

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201270079** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2012.06.29

(22) Дата подачи заявки
2010.06.28

(51) Int. Cl. *A61K 38/46* (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
C12N 1/06 (2006.01)
C12N 9/36 (2006.01)
C12N 9/50 (2006.01)

(54) АНТИМИКРОБНЫЕ АГЕНТЫ

(31) **09163953.4**

(32) **2009.06.26**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2010/059146**

(87) **WO 2010/149792 2010.12.29**

(88) **2011.02.24**

(71) Заявитель:

**КАТХОЛИКЕ УНИВЕРСИТЕЙТ
ЛЁВЕН, К.У. ЛЁВЕН Р ЭНД Д (BE);
ЛИСАНДО ХОЛДИНГ АГ (LI)**

(72) Изобретатель:

**Лавинь Роб (BE), Миллер Стефан
(DE), Брирс Ивс (CH), Волкарт Гёйдо,
Валмах Маартен (BE)**

(74) Представитель:

Гончаров В.В. (BY)

(57) Заявленное изобретение относится к антимикробным агентам, активным в отношении грамотрицательных бактерий, в частности к слитым белкам, состоящим из энзима с функцией разрушения клеточной стенки грамотрицательных бактерий и удлиненной пептидной цепи, слитой с энзимом на N- или C-концах. Помимо этого, заявленное изобретение относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим упомянутый слитый белок, векторам, содержащим упомянутые молекулы нуклеиновой кислоты, и клеткам-хозяевам, содержащим либо упомянутые молекулы нуклеиновой кислоты, либо упомянутые векторы. Дополнительно, заявленное изобретение относится к применению упомянутого слитого белка в качестве медикаментозного препарата, в частности, для лечения или профилактики инфекций, вызываемых грамотрицательными бактериями, средства диагностики или компонента косметических препаратов. Заявленное изобретение также относится к обработке или профилактике заражения грамотрицательными бактериями пищевых продуктов, оборудования на предприятиях пищевой промышленности, поверхностей, контактирующих с пищевыми продуктами, медицинского оборудования, поверхностей в стационарах и хирургических блоках. Кроме того, заявленное изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей упомянутый слитый белок.

A1

201270079

201270079

A1

Антимикробные агенты

Заявленное изобретение относится к антимикробным агентам, активным в отношении грамотрицательных бактерий, а именно, к слитым белкам, включающим энзим с функцией разрушения клеточной стенки грамотрицательных бактерий и дополнительной удлиненной пептидной цепи, слитой с энзимом на N- или C-концах. Помимо этого, заявленное изобретение относится к молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим упомянутый слитый белок, векторам, включающим упомянутые молекулы нуклеиновой кислоты и клеткам-хозяинам, содержащим либо упомянутые молекулы нуклеиновой кислоты, либо упомянутые векторы. Дополнительно, заявленное изобретение относится к применению упомянутого слитого белка в качестве медикаментозного препарата, в частности, в лечении или профилактике инфекций, вызываемых грамотрицательными бактериями, в качестве средства диагностики или компонента косметического препарата. Заявленное изобретение также относится к обработке или профилактике заражения грамотрицательными бактериями пищевых продуктов, оборудования и помещений на предприятиях пищевой промышленности, поверхностей, контактирующих с пищевыми продуктами, медицинского оборудования, поверхностей в медицинских стационарах и хирургических блоках. Помимо этого, заявленное изобретение относится к фармацевтическим или косметическим композициям, содержащим упомянутый слитый белок.

Грамотрицательные бактерии обладают внешней мембраной, с отличительным признаком в виде характерного ассиметричного двойного слоя. Внешний мембранный двойной слой состоит из внутреннего одинарного слоя, включающего фосфолипиды (преимущественно, фосфатидил этаноламин) и внешнего одинарного слоя, который по преимуществу состоит из одного гликолипида, липополисахарида (ЛПС). В мире бактерий существует огромное множество структур ЛПС, и структура ЛПС может изменяться в ответ на превалирующие условия окружающей среды. Стабильность слоя ЛПС и взаимодействие между различными молекулами ЛПС главным образом

происходят благодаря электростатическому взаимодействию бивалентных ионов (Mg^{2+} , Ca^{2+}) с анионными компонентами молекулы ЛПС (фосфатные группы в липиде А, а также внутреннее ядро и карбоксигруппы КДО). Помимо этого, компактное и упорядоченное расположение гидрофобной группы липида А, характеризующееся отсутствием ненасыщенных жирных кислот, образует жесткую структуру с высокой вязкостью. Это придает ей меньшую проницаемость, предотвращающую от проникновения липофильных молекул, а также дополнительную устойчивость внешней мембраны (ВМ).

Известны различные типы агентов с бактерицидным или бактериостатическим действием, например, антибиотики, эндолизины, антимикробные пептиды и дефензины. Возрастающая микробная устойчивость в отношении антибиотиков, тем не менее, создает проблемы в лечении все большего числа инфекций, вызываемых бактериями, в частности, что касается инфекций, вызываемых грамотрицательными бактериями, как например, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacteriaceae*.

