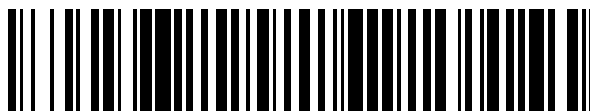


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 724 298**

51 Int. Cl.:

C12N 7/01 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.02.2014** **PCT/KR2014/001592**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.09.2014** **WO14133323**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.02.2014** **E 14757580 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.04.2019** **EP 2961835**

54 Título: **Nuevo bacteriófago y composición antibacteriana que lo comprende**

30 Prioridad:

27.02.2013 KR 20130021499

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

10.09.2019

73 Titular/es:

CJ CHEILJEDANG CORPORATION (100.0%)
CJ Cheiljedang Center, 330 Dongho-ro, Jung-gu
Seoul 100-400, KR

72 Inventor/es:

SON, BO KYUNG;
BAE, GI DUK y
KIM, JAE WON

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 724 298 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

Nuevo bacteriófago y composición antibacteriana que lo comprende

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un nuevo bacteriófago que tiene una actividad bactericida específica contra *Clostridium perfringens* patógena y a una composición antibacteriana que comprende el mismo. Además, la presente invención se refiere a la composición antibacteriana o al nuevo bacteriófago para su uso en la prevención o en el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por *Clostridium perfringens*.

Técnica anterior

15 *Clostridium perfringens* (CP), que es un bacilo anaerobio obligatorio gram-positivo de gran tamaño, se conoce como una bacteria que carece de flagelo y forma una espora. *Clostridium perfringens*, que es una bacteria causante de diarrea o similar, en particular, en animales domésticos tales como los pollos, cerdos, etc. y similares, ha sido reconocida como una de las bacterias patógenas importantes y letales en la industria ganadera, al igual que la *Salmonella* causante de la fiebre tifoidea aviar.

20 Actualmente, una de las enfermedades generadas con frecuencia en las industrias aviar y porcina es la enteritis necrótica producida por *Clostridium perfringens*. Se sabe que la enteritis necrótica se genera con frecuencia por la infección simultánea de *Clostridium perfringens* y *Coccidium*, y como síntoma principal de la enteritis necrótica, se encuentra la diarrea con sangre debida a lesiones necróticas graves en la parte inferior del intestino delgado de los pollos, cerdos o similares.

25 Esta enteritis necrótica genera síntomas de deshidratación, diarrea periódica y similares, en un animal infectado según la gravedad de la enfermedad, debilita gradualmente el cuerpo del animal, y causa retraso del crecimiento y similares, de manera que la enteritis necrótica se ha convertido en un problema importante para la industria ganadera. Además, dado que *Clostridium perfringens* se propaga fácilmente a través de las heces de los animales, puede generarse fácilmente la transmisión entre animales en un espacio de reproducción común por infección oral a través del suelo o el pienso contaminados, o similares. De forma particular, la incidencia en animales jóvenes es alta, por lo que *Clostridium perfringens* se ha convertido en un problema.

30 Al mismo tiempo, el bacteriófago es un tipo de virus especializado que infecta y destruye únicamente bacterias, y puede autorreplicarse únicamente dentro de las bacterias hospedadoras. El bacteriófago tiene una fuerte especificidad hospedadora en comparación con los antibióticos, y recientemente, el problema de la aparición de cepas resistentes a los antibióticos se ha vuelto grave, de manera que se ha aumentado el interés en el uso práctico del bacteriófago (Documentos de no patente 1 y 2).

40 Por lo tanto, en diversos países del mundo, se ha realizado activamente una investigación con respecto al bacteriófago, y, además de una solicitud de patente para el bacteriófago, han aumentado gradualmente los intentos por obtener la aprobación de la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) para una composición que contenga el bacteriófago.

45 Como los documentos de la técnica anterior relativos al bacteriófago, un bacteriófago que tiene una actividad bactericida específica contra *Clostridium perfringens* se ha divulgado en el Documento de patente 1, y un bacteriófago que tiene una actividad bactericida específica contra *Staphylococcus aureus* se ha divulgado en el Documento de Patente 2. Además, en el Documento de patente 3, se ha divulgado la proteína lítica derivada de un bacteriófago que destruye específicamente la estructura de peptidoglicano de la membrana celular bacteriana, y lisados bacterianos por la proteína lítica.

50 Sin embargo, a pesar de la presencia de las siguientes técnicas anteriores, sigue siendo insuficiente la tecnología asociada con el bacteriófago para prevenir y/o tratar enfermedades infecciosas, en particular, la enteritis necrótica producida por *Clostridium perfringens*, que es un problema todavía importante en la industria ganadera, incluyendo las industrias aviar y porcina, por lo que se debe desarrollar un bacteriófago y una tecnología asociada con el bacteriófago.

Documentos de la técnica anterior:

60 *Documento de patente:*

(Documento de patente 1) Publicación de patente de Corea abierta a inspección pública n.º 10-2012-0076710 A

(Documento de patente 2) Patente de Corea con n.º de registro 10-0910961 B1

(Documento de patente 3) Publicación de patente de Corea abierta a inspección pública n.º 10-2009-0021475 A

65

Documento de no patente

(Documento de no patente 1) Cislo M, *et al.*, *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2:175-183, 1987

(Documento de no patente 2) Sung Hoon Kim *et al.*, "Bacteriophage, novel alternative antibiotics", BioWave Vol. 7 n.º 15, 2005, BRIC.

Problema técnico

Los presentes inventores realizaron estudios con el fin de resolver problemas tales como las bacterias resistentes que aparecen tras el uso de antibióticos, restos de antibióticos de la carne y similares, y prevenir y tratar eficazmente enfermedades infecciosas producidas por *Clostridium perfringens*, y como resultado de ello, los presentes inventores aislaron de la naturaleza un nuevo bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P), que tiene una actividad bactericida específica contra *Clostridium perfringens*.

Además, los presentes inventores identificaron características morfológicas, bioquímicas y genéticas del nuevo bacteriófago, y confirmaron que el bacteriófago tenía excelente resistencia al ácido, resistencia al calor, resistencia a la sequía y similares, desarrollando así un antibiótico, un desinfectante, un aditivo para pienso y otras composiciones usando el nuevo bacteriófago. Además, los presentes inventores desarrollaron una composición para prevenir o tratar enfermedades infecciosas producidas por *Clostridium perfringens*, y un método para prevenir o tratar la enfermedad usando la composición.

La presente invención pretende proporcionar un bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) que tiene una actividad bactericida específica contra *Clostridium perfringens*, donde la secuencia de ácido nucleico de dicho bacteriófago ΦCJ21 es SEQ ID NO: 1.

Además, la presente invención pretende proporcionar una composición que comprenda el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) de la invención como principio activo.

Además, la presente invención pretende proporcionar un aditivo para piensos, un aditivo para agua potable, un desinfectante o un limpiador que contengan el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM1136 3P) de la invención como principio activo.

Además, la presente invención pretende proporcionar la composición de la invención o el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) de la invención para su uso en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades infecciosas producidas por *Clostridium perfringens* en los animales, excepto para los seres humanos.

Solución técnica

De acuerdo con una realización ilustrativa de la presente invención, se proporciona un bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) que tiene una actividad bactericida específica contra *Clostridium perfringens*, donde la secuencia de ácido nucleico de dicho bacteriófago ΦCJ21 es SEQ ID NO: 1.

De acuerdo con otra realización ilustrativa de la presente invención, se proporciona una composición que comprende el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM1136 3P) como se ha descrito anteriormente como principio activo.

De acuerdo con otra realización ilustrativa de la presente invención, se proporciona un aditivo para piensos, un aditivo para agua potable, un desinfectante o un limpiador que contienen el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM1 1363P) como se ha descrito anteriormente como principio activo.

De acuerdo con otra realización ilustrativa de la presente invención, se proporciona la composición de la invención o el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) de la invención para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad infecciosa causada por *Clostridium perfringens*.

Efectos ventajosos

El bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) de acuerdo con la presente invención tiene el efecto de destruir específicamente a *Clostridium perfringens*.

Además, el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) de acuerdo con la presente invención tiene excelentes resistencia a los ácidos, resistencia al calor y resistencia a la sequía, de manera que el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) se puede usar como un material para prevenir o tratar enfermedades infecciosas producidas por *Clostridium perfringens* en varios intervalos de temperatura o de pH, condiciones de humedad y similares, y se utiliza como un antibiótico, un aditivo para pienso, un aditivo para agua potable, un desinfectante, un limpiador o similares.

Además, de acuerdo con la presente invención, el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) o una composición que contiene el mismo (KCCM11363P) como principio activo pueden usarse en la prevención o el tratamiento de

enfermedades infecciosas causadas por *Clostridium perfringens*.

Descripción de los dibujos

- 5 La FIG. 1 es una fotografía de microscopio electrónico de un nuevo bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P, que en lo sucesivo, en el presente documento, se denominará "ΦCJ21").
- La FIG. 2 muestra el resultado de una electroforesis en gel de campo pulsante (PFGE) del nuevo bacteriófago ΦCJ21.
- 10 La FIG. 3 muestra el resultado de una electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) del nuevo bacteriófago ΦCJ21.
- La FIG. 4 es un gráfico que muestra el resultado de un ensayo de resistencia al ácido del nuevo bacteriófago ΦCJ21.
- La FIG. 5 es un gráfico que muestra el resultado de un ensayo de resistencia al calor del nuevo bacteriófago ΦCJ21.
- 15 La FIG. 6 es un gráfico que muestra el resultado de un ensayo de resistencia a la sequía del nuevo bacteriófago ΦCJ21.

Mejor forma de realización

- 20 En lo sucesivo, en el presente documento, se describirá detalladamente la presente invención. Dado que los contenidos que no se describen en la presente memoria descriptiva pueden ser suficientemente reconocidos o inferidos por los expertos en la materia o en una materia similar, se omitirá una descripción de los mismos.

- 25 En una realización, la presente invención proporciona un bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) que tiene una actividad bactericida específica contra *Clostridium perfringens* (CP), donde la secuencia de ácido nucleico de dicho bacteriófago ΦCJ21 es SEQ ID NO: 1.

- 30 Se sabe que *Clostridium perfringens*, que es un bacilo anaerobio obligatorio gram-positivo de gran tamaño, carece de flagelo y forma una espora. *Clostridium perfringens*, que es una bacteria causante de diarrea o similar, en animales, en particular, en animales domésticos tales como aves de corral, cerdos y similares, ha sido reconocida como una de las bacterias patógenas peligrosas y letales en la industria ganadera tal como la *Salmonella* causante de la fiebre tifoidea aviar.

- 35 Un bacteriófago es un virus específico de bacterias que infecta bacterias específicas para suprimir e inhibir el crecimiento de las bacterias, y significa un virus que incluye ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (ARN), monocatenario o bicatenario, como material genético.

- 40 Un bacteriófago ΦCJ21 de la presente invención, que es un bacteriófago que tiene especificidad de especie para infectar selectivamente *Clostridium perfringens*, tiene una cápside isométrica y una cola no contráctil, y pertenece morfológicamente a *Siphoviridae* (FIG. 1). Los datos del análisis de homología de las secuencias de ácido nucleico entre el bacteriófago ΦCJ21 y otros bacteriófagos se muestran en la Tabla 1. La actividad del bacteriófago ΦCJ21 fue estable en el intervalo de pH 4 a pH 9,8 (resistencia a los ácidos, véase la FIG. 4). ΦCJ21 mantuvo su actividad durante 2 horas al exponerse a 60 °C (resistencia al calor, véase la FIG. 5), y su título se redujo aproximadamente 1/10 tras el secado (véase la FIG. 6). La secuencia de ácido nucleico del bacteriófago ΦCJ21 es la misma que la SEQ ID NO: 1.
- 45

- El bacteriófago ΦCJ21, que era un bacteriófago recién aislado por los presentes inventores, se depositó en el Centro Coreano de Cultivos de Microorganismos (361-221, Hongjedong, Seodaemun-gu, Seúl, Corea) con el número de depósito KCCM11363P el 30 de enero de 2013.
- 50

- En otra realización, la presente invención proporciona una composición que contiene el bacteriófago ΦCJ21 como principio activo. Como ejemplo de la composición, la presente descripción proporciona un antibiótico.

- 55 Dado que el bacteriófago ΦCJ21 tiene una actividad antibacteriana capaz de matar específicamente a *Clostridium perfringens*, el bacteriófago ΦCJ21 se puede usar para prevenir o tratar enfermedades generadas por la infección de *Clostridium perfringens*. Como un ejemplo adecuado de la enfermedad infecciosa causada por *Clostridium perfringens* que puede tratarse usando el bacteriófago ΦCJ21, está la enteritis necrótica, pero la presente invención no se limita a la misma.

- 60 La enteritis necrótica, que es una de las principales enfermedades infecciosas causadas por *Clostridium perfringens*, corresponde a una enfermedad bacteriana que se genera con mayor frecuencia en los animales domésticos, en particular, en las aves de corral, y causa un daño significativo. La enfermedad se puede generar en aves de corral, especialmente en pollos, esencialmente en todas las edades, pero se genera principalmente en pollos (de 2 a 5 semanas de vida) criados en el suelo, y también se genera con frecuencia en pollos (de 12 a 16 semanas de vida) criados en una jaula.
- 65

Como *Clostridium perfringens* prolifera excesivamente en el intestino delgado, se generan los síntomas de la enteritis necrótica, y se produce la necrosis de la mucosa gastrointestinal, diarrea repentina, y similares. Por ejemplo, en los cerdos, en el caso de la enteritis necrótica muy aguda, después de 1 a 2 días de su aparición, se genera la mortalidad de los cerdos, y en el caso de la enteritis necrótica aguda, después de 2 a 3 días de diarrea con sangre, se genera la mortalidad del cerdo. Además, en el caso de la enteritis necrótica subaguda, se desarrolla diarrea (no hay heces con sangre) durante 5 a 7 días, y luego se producen la debilidad y la deshidratación, y en el caso de la enteritis necrótica crónica, se produce diarrea intermitente, y se puede generar trastorno de crecimiento.

El término "prevención", como se usa en el presente documento, se refiere a todas las acciones para proporcionar el bacteriófago ΦCJ21 y/o la composición que contiene el mismo como principio activo a animales, excepto a seres humanos, para suprimir la enfermedad correspondiente o retrasar la aparición de la enfermedad.

El término "tratamiento", como se usa en el presente documento, se refiere a todas las acciones para proporcionar el bacteriófago ΦCJ21 y/o la composición que contiene el mismo como principio activo a animales, excepto a seres humanos, para permitir de esta manera que se mejore o alivie el síntoma de la enfermedad correspondiente provocada por la infección.

Como un ejemplo de la enfermedad infecciosa causada por *Clostridium perfringens* en la que el bacteriófago ΦCJ21 y/o la composición que contiene el mismo como principio activo se puede aplicar, está la enteritis necrótica, pero la presente invención no se limita a la misma.

La composición de acuerdo con la presente invención puede contener el bacteriófago ΦCJ21 en una cantidad preferentemente de 5×10^6 a 5×10^{12} ufp/ml, más preferentemente, de 1×10^6 a 1×10^{10} ufp/ml.

La composición de acuerdo con la presente invención puede contener además un vehículo farmacéuticamente aceptable, y se formula junto con el vehículo para proporcionarse de esta manera como un alimento, un fármaco, un aditivo para pienso, un aditivo para agua potable y similares. La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" como se usa en el presente documento significa un vehículo o un diluyente que no estimula al organismo vivo ni inhibe la actividad biológica ni las propiedades de un compuesto que se administre.

Un tipo de vehículo que se puede usar en la presente invención no se limita a uno en particular, y se puede usar cualquier vehículo siempre y cuando se use en general en la técnica y que sea farmacéuticamente aceptable. Un ejemplo no restrictivo de vehículo, es solución salina, agua estéril, solución de Ringer, solución salina tamponada, solución de inyección de albúmina, solución de dextrosa, solución de maltodextrina, glicerol, etanol y similares. Estos se pueden usar solos o en una mezcla de al menos dos de ellos.

Además, si fuera necesario, otro aditivo general, tal como un antioxidante, un tampón y/o un agente bacteriostático, etc., se puede añadir y usar adicionalmente, y la composición se puede formular en una formulación para inyección tal como una solución acuosa, suspensión, emulsión, o similar, píldoras, cápsulas, gránulos, comprimidos, o similares, añadiendo de forma adicional un diluyente, un dispersante, un tensioactivo, un aglutinante y/o un lubricante, etc., y después usarse.

El método de administración de la composición no se limita a uno en particular, sino que se puede usar cualquier método usado en la técnica en general. Como ejemplo no restrictivo del método de administración, la composición se puede administrar por vía oral o parenteral.

Un ejemplo no restrictivo de la formulación para la administración oral, son trociscos, pastillas para chupar, comprimidos, suspensiones acuosas, suspensiones oleaginosas, polvos preparados, gránulos, emulsiones, cápsulas duras, cápsulas blandas, jarabes, elixires o similares.

Para formular la composición de acuerdo con la presente invención en una formulación tal como un comprimido, una cápsula o similar, la formulación puede contener además un aglutinante tal como lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón, amilopectina, celulosa, gelatina; un excipiente, tal como fosfato dicálcico, o similar; un agente disgregante tal como almidón de maíz, almidón de batata, o similares; un lubricante, tal como estearato de magnesio, estearato de calcio, estearilfumarato de sodio, cera de polietilenglicol, o similar. En el caso de la formulación en cápsulas, la formulación puede contener además un vehículo líquido, tal como aceite graso, además de los materiales anteriormente mencionados.

Como método de administración parenteral, se puede usar un método de administración intravenosa, un método de administración intraperitoneal, un método de administración intramuscular, un método de administración subcutánea o un método de administración local, etc. Además, también se puede usar un método de aplicación o pulverización de la composición sobre un lugar enfermo, pero la presente invención no se limita al mismo.

