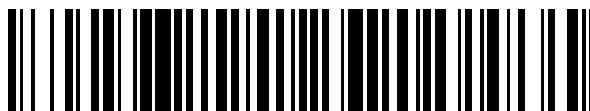


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 729 302**

51 Int. Cl.:

C07K 14/01 (2006.01)

C12Q 1/68 (2008.01)

C12N 15/11 (2006.01)

B01J 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.09.2015** **PCT/US2015/053012**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.04.2016** **WO16054088**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.09.2015** **E 15779119 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.04.2019** **EP 3201222**

54 Título: **Mutantes de recombinasas**

30 Prioridad:

29.09.2014 US 201462057056 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.10.2019

73 Titular/es:

ILLUMINA CAMBRIDGE LIMITED (100.0%)
Chesterford Research Park Little Chesterford Nr
Saffron Walden
Essex CB10 1XL, GB

72 Inventor/es:

BOMATI, ERIN;
KELLINGER, MATTHEW WILLIAM y
BOUTELL, JONATHAN MARK

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 729 302 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

Mutantes de recombinasas

Antecedentes

- 5 Las enzimas recombinasas son útiles en la amplificación de ácidos nucleicos mediada por recombinasas. Por ejemplo, las enzimas recombinasas pueden facilitar el direccionamiento de oligonucleótidos a dianas de ADN que permiten la replicación de ADN por una polimerasa. Sigue habiendo una necesidad de recombinasas modificadas con propiedades mejoradas.

Listado de secuencias

- 10 La presente solicitud se presenta junto con un Listado de Secuencias en formato electrónico. El listado de secuencias se proporciona como un archivo titulado IP1264.TXT, creado el 26 de septiembre de 2014, que tiene un tamaño de 98Kb.

Breve compendio

- 15 En el presente documento se presentan recombinasas para mejorar la amplificación de ácidos nucleicos mediada por recombinasas. De manera sorprendente, los presentes inventores han identificado determinadas recombinasas alteradas que tienen características sustancialmente mejoradas en la siembra de ácidos nucleicos sobre una superficie prototipo de células de flujo. En determinadas realizaciones, las recombinasas alteradas de siembra mejorada en una biblioteca sin PCR, tal como una biblioteca con PCR que tiene regiones adaptadoras monocatenarias, sobre una superficie prototipo de células de flujo para mejorar la amplificación de grupos.

- 20 Según la invención, la recombinasa es una UvsX recombinante y comprende una mutación por sustitución de aminoácidos en la posición funcionalmente equivalente a Pro256 en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49. La secuencia de aminoácidos de tipo silvestre de UvsX de RB49 se expone en la SEQ ID NO: 1. Según la invención, la UvsX recombinante comprende una secuencia de aminoácidos que comprende un aminoácido que es al menos 90 %, 95 %, 99 % idéntico a la SEQ ID NO: 1, y que comprende una mutación por sustitución de aminoácidos en la posición funcionalmente equivalente a Pro256 en la SEQ ID NO: 1 de UvsX de RB49; teniendo dicha UvsX recombinante actividad recombinasa aumentada en comparación con un polipéptido de recombinasa UvsX de T4 que tiene la SEQ ID NO: 8 o con un polipéptido de recombinasa UvsX de RB49 que tiene toda la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, excepto por una sustitución de His a Ser en la posición del aminoácido 63 de la SEQ ID NO: 1.

- 30 Según la invención, la mutación por sustitución comprende una mutación en un resto básico. En determinadas realizaciones, la mutación por sustitución comprende una mutación homóloga a Pro256Lys en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49.

- En algunas realizaciones, además de las mutaciones anteriores, la UvsX recombinante puede comprender además mutaciones por sustitución en posiciones funcionalmente equivalentes a His63 en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, la UvsX recombinante comprende una mutación por sustitución homóloga a His63Ser en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49.

- 35 En algunas realizaciones, además de cualquiera de las mutaciones anteriores, la UvsX recombinante puede comprender además una mutación seleccionada del grupo que consiste en: la adición de uno o más restos de ácido glutámico en el extremo C; la adición de uno o más restos de ácido aspártico en el extremo C; y una combinación de los mismos.

- 40 También se desvela que la UvsX recombinante deriva de un fago de la familia *Myoviridae* seleccionado del grupo que consiste en: T4, T6, Rb69, Aeh1, KVP40, fago 133 de *Acinetobacter*, fago 65 de *Aeromonas*, cianófago P-SSM2, cianófago PSSM4, cianófago S-PM2, Rb32, vibriófago nt-1, Rb16, Rb43 y Rb49.

También se desvela que la UvsX recombinante deriva de un fago de la familia *Myoviridae* seleccionado del grupo que consiste en: T2, Rb14, fago 25 de *Aeromonas*, phi-1, fago 31, fago 44RR2.8t, fago Rb3 y fago LZ2.

- 45 En este documento también se presenta una UvsX recombinante que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 2 y 22-35. También se desvela que la UvsX recombinante comprende una secuencia de aminoácidos que comprende un aminoácido que es al menos 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 99 % idéntico a una cualquiera de las SEQ ID NO: 2 y 22-35 y que comprende una mutación por sustitución de aminoácidos en la posición funcionalmente equivalente a Pro256 en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49.

- 50 En este documento también se presenta una UvsX recombinante que comprende una mutación por sustitución en el dominio semiconservado que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 3-5, en la que la mutación por sustitución comprende una mutación en la posición 7 de las SEQ ID NO: 3-5 en un resto de lisina. También se desvela que la UvsX recombinante comprende un aminoácido que es al menos 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 99 % idéntico a una recombinasa que comprende el dominio semiconservado que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 3-5, y en la que la UvsX recombinante comprende una mutación por

sustitución seleccionada de una sustitución en la posición 7 en cualquier resto distinto de Phe, Pro, Asp, Glu o Asn. También se desvela que la mutación comprende una mutación en un resto cargado. También se desvela que la mutación comprende una mutación en un resto básico. También se describe que la mutación comprende una sustitución en la posición 7 a Lys.

5 En este documento también se presenta una UvsX recombinante que comprende una mutación por sustitución en el dominio semiconservado que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 6-7, en la que la mutación por sustitución comprende una mutación en la posición 12 a un resto de lisina. También se desvela que la UvsX recombinante comprende un aminoácido que es al menos 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 99 % idéntico a una recombinasa que comprende el dominio semiconservado que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 6-7, y en la que la UvsX recombinante comprende una mutación por sustitución seleccionada de una sustitución en la posición 12 en cualquier resto distinto de Phe, Pro, Asp, Glu o Asn. También se desvela que la mutación comprende una mutación en un resto cargado. También se desvela que la mutación comprende una mutación en un resto básico. También se desvela que la mutación comprende una sustitución en la posición 12 a Lys.

15 En algunas realizaciones, además de las mutaciones anteriores, la UvsX recombinante puede comprender además mutaciones por sustitución en posiciones funcionalmente equivalentes a His63 en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, la UvsX recombinante comprende una mutación por sustitución homóloga a His63Ser en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49.

20 En algunas realizaciones, además de cualquiera de las mutaciones anteriores, la UvsX recombinante puede comprender además una mutación seleccionada del grupo que consiste en: la adición de uno o más restos de ácido glutámico en el extremo C; la adición de uno o más restos de ácido aspártico en el extremo C; y una combinación de los mismos.

También se desvela que la UvsX recombinante deriva de un fago de la familia *Myoviridae* seleccionado del grupo que consiste en: T4, T6, Rb69, Aeh1, KVP40, fago 133 de *Acinetobacter*, fago 65 de *Aeromonas*, cianófago P-SSM2, cianófago PSSM4, cianófago S-PM2, Rb32, vibriófago nt-1, Rb16, Rb43 y Rb49.

25 También se desvela que la UvsX recombinante deriva de un fago de la familia *Myoviridae* seleccionado del grupo que consiste en: T2, Rb14, fago 25 de *Aeromonas*, phi-1, fago 31, fago 44RR2.8t, fago Rb3 y fago LZ2.

30 En el presente documento también se presenta una molécula de ácido nucleico que codifica una UvsX recombinante como se define en cualquiera de las realizaciones anteriores. En el presente documento también se presenta un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico descrita anteriormente. En el presente documento también se presenta una célula hospedadora que comprende el vector descrito anteriormente.

35 En el presente documento también se presenta un proceso de amplificación de una molécula de ácido nucleico diana mediante amplificación con recombinasa y polimerasa, que comprende las siguientes etapas: (a) poner en contacto la UvsX recombinante de cualquiera de las realizaciones anteriores con un primer y segundo cebador de ácido nucleico para formar un primer y segundo cebador nucleoproteico, en el que dicho cebador de ácido nucleico comprende una región monocatenaria en su extremo 3'; (b) poner en contacto el primer y el segundo cebador nucleoproteico con dicha molécula de ácido nucleico diana, formando así una primera estructura bicatenaria en una primera parte de dicha primera cadena y formando una segunda estructura bicatenaria en una segunda parte de dicha segunda cadena, de tal manera que los extremos 3' de dicho primer cebador de ácido nucleico y dicho segundo cebador de ácido nucleico están orientados uno hacia el otro en la misma molécula de ácido nucleico bicatenario molde; (c) extender el extremo 3' de dicho primer y segundo cebador de ácido nucleico con una o más polimerasas y dNTP para generar un primer y segundo ácido nucleico bicatenario y una primera y segunda cadenas de ácido nucleico desplazadas; y (d) continuar la reacción a través de la repetición de (b) y (c) hasta que se alcance un grado de amplificación deseado.

45 En determinadas realizaciones del proceso, la molécula de ácido nucleico diana comprende ácido nucleico bicatenario. En determinadas realizaciones, la molécula de ácido nucleico diana comprende ácido nucleico monocatenario. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el ácido nucleico diana comprende una región adaptadora monocatenaria. En determinadas realizaciones, el proceso se realiza en presencia de una proteína recombinasa de carga. Por ejemplo, la proteína de carga recombinasa puede seleccionarse del grupo que consiste en UvsY de T4, recO de *E. coli*, recR de *E. coli* y una combinación de los mismos. En determinadas realizaciones, el proceso se realiza en presencia de un agente estabilizador monocatenario seleccionado del grupo que consiste en gp32, proteína SSB de *E. coli*, proteína gp32 de T4. En determinadas realizaciones, el proceso se realiza en presencia de un agente aglomerante seleccionado del grupo que consiste en polietilenglicol, óxido de polietileno, poliestireno, Ficoll, dextrano, PVP y albúmina, de tal manera que el agente aglomerante estimula la amplificación.

55 En determinadas realizaciones, el proceso se realiza en una matriz de sitios de amplificación. En determinadas realizaciones, cada sitio de amplificación comprende una pluralidad de cebadores de amplificación para la amplificación del ácido nucleico diana. En determinadas realizaciones, la matriz de sitios de amplificación comprende una matriz de características en una superficie. Por ejemplo, las características pueden ser no contiguas y pueden estar separadas por regiones intersticiales de la superficie que carecen de los cebadores de amplificación. En

determinadas realizaciones, la matriz de sitios de amplificación comprende perlas en solución o perlas en una superficie. En determinadas realizaciones, la matriz de sitios de amplificación comprende una emulsión. En determinadas realizaciones, el proceso se produce isotérmicamente.

5 En el presente documento también se presenta un kit para realizar una reacción mediante amplificación con recombinasa y polimerasa. En determinadas realizaciones, el kit puede comprender una UvsX recombinante como se define en cualquiera de las realizaciones anteriores, y uno o más de los siguientes: una proteína de unión a ADN monocatenario; una ADN polimerasa; dNTPs o una mezcla de dNTPs y ddNTPs; un agente aglomerante; un tampón; un agente reductor; ATP o análogo de ATP; una proteína recombinasa de carga; un primer cebador y opcionalmente un segundo cebador.

10 Los detalles de una o más realizaciones se exponen más adelante en los dibujos adjuntos y en la descripción.

Breve descripción de los dibujos

15 La Figura 1 es un esquema que muestra el alineamiento de secuencias de aminoácidos de UvsX del enterobacteriófago T4 (T4) (SEQ ID NO: 8), del enterobacteriófago T6 (T6) (SEQ ID NO: 9), del fago 133 de *Acinetobacter* (Fago 133) (SEQ ID NO: 10), del enterobacteriófago RB69 (Rb69) (SEQ ID NO: 11), del fago Aeh1 de *Aeromonas* (Aeh1) (SEQ ID NO: 12), del fago 65 de *Aeromonas* (Ae65) (SEQ ID NO: 13), del vibriófago KVP40 (Kvp40) (SEQ ID NO: 14), del enterobacteriófago RB43 (Rb43) (SEQ ID NO: 15), del fago P-SSM2 de *Prochlorococcus* (PSSM2) (SEQ ID NO: 16) y del fago P-SSM4 de *Prochlorococcus* (PSSM4) (SEQ ID NO: 17), como también se expone en los materiales incorporados del documento US 2009/0029421. Los restos que son posicionalmente y/o funcionalmente equivalentes a Pro256 en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49 se resaltan y se indican con un triángulo.

20 La Figura 2 es un esquema que muestra el alineamiento de secuencias de aminoácidos de UvsX del enterobacteriófago RB49 (RB49) (SEQ ID NO: 1) y del enterobacteriófago T4 (T4) (SEQ ID NO: 8). Los restos que son posicionalmente y/o funcionalmente equivalentes a Pro256 en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49 se resaltan y se indican con un triángulo.

25 La Figura 3A muestra una captura de pantalla de una imagen de grupos de una biblioteca sin PCR sembrada sobre un prototipo de células de flujo utilizando una formulación de UvsX de T4.

La Figura 3B muestra una captura de pantalla de una imagen de grupos de una biblioteca sin PCR sembrada sobre un prototipo de células de flujo utilizando una formulación líquida que incluye la recombinasa RB49 P256K.

30 La Figura 4A muestra una captura de pantalla de una imagen de grupos de una biblioteca sin PCR con ADN monocatenario (ADNmc) sembrada sobre un prototipo de células de flujo utilizando una formulación de UvsX de T4.

La Figura 4B muestra una captura de pantalla de una imagen de grupos de una biblioteca sin PCR monocatenaria sembrada sobre un prototipo de células de flujo utilizando una formulación líquida que incluye la recombinasa RB49 P256K.

Descripción detallada

35 En el presente documento se presentan recombinasas para mejorar la amplificación de ácidos nucleicos mediada por recombinasas. De manera sorprendente, los presentes inventores han identificado determinadas recombinasas alteradas que tienen características sustancialmente mejoradas en la siembra de ácidos nucleicos sobre una superficie prototipo de células de flujo.

40 Como se describe con mayor detalle a continuación, de manera sorprendente, los inventores han descubierto que una o más mutaciones en uno o más restos en la recombinasa producen mejoras profundas en la siembra de una biblioteca de ADN, tal como, por ejemplo, una biblioteca con PCR que tiene regiones adaptadoras monocatenarias, sobre una superficie prototipo de células de flujo, dando una amplificación mejorada del grupo.

45 En determinadas realizaciones, la mutación por sustitución comprende una mutación en un resto que tiene una cadena lateral con carga. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el aminoácido cargado es un resto de aminoácido con carga positiva. La expresión "aminoácido con carga positiva" se refiere a un aminoácido hidrófilo con un valor pKa de cadena lateral mayor que 7, concretamente un aminoácido básico. Normalmente los aminoácidos básicos tienen cadenas laterales con carga positiva a pH fisiológico debido a la asociación con un ion hidronio. Los aminoácidos básicos naturales (codificados genéticamente) incluyen lisina (Lys, K), arginina (Arg, R) e histidina (His, H), mientras que los aminoácidos básicos no naturales (no codificados genéticamente, o no estándar) incluyen, por ejemplo, ornitina, ácido 2,3-diaminopropiónico, ácido 2,4-diaminobutírico, ácido 2,5,6-triaminohexanoico, ácido 2-amino-4-guanidinobutanoico y homocarginina. La expresión "aminoácido con carga negativa" se refiere a un aminoácido natural o no natural, independientemente de la quiralidad, que contiene, además del grupo carboxilo C-terminal, al menos un grupo con carga negativa adicional tal como carboxilo, fosfato, fosfonato, sulfonato, o similares.

En el presente documento también se presenta una UvsX recombinante que comprende una mutación por sustitución

en un dominio semiconservado de la UvsX recombinante. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "dominio semiconservado" se refiere a una parte de la UvsX recombinante que está completamente conservada, o al menos parcialmente conservada entre varias especies. De manera sorprendente, se ha descubierto que la mutación de uno o más restos en el dominio semiconservado afecta a la actividad de la recombinasa, especialmente en presencia de ácido nucleico molde monocatenario, dando como resultado la mejora de la siembra y/o amplificación en reacciones de amplificación mediadas por recombinasas. Estas recombinasas mutadas tienen un rendimiento mejorado en la siembra de bibliotecas sin PCR, tal como una biblioteca con PCR que tiene regiones adaptadoras monocatenarias, sobre una superficie prototipo de células de flujo, dando como resultado una amplificación mejorada del grupo, como se describe más adelante en el apartado de Ejemplos.

En algunas realizaciones, el dominio semiconservado comprende aminoácidos que tienen la secuencia expuesta en cualquiera de las SEQ ID NO: 3-7. Las SEQ ID NO: 3-7 corresponden a restos en el dominio semiconservado entre varias especies. La SEQ ID NO: 3 corresponde a los restos 251-258 de la secuencia de aminoácidos de UvsX de T4, que se expone en el presente documento como SEQ ID NO: 8. En las Figuras 1 y 2 se expone un alineamiento que muestra la conservación entre varias especies en el dominio semiconservado. Las secuencias de UvsX mostradas en la Figura 1 se obtuvieron de los números de registro de la base de datos de Genbank NP_049656 (T4), YP004300647 (Fago 133); NP_861734 (RB69); NP_943894.1 (Aeh1); YP_004300858 (Ae65); NP_899256 (KVP40); YP_239013 (RB43); YP_214417 (P-SSM2); YP_214708 (P-SSM4); y de la publicación de EE.UU. N° 2009/0029421 (T6). La Figura 2 es un esquema que muestra el alineamiento de secuencias de aminoácidos de UvsX del *enterobacteriófago* RB49 (RB49) (SEQ ID NO: 1) y del enterobacteriófago T4 (T4) (SEQ ID NO: 8). Los restos que son posicionalmente y/o funcionalmente equivalentes a Pro256 en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49 se resaltan y se indican con un triángulo. Las secuencias UvsX mostradas en la Figura 2 se obtuvieron de los números de registro de la base de datos de Genbank NP_891595 (RB49) y NP_049656 (T4).