Эндолизины представляют собой пептидогликангидролазы, кодируемые бактериофагами (или бактериальными вирусами). Они синтезируются во время экспрессии «поздних» генов в литическом цикле мультипликации фагов и опосредуют высвобождение progenных вирионов из инфицированных клеток путем разрушения бактериального пептидогликана. Они являются либо $\beta(1,4)$ -гликолазами (лизосомами), трансгликолазами, амидазами или эндопептидазами. Антимикробное применение эндолизинов было предложено еще в 1991 г. Gasson (GB2243611). Несмотря на то, что способность к уничтожению микробов, наблюдаемая у эндолизинов, известна в течение длительного времени, использование данных энзимов в качестве антимикробных веществ игнорировали по причине успешного и доминирующего применения антибиотиков. Только после обнаружения бактерий с множественной устойчивостью к антибиотикам, стали проявлять интерес к применению эндолизинов в качестве препаратов против патогенных микроорганизмов, вызывающих заболевания у человека. Возникла насущная потребность в разработке совершенно новых классов антибактериальных агентов, и эндолизины, используемые в качестве «энзимбиотиков» - термин-гибрид

(«энзимы» и «антибиотики») прекрасно выполняют данную функцию. В 2001, Fischetti и соавторы впервые продемонстрировали терапевтический потенциал эндолизина бактериофага C1 в отношении стрептококков группы А (Nelson et al., 2001). С того времени, множество публикаций подтвердили функцию эндолизинов в качестве приемлемого и дополнительного альтернативного средства для контроля бактериальных инфекций, вызываемых в частности грамположительными бактериями. Впоследствии, была подтверждена эффективность в качестве энзимотиков у различных эндолизинов, активных в отношении других грамположительных патогенов, как например *Streptococcus pneumoniae* (Loeffler и соавторы, 2001), *Bacillus anthracis* (Schuch и соавторы, 2002), *S. agalactiae* (Cheng и соавторы, 2005) и *Staphylococcus aureus* (Rasel и соавторы, 2007). В настоящее время, самую насущную проблему в терапии с использованием эндолизинов представляет нечувствительность грамотрицательных бактерий к экзогенному действию эндолизинов, поскольку внешняя мембрана выполняет функцию щита, защищающего бактерии от проникновения эндолизинов из пептидогликанов. Данное свойство в настоящее время препятствует расширению перечня эффективных эндолизинов, применяемых в отношении важных грамотрицательных патогенов.

Антимикробные пептиды (АМП) представляют широкий спектр малых, катионных, ген-кодированных пептидных антибиотиков, которые можно обнаружить в практически любом организме. Различные АМП обладают различными свойствами, многие пептиды в данном классе являются предметом интенсивных научных исследований не только как антибиотики, но также как образцы для создания пептидов, проникающих через клеточную стенку. Несмотря на наличие нескольких схожих свойств (например, катионность, амфипатичность и малый размер), существует огромное разнообразие последовательностей АМП, и в связи с этим предложили как минимум четыре структурные группы (альфа-спиральные, бета-складчатые, растянутые и закольцованные) для систематизации всего разнообразия наблюдаемых АМП. Аналогичным образом, по мере появления новых антибиотиков было предложено несколько вариантов механизмов действия, и было доказано, что, например, основной мишенью многих из этих пептидов является клеточная

мембрана, в то время, как основной мишенью для других пептидов является проникновение в цитоплазматическую мембрану и нарушение основных функций метаболизма. АМП могут приобретать концентрацию, достаточную для синергического действия, несмотря на отсутствие специфического связывания мишеней; например, путем образования поры в мембране, как, например, в случае многих АМП. Тем не менее, данное явление наблюдается только в модельных фосфолипидных бислоях, а, в некоторых случаях, концентрация АМП в мембране была настолько высока, что необходимо соотношение одной пептидной молекулы на шесть фосфолипидных молекул. Данные концентрации приближаются к, и практически эквивалентны, состоянию полной мембранной насыщенности. Поскольку минимальная подавляющая концентрация (МПК) для АМП, как правило, находится в пределах низкого микромолярного диапазона, значимость определения данных значений и их роль в проведении опытов *in vivo* сопровождается совершенно объяснимым скептицизмом (Melo et al., Nature reviews, Microbiology, 2009, 245).

Дефензины представляют собой большую группу малых, катионных, с повышенным содержанием цистеина и аргинина антимикробных пептидов, присутствующих как в позвоночной, так и межпозвоночной тканях. Дефензины подразделяют на пять групп, в соответствии с сеткой размещения цистеинов: растительные, межпозвоночные, α -, β -, и θ -дефензины. Последние три в большинстве случаев встречаются у млекопитающих. α -дефензины представляют собой белки, встречающиеся в нейтрофилах и эпителии ЖКТ. β -дефензины по преимуществу являются наиболее широко встречающимися и вырабатываются лейкоцитами и эпителиальными клетками различных видов. До настоящего времени, θ -дефензины редко обнаруживали, например, в лейкоцитах макак-резусов. Дефензины проявляют активность в отношении бактерий, грибов и многих вирусов с оболочкой и без. Тем не менее, для эффективного уничтожения бактерий необходимы по преимуществу высокие концентрации, например, в микромолярном диапазоне. Активность многих пептидов может снижаться в условиях, приближенных к условиям физиологической соли, бивалентных катионов и сыворотки. В зависимости от содержания гидрофобных

аминокислотных остатков, дефензины также проявляют гемолитическую активность.