Un ejemplo de la formulación para la administración parenteral puede incluir las formulaciones para inyección por inyección subcutánea, inyección intravenosa, inyección intramuscular o similares; formulaciones para supositorios; formulaciones de pulverización tales como formulaciones en aerosol que pueden inhalarse a través del sistema

respiratorio o similares, pero la presente invención no se limita a las mismas. Para formular la composición en la formulación para inyección, la composición de acuerdo con la presente invención puede mezclarse en agua con un estabilizador o un tampón para preparar de este modo una solución o suspensión, y después, la solución o suspensión preparada se puede formular en una dosis unitaria en forma de ampolla o vial. En el caso de formular la

composición en la formulación de pulverización, tal como la formulación en aerosol, o similar, se puede mezclar un propulsor, o similar, junto con un aditivo para que se disperse un condensado dispersado en agua o polvo húmedo.

Una aplicación adecuada, pulverización o dosis de administración de la composición se pueden determinar de diferentes maneras dependiendo de factores tales como la edad, el peso, el sexo, el grado de síntoma de la enfermedad, el tipo de alimento, la velocidad de excreción de los animales que reciben la administración, o similares, así como del método de formulación de la composición, del método de administración, del tiempo y/o de la vía de administración. En general, un veterinario con experiencia normal en la técnica puede determinar y recetar fácilmente una dosis eficaz para el tratamiento deseado.

La presente descripción puede proporcionar un antibiótico que contenga el bacteriófago ΦCJ21 como principio activo.

El término "antibiótico", como se usa en el presente documento, significa un agente capaz de proporcionarse a animales, incluyendo seres humanos, en forma de fármaco para destruir bacterias de esta manera, y se corresponde con un concepto que indica colectivamente un conservante, un desinfectante y un agente antibacteriano.

El antibiótico que contiene el bacteriófago ΦCJ21 de acuerdo con la presente invención como principio activo puede tener una alta especificidad hacia la *Clostridium perfringens* en comparación con un antibiótico de acuerdo con la técnica anterior para que, de esta manera, no destruya bacterias beneficiosas, sino que destruya bacterias patógenas específicas, y no induzca resistencia farmacológica, de manera que el antibiótico de acuerdo con la presente invención puede proporcionarse como un nuevo antibiótico que tiene un mayor período de vida en comparación con el antibiótico de acuerdo con la técnica anterior.

En otra realización, la presente invención puede proporcionar un aditivo para pienso o un aditivo para el agua potable que contenga el bacteriófago ΦCJ21 como principio activo.

El aditivo para pienso y el aditivo para agua potable de acuerdo con la presente invención pueden usarse de una manera en la que el bacteriófago ΦCJ21 o la composición que lo contiene se preparen individualmente en forma de un aditivo para pienso o aditivo para agua potable, y después se mezclen con un pienso o con agua potable, o de una manera en la que el bacteriófago ΦCJ21 o la composición que lo contiene se añadan directamente durante la preparación del pienso o del agua potable.

El bacteriófago ΦCJ21 o la composición que contiene el mismo usados como el aditivo para pienso o el aditivo para agua potable de acuerdo con la presente invención pueden estar en estado líquido o en estado seco, y preferentemente, en forma de polvo seco.

El método de secado para la preparación del aditivo para pienso y del aditivo para agua potable de acuerdo con la presente invención en forma de polvo seco no se limita a uno en particular, sino que se puede usar un método usado de forma general en la técnica. Como ejemplo no restrictivo del método de secado, se encuentra un método de secado al aire, un método de secado natural, un método de secado por pulverización, un método de liofilización o métodos similares. Se pueden usar uno solo de estos métodos o al menos dos métodos juntos.

Se puede añadir otro microbio no patógeno además al aditivo para pienso o aditivo para el agua potable. Los ejemplos no restrictivos del microbio capaz de añadirse se puede seleccionar de entre un grupo que consiste en *Bacillus* sp. capaz de producir proteasa, lipasa y/o enzima conversora del azúcar, tal como *Bacillus subtilis*, o similar; *Lactobacillus* sp., que tienen actividad fisiológica y actividad de degradación de un material orgánico en condiciones anaeróbicas tales como las del estómago de las vacas; hongos del moho que tienen los efectos de aumentar el peso del animal doméstico, la producción de leche y la digestibilidad del pienso, tal como *Aspergillus oryzae*, o similares; y levaduras, tales como *Saccharomyces cerevisiae*, o similares. Estos se pueden usar solos o en una mezcla de al menos dos de ellos.

El aditivo para pienso o el aditivo para agua potable que, como principio activo, contiene el bacteriófago ΦCJ21 de acuerdo con la presente invención, puede contener además otros aditivos, según se necesite. Son ejemplos no restrictivos de aditivos utilizables, un aglutinante, un emulsionante, un conservante y similares, que se añaden para evitar que la calidad del pienso o del agua potable se deteriore; aminoácidos, vitaminas, enzimas, probióticos, agentes aromatizantes, compuestos nitrogenados no proteicos, silicatos, tampones, agentes colorantes, extractantes, oligosacáridos y similares, que se añaden para aumentar la utilidad del pienso o del agua potable. Por otra parte, el aditivo puede incluir además un agente de mezcla de pienso o similares. Estos se pueden usar solos o en una mezcla de al menos dos de ellos.

El aditivo para pienso puede estar contenido en una cantidad de 0,05 a 10, más preferentemente, de 0,1 a 2 partes

en peso basado en 100 partes en peso de pienso. El aditivo para agua potable puede estar contenido en una cantidad de 0,0001 a 0,01, más preferentemente de 0,001 a 0,005 partes en peso basado en 100 partes en peso de agua potable. La actividad del bacteriófago ΦCJ21 contra *Clostridium perfringens* puede presentarse suficientemente en el intervalo mencionado anteriormente.

5 En otra realización, la presente invención proporciona un pienso o agua potable que se preparan añadiendo un aditivo para pienso o un aditivo para el agua potable que contiene el mismo como principio activo o se añade directamente el bacteriófago ΦCJ21.

10 El pienso usado en la presente invención no se limita a uno en particular, sino que se puede usar cualquier pienso usado en la técnica en general. Un ejemplo no restrictivo del pienso puede incluir piensos vegetales tales como granos, raíces y frutos, subproductos de procesamiento de productos alimentarios, algas, fibra, subproductos farmacéuticos, grasas, almidones, cucurbitáceas o subproductos del grano; y piensos para animales tales como proteínas, materiales inorgánicos, grasas, minerales, proteínas unicelulares, plancton animal o productos alimentarios. Estos se pueden usar solos o en una mezcla de al menos dos de ellos.

El agua potable usada en la presente invención no se limita a una en particular, sino que se puede usar cualquier agua potable usada en general en la presente invención.

20 En otra realización, la presente invención puede proporcionar un desinfectante o un limpiador que contenga como principio activo el bacteriófago ΦCJ21. La formulación del desinfectante o limpiador no se limita a una en particular, sino que el desinfectante o limpiador se puede formular en cualquier formulación conocida en la técnica.

25 El desinfectante puede pulverizarse para eliminar la *Clostridium perfringens* en una región donde vivan los animales, en un matadero, un área de generación de mortalidad, en un lugar donde se cocine o en los utensilios para cocinar, o en lugares similares, pero la presente invención no se limita a los mismos.

El limpiador se puede usar para lavar superficies cutáneas o cada uno de los sitios del cuerpo de los animales, en particular, aves de corral o cerdos, expuestos o que se vayan a exponer a *Clostridium perfringens*, pero la presente invención no se limita a los mismos.

30 En otra realización, la presente invención proporciona la composición de la invención o el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) de la invención para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad infecciosa causada por *Clostridium perfringens*. La enfermedad infecciosa puede ser preferentemente enteritis necrótica, pero la presente invención no se limita a la misma. La diana de prevención o tratamiento de la enfermedad infecciosa causada por *Clostridium perfringens* puede ser un ave de corral o un cerdo, pero la presente invención no se limita a los mismos.

40 De forma detallada, la composición de la invención o el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) de la invención para su uso en la prevención o en el tratamiento de una enfermedad infecciosa de acuerdo con la presente invención se puede administrar a dianas infectadas por *Clostridium perfringens* o que están en riesgo de infección por *Clostridium perfringens*, excepto en seres humanos, a una dosis farmacéuticamente eficaz. Será obvio para los expertos en la materia, que cuando la composición farmacéutica se administra a un paciente, la dosis diaria total adecuada puede determinarla un médico o un veterinario tratante, dentro del alcance de su buen criterio médico.

45 Se puede determinar una dosis específica farmacéuticamente eficaz del bacteriófago ΦCJ21 o de la composición que contiene el mismo como principio activo para un animal específico considerando un momento de administración y una vía de administración del bacteriófago ΦCJ21 o de la composición que contiene el mismo, una velocidad de secreción de la composición, un período de duración de la terapia o similares, además de un tipo y grado de la respuesta deseada, de la edad, del peso, de un estado de salud general, del sexo o de la dieta del individuo correspondiente. Además, la dosis farmacéuticamente eficaz puede cambiarse de diversas maneras según varios factores, tales como los ingredientes de los fármacos u otras composiciones usados simultáneamente o por separado, y factores similares bien conocidos en un campo médico.

50 El bacteriófago ΦCJ21 de acuerdo con la presente invención, o la composición que contiene el mismo, como principio activo, puede administrarse a los animales como una forma farmacéutica (pulverizado nasal) o puede administrarse en un método directamente añadido a un pienso o al agua potable de los animales y después suministrarse el pienso o el agua potable. Además, el bacteriófago ΦCJ21 o la composición que contiene el mismo pueden mezclarse en un pienso o agua potable en forma de aditivo para pienso o aditivo para agua potable y después administrarse.

60 La vía de administración y el método de administración del bacteriófago ΦCJ21 de acuerdo con la presente invención, o la composición que contiene el mismo, como principio activo, no están limitados de forma particular, sino que se puede usar cualquier vía de administración y método de administración siempre que el bacteriófago ΦCJ21 o la composición que contiene el mismo puedan llegar al tejido diana correspondiente. Es decir, el bacteriófago ΦCJ21 o la composición que contiene el mismo como principio activo pueden administrarse a través de

varias vías orales o parenterales. Como ejemplo no restrictivo de la vía de administración, se pueden realizar la vía oral, rectal, local, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intraarterial, subcutánea y nasal, por inhalación, o similares, etc.

- 5 En lo sucesivo, en el presente documento, la presente invención se describirá en detalle mediante los ejemplos. Sin embargo, estos ejemplos tienen como fin ilustrar únicamente la presente invención, y un alcance de la presente invención no está limitado en estos ejemplos.

10 **Ejemplo 1: Aislamiento del bacteriófago que infecta a *Clostridium perfringens***

Ejemplos 1-1. Detección del bacteriófago y aislamiento de un solo bacteriófago

Tras aislar 50 ml de una muestra de heces de Samwhaw Gps. Breeding Agri. Inc., que es una granja de pollos y cerdos de la provincia meridional de Chungchong, se movieron a un bote de centrifugación y se centrifugaron a 4.000 rpm durante 10 minutos, el sobrenadante se filtró con un filtro de 0,45 mm para preparar una solución de muestra, y después se realizó un método de recubrimiento con agar blando usando la solución de la muestra preparada. El método de recubrimiento con agar blando es un método de observación de una acción lítica de bacteriófago en el que se usan células hospedadoras que crecen en la parte superior del agar (unido a un medio sólido usando agar al 0,7 %).

De forma detallada, se mezclaron 18 ml de filtrados de la muestra con 150 µl de una solución de cultivo agitada ($DO_{600} = 2$) de *Clostridium perfringens*, (CP, BCCP 17-1) aislada del Organismo de cuarentena de animales y plantas, y 2 ml de infusión de cerebro y corazón x10 (de aquí en adelante, medio "BHI") (compuesto para tener un volumen final de 1 l) y se cultivaron a 37 °C durante 18 horas. Después, se centrifugó la solución de cultivo a 4.000 rpm durante 10 minutos, y se filtró el sobrenadante usando el filtro de 0,45 µm. Posteriormente, se vertió una mezcla de 5 ml de agar al 0,7 % (p/v) y 150 µl de la solución de cultivo de agitación ($DO_{600} = 2$) de *Clostridium perfringens* (BCCP 17-1) y se endureció en una placa de BHI (BHI + sangre de oveja al 0,2 %), se depositaron encima 10 µl de la solución de filtrado del cultivo de muestra, seguido del cultivo a 30 °C durante 18 horas. Después, se confirmó que se había formado una placa.

Luego, se diluyó apropiadamente la solución de filtrado de cultivo de muestra donde se generó la lisis, y se mezcló con 150 µl de la solución de cultivo de agitación ($DO_{600} = 2$) de *Clostridium perfringens* (BCCP 17-1), se realizó el método de recubrimiento con agar blando, obteniendo así una sola placa. Dado que se considera que una sola placa está formada por un solo bacteriófago, para purificar y aislar el único bacteriófago, se seleccionó una sola placa, se dispuso en 400 µl de una solución de SM (NaCl a 5,8 g/l; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ a 2 g/l; Tris-Cl 1 M (pH 7,5), 50 mM; H_2O , compuesta para tener un volumen final de 1 l), y se dejó a temperatura ambiente durante 4 horas, purificando y aislando así el bacteriófago individual.

Para garantizar una gran cantidad del bacteriófago aislado, se seleccionaron 100 µl de un sobrenadante de una solución de bacteriófago individual, y se mezclaron con 12 ml de agar al 0,7 % y 500 µl de la solución de cultivo agitada de *Clostridium perfringens* (BCCP 17-1), seguido de la realización del método de recubrimiento con agar blando en un medio LB con un diámetro de 150 mm. Tras verter 15 ml de la solución de SM en una placa donde se generó completamente la lisis, la placa se agitó suavemente a temperatura ambiente durante 4 horas, descargando así el bacteriófago en el agar superior. Se recuperó la solución de SM donde se descargó el bacteriófago y se le añadió cloroformo en una cantidad del 1 % del volumen final y se mezcló adecuadamente durante 10 minutos, seguido de centrifugación a 4.000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido como se ha descrito anteriormente se filtró con un filtro de 0,45 µm y se almacenó a una temperatura fría.

Ejemplos 1-2. Cultivo a gran escala y purificación del bacteriófago

El bacteriófago seleccionado se cultivó a gran escala usando *Clostridium perfringens* (BCCP 17-1), y luego se purificó el bacteriófago del mismo.

De forma detallada, se inoculó el 1 % de la solución de cultivo agitada de *Clostridium perfringens* (BCCP 17-1) en un medio de cultivo líquido para la producción en masa, y al mismo tiempo, se introdujo el bacteriófago en su interior a una multiplicidad de infección (M_{DI}) de 0,1, simultáneamente a la inoculación de *Clostridium perfringens* (BCCP 17-1), realizándose así una infección conjunta. Después, se realizó un cultivo estático a 30 °C en condiciones anaeróbicas.

Posteriormente, se realizó la centrifugación a 4 °C y 12.000 rpm durante 20 minutos, y luego se filtró el sobrenadante con un filtro de 0,45 µm. Luego, se añadieron NaCl y polietilenglicol (PEG) al sobrenadante filtrado para obtener unas concentraciones finales de 1 M y 10 % (p/v), respectivamente, y se mezclaron entre sí, la mezcla se dejó a 4 °C durante 8 horas o más.

A continuación, luego se realizó la centrifugación a 4 °C y 12.000 rpm durante 20 minutos, después, se eliminó el sobrenadante y se obtuvieron los precipitados.

Se volvió a suspender el precipitado obtenido usando 5 ml de la solución de SM y se dejó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Posteriormente, se filtró el sobrenadante con un filtro de 0,45 µm y se realizó una ultracentrifugación (35.000 rpm, 1 hora, 4 °C) usando un método de gradiente de densidad de glicerol (densidad: 40 %, glicerol al 5 %), purificando así el bacteriófago ΦCJ21. Tras volverse a suspender el ΦCJ21 purificado usando 500 µl de la solución de SM, se midió un título.

El presente inventor llamó al bacteriófago obtenido mediante la extracción de la muestra de las heces y que tenía la actividad bactericida específica contra *Clostridium perfringens* "bacteriófago ΦCJ21" y depositó el bacteriófago en el Centro Coreano de Cultivo de Microorganismos (361-221, Hongjedong, Seodaemun-gu, Seúl, Corea) con el número de depósito KCCM11363P el 30 de enero de 2013.

Ejemplo 2: Observación de la morfología de ΦCJ21

*99 Se diluyó el bacteriófago purificado ΦCJ21 en solución de gelatina al 0,01 % y luego se fijó con solución de glutaraldehído al 2,5 %. Se vertió el bacteriófago fijado en una placa de mica recubierta con carbono (aprox. 2,5 mm x 2,5 mm), adaptada al mismo durante 10 minutos, y se lavó con agua destilada estéril. En una rejilla de cobre, se montó una película de carbono, teñida con acetato de uranilo al 4 % durante 30 a 60 segundos, se secó y se estudió usando un microscopio electrónico de transmisión (JEM-1011, 80 kV, aumento: x120.000 a x200.000) (FIG. 1).

La FIG. 1 muestra una fotografía de microscopio electrónico del bacteriófago ΦCJ21, y se puede apreciar que, dado que el bacteriófago carece de cápside isométrica y de cola contráctil, el bacteriófago pertenece morfológicamente a *Siphoviridae*.

Ejemplo 3: Análisis del tamaño del ADN genómico de ΦCJ21

Se extrajo ADN genómico del bacteriófago ΦCJ21 purificado mediante la ultracentrifugación. De forma detallada, se añadieron ácido etilendiaminotetraacético (EDTA, pH 8,0), proteinasa K y dodecilsulfato de sodio (SDS) a una solución de cultivo del bacteriófago ΦCJ21 purificado para tener concentraciones finales de 20 mM, 50 µg/ml y 0,5 % (p/v), respectivamente, y luego, permanecieron en un estado estacionario a 50 °C durante 1 hora. Posteriormente, se añadió y se agitó un volumen equivalente de fenol (pH 8,0), seguido de centrifugación a temperatura ambiente y a 12.000 rpm durante 10 minutos, obteniéndose de esta manera un sobrenadante.