De manera sorprendente, se ha descubierto que las mutaciones en uno o más restos en el dominio semiconservado aumentan la actividad de la recombinasa, especialmente en presencia de ácido nucleico molde monocatenario, dando como resultado la mejora de la siembra y/o amplificación en reacciones de amplificación mediadas por recombinasas. Estas recombinasas mutadas tienen un rendimiento mejorado en la siembra de bibliotecas sin PCR, tal como una biblioteca con PCR que tiene regiones adaptadoras monocatenarias, sobre una superficie prototipo de células de flujo, dando como resultado una amplificación mejorada del grupo, como se describe más adelante en el apartado de Ejemplos. Por ejemplo, en algunas realizaciones de la UvsX recombinante presentadas en el presente documento, la mutación por sustitución comprende una mutación en la posición 7 de cualquiera de las SEQ ID NO: 3-5 en cualquier resto que no sea Phe, Pro, Asp, Glu o Asn. En determinadas realizaciones, la UvsX recombinante comprende una mutación a Lys en la posición 7 de cualquiera de las SEQ ID NO: 3-5. En algunas realizaciones de la UvsX recombinante presentadas en el presente documento, la mutación por sustitución comprende una mutación en la posición 12 de cualquiera de las SEQ ID NO: 6-7 en cualquier resto que no sea Phe, Pro, Asp, Glu o Asn. En determinadas realizaciones, la UvsX recombinante comprende una mutación a Lys en la posición 12 de cualquiera de las SEQ ID NO: 6-7.

En algunas realizaciones, la recombinasa es una proteína UvsX. En las realizaciones presentadas en este documento, puede utilizarse cualquier recombinasa de fago, incluyendo, por ejemplo, recombinasas de fagos tales como UvsX o recombinasas de tipo UvsX derivadas de un fago de *Myoviridae* tales como, por ejemplo, T4, T6, Rb69, Aeh1, KVP40, fago 133 de *Acinetobacter*, fago 65 de *Aeromonas*, cianófago P-SSM2, cianófago PSSM4, cianófago S-PM2, Rb32, vibriófago nt-1, Rb16, Rb43 y Rb49. En determinadas realizaciones, la recombinasa es una recombinasa UvsX o de tipo UvsX derivada de un fago de *Myoviridae* tal como, por ejemplo, T2, Rb14, fago 25 de *Aeromonas*, phi-1, fago 31, fago 44RR2.8t, fago Rb3 y fago LZ2. Será fácilmente obvio para un experto en la técnica que en las realizaciones presentadas en este documento pueden utilizarse otras proteínas recombinasas. Las proteínas recombinasas adecuadas pueden identificarse por homología con UvsX utilizando cualquiera de los diversos métodos conocidos en la técnica, tal como, por ejemplo, alineamiento con BLAST (del inglés, *Basic Local Alignment Search Tool*, herramienta de búsqueda básica de alineamientos locales), como se describe más adelante con mayor detalle.

Por "funcionalmente equivalente" se entiende que la recombinasa de control contendrá, en el caso de estudios que utilizan una recombinasa totalmente diferente, la sustitución de aminoácidos que se considera que se produce en la posición de aminoácidos en la otra recombinasa que tiene el mismo papel funcional en la enzima. Como ejemplo, la mutación en la posición 257 de fenilalanina a lisina (F257K) en la UvsX de T4 sería funcionalmente equivalente a una sustitución en la posición 256 de Prolina a lisina (P256K) en la UvsX de RB49.

Generalmente, las mutaciones de sustitución funcionalmente equivalentes en dos o más recombinasas diferentes se producen en posiciones de aminoácidos homólogas en las secuencias de aminoácidos de las recombinasas. Por lo tanto, en el presente documento, el uso de la expresión "funcionalmente equivalente" también abarca mutaciones que son "posicionalmente equivalentes" u "homólogas" a una mutación dada, independientemente de si se conoce o no la función particular del aminoácido mutado. Es posible identificar restos de aminoácidos posicionalmente equivalentes u homólogos en las secuencias de aminoácidos de dos o más recombinasas diferentes en función del alineamiento de secuencias y/o el modelado molecular. En la Figura 1 se muestra un ejemplo de un alineamiento de secuencias para identificar restos posicionalmente y/o funcionalmente equivalentes, que establece un alineamiento de secuencias de aminoácidos de UvsX del enterobacteriófago T4 (T4) (SEQ ID NO: 8), del enterobacteriófago T6 (T6) (SEQ ID NO: 9), del fago 133 de *Acinetobacter* (Fago 133) (SEQ ID NO: 10), del enterobacteriófago RB69 (Rb69) (SEQ ID NO: 11),

del fago Aeh1 de *Aeromonas* (Aeh1) (SEQ ID NO: 12), del fago 65 de *Aeromonas* (Ae65) (SEQ ID NO: 13), del vibriófago KVP40 (Kvp40) (SEQ ID NO: 14), del enterobacteriófago RB43 (Rb43) (SEQ ID NO: 15), del fago P-SSM2 de *Prochlorococcus* (PSSM2) (SEQ ID NO: 16) y del fago P-SSM4 de *Prochlorococcus* (PSSM4) (SEQ ID NO: 17), como también se expone en los materiales incorporados del documento US 2009/0029421. Las secuencias de UvsX mostradas en la Figura 1 se obtuvieron de los números de registro de la base de datos de Genbank NP_049656 (T4), YP_004300647 (Fago 133); NP_861734 (RB69); NP_943894.1 (Aeh1); YP_004300858 (Ae65); NP_899256 (KVP40); YP_239013 (RB43); YP_214417 (P-SSM2); YP_214708 (P-SSM4); y de la publicación de EE.UU. N° 2009/0029421 (T6).

La Figura 2 es un esquema que muestra el alineamiento de secuencias de aminoácidos de UvsX del enterobacteriófago RB49 (RB49) (SEQ ID NO: 1) y del enterobacteriófago T4 (T4) (SEQ ID NO: 8). Los restos que son posicionalmente y/o funcionalmente equivalentes a Pro256 en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49 se resaltan y se indican con un triángulo. Las secuencias de UvsX mostradas en la Figura 2 se obtuvieron de números de referencia de la base de datos de Genbank NP_891595 (RB49) y NP_049656 (T4).

Alineando esas secuencias con la de una secuencia de referencia, tal como la de T4 y RB49, puede determinarse un resto posicionalmente y/o funcionalmente equivalente para una o más de cualquier número de otras secuencias de UvsX. Como ejemplo no limitativo, las secuencias de UvsX del fago S-PM2 de *Synechococcus*, del enterobacteriófago RB32, del vibriófago nt-1, del enterobacteriófago RB16, que se exponen como SEQ ID NO: 18-21, y que se obtienen de los números de referencia de la base de datos de Genbank YP_195169.1; YP_802982.1; YP_008125207.1; YP_003858336.1, pueden alinearse con una secuencia de UvsX de referencia, tal como, por ejemplo, UvsX de T4 (SEQ ID NO: 8) y UvsX de RB49 (SEQ ID NO: 1) e identificarse restos posicionalmente y/o funcionalmente equivalentes. Como ejemplo, los restos mostrados en la siguiente tabla se identifican como posicionalmente y/o funcionalmente equivalentes a Pro256 en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49. Un experto en la técnica apreciará fácilmente que, siguiendo un enfoque similar, pueden determinarse posiciones posicionalmente y/o funcionalmente equivalentes para otras proteínas UvsX.

Especies de fagos	SEQ ID NO:	Posición Posicionalmente/Funcionalmente Equivalente
T4	8	Phe257
T6	9	Phe259
Fago 133 de <i>Acinetobacter</i>	10	Pro257
Rb69	11	Pro258
Aeh1	12	Pro269
Fago 65 <i>Aeromonas</i>	13	Asp266
KVP40	14	Pro267
Rb43	15	Pro259
cianófago P-SSM2	16	Gln261
cianófago PSSM4	17	Glu264
cianófago S-PM2	18	Glu264
Rb32	19	Phe259
vibriófago nt-1	20	Pro267
Rb16	21	Pro259

Las proteínas UvsX recombinantes descritas anteriormente en este documento, pueden comprender mutaciones adicionales por sustitución que se sabe que mejoran uno o más aspectos de la actividad, estabilidad o cualquier otra propiedad deseable de las recombinasas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, además de cualquiera de las mutaciones anteriores, la UvsX recombinante puede comprender además mutaciones por sustitución en posiciones His63 funcionalmente equivalentes en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49, como se conoce en la técnica y se ilustra en la descripción del documento US 2009/0029421. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, la UvsX recombinante comprende una mutación por sustitución homóloga a His63Ser en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49.

En algunas realizaciones, además de cualquiera de las mutaciones anteriores, la UvsX recombinante puede comprender mutaciones adicionales por sustitución, delección y/o adición en comparación con una recombinasa de tipo silvestre. Puede efectuarse cualquiera de una variedad de mutaciones por sustitución en una o más de las posiciones, como se sabe en la técnica y se ilustra en los materiales incorporados del documento 2009/0029421. Por ejemplo, en algunas realizaciones, además de las mutaciones anteriores, la UvsX recombinante puede comprender además una mutación seleccionada del grupo que consiste en: la adición de uno o más restos de ácido glutámico en el extremo C; la adición de uno o más restos de ácido aspártico en el extremo C; y una combinación de los mismos.

Recombinasas Mutantes

Opcionalmente, en la presente divulgación se utilizan diversos tipos de mutagénesis, por ejemplo, para modificar recombinasas para producir variantes, por ejemplo, de acuerdo con modelos de recombinasa y predicciones de modelos, o utilizando enfoques mutacionales aleatorios o semialeatorios. En general, puede utilizarse cualquier procedimiento de mutagénesis disponible para crear mutantes de recombinasas. Dichos procedimientos de mutagénesis incluyen opcionalmente la selección de ácidos nucleicos y polipéptidos mutantes para una o más actividades de interés (por ejemplo, mejorar la siembra y/o amplificación sobre un soporte sólido). Los procedimientos que pueden utilizarse incluyen, pero sin limitación: mutagénesis puntual dirigida al sitio, mutagénesis puntual aleatoria, recombinación homóloga *in vitro* o *in vivo* (barajado de ADN y PCR de superposición combinatoria), mutagénesis utilizando moldes que contienen uracilo, mutagénesis dirigida por oligonucleótidos, mutagénesis de ADN modificado con fosforotioato, mutagénesis utilizando ADN bicatenario con huecos, reparación puntual de emparejamiento erróneo, mutagénesis utilizando cepas hospedadoras con reparación deficiente, selección y purificación por restricción, mutagénesis por delección, mutagénesis por síntesis génica total, PCR degenerada, reparación de rotura de doble cadena, y muchos otros conocidos por los expertos en la materia. La recombinasa de partida para la mutación puede ser cualquiera de las que se indican en este documento, incluidos mutantes de recombinasas disponibles, tales como los identificados, por ejemplo, en el documento US 2009/0029421, que se incorpora por referencia en su totalidad.

Opcionalmente, la mutagénesis puede guiarse por información conocida de una molécula de recombinasa que se produce de forma natural, o de una recombinasa alterada o mutada conocida (por ejemplo, utilizando una recombinasa mutante existente como se indica en las referencias anteriores), por ejemplo, secuencias, comparaciones de secuencias, propiedades físicas, estructura cristalina y/o similares como se comentó anteriormente. Sin embargo, en otra clase de realizaciones, la modificación puede ser esencialmente aleatoria (por ejemplo, como en el barajado clásico de ADN o de "familias", véase, por ejemplo, Crameri et al. (1998) "DNA shuffling of a family of genes from diverse species accelerates directed evolution" *Nature* 391:288-291).

Información adicional sobre formatos de mutación se encuentra en: Sambrook et al., *Molecular Cloning--A Laboratory Manual* (3ª Ed.), Vol. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y., 2000 ("Sambrook"); *Current Protocols in Molecular Biology*, F. M. Ausubel et al., eds., Current Protocols, una asociación conjunta entre Greene Publishing Associates, Inc. y John Wiley y Sons, Inc., (implementada durante el 2011) ("Ausubel") y *PCR Protocols A Guide to Methods and Applications* (Innis et al. eds) Academic Press Inc. San Diego, Calif. (1990) ("Innis"). Las siguientes publicaciones y referencias citadas proporcionan detalles adicionales sobre formatos de mutación: Arnold, Protein engineering for unusual environments, *Current Opinion in Biotechnology* 4:450-455 (1993); Bass et al., Mutant Trp repressors with new DNA-binding specificities, *Science* 242:240-245 (1988); Bordo y Argos (1991) Suggestions for "Safe" Residue Substitutions in Site-directed Mutagenesis 217:721-729; Botstein y Shortle, Strategies and applications of *in vitro* mutagenesis, *Science* 229:1193-1201 (1985); Carter et al., Improved oligonucleotide site-directed mutagenesis using M13 vectors, *Nucl. Acids Res.* 13: 4431-4443 (1985); Carter, Site-directed mutagenesis, *Biochem. J.* 237:1-7 (1986); Carter, Improved oligonucleotide-directed mutagenesis using M13 vectors, *Methods in Enzymol.* 154: 382-403 (1987); Dale et al., Oligonucleotide-directed random mutagenesis using the phosphorothioate method, *Métodos Mol. Biol.* 57:369-374 (1996); Eghtedarzadeh y Henikoff, Use of oligonucleotides to generate large deletions, *Nucl. Acids Res.* 14: 5115 (1986); Fritz et al., Oligonucleotide-directed construction of mutations: a gapped duplex DNA procedure without enzymatic reactions *in vitro*, *Nucl. Acids Res.* 16: 6987-6999 (1988); Grundstrom et al, Oligonucleotide-directed mutagenesis by microscale 'shot-gun' gene synthesis, *Nucl. Acids Res.* 13: 3305-3316 (1985); Hayes (2002) Combining Computational and Experimental Screening for rapid Optimization of Protein Properties *PNAS* 99(25) 15926-15931; Kunkel, The efficiency of oligonucleotide directed mutagenesis, en ácidos nucleicos y biología molecular (Eckstein, F. y Lilley, D. M. J. eds., Springer Verlag, Berlín) (1987); Kunkel, Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:488-492 (1985); Kunkel et al., Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection, *Methods in Enzymol.* 154, 367-382 (1987); Kramer et al., The gapped duplex DNA approach to oligonucleotide-directed mutation construction, *Nucl. Acids Res.* 12: 9441-9456 (1984); Kramer & Fritz Oligonucleotide-directed construction of mutations via gapped duplex DNA, *Methods in Enzymol.* 154:350-367 (1987); Kramer et al., Point Mismatch Repair, *Cell* 38: 879-887 (1984); Kramer et al., Improved enzymatic *in vitro* reactions in the gapped duplex DNA approach to oligonucleotide-directed construction of mutations, *Nucl. Acids Res.* 16: 7207 (1988); Ling et al., Approaches to DNA mutagenesis: an overview, *Anal Biochem.* 254(2): 157-178 (1997); Lorimer y Pastan *Nucleic Acids Res.* 23, 3067-8 (1995); Mandecki, Oligonucleotide-directed double-strand break repair in plasmids of *Escherichia coli*: a method for site-specific mutagenesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83:7177-7181(1986); Nakamaye y Eckstein, Inhibition of restriction endonuclease Nci I cleavage by phosphorothioate groups and its application to oligonucleotide-directed mutagenesis, *Nucl. Acids Res.* 14: 9679-9698 (1986); Nambiar et al., Total synthesis and cloning of a gene coding for the ribonuclease S protein, *Science* 223: 1299-1301 (1984); Sakamar y Khorana, Total synthesis and expression of a gene for the α -subunit of bovine rod outer segment guanine nucleotide-binding protein (transducin), *Nucl. Acids Res.* 14: 6361-6372 (1988); Sayers et al., Y-T Exonucleases in phosphorothioate-based oligonucleotide-directed mutagenesis, *Nucl. Acids Res.* 16:791-802 (1988); Sayers et al., Strand specific cleavage of phosphorothioate-containing DNA by reaction with restriction endonucleases in the presence of ethidium bromide, (1988) *Nucl. Acids Res.* 16: 803-814; Sieber, et al., *Nature Biotechnology*, 19:456-460 (2001); Herrero, *In vitro* mutagenesis, *Ann. Rev. Genet.* 19:423-462 (1985); *Methods in Enzymol.* 100: 468-500 (1983); *Methods in Enzymol.* 154: 329-350 (1987); Stemmer, *Nature* 370, 389-91(1994); Taylor et al., The use of phosphorothioate-modified DNA in restriction enzyme reactions to prepare nicked DNA, *Nucl. Acids Res.* 13: 8749-

8764 (1985); Taylor et al., The rapid generation of oligonucleotide-directed mutations at high frequency using phosphorothioate-modified DNA, Nucl. Acids Res. 13: 8765-8787 (1985); Wells et al., Importance of hydrogen-bond formation in stabilizing the transition state of subtilisin, Phil. Trans. R. Soc. Lond. A 317: 415-423 (1986); Wells et al., Cassette mutagenesis: an efficient method for generation of multiple mutations at defined sites, Gene 34: 315-323 (1985); Zoller y Smith, Oligonucleotide-directed mutagenesis using M13-derived vectors: an efficient and general procedure for the production of point mutations in any DNA fragment, Nucleic Acids Res. 10:6487-6500 (1982); Zoller y Smith, Oligonucleotide-directed mutagenesis of DNA fragments cloned into M13 vectors, Methods in Enzymol. 100:468-500 (1983); Zoller y Smith, Oligonucleotide-directed mutagenesis: a simple method using two oligonucleotide primers and a single-stranded DNA template, Methods in Enzymol. 154:329-350 (1987); Clackson et al. (1991) "Making antibody fragments using phage display libraries" Nature 352:624-628; Gibbs et al. (2001) "Degenerate oligonucleotide gene shuffling (DOGS): a method for enhancing the frequency of recombination with family shuffling" Gene 271:13-20; e Hiraga y Arnold (2003) "General method for sequence-independent site-directed chimeragenesis: J. Mol. Biol. 330: 287-296. En Methods in Enzymology Volumen 154, pueden encontrarse detalles adicionales sobre muchos de los métodos anteriores, que también describe controles útiles para solucionar problemas con varios métodos de mutagénesis.

Fabricación y aislamiento de recombinasas recombinantes

En general, los ácidos nucleicos que codifican una recombinasa, tal como se presenta en este documento, pueden prepararse por clonación, recombinación, síntesis *in vitro*, amplificación *in vitro* y/u otros métodos disponibles. Para expresar un vector de expresión que codifica una recombinasa, tal como se presenta en este documento, puede utilizarse una variedad de métodos recombinantes. En la técnica se conocen bien métodos para preparar ácidos nucleicos recombinantes, para la expresión y el aislamiento de los productos expresados. En el presente documento se describen diversas mutaciones y combinaciones de mutaciones ejemplares, así como estrategias para el diseño de mutaciones deseables.

Como referencias útiles adicionales sobre métodos de mutación, manipulación de ácidos nucleicos recombinantes e *in vitro* (incluida la clonación, expresión, PCR, y similares) se incluyen Berger y Kimmel, Guide to Molecular Cloning Techniques, Methods in Enzymology volumen 152 Academic Press, Inc., San Diego, Calif. (Berger); Kaufman et al. (2003) Handbook of Molecular and Cellular Methods in Biology and Medicine Segunda edición Ceske (ed) CRC Press (Kaufman); y The Nucleic Acid Protocols Handbook Ralph Rapley (ed) (2000) Cold Spring Harbor, Humana Press Inc (Rapley); Chen et al. (ed) PCR Cloning Protocols, segunda edición (Methods in Molecular Biology, volumen 192) Humana Press; y Viljoen et al. (2005) Molecular Diagnostic PCR Handbook Springer, ISBN 1402034032.

