lys
65 70 75 80

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

Pro Glu Leu Val Ile Arg Val Phe Gly Ala Val Glu Gly Leu Gly Val
100 105 110

Gly Phe Leu Pro Asn Gly Lys Ala Lys Ile Leu Phe Glu Arg His Arg
115 120 125

Met Tyr Phe Tyr Leu Cys Gln Ala Leu Gly Lys Thr Phe Ala Asn Ser
130 135 140

Gln Val Lys Ile Thr Pro Asn Ile Val Asn Thr Leu Thr Gly Gly Tyr
145 150 155 160

Lys Gly Asp Ala Ala Glu Tyr Thr Arg Leu Ser Met Ala Ile Asn Ile
165 170 175

His Lys Glu Ser Ala Leu Met Ser Thr Ser Trp Gly Gln Phe Gln Ile
180 185 190

Met Gly Glu Asn Trp Lys Asp Leu Gly Tyr Ser Ser Val Gln Glu Phe
195 200 205

Val Asp Gln Gln Gln Leu Asn Glu Gly Asn Gln Leu Glu Ala Phe Ile
210 215 220

Arg Phe Ile Glu Trp Lys Pro Gly Leu Leu Glu Ala Leu Arg Lys Gln
225 230 235 240

Asp Trp Asp Thr Val Phe Thr Leu Tyr Asn Gly Lys Asn Tyr Lys Lys
245 250 255

Leu Gly Tyr Gln Ala Lys Phe Gln Lys Glu Trp Asp His Leu Glu Pro
260 265 270

Ile Tyr Arg Glu Lys Thr Ala Ala
275 280

<210> 6
<211> 25
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Péptido anfipático Pleurocidina
<400> 6

Gly Trp Gly Ser Phe Phe Lys Lys Ala Ala His Val Gly Lys His Val
1 5 10 15

Gly Lys Ala Ala Leu Thr His Tyr Leu
20 25

<210> 7
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> Péptido anfipático Cecropina P1
 <400> 7

Ser Trp Leu Ser Lys Thr Ala Lys Lys Leu Glu Asn Ser Ala Lys Lys
1 5 10 15

Arg Ile Ser Glu Gly Ile Ala Ile Ala Ile Gln Gly Gly Pro Arg
20 25 30

<210> 8
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> Péptido anfipático Buforina II
 <400> 8

Thr Arg Ser Ser Arg Ala Gly Leu Gln Phe Pro Val Gly Arg Val His
1 5 10 15

Arg Leu Leu Arg Lys
20

<210> 9
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> Péptido anfipático Magainina
 <400> 9

Gly Ile Gly Lys Phe Leu His Ser Ala Lys Lys Phe Gly Lys Ala Phe
1 5 10 15

Val Gly Glu Ile Met Asn Ser
20

<210> 10
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>

<223> Péptidos anfipáticos Catelidicina LL-37

5 <400> 10

Leu Leu Gly Asp Phe Phe Arg Lys Ser Lys Glu Lys Ile Gly Lys Glu
1 5 10 15

Phe Lys Arg Ile Val Gln Arg Ile Lys Asp Phe Leu Arg Asn Leu Val
20 25 30

Pro Arg Thr Glu Ser
35

<210> 11

10 <211> 29

<212> PRT

<213> desconocida

<220>

15 <223> SMAP-29

<400> 11

Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Ala His Gly Val Lys Lys
1 5 10 15

Tyr Gly Pro Thr Val Leu Arg Ile Ile Arg Ile Ala Gly
20 25

20

<210> 12

<211> 13

<212> PRT

<213> desconocida

25

<220>

<223> Indolicidina

<400> 12

30

Ile Leu Pro Trp Lys Trp Pro Trp Trp Pro Trp Arg Arg
1 5 10

<210> 13

<211> 18

35 <212> PRT

<213> desconocida

<220>

<223> Protegrina

40

<400> 13

Arg Gly Gly Arg Leu Cys Tyr Cys Arg Arg Arg Phe Cys Val Cys Val
1 5 10 15

Gly Arg

<210> 14
<211> 36
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Cecropina A (*A.aegypti*)

<400> 14

Gly Gly Leu Lys Lys Leu Gly Lys Lys Leu Glu Gly Ala Gly Lys Arg
1 5 10 15

Val Phe Asn Ala Ala Glu Lys Ala Leu Pro Val Val Ala Gly Ala Lys
20 25 30

Ala Leu Arg Lys
35

<210> 15
<211> 40
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Cecropina A (*D. melanogaster*)

<400> 15

Gly Trp Leu Lys Lys Ile Gly Lys Lys Ile Glu Arg Val Gly Gln His
1 5 10 15

Thr Arg Asp Ala Thr Ile Gln Gly Leu Gly Ile Pro Gln Gln Ala Ala
20 25 30

Asn Val Ala Ala Thr Ala Arg Gly
35 40

<210> 16
<211> 39
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Sarcotoxina IA

<400> 16

Gly Trp Leu Lys Lys Ile Gly Lys Lys Ile Glu Arg Val Gly Gln His
1 5 10 15

Thr Arg Asp Ala Thr Ile Gln Gly Leu Gly Ile Ala Gln Gln Ala Ala
20 25 30

Asn Val Ala Ala Thr Ala Arg
35

5

<210> 17
<211> 5
<212> PRT
<213> desconocida

10

<220>
<223> Pentapéptido
<400> 17

Phe Phe Val Ala Pro
1 5

15

<210> 18
<211> 152
<212> PRT
<213> desconocida

20

<220>
<223> Fago K1F de *E. coli*
<400> 18

Met Val Ser Lys Val Gln Phe Asn Pro Arg Ser Arg Thr Asp Ala Ile
1 5 10 15

Phe Val His Cys Ser Ala Thr Lys Pro Glu Met Asp Ile Gly Val Glu
20 25 30

Thr Ile Arg Met Trp His Lys Gln Gln Ala Trp Leu Asp Val Gly Tyr
35 40 45

His Phe Ile Ile Lys Arg Asp Gly Thr Val Glu Glu Gly Arg Pro Val
50 55 60

Asn Val Val Gly Ser His Val Lys Asp Trp Asn Ser Arg Ser Val Gly
65 70 75 80

Val Cys Leu Val Gly Gly Ile Asn Ala Lys Gly Gln Phe Glu Ala Asn
85 90 95

Phe Thr Pro Ala Gln Met Asn Ser Leu Arg Asn Lys Leu Asp Asp Leu
100 105 110

Lys Val Met Tyr Pro Gln Ala Glu Ile Arg Ala His His Asp Val Ala
115 120 125

Pro Lys Ala Cys Pro Ser Phe Asp Leu Gln Arg Trp Leu Ser Thr Asn
130 135 140

Glu Leu Val Thr Ser Asp Arg Gly
145 150

<210> 19
<211> 39
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Buforina I

<400> 19

Ala Gly Arg Gly Lys Gln Gly Gly Lys Val Arg Ala Lys Ala Lys Thr
1 5 10 15

Arg Ser Ser Arg Ala Gly Leu Gln Phe Pro Val Gly Arg Val His Arg
20 25 30

Leu Leu Arg Lys Gly Asn Tyr
35

<210> 20
 <211> 165
 <212> PRT
 <213> desconocida

5

<220>
 <223> Endolisina PSP3 gp10 de *Salmonella*

<400> 20

10

```

Met Pro Val Ile Asn Thr His Gln Asn Ile Ala Ala Phe Leu Asp Met
 1              5              10              15

Leu Ala Tyr Ser Glu Gly Thr Ala Asn His Pro Leu Thr Lys Asn Arg
      20              25              30

Gly Tyr Asp Val Ile Val Thr Gly Phe Asp Gly Ser Pro Glu Ile Phe
      35              40              45

Thr Asp Tyr Ser Asp His Pro Phe Ala His Gly Arg Pro Pro Lys Val
 50              55              60

Phe Asn Arg Arg Gly Glu Lys Ser Thr Ala Ser Gly Arg Tyr Gln Gln
65              70              75              80

Leu Tyr Ile Phe Trp Pro His Tyr Lys Lys Gln Leu Ala Leu Pro Asp
      85              90              95

Phe Ser Pro Leu Ser Gln Asp Lys Leu Ala Ile Gln Leu Ile Arg Glu
      100              105              110

Arg Gly Ala Ile Asp Asp Ile Arg Ala Gly Arg Ile Glu Arg Ala Val
      115              120              125

Ser Arg Cys Arg Asn Ile Trp Ala Ser Leu Pro Gly Ala Gly Tyr Gly
      130              135              140

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

Gly Gly Val Met Ala
      165

```

<210> 21
 <211> 165
 <212> PRT
 <213> desconocida

15

<220>
 <223> Endolisina del Fago P2gp09 de *E. coli*

20

<400> 21

```

Met Pro Val Ile Asn Thr His Gln Asn Ile Ala Ala Phe Leu Asp Met
1           5           10           15

Leu Ala Val Ser Glu Gly Thr Ala Asn His Pro Leu Thr Lys Asn Arg
          20           25           30

Gly Tyr Asp Val Ile Val Thr Gly Leu Asp Gly Lys Pro Glu Ile Phe
          35           40           45

Thr Asp Tyr Ser Asp His Pro Phe Ala His Gly Arg Pro Ala Lys Val
          50           55           60

Phe Asn Arg Arg Gly Glu Lys Ser Thr Ala Ser Gly Arg Tyr Gln Gln
65           70           75           80

Leu Tyr Leu Phe Trp Pro His Tyr Arg Lys Gln Leu Ala Leu Pro Asp
          85           90           95

Phe Ser Pro Leu Ser Gln Asp Arg Leu Ala Ile Gln Leu Ile Arg Glu
          100          105          110

Arg Gly Ala Leu Asp Asp Ile Arg Ala Gly Arg Ile Glu Arg Ala Ile
          115          120          125

Ser Arg Cys Arg Asn Ile Trp Ala Ser Leu Pro Gly Ala Gly Tyr Gly
          130          135          140

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

Gly Gly Val Pro Ala
          165

