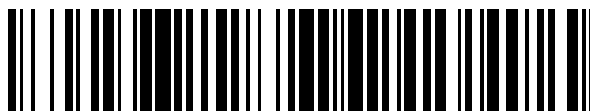


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 768 773**

51 Int. Cl.:

**C12N 7/00** (2006.01)

**A61K 35/76** (2015.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.10.2015 PCT/EP2015/073296**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.04.2016 WO16055586**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.10.2015 E 15775457 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2019 EP 3201323**

54 Título: **Modificación de bacteriófagos**

30 Prioridad:  
**08.10.2014 GB 201417810**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**23.06.2020**

73 Titular/es:  
**PHICO THERAPEUTICS LTD (100.0%)  
Bertarelli Building, Bourn Hall, High Street  
Bourn, Cambridge CB23 2TN, GB**

72 Inventor/es:  
**FAIRHEAD, HEATHER;  
WILKINSON, ADAM;  
BARNARD, ANNE;  
SEVERI, EMMANUELE;  
ANDERSON, NEIL y  
PITTS, KATY**

74 Agente/Representante:  
**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

ES 2 768 773 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

Modificación de bacteriófagos

- 5 La presente invención se refiere a un método para la modificación del genoma de un fago lítico diana, y los usos del método.

**Antecedentes de la invención**

- 10 Los bacteriófagos son los organismos más abundantes en el mundo y se estima que en cualquier momento hay presentes  $10^{30}$ . Según nos consta, los bacteriófagos pueden habitar cualquier entorno imaginable (Brabban et al., 2005), proporcionando de esta manera un enorme reservorio de diversidad biológica para su uso en biotecnología. Los fagos se han utilizado en una variedad de aplicaciones, tales como fagos de presentación para caracterizar interacciones proteína-proteína (Smith y Petrenko, 1997), ensayos diagnósticos para la rápida identificación de  
 15 agentes patógenos bacterianos (Dobozi-King et al., 2005), y en el tratamiento de infecciones bacterianas mediante "terapia con fagos" (Harper et al., 2011). Otro uso de los fagos es como base de modificación para producir vehículos de suministro genético a medida, que se puede utilizar para el suministro de genes que codifiquen proteínas tóxicas que se dirijan a bacterias patógenas. Dicha estrategia se describe en el sistema SASPject (documento WO 2009/019293), en el que se modifican los bacteriófagos para que sean no líticos, por tanto, no  
 20 viables en último término, y que llevan un casete de expresión del gen SASP, que se suministra en las bacterias diana, lo que da lugar a la rápida expresión de SASP. SASP quiere decir pequeñas proteínas de espora solubles en ácido, que protegen el ADN de endosporas de bacterias grampositivas durante la latencia. Sin embargo, al expresarse la SASP en las células vegetativas, se produce una rápida unión de la SASP al ADN de la célula de una manera no específica de secuencia (Nicholson et al., 1990) dando lugar a una muerte celular rápida.

- 25 Los fagos se pueden dividir ampliamente en fagos moderados y fagos no moderados (Abedon, 2008). Los fagos moderados son capaces de existir con dos tipos de vida distintos. En un tipo de vida, los fagos moderados se replican "líticamente" - infectan la célula huésped, se replican y producen una nueva progenie de fagos, un proceso que termina con la lisis de la célula y la liberación de partículas maduras de fago. En el otro tipo de vida, los fagos moderados infectan la célula y se integran en el genoma de la célula huésped, normalmente en sitios de unión específicos, convirtiéndose en "profagos". De esta manera, se convierten en una parte transitoria del genoma de la célula huésped y se replican junto con el ADN de la célula huésped. El profago integrado es inocuo para su célula huésped mientras está en este estado integrado, y a menudo puede proporcionar una ventaja selectiva a la célula, proporcionando genes adicionales a la célula, por ejemplo el profago CTX proporciona genes de toxina CTX al *Vibrio cholera*, aumentando la virulencia de dichas cepas en comparación con las cepas que no llevan el gen de toxina  
 30 (Waldor y Mekalanos, 1996). Por el contrario, los fagos no moderados, conocidos de otra manera como fagos "líticos", solo son capaces de replicarse con un tipo de vida lítico como se ha descrito anteriormente - no pueden integrarse en el ADN de la célula huésped y por lo tanto nunca llegan a formar parte del genoma de la célula huésped: Por lo tanto, dichos fagos se describirán como "líticos obligados" para distinguirlos de los fagos moderados que son capaces de la replicación lítica y por profagos.

- 35 Cuando se escoge un fago para la modificación genética, por ejemplo, cuando dicho fago actúa como vector de suministro de un gen que codifique una proteína antibacteriana, tal como una SASP, la viabilidad del fago para la modificación genética es un factor importante. En términos generales, los bacteriófagos moderados se modifican genéticamente de manera fácil, posibilitando que las especies bacterianas huéspedes se puedan modificar mediante técnicas de genética molecular convencionales que impliquen la recombinación y selección por marcadores de resistencia, o un sistema de recombinodificación (Thomason et al., 2014).

- 40 Los fagos moderados, en forma de lisógenos que llevan el ADN del fago integrado como un profago, se pueden modificar para que lleve un ADN exógeno unido a cualquiera de una amplia matriz de marcadores genéticos, tales como marcadores de resistencia a antibióticos o metales pesados. Dichos marcadores se pueden unir a un ADN exógeno y se flanquean por regiones de ADN del profago y se clonan en vectores adecuados que no son replicantes (vectores suicidas) en el huésped bacteriano (lisógeno). Con la introducción de dichos plásmidos en la bacteria lisogénica, mediante métodos comunes tales como la conjugación o la transformación química o eléctrica, se pueden  
 50 seleccionar los recombinantes que se hayan integrado mediante secuencias homólogas presentes en el plásmido, mediante el marcador de resistencia unido al ADN exógeno. También se pueden utilizar marcadores contra genéticos en la modificación de fagos moderados. El fago recombinante que retenga el marcador de resistencia se puede explorar mediante métodos comunes tales como PCR. De manera alternativa, se puede modificar un marcador contra genético, tal como *sacB*, en el armazón del plásmido utilizado para la modificación de dicho fago, y se puede aislar el profago recombinante que solo tiene el ADN exógeno seleccionando el marcador de resistencia unido al ADN exógeno, pero contra el marcador contra genético. El genotipo se puede confirmar mediante PCR. Dichos vectores están disponibles de manera común. Dicho fago modificado puede inducirse a partir de la cepa lisogenizada, por ejemplo, mediante la adición de Mitomicina C (Williamson et al., 2002) en cuyo punto el fago se escinde del cromosoma del huésped y entra en su fase lítica, de manera que el marcador retenido no puede  
 60 seleccionarse más, pero el marcador y el ADN exógeno permanece en el genoma del fago.

El aislamiento del fago lítico modificado genéticamente, sin embargo, no se puede conseguir utilizando los mismos métodos descritos anteriormente. Por ejemplo, es imposible utilizar una selección positiva convencional para aislar los fagos líticos obligados modificados, ya que no se pueden seleccionar tal como por marcadores de resistencia a antibióticos o metales pesados, que transmiten resistencia a la bacteria, debido al tipo de vida obligatoriamente lítica del fago. El ADN del fago nunca se convierte en parte del genoma de la célula huésped y por lo tanto los marcadores genéticos de resistencia que transmiten resistencia al huésped no se pueden seleccionar cuando se localizan en los fagos líticos obligados.

Se han desarrollado algunas técnicas para la modificación de fagos líticos. Uno de dichos ejemplos es la técnica BRED (recombinación de bacteriófago de ADN electroporado) (Marinelli et al., 2008), que utiliza una estrategia de "recombinodificación", y que se ha descrito para la modificación de fagos de *Mycobacterium*. Los métodos de recombinodificación para la modificación de los genomas bacterianos se describió por primera vez en el sistema  $\lambda$  Red (Yu et al., 2000). En esta técnica, las proteínas de recombinación Exo y Beta catalizan la recombinación eficaz de la secuencia de ADN lineal introducida en la célula huésped mediante transformación. La estrategia BRED utiliza de manera similar las proteínas promotoras de la recombinación - las proteínas gp60 y gp61 tipo RecE/RecT de un bacteriófago de *Mycobacterium* - para promover altos niveles de recombinación cuando los genomas del fago se co-transforman con fragmentos de ADN lineal "direccionado" en células de *M. smegmatis*. Entonces se explora el fago recombinante y se identifica con relativa facilidad debido a la alta eficacia de recombinación. Sin embargo, dicha estrategia se basa en el desarrollo de un sistema de recombinodificación eficaz en la especie bacteriana escogida. Además, los genomas de los fagos son grandes (Hendrix, 2009) y la transformación de grandes moléculas de ADN es ineficaz incluso en bacterias fácilmente transformables tales como *E. coli* (Sheng et al, 1995), y las técnicas de transformación eficaz no se han desarrollado en muchas especies bacterianas.

Se han desarrollado algunas técnicas para la modificación de ciertos bacteriófagos. Por ejemplo, se ha desarrollado una técnica conocida como RIPH (inhibición de la replicación de fagos mediada por Rho\*) para el fago T4 (Pouillot et al., 2010). Los genes tempranos esenciales para la replicación del fago se transcriben como ARN concatenados de ejecución continua que necesitan el factor terminador Rho del huésped para la producción de proteínas tempranas. Se descubrió que modificando *E. coli* para que contuviera una copia de Rho mutada sobre expresada controlada por un inductor, llamada Rho\*, se inhibía la producción de proteínas tempranas del T4 y por lo tanto se inhibía reversiblemente la replicación del fago T4, con un mínimo efecto sobre la viabilidad de la célula huésped. En este estado, el genoma de T4 no se replica y no hay continuación del ciclo de vida del fago hacia la síntesis de fagos maduros y la lisis, pero no se pierde de la célula y es un sustrato para la recombinación. En la técnica RIPH, se utiliza en sistema  $\lambda$  Red para dirigir la recombinación en el genoma del T4 mientras está en este estado suspendido estable. La retirada del inductor permite que el fago continúe con su ciclo de vida y se forma el fago modificado maduro.

Otros ejemplos de sistemas de modificación de fagos líticos obligados se encuentran en el fago T7. Los genes de *E. coli* *trxA* y *cmk* son necesarios para la propagación del fago T7 pero no son necesarios para el crecimiento de la célula huésped (Qimron et al, 2006; Mark, 1976). Por lo tanto, se podría modificar el T7 para que lleve cualquiera de estos genes "marcadores", seleccionando el fago recombinante en células huésped modificadas que carezcan de los genes marcadores. Sin embargo, en ambos ejemplos de T4 y T7, se necesita un conocimiento bastante específico y detallado de la maquinaria de replicación del fago, sobre los genes de la célula huésped que son necesarios específicamente para la replicación del fago.

Yoichi et al., en J. Biotech., 115(1), 101-107 (2005) describen el cambio de especificidad en la infección del fago T2 mediante la alteración de la proteína gp38 de las fibras de la cola. Tao et al., en PNAS, 110(15), 5846-5851 (2013) describen el suministro *in vitro* e *in vivo* de genes y proteínas utilizando cabezas vacías de bacteriófago T4 como un vehículo de suministro progenético. DePorter y McNaughton en Bioconjugate Chemistry 25(9), 1620-1625 (2014) describen nanovehículos de bacteriófago M13 para el suministro intracelular de proteínas exógenas a las células cancerosas de próstata humanas.

Sería deseable tener una técnica para modificar el genoma de los fagos líticos que no se base en un conocimiento detallado de los genes implicados en la ruta de replicación del fago o los genes de la célula huésped necesarios para la propagación del fago en la célula. Sería deseable adicionalmente que dicha técnica sea aplicable ampliamente a los fagos de cualquier especie bacteriana.

### Sumario de la invención

La presente invención proporciona: un método para la incorporación en el genoma de un fago lítico diana de una secuencia de ADN exógeno, donde el genoma del fago lítico diana incluya una primera secuencia diana y una segunda secuencia diana, cuyo método comprende:

(a) proporcionar un vector que contenga una región de direccionamiento del fago que comprenda

(i) un determinante de intervalo de huéspedes de un fago marcador, diferente del determinante de intervalo de huéspedes del fago lítico diana, y

(ii) una secuencia de ADN exógeno:

donde la región de direccionamiento del fago está flanqueada por la primera y segunda secuencias flanqueantes homólogas a la primera y segunda secuencias del genoma del fago lítico diana;

5 (b) introducir el vector en una primera célula huésped, cuya célula huésped es un huésped para el fago lítico diana;

10 (c) infectar la primera célula huésped con el fago lítico diana;

(d) permitir que tenga lugar la replicación y recombinación del fago de manera que el genoma del fago lítico diana se modifique;

15 (e) propagar el fago resultante en una segunda célula huésped, cuya célula huésped es un huésped del fago marcador y no del fago lítico diana; y

(f) recolectar el fago resultante, de manera que el genoma del fago lítico diana está modificado por la incorporación en el de una secuencia de ADN exógeno.

20 Se ha descubierto sorprendentemente que se puede utilizar un determinante del intervalo de huéspedes de un fago como marcador genético para modificar el genoma de un fago relacionado. Los inventores han llamado a esta técnica Selección de determinante del intervalo de huéspedes (HORDS). La presente invención es particularmente útil para la modificación genética de fagos líticos obligados que no pueden formar lisógenos, ya que proporciona un medio de selección genética que no se basa en características de selección de la célula huésped, sino que en vez de eso selecciona una característica hereditaria del fago en su estado lítico.

25 Esta técnica no se basa en el conocimiento detallado específico de los genes implicados en la ruta de replicación del fago y/o en los genes de la célula huésped necesarios para la propagación del fago en la célula, no necesitando de esta manera una experimentación excesiva sobre el fago antes de la modificación. Además, esta técnica se puede aplicar ampliamente a fagos de cualquier especie bacteriana. Esta técnica necesita la identificación de factores del fago que dictan su intervalo de huéspedes, junto con factores del fago relacionado. Esto se puede llevar a cabo fácilmente por un experto en la técnica, según las directrices de esta solicitud.

30 El genoma del fago lítico diana se modifica por la incorporación en éste de una secuencia de ADN exógeno. El genoma del fago lítico diana puede modificarse adicionalmente mediante la incorporación de una mutación tal como una mutación puntual o creando una eliminación. También se pueden hacer combinaciones de estas modificaciones.

35 Debido a que la primera y segunda secuencias flanqueantes de la región de direccionamiento del fago son homólogas a la primera y segunda secuencias diana del genoma del fago lítico diana, una vez que la primera célula huésped contenga tanto el vector como el fago lítico diana, el fago puede replicarse y tendrá lugar la recombinación entre los pares de secuencias homólogas. A continuación de la recombinación, solo los fagos resultantes que lleven el determinante de intervalo de huéspedes del fago marcador se pueden propagar en la segunda célula huésped. Esto hace posible la selección del fago resultante deseado que contenga el determinante de intervalo de huéspedes del fago marcador.

40 La primera y segunda secuencias diana del genoma del fago lítico diana pueden ser contiguas o no contiguas. En una disposición, la primera y segunda secuencias del genoma del fago lítico diana no son contiguas. De acuerdo con esta disposición, cuando se produce un evento de recombinación entre la primera y la segunda secuencias flanqueantes y la primera y segunda secuencias diana, se escinde la región de ADN entre la primera y segunda secuencias diana del genoma del fago lítico diana lo que da como resultado una eliminación. De manera ventajosa, cuando la primera y segunda secuencias diana del genoma del fago lítico diana flanquean un gen del fago o parte del mismo, dicha eliminación da como resultado la inactivación del gen después de la recombinación. En una disposición el gen del fago es un gen de lisis tal como de una *endolisina*. De esta manera el fago lítico diana se puede convertir en no lítico.

45 La modificación del genoma del fago lítico diana implica la incorporación de una secuencia de ADN exógeno y de esta manera la región de direccionamiento del fago vector comprende adicionalmente una secuencia de ADN exógeno para su incorporación en el genoma del fago diana. Debido a que la secuencia de ADN exógeno y el determinante de intervalo de huéspedes del fago marcador se encuentran dentro de la primera y segunda secuencias flanqueantes de la región de direccionamiento del fago, la recombinación del fago para seleccionar el determinante de intervalo de huéspedes dará como resultado la incorporación de la secuencia de ADN exógeno en el fago resultante. La primera y segunda secuencias diana del genoma del fago lítico diana pueden ser contiguas o no contiguas. Cuando no son contiguas, la incorporación de la secuencia de ADN exógeno dará como resultado la eliminación simultánea de una región del genoma. Cuando la primera y la segunda secuencias diana se posicionan en un gen del fago o cuando flanquean un gen del fago o parte del mismo, la incorporación de la secuencia de ADN exógeno dará como resultado la inactivación simultánea del gen después de la recombinación.

5 Cuando es necesario que se incorpore una mutación, tal como una mutación puntual en el fago lítico diana, al menos una de la primera y segunda secuencias flanqueantes de la región de direccionamiento del fago contendrán la mutación en comparación con la primera y segunda secuencias diana del genoma del fago lítico diana. Con la replicación y recombinación del fago, el genoma del fago lítico diana se modificará de manera que incorpore la mutación. De esta manera, se aislará el fago que lleve el determinante de intervalo de huéspedes del fago marcador y se podría explorar la presencia de la mutación.

10 Como se ha descrito anteriormente, la introducción de dichas mutaciones podría combinarse opcionalmente con la incorporación de una secuencia de ADN exógeno junto con una eliminación en el fago lítico diana.

Normalmente el vector que contiene la región de direccionamiento del fago es un plásmido. Dichos vectores son capaces de la replicación en la primera célula huésped.

15 De acuerdo con la presente invención, el determinante de intervalo de huéspedes del fago marcador codifica normalmente una proteína de la placa base, o una proteína de las fibras de la cola, o región de las mismas. En general, en el caso de las proteínas de las fibras de la cola, cada una comprende una región de unión al receptor en el extremo C para unirse a la bacteria diana y una región de extremo N que une la región de unión al receptor del extremo C con el cuerpo del bacteriófago. En una disposición, tomando el Phi33 y el fago relacionado como ejemplo, la región del extremo N comprende los aminoácidos 1 a 628 de la proteína de las fibras de la cola y la región del extremo C comprende los aminoácidos 629 a 964 de la proteína de las fibras de la cola.

25 La región del extremo C puede tener no más de un 96 % de identidad de secuencia con la región del extremo C del bacteriófago Phi33 y puede ser de uno cualquiera de los bacteriófagos, Phi33, LBL3, SPM-1, F8, PB1, KPP12, LMA2, SN, 14-1, JG024, NH-4, PTP47, C36, PTP92 y PTP93. Se prefieren identidades de secuencia de aminoácidos menores de la región del extremo C. Ventajosamente, la identidad de secuencia es menor del 90 %, más ventajosamente menor del 80 %, preferentemente menos del 70 %, más preferentemente menos del 60 %, más preferentemente aún menos del 50 %, particularmente preferentemente menos del 40 %, más particularmente preferentemente menos del 30 %. La región del extremo N puede tener al menos un 90 % y ventajosamente al menos un 95 % de identidad de secuencia con la región del extremo N del bacteriófago Phi33 y puede ser de uno cualquiera de los bacteriófagos, Phi33, LBL3, SPM-1, F8, PB1, KPP12, LMA2, SN, 14-1, JG024, NH-4, PTP47, C36, PTP92 y PTP93. Normalmente, cada proteína de las fibras de la cola tiene más de un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de las fibras de la cola del bacteriófago Phi33, ventajosamente más del 85 %, preferentemente más del 90 % y más preferentemente más del 95 % de identidad de secuencia entre ellas. La región del extremo N y la región del extremo C pueden ser del mismo bacteriófago para proporcionar una proteína de las fibras de la cola homóloga. La región del extremo N y la región del extremo C pueden ser del mismo bacteriófago para proporcionar una proteína de las fibras de la cola homóloga. En una disposición donde la proteína de las fibras de la cola del fago es homóloga, cada proteína de las fibras de la cola es de un bacteriófago seleccionado de entre Phi33, LBL3, SPM-1, F8, PB1, KPP12, LMA2, SN, 14-1, JG024, NH-4, PTP47, C36, PTP92 y PTP93.

En una disposición, la presente invención se puede utilizar para modificar un bacteriófago lítico obligado. En otra disposición, la invención se puede utilizar para modificar un fago moderado, durante el crecimiento lítico.

45 En una disposición adicional, la presente invención es particularmente útil para la modificación de un bacteriófago lítico obligado para su uso como vehículo de suministro genético. En una disposición preferida, la presente invención se podría utilizar para modificar un fago lítico para que lleve un gen de una proteína antibacteriana.

50 Como alternativa a los antibióticos convencionales, una familia de proteínas que ha demostrado una actividad antibacteriana de amplio espectro dentro de las bacterias comprende las proteínas pequeñas de esporas solubles en ácido de tipo  $\alpha/\beta$  (conocidas de aquí en adelante como SASP). Dentro de las bacterias, las SASP se unen al ADN bacteriano: la visualización de este proceso, utilizando microscopía crioelectrónica, ha demostrado que el SspC, la SASP más estudiada, reviste el ADN y forma dominios que protruyen y modifica la estructura del ADN (Francesconi et al., 1988; Frenkiel-Krispin et al., 2004) desde el ADN tipo B (a una distancia de 3,4 nm) hacia el tipo A (3,18 nm; el ADN tipo A tiene una distancia de 2,8 nm). Los motivos de la SspC que protruyen interactúan con filamentos de SspC del ADN adyacente empaquetando los filamentos en un ensamblaje estrecho de hélices nucleoproteicas. En 2008, Lee et al., publicó la estructura cristalina con una resolución de 2.1 Å de una SASP tipo  $\alpha/\beta$  unido a un dúplex de ADN de 10 pb. En el complejo, la SASP tipo  $\alpha/\beta$  adopta un motivo de hélice de vuelta helicoidal, interactúa con el ADN mediante contactos de agrupamientos menores, se une a aproximadamente 6 pb del ADN como un dímero y el ADN está en una conformación tipo A-B. De esta manera se detiene la replicación del ADN y, cuando se une, la SASP evita la transcripción de ADN. La SASP se une al ADN de una manera no específica de la secuencia (Nicholson et al., 1990) de manera que las mutaciones del ADN bacteriano no afecten la unión de las SASP. Las secuencias de SASP tipo  $\alpha/\beta$  se pueden encontrar en el apéndice 1 del documento WO 02/40678, incluyendo la SASP-C de *Bacillus megaterium* que es la SASP de tipo  $\alpha/\beta$  preferida. El documento WO 02/40678 describe el uso de un agente antimicrobiano de bacteriófago modificado para incorporar un gen de SASP.

Los vectores de bacteriófago modificados para que contengan un gen de SASP se han llamado en general vectores SASPject. Una vez que se ha suministrado el gen SASP de una bacteria diana, se produce el SASP en el interior de las bacterias donde se une al ADN bacteriano y cambia la conformación del ADN desde el tipo B hacia el tipo A. La producción de suficiente SASP dentro de las células bacterianas diana produce una caída de la viabilidad de células afectadas.

En realizaciones particularmente preferidas, el método de la presente invención puede utilizarse para modificar un casete de expresión de SASP en un fago para crear un vector SASPject, esta técnica se podría utilizar también para modificar un casete de expresión de SASP en un fago y simultáneamente eliminar un gen lítico para crear un vector SASPject.

En consecuencia, en una disposición de acuerdo con la invención, el ADN exógeno comprende un gen que codifica una proteína pequeña de esporas soluble en ácido  $\alpha/\beta$  (SASP). De esta manera, el método de la invención puede utilizarse para producir un bacteriófago modificado capaz de infectar una pluralidad de diferentes bacterias diana. El bacteriófago modificado incluye una SASP que es tóxica para la bacteria diana, donde el bacteriófago normalmente es no lítico.

En un aspecto, el término 'SASP' como se utiliza en la presente memoria descriptiva se refiere a una proteína con una actividad de SASP tipo  $\alpha/\beta$ , es decir, la capacidad de unirse al ADN y modificar su estructura desde su forma tipo B hacia su forma tipo A, y no solo cubre las proteínas enumeradas en el apéndice 1 del documento WO 02/40678 sino también cualquier homóloga de las mismas así como cualquier otra proteína que tenga actividad de SASP tipo  $\alpha/\beta$ . En un aspecto alternativo, el término 'SASP' como se utiliza en la memoria descriptiva se refiere a cualquier proteína enumerada en el apéndice 1 del documento WO 02/40678, o cualquier homóloga que tenga al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con una cualquiera de las proteínas listadas en el apéndice 1 del documento WO 02/40678. En otro aspecto alternativo, el término 'SASP' como se utiliza en la memoria descriptiva se refiere a cualquier proteína enumerada en el apéndice 1 del documento WO 02/40678.

El gen de SASP puede escogerse de entre uno cualquiera de los genes que codifican la SASP desvelados en el Apéndice 1 del documento WO 02/40678. En una disposición preferida, la SASP es una SASP-C. La SASP-C puede ser del *Bacillus megaterium*.

Se prefiere que el gen de la SASP está bajo el control de un promotor constitutivo que es de manera ventajosa lo suficientemente fuerte para dirigir la producción de niveles tóxicos de SASP cuando el bacteriófago está presente en múltiples copias en la bacteria diana. Los promotores constitutivos útiles incluyen el *pdhA* de las subunidades alfa del componente E1 de la piruvato deshidrogenasa, *rpsB* para la proteína S2 ribosómica 30S, *pgi* para la glucosa-6-fosfato isomerasa y el promotor genético *fdx* de la fructosa bisfosfato aldolasa. Los promotores regulados preferidos, activos durante la infección, son *lasB* para la elastasa. Estos promotores son normalmente de *P. aeruginosa*. Los promotores que tienen una secuencia que presente al menos un 90 % de identidad de secuencia con estas secuencias promotores también se pueden utilizar.

Cuando el método de la invención se utiliza para proporcionar un bacteriófago modificado, este puede expresar una pluralidad de determinantes de intervalo de huéspedes, donde cada determinante de intervalo de huéspedes tiene una especificidad diferente para la bacteria huésped. De manera alternativa, el bacteriófago modificado, puede expresar una proteína determinante de intervalo de huéspedes híbrida que comprende una secuencia de aminoácidos de una pluralidad de diferentes bacteriófagos. Cada determinante de intervalo de huéspedes puede ser una proteína de las fibras de la cola. La especificidad del huésped bacteriano de los determinantes de intervalo de huéspedes está ventajosamente dentro de la misma especie bacteriana.

En un aspecto adicional, se proporciona una composición para la inhibición o prevención del crecimiento de las células bacterianas, que comprende un bacteriófago modificado o mezcla de los mismos como se define en el presente documento y un vehículo. Dicha composición puede tener un amplio intervalo de usos y por lo tanto se va a formular de acuerdo con el uso que se pretende. La composición se puede formular como un medicamento especialmente para el tratamiento del ser humano y se pueden tratar distintas afecciones, incluyendo las infecciones bacterianas. Entre estas infecciones que se pueden tratar de acuerdo con la presente invención son infecciones localizadas en tejidos u órganos, incluyendo las infecciones de la corriente sanguínea, infecciones tóxicas, vehículos dentales, infecciones respiratorias, e infecciones oculares. El vehículo puede ser un receptor o diluyente farmacéuticamente aceptable. La naturaleza exacta y las cantidades de los componentes de dichas composiciones se pueden determinar empíricamente y dependerán en parte de las vías de administración de la composición.

Las vías de administración a los receptores incluyen la intravenosa, intraarterial, oral, bucal, sublingual, intranasal por inhalación, tópica (incluyendo la oftálmica), intramuscular, subcutánea e intraarticular. Por comodidad de uso, las dosificaciones de acuerdo con la invención dependerán del sitio y tipo de la infección que se va a tratar o prevenir. Las infecciones respiratorias se pueden tratar mediante administración por inhalación y las infecciones oculares se pueden tratar utilizando gotas oftálmicas. También se proporcionan productos de higiene oral que contienen el bacteriófago modificado; se puede utilizar un enjuague bucal o pasta de dientes que contenga el bacteriófago

modificado de acuerdo con la invención formulado para eliminar las bacterias asociadas con la formación de la placa dental.

5 Un bacteriófago modificado producido de acuerdo con la invención se puede utilizar como un descontaminante bacteriano, por ejemplo, en el tratamiento de la contaminación bacteriana de superficie así como remedios del suelo o tratamiento del agua. El bacteriófago se puede utilizar en el tratamiento de personal médico y/o pacientes como un agente descontaminante, por ejemplo, como un lavado de manos. El tratamiento de las superficies de trabajo y el equipamiento también se proporciona, especialmente el que se utiliza en procedimientos hospitalarios o en la preparación de alimentos. Una realización particular comprende una composición formulada para su uso tópico en la prevención, eliminación o reducción de carga bacteriana y contaminación de un individuo a otro. Es importante limitar la transmisión de infecciones microbianas, particularmente en un entorno hospitalario donde son prevalentes bacterias resistentes a los antibióticos convencionales. Para dicho uso, el bacteriófago modificado puede contenerse en una solución salina de tampón Tris o solución salina de tampón de fosfato o se puede formular dentro de un gel o crema. Para un uso múltiple, se le puede añadir un conservante. De manera alternativa, el producto se puede liofilizar y se pueden añadir excipientes, por ejemplo, un azúcar tal como la sacarosa.

### Descripción detallada de la técnica

20 En la presente invención se ha descubierto que se pueden identificar múltiples fagos que lleven determinantes de intervalo de huéspedes homólogos. Dichos fagos pueden aislarse. Por ejemplo, se puede aislar el fago que infecte *Pseudomonas aeruginosa* explorando fagos de fuentes ambientales que sean capaces de formar placas en las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (Gill y Hyman, 2010). El fago aislado puede tener secuenciado y anotado todo su genoma. De manera alternativa, se podrían explorar en las bases de datos de secuencias de ADN los determinantes de intervalo de huéspedes. En septiembre de 2014 había ~1400 secuencias genómicas de fagos depositadas en la base de datos del Centro Nacional de Información biotecnológica (NCBI).

30 Los HRD pueden ser proteínas de las fibras de la cola, que se ha descubierto que son comúnmente proteínas responsables del reconocimiento/unión inicial a la bacteria huésped, por ejemplo, en el fago T4, T5 y T7 (Rakhuba et al., 2010). De manera alternativa, otros HRD pueden ser proteínas de la placa base. Los genomas de los fagos se pueden explorar en cuanto a secuencias potenciales de HRD evaluando la homología de todas las proteínas del genoma del fago con secuencias conocidas utilizando búsquedas BLAST. En ventajosos identificar las proteínas de las fibras de la cola que sean homólogas. Por ejemplo, se han identificado varios fagos Phi33, PTP47, PTP92 y C36 - con un amplio intervalo de huéspedes para las cepas de *P. aeruginosa*, y se han secuenciado sus genomas. El análisis de las secuencias del genoma de Phi33, PTP47, PTP92 y C36 revela que contienen genes que codifican supuestas proteínas de las fibras de la cola con un alto nivel de identidad de secuencias (identidad de aminoácidos entre paréntesis): C36 (96 %), PTP47 (86 %), PTP92 (83 %). Las búsquedas con BLAST han demostrado que estos 4 fagos están relacionados con otras 10 secuencias genómicas de fagos depositadas que, en conjunto, forman la familia de los fagos tipo PB1: PB1, SPM1, F8, LBL3, KPP12, LMA2, SN, JG024, NH-4, 14-1 (Ceyssens et al., 2009). Se evaluó la homología de estas supuestas proteínas de fibras de la cola. Después de un alineamiento BLAST de 2 secuencias, en comparación con la proteína de las fibras de la cola de Phi33 (identidad de aminoácidos entre paréntesis): LBL3 (96 %), SPM-1 (95 %), F8 (95 %), PB1 (95 %), KPP12 (94 %), LMA2 (94 %), SN (87 %), 14-1 (86 %), JG024 (83 %), NH-4 (83 %). Un alineamiento de los 14 fagos mencionados anteriormente se muestra en la Figura 6.