Además, en el comercio se dispone de una gran cantidad de kits para la purificación de ácidos nucleicos plasmídicos u otros ácidos nucleicos relevantes de las células, (véase, por ejemplo, EasyPrep.TM., FlexiPrep.TM. ambos de Pharmacia Biotech; StrataClean.TM., de Stratagene; y, QIAprep.TM. de Qiagen). Cualquier ácido nucleico aislado y/o purificado puede manipularse adicionalmente para producir otros ácidos nucleicos, utilizados para transfectar células, incorporados en vectores relacionados para infectar organismos para la expresión, y/o similares. Los vectores de clonación típicos contienen terminadores de la transcripción y traducción, secuencias iniciadoras de la transcripción y traducción, y promotores útiles para la regulación de la expresión del ácido nucleico diana particular. Los vectores comprenden opcionalmente casetes de expresión genéricos que contienen al menos una secuencia terminadora independiente, secuencias que permiten la replicación del casete en eucariotas o procariotas, o en ambos, (por ejemplo, vectores lanzadera) y marcadores de selección para sistemas tanto procariotas como eucariotas. Los vectores son adecuados para la replicación e integración en procariotas, eucariotas, o en ambos.

Entre otras referencias útiles, por ejemplo, para el aislamiento y cultivo de células (por ejemplo, para el aislamiento posterior de ácidos nucleicos), se incluyen Freshney (1994) Culture of Animal Cells, a Manual of Basic Technique, tercera edición, Wiley-Liss, Nueva York y las referencias citadas en dicho manual; Payne et al. (1992) Plant Cell and Tissue Culture in Liquid Systems John Wiley y Sons, Inc. Nueva York, N.Y.; Gamborg y Phillips (eds) (1995) Plant Cell, Tissue and Organ Culture; Fundamental Methods Springer Lab Manual, Springer-Verlag (Berlin Heidelberg Nueva York) y Atlas y Parks (eds) The Handbook of Microbiological Media (1993) CRC Press, Boca Ratón, Fla.

Los ácidos nucleicos que codifican las recombinasas desveladas en el presente documento también son una característica de las realizaciones presentadas en este documento. Un aminoácido particular puede ser codificado por múltiples codones, y determinados sistemas de traducción (por ejemplo, células procariotas o eucariotas) a menudo exhiben sesgo codónico, por ejemplo, diferentes organismos a menudo prefieren uno de los varios codones sinónimos que codifican el mismo aminoácido. Como tales, opcionalmente, los ácidos nucleicos presentados en este documento están "optimizados con codones", lo que significa que los ácidos nucleicos se sintetizan para incluir codones que son preferidos por el sistema de traducción particular que se emplea para expresar la recombinasa. Por ejemplo, cuando es deseable expresar la recombinasa en una célula bacteriana (o incluso en una cepa particular de bacteria), el ácido nucleico puede sintetizarse para incluir los codones más frecuentemente encontrados en el genoma de esa célula bacteriana, para la expresión eficiente de la recombinasa. Se puede emplear una estrategia similar cuando es deseable expresar la recombinasa en una célula eucariota, por ejemplo, el ácido nucleico puede incluir codones preferidos por esa célula eucariota.

Se conocen diversos métodos de detección y aislamiento de proteínas que pueden utilizarse para aislar recombinasas,

por ejemplo, de cultivos recombinantes de células que expresan las recombinasas recombinantes presentadas en este documento. En la técnica se conocen bien diversos métodos de aislamiento y detección de proteínas, incluyendo, por ejemplo, los expuestos en R. Scopes, *Protein Purification*, Springer-Verlag, N.Y. (1982); Deutscher, *Methods in Enzymology* Vol. 182: *Guide to Protein Purification*, Academic Press, Inc. N.Y. (1990); Sandana (1997) *Bioseparation of Proteins*, Academic Press, Inc.; Bollag et al. (1996) *Protein Methods*, 2ª edición sup. Wiley-Liss, NY; Walker (1996) *The Protein Protocols Handbook* Humana Press, NJ, Harris y Angal (1990) *Protein Purification Applications: A Practical Approach* IRL Press at Oxford, Oxford, Inglaterra; Harris y Angal *Protein Purification Methods: A Practical Approach* IRL Press at Oxford, Oxford, Inglaterra; Scopes (1993) *Protein Purification: Principles and Practice* 3ª edición sup. Springer Verlag, NY; Janson y Ryden (1998) *Protein Purification: Principles, High Resolution Methods and Applications*, Segunda edición de Wiley-VCH, NY; y Walker (1998) *Protein Protocols on CD-ROM* Humana Press, NJ; y las referencias citadas en los mismos. Se pueden encontrar detalles adicionales sobre la purificación de proteínas y los métodos de detección en Satinder Ahuja ed., *Handbook of Bioseparations*, Academic Press (2000).

Métodos de uso

Las recombinasas alteradas presentadas en este documento pueden utilizarse en un procedimiento de amplificación mediada por recombinasas, tal como una técnica de amplificación con recombinasa y polimerasa (RPA, del inglés *recombinase polymerase amplification*). En resumen, la RPA puede iniciarse poniendo en contacto un ácido nucleico diana con una recombinasa y un cebador de ácido nucleico monocatenario específico para la molécula de ácido nucleico diana. Después, el cebador hibridado puede extenderse mediante una polimerasa, tal como una polimerasa capaz de realizar el desplazamiento de cadena en presencia de dNTP (desoxirribonucleótidos trifosfato) para generar una molécula diana de ácido nucleico bicatenario y una cadena desplazada de la molécula de ácido nucleico. Puede tener lugar una amplificación adicional mediante el direccionamiento mediado por recombinasa de los cebadores en la cadena desplazada de la molécula de ácido nucleico y la extensión del cebador para generar una molécula de ácido nucleico bicatenario. El proceso de RPA puede modularse combinando los componentes descritos anteriormente, por ejemplo, con factores de carga de recombinasa, polimerasas específicas de desplazamiento de cadena y un fuerte sistema de regeneración de energía. Procedimientos RPA ejemplares, se describen sistemas y componentes que pueden adaptarse fácilmente para su uso con las proteínas UvsX recombinantes de la presente divulgación, por ejemplo, en las patentes estadounidenses N° 8.071.308; 7.399.590, 7.485.428, 7.270.981, 8.030.000, 7.666.598, 7.763.427, 8.017.399, 8.062.850 y 7.435.561.

En algunas realizaciones, la amplificación isotérmica puede realizarse utilizando amplificación por exclusión cinética (KEA, del inglés *kinetic exclusion amplification*), también denominada amplificación por exclusión (ExAmp, del inglés *exclusion amplification*). Utilizando un método que aproveche la exclusión cinética puede prepararse una biblioteca de ácidos nucleicos de la presente divulgación. La exclusión cinética puede suceder cuando un proceso se produce a una velocidad lo suficientemente rápida como para excluir eficazmente que se produzca otro acontecimiento o proceso. Tomemos, por ejemplo, la creación de una matriz de ácidos nucleicos en la que los sitios de la matriz se siembran al azar con ácidos nucleicos diana de una solución y se generan copias del ácido nucleico diana en un proceso de amplificación para llenar cada uno de los sitios sembrados hasta su capacidad. De acuerdo con los métodos de exclusión cinética de la presente divulgación, los procesos de siembra y amplificación pueden proseguir simultáneamente en condiciones en las que la velocidad de amplificación supera la velocidad de siembra. Como tal, la tasa relativamente rápida a la cual se generan las copias en un sitio que se ha sembrado con un primer ácido nucleico diana, excluirá de manera eficaz la siembra con un segundo ácido nucleico en el sitio para la amplificación. Los métodos de amplificación por exclusión cinética pueden realizarse como se describe con detalle en la divulgación de la publicación de solicitud estadounidense N.º 2013/0338042.

En algunas realizaciones, el ácido nucleico diana que se amplifica es completamente bicatenario. En algunas realizaciones, el ácido nucleico diana que se amplifica comprende una región de ácido nucleico bicatenario, y también comprende una región que tiene ácido nucleico monocatenario. En determinadas realizaciones, el ácido nucleico diana comprende uno o más adaptadores bifurcados con una región de aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 o más de aproximadamente 40 bases de secuencia monocatenaria en cada extremo de los fragmentos de la biblioteca. El diseño y uso de adaptadores bifurcados se describe con mayor detalle en las divulgaciones de las patentes estadounidenses N°. 7.742.463 y 8.563.748.

La exclusión cinética puede aprovechar una tasa relativamente lenta para generar una primera copia de un ácido nucleico diana frente a una tasa relativamente rápida para generar copias posteriores del ácido nucleico diana o de la primera copia. En el ejemplo del párrafo anterior, la exclusión cinética se produce debido a la tasa relativamente lenta de la siembra del ácido nucleico diana (por ejemplo, difusión o transporte relativamente lento) frente a la tasa relativamente rápida a la que se produce la amplificación para llenar el sitio con copias de la semilla de ácido nucleico. En otra realización ejemplar, la exclusión cinética puede producirse debido a un retraso en la formación de una primera copia de un ácido nucleico diana que se ha sembrado en un sitio (por ejemplo, una activación retardada o lenta) frente a la tasa relativamente rápida a la que se generan copias posteriores para llenar el sitio. En este ejemplo, puede haberse sembrado un sitio individual con varios ácidos nucleicos diana diferentes (por ejemplo, varios ácidos nucleicos diana pueden estar presentes en cada sitio antes de la amplificación). Sin embargo, la formación de la primera copia para cualquier ácido nucleico diana puede activarse aleatoriamente de modo que la tasa promedio de la formación de la primera copia es relativamente lenta en comparación con la tasa a la que se generan las copias posteriores. En este caso, aunque puede haberse sembrado un sitio individual con varios ácidos nucleicos diana diferentes, la exclusión

cinética permitirá que solo se amplifique uno de esos ácidos nucleicos diana. Más específicamente, una vez que un primer ácido nucleico diana se ha activado para la amplificación, el sitio se llenará rápidamente con sus copias, evitando así generar copias de un segundo ácido nucleico diana en el sitio.

Un reactivo de amplificación puede incluir componentes adicionales que faciliten la formación de amplicones y, en algunos casos, aumenten la tasa de formación de amplicones. La recombinasa, tal como, por ejemplo, UvsX, puede facilitar la formación de amplicones al permitir la invasión/extensión repetida. Más específicamente, la recombinasa puede facilitar la invasión de un ácido nucleico diana por la polimerasa y la extensión de un cebador por la polimerasa utilizando como molde el ácido nucleico diana para la formación de amplicones. Este proceso puede repetirse como una reacción en cadena en la que los amplicones producidos de cada ronda de invasión/extensión sirven como moldes una ronda posterior. El proceso puede ocurrir más rápidamente que la PCR estándar ya que no se requiere un ciclo de desnaturalización (por ejemplo, mediante calentamiento o desnaturalización química). Como tal, la amplificación facilitada por recombinasa puede llevarse a cabo isotérmicamente. En general, para facilitar la amplificación, es deseable incluir ATP, u otros nucleótidos (o en algunos casos, análogos no hidrolizables de los mismos), en un reactivo de amplificación facilitado por recombinasa. Una mezcla de recombinasa y proteína de unión monocatenaria (SSB, *single stranded binding*) es particularmente útil ya que la SSB puede facilitar aún más la amplificación. Como ejemplos de formulaciones para la amplificación facilitada por recombinasa se incluyen las comercializadas por TwistDx (Cambridge, RU) como kits TwistAmp. En los documentos US 5.223.414 y US 7.399.590 se exponen componentes útiles de reactivos de amplificación facilitada por recombinasa así como las condiciones de reacción.

Comparación de secuencias, identidad y homología

Las expresiones "idéntico" o "porcentaje de identidad" en el contexto de dos o más secuencias de ácido nucleico o polipéptido, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o que tienen un porcentaje específico de restos de aminoácidos o nucleótidos que son iguales, cuando se comparan y se alinean para obtener una correspondencia máxima, que se mide utilizando uno de los algoritmos de comparación de secuencias descritos más adelante (u otros algoritmos disponibles para los expertos en la materia) o mediante inspección visual.

La frase "sustancialmente idénticas" en el contexto de dos ácidos nucleicos o polipéptidos (por ejemplo, los ADN que codifican una recombinasa, o la secuencia de aminoácidos de una recombinasa) se refiere a dos o más secuencias o subsecuencias que tienen al menos aproximadamente 60 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90-95 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 % o más, de identidad de restos de nucleótidos o aminoácidos, cuando se comparan y se alinean para obtener una correspondencia máxima, que se mide utilizando un algoritmo de comparación de secuencias o mediante inspección visual. Se considera que dichas secuencias "sustancialmente idénticas" son típicamente "homólogas", sin referencia a la ascendencia actual. Preferentemente, la "identidad sustancial" existe sobre una región de las secuencias que tiene una longitud de al menos aproximadamente 50 restos, más preferentemente sobre una región de al menos aproximadamente 100 restos, y lo más preferentemente, las secuencias son sustancialmente idénticas sobre al menos aproximadamente 150 restos, o en toda la longitud de las dos secuencias a comparar.

Las proteínas y/o secuencias de proteínas son "homólogas" cuando derivan, de manera natural o artificial, de una secuencia de proteína o proteína ancestral común. De manera similar, los ácidos nucleicos y/o las secuencias de ácidos nucleicos son homólogas cuando derivan, de manera natural o artificial, de una secuencia de ácido nucleico o ácido nucleico ancestral común. La homología generalmente se deduce a partir de la similitud de secuencia entre dos o más ácidos nucleicos o proteínas (o secuencias de los mismos). El porcentaje exacto de similitud entre secuencias que es útil para establecer homología varía con el ácido nucleico y la proteína en cuestión, pero habitualmente se utiliza tan solo un 25 % de similitud de secuencia sobre 50, 100, 150 o más restos para establecer homologías. También pueden utilizarse niveles más altos de similitud de secuencia, por ejemplo, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, o 99 % o más, para establecer homologías. En el presente documento se describen métodos para determinar porcentajes de similitud de secuencia (por ejemplo, BLASTP y BLASTN que usan parámetros predeterminados) y están generalmente disponibles.

Para la comparación de secuencias y determinación de homología, normalmente una secuencia actúa como una secuencia de referencia con la que se comparan las secuencias de ensayo. Cuando se utiliza un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de ensayo y de referencia se introducen en un ordenador, se especifican las coordenadas de la subsecuencia, si es necesario, y se especifican los parámetros del programa de algoritmo de secuencias. Después, el algoritmo de comparación de secuencias, calcula el porcentaje de identidad de secuencia para la secuencia (o secuencias) de ensayo en relación con la secuencia de referencia, en función de los parámetros específicos del programa.

Para la comparación puede realizarse un alineamiento de secuencias óptimo, por ejemplo, mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, Adv. Appl. Math. 2: 482 (1981), mediante el algoritmo de alineamiento de homología de Needleman y Wunsch, J. Mol. Biol. 48: 443 (1970), mediante el método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85: 2444 (1988), mediante implementaciones informatizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el paquete de programas informáticos de Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), o mediante inspección visual (véase, en general, Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al., eds., Current Protocols, una asociación conjunta entre Greene

Publishing Associates, Inc. y John Wiley y Sons, Inc., implementada durante el 2004).

Un ejemplo de un algoritmo que es adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y la similitud de secuencias, es el algoritmo BLAST, que se describe en Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990). El programa informático para realizar el análisis BLAST está a disposición del público en el Centro Nacional de Información Biotecnológica. Este algoritmo implica identificar, en primer lugar, pares de secuencias de puntuación alta (HSPs, del inglés *high scoring sequence pairs*) identificando palabras W (del inglés *words*) de longitud corta en la secuencia de consulta, que coinciden o cumplen con alguna puntuación de umbral T (del inglés *threshold*) de valor positivo, cuando se alinean con una palabra de la misma longitud en una secuencia de base de datos. El valor de T hace referencia al umbral de puntuación de palabras adyacentes (Altschul et al., citado anteriormente). Estos aciertos iniciales de palabras adyacentes actúan como semillas para iniciar búsquedas para encontrar HSP más largos que los contengan. Los aciertos de palabras se extienden en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia hasta donde puede aumentarse la puntuación de alineamiento acumulada. Las puntuaciones acumuladas se calculan utilizando, para secuencias de nucleótidos, los parámetros M (puntuación de recompensa para un par de restos coincidentes; siempre > 0) y N (puntuación de penalización para restos no coincidentes; siempre < 0). Para secuencias de aminoácidos, se utiliza una matriz de puntuación para calcular la puntuación acumulada. La extensión de los aciertos de palabra en cada dirección se detiene cuando: la puntuación de alineamiento acumulada disminuye por la cantidad X desde su valor máximo alcanzado; la puntuación acumulada va a cero o por debajo, debido a la acumulación de uno o más alineamientos de restos de puntuación negativa; o se llega al final de cualquiera de las secuencias. Los parámetros del algoritmo BLAST, W, T y X, determinan la sensibilidad y la velocidad del alineamiento. El programa BLASTN (para secuencias de nucleótidos) utiliza, por defecto, una longitud de palabra (W, *wordlength*) de 11, una expectativa (E) de 10, un límite de 100, M = 5, N = -4, y una comparación de ambas cadenas. Para secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP utiliza, por defecto, una longitud de palabra (W) de 3, una expectativa (E) de 10, y la matriz de puntuación BLOSUM62 (véase Henikoff y Henikoff (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915).

Además de calcular el porcentaje de identidad de secuencia, el algoritmo BLAST también realiza un análisis estadístico de la similitud entre dos secuencias (véase, por ejemplo, Karlin y Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787 (1993)). Una medida de similitud proporcionada por el algoritmo BLAST es la probabilidad de suma más pequeña (P (N)), que proporciona un indicio de la probabilidad de que ocurra incidentalmente una coincidencia entre dos secuencias de nucleótidos o de aminoácidos. Por ejemplo, se considera que un ácido nucleico es similar a una secuencia de referencia si la probabilidad de la suma más pequeña en una comparación del ácido nucleico de ensayo con el ácido nucleico de referencia es menor que aproximadamente 0,1, más preferentemente menor de aproximadamente 0,01, y lo más preferentemente menor de aproximadamente 0,001.