```

5 <210> 22
 <211> 176
 <212> PRT
 <213> desconocida

10 <220>
 <223> STM0016

<400> 22

```

Asn Pro Ile Ile Asp Gly Ile Ile Ala Leu Glu Gly Gly Tyr Val Phe
1           5           10           15

Asn Pro Lys Asp Lys Gly Gly Ala Thr His Trp Gly Ile Thr Glu Ala
          20           25           30

Thr Ala Arg Ala His Gly Tyr Ala Gly Asp Met Arg Asp Leu Thr His
          35           40           45

Ala Glu Ala Tyr Ala Ile Leu Glu Glu Asp Tyr Trp Ile Lys Pro Gly
          50           55           60

Phe Asp Val Ile Ser Thr Leu Ser Trp Pro Val Ser Phe Glu Leu Cys
65           70           75           80

Asp Ala Ala Val Asn Ile Gly Ala Tyr His Pro Ser Ala Trp Leu Gln
          85           90           95

Arg Trp Leu Asn Val Phe Asn His Glu Gly Lys Arg Tyr Pro Asp Ile
          100          105          110

His Val Asp Gly Asn Ile Gly Pro Arg Thr Leu Ala Ala Leu Glu His
          115          120          125

Tyr Leu Ala Trp Arg Gly Gln Glu Gly Glu Ala Val Leu Val Lys Ala
          130          135          140

Leu Asn Cys Ser Gln Gly Thr Tyr Tyr Leu Asn Val Ala Glu Lys Asn
145          150          155          160

His Asn Asn Glu Gln Phe Ile Tyr Gly Trp Ile Lys Asn Arg Val Thr
          165          170          175

```

<210> 23
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> Muramidasa de Fago N4 de *E. coli* N4-gp61

<400> 23

Met Ala Ile Ser Lys Lys Lys Val Gly Gly Val Gly Gly Val Ile Ala
1 5 10 15

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

Pro Lys Asp Pro Gly Gly Glu Thr Asn His Gly Val Thr Ile Gln Val
35 40 45

Ala Gln Lys His Lys Gln Glu Leu Glu Ser Met Tyr Asn Trp Asp Gly
50 55 60

Ser Met Lys Asn Leu Thr Gln Glu Met Ala Ser Ser Ile Tyr Tyr Asn
65 70 75 80

Asp Tyr Ile Leu Lys Pro Gly Phe Val Lys Phe Ala Asp Val Ser Pro
85 90 95

Ala Val Thr Glu Lys Leu Val Asp Ala Gly Val Asn Thr Gly Pro Ala
100 105 110

Arg Pro Ser Arg Trp Leu Gln Glu Ser Leu Asn Ala Phe Ser Arg Asn
115 120 125

Gly Lys Asp Tyr Pro Lys Ile Gln Val Asp Gly Lys Val Gly Ser Gly
130 135 140

Thr Leu Ser Ala Tyr Lys Ser Leu Gln Asn Lys Arg Gly Lys Val Glu
145 150 155 160

Ala Cys Lys Leu Ile Leu Lys Ser Leu Asp Gly Lys Gln Leu Asn Tyr
165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Asn Met Pro Glu Tyr Thr Thr Gly Trp Ile Ala Asn
180 185 190

Arg Ile Gly Asn Val Pro Leu Glu Arg Cys Asn Glu Asp Ile Val Asn
195 200 205

<210> 24
<211> 184
5 <212> PRT
<213> desconocida

<220>
10 <223> 24 N4-gp61 trunc.
N4-gp61 trunc.
<400> 24

Val Glu Gly Gly Tyr Val Asn Asp Pro Lys Asp Pro Gly Gly Glu Thr
1 5 10 15

Asn His Gly Val Thr Ile Gln Val Ala Gln Lys His Lys Gln Glu Leu
20 25 30

Glu Ser Met Tyr Asn Trp Asp Gly Ser Met Lys Asn Leu Thr Gln Glu
35 40 45

Met Ala Ser Ser Ile Tyr Tyr Asn Asp Tyr Ile Leu Lys Pro Gly Phe
50 55 60

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

Ala Gly Val Asn Thr Gly Pro Ala Arg Pro Ser Arg Trp Leu Gln Glu
85 90 95

Ser Leu Asn Ala Phe Ser Arg Asn Gly Lys Asp Tyr Pro Lys Ile Gln
100 105 110

Val Asp Gly Lys Val Gly Ser Gly Thr Leu Ser Ala Tyr Lys Ser Leu
115 120 125

Gln Asn Lys Arg Gly Lys Val Glu Ala Cys Lys Leu Ile Leu Lys Ser
130 135 140

Leu Asp Gly Lys Gln Leu Asn Tyr Tyr Leu Ser Leu Asn Met Pro Glu
145 150 155 160

Tyr Thr Thr Gly Trp Ile Ala Asn Arg Ile Gly Asn Val Pro Leu Glu
165 170 175

Arg Cys Asn Glu Asp Ile Val Asn
180

<210> 25
<211> 259
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Fago KZ144 de *E. coli*

<400> 25

ES 2 579 806 T3

Lys Val Leu Arg Lys Gly Asp Arg Gly Asp Glu Val Cys Gln Leu Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Leu Asn Leu Cys Gly Tyr Asp Val Gly Lys Pro Asp Gly Ile
 20 25 30

Phe Gly Asn Asn Thr Phe Asn Gln Val Val Lys Phe Gln Lys Asp Asn
 35 40 45

Cys Leu Asp Ser Asp Gly Ile Val Gly Lys Asn Thr Trp Ala Glu Leu
50 55 60

Phe Ser Lys Tyr Ser Pro Pro Ile Pro Tyr Lys Thr Ile Pro Met Pro
65 70 75 80

Thr Ala Asn Lys Ser Arg Ala Ala Ala Thr Pro Val Met Asn Ala Val
85 90 95

Glu Asn Ala Thr Gly Val Arg Ser Gln Leu Leu Leu Thr Phe Ala Ser
100 105 110

Ile Glu Ser Ala Phe Asp Tyr Glu Ile Lys Ala Lys Thr Ser Ser Ala
115 120 125

Thr Gly Trp Phe Gln Phe Leu Thr Gly Thr Trp Lys Thr Met Ile Glu
130 135 140

Asn Tyr Gly Met Lys Tyr Gly Val Leu Thr Asp Pro Thr Gly Ala Leu
145 150 155 160

Arg Lys Asp Pro Arg Ile Ser Ala Leu Met Gly Ala Glu Leu Ile Lys
165 170 175

Glu Asn Met Asn Ile Leu Arg Pro Val Leu Lys Arg Glu Pro Thr Asp
180 185 190

Thr Asp Leu Tyr Leu Ala His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg
195 200 205

Phe Leu Thr Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe Pro Lys
210 215 220

Glu Ala Gln Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro
225 230 235 240

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

His Arg Lys

<210> 26
<211> 22
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Nigrocina 2

<400> 26

Gly Leu Leu Ser Lys Val Leu Gly Val Gly Lys Lys Val Leu Cys Gly
1 5 10 15

Val Ser Gly Leu Val Cys
20

5 <210> 27
<211> 24
<212> PRT
<213> desconocida

10 <220>
<223> Ascafina 5

<400> 27

Gly Ile Lys Asp Trp Ile Lys Gly Ala Ala Lys Lys Leu Ile Lys Thr
1 5 10 15

Val Ala Ser His Ile Ala Asn Gln
20

15
20 <210> 28
<211> 17
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Apidaecina

25 <400> 28

Ala Asn Arg Pro Val Tyr Ile Pro Pro Pro Arg Pro Pro His Pro Arg
1 5 10 15

Leu

30 <210> 29
<211> 24
<212> PRT
<213> desconocida

35 <220>
<223> Pseudina 1

<400> 29

Gly Leu Asn Thr Leu Lys Lys Val Phe Gln Gly Leu His Glu Ala Ile
1 5 10 15

Lys Leu Ile Asn Asn His Val Gln
20

40 <210> 30
<211> 18

<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Ranalexina

<400> 30

Phe Leu Gly Gly Leu Ile Val Pro Ala Met Ile Cys Ala Val Thr Lys
1 5 10 15

Lys Cys

<210> 31
<211> 26
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Melittina

<400> 31

Gly Ile Gly Ala Val Leu Lys Val Leu Thr Thr Gly Leu Pro Ala Leu
1 5 10 15

Ile Ser Trp Ile Lys Arg Lys Arg Gln Gln
20 25

<210> 32
<211> 34
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Sushi 1

<400> 32

Gly Phe Lys Leu Lys Gly Met Ala Arg Ile Ser Cys Leu Pro Asn Gly
1 5 10 15

Gln Trp Ser Asn Phe Pro Pro Lys Cys Ile Arg Glu Cys Ala Met Val
20 25 30

Ser. Ser

<210> 33
<211> 27
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Variante WLUB2

<400> 33

Lys Arg Trp Val Lys Arg Val Lys Arg Val Lys Arg Trp Val Lys Arg
1 5 10 15

Val Val Arg Val Val Lys Arg Trp Val Lys Arg
20 25

<210> 34
<211> 332
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> OBPgpLYS