El sobrenadante se mezcló con un volumen equivalente de PC (fenol:cloroformo = 1:1) y se centrifugó a temperatura ambiente y a 12.000 rpm durante 10 minutos, obteniéndose de esta manera un sobrenadante. El sobrenadante se mezcló con un volumen equivalente de cloroformo y se centrifugó a temperatura ambiente y a 12.000 rpm durante 10 minutos, obteniéndose de esta manera un sobrenadante. El sobrenadante obtenido se mezcló secuencialmente con 10 % (v/v) de acetato de sodio 3 M y un volumen doble de etanol al 95 % frío, basado en el volumen total, y se dejó a -20 °C durante 1 hora. Posteriormente, se realizó la centrifugación a 0 °C y a 12.000 rpm durante 10 minutos, y se obtuvo el precipitado eliminando el sobrenadante. Después, se añadieron 50 µl de tampón Tris-EDTA (TE) (pH 8,0) para disolver así el precipitado obtenido. El ADN extraído se diluyó 10 veces, y se midió una concentración midiendo la absorbancia a DO₂₆₀.

A continuación, se cargó 1 µg de ADN en gel de agarosa al 1 % para electroforesis en gel de campo pulsante (PFGE) y se realizó la electroforesis a temperatura ambiente durante 20 horas usando un programa de sistema BIORAD PFGE 7 (intervalo de tamaño: 25-100 kb; rampa de tiempo de conmutación: 0,4-2,0 segundos, forma lineal; voltaje directo: 180 V; voltaje inverso: 120 V) (FIG. 2).

La FIG. 2 es una fotografía de una electroforesis en gel de campo pulsante (PFGE) del ADN genómico del bacteriófago ΦCJ21, y se puede confirmar que el ADN genómico del bacteriófago ΦCJ21 tiene un tamaño de aproximadamente 56 kb.

Ejemplo 4: Análisis del patrón de proteínas de ΦCJ21

Se mezclaron 15 µl de solución purificada de bacteriófago ΦCJ21 (título de 10¹⁰ ufp/ml con 3 µl de una solución de muestra de SDS x5, y se calentó durante 5 minutos. Posteriormente, se expandió la proteína total del bacteriófago ΦCJ21 en gel de SDS-PAGE al 15 %, y luego se tiñó el gel a temperatura ambiente durante 1 hora usando una solución de colorante azul de Coomassie (FIG. 3).

La FIG. 3 es una fotografía de una electroforesis que muestra un resultado de SDS-PAGE realizado en el bacteriófago ΦCJ21, y se observaron proteínas principales que tenían un tamaño de aproximadamente 40 kDa, 51 kDa, 53 kDa y 70 kDa. En la FIG. 3, M es una proteína que se convierte en un patrón para medir un peso molecular.

Ejemplo 5: Análisis de secuencia génica de ΦCJ21

Con el fin de confirmar las características genéticas del bacteriófago ΦCJ21 purificado, se analizó el ADN del

bacteriófago ΦCJ21 usando un secuenciador de titanio FLX (Roche), que es un aparato de análisis genético. Los genes se ensamblaron en MacroGen INC, usando GS y el programa informático ensamblador de novo (Roche). El análisis de secuencias de un marco abierto de lectura se realizó usando los programas informáticos GeneMark.hmm, Glimmer v3.02 y FGENESB. La identificación del marco abierto de lectura se realizó usando BLASTP y el programa InterProScan.

La secuencia del genoma del bacteriófago tuvo varias similitudes con la del bacteriófago existente descrito, pero se confirmó que no existía un bacteriófago en el que todas las fracciones eran completamente (100 %) iguales a las del bacteriófago de la presente invención. Por lo tanto, se puede confirmar que el bacteriófago era un bacteriófago recién aislado.

Los datos del análisis de homología de la secuencia de ácido nucleico entre el bacteriófago ΦCJ21 y otros bacteriófagos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Consulta				Sujeto		Identidades	
Nombre	Longitud	Inicio	Final	Descripción	Valor E	Coincidencia /Total	Pct. (%)
contig00001_crf00003	543	70	537	proteína hipotética conservada [<i>Clostridium botulinum</i> BKT015925]	3E-05	42/161	26
contig00001_orf00010	207	1	204	proteína hipotética phi340_gp33 [fago phiICP340 de <i>Clostridium</i>]	2E-12	32/68	47
contig00001_orf00011	543	19	486	proteína hipotética CbC4_4068 [<i>Clostridium botulinum</i> BKT015975]	5E-17	63/180	35
contig00001_orf00013	588	7	570	timidina quinasa [<i>Clostridium butyricum</i> E4 cepa BoNT E BL5282]	2E-55	109/190	57
contig00001_orf00009	363	34	294	supuesta proteína relacionada con fagos [<i>Selenomonas ruminantium</i> subesp. <i>lactilytica</i> TAM6421]	6E-09	34/87	39
contig00001_orf00017	528	247	360	proteína hipotética [<i>Pelotomaculum thermopropionicum</i> SI]	0,0003	17/38	44
contig00001_orf00016	1974	133	1566	primasa [fago GTE2 de <i>Gordonia</i>]	3E-36	137/494	27
contig00001_orf00031	930	7	888	proteína hipotética [fago GTE2 de <i>Gordonia</i>]	5E-13	80/324	24
contig00001_orf00030	2442	226	2388	ADN polimerasa I [fago GTE2 de <i>Gordonia</i>]	2E-97	265/756	35
contig00001_orf00024	762	358	756	timidilato sintasa [<i>Clostridium acetobutylicum</i> DSM 1731]	8E-16	45/134	33
contig00001_orf00035	513	1	273	proteína hipotética CbC4_7040 [<i>Clostridium botulinum</i> BKT015925]	9E-18	48/91	52
contig00001_orf00032	884	46	702	gp089 [fago KSY1 de <i>Lactococcus</i>]	2E-06	57/220	25

Consulta				Sujeto		Identidades	
Nombre	Longitud	Inicio	Final	Descripción	Valor E	Coincidencia /Total	Pct. (%)
contig00001_orf00038	1452	64	1437	dominio proteico, familia SNF2 [<i>Bryantella formatexigens</i> DSM 14469]	4E-56	150/475	31
contig00001_orf00026	183	16	180	proteína hipotética AC5_1713 [<i>Clostridium perfringens</i> CPE cepa F4969]	8E-08	30/70	42
contig00001_orf00038	441	31	384	supuesta proteína [<i>Aquifex aeolicus</i> VF5]	1E-10	54/152	35
contig00001_orf00044	1359	583	753	proteína hipotética PCC7424_5514 [<i>Cyanotheca</i> sp. PCC 7424]	1E-05	31/57	54
contig00001_orf00046	1246	7	1239	encolisina [<i>Clostridium perfringens</i> E cepa JGS1987]	3E-168	295/415	71
contig00001_orf00050	2913	2455	2904	proteína hipotética AC3_2545 [<i>Clostridium perfringens</i> E cepa JGS1987]	6E-58	107/150	71
contig00001_orf00052	1059	2B	1047	supuesta proteína de ensamblaje de placa base: supuesta proteína PBSX profágica [<i>Bacillus subtilis</i> subesp. <i>subtilis</i> cepa 168]	4E-52	119/341	34
contig00001_orf00051	588	28	573	proteína hipotética HMPREF9630_00205 [<i>Eubacteriaceae bacterium</i> CM2]	3E-16	55/184	29
contig00001_orf00048	150	1	135	proteína hipotética CLJ_62512 [<i>Clostridium botulinum</i> Ba4 cepa 657]	9E-12	33/45	73
contig00001_orf00047	213	1	207	Homólogo de bacteriocina uvIB [<i>Clostridium perfringens</i> C cepa JGS1495]	3E-22	47/69	68
contig00001_orf00049	594	1	585	proteína hipotética conservada [<i>Clostridium perfringens</i> E cepa JGS1987]	1E-25	73/198	36
contig00001_orf00056	714	19	429	ZkdP [<i>Bacillus</i> sp. JS]	9E-19	53/139	38
contig00001_orf00055	987	1	960	Fago de proteína 2016_scaffold57_00038]	1E-41	110/328	33
contig00001_orf00053	408	1	381	proteína hipotética PlarIB_05085 [<i>Paenibacillus</i> subesp. <i>larvae</i> B-3650]	3E-14	47/131	35
contig00001_orf00057	2562	25	1239	proteína de la medida de la cinta de la cola del fago, familia TP901 [<i>Herpetosiphon</i>	1E-88	194/410	47

Consulta				Sujeto		Identidades	
Nombre	Longitud	Inicio	Final	Descripción	Valor E	Coincidencia /Total	Pct. (%)
				<i>aurantiacus</i> DSM 785]			
contig00001_orf00059	420	88	417	proteína hipotética BSSC8_30350 [<i>Bacillus subtilis</i> subesp. <i>subtilis</i> cepa SC-8]	3E-13	40/111	36
contig00001_orf00063	435	1	339	proteína hipotética: supuesta PBSX [<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> XH7]	1E-07	37/116	31
contig00001_orf00064	534	43	522	proteína hipotética B1NLA3EDRAFT_3746 [<i>Bacillus</i> sp. 1NLA3E]	1E-45	89/170	52
contig00001_orf00065	363	13	336	proteína hipotética B1NLA3EDRAFT 3747 [<i>Bacillus</i> sp. 1NL43E]	8E-13	45/108	41
contig00001_orf00060	432	10	420	proteína hipotética RUMOB_E_01063 [<i>Ruminococcus obeum</i> ATCC 29174]	8E-16	47/139	33
contig00001_orf00069	1260	1	1089	proteína hipotética RUMOB_E_01052 [<i>Ruminococcus obeum</i> ATCC 29174]	2E-62	153/390	39
contig00001_orf00068	921	10	882	proteína hipotética conservada [<i>Bacillus cereus</i> 03BB108]	4E-86	165/291	56
contig00001_orf00066	405	16	402	proteína hipotética RUMOB_E_01056 [<i>Ruminococcus obeum</i> ATCC 29174]	5E-10	44/130	33
contig00001_orf00070	885	19	879	proteína de morfogénesis de la cabeza SPP1 gp7 [<i>Bacillus</i> sp. 1NLA3E]	7E-50	118/300	39
contig00001_orf00061	1332	1	1329	proteína de la envoltura de la cola del fago [<i>Desulfosporosinus youngiae</i> DSM 17734]	1E-63	169/449	37
contig00001_orf00072	396	1	372	proteína hipotética 2016_scaffold57_00101 [fago no identificado]	4E-11	59/135	43
contig00001_orf00071	1467	46	1449	proteína hipotética RUMOB_E_01050 [<i>Ruminococcus obeum</i> ATCC 29174]	5E-108	215/479	44
contig00002_orf00002	837	259	678	fago terminasa, subunidad pequeña, familia PBSX [<i>Clostridium botulinum</i> Ba4 cepa 657]	2E-26	66/164	40
contig00004_orf00001	408	1	357	Proteína de unión al cinc de CMP/dCMP desaminasa [<i>Methanohalobium</i> evestigatum Z-7303]	2E-23	56/131	42

Consulta				Sujeto		Identities	
Nombre	Longitud	Inicio	Final	Descripción	Valor E	Coincidencia /Total	Pct. (%)
contig00003_orf00004	420	1	417	gp317 [Fago G de <i>Bacillus</i>]	5E-24	67/154	43

Una secuencia parcial del genoma del bacteriófago ΦCJ21 preparado en lo anterior es igual a SEQ ID NO: 1. La secuencia del genoma se determinó mediante el analizador genético.

5 Ejemplo 6: Ensayo de estabilidad de ΦCJ21 dependiendo del pH

Con el fin de confirmar la estabilidad del bacteriófago ΦCJ21 en un ambiente a pH bajo, se realizó un ensayo de estabilidad en un amplio intervalo de pH (pH 4,0, 5,5, 6,4, 6,9, 7,4, 8,2, 9,0, y 9,8).

- 10 Para el ensayo, se prepararon varias soluciones de pH (tampón de acetato de sodio (pH 4,0, pH 5,5 y pH 6,4), tampón de fosfato de sodio (pH 6,9 y pH 7,4) y solución de Tris-HCl (pH 8,2, pH 9,0 y pH 9,8)) a una concentración de 0,2 M, respectivamente.

15 Después, se mezclaron 90 µl de cada una de las soluciones de pH con 10 µl de solución de bacteriófago que tenía un título de $1,0 \times 10^9$ ufp/ml para que una concentración de cada una de las soluciones de pH se volviera 1 M, se dejó cada una de las soluciones de pH a temperatura ambiente durante 30 minutos, 1 hora y 2 horas. Después, se diluyó la solución de reacción etapa a etapa, se vertieron 10 µl de la solución diluida en cada etapa y se cultivaron a 30 °C durante 18 horas por un método de recubrimiento con agar blando, y se midió el título a través de la presencia o ausencia de lisis (FIG. 4).

20 La FIG. 4 muestra un resultado del ensayo de la resistencia al ácido del bacteriófago ΦCJ21. Tal como se muestra en la FIG. 4, se puede confirmar que el bacteriófago ΦCJ21 no perdió su actividad y se mantuvo significativamente estable en un intervalo de pH de 4,0 a 9,8 durante hasta 2 horas.

25 Ejemplo 7: Ensayo de estabilidad de ΦCJ21 dependiendo de la temperatura

Se realizó un ensayo para confirmar la estabilidad frente al calor generado durante un proceso de formulación del bacteriófago en el caso de usar el bacteriófago como una formulación de aditivo para pienso entre las formulaciones del bacteriófago.

30 De forma detallada, se dejaron 200 µl de la solución de bacteriófago ΦCJ21 que tenía un título de $1,0 \times 10^8$ ufp/ml a 60 °C durante 0, 10, 30, 60 y 120 minutos. Después, se diluyeron las soluciones anteriores etapa a etapa, se vertieron 10 µl de cada una de las soluciones diluidas, y se cultivaron a 30 °C durante 18 horas mediante un método de recubrimiento con agar blando, y se midió el título a través de la presencia o ausencia de lisis (FIG. 5).

35 La FIG. 5 muestra un resultado del ensayo de resistencia al calor del bacteriófago ΦCJ21. Tal como se muestra en la FIG. 5, se puede apreciar que la actividad no disminuyó significativamente hasta que el bacteriófago ΦCJ21 se expuso a 60 °C durante 2 horas.

40 Ejemplo 8: Ensayo de estabilidad de ΦCJ21 contra el secado

Se realizó un ensayo para confirmar la estabilidad frente a condiciones de secado generadas durante un proceso de formulación del bacteriófago en el caso de usar el bacteriófago como una formulación de aditivo para pienso entre las formulaciones del bacteriófago.

45 De forma detallada, se secaron 100 µl de solución del bacteriófago ΦCJ21 que tenía un título de $1,0 \times 10^8$ ufp/ml a 60 °C durante 120 minutos usando un vacío de velocidad (Concentrador de vacío de velocidad 5301, Eppendorf). Se dispuso y se volvió a suspender el sedimento obtenido después del secado en una solución de SM en una cantidad igual a la de una solución inicial a 4 °C durante un día.

50 Después, se diluyeron las soluciones anteriores etapa a etapa, se vertieron 10 µl de la solución diluida en cada etapa y se cultivaron a 30 °C durante 18 horas por un método de recubrimiento con agar blando, y se midió el título a través de la presencia o ausencia de lisis (FIG. 6).

55 La FIG. 6 muestra un resultado de un ensayo de resistencia a la sequía del bacteriófago ΦCJ21. Tal como se muestra en la FIG. 6, se puede apreciar que el título del bacteriófago ΦCJ21 después del secado se redujo a aproximadamente 1/10 del título antes del secado.

Ejemplo 9: Ensayo del espectro de infección de ΦCJ21 con respecto a cepas de tipo silvestre de *Clostridium perfringens*

Se ensayó si el bacteriófago ΦCJ21 tenía o no una actividad lítica en 45 cepas de tipo silvestre de *Clostridium perfringens* aisladas por el Organismo de cuarentena de animales y plantas, y la Universidad de Kunkuk distintas de *Clostridium perfringens* (BCCP 17-1) usadas en el experimento.

De forma detallada, se vertieron 10 µl de solución de bacteriófago ΦCJ21 que tenía un título de $1,0 \times 10^{10}$ ufp/ml y se mezclaron con 150 µl de una solución de cultivo agitada ($DO_{600}=2$) de cada una de las cepas y se cultivaron a 30 °C durante 18 horas mediante un método de recubrimiento con agar blando. Después, se observó si se formaba o no una placa.

Como resultado del experimento, de entre 45 cepas de tipo silvestre de *Clostridium perfringens*, se infectaron 44 cepas, de manera que una proporción de la infección fue del aproximadamente 97,7 % y una proporción de la lisis fue del aproximadamente 97,7 %. Los resultados se muestran en las Tablas 2 y 3.