Ácidos nucleicos que codifican recombinasas alteradas

En el presente documento se presentan adicionalmente moléculas de ácido nucleico que codifican las enzimas recombinasas alteradas presentadas en este documento. Para cualquier recombinasa alterada dada, que sea una versión mutante de una recombinasa de la que se conoce la secuencia de aminoácidos y, preferentemente también, la secuencia de nucleótidos de tipo silvestre que codifica la recombinasa, es posible obtener una secuencia de nucleótidos que codifique al mutante según los principios básicos de biología molecular. Por ejemplo, dado que se conoce la secuencia de nucleótidos de tipo silvestre que codifica la recombinasa UvsX de RB49, utilizando el código genético estándar, es posible deducir una secuencia de nucleótidos que codifique cualquier versión mutante dada de la recombinasa UvsX de RB49, que tenga una o más sustituciones de aminoácidos. De manera similar, las secuencias de nucleótidos pueden derivar fácilmente de versiones mutantes de otras recombinasas, tales como, por ejemplo, T4, T6, Rb69, Aeh1, KVP40, fago 133 de *Acinetobacter*, fago 65 de *Aeromonas*, cianófago P-SSM2, cianófago PSSM4, cianófago S-PM2, Rb32, vibriófago nt-1, Rb16, Rb43, T2, Rb14, fago 25 de *Aeromonas*, phi-1, fago 31, fago 44RR2.8t, fago Rb3 y fago LZ2, etc. Después, utilizando técnicas de biología molecular estándar conocidas en la materia, pueden construirse moléculas de ácido nucleico que tengan la secuencia de nucleótidos requerida.

De acuerdo con las realizaciones presentadas en este documento, un ácido nucleico definido no solo incluye el ácido nucleico idéntico sino también cualquier pequeña variación de bases, incluyendo, en particular, sustituciones en casos que dan como resultado un codón sinónimo (un codón diferente que especifica el mismo resto de aminoácido) debido al código degenerado en las sustituciones de aminoácidos conservativas. La expresión "secuencia de ácido nucleico" también incluye la secuencia complementaria a cualquier secuencia monocatenaria dada con respecto a las variaciones de bases.

Favorablemente, las moléculas de ácido nucleico descritas en este documento también pueden incluirse en un vector de expresión adecuado para expresar las proteínas recombinasas codificadas a partir de él en un hospedador adecuado. La incorporación de ADN clonado en un vector de expresión adecuado para la transformación posterior de dicha célula y la posterior selección de las células transformadas, es muy conocida por los expertos en la técnica, tal como se proporciona en Sambrook et al. (1989), Molecular cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory.

Dicho vector de expresión incluye un vector que tiene un ácido nucleico según las realizaciones presentadas en este documento, unido operativamente a secuencias reguladoras, tales como regiones promotoras, que son capaces de efectuar la expresión de dichos fragmentos de ADN. La expresión "unido operativamente" se refiere a una

yuxtaposición en la que los componentes descritos están en una relación que les permite funcionar de la manera prevista. Dichos vectores pueden transformarse en una célula hospedadora adecuada para proporcionar la expresión de una proteína según las realizaciones presentadas en este documento.

La molécula de ácido nucleico puede codificar una proteína madura o una proteína que tiene una prosekuensi, incluyendo la que codifica una secuencia líder en la preproteína que después es escindida por la célula hospedadora para formar una proteína madura. Los vectores pueden ser, por ejemplo, vectores de plásmidos, de virus o de fagos, provistos de un origen de replicación, y opcionalmente, un promotor para la expresión de dicho nucleótido y opcionalmente un regulador del promotor. Los vectores pueden contener uno o más marcadores de selección, tal como, por ejemplo, un gen de resistencia a antibióticos.

Los elementos reguladores requeridos para la expresión incluyen secuencias promotoras para unirse a la ARN polimerasa y para dirigir un nivel apropiado de inicio de la transcripción y también secuencias iniciadoras de la traducción para la unión a los ribosomas. Por ejemplo, un vector de expresión bacteriano puede incluir un promotor tal como el promotor lac y para el inicio de la traducción la secuencia de Shine-Dalgarno y el codón de inicio AUG. De manera similar, un vector de expresión eucariota puede incluir un promotor heterólogo u homólogo para la ARN polimerasa II, una señal de poliadenilación cadena abajo, el codón de inicio AUG y un codón de terminación para separarse del ribosoma. Dichos vectores pueden obtenerse comercialmente o ensamblarse a partir de las secuencias descritas por métodos bien conocidos en la técnica.

La transcripción del ADN que codifica la recombinasa por eucariotas superiores puede optimizarse incluyendo una secuencia potenciadora en el vector. Los potenciadores son elementos de ADN que actúan en cis que actúan sobre un promotor para aumentar el nivel de transcripción. Generalmente, además de los marcadores de selección, los vectores también incluirán orígenes de replicación.

Ejemplo 1

Este ejemplo proporciona métodos para sembrar una biblioteca sin PCR sobre una superficie prototipo de células de flujo para mejorar la amplificación de grupos. En una realización, el método de la invención utiliza una formulación de siembra que incluye una UvsX que comprende las mutaciones expuestas anteriormente, por ejemplo, un mutante de UvsX de RB49 que comprende Pro256Lys (como se expone en el presente documento como SEQ ID NO: 2, y denominado como "RB49 P256K"). De manera sorprendente, se descubrió que el uso de la amplificación mediada por recombinasas mejoraba sustancialmente la siembra de bibliotecas con PCR con regiones adaptadoras monocatenarias en una superficie prototipo de células de flujo. En otra realización, el método de la invención utiliza una formulación de siembra que incluye una concentración relativamente alta de ADN polimerasa (por ejemplo, polimerasa eBsu) en combinación con la recombinasa RB49 P256K.

Para evaluar la eficacia de la formulación de la recombinasa P256K de RB49 en la siembra de una biblioteca sin PCR sobre una superficie prototipo de células de flujo, se generó una biblioteca sin PCR utilizando un kit de preparación de muestras sin PCR ADN TruSeq® (Illumina, Inc.). Las bibliotecas generadas sin PCR utilizando el kit de preparación de bibliotecas TruSeq® tienen adaptadores bifurcados con una región de aproximadamente 40 bases de secuencia monocatenaria en cada extremo de los fragmentos de la biblioteca.

La Figura 3A muestra una captura de pantalla 100 de una imagen de grupos de una biblioteca sin PCR sembrada sobre un prototipo de células de flujo utilizando una formulación estándar que comprende la recombinasa UvsX de T4 (como se expone en este documento como SEQ ID NO: 8, denominada "UvsX de T4"). La Figura 3B muestra una captura de pantalla 150 de una imagen de grupos de una biblioteca sin PCR sembrada sobre un prototipo de células de flujo utilizando una formulación líquida que incluye la recombinasa RB49 P256K. En este ejemplo, la biblioteca se mezcló con la formulación UvsX de T4 o con la formulación RB49 P256K a una concentración final de 100 pM, se descargó en una célula de flujo y se incubó en un cBot a 38 °C. Después de un período de incubación de 1 hora, la temperatura disminuyó a 20 °C y la célula de flujo se lavó con tampón de lavado HT2 (Illumina). Los grupos se tiñeron con una dilución 1:5000 de SYBR® Green (Life Technologies) en Tris 0,1 M/ascorbato de sodio 0,1 M y se tomaron imágenes en un microscopio de fluorescencia. Con referencia a la Figura 3A, la densidad de grupos generada al sembrar una biblioteca sin PCR sobre un prototipo de células de flujo con una formulación estándar (por ejemplo, UvsX de T4) es relativamente pobre. Con referencia a la Figura 3B, la densidad de grupos generada al sembrar una biblioteca sin PCR sobre un prototipo de células de flujo utilizando una formulación que incluye la recombinasa RB49 P256K mejora sustancialmente.

La Figura 4A muestra una captura de pantalla 200 de una imagen de grupos de una biblioteca sin PCR monocatenaria (ADNmc), sembrada sobre un prototipo de células de flujo utilizando una formulación estándar de la recombinasa UvsX de T4. La Figura 4B muestra una captura de pantalla 250 de una imagen de grupos de una biblioteca sin PCR monocatenaria sembrada sobre un prototipo de células de flujo utilizando una formulación líquida que incluye la recombinasa RB49 P256K. En este ejemplo, una biblioteca sin PCR monocatenaria se desnaturalizó utilizando NaOH y posteriormente se sembró sobre el prototipo de células de flujo a una concentración de 50 pM. Con referencia a la Figura 4A, densidad de grupos generada al sembrar un ADNmc, La biblioteca de ADN sin PCR en un prototipo de células de flujo con una formulación estándar (por ejemplo, UvsX de T4) es relativamente pobre. Con referencia a la Figura 4B, la densidad de grupos generada al sembrar una biblioteca sin PCR de ADNmc sobre un prototipo de células

de flujo utilizando una formulación que incluye la recombinasa RB49 P256K, mejora sustancialmente.

Ejemplo 2

Amplificación mejorada utilizando mutantes RB49 P256K

Este ejemplo describe una comparación del rendimiento de la amplificación entre recombinasas con y sin la mutación P256K descrita en este documento. A los efectos de este ejemplo, la UvsX de RB49 de "control" (expuesta en la SEQ ID NO: 1) comprende además una mutación H63S. Se genera un mutante P256K mutando adicionalmente el control para que lleve un resto de Lys en la posición 256, como se expone en el presente documento en la SEQ ID NO: 2).

La agrupación de una biblioteca sin PCR sobre un prototipo de células de flujo se realiza en un cBot como se describe anteriormente en el Ejemplo 1, utilizando o un control o un mutante de P256K. Después, la secuenciación se realiza en un instrumento HiSeq (Illumina, Inc.) y los resultados de la secuenciación se analizan para determinar la capacidad de llamada de una variedad de regiones que normalmente están poco representadas en los datos de secuenciación anteriores.

La capacidad de llamada es una medida de la fracción de sitios en los que se llama correctamente a un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP, *single nucleotide polymorphism*). Idealmente, este valor es de 1 (para el 100 %), lo que significa que en el 100 % de los sitios dentro de un tipo de región particular (es decir, rica en GC, etc.) los SNP se llaman correctamente. La cobertura es una medida de la fracción de sitios que tienen una cobertura $> n$, en el que n es normalmente 30x (es decir, la cobertura estándar para un genoma humano). Los promotores fósidos son un conjunto de 100 promotores genéticos que se identificaron como poco representados en los datos de secuenciación anteriores. Los promotores se clonaron en vectores fósidos. Una región rica en GC puede definirse como una región con al menos 100 pb en la que el contenido de GC es igual o superior al 75 % (N50 (G + C $\geq$ 0,75) 100 N50). Una región muy rica en GC puede definirse como una región con al menos 100 pb en la que el contenido de GC es igual o superior al 85 % (N50 (G + C $\geq$ 0,85) 100 N50). Una región pobre en GC puede definirse como una región con al menos 100 pb en la que el contenido de GC es igual o inferior al 40 % (N50 (G + C $\geq$ 0,40) 100 N50). Una región rica en AT puede definirse como una región con al menos 100 pb en la que el contenido de AT es igual o superior al 75 % (N50 (A + T $\geq$ 0,75) 100 N50), disminuyendo las muestras a regiones de ~ 50k. Una muy rica en AT puede definirse como una región con al menos 100 pb en la que el contenido de AT es igual o superior al 85 % (N50 (A + T $\geq$ 0,85) 100 N50), disminuyendo las muestras a regiones de ~ 50K. Una región de repetición de dinucleótidos AT puede definirse como una región que incluye tramos largos de repeticiones de ATAT.

Para el control, una comparación de los datos de capacidad de llamada frente a los mutantes de P256K demuestra que el mutante de P256K muestra mejoras inesperadas y significativas en la capacidad de llamada de una o más de las regiones promotoras de fósidos, ricas en GC, muy ricas en GC, pobres en GC, ricas en AT, muy ricas en AT, y regiones con repeticiones de dinucleótidos AT, en comparación con las del control.

Ejemplo 3

Amplificación mejorada utilizando mutantes que tienen mutaciones homólogas a P256K

La comparación de rendimiento descrita anteriormente en el Ejemplo 2 se repite para otras recombinasas. En este ejemplo, se generan recombinasas de "control" modificando la recombinasa de tipo silvestre para que comprenda una mutación homóloga en la H63S en RB49, como se expone en la columna de "control" en la siguiente tabla. Los mutantes "homólogos a P256K" se generan modificando adicionalmente los controles para que lleven una mutación homóloga a P256K en RB49 como se expone en la columna "homóloga a P256K" en la siguiente tabla.

Por ejemplo, para la UvsX de T6, el control se genera modificando la UvsX de T6 de tipo silvestre (SEQ ID NO: 9) para que lleve una mutación H66S. El homólogo a P256K se modifica adicionalmente para que lleve las dos mutaciones H66S y F259K.

Cadena principal de TS	Cadena principal de TS SEQ ID NO:	Control	Homólogo a P256K
T4	8	64S	64S F257K
T6	9	H66S	H66S F259K
Fago 133 de <i>Acinetobacter</i>	10	H64S	H64S P257K
Rb69	11	H64S	H64S P258K

Aeh1	12	H76S	H76S P269K
Fago 65 <i>Aeromonas</i>	13	H73S	H73S D266K
KVP40	14	H64S	H64S P267K
Rb43	15	H66S	H66S P259K
cianófago P-SSM2	16	T62S	T62S Q261K
cianófago PSSM4	17	T65S	T65S E264K
cianófago S-PM2	18	T65S	T65S E264K
Rb32	19	H66S	H66S F259K
vibriófago nt-1	20	H64S	H64S P267K
Rb16	21	H66S	H66S P259K

La agrupación de una biblioteca sin PCR sobre un prototipo de células de flujo se realiza en un cBot como se describe anteriormente en el Ejemplo 1, utilizando o un control o un mutante de P256K. Después, la secuenciación se realiza en un instrumento HiSeq (Illumina, Inc.) y los resultados de la secuenciación se analizan como se describió anteriormente en el Ejemplo 2 para determinar la capacidad de llamada de una variedad de regiones que normalmente están poco representadas en los datos de secuenciación anteriores.

Para el control, una comparación de los datos de capacidad de llamada frente a los mutantes homólogos de P256K demuestra que los mutantes homólogos de P256K muestran mejoras inesperadas y significativas en la capacidad de llamada de una o más de las regiones promotoras de fósidos, ricas en GC, muy ricas en GC, pobres en GC, ricas en AT, muy ricas en AT, y regiones con repeticiones de dinucleótidos AT, en comparación con las del control.

Listado de secuencias

<110> ILLUMINA, INC.
KELLINGER, MATTHEW
BOUTELL, JONATHAN

<120> MUTANTES DE RECOMBINASAS

<130> IP-1264-PRV

<160> 35

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 356

<212> PRT

<213> fago RB49 de Enterobacteria

<400> 1

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

Met Val Thr Pro Tyr Leu Thr Met Asn Asp Ile Pro Cys Ile Ala Ile
180 185 190

Asn His Thr Tyr Glu Thr Gln Glu Met Phe Ser Lys Thr Val Met Ser
195 200 205

Gly Gly Thr Gly Ala Met Tyr Ser Ala Asn Glu Val Phe Ile Ile Gly
210 215 220

Arg Arg Gln Gln Lys Glu Gly Thr Glu Ile Thr Gly Tyr Asp Phe Ile
225 230 235 240

Leu Asn Ala Glu Lys Ser Arg Thr Val Lys Glu Lys Ser Lys Phe Pro
245 250 255

Ile Ser Val Thr Phe Ser Gly Gly Ile Asp Pro Tyr Ser Gly Leu Leu
260 265 270

Glu Leu Ala Val Glu Leu Gly Trp Val Val Lys Pro Ser Asn Gly Trp
275 280 285

Tyr Ser Arg Ser Ile Leu Asn Thr Glu Thr Gly Glu Met Glu Thr Glu
290 295 300

Glu Arg Lys Phe Arg Ala Lys Glu Thr Asn Ser Ile Glu Phe Trp Lys
305 310 315 320

Pro Leu Leu Thr Asn Asp Lys Phe Asn Glu Ala Ile Asn Asp His Tyr
325 330 335

Lys Leu Gly Gln Val Ile Ser Asp Glu Ala Val Asp Lys Glu Ile Glu
340 345 350

Asp Met Leu Ala
355

<210> 2

<211> 356

<212> PRT

5 <213> fago RB49 de Enterobacteria

<400> 2

Met Ser Val Leu Glu Lys Leu Lys Lys Asn Ser Thr Leu Lys Thr Thr
1 5 10 15

Ala Val Leu Ser Lys Ser Ser Phe Phe Asn Glu Lys Thr Asn Thr Arg
20 25 30

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

	275		280		285
	Tyr Ser Arg Ser Ile Leu Asn Thr Glu Thr Gly Glu Met Glu Thr Glu				
	290		295		300
	Glu Arg Lys Phe Arg Ala Lys Glu Thr Asn Ser Ile Glu Phe Trp Lys				
	305		310		315 320
	Pro Leu Leu Thr Asn Asp Lys Phe Asn Glu Ala Ile Asn Asp His Tyr				
			325		330 335
	Lys Leu Gly Gln Val Ile Ser Asp Glu Ala Val Asp Lys Glu Ile Glu				
			340		345 350
	Asp Met Leu Ala				
	355				
	<210> 3				
	<211> 8				
	<212> PRT				
5	<213> Secuencia Artificial				
	<220>				
	<223> Dominio semiconservado				
	<400> 3				
	Lys Glu Lys Ser Lys Phe Phe Ile				
	1 5				
10	<210> 4				
	<211> 8				
	<212> PRT				
	<213> Secuencia Artificial				
	<220>				
15	<223> Dominio semiconservado				
	<400> 4				
	Lys Glu Lys Ser Lys Phe Pro Ile				
	1 5				
	<210> 5				
	<211> 8				
20	<212> PRT				
	<213> Secuencia Artificial				
	<220>				
	<223> Dominio semiconservado				
	<220>				
25	<221> VARIANTE				
	<222> (5)..(5)				
	<223> X = cualquier AA				
	<220>				
	<221> VARIANTE				
30	<222> (7)..(7)				
	<223> X = cualquier AA				
	<400> 5				
	Lys Glu Lys Ser Xaa Phe Xaa Ile				
	1 5				
	<210> 6				
35	<211> 13				

	<212> PRT
	<213> Secuencia Artificial
	<220>
	<223> Dominio semiconservado
5	<220>
	<221> VARIANTE
	<222> (4)..(4)
	<223> X = cualquier AA
10	<220>
	<221> VARIANTE
	<222> (5)..(5)
	<223> X = cualquier AA
15	<220>
	<221> VARIANTE
	<222> (8)..(8)
	<223> X = cualquier AA
20	<220>
	<221> VARIANTE
	<222> (9)..(9)
	<223> X = cualquier AA
25	<220>
	<221> VARIANTE
	<222> (10)..(10)
	<223> X = cualquier AA
30	<220>
	<221> VARIANTE
	<222> (12)..(12)
	<223> X = cualquier AA
35	<220>
	<221> VARIANTE
	<222> (13)..(13)
	<223> X = cualquier AA
	<400> 6
	Lys Ser Arg Xaa Xaa Lys Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
	1 5 10
40	<210> 7
	<211> 13
	<212> PRT
	<213> Secuencia Artificial
	<220>
	<223> Dominio semiconservado
45	<400> 7
	Lys Ser Arg Thr Val Lys Glu Lys Ser Lys Phe Phe Ile
	1 5 10
	<210> 8
	<211> 391
	<212> PRT
50	<213> fago T4 de Enterobacteria
	<400> 8