45 El análisis de las secuencias de proteínas de las fibras de la cola anotadas de estos 14 fagos reveló que la región del extremo N de las proteínas - equivalentes a los aminoácidos de las fibras de la cola de Phi33 1-628 - presentan un nivel incluso más alto de identidad de secuencia a nivel de aminoácidos que la identidad de secuencias de estas proteínas sobre su longitud completa, en el intervalo del 96-100 % para las 14 proteínas. Después de un alineamiento BLAST de 2 secuencias, en comparación con los aminoácidos 1-628 del extremo N de la proteína de las fibras de la cola de Phi33 (identidad de aminoácidos entre paréntesis): LBL3 (96 %), SPM-1 (96 %), F8 (96 %), PB1 (96 %), KPP12 (98 %), LMA2 (99 %), SN (99 %), 14-1 (97 %), JG024 (97 %), NH-4 (97 %), PTP47 (98 %), C36 (96 %), PTP92 (97 %). Sin embargo, la región del extremo C de la proteína - equivalente a los aminoácidos 629-964 de las fibras de la cola de Phi33 - no está tan conservada como la región del extremo N en algunas de las proteínas, siendo el intervalo de identidad de secuencia normalmente del 57-96 %. Después de un alineamiento BLAST de 2 secuencias, en comparación con los aminoácidos 629-964 del extremo C de la proteína de las fibras de la cola de Phi33 (identidad de aminoácidos entre paréntesis): LBL3 (94 %), SPM-1 (93 %), F8 (93 %), PB1 (94 %), KPP12 (87 %), LMA2 (85 %), SN (65 %), 14-1 (65 %), JG024 (57 %), NH-4 (57 %), PTP47 (64 %), C36 (96 %), PTP92 (57 %). El análisis de las fibras de la cola del fago de otros fagos bien caracterizados ha demostrado que poseen una región de unión a la placa base de la cola en el extremo N y una región de unión al receptor en el extremo C (Veesler y Cambillau, 2011). En un análisis experimental de su intervalo de cepas huéspedes, utilizando un ensayo de placas o ensayos de inhibición del crecimiento, los fagos Phi33, PTP47, PTP92 y C36 tenían un intervalo de huéspedes solapado pero no idéntico (Tabla 1). En conjunto con la evidencia establecida del papel de la región del extremo C de las fibras de la cola del fago que está implicada en la unión con el receptor del huésped bacteriano, y la variación de secuencia en la región del extremo C de estos 4 fagos, y su intervalo de huéspedes similar pero no idéntico, se postula que la variación del extremo C está asociada con el intervalo de huéspedes en el fago evaluado.

Se proporciona adicionalmente, de acuerdo con la presente invención, que los genes para las proteínas de las fibras de la cola homólogas se tomen de un fago y se añadan a otro, basándose en su alto nivel de identidad de secuencia de la región del extremo N. Se cree que la región del extremo N está implicada en la unión de las fibras de la cola a la cola del fago (Veesler y Cambillau, 2011), permitiendo la formación de un fago viable con el intervalo de huéspedes asociado con las fibras de la cola del fago donante. De manera alternativa se pueden producir genes híbridos de las fibras de la cola, que lleven la región de unión a la cola del extremo N conservada de las fibras de la cola de un fago receptor, junto con la región variable de unión al receptor del extremo C de una proteína de las fibras de la cola de un fago donante heterólogo, utilizando los genes de las fibras de la cola tales como los que se describen en el presente documento. Dichos genes híbridos de las fibras de la cola se podrían utilizar para reemplazar algunas de las fibras de la cola del fago. Esto proporciona una región del extremo N de las fibras de la cola híbridas (del fago receptor) y permite la formación de fagos viables con el intervalo de huéspedes asociado con la región de unión al receptor del extremo C de las fibras de la cola del fago donante. El trasplante de los genes híbridos de las fibras de la cola modificados en un fago receptor se ha demostrado en la presente invención. Utilizando técnicas de genética molecular convencionales, se ha modificado el Phi33 para que lleve híbridos de las fibras de la cola heterólogos de los siguientes fagos: PTP92, PTP47, LBL3, SPM-1, F8, PB1, KPP12, LMA2, SN, 14-1, NH-4. Todos los fagos modificados demostraron ser viables y capaces de formar placas en *P. aeruginosa*. (La nomenclatura de los híbridos de las fibras de la cola es la siguiente: A modo de ejemplo, un gen híbrido de manera que la región de unión a la cola del extremo N de Phi33 se hibrida con la región de unión al receptor del extremo C de PTP47 es Phi33(N)PTP47(C)).

El fago Phi33 y PTP92. Tienen un intervalo de huéspedes similar pero no idéntico. Por lo tanto se postula que el intervalo de huéspedes de PTP92 podría heredarse por Phi33, mediante el remplazo del gen de las fibras de la cola en Phi33 (denominada ORF32) por un gen híbrido de las fibras de la cola Phi33(N)PTP92(C). El gen híbrido se hace utilizando la secuencia de ADN que codifica la región del extremo N de Phi33 (equivalente a los aminoácidos 1-628) y la región del extremo C de PTP92 (equivalente a los aminoácidos 629-962), creando así un gen híbrido de las fibras de la cola. El razonamiento para utilizar estas regiones para crear este gen híbrido es evidente a partir de los análisis anteriores de estas proteínas. Las regiones del extremo N de ambas proteínas de las fibras de la cola, que se cree que están implicadas en la unión del fago, son idénticas al 97 %; las regiones del extremo C de ambas proteínas de las fibras de la cola, que se cree que están implicadas en la unión al receptor de la célula huésped, son idénticas en el 57 %. El gen híbrido de las fibras de la cola estaba flanqueado por el ADN de Phi33, utilizando ~1000 pb de la secuencia a cada lado de la ORF32 de Phi33 (el gen nativo de las fibras de la cola de Phi33), y se clonaron en un plásmido. El plásmido se introdujo en una cepa de *P. aeruginosa* susceptible a la infección por Phi33 y la cepa resultante se infectó con Phi33 para producir un lisado con fagos. Dentro de este lisado, existirían fagos recombinantes, que llevarían las fibras de la cola híbridas más que las fibras de la cola nativas de Phi33. El lisado con fagos se utilizó para infectar una cepa que era capaz de producir placas de PTP92 pero no de Phi33. Por lo tanto, el fago Phi33 no recombinante no se propagaría en este huésped y se seleccionaría contra las placas de Phi33 que llevan un gen híbrido de las fibras de la cola Phi33-PTP92 sería capaz de propagarse y se seleccionaría. Se aislaron las placas y se exploraron por PCR para evaluar su genotipo. Se descubrió que todas las placas ensayadas llevaban la región del extremo N de Phi33 y la región del extremo C de PTP92 y por lo tanto el intervalo de huéspedes de PTP92 se transfirió al Phi33.

El Phi33 se ha modificado de manera similar para que lleve híbridos de las fibras de la cola (lleva la región del extremo N de Phi33) de los siguientes fagos: PTP92, PTP47, LBL3, SPM-1, F8, PB1, KPP12, LMA2, SN, 14-1, NH-4. Todos los fagos modificados demostraron ser viables y capaces de formar placas en *P. aeruginosa*.

#### Descripción detallada de la invención

La presente invención se describirá ahora con mayor detalle por medio solo de ejemplos, y con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

La Figura 1 es un diagrama esquemático que muestra la construcción de los plásmidos que contienen *lacZ*ΔM15 y un gen de *endolisina*;

La Figura 2 es un diagrama esquemático que muestra la construcción de los plásmidos con las secciones de fibras de cola reemplazadas, para la modificación genética del fago al añadir SASP-C, o SASP-C además de un marcador *lacZ*α;

La Figura 3 es un diagrama esquemático que muestra la producción de un fago en el que se han añadido SASP-C o SASP-C además de un marcador *lacZ*α, al fago, mediante recombinación utilizando el HORDS como medio de selección para el fago recombinante;

La Figura 4 es un diagrama esquemático que muestra la construcción de los plásmidos con las secciones de fibras de cola reemplazadas, para la modificación genética del fago al reemplazar el gen de *endolisina* por SASP-C, o por SASP-C y un marcador *lacZ*α;

La Figura 5 es un diagrama esquemático que muestra la producción de un fago en el que el gen de la *endolisina*



se ha eliminado y remplazado por SASP-C o por SASP-C y un marcador *lacZα*, mediante recombinación utilizando HORDS como medio de selección del fago recombinante; y

5 La Figura 6 muestra el alineamiento de múltiples secuencias de los genes de las fibras de la cola de los fagos relacionados.

Se dan los siguientes ejemplos para demostrar la utilidad de la técnica HORDS en la adición de un ADN exógeno a un fago lítico obligado.

10 Como ejemplo, se puede clonar una región de ADN que comprende el gen de las fibras de la cola, o una sección del gen de las fibras de la cola, de un fago alternativo, y el gen de SASP-C del *Bacillus megaterium* controlado por un promotor *fda* de *Pseudomonas aeruginosa*, entre dos regiones del ADN de Phi33 que flanquean la región de fibras, o la sección de la misma, en un vector con un amplio intervalo de huéspedes *E. coli*/*P. aeruginosa*. Este plásmido se puede introducir en *P. aeruginosa*, y la cepa resultante se infectó con Phi33. A continuación de la recolección de la progenie del fago, se puede aislar un bacteriófago recombinante doble en el que las fibras de la cola del Phi33, o una sección de las fibras de la cola, se han remplazado por las nuevas fibras de la cola o sección de las fibras de la cola, y al que la región *fda*-SASP-C del ADN se ha introducido, mediante formación de placas en una cepa de *P. aeruginosa* adecuada que es un huésped para el nuevo bacteriófago recombinante, pero no es un huésped para Phi33.

20 En otro ejemplo, para la construcción de un derivado de Phi33 en el que se han introducido en el genoma dos secciones no relacionadas de ADN ajeno, se muestra en el presente documento solo a modo de ejemplo, cómo las fibras de la cola existentes, o una sección de las mismas, se pueden remplazar por fibras de la cola alternativas o sección de fibras de la cola de un bacteriófago diferente, mientras se añade simultáneamente un gen de SASP-C de *Bacillus megaterium* bajo el control de un promotor *fda* de *Pseudomonas aeruginosa*, junto con un marcador *lacZα* de *Escherichia coli* mediante recombinación homóloga. Se puede clonar una región de ADN que comprende el gen de las fibras de la cola, o una sección del gen de las fibras de la cola, de un fago alternativo, el gen de SASP-C del *Bacillus megaterium* controlado por un promotor *fda* de *Pseudomonas aeruginosa*, y el gen indicador *lacZα* de *Escherichia coli*, entre dos regiones del ADN de Phi33 que flanquean la región de fibras de la cola nativa, o sección de la misma, en un vector con un amplio intervalo de huéspedes *E. coli*/*P. aeruginosa*. Este plásmido se puede introducir en *P. aeruginosa*, y la cepa resultante se infectó con Phi33. A continuación de la recolección de la progenie del fago, se puede aislar un bacteriófago recombinante doble en el que las fibras de la cola del Phi33, o una sección de las fibras de la cola, se han remplazado por las nuevas fibras de la cola o sección de las fibras de la cola, y en el que se han introducido las regiones *fda*-SASP-C y *lacZα*, se pueden aislar mediante formación de placas en una cepa de *P. aeruginosa* adecuada que es un huésped para el nuevo bacteriófago recombinante, pero no es un huésped para Phi33. Si es necesaria la visualización del marcador *lacZα*, la cepa huésped de *Pseudomonas aeruginosa* que se utilice debería llevar el alelo *lacZΔM15* de *Escherichia coli* en una localización adecuada del genoma de la cepa huésped.

40 En otro ejemplo, para la construcción de un derivado de Phi33 en el que se elimina una región del genoma del bacteriófago, mientras se introduce simultáneamente una sección de ADN ajeno en el genoma, se muestra en el presente documento solo a modo de ejemplo, cómo las fibras de la cola existentes, o una sección de las mismas se pueden remplazar por fibras de la cola alternativas o sección de fibras de la cola de un bacteriófago diferente, mientras que se elimina simultáneamente el gen de *endolisina* nativo para hacer que fago sea no lítico, y también la introducción simultánea de un gen de SASP-C de *Bacillus megaterium* controlado por un promotor *fda* de *Pseudomonas aeruginosa*, mediante recombinación homóloga. Los recombinantes satisfactorios se pueden identificar mediante la selección bacteriófagos que forman placas en la cepa de *P. aeruginosa* que es un huésped del fago recombinante que lleva el nuevo determinante de intervalo de huéspedes, pero que no es un huésped para el fago nativo original, y que también se ha modificado de manera que el gen de la *endolisina* de Phi33 está presente en el genoma de la *P. aeruginosa*.

55 Una región de ADN que comprende el gen de las fibras de la cola, o una sección del gen de las fibras de la cola, de un fago alternativo, y el gen de SASP-C del *Bacillus megaterium* controlado por un promotor *fda* de *Pseudomonas aeruginosa*, entre dos regiones del ADN de Phi33 que flanquean la región de fibras de la cola nativa y la región de *endolisina*, o una sección de la misma, en un vector con un amplio intervalo de huéspedes *E. coli*/*P. aeruginosa*. Este plásmido se puede introducir en *P. aeruginosa*, y la cepa resultante se infectó con Phi33. A continuación de la recolección de la progenie del fago, se puede aislar un bacteriófago recombinante doble en el que las fibras de la cola del Phi33, o una sección de las fibras de la cola, se han remplazado por las nuevas fibras de la cola o sección de las fibras de la cola, y al que la región *fda*-SASP-C del ADN se ha introducido, y en el que se ha eliminado el gen de *endolisina* nativo, mediante formación de placas en una cepa de *P. aeruginosa* (*endolisina*<sup>+</sup>) adecuada que es un huésped para el nuevo bacteriófago recombinante, pero no es un huésped para Phi33.

65 Con el fin de generar una versión no lítica de un bacteriófago lítico mediante este método, se necesita una cepa huésped de *Pseudomonas aeruginosa* que sea huésped para el bacteriófago recombinante que lleva el nuevo determinante de intervalo de huéspedes, pero que no es un huésped para el bacteriófago nativo, pero que además, lleva el gen de *endolisina* de bacteriófago en una localización adecuada en el genoma de la *Pseudomonas*

*aeruginosa*. De manera similar, si se necesita la visualización de un bacteriófago que transmite el indicador *lacZα* se necesita una cepa huésped de *Pseudomonas aeruginosa* que sea huésped para el bacteriófago recombinante que lleva el nuevo determinante de intervalo de huéspedes, pero que no sea un huésped para el bacteriófago nativo, pero que además, lleve el alelo *lacZΔM15* de *Escherichia coli* en una localización adecuada. La localización genómica para la inserción de transgenes tales como estas deberían escogerse de manera que estén afectados los genes no esenciales y no se generen fenotipos no deseados como resultado de los efectos polares de la expresión de genes adyacentes. A modo de ejemplo, una de dichas localizaciones podría incluir la inmediatamente corriente abajo del gen *phoA* de *Pseudomonas aeruginosa*.

10 A modo de ejemplo, el gen de *endolisina* del Phi33 se puede clonar en un vector de *E. coli* que sea incapaz de replicarse en *P. aeruginosa*, entre dos regiones del ADN genómico de la cepa PAO1 de *P. aeruginosa* que flanquean el extremo 3' del *phoA*. Este plásmido se puede introducir en *P. aeruginosa* y se aísla para someterse a una única recombinación homóloga para integrar el plásmido completo en el genoma seleccionado de acuerdo con la adquisición de resistencia a la tetraciclina (50 µg/ml). Los aislados (*endolisina*<sup>+</sup>, *lacZΔM15*<sup>+</sup>) que se han sometido a un evento de segunda recombinación homóloga se pueden aislar entonces en un medio que contiene un 10 % de sacarosa (que utiliza el marcador contra seleccionable *sacB* presente en el armazón del plásmido).

20 A modo de ejemplo, el alelo *lacZΔM15* de *Escherichia coli* se puede clonar en un vector de *E. coli* que sea incapaz de replicarse en *P. aeruginosa*, entre dos regiones del ADN genómico de la cepa PAO1 de *P. aeruginosa* que flanquean el extremo 3' del *phoA*. Este plásmido se puede introducir en *P. aeruginosa* y se aísla para someterse a una única recombinación homóloga para integrar el plásmido completo en el genoma seleccionado de acuerdo con la adquisición de resistencia a la tetraciclina (50 µg/ml). Los aislados (*endolisina*<sup>+</sup>, *lacZΔM15*<sup>+</sup>) que se han sometido a un evento de segunda recombinación homóloga se pueden aislar entonces en un medio que contiene un 10 % de sacarosa (que utiliza el marcador contra seleccionable *sacB* presente en el armazón del plásmido).

25

### **Procedimientos experimentales**

Las reacciones de PCR para generar el ADN con fines de clonación se pueden llevar a cabo utilizando una ADN polimerasa Herculase Fusion II (Agilent Technologies), dependiendo de las temperaturas de fusión ( $T_m$ ) de los cebadores, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las reacciones de PCR con fines de exploración se pueden llevar a cabo utilizando una ADN polimerasa Taq (NEB), dependiendo de las  $T_m$  de los cebadores, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. A menos de que se establezca otra cosa, las técnicas de biología molecular generales, tales como la digestión por enzimas de restricción, electroforesis en gel de agarosa, ligaduras dependientes de la T4 ADN ligasa, preparación y transformación de células competentes se pueden basar en métodos descritos en Sambrook et al., (1989). Las enzimas se pueden adquirir en New England Biolabs o Thermo Scientific. El ADN se puede purificar a partir de reacciones enzimáticas y prepararse a partir de las células utilizando kits de purificación de ADN de Qiagen. Los plásmidos se pueden transferir desde las cepas de *E. coli* a las cepas de *P. aeruginosa* por conjugación mediada por la cepa auxiliar de conjugación HB101 (pRK2013) de *E. coli*. Se puede adquirir un sustrato cromogénico para la β-galactosidasa, S-gal, que al digerirse con la β-galactosidasa forma un precipitado negro cuando se quela con hierro férrico, en Sigma (S9811).

40

Los cebadores se pueden obtener en Sigma Life Science. Cuando los cebadores incluyen secuencias de reconocimiento para las enzimas de restricción, se pueden añadir de 2-6 nucleótidos adicionales en el extremo 5' para asegurar la digestión del ADN amplificado por PCR.

45

Todas las clonaciones, a menos de que se establezca otra cosa, se pueden conseguir ligando los ADN durante una noche con la T4 ADN ligasa y luego se transforman en cepas de clonación de *E. coli*, tal como DH5α o TOP10, con aislamiento en medio selectivo, como se describe en otros sitios (Sambrook et al., 1989).

50 Se puede utilizar un vector de amplio intervalo de huéspedes *E. coli* *IP. aeruginosa*, para transferir los genes entre *E. coli* y *P. aeruginosa*. Se produjo previamente un pSM1080 combinando un origen de replicación de amplio intervalo de huéspedes para permitir la replicación en *P. aeruginosa*, *oriT* de pRK2, el marcador genético *tetAR* para su uso tanto en *E. coli* como *P. aeruginosa* del plásmido pRK415, y el origen de replicación, *oriV*, de alto número de copias en *E. coli*, del plásmido pUC19.

55

Se puede utilizar un vector para *E. coli* que sea incapaz de replicarse en *P. aeruginosa*, pSM1104, para generar mutantes de *P. aeruginosa* por intercambio alélico. El pSM1104 se produjo previamente combinando el *oriT* de pRK2, el marcador genético *tetAR* para su uso tanto en *E. coli* como en *P. aeruginosa*, a partir del plásmido pRK415, el origen de replicación, *oriV*, de alto número de copias en *E. coli*, del plásmido pUC19, y el gen *sacB* de la cepa 168 de *Bacillus subtilis*, bajo el control de un promotor fuerte, para su uso como un marcador contra seleccionable.

60

### **Construcción de plásmidos para generar cepas de *Pseudomonas aeruginosa* que lleva el gen de *endolisina* de Phi33, o el gen *lacZΔM15*, de *Escherichia coli*, inmediatamente corriente abajo del locus de *phoA* del genoma bacteriano**

65

1. Se puede construir el plásmido pSMX301 (Figura 1), que comprende el pSM1104 que lleva un ADN flanqueando

el extremo 3' del PAO1 homólogo de *phoA* de *P. aeruginosa*, de la siguiente manera.

Se puede amplificar una región que comprende aproximadamente 1 kb del extremo del gen *phoA* de *P. aeruginosa* mediante PCR utilizando los cebadores B4300 y B4301 (Figura 1). El producto de PCR se puede limpiar entonces y digerirse con *SpeI* y *BglIII*. Se puede amplificar una segunda región que comprende aproximadamente 1 kb corriente abajo del gen *phoA* de *P. aeruginosa* mediante PCR utilizando los cebadores B4302 y B4303 (Figura 1). Este segundo producto de PCR se puede lavar entonces y digerirse con *BglIII* y *XhoI*. Las dos digestiones se pueden limpiar y ligar a pSM1104 que se ha diferido con *SpeI* y *XhoI*, en una ligadura de 3 vías, para dar lugar al plásmido pSMX301 (Figura 1).

El cebador B4300 consiste en un sitio de restricción de *SpeI* en 5' (subrayado), seguido por la secuencia localizada aproximadamente 1 kb corriente arriba del codón de parada de *phoA* de la cepa PAO1 de *P. aeruginosa* (Figura 1). El cebador B4301 consiste en los sitios de restricción para *BglIII* y *AflIII* en 5' (subrayados), seguidos por la secuencia complementaria hasta el final del gen *phoA* de la cepa PAO1 de *P. aeruginosa* (el codón de parada está en la casilla inferior; Figura 1). El cebador B4302 consiste en los sitios de restricción para *BglIII* y *AflIII* en 5' (subrayados), seguidos por la secuencia inmediatamente corriente abajo del codón de parada del gen *phoA* de la cepa PAO1 de *P. aeruginosa* (Figura 1). El cebador B4303 consiste en un sitio de restricción de *XhoI* en 5' (subrayado), seguido por una secuencia que es complementaria de la secuencia aproximadamente 1 kb corriente abajo del gen *phoA* de la cepa PAO1 de *P. aeruginosa*. (Figura 1).

Cebador B4300 5'-GATAACTAGTCCTGGTCCACCGGGTCAAG-3' (SEQ ID NO: 1)

Cebador B4301 5'-GCTCAGATCTTCCTTAAGtcaGTCGCGCAGGTTTCAG-3' (SEQ ID NO: 2)

Cebador B4302 5'-AGGAAGATCTGAGCTAGCTCGGACCAGAACGAAAAAG-3' (SEQ ID NO: 3)

Cebador B4303 5'-GATACTCGAGGCGGATGAACATTGAGGTG-3' (SEQ ID NO: 4)

2. El plásmido pSMX302 (Figura 1), que comprende el pSMX301 que lleva el gen de *endolisina* de Phi33 bajo el control de un promotor genético de *endolisina*, se puede construir de la siguiente manera.

El promotor del gen de *endolisina* puede amplificarse por PCR a partir del Phi33 utilizando los cebadores B4304, y B4305. (Figura 1). El propio gen de *endolisina* puede amplificarse por PCR a partir del Phi33 utilizando los cebadores B4306, y B4307 (Figura 1). Los dos productos de la PCR se pueden unir en conjunto mediante PCR de Extensión Solapada por Corte y Empalme (SOEing) utilizando los dos cebadores externos B4304 y B4307. El producto de la PCR resultante se puede digerir entonces con *AflIII* y *BglIII* y se liga en el pSMX301 que también se ha digerido con *AflIII* y *BglIII*, para dar lugar al plásmido pSMX302 (Figura 1).

El cebador B4304 consiste en un sitio de restricción *AflIII* (subrayado) en 5', seguido por un terminador transcripcional bidireccional (terminador *soxR*, de 60-96 bases con el número de registro de Genbank DQ058714), y la secuencia del principio de la región del promotor de la *endolisina* (subrayado en negrita) (Figura 1). El cebador B4305 consiste en una región en 5' de la secuencia que es complementaria con la región que se solapa con el codón de inicio del gen de *endolisina* de Phi33, seguido por una secuencia que es complementaria del final de la región del promotor de *endolisina* (subrayado en negrita; Figura 1). El cebador B4306 es el complemento inverso del cebador B4305 (véase también la Figura 1). El cebador B4307 consiste en un sitio de restricción *BglIII* en 5' (subrayado), seguido por una secuencia complementaria del extremo del gen de *endolisina* de Phi33 (Figura 1).

Cebador B4304

5'-GATACTTAAGAAAACAACTAAAGCGCCCTTGTGGCGCTTTAGTTT

**TACTACTGAGAAAAATCTGGATTC**-3' (SEQ ID NO: 5)

Cebador B4305

5'-GATTTTCATCAACTCCTGGATCC**CGTTAATTCGAAGAGTCG**-3' (SEQ ID NO: 6)

Cebador B4306

5'-**CGACTCTTCGAATTAACG**GGATCCAGGAGTATTGATG AAAATC-3' (SEQ ID NO: 7)

Cebador B4307

5'-GATAAGATCTTCAGGAGCCTTGATTGATC-3' (SEQ ID NO: 8)

3. El plásmido pSMX303, que comprende el pSMX301 que lleva el gen de *lacZΔM15* bajo el control de un promotor *lac*, se puede construir de la siguiente manera.

El gen *lacZΔM15* bajo el control de un promotor *lac* se puede amplificar por PCR a partir de la cepa DH10B de

*Escherichia coli* utilizando los cebadores B4308 y B4309 (Figura 1). El producto de la PCR resultante se puede digerir entonces con BgIII y NheI y se liga en el pSMX301 que también se ha digerido con BgIII y NheI, para dar lugar al plásmido pSMX303 (Figura 1).

- 5 El cebador B4308 consiste en un sitio de restricción BgIII en 5' (subrayado), seguido por una secuencia del promotor *lac* (Figura 1). El cebador B4309 consiste en un sitio de restricción de NheI en 5' (subrayado), seguido por un terminador transcripcional bidireccional y la secuencia complementaria al extremo 3' del *lacZ*ΔM15 (subrayado en negrita; Figura 1).

10 Cebador B4308  
5'-GATAAGATCTGAGCGCAACGCAATTAATGTG-3' (SEQ ID NO: 9)

Cebador B4309

15 5'-GATAGCTAGCAGTCAAAGCCTCCGGTCGGAGGCTTTTGACTTTATT  
TTTGACACCAGACCAAC-3' (SEQ ID NO: 10)

**Modificación genética de *Pseudomonas aeruginosa* para introducir el gen de *endolisina* del Phi33 inmediatamente corriente abajo del locus *phoA* del genoma bacteriano**

20 1. El plásmido pSMX302 (Figura 1) se puede transferir a una cepa adecuada de *P. aeruginosa* que sea un huésped del bacteriófago que lleva el nuevo determinante de intervalo de huéspedes, pero que no sea un huésped para el bacteriófago original, mediante conjugación, selección de los recombinantes primarios por adquisición de resistencia a la tetraciclina (50 µg/ml).

25 2. Entonces se pueden seleccionar los recombinantes dobles mediante contra selección mediada por *sacB*, poniéndolos en medio que contenga un 10 % de sacarosa.

30 3. Los aislados que crecen sobre un 10 % de sacarosa se pueden explorar entonces mediante PCR para confirmar que se ha introducido el gen de *endolisina* del Phi33 corriente abajo del gen *phoA* de *P. aeruginosa*.

4. A continuación de la verificación de un aislado (PAX31), esta cepa se puede utilizar entonces como huésped para una modificación posterior del bacteriófago donde es necesario el complemento de una mutación de *endolisina*.

35 **Modificación genética de *Pseudomonas aeruginosa* para introducir el alelo *lacZ*ΔM15 de *Escherichia coli* inmediatamente corriente abajo del locus *phoA* del genoma bacteriano**

40 1. El plásmido pSMX303 (Figura 1) se puede transferir a una cepa adecuada de *P. aeruginosa* que sea un huésped del bacteriófago que lleva el nuevo determinante de intervalo de huéspedes, pero que no sea un huésped para el bacteriófago original, mediante conjugación, selección de los recombinantes primarios por adquisición de resistencia a la tetraciclina (50 µg/ml).

45 2. Entonces se pueden seleccionar los recombinantes dobles mediante contra selección mediada por *sacB*, poniéndolos en medio que contenga un 10 % de sacarosa.

3. Los aislados que crecen sobre un 10 % de sacarosa se pueden explorar entonces mediante PCR para confirmar que se había introducido el alelo *lacZ*ΔM15 de *Escherichia coli* corriente abajo del gen *phoA* de *P. aeruginosa*.

50 4. A continuación de la verificación de un aislado (PAX32), esta cepa se puede utilizar entonces como huésped para un bacteriófago donde es necesario el complemento de un indicador *lacZ*α.

55 **Construcción de un plásmido para introducir una nueva sección de ADN (*fd*a-SASP-C) en el genoma del bacteriófago Phi33, que utiliza un determinante de intervalo de huéspedes alternativo como marcador genético.**

60 1. El plásmido pSMX304 (Figura 2), que comprende el pSM1080 que lleva secuencias de Phi33 que flanquean las secuencias del determinante de intervalo de huéspedes de las fibras de la cola del bacteriófago PTP92, se puede construir de la siguiente manera.

La región inmediatamente corriente abajo de las fibras de la cola de Phi33 se puede amplificar mediante PCR utilizando los cebadores B4333 y B4334 (Figura 2). La región que codifica la región de unión al receptor en el extremo C de las fibras de la cola del bacteriófago PTP92 se puede amplificar por PCR utilizando los cebadores B4335 y B4336 (Figura 2). Estos dos productos de la PCR se pueden unir en conjunto mediante PCR SOEing

utilizando los cebadores externos B4333 y B4336. La región que codifica la región del extremo N de las fibras de la cola, y la región inmediatamente corriente arriba de las fibras de la cola de Phi33, se pueden amplificar mediante PCR utilizando los cebadores B4337 y B4338 (Figura 2). Esta región de las fibras de la cola de Phi33 se puede unir entonces al producto de PCR que comprende la región corriente abajo de las fibras de la cola del Phi33 y el determinante de intervalo de huéspedes de PTP92, mediante PCR SOEing utilizando los cebadores externos B4333 y B4338. El producto de la PCR resultante se puede entonces limpiar, digerir con NheI, volver a limpiar y luego ligarse en el pSM1080 que se había digerido con NheI, tratado con fosfatasa alcalina y limpiado antes de la ligadura. Esta construcción daba lugar al plásmido pSMX304 (Figura 2).