<400> 34

Met Gly Ser Lys Asn Ser Glu Lys Asn Ala Ser Ile Ile Met Ser Ile
1 5 10 15

Gln Arg Thr Leu Ala Ser Leu Ser Leu Tyr Gly Gly Arg Ile Asp Gly
20 25 30

Leu Phe Gly Glu Lys Cys Arg Gly Ala Ile Ile Leu Met Leu Asn Lys
35 40 45

Val Tyr Pro Asn Phe Ser Thr Asn Lys Leu Pro Ser Asn Thr Tyr Glu
50 55 60

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

Leu Tyr Thr Ile Thr Ile Asp Gly Lys Trp Gly Gly Thr Ser Gln Gly
85 90 95

Ala Ile Asp Ala Leu Val Lys Ser Tyr Arg Gln Ile Thr Glu Ala Glu
100 105 110

Arg Ala Gly Ser Thr Leu Pro Leu Gly Leu Ala Thr Val Met Ser Lys
115 120 125

His Met Ser Ile Glu Gln Leu Arg Ala Met Leu Pro Thr Asp Arg Gln
130 135 140

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

Phe Glu Ile Asn Thr Pro Leu Arg Ile Ala His Phe Met Ala Gln Ile
165 170 175

Leu His Glu Thr Ala Cys Phe Lys Tyr Thr Glu Glu Leu Ala Ser Gly
180 185 190

Lys Ala Tyr Glu Gly Arg Ala Asp Leu Gly Asn Thr Arg Pro Gly Asp
195 200 205

Gly Pro Leu Phe Lys Gly Arg Gly Leu Leu Gln Ile Thr Gly Arg Leu
210 215 220

Asn Tyr Val Lys Cys Gln Val Tyr Leu Arg Glu Lys Leu Lys Asp Pro
225 230 235 240

Thr Phe Asp Ile Thr Ser Ser Val Thr Cys Ala Gln Gln Leu Ser Glu
245 250 255

Ser Pro Leu Leu Ala Ala Leu Ala Ser Gly Tyr Phe Trp Arg Phe Ile
260 265 270

Lys Pro Lys Leu Asn Glu Thr Ala Asp Lys Asp Asp Ile Tyr Trp Val
275 280 285

Ser Val Tyr Val Asn Gly Tyr Ala Lys Gln Ala Asn Pro Tyr Tyr Pro
290 295 300

Asn Arg Asp Lys Glu Pro Asn His Met Lys Glu Arg Val Gln Met Leu
305 310 315 320

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

<210> 35
<211> 18
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> 35 Walmagh1

<400> 35

Gly Phe Phe Ile Pro Ala Val Ile Leu Pro Ser Ile Ala Phe Leu Ile
1 5 10 15

Val Pro

<210> 36
<211> 283
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Ascafina 5-KZ144

<400> 36

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

ES 2 579 806 T3

Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn
260 265 270

Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
275 280

<210> 37
<211> 276
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Apidaecina-KZ144

<400> 37

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

180	185	190
Lys Glu Asn Met Asn Ile Leu Arg Pro Val Leu Lys Arg Glu Pro Thr		
195	200	205
Asp Thr Asp Leu Tyr Leu Ala His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg		
210	215	220
Arg Phe Leu Thr Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe Pro		
225	230	235
Lys Glu Ala Gln Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser		
245	250	255
Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val Ala		
260	265	270
Ala His Arg Lys		
275		

<210> 38
<211> 281
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Nigrocina 2-KZ144

<400> 38

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

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

Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ile Glu Ser Ala Phe Asp Tyr Glu Ile Lys
130 135 140

Ala Lys Thr Ser Ser Ala Thr Gly Trp Phe Gln Phe Leu Thr Gly Thr
145 150 155 160

Trp Lys Thr Met Ile Glu Asn Tyr Gly Met Lys Tyr Gly Val Leu Thr
165 170 175

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

Gly Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met Asn Ile Leu Arg Pro Val Leu
195 200 205

Lys Arg Glu Pro Thr Asp Thr Asp Leu Tyr Leu Ala His Phe Phe Gly
210 215 220

Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala
225 230 235 240

Ala Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr
245 250 255

Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met
260 265 270

Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
275 280

<210> 39
<211> 283
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Pseudina 1-KZ144

<400> 39

Gly Leu Asn Thr Leu Lys Lys Val Phe Gln Gly Leu His Glu Ala Ile
 1 5 10 15

Lys Leu Ile Asn Asn His Val Gln Lys Val Leu Arg Lys Gly Asp Arg
 20 25 30

Gly Asp Glu Val Cys Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Cys Gly Tyr
 35 40 45

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

<210> 40
 <211> 277
 <212> PRT

<213> desconocida

<220>

<223> Ranalexina-KZ144

5

<400> 40

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

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

Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val
260 265 270

Ala Ala His Arg Lys
275

5 <210> 41
<211> 286
<212> PRT
<213> desconocida

10 <220>
<223> WLBU2-Variante-KZ144
<400> 41

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

Tyr Gly Val Leu Thr Asp Pro Thr Gly Ala Leu Arg Lys Asp Pro Arg
180 185 190

Ile Ser Ala Leu Met Gly Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met Asn Ile
195 200 205

Leu Arg Pro Val Leu Lys Arg Glu Pro Thr Asp Thr Asp Leu Tyr Leu
210 215 220

Ala His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr Thr Gly
225 230 235 240

Gln Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln Ala Asn
245 250 255

Pro Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu
260 265 270

Val Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
275 280 285

<210> 42
<211> 293
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Sushil-KZ144

<400> 42

Gly Phe Lys Leu Lys Gly Met Ala Arg Ile Ser Cys Leu Pro Asn Gly
1 5 10 15

Gln Trp Ser Asn Phe Pro Pro Lys Cys Ile Arg Glu Cys Ala Met Val
20 25 30

Ser Ser Lys Val Leu Arg Lys Gly Asp Arg Gly Asp Glu Val Cys Gln
35 40 45

Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Cys Gly Tyr Asp Val Gly Lys Pro Asp
50 55 60

Gly Ile Phe Gly Asn Asn Thr Phe Asn Gln Val Val Lys Phe Gln Lys
65 70 75 80

Asp Asn Cys Leu Asp Ser Asp Gly Ile Val Gly Lys Asn Thr Trp Ala
85 90 95

Glu Leu Phe Ser Lys Tyr Ser Pro Pro Ile Pro Tyr Lys Thr Ile Pro

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

<210> 43
 <211> 285
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> Melitina-KZ144

<400> 43

Gly	Ile	Gly	Ala	Val	Leu	Lys	Val	Leu	Thr	Thr	Gly	Leu	Pro	Ala	Leu
1					5				10					15	

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

ES 2 579 806 T3

	275	280	285
5	<210> 44 <211> 296 <212> PRT <213> desconocida		
10	<220> <223> LL-37-KZ144 <400> 44		

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

Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met Asn Ile Leu Arg Pro Val Leu Lys
210 215 220

Arg Glu Pro Thr Asp Thr Asp Leu Tyr Leu Ala His Phe Phe Gly Pro
225 230 235 240

Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala Ala
245 250 255

Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr Asn
260 265 270

Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met Asp
275 280 285

Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
290 295

<210> 45
<211> 272
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Indolicidina-KZ144

<400> 45

Ile	Leu	Pro	Trp	Lys	Trp	Pro	Trp	Trp	Pro	Trp	Arg	Arg	Lys	Val	Leu
1				5					10					15	
Arg	Lys	Gly	Asp	Arg	Gly	Asp	Glu	Val	Cys	Gln	Leu	Gln	Thr	Leu	Leu
			20					25					30		
Asn	Leu	Cys	Gly	Tyr	Asp	Val	Gly	Lys	Pro	Asp	Gly	Ile	Phe	Gly	Asn
		35					40					45			
Asn	Thr	Phe	Asn	Gln	Val	Val	Lys	Phe	Gln	Lys	Asp	Asn	Cys	Leu	Asp
	50					55					60				
Ser	Asp	Gly	Ile	Val	Gly	Lys	Asn	Thr	Trp	Ala	Glu	Leu	Phe	Ser	Lys
65					70					75					80
Tyr	Ser	Pro	Pro	Ile	Pro	Tyr	Lys	Thr	Ile	Pro	Met	Pro	Thr	Ala	Asn
				85					90					95	
Lys	Ser	Arg	Ala	Ala	Ala	Thr	Pro	Val	Met	Asn	Ala	Val	Glu	Asn	Ala
			100					105					110		
Thr	Gly	Val	Arg	Ser	Gln	Leu	Leu	Leu	Thr	Phe	Ala	Ser	Ile	Glu	Ser
		115					120					125			

Ala Phe Asp Tyr Glu Ile Lys Ala Lys Thr Ser Ser Ala Thr Gly Trp
130 135 140

Phe Gln Phe Leu Thr Gly Thr Trp Lys Thr Met Ile Glu Asn Tyr Gly
145 150 155 160

Met Lys Tyr Gly Val Leu Thr Asp Pro Thr Gly Ala Leu Arg Lys Asp
165 170 175

Pro Arg Ile Ser Ala Leu Met Gly Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met
180 185 190

Asn Ile Leu Arg Pro Val Leu Lys Arg Glu Pro Thr Asp Thr Asp Leu
195 200 205

Tyr Leu Ala His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr
210 215 220

Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln
225 230 235 240

Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile
245 250 255

Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
260 265 270

<210> 46
<211> 288
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> SMAP-29-KZ144

<400> 46

Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Ala His Gly Val Lys Lys
1 5 10 15

Tyr Gly Pro Thr Val Leu Arg Ile Ile Arg Ile Ala Gly Lys Val Leu
20 25 30

Arg Lys Gly Asp Arg Gly Asp Glu Val Cys Gln Leu Gln Thr Leu Leu
35 40 45

Asn Leu Cys Gly Tyr Asp Val Gly Lys Pro Asp Gly Ile Phe Gly Asn
50 55 60

Asn Thr Phe Asn Gln Val Val Lys Phe Gln Lys Asp Asn Cys Leu Asp
65 70 75 80

Ser Asp Gly Ile Val Gly Lys Asn Thr Trp Ala Glu Leu Phe Ser Lys
85 90 95

Tyr Ser Pro Pro Ile Pro Tyr Lys Thr Ile Pro Met Pro Thr Ala Asn
100 105 110

Lys Ser Arg Ala Ala Ala Thr Pro Val Met Asn Ala Val Glu Asn Ala
115 120 125

Thr Gly Val Arg Ser Gln Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ile Glu Ser
130 135 140