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

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

<210> 9

<211> 393

<212> PRT

5 <213> fago T6 de Enterobacteria

<400> 9

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

Ile Ile Gly Lys Arg Gln Ile Lys Asp Gly Ser Asp Leu Gln Gly Tyr
225 230 235 240

Gln Phe Val Leu Asn Val Glu Lys Ser Arg Thr Val Lys Glu Lys Ser
245 250 255

Lys Phe Phe Ile Asp Val Lys Phe Asp Gly Gly Ile Asp Pro Tyr Ser
260 265 270

Gly Leu Leu Asp Met Ala Leu Glu Leu Gly Phe Val Val Lys Pro Lys
275 280 285

Asn Gly Trp Tyr Ala Arg Glu Phe Leu Asp Glu Glu Thr Gly Glu Met
290 295 300

Ile Arg Glu Glu Lys Ser Trp Arg Ala Lys Asp Thr Asn Cys Thr Thr
305 310 315 320

Phe Trp Gly Pro Leu Phe Lys His Gln Pro Phe Arg Asp Ala Ile Lys
325 330 335

Arg Ala Tyr Gln Leu Gly Ala Ile Asp Ser Asn Glu Ile Val Glu Ala
340 345 350

Glu Val Asp Glu Leu Ile Asn Ser Lys Val Glu Lys Phe Lys Ser Pro
355 360 365

Glu Ser Lys Ser Lys Ser Ala Ala Asp Leu Glu Thr Asp Leu Glu Gln
370 375 380

Leu Ser Asp Met Glu Glu Phe Asn Glu
385 390

<210> 10

<211> 387

<212> PRT

5 <213> fago 133 de Acinetobacter

<400> 10

Met Ser Ser Leu Lys Glu Arg Leu Ile Lys Ala Ser Thr Ser Lys Met
1 5 10 15

Thr Ala Glu Leu Thr Lys Ser Lys Phe Phe Asn Asp Lys Thr Val Val
20 25 30

Arg Thr Arg Ile Pro Met Leu Asn Ile Ala Ile Ser Gly Ala Leu Asn
35 40 45

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

Lys Ser Trp Arg Ala Lys Asp Thr Asp Ser Ile Asp Phe Trp Gly Pro
305 310 315 320

Leu Phe Lys His Asp Glu Phe Arg Lys Ala Ile Glu Thr Arg Tyr Gln
325 330 335

Leu Gly Ser Ile Glu Ser Asp Ala Glu Val Asp Ala Glu Val Asp Ala
340 345 350

Leu Ile Gly Ser Lys Thr Thr Ala Lys Ile Ser Gly Val Asn Phe Gly
355 360 365

Pro Ala Glu Ser Ala Ala Asp Lys Glu Gln Gln Leu Glu Asp Phe Val
370 375 380

Asp Glu Asp
385

<210> 11

<211> 390

<212> PRT

5 <213> fago RB69 de Enterobacteria

<400> 11

Met Ser Asp Leu Lys Ser Arg Leu Ile Lys Ala Ser Thr Ser Lys Met
1 5 10 15

Thr Ala Asp Leu Thr Lys Ser Lys Leu Phe Asn Asn Arg Asp Glu Val
20 25 30

Pro Thr Arg Ile Pro Met Leu Asn Ile Ala Leu Gly Gly Ala Leu Asn
35 40 45

Ala Gly Leu Gln Ser Gly Leu Thr Ile Phe Ala Ala Pro Ser Lys His
50 55 60

Phe Lys Thr Leu Phe Gly Leu Thr Met Val Ala Ala Tyr Met Lys Lys
65 70 75 80

Tyr Lys Asp Ala Ile Cys Leu Phe Tyr Asp Ser Glu Phe Gly Ala Ser
85 90 95

Glu Ser Tyr Phe Arg Ser Met Gly Val Asp Leu Asp Arg Val Val His
100 105 110

Thr Pro Ile Gln Ser Val Glu Gln Leu Lys Val Asp Met Thr Asn Gln
115 120 125

ES 2 729 302 T3

Leu Asp Ala Ile Glu Arg Gly Asp Lys Val Ile Ile Phe Ile Asp Ser
 130 135 140
 Ile Gly Asn Thr Ala Ser Lys Lys Glu Thr Glu Asp Ala Leu Asn Glu
 145 150 155 160
 Lys Val Val Gly Asp Met Ser Arg Ala Lys Ala Leu Lys Ser Leu Phe
 165 170 175
 Arg Ile Val Thr Pro Tyr Leu Thr Ile Lys Asp Ile Pro Cys Val Ala
 180 185 190
 Ile Asn His Thr Ala Met Glu Ile Gly Gly Leu Tyr Pro Lys Glu Ile
 195 200 205
 Met Gly Gly Gly Thr Gly Ile Leu Tyr Ser Ala Asn Thr Val Phe Phe
 210 215 220
 Ile Ser Lys Arg Gln Val Lys Glu Gly Thr Glu Leu Thr Gly Tyr Asp
 225 230 235 240
 Phe Thr Leu Lys Ala Glu Lys Ser Arg Thr Val Lys Glu Lys Ser Thr
 245 250 255
 Phe Pro Ile Thr Val Asn Phe Asp Gly Gly Ile Asp Pro Phe Ser Gly
 260 265 270
 Leu Leu Glu Met Ala Thr Glu Ile Gly Phe Val Val Lys Pro Lys Ala
 275 280 285
 Gly Trp Tyr Ala Arg Glu Phe Leu Asp Glu Glu Thr Gly Glu Met Ile
 290 295 300
 Arg Glu Glu Lys Ser Trp Arg Ala Lys Ala Thr Asp Cys Val Glu Phe
 305 310 315 320
 Trp Gly Pro Leu Phe Lys His Lys Pro Phe Arg Asp Ala Ile Glu Thr
 325 330 335
 Lys Tyr Lys Leu Gly Ala Ile Ser Ser Ile Lys Glu Val Asp Asp Ala
 340 345 350
 Val Asn Asp Leu Ile Asn Cys Lys Ala Thr Thr Lys Val Pro Val Lys
 355 360 365
 Thr Ser Asp Ala Pro Ser Ala Ala Asp Ile Glu Asn Asp Leu Asp Glu
 370 375 380
 Met Glu Asp Phe Asp Glu
 385 390

<210> 12
 <211> 411
 <212> PRT
 <213> fago Aeh1 de Aeromonas
 <400> 12

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

Tyr Asp Thr Gln Glu Met Tyr Ser Lys Lys Val Val Ser Gly Gly Thr
210 215 220

Gly Ile Thr Tyr Ser Ser Asp Thr Val Ile Ile Ile Gly Arg Gln Gln
225 230 235 240

Glu Lys Asp Gly Lys Glu Leu Leu Gly Tyr Asn Phe Val Leu Asn Met
245 250 255

Glu Lys Ser Arg Phe Val Lys Glu Gln Ser Lys Leu Pro Leu Glu Val
260 265 270

Thr Phe Gln Gly Gly Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Met Leu Asp Ile Ala
275 280 285

Leu Glu Val Gly Phe Val Val Lys Pro Ser Asn Gly Trp Phe Ser Arg
290 295 300

Ala Phe Leu Asp Glu Glu Thr Gly Glu Leu Val Glu Glu Asp Arg Lys
305 310 315 320

Trp Arg Arg Ala Asp Thr Asn Cys Leu Glu Phe Trp Lys Pro Met Phe
325 330 335

Ala His Gln Pro Phe Lys Thr Ala Cys Ser Asp Met Phe Lys Leu Lys
340 345 350

Ser Val Ala Val Lys Asp Glu Val Phe Asp Glu Val Asp Glu Leu Phe
355 360 365

Ser Gly Glu Ala Glu Met Pro Val Asn Met Gly Arg Lys Leu Asp Thr
370 375 380

Ala Asp Gln Glu Glu Ile Asp Gln Leu Glu Glu Val Asp Val Glu Gly
385 390 395 400

Ser Asp Ser Asp Glu Leu Phe Ala Asn Leu Asp
405 410

<210> 13

<211> 368

<212> PRT

5 <213> fago 65 de Aeromonas

<400> 13

Met Ala Lys Lys Ala Lys Val Val Asn Ser Gly Asp Leu Leu Glu Arg
1 5 10 15

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

260 265 270

Gly Gly Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Leu Leu Lys Ile Ala Gln Glu Leu
275 280 285

Gly Phe Val Thr Lys Pro Gln Asn Ala Arg Tyr Gln Arg Asn Phe Leu
290 295 300

Asp Leu Glu Pro Gly Glu Met Val Ile Pro Glu Asp Glu Lys Lys Trp
305 310 315 320

Thr Glu Glu Glu Ser Asp Ser Leu Glu Phe Trp Lys Pro Met Phe Ser
325 330 335

His Lys Pro Phe Met Asp Ala Val Ser Asn Ala Tyr Lys Leu Lys Ala
340 345 350

Val Glu Val Ser Gln Glu Val Phe Asp Glu Val Asp Gln Leu Phe Gly
355 360 365

<210> 14
<211> 366
<212> PRT
5 <213> Vibriofago KVP40

<400> 14
Met Ser Asp Leu Met Lys Ser Leu Lys Lys Ser Ser Thr Ser Gly Tyr
1 5 10 15

Ala Gln Val Leu Ser Glu Ser Gln Phe Met Phe Asp Lys Asp His Thr
20 25 30

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

Gly Gly Leu Thr Ser Gly Leu Thr Val Leu Ala Gly Pro Ser Lys His
50 55 60

Phe Lys Ser Asn Leu Gly Leu Val Gly Val Ala Ala Tyr Leu Lys Lys
65 70 75 80

Tyr Pro Asp Ala Val Cys Val Phe Ile Asp Thr Glu Phe Gly Ile Thr
85 90 95

Pro Ser Tyr Leu Arg Ser Gln Gly Val Asp Pro Asp Arg Val Leu His
100 105 110

Ile Gln Cys Glu Ser Val Glu Arg Met Lys Phe Glu Met Ala Asn Gln

ES 2 729 302 T3

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

<210> 15

<211> 386

<212> PRT

5 <213> fago RB43 de Enterobacteria

<400> 15

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

Ile Leu Gly Lys Gln Gln Val Lys Glu Gly Thr Glu Val Val Gly Tyr
225 230 235 240

Asp Phe Ile Met Asn Ile Glu Lys Ser Arg Phe Val Lys Glu Lys Ser
245 250 255

Lys Phe Pro Leu His Val Thr Tyr Glu Gly Gly Ile Ser Met Tyr Ser
260 265 270

Gly Leu Leu Asp Leu Ala Met Glu Met Asn Phe Val Gln Thr Pro Thr
275 280 285

Lys Gly Trp Arg Gly Arg Ala Phe Leu Asn Thr Glu Thr Gly Glu Leu
290 295 300

Glu Leu Glu Glu Lys Lys Trp Arg Glu Ser Glu Thr Asn Ser Ile Glu
305 310 315 320

Phe Trp Arg Pro Leu Phe Thr His Gln Pro Phe Leu Asp Ala Ile Gln
325 330 335

Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Asp Lys Glu Ile Thr Asp Gly Ala Ala Leu
340 345 350

Glu Asp Leu Tyr Ser Thr Asp Glu Pro Glu Ser Asn Lys Ile Asp Leu
355 360 365

Asp Asp Asp Ile Pro Asp Asp Ile Gly Ile Asp Gln Asp Glu Glu Pro
370 375 380

Ile Met
385

<210> 16

<211> 335

<212> PRT

5 <213> fago P-SSM2 de Prochlorococcus

<400> 16

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

Gln Val Ala Ala Asp Ile Gln Glu Asn Glu Arg Phe Ile Asp Thr Gly
20 25 30

Ser Tyr Ile Phe Asn Gly Leu Val Ser Gly Ser Ile Phe Gly Gly Val
35 40 45

ES 2 729 302 T3

Ser Ser Ser Arg Ile Thr Ala Ile Ala Gly Glu Ser Ser Thr Gly Lys
 50 55 60
 Thr Tyr Phe Ser Leu Ala Val Val Lys Asn Phe Leu Asp Asn Asn Pro
 65 70 75 80
 Asp Gly Tyr Cys Leu Tyr Phe Asp Thr Glu Ala Ala Val Asn Lys Gly
 85 90 95
 Leu Leu Glu Ser Arg Gly Ile Asp Met Asn Arg Leu Val Val Val Asn
 100 105 110
 Val Val Thr Ile Glu Glu Phe Arg Ser Lys Ala Leu Arg Ala Val Asp
 115 120 125
 Ile Tyr Leu Lys Thr Ser Glu Glu Glu Arg Lys Pro Cys Met Phe Val
 130 135 140
 Leu Asp Ser Leu Gly Met Leu Ser Thr Glu Lys Glu Ile Arg Asp Ala
 145 150 155 160
 Leu Asp Asp Lys Gln Val Arg Asp Met Thr Lys Ser Gln Leu Val Lys
 165 170 175
 Gly Ala Phe Arg Met Leu Thr Leu Lys Leu Gly Gln Ala Asn Ile Pro
 180 185 190
 Leu Ile Val Thr Asn His Thr Tyr Asp Val Ile Gly Ser Tyr Val Pro
 195 200 205
 Thr Lys Glu Met Gly Gly Gly Ser Gly Leu Lys Tyr Ala Ala Ser Thr
 210 215 220
 Ile Ile Tyr Leu Ser Lys Lys Lys Glu Lys Asp Gln Lys Glu Val Ile
 225 230 235 240
 Gly Asn Leu Ile Lys Ala Lys Thr His Lys Ser Arg Leu Ser Lys Glu
 245 250 255
 Asn Lys Glu Val Gln Ile Arg Leu Tyr Tyr Asp Glu Arg Gly Leu Asp
 260 265 270
 Arg Tyr Tyr Gly Leu Leu Glu Leu Gly Glu Ile Gly Gly Met Trp Lys
 275 280 285
 Asn Val Ala Gly Arg Tyr Glu Met Asn Gly Lys Lys Ile Tyr Ala Lys
 290 295 300
 Glu Ile Leu Lys Asn Pro Thr Glu Tyr Phe Thr Asp Asp Ile Met Glu
 305 310 315 320
 Gln Leu Asp Asn Ile Ala Lys Glu His Phe Ser Tyr Gly Thr Asn
 325 330 335

<210> 17

<211> 336

<212> PRT

<213> fago P-SSM4 de Prochlorococcus

ES 2 729 302 T3

<400> 17

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

Ser Leu Val Ser Glu Gly Val Ser Ala Gly Asp Thr Ala Gly Phe Ile
20 25 30

Asp Thr Gly Ser Tyr Ile Phe Asn Ala Leu Leu Ser Gly Ser Ile Tyr
35 40 45

Gly Gly Ile Pro Asn Asn Lys Ile Thr Ala Ile Ala Gly Glu Thr Ser
50 55 60

Thr Gly Lys Thr Phe Phe Cys Leu Gly Met Val Gln His Phe Leu Glu
65 70 75 80

Ser Asn Pro Asp Ala Gly Val Ile Tyr Phe Glu Ser Glu Ser Ala Ile
85 90 95

Ser Lys Gln Met Ile Glu Asp Arg Gly Ile Asp Ser Asn Arg Met Leu
100 105 110

Leu Val Pro Val Thr Thr Val Gln Glu Phe Arg Leu Gln Ala Ile Lys
115 120 125

Ile Leu Asp Lys Tyr Asn Glu Gln Thr Ala Glu Glu Arg Lys Pro Leu
130 135 140

Met Phe Val Leu Asp Ser Leu Gly Met Leu Ser Thr Ser Lys Glu Val
145 150 155 160

Glu Asp Ser Glu Ala Gly Lys Glu Thr Arg Asp Met Thr Arg Ala Gln
165 170 175

Val Val Lys Ser Ile Phe Arg Val Leu Thr Leu Lys Leu Gly Lys Ala
180 185 190

ES 2 729 302 T3

Asn Val Pro Leu Ile Val Thr Asn His Thr Tyr Asp Val Val Gly Ala
195 200 205

Tyr Ile Pro Thr Lys Glu Met Gly Gly Gly Ser Gly Leu Lys Tyr Ala
210 215 220

Ala Ser Thr Ile Val Tyr Leu Ser Lys Lys Lys Glu Lys Asn Gly Lys
225 230 235 240

Glu Val Val Gly Asn Ile Ile Lys Cys Lys Thr Ala Lys Ser Arg Leu
245 250 255

Thr Lys Glu Asn Ser Asp Val Glu Thr Arg Leu Tyr Tyr Asp Arg Gly
260 265 270

Leu Asp Arg Tyr Tyr Gly Leu Leu Glu Leu Gly Glu Lys His Gly Val
275 280 285

Phe Ser Arg Lys Gly Asn Arg Val Val Val Gly Asp Ser Ser Val Tyr
290 295 300

Pro Ser Ala Ile Leu Ala Asp Pro Asp Lys Tyr Phe Thr Glu Glu Leu
305 310 315 320

Met Glu Lys Leu Asp Glu Ala Ala Ala Lys Glu Phe Arg Tyr Gly Asn
325 330 335

<210> 18

<211> 343

<212> PRT

5 <213> fago de S-PM2Synechococcus

<400> 18

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

Ala Phe Ala Ser Glu Gly Val Ala Ala Gly Asp Val Glu Ser Phe Val
20 25 30

Asp Thr Gly Ser Tyr Ile Phe Asn Ala Leu Val Ser Gly Ser Ile Phe
35 40 45

Gly Gly Ile Pro Ser Asn Lys Ile Thr Ala Leu Ala Gly Glu Ser Gly
50 55 60

Thr Gly Lys Thr Phe Phe Cys Leu Ser Val Val Arg Asn Phe Leu Asn
65 70 75 80

ES 2 729 302 T3

Thr Asp Pro Asp Ala Gly Val Ile Tyr Phe Glu Thr Glu Ser Ala Ile
 85 90 95
 Ser Lys Gln Met Ile Glu Ser Arg Gly Ile Asp Ser Thr Arg Met Ile
 100 105 110
 Ile Phe Pro Val Asp Thr Ile Glu Asp Phe Arg Thr Gln Ala Val Arg
 115 120 125
 Ile Ile Asp Lys Tyr Met Glu Gln Asn Lys Ser Glu Arg Lys Pro Leu
 130 135 140
 Met Phe Val Leu Asp Ser Leu Gly Met Leu Ala Thr Lys Lys Glu Val
 145 150 155 160
 Glu Asp Ala Ser Asn Asp Lys Gln Val Arg Asp Met Thr Lys Ala Gln
 165 170 175
 Ile Val Lys Ser Ala Phe Arg Ile Leu Thr Leu Lys Met Gly Lys Ala
 180 185 190
 Asn Ile Pro Met Leu Val Thr Asn His Thr Tyr Asp Val Val Gly Ser
 195 200 205
 Tyr Val Pro Thr Lys Glu Met Gly Gly Gly Ser Gly Leu Lys Tyr Ser
 210 215 220
 Ala Ser Thr Ile Val Tyr Leu Gly Lys Lys Lys Glu Lys Asp Gly Thr
 225 230 235 240
 Asp Leu Val Gly Asn Ile Ile Lys Cys Glu Ala Lys Lys Ser Arg Leu
 245 250 255
 Thr Arg Glu Gly Ser Lys Val Glu Thr Arg Leu Phe Phe Asp Gln Arg
 260 265 270
 Gly Leu Glu Arg Tyr Tyr Gly Met Leu Glu Leu Gly Glu Arg Ala Gly
 275 280 285
 Leu Trp Lys Asn Thr Ala Gly Arg Tyr Glu Ile Asn Gly Lys Lys Val
 290 295 300
 Tyr Gly Lys Gln Ile Leu Ala Asn Pro Asp Glu Phe Phe Thr Glu Glu
 305 310 315 320
 Ile Leu Gln Glu Leu Asp Lys Gln Ala Gln Arg Glu Phe Leu Tyr Gly
 325 330 335
 Ala Ser Asp Asp Gly Glu Asp
 340