10 El cebador B4333 consiste en los sitios de restricción de NheI-AflII-Pacl en 5' (subrayados) seguido por una secuencia complementaria de la región de aproximadamente 1 kb corriente abajo de las fibras de la cola de Phi33 (Figura 2). El cebador B4334 consiste en la secuencia en 5' del extremo de la región que codifica el extremo C, la región de unión al receptor de las fibras de la cola de PTP92, seguido por la secuencia inmediatamente corriente abajo de las fibras de la cola del Phi33 (subrayado; Figura 2). El cebador B4335 es el complemento inverso del cebador B4334. El cebador B4336 consiste en la secuencia complementaria en 5' respecto a la región que codifica parte del extremo C, la región de unión al receptor de las fibras de la cola de PTP92, seguido por la secuencia complementaria de las fibras de la cola del Phi33 (subrayado; Figura 2). El cebador B4337 es el complemento inverso del cebador B4336 (Figura 2). El cebador B4338 consiste en un sitio de restricción NheI en 5' (subrayado), seguido por una secuencia de una región corriente arriba de las fibras de la cola de Phi33 (Figura 2).

20 Cebador B4333  
5'-GATAGCTAGCGACTTAAGGATTAATTAATCAGGAGCCTTGATTGATC-3' (SEQ ID NO: 11)

25 Cebador B4334  
5'-CTATTCCAGCGGGTAACGTAAAATGAAATGGACGCGGATCAG-3' (SEQ ID NO: 12)

Cebador B4335  
5'-CTGATCCGCGTCCATTTTACGTTACCCGCTGGAATAG-3' (SEQ ID NO: 13)

30 Cebador B4336  
5'-CTCAAGCGGGCCGGCTGGTCTCTCGGCAATAACTCCTATGTGATCACC-3' (SEQ ID NO: 14)

35 Cebador B4337  
5'-GGTGATCACATAGGAGTTATTGCCGAGAGACCAGCCGCCCCGCTTGAG-3' (SEQ ID NO: 15)

Cebador B4338  
5'-GATAGCTAGCGGAGTACCGCTTACGTCTC-3' (SEQ ID NO: 16)

40 2. El plásmido pSMX305 (Figura 2), que comprende el PSMX304 que lleva una región de ADN del Phi33 inmediatamente corriente abajo del gen de la *endolisina*, la localización que se escoge aquí para la inserción del ADN ajeno del *fda*-SASP-C, se puede construir de la siguiente manera.

45 Una región de aproximadamente 1 kb de ADN de Phi33 localizada inmediatamente corriente abajo del gen de la *endolisina*, la localización se escogió para la inserción del ADN ajeno *fda*-SASP-C, se puede amplificar mediante PCR utilizando los cebadores B4339 y B4340 (Figura 2). El producto de la PCR resultante se puede digerir entonces con AflII y Pacl y se liga en el pSMX304 que también se ha digerido con AflII y Pacl, antes de la ligadura, dando lugar al plásmido pSMX305 (Figura 2).

50 El cebador B4339 consiste en un sitio de restricción de AflII en 5' (subrayado), seguido por la secuencia de Phi33 de aproximadamente 1 kb corriente abajo de la localización escogida aquí para la inserción del ADN de *fda*-SASP-C (Figura 2). El cebador B4340 consiste en los sitios de restricción de Pacl - KpnI - SacI en 5' (subrayados), seguidos por la secuencia complementaria de la secuencia de Phi33 localizada inmediatamente corriente abajo de la localización escogida aquí para la inserción del ADN de *fda*-SASP-C (Figura 2).

55 Cebador B4339  
5'-GATACTTAAGTCGCTCCAGCCATGCGGAAAAC-3' (SEQ ID NO: 17)

60 Cebador B4340  
5'-GATATTAATTAATCGGTACCTCGAGCTCTATTGCCCAAAGAAAAG-3' (SEQ ID NO: 18)

3. El plásmido pSMX306 (Figura 2), que comprende el pSMX305 que lleva el *fda*-SASP-C, se puede construir de la siguiente manera.

65 El gen SASP-C de la cepa KM de *Bacillus megaterium* (ATCC 13632) se puede amplificar mediante PCR utilizando los cebadores B4341 y B4342 (Figura 2). El producto de la PCR resultante se puede entonces limpiar, digerirse con KpnI y NcoI, y limpiarse de nuevo. El promotor *fda* de *Pseudomonas aeruginosa* puede amplificarse por PCR

utilizando los cebadores B4343 y B4344 (Figura 2). El producto de la PCR resultante se puede entonces limpiar, digerirse con NcoI y PcaI, y limpiarse de nuevo. Los dos productos de PCR se pueden entonces ligar, en una ligadura de 3 vías al pSMX305 que se había digerido con KpnI y PacI y se limpió antes de la ligadura, para dar lugar al plásmido pSMX306 (Figura 2).

5 El cebador B4341 consiste en un sitio de restricción de KpnI en 5' (subrayado), seguido por un terminador transcripcional bidireccional (terminador *tonB*), seguido por la secuencia complementaria del extremo de SASP-C de la cepa KM de *Bacillus megaterium* (ATCC 13632) (subrayado, en negrita; Figura 2). El cebador B4342 (Figura 2) consiste en un sitio de restricción NcoI en 5' (subrayado), seguido por la secuencia del principio del gen SASP-C de la cepa KM del *Bacillus megaterium* (ATCC 13632). El cebador B4343 consiste en un sitio de restricción NcoI en 5' (subrayado), seguido por una secuencia del promotor *fda* (Figura 2). El cebador B4344 consiste en un sitio de restricción PacI en 5' (subrayado), seguido por una secuencia complementaria del promotor *fda* (Figura 2).

B4341

5'-GATAGGTACCAGTCAAAAGCCTCCGACCGGAGGCTTTTGACTTTAGTACTT

15 GCCGCCTAG-3' (SEQ ID NO: 19)

B4342

5'-GATACCATGGCAAATTATCAAACGCATC-3' (SEQ ID NO: 20)

20 B4343

5'-GATACCATGGTTCTCGTATCTCCCAATC-3' (SEQ ID NO: 21)

B4344

5'-GATATTAATTAACGACGAAGGCCTGGTG-3' (SEQ ID NO: 22)

25

**Modificación genética de Phi33 para añadir el *fda*-SASP-C al genoma del bacteriófago, utilizando el determinante de intervalo de huéspedes de PTP92 como medio de selección**

30 1. El plásmido pSM306 (Figura 2) se puede introducir en una cepa de *P. aeruginosa* que sea huésped tanto del fago original como del fago donante del determinante de intervalo de huéspedes, mediante conjugación, selección de transconjugantes basándose en la resistencia a la tetraciclina (50 µg/ml), dando lugar a la cepa PTA31.

35 2. La cepa PTA31 se puede infectar con el fago Phi33 y se recolecta la progenie del fago.

40 3. El fago recombinante, en el que el determinante de intervalo de huéspedes de PTP92 se ha transferido al Phi33, se puede identificar por formación de placas del lisado de la etapa (2) sobre la cepa 2726 de *P. aeruginosa*, que es huésped del fago recombinante que tiene el determinante de intervalo de huéspedes de PTP92, pero que no es huésped del bacteriófago parental Phi33.

45 4. Se puede llevar a cabo adicionalmente una exploración por PCR para identificar aislados que han adquirido simultáneamente el *fda*-SASP-C, además del determinante de intervalos de huéspedes de PTP92.

50 5. A continuación de la identificación de un aislado verificado (PTPX31; Figura 2; Figura 3), este aislado se puede purificar en placa dos veces más antes de su uso posterior.

**Construcción de un plásmido para introducir dos nuevas secciones de ADN (*fda*-SASP-C y *lacZα*) en el genoma del bacteriófago Phi33, utilizando un determinante de intervalo de huéspedes alternativo como marcador genético.**

55 1. El plásmido pSMX307 (Figura 2), que comprende el pSMX306 que lleva el indicador *lacZα* del plásmido pUC19, se puede construir de la siguiente manera.

60 El indicador *lacZα* puede amplificarse por PCR a partir del pUC19 utilizando los cebadores B4345, y B4346. (Figura 2). El producto de la PCR resultante puede entonces limpiarse, digerirse con SacI y KpnI, se limpió de nuevo, y se ligó en el pSMX306 que se había digerido con SacI y KpnI y limpiado antes de la ligadura, para dar lugar al plásmido pSMX307 (Figura 2).

65 El cebador B4345 consiste en un sitio de restricción SacI en 5' (subrayado), seguido por una secuencia complementaria del extremo 3' de *lacZα* (Figura 2). El cebador B4346 consiste en un sitio de restricción KpnI en 5' (subrayado), seguido por una secuencia del promotor *lac* (Figura 2).

Cebador B4345

5'-GATAGAGCTCTTAGCGCCATTCGCCATTC-3' (SEQ ID NO: 23)

Cebador B4346

5'-GATAGGTACCGCGCAACGCAATTAATGTG-3' (SEQ ID NO: 24)

5 **Modificación genética de Phi33 para añadir el *fd*a-SASP-C y *lacZ* $\alpha$  al genoma del bacteriófago, utilizando el determinante de intervalo de huéspedes de PTP92 como medio de selección**

10 1. El plásmido PSM307 (Figura 2; Figura 3) se puede introducir en una cepa de *P. aeruginosa* que sea huésped tanto del fago original como del fago donante del determinante de intervalo de huéspedes, mediante conjugación, selección de transconjugantes basándose en la resistencia a la tetraciclina (50  $\mu$ g/ml), dando lugar a la cepa PTA32.

2. La cepa PTA32 se puede infectar con el fago Phi33 y se recolecta la progenie del fago.

15 3. El fago recombinante, en el que el determinante de intervalo de huéspedes de PTP92 se ha transferido al Phi33, se puede identificar por formación de placas del lisado de la etapa (2) sobre la cepa 2726 de *P. aeruginosa*, que es huésped del fago recombinante que tiene el determinante de intervalo de huéspedes de PTP92, pero que no es huésped del bacteriófago parental Phi33.

20 4. Se puede llevar a cabo adicionalmente una exploración por PCR para identificar aislados que han adquirido simultáneamente el *fd*a-SASP-C y *lacZ* $\alpha$ , además del determinante de intervalo de huéspedes de PTP92.

25 5. Los aislados que han adquirido el *lacZ* $\alpha$  se pueden confirmar adicionalmente por formación de placas sobre la cepa PAX32 de *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 1), utilizando un medio de cultivo que contiene el sustrato cromogénico para la  $\beta$ -galactosidasa, S-Gal (Sigma). El bacteriófago que lleva el indicador *lacZ* $\alpha$  genera placas negras en su huésped utilizando este medio de cultivo, mientras que las placas del bacteriófago que carece del indicador *lacZ* $\alpha$  se mantienen claros.

30 6. A continuación de la identificación de un aislado verificado (PTPX32; Figura 3), este aislado se puede purificar en placa dos veces más antes de su uso posterior.

35 **Construcción de un plásmido para eliminar simultáneamente una sección del bacteriófago Phi33 (el gen de *endolisina*) e introducir una nueva sección de ADN (*fd*a-SASP-C) en el genoma del bacteriófago Phi33, utilizando un determinante de intervalo de huéspedes alternativo como marcador genético.**

1. El plásmido pSMX308 (Figura 4), que comprende el pSM1080 que lleva secuencias de Phi33 que flanquean secuencias del determinante de intervalo de huéspedes de las fibras de la cola del bacteriófago relacionado PTP92, pero que incluye una eliminación del gen de *endolisina*, se puede construir de la siguiente manera.

40 La región inmediatamente corriente abajo de las fibras de la cola de Phi33 se puede amplificar mediante PCR utilizando los cebadores B4347 y B4334 (Figura 4). La región que codifica el extremo C, la región de unión al receptor del bacteriófago PTP92 se puede amplificar mediante PCR utilizando los cebadores B4335 y B4336 (Figura 4). Estos dos productos de la PCR se pueden unir en conjunto mediante PCR SOEing utilizando los cebadores externos B4347 y B4336. La secuencia del Phi33 que codifica la región del extremo N de las fibras de la cola del Phi33, y la secuencia de fibras de la cola corriente arriba se pueden amplificar a partir del Phi33 mediante PCR utilizando los cebadores B4337 y B4338. Esta región de las fibras de la cola de Phi33 se puede unir entonces al producto de PCR que comprende la región corriente abajo de las fibras de la cola del Phi33 y el determinante de intervalo de huéspedes de PTP92, mediante PCR SOEing utilizando los cebadores externos B4347 y B4338. El producto de la PCR resultante se puede entonces limpiar, digerir con NheI, volver a limpiar y luego ligarse en el pSM1080 que se había digerido con NheI, tratado con fosfatasa alcalina y limpiado antes de la ligadura. Esta construcción daba lugar al plásmido pSMX308 (Figura 4).

55 El cebador B4347 consiste en los sitios de restricción de NheI-AflII-Pacl en 5' (subrayados) seguido por una secuencia complementaria de la región de aproximadamente 1 kb corriente abajo de las fibras de la cola de Phi33 (Figura 4). El cebador B4334 consiste en la secuencia en 5' del determinante de intervalo de huéspedes de PTP92, seguido por secuencias inmediatamente corriente abajo de las fibras de la cola del Phi33 (subrayado; Figura 4). El cebador B4335 es el complemento inverso del cebador B4334 (Figura 4). El cebador B4336 consiste en la secuencia en 5' complementaria del determinante de intervalo de huéspedes de PTP92, seguido por la secuencia complementaria de la cola del Phi33 (subrayado; Figura 4). El cebador B4337 es el complemento inverso del cebador B4336 (Figura 4). El cebador B4338 consiste en un sitio de restricción NheI en 5' (subrayado), seguido por una secuencia de una región corriente arriba de las fibras de la cola de Phi33 (Figura 4).

Cebador B4347

5'-GATAGCTAGCGACTTAAGGATTAATTAATCAATACTCCTGATTTTTG-3' (SEQ ID NO: 25)

65

Cebador B4334

5'-CTATTCCAGCGGGTAACGTAAAATGAAATGGACGCGGATCAG-3' (SEQ ID NO: 12)

Cebador B4335

5'-CTGATCCGCGTCCATTTTACGTTACCCGCTGGAATAG-3' (SEQ ID NO: 13)

5

Cebador B4336

5'-CTCAAGCGGGCCGGCTGGTCTCTCGGCAATAACTCCTATGTGATCACC-3' (SEQ ID NO: 14)

Cebador B4337

10 5'-GGTGATCACATAGGAGTTATTGCCGAGAGACCAGCCGGCCCGCTTGAG-3' (SEQ ID NO: 15)

Cebador B4338

5'-GATAGCTAGCGGAGTACCGCTTACGTCTC-3' (SEQ ID NO: 16)

15 2. El plásmido pSMX309 (Figura 4), que comprende el pSMX304 que lleva una región de ADN del Phi33 inmediatamente corriente abajo del gen de la *endolisina*, que es la localización escogida aquí para la inserción del ADN ajeno del *fd*a-SASP-C, se puede construir de la siguiente manera.

20 Una región de aproximadamente 1 kb de ADN de Phi33 localizada inmediatamente corriente abajo del gen de la *endolisina*, la localización escogida aquí para la inserción del ADN ajeno *fd*a-SASP-C, se puede amplificar mediante PCR utilizando los cebadores B4339 y B4340 (Figura 4). El producto de la PCR resultante se puede digerir entonces con AflII y Pacl y se liga en el pSMX308 que también se ha digerido con AflII y Pacl, antes de la ligadura, dando lugar al plásmido pSMX309 (Figura 4).

25 El cebador B4339 consiste en un sitio de restricción de AflII en 5' (subrayado), seguido por la secuencia de Phi33 de aproximadamente 1 kb corriente abajo del gen de la *endolisina*, la localización escogida aquí para la inserción del ADN de *fd*a-SASP-C (Figura 4). El cebador B4340 consiste en los sitios de restricción de Pacl - KpnI - SacI en 5' (subrayados), seguidos por la secuencia complementaria de la secuencia de Phi33 localizada inmediatamente corriente abajo del gen de la *endolisina*, la localización escogida aquí para la inserción del ADN de *fd*a-SASP-C

30 (Figura 4).

Cebador B4339

5'-GATACTTAAGTCGCTCCAGCCATGCGGAAAAC-3' (SEQ ID NO: 17)

35 Cebador B4340

5'-GATATTAATTAATCGGTACCTCGAGCTCTATTGCCCCAAAAGAAAAG-3' (SEQ ID NO: 18)

40 3. El plásmido pSMX310 (Figura 4), que comprende el pMSX309 que lleva el *fd*a-SASP-C, se puede construir de la siguiente manera.

El gen SASP-C de la cepa KM de *Bacillus megaterium* (ATCC 13632) se puede amplificar mediante PCR utilizando los cebadores B4341 y B4342 (Figura 4). El producto de la PCR resultante se puede entonces limpiar, digerirse con KpnI y NcoI, y limpiarse de nuevo. El promotor *fd*a de *Pseudomonas aeruginosa* puede amplificarse por PCR utilizando los cebadores B4343 y B4344 (Figura 4). El producto de la PCR resultante se puede entonces limpiar, digerirse con NcoI y PcaI, y limpiarse de nuevo. Los dos productos de PCR se pueden entonces ligar, en una ligadura de 3 vías al pSMX309 que se había digerido con KpnI y Pacl y se limpió antes de la ligadura, para dar lugar al plásmido pSMX310 (Figura 4).

45

50 El cebador B4341 consiste en un sitio de restricción de KpnI en 5' (subrayado), seguido por un terminador transcripcional bidireccional (terminador *tonB*), seguido por la secuencia complementaria del extremo de SASP-C de la cepa KM de *Bacillus megaterium* (ATCC 13632) (subrayado, en negrita; Figura 4). El cebador B4342 (Figura 4) consiste en un sitio de restricción NcoI en 5' (subrayado), seguido por la secuencia del principio del gen SASP-C de la cepa KM del *Bacillus megaterium* (ATCC 13632). El cebador B4343 consiste en un sitio de restricción NcoI en 5' (subrayado), seguido por una secuencia del promotor *fd*a (Figura 4). El cebador B4344 consiste en un sitio de restricción Pacl en 5' (subrayado), seguido por una secuencia complementaria del promotor *fd*a (Figura 4).

55

B4341

5'-GATAGGTACCAGTCAAAAGCCTCCGACCGGAGGCTTTTGACTTTAGTACTT

GCCGCCTAG-3' (SEQ ID NO: 19)

60

B4342

5'-GATACCATGGCAAATTATCAAAACGCATC-3' (SEQ ID NO: 20)

B4343



5'-GATACCATGGTTCTCGTATCTCCCAATC-3' (SEQ ID NO: 21)

B4344

5'-GATATTAATTAACGACGAAGGCCTGGTG-3' (SEQ ID NO: 22)

5

**Modificación genética de Phi33 para eliminar simultáneamente el gen de *endolisina* de Phi33 y añadir el *fd*-SASP-C al genoma del bacteriófago, utilizando el determinante de intervalo de huéspedes de PTP92 como medio de selección**

- 10 1. El plásmido PSM310 (Figura 4) se puede introducir en una cepa de *P. aeruginosa* que sea huésped tanto del fago original como del fago donante del determinante de intervalo de huéspedes, mediante conjugación, selección de transconjugantes basándose en la resistencia a la tetraciclina (50 µg/ml), dando lugar a la cepa PTA33.
- 15 2. La cepa PTA33 se puede infectar con el fago Phi33 y se recolecta la progenie del fago.
- 20 3. El fago recombinante, en el que el determinante de intervalo de huéspedes de PTP92 se ha transferido al Phi33, se puede identificar por formación de placas del lisado de la etapa (2) sobre la cepa PAX31 (*endolisina*<sup>+</sup>; Figura 1), es decir, una cepa derivada de la 2726 de *P. aeruginosa*, que es huésped del fago recombinante que lleva el determinante de intervalo de huéspedes de PTP92, pero que no es huésped del bacteriófago parental Phi33, y que lleva el gen de *endolisina* de Phi33 en trans.  
Se puede llevar a cabo adicionalmente una exploración por PCR para identificar aislados que han adquirido simultáneamente el *fd*-SASP-C, además del determinante de intervalos de huéspedes de PTP92.
- 25 4. Los aislados se pueden ensayar adicionalmente en cuanto a la eliminación de *endolisina* mediante formación de placas sobre la cepa 2726 de *P. aeruginosa* no modificada (*endolisina*<sup>-</sup>), ya que los aislados de fago en los que se ha retirado satisfactoriamente la *endolisina* no formarán placas en esta cepa.
- 30 5. A continuación de la identificación de un aislado verificado (PTPX33; Figura 5), este aislado se puede purificar en placa dos veces más sobre una cepa de *P. aeruginosa endolisina*<sup>+</sup> antes de su uso posterior.

**Tabla 1. Intervalo de huéspedes de Phi33, PTP92, C36 y PTP47 contra 44 aislados clínicos europeos de *Pseudomonas aeruginosa*.**

Las cepas se ensayaron en cuanto a la sensibilidad de cada fago añadiendo gota a gota 10 µl de lisado de fagos en bruto en una placa recubierta de agar blando inoculado con bacterias. Las placas se cultivaron durante una noche a 32 °C y se valoraron las cepas en cuanto a la sensibilidad de cada fago evaluando las zonas de aclaramiento en el punto de inoculación. Cuando el fago inhibía el crecimiento, como se ve por el aclaramiento de la capa bacteriana, la cepa se marcó como positiva (+), y cuando no se veía una inhibición del crecimiento, la cepa se marcaba como no sensible (-)

Cepa bacteriana n.º	Phi33	PTP47	PTP92	C36
2019	+	+	-	+
2020	+	+	-	+
2021	+	+	+	+
2029	+	+	-	+
2031	+	+	+	+
2039	+	+	+	+
2040	+	+	-	+
2041	+	+	+	+
2042	+	+	+	+
2045	-	-	+	-
2046	+	+	+	+
2047	+	+	+	+
2048	+	+	+	+
2049	+	+	+	+

(continuación)

Las cepas se ensayaron en cuanto a la sensibilidad de cada fago añadiendo gota a gota 10 µl de lisado de fagos en bruto en una placa recubierta de agar blando inoculado con bacterias. Las placas se cultivaron durante una noche a 32 °C y se valoraron las cepas en cuanto a la sensibilidad de cada fago evaluando las zonas de aclaramiento en el punto de inoculación. Cuando el fago inhibía el crecimiento, como se ve por el aclaramiento de la capa bacteriana, la cepa se marcó como positiva (+), y cuando no se veía una inhibición del crecimiento, la cepa se marcaba como no sensible (-)

Cepa bacteriana n.º	Phi33	PTP47	PTP92	C36
2050	+	+	+	+
2051	+	+	-	-
2052	-	-	-	-
2053	+	+	-	+
2054	-	+	-	+
2055	+	+	-	+
2056	+	+	+	+
2057	+	+	+	+
2058	+	+	+	+
2483	-	-	+	-
2484	+	+	-	+
2705	+	+	-	+
2706	+	+	-	+
2707	+	+	+	+
2708	+	+	+	+
2709	+	+	+	+
2710	-	+	+	-
2711	+	+	+	+
2712	+	+	-	+
2713	-	+	+	+
2714	+	+	+	+
2715	+	+	+	+
2716	+	+	-	-
2717	-	+	+	+
2718	-	+	+	+
2719	+	+	-	+
2720	+	+	+	+
2721	+	+	+	+
2722	+	+	+	+
2723	+	+	-	+

**Referencias**

- 5 Abedon ST. (2008). Bacteriophage Ecology: Population Growth, Evolution, an Impact of Bacterial Viruses. Cambridge. Cambridge University Press. Chapter 1.
- Brabban AD, Hite E, Callaway TR. (2005). Evolution of Foodborne Pathogens via Temperate Bacteriophage-

Mediated Gene Transfer. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2:287-303.

- 5 Ceyskens P, Miroshnikov K, Mattheus W, Krylov V, Robben J, Noben J, Vanderschraeghe S, Sykilinda N, Kropinski AM, Volckaert G, Mesyanzhinov V, Lavigne R. (2009). Comparative analysis of the widespread and conserved PB1-like viruses infecting *Pseudomonas aeruginosa*. *Env. Microbiol.* 11:2874-2883.
- 10 Dobozi-King M, Seo S, Kim JU, Young R, Cheng M, Kish LB. (2005). Rapid detection and identification of bacteria: Sensing of Phage-Triggered Ion Cascade (SEPTIC). *Journal of Biological Physics and Chemistry*. 5:3-7.
- 10 Francesconi, S. C., MacAlister, T. J., Setlow, B., & Setlow, P. (1988). Immunoelectron microscopic localization of small, acid-soluble spore proteins in sporulating cells of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, 170: 5963-5967.
- 15 Frenkiel-Krispin, D., Sack, R., Englander, J., Shimoni, E., Eisenstein, M., Bullitt, E. & Wolf, S. G. (2004). Structure of the DNA-SspC complex: implications for DNA packaging, protection, and repair in bacterial spores. *J. Bacteriol.* 186:3525-3530.
- Gill JJ, Hyman P. (2010). Phage Choice, Isolation and Preparation for Phage therapy. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 11:2-14.
- 20 Harper DR, Anderson J, Enwright MC. (2011). Phage therapy: delivering on the promise. *Ther Deliv.* 2:935-47.
- Hendrix RW. (2009). Jumbo Bacteriophages. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.* 328:229-40.
- 25 Lee, K. S., Bumbaca, D., Kosman, J., Setlow, P., & Jedrzejewski, M. J. (2008). Structure of a protein-DNA complex essential for DNA protection in spores of *Bacillus* species. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105:2806-2811.
- Mark DF, Richardson CC. (1976). *Escherichia coli* thioredoxin: a subunit of bacteriophage T7 DNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 73:780-4.
- 30 Marinelli LJ, Piuri M, Swigonová Z, Balachandran A, Oldfield LM, van Kessel JC, Hatfull GF. (2008). BRED: a simple and powerful tool for constructing mutant and recombinant bacteriophage genomes. *PLoS One.* 3:e3957.
- 35 Nicholson WL, Setlow B, Setlow P. (1990). Binding of DNA *in vitro* by a small, acid-soluble spore protein from *Bacillus subtilis* and the effect of this binding on DNA topology. *J. Bacteriol.* 172:6900-6906.
- Pouillot F, Blois H, e Iris F. (2010). Biosecurity and Bioterrorism: Biodefense Strategy, Practice, and Science. *Biosecurity and Bioterrorism*. 8: 155-169
- 40 Qimron U, Marintcheva B, Tabor S, Richardson CC. (2006). Genomewide screens for *Escherichia coli* genes affecting growth of T7 bacteriophage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103:19039-44.
- Rakhuba DV, Kolomiets EI, Szwajcer Dey E, Novik EI. (2010). Bacteriophage Receptors, Mechanisms of Phage Adsorption and Penetration into Host Cell. *Polish Journal of Microbiology.* 59:145-155.
- 45 Sheng Y, Mancino V, Birren B. (1995). Transformation of *Escherichia coli* with large DNA molecules by electroporation. *Nucl. Acids Res.* 23:1990-6.
- Smith GP, Petrenko VA. (2005). Phage Display. *Chem. Rev.* 97:391-410.
- 50 Thomason LC Sawitzke JA, Li X, Costantino N, Court DL. (2014). Recombineering: genetic engineering in bacteria using homologous recombination. *Curr. Protoc. Mol. Biol.* 106:1-16.
- Veesler D, Cambillau C. (2011). A Common Evolutionary Origin for Tailed-Bacteriophage Functional Modules and Bacterial Machineries. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 75:423-433.
- 55 Waldor M, Mekalanos J. (1996). Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin. *Science.* 272:1910-1914.
- 60 Williamson SJ, Houchin LA, McDaniel L, Paul JH. (2002). Seasonal variation in lysogeny as depicted by prophage induction in Tampa Bay, Florida. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:4307-14.
- Yu D, Ellis HM, Lee EC, Jenkins NA, Copeland NG, et al. (2000). An efficient recombination system for chromosome engineering in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 97:5978-5983.