Ala Phe Asp Tyr Glu Ile Lys Ala Lys Thr Ser Ser Ala Thr Gly Trp
145 150 155 160

Phe Gln Phe Leu Thr Gly Thr Trp Lys Thr Met Ile Glu Asn Tyr Gly
165 170 175

Met Lys Tyr Gly Val Leu Thr Asp Pro Thr Gly Ala Leu Arg Lys Asp
180 185 190

Pro Arg Ile Ser Ala Leu Met Gly Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met
195 200 205

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

Tyr Leu Ala His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr
225 230 235 240

Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln
245 250 255

Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile
260 265 270

Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
275 280 285

<210> 47
<211> 277
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Protegrina-KZ144

<400> 47

ES 2 579 806 T3

Arg Gly Gly Arg Leu Cys Tyr Cys Arg Arg Arg Phe Cys Val Cys Val

1	5	10	15
Gly Arg Lys Val Leu Arg Lys Gly Asp Arg Gly Asp Glu Val Cys Gln	20	25	30
Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Cys Gly Tyr Asp Val Gly Lys Pro Asp	35	40	45
Gly Ile Phe Gly Asn Asn Thr Phe Asn Gln Val Val Lys Phe Gln Lys	50	55	60
Asp Asn Cys Leu Asp Ser Asp Gly Ile Val Gly Lys Asn Thr Trp Ala	65	70	75
Glu Leu Phe Ser Lys Tyr Ser Pro Pro Ile Pro Tyr Lys Thr Ile Pro	85	90	95
Met Pro Thr Ala Asn Lys Ser Arg Ala Ala Ala Thr Pro Val Met Asn	100	105	110
Ala Val Glu Asn Ala Thr Gly Val Arg Ser Gln Leu Leu Leu Thr Phe	115	120	125
Ala Ser Ile Glu Ser Ala Phe Asp Tyr Glu Ile Lys Ala Lys Thr Ser	130	135	140
Ser Ala Thr Gly Trp Phe Gln Phe Leu Thr Gly Thr Trp Lys Thr Met	145	150	155
Ile Glu Asn Tyr Gly Met Lys Tyr Gly Val Leu Thr Asp Pro Thr Gly	165	170	175
Ala Leu Arg Lys Asp Pro Arg Ile Ser Ala Leu Met Gly Ala Glu Leu	180	185	190
Ile Lys Glu Asn Met Asn Ile Leu Arg Pro Val Leu Lys Arg Glu Pro	195	200	205
Thr Asp Thr Asp Leu Tyr Leu Ala His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala	210	215	220
Arg Arg Phe Leu Thr Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe	225	230	235
Pro Lys Glu Ala Gln Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly	245	250	255
Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val	260	265	270

Ala Ala His Arg Lys
275

5 <210> 48
<211> 290
<212> PRT
<213> desconocida

10 <220>
<223> Cecropina P1-KZ144
<400> 48

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

	195	200	205
1	Asn Met Asn Ile Leu Arg Pro Val Leu Lys Arg Glu Pro Thr Asp Thr		
	210	215	220
	Asp Leu Tyr Leu Ala His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe		
	225	230	235 240
	Leu Thr Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe Pro Lys Glu		
		245	250 255
	Ala Gln Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys		
		260	265 270
	Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His		
		275	280 285
	Arg Lys		
	290		

<210> 49
 <211> 282
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> Magainina-KZ144

<400> 49

Gly Ile Gly Lys Phe Leu His Ser Ala Lys Lys Phe Gly Lys Ala Phe
1 5 10 15

Val Gly Glu Ile Met Asn Ser Lys Val Leu Arg Lys Gly Asp Arg Gly
20 25 30

Asp Glu Val Cys Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Cys Gly Tyr Asp
35 40 45

Val Gly Lys Pro Asp Gly Ile Phe Gly Asn Asn Thr Phe Asn Gln Val
50 55 60

Val Lys Phe Gln Lys Asp Asn Cys Leu Asp Ser Asp Gly Ile Val Gly
65 70 75 80

Lys Asn Thr Trp Ala Glu Leu Phe Ser Lys Tyr Ser Pro Pro Ile Pro
85 90 95

Tyr Lys Thr Ile Pro Met Pro Thr Ala Asn Lys Ser Arg Ala Ala Ala
100 105 110

Thr Pro Val Met Asn Ala Val Glu Asn Ala Thr Gly Val Arg Ser Gln
115 120 125

Leu Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ile Glu Ser Ala Phe Asp Tyr Glu Ile
130 135 140

Lys Ala Lys Thr Ser Ser Ala Thr Gly Trp Phe Gln Phe Leu Thr Gly
145 150 155 160

Thr Trp Lys Thr Met Ile Glu Asn Tyr Gly Met Lys Tyr Gly Val Leu
165 170 175

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

Met Gly Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met Asn Ile Leu Arg Pro Val
195 200 205

Leu Lys Arg Glu Pro Thr Asp Thr Asp Leu Tyr Leu Ala His Phe Phe
210 215 220

Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr Thr Gly Gln Asn Glu Leu
225 230 235 240

Ala Ala Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln Ala Asn Pro Ser Ile Phe
245 250 255

Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn Leu
260 265 270

Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
275 280

<210> 50
<211> 284
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Pleurocidina-KZ144

<400> 50

Gly Trp Gly Ser Phe Phe Lys Lys Ala Ala His Val Gly Lys His Val
 1 5 10 15

Gly Lys Ala Ala Leu Thr His Tyr Leu Lys Val Leu Arg Lys Gly Asp
 20 25 30

Arg Gly Asp Glu Val Cys Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Cys Gly
 35 40 45

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

<210> 51
 <211> 295
 <212> PRT

<213> desconocida

<220>

<223> Cecropina A (*A. aegypti*)-KZ144

5

<400> 51

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

Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala Ala Thr
245 250 255

His Phe Pro Lys Glu Ala Gln Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr Asn Lys
260 265 270

Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met Asp Gly
275 280 285

Lys Val Ala Ala His Arg Lys
290 295

<210> 52

<211> 299

<212> PRT

<213> desconocida

<220>

<223> Cecropina A (*D.melanogaster*)-KZ144

<400> 52

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

Ile Lys Ala Lys Thr Ser Ser Ala Thr Gly Trp Phe Gln Phe Leu Thr
165 170 175

Gly Thr Trp Lys Thr Met Ile Glu Asn Tyr Gly Met Lys Tyr Gly Val
180 185 190

Leu Thr Asp Pro Thr Gly Ala Leu Arg Lys Asp Pro Arg Ile Ser Ala
195 200 205

Leu Met Gly Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met Asn Ile Leu Arg Pro
210 215 220

Val Leu Lys Arg Glu Pro Thr Asp Thr Asp Leu Tyr Leu Ala His Phe
225 230 235 240

Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr Thr Gly Gln Asn Glu
245 250 255

Leu Ala Ala Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln Ala Asn Pro Ser Ile
260 265 270

Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn
275 280 285

Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
290 295

<210> 53
<211> 280
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Buforina II-KZ144

<400> 53

Thr Arg Ser Ser Arg Ala Gly Leu Gln Phe Pro Val Gly Arg Val His
1 5 10 15

Arg Leu Leu Arg Lys Lys Val Leu Arg Lys Gly Asp Arg Gly Asp Glu
20 25 30

Val Cys Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Cys Gly Tyr Asp Val Gly
35 40 45

Lys Pro Asp Gly Ile Phe Gly Asn Asn Thr Phe Asn Gln Val Val Lys
50 55 60

Phe Gln Lys Asp Asn Cys Leu Asp Ser Asp Gly Ile Val Gly Lys Asn

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

<210> 54
 <211> 298
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> Sarcotoxina IA-KZ144