Tabla 2

Origen de la CP	Cepa de CP	Infectividad
Universidad de Kunkuk	HLYS-1	+
Universidad de Kunkuk	HLYS-3	+++
	JSH-1	+++
	KCCM 40947 ¹	+++
	KJW-2	++
	OYS-2	+++
	KCCM 12098	+++

Tabla 3

Origen de la CP	Cepa de CP	Infectividad	Cepa de CP	Infectividad
Organismo de cuarentena de animales y plantas	CP-KJW-1	+++	BCCP43-1	+/-
Organismo de cuarentena de animales y plantas	CP-JSH-1	+++	BCCP44-3	+/-
	CP-OYS-2	+++	BCCP47-2	+++
	CP-BC-1	+++	BCCP48-3	+++
	CP-BSW-4	+++	BCCP50-1-3	+
	CP-HBM-2	+++	BCCP50-1-8	++
	CP-HL	+++	BCCP51-1-1	+++
	CP-KW-1	+++	BCCP51-1-5	+++
	CP-BS-1	-	BCCP52-2-8	+++
	CP-HL-1	+++	BCCP53-2-3	+++
	CP-LJN-1	+++	BCCP54-3-8	+++
	BCCP17-1	+++	BCCP55-3-1	+++
	BCCP23-4	+++	SBCCP429-2	+++
	BCCP37-2	+++ (T)	SBCCP321	+++
	BCCP38-1	+++	SBCCP343	+
	BCCP39-1	+++	SBCCP361	+++
	BCCP40-1	+	ELCCP Suksan Kim	+++
	BCCP41-3	+++	Intestinos de ELCCP6-1	+++

Origen de la CP	Cepa de CP	Infectividad	Cepa de CP	Infectividad
	BCCP42-2	+++	apéndice	++

LISTA DE SECUENCIAS

- <110> CJ CheilJedang Corporation
- 5 <120> Nuevo bacteriófago y composición antibacteriana que lo comprende
- <130> P13-5114
- <150> KR 13/021499
- 10 <151> 27/02/2013
- <160> 1
- <170> KopatentIn 2.0
- 15 <210> 1
- <211> 47438
- <212> ADN
- <213> una parte de ADN del nuevo bacteriófago CJ21
- 20 <400> 1

ES 2 724 298 T3

ttttaagag actgcaatag gttttctaaa aataagggag ggattaaccc tcctttttat	60
aattttttga gttctggaaa aatccttaat tagttcaagt ttcgtgaagt tctcttgatc	120
ttctccattc tcttcttaac ttggatagct tcttcttcgc aatgagcatg gccatccagg	180
aattggtgcc atcttctttc aagttctctg tattcagatt gaagttctat aacctcaagt	240
gaatggttgt ccatagtatc acctccttaa cactattata agtgatactg tcatattctg	300
tcaaataaaa aagagaggta atatatacct cccacattat cttattgagt atacacagat	360
atattcttct tcaagagttt ggttaataag tgattgagca tatttgtata gatctttagg	420
ttgtgtatct cttatatctt gtattacttc ttcattgttct cttcttaata atttatatcc	480
aaagcataat gggttctcct caagttcaaa taatatttcc cagttagtca ttttattata	540
attcatattt aacatctcct tcagtttggt tatgctttta ttataagaga gagtccagag	600
agtgtcaata gaaatcccg aagaaaagag agaattgtat tctcccatc ttaatatatt	660
tattgttgct ccatcaactc ccttgccatc cacatcatgg acatacttat caagtctcat	720
tggtgagtcc tgtataactc ttttgtcttc tctatcaaaa accttaatga catcagggtt	780
accctgtca atgatgtaag caatctcttg agttccatct gcatatgtta cttgaagtaa	840
tgagtgtaga ggtataaagt ctggagctgc ccagtcacca accttaagat ctctcctat	900
actattcttg gtctcatatc ctgccacatc tgtaggttca tctgatgaat aataagtaac	960
ttcaactttg aactccattc ctttaaatga atttatcatc tcaattagat tttgtttatc	1020
agttctcagt ttatcattct gatactttta tccttctaca ttatccatca gtatttcagt	1080
ctgctcagtt aattgtttat ttgactcaat gtattcttgg acagcattcc cccaatgatt	1140
gtttaggctc tgtatgggta acagtagccc tcctatcaca attattgtta ataatgacat	1200
aattctttta atcattctct tttaaactct ttatttttaa tttgaatttc tcaattccag	1260
atttatattt acccacagta ttaaaagtat cagttagtat tgcataagggt tcctcatcag	1320

ES 2 724 298 T3

aattaaatct gaagcttcct ctcttgatat cacctagctt attaaaggtc ttaccctcct	1380
tgtccagata tcctttatag tccatatagc acagacaagc agtaataaat tcctgtttag	1440
ttctgaagtg atgagatata cccatacctt ctaccattt acttaatata aataggctct	1500
cattatcctt tggctttatc aattcaatcc atacaaactc attagcttgc tttagattag	1560
taaacttttt agccttgaac ttcttactac tctggatctt atccttatag tcatggaata	1620
cttcaggcca aaattcctgt aaatacatat ataaagagaa ctcatctacc ttagctttag	1680
gactctttaa gttaattaat gggatccag acactgctct tatctgggtc tttagcatat	1740
tattctcatt ttttagttga gaaacaatga aagagagatg agtaacagct ctggtaagct	1800
catgctcatt taaagatcta ccttctctat tctggattag cttccttaat tctcccagct	1860
tatctatcat ttatagcacc tcctatgctt acattatata tatataagat aaatatgtca	1920
aagtccacat aggcataatca gtatcatttt ttctgatatg ggtagcatat cagcatagtt	1980
acacctgata tcacatatag agtttacaat ttttgtaatc aaatttggtg gtatcactag	2040
cgtagaggga tatcagaaat acccatatt attacaatat atactatata taaataatta	2100
tatattatta tatatagtat atagccaagg gctatatata actatgtttt attgattaca	2160
taattggcag gctattgcct tgccttcgtt tacactacgg caggcatatc catgcaggac	2220
ttctcttcg agcttttgcc ctatatagaa aaaccagac ggtcagcgat cgagctcttg	2280
attttggttg gttggaaga aagagagagt tagggggaaa gagagtaaga gagaacagta	2340
gttgagagag agttctcccg aacgttgaca gttgtactta cttctcttat aatgacagta	2400
aaggagggat aaccattatg aaagttatat tatctaataaaa aagaaatt atcattgaaa	2460
acaaggactt cttcataata atggaagagg acagatttat tctatctaga gcaatagata	2520
agaattgcgg agaattagta tctcaagtac ctaagtactg tattcttata tatgaggata	2580
aatccatacc aagatactta tataaggata atactcattt atatgagggtt attggcaata	2640
gagctatcat aagatacagt atataagagc ccacaatcaa ttctaaggcc ttttagatat	2700
gtggtaatgt gattttactt ataagtgggt agagacacct tacaggagct gctagaggcc	2760
tttaaaggag gtatatcatg tatttatgta atggtaaaat agtcaagaat aaaaatgact	2820
taaaagataa gtttggtggt aaatcagtag tattcatcga tggggatgta gccacagtaa	2880
tggacttttag tgacagaaag ccaaagataa caaaatatct tattaggagg gtatcacatg	2940
ataaacacat cattattgaa gagactggaa gggatagagg aaaagcataa gcaaaatact	3000
gatgagataa gaaagaacct aaactatgcc agatatttga ttgagaaaca gtattgtcat	3060
ttacaaagg agcagaagat aaaattggga cagttcttag gattgactga gaagaagtta	3120
aaagaaatac aagagataaa taatcagtta ataaatttga gagtggggct aagttatgaa	3180

ES 2 724 298 T3

gtcgtatgta	ataaccagaa	aaaatagtgg	ggtatcttta	gcagatacag	acatgggaca	3240
agtattagct	aagatactat	gtaagcatgg	gggaacactt	accattgagg	aaattgaacc	3300
agaacatatt	ggtcaaaactt	tttctattgt	agaaggtaaa	agaatatggt	ataatagaaa	3360
aggaggtgat	aatattgggg	agaagaagtg	ctatgttaat	tctcaagtat	gactgcgaag	3420
aaactccaga	aagaattgaa	ttacgaaaga	agtggttaca	ggtttgcctt	cattcaataa	3480
tatattatag	atatgacaac	aatatctgga	cagaccaaca	atgggatgag	actgccagag	3540
aggtagttaa	acttaagaat	gagaatccag	gcttagtaaa	cagtatgcca	tttaggaatg	3600
accttaaaat	ctttgatgga	tccactggct	ttaatctttc	atgtatgcaa	gatattaaga	3660
tgctaagggtg	ggctcaaaat	ttactcgact	ttcatgttaa	acgaggactt	gatggaaaga	3720
gtaagaaaaa	gaagaaaagg	aggagaaagg	aatgaaccta	cttgagcact	atataaaaaa	3780
ggtacacagt	gtaagagagt	accatgaatt	cgataatgaa	ccttgggcta	aaggtaaaca	3840
atatgtagaa	gtagaccttg	attatctttg	ttactctaac	ataccacaaa	gaactaaatt	3900
agtatttact	gttgatgagt	gggagaaaat	aaaatataga	ggctactaca	tgggataggg	3960
ggaatagtta	tgataagaga	aatgggcatg	agaatgctaa	taccagaaat	acatgatata	4020
aaagataggg	atatacaaaa	ttttgtaaga	aaggccctaa	atgagctagt	tgatgaaaag	4080
ttctttataa	tacctgcaag	tagtactggg	aaatatcatc	caacttatag	tcaggggta	4140
ggaggtttgc	taagacatac	taaagctgct	tgttatatag	gtaaagcatt	atgcgaagct	4200
gagatgatat	gtcaagaaga	taaggatctg	atacaggctg	ctctgatatt	acatgatatt	4260
aataaacctg	ctaaggagca	tccatatatg	gtagagaga	cactatcccc	attaaaggaa	4320
gagtttccat	caacctatga	aaaggttaata	gaactaattg	agtctcatca	tggatcaatgg	4380
ggagagtacc	caattaatac	ttatcaaaag	aggatagtac	acttagctga	ttatatcagt	4440
tcacaaaaag	gattaatatt	ctcatatgac	caaggaactg	attattctga	cttggttatgg	4500
gaggagaagt	aatgggtgct	aggggtaata	accctagtat	caatattttt	actaggagtg	4560
tttatagggt	ttgagggtgaa	gaaatggagc	taggttttgc	aatattagct	atagtagtat	4620
caatattttt	agaaactaaa	tatataaagg	agtagattat	tatgtcaaga	gcaagagctg	4680
caagaagaag	agctgaaagg	gagaacaaaa	atcttaatgt	tcttaaagct	gtggacatca	4740
tgttagcctt	atcatgctat	acattaaaga	aggaagggtta	tggttaagact	agaatgacta	4800
ggtttgtgga	agagatgagt	aaacacacag	aggaaattga	aaaggaaca	cttaactatg	4860
aaaccataat	gggagagatt	aaggatttag	taccaccagg	tatatttgat	ttagaggagg	4920
agtcaaaagga	gtgataatct	tggaataaatt	attatgggca	tttagaatat	taggcatact	4980
tgtaaatagta	tggtgtatat	tggaggcgat	cagttgtgag	caataaatta	tatttttaggt	5040
atagtgctat	gaactctgga	aagactactc	agttaatcca	ggtagcacat	aactatgaag	5100

aaaggggaat gaagccctta gtagttaagc caggaattga cactaaaggt ggaccatgta	5160
taatcagtag aataggggta gcaagaaagg tggatgttct tctacctcct agggttaaat	5220
tatcaaaaat actttctgac tttgaggcta attactgggc agtagatgtt atattaattg	5280
atgaggtaca attccttatcc agagaacagg ttgatgatct gttaaattta tcattacatt	5340
atcctatcat atgttatgga ttgagaactg attttaaaag agaaggattt gaaggaagta	5400
cccgattatt acaagtggcc cataacattg aagaattgaa gaacatttgt caatgcggtg	5460
aaaaagccac attctcaata ttgaaatata aaggtaaata tactgaccag ggtaaccaga	5520
tacaaattga taaccagcca gaaagtgttg aatatgaagc cgtttgtaat gaatgttata	5580
ataaattaat tttttctaaa taactcgttg acaggctata taggatatga tattatagta	5640
ttgtaatcaa attacaaaca ccaacccaaa ctttataatt agttaatttc aaactatact	5700
aaatttggtta tttaaaaatt aaaaatatgg aggaatgatt attatggcaa aaggaaaagc	5760
aaaatgggtta gaggaagcaa ataataagga gttaattgta atagtacaat ctgctttaaa	5820
ttctggagat gagaaagaag ttaaaaaggc tttaaaagct attgtggaat tagatgaaag	5880
aactcctgac acagatggac aaataactgt agaggaagca ttagaatcat tagaaatggc	5940
tgtaggaact gtaagggtg cataccaagc agaaatagat gctgtggaag atgaagatgc	6000
agtagatgct gacttcgaag aagttgatga agacgaagca gaagaagatg aaaatgattt	6060
agaatcatta tctaaaaaag aattagctgc tatggctaaa gacttaggta tcaaaggagc	6120
taagaaaaaa gataaagatg agttaatcgc tttaatcaaa gaagctcaag gtgaagaaga	6180
agacgaagag gaagaagaag aggatgaaac tcctgactac tctgaaatga ctaagaaaga	6240
cttaattgct cttgctaaag aaagaggaat aaaagttaat aagaaaatga aaccagctga	6300
gataattgaa ttattagaag ctgatgatga agaataattc tcatcaaatt ataaggggag	6360
caaacttgct cctcaaattt tttacttatt ttagaaacag atgttagagg gggatgtata	6420
aatggcaaga ggtggaaatt caacttatac taaagcagta tattgttaca acaataatag	6480
ggagtataga tccttcagat atgcagctaa acaattagga gtatcggctg ttagtataat	6540
gagagtagtt aacgggacta aaccacatat agggggatta gtattcgctg agatagagga	6600
aggcactaga aaattaaagc caagaggaga agtagttcca tacttgaaaag aattaggttg	6660
ggataatata gacttataat aggggggtata atatatggac ataaagttct tgaaggatat	6720
attctctaaa caatgtgaaa atggagatta cattatccta gcagctagaa aaggtaaaga	6780
atggaaagat ttaccaatta aatataataa gaataacatt gacaaaaaac taaaggactt	6840
tgaacaacag tataagggtt atgatttata ttggagccca atgccttata gtaatcctca	6900
aagaaggata gttaacttca tagagactaa atacttaata caagatatag atgagcatac	6960

tgacccattg gggattaaac ctaaaccaag ttatctgtgg gaaagttctc ctggaaaata	7020
tcaggggcta tgggaaatgg ataggtatat agaggcta ataatatgacg aaataaatcc	7080
agcattagct aaacatatag gctgtgactc ctgctttgat gttactcatg tatatagaat	7140
accaggaact attaaactaca aatacaagaa taaacccaaa gtaaaaagac ctatacacac	7200
taaggagata tataagccta aggtgatcgc taaggctgtt aaggctgtaa gtaaatctaa	7260
tgatagtgtt aaggtcaata taggaggatc tgaggcctca caatctgaaa gaaagatata	7320
tgctaaatat aatataccaa agaaggttag agacttactg gcttttagatg atattacttc	7380
tttagataga agtttacta tatgttatat tgagaataag ttacatgaaa taggactaga	7440
gcctaattgag attatattat tagttaaggg ctgagctttt aataaatata agggaagaaa	7500
agatgaagaa acaagattaa gaaaagaatt ggataaaatc ataggaggag aaatagaggc	7560
tgatattgaa aaggctgaaa gtactaaact gagaatagat agttatcagg atgttatggg	7620
taataatgga gccttcccgg gttggttagt acaaggtttc tggggtagaa gatctcatgg	7680
aattgtggct ggacaacca aggtatttaa atccacattt acacaggact tagctatatc	7740
agttgctagt ggaagaccat tcctagggtca atatcctgtt ctagaaccag gccagtaat	7800
tgtagttcaa aatgagaatg ctgactggat tatgagggat agaactgaaa agataattag	7860
ccacagagga gtagttggtg atgtggatat aaaaggtaag agaagactta aagttagggt	7920
tgctccagat cttcctatca cttttattaa tcaacaggga tttatgttag atgaagaatc	7980
ccatagaaaa cagatagaag aattaattga tgagataaaa cctgtactag taatattcga	8040
cccattatat cttatgttta gtggagatct taataatgca gctgatctta atcctgtact	8100
acaatgggtg cttaaactta agaatgagaa gcatacagga gttatgttaa tacaccacta	8160
taataaagggt ggaaatgcc acaaaaccag aggtgggtcaa aagatggctg gttcattcat	8220
attacatggt tgggtagaat cagcactata tttaaaaaga cctgatgact tagaagggtg	8280
cgatgaggag atcgaggtag atatagataa ccttgataaa caaagccatt taccaagtaa	8340
aatcattatg gatagagagt tccgtcttgc aggacaattc cctcaaattg aattaaattt	8400
atcaatggga gaatttggag atccctatta tcatgtagaa gtagcaatac ccggaaaaga	8460
agtaattgtg aaacctgagg acaaagccaa agttatagag gctgtaaaat caggagctca	8520
taccaaggag gagatagtat caatatcagg attaaattca cagaaggtta atctagttct	8580
agatacttta aaagatacta ttgtatattc tccggataaa gggtataata taagtaagaa	8640
actaaatatt gggaggaaaa aggcattgata ataaagtgtg agaggccagc aggtcataat	8700
catataaagg cctttgtagt agtaattatt gctaggggtg agaagaataa aatcattat	8760
cattcaggat tgaaatattt ctatacctat aaatcagcta aattatttat agacaaagtt	8820
atggaagaat gtccctgggc tgaattttat tgggtggatg tccatgaagc tcataagatc	8880