Таким образом, присутствует необходимость в разработке новых антимикробных агентов.

Данной цели достигают путем практического воплощения сути заявленного изобретения, изложенного в формуле изобретения.

Термин «белок» в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, синонимично соотносится с термином «полипептид». Термин «белок» в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к линейному полимеру аминокислотных остатков, связанных пептидными связями в специфичной последовательности. Аминокислотные остатки белка могут быть модифицированы, например, ковалентными прикреплениями различных групп, как, например, углеводы и фосфаты. Прочие вещества могут быть более свободно ассоциированы с полипептидными цепочками, как, например, гемы или липиды, приводя к образованию конъюгированных белков, которые также обозначают термином «белок», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения. Описаны различные варианты с включением полипептидных цепей, в частности, что касается присутствия альфа-спиральных и бета-складчатых структур. Термин «белок» в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к четырем классам белков, а именно альфа, бета, альфа/бета и альфа-плюс-бета. Помимо этого, термин «белок» относится к комплексному соединению, причем комплекс представляет собой гомомер.

Термин «слитый белок», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к продукту экспрессии, являющемуся результатом слияния двух последовательностей нуклеиновых кислот. Такой белок получают, например, в системах экспрессии рекомбинантных ДНК. Помимо этого, термин «слитый белок», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к слиянию первой аминокислотной последовательности, как, например, энзиму, со второй или последующими аминокислотными последовательностями. Вторая или последующие аминокислотные последовательности могут определять домен

или прочие участки пептидной цепи. Более предпочтительно, упомянутые вторая или последующие аминокислотные последовательности чужеродны и по преимуществу не гомогенны с любой областью первой аминокислотной последовательности.

Термин «пептидная цепь», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к любому типу пептида, связанного с белком, например, с энзимом.

Термин «пептид», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к малым полипептидам, состоящим из от примерно 2 до примерно 100 аминокислотных остатков, более предпочтительно, от примерно 4 до примерно 50 аминокислотных остатков, наиболее предпочтительно от примерно 5 до 30 аминокислотных остатков, причем аминогруппа одного аминокислотного остатка соединена пептидной связью с карбоксигруппой другого аминокислотного остатка. Пептид может обладать специфической функцией. Пептид может представлять собой природный пептид или пептид, сконструированный и полученный синтетическим путем. Пептид могут, к примеру, извлекать или получать путем удаления из нативного белка при помощи энзиматического (ферментативного) или химического расщепления, либо могут приготавливать с использованием методов традиционного синтеза пептидов (например, твердофазный синтез) или способов молекулярной биологии (see Sambrook, J. et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)). Примерами природных пептидов могут служить антимикробные пептиды, дефензины, Sushi пептиды. Примерами синтетически полученных пептидов являются поликатионные, амфипатичные или гидрофобные пептиды. Пептид в описании заявленного изобретения не обозначает His-таги (-метки), Strep-таги, белки, связывающие тиоредоксин или мальтозу (MBP) и им подобные, которые используют для очистки или локализации белков.

Термин «эндолизин», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к энзиму, применение которого приемлемо для гидролиза клеточных стенок бактерий. «Эндолизины» состоят как минимум из одного «энзим-активного домена» (ЭАД), и обладают свойствами как

минимум одного из нижеперечисленных компонентов: эндопептидаза, хитиназа, T4-подобная мурамидаза, лямбда-подобная мурамидаза, N-ацетил-мурамоил-L-аланин-амидаза (амидаза), мурамоил-L-аланин-амидаза, мурамидаза, литическая трансгликолаза (С), литическая трансгликолаза (М), N-ацетил-мурамидаза, N-ацетил-глюкозаминидаза (лизосим) или трансгликолаза, как, например, KZ144 или EL188. Дополнительно, эндолизины могут включать также энзим-неактивные области, которые могут связываться с клеточной стенкой бактерии-хозяина, так называемые, домены связывания с клеточной стенкой.

Термин «ЭАД», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к энзим-активному домену эндолизина. ЭАД ответственен за гидролиз бактериальных пептидогликанов. Этот домен обладает как минимум одной энзим-функцией эндолизина. ЭАД также может состоять из более чем одного энзим-активного модуля.

Термин «аутолизины» относится к энзимам, подобным эндолизинам, но кодируемым бактериями и, например, вовлеченными в процесс клеточного деления. Подробное описание аутолизинов можно найти в «Bacterial peptidoglycan (murein) hydrolases. Vollmer W, Joris B, Charlier P, Foster S. FEMS Microbiol Rev. 2008 Mar;32(2):259-86».

Термин «бактериоцин», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к белковоподобным, полипептид-подобным или пептид-подобным веществам, которые могут ингибировать рост других бактерий. Более предпочтительно, упомянутый процесс ингибирования происходит специфически путем абсорбции упомянутых прочих бактерий специфическими рецепторами бактериоцина. Обычно, бактериоцины продуцируются микроорганизмами. Тем не менее, термин «бактериоцин» в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится как изолированной форме микроорганизма, так и синтетически получаемой форме, и относится к вариантам, которые преимущественно сохраняют свойства своих родительских бактериоцинов, но чьи последовательности были изменены путем инсерции или делеции одного или более аминокислотных остатков.