<400> 54

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

260

265

270

Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn Leu
 275 280 285

Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
 290 295

5
 <210> 55
 <211> 200
 <212> PRT
 <213> desconocida

10
 <220>
 <223> Ascafina 5-STM0016
 <400> 55

Gly Ile Lys Asp Trp Ile Lys Gly Ala Ala Lys Lys Leu Ile Lys Thr
1 5 10 15

Val Ala Ser His Ile Ala Asn Gln Asn Pro Ile Ile Asp Gly Ile Ile
20 25 30

Ala Leu Glu Gly Gly Tyr Val Phe Asn Pro Lys Asp Lys Gly Gly Ala
35 40 45

Thr His Trp Gly Ile Thr Glu Ala Thr Ala Arg Ala His Gly Tyr Ala
50 55 60

Gly Asp Met Arg Asp Leu Thr His Ala Glu Ala Tyr Ala Ile Leu Glu
65 70 75 80

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

Trp Pro Val Ser Phe Glu Leu Cys Asp Ala Ala Val Asn Ile Gly Ala
100 105 110

Tyr His Pro Ser Ala Trp Leu Gln Arg Trp Leu Asn Val Phe Asn His
115 120 125

Glu Gly Lys Arg Tyr Pro Asp Ile His Val Asp Gly Asn Ile Gly Pro
130 135 140

Arg Thr Leu Ala Ala Leu Glu His Tyr Leu Ala Trp Arg Gly Gln Glu
145 150 155 160

Gly Glu Ala Val Leu Val Lys Ala Leu Asn Cys Ser Gln Gly Thr Tyr
165 170 175

Tyr Leu Asn Val Ala Glu Lys Asn His Asn Asn Glu Gln Phe Ile Tyr
180 185 190

Gly Trp Ile Lys Asn Arg Val Thr
195 200

<210> 56
<211> 198
5 <212> PRT
<213> desconocida

<220>
10 <223> Nigrocina 2-STM0016

<400> 56

Gly Leu Leu Ser Lys Val Leu Gly Val Gly Lys Lys Val Leu Cys Gly
1 5 10 15

Val Ser Gly Leu Val Cys Asn Pro Ile Ile Asp Gly Ile Ile Ala Leu
20 25 30

Glu Gly Gly Tyr Val Phe Asn Pro Lys Asp Lys Gly Gly Ala Thr His
35 40 45

Trp Gly Ile Thr Glu Ala Thr Ala Arg Ala His Gly Tyr Ala Gly Asp
50 55 60

Met Arg Asp Leu Thr His Ala Glu Ala Tyr Ala Ile Leu Glu Glu Asp
65 70 75 80

Tyr Trp Ile Lys Pro Gly Phe Asp Val Ile Ser Thr Leu Ser Trp Pro
85 90 95

Val Ser Phe Glu Leu Cys Asp Ala Ala Val Asn Ile Gly Ala Tyr His
100 105 110

Pro Ser Ala Trp Leu Gln Arg Trp Leu Asn Val Phe Asn His Glu Gly
115 120 125

Lys Arg Tyr Pro Asp Ile His Val Asp Gly Asn Ile Gly Pro Arg Thr
130 135 140

Leu Ala Ala Leu Glu His Tyr Leu Ala Trp Arg Gly Gln Glu Gly Glu
145 150 155 160

Ala Val Leu Val Lys Ala Leu Asn Cys Ser Gln Gly Thr Tyr Tyr Leu
165 170 175

Asn Val Ala Glu Lys Asn His Asn Asn Glu Gln Phe Ile Tyr Gly Trp
180 185 190

Ile Lys Asn Arg Val Thr
195

<210> 57
<211> 205
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> SMAP-29-STM0016

<400> 57

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

<210> 58
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> Sarcotoxina IA-STM0016

<400> 58

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

210

215

<210> 59
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>

<223> Melittina-N4gp61

5

<400> 59

```

Gly Ile Gly Ala Val Leu Lys Val Leu Thr Thr Gly Leu Pro Ala Leu
1           5           10           15

Ile Ser Trp Ile Lys Arg Lys Arg Gln Gln Ala Ile Ser Lys Lys Lys
20           25           30

Val Gly Gly Val Gly Gly Val Ile Ala Ala Ile Ile Ala Ala Val Phe
35           40           45

Ala Val Glu Gly Gly Tyr Val Asn Asp Pro Lys Asp Pro Gly Gly Glu
50           55           60

Thr Asn His Gly Val Thr Ile Gln Val Ala Gln Lys His Lys Gln Glu
65           70           75           80

Leu Glu Ser Met Tyr Asn Trp Asp Gly Ser Met Lys Asn Leu Thr Gln
85           90           95

Glu Met Ala Ser Ser Ile Tyr Tyr Asn Asp Tyr Ile Leu Lys Pro Gly
100          105          110

Phe Val Lys Phe Ala Asp Val Ser Pro Ala Val Thr Glu Lys Leu Val
115          120          125

Asp Ala Gly Val Asn Thr Gly Pro Ala Arg Pro Ser Arg Trp Leu Gln
130          135          140

Glu Ser Leu Asn Ala Phe Ser Arg Asn Gly Lys Asp Tyr Pro Lys Ile
145          150          155          160

Gln Val Asp Gly Lys Val Gly Ser Gly Thr Leu Ser Ala Tyr Lys Ser
165          170          175

Leu Gln Asn Lys Arg Gly Lys Val Glu Ala Cys Lys Leu Ile Leu Lys
180          185          190

Ser Leu Asp Gly Lys Gln Leu Asn Tyr Tyr Leu Ser Leu Asn Met Pro
195          200          205

Glu Tyr Thr Thr Gly Trp Ile Ala Asn Arg Ile Gly Asn Val Pro Leu
210          215          220

Glu Arg Cys Asn Glu Asp Ile Val Asn
225          230

```

ES 2 579 806 T3

	<210> 60
	<211> 236
	<212> PRT
5	<213> desconocida
	<220>
	<223> SMAP-29-N4gp61
10	<400> 60

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

<210> 61
 <211> 210
 <212> PRT

<213> desconocida

<220>

<223> Melittina-N4gp61 trunc.

5

<400> 61

Gly Ile Gly Ala Val Leu Lys Val Leu Thr Thr Gly Leu Pro Ala Leu
1 5 10 15

Ile Ser Trp Ile Lys Arg Lys Arg Gln Gln Val Glu Gly Gly Tyr Val
20 25 30

Asn Asp Pro Lys Asp Pro Gly Gly Glu Thr Asn His Gly Val Thr Ile
35 40 45

Gln Val Ala Gln Lys His Lys Gln Glu Leu Glu Ser Met Tyr Asn Trp
50 55 60

Asp Gly Ser Met Lys Asn Leu Thr Gln Glu Met Ala Ser Ser Ile Tyr
65 70 75 80

Tyr Asn Asp Tyr Ile Leu Lys Pro Gly Phe Val Lys Phe Ala Asp Val
85 90 95

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

Pro Ala Arg Pro Ser Arg Trp Leu Gln Glu Ser Leu Asn Ala Phe Ser
115 120 125

Arg Asn Gly Lys Asp Tyr Pro Lys Ile Gln Val Asp Gly Lys Val Gly
130 135 140

Ser Gly Thr Leu Ser Ala Tyr Lys Ser Leu Gln Asn Lys Arg Gly Lys
145 150 155 160

Val Glu Ala Cys Lys Leu Ile Leu Lys Ser Leu Asp Gly Lys Gln Leu
165 170 175

Asn Tyr Tyr Leu Ser Leu Asn Met Pro Glu Tyr Thr Thr Gly Trp Ile
180 185 190

Ala Asn Arg Ile Gly Asn Val Pro Leu Glu Arg Cys Asn Glu Asp Ile
195 200 205

Val Asn
210

10

ES 2 579 806 T3

	<210> 62
	<211> 215
	<212> PRT
5	<213> desconocida
	<220>
	<223> Cecropina P1-N4gp61 trunc.
10	<400> 62

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

<210> 63
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>

<223> SMAP-29-N4gp61 trunc.

<400> 63

5

Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Ala His Gly Val Lys Lys
1 5 10 15

Tyr Gly Pro Thr Val Leu Arg Ile Ile Arg Ile Ala Gly Val Glu Gly
20 25 30

Gly Tyr Val Asn Asp Pro Lys Asp Pro Gly Gly Glu Thr Asn His Gly
35 40 45

Val Thr Ile Gln Val Ala Gln Lys His Lys Gln Glu Leu Glu Ser Met
50 55 60

Tyr Asn Trp Asp Gly Ser Met Lys Asn Leu Thr Gln Glu Met Ala Ser
65 70 75 80

Ser Ile Tyr Tyr Asn Asp Tyr Ile Leu Lys Pro Gly Phe Val Lys Phe
85 90 95

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

Asn Thr Gly Pro Ala Arg Pro Ser Arg Trp Leu Gln Glu Ser Leu Asn
115 120 125

Ala Phe Ser Arg Asn Gly Lys Asp Tyr Pro Lys Ile Gln Val Asp Gly
130 135 140

Lys Val Gly Ser Gly Thr Leu Ser Ala Tyr Lys Ser Leu Gln Asn Lys
145 150 155 160

Arg Gly Lys Val Glu Ala Cys Lys Leu Ile Leu Lys Ser Leu Asp Gly
165 170 175

Lys Gln Leu Asn Tyr Tyr Leu Ser Leu Asn Met Pro Glu Tyr Thr Thr
180 185 190

Gly Trp Ile Ala Asn Arg Ile Gly Asn Val Pro Leu Glu Arg Cys Asn
195 200 205

Glu Asp Ile Val Asn
210

<210> 64

<211> 777

<212> ADN
<213> desconocida

5 <220>
<223> KZ144

<400> 64

```

aaagtattac gcaaaggcga taggggtgat gaggtatgtc aactccagac actcttaa
60
ttatgtggct atgatgttgg aaagccagat ggtatttttg gaaataacac cttta
120
atcag
gtagttaaat ttcaaaaaga taattgtcta gatagtgatg gtattgtagg taaga
180
ataact
tggtcgaat tattcagtaa atattctcca cctattcctt ataaaactat ccctat
240
gccca
actgcaaata aatcacgtgc agctgcaact ccagttatga atgcagtaga aaatg
300
ctact
ggcggttcgta gccagttgct actaacattt gcttctattg aatcagcatt ogat
360
taogaa
ataaaagcta agacttcate agctactggg ttggtccaat tccttactgg aaca
420
tgaaa
acaatgattg aaaattatgg catgaagtat ggcgtactta ctgatccaac tggg
480
gcatta
cgtaaagatc cacgtataag tgctttaatg ggtgccgaac taattaaaga ga
540
atatgaat
attcttctgc ctgtccttaa acgtgaacca actgatactg atctttattt agct
600
cacttc
tttgggcctg gtgcagcccg tcgtttcctg accactggcc agaatgaatt agct
660
gctacc
catttcccaa aagaagctca ggcaaaccca tctatttttt ataacaaaga tggg
720
tcacct
aaaaccattc aagaagtta taacttaatg gatggtaaag ttgcagcaca tagaaa
777