ES 2 724 298 T3

cctgaaggcg aagaaatacc caaaaagaag atgtggtgtc catattgtca aactattcaa	8940
gaattttaaga gaagccaagg aggttacaag aattgcccta tctgtggtat aagtgaccaa	9000
gacttttatg taaaatgtat gaatataaag tataggagg ctaaggctaa tgcgaagaag	9060
aaacttgaag gaagtagtac taattctagg gatatcattg tcaatgggga taatgctaac	9120
tcagggggca aaactaatag aaagtcatca ccaaagaaa agtcaagaaa agttagtaga	9180
aaagcttcat aatgctttag actataatgt tattgagact tctccatctg gactagatgg	9240
ggaggatctt accatcaaac taaatcttaa tagtcctaag gaccttacc ctaacaactt	9300
atctaagtta gctaataagg ttatgggtcaa taacttagga gctcagaatt atactatact	9360
tgtttatgat agtaatagac cagaaaatct tctggctggt atagatatac ctaaaaattc	9420
taaaataacc tttagacataa taaattaatt atggtaatat aaaaatgtag aaggaggaga	9480
atttaatggt caataaaaag tattacatct tgaaagacct taatgatgac aaacccaac	9540
tatggaaggg aagttaacc actgctacta agatagcagg agcattagga gttagtgtga	9600
taaaactaaa taggtattta gtaagaaagg gatttgccag aaggtacaat gagcatacac	9660
ttgaaataat agacccaatc cttgctaaag aacttggtta ttatgtaact ccaagtaagt	9720
cccttataaa tcctttatct gaatataatg ataaaggagt acaatatata ctaaaactta	9780
tagtagaaga tctaaagaat ggaggagagc tttaatgatt atcatttttag gaatggataa	9840
ctcaggttaag accacaacag ctaagaacct aactaaacac agaggaggag aatatatcca	9900
atcaatggga cctggttctt atgaagaaca aagagaatgg gtattaactc aaattgtgag	9960
aaaaggtgaa agggaagcta tacatgatag atttacttgc tttgaagaaa tgggtgtatgg	10020
acctatcatc agagataata gtaatttcaa ccttgacagt aaggagctaa agatcttaaa	10080
acatctatgt aagccaacta ttgtatatgc tagaccacct agggaagtga tcttcaattt	10140
tgggtataga gaacagatgc caggagtaat tgaaagagct gaacatctac tagctagata	10200
tgatgaactg atatggaaat tattctgtga tggatggaat gtactggtat atgattatac	10260
tacttccaat gtggagaagc tatcccaatt aatagatgac tcaagtgcta aagaagctat	10320
aaaccaatct ataaatatat caagataaga ggagagattg ttatgaatat aaaccatgca	10380
gtagaagaaa aaatagaagg agatagatta caagctatct ttaatagaca aaaggaattg	10440
atggagaaat atcatcatat agaggctaga tcaggattat gccaaactga agactgtcca	10500
gttaacttaa atgataaaag gggcaagct agacttaaag attttgcttg gagaatgact	10560
gaagaagtag gagaagcatt agatgcttat aaccatgaag accattacca agaagaattg	10620
attgatggat tacacttctt aactgaattt acaatcctag ctggtaaagga ttataatact	10680
atagatgata atgctatact agttgatagc ctagagaact tatatcataa ggctactaca	10740

ES 2 724 298 T3

tcaccagaat	ttcctgaaat	gtagtagaa	gaagctgtaa	ctgacctggt	aagagaaatg	10800
ggtatgtgct	gtaattgcct	taagaataaa	ccttggaac	aaacttcaat	gctaacagat	10860
gtaaatgctt	ttaaccaaag	actatttaat	gtatgggtat	gttatattaa	attattagct	10920
gtatctggct	tagaggtaga	tgacatagta	aatatatacc	ttaagaaatc	acaggtaa	10980
aaattccgcc	aaagatctaa	ttactaaaat	aaatacttag	gagaaggtaa	tatgctaata	11040
agagactata	atgattttga	tgacttattc	ttaaacttta	atagggaat	gattaccaat	11100
ccagaagaaa	ctatgatgta	tactcagaat	atacagggt	ttcaggagga	cttagttctc	11160
tctgtgaagt	cccataaatg	tactttaaat	ctaggggact	ttggatataa	agaaggtaag	11220
tggggacacc	tattaagatc	atacattgat	tatccacaat	taattgaatt	tagagaaaag	11280
cttaccaaga	taagtgggtat	gagctatact	tattatttca	acaggaaaaa	agctactaat	11340
ggttcttgct	tgatagctgc	agtagtaact	agacaaaaa	gaaaaggacc	ttggaaacac	11400
ttaaaaatta	tgtatagagt	atgtgaatta	caaaagaaat	tcgcagctga	cctagtatta	11460
ataaacaggt	tcattgaaga	actacctcaa	gaagtatgtg	agatagataa	tattactttt	11520
catatgtctc	aagcttattt	gtcagggaatg	tttataaatg	gataactcaa	ttattttaag	11580
gtaccaagaa	agagtattgc	taatagcaaa	catccttggc	ataaatcctt	gaatagtaac	11640
tataacaggt	tctttaaatc	agaggaccag	atacactctt	acaaagctct	ccagaagatg	11700
cagttattac	attttggctc	ggagaaat	ccaaagatag	atatcaataa	attatctatt	11760
gacaagtact	ttaataagta	gtataattaa	cttaacaaaa	ttaataaaat	ggaggaatta	11820
aactatgaga	atttatatta	atgctcaaga	agcatttgaa	gaagtaaaaa	gagatttatg	11880
tgaaatgggg	attgaggtaa	gacccaaaac	tatgcaagat	aaagttatag	aaggtaatcc	11940
agattatttc	acaaaggagt	tacaaaacta	tagttacaca	attctagaaa	gtaaacctga	12000
agaagttcca	ggtgtatctc	aaccttgggc	agatgctgaa	tttagagaaa	ggatctacga	12060
tccacaaggt	gtcatcaatc	aatactctct	tgaagaaaga	gaagaattat	ttggtataca	12120
tccacatcat	actagggggg	ctttcataaa	tcccggtaaa	gcttatcaat	taagacctga	12180
ggtatggaat	gaatatctaa	gagatggaaa	atttggatat	tcttacaatg	aaagaatttg	12240
gcaatacaga	caaattgagg	atatcatcaa	tagaattaa	gaagatccag	gctcaagaca	12300
attatgggta	tctctgtgga	atccagctat	tgatccattc	aatataggag	gagtaactag	12360
agtaccatgt	tcattaggat	ataacttcca	agtaagggaa	ggtaaattaa	atattcatta	12420
tgttatgaga	agctctgact	ttgctactca	ctttgcta	gatgtttatc	ttgctatgaa	12480
actattacat	tgggtagctg	aacaaactgg	ctatgaacca	ggaagtttct	ctcatacaat	12540
tttctctctt	catgtttaca	acaaagatat	taagggggta	ttctaataaa	tgagttacat	12600
gagaaaagaa	agatataagc	attctgatct	taataataaa	gttaacaaga	aagaaaccct	12660

ES 2 724 298 T3

aaagcaat	tttaggaata	ctgaaaagga	atttgattta	gaaccagcta	accttgggga	12720
tatgactaga	aatgaactta	ataactatat	aaattatatg	gatgaactgt	ggagtaagta	12780
atatgtataa	ttatagtgat	gataacagac	ctaagaataa	taacaatggc	tgtcttggtt	12840
gtttaattat	aatcttagca	gctataggat	tatgggtaat	aatttttgat	attgccaata	12900
taatatatca	tatgatattc	taatttaaag	ggggctatcc	taatgaaaaa	tataatttgt	12960
cctatgtgta	aaaactcagt	aacattaaaa	agaaaatatg	gagctatggt	ttggatcatg	13020
attttcttaa	ctggaggcct	atgggtagta	accataccct	tcaaaaaaca	taaggctctg	13080
ccagtatgta	attcaatcat	aaaataaaga	taagggcctt	taggggtcct	ttctatttag	13140
gaggtaatat	tttaaagtag	atgtaacaac	tgtaacctat	ataccactc	agctccctca	13200
tgtatagaag	gaacttgtgt	aggaaagaaa	aagaagccaa	gaataatggt	cataaatagt	13260
ttagctaag	atagggatga	ggccaataga	atagctactc	ctgataaatc	attacttgat	13320
aaaatggaag	gtctagactt	ttattatacc	aatgctatta	agtgtagaac	tcctaaggg	13380
actaaatca	aagtatcaga	gattaagaaa	tgccaagaac	atttacttaa	ggaaattgaa	13440
aagtataaac	ctgagtatgt	tatgatctta	ggatctcaag	cactaaagat	gctaagtaat	13500
gaaggataaa	cctcaatatg	tggagtacct	aaaaaacatg	agaaatatgg	ctttaagttt	13560
attgccagct	attcaccagg	tgtagttgca	tatgacccaa	ctaaagcaca	atttgtagat	13620
caggccttta	ataacttta	agccatggta	aaaggtaaag	agcatgaatt	accagagctt	13680
aacataaaac	ttattaccag	tatgaaagag	ttaaaccagg	ctttcaaata	tttaagagag	13740
gaaggttata	atagagtatc	atatgatata	gaaactagag	gcttagatag	gtttaataat	13800
gacattactc	tatttggttt	tggtaatact	caagtacaat	atatactgcc	tttagaagtc	13860
aaatatagcc	cattaagggg	taagcccata	gcacaaagaa	gattagctaa	atccttgatt	13920
aaaagactta	attcggagat	gaaggaaaga	atagcccaga	atggtaagtt	tgatgataat	13980
ttcttaaagg	agaaatatgg	tattaagcca	atcataacct	ttgatacttt	actagcctca	14040
cattgttttag	atgagaatac	tcctaattggt	cttaaggaga	atgctttatt	acattgtaat	14100
gctaaagact	gggatataaa	taagaaatta	aagaccggaa	atgtggagac	taaatcagac	14160
tttgaggatt	atgttaggta	tctggggtat	gatataatac	atacatttgc	tctatataaa	14220
atattttaata	aaagacttaa	aagggatgag	agcttatata	aactattcca	ccacttatac	14280
atcccagcta	gtaaagctta	tgaggatggt	cagttcaagg	gtatatatgt	aatcaggag	14340
aaattcaaag	aggttgaaaa	atacttaaga	tctgaactag	ataagattga	gactggactt	14400
aagaagtata	ctaattggcca	ggatattaac	tggagctcac	ctaaacaggt	tggggaattt	14460
ttatatgata	cccttggtct	tcctgtgatt	gaggttactg	actctggagc	accagctact	14520

ggagaaagtg	tattattaag	actaagagat	aaacatccag	cagtagaact	actattacag	14580
cataggggag	ttcatatata	aattttctcac	tttatagatg	gttggctaaa	taggatgcac	14640
aatcatagat	tatatccaaa	ctttaaactt	catggaactg	taacaggaag	aacctcaagt	14700
aataatccta	atctacagca	agttcctaga	gataagaaaa	tcaggagttt	attaggacca	14760
tctcctggaa	gagtattcat	tgaagccgat	ctatcccagg	ccgaacttag	aatagctgct	14820
atgatggccg	atgaggataa	tatgaaatth	atttaccaga	ctggtggaga	tatacatgac	14880
tccacatata	atattatatc	tggggaagat	atcaatgatg	agaaagatcc	agcagttaag	14940
aaggagaaaa	ggaaaaaggc	taaggctgta	aacttttggtt	tcttatatgg	tatgcaatgg	15000
aaaaaattca	aggattatgg	aagagacaac	tatggtctta	aattaacaga	tgaggaagcc	15060
aaaacatata	gaaggaactt	ctttaataaa	tatcctaaac	tattaacatg	gcatgataaa	15120
caaagaaaga	ttgttaaagc	caatggtgaa	gtaagatctc	caataggaag	aattagaaga	15180
ttaccagata	tatattcatc	tgatagatct	aaagctgctg	aagccgaaag	acaatgtatt	15240
aactcaccag	ttcaaggttt	tgttcagat	atcactttat	taggcctatg	tgagattaca	15300
ggctatgcta	aatatgttaa	tcctgaatat	gtattagata	agtctaagtt	tgatgtatta	15360
ggctcagtac	atgactcaat	attatttgaa	gtagataaag	actatgtgga	agaattagct	15420
tggaaagtaa	aatcaatagt	tgaaaataat	aaagtattaa	agaaagtatt	taaatttacc	15480
ccaacagtcc	caataatcat	ggatatatca	gttggttatt	cttggggagg	atgtgttgaa	15540
ctggatttta	aagggtgattg	gaaaagccag	ataagaaaag	tgttgacaga	tgaataatta	15600
tctgataata	taaatattgt	aatgaaaagg	aggataaagg	atgttaaaaa	taagtaattc	15660
cagaattaac	aaattcttgt	cttgtcctta	tgtccattat	gttaaatact	atgaaggtct	15720
ggtacctaata	agaagtggag	ctgccttaca	aaggggctct	gctatccacc	aggctataga	15780
agactaccat	aatgggaaga	gttggaaaaa	atctgttgat	aaattttcca	aagagtttta	15840
caaaaatata	tttaaagaag	agatccttga	atttggagat	attccaaaaa	tggtttattc	15900
tttatgtgat	aactatthcc	actattatga	tgaaaaagaa	gataatgtaa	cctatgtgga	15960
aatgaacat	cacttcgaat	taaaactatg	taagggtgta	actctagaag	gctatattga	16020
tagtgtctta	gatgtggatg	gaaagatatg	ggctaaggaa	actaaaacct	ataaaaagat	16080
gcctgataga	aatttcctga	tcttcaatag	acaatctgct	atatatacct	gggctcttct	16140
acatgaatac	ccaaaagtaa	gtggtactat	atgggatata	atattagctc	agcaaccagg	16200
tagaccagaa	ttaactcaaa	aaggggtatt	atctcaaaag	aggattaaat	ccacaccttt	16260
agagttagaa	agaggaataa	gagaattagg	attagatcct	aaagattatg	agtcttatat	16320
taattctgct	agatgggaag	acttctttgt	aagacaccca	ataatattat	caaagagtat	16380
acttaacagt	gtaatggatg	atactattga	gatagctaaa	cttattagag	atgagggtca	16440

caaaagaaag gaaaagaacc ttggaaaagg ttgctctttc tgtgaatata agtctttatg	16500
tcaagctgaa ctttttaaacc ttgataaaga atttattatt aaggctgact acaaacaaag	16560
ggaggaaagt gacaatggca aaaaagcaaa aatcaaaatc aaatagtttt gaggacagat	16620
tagtggatct atatgatata gatgagccca caatattaac actttatgga agatctgggt	16680
caggtaaaac tactatctca ggaacactac ccaaaccaat attctttatt gatgtaaagg	16740
acaaaggtag tctatcagct agaaacaagc ttagagttaa aagaggagat atacaagtat	16800
ttagtctaaa gagttttgat gacatatagc aggccttatga ttacctatca gaaaacactg	16860
ataaatttaa aacagtaggt atagaccatt taactgcttt acaagaatta ggtaatgaaa	16920
aggtaaaagc tgaagaaggc aaggaccaga tgagccaaag aatgtttgga aatgtggcta	16980
attatatgaa agaggttata aacctttata aagaattaaa tgaggaaggc atactaccat	17040
gctttatagt acaagatagg ttagaatctg gtgatgggta aggagaagac caattaatgc	17100
ctgaggtagg accaggatta atgccatctg tatctaaata tttatgtgct gtatcaagag	17160
taatagggtca tacttattta tatgaacact cagaaaaaga gggatatgaag gttaggaaaag	17220
aaatccagta tagactaaga ctaggacctc acccttatta tattactaaa tttactagac	17280
ctcaaggatc tgaatgtcca gcttatctgg tacatgattt aaaatcacca acaactatct	17340
gggaggatat tgaaactatt ctggctggtg aatggaataa taagccagct aaatctggta	17400
aaaaaaccag taagaaatct ggtaaaaaga aaaaataaaa attttctaaa aatacctttg	17460
acaaccaatt aaaaatctga taatataaac ttgtaaacaa agaggtaaca tatcttgaca	17520
aatattttatc tcataatgat attttaaaat ttaaggagga caataacatg gctaaaaaga	17580
ctactaagag aggtaacaaa aacaaaggag gattaaagat tgatctttca aacgttgaaa	17640
cttcagttac tatcccagaa ggaaattaca ttgtggaagt agaagatgta gaggttaagg	17700
tttctgaaaa tagtggagc aattatttat catttacttt tgtaatagca gaaggaaaga	17760
tgaaaggaca aaagttatac cacatttgct cacttcaacc acaagcttta ttttaactta	17820
aagggtgtgtt agttgcttta ggatttgata tccctgatga ggagttcgaa ttagatacag	17880
aagctctagt tggtttaca tgtggggtag aagtatcaca tgaaatatat gaaggtaaga	17940
agaaatcaag aataactgat tttataaacc ttgacgaagc tgactctgat gatgacgaag	18000
atgaggatga tgactcagat gacgaagaag atgatgaaga cgatgagtct gaagttgatc	18060
ttgaagaatt agacaaggat gagctaaaag aattagctaa ggctttaaaa atcccagcta	18120
agaaaatcaa gaaggctaaa actgaagaag atctaattga tctaattgaa gaagaagctg	18180
acgaagaaga aatagctgaa caatataatg acctattcgg agactctgat gaagatgacg	18240
aagaagatga ggatgaagaa gaggaagatg aagaagaaa tgactatgag tcaatgactt	18300