Термин «антимикробные пептиды» (АМП), в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к любому пептиду с микробицидной и/или микробиостатической функциями. Так, например, термин «антимикробный пептид», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится, в частности, к любому пептиду с антимикробной, антигрибковой, антимикотической, антипаразитарной, антипротозойной, антивирусной, антиинфекционной, антиконтагиозной и/или бактерицидной, альгицидной, амебоцидной, микробицидной, бактерицидной, фунгицидной, паразитицидной, протозоицидной функцией.

Термин «дефензин», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к пептиду, встречающемуся в животном мире, предпочтительно, у млекопитающих, более предпочтительно, у человека, причем дефензин выполняет важную функцию в механизме внутренней защитной системы организма-хозяина, разрушая чужеродные вещества, как, например, инфекционные бактерии и/или инфекционные вирусы и/или грибки. Дефензин представляет собой микробицидный и/или туморицидный белок, пептид или полипептид типа «не-антитело». Примерами «дефензинов» могут являться «дефензины млекопитающих», альфа-дефензины, бета-дефензины, индолицин и магаинины. Термин «дефензины», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится как к изолированной форме из клеток животных, так и к синтетически получаемой форме, и также относится к вариантам, которые преимущественно сохраняют цитотоксические свойства своих родительских белков, но чьи последовательности изменили путем инсерции или делеции одного или более аминокислотных остатков.

Термин «Sushi пептид», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к белкам комплементарного контроля с короткими повторениями транскрипции. Sushi модуль Sushi пептидов функционирует как домен взаимодействия «белок-белок» в различных белках. Доказано, что пептиды, содержащие Sushi домен, показывают антимикробную активность.

В контексте описания заявленного изобретения, термин «катионный пептид» относится к пептиду с положительно заряженными аминокислотными остатками. Предпочтительно, катионный пептид имеет значение pK_a 9,0 или более. Как правило, как минимум четыре аминокислотных остатка катионного пептида могут быть положительно заряженными, например, лизин или аргинин. Термин «положительно заряженные» относится к боковым цепям аминокислотных остатков, имеющих номинальное значение номинального положительного заряда на уровне примерно физиологической среды. Примерами природных катионных пептидов, которые могут быть получены рекомбинантным способом, являются дефензины, магаинины, меллитин и цекропины.

Термин «поликатионные пептиды», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к синтетически получаемым пептидам, состоящим преимущественно из остатков лизина и/или аргинина.

Термин «амфипатичный пептид», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к пептидам, имеющим как гидрофильные, так и гидрофобные функциональные группы. Предпочтительно, в контексте описания заявленного изобретения, термин «амфипатичный пептид» относится к пептиду, имеющему определенное расположение гидрофильных и гидрофобных групп, например, амфипатичные пептиды могут являться альфа-спиральными, с превалирующими неполярными боковыми цепями вдоль одной стороны спирали и полярными остатками вдоль остальной части поверхности.

Термин «гидрофобная группа», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к химическим группам, как, например, аминокислотные боковые цепи, которые преимущественно водонерастворимы, но растворимы в масляной фазе, причем растворимость в масляной фазе выше, чем растворимость в воде или водной фазе. В воде, аминокислоты с гидрофобной боковой цепью, взаимодействуют друг с другом для получения неводной среды. Примерами аминокислот с гидрофобными боковыми цепями являются аланин, валин, лейцин, изолейцин, фенилаланин, гистидин, триптофан и тирозин.

Термин «делеция», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к делеции (удалению) 1, 2, 3, 4, 5 или более аминокислотных остатков из соответствующей стартовой последовательности.

Термины «инсерция» или «аддация», в том смысле, в котором они используются в описании заявленного изобретения, относятся к инсерции или аддации 1, 2, 3, 4, 5 или более аминокислотных остатков соответствующей стартовой последовательности.

Термин «субституция», в том смысле, в котором он используется в описании заявленного изобретения, относится к замене аминокислотного остатка, расположенного на определенной позиции, на другой аминокислотный остаток.

Заявленное изобретение относится к новым антибактериальным агентам, активным в отношении грамотрицательных бактерий, в частности, к слитым белкам, состоящим из энзима с функцией разрушения клеточной стенки грамотрицательных бактерий и удлиненной пептидной цепи, слитой с энзимом на N- или C-концах или на обоих концах.

В одном из аспектов заявленного изобретения, энзим с функцией разрушения клеточной стенки грамотрицательных бактерий представляет собой эндолизин, аутолизин или бактериоцин.

В другом аспекте заявленного изобретения, энзим согласно заявленному изобретению может также содержать энзим-неактивные области, и связываться с клеточной стенкой бактерии-хозяина, так называемые домены связывания с клеточной стенкой.

Предпочтительные слитые белки в соответствии с заявленным изобретением представлены в SEQ ID NO:36 до 63. Слитые белки в соответствии с SEQ ID NO:36 до 63 могут содержать один или более дополнительных аминокислотных остатков на N-конце. Предпочтительно, дополнительным аминокислотным остатком является метионин.