```

10 <210> 65
<211> 528
<212> ADN
<213> desconocida

15 <220>
<223> STM0016

<400> 65

```

aaccgatta tcgatggcat tatcgcgctg gaaggagggt acgtcttta tccgaa
60
agat
aaggggtggag caacacattg ggggtattaca gaagcgacgg cacgagcaca tgg
120
ttatgca
ggagacatgc gtgatctaac tcatgccgaa gcctacgcaa tacttgagga ggat
180
tactgg
atcaaaccgg gttttgatgt tatctcaacg ctgtcgtggc ctgtgagctt tga
240
atttgt
gatgcagcgg ttaacatagg tgcataccac cctagtgcct gggttacagag atg
300
gcttaac
gtgttcaatc acgaaggcaa acgctatcca gacattcatg tagacggcaa catt
360
ggctcc
aggactttag cagccttaga acattacttg gcttggagag ggcaagaagg tga
420
agctgta
ctggtgaaag ctctgaattg cagccaaggg acctactatc taaacgtcgc tgag
480
aagaac
cacaacaacg aacagttcat ctacgggttg atcaagaatc gtgtgacc
528

```

25 <210> 66
<211> 528

	<212> ADN		
	<213> desconocida		
5	<220>		
	<223> Pseudina 1		
	<400> 66		
	aacccgatta tcgatggcat tatcgcgctg gaaggaggtt acgtcttta tccgaaagat	60	
	aaggggtggag caacacattg ggggtattaca gaagcgacgg cagagcaca tggttatgca	120	
	ggagacatgc gtgatctaac tcatgccgaa gcctacgcaa tacttgagga ggattactgg	180	
	atcaaaccgg gttttgatgt tatctcaacg ctgtcgtggc ctgtgagctt tgaattgtgt	240	
	gatgcagcgg ttaacatagg tgcataccac cctagtgcct ggttacagag atggcttaac	300	
	gtgttcaatc acgaaggcaa acgctatcca gacattcatg tagacggcaa cattgggtccc	360	
	aggacttttag cagccttaga acattacttg gcttggagag ggcaagaagg tgaagctgta	420	
	ctgggtgaaag ctctgaattg cagccaaggg acctactatc taaacgtcgc tgagaagaac	480	
	cacaacaacg aacagttcat ctacggttgg atcaagaatc gtgtgacc	528	
10	<210> 67		
	<211> 54		
	<212> ADN		
	<213> desconocida		
15	<220>		
	<223> Ranalexina		
	<400> 67		
20	ttctgggcg gtctgattgt tccagctatg atctgtcgg tgacaaaaa atgc	54	
	<210> 68		
	<211> 102		
	<212> ADN		
25	<213> desconocida		
	<220>		
	<223> Sushi 1		
30	<400> 68		
	ggcttcaaac tgaaaggat ggctcgtatc tectgtctgc caaacggtca gtggtctaac	60	
	tttccaccga aatgcatccg tgaatgcgag atggttagct ct	102	
35	<210> 69		
	<211> 81		
	<212> ADN		
	<213> desconocida		
40	<220>		
	<223> Variante WLBU2		
	<400> 69		

	aaacgctggg ttaaacgcgt gaaacgtgtc aaacgttggg tcaaacgtgt tgtccgtgta	60
	gtgaaacgtt gggtgaaacg c	81
5	<210> 70 <211> 78 <212> ADN <213> desconocida	
10	<220> <223> Melittina <400> 70	
	ggatcgggtg ctgtgctgaa agttctgacc actggctctgc cggcactgat ttcttggatc	60
	aaacgcaaac gtcagcag	78
15	<210> 71 <211> 87 <212> ADN <213> desconocida	
20	<220> <223> SMAP-29 <400> 71	
	cgtggctctgc gtcgcctggg tcgcaaaatt gcgcacggcg tcaaaaaata cggcccgcacc	60
25	gtgctgcgca ttatccgcat cgctggt	87
30	<210> 72 <211> 75 <212> ADN <213> desconocida	
35	<220> <223> Pleurocidina <400> 72	
	ggctgggggtt ctttctttaa aaaagcggct cacgttggca aacatgtagg taaagcagct	60
	ctgacccact atctg	75
40	<210> 73 <211> 108 <212> ADN <213> desconocida	
45	<220> <223> Cecropina A (<i>A. aegypti</i>) <400> 73	
	ggcggcctga aaaaactggg caaaaaactg gaagggtgccg gcaaacgtgt gttcaacgct	60
50	gcagaaaaag cactgccggt tgtagctggt gctaaagctc tccgtaaa	108

<210> 74
 <211> 120
 <212> ADN
 <213> desconocida
 5
 <220>
 <223> Cecropina A (*D. melanogaster*)
 <400> 74
 10
ggctggctga aaaaaattgg caaaaaaatc gaacgcgtgg gccagcacac gcgtgatgca 60
accatccagg gtctgggtat cccacagcag gcagctaacg tagccgcgac tgctcgtggt 120
 <210> 75
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> desconocida
 15
 <220>
 <223> Buforina II
 20
 <400> 75
acccgtagct ctcgtgctgg cctgcagttt ccggttggtc gcgtgcaccg tctgctccgc 60
aaa 63
 25
 <210> 76
 <211> 117
 <212> ADN
 <213> desconocida
 30
 <220>
 <223> Sarcotoxina IA
 <400> 76
ggatggctca aaaagattgg caagaaaatc gagcgagtcg gtcagcatat gcgtgatgca 60
actatccagg gtttaggtat cgcacagcaa gcagctaata tagcagctac tgctcgg 117
 35
 <210> 77
 <211> 294
 <212> PRT
 <213> desconocida
 40
 <220>
 <223> Pseudina 1-KZ144
 45
 <400> 77
Met Gly Leu Asn Thr Leu Lys Lys Val Phe Gln Gly Leu His Glu Ala
1 5 10 15

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

275 280 285
 His His His His His His
 290

- 5 <210> 78
- <211> 288
- <212> PRT
- <213> desconocida
- 10 <220>
- <223> Ranalexina-KZ144
- <400> 78

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

Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met Asn Ile Leu Arg Pro Val Leu Lys
195 200 205

Arg Glu Pro Thr Asp Thr Asp Leu Tyr Leu Ala His Phe Phe Gly Pro
210 215 220

Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala Ala
225 230 235 240

Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr Asn
245 250 255

Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met Asp
260 265 270

Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys Leu Glu His His His His His His
275 280 285

<210> 79
<211> 306
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Sushil-KZ144

<400> 79

Ala	Met	Gly	Gly	Phe	Lys	Leu	Lys	Gly	Met	Ala	Arg	Ile	Ser	Cys	Leu	1	5	10	15
Pro	Asn	Gly	Gln	Trp	Ser	Asn	Phe	Pro	Pro	Lys	Cys	Ile	Arg	Glu	Cys	20	25	30	
Ala	Met	Val	Ser	Ser	Gly	Ser	Lys	Val	Leu	Arg	Lys	Gly	Asp	Arg	Gly	35	40	45	
Asp	Glu	Val	Cys	Gln	Leu	Gln	Thr	Leu	Leu	Asn	Leu	Cys	Gly	Tyr	Asp	50	55	60	
Val	Gly	Lys	Pro	Asp	Gly	Ile	Phe	Gly	Asn	Asn	Thr	Phe	Asn	Gln	Val	65	70	75	80
Val	Lys	Phe	Gln	Lys	Asp	Asn	Cys	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ile	Val	Gly	85	90	95	
Lys	Asn	Thr	Trp	Ala	Glu	Leu	Phe	Ser	Lys	Tyr	Ser	Pro	Pro	Ile	Pro	100	105	110	
Tyr	Lys	Thr	Ile	Pro	Met	Pro	Thr	Ala	Asn	Lys	Ser	Arg	Ala	Ala	Ala	115	120	125	

[illegible]

<210> 80
<211> 297
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> WLBU2-Variante-KZ144

<400> 80

Met Lys Arg Trp Val Lys Arg Val Lys Arg Val Lys Arg Trp Val Lys
 1 5 10 15

Arg Val Val Arg Val Val Lys Arg Trp Val Lys Arg Gly Ser Lys Val
 20 25 30

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

Lys Leu Glu His His His His His His
290 295

5 <210> 81
 <211> 296
 <212> PRT
 <213> desconocida

10 <220>
 <223> Melitina-KZ144
 <400> 81

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

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

Tyr Leu Ala His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr
225 230 235 240

Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln
245 250 255

Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile
260 265 270

Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
275 280 285

Leu Glu His His His His His His
290 295

<210> 82
<211> 299
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> SMAP-29-KZ144

<400> 82

Met Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Ala His Gly Val Lys
1 5 10 15

Lys Tyr Gly Pro Thr Val Leu Arg Ile Ile Arg Ile Ala Gly Gly Ser
20 25 30

Lys Val Leu Arg Lys Gly Asp Arg Gly Asp Glu Val Cys Gln Leu Gln
35 40 45

Thr Leu Leu Asn Leu Cys Gly Tyr Asp Val Gly Lys Pro Asp Gly Ile
50 55 60

Phe Gly Asn Asn Thr Phe Asn Gln Val Val Lys Phe Gln Lys Asp Asn
65 70 75 80

Cys Leu Asp Ser Asp Gly Ile Val Gly Lys Asn Thr Trp Ala Glu Leu
85 90 95

Phe Ser Lys Tyr Ser Pro Pro Ile Pro Tyr Lys Thr Ile Pro Met Pro
100 105 110

Thr Ala Asn Lys Ser Arg Ala Ala Ala Thr Pro Val Met Asn Ala Val

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

<210> 83
 <211> 306
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> Cecropina A (*A. aegypti*)-KZ144

<400> 83

Met Gly Gly Leu Lys Lys Leu Gly Lys Lys Leu Glu Gly Ala Gly Lys 1 5 10 15
Arg Val Phe Asn Ala Ala Glu Lys Ala Leu Pro Val Val Ala Gly Ala 20 25 30