65 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Phico Therapeutics Ltd.  
 <120> Modificación de bacteriófagos

5 <130> 337867PCT  
 <160> 39  
 <170> PatentIn versión 3.5

10 <210> 1  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Cebador B4300

20 <400> 1  
 gataactagt cctggtccac cggggtcaag 30  
 <210> 2  
 <211> 36  
 <212> ADN  
 25 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador B4301

30 <400> 2  
 gctcagatct tccttaagtc agtcgcgag gttcag 36  
 <210> 3  
 <211> 37  
 35 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Cebador B4302

40 <400> 3  
 aggaagatct gagctagctc ggaccagaac gaaaaag 37  
 <210> 4  
 45 <211> 29  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 50 <223> Cebador B4303  
 <400> 4  
 gatactcgag gcggatgaac attgaggtg 29

55 <210> 5  
 <211> 72  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

60 <220>  
 <223> Cebador B4304  
 <400> 5  
 gatacttaag aaaacaaact aaagcgcctt tgtggcgctt tagttttata Ctactgagaa 60  
 65 aaatctggat tc 72

ES 2 768 773 T3

	<210> 6	
	<211> 43	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
5	<220>	
	<223> Cebador B4305	
	<400> 6	
10	gatttcatc aatactcctg gatcccgta atcgaagag tcg	43
	<210> 7	
	<211> 43	
	<212> ADN	
15	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador B4306	
20	<400> 7	
	cgactctcg aattaacggg atccaggagt attgatgaaa atc	43
	<210> 8	
	<211> 29	
25	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador B4307	
30	<400> 8	
	gataagatct tcaggagcct tgattgatc	29
	<210> 9	
35	<211> 31	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
40	<223> Cebador B4308	
	<400> 9	
	gataagatct gagcgcaacg caattaatg g	31
45	<210> 10	
	<211> 64	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
50	<220>	
	<223> Cebador B4309	
	<400> 10	
55	gatagctagc agtcaaaagc ctccggtcgg aggctttga Cttattttt gacaccagac caac	60 64
	<210> 11	
	<211> 47	
	<212> ADN	
60	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador B4333	
65	<400> 11	
	gatagctagc gacttaagga ttaattaatc aggagccttg attgatc	47

	<210> 12	
	<211> 42	
	<212> ADN	
5	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador B4334	
10	<400> 12 ctattccagc gggaacgta aatgaaatg gacgcggatc ag	42
	<210> 13	
	<211> 42	
15	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador B4335	
20	<400> 13 ctgatccgcg tccattcat ttacgttac ccgctggaat ag	42
	<210> 14	
25	<211> 48	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Cebador B4336	
	<400> 14 ctcaagcggg ccgctgggc tctcgcaat aactcctatg tgatcacc	48
35	<210> 15	
	<211> 48	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Cebador B4337	
	<400> 15 ggtgatcaca taggagttat tgccgagaga ccagccggcc cgcttgag	48
45	<210> 16	
	<211> 29	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
50	<220>	
	<223> Cebador B4338	
	<400> 16 gatagctagc ggagtaccgc ttacgtctc	29
55	<210> 17	
	<211> 32	
	<212> ADN	
60	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador B4339	
65	<400> 17 gataactaag tcgctccagc catgctggaaa ac	32

	<210> 18	
	<211> 47	
	<212> ADN	
5	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador B4340	
10	<400> 18	
	gatattaatt aatcgtacc tcgagctcta ttcgccaaa agaaaag	47
	<210> 19	
	<211> 60	
15	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador B4341	
20	<400> 19	
	gataggtacc agtcaaaagc ctccgaccgg aggcctttga ctttagtact tgccgctag	60
	<210> 20	
25	<211> 29	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
30	<223> Cebador B4342	
	<400> 20	
	gataccatgg caaattatca aaacgcatc	29
35	<210> 21	
	<211> 28	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
40	<220>	
	<223> Cebador B4343	
	<400> 21	
45	gataccatgg ttctcgtatc tccaatc	28
	<210> 22	
	<211> 28	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
50	<220>	
	<223> Cebador B4344	
	<400> 22	
55	gatattaatt aacgacgaag gcctggtg	28
	<210> 23	
	<211> 29	
	<212> ADN	
60	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Cebador B4345	
65	<400> 23	
	gatagagctc ttagcgccat tcgccattc	29

# ES 2 768 773 T3

<210> 24  
<211> 29  
<212> ADN  
5 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Cebador B4346

10 <400> 24  
gataggtacc gcgcaacgca attaatgtg 29

<210> 25  
<211> 47  
15 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Cebador B4347

20 <400> 25  
gatagctagc gacttaagga ttaattaatc aatactcctg attttg 47

<210> 26  
25 <211> 964  
<212> PRT  
<213> Bacteriófago SPM-1

30 <400> 26



ES 2 768 773 T3

Met Ile Thr Pro Glu Leu Ile Pro Ser Pro Phe Ala Ala Gln Gly Asp  
 1 5 10 15

Lys Asp Pro Ile Pro Gln Thr Ser Ser Thr Gly Phe Ala Asn Leu Arg  
 20 25 30

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

Gln Ala Lys Ala Val Glu Arg Lys Ile Gln Asn Gln Leu Phe Phe Ile  
 50 55 60

Ala Thr Gln Asn Ala Gln Ala Trp Gln Arg Gln Met Ala Pro Pro Trp  
 65 70 75 80

Phe Gln Gly Met Pro Gly Gly Tyr Glu Gln Asn Ala Glu Val Val Arg  
 85 90 95

Val Gly Asn Asp Gly Ile Met Arg Arg Tyr Arg Ser Met Val Asn Ala  
 100 105 110

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

Trp Ser Val Met Arg Ser Asn Ile Pro Met Pro Ala Gly Gly Ser Gly  
 130 135 140

Leu Ser Ser Gly Gly Glu Val Ile Thr Thr Gly Arg Asn Phe Asn Asp  
 145 150 155 160

Leu Leu Asn Gly Thr Trp Glu Phe Phe Ser Asp Ser Val Val Val Ala  
 165 170 175

Ser Gln Asn Ala Pro Val Tyr Pro Ala Ser Ala Gly Ala Ala Ala Gly  
 180 185 190

Met Leu Glu Ala Lys Ser Trp Val Ser Gly Ala Asn Thr Phe Cys Val  
 195 200 205

Gln Arg Tyr Thr Asp Arg Val Gly Asn Val Ala Val Arg Gly Leu Asn  
 210 215 220

ES 2 768 773 T3

Ala Gly Ala Trp Thr Asn Trp Met Tyr Ala Val Asn Val Met Ala Leu  
 225 230 235 240

Gln Gln Gly Arg Val Thr Tyr Gly Val Ala Ala Gly Ser Ala Asn Ala  
 245 250 255

Tyr Thr Leu Thr Leu Val Pro Gln Leu Gln Gly Gly Leu Val Asp Gly  
 260 265 270

Met Val Leu Arg Val Lys Phe Asn Ala Met Asn Thr Gly Ala Ser Thr  
 275 280 285

Ile Asn Val Ser Gly Phe Gly Ser Lys Ala Ile Val Gly Ala Ala Asn  
 290 295 300

Phe Pro Leu Thr Gly Gly Glu Leu Gly Gln Gly Leu Ile Ala Glu Leu  
 305 310 315 320

Val Phe Asp Ala Thr Gly Asp Arg Trp Arg Ile Leu Ala Gly Ala Pro  
 325 330 335

Arg Ile Gln Val Gly Asn Ala Asp Gln Asp Tyr Gln Ala Pro Ser Trp  
 340 345 350

Lys Gln Val Lys Asp Tyr Val Ala Ser Gln Lys Leu Thr Glu Val Asp  
 355 360 365

Trp Ala Asp Val Val Asn Lys Pro Asn Val Ala Ile Gln Asp Thr Thr  
 370 375 380

Pro Trp Phe Ala Asn Leu Glu Leu Ser Asp Ala Arg Pro Phe Ile Asp  
 385 390 395 400

Phe His Phe Asn Asn Asn Arg Ala Lys Asp Phe Asp Tyr Arg Phe Ile  
 405 410 415

Ser Glu Ala Asp Gly Ser Met Ala Phe Tyr Ser Arg Gln Gly Ser Ala  
 420 425 430

Gly Pro Thr Gln Asp Ile Leu Phe Ser Arg Ser Asn Val Thr Phe Leu  
 435 440 445

Gln Pro Arg Leu Asp Val Ala Lys Asn Leu Ala Tyr Ile Ala Asn Ser  
 450 455 460

Gly Pro Leu Trp Gln Asn Thr Thr Ala Asp Gln Pro Gly Trp Lys Phe  
 465 470 475 480

ES 2 768 773 T3

Thr Phe Ala Gln Gly Val Asp Ala Asn Asn Asn Ala Val Ile Ala Val  
485 490 495

Asn Thr Thr Asn Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Gln Ile Met Arg Trp  
500 505 510

Asp Trp Ala Ser Thr Asn Val Ile Phe Asn Asn Arg Pro Leu Phe Ala  
515 520 525

Gly Gln Tyr Val Pro Trp Asp Ser Gly Asn Phe Asp Pro Ala Thr Lys  
530 535 540

Leu Thr Val Gly Thr Thr Asn Asn Ile Ser Gly Pro Thr Gly Ile Arg  
545 550 555 560

Asn Thr Thr Ser Asn Thr Gly Asn Met Asn Thr Trp Gly Ser Ser Ser  
565 570 575

Thr Thr Ala Ser Tyr Gly Asn Ala Ala Leu Gln Ile Phe Gly Arg Gly  
580 585 590

Gly Gly Glu Pro Ala Ala Ile Tyr Phe Asp Asn Ser Gln Thr Gly Trp  
595 600 605

Tyr Leu Gly Met Asp Lys Asp Gly Gln Leu Lys Arg Ala Gly Trp Ser  
610 615 620

Leu Gly Asn Asn Ser Tyr Val Val Thr Asp Glu Ser Asn Ile Arg Asn  
625 630 635 640

His Val Asn Gly Met Ser Gly Ala Pro Val Trp Gly Gly Gln Trp Phe  
645 650 655

Trp Gly Glu Trp Asn Phe Asn Pro Asn Thr Lys Leu Thr Ile Lys Ala  
660 665 670

Gly Thr Gln Glu Thr Ser Ser Thr Ala Ile Phe Ser Gly Thr Leu Pro  
675 680 685

Phe Ala Pro Ile Ala Ser Leu Ser Asp Tyr Ser Gln Ala Pro Leu Thr  
690 695 700

Ile Tyr Asn Ser Pro Thr Gly Pro Ser Ala Lys Pro Ala Val Ile Ala  
705 710 715 720

Phe Ile Arg Pro Gly Asn Trp Gly Ala Phe Phe Gly Ile Asp Thr Asp

ES 2 768 773 T3

					725					730						735
Asn	Lys	Leu	Lys	Trp	Gly	Gly	Gly	Ser	Leu	Gly	Asn	Asn	Ser	Arg	Glu	
			740					745					750			
Ile	Ala	Asp	Ser	Ser	Asn	Ile	Met	Asn	Leu	Trp	Ala	Ser	Asn	Pro	Thr	
		755					760					765				
Ala	Pro	Ser	Trp	Asn	Gly	Gln	Thr	Val	Trp	Arg	Ser	Gly	Asn	Phe	Asp	
	770					775					780					
Pro	Ala	Thr	Lys	Val	Asp	Leu	Asn	Ala	Ala	Asn	Ala	Thr	Asn	Gly	Ser	
785					790					795					800	
Met	Ile	Phe	Asn	Arg	Ile	Ser	Gly	Thr	Gly	Ser	Gly	Ile	Ala	Ser	Ser	
				805					810					815		
Gly	Arg	Val	Gly	Ala	Ile	Asn	Leu	Gln	Asn	Gly	Ala	His	Ser	Gly	Gln	
			820					825					830			
Ala	Ala	Ala	Val	Thr	Phe	Glu	Arg	Gly	Gly	Ser	Ile	Phe	Val	Asn	Phe	
		835					840					845				
Gly	Leu	Asp	Thr	Asp	Asn	Val	Leu	Lys	Val	Gly	Gly	Gly	Asn	Leu	Gly	
	850					855						860				
Ala	Asn	Ala	Tyr	Pro	Val	Ile	His	Ala	Gly	Asn	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ile	
865					870					875					880	
Asn	Gln	Ala	Leu	Val	Gln	Val	Gly	Leu	Gly	Gly	Val	Gly	Ser	Tyr	Gly	
				885					890					895		
Ile	Phe	Ala	Val	Leu	Asp	Asn	Ala	Ala	Pro	Ile	Ala	Thr	Val	Gln	Pro	
			900					905					910			
Gly	Val	Val	Val	Asp	Gly	Ser	Ile	Leu	Ile	Tyr	Ser	Ser	Cys	Ala	Ala	
		915					920					925				
Asn	Tyr	Asn	Ser	Gly	Gln	Lys	Pro	Ala	Gly	Thr	Trp	Arg	Cys	Met	Gly	
	930					935						940				
Tyr	Val	Val	Asn	Arg	Asp	Ala	Asn	Thr	Ala	Asp	Ser	Ala	Thr	Leu	Phe	
945					950					955					960	
Gln	Arg	Val	Thr													

ES 2 768 773 T3

<211> 964  
 <212> PRT  
 <213> Bacteriófago F8

5 <400> 27

Met Ile Thr Pro Glu Leu Ile Pro Ser Pro Phe Ala Ala Gln Gly Asp  
 1 5 10 15

Lys Asp Pro Ile Pro Gln Thr Ser Ser Thr Gly Phe Ala Asn Leu Arg  
 20 25 30

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

Gln Ala Lys Ala Val Glu Arg Lys Ile Gln Asn Gln Leu Phe Phe Ile  
 50 55 60

Ala Thr Gln Asn Ala Gln Ala Trp Gln Arg Gln Met Ala Pro Pro Trp  
 65 70 75 80

Phe Gln Gly Met Pro Gly Gly Tyr Glu Gln Asn Ala Glu Val Val Arg  
 85 90 95

Val Gly Asn Asp Gly Ile Met Arg Arg Tyr Arg Ser Met Val Asn Ala  
 100 105 110

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

Trp Ser Val Met Arg Ser Asn Ile Pro Met Pro Ala Gly Gly Ser Gly  
 130 135 140

Leu Ser Ser Gly Gly Glu Val Ile Thr Thr Gly Arg Asn Phe Asn Asp  
 145 150 155 160

Leu Leu Asn Gly Thr Trp Glu Phe Phe Ser Asp Ser Val Val Ala Ala  
 165 170 175

Ser Gln Asn Ala Pro Val Tyr Pro Ala Ser Ala Gly Ala Ala Ala Gly  
 180 185 190

Met Leu Glu Ala Lys Ser Trp Val Ser Gly Ala Asn Thr Phe Cys Val  
 195 200 205

Gln Arg Tyr Thr Asp Arg Val Gly Asn Val Ala Val Arg Gly Leu Asn  
 210 215 220

ES 2 768 773 T3

Ala Gly Ala Trp Thr Asn Trp Met Tyr Ala Val Asn Val Met Ala Leu  
 225 230 235 240

Gln Gln Gly Arg Val Thr Tyr Gly Val Ala Ala Gly Ser Ala Asn Ala  
 245 250 255

Tyr Thr Leu Thr Leu Val Pro Gln Leu Gln Gly Gly Leu Val Asp Gly  
 260 265 270

Met Val Leu Arg Val Lys Phe Asn Ala Met Asn Thr Gly Ala Ser Thr  
 275 280 285

Ile Asn Val Ser Gly Phe Gly Ser Lys Ala Ile Val Gly Ala Ala Asn  
 290 295 300

Phe Pro Leu Thr Gly Gly Glu Leu Gly Gln Gly Leu Ile Ala Glu Leu  
 305 310 315 320

Val Phe Asp Ala Thr Gly Asp Arg Trp Arg Ile Leu Ala Gly Ala Pro  
 325 330 335

Arg Ile Gln Val Gly Asn Ala Asp Gln Asp Tyr Gln Ala Pro Ser Trp  
 340 345 350

Lys Gln Val Lys Asp Tyr Val Ala Ser Gln Lys Leu Thr Glu Val Asp  
 355 360 365

Trp Ala Asp Val Val Asn Lys Pro Asn Val Ala Ile Gln Asp Thr Thr  
 370 375 380

Pro Trp Phe Ala Asn Leu Glu Leu Ser Asp Ala Arg Pro Phe Ile Asp  
 385 390 395 400

Phe His Phe Asn Asn Asn Arg Ala Lys Asp Phe Asp Tyr Arg Phe Ile  
 405 410 415

Ser Glu Ala Asp Gly Ser Met Ala Phe Tyr Ser Arg Gln Gly Ser Ala  
 420 425 430

Gly Pro Thr Gln Asp Ile Leu Phe Ser Arg Ser Asn Val Thr Phe Leu  
 435 440 445

Gln Pro Arg Leu Asp Val Ala Lys Asn Leu Ala Tyr Ile Ala Asn Ser  
 450 455 460

Gly Pro Leu Trp Gln Asn Thr Thr Ala Asp Gln Pro Gly Trp Lys Phe  
 465 470 475 480

ES 2 768 773 T3

Thr Phe Ala Gln Gly Val Asp Ala Asn Asn Asn Ala Val Ile Ala Val  
485 490 495

Asn Thr Thr Asn Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Gln Ile Met Arg Trp  
500 505 510

Asp Trp Ala Ser Thr Asn Val Ile Phe Asn Asn Arg Pro Leu Phe Ala  
515 520 525

Gly Gln Tyr Val Pro Trp Asp Ser Gly Asn Phe Asp Pro Ala Thr Lys  
530 535 540

Leu Thr Val Gly Thr Thr Asn Asn Ile Ser Gly Pro Thr Gly Ile Arg  
545 550 555 560

Asn Thr Thr Ser Asn Thr Gly Asn Met Asn Thr Trp Gly Ser Ser Ser  
565 570 575

Thr Thr Ala Ser Tyr Gly Asn Ala Ala Leu Gln Ile Phe Gly Arg Gly  
580 585 590

Gly Gly Glu Pro Ala Ala Ile Tyr Phe Asp Asn Ser Gln Thr Gly Trp  
595 600 605

Tyr Leu Gly Met Asp Lys Asp Gly Gln Leu Lys Arg Ala Gly Trp Ser  
610 615 620

Leu Gly Asn Asn Ser Tyr Val Val Thr Asp Glu Ser Asn Ile Arg Asn  
625 630 635 640

His Val Asn Gly Met Ser Gly Ala Pro Val Trp Gly Gly Gln Trp Phe  
645 650 655

Trp Gly Glu Trp Asn Phe Asn Pro Asn Thr Lys Leu Thr Ile Lys Ala  
660 665 670

Gly Thr Gln Glu Thr Ser Ser Thr Ala Ile Phe Ser Gly Thr Leu Pro  
675 680 685

Phe Ala Pro Ile Ala Ser Leu Ser Asp Tyr Ser Gln Ala Pro Leu Thr  
690 695 700

Ile Tyr Asn Ser Pro Thr Gly Pro Ser Ala Lys Pro Ala Val Ile Ala  
705 710 715 720

Phe Ile Arg Pro Gly Asn Trp Gly Ala Phe Phe Gly Ile Asp Thr Asp  
725 730 735

ES 2 768 773 T3

Asn Lys Leu Lys Trp Gly Gly Gly Ser Leu Gly Asn Asn Ser Arg Glu  
740 745 750

Ile Ala Asp Ser Ser Asn Ile Met Asn Leu Trp Ala Ser Asn Pro Thr  
755 760 765

Ala Pro Ser Trp Asn Gly Gln Thr Val Trp Arg Ser Gly Asn Phe Asp  
770 775 780

Pro Ala Thr Lys Val Asp Leu Asn Ala Ala Asn Ala Thr Asn Gly Ser  
785 790 795 800

Met Ile Phe Asn Arg Ile Ser Gly Thr Gly Ser Gly Ile Ala Ser Ser  
805 810 815

Gly Arg Val Gly Ala Ile Asn Leu Gln Asn Gly Ala His Ser Gly Gln  
820 825 830

Ala Ala Ala Val Thr Phe Glu Arg Gly Gly Ser Ile Phe Val Asn Phe  
835 840 845

Gly Leu Asp Thr Asp Asn Val Leu Lys Val Gly Gly Gly Asn Leu Gly  
850 855 860

Ala Asn Ala Tyr Pro Val Ile His Ala Gly Asn Tyr Asn Asn Tyr Ile  
865 870 875 880

Asn Gln Ala Leu Val Gln Val Gly Leu Gly Gly Val Gly Ser Tyr Gly  
885 890 895

Ile Phe Ala Val Leu Asp Asn Ala Ala Pro Ile Ala Thr Val Gln Pro  
900 905 910

Gly Val Val Val Asp Gly Ser Ile Leu Ile Tyr Ser Ser Cys Ala Ala  
915 920 925

Asn Tyr Asn Ser Gly Gln Lys Pro Ala Gly Thr Trp Arg Cys Met Gly  
930 935 940

Tyr Val Val Asn Arg Asp Ala Asn Thr Ala Asp Ser Ala Thr Leu Phe  
945 950 955 960

Gln Arg Val Thr

<210> 28

<211> 964

5 <212> PRT

<213> Bacteriófago PB1



<400> 28

Met Ile Thr Pro Glu Leu Ile Pro Ser Pro Phe Ala Ala Gln Gly Asp  
1 5 10 15

Lys Asp Pro Ile Pro Gln Thr Ser Ser Thr Gly Phe Ala Asn Leu Arg  
20 25 30

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

Gln Ala Lys Ala Val Glu Arg Lys Ile Gln Asn Gln Leu Phe Phe Ile  
50 55 60

Ala Thr Gln Asn Ala Gln Ala Trp Gln Arg Gln Met Ala Pro Pro Trp  
65 70 75 80

Phe Gln Gly Met Pro Gly Gly Tyr Glu Gln Asn Ala Glu Val Val Arg  
85 90 95

Val Gly Asn Asp Gly Ile Met Arg Arg Tyr Arg Ser Met Val Asn Ala  
100 105 110

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

Trp Ser Val Met Arg Ser Asn Ile Pro Met Pro Ala Gly Gly Pro Gly  
130 135 140

Leu Ser Ser Gly Gly Glu Val Ile Thr Thr Gly Arg Asn Phe Asn Asp  
145 150 155 160

Leu Leu Asn Gly Thr Trp Glu Phe Phe Ser Asp Ser Val Val Val Ala  
165 170 175

Ser Gln Asn Ala Pro Val Tyr Pro Ala Ser Ala Gly Ala Ala Ala Gly  
180 185 190

Met Leu Glu Ala Lys Ser Trp Ile Ser Gly Ser Asn Thr Phe Cys Val  
195 200 205

Gln Arg Tyr Thr Asp Arg Val Gly Asn Val Ala Val Arg Gly Leu Asn  
210 215 220

Ala Gly Ala Trp Thr Asn Trp Met Tyr Ala Val Asn Val Met Ala Leu

ES 2 768 773 T3

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

ES 2 768 773 T3

Thr Phe Ala Gln Gly Val Asp Ala Asn Asn Asn Ala Val Ile Ala Val  
 485 490 495

Asn Thr Thr Asn Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Gln Val Met Arg Trp  
 500 505 510

Asp Trp Ala Ser Thr Asn Val Ile Phe Asn Asn Arg Pro Leu Phe Ala  
 515 520 525

Gly Gln Tyr Val Pro Trp Asp Ser Gly Asn Phe Asp Pro Ala Thr Lys  
 530 535 540

Leu Thr Val Gly Thr Thr Asn Asn Ile Ser Gly Pro Thr Gly Ile Arg  
 545 550 555 560

Asn Thr Thr Ser Asn Thr Gly Asn Met Asn Thr Trp Gly Ser Ser Ser  
 565 570 575

Thr Thr Ala Ser Tyr Gly Asn Ala Ala Leu Gln Ile Phe Gly Arg Gly  
 580 585 590

Gly Gly Glu Pro Ala Ala Ile Tyr Phe Asp Asn Ser Gln Thr Gly Trp  
 595 600 605

Tyr Leu Gly Met Asp Lys Asp Gly Gln Leu Lys Arg Ala Gly Trp Ser  
 610 615 620

Leu Gly Asn Asn Ser Tyr Val Val Thr Asp Glu Ser Asn Ile Arg Asn  
 625 630 635 640

His Val Asn Gly Met Ser Gly Ala Pro Val Trp Gly Gly Gln Trp Phe  
 645 650 655

Trp Gly Glu Trp Asn Phe Asn Pro Asn Thr Lys Leu Thr Ile Lys Ala  
 660 665 670

Gly Thr Gln Glu Thr Ser Ser Thr Ala Ile Phe Ser Gly Thr Leu Pro  
 675 680 685

Phe Ala Pro Ile Ala Ser Leu Ser Asp Tyr Ser Gln Ala Pro Leu Thr  
 690 695 700

Ile Tyr Asn Ser Pro Thr Gly Pro Ser Ala Lys Pro Ala Val Ile Ala  
 705 710 715 720

Phe Ile Arg Pro Gly Asn Trp Gly Ala Phe Phe Gly Ile Asp Thr Asp  
 725 730 735

ES 2 768 773 T3

Asn Lys Leu Lys Trp Gly Gly Gly Ser Leu Gly Asn Asn Ser Arg Glu  
740 745 750

Ile Ala Asp Ser Ser Asn Ile Met Asn Leu Trp Ala Ser Asn Pro Thr  
755 760 765

Ala Pro Ser Trp Asn Gly Gln Thr Val Trp Arg Ser Gly Asn Phe Asp  
770 775 780

Pro Ala Thr Lys Val Asp Leu Asn Ala Ala Asn Ala Thr Asn Gly Asn  
785 790 795 800

Met Ile Phe Asn Arg Ile Ser Gly Thr Gly Ser Gly Ile Ala Ser Ser  
805 810 815

Gly Arg Val Gly Ala Ile Asn Leu Gln Asn Gly Ala His Ser Gly Gln  
820 825 830

Ala Ala Ala Val Thr Phe Glu Arg Gly Gly Ser Ile Phe Val Asn Phe  
835 840 845

Gly Leu Asp Thr Asp Asn Val Leu Lys Val Gly Gly Gly Asn Leu Gly  
850 855 860

Ala Asn Ala Tyr Pro Val Ile His Ala Gly Asn Tyr Asn Asn Tyr Ile  
865 870 875 880

Asn Gln Ala Leu Val Gln Val Gly Leu Gly Gly Val Gly Ser Tyr Gly  
885 890 895

Ile Phe Ala Val Leu Asp Asn Ala Ala Pro Ile Ala Thr Val Gln Pro  
900 905 910

Gly Val Val Val Asp Gly Ser Ile Leu Ile Tyr Ser Ser Cys Ala Ala  
915 920 925

Asn Tyr Asn Ser Gly Gln Lys Pro Ala Gly Thr Trp Arg Cys Met Gly  
930 935 940

Tyr Val Val Asn Arg Asp Ala Asn Thr Pro Asp Ser Ala Thr Leu Phe  
945 950 955 960

Gln Arg Val Thr

<210> 29

<211> 964

5 <212> PRT

<213> Bacteriófago C36

ES 2 768 773 T3

<400> 29

Met Ile Thr Pro Glu Leu Ile Pro Ser Pro Phe Ala Ala Gln Gly Asp  
1 5 10 15

Lys Asp Pro Ile Pro Gln Thr Ser Ser Thr Gly Phe Ala Asn Leu Arg  
20 25 30

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

Gln Ala Lys Ala Val Glu Arg Lys Ile Gln Asn Gln Leu Phe Phe Ile  
50 55 60

Ala Thr Gln Asn Ala Gln Ala Trp Gln Arg Gln Met Ala Pro Pro Trp  
65 70 75 80

Phe Gln Gly Met Pro Gly Gly Tyr Glu Gln Asn Ala Glu Val Val Arg  
85 90 95

Val Gly Asn Asp Gly Ile Met Arg Arg Tyr Arg Ser Met Val Asn Ala  
100 105 110

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

Trp Ser Val Met Arg Ser Ser Ile Pro Met Pro Ala Gly Gly Pro Gly  
130 135 140

Leu Ser Ser Gly Gly Glu Val Ile Thr Thr Gly Arg Asn Phe Asn Asp  
145 150 155 160

Leu Leu Asn Gly Thr Trp Glu Phe Phe Ser Asp Ser Val Val Val Ala  
165 170 175

Ser Gln Asn Ala Pro Val Tyr Pro Ala Ser Ala Gly Ala Ala Ala Gly  
180 185 190

Met Leu Glu Ala Lys Ser Trp Ile Ser Gly Ser Asn Thr Phe Cys Val  
195 200 205

Gln Arg Tyr Thr Asp Arg Val Gly Asn Val Ala Val Arg Gly Leu Asn  
210 215 220

Ala Gly Ala Trp Thr Asn Trp Met Tyr Ala Val Asn Val Met Ala Leu  
225 230 235 240

ES 2 768 773 T3

Gln Gln Gly Arg Val Thr Tyr Gly Val Ala Ala Gly Pro Ala Asn Ala  
 245 250 255

Tyr Thr Leu Thr Leu Val Pro Gln Leu Gln Gly Gly Leu Val Asp Gly  
 260 265 270

Met Ile Leu Arg Val Lys Phe Asn Thr Val Asn Thr Gly Ala Ser Thr  
 275 280 285

Ile Asn Val Ser Gly Phe Gly Ala Lys Ala Ile Val Gly Ala Ala Asn  
 290 295 300

Phe Pro Leu Thr Gly Gly Glu Leu Gly Gln Gly Leu Ile Ala Glu Leu  
 305 310 315 320

Val Phe Asp Ala Thr Gly Asp Arg Trp Arg Ile Leu Ala Gly Ala Pro  
 325 330 335

Arg Ile Gln Val Gly Asn Ala Asp Gln Asp Tyr Gln Ala Pro Ser Trp  
 340 345 350

Lys Gln Val Lys Asp Tyr Val Ala Ser Gln Lys Leu Thr Glu Val Asp  
 355 360 365

Trp Ala Asp Val Val Asn Lys Pro Asn Val Ala Ile Gln Asp Thr Thr  
 370 375 380

Pro Trp Phe Ala Asn Leu Glu Leu Ser Asp Ala Arg Pro Phe Ile Asp  
 385 390 395 400

Phe His Phe Asn Asn Asn Arg Ala Lys Asp Phe Asp Tyr Arg Phe Ile  
 405 410 415

Ser Glu Ala Asp Gly Ser Met Ala Phe Tyr Ser Arg Gln Gly Ser Ala  
 420 425 430

Gly Pro Thr Gln Asp Ile Leu Phe Ser Arg Ser Asn Val Thr Phe Leu  
 435 440 445

Gln Pro Arg Leu Asp Val Ala Lys Asn Leu Ala Tyr Ile Ala Asn Ser  
 450 455 460

Gly Pro Leu Trp Gln Asn Thr Thr Ala Asp Gln Pro Gly Trp Lys Phe  
 465 470 475 480

Thr Phe Ala Gln Gly Val Asp Ala Asn Asn Asn Ala Val Ile Ala Val

ES 2 768 773 T3

				485					490				495			
Asn	Thr	Thr	Asn	Pro	Asp	Gly	Ser	Tyr	Arg	Ser	Gln	Ile	Met	Arg	Trp	
			500					505					510			
Asp	Trp	Ala	Ser	Thr	Asn	Val	Ile	Phe	Asn	Asn	Arg	Pro	Leu	Phe	Ala	
		515					520					525				
Gly	Gln	Tyr	Val	Pro	Trp	Asp	Ser	Gly	Asn	Phe	Asp	Pro	Ala	Thr	Lys	
	530					535					540					
Leu	Thr	Val	Gly	Thr	Thr	Asn	Asn	Ile	Ser	Gly	Pro	Thr	Gly	Ile	Arg	
545					550					555					560	
Asn	Thr	Thr	Ser	Asn	Thr	Gly	Asn	Met	Asn	Thr	Trp	Gly	Ser	Ser	Ser	
				565					570					575		
Thr	Thr	Ala	Ser	Tyr	Gly	Asn	Ala	Ala	Val	Gln	Ile	Phe	Gly	Arg	Gly	
			580					585					590			
Asp	Gly	Glu	Pro	Ala	Ala	Ile	Tyr	Phe	Asp	Asn	Ser	Gln	Thr	Gly	Trp	
		595					600					605				
Tyr	Leu	Gly	Met	Asp	Lys	Asp	Gly	Gln	Leu	Lys	Arg	Ala	Gly	Trp	Ser	
	610					615					620					
Leu	Gly	Asn	Asn	Ser	Tyr	Val	Val	Thr	Asp	Glu	Ser	Asn	Ile	Arg	Phe	
625					630					635					640	
His	Val	Asn	Ser	Met	Ala	Gly	Thr	Pro	Val	Trp	Gly	Gly	Asn	Glu	Phe	
				645					650					655		
Trp	Gly	Pro	Trp	Asn	Phe	Asn	Pro	Asn	Thr	Lys	Leu	Thr	Ile	Lys	Ala	
			660					665					670			
Gly	Thr	Gln	Glu	Thr	Ser	Ser	Thr	Ala	Ile	Phe	Ser	Gly	Thr	Met	Pro	
		675					680					685				
Phe	Ala	Pro	Ile	Ala	Ser	Leu	Ser	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ala	Pro	Leu	Thr	
	690					695					700					
Ile	Tyr	Asn	Ser	Pro	Thr	Gly	Pro	Ser	Ala	Lys	Pro	Ala	Val	Ile	Ala	
705					710					715					720	
Phe	Ile	Arg	Pro	Gly	Asn	Trp	Gly	Ala	Phe	Phe	Gly	Ile	Asp	Thr	Asp	
				725					730					735		

ES 2 768 773 T3

Asn Lys Leu Lys Trp Gly Gly Gly Ser Leu Gly Asn Ser Ser Arg Glu  
740 745 750

Ile Ala Asp Ser Ser Asn Ile Met Asn Leu Trp Ala Ala Asn Pro Thr  
755 760 765

Ala Pro Ser Trp Asn Gly Gln Thr Val Trp Arg Ser Gly Asn Phe Asp  
770 775 780

Pro Ala Thr Lys Val Asp Leu Asn Ala Ala Asn Ala Thr Asn Gly Asn  
785 790 795 800

Met Val Phe Asn Arg Ile Ser Gly Thr Gly Ser Gly Ile Ala Ser Ser  
805 810 815

Gly Arg Val Gly Ala Ile Asn Leu Gln Asn Gly Ala His Ser Gly Gln  
820 825 830

Ala Ala Ala Val Thr Phe Glu Arg Gly Gly Ser Ile Phe Val Asn Phe  
835 840 845

Gly Leu Asp Thr Asp Asn Val Leu Lys Val Gly Gly Gly Asn Leu Gly  
850 855 860

Ala Asn Ala Tyr Pro Val Ile His Ala Gly Asn Tyr Asn Asn Tyr Ile  
865 870 875 880