<210> 19

<211> 393

<212> PRT

<213> fago RB32 de Enterobacteria

<400> 19

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

Val Met Thr Gly Gly Thr Gly Val Met Tyr Ser Ala Asp Thr Val Phe
210 215 220

Ile Ile Gly Lys Arg Gln Ile Lys Asp Gly Ser Asp Leu Gln Gly Tyr
225 230 235 240

Gln Phe Val Leu Asn Val Glu Lys Ser Arg Thr Val Lys Glu Lys Ser
245 250 255

Lys Phe Phe Ile Asp Val Lys Phe Asp Gly Gly Ile Asp Pro Tyr Ser
260 265 270

Gly Leu Leu Asp Met Ala Leu Glu Leu Gly Phe Val Val Lys Pro Lys
275 280 285

Asn Gly Trp Tyr Ala Arg Glu Phe Leu Asp Glu Glu Thr Gly Glu Met
290 295 300

Ile Arg Glu Glu Lys Ser Trp Arg Ala Lys Asp Thr Asn Cys Thr Thr
305 310 315 320

Phe Trp Gly Pro Leu Phe Lys His Gln Pro Phe Arg Asp Ala Ile Lys
325 330 335

Arg Ala Tyr Gln Leu Gly Ala Ile Asp Ser Asn Glu Ile Val Glu Ala
340 345 350

Glu Val Asp Glu Leu Ile Asn Ser Lys Val Glu Lys Phe Lys Ser Pro
355 360 365

Glu Ser Lys Ser Lys Ser Ala Ala Asp Leu Glu Thr Asp Leu Glu Gln
370 375 380

Leu Ser Asp Met Glu Glu Phe Asn Glu
385 390

<210> 20

<211> 366

<212> PRT

5 <213> Vibriófago nt-1

<400> 20

Met Ser Asp Leu Leu Lys Ser Leu Lys Lys Ser Ser Thr Ser Gly Tyr
1 5 10 15

Ala His Val Leu Ser Glu Ser Gln Phe Met Phe Glu Lys Asp His Thr
20 25 30

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

275 280 285
 Thr Gly His Val Val Lys Pro Ser Asn Gly Trp Tyr Gln Arg Ala Phe
 290 295 300
 Ile Asp Glu Glu Thr Gly Glu Ile Glu Ile Glu Glu Lys Lys Tyr Arg
 305 310 315 320
 Ala Lys Glu Thr Gln Thr Leu Ser Phe Trp Lys Glu Ile Ile Asn Ser
 325 330 335
 Pro Thr Phe Lys Thr Gly Val Lys Arg Leu Tyr Cys Leu Gly Gln Leu
 340 345 350
 Asp Glu Ser Glu Leu Leu Asp Glu Val Asp Ser Leu Phe Asp
 355 360 365
 <210> 21
 <211> 381
 <212> PRT
 5 <213> fago RB16 de Enterobacteria
 <400> 21
 Met Ser Asn Lys Ala Leu Leu Lys Lys Leu Ile Lys Asn Ser Asn Ser
 1 5 10 15
 Gln Ser Ala Ser Ile Leu Ser Glu Ser Asp Val Phe Asn Asn Ile Thr
 20 25 30
 Lys Thr Arg Thr Arg Val Pro Ile Leu Asn Leu Val Leu Ser Gly Ala
 35 40 45
 Phe Asp Gly Gly Leu Thr Ser Gly Leu Thr Leu Ile Ala Gly Pro Ser
 50 55 60
 Lys His Phe Lys Ser Asn Leu Gly Leu Val Ala Val Ala Ala Tyr Leu
 65 70 75 80
 Lys Ala Asn Glu Asp Ala Val Cys Leu Phe Tyr Asp Ser Glu Lys Gly
 85 90 95
 Val Thr Lys Ser Tyr Leu Lys Ser Met Gly Val Asp Pro Asp Arg Val
 100 105 110
 Val Tyr Thr Arg Ile Thr Thr Val Glu Gln Leu Arg Asn Asp Val Val
 115 120 125
 Ser Gln Leu Asp Ala Leu Glu Arg Gly Asp Lys Val Ile Ile Phe Val

ES 2 729 302 T3

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

<210> 22

<211> 391

<212> PRT

5 <213> fago T4 de Enterobacteria

<400> 22

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

Gly Lys Arg Gln Ile Lys Asp Gly Ser Asp Leu Gln Gly Tyr Gln Phe
225 230 235 240

Val Leu Asn Val Glu Lys Ser Arg Thr Val Lys Glu Lys Ser Lys Phe
245 250 255

Lys Ile Asp Val Lys Phe Asp Gly Gly Ile Asp Pro Tyr Ser Gly Leu
260 265 270

Leu Asp Met Ala Leu Glu Leu Gly Phe Val Val Lys Pro Lys Asn Gly
275 280 285

Trp Tyr Ala Arg Glu Phe Leu Asp Glu Glu Thr Gly Glu Met Ile Arg
290 295 300

Glu Glu Lys Ser Trp Arg Ala Lys Asp Thr Asn Cys Thr Thr Phe Trp
305 310 315 320

Gly Pro Leu Phe Lys His Gln Pro Phe Arg Asp Ala Ile Lys Arg Ala
325 330 335

Tyr Gln Leu Gly Ala Ile Asp Ser Asn Glu Ile Val Glu Ala Glu Val
340 345 350

Asp Glu Leu Ile Asn Ser Lys Val Glu Lys Phe Lys Ser Pro Glu Ser
355 360 365

Lys Ser Lys Ser Ala Ala Asp Leu Glu Thr Asp Leu Glu Gln Leu Ser
370 375 380

Asp Met Glu Glu Phe Asn Glu
385 390

<210> 23

<211> 393

<212> PRT

5 <213> fago T6 de Enterobacteria

<400> 23

Met Ser Ile Ala Asp Leu Lys Ser Arg Leu Ile Lys Ala Ser Thr Ser
1 5 10 15

Lys Met Thr Ala Glu Leu Thr Thr Ser Lys Phe Phe Asn Glu Lys Asp
20 25 30

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

ES 2 729 302 T3

Ile Asp Gly Gly Met Gln Ser Gly Leu Thr Ile Phe Ala Gly Pro Ser
50 55 60

Lys His Phe Lys Ser Asn Met Ser Leu Thr Met Val Ala Ala Tyr Leu
65 70 75 80

Asn Lys Tyr Pro Asp Ala Val Cys Leu Phe Tyr Asp Ser Glu Phe Gly
85 90 95

Ile Thr Pro Ala Tyr Leu Arg Ser Met Gly Val Asp Pro Glu Arg Val
100 105 110

Ile His Thr Pro Ile Gln Ser Val Glu Gln Leu Lys Ile Asp Met Val
115 120 125

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

Asp Ser Ile Gly Asn Met Ala Ser Lys Lys Glu Thr Glu Asp Ala Leu
145 150 155 160

Asn Glu Lys Ser Val Ala Asp Met Thr Arg Ala Lys Ser Leu Lys Ser
165 170 175

Leu Phe Arg Ile Val Thr Pro Tyr Phe Ser Ile Lys Asn Ile Pro Cys
180 185 190

Val Ala Val Asn His Thr Ile Glu Thr Ile Glu Met Phe Ser Lys Thr
195 200 205

Val Met Thr Gly Gly Thr Gly Val Met Tyr Ser Ala Asp Thr Val Phe
210 215 220

Ile Ile Gly Lys Arg Gln Ile Lys Asp Gly Ser Asp Leu Gln Gly Tyr
225 230 235 240

Gln Phe Val Leu Asn Val Glu Lys Ser Arg Thr Val Lys Glu Lys Ser
245 250 255

Lys Phe Lys Ile Asp Val Lys Phe Asp Gly Gly Ile Asp Pro Tyr Ser
260 265 270

Gly Leu Leu Asp Met Ala Leu Glu Leu Gly Phe Val Val Lys Pro Lys
275 280 285

Asn Gly Trp Tyr Ala Arg Glu Phe Leu Asp Glu Glu Thr Gly Glu Met
290 295 300

ES 2 729 302 T3

Ile Arg Glu Glu Lys Ser Trp Arg Ala Lys Asp Thr Asn Cys Thr Thr
305 310 315 320

Phe Trp Gly Pro Leu Phe Lys His Gln Pro Phe Arg Asp Ala Ile Lys
325 330 335

Arg Ala Tyr Gln Leu Gly Ala Ile Asp Ser Asn Glu Ile Val Glu Ala
340 345 350

Glu Val Asp Glu Leu Ile Asn Ser Lys Val Glu Lys Phe Lys Ser Pro
355 360 365

Glu Ser Lys Ser Lys Ser Ala Ala Asp Leu Glu Thr Asp Leu Glu Gln
370 375 380

Leu Ser Asp Met Glu Glu Phe Asn Glu
385 390

<210> 24

<211> 387

<212> PRT

5 <213> fago 133 de Acinetobacter

<400> 24

Met Ser Ser Leu Lys Glu Arg Leu Ile Lys Ala Ser Thr Ser Lys Met
1 5 10 15

Thr Ala Glu Leu Thr Lys Ser Lys Phe Phe Asn Asp Lys Thr Val Val
20 25 30

Arg Thr Arg Ile Pro Met Leu Asn Ile Ala Ile Ser Gly Ala Leu Asn
35 40 45

Gly Gly Met Gln Ser Gly Leu Thr Ile Phe Ala Gly Pro Ser Lys His
50 55 60

Phe Lys Ser Asn Met Gly Leu Thr Met Val Ala Ala Tyr Met Lys Ala
65 70 75 80

Phe Pro Asp Ala Val Cys Met Phe Tyr Asp Ser Glu Phe Gly Ile Thr
85 90 95

Pro Ala Tyr Leu Lys Ala Met Gly Val Asp Pro Asp Arg Val Ile His
100 105 110

Thr Pro Val Gln Ser Val Glu Gln Leu Lys Ile Asp Met Thr Asn Gln
115 120 125

ES 2 729 302 T3

Leu Glu Glu Val Lys Arg Gly Glu Lys Val Ile Val Phe Ile Asp Ser
130 135 140

Ile Gly Asn Leu Ala Ser Lys Lys Glu Thr Glu Asp Ala Leu Asn Glu
145 150 155 160

Lys Thr Thr Ala Asp Met Thr Arg Ala Lys Ala Leu Lys Ser Leu Phe
165 170 175

Arg Ile Val Thr Pro Tyr Phe Ser Ile Lys Asp Ile Pro Cys Val Ala
180 185 190

Val Asn His Thr Leu Gln Thr Leu Glu Met Phe Ser Lys Glu Val Met
195 200 205

Thr Gly Gly Thr Gly Val Met Tyr Ser Ala Asp Thr Val Phe Phe Ile
210 215 220

Gly Lys Arg Gln Val Lys Asp Gly Thr Glu Leu Ala Gly Tyr Glu Phe
225 230 235 240

Ile Leu Lys Ala Glu Lys Ser Arg Met Val Lys Glu Lys Ser Val Phe
245 250 255

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

Leu Glu Met Ala Thr Asp Leu Gly Phe Val Val Lys Pro Lys Val Gly
275 280 285

Trp Tyr Lys Arg Ala Met Met Val Asp Gly Val Met Gln His Glu Glu
290 295 300

Lys Ser Trp Arg Ala Lys Asp Thr Asp Ser Ile Asp Phe Trp Gly Pro
305 310 315 320

Leu Phe Lys His Asp Glu Phe Arg Lys Ala Ile Glu Thr Arg Tyr Gln
325 330 335

Leu Gly Ser Ile Glu Ser Asp Ala Glu Val Asp Ala Glu Val Asp Ala
340 345 350

Leu Ile Gly Ser Lys Thr Thr Ala Lys Ile Ser Gly Val Asn Phe Gly
355 360 365

Pro Ala Glu Ser Ala Ala Asp Lys Glu Gln Gln Leu Glu Asp Phe Val
370 375 380

Asp Glu Asp
385

<210> 25

<211> 390

<212> PRT

<213> fago RB69 de Enterobacteria

<400> 25

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

Met Gly Gly Gly Thr Gly Ile Leu Tyr Ser Ala Asn Thr Val Phe Phe
210 215 220

Ile Ser Lys Arg Gln Val Lys Glu Gly Thr Glu Leu Thr Gly Tyr Asp
225 230 235 240

Phe Thr Leu Lys Ala Glu Lys Ser Arg Thr Val Lys Glu Lys Ser Thr
245 250 255

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

Leu Leu Glu Met Ala Thr Glu Ile Gly Phe Val Val Lys Pro Lys Ala
275 280 285

Gly Trp Tyr Ala Arg Glu Phe Leu Asp Glu Glu Thr Gly Glu Met Ile
290 295 300

Arg Glu Glu Lys Ser Trp Arg Ala Lys Ala Thr Asp Cys Val Glu Phe
305 310 315 320

Trp Gly Pro Leu Phe Lys His Lys Pro Phe Arg Asp Ala Ile Glu Thr
325 330 335

Lys Tyr Lys Leu Gly Ala Ile Ser Ser Ile Lys Glu Val Asp Asp Ala
340 345 350

Val Asn Asp Leu Ile Asn Cys Lys Ala Thr Thr Lys Val Pro Val Lys
355 360 365

Thr Ser Asp Ala Pro Ser Ala Ala Asp Ile Glu Asn Asp Leu Asp Glu
370 375 380

Met Glu Asp Phe Asp Glu
385 390

<210> 26

<211> 411

<212> PRT

5 <213> fago Aehl de Aeromonas

<400> 26

Met Ala Lys Gly Ile Lys Thr Ala Lys Thr Gly Asn Leu Gly Ser Leu
1 5 10 15

Met Ser Lys Leu Ala Gly Thr Ser Ser Asn Lys Met Ser Ser Val Leu
20 25 30

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

275 280 285
 Leu Glu Val Gly Phe Val Val Lys Pro Ser Asn Gly Trp Phe Ser Arg
 290 295 300
 Ala Phe Leu Asp Glu Glu Thr Gly Glu Leu Val Glu Glu Asp Arg Lys
 305 310 315 320
 Trp Arg Arg Ala Asp Thr Asn Cys Leu Glu Phe Trp Lys Pro Met Phe
 325 330 335
 Ala His Gln Pro Phe Lys Thr Ala Cys Ser Asp Met Phe Lys Leu Lys
 340 345 350
 Ser Val Ala Val Lys Asp Glu Val Phe Asp Glu Val Asp Glu Leu Phe
 355 360 365
 Ser Gly Glu Ala Glu Met Pro Val Asn Met Gly Arg Lys Leu Asp Thr
 370 375 380
 Ala Asp Gln Glu Glu Ile Asp Gln Leu Glu Glu Val Asp Val Glu Gly
 385 390 395 400
 Ser Asp Ser Asp Glu Leu Phe Ala Asn Leu Asp
 405 410
 <210> 27
 <211> 368
 <212> PRT
 5 <213> fago 65 de Aeromonas
 <400> 27
 Met Ala Lys Lys Ala Lys Val Val Asn Ser Gly Asp Leu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Leu Asn Gly Thr Ser Ser Asn Lys Met Ser Ala Met Leu Ala Glu Ser
 20 25 30
 Ile Phe Phe Asn Glu Lys Asp Thr Ile Arg Thr Arg Val Pro Ile Ile
 35 40 45
 Asn Leu Met Met Ser Gly Arg Leu Asp Gly Gly Ile Thr Pro Gly Leu
 50 55 60
 Thr Cys Ile Ala Gly Pro Ser Lys His Phe Lys Ser Asn Leu Ser Leu
 65 70 75 80
 Val Met Val Ser Ala Tyr Leu Arg Lys Tyr Pro Lys Ala Val Cys Leu

ES 2 729 302 T3

				85						90					95				
Phe	Phe	Asp	Asn	Glu	Phe	Gly	Ser	Thr	Pro	Asp	Tyr	Phe	Thr	Ser	Gln				
			100					105					110						
Gly	Val	Asp	Ile	Ser	Arg	Val	Val	His	Cys	Pro	Phe	Ile	Asp	Val	Glu				
		115					120					125							
Glu	Leu	Lys	Phe	Asp	Ile	Val	Lys	Lys	Leu	Glu	Ser	Ile	Thr	Arg	Gly				
	130					135					140								
Asp	Lys	Val	Ile	Ile	Tyr	Ile	Asp	Ser	Ile	Gly	Asn	Val	Ala	Ser	Lys				
145					150					155					160				
Lys	Glu	Leu	Gln	Asp	Ala	Lys	Asp	Glu	Lys	Ser	Ala	Gln	Asp	Met	Thr				
				165				170						175					
Arg	Ala	Lys	Gln	Ile	Lys	Ser	Leu	Phe	Arg	Met	Val	Thr	Pro	Tyr	Leu				
			180					185					190						
Thr	Val	Leu	Asp	Ile	Pro	Cys	Ile	Ala	Val	Asn	His	Thr	Tyr	Glu	Thr				
		195					200					205							
Gln	Glu	Met	Phe	Ser	Lys	Thr	Val	Met	Ser	Gly	Gly	Thr	Gly	Pro	Met				
	210					215					220								
Tyr	Ser	Ala	Asp	Thr	Val	Ile	Ile	Leu	Gly	Lys	Gln	Gln	Asp	Lys	Asp				
225					230					235					240				
Gly	Lys	Glu	Leu	Leu	Gly	Tyr	Asn	Phe	Val	Met	Asn	Ala	Glu	Lys	Ser				
			245						250					255					
Arg	Ala	Ile	Lys	Glu	Lys	Ser	Lys	Leu	Lys	Leu	Met	Val	Ser	Phe	Glu				
			260					265					270						
Gly	Gly	Ile	Asn	Thr	Tyr	Ser	Gly	Leu	Leu	Lys	Ile	Ala	Gln	Glu	Leu				
		275					280					285							
Gly	Phe	Val	Thr	Lys	Pro	Gln	Asn	Ala	Arg	Tyr	Gln	Arg	Asn	Phe	Leu				
	290					295					300								
Asp	Leu	Glu	Pro	Gly	Glu	Met	Val	Ile	Pro	Glu	Asp	Glu	Lys	Lys	Trp				
305					310					315					320				
Thr	Glu	Glu	Glu	Ser	Asp	Ser	Leu	Glu	Phe	Trp	Lys	Pro	Met	Phe	Ser				
				325					330					335					
His	Lys	Pro	Phe	Met	Asp	Ala	Val	Ser	Asn	Ala	Tyr	Lys	Leu	Lys	Ala				
			340					345					350						
Val	Glu	Val	Ser	Gln	Glu	Val	Phe	Asp	Glu	Val	Asp	Gln	Leu	Phe	Gly				
		355					360					365							