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

290

295

300

His His
305

5

<210> 84
<211> 295
<212> PRT
<213> desconocida

10

<220>
<223> Pleurocidina-KZ144
<400> 84

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

Arg	Ile	Ser	Ala	Leu	Met	Gly	Ala	Glu	Leu	Ile	Lys	Glu	Asn	Met	Asn
		195					200					205			
Ile	Leu	Arg	Pro	Val	Leu	Lys	Arg	Glu	Pro	Thr	Asp	Thr	Asp	Leu	Tyr
	210					215					220				
Leu	Ala	His	Phe	Phe	Gly	Pro	Gly	Ala	Ala	Arg	Arg	Phe	Leu	Thr	Thr
225					230					235					240
Gly	Gln	Asn	Glu	Leu	Ala	Ala	Thr	His	Phe	Pro	Lys	Glu	Ala	Gln	Ala
				245					250					255	
Asn	Pro	Ser	Ile	Phe	Tyr	Asn	Lys	Asp	Gly	Ser	Pro	Lys	Thr	Ile	Gln
			260					265					270		
Glu	Val	Tyr	Asn	Leu	Met	Asp	Gly	Lys	Val	Ala	Ala	His	Arg	Lys	Leu
		275					280					285			
Glu	His	His	His	His	His	His	His								
	290					295									

<210> 85
 <211> 310
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> Cecropina A (*D. melanogaster*)-KZ144

<400> 85

Met Gly Trp Leu Lys Lys Ile Gly Lys Lys Ile Glu Arg Val Gly Gln
1 5 10 15

His Thr Arg Asp Ala Thr Ile Gln Gly Leu Gly Ile Pro Gln Gln Ala
20 25 30

Ala Asn Val Ala Ala Thr Ala Arg Gly Gly Ser Lys Val Leu Arg Lys
35 40 45

Gly Asp Arg Gly Asp Glu Val Cys Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu
50 55 60

Cys Gly Tyr Asp Val Gly Lys Pro Asp Gly Ile Phe Gly Asn Asn Thr
65 70 75 80

Phe Asn Gln Val Val Lys Phe Gln Lys Asp Asn Cys Leu Asp Ser Asp
85 90 95

Gly Ile Val Gly Lys Asn Thr Trp Ala Glu Leu Phe Ser Lys Tyr Ser
100 105 110

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

<210> 86
 <211> 291
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> Buforina II-KZ144

<400> 86

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

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

Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys Leu Glu His His His
 275 280 285

His His His
 290

5 <210> 87
 <211> 309
 <212> PRT
 <213> desconocida

10 <220>
 <223> Sarcotoxina IA-KZ144
 <400> 87

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

Gly Val Leu Thr Asp Pro Thr Gly Ala Leu Arg Lys Asp Pro Arg Ile
195 200 205

Ser Ala Leu Met Gly Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met Asn Ile Leu
210 215 220

Arg Pro Val Leu Lys Arg Glu Pro Thr Asp Thr Asp Leu Tyr Leu Ala
225 230 235 240

His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr Thr Gly Gln
245 250 255

Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln Ala Asn Pro
260 265 270

Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val
275 280 285

Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys Leu Glu His
290 295 300

His His His His His
305

<210> 88
<211> 226
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Sarcotoxina IA-STM0016
<400> 88

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

<210> 89
 <211> 216
 <212> PRT
 <213> desconocida

5

<220>
 <223> SMAP-29-STM0016

10

<400> 89

```

Met Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Ala His Gly Val Lys
 1              5              10              15

Lys Tyr Gly Pro Thr Val Leu Arg Ile Ile Arg Ile Ala Gly Gly Ser
              20              25              30

Asn Pro Ile Ile Asp Gly Ile Ile Ala Leu Glu Gly Gly Tyr Val Phe
          35              40              45

Asn Pro Lys Asp Lys Gly Gly Ala Thr His Trp Gly Ile Thr Glu Ala
 50              55              60
    
```

Thr Ala Arg Ala His Gly Tyr Ala Gly Asp Met Arg Asp Leu Thr His
65 70 75 80

Ala Glu Ala Tyr Ala Ile Leu Glu Glu Asp Tyr Trp Ile Lys Pro Gly
85 90 95

Phe Asp Val Ile Ser Thr Leu Ser Trp Pro Val Ser Phe Glu Leu Cys
100 105 110

Asp Ala Ala Val Asn Ile Gly Ala Tyr His Pro Ser Ala Trp Leu Gln
115 120 125

Arg Trp Leu Asn Val Phe Asn His Glu Gly Lys Arg Tyr Pro Asp Ile
130 135 140

His Val Asp Gly Asn Ile Gly Pro Arg Thr Leu Ala Ala Leu Glu His
145 150 155 160

Tyr Leu Ala Trp Arg Gly Gln Glu Gly Glu Ala Val Leu Val Lys Ala
165 170 175

Leu Asn Cys Ser Gln Gly Thr Tyr Tyr Leu Asn Val Ala Glu Lys Asn
180 185 190

His Asn Asn Glu Gln Phe Ile Tyr Gly Trp Ile Lys Asn Arg Val Thr
195 200 205

Leu Glu His His His His His His
210 215

<210> 90
<211> 247
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> SMAP-29-N4gp61

<400> 90

Met Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Ala His Gly Val Lys
1 5 10 15

Lys Tyr Gly Pro Thr Val Leu Arg Ile Ile Arg Ile Ala Gly Gly Ser
20 25 30

Ala Ile Ser Lys Lys Lys Val Gly Gly Val Gly Gly Val Ile Ala Ala
35 40 45

Ile Ile Ala Ala Val Phe Ala Val Glu Gly Gly Tyr Val Asn Asp Pro
50 55 60

Lys Asp Pro Gly Gly Glu Thr Asn His Gly Val Thr Ile Gln Val Ala
65 70 75 80

Gln Lys His Lys Gln Glu Leu Glu Ser Met Tyr Asn Trp Asp Gly Ser
85 90 95

Met Lys Asn Leu Thr Gln Glu Met Ala Ser Ser Ile Tyr Tyr Asn Asp
100 105 110

Tyr Ile Leu Lys Pro Gly Phe Val Lys Phe Ala Asp Val Ser Pro Ala
115 120 125

Val Thr Glu Lys Leu Val Asp Ala Gly Val Asn Thr Gly Pro Ala Arg
130 135 140

Pro Ser Arg Trp Leu Gln Glu Ser Leu Asn Ala Phe Ser Arg Asn Gly
145 150 155 160

Lys Asp Tyr Pro Lys Ile Gln Val Asp Gly Lys Val Gly Ser Gly Thr
165 170 175

Leu Ser Ala Tyr Lys Ser Leu Gln Asn Lys Arg Gly Lys Val Glu Ala
180 185 190

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

Leu Ser Leu Asn Met Pro Glu Tyr Thr Thr Gly Trp Ile Ala Asn Arg
210 215 220

Ile Gly Asn Val Pro Leu Glu Arg Cys Asn Glu Asp Ile Val Asn Leu
225 230 235 240

Glu His His His His His His
245

5	<210> 91 <211> 624 <212> ADN <213> desconocida <220> <223> N4gp61	
10	<400> 91 atggccatct cgaagaaaa agttggaggt gttggtggag ttattgcggc aatcattgct 60 gcagtatttg ccgttgaagg tggatacgtt aatgaccoga aagatccagg aggtgaaaca 120 aaccatgggtg taactattca ggtcgcacaa aaacacaagc aagaacttga gtcgatgtat 180 aactgggacg ggtcaatgaa gaatctgaca caggagatgg cctcaagtat atattacaac 240 gattatatcc tcaagcctgg ctttgtgaaa tttgcggatg taagtccagc ggttacggaa 300 aaacttgtgg atgctggagt aaatacaggt ccagcaagac caagccgttg gttacaagaa 360 tccttgaatg ctttctcacg caacggcaaa gattatccga aaatccaagt tgacgggaaa 420 gtaggttctg gaactttgag tgcttacaaa agcctgcaga ataagcgagg aaaagtggaa 480 gcctgcaaat taatactgaa gtctctggat ggcaagcagc taaactacta tctgagcctc 540 aatatgocctg agtataccac aggttggatt gcgaatcgta ttggaaatgt gcctttggaa 600 cgctgtaatg aagatatcgt caac 624	
15	<210> 92 <211> 13 <212> PRT <213> desconocida	
20	<220> <223> hélice beta 4 <400> 92	
25	Pro Asn Arg Ala Lys Arg Val Ile Thr Thr Phe Arg Thr 1 5 10	
30	<210> 93 <211> 272 <212> PRT <213> desconocida <220> <223> hélice beta 4:KZ144	
35	<400> 93	

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

	100		105		110
Thr Gly Val Arg Ser Gln Leu Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ile Glu Ser	115		120		125
Ala Phe Asp Tyr Glu Ile Lys Ala Lys Thr Ser Ser Ala Thr Gly Trp	130		135		140
Phe Gln Phe Leu Thr Gly Thr Trp Lys Thr Met Ile Glu Asn Tyr Gly	145		150		155
Met Lys Tyr Gly Val Leu Thr Asp Pro Thr Gly Ala Leu Arg Lys Asp	165		170		175
Pro Arg Ile Ser Ala Leu Met Gly Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met	180		185		190
Asn Ile Leu Arg Pro Val Leu Lys Arg Glu Pro Thr Asp Thr Asp Leu	195		200		205
Tyr Leu Ala His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr	210		215		220
Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln	225		230		235
Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile	245		250		255
Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys	260		265		270

<210> 94
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> hélice beta 4:gp188

<400> 94

Pro	Asn	Arg	Ala	Lys	Arg	Val	Ile	Thr	Thr	Phe	Arg	Thr	Asn	Phe	Arg
1				5					10					15	
Thr	Lys	Asn	Gly	Tyr	Arg	Asp	Leu	Gln	Ala	Leu	Val	Lys	Glu	Leu	Gly
			20					25					30		
Leu	Tyr	Thr	Gly	Gln	Ile	Asp	Gly	Val	Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Ser	Ser
		35					40					45			

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

ES 2 579 806 T3

5	<210> 95
	<211> 320
	<212> PRT
	<213> desconocida
10	<220>
	<223> SMAP-29:gp188
	<400> 95