Asn Gln Ala Leu Val Gln Val Gly Leu Gly Gly Val Gly Ser Tyr Gly  
885 890 895

Ile Phe Ala Val Leu Asp Asn Ala Ala Pro Ile Ala Thr Val Gln Pro  
900 905 910

Gly Val Val Val Asp Gly Ser Ile Leu Ile Tyr Ser Ser Cys Ser Ala  
915 920 925

Asn Tyr Asn Ser Gly Gln Arg Pro Ala Gly Thr Trp Arg Cys Met Gly  
930 935 940

Tyr Val Val Asn Arg Asp Ala Asn Thr Pro Asp Ser Ala Thr Leu Phe  
945 950 955 960

Gln Arg Val Thr

<210> 30  
<211> 964  
5 <212> PRT  
<213> Bacteriófago LBL3



ES 2 768 773 T3

<400> 30

Met Ile Thr Pro Glu Leu Ile Pro Ser Pro Phe Ala Ala Gln Gly Asp  
 1 5 10 15

Lys Asp Pro Ile Pro Gln Thr Ser Ser Thr Gly Phe Ala Asn Leu Arg  
 20 25 30

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

Gln Ala Lys Ala Val Glu Arg Lys Ile Gln Asn Gln Leu Phe Phe Ile  
 50 55 60

Ala Thr Gln Asn Ala Gln Ala Trp Gln Arg Gln Met Ala Pro Pro Trp  
 65 70 75 80

Phe Gln Gly Met Pro Gly Gly Tyr Glu Gln Asn Ala Glu Val Val Arg  
 85 90 95

Val Gly Asn Asp Gly Ile Met Arg Arg Tyr Arg Ser Met Val Asn Ala  
 100 105 110

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

Trp Ser Val Met Arg Ser Asn Ile Pro Met Pro Ala Gly Gly Pro Gly  
 130 135 140

Leu Ser Ser Gly Gly Glu Val Ile Thr Thr Gly Arg Asn Phe Asn Asp  
 145 150 155 160

Leu Leu Asn Gly Thr Trp Glu Phe Phe Ser Asp Ser Val Val Ile Ala  
 165 170 175

Ser Gln Asn Ala Pro Val Tyr Pro Ala Ser Ala Gly Ala Ala Ala Gly  
 180 185 190

Met Leu Glu Ala Lys Ser Trp Val Ser Gly Ala Asn Thr Phe Cys Val  
 195 200 205

Gln Arg Tyr Thr Asp Arg Val Gly Asn Val Ala Val Arg Gly Leu Asn  
 210 215 220

Ala Gly Ala Trp Thr Asn Trp Met Tyr Ala Val Asn Val Met Ala Leu  
 225 230 235 240

ES 2 768 773 T3

Gln Gln Gly Arg Val Thr Tyr Gly Val Ala Ala Gly Ser Ala Asn Ala  
245 250 255

Tyr Thr Leu Thr Leu Val Pro Gln Leu Gln Gly Gly Leu Val Asp Gly  
260 265 270

Met Ile Leu Arg Val Lys Phe Asn Thr Met Asn Thr Gly Ala Ser Thr  
275 280 285

Ile Asn Val Ser Gly Phe Gly Ala Lys Ala Ile Val Gly Ala Ala Asn  
290 295 300

Phe Pro Leu Thr Gly Gly Glu Leu Gly Gln Gly Leu Ile Ala Glu Leu  
305 310 315 320

Val Phe Asp Ala Thr Gly Asp Arg Trp Arg Ile Leu Ala Gly Ala Pro  
325 330 335

Arg Ile Gln Val Gly Asn Ala Asp Gln Asp Tyr Gln Ala Pro Ser Trp  
340 345 350

Lys Gln Val Lys Asp Tyr Val Ala Ser Gln Lys Leu Thr Glu Val Asp  
355 360 365

Trp Ala Asp Val Val Asn Lys Pro Asn Val Ala Ile Gln Asp Thr Thr  
370 375 380

Pro Trp Phe Ala Asn Leu Glu Leu Ser Asp Ala Arg Pro Phe Ile Asp  
385 390 395 400

Phe His Phe Asn Asn Asn Arg Ala Lys Asp Phe Asp Tyr Arg Phe Ile  
405 410 415

Ser Glu Ala Asp Gly Ser Met Ala Phe Tyr Ser Arg Gln Gly Ser Ala  
420 425 430

Gly Pro Thr Gln Asp Ile Leu Phe Ser Arg Ser Asn Val Thr Phe Leu  
435 440 445

Gln Pro Arg Leu Asp Val Ala Lys Asn Leu Ala Tyr Ile Ala Asn Ser  
450 455 460

Gly Pro Leu Trp Gln Asn Thr Thr Ala Asp Gln Pro Gly Trp Lys Phe  
465 470 475 480

Thr Phe Ala Gln Gly Val Asp Ala Asn Asn Asn Ala Val Ile Ala Val  
485 490 495

ES 2 768 773 T3

Asn Thr Thr Asn Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Gln Ile Met Arg Trp  
500 505 510

Asp Trp Ala Ser Thr Asn Val Ile Phe Asn Asn Arg Pro Leu Phe Ala  
515 520 525

Gly Gln Tyr Val Pro Trp Asp Ser Gly Asn Phe Asp Pro Ala Thr Lys  
530 535 540

Leu Thr Val Gly Thr Thr Asn Asn Ile Ser Arg Pro Thr Gly Ile Arg  
545 550 555 560

Asn Thr Thr Ser Asn Thr Gly Asn Met Asn Thr Trp Gly Ser Ser Ser  
565 570 575

Thr Thr Ala Ser Tyr Gly Asn Ala Ala Leu Gln Ile Phe Gly Arg Gly  
580 585 590

Gly Gly Glu Pro Ala Ala Ile Tyr Phe Asp Asn Ser Gln Thr Gly Trp  
595 600 605

Tyr Leu Gly Met Asp Lys Asp Gly Gln Leu Lys Arg Ala Gly Trp Ser  
610 615 620

Leu Gly Asn Asn Ser Tyr Val Val Thr Asp Glu Ser Asn Ile Arg Phe  
625 630 635 640

His Val Asn Ser Met Ala Gly Thr Pro Val Trp Gly Gly Asn Glu Phe  
645 650 655

Trp Gly Pro Trp Asn Phe Asn Pro Asn Thr Lys Leu Thr Ile Lys Ala  
660 665 670

Gly Thr Gln Glu Thr Ser Ser Thr Ala Ile Phe Ser Gly Thr Met Pro  
675 680 685

Phe Ala Pro Ile Ala Ser Leu Ser Asp Tyr Ser Gln Ala Pro Leu Thr  
690 695 700

Val Tyr Asn Ser Pro Thr Gly Pro Ser Ala Lys Pro Ala Val Ile Ala  
705 710 715 720

Phe Ile Arg Pro Gly Asn Trp Gly Ala Phe Phe Gly Ile Asp Thr Asp  
725 730 735

Asn Lys Leu Lys Trp Gly Gly Gly Ser Leu Gly Asn Ser Ser Arg Glu

ES 2 768 773 T3

	740		745		750															
Ile	Ala	Asp	Ser	Ser	Asn	Ile	Met	Asn	Leu	Trp	Ala	Ala	Asn	Pro	Thr					
		755					760						765							
Ala	Pro	Thr	Trp	Asn	Gly	Gln	Thr	Ile	Trp	Arg	Ser	Gly	Asn	Phe	Asp					
	770					775						780								
Pro	Ala	Thr	Lys	Val	Asp	Leu	Asn	Ala	Ala	Asn	Ala	Thr	Asn	Gly	Asn					
785					790					795					800					
Met	Ile	Phe	Asn	Arg	Ile	Ala	Gly	Thr	Gly	Ser	Gly	Ile	Ala	Ser	Ser					
				805					810						815					
Asp	Arg	Val	Gly	Ala	Ile	Ser	Leu	Gln	Asn	Gly	Ala	Thr	Ala	Gly	Ala					
			820					825						830						
Ala	Ala	Ala	Val	Thr	Phe	Glu	Arg	Gly	Gly	Gly	Phe	Phe	Val	Asn	Phe					
			835				840							845						
Gly	Leu	Asp	Thr	Asp	Asn	Val	Leu	Lys	Val	Gly	Gly	Gly	Asn	Leu	Gly					
	850					855						860								
Ala	Asn	Ala	Tyr	Pro	Val	Ile	His	Ala	Gly	Asn	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ile					
865					870					875					880					
Asn	Gln	Ala	Leu	Val	Gln	Val	Gly	Leu	Gly	Gly	Val	Gly	Ser	Tyr	Gly					
				885					890					895						
Ile	Phe	Ala	Val	Leu	Asp	Tyr	Ala	Ala	Pro	Thr	Ala	Thr	Val	Gln	Pro					
			900					905						910						
Gly	Val	Ile	Val	Asp	Gly	Ser	Ile	Leu	Ile	Tyr	Ser	Ser	Cys	Ser	Ala					
		915					920						925							
His	Tyr	Asn	Ser	Gly	Gln	Arg	Pro	Ala	Gly	Thr	Trp	Arg	Cys	Met	Gly					
	930					935					940									
Tyr	Val	Leu	Asn	Arg	Asp	Ala	Arg	Asp	Pro	Asp	Ser	Ala	Thr	Leu	Phe					
945					950					955					960					
Gln	Arg	Val	Thr																	

<210> 31  
 <211> 964  
 <212> PRT  
 <213> Bacteriófago Phi33

5

ES 2 768 773 T3

<400> 31

Met Ile Thr Pro Glu Leu Ile Pro Ser Pro Phe Ala Ala Gln Gly Asp  
 1 5 10 15

Lys Asp Pro Ile Pro Gln Thr Ser Ser Thr Gly Phe Ala Asn Leu Arg  
 20 25 30

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

Gln Ala Lys Ala Val Glu Arg Lys Ile Gln Asn Gln Leu Phe Phe Ile  
 50 55 60

Ala Thr Gln Asn Ala Gln Ala Trp Gln Arg Gln Met Ala Pro Pro Trp  
 65 70 75 80

Phe Gln Gly Met Pro Gly Gly Tyr Glu Gln Asn Ala Glu Val Val Arg  
 85 90 95

Val Gly Asn Asp Gly Ile Met Arg Arg Tyr Arg Ser Met Val Asn Ala  
 100 105 110

Asn Ala Ile Asp Pro Leu Ser Ser Thr Thr Trp Glu Glu Gln Pro Ala  
 115 120 125

Trp Ser Val Met Arg Ser Asn Ile Pro Met Pro Ala Gly Gly Pro Gly  
 130 135 140

Leu Ser Ser Gly Gly Glu Val Ile Thr Thr Gly Arg Asn Phe Asn Asp  
 145 150 155 160

Leu Leu Asn Gly Thr Trp Glu Phe Phe Ser Asp Ser Val Val Val Ala  
 165 170 175

Ser Gln Asn Ala Pro Val Tyr Pro Ala Ser Ala Gly Ala Ala Ala Gly  
 180 185 190

Met Leu Glu Ala Lys Ser Trp Val Ser Gly Ala Asn Thr Phe Cys Val  
 195 200 205

Gln Arg Tyr Thr Asp Arg Val Gly Asn Val Ala Val Arg Gly Leu Asn  
 210 215 220

Ala Gly Ala Trp Thr Asn Trp Met Tyr Ala Val Asn Val Met Ala Leu  
 225 230 235 240

ES 2 768 773 T3

Gln Gln Gly Arg Val Thr Tyr Gly Val Ala Ala Gly Ser Ala Asn Ala  
 245 250 255

Tyr Thr Leu Thr Leu Val Pro Gln Leu Gln Gly Gly Leu Val Asp Gly  
 260 265 270

Met Ile Leu Arg Val Lys Phe Asn Thr Met Asn Thr Gly Ala Ser Thr  
 275 280 285

Ile Asn Val Ser Gly Leu Gly Ala Lys Ala Ile Val Gly Ala Ala Asn  
 290 295 300

Phe Pro Leu Thr Gly Gly Glu Leu Gly Gln Gly Leu Ile Ala Glu Leu  
 305 310 315 320

Val Phe Asp Ala Ala Gly Asp Arg Trp Arg Ile Leu Ala Gly Ala Pro  
 325 330 335

Arg Ile Gln Val Gly Asn Ala Asp Gln Asp Tyr Gln Ala Pro Ser Trp  
 340 345 350

Lys Gln Val Lys Asp Tyr Val Ala Ser Gln Lys Leu Thr Glu Val Asp  
 355 360 365

Trp Ala Asp Val Val Asn Lys Pro Asn Val Ala Ile Gln Asp Thr Thr  
 370 375 380

Pro Trp Phe Ala Asn Leu Glu Leu Ser Asp Ala Arg Pro Phe Ile Asp  
 385 390 395 400

Phe His Phe Asn Ser Asn Arg Ala Lys Asp Phe Asp Tyr Arg Leu Ile  
 405 410 415

Ser Glu Ala Asp Gly Ser Leu Ala Phe Tyr Ser Arg Gln Gly Ser Ala  
 420 425 430

Gly Pro Thr Gln Asp Ile Leu Phe Asn Arg Asn Ser Val Thr Phe Phe  
 435 440 445

Gln Pro Arg Leu Asp Val Ala Lys Asn Leu Ala Tyr Ile Ala Asn Ser  
 450 455 460

Gly Pro Leu Trp Gln Asn Thr Thr Ala Asp Gln Pro Gly Trp Lys Phe  
 465 470 475 480

Thr Phe Ala Gln Gly Val Asp Ala Asn Asn Asn Ala Val Ile Ala Val  
 485 490 495

ES 2 768 773 T3

Asn Thr Thr Asn Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Gln Ile Met Arg Trp  
 500 505 510

Asp Trp Ala Ser Thr Asn Val Ile Phe Asn Asn Arg Pro Leu Phe Ala  
 515 520 525

Gly Gln Tyr Val Pro Trp Asp Ser Gly Asn Phe Asp Pro Ser Thr Lys  
 530 535 540

Leu Thr Val Asn Ala Thr Asn Gln Ile Ala Gly Pro Thr Gly Ile Arg  
 545 550 555 560

Asn Thr Asn Gly Asn Thr Gly Asn Met Asn Thr Trp Gly Ser Gly Ser  
 565 570 575

Thr Thr Ala Ser Tyr Gly Asn Ala Ala Leu Gln Ile Phe Gly Lys Gly  
 580 585 590

Gly Gly Glu Pro Ala Ala Leu Tyr Phe Asp Asn Ser Gln Thr Gly Trp  
 595 600 605

Tyr Leu Gly Met Asp Lys Asp Gly Gln Leu Lys Arg Ala Gly Trp Ser  
 610 615 620

Leu Gly Asn Asn Ala Tyr Val Ile Thr Asp Glu Ser Asn Ile Arg Phe  
 625 630 635 640

His Val Asn Ser Met Ala Gly Thr Pro Val Trp Gly Gly Asn Glu Phe  
 645 650 655

Trp Gly Pro Trp Asn Phe Asn Pro Asn Thr Lys Leu Thr Ile Lys Ala  
 660 665 670

Gly Thr Gln Glu Thr Ser Ser Thr Ala Ile Phe Ser Gly Thr Met Pro  
 675 680 685

Phe Ala Pro Ile Ala Ser Leu Ser Asp Tyr Ser Gln Ala Pro Leu Thr  
 690 695 700

Val Tyr Asn Ala Pro Thr Gly Pro Ser Ala Lys Pro Ala Val Ile Ala  
 705 710 715 720

Phe Ile Arg Pro Gly Asn Trp Gly Ala Phe Phe Gly Ile Asp Thr Asp  
 725 730 735

Asn Lys Leu Lys Trp Gly Gly Gly Ser Leu Gly Asn Ser Ser Arg Glu  
 740 745 750

ES 2 768 773 T3

Ile Ala Asp Ser Ser Asn Ile Met Asn Leu Trp Ala Ala Asn Pro Thr  
 755 760 765

Ala Pro Ser Trp Asn Gly Gln Thr Ile Trp Arg Ser Gly Asn Phe Asp  
 770 775 780

Pro Ala Thr Lys Val Asp Leu Asn Ala Ala Asn Ala Thr Asn Gly Asn  
 785 790 795 800

Met Ile Phe Asn Arg Ile Ala Gly Thr Gly Ser Gly Ile Ala Ser Ser  
 805 810 815

Gly Arg Val Gly Ala Ile Asn Leu Gln Asn Gly Glu His Ser Gly Gln  
 820 825 830

Ala Ala Ala Val Thr Phe Glu Arg Gly Gly Ser Ile Phe Val Asn Phe  
 835 840 845

Gly Leu Asp Thr Asp Asn Val Leu Lys Val Gly Gly Gly Asn Leu Gly  
 850 855 860

Ala Asn Ala Tyr Pro Val Ile His Ala Gly Asn Tyr Asn Asn Tyr Ile  
 865 870 875 880

Asn Gln Ala Leu Val Gln Val Gly Leu Glu Gly Val Gly Ser Tyr Gly  
 885 890 895

Ile Phe Ala Val Leu Asp Asn Ala Ala Pro Thr Ala Thr Val Gln Pro  
 900 905 910

Gly Val Val Val Asp Gly Ser Ile Leu Ile Tyr Ser Ser Cys Ala Ala  
 915 920 925

Asn Tyr Asn Ser Gly Lys Arg Pro Ala Gly Thr Trp Arg Cys Met Gly  
 930 935 940

Tyr Val Val Asn Arg Asp Ala Asn Thr Pro Asp Ser Ala Thr Leu Phe  
 945 950 955 960

Gln Arg Val Thr

<210> 32

<211> 964

5 <212> PRT

<213> Bacteriófago LMA2

<400> 32



ES 2 768 773 T3

Met Ile Thr Pro Glu Leu Ile Pro Ser Pro Phe Ala Ala Gln Gly Asp  
1 5 10 15

Lys Asp Pro Ile Pro Gln Thr Ser Ser Thr Gly Phe Ala Asn Leu Arg  
20 25 30

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

Gln Ala Lys Val Val Glu Arg Lys Ile Gln Asn Gln Leu Phe Phe Ile  
50 55 60

Ala Thr Gln Asn Ala Gln Ala Trp Gln Arg Gln Met Ala Pro Pro Trp  
65 70 75 80

Phe Gln Gly Met Pro Gly Gly Tyr Glu Gln Asn Ala Glu Val Val Arg  
85 90 95

Val Gly Asn Asp Gly Ile Met Arg Arg Tyr Arg Ser Met Val Asn Ala  
100 105 110

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

Trp Ser Ala Met Arg Ser Asn Ile Pro Met Pro Ala Gly Gly Pro Gly  
130 135 140

Leu Ser Ser Gly Gly Glu Val Ile Thr Thr Gly Arg Asn Phe Asn Asp  
145 150 155 160

Leu Leu Asn Gly Thr Trp Glu Phe Phe Ser Asp Ser Val Val Ile Ala  
165 170 175

Ser Gln Asn Ala Pro Val Tyr Pro Ala Ser Ala Gly Ala Ala Ala Gly  
180 185 190

Met Leu Glu Ala Lys Ser Trp Val Ser Gly Ala Asn Thr Phe Cys Val  
195 200 205

Gln Arg Tyr Thr Asp Arg Val Gly Asn Val Ala Val Arg Gly Leu Asn  
210 215 220

Ala Gly Ala Trp Thr Asn Trp Met Tyr Ala Val Asn Val Met Ala Leu  
225 230 235 240

Gln Gln Gly Arg Val Thr Tyr Gly Val Ala Ala Gly Ser Ala Asn Ala

ES 2 768 773 T3

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

ES 2 768 773 T3

Asn Thr Thr Asn Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Gln Val Met Arg Trp  
 500 505 510

Asp Trp Ala Ser Thr Asn Val Ile Phe Asn Asn Arg Pro Leu Phe Ala  
 515 520 525

Gly Gln Tyr Thr Pro Trp Asp Ser Gly Asn Phe Asp Pro Ser Thr Lys  
 530 535 540

Leu Thr Val Asn Ala Thr Asn Gln Ile Ala Gly Pro Thr Gly Ile Arg  
 545 550 555 560

Asn Thr Asn Gly Asn Thr Gly Asn Met Asn Thr Trp Gly Ser Gly Ser  
 565 570 575

Thr Thr Ala Ser Tyr Gly Asn Ala Ala Ile Gln Ile Phe Gly Lys Gly  
 580 585 590

Gly Gly Glu Pro Ala Ala Ile Tyr Phe Asp Asn Ser Gln Thr Gly Trp  
 595 600 605

Tyr Leu Gly Met Asp Lys Asp Gly Gln Leu Lys Arg Ala Gly Trp Ser  
 610 615 620

Leu Gly Asn Asn Ser Tyr Val Ile Thr Asp Glu Leu Asn Ile Arg Asn  
 625 630 635 640

His Ile Asn Gly Met Ala Ala Arg Pro Val Trp Gly Gly Asn Glu Phe  
 645 650 655

Trp Gly Pro Trp Asn Phe Asn Pro Asn Thr Lys Leu Thr Ile Lys Ala  
 660 665 670

Gly Thr Gln Glu Thr Ser Ser Thr Ala Ile Tyr Ser Gly Thr Met Pro  
 675 680 685

Phe Ala Pro Ile Ala Ser Leu Ser Asp Tyr Ser Gln Ala Pro Leu Thr  
 690 695 700

Ile Tyr Asn Ala Pro Thr Gly Pro Ser Ala Lys Pro Ala Val Ile Ala  
 705 710 715 720

Phe Ile Arg Pro Gly Asn Trp Gly Ala Phe Phe Gly Leu Asp Thr Asp  
 725 730 735

Asn Lys Leu Lys Trp Gly Gly Gly Ser Leu Gly Asn Ser Ser Met Glu  
 740 745 750

ES 2 768 773 T3

Ile Ala Asp Ser Ser Asn Ile Met Asn Leu Trp Ala Ala Asn Pro Thr  
755 760 765

Ala Pro Thr Trp Asn Gly Gln Thr Val Trp Arg Ser Gly Asn Phe Asp  
770 775 780

Pro Ala Thr Lys Val Asp Leu Asn Ala Pro Asn Ala Thr Asn Gly Asn  
785 790 795 800

Met Ile Phe Asn Arg Ile Ala Gly Thr Gly Ser Gly Ile Ala Ser Ser  
805 810 815

Gly Arg Val Gly Ala Ile Ser Leu Gln Asn Gly Ala Thr Ala Gly Ala  
820 825 830

Ala Ala Ala Val Thr Phe Glu Arg Gly Gly Gly Phe Phe Val Asn Phe  
835 840 845

Gly Leu Asp Thr Asp Asn Val Leu Lys Val Gly Gly Gly Asn Leu Gly  
850 855 860

Ala Asn Ala Tyr Pro Val Ile His Ala Gly Asn Tyr Asn Ser Tyr Ile  
865 870 875 880

Asn Gln Ala Leu Val Gln Val Gly Leu Gly Gly Val Gly Ser Tyr Ala  
885 890 895

Ala Leu Ala Val Tyr Asp Thr Ser Ala Pro Ala Ser Ser Val Gly Pro  
900 905 910

Gly Thr Ile Leu Asp Gly Ser Val Leu Phe Tyr Ser Ser Phe Asn Ala  
915 920 925

Asn Phe Arg Ser Gly Thr Lys Pro Thr Gly Thr Trp Arg Cys Met Gly  
930 935 940

Tyr Ile Leu Asn Arg Asp Gly Thr Asn Pro Asp Ser Ala Thr Leu Phe  
945 950 955 960

Gln Arg Val Thr

<210> 33

<211> 963

5 <212> PRT

<213> Bacteriófago KPP12

<400> 33

ES 2 768 773 T3

Met Ile Thr Pro Glu Leu Ile Pro Ser Pro Phe Ala Ala Gln Gly Asp  
1 5 10 15

Lys Asp Pro Ile Pro Gln Thr Ser Ser Thr Gly Phe Ala Asn Leu Arg  
20 25 30

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

Gln Ala Lys Ala Val Glu Arg Lys Ile Gln Asn Gln Leu Phe Phe Ile  
50 55 60

Ala Thr Gln Asn Ala Gln Ala Trp Gln Arg Gln Met Ala Pro Pro Trp  
65 70 75 80

Phe Gln Gly Met Pro Gly Gly Tyr Glu Gln Asn Ala Glu Val Val Arg  
85 90 95

Val Gly Asn Asp Gly Ile Met Arg Arg Tyr Arg Ser Met Val Asn Ala  
100 105 110

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

Trp Ser Ala Met Arg Ser Asn Ile Pro Met Pro Ala Gly Gly Pro Gly  
130 135 140

Leu Ser Ser Gly Gly Glu Val Ile Thr Thr Gly Arg Asn Phe Asn Asp  
145 150 155 160

Leu Leu Asn Gly Thr Trp Glu Phe Phe Ser Asp Ser Val Val Ile Ala  
165 170 175

Ser Gln Asn Ala Pro Val Tyr Pro Ala Ser Ala Gly Ala Ala Ala Gly  
180 185 190

Met Leu Glu Ala Lys Ser Trp Val Ser Gly Ala Asn Thr Phe Cys Val  
195 200 205

Gln Arg Tyr Thr Asp Arg Val Gly Asn Val Ala Leu Arg Gly Leu Asn  
210 215 220

Ala Gly Ala Trp Thr Asn Trp Met Tyr Ala Val Asn Val Met Ala Leu  
225 230 235 240

Gln Gln Gly Arg Val Thr Tyr Gly Val Ala Ala Gly Ser Ala Asn Ala  
245 250 255

ES 2 768 773 T3

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

ES 2 768 773 T3

			500						505						510		
Asp	Trp	Ala	Ser	Thr	Asn	Val	Ile	Phe	Asn	Asn	Arg	Pro	Leu	Phe	Ala		
		515					520					525					
Gly	Gln	Tyr	Thr	Pro	Trp	Asp	Ser	Gly	Asn	Phe	Asp	Pro	Ser	Thr	Lys		
	530					535					540						
Leu	Thr	Val	Asn	Ala	Thr	Asn	Gln	Ile	Ala	Gly	Pro	Thr	Gly	Ile	Arg		
545					550					555					560		
Asn	Thr	Asn	Gly	Asn	Thr	Gly	Asn	Met	Asn	Thr	Trp	Gly	Ser	Ser	Ser		
				565					570					575			
Thr	Thr	Ala	Ser	Tyr	Gly	Asn	Ala	Ala	Leu	Gln	Ile	Phe	Gly	Lys	Gly		
			580					585					590				
Gly	Gly	Glu	Pro	Ala	Ala	Leu	Tyr	Phe	Asp	Asn	Ser	Gln	Thr	Gly	Trp		
		595					600					605					
Tyr	Leu	Gly	Met	Asp	Lys	Asp	Gly	Gln	Leu	Lys	Arg	Ala	Gly	Trp	Ser		
	610					615					620						
Leu	Gly	Asn	Asn	Ala	Tyr	Val	Ile	Thr	Asp	Glu	Ser	Asn	Ile	Arg	Phe		
625					630					635					640		
His	Val	Asn	Ser	Met	Ala	Gly	Thr	Pro	Val	Trp	Gly	Gly	Asn	Glu	Phe		
				645					650					655			
Trp	Gly	Ser	Trp	Asn	Phe	Asn	Pro	Asn	Thr	Lys	Leu	Thr	Ile	Lys	Ala		
			660					665					670				
Gly	Thr	Gln	Glu	Thr	Ser	Ser	Thr	Ala	Ile	Phe	Ser	Glu	Thr	Met	Pro		
		675					680					685					
Phe	Ala	Pro	Ile	Ala	Ser	Leu	Ser	Asp	Tyr	Ser	Gln	Ala	Pro	Leu	Thr		
	690					695					700						
Ile	Tyr	Asn	Ala	Pro	Thr	Gly	Pro	Ser	Ala	Lys	Pro	Ala	Val	Ile	Ala		
705					710					715					720		
Phe	Ile	Arg	Pro	Gly	Asn	Trp	Gly	Ala	Phe	Phe	Gly	Leu	Asp	Thr	Asp		
				725					730					735			
Asn	Lys	Leu	Lys	Trp	Gly	Gly	Gly	Ser	Leu	Gly	Asn	Ser	Ser	Arg	Glu		
			740					745					750				

ES 2 768 773 T3

Ile Ala Asp Ser Arg Asn Ile Met Asn Leu Trp Ala Ala Asn Pro Thr  
 755 760 765

Ala Pro Thr Trp Asn Gly Gln Thr Val Trp Arg Ser Gly Asn Phe Asp  
 770 775 780

Pro Ala Thr Lys Val Asp Leu Asn Ala Pro Asn Ala Thr Asn Gly Asn  
 785 790 795 800

Met Ile Phe Asn Arg Ile Ala Gly Thr Gly Ser Gly Ile Ala Ser Ser  
 805 810 815

Gly Arg Val Gly Ala Ile Ser Leu Gln Asn Gly Ala Thr Ala Gly Ala  
 820 825 830

Ala Ala Ala Val Thr Phe Glu Arg Gly Gly Phe Phe Val Asn Phe Gly  
 835 840 845

Leu Asp Thr Asp Asn Val Leu Lys Val Gly Gly Gly Asn Leu Gly Ala  
 850 855 860

Asn Ala Tyr Pro Val Ile His Ala Gly Asn Tyr Asn Ser Tyr Ile Asn  
 865 870 875 880

Gln Ala Leu Val Gln Val Gly Leu Gly Gly Val Gly Ser Tyr Ala Ala  
 885 890 895

Leu Ala Val Tyr Asp Thr Ser Ala Pro Ala Ser Ser Val Gly Pro Gly  
 900 905 910

Thr Ile Leu Asp Gly Ser Val Leu Phe Tyr Ser Ser Phe Asp Ala Asn  
 915 920 925

Phe Arg Ser Gly Thr Lys Pro Thr Gly Thr Trp Arg Cys Met Gly Tyr  
 930 935 940

Val Leu Asn Arg Asp Gly Thr Asn Pro Asp Ser Ala Ala Leu Phe Gln  
 945 950 955 960

Arg Val Thr

- <210> 34
- <211> 962
- 5 <212> PRT
- <213> Bacteriófago JG024
- <400> 34



ES 2 768 773 T3

Met Ile Thr Pro Glu Leu Ile Pro Ser Pro Phe Ala Ala Gln Gly Asp  
1 5 10 15

Lys Asp Pro Ile Pro Gln Thr Ser Ser Thr Gly Phe Ala Asn Leu Arg  
20 25 30

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

Gln Ala Lys Ala Val Glu Arg Lys Ile Gln Asn Gln Leu Phe Phe Ile  
50 55 60

Ala Thr Gln Asn Ala Gln Ala Trp Gln Arg Gln Met Ala Pro Pro Trp  
65 70 75 80

Phe Gln Gly Met Pro Gly Gly Tyr Glu Gln Asn Ala Glu Val Val Arg  
85 90 95

Val Gly Asn Asp Gly Ile Met Arg Arg Tyr Arg Ser Met Val Asn Ala  
100 105 110

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

Trp Ser Val Met Arg Thr Asn Ile Pro Met Pro Ala Gly Gly Pro Gly  
130 135 140

Leu Ser Ser Gly Gly Glu Val Ile Thr Thr Gly Arg Asn Phe Asn Glu  
145 150 155 160