<210> 28
 <211> 366
 <212> PRT
 <213> Vibriófago KVP40

ES 2 729 302 T3

<400> 28

Met Ser Asp Leu Met Lys Ser Leu Lys Lys Ser Ser Thr Ser Gly Tyr
1 5 10 15

Ala Gln Val Leu Ser Glu Ser Gln Phe Met Phe Asp Lys Asp His Thr
20 25 30

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

Gly Gly Leu Thr Ser Gly Leu Thr Val Leu Ala Gly Pro Ser Lys His
50 55 60

Phe Lys Ser Asn Leu Gly Leu Val Gly Val Ala Ala Tyr Leu Lys Lys
65 70 75 80

Tyr Pro Asp Ala Val Cys Val Phe Ile Asp Thr Glu Phe Gly Ile Thr
85 90 95

Pro Ser Tyr Leu Arg Ser Gln Gly Val Asp Pro Asp Arg Val Leu His
100 105 110

Ile Gln Cys Glu Ser Val Glu Arg Met Lys Phe Glu Met Ala Asn Gln
115 120 125

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

Pro Asp Arg Val Ile Phe Phe Ile Asp Ser Val Gly Asn Val Ala Ser
145 150 155 160

Ala Lys Glu Ile Asp Asp Ala Gln Asn Glu Lys Ser Val Ala Asp Met
165 170 175

Ser Arg Ala Lys Gln Leu Lys Ser Leu Phe Arg Ile Ile Thr Pro Tyr
180 185 190

ES 2 729 302 T3

Phe Thr Met Leu Asp Ile Pro Cys Ile Ala Ile Asn His Thr Tyr Gln
195 200 205

Thr Gln Glu Ile Tyr Ser Lys Thr Val Met Ser Gly Gly Thr Gly Ile
210 215 220

Met Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ile Ile Leu Gly Lys Gln Gln Glu Lys
225 230 235 240

Asp Gly Lys Asp Ile Ile Gly Tyr His Phe Ile Met Asn Ile Glu Lys
245 250 255

Ser Arg Phe Val Lys Glu Lys Met Lys Val Lys Leu Thr Val Thr Tyr
260 265 270

Glu Asn Gly Ile Asp Pro Phe Ser Gly Leu Leu Asp Ile Ala Leu Gln
275 280 285

Thr Gly His Val Val Lys Pro Ser Asn Gly Trp Tyr Gln Arg Ala Thr
290 295 300

Val Asp Glu Glu Thr Gly Glu Met Ile Val Glu Glu Lys Lys Tyr Arg
305 310 315 320

Ala Lys Glu Thr Gln Thr Ile Ser Phe Trp Lys Asp Ile Ile Asn Ser
325 330 335

Pro Thr Phe Lys Glu Gly Val Lys Arg Ile Tyr Cys Leu Gly Gln Leu
340 345 350

Asp Glu Ser Glu Leu Phe Gly Glu Val Asp Ser Leu Phe Asp
355 360 365

<210> 29

<211> 386

<212> PRT

5 <213> fago RB43 de Enterobacteria

<400> 29

Met Ser Asn Lys Ala Leu Leu Lys Lys Leu Ile Lys Asn Ser Asn Ser
1 5 10 15

Gln Ser Ala Ala Ile Leu Ser Glu Ser Asp Val Phe Asn Asn Ile Thr
20 25 30

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

ES 2 729 302 T3

Phe Asp Gly Gly Leu Thr Ser Gly Leu Thr Leu Phe Ala Gly Pro Ser
 50 55 60

Lys His Phe Lys Ser Asn Leu Gly Leu Val Thr Val Ser Ala Tyr Leu
 65 70 75 80

Lys Ala Asn Glu Asp Ala Val Cys Leu Phe Tyr Asp Ser Glu Lys Gly
 85 90 95

Val Thr Lys Ser Tyr Leu Lys Ser Met Gly Val Asp Pro Asp Arg Val
 100 105 110

Val Tyr Thr Arg Ile Thr Thr Val Glu Gln Leu Arg Asn Asp Val Val
 115 120 125

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

Asp Ser Val Gly Asn Thr Ala Ser Lys Lys Glu Leu Ala Asp Ala Leu
 145 150 155 160

Ser Asp Asn Asp Lys Gln Asp Met Thr Arg Ala Lys Ala Leu Lys Gly
 165 170 175

Met Phe Arg Met Val Thr Pro Tyr Leu Ala Asp Leu Asp Ile Pro Met
 180 185 190

Val Cys Ile Cys His Thr Tyr Asp Thr Gln Glu Met Tyr Ser Lys Lys
 195 200 205

Val Ile Ser Gly Gly Thr Gly Leu Met Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ile
 210 215 220

Ile Leu Gly Lys Gln Gln Val Lys Glu Gly Thr Glu Val Val Gly Tyr
 225 230 235 240

Asp Phe Ile Met Asn Ile Glu Lys Ser Arg Phe Val Lys Glu Lys Ser
 245 250 255

Lys Phe Lys Leu His Val Thr Tyr Glu Gly Gly Ile Ser Met Tyr Ser
 260 265 270

Gly Leu Leu Asp Leu Ala Met Glu Met Asn Phe Val Gln Thr Pro Thr
 275 280 285

Lys Gly Trp Arg Gly Arg Ala Phe Leu Asn Thr Glu Thr Gly Glu Leu
 290 295 300

ES 2 729 302 T3

Glu Leu Glu Glu Lys Lys Trp Arg Glu Ser Glu Thr Asn Ser Ile Glu
305 310 315 320

Phe Trp Arg Pro Leu Phe Thr His Gln Pro Phe Leu Asp Ala Ile Gln
325 330 335

Asp Lys Tyr Arg Ile Pro Asp Lys Glu Ile Thr Asp Gly Ala Ala Leu
340 345 350

Glu Asp Leu Tyr Ser Thr Asp Glu Pro Glu Ser Asn Lys Ile Asp Leu
355 360 365

Asp Asp Asp Ile Pro Asp Asp Ile Gly Ile Asp Gln Asp Glu Glu Pro
370 375 380

Ile Met
385

<210> 30

<211> 335

<212> PRT

5 <213> fago P-SSM2 de Prochlorococcus

<400> 30

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

Gln Val Ala Ala Asp Ile Gln Glu Asn Glu Arg Phe Ile Asp Thr Gly
20 25 30

Ser Tyr Ile Phe Asn Gly Leu Val Ser Gly Ser Ile Phe Gly Gly Val
35 40 45

Ser Ser Ser Arg Ile Thr Ala Ile Ala Gly Glu Ser Ser Thr Gly Lys
50 55 60

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

Asp Gly Tyr Cys Leu Tyr Phe Asp Thr Glu Ala Ala Val Asn Lys Gly
85 90 95

Leu Leu Glu Ser Arg Gly Ile Asp Met Asn Arg Leu Val Val Val Asn
100 105 110

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

ES 2 729 302 T3

Ile Tyr Leu Lys Thr Ser Glu Glu Glu Arg Lys Pro Cys Met Phe Val
130 135 140

Leu Asp Ser Leu Gly Met Leu Ser Thr Glu Lys Glu Ile Arg Asp Ala
145 150 155 160

Leu Asp Asp Lys Gln Val Arg Asp Met Thr Lys Ser Gln Leu Val Lys
165 170 175

Gly Ala Phe Arg Met Leu Thr Leu Lys Leu Gly Gln Ala Asn Ile Pro
180 185 190

Leu Ile Val Thr Asn His Thr Tyr Asp Val Ile Gly Ser Tyr Val Pro
195 200 205

Thr Lys Glu Met Gly Gly Gly Ser Gly Leu Lys Tyr Ala Ala Ser Thr
210 215 220

Ile Ile Tyr Leu Ser Lys Lys Lys Glu Lys Asp Gln Lys Glu Val Ile
225 230 235 240

Gly Asn Leu Ile Lys Ala Lys Thr His Lys Ser Arg Leu Ser Lys Glu
245 250 255

Asn Lys Glu Val Lys Ile Arg Leu Tyr Tyr Asp Glu Arg Gly Leu Asp
260 265 270

Arg Tyr Tyr Gly Leu Leu Glu Leu Gly Glu Ile Gly Gly Met Trp Lys
275 280 285

Asn Val Ala Gly Arg Tyr Glu Met Asn Gly Lys Lys Ile Tyr Ala Lys
290 295 300

Glu Ile Leu Lys Asn Pro Thr Glu Tyr Phe Thr Asp Asp Ile Met Glu
305 310 315 320

Gln Leu Asp Asn Ile Ala Lys Glu His Phe Ser Tyr Gly Thr Asn
325 330 335

<210> 31

<211> 336

<212> PRT

5 <213> fago P-SSM4 de Prochlorococcus

<400> 31

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

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

Leu Asp Arg Tyr Tyr Gly Leu Leu Glu Leu Gly Glu Lys His Gly Val
275 280 285

Phe Ser Arg Lys Gly Asn Arg Val Val Val Gly Asp Ser Ser Val Tyr
290 295 300

Pro Ser Ala Ile Leu Ala Asp Pro Asp Lys Tyr Phe Thr Glu Glu Leu
305 310 315 320

Met Glu Lys Leu Asp Glu Ala Ala Ala Lys Glu Phe Arg Tyr Gly Asn
325 330 335

<210> 32

<211> 343

<212> PRT

5 <213> fago S-PM2 de Synechococcus

<400> 32

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

Ala Phe Ala Ser Glu Gly Val Ala Ala Gly Asp Val Glu Ser Phe Val
20 25 30

Asp Thr Gly Ser Tyr Ile Phe Asn Ala Leu Val Ser Gly Ser Ile Phe
35 40 45

Gly Gly Ile Pro Ser Asn Lys Ile Thr Ala Leu Ala Gly Glu Ser Gly
50 55 60

Thr Gly Lys Thr Phe Phe Cys Leu Ser Val Val Arg Asn Phe Leu Asn
65 70 75 80

Thr Asp Pro Asp Ala Gly Val Ile Tyr Phe Glu Thr Glu Ser Ala Ile
85 90 95

Ser Lys Gln Met Ile Glu Ser Arg Gly Ile Asp Ser Thr Arg Met Ile
100 105 110

Ile Phe Pro Val Asp Thr Ile Glu Asp Phe Arg Thr Gln Ala Val Arg
115 120 125

Ile Ile Asp Lys Tyr Met Glu Gln Asn Lys Ser Glu Arg Lys Pro Leu
130 135 140

Met Phe Val Leu Asp Ser Leu Gly Met Leu Ala Thr Lys Lys Glu Val
145 150 155 160

ES 2 729 302 T3

Glu Asp Ala Ser Asn Asp Lys Gln Val Arg Asp Met Thr Lys Ala Gln
165 170 175

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

Asn Ile Pro Met Leu Val Thr Asn His Thr Tyr Asp Val Val Gly Ser
195 200 205

Tyr Val Pro Thr Lys Glu Met Gly Gly Gly Ser Gly Leu Lys Tyr Ser
210 215 220

Ala Ser Thr Ile Val Tyr Leu Gly Lys Lys Lys Glu Lys Asp Gly Thr
225 230 235 240

Asp Leu Val Gly Asn Ile Ile Lys Cys Glu Ala Lys Lys Ser Arg Leu
245 250 255

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

Gly Leu Glu Arg Tyr Tyr Gly Met Leu Glu Leu Gly Glu Arg Ala Gly
275 280 285

Leu Trp Lys Asn Thr Ala Gly Arg Tyr Glu Ile Asn Gly Lys Lys Val
290 295 300

Tyr Gly Lys Gln Ile Leu Ala Asn Pro Asp Glu Phe Phe Thr Glu Glu
305 310 315 320

Ile Leu Gln Glu Leu Asp Lys Gln Ala Gln Arg Glu Phe Leu Tyr Gly
325 330 335

Ala Ser Asp Asp Gly Glu Asp
340

<210> 33

<211> 393

<212> PRT

5 <213> fago RB32 de Enterobacteria

<400> 33

Met Ser Ile Ala Asp Leu Lys Ser Arg Leu Ile Lys Ala Ser Thr Ser
1 5 10 15

Lys Met Thr Ala Glu Leu Thr Thr Ser Lys Phe Phe Asn Glu Lys Asp
20 25 30

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

275

280

285

Asn Gly Trp Tyr Ala Arg Glu Phe Leu Asp Glu Glu Thr Gly Glu Met
290 295 300

Ile Arg Glu Glu Lys Ser Trp Arg Ala Lys Asp Thr Asn Cys Thr Thr
305 310 315 320

Phe Trp Gly Pro Leu Phe Lys His Gln Pro Phe Arg Asp Ala Ile Lys
325 330 335

Arg Ala Tyr Gln Leu Gly Ala Ile Asp Ser Asn Glu Ile Val Glu Ala
340 345 350

Glu Val Asp Glu Leu Ile Asn Ser Lys Val Glu Lys Phe Lys Ser Pro
355 360 365

Glu Ser Lys Ser Lys Ser Ala Ala Asp Leu Glu Thr Asp Leu Glu Gln
370 375 380

Leu Ser Asp Met Glu Glu Phe Asn Glu
385 390

<210> 34

<211> 366

<212> PRT

5 <213> Vibriófago nt-1

<400> 34

Met Ser Asp Leu Leu Lys Ser Leu Lys Lys Ser Ser Thr Ser Gly Tyr
1 5 10 15

Ala His Val Leu Ser Glu Ser Gln Phe Met Phe Glu Lys Asp His Thr
20 25 30

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

Gly Gly Leu Thr Ser Gly Leu Thr Val Leu Ala Gly Pro Ser Lys His
50 55 60

Phe Lys Ser Asn Leu Gly Leu Val Gly Val Ala Ala Tyr Leu Lys Lys
65 70 75 80

Tyr Pro Glu Ala Ile Cys Val Phe Ile Asp Thr Glu Phe Gly Ile Thr
85 90 95

Pro Ser Tyr Leu Lys Ser Gln Gly Val Asp Pro Glu Arg Val Leu His

ES 2 729 302 T3

100	105	110
Ile Gln Cys Glu Ser Val Glu Arg Met Lys Phe Glu Met Ala Asn Gln 115 120 125		
Leu Lys Asp Leu Ala Glu Arg Lys Arg Ala Lys Lys Ala Gly Glu Glu 130 135 140		
Pro Asp Arg Val Val Phe Phe Ile Asp Ser Val Gly Asn Val Ala Ser 145 150 155 160		
Ala Lys Glu Ile Asp Asp Ala Gln Asn Glu Lys Ser Val Ala Asp Met 165 170 175		
Ser Arg Ala Lys Gln Leu Lys Ser Leu Phe Arg Ile Ile Thr Pro Tyr 180 185 190		
Phe Thr Met Leu Asp Ile Pro Cys Ile Ala Ile Asn His Thr Tyr Gln 195 200 205		
Thr Gln Glu Met Tyr Ser Lys Thr Val Met Ser Gly Gly Thr Gly Ile 210 215 220		
Met Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ile Ile Leu Gly Lys Gln Gln Glu Lys 225 230 235 240		
Asp Gly Lys Glu Ile Ile Gly Tyr His Phe Ile Met Asn Ile Glu Lys 245 250 255		
Ser Arg Phe Val Lys Glu Lys Met Lys Val Lys Leu Thr Val Thr Tyr 260 265 270		
Glu His Gly Ile Asp Gln Phe Ser Gly Leu Leu Asp Ile Ala Leu Gln 275 280 285		
Thr Gly His Val Val Lys Pro Ser Asn Gly Trp Tyr Gln Arg Ala Phe 290 295 300		
Ile Asp Glu Glu Thr Gly Glu Ile Glu Ile Glu Glu Lys Lys Tyr Arg 305 310 315 320		
Ala Lys Glu Thr Gln Thr Leu Ser Phe Trp Lys Glu Ile Ile Asn Ser 325 330 335		
Pro Thr Phe Lys Thr Gly Val Lys Arg Leu Tyr Cys Leu Gly Gln Leu 340 345 350		
Asp Glu Ser Glu Leu Leu Asp Glu Val Asp Ser Leu Phe Asp 355 360 365		

<210> 35
 <211> 381
 <212> PRT
 <213> fago RB16 de Enterobacteria
 <400> 35

ES 2 729 302 T3

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

ES 2 729 302 T3

Val	Ile	Ser	Gly	Gly	Thr	Gly	Leu	Met	Tyr	Ser	Ala	Asp	Thr	Ala	Ile	210	215	220
Ile	Leu	Gly	Lys	Gln	Gln	Val	Lys	Glu	Gly	Thr	Glu	Val	Val	Gly	Tyr	225	230	235
Asp	Phe	Ile	Met	Asn	Val	Glu	Lys	Ser	Arg	Phe	Val	Lys	Glu	Lys	Ser	245	250	255
Lys	Phe	Lys	Leu	His	Val	Thr	Tyr	Glu	Gly	Gly	Ile	Ser	Met	Phe	Ser	260	265	270
Gly	Leu	Leu	Asp	Leu	Ala	Met	Glu	Met	Asn	Phe	Val	Gln	Thr	Pro	Thr	275	280	285
Lys	Gly	Trp	Arg	Gly	Arg	Ala	Phe	Leu	Asn	Thr	Glu	Thr	Gly	Glu	Leu	290	295	300
Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Lys	Trp	Arg	Glu	Ala	Glu	Thr	Asn	Cys	Ile	Glu	305	310	315
Phe	Trp	Lys	Pro	Leu	Phe	Lys	His	Gln	Pro	Phe	Ile	Asp	Ala	Ile	Gln	325	330	335
Asp	Lys	Tyr	Arg	Ile	Pro	Asp	Lys	Glu	Ile	Thr	Asp	Gly	Ala	Ala	Leu	340	345	350
Glu	Asp	Leu	Tyr	Ser	Asp	Asp	Val	Val	Glu	Ser	Asn	Lys	Val	Asp	Phe	355	360	365
Asp	Asp	Asp	Ile	Pro	Asp	Asp	Val	Asp	Leu	Met	Glu	Glu				370	375	380