Предпочтительно, эндолизин кодируют бактериофагами, специфичными в отношении грамотрицательных бактерий бактериальных групп, семейств, родов или видов, которые содержат штаммы, патогенные в отношении человека или животных, как, например, *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, в особенности *E. coli*,

Salmonella, Shigella, Citrobacter, Edwardsiella, Enterobacter, Hafnia, Klebsiella, в особенности *K. pneumoniae, Morganella, Proteus, Providencia, Serratia, Yersinia*), *Pseudomonadaceae* (*Pseudomonas*, в особенности *P. aeruginosa, Burkholderia, Stenotrophomonas, Shewanella, Sphingomonas, Comamonas*), *Neisseria, Moraxella, Vibrio, Aeromonas, Brucella, Francisella, Bordetella, Legionella, Bartonella, Coxiella, Haemophilus, Pasteurella, Mannheimia, Actinobacillus, Gardnerella, Spirochaetaceae* (*Treponema* и *Borrelia*), *Leptospiraceae, Campylobacter, Helicobacter, Spirillum, Streptobacillus, Bacteroidaceae* (*Bacteroides, Fusobacterium, Prevotella, Porphyromonas*), *Acinetobacter*, в особенности *A. baumannii*.

Предпочтительно, аутолизин кодируют грамотрицательными бактериями, как, например, грамотрицательные бактерии бактериальных групп, семейств, родов или видов, которые содержат штаммы, патогенные в отношении человека или животных, а именно *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, в особенности *E. coli, Salmonella, Shigella, Citrobacter, Edwardsiella, Enterobacter, Hafnia, Klebsiella*, в особенности *K. pneumoniae, Morganella, Proteus, Providencia, Serratia, Yersinia*), *Pseudomonadaceae* (*Pseudomonas*, в особенности *P. aeruginosa, Burkholderia, Stenotrophomonas, Shewanella, Sphingomonas, Comamonas*), *Neisseria, Moraxella, Vibrio, Aeromonas, Brucella, Francisella, Bordetella, Legionella, Bartonella, Coxiella, Haemophilus, Pasteurella, Mannheimia, Actinobacillus, Gardnerella, Spirochaetaceae* (*Treponema* и *Borrelia*), *Leptospiraceae, Campylobacter, Helicobacter, Spirillum, Streptobacillus, Bacteroidaceae* (*Bacteroides, Fusobacterium, Prevotella, Porphyromonas*), *Acinetobacter*, в особенности *A. baumannii*.

Бактериоцин предпочтительно более или менее специфичен в отношении вышеупомянутых грамотрицательных бактерий.

Энзим в соответствии с заявленным изобретением обладает функцией разрушения клеточной стенки грамотрицательных бактерий бактериальных групп, семейств, родов или видов, которые содержат штаммы, патогенные в отношении человека или животных, как, например *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, в особенности *E. coli, Salmonella, Shigella, Citrobacter, Edwardsiella, Enterobacter, Hafnia, Klebsiella*, в особенности *K. pneumoniae, Morganella, Proteus, Providencia, Serratia, Yersinia*), *Pseudomonadaceae* (*Pseudomonas*, в особенности *P. aeruginosa, Burkholderia, Stenotrophomonas, Shewanella,*

Sphingomonas, *Comamonas*), *Neisseria*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Brucella*, *Francisella*, *Bordetella*, *Legionella*, *Bartonella*, *Coxiella*, *Haemophilus*, *Pasteurella*, *Mannheimia*, *Actinobacillus*, *Gardnerella*, *Spirochaetaceae* (*Treponema* и *Borrelia*), *Leptospiraceae*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Spirillum*, *Streptobacillus*, *Bacteroidaceae* (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*), *Acinetobacter*, в особенности *A. baumannii*.

Специфические примеры эндолизиновых составляющих, извлеченные из фага или эндолизин дикого типа, представлены в следующей таблице:

Таблица 1:

Фаг	Источник (публикация)	Эндолизин дикого типа	Прогнозируемая функция эндолизина
ΦV10	Perry, L.L. and Applegate, B.M.	PhiV10p30	хитиназа
FELS-1	McClelland, M. and Wilson, R.K.	STM0907.Fels0	хитиназа
ε15	Kropinski, A.M. and McConnel, M.R.	epsilon15p25	хитиназа
YUA	Ceysens, P. (Laboratory for Gene technology)	YuA20	литическая трансгликаза (C) / 1 трансмембранно-воздушный домен (N)
B3	Braid, M.D. and Kitts, C.L.	ORF23	литическая трансгликаза (C) / 2 трансмембранно-воздушный домен (N)
BCPμ	Summer, E.J. and Young, R.	BCPμ22	литическая трансгликаза (M) / 1 трансмембранно-воздушный домен (N)
F116	Byrne, M. and Kropinski, A.M.	F116p62	мураминидаза (T4-подобная)
FELS-2	McClelland, M. and Wilson, R.K.	STM2715.S.Fels2	мураминидаза (T4-подобная)
ES18	Casjens, S.R. and Hendrix, R.W.	gp76	мураминидаза (T4-подобная)
SETP3	De Lappe, N and Cormican, M.	SPSV3_gp23	мураминидаза (T4-подобная)
ΦECO32	Savalia, D and Severinov, K	phi32_17	мураминидаза (T4-подобная)
HK022	Juhala, R and Hendrix, R.W.	HK022p54	мураминидаза (лямбда-подобная)
HK97	Juhala, R and Hendrix, R.W.	HK97p58	мураминидаза (лямбда-подобная)
HK620	Clark, A.J. and Dhillon, T.S.	HK620p36	мураминидаза (лямбда-подобная)
E1	Pickard, D. and Dougan, G	VIP0007	мураминидаза (лямбда-подобная)
SF6	Casjens, S and Clark, A.J.	Sf6p62	мураминидаза (лямбда-подобная)
SFV	Allison, G.E. and Verma, N.K.	R (SfVp40)	мураминидаза (лямбда-подобная)
BCPε6B	Summer, EJ and Young, R.	gp22	мураминидаза (лямбда-подобная)
BCPNZGUL	Summer, EJ and Young, R.	Nazgul38	мураминидаза (лямбда-подобная)
P2	Christie, G.E. and Calender, R.	K (P2p09)	мураминидаза (лямбда-подобная)
WΦ	Christie, G.E. and Esposito,	K (Wphi09)	мураминидаза (лямбда-подобная)