ES 2 724 298 T3

taaaagaact	taaagctgaa	gctaaggaca	gaggcttaaa	ggttaaaaaa	ggaatgtcta	18360
aggatgacat	catagaaatg	ctagaagaag	atgatgaaga	ataaaattta	attattaaaa	18420
tatgagggcc	tttaaggtcc	tcctttattt	acccttggag	gctactatta	tgcttgaaag	18480
agatgtgggt	aaatccataa	tgaatatgct	taaaaaagaa	taccaggtt	tttggtttaa	18540
aactcatggg	ggaccatttc	aaatagctgg	cttacctgat	atactaggtt	gccacaaagg	18600
taagtttatt	ggtattgaag	ttaaacttcc	tggaaaagaa	aagaacctaa	ctcaaaaaca	18660
aaaagacatt	ataaataaaa	taaatctagc	aggaggaata	gcttttatgg	ctacctcagc	18720
tgaatataca	aggaggagat	tacatgaaaa	atttagaaag	acaccaacaa	ttcctaggag	18780
aactaggaga	tctgtatgaa	ttaaagaata	atctatatgg	ggataatttc	cacaagacct	18840
atcttgaata	tggaaaccct	gtcctatgta	taagacttga	agataagcta	ggaagagcta	18900
aaagtttatt	actaggagat	caagatgact	tcccttcata	tgctgctcaa	aaagaatctg	18960
tggttgatac	tttactagac	ttagctaact	atgctattat	ggctgctatg	gaattaacta	19020
gtgatgataa	ctcagaaata	catgatctta	gtaaagaaga	atatgatgaa	gaagacatag	19080
atgataatga	cgatgaggac	ttagatgatg	atgatgacaa	tgtttacgac	gaagaagaat	19140
tagattttga	tagtatgaat	aaagaatcct	taaagcaata	tctaaaagat	aatggggtta	19200
aattccatag	taaggcctca	agagatgaac	ttgtaaaact	ggctaaggag	gtataaggag	19260
gaggctttaa	tgccctcttct	tttttagtat	gaagagaaaa	ttattttaaac	atcagaaaga	19320
agcattacaa	ctatttttaa	gtaaagaaaa	gtttgcccta	tttatggaca	tgggtacggg	19380
taagacctta	gttcctattg	tggcccttga	gaaacttgaa	ggtttagata	ctgtactaat	19440
attctcacct	aaatctattg	tatttaactg	ggagtctgag	atccataaat	ttactaaact	19500
taaggaatat	aaaatattta	aattacaagg	tagtaaaacc	aaggttatgg	aaacctatag	19560
ggctataaaa	tcatactcag	gattaaagat	tattattgcc	aattttgaga	aggctaggtt	19620
gatggataaa	taccttatga	acttaaagcc	acagtttatt	gttggtgatg	aatcccataa	19680
ggtaagaat	agaaatgccc	agatatctaa	ggctctatat	aaaattgcta	ctaaatgtaa	19740
atatagattg	ataatgacag	ggactcctac	tcctaattgg	tatgaagatt	tatttatgca	19800
gtataaaatt	atgaactcaa	atattctagg	agttaactgg	aaacagtttg	aggatgacct	19860
tataatcaag	ggaggttata	tgaactatga	aattgtgggg	tataagaatg	aggaaatatt	19920
aaagaacctt	atgcaccaga	attgctatat	agtaagaata	gaagattgta	ttgatttacc	19980
agaacaactt	cctgatctgt	atttaacctg	tgaactaaat	agtaaagcta	gaaaggccta	20040
caatgacctt	agaaaggaaa	tgatagcaca	actagatata	gtacaggaaa	acattcctag	20100
gaagcaatta	aaggccttat	taaggtctaa	tggtatacct	tatgagggta	atgagccata	20160
tgaggattta	ttcttaagag	ctaatatggt	tatcaatcaa	ttaacagctg	atcttaccat	20220

ES 2 724 298 T3

taccaaatat ttaaggctac agcagatctc aggaggatth attacaaaca atgtaggaaa	20280
tagtattaat attgataaag gcaaattagg cttattacag gactatctag aaggatataa	20340
aaagcctgtt gttgtaatat gtaattttct tgaggaaata aaacttatac atgatacttt	20400
taaaaagacc cacagagtag aatgcttaac aggatctact aagaatagag ctgagatcaa	20460
taaggattht caggagggtg agattgatat attaatacta caaataagtt caggtagtgt	20520
tggtctaaac ctcttcaggg cctcaagggt aatattctat agttggaact ataaatatga	20580
tgattatgtg caagctattg ccagaattaa aagaaatggt caaaaggagc cttggcaa	20640
aatacactta ataactgaga atactattga tgagaaaata ttaaaatcaa tacagcttaa	20700
aagagataga gcagaaaaac tggtgactac tgataagtaa tgtggtata tagaattgag	20760
gtgataaata atgagaaaag aacaacctag aataagtaat catactgaaa tagctaaagc	20820
tttgattgaa gctgggaaaa ctattaaggc cctaaccaag attaaagtca aggaggaaaa	20880
gaaaaaaca aaaggccttg aaaggctaag acttctaaat gaggaaaaga agaaggagag	20940
agaattaatg aaagaattta atcctaata gcctaagaag tcaagaaaga aaaaggacaa	21000
acctataaag aggggtgatc tgaataaagt tgaggctaag ggaacttacc ctacaccttc	21060
tgagggtaat gcacctactg gaacagttga cttaaaaact ttatgtgagt cattaggatt	21120
agatccaagt aaagccaggg ccaagctaag aaagcaagg gttaaacaac catataaatg	21180
gtcaggatct gaacttgagg atattaagaa aatgttaaaa taaggggagg tttaaaaacc	21240
tcttcttttt cgttgacaat atccacagta tatggtaata taaatattgt aatcaaaca	21300
aaaggagaga actgaatatg aaagatcttg aaaaacttac aagggaagaa ttgattgagc	21360
ttgtaaagga gttatctatt gattggacag gagcctataa tagaaactat aagattgacc	21420
ttgaggagta tgagattgta tatattgatc ttaatgatct gaaagagttc aatgataagt	21480
taggtcatct agaaggagat gtgtatatac aatacactgt aaatcttatc aaggccatt	21540
tacatcctga gaaggatata ttgattaggt ggggtggtga tgagtttgta gttatcagt	21600
atatagctta taatctatgc aataccttga atatataccc tgagttatca tgtggctatg	21660
gtaaaggtaa acctattgaa gaagctatag tacaggccga ctcaatgatg tataagaata	21720
aaaaatctaa gaagttaaga tactcaaagg aggattaatt actatgaggt tattatggtt	21780
aaaagaatat ttggatatat gcaatatctt gggatttgag cccacaatgg aagcttgtgc	21840
taggtgggga aagaataaaa aactatcagg gttttcatta acccccgtag gagcaactaa	21900
atagttgctt ctttttaaag cgatccgata cctagcaact ttcattgcaa aaagaaattc	21960
ggggttttct ttgacataga ctccagactc tgggtataata atcttgtaaa caaaattaat	22020
tcaaaggagt tgtaattat gaataacaaa aaatttcaag aaactttaga acaattagag	22080

ES 2 724 298 T3

gaggaactag aaatacaagg ggtagaatth aatgatgaga atgacttaat agctgctgtt	22140
gaatacatca tagaatatga ttaccaccca gaacaatatg tggaagatac tttatgtaac	22200
taccctgaaa tgttcaagga tctataaaac taaggaggtg taaaaacctc ctttttattt	22260
ttcgaaaaaa tctggattht tccattgaca tattctggag tatctagtat aataaaaatg	22320
taatcaatat taattaaata aaggagatgt taaacatggg ttataacatg aatgaaagta	22380
ttgctaaaaa tgtaattgaa ggaacactaa aaagaaaagg attaaagatta aaaactgaat	22440
acttagaaat ggtggttaat caaattaagg atcttaaagg aactgctaaa agggataagg	22500
tacttgaact attaaagcaa aatcctgaaa tagcaaaacc ttttaataaaa cctgtaccag	22560
gtggttatat aatggactaa gaattaggtg ggatctcca ctttttttta tttttctaaa	22620
aatctggatt taatcgttga catagtctgg gccctctggt ataataatat tgtaatcaaa	22680
attaattaat tcttaggagg aatgaagaat gactaaatta gaaatgttaa atgagataga	22740
aaaaataaat aaggtggtth ttgaaaagaa cttccaaaaa caattcttag ataagaagat	22800
agaactatta caacaaatgg gagtaactaa atattatata tgtaaacatc ataaaaaagc	22860
tgagattgaa aaatatcttg aggccttgcac ctgtgcaata tatgatatag gaagaagaga	22920
tgatctagga tggtaaaacc catccttht ttcttcgaag tttttcgttg acagatccag	22980
agttctctct tataattaaa tcataaatta actattggag gtaaacaaaa tgagagatat	23040
gatagaaaat caattagctg aatatgaagt aaaggaatta tacaatgagg ccacatgat	23100
cttaggaaaa gcatttgggt taagtgtgt tgatcttht atagaatctg atgtggatgc	23160
caattattat ggtctatgcc atagatcagg taataaattt actgggatta caattaacct	23220
tttccctthc aggtttgcac aggaaggaga aaaagcttht gacaaaatca aaaaatttgg	23280
ttgggatatc aaggactgtg ttcttgaac tatatgccat gaattagctc acttaactta	23340
ttggtcacat agtcctthc ataaaaaatt aactagcctt tattacaaca aagtgaaca	23400
ggctagaaaa ggtgaaaact cagctgtagc acaaactaga agtgatatat acactthtaa	23460
agatttatgt gaattgatag aactagatcc aagaaaggca agaagcatat taagaaagaa	23520
taacattgag aaaccaggta aacaatggga gtgggagcaa ggtatgccta aagatatata	23580
tgatctatta atcaacttaa aggttagggg gagaaggtaa aacttcttct cttttttcgt	23640
tgacatatct cgagagtgt ggtataatta tattaacaaa taacttagga ggtaaatcac	23700
atgatagata tatattatag tattcaagta gaagctgaaa acttcttttg ttgccaaaaa	23760
gaagatggaa gctgggtagc aacaggagca tttagtatac ctgttaatag cataacttht	23820
gaagaggctg ataaattatc caatgaggcc atagatggat ggttaaagga gtatgaggtt	23880
actaaggtaa taagtaggag atcacataca caagttaaatt tggattggta taatagttat	23940
atcaaggatg atccattaaa ggtgatata attaataggg tgtaccctga tctttcagat	24000

ES 2 724 298 T3

aaagctaaaa tcaaatatgg ctttggttaag atatgggcta gcactatgtc aaagggttgct	24060
aagaaagggtt tactttaaacc ttgccctaga tgtgggggca ctggccatta ctcaagaacc	24120
tcagatggta acactacttg ctttaaagt aacggcttta aatatgtgat accaactaag	24180
atctcaaaga aattttataa atctgtggag aaaacctttg acatctctgg caataactct	24240
tataataaac ttgtaaacaa aaacaaagag gagatgttaa atatgaactt aactgcaatg	24300
gaaataaaga tattaatatgc tatgagaaag aatgaatttg atgatggact agatgttgac	24360
tgtgtatggg tattctcagt aatagaaaac tcaggatatag aaggaactaa ggctagaggt	24420
gtgatctcat cacttgtaa aaaaggttta gtatttgctg atggagaggt aataggttac	24480
acagaagaag gaagaaagggt ctttgataat gctgatggag aagaatgtaa ctggggaggt	24540
ccaaaattat taaaagaaat ccctgacaaa ccagaggaaa tctcttataa tgaaaatgta	24600
gataaaacaa ataagaaaga agagataaat gatatgaaag atttaaatac tatgaaagct	24660
gttgaaatta aagaattagc aaaggaatta aaagttaaaa actggtggac tatgaaaaag	24720
gctgacctaa tagctgctat ccaacaaatc caacaaccac aagaagaaaa gggtgaagag	24780
gtacaacaac cagctgaacc tgaagaaaag gctgaacaaa ctaaaattac tcttgatcta	24840
acagatgtta aggaaccaga gaaaaaggat gaacccaaaag ctgaacccaa aactaaggaa	24900
ggtaagttca ccttaaagat gatacttgaa gaattaaata tgaatggtaa aaaggcaaga	24960
agaatcttaa gaaacaaaga agttgtaaaa ccaggaaagc aatgggaatg ggataatgaa	25020
gaagaattta aaaaggttta ggacctactt tctaaataaa gtaggcccaa cctctatccc	25080
ctattgattt acaggaggat ctgattttct cttaccatt aactgcttcc atacttgatt	25140
accaaaggaa gctacagctg cacatattaa accttgata aagccattca aaaaggctct	25200
agctgtaaaa cctagttcca attgaattgc catatataag attgacaatg atatactgaa	25260
taccaaagat attaatggta tagaccaatc cggatatataa ggcttagcct tgataaacag	25320
acctaaacag taacatgata ctatgattat taaaagctgt ggatcaatgt aattgaatat	25380
taaatttact aaattttctt ccatgataaa taccocctaa attatctcta catattttga	25440
acttacataa ccttgcttct taccatggct agtattatat tctatatgat accaaccatt	25500
cttacttcct aatatagtaa ctctctcatt attaaatact gagcctatta tattaccatt	25560
cacatcatct ctacacattaa gggaagtgtt aaccttaact attccttggt taatatcctc	25620
atagaacttc tggctttggt caccctcgta acgaacgtat ccatcagatg gagtaccatc	25680
ctttctataa aatgttattc ttaaccagcc attagttcta tacattggac tagccttttg	25740
accgggttgt aaagtctcat cacagtcagt tacattcaca ttctttggat cccaccacac	25800
ataagttact ccattgtcat tttgatactt catgtggtag tcaaaactta atctgctgta	25860

ES 2 724 298 T3

atgttttatg tcaatataag catggtactt cttattcttt ccaggatata caacttctat	25920
gaaatttcta gaaggatata ttccaaggac aaataaatta tctaggctat caataaatct	25980
accagggact ggcttacaat cctcatctag aacttctatt gaaccttccc ccactaaagt	26040
agcattagtt cttgtctcat tagactcata gaatccttta ggattattat ctgctggaat	26100
gcttgagta ctacctccac tgatctcctt attacaaata cccccagcta ttaattcacc	26160
aataagttaa gggccttttag ccttatagat acttacatca gtggttgctt cacagaagca	26220
tacttccact atgacagctg gcatagtagt ctttcttagc tcatataatt tagcattaca	26280
tttaactcct ctattcttta atcctgtacc tttggcaaca gcattaacta ttcttggtgc	26340
atatacttct gcttctcctc cagtgccata tatccaagtt cctgtaccta aagcaccttc	26400
atacatatcg taagccttgt caaaatgaat actaataaat aagtcagctc cccaggcctc	26460
agccttatta accccataty ctaagtcagt gttacatca caatttccag gagtgcacac	26520
tagaacacta tggccttcat ttcttaaagc cagtatcaca gagtcttcta ctttctatc	26580
ctcagtagtt tcatcaatta aaccataagc acctttagct tgaaagttat gtccacctct	26640
tactgctatc ttcataataa acatctcctt taaatattat agtgttttat tgggcctgag	26700
aggctcgcta cagcatttta accacctcct taatatattt tcttatataa aacctaacag	26760
gccttaaatg acctgctagg cttataagtt aacctttgtt actaaatagg tgatcttcta	26820
tagtatctac atcctctttg atatcctcaa ctacattgaa tttatcaact agcttatcta	26880
tcacttgatt taatttattc tctctttctc tagcctcttt tctagtgtca tataatagcc	26940
atacaaatag actacaaaag ataccttggc taagaacttg agttagtagt tctttttcca	27000
tagattacac ctttccatta aagtcttcac cacatattct tttatagtcc tctggtgtaa	27060
tttctccttc tggattagaa gagcatttta ctgcctgatg taatttgtcc ttacctattg	27120
ctccaattct ataagccatt tcccagaaat tcataatctc tacctcctta tttattcatc	27180
aatttaattt ttatatcagc tagttcttgt gttactactt tcattatggc cttagtttgc	27240
attagctcta atttggtatc agcaagagcc tgagcttgat agccaactac tttattaata	27300
tctagaggat taggatctat agcctcatat gaagtaaata ggtccttata tttgatactg	27360
tatagatctg atctcttttt actaatatca aatttagttg ggccactctt tatgtggtca	27420
aatagactta cagtcatttg tataacagga agattgtcta gatcaataac ctcagtgtta	27480
tccacaaaagg ctaaatgccc ttgtgaatta tgaggtatat ggagacatat aatatcttct	27540
atattattta atatttctact atcttcccta tagtatagag gttcaggcct attaatagg	27600
tctaatatcc tagtaacttc ttcatggtct ttatctataa atgattttac atcctctgag	27660
tcttctgcct gatttatcag ctttcttttt tcatcatcat agaataataag gtctataacc	27720
ttattagttt ccacagaata attaaatcct actattctca tgttttatca actcccttac	27780

tcagtagcta aatagggttag tattatttga gttggcttac cagctaccat ttgataacat	27840
ccaccattta aatatgagtt agtccaatgg tcaatagtac aataaccaga ggtattatta	27900
gaagcgcat tatagttatg tgatactaga gatataggta ataccaatt ccaatcctta	27960
ggaaaatgta tagtataact tacacctccc cctgagttag cataacctgt cttactatt	28020
tgacggacta atcttagtcc tcctcccaga ctaactactc tgggtattatc ccctacatcc	28080
caatagtctc ctttagccac aggactatct ttacataga ggttttccac attttcagta	28140
tataatcctt ttccatcttg tttatagtag aatctgccat cttcagatcc accataccag	28200
tcatttattc tcatatattt tctggcccat aagttttcag ctgagaaatc ttgccagcat	28260
tttagagctc cactaataga ctctaactca gtattaaagt ctttatttgt cccagggttca	28320
tggaagtcaa tcattctacc tacttccata acaccgtcat gaggtatgaa aggaatgcc	28380
ataaagttag tattgccttc agctaactcc caattcttaa atttattact attagcagct	28440
gtaccatttt tacctaggta agcactatca tgggtgtggt tcgaatctgc agctcctatc	28500
tcagagggtc taggtttgtt gatactacca tataatttat tccactcagt ccaatatccc	28560
tgattattgt agaacctagc atatactaag ccagcactat taataaataa ttggttatat	28620
tctccacct ccttactcat tgatagaaga gttccatata tacttccagt gtgaggggag	28680
ttgggtatat catttcccc tactataaag gttcctggag atttaatatc attaaaatct	28740
aaaaccttcc ccttaatact ttgtagatat ctatcatcat gggtaggtt agttggggat	28800
gccccacat ctgctgctgt tgggtttatta tcctcatgat agatcttctt attgttctta	28860
ttaacaatat ctaaagagtc tatctttaca ggccttccag cataacctat atggactttg	28920
ttatctgcat ctatatacat cacatagtca tcactaccct ctttagtcct acagctaaat	28980
ccataattgt gggccccgat aaatttctga cctgggtctca taattaagtg gcctgataat	29040
tctccaccag tagtaggtaa ggcaccaatg tcttggggag taggtttgtt ttgtttacta	29100
tatatttcag cccaagtcgt ccatccagta ccctccatgt ttgtagctgt tctagtaaaa	29160
actcttccac catctgcaa gaacatttga gaagcccagt gtcctgtatt ccaggataag	29220
acaatcaatc tcccatctgc taggattggg gcatttttat cgacagaatt tctaactgta	29280
gaataaatac cccctccgt aatggtgttt agatctacac cctctagtct tttggtgtt	29340
ttatcccagg caccaatgtc ttggggagta ggtttagccc cagagttata atcctttctc	29400
caagggaacc aatccgtatt atttacttta tatctccaat acttattacc attggtatca	29460
taatactctt gccatatcca gttattagta ttattatgct tagtctctgt actaacatat	29520
actatcagta taccatattt tgtaccctgt agtggggcat taggtaactc acctgagatc	29580
agatattgcc cctcagttaa agctgtatta aaatcagtta tggcgtcctt aggaatggga	29640