Leu Leu Asn Gly Thr Trp Glu Phe Phe Ser Asp Ala Ile Val Val Ala  
165 170 175

Ser Gln Asn Ala Pro Val Tyr Pro Ala Ser Ala Gly Ala Ala Ala Gly  
180 185 190

Met Leu Glu Ala Lys Ser Trp Val Ser Gly Ser Asn Thr Phe Cys Val  
195 200 205

Gln Arg Tyr Thr Asp Arg Val Gly Asn Val Ala Val Arg Gly Leu Asn  
210 215 220

Ala Gly Ala Trp Thr Asn Trp Met Tyr Ala Val Asn Val Met Ala Leu  
225 230 235 240

Gln His Gly Arg Val Thr Tyr Gly Thr Ala Ala Gly Pro Ala Asn Ala  
245 250 255

ES 2 768 773 T3

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

ES 2 768 773 T3

Asp Trp Ala Ser Thr Asn Val Ile Phe Asn Asn Arg Pro Leu Phe Ala  
 515 520 525

Gly Gln Tyr Thr Pro Trp Asp Ser Gly Asn Phe Asp Pro Ser Thr Lys  
 530 535 540

Leu Thr Val Ser Ala Thr Asn Gln Ile Ser Gly Pro Thr Gly Ile Arg  
 545 550 555 560

Asn Thr Asn Gly Asn Thr Gly Asn Met Asn Thr Trp Gly Ser Gly Ser  
 565 570 575

Thr Thr Ala Ser Tyr Gly Asn Ala Ala Ile Gln Ile Phe Gly Lys Gly  
 580 585 590

Gly Gly Glu Pro Ala Ala Ile Tyr Phe Asp Asn Ser Gln Thr Gly Trp  
 595 600 605

Tyr Leu Gly Met Asp Lys Asp Gly Gln Leu Lys Arg Ala Gly Trp Ser  
 610 615 620

Leu Gly Asn Asn Ser Tyr Val Ile Thr Asp Glu Ser Asn Ile Arg Thr  
 625 630 635 640

His Ile Asn Thr Met Ala Ala Arg Pro Ile Trp Gly Asn Val Glu Phe  
 645 650 655

Trp Gly Pro Trp Asn Phe Asp Pro Asn Leu Lys Leu Thr Leu Asn Ala  
 660 665 670

Phe Asn Asp Ser Ser Tyr Thr Arg Met Thr Asn Ser Gly Ala Lys Asp  
 675 680 685

Val Gly Ile Ala Ser Met Thr Ser Tyr Ala Asp Ala Ala Met Ser Phe  
 690 695 700

Phe Asn Tyr Glu Ala Ser Asn Pro Thr Gly Pro Arg Ala Ala Val Ile  
 705 710 715 720

Ser Phe Val Arg Asn Gly Ser Arg Gly Val Leu Phe Gly Leu Asp Ser  
 725 730 735

Asp Asn Lys Leu Lys Trp Gly Gly Tyr Ser Leu Gly Ala Val Ala Phe  
 740 745 750

Glu Ile Ala Asp Ser Asn Asn Leu Met Ser Leu Trp Ser Ser His Ala

ES 2 768 773 T3

755                      760                      765

Ala Ala Pro Asn Trp Asn Gly Gln Thr Ile Trp Arg Ser Gly Asn Phe  
770                      775                      780

Asn Pro Asp Thr Lys Ala Thr Leu Ala Ala Arg Asn Thr Thr Ser Ser  
785                      790                      795                      800

Pro Thr Ile Phe Ser Tyr Gly Ala Ser Gly Ile Ala Ser Thr Gly Gln  
805                      810                      815

Val Gly Ala Leu Val Val Glu Asn Asn Ser Val Thr Asn Thr Ala Ala  
820                      825                      830

Ala Ile Thr Phe His Ser Pro Gln Lys Tyr Gln Val Asn Phe Gly Leu  
835                      840                      845

Asp Ala Asp Asn Val Val Lys Ile Gly Gly Gly Thr Met Gly Gly Val  
850                      855                      860

Ala Tyr Pro Ile Ile His Ser Gly Asn Tyr Asn Asn Tyr Ile Asn Gln  
865                      870                      875                      880

Ala Leu Val Gln Val Gly Leu Gly Gly Val Gly Ser Tyr Ala Ile Leu  
885                      890                      895

Ala Val Leu Asp Thr Ser Ala Pro Ala Ala Ser Ile Ala Pro Gly Thr  
900                      905                      910

Ile Met Asp Ser Ser Lys Leu Phe Tyr Ser Ser Cys Asp Ser Thr Tyr  
915                      920                      925

Arg Ser Ser Ala Ser Pro Thr Gly Thr Trp Arg Cys Met Gly Tyr Val  
930                      935                      940

Tyr Asn Arg Asp Ser Thr Asn Gly Asp Ser Ala Ser Leu Phe Gln Arg  
945                      950                      955                      960

Val Thr

<210> 35  
<211> 962  
5 <212> PRT  
<213> Bacteriófago PTP92

<400> 35

10 Met Ile Thr Pro Glu Leu Ile Pro Ser Pro Phe Ala Ala Gln Gly Asp

ES 2 768 773 T3

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

ES 2 768 773 T3

Tyr Thr Leu Thr Leu Val Pro Gln Ile Gln Gly Gly Leu Val Asp Gly  
 260 265 270

Met Ile Leu Arg Val Lys Phe Asn Thr Met Asn Thr Gly Ala Thr Thr  
 275 280 285

Ile Asn Val Ser Gly Leu Gly Ala Lys Ala Ile Val Gly Ala Ala Asn  
 290 295 300

Phe Pro Leu Thr Gly Gly Glu Leu Gly Gln Gly Leu Ile Ala Glu Leu  
 305 310 315 320

Val Phe Asp Ala Ala Gly Asp Arg Trp Arg Ile Leu Ala Gly Ala Pro  
 325 330 335

Arg Ile Gln Val Gly Asn Ala Asp Gln Asp Tyr Gln Ala Pro Ser Trp  
 340 345 350

Lys Gln Val Lys Asp Tyr Val Glu Ser Gln Lys Leu Thr Glu Val Asp  
 355 360 365

Trp Thr Asp Val Val Asn Lys Pro Asn Val Ala Ile Gln Asp Thr Thr  
 370 375 380

Pro Trp Phe Ala Asn Leu Glu Leu Ser Asp Ala Arg Pro Phe Ile Asp  
 385 390 395 400

Phe His Phe Asn Ser Asn Arg Ala Lys Asp Phe Asp Tyr Arg Leu Ile  
 405 410 415

Ser Glu Ala Asp Gly Ser Leu Ala Phe Tyr Ser Arg Gln Gly Ser Ala  
 420 425 430

Gly Pro Thr Gln Asp Ile Leu Phe Asn Arg Asn Ser Val Thr Phe Phe  
 435 440 445

Gln Pro Arg Leu Asp Val Ala Lys Asn Leu Ala Tyr Ile Ala Asn Ser  
 450 455 460

Gly Pro Leu Trp Gln Asn Thr Thr Ala Asp Gln Pro Gly Trp Lys Phe  
 465 470 475 480

Thr Phe Ala Gln Gly Val Asp Ala Asn Asn Asn Ala Val Ile Ala Val  
 485 490 495

Asn Thr Thr Asn Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Gln Val Met Arg Trp  
 500 505 510

ES 2 768 773 T3

Asp Trp Ala Ser Thr Asn Val Ile Phe Asn Asn Arg Pro Leu Phe Ala  
 515 520 525

Gly Gln Tyr Thr Pro Trp Asp Ser Gly Asn Phe Asp Pro Ser Thr Lys  
 530 535 540

Leu Thr Val Ser Ala Thr Asn Gln Ile Ser Gly Pro Thr Gly Ile Arg  
 545 550 555 560

Asn Thr Asn Gly Asn Thr Gly Asn Met Asn Thr Trp Gly Ser Gly Ser  
 565 570 575

Thr Thr Ala Ser Tyr Gly Asn Ala Ala Ile Gln Ile Phe Gly Lys Gly  
 580 585 590

Gly Gly Glu Pro Ala Ala Ile Tyr Phe Asp Asn Ser Gln Thr Gly Trp  
 595 600 605

Tyr Leu Gly Met Asp Lys Asp Gly Gln Leu Lys Arg Ala Gly Trp Ser  
 610 615 620

Leu Gly Asn Asn Ser Tyr Val Ile Thr Asp Glu Ser Asn Ile Arg Thr  
 625 630 635 640

His Ile Asn Thr Met Ala Ala Arg Pro Ile Trp Gly Asn Val Glu Phe  
 645 650 655

Trp Gly Pro Trp Asn Phe Asp Pro Asn Leu Lys Leu Thr Leu Asn Ala  
 660 665 670

Phe Asn Asp Ser Ser Tyr Thr Arg Met Thr Asn Ser Gly Ala Lys Asp  
 675 680 685

Val Gly Ile Ala Ser Met Thr Ser Tyr Ala Asp Ala Ala Met Ser Phe  
 690 695 700

Phe Asn Tyr Glu Ala Ser Asn Pro Thr Gly Pro Arg Ala Ala Val Ile  
 705 710 715 720

Ser Phe Val Arg Asn Gly Ser Arg Gly Val Leu Phe Gly Leu Asp Ser  
 725 730 735

Asp Asn Lys Leu Lys Trp Gly Gly Tyr Ser Leu Gly Ala Val Ala Phe  
 740 745 750

Glu Ile Ala Asp Ser Asn Asn Leu Met Ser Leu Trp Ser Ser His Ala  
 755 760 765

ES 2 768 773 T3

Ala Ala Pro Asn Trp Asn Gly Gln Thr Ile Trp Arg Ser Gly Asn Phe  
770 775 780

Asn Pro Asp Thr Lys Ala Thr Leu Ala Ala Arg Asn Thr Thr Ser Ser  
785 790 795 800

Pro Thr Ile Phe Ser Tyr Gly Ala Ser Gly Ile Ala Ser Thr Gly Gln  
805 810 815

Val Gly Ala Leu Val Val Glu Asn Asn Ser Val Thr Asn Thr Ala Ala  
820 825 830

Ala Ile Thr Phe His Ser Pro Gln Lys Tyr Gln Val Asn Phe Gly Leu  
835 840 845

Asp Ala Asp Asn Val Val Lys Ile Gly Gly Gly Thr Met Gly Gly Val  
850 855 860

Ala Tyr Pro Ile Ile His Ser Gly Asn Tyr Asn Asn Tyr Ile Asn Gln  
865 870 875 880

Ala Leu Val Gln Val Gly Leu Gly Gly Val Gly Ser Tyr Ala Ile Leu  
885 890 895

Ala Val Leu Asp Thr Ser Ala Pro Ala Ala Ser Ile Ala Pro Gly Thr  
900 905 910

Ile Met Asp Ser Ser Lys Leu Phe Tyr Ser Ser Cys Asp Ser Thr Tyr  
915 920 925

Arg Ser Ser Ala Ser Pro Thr Gly Thr Trp Arg Cys Met Gly Tyr Val  
930 935 940

Tyr Asn Arg Asp Ser Thr Asn Gly Asp Ser Ala Ser Leu Phe Gln Arg  
945 950 955 960

Val Thr

<210> 36  
<211> 962  
5 <212> PRT  
<213> Bacteriófago NH-4

<400> 36

10 Met Ile Thr Pro Glu Leu Ile Pro Ser Pro Phe Ala Ala Gln Gly Asp  
1 5 10 15



ES 2 768 773 T3

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



ES 2 768 773 T3

Asp Trp Ala Ser Thr Asn Val Ile Phe Asn Asn Arg Pro Leu Phe Ala  
 515 520 525

Gly Gln Tyr Thr Pro Trp Asp Ser Gly Asn Phe Asp Pro Ser Thr Lys  
 530 535 540

Leu Thr Val Ser Ala Thr Asn Gln Ile Ala Gly Pro Thr Gly Ile Arg  
 545 550 555 560

Asn Thr Asn Gly Asn Thr Gly Asn Met Asn Thr Trp Gly Ser Gly Ser  
 565 570 575

Thr Thr Ala Ser Tyr Gly Asn Ala Ala Ile Gln Ile Phe Gly Lys Gly  
 580 585 590

Gly Gly Glu Pro Ala Ala Ile Tyr Phe Asp Asn Ser Gln Thr Gly Trp  
 595 600 605

Tyr Leu Gly Met Asp Lys Asp Gly Gln Leu Lys Arg Ala Gly Trp Ser  
 610 615 620

Leu Gly Asn Asn Ser Tyr Val Ile Thr Asp Glu Ser Asn Ile Arg Thr  
 625 630 635 640

His Ile Asn Thr Met Ala Ala Arg Pro Ile Trp Gly Asn Val Glu Phe  
 645 650 655

Trp Gly Pro Trp Asn Phe Asn Pro Asn Thr Lys Leu Thr Leu Gly Ser  
 660 665 670

Phe Asn Asp Ser Gln His Thr Arg Met Val Asn Ser Ala Ala Lys Asp  
 675 680 685

Val Gly Ile Ala Ser Met Thr Ser Tyr Ala Asp Ala Ala Met Ser Phe  
 690 695 700

Phe Asn Tyr Glu Ala Ser Thr Pro Thr Gly Asn Arg Ala Ala Val Ile  
 705 710 715 720

Ser Phe Val Arg Asn Gly Ala Arg Gly Val Leu Phe Gly Leu Asp Thr  
 725 730 735

Asp Asn Lys Leu Lys Trp Gly Gly Tyr Ser Leu Gly Ala Val Ala Phe  
 740 745 750

Glu Ile Ala Asp Ser Asn Asn Leu Met Ser Leu Trp Ser Ser His Ala  
 755 760 765

ES 2 768 773 T3

Ala Ala Pro Asn Trp Asn Gly Gln Thr Ile Trp Arg Ser Gly Asn Phe  
770 775 780

Asn Pro Asp Thr Lys Ala Thr Leu Ala Ala Arg Asn Thr Thr Ser Ser  
785 790 795 800

Pro Thr Ile Phe Ser Tyr Gly Ala Ser Gly Ile Ala Ser Thr Gly Gln  
805 810 815

Val Gly Ala Leu Val Val Glu Asn Asn Ser Val Thr Asn Thr Ala Ala  
820 825 830

Ala Ile Thr Phe His Ser Pro Gln Lys Tyr Gln Val Asn Phe Gly Leu  
835 840 845

Asp Ala Asp Asn Val Val Lys Ile Gly Gly Gly Thr Met Gly Gly Val  
850 855 860

Ala Tyr Pro Ile Ile His Ser Gly Asn Tyr Asn Asn Tyr Ile Asn Gln  
865 870 875 880

Ala Leu Val Gln Val Gly Leu Gly Gly Val Gly Ser Tyr Ala Ile Leu  
885 890 895

Ala Val Leu Asp Thr Ser Ala Pro Ala Ala Ser Ile Ala Pro Gly Thr  
900 905 910

Ile Met Asp Ser Ser Lys Leu Phe Tyr Ser Ser Cys Asp Ser Thr Tyr  
915 920 925

Arg Ser Ser Ala Arg Pro Thr Gly Thr Trp Arg Cys Met Gly Tyr Val  
930 935 940

Tyr Asn Arg Asp Ser Thr Asn Gly Asp Ser Ala Ser Leu Phe Gln Arg  
945 950 955 960

Val Thr

<210> 37  
<211> 962  
5 <212> PRT  
<213> Bacteriófago 14-1

<400> 37

10 Met Ile Thr Pro Glu Leu Ile Pro Ser Pro Phe Ala Ala Gln Gly Asp  
1 5 10 15

ES 2 768 773 T3

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

ES 2 768 773 T3

Met Ile Leu Arg Val Lys Phe Asn Thr Val Asn Thr Gly Ala Ser Thr  
 275 280 285

Ile Asn Val Ser Gly Leu Gly Ala Lys Ala Ile Val Gly Ala Ala Asn  
 290 295 300

Phe Pro Leu Thr Gly Gly Glu Leu Gly Gln Gly Leu Ile Ala Glu Leu  
 305 310 315 320

Val Phe Asp Ala Ala Gly Asp Arg Trp Arg Ile Leu Ala Gly Ala Pro  
 325 330 335

Arg Ile Gln Val Gly Asn Ala Asp Gln Asp Tyr Gln Ala Pro Ser Trp  
 340 345 350

Lys Gln Val Lys Asp Tyr Val Ala Ser Gln Lys Leu Thr Glu Val Asp  
 355 360 365

Trp Thr Asp Val Val Asn Lys Pro Asn Val Ala Ile Gln Asp Thr Thr  
 370 375 380

Pro Trp Phe Ala Asn Leu Glu Leu Ser Asp Ala Arg Pro Phe Ile Asp  
 385 390 395 400

Phe His Phe Asn Ser Asn Arg Ala Lys Asp Phe Asp Tyr Arg Leu Ile  
 405 410 415

Ser Glu Ala Asp Gly Ser Leu Ala Phe Tyr Ser Arg Gln Gly Ser Ala  
 420 425 430

Gly Pro Thr Gln Asp Ile Leu Phe Asn Arg Asn Ser Val Thr Phe Phe  
 435 440 445

Gln Pro Arg Leu Asp Val Ala Lys Asn Leu Ala Tyr Ile Ala Asn Ser  
 450 455 460

Gly Pro Ile Trp Gln Asn Thr Thr Ala Asp Gln Pro Gly Trp Lys Phe  
 465 470 475 480

Thr Phe Ala Gln Gly Val Asp Ala Asn Asn Asn Ala Val Ile Ala Val  
 485 490 495

Asn Thr Thr Asn Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Gln Val Met Arg Trp  
 500 505 510

Asp Trp Ala Ser Thr Asn Val Ile Phe Asn Asp Arg Pro Leu Phe Ala

ES 2 768 773 T3

	515					520					525				
Gly	Gln	Tyr	Thr	Pro	Trp	Asp	Ser	Gly	Asn	Phe	Asp	Pro	Ser	Thr	Lys
	530					535					540				
Leu	Thr	Val	Ser	Ala	Thr	Asn	Gln	Ile	Ala	Gly	Pro	Thr	Gly	Ile	Arg
545					550					555					560
Asn	Thr	Asn	Gly	Asn	Thr	Gly	Asn	Met	Asn	Thr	Trp	Gly	Ser	Gly	Ser
				565					570					575	
Thr	Thr	Ala	Ser	Tyr	Gly	Asn	Ala	Ala	Ile	Gln	Ile	Phe	Gly	Lys	Gly
			580					585					590		
Gly	Gly	Glu	Pro	Ala	Ala	Ile	Tyr	Phe	Asp	Asn	Ser	Gln	Thr	Gly	Trp
		595					600					605			
Tyr	Leu	Gly	Met	Asp	Lys	Asp	Gly	Arg	Leu	Lys	Arg	Ala	Gly	Trp	Ser
	610					615					620				
Leu	Gly	Asn	Asn	Ser	Tyr	Val	Ile	Thr	Asp	Glu	Ser	Asn	Ile	Arg	Thr
625					630					635					640
His	Ile	Asn	Thr	Met	Ala	Ala	Arg	Pro	Ile	Trp	Gly	Asn	Val	Glu	Phe
				645					650					655	
Trp	Gly	Pro	Trp	Asn	Phe	Asp	Pro	Asn	Leu	Lys	Leu	Thr	Leu	Asn	Ala
			660					665						670	
Phe	Asn	Asp	Ser	Ser	Tyr	Thr	Arg	Met	Thr	Asn	Ser	Gly	Ala	Lys	Asp
		675					680					685			
Val	Gly	Ile	Ala	Ser	Met	Thr	Ser	Tyr	Ala	Asp	Ala	Ala	Met	Ser	Phe
	690					695					700				
Phe	Asn	Tyr	Glu	Ala	Ser	Asn	Pro	Thr	Gly	Pro	Arg	Ala	Ala	Val	Ile
705					710					715					720
Ser	Phe	Val	Arg	Asn	Gly	Ser	Arg	Gly	Val	Leu	Phe	Gly	Leu	Asp	Ser
				725					730					735	
Asp	Asn	Lys	Leu	Lys	Trp	Gly	Gly	Tyr	Ser	Leu	Gly	Ala	Val	Ala	Phe
			740					745					750		
Glu	Ile	Ala	Asp	Ser	Asn	Asn	Leu	Met	Ser	Leu	Trp	Ser	Ser	His	Ala
		755					760					765			

ES 2 768 773 T3

Ala Ala Pro Asn Trp Asn Gly Gln Thr Ile Trp Arg Ser Gly Asn Phe  
770 775 780

Asn Pro Asp Thr Lys Ala Thr Leu Ala Ala Arg Asn Thr Thr Ser Ser  
785 790 795 800

Pro Thr Ile Phe Ser Tyr Gly Ala Ser Gly Ile Ala Ser Thr Gly Gln  
805 810 815

Val Gly Ala Leu Val Val Glu Asn Asn Ser Val Thr Asn Thr Ala Ala  
820 825 830

Ala Ile Thr Phe His Ser Pro Gln Lys Tyr Gln Val Asn Phe Gly Leu  
835 840 845

Asp Ala Asp Asn Val Val Lys Ile Gly Gly Gly Thr Met Gly Gly Val  
850 855 860

Ala Tyr Pro Ile Ile His Ser Gly Asn Tyr Asn Asn Tyr Ile Asn Gln  
865 870 875 880

Ala Leu Val Gln Val Gly Leu Gly Gly Val Gly Ser Tyr Gly Ile Phe  
885 890 895

Ala Val Leu Asp Asn Ala Ala Pro Ile Ala Thr Val Gln Pro Gly Val  
900 905 910

Val Val Asp Gly Ser Ile Leu Ile Tyr Ser Ser Cys Ala Ala Asn Tyr  
915 920 925

Asn Ser Gly Gln Arg Pro Ala Gly Thr Trp Arg Cys Met Gly Tyr Val  
930 935 940

Val Asn Arg Asp Ala Asn Thr Pro Asp Ser Ala Thr Leu Phe Gln Arg  
945 950 955 960

Val Thr

<210> 38

<211> 962

5 <212> PRT

<213> Bacteriófago PTP47

<400> 38

10 Met Ile Thr Pro Glu Leu Ile Pro Ser Pro Phe Ala Ala Gln Gly Asp  
1 5 10 15



ES 2 768 773 T3

Lys Asp Pro Ile Pro Gln Thr Ser Ser Thr Gly Phe Ala Asn Leu Arg  
 20 25 30

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

Gln Ala Lys Ala Val Glu Arg Lys Ile Gln Asn Gln Leu Phe Phe Ile  
 50 55 60

Ala Thr Gln Asn Ala Gln Ala Trp Gln Arg Gln Met Ala Pro Pro Trp  
 65 70 75 80

Phe Gln Asp Met Pro Gly Gly Tyr Glu Gln Asn Ala Glu Val Val Arg  
 85 90 95

Val Gly Asn Asp Gly Ile Met Arg Arg Tyr Arg Ser Met Val Asn Ala  
 100 105 110

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

Trp Ser Ala Met Arg Ser Asn Ile Pro Met Pro Ala Gly Gly Pro Gly  
 130 135 140

Leu Ser Ser Gly Gly Glu Val Ile Thr Thr Gly Arg Asn Phe Asn Asp  
 145 150 155 160

Leu Leu Asn Gly Thr Trp Glu Phe Phe Ser Asp Ser Val Val Ile Ala  
 165 170 175

Ser Gln Asn Ala Pro Val Tyr Pro Ala Ser Ala Gly Ala Ala Ala Gly  
 180 185 190

Met Leu Glu Ala Lys Ser Trp Val Ser Gly Ala Asn Thr Phe Cys Val  
 195 200 205

Gln Arg Tyr Thr Asp Arg Val Gly Asn Val Ala Val Arg Gly Leu Asn  
 210 215 220

Ala Gly Ala Trp Thr Asn Trp Met Tyr Ala Val Asn Val Met Ala Leu  
 225 230 235 240

Gln Gln Gly Arg Val Thr Tyr Gly Val Ala Ala Gly Ser Ala Asn Ala  
 245 250 255

Tyr Thr Leu Thr Leu Val Pro Gln Leu Gln Gly Gly Leu Val Asp Gly  
 260 265 270

ES 2 768 773 T3

Met Ile Leu Arg Val Lys Phe Asn Thr Met Asn Thr Gly Ala Thr Thr  
 275 280 285

Ile Asn Val Ser Gly Leu Gly Ala Lys Ala Ile Val Gly Ala Ala Asn  
 290 295 300

Phe Pro Leu Thr Gly Gly Glu Leu Gly Gln Gly Leu Ile Ala Glu Leu  
 305 310 315 320

Val Phe Asp Ala Ala Gly Asp Arg Trp Arg Ile Leu Ala Gly Ala Pro  
 325 330 335

Arg Ile Gln Val Gly Asn Ala Asp Gln Asp Tyr Gln Ala Pro Ser Trp  
 340 345 350

Lys Gln Val Lys Asp Tyr Val Ala Ser Gln Lys Leu Thr Glu Val Asp  
 355 360 365

Trp Ala Asp Val Val Asn Lys Pro Asn Val Ala Ile Gln Asp Thr Thr  
 370 375 380

Pro Trp Phe Ala Asn Leu Glu Leu Ser Asp Ala Arg Pro Phe Ile Asp  
 385 390 395 400

Phe His Phe Asn Ser Asn Arg Ala Lys Asp Phe Asp Tyr Arg Leu Ile  
 405 410 415

Ser Glu Ala Asp Gly Ser Leu Ala Phe Tyr Ser Arg Gln Gly Ser Ala  
 420 425 430

Gly Pro Thr Gln Asp Ile Leu Phe Asn Arg Asn Ser Val Thr Phe Phe  
 435 440 445

Gln Pro Arg Leu Asp Val Ala Lys Asn Leu Ala Tyr Ile Ala Asn Ser  
 450 455 460

Gly Pro Leu Trp Gln Asn Thr Thr Ala Asp Gln Pro Gly Trp Lys Phe  
 465 470 475 480

Thr Phe Ala Gln Gly Val Asp Ala Asn Asn Asn Ala Val Ile Ala Val  
 485 490 495

Asn Thr Thr Asn Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Gln Val Met Arg Trp  
 500 505 510

Asp Trp Ala Ser Thr Asn Val Ile Phe Asn Asn Arg Pro Leu Phe Ala  
 515 520 525

ES 2 768 773 T3

Gly Gln Tyr Thr Pro Trp Asp Ser Gly Asn Phe Asp Pro Ser Thr Lys  
530 535 540

Leu Thr Val Ser Ala Thr Asn Gln Ile Ala Gly Pro Thr Gly Ile Arg  
545 550 555 560

Asn Thr Asn Gly Asn Thr Gly Asn Met Asn Thr Trp Gly Ser Gly Ser  
565 570 575

Thr Thr Ala Ser Tyr Gly Asn Ala Ala Ile Arg Ile Phe Gly Lys Gly  
580 585 590

Gly Gly Glu Pro Ala Ala Ile Tyr Phe Asp Asn Ser Gln Thr Gly Trp  
595 600 605

Tyr Leu Gly Met Asp Lys Asp Gly Gln Leu Lys Arg Ala Gly Trp Ser  
610 615 620

Leu Gly Asn Asn Ser Tyr Val Ile Thr Asp Glu Ser Asn Ile Arg Thr  
625 630 635 640

His Ile Asn Thr Met Ala Ala Arg Pro Ile Trp Gly Asn Val Glu Phe  
645 650 655

Trp Gly Pro Trp Asn Phe Asn Pro Asn Thr Lys Leu Thr Leu Gly Ser  
660 665 670

Phe Asn Asp Gly Gln His Thr Arg Met Val Asn Ser Ala Ala Lys Asp  
675 680 685

Val Gly Ile Ala Ser Met Thr Ser Tyr Ala Asp Ala Ala Met Ser Phe  
690 695 700

Phe Asn Tyr Glu Ala Ser Thr Pro Thr Gly Asn Arg Ala Ala Val Ile  
705 710 715 720

Ser Phe Val Arg Asn Gly Ala Arg Gly Val Leu Phe Gly Leu Asp Thr  
725 730 735

Asp Asn Lys Leu Lys Trp Gly Gly Tyr Ser Leu Gly Ala Val Ala Phe  
740 745 750

Glu Ile Ala Asp Ser Asn Asn Leu Met Ser Leu Trp Ser Ser His Ala  
755 760 765

Ala Ala Pro Asn Trp Asn Gly Gln Thr Ile Trp Arg Ser Gly Asn Phe





ES 2 768 773 T3

Met Ile Leu Arg Val Lys Phe Asn Thr Met Asn Thr Gly Ala Ser Thr  
 275 280 285

Ile Asn Val Ser Gly Leu Gly Ala Lys Ala Ile Val Gly Ala Ala Asn  
 290 295 300

Phe Pro Leu Thr Gly Gly Glu Leu Gly Gln Gly Leu Ile Ala Glu Leu  
 305 310 315 320

Val Phe Asp Ala Ala Gly Asp Arg Trp Arg Ile Leu Ala Gly Ala Pro  
 325 330 335

Arg Ile Gln Val Gly Asn Ala Asp Gln Asp Tyr Gln Ala Pro Ser Trp  
 340 345 350

Lys Gln Val Lys Asp Tyr Val Ala Ser Gln Lys Leu Thr Glu Val Asp  
 355 360 365

Trp Ala Asp Val Val Asn Lys Pro Asn Val Ala Ile Gln Asp Thr Thr  
 370 375 380

Pro Trp Phe Ala Asn Leu Glu Leu Ser Asp Ala Arg Pro Phe Ile Asp  
 385 390 395 400

Phe His Phe Asn Ser Asn Arg Ala Lys Asp Phe Asp Tyr Arg Leu Ile  
 405 410 415

Ser Glu Ala Asp Gly Ser Leu Ala Phe Tyr Ser Arg Gln Gly Ser Ala  
 420 425 430

Gly Pro Thr Gln Asp Ile Leu Phe Asn Arg Asn Ser Val Thr Phe Phe  
 435 440 445

Gln Pro Arg Leu Asp Val Ala Lys Asn Leu Ala Tyr Ile Ala Asn Ser  
 450 455 460

Gly Ser Leu Trp Gln Asn Thr Thr Ala Asp Gln Pro Gly Trp Lys Phe  
 465 470 475 480

Thr Phe Ala Gln Gly Val Asp Ala Asn Asn Asn Ala Val Ile Ala Val  
 485 490 495

Asn Thr Thr Asn Pro Asp Gly Ser Tyr Arg Ser Gln Val Met Arg Trp  
 500 505 510

Asp Trp Ala Ser Thr Asn Val Ile Phe Asn Asn Arg Pro Leu Phe Ala  
 515 520 525

ES 2 768 773 T3

Gly Gln Tyr Thr Pro Trp Asp Ser Gly Asn Phe Asp Pro Ser Thr Lys  
 530 535 540

Leu Thr Val Arg Ala Thr Asn Gln Ile Ala Gly Pro Thr Gly Ile Gln  
 545 550 555

Asn Thr Asn Gly Asn Thr Gly Asn Met Asn Thr Trp Gly Ser Gly Ser  
 565 570 575

Thr Thr Ala Ser Tyr Gly Asn Ala Ala Ile Gln Ile Phe Gly Lys Gly  
 580 585 590

Gly Gly Glu Pro Ala Ala Ile Tyr Phe Asp Asn Ser Gln Thr Gly Trp  
 595 600 605

Tyr Leu Gly Met Asp Lys Asp Gly Gln Leu Lys Arg Ala Gly Trp Ser  
 610 615 620

Leu Gly Asn Asn Ser Tyr Val Ile Thr Asp Glu Ser Asn Ile Arg Thr  
 625 630 635 640