	D.		
RV5	Kropinski, A.M. and Johnson	rv5_gp085	мураминидаза (лямбда-подобная)
JS98	Zuber, S and Denou, E.	EpJS98_gp116	мураминидаза (T4-подобная)
13A	Savalia, D and Molineux, I.	gp3.5	мурамоил-L-аланин амидаза
BA14	Savalia, D and Molineux, I.	gp3.5	мурамоил-L-аланин амидаза
ECODS1	Savalia, D and Molineux, I.	gp3.5	мурамоил-L-аланин амидаза
K1F	Scholl, D and Merrill, C	CKV1F_gp16	мурамоил-L-аланин амидаза
T3	Pajunen, M.I. and Mollieux, I.J.	T3p18	мурамоил-L-аланин амидаза
GH-1	Kropinski, A.M. and Kovalyova, I.V.	gh-1p12	мурамоил-L-аланин амидаза
K11	Molineux, I. and Savalia, D.	gp3.5	мурамоил-L-аланин амидаза
ФСТХ	Nakayama, K and Hayashi, T.	ORF12	ПГ-связывающий домен (N) / мурамидаза (C)
ВСЕР43	Summer, EJ and Young, R.	Всер43-27	ПГ-связывающий домен (N) / мурамидаза (C)
ВСЕР781	Summer, EJ and Young, R.	Всер781-27	ПГ-связывающий домен (N) / мурамидаза (C)
ВСЕР1	Summer, EJ and Young, R.	Всер1-28	ПГ-связывающий домен (N) / мурамидаза (C)
ВСЕРNY3	Summer, EJ and Young, R.	ВсерNY3gene26	ПГ-связывающий домен (N) / мурамидаза (C)
ФЕ12-2	DeShazer, D and Niernan, W.C.	gp45	ПГ-связывающий домен (N) / мурамидаза (C)
Ф52237	DeShazer, D and Niernan, W.C.	gp28	ПГ-связывающий домен (N) / мурамидаза (C)
ФР27	Recktenwald, J and Schmidt, H.	P27p30	эндопептидаза
RB49	Monod, C and Krisch, H.M.	RB49p102	эндопептидаза
Ф1	Arbiol, C. and Comeau, A.M.	phi1-p102	эндопептидаза
T5	Pankova, N.V. and Ksenzenko, V.N.	lys (T5.040)	эндопептидаза
201phi2-1	Thomas <i>et al.</i> , 2008		ПГ-связывающий домен (N) / неизвестный каталитический домен (C)
Aeh1	Monod, C and Krisch, H.M.	Aeh1p339	мураминидаза (T4-подобная)
YYZ-2008	Kropinski, A.M.	YYZgp45	мураминидаза (лямбда-подобная)

Также предпочтительны эндолизиновые составляющие, извлеченные из эндолизинов *Pseudomonas aeruginosa* фагов ФКЗ и EL, *Pseudomonas putida* фага, *E. coli* фага N4, фага LUZ24, gp61 мурамидазы, STM0016 эндолизина и PSP3 эндолизина.

Помимо этого, эндолизиновые составляющие выбирают из группы, включающей phiKZgp144 в соответствии с SEQ ID NO:1, ELgp188 в соответствии с SEQ ID NO:2, *Salmonella* эндолизин в соответствии с SEQ ID NO:3, эндолизин T4 энтеробактериального фага в соответствии с SEQ ID NO:4,

Acinetobacter baumannii endolysin according to SEQ ID NO:5, эндолизин *E.coli* фага K1F в соответствии с SEQ ID NO:18, OBPgpLYS в соответствии с SEQ ID NO:34, эндолизин PSP3 *Salmonella* (PSP3gp10) в соответствии с SEQ ID NO:20, эндолизин *E.coli* фага P2 (P2gp09) в соответствии с SEQ ID NO:21, мурамидаза *Salmonella typhimurium* фага STM0016 в соответствии с SEQ ID NO:22, *E.coli* фаг N4 мурамидаза N4-gp61 в соответствии с SEQ ID NO:23 и N4-gp61 в соответствии с SEQ ID NO:24, KZ144 в соответствии с SEQ ID NO:25.