taagccccta tttcttgagg tgtaggctta ttagcctcat cataaacctt ataccactta	29700
ctccaagaat tatttcctga tgtgtagttt ctaacatata tagttatttt attggttgga	29760
tataggttaa taaactcctg ttggaatccc ctctcaccog tatttctaac tataaaaaacc	29820
ctattactca tatgggctaa ggttcctcctg ggggtatttt taaagtcacc tgttcctgta	29880
tcaaagtaga agaaggcatt cgcttgttta aaggaattac aatctctatc taaggagca	29940
ctaaccttaa taagtgcctg atcttgatta gcctttcggg ctatttgatt ttgtaaacta	30000
gtgtctttct caaatagtag gtctaactct tttagcacat cctcaggggc tagattatag	30060
tcaggtagta cattacctct agctagtaat aggtttagta cctttaatga tgtgcttgaa	30120
gttgacacct gtaccacaaa ctgtattttg gtatcagtag ctccggaagg aataactaac	30180
ttatgagttt ttgatttgta cccattactc tgtgggtgac taccttgctt tataatactc	30240
ttatattggt gacctccact agtgaagcc agtttaattt catagctagt aaaactacct	30300
tcaatatctt ctaagaaggc taatacataa tcactatttg gttctatagg cagagtttta	30360
atctcaagag tttgtggacc tgttgacata ccagaccatt taaaacctcg tctcttggtt	30420
ggagcatctg ttatgggtgt gatattacca ggaccagtat aagactcaga gttgtaccac	30480
tcaagcctat taatagtacc aacctcaaaa gcacccagtc tatcctcatt agatttagac	30540
ttcttttcta cctcagtcac tttctgttta tgttcggtag caaagttctc aatgttttca	30600
ttatccttat taaaatcagc catttttggc ttatctgtta actccactt atttaaacct	30660
aaagtaggag ttttaccagt acttggcatt ttgcatacct cctttattca gttatagcat	30720
attcttccca tttttcccag gtaaggctta gactgtccca cttgctccac atataatcat	30780
atctatcgaa catctcccaa gtaatatata gtaatatatt ttgatataatt aaatgagcag	30840
gcattctttc cctgaatact cttctagag cctttagggt aggtggtagc cccggtagg	30900
cagtaaagct aattttgatc ttactctctt cagctatgaa ctctaccttt acctttccac	30960
ctgtgtaggc cttagtaaga tttttgatag atgtactatt aaactttttc caagcagata	31020
gaactactgt aataatagct cttttctctt ggtcagaggg tgggtaatca aagtatttat	31080
ataactcaag atcagtgaag aatctttcta gaccttctt aggagtggc ttgggatcca	31140
catagtcttg taattcctgt cccttagtat atagtttctg aagttcagta gccataatag	31200
tgtttactaa gttatcagcc tcttttatat tatcataaaa ttcaggaaca tacaatagta	31260
attctttttg aacctgttct agactatata taagttacca ccacctcagt aatggttgg	31320
atttgattag caggaatagt taaagattga ctacttccat taagtgtaat ggttgataa	31380
tcttctactc cctcaatatt taaaagcata gccctattc tatttataga taggctagta	31440
attttaaata cttgactgct tagaaaactc totagttctt tcttgaagtt taattttatt	31500
tgttcttctg taactgaact caatttctta acctgagctc ttacagtgat attaaagggt	31560

tgggctgact caacagtaaa aacacatcct ataggagctt taccctcacc taaacctttc	31620
ttgcctggat ccatgtattc ttgaacttta ttaactagtt caggattggc aggcttattc	31680
tcaactgtgg ttataatacc cttagcagta tttatcccat tccaacaggg aagaaccaca	31740
gctttaccta ctccagctac acttttacac caatctgtta actggtggac atttccatct	31800
ccagatgggt gtatagtggc tttagtagct ctctctctta actcatcatc tgtctcttga	31860
tctctacca taacaaggat atctcccata gtagcactct taagttctgc tatagcattg	31920
atgggaatta gatgtgtacc tgttgatact ttattaggtc ctgaacctaa agtctcacat	31980
tcaataatat tgggctctat cacttgccag aaataatctc ctccctggaa tcttgaacca	32040
acatcgggtt catagccaac aaacttagct gaccttctac acttagttgg aattattctg	32100
gatatcccta cattggcagc tctctcatct aagaacttac ctgtagcagt acttagaaat	32160
actgagtcta atatttgatt aacattaaca gcataaaact cagctagctt aacagcaaaa	32220
accatagcca tatcataggt gaaacttcca gttctagtgt caatatcatc gggggatagg	32280
cctatcatct cttctaataa ttctttatgt gttcgggaga ataaatcttc agaaaatccc	32340
attatatcac ccctccagt ttgtatctc catatatggt atttatccat acttcaatat	32400
atacattctt gccttgcaaa ttatacttta gatcagttac tttagtcact ctatcgtctt	32460
ctaagagaca ttcagggata gccctattaa tctccatttc aagaagttca ggagttacta	32520
gagagtcatt aatcaaagct ctaatatcac aaccataaga agtatcttga taaatcatat	32580
aggcattttt aggagtattt aatcttttat ataaagattg ttttaaggcc tcaagaccat	32640
ccacattatc ataaattcta ttaagattta gatctagttt ataggctttg gtattctcca	32700
ttgttttctc atcaactata agggatctt taaagccatt aggtagcatt atatcaacct	32760
cctaagatcc ctaacataaa atatctttgt ccatcatcat agggcataag atatacagta	32820
tggccctcac taatagactc aatatgtttt ggaacatcta taatatttcc agatagtact	32880
aattttctat tgtgaagaca ctcacatttt aaagggttag tactaagtac cttagctcta	32940
taaatattta gaggggtgga catattacta tatacttggt ttacacagtc taataaatta	33000
ttagccatta aatatcacc cctcagtagc atttaagttt taaattcatg gtatagtcag	33060
tatcaaattt atgggtatca gactcaatat agaaagcctt attaatTTTT aaatggggta	33120
tactaaccac aatggctttg ccactaatac agtcaggtac acctataaca gttatagaga	33180
tatcagtttt aggtctctta cctgtttcta gctttattct agccttctca ttttaattggg	33240
cttggtttag ttcatcactg atagtatcgt ataattgaaa tacaccatat ttcttttggc	33300
tgtatcatc tttagcagag gcaaataaag taatctcggg atcatcttta cccttaccct	33360
gtttatatatt acatactagc tttacctggg tgacaatact atcaaagttt ctacttcttg	33420

ES 2 724 298 T3

aaaaagttcc aatattttta ccatattcga atttccacaa ttcgttattg gttcttcgggt	33480
ttataaaatc aaacttacct gtaatagaat tatagtaaat ataaaactgt tctccagttt	33540
gttcataaac ctcttttatt accttcttca taatatcata gggagtttgt ttctcacata	33600
ctaaactaga gaaagtatat ccagtttttag ctactactcc aggggtaacc ccaaaggctt	33660
tacataatga ctcaaata gcttcgccag tttggttttc gaatacaaag ctatctttat	33720
tattagccca ataaatcata gggtcataag ctttaacctt aagtaaagtc tttttctcat	33780
tatctgagat attcataata ataccattaa agatattctt accctcatgg actagtacta	33840
cctgatctcc atcataaatt ggatgtatat cttgagcatt atattggaat gatagggtac	33900
gaggggcaga tgaagaagac cctgcccaac tcttaccact ggaggtattt gtaatatcaa	33960
aggatttatc tccttgtagc acaattaatt gcatattata acctccttat ataaccacca	34020
gaactccaac ctcttttata tcctgaacca ttatctaatt tatactttac ataagccat	34080
ccattttgag actttaatac tgtaaagtgt tcattaggcc atatcttacc cttggtagga	34140
ttattgatac caggtccagt tcttaccat agccatgagt aaacattagt agtagtagct	34200
gcccaaggtt gtagtacctc agaagaacta ccacctgtat taccactata ggctagttta	34260
ggttttggaa ttgtgaaact aactgattta acctcaggct tcttatactc agttagtttt	34320
atttttactt gaagagtacc aatatctcca ctttctcag tatatgagat attatcaata	34380
gtaactaata aattaatata agtactagta atagtaaacc ttactggatc tttaccatt	34440
tcaataagtt tagcataact tactcggggg tctgcaatat cagtatactc acatccatcg	34500
tagtatgagc ttggtaactc aaaattaaaa gaaaaagatt ttagcttagg gtctcctatg	34560
aaagagagtt cccctaagcc ttcaatggaa actgtactat tatctctact atcagagata	34620
tttatatcag tgggatttac tggtaaccta aacctagtat ctccctgtat taaccagaat	34680
tgatatttac tatgcaaggt ccagttcacc tccctcgaac atttcctgat ttaacatttc	34740
cacaataaat ctgtatactc tcattaattc actttctgag attgttccat cttcagcctg	34800
tactgtgaaa ttaaatgagt tgtaaatgtt cataacttta gatccatcat cacttcctgc	34860
tccagattgt cttagtaaat cctgagtttt atctgcagggt aatacttgag agcctctagg	34920
catttttgag aatgtaggac ccataactaa ttcggggcca gcttcaccaa ccatggcagc	34980
tttatcagtg aagaaatcag taccttcagc aagcattgggt atctgtggaa tattgatacc	35040
tttacctcct atgattggaa ccagtcctgg tatcttaata gtattaagag caccaattaa	35100
tccattgatt aaactgatta ttccatttat aggtccttta gcaagagcta gcataccatt	35160
gaatactcca ccaaatatat tcttaactcc ctcccaagct ttagaccagt tacctgtaaa	35220
taccccgact ataaatgcaa ttataccact tagagtttgc attaaagctt gaagaatatt	35280
tgagatattt tgtacggctc catttacagc cgcagcaatc attggccaaa cagcattaa	35340

tactgctcct aaagcataaa gtataggagt taacatatcc acaagtcctt ggaatatcat	35400
acaaaaactt tctatagcag attgtatatg gggaactaca ctctcagcaa agcttaagaa	35460
cattggtaat agtgtattat tccaccaatc agctaatacct tgtaagattg gcattaagat	35520
gttacctatt acttccacaa cttgagaaat tgcaggagct atataagtag caaaggcctc	35580
agctaaagaa gtagcaattg gcatgaaaac attagttatc aattctccaa gagctgtaaa	35640
agtagcagag aacatagaac ctaatacttc taatatagga cctaactctt ccaatacagt	35700
ttgccatact tgagtaaadc cttgaacata aagaactact aagtctatgg ctggaattag	35760
gttattcata aatatagaag ctaaagttcc aaacatatca agaagtactt gacctatagg	35820
agctaatact cccatgatag gctcagctaa accactaaag gcttcttgta tattattgtt	35880
agcctctgat aaataatctg gtagacctac taagatctct ccaaaattat tatatatgtc	35940
ttctccaaga ctccatatct tctcattaat ttgatctgcc acatcatcag gtaagaactt	36000
atataatata tcattgggta gatctataaa ggggttgcata gcatcccaa actcccaacc	36060
attcatgatg taatatatag tctctcctaa accttggaag gcagaaacaa ccattgagaa	36120
tatgggtcct agcttttcaa agccctcttg tataaatgtg ataccattta gaacagcatt	36180
agctataacc tcaacggcag gggctagggc atctcccaca tctaacataa ctacagcagc	36240
tttggtttt attctctcca tgggtctatt aaagccctta tccatttttt cataggcagc	36300
ttcagtggcc ccagcactat tcttcatctc attaagagca ttagtaaagg cctcagtacc	36360
ttcaccagtc aaggctagtg cagctgaacc agcttctaca gaaccaaaga ggtcattgat	36420
accagatta cttttctggg cgtgtttttc taacatctga agggcctctt gtatattacc	36480
tccaccttta atgaagtctt tgaaaccctt accagctatt tcccgaaga ccttatcagt	36540
cttggttccc gatthagata gctcatctat agcagctctt atcttagtag tagctacaga	36600
tggttgaacc ccctgagctg ttaatgcagc tatagaggca gatacttctt caaaagatac	36660
cccagcagct gaggtgaag gtagcacatt gaatagggat tgtgatagtt gctcaaagtt	36720
agtcttacca agtcttactg tagtaaacad aaggctctgag gccctttgaa catccatatt	36780
cttagctcca tatgagttaa taacagtagt tagtccatca accgcagttt ctattgaggt	36840
gatacctcct atagaagctt taccagctgt ttctaagaaa ctaaaaacgt tatcctctgg	36900
aactgatgag gatatggctt gataaagagc aggtactact ttatcaggca atatccctat	36960
atcagaactt aactttttta cctggccgga catcttatca aaggctctctt gagtagagtt	37020
gggtaataga gtcataacct catttaaacc ttgctcaaaa tcccaaagg ctttaacact	37080
gtccttagta aaatcccaga cagccttagc tgagaatact ccagcagcta ctccaccaat	37140
tttggaaga gtacctatga aggaattacc actatcagcc atctgggttaa atgcaccaga	37200

gatcttatct tgggcagaga atatggcagt aaatgcagct tgacttgcca ttatatccct	37260
cctttatgat taagagcctt tctttaactt atccctagct tttttatctt cttctaagc	37320
cagttcacat gaagctataa gaaaggcttt cctattggga gatagtttat caaattccca	37380
gggtagtata ttatgcttct ggaataacac atgagcccaa aatgcactag tgcgcgcctt	37440
tattagtttt ttgcttcttt gattagatca tccttattat cgcctaatacc atttatgtcc	37500
ataacctcac tagttatcct agtgaaatct cctggtaagc ttagtacatc cataagtaaa	37560
tctactggat ccacaaactt agtagactct aaccattttg gatctttaaa gtcagggaat	37620
actatggttt ctagtatcat ttccctagta gctcttcttt ggtctgttat tgagttagtt	37680
atacctttgt ttctagtaat tactgtattt ctcttttgga tatcttccat ttgcttagta	37740
gtgattggct ttaatataca aggtataggt tggcccgcga attcatgacc ctcagggaaa	37800
ctaaatctag ctaccccttc aacttcaatt tcgggtgatt gtttaccctt atcattttcc	37860
atgaaaaatt ccatactaaa ttttgacata ataactctacc tccacaatat tcttaatctt	37920
ttataaatat cttacttctg aagctgagaa tgatatttct tcttgaattt cttctccctc	37980
agcatctagt ccaattagtg gtaaactctc ttctaattgt actcctagta attgtactct	38040
gtcctcacca taattcttaa catagtcaga atctggatca tcacatacag cttgtatata	38100
catcttaggg aatataccag tttttaagta ttctttaata gcttctctta tcattggagt	38160
agctttgaat tgagttatag ttccagttat atcataacct ataacctttg aggttaatcc	38220
ttcttgacct ataactcttt tcttagtcac ctcaggagta aatagagctt ctagttttat	38280
taagctagtt acttgcttac ctgatacaaa agctctacct tctctagcag acattctatt	38340
aacttcactc atgggtata cctccttaat tattcttaac agttacaaag tatttcttga	38400
aagtcttac aggttggtga agtatagtag catacatagt ctttccttta ctagcttctt	38460
catccaccac tacatcagag tcagggtcca cattctttaa tgctccttga gcttgtagtg	38520
tagttaataa acttattagt ctatcctgag ctagttttat accatctttg tggttagggg	38580
aaacattagg aactaagatc tgagatccta gatctataac agcatccaat acagccacaa	38640
ctttattatc tgtaaagctt tcatcccatt cttctgtaaa agtatggtgt gtatttatat	38700
cttcctcaac tactaccttt actctttcag aatttgagtc agtttgagtt gagaatataa	38760
attgacctgt ttttaataca tcaactatth gagagtgttt tagtcttgga ttagcatcta	38820
ctgctccagg atatgcttta taagtaaggt cttcagtata tccagctgca gctctagcac	38880
cagctaccca tgcagttgct tgagaagctg ttaacttagt gcctccatcc agtacaaccc	38940
catttttaac attgatgata tatgggtaac cacaagtagc aaagtcagaa gtaactgcc	39000
caatgttctt accaacctca tctctgaagt atttaagttt tgataataga gcagtgtgta	39060
attcactctc agtaaatggg aaggccatag ttttaaagtt gtataactca cagttatcta	39120

agaagttaat aacatcagag ttattcatct gagtagaagt accggtacta aactcagtct	39180
tagcagtctc atctatagaa ccacttccac ttactgtaaa ccattgagac ttaactgttg	39240
atatttcagt tactcctgta gcctcaaaga ttttagatcc ttcaagatat aataatatat	39300
cctttcctcc aagaggattg gtcttaatag ttagagataa tttattaccc ctttctccag	39360
ctttagtagc tgtaaagtgt agagacccta ctacagcttt ggcttttagtt ccacctgtta	39420
agttatatac taaaacagtt gcagcttctt ttaaagcctc tttactagt aatacagtag	39480
ggtgagttat atcataccca agttgatata atgcttctag gccaccttca ttggttacct	39540
tgataacatc tccagcatta cccacttaa gttgtaatgg taagatcata actcctagat	39600
tattaagctt aggctcatta agtccaccac ttacaaatct agtatacata ccaggcttta	39660
ctttattttg tcctggaata aaagttcctc ctgccatcta ttttacctcc ttctttagcc	39720
agtcttttat aatctgacta gtttgtttta ttgttaactc ttcacaggt ggaagggtt	39780
gaactgcagc gttgaagaca aactcctcaa cctggaaaag ttgttgacaa tgggctctta	39840
attgaggtat ggaaaatttt tgtactttca ctattttacc ccctttgtta tctcaaagtt	39900
ttcgaagtaa gttggatctt tataaagact aaccacaata tcatagtta tctctacctg	39960
agaatcttct tcagtttcac cttcaaatac ttccacattc tttattttga gatttttgtt	40020
ggtcttacta ccatccctat taagtatagg aatttttcta tttctcaagt atatagcatt	40080
agctatattc tgagcaattt caagagagtc tttagggtca aataccttaa ctcttaaggt	40140
attctcagtt ctataactac aaagagtatc attctgagga ttaaatacct tcttgaaata	40200
taatgagggga tacttgaact tttcaggtat togctcaaaa tagagggtag taattccagt	40260
tagatcagat atgaatttag caatactccc tatatctgct gtcattaata actacccct	40320
aaaacttcgg ctaaccaatc ttctagtttt ctttgaaaag cctgttcaaa tattttttca	40380
tatattttta ctgcattgtc ccaataaggt ttaccaggta ctttcttttg tcttagtacc	40440
ataccagtct tagctcctgg ttgataaata aatttatctc ctgaccatat gccaggaacg	40500
aatctaaatg attgtccttg tggattagta tagtgaccat cgtttaccca cttagcatat	40560
tttaggttag taccaacttc taaggttagt cctccatcac tacttaccca tataccattc	40620
ttacccctt tttgaaagga gttaagtaat aatctagtgt ctactacttg tagtctaatt	40680
atttcatctt gaaccacatc aaggaagtct atccctgcag cttcaaacca tactgctaatt	40740
tgctttttga aatcactatt agcggcatct cttagcttct ttataaacct ttctatttgt	40800
ttagcatcta tttctatgcc tccagaattt gaagccataa ctatctaaaa tccttagcct	40860
ctataccaac cttaattttt agacctctta tatccctagg agcttttagct atatatgtga	40920
taccagtctc aaggtccaca attttatcat tttgtctaac atcagttcca atagcaaaat	40980