His Ile Asn Thr Met Ala Ala Arg Pro Ile Trp Gly Gly Val Glu Phe  
 645 650 655

Trp Gly Pro Trp Asn Phe Asn Pro Asn Thr Lys Leu Thr Leu Gly Ser  
 660 665 670

Phe Asn Asp Ser Gln His Thr Arg Met Val Asn Ser Ala Ala Lys Asp  
 675 680 685

Val Gly Ile Ala Ser Met Thr Ser Tyr Ala Asp Ala Ala Met Ser Phe  
 690 695 700

Phe Asn Tyr Glu Ala Ser Thr Pro Thr Gly Asn Arg Ala Ala Val Ile  
 705 710 715 720

Ser Phe Val Arg Asn Gly Ala Arg Gly Val Leu Phe Gly Leu Asp Thr  
 725 730 735

Asp Asn Lys Leu Lys Trp Gly Gly Tyr Ser Leu Gly Ala Val Ala Phe  
 740 745 750

Glu Ile Ala Asp Ser Asn Asn Leu Met Ser Leu Trp Ser Ser His Ala  
 755 760 765

Ala Ala Pro Asn Trp Asn Gly Gln Thr Ile Trp Arg Ser Gly Asn Phe  
 770 775 780

ES 2 768 773 T3

Asn Pro Asp Thr Lys Ala Thr Leu Ala Ala Arg Asn Thr Thr Ser Ser  
785 790 795 800

Pro Thr Ile Phe Ser Tyr Gly Ala Ser Gly Ile Ala Ser Thr Gly Gln  
805 810 815

Val Gly Ala Leu Val Val Glu Asn Asn Ser Val Thr Asn Thr Ala Ala  
820 825 830

Ala Ile Thr Phe His Ser Pro Gln Lys Tyr Gln Val Asn Phe Gly Leu  
835 840 845

Asp Ala Asp Asn Val Val Lys Ile Gly Gly Gly Thr Met Gly Gly Val  
850 855 860

Ala Tyr Pro Ile Ile His Ser Gly Asn Tyr Asn Asn Tyr Ile Asn Gln  
865 870 875 880

Ala Leu Val Gln Val Gly Leu Gly Gly Val Gly Ser Tyr Gly Ile Phe  
885 890 895

Ala Val Leu Asp Asn Ala Ala Pro Thr Ala Thr Val Gln Pro Gly Val  
900 905 910

Val Val Asp Gly Ser Ile Leu Ile Tyr Ser Ser Cys Ala Ala Asn Tyr  
915 920 925

Asn Ser Gly Gln Arg Pro Ala Gly Thr Trp Arg Cys Met Gly Tyr Val  
930 935 940

Val Asn Arg Asp Ala Asn Thr Pro Asp Ser Ala Thr Leu Phe Gln Arg  
945 950 955 960

Val Thr



**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un método para la incorporación en el genoma de un fago lítico diana de una secuencia de ADN exógeno, donde el genoma del fago lítico diana incluye una primera secuencia diana y una segunda secuencia diana, cuyo método comprende:
- (a) proporcionar un vector que contenga una región de direccionamiento del fago que comprenda
- 10 (i) un determinante de intervalo de huéspedes de un fago marcador, diferente del determinante de intervalo de huéspedes del fago lítico diana, y  
(ii) una secuencia de ADN exógeno:  
donde la región de direccionamiento del fago está flanqueada por la primera y segunda secuencias flanqueantes homólogas a la primera y segunda secuencias del genoma del fago lítico diana;
- 15 (b) introducir el vector en una primera célula huésped, cuya célula huésped es un huésped para el fago lítico diana;  
(c) infectar la primera célula huésped con el fago lítico diana;  
(d) permitir que tenga lugar la replicación y recombinación del fago de manera que el genoma del fago lítico diana se modifique;
- 20 (e) propagar el fago resultante en una segunda célula huésped, cuya célula huésped es un huésped para el fago marcador y no para el fago lítico diana; y  
(f) recolectar el fago resultante, de manera que el genoma del fago lítico diana está modificado por la incorporación en el mismo de una secuencia de ADN exógeno.
- 25 2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, donde la primera y segunda secuencias diana del genoma del fago lítico diana; no son contiguas y/o flanquean un gen del fago o parte del mismo para la inactivación del gen después de la recombinación, donde el gen del fago es opcionalmente un gen de lisis.
- 30 3. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde el ADN exógeno comprende un gen.
4. Un método de acuerdo con la reivindicación 3, donde el ADN exógeno codifica una proteína antibacteriana, donde opcionalmente el ADN exógeno comprende un gen que codifica una proteína pequeña de espora soluble en ácido  $\alpha/\beta$  (SASP), tal como SASP-C.
- 35 5. Un método de acuerdo con la reivindicación 4, donde el gen que codifica la SASP está bajo el control de un promotor constitutivo el cual se selecciona opcionalmente de entre *pdhA*, *rpsB*, *pgi*, *fda*, *lasB* y promotores que tienen más de un 90 % de identidad de secuencias con estos.
- 40 6. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde al menos una de la primera y segunda secuencias flanqueantes contienen una mutación en comparación con la primera y segunda secuencias diana del genoma del fago lítico diana, donde la mutación es opcionalmente una mutación puntual.
- 45 7. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el determinante de intervalo de huéspedes del fago marcador codifica una proteína de las fibras de la cola o una región de la misma, opcionalmente donde la proteína de las fibras de la cola comprende una región de unión al receptor para la unión a la segunda célula huésped y una región que une la región de unión al receptor con el cuerpo del fago.
- 50 8. Un método de acuerdo con la reivindicación 7, donde la región de unión al receptor es una región de unión al receptor en el extremo C y la región que une la región de unión al receptor del extremo C con el cuerpo del fago es una región del extremo N, opcionalmente donde la región del extremo N comprende los aminoácidos 1 a 628 de la proteína de las fibras de la cola y la región del extremo C comprende los aminoácidos 629 a 964 de la proteína de las fibras de la cola, basándose en la secuencia de aminoácidos del bacteriófago Phi33.
- 55 9. Un método de acuerdo con la reivindicación 8, donde la región del extremo C no tiene más de un 96 % de identidad de secuencia de aminoácidos con la región del extremo C del bacteriófago Phi33, opcionalmente donde la región del extremo C es de uno cualquiera de los bacteriófagos Phi33, LBL3, SPM-1, F8, PB1, KPP12, LMA2, SN, 14-1, JG024, NH-4, PTP47, C36, PTP93 y PTP92.
- 60 10. Un método de acuerdo con la reivindicación 9, donde la identidad de secuencia de aminoácidos de la región del extremo C es menor de un 80 %, o menor de un 70 %, o menor de un 60 %.
- 65 11. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, donde la región del extremo N tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos con la región del extremo N del bacteriófago Phi33, opcionalmente donde la región del extremo N es de uno cualquiera de los bacteriófagos Phi33, LBL3, SPM-1, F8, PB1, KPP12, LMA2, SN, 14-1, JG024, NH-4, PTP47, C36, PTP92 y PTP93.

- 5 12. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, donde la proteína de las fibras de la cola tiene más de un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de las fibras de la cola del bacteriófago Phi33, opcionalmente donde cada proteína de las fibras de la cola es de un bacteriófago seleccionado de entre Phi33, LBL3, SPM-1, F8, PB1, KPP12, LMA2, SN, 14-1, JG024, NH-4, PTP47, C36, PTP92 y PTP93, opcionalmente donde la identidad de la secuencia de aminoácidos es mayor del 85 % o mayor del 90 %, mayor del 95 %.
- 10 13. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12, donde la segunda célula huésped es una célula huésped de *Pseudomonas*, opcionalmente donde la *Pseudomonas* es *Pseudomonas aeruginosa*.
- 15 14. El uso de un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 13, para la producción de un bacteriófago modificado capaz de infectar una pluralidad de diferentes bacterias diana, cuyo bacteriófago incluye una SASP que sea tóxica para la bacteria diana, y/o donde el bacteriófago es no lítico como resultado de la modificación llevada a cabo en la reivindicación 1.
- 20 15. El uso de acuerdo con la reivindicación 14, donde el bacteriófago expresa una pluralidad de diferentes determinantes de intervalo de huéspedes y donde cada uno de los determinantes de intervalo de huéspedes tiene una especificidad diferente por el huésped bacteriano, o donde el bacteriófago expresa una proteína determinante de intervalo de huéspedes que comprende una secuencia de aminoácidos de una pluralidad de bacteriófagos diferentes, opcionalmente donde el o cada determinante de intervalo de huéspedes es una proteína de las fibras de la cola, opcionalmente donde la especificidad por el huésped bacteriano del determinante de intervalo de huéspedes está dentro de la misma especie bacteriana.

Figura 1 (Parte 1 de 2)

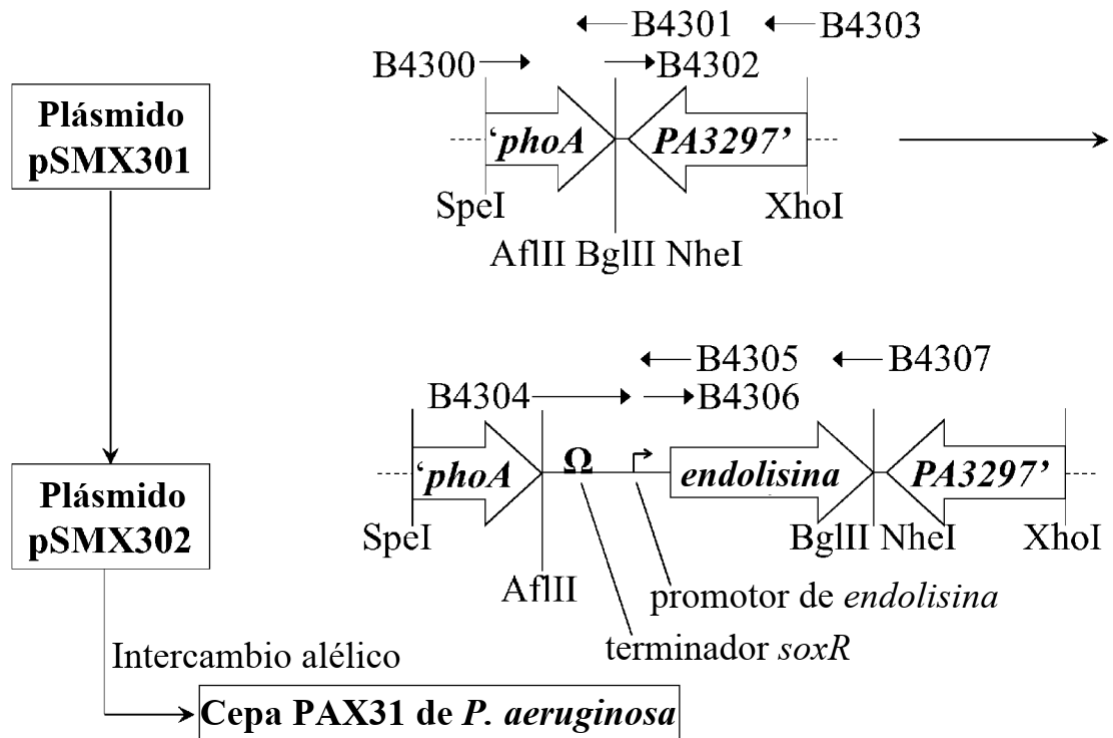


Figura 1 (Parte 2 de 2)

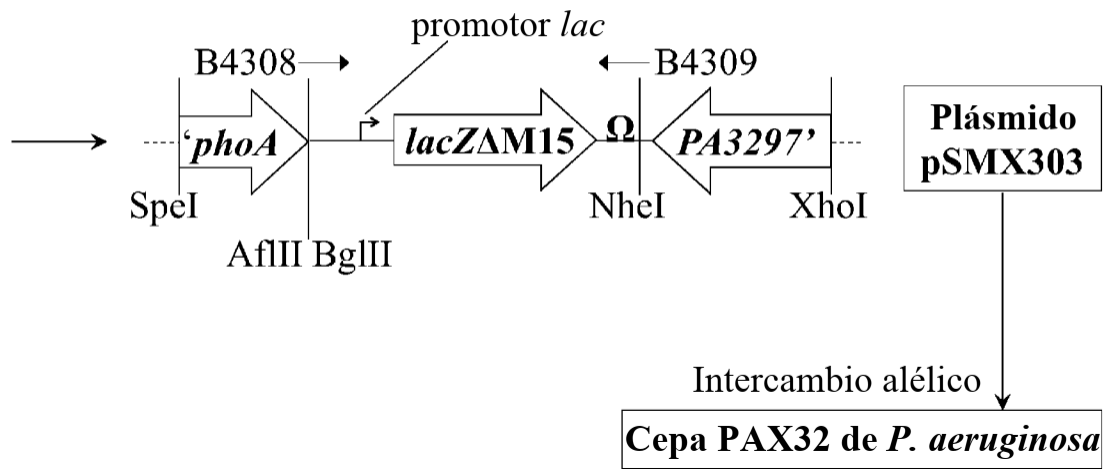


Figura 2 (Parte 1 de 4)

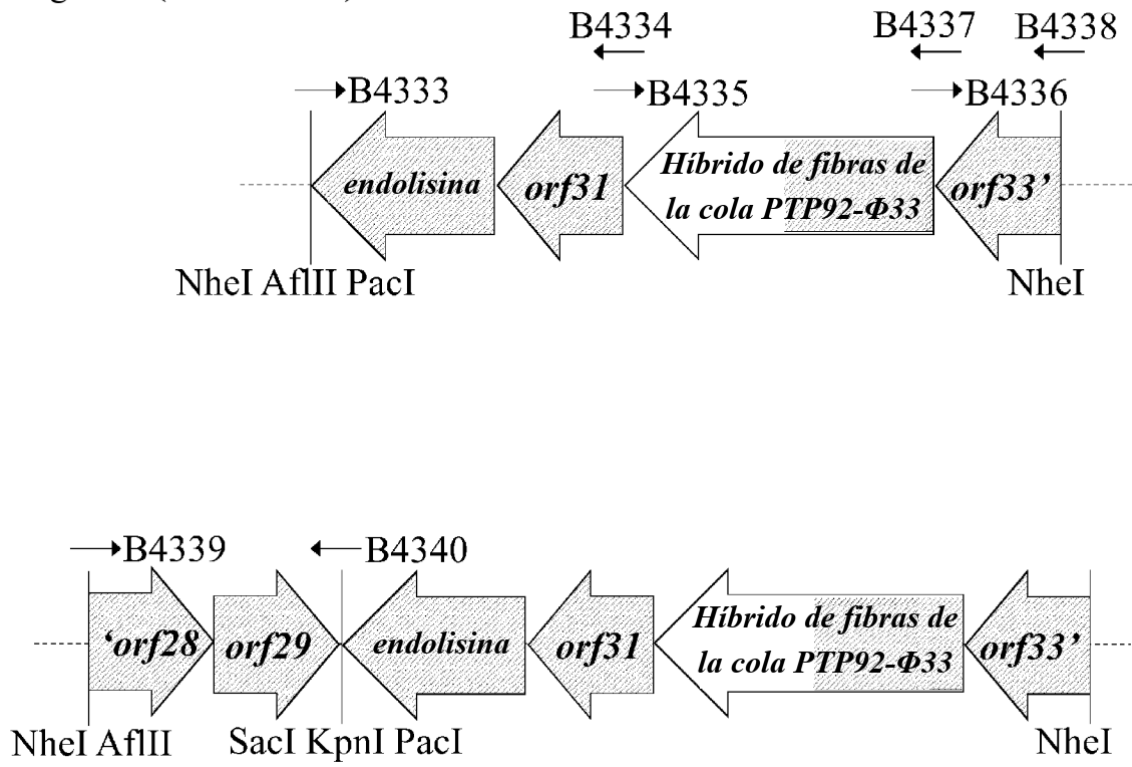


Figura 2 (Parte 2 de 4)

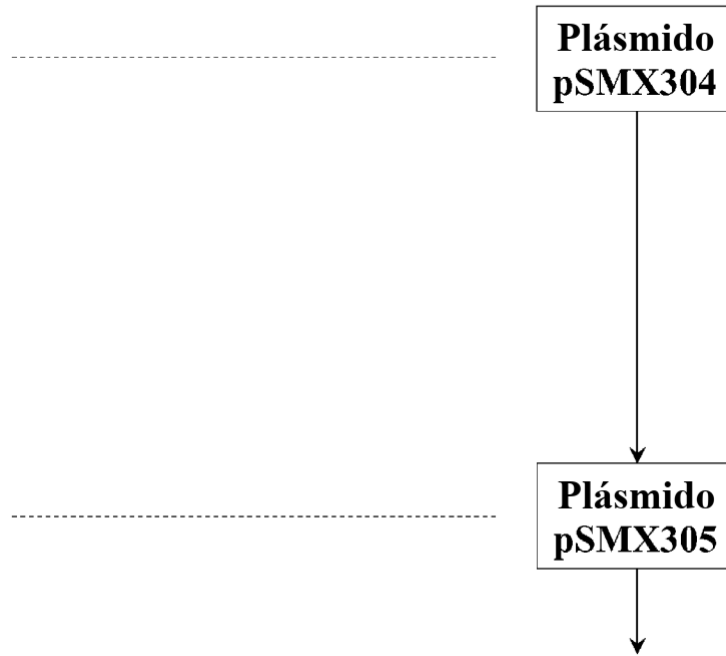


Figura 2 (Parte 3 de 4)

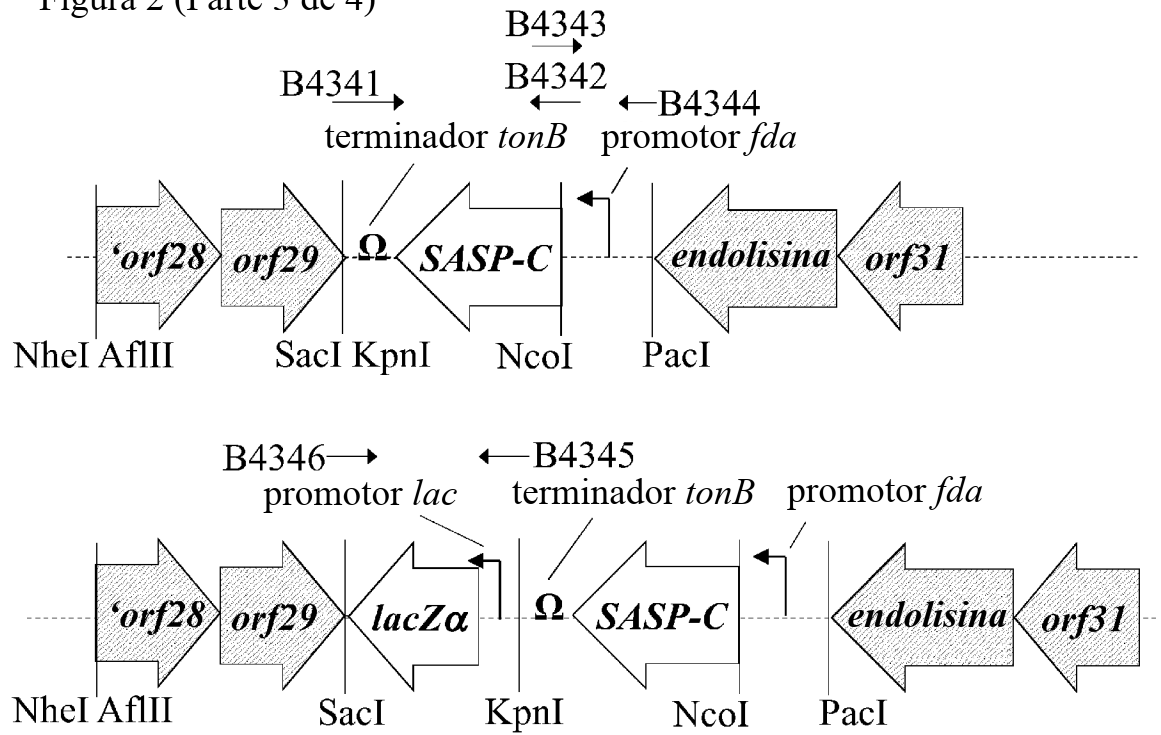


Figura 2 (Parte 4 de 4)

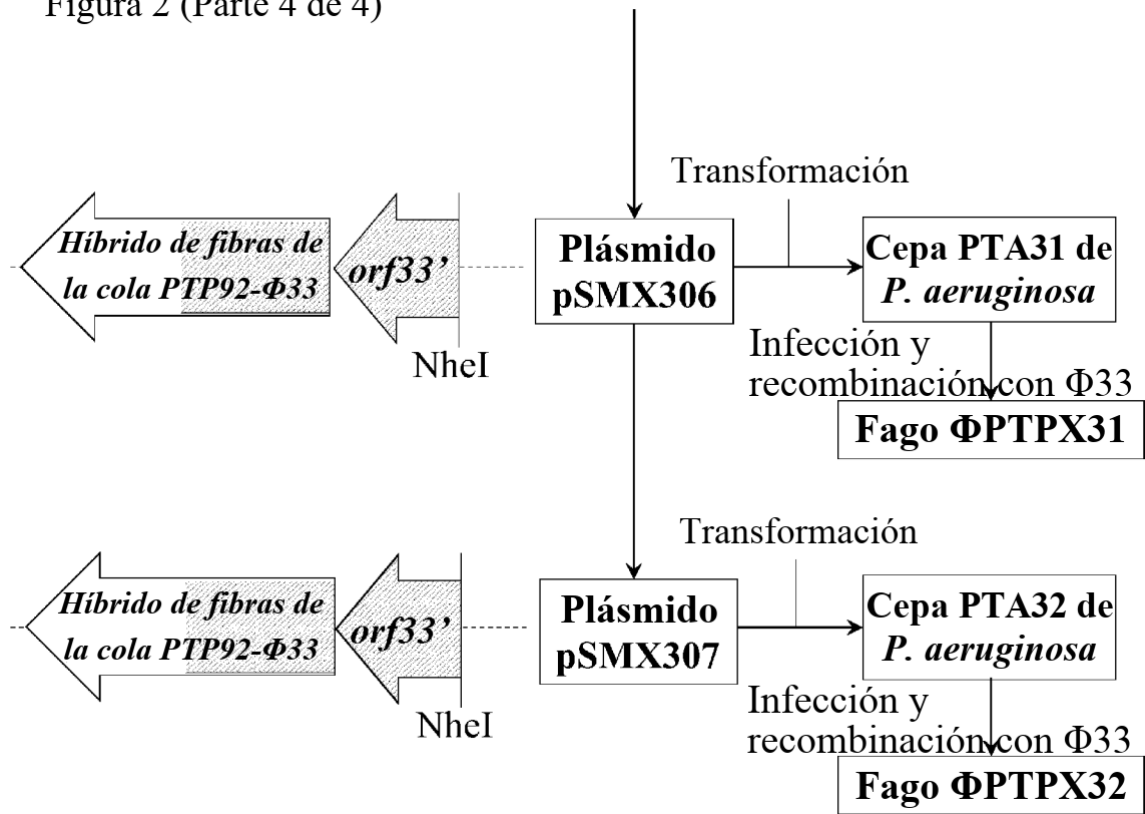




Figura 3 (Parte 1 de 2)

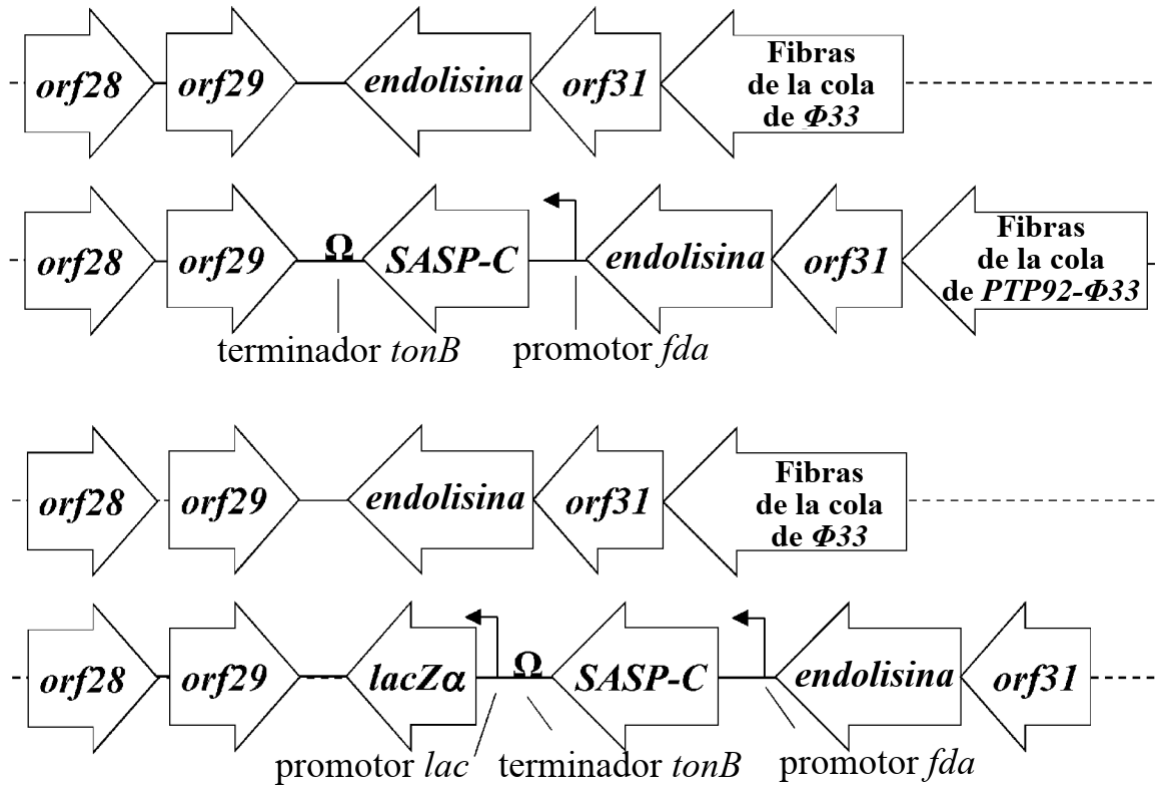


Figura 3 (Parte 2 de 2)

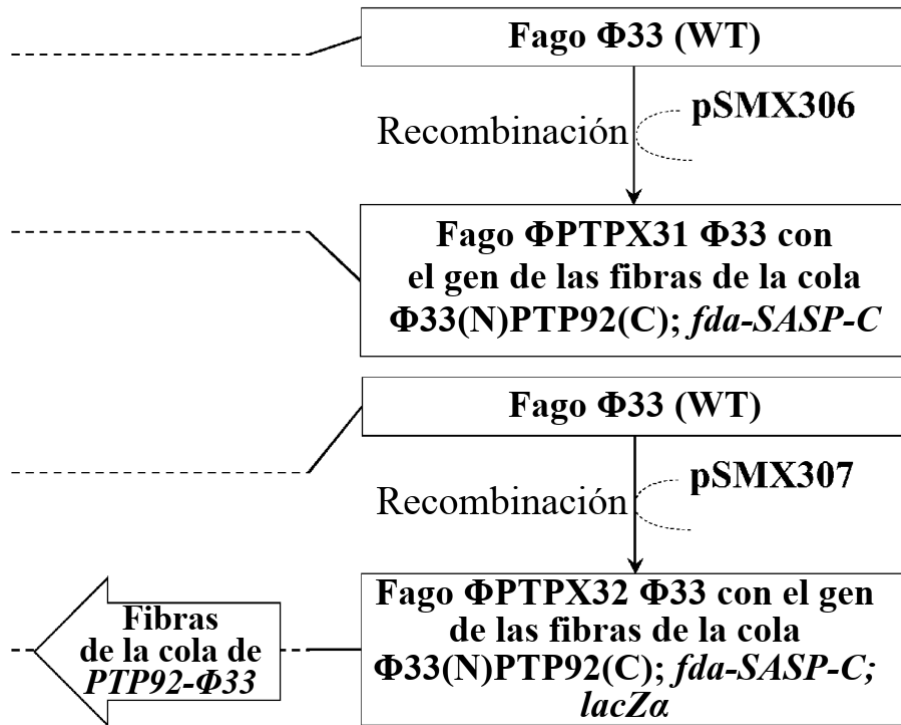


Figura 4 (Parte 1 de 4)

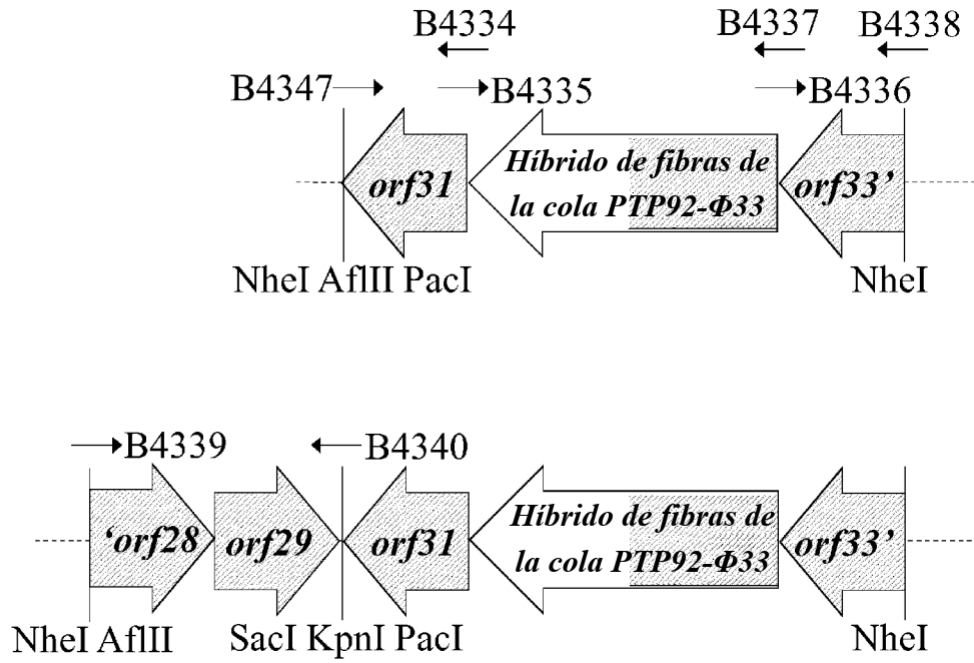


Figura 4 (Parte 2 de 4)

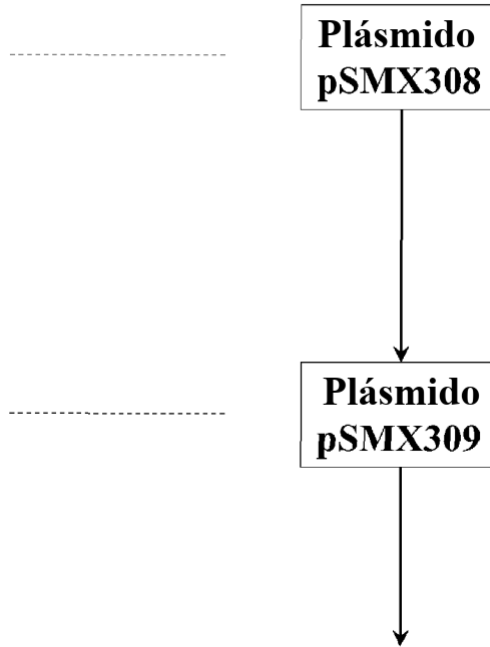


Figura 4 (Parte 3 de 4)