REIVINDICACIONES

1. Una UvsX recombinante que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 %, 95 % o 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 1, cuya UvsX recombinante comprende una mutación por sustitución de aminoácidos en la posición funcionalmente equivalente a la posición 256 en la UvsX de RB49 de SEQ ID NO: 1; teniendo dicha UvsX recombinante actividad recombinasa aumentada en comparación con un polipéptido de recombinasa UvsX de T4 que tiene la SEQ ID NO: 8 o con un polipéptido de recombinasa UvsX de RB49 que tiene toda la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, excepto por una sustitución de His a Ser en la posición del aminoácido 63 de la SEQ ID NO: 1; en la que dicha mutación por sustitución comprende una mutación a un resto básico, opcionalmente, en la que dicha mutación por sustitución comprende una mutación en un resto de lisina.
2. Una UvsX recombinante de la reivindicación 1, que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2.
3. La UvsX recombinante de la reivindicación 1, que comprende una mutación por sustitución en el dominio semiconservado que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 3-5, en la que la mutación por sustitución comprende una mutación en la posición 7 de las SEQ ID NO: 3-5 en un resto de lisina.
4. La UvsX recombinante de la reivindicación 1, que comprende una mutación por sustitución en el dominio semiconservado que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 6-7, en la que la mutación por sustitución comprende una mutación en la posición 12 de las SEQ ID NO: 6-7 en un resto de lisina.
5. La UvsX recombinante de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la UvsX recombinante comprende una mutación por sustitución en una posición funcionalmente equivalente a His63 en la secuencia de aminoácidos de UvsX de RB49, opcionalmente, en la que dicha mutación por sustitución comprende una mutación en un resto de serina.
6. La UvsX recombinante de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la UvsX recombinante comprende una mutación seleccionada del grupo que consiste en: la adición de uno o más restos de ácido glutámico en el extremo C; la adición de uno o más restos de ácido aspártico en el extremo C; y una combinación de los mismos.
7. Una molécula de ácido nucleico que codifica la UvsX recombinante como se define en cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
8. Un proceso de amplificación de una molécula de ácido nucleico diana mediante amplificación con recombinasa y polimerasa, que comprende las siguientes etapas: (a) poner en contacto la UvsX recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 1-6 con un primer y segundo cebador de ácido nucleico para formar un primer y segundo cebador nucleoproteico, en el que dicho cebador de ácido nucleico comprende una región monocatenaria en su extremo 3'; (b) poner en contacto el primer y el segundo cebador nucleoproteico con dicha molécula de ácido nucleico diana, formando así una primera estructura bicatenaria en una primera parte de dicha primera cadena y formando una segunda estructura bicatenaria en una segunda parte de dicha segunda cadena, de tal manera que los extremos 3' de dicho primer cebador de ácido nucleico y dicho segundo cebador de ácido nucleico están orientados uno hacia el otro en la misma molécula de ácido nucleico bicatenario molde; (c) extender el extremo 3' de dicho primer y segundo cebador de ácido nucleico con una o más polimerasas y dNTP para generar un primer y segundo ácido nucleico bicatenario y una primera y segunda cadenas de ácido nucleico desplazadas; y (d) continuar la reacción a través de la repetición de (b) y (c) hasta que se alcance un grado de amplificación deseado.
9. El proceso de la reivindicación 8, en el que dicha molécula de ácido nucleico diana comprende ácido nucleico bicatenario y/o una región adaptadora monocatenaria.
10. El proceso de la reivindicación 8, en el que dicho proceso se realiza en presencia de una proteína recombinasa de carga, opcionalmente, en el que la proteína de carga de recombinasa se selecciona del grupo que consiste en UvsY de T4, recO de *E. coli*, recR de *E. coli* o una combinación de los mismos.
11. El proceso de la reivindicación 8, en el que dicho proceso se realiza en presencia de un agente estabilizador monocatenario seleccionado del grupo que consiste en gp32, proteína SSB de *E. coli*, proteína gp32 de T4.
12. El proceso de la reivindicación 8, en el que dicho proceso se realiza en presencia de un agente aglomerante seleccionado del grupo que consiste en polietilenglicol, óxido de polietileno, poliestireno, Ficoll, dextrano, PVP y albúmina, de tal manera que el agente aglomerante estimula la amplificación.
13. El proceso de la reivindicación 8, en el que dicho proceso se realiza en una matriz de sitios de amplificación, opcionalmente, en el que cada sitio de amplificación comprende una pluralidad de cebadores de amplificación para la amplificación del ácido nucleico diana.
14. El proceso de reivindicación 8, en el que la matriz de sitios de amplificación comprende una matriz de características en una superficie, opcionalmente, en el que las características no son contiguas y están separadas por regiones intersticiales de la superficie que carecen de los cebadores de amplificación.
15. El proceso de la reivindicación 8, en el que el proceso se produce isotérmicamente.

16. Un kit para realizar una reacción mediante amplificación con recombinasa y polimerasa que comprende: una UvsX recombinante como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y uno o más de los siguientes:

una proteína de unión a ADN monocatenario;

una ADN polimerasa;

5 dNTPs o una mezcla de dNTPs y ddNTPs;

un agente aglomerante;

un tampón;

un agente reductor;

ATP o análogo de ATP;

10 una proteína recombinasa de carga;

un primer cebador; y

opcionalmente un segundo cebador.

ALINEAMIENTO DE UvsX AFINES

```
t4      MS-----DLKSRLIKASTSKLTAEITASKPFNEKDV-VRTKIPMNNIALSGEI
t6      MS-----IADLKSRLIKASTSKMTAEITTSKPFNEKDV-IRTKIPMLNIAISGAI
Fago133 MS-----SLKERLIKASTSKMTAEITTSKPFNDKTV-VRTRIPMLNIAISGAL
Rb69    MS-----DLKSRLIKASTSKMTADLTSTSKLPNNWDE-VPTRIPMLNIALGGAL
Aeh1    MAKGIKTARTGNLQSLMSKLAGTESNKMESVLADSKFFNDKDC-VRTRVPLNLAMSGEL
Ae65    MA---KKAKYVNSGDLLERLNGTSSNKMESAMLAESIFFNEKDT-IRTRVPIINLMMSGRL
Kvp40   MS-----DLMKSLKKSSSTSGYAQVLSZSQFMFDKDH-TRTYVPAINIAFSGEV
Rb43    MS-----NKALLKKLIKNSNSQSAAILSESQVFNNTK-TRTRVPIINLALSGAF
PSSM2   M-----DFLKEIVKEIGDEYTOVAAD--IQENERFIDTGSYIFNGLVSGSI
PSSM4   M-----NFLKDIAKEIGNOYASLVSEG/SAGDTAGFIDTGSYIFNALLSGSI
          *                               *               *       *
```

recA GPRESSCKTTLT.....Andador A

```
t4      TGGMQSG-LLILAGPSKSFKNFGLTMVSSYMRQY PDAVCLFYDSEFGITPAYLPSMGVD
t6      DGGMQSG-LTIFAGPSKHFKSNMSLTMVAAYLNKY PDAVCLFYDSEFGITPAYLPSMGVD
Fago133 MCGMQSG-LTIFAGPSKHFKSNMGLTMVAAYMKAF PDAVCMFYDSEFGITPAYLKAMGVD
Rb69    NAGLQSG-LTIFAPGPSKHFKTLFGLTMVAAYMKKYDAICLPYDSEFGASESYFRSMGVD
Aeh1    DGGLTPG-LTVLAGPSKHFKSNLSLVFAAYLRXYPDAVCIFFDNFEGSTPGYPESQGVD
Ae65    DGGITPG-LTCIAGPSKHFKSNLSLMVSAYLRXPYKAVCLFFDNFEGSTPDYFTSQGVD
Kvp40   DGGLTSG-LTVLAGPSKHFKSNLGLVGVAAYLRXPYKAVCVFIDTEPGITPSYLRSQGVD
Rb43    DGGLTSG-LTLFAGPSKHFKSNLGLVTVSAYLKANEDAVCLFYDSEKGVTKSYLEKSMGVD
PSSM2   FGGVSSSRITAIAGESSSTOKTYFSLAVVKNFLDNNPDGYCLYFDTEAAVNKGLLEERGID
PSSM4   YGGLPNKKITAIAGETSTGKTFFCLGMVQHFLFSNPDAGVIYFESESATSKQMIEDRGID
```

Bucle 1 de unión a ADN

```

t4      PERVIHTPVQSLQRLIDMVNQLDAI-----ERGEKVVVFIDSLGNLASKKETED
t6      PERVIHTPIQSVQQLKIDMVNQLLEAI-----ERGEKVIVFIDSIGNLASKKETED
Fago133 PDRVIHTPVQSVQQLKIDMTNQLLEEV-----ERGEKVIVFIDSIGNLASKKETED
Rb69    LDEVVHTPIQSVQQLKVDMTNQLDAI-----ERGDKVIIFIDSIGNLASKKETED
Aeh1    ISRVIHCPFKNISELKFDIVKKLEAI-----ERGDVIVFVDSIGNLASKKEIDD
Ae65    ISRVVHCFFIDVRELKFDIVKKLESI-----TRGDKVIIFIDSIGNLASKKEIQD
Kvp40   PDRVLHIQCESVERMKFEMANQLKDLAERKRAKKAGEEPDRVIFPIDSVGNVASAKEIDD
Rb43    PDRVVYTRITTVQQLANDVVSQLDAL-----ERGDKVIIFVDSVGNLASKKELAD
PSSM2   MNRLVWVNVVTIEZFRSKALRAVDIY-----LKTSEERKPCMFVLDLGNLSTEKEIRD
PSSM4   SNRMLLVPTTVQEFRLQAIKILDKY-----NEQTAERKPLMFVLDLGNLSTEKEIRD

```

Bucle 2 de unión a ADN

```

EIGDSHMG                                     recA [NQIRMKIGVMFGNPETTITGG
t4      ALNEKVVSDMTRAKTMKSLFRIVTPYPSTKNIPCIAINHT-YETQEMF-SKTVMSGGTGP
t6      ALNEKSVADMTRAKSLKSLFRIVTPYPFSIKNIPCAVAIHT-LETIEMF-SKTVMTGGTGV
Fago133 ALNEKTTADMTRAKALKSLFRIVTPYPFSIKDIPCAVAIHT-LOTLEMF-SKEVMTGGTGI
Rb69     ALNEKVVSDMSRAKQLKSLFRIVTPYLTIXDIPCAVINHTAMEIGGLY-PKEIMGCGTGV
Aehl     AIDEKVSVDMSRAKQIKSLTERTMTPYLTVDIPADVAIHT-YDTQEMY-SKKVVSGGTGI
Ae65     AKDEKSAQDMTRAKQIKSLFRMVTPLYLTVDIPCAVINHT-YETQEMF-SKTVMSGGTGP
Kvp40    AQNEKSVADMMSRAKQLKSLFRIITPYFTMLDIPCAINHT-YQTQEIY-SKTVMSGGTGI
Rb43     ALSDNDKQDMTRAKALKGMFRMVTPLYLADLDIPMVCINHT-YDTQEMY-SKKVVSGGTGL
PSSM2    ALDDKQVSDMTKSQLVKGAFRMLTLKLGOANIPLIVTNHT-YDVIGSVPTKEMCGGSGL
PSEM4    SEAGKETRDMTRAQVYKSI FRLVTLKLGLKANVPLIVTNHT-YDVVGAYIPTKEMCGGSGL
      (      ** ) ( ) *      * ) *      * ( *      * ) *      * ) *      * )

```

Fig. 1A

Fig. 1B

ES 2 729 302 T3

RB49	MS-VLEKLKKNSTLKTTAVLSKSSFFNEKTNTRTKIPMLNIAFSGDLKKGFQSGLIFFAGPSKHFK	65
T4	MSDLKSRLIKASTSKLTAELTASKFFNEKDVVR TKIPMMNIALSGEITGGMQSGLLILAGPSKSFK	66
RB49	SNMGLTCVSAYMKQNPDAACLFDFSEFGITSAYLES MGVD PDRVVHVPIKNIEELKFEIM	125
T4	SNFGLTMVSSYMRQYPDAVCLFYDSEFGITPAYLRSMGVDPERVIHTPVQSLEQLRIDMV	126
RB49	NQLEQITREDKVIIIFIDSIGNLASKKEVEDAINEKSAQDMTRAKALKGLFRMVTPYLTMN	185
T4	NQLDAIERGEKV VVFIDSLGNLASKKETEDALNEKVSDMTRAKTMKSLFRIVTPYFSTK	186
RB49	DIPCIAINHTYETQEMFSKTVMSGGTGAMYSANEVFIIGRRQQKEGTEITGYDFILNAEK	245
T4	NIPCIAINHTYETQEMFSKTVMSGGTGPMYSADTVFIIIGKRQIKDGSDLQGYQFVLNVEK	246
RB49	SRTVKEKSKEFIISVTFSGGIDPYSGLLELAVELGWVVKPSNGWYSRSILNTETGEMETEE	305
T4	SRTVKEKSKEFIIDVKFDGGIDPYSGLLDMALELGFVVKPKNGWYAREFLDEETGEMIREE	306
RB49	RKFRACKETNSIEFWKPLLTNDKFNEAINDHYKLGQVISDEAVDKEIEDML	355
T4	KSWRAKDTNCTTFWGPLEFKHQPF RDAIKRAYQLGAIDSNEIVEAEVDELI	356

Fig. 2

100

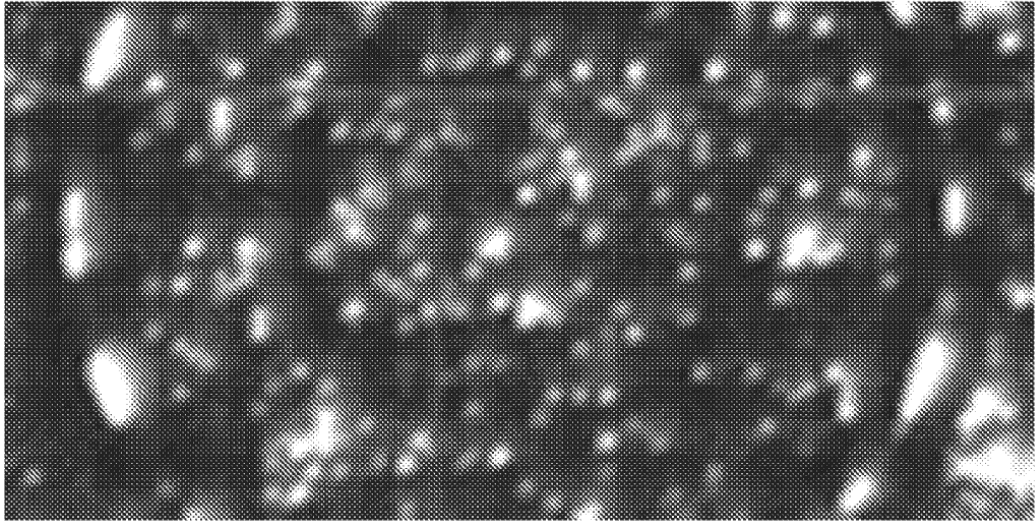


Figura 3A

150

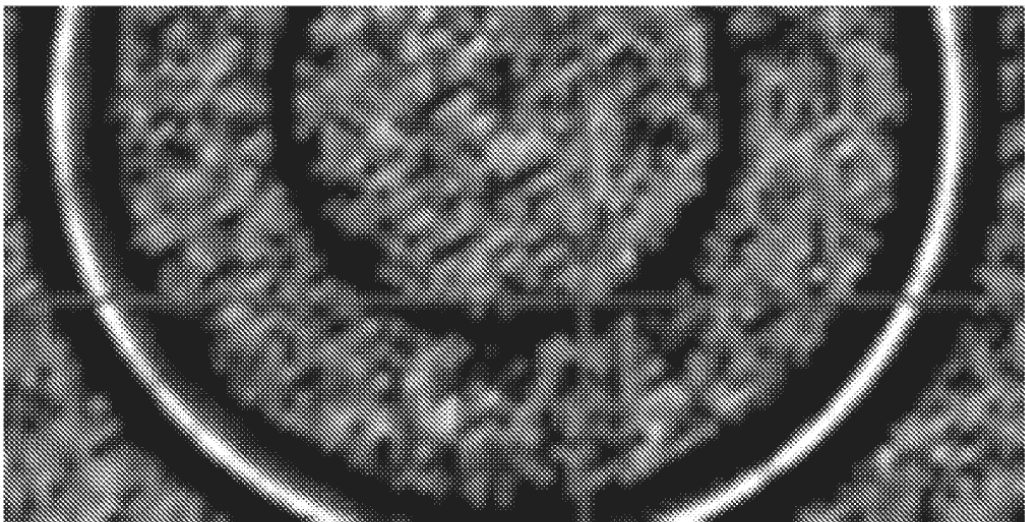


Figura 3B

200

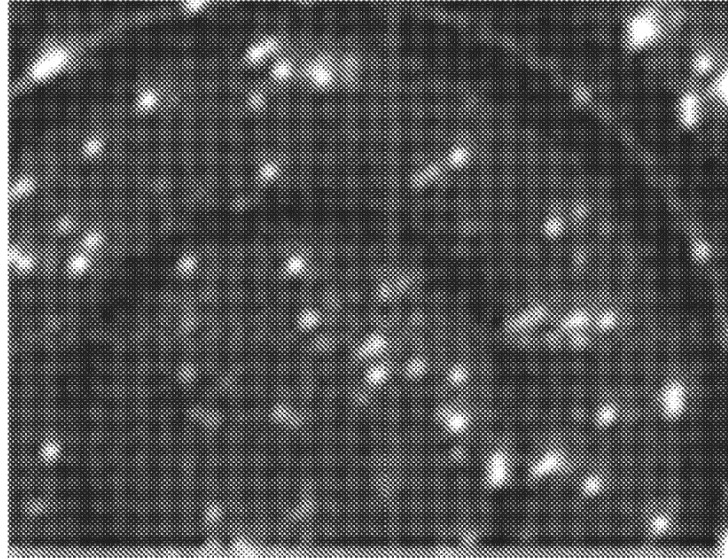


Figura 4A

250

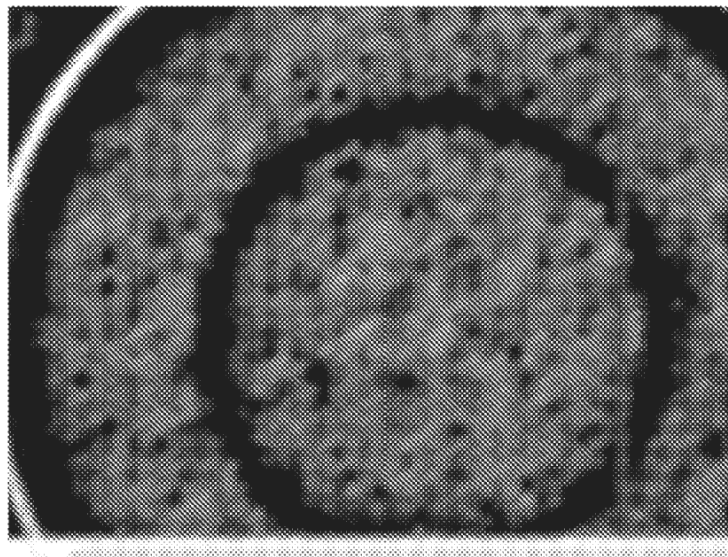


Figura 4B