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

Asp Gln Leu Thr Gln Leu Asp Leu Val Phe Lys Tyr Phe Glu Met Trp
225 230 235 240

Met Lys Arg Gly Lys Arg Tyr Thr Gln Leu Glu Asp Phe Tyr Leu Thr
245 250 255

Ile Phe His Pro Ala Ser Val Gly Lys Lys Ala Asp Glu Val Leu Phe
260 265 270

Leu Gln Gly Ser Lys Ala Tyr Leu Gln Asn Lys Gly Phe Asp Val Asp
275 280 285

Lys Asp Gly Lys Ile Thr Leu Gly Glu Ile Ser Ser Thr Leu Tyr Thr
290 295 300

Thr Tyr Tyr Lys Gly Leu Leu Pro Glu Asn Arg His Val Ile Ser Tyr
305 310 315 320

<210> 96
<211> 330
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> Sarcotoxina IA:gp188

<400> 96

Gly	Trp	Leu	Lys	Lys	Ile	Gly	Lys	Lys	Ile	Glu	Arg	Val	Gly	Gln	His
1				5					10					15	
Thr	Arg	Asp	Ala	Thr	Ile	Gln	Gly	Leu	Gly	Ile	Ala	Gln	Gln	Ala	Ala
			20					25					30		
Asn	Val	Ala	Ala	Thr	Ala	Arg	Asn	Phe	Arg	Thr	Lys	Asn	Gly	Tyr	Arg
		35					40					45			
Asp	Leu	Gln	Ala	Leu	Val	Lys	Glu	Leu	Gly	Leu	Tyr	Thr	Gly	Gln	Ile
	50					55					60				
Asp	Gly	Val	Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Glu	Thr	Leu	Leu
65					70					75					80
Arg	Gly	Tyr	Ala	Glu	Val	Val	Gly	Lys	Asn	Thr	Gly	Gly	Ile	Gly	Leu
				85					90					95	
Pro	Thr	Thr	Ser	Asp	Ala	Ser	Gly	Tyr	Asn	Val	Ile	Thr	Ala	Leu	Gln
			100					105					110		
Arg	Asn	Leu	Ala	Phe	Leu	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Thr	Val	Asp	Gly	Ile
		115					120					125			

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

<210> 97
 <211> 209
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> SMAP-29: endolisina de *Salmonella*

<400> 97

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

Ile

<210> 98
 <211> 303
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> Pseudina 1: endolisina de *Acinetobacter baumannii*

<400> 98

Gly Leu Asn Thr Leu Lys Lys Val Phe Gln Gly Leu His Glu Ala Ile

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

Asn Gly Lys Asn Tyr Lys Lys Leu Gly Tyr Gln Ala Lys Phe Gln Lys
275 280 285

Glu Trp Asp His Leu Glu Pro Ile Tyr Arg Glu Lys Thr Ala Ala
290 295 300

<210> 99
<211> 308
<212> PRT
<213> desconocida

<220>
<223> SMAP-29: endolisina de *Acinetobacter baumannii*

<400> 99

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

	180		185		190										
Ala	Glu	Tyr	Thr	Arg	Leu	Ser	Met	Ala	Ile	Asn	Ile	His	Lys	Glu	Ser
	195						200					205			
Ala	Leu	Met	Ser	Thr	Ser	Trp	Gly	Gln	Phe	Gln	Ile	Met	Gly	Glu	Asn
	210					215					220				
Trp	Lys	Asp	Leu	Gly	Tyr	Ser	Ser	Val	Gln	Glu	Phe	Val	Asp	Gln	Gln
225					230					235					240
Gln	Leu	Asn	Glu	Gly	Asn	Gln	Leu	Glu	Ala	Phe	Ile	Arg	Phe	Ile	Glu
				245					250					255	
Trp	Lys	Pro	Gly	Leu	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Lys	Gln	Asp	Trp	Asp	Thr
			260					265					270		
Val	Phe	Thr	Leu	Tyr	Asn	Gly	Lys	Asn	Tyr	Lys	Lys	Leu	Gly	Tyr	Gln
	275						280					285			
Ala	Lys	Phe	Gln	Lys	Glu	Trp	Asp	His	Leu	Glu	Pro	Ile	Tyr	Arg	Glu
	290					295					300				
Lys	Thr	Ala	Ala												
	305														

<210> 100
 <211> 313
 <212> PRT
 <213> desconocida

<220>
 <223> Sushi 1: endolisina de *Acinetobacter baumannii*

<400> 100

Gly Phe Lys Leu Lys Gly Met Ala Arg Ile Ser Cys Leu Pro Asn Gly
1 5 10 15

Gln Trp Ser Asn Phe Pro Pro Lys Cys Ile Arg Glu Cys Ala Met Val
20 25 30

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

Val Ala Thr Leu Gln Lys Gln Leu Ala Lys Met Gly Tyr Lys Gly Val
50 55 60

Lys Asp Lys Pro Leu Ser Val Asp Gly His Phe Gly Glu Ser Thr Glu
65 70 75 80

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

Lys Val Gly Asp Lys Thr Arg Gln Ala Leu Ala Gly Asp Ser Val Ser
 100 105 110

Lys Phe Leu Lys Asp Glu Asp Tyr Lys Lys Ala Ala Ile Arg Leu Lys
 115 120 125

Val Pro Glu Leu Val Ile Arg Val Phe Gly Ala Val Glu Gly Leu Gly
 130 135 140

Val Gly Phe Leu Pro Asn Gly Lys Ala Lys Ile Leu Phe Glu Arg His
 145 150 155 160

Arg Met Tyr Phe Tyr Leu Cys Gln Ala Leu Gly Lys Thr Phe Ala Asn
 165 170 175

Ser Gln Val Lys Ile Thr Pro Asn Ile Val Asn Thr Leu Thr Gly Gly
 180 185 190

Tyr Lys Gly Asp Ala Ala Glu Tyr Thr Arg Leu Ser Met Ala Ile Asn
 195 200 205

Ile His Lys Glu Ser Ala Leu Met Ser Thr Ser Trp Gly Gln Phe Gln
 210 215 220

Ile Met Gly Glu Asn Trp Lys Asp Leu Gly Tyr Ser Ser Val Gln Glu
 225 230 235 240

Phe Val Asp Gln Gln Gln Leu Asn Glu Gly Asn Gln Leu Glu Ala Phe
 245 250 255

Ile Arg Phe Ile Glu Trp Lys Pro Gly Leu Leu Glu Ala Leu Arg Lys
 260 265 270

Gln Asp Trp Asp Thr Val Phe Thr Leu Tyr Asn Gly Lys Asn Tyr Lys
 275 280 285

Lys Leu Gly Tyr Gln Ala Lys Phe Gln Lys Glu Trp Asp His Leu Glu
 290 295 300

Pro Ile Tyr Arg Glu Lys Thr Ala Ala
 305 310

REIVINDICACIONES

1. Una proteína de fusión compuesta de endolisina que tiene la actividad de degradación de la pared celular de bacterias Gram negativas y un tramo peptídico fusionado a la endolisina en el extremo N- o C-terminal, o en ambos extremos, en donde el tramo peptídico tiene una secuencia de aminoácidos de acuerdo con SEQ ID NO: 11.
2. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha proteína de fusión presenta un resto de aminoácido adicional en el extremo N-terminal y/o en donde el tramo peptídico está unido a la proteína de fusión por uno o más restos de aminoácido adicionales.
3. La proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha proteína de fusión comprende un marcador o una proteína adicional en los extremos C- y/o N-terminal.
4. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 3, en la que dicho marcador o dicha proteína adicional están unidos a la proteína de fusión por uno o más restos de aminoácido adicionales.
5. La proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el tramo peptídico está fusionado a la endolisina en los extremos N- o C-terminal.
6. La proteína de fusión de acuerdo con la reivindicación 5, en la que la endolisina presenta una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de SEQ ID NO: 22-25.
7. La proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde las bacterias Gram negativas se seleccionan del grupo que consiste en:
Enterobacteriaceae,
 en particular, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia* y *Yersinia*,
Pseudomonadaceae,
 en particular, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Shewanella*, *Sphingomonas* y *Comamonas*,
Neisseria, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Brucella*, *Francisella*, *Bordetella*, *Legionella*, *Bartonella*, *Coxiella*, *Haemophilus*, *Pasteurella*, *Mannheimia*, *Actinobacillus*, *Gardnerella*, *Spirochaetaceae*,
 en particular, *Treponema* y *Borrelia*,
Leptospiraceae, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Spirillum*, *Streptobacillus*, *Bacteroidaceae*,
 en particular, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella* y *Porphyromonas*, y *Acinetobacter*, en particular, *A. baumannii*.
8. La proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha proteína de fusión presenta una secuencia de aminoácidos de acuerdo con una cualquiera de las SEQ ID NO: 46, 57, 60, 63, 82, 89, 90, 95, 97, 99.
9. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica una proteína de fusión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
10. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 9.
11. Una célula huésped que comprende la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 9 o el vector de acuerdo con la reivindicación 10.
12. La proteína de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso como medicamento.
13. La proteína de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso como medicamento para el tratamiento o la prevención de infecciones por bacterias Gram negativas.
14. Uso de una proteína de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 como un desinfectante, una sustancia cosmética o como un medio de diagnóstico *in vitro*, en particular, de diagnóstico medicinal, alimentario, alimentario para animales o medioambiental.

15. El uso de la proteína de fusión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para el tratamiento o la prevención de contaminación por bacterias Gram negativas de productos alimentarios, de equipos de procesamiento de alimentos, de plantas de procesamiento de alimentos, de superficies que entran en contacto con productos alimentarios, de dispositivos médicos, de superficies de hospitales y de quirófanos.