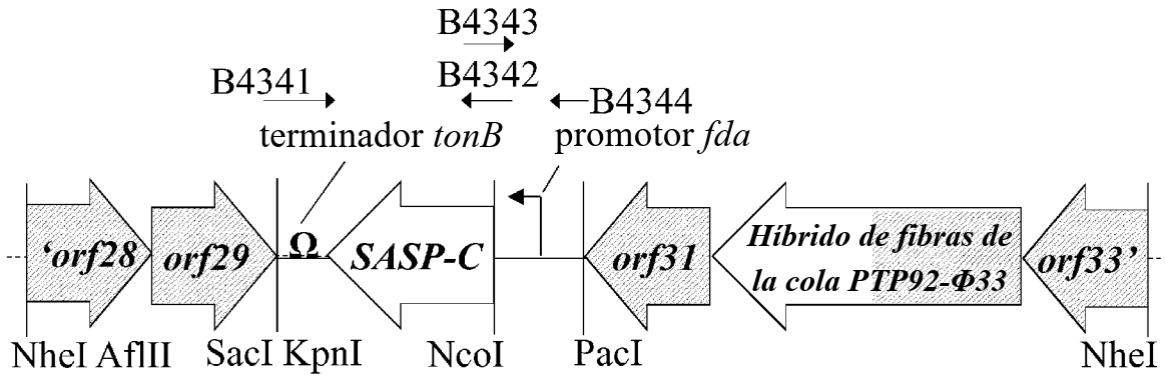


Figura 4 (Parte 4 de 4)

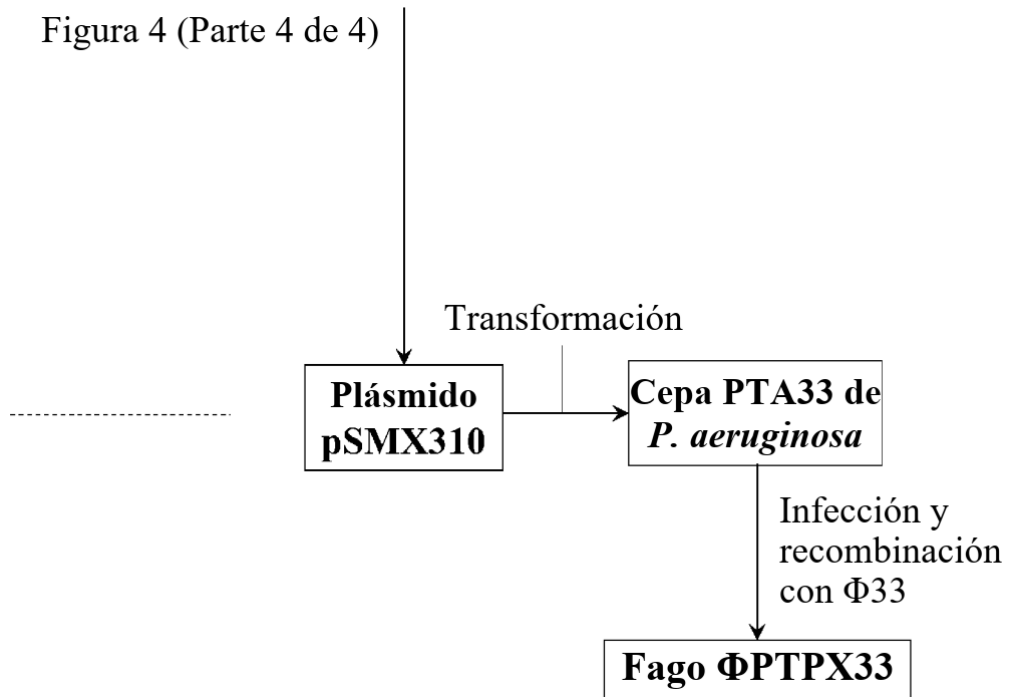


Figura 5 (Parte 1 de 2)

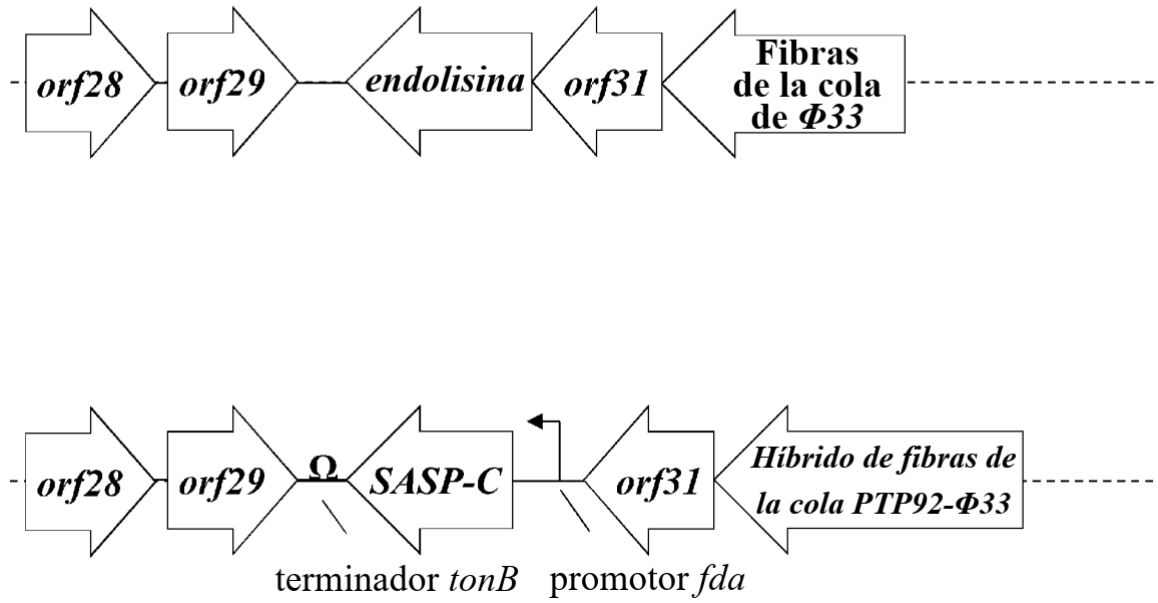
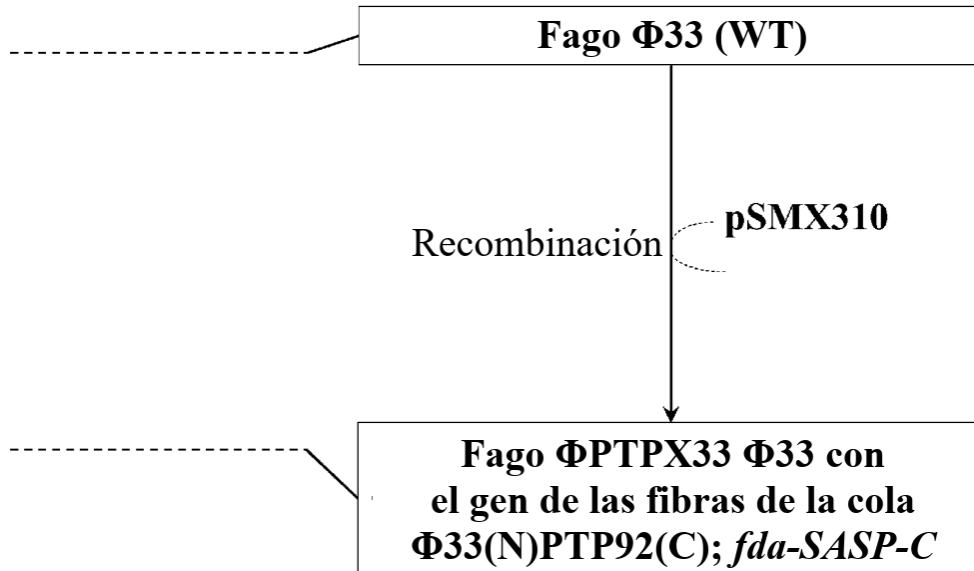


Figura 5 (Parte 2 de 2)





**Figura 6.**

Alineamiento CLUSTAL 2.1 de secuencia múltiple de los genes de las fibras de la cola de los fagos SPM-1, F8, PB1, C36, LBL3, Phi33, LMA2, KPP12, JG024, PTP92, NH-4, 14-1, PTP47, SN. La secuencia divergente en la región del extremo C sombreada en gris, la secuencia conservada de la región del extremo N sin sombrear.

SPM-1	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKAVERKIQNQ	60
F8	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKAVERKIQNQ	60
PB1	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKAVERKIQNQ	60
C36	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKAVERKIQNQ	60
LBL3	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKAVERKIQNQ	60
Phi33	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKAVERKIQNQ	60
LMA2	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKVVERKIQNQ	60
KPP12	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKAVERKIQNQ	60
JG024	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKAVERKIQNQ	60
PTP92	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKAVERKIQNQ	60
NH-4	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKAVERKIQNQ	60
14-1	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKAVERKIQNQ	60
PTP47	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKAVERKIQNQ	60
SN	MITPELIPSPFAAQGDKDPIPQTSSTGFANLRDGYTPDYEISLASNNPQAKAVERKIQNQ	60
	:*****.*****	
SPM-1	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQGMPPGGYEQNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNASDPLSS	120
F8	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQGMPPGGYEQNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNASDPLSS	120
PB1	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQGMPPGGYEQNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNASDPLSS	120
C36	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQGMPPGGYEQNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNASDPLSS	120
LBL3	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQGMPPGGYEQNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNASDPLSS	120
Phi33	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQGMPPGGYEQNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNAIDPLSS	120
LMA2	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQGMPPGGYEQNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNASDPLSS	120
KPP12	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQGMPPGGYEQNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNASDPLSS	120
JG024	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQGMPPGGYEQNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNASDPLSS	120
PTP92	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQGMPPGGYEQNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNASDPLSS	120
NH-4	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQGMPPGGYERNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNASDPLSS	120
14-1	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQGMPPGGYEQNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNASDPLSS	120
PTP47	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQDMPPGGYEQNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNASDPLSS	120
SN	LFFIATQNAQAWQRQMAPPWFQGMPPGGYEQNAEVVRVGNMGIMRRYRSMVNASDPLSS	120
	*****.*****:*****.*****	
SPM-1	TTWEEQPAWSVMRSNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNDLLNGTWEFFSDSVVASQNA	180
F8	TTWEEQPAWSVMRSNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNDLLNGTWEFFSDSVVASQNA	180
PB1	TTWEEQPAWSVMRSNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNDLLNGTWEFFSDSVVASQNA	180
C36	TTWEEQPAWSVMRSNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNDLLNGTWEFFSDSVVASQNA	180
LBL3	TTWEEQPAWSVMRSNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNDLLNGTWEFFSDSVVIASQNA	180
Phi33	TTWEEQPAWSVMRSNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNDLLNGTWEFFSDSVVASQNA	180
LMA2	TTWEEQPAWSAMRSNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNDLLNGTWEFFSDSVVIASQNA	180
KPP12	TTWEEQPAWSAMRSNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNDLLNGTWEFFSDSVVIASQNA	180
JG024	TTWEEQPAWSVMRTNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNELLNGTWEFFSDAIVVASQNA	180
PTP92	TTWEEQPAWSVMRTNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNELLNGTWEFFSDAIVVASQNA	180
NH-4	TTWEEQPAWSVMRTNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNELLNGTWEFFSDAIVVASQNA	180
14-1	TTWEEQPAWSVMRSNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNDLLNGTWEFFSDSVVIASQNA	180
PTP47	TTWEEQPAWSAMRSNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNDLLNGTWEFFSDSVVIASQNA	180
SN	TTWEEQPAWSVMRSNIPMPAGGSGLSSGGEVITGRNFNDLLNGTWEFFSDSVVASQNA	180
	*****.**:*****.*****:*****:*****	

ES 2 768 773 T3

SPM-1 PVYPASAGAAAGMLEAKSWVSGANTFCVQRYTDRVGNVAVRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
F8 PVYPASAGAAAGMLEAKSWVSGANTFCVQRYTDRVGNVAVRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
PB1 PVYPASAGAAAGMLEAKSWISGSNTFCVQRYTDRVGNVAVRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
C36 PVYPASAGAAAGMLEAKSWISGSNTFCVQRYTDRVGNVAVRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
LBL3 PVYPASAGAAAGMLEAKSWVSGANTFCVQRYTDRVGNVAVRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
Phi33 PVYPASAGAAAGMLEAKSWVSGANTFCVQRYTDRVGNVAVRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
LMA2 PVYPASAGAAAGMLEAKSWVSGANTFCVQRYTDRVGNVAVRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
KPP12 PVYPASAGAAAGMLEAKSWVSGANTFCVQRYTDRVGNVALRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
JG024 PVYPASAGAAAGMLEAKSWVSGSNTFCVQRYTDRVGNVAVRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
PTP92 PVYPASAGAAAGMLEAKSWVSGSNTFCVQRYTDRVGNVAVRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
NH-4 PVYPASAGAAAGMLEAKSWVSGSNTFCVQRYTDRVGNVAVRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
14-1 PVYPASAGAAAGMLEAKSWISRSNTFCVQRYTDRVGNVAVRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
PTP47 PVYPASAGAAAGMLEAKSWVSGANTFCVQRYTDRVGNVAVRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
SN PVYPASAGAAAGMLEAKSWVSGANTFCVQRYTDRVGNVAVRGLNAGAWTNWYAVNVMAL 240  
\*\*\*\*\*.\* :\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*

SPM-1 QQGRVTVGVAAGSANAYTLTLVLPQLQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
F8 QQGRVTVGVAAGSANAYTLTLVLPQLQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
PB1 QQGRVTVGVAAGSANAYTLTLVLPQLQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
C36 QQGRVTVGVAAGSANAYTLTLVLPQLQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
LBL3 QQGRVTVGVAAGSANAYTLTLVLPQLQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
Phi33 QQGRVTVGVAAGSANAYTLTLVLPQLQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
LMA2 QQGRVTVGVAAGSANAYTLTLVLPQLQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
KPP12 QQGRVTVGVAAGSANAYTLTLVLPQLQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
JG024 QHGRVTVGTAAGPANAYTLTLVLPQIQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
PTP92 QHGRVTVGTAAGPANAYTLTLVLPQIQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
NH-4 QHGRVTVGTAAGPANAYTLTLVLPQIQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
14-1 QQGRVTVGVAAGSANAYTLTLVLPQLQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
PTP47 QQGRVTVGVAAGSANAYTLTLVLPQLQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
SN QQGRVTVGVAAGSANAYTLTLVLPQLQGGLVDGMILRVKFNAMNTGASTINVSFGFSKAI V 300  
\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*

SPM-1 GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
F8 GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
PB1 GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
C36 GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
LBL3 GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
Phi33 GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
LMA2 GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
KPP12 GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
JG024 GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
PTP92 GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
NH-4 GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
14-1 GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
PTP47 GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
SN GAANFPLTGGELGQGLIAELVFDATGDRWRILAGAPRIQVGNADQDYQAPSWKQVKDYVA 360  
\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*

SPM-1 SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
F8 SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
PB1 SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
C36 SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
LBL3 SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
Phi33 SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
LMA2 SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
KPP12 SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
JG024 SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
PTP92 SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
NH-4 SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
14-1 SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
PTP47 SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
SN SQKLEVDWADVKNPNVAIQDTPWFANLELSARPFI DFHFNNSRAKDFDYRLISEAD 420  
\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*\*\*\*\*\*.\*

ES 2 768 773 T3

SPM-1 GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
F8 GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
PB1 GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
C36 GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
LBL3 GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
Phi33 GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
LMA2 GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
KPP12 GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
JG024 GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
PTP92 GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
NH-4 GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
14-1 GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
PTP47 GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
SN GSMAFYSRQGSAGPTQDILFSSRSNVTFLQPRLDVAKNLAY IANSGPLWQNTTADQPGWKF 480
\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\*

SPM-1 TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
F8 TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
PB1 TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
C36 TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
LBL3 TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
Phi33 TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
LMA2 TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
KPP12 TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
JG024 TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
PTP92 TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
NH-4 TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
14-1 TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
PTP47 TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
SN TFAQGV DANNAVI AVNTTNPDGSYRSQIMRWDWASTNVI FNNRPLFAGQYVPWDSGNFD 540
\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\*

SPM-1 PATKLT VGTNNISGPTGIRNTTNTSGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGRGGGEPAAIY 600
F8 PATKLT VGTNNISGPTGIRNTTNTSGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGRGGGEPAAIY 600
PB1 PATKLT VGTNNISGPTGIRNTTNTSGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGRGGGEPAAIY 600
C36 PATKLT VGTNNISGPTGIRNTTNTSGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGRGGGEPAAIY 600
LBL3 PATKLT VGTNNISGPTGIRNTTNTSGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGRGGGEPAAIY 600
Phi33 PSTKLT VNATNQIAGPTGIRNTNGNTGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGKGGGEPAAIY 600
LMA2 PSTKLT VNATNQIAGPTGIRNTNGNTGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGKGGGEPAAIY 600
KPP12 PSTKLT VNATNQIAGPTGIRNTNGNTGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGKGGGEPAAIY 600
JG024 PSTKLT VSATNQISGPTGIRNTNGNTGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGKGGGEPAAIY 600
PTP92 PSTKLT VSATNQISGPTGIRNTNGNTGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGKGGGEPAAIY 600
NH-4 PSTKLT VSATNQISGPTGIRNTNGNTGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGKGGGEPAAIY 600
14-1 PSTKLT VSATNQISGPTGIRNTNGNTGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGKGGGEPAAIY 600
PTP47 PSTKLT VSATNQISGPTGIRNTNGNTGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGKGGGEPAAIY 600
SN PSTKLT VRATNQIAGPTGIQNTNGNTGNMNTWGSSTTASYGNAALQIFGKGGGEPAAIY 600
\* :\*\*\*\*\* ;\*\*.\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\*

SPM-1 FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
F8 FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
PB1 FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
C36 FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
LBL3 FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
Phi33 FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
LMA2 FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
KPP12 FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
JG024 FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
PTP92 FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
NH-4 FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
14-1 FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
PTP47 FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
SN FDNSQTGWYLGMDKDGQLKRAGWSLGNNYSYVVTDESNI RHNHVNMGSGAPVWGGQWFWGEW 660
\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\* :\*\*\*\*\*

ES 2 768 773 T3

SPM-1 NFNPNKTLTIKAGTQETSSTAI FSGTLPFAPIASLSDYSQAPLTIYN--SPTGPSAKPAV 718  
F8 NFNPNKTLTIKAGTQETSSTAI FSGTLPFAPIASLSDYSQAPLTIYN--SPTGPSAKPAV 718  
PB1 NFNPNKTLTIKAGTQETSSTAI FSGTLPFAPIASLSDYSQAPLTIYN--SPTGPSAKPAV 718  
C36 NFNPNKTLTIKAGTQETSSTAI FSGTLPFAPIASLSDYSQAPLTIYN--SPTGPSAKPAV 718  
LBL3 NFNPNKTLTIKAGTQETSSTAI FSGTLPFAPIASLSDYSQAPLTVYN--SPTGPSAKPAV 718  
Phi33 NFNPNKTLTIKAGTQETSSTAI FSGTLPFAPIASLSDYSQAPLTVYN--APTGPSAKPAV 718  
LMA2 NFNPNKTLTIKAGTQETSSTAI FSGTLPFAPIASLSDYSQAPLTIYN--APTGPSAKPAV 718  
KPP12 NFNPNKTLTIKAGTQETSSTAI FSETMPFAPIASLSDYSQAPLTIYN--APTGPSAKPAV 718  
JG024 NFDPNLKLTLNAFNDSSYTRMTNSGAKDVG- IASMTSYADAAMSFFNYEASNPTGPRAAV 719  
PTP92 NFDPNLKLTLNAFNDSSYTRMTNSGAKDVG- IASMTSYADAAMSFFNYEASNPTGPRAAV 719  
NH-4 NFNPNKTLT LGSFNDSQHTRMVNSAAKDVG- IASMTSYADAAMSFFNYEASNPTGNRAAV 719  
14-1 NFDPNLKLTLNAFNDSSYTRMTNSGAKDVG- IASMTSYADAAMSFFNYEASNPTGPRAAV 719  
PTP47 NFNPNKTLT LGSFNDSQHTRMVNSAAKDVG- IASMTSYADAAMSFFNYEASNPTGNRAAV 719  
SN NFNPNKTLT LGSFNDSQHTRMVNSAAKDVG- IASMTSYADAAMSFFNYEASNPTGNRAAV 719  
\*\*\*:\*\* \*\* : : : \* : .. \*\*\*\*\*:\*.:.:.\* :.. .. :.\*\*

SPM-1 IAFIRPGNWGAFFGIDTDNKLKWWGGGSLGNSREIADSSNIMNLWASNPTAPSWNGQTVW 778  
F8 IAFIRPGNWGAFFGIDTDNKLKWWGGGSLGNSREIADSSNIMNLWASNPTAPSWNGQTVW 778  
PB1 IAFIRPGNWGAFFGIDTDNKLKWWGGGSLGNSREIADSSNIMNLWASNPTAPSWNGQTVW 778  
C36 IAFIRPGNWGAFFGIDTDNKLKWWGGGSLGNSREIADSSNIMNLWASNPTAPSWNGQTVW 778  
LBL3 IAFIRPGNWGAFFGIDTDNKLKWWGGGSLGNSREIADSSNIMNLWASNPTAPSWNGQTVW 778  
Phi33 IAFIRPGNWGAFFGIDTDNKLKWWGGGSLGNSREIADSSNIMNLWASNPTAPSWNGQTVW 778  
LMA2 IAFIRPGNWGAFFGLDTDNKLKWWGGGSLGNSREIADSSNIMNLWASNPTAPSWNGQTVW 778  
KPP12 IAFIRPGNWGAFFGLDTDNKLKWWGGGSLGNSREIADSSNIMNLWASNPTAPSWNGQTVW 778  
JG024 ISFVRNGSRGVLFGLDSDNKLKWWGGYSLGAVAFEIADSNLMSLWSSHAAAPNWNQTIW 779  
PTP92 ISFVRNGSRGVLFGLDSDNKLKWWGGYSLGAVAFEIADSNLMSLWSSHAAAPNWNQTIW 779  
NH-4 ISFVRNGARGVLFGLDSDNKLKWWGGYSLGAVAFEIADSNLMSLWSSHAAAPNWNQTIW 779  
14-1 ISFVRNGSRGVLFGLDSDNKLKWWGGYSLGAVAFEIADSNLMSLWSSHAAAPNWNQTIW 779  
PTP47 ISFVRNGARGVLFGLDSDNKLKWWGGYSLGAVAFEIADSNLMSLWSSHAAAPNWNQTIW 779  
SN ISFVRNGARGVLFGLDSDNKLKWWGGYSLGAVAFEIADSNLMSLWSSHAAAPNWNQTIW 779  
\*:\*:\* \* \* :.\*:\*.\*\*\*\*\* \*\* : \*\*\*\*\* \*.\*.\*\*\*:..:.\*.\*\*\*\*\*:\*

SPM-1 RSGNFDPATKVDLNAANATNGSMIFNRISGTGSGIASSGRVGA INLQNGAHSGQAAA VTF 838  
F8 RSGNFDPATKVDLNAANATNGSMIFNRISGTGSGIASSGRVGA INLQNGAHSGQAAA VTF 838  
PB1 RSGNFDPATKVDLNAANATNGSMIFNRISGTGSGIASSGRVGA INLQNGAHSGQAAA VTF 838  
C36 RSGNFDPATKVDLNAANATNGSMIFNRISGTGSGIASSGRVGA INLQNGAHSGQAAA VTF 838  
LBL3 RSGNFDPATKVDLNAANATNGSMIFNRISGTGSGIASSGRVGA INLQNGAHSGQAAA VTF 838  
Phi33 RSGNFDPATKVDLNAANATNGSMIFNRISGTGSGIASSGRVGA INLQNGAHSGQAAA VTF 838  
LMA2 RSGNFDPATKVDLNAANATNGSMIFNRISGTGSGIASSGRVGA INLQNGAHSGQAAA VTF 838  
KPP12 RSGNFDPATKVDLNAANATNGSMIFNRISGTGSGIASSGRVGA INLQNGAHSGQAAA VTF 838  
JG024 RSGNFPDKATLAARNTTSSPTIFS---YGASGIASTGQV GALVVENNSVTNTAAAITF 836  
PTP92 RSGNFPDKATLAARNTTSSPTIFS---YGASGIASTGQV GALVVENNSVTNTAAAITF 836  
NH-4 RSGNFPDKATLAARNTTSSPTIFS---YGASGIASTGQV GALVVENNSVTNTAAAITF 836  
14-1 RSGNFPDKATLAARNTTSSPTIFS---YGASGIASTGQV GALVVENNSVTNTAAAITF 836  
PTP47 RSGNFPDKATLAARNTTSSPTIFS---YGASGIASTGQV GALVVENNSVTNTAAAITF 836  
SN RSGNFPDKATLAARNTTSSPTIFS---YGASGIASTGQV GALVVENNSVTNTAAAITF 836  
\*\*\*\*\*:\* \*\* . \* \* \*:\*.. :\*. \*\*\*\*\*:.\*.\*\*\*:..:.\*. \*\*\*\*\*:\*

SPM-1 ERGGSI FVNFGLDTDNVLKVVGGN LGANAYPVIHAGNYNNYINQALVQVGLGGVGSYGIF 898  
F8 ERGGSI FVNFGLDTDNVLKVVGGN LGANAYPVIHAGNYNNYINQALVQVGLGGVGSYGIF 898  
PB1 ERGGSI FVNFGLDTDNVLKVVGGN LGANAYPVIHAGNYNNYINQALVQVGLGGVGSYGIF 898  
C36 ERGGSI FVNFGLDTDNVLKVVGGN LGANAYPVIHAGNYNNYINQALVQVGLGGVGSYGIF 898  
LBL3 ERGGGFFVNFGLDTDNVLKVVGGN LGANAYPVIHAGNYNNYINQALVQVGLGGVGSYGIF 898  
Phi33 ERGGSI FVNFGLDTDNVLKVVGGN LGANAYPVIHAGNYNNYINQALVQVGLGGVGSYGIF 898  
LMA2 ERGGGFFVNFGLDTDNVLKVVGGN LGANAYPVIHAGNYNSYINQALVQVGLGGVGSYAAL 898  
KPP12 ERGG- FVNFGLDTDNVLKVVGGN LGANAYPVIHAGNYNSYINQALVQVGLGGVGSYAAL 897  
JG024 HSPQKYQVNFGLDADNVVKIGGGTMGGVAYPIIHSGNYNNYINQALVQVGLGGVGSYAIL 896  
PTP92 HSPQKYQVNFGLDADNVVKIGGGTMGGVAYPIIHSGNYNNYINQALVQVGLGGVGSYAIL 896  
NH-4 HSPQKYQVNFGLDADNVVKIGGGTMGGVAYPIIHSGNYNNYINQALVQVGLGGVGSYAIL 896  
14-1 HSPQKYQVNFGLDADNVVKIGGGTMGGVAYPIIHSGNYNNYINQALVQVGLGGVGSYGIF 896  
PTP47 HSPQKYHVNFGLDADNVVKIGGGTMGGVAYPIIHSGNYNNYINQALVQVGLGGVGSYGIF 896  
SN HSPQKYQVNFGLDADNVVKIGGGTMGGVAYPIIHSGNYNNYINQALVQVGLGGVGSYGIF 896  
\*\*\*\*\*:\*\*\*:\*.\*\*\*:.\*. \*\*\*\*\*:.\*.\*\*\*\*\*:\*\*\*\*\* \*\*\*\*\* :\*

ES 2 768 773 T3

SPM-1 AVLDNAAPIATVQPGVVVDGSILIIYSSCAANYNSGQKPAGTWRCMGYVVNRDANTADSAT 958  
 F8 AVLDNAAPIATVQPGVVVDGSILIIYSSCAANYNSGQKPAGTWRCMGYVVNRDANTADSAT 958  
 PB1 AVLDNAAPIATVQPGVVVDGSILIIYSSCAANYNSGQKPAGTWRCMGYVVNRDANTADSAT 958  
 C36 AVLDNAAPIATVQPGVVVDGSILIIYSSCAANYNSGQRPAGTWRCMGYVVNRDANTADSAT 958  
 LBL3 AVLDYAAPTATVQPGVIVDGSILIIYSSCAHNSGQRPAGTWRCMGYVLRDARDPDSAT 958  
 Phi33 AVLDNAAPTATVQPGVVVDGSILIIYSSCAANYNSGKRPAAGTWRCMGYVVNRDANTADSAT 958  
 LMA2 AVYDTSAPASSVGPGLDGSVLFYSSFNANFRSGTKPTGTWRCMGYVLRDGTNPDSAT 958  
 KPP12 AVYDTSAPASSVGPGLDGSVLFYSSFDANFRSGTKPTGTWRCMGYVLRDGTNPDSAA 957  
 JG024 AVLDTSAPAASIAPGTIMDSSKLFYSSCDSTYRSSASPTGTWRCMGYVYNRDSTNGDSAS 956  
 PTP92 AVLDTSAPAASIAPGTIMDSSKLFYSSCDSTYRSSASPTGTWRCMGYVYNRDSTNGDSAS 956  
 NH-4 AVLDTSAPAASIAPGTIMDSSKLFYSSCDSTYRSSARPTGTWRCMGYVYNRDSTNGDSAS 956  
 14-1 AVLDNAAPIATVQPGVVVDGSILIIYSSCAANYNSGQRPAGTWRCMGYVVNRDANTADSAT 956  
 PTP47 AVLDYAAPTATVQPGVVVDGSILIIYSSCAANYNSGQRPAGTWRCMGYVVNRDANTADSAT 956  
 SN AVLDNAAPTATVQPGVVVDGSILIIYSSCAANYNSGQRPAGTWRCMGYVVNRDANTADSAT 956  
 \*\* \* : \*\* :: \*\* . : \* . \* : \*\* \* : : . \* . \* : \*\* \* : \*\* . \*\* :

SPM-1 LFQRTV 964 (SEQ ID NO: 26)  
 F8 LFQRTV 964 (SEQ ID NO: 27)  
 PB1 LFQRTV 964 (SEQ ID NO: 28)  
 C36 LFQRTV 964 (SEQ ID NO: 29)  
 LBL3 LFQRTV 964 (SEQ ID NO: 30)  
 Phi33 LFQRTV 964 (SEQ ID NO: 31)  
 LMA2 LFQRTV 964 (SEQ ID NO: 32)  
 KPP12 LFQRTV 963 (SEQ ID NO: 33)  
 JG024 LFQRTV 962 (SEQ ID NO: 34)  
 PTP92 LFQRTV 962 (SEQ ID NO: 35)  
 NH-4 LFQRTV 962 (SEQ ID NO: 36)  
 14-1 LFQRTV 962 (SEQ ID NO: 37)  
 PTP47 LFQRTV 962 (SEQ ID NO: 38)  
 SN LFQRTV 962 (SEQ ID NO: 39)  
 \*\*\*\*\*