В другом предпочтительном варианте практического воплощения заявленного изобретения, эндолизины, аутолизины и бактериоцины слитого белка в соответствии с заявленным изобретением, содержат модификации и/или изменения аминокислотных последовательностей. Такие изменения и/или модификации могут включать мутации, как, например, делеции, инсерции и аддиции, субституции или сочетания вышеупомянутых и/или химические изменения аминокислотных остатков, например, биотинилирование, ацетилирование, пегилирование, химические изменения amino-, SH- или карбоксигрупп. Упомянутые эндолизины, аутолизины и бактериоцины слитого белка в соответствии с заявленным изобретением показывают литическую активность соответствующего эндолизина дикого типа, аутолизина и бактериоцинов. Тем не менее, упомянутая активность может быть на том же самом уровне, выше или ниже способности соответствующего эндолизина дикого типа. Упомянутая активность может находиться на уровне 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или примерно 200 % от уровня активности соответствующего эндолизина дикого типа, или даже более. Активность можно измерить опытным путем при помощи методов, хорошо известных специалистам в данной области техники, как например, чашечный тест определения (гемолиза) или анализ в жидкой среде, которые описаны в публикациях *Briers et al., J. Biochem. Biophys Methods 70: 531-533, (2007)* или *Donovan DM, Lardeo M, Foster-Frey J. FEMS Microbiol Lett. 2006 Dec;265(1)* или в аналогичных публикациях.

Предпочтительно, удлиненная пептидная цепь слитого белка в соответствии с заявленным изобретением, слита с N-концом и/или C-концом эндолизина, аутолизина или бактериоцина. В более предпочтительном варианте

практического воплощения заявленного изобретения, упомянутая удлиненная пептидная цепь слита только с N-концом энзима. В другом предпочтительном варианте практического воплощения заявленного изобретения, удлиненная пептидная цепь слита только с C-концом энзима. Тем не менее, предпочтительными также являются модифицированные слитые белки с удлиненной пептидной цепью на обоих N-конце и C-конце. Упомянутые пептидные цепи на N-конце и C-конце могут быть одинаковыми или различными пептидными цепями. Пептидная цепь может быть связана с энзимом дополнительными аминокислотными остатками, например, из-за клонирования. Предпочтительно, упомянутая пептидная цепь может быть связана со слитым белком при помощи как минимум 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 дополнительных аминокислотных остатков. В предпочтительном варианте практического воплощения, пептидная цепь связана с энзимом дополнительными аминокислотными остатками глицина и серина (Gly-Ser) или лейцина и глутаминовой кислоты (Leu-Glu). Более того, пептидная цепь слитого белка в соответствии с заявленным изобретением может также содержать дополнительные аминокислоты на N-конце. Предпочтительно, пептидная цепь содержит аминокислоты метионин (Met), аланин и метионин и глицин (Ala-Met-Gly-Ser) или аланин и метионин и глицин и серин (Ala-Met-Gly-Ser).

Пептидная цепь слитого белка в соответствии с заявленным изобретением предпочтительно связана ковалентной связью с энзимом. Предпочтительно, упомянутая пептидная цепь состоит из как минимум 5, более предпочтительно из как минимум 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или как минимум 100 аминокислотных остатков. Наиболее предпочтительной является пептидная цепь, содержащая от примерно 5 до примерно 100 аминокислотных остатков, от примерно 5 до примерно 50 или от примерно 5 до примерно 30 аминокислотных остатков. Более предпочтительной является пептидная цепь, содержащая от примерно 6 до примерно 42 аминокислотных остатков, от примерно 6 до примерно 39 аминокислотных

остатков, от примерно 6 до примерно 38 аминокислотных остатков, от примерно 6 до примерно 31 аминокислотных остатков, от примерно 6 до примерно 25 аминокислотных остатков, от примерно 6 до примерно 24 аминокислотных остатков, от примерно 6 до примерно 22 аминокислотных остатков, от примерно 6 до примерно 21 аминокислотных остатков, от примерно 6 до примерно 20 аминокислотных остатков, от примерно 6 до примерно 19 аминокислотных остатков, от примерно 6 до примерно 16 аминокислотных остатков, от примерно 6 до примерно 14 аминокислотных остатков, от примерно 6 до примерно 12 аминокислотных остатков, от примерно 6 до примерно 10 аминокислотных остатков или от примерно 6 до примерно 9 аминокислотных остатков.

Предпочтительно, пептидная цепь не содержит таг (метку), как, например, His-таг, Strep-таг, Avi-таг, Myc-таг, Gst-таг, JS-таг, цистеин-таг, FLAG-таг или прочих тагов, известных из уровня техники и никаких тиоредоксин- или мальтоза-связывающих белков (MBP). Тем не менее, пептидная цепь и/или эндолизин, аутолизин или бактериоцин в соответствии с заявленным изобретением могут содержать дополнительно такой таг(и).