ES 2 724 298 T3

ctactgagta ctctgggta atcttaaacc taggttcttt gtactcaagt ttttctagag	41040
ttcctgactt aaaatgacag ggtacctcag ttatgtctgg ctcatcagga taactaaagc	41100
taggggtatg ggctagccca tatccgggat cttcaggatc ttctaatagg tggatatatat	41160
tacatctatg atttaagagc ttgttatatg aatttctaata catattacag tacccttaata	41220
ctcatagtag ttgttctgat agatggacta tcatcttcta agaaaggttt aatcagaggc	41280
ataatatcag gctctataac agccttatca gttcttcttg tatatgagta gtcacatag	41340
gtctcggatt gaatatcagc cttgctaata accaaggatt gtagtcata atactcagca	41400
tacagtatat gggctaacct taattcttta ctattgggat ttttctccac aatagtatca	41460
tagtctttac ttgaatTTTT aaaaattcct gagatcttg ctttagctct taatatatcc	41520
atctcaatat ttttggggtc tcttttcta atctcaggat tacttgagaa gtcaattatt	41580
tcatccggag taatattcat atgagccacc cctatctgtt tcttttatc ttgtttgtaa	41640
atcttctagc aggttcttct ttattgtcat ctgtagaagg tacttcttct tcagtaaaat	41700
cttctagagg ttcatcctca acaggttcat ctatgacaat cacatcatag ttctgtttta	41760
aataatttac tagactatct ttaacttctt ctacatggtc ttgggtaatc ctatgaccct	41820
taataaccag agtttgtaat ttaccctttg ctaatttgac cttagccata atatctctcc	41880
tttctaataa aaaagagccc acatttaaag tgggccttca tgattaagct tttactttaa	41940
ctatcttagc agcagcttta ggatcttcaa acttaacatc catcttaaga gttaaaacta	42000
cataagtaga tcttttcta ggagctcttt ccaactctat tctgatatct cttgagatac	42060
ctataactat attcttaggg tgagttaaga ttatgtctga tacttgagta gaagagtcgt	42120
cataatcttg tagcatagct atacctttaa caggctactcc ataagcagat ttaacagtag	42180
catttataaa tgagtcaccc ccattagcag ttaatctttc tcctactaag tctacccaat	42240
cagtttctaa accatttgag cagtagaatc tccattcacc tgggtttctt aaatacttag	42300
ctggtacagc tttcttagct tgttttaata ggtctttact taaagcagct ttgttagcat	42360
ctactacatg agcagttaat tgttttctaa ccccatctaa ttgttgtaag aaagtatcgc	42420
tactatgtcc agtatcacca ttacaatta tttcttccat gtcaagagca actctctcag	42480
ctaataattg cattacagtg gcttctattg attttccttc tatatttggt tctatagtag	42540
catcagttaa cttaaccaca gctataaact ctttagcttg taaagtaact gttccagtag	42600
ttggagctga atatttagat tgtcctggat ctgttcttc agctgcagga ttaatactc	42660
tttgaccaa tcctattgac tcaatctttt tagagtctcc tttcattggt acagttctag	42720
cctcttttaa tattgttggc tcatcaatta tcattttaat aaaagcgtta gcttggtctg	42780
gatttaattt acctccacca tttaatcgg cagcgtaaa tacagcttta tttacttttg	42840
acataacttt cctcctaata tggtattatt cttggtttcc accaaataat ccattaaata	42900

ES 2 724 298 T3

ctgatttttg aacttcttgt ccttcttctc cgtttttagc aatttgttta cttcctacat	42960
atggagccat ggcttttagct actgcctcag ctattttttc ttcctcagtt ttttcttctt	43020
gtttctggat taagccagcc tctaacatag ctttttccac agccttagca actatatctt	43080
cagtagtagc tggttgacct tcattcttat taacttcacc ctcaacaggt ttagttccat	43140
ctaatagcctt tttgatagct tcgtctatca tttttgtac ttgagtttca ttcactctctt	43200
cttccccctc cactgagtct aataattcat taatagcact ttgtgctggt ttttaactttt	43260
ccacattttt tgaagatatt ttcttacctg ccttattgac tggtaactca aaagatttag	43320
ctacttcttc tggagttcct aataatattc cctccatagt ttcagaaaat tcttgaagag	43380
cctcctttat cttatctaca tcactttcaa aagatctagt gtaatcccaa ctagaatatg	43440
gatatagaat atcttctaag gtactaactg cattccagaa attatttctt tttgcagtct	43500
ctttatattt ttcagagtat gcacctttct gtatatgctt tggagttaac cctagggcct	43560
ttccaatttt atcaagtata gattgacctc tagacttctc aatctcatca atatctacat	43620
cttgtgtaga atatttacca gtaccacca tagaccatcc agtaatttcg cctttctcaa	43680
tcttgctcca tagatcatca tcgataatct cagcttttagc taaccaagtt ccagctttaa	43740
ctactgtacc ttctattgtg gtatcttctc cagttaccca tgattttaca atcttgacac	43800
cctcaagagt gttctcattg tgttgtaaact cactaccaag gccattttca ttaaaccact	43860
cacaagcttt tttgatctct tcctcagtca taaaattatc atggtagtca gcagtcattg	43920
gctcatatac tacaccgata acaaaatgat tatctccttc agactcagac tttaagattg	43980
gcttatcata tctaaatcta ttaggagctc caagttcttt agccacaatc cattgccatt	44040
tattagctgc tttatcaact aatgaaaggt aatcaatttt agcatctgag atctcaatag	44100
ctttcttaac tgattttact ggcatttact ctccctcctt taaaaattat attctgctat	44160
cacttgatct ctgatagctt ctttttcttc tttagataat cctagtatat ccttatcaat	44220
tacaggccca tgagtacaat gacaattcac agtctcagaa gctggttaagt tgatatccct	44280
aggaaatcta gcttcataaa ttctacagct gaagtactca cctttattaa tgacagtacc	44340
atccagatcg acatggtggt gccttgggtg aatacccctt cccctgagt gtttccactg	44400
tattcctggt actgcggggc attgattaaa agcctcatcc ttagcatatg agtgggctct	44460
taacattttca gtaatagcag tagctctagc tctagttcta ctaaagccat aagtctcaga	44520
taatttacca actacatctt ctacagactc tccatcttca agagccttat ccagaatatt	44580
ctgtagtttt tcatggaag ttaatttcat catctcccca agtttagaag accactcatc	44640
tataaaggta gtagtatatg gagaaaagac tttggttagg gataagtcct tatcaatacc	44700
ttgtaaataa gtatctccta aattttctat agcttcttga taacaactct taagagtttc	44760

ES 2 724 298 T3

tgctaaagaa	gtatcgatat	tatctgtacc	tatttgagac	tccacatatt	ctataaattc	44820
ttcaatgggt	tcaaagtctc	catcttttat	aagatgtttt	aattcttctg	taaggagatc	44880
agaaaatagt	tcttctaatt	cagagatctt	ttctattgta	taatcaatct	cctcatagcc	44940
agcttctttc	aattctttct	taaggctatt	atcttcattc	tttaagatct	tatcaatttt	45000
agcgatcaac	tcatcagtac	ccactattac	ttacctcctt	ttaattgata	gtttaataac	45060
tgtttcttag	cctctttaag	tacagctatc	acctcatcac	tcccattaga	gttttgagcc	45120
ttctcaatta	tacttggtta	gttattactc	atagaagagg	caactgagta	agtagggata	45180
tttgcccatt	cttcatcaat	aggagtatag	tccttattga	ttgatgaata	atactcctca	45240
ttaatctgat	taggagtcac	agctctagag	gctatagcaa	acattccttt	ctgataatca	45300
gagttctcaa	tattaggact	cttaaagtaa	gcttcacacat	atttaaaacc	atagccagat	45360
agaataacat	tatttagtat	ccatgttagg	ttttctcttt	caggaacaaa	tacttgctct	45420
tcagtttttc	ttgtagcctc	tctggctgta	gccacattat	aatcttgga	gtaccctaca	45480
tatatatctg	gtagtaagaa	agaagattgt	atctttttcc	tagtattatc	catgtagtct	45540
tggataaact	catccttctg	taatatattca	gataggggct	tgacctcaac	agtaactggc	45600
ttagagtcac	caatggcagt	gtctttctct	gcagcttcag	tttctagtag	taagaaacca	45660
tgctgggaat	tttcaccttt	tacactattc	atgtactcag	ttaactcatt	ccaagattta	45720
tcattaagag	taccaccttg	aattagtaac	attaatggag	tatgtttacc	attagtaaaa	45780
tatctccagt	ttaataattc	ggcctttctt	gaaccttgag	cggctaacat	aggaccttcc	45840
catcttggtg	taccatagac	accataacct	gttttaaaat	gaagtatact	gttagctcga	45900
tctttaagag	gtatctctcc	cttttcataa	tactttccag	tattcatatc	tagatctcta	45960
ggatctcccc	attccttaaa	gaagattgat	tgattattta	cagtctgctt	aaatcttctg	46020
aacctttttc	ttctagtgtg	ctgtttacca	tatcgggtta	cagtgtactc	tgtactctca	46080
tcacttagct	taagaatttt	aattgtctta	gggtcttcaa	tttcttttat	ctctttttacg	46140
agagctgagt	ctttaggatc	ttctacgac	tctaaaaaag	aatacccaag	tccttctctc	46200
caatcaacta	tctcttcaaa	gacattcttg	gttggtttat	caaaagacag	ggtatcaatt	46260
aattcttcca	gctgtttata	ttcagctttc	atctctggag	taggttcac	taccttctca	46320
atatacctaa	tacctattcc	gaatccagca	atattatttc	ggtaggcctt	tttgcatggg	46380
ggtattattg	tagactccct	tataatcact	tctaatagtt	gggggtcata	ttcaggagat	46440
atctcatcaa	cttcaattcc	aagtacactg	gtttgttgat	tagatttatc	cactggatcc	46500
aaagactttt	ggatagggtc	tccacatata	cttctggcgg	atatcttttt	caaagttact	46560
ttacctcctt	tcttacatta	tatatcaa	tataaaatcc	agatggcctc	atatttcagg	46620
gaggattaca	tcaactccac	atatagtgtc	aaatacggcc	attcacatga	tttaaaaata	46680

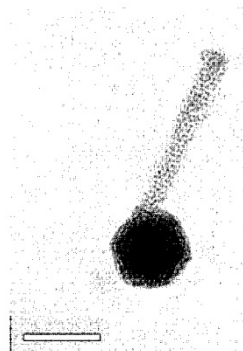
ES 2 724 298 T3

actataattt gatacgttta ttataacata attcacaaaa ttttgtcaac gttttatttt	46740
tacattattt tccggaagat tttccgcata tactccccat ataaaattat ataattatta	46800
atgtatacta tattactata ttaatttatg aaataaatta tatagtatat agtatactta	46860
tattacatat atataagggg ggtaactctg atatgccttc tatatcacat tattactaat	46920
atagagccta gtcaatttca aaactgatat ctcacatatc agaataaaaa agtattggct	46980
ttaataggca tatcagttac tagatttttc ttaattttaga tccaacagga aggcaagcta	47040
agaatagaga gtctgctaag tctggagaat gtagtcctct tttcttcatt tcatccttac	47100
tctccagctt tatttgacct ttggagtga atacttttaa ctttctggta gtcaattctc	47160
ccacaagatc tgtattatcc ggtagtctta actcatcatc ctccagtaat tccttaacta	47220
cagaggctat atatgtggtt gtatcataat aaaaggcata agcctgggac cccctcttta	47280
gtggcatacc aaacttacat ggtactacct tcaaccagtc cagtttttct tcaagtttta	47340
tctcttttaa tctatcagtt actccccac ctacaccagt gtcgtctatt ttcacaacta	47400
ccgctagttt agggaactca ccatgtagag atttagcc	47438

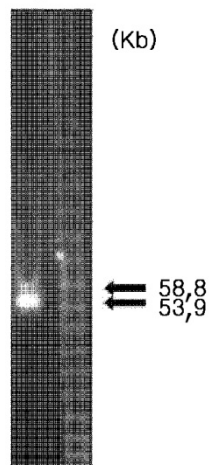
REIVINDICACIONES

1. Un bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) que tiene una actividad bactericida específica contra *Clostridium perfringens*, donde la secuencia de ácido nucleico de dicho bacteriófago ΦCJ21 es SEQ ID NO: 1.
2. Una composición que comprende el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) de la reivindicación 1 como principio activo.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 2, para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad infecciosa causada por *Clostridium perfringens*.
4. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 3, donde la enfermedad infecciosa es enteritis necrótica.
5. El bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) de la reivindicación 1 como principio activo para su uso como antibiótico.
6. Un aditivo para pienso o aditivo para agua potable que comprende el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) de la reivindicación 1 como principio activo.
7. Un desinfectante o limpiador que comprende, como principio activo, el bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) de la reivindicación 1.
8. El bacteriófago ΦCJ21 (KCCM11363P) de acuerdo con la reivindicación 1, para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad infecciosa causada por *Clostridium perfringens*.
9. El bacteriófago para el uso de acuerdo con la reivindicación 8, donde la enfermedad infecciosa es enteritis necrótica.

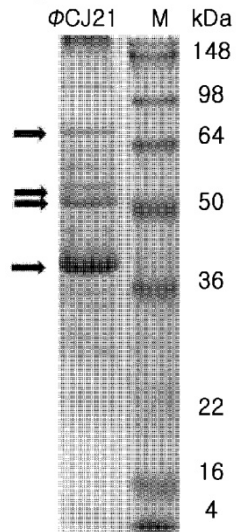
[Fig. 1]



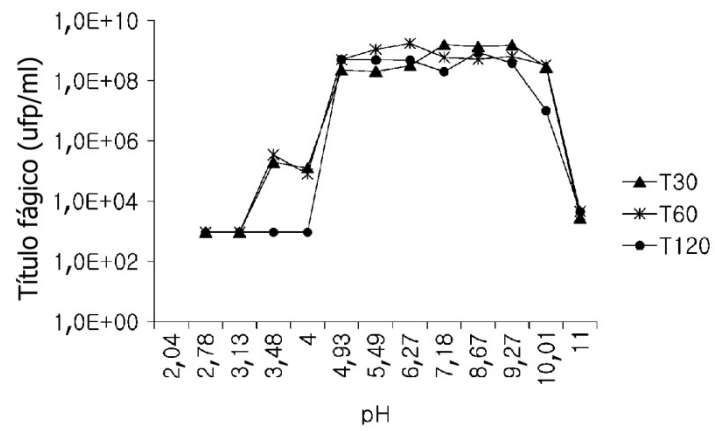
[Fig. 2]



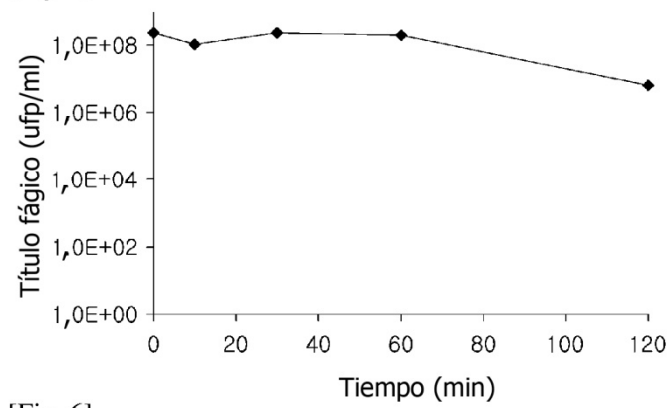
[Fig. 3]



[Fig. 4]



[Fig. 5]



[Fig. 6]