Более предпочтительно, пептидная цепь обладает способностью направлять слитой белок через внешнюю мембрану, но также обладает активностью, в том числе ничтожной или минимальной, при введении без слития с энзимом. Функция проведения слитого белка через внешнюю мембрану грамотрицательных бактерий обусловлена потенциалом внешней мембраны или ЛПС разрушающей или проникающей или дестабилизирующей активностью упомянутой пептидной цепи.

В одном из аспектов заявленного изобретения, слитая пептидная цепь представляет собой амфипатичный пептид, который содержит один или более положительно заряженных аминокислотных остатков лизина, аргинина и/или гистидина, в сочетании с одним или более гидрофобными аминокислотными остатками валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, триптофана, цистеина, аланина, тирозина, гистидина, треонина, серина, пролина и/или глицина. Боковые цепи аминокислотных остатков предпочтительно ориентированы с учетом того, что катионные и гидрофобные поверхности упорядочены в кластеры на противоположных сторонах пептида.

Предпочтительно, более, чем примерно 30, 40, 50, 60 или 70% аминокислотных остатков в упомянутом пептиде являются положительно заряженными аминокислотами. Предпочтительно, более, чем примерно 30, 40, 50, 60 или 70%, аминокислотных остатков в упомянутом пептиде являются гидрофобными аминокислотными остатками. Предпочтительно, амфипатичный пептид слит с N-концом и/или С-концом энзима, обладающего способностью разрушать клеточную стенку, повышая таким образом амфипатичность упомянутых белков.

В другом варианте практического воплощения заявленного изобретения, амфипатичный пептид, слитый с энзимом, содержит как минимум 5, более предпочтительно как минимум 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 или 50 аминокислотных остатков. В предпочтительном варианте практического воплощения, как минимум примерно 30, 40, 50, 60 или 70% упомянутых аминокислотных остатков амфипатичного пептида являются остатками либо аргинина, либо лизина и/или как минимум 30, 40, 50, 60 или 70% упомянутых аминокислотных остатков амфипатичного пептида являются остатками гидрофобных аминокислот валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, триптофана, цистеина, аланина, тирозина, гистидина, треонина, серина, пролина и/или глицина.

Предпочтительными амфипатичными пептидами являются Pleurocidin в соответствии с SEQ ID NO:6, Secropin P1 в соответствии с SEQ ID NO:7, Buforin II в соответствии с SEQ ID NO:8, Buforin I в соответствии с SEQ ID NO:19 и Magainin в соответствии с SEQ ID NO:9. Более предпочтительными амфипатичными пептидами являются Cathelidicine e.g. LL-37 в соответствии с SEQ ID NO:10, Nigrocine 2 в соответствии с SEQ ID NO:26 и Ascaphine 5 в соответствии с SEQ ID NO:27.

В другом аспекте заявленного изобретения, слитая пептидная цепь представляет собой антимикробный пептид, который содержит номинальный положительный заряд и примерно 50% гидрофобных аминокислотных остатков. Антимикробные пептиды являются амфипатичными, с длиной примерно от 12 до примерно 50 аминокислотных остатков.

Специфические примеры антимикробных пептидов в соответствии с заявленным изобретением приведены в нижеследующей таблице.

Таблица 2:

Пептид	Последовательность	
LL-37	LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES	SEQ ID NO:10
SMAP-29	RGLRRLGRKIAHGVKKYGPTVLRRIIRIAG	SEQ ID NO:11
Indolicidin	ILPWKWPWWPWRR	SEQ ID NO:12
Protegrin	RGRLCYCRRRFCVVCVGR	SEQ ID NO:13
Cecropin P1	SWLSKTAKKLENSAKKRISSEGIAIAIQGGPR	SEQ ID NO:7
Magainin	GIGKFLHSAKFKGAFVGEIMNS	SEQ ID NO:9
Pleurocidin	GWGSFFKKAHVKGKLVGKAALTHYL	SEQ ID NO:6
Cecropin A (A.aegypti)	GGLKKGKLEGAGKRVFNAAEKALPVVAGAKALRK	SEQ ID NO:14
Cecropin A (D. melanogaster)	GWLKKIGKKIERVGQHTRDATIQGLGIPQQAANVAATARG	SEQ ID NO:15
Bufoforin II	TRSSRAGLQFPVGRVHRLLRK	SEQ ID NO:8
Sarcotoxin IA	GWLKKIGKKIERVGQHTRDATIQGLGIAQQAANVAATAR	SEQ ID NO:16
Apidaecin	ANRPVYIPPPRPPHPRL	SEQ ID NO:28
Ascaphine 5	GIKDWIKGAAKLIKTVASHIANQ	SEQ ID NO:27
Nigrocine 2	GLLSKVLGVGKVLGCVSGLVC	SEQ ID NO:26
Pseudin 1	GLNTLKKVFQGLHEAIKLINNHVQ	SEQ ID NO:29
Ranalexin	FLGGLIVPAMICAVTKKC	SEQ ID NO:30
Melittin	GIGAVLKVLTGLPALISWIKRKRQQ	SEQ ID NO:31

Еще в одном аспекте заявленного изобретения, слитая пептидная цепь представляет собой Sushi пептид, описанный в публикации *Ding JL, Li P, Ho B Cell Mol Life Sci. 2008 Apr;65(7-8):1202-19. The Sushi peptides: structural characterization and mode of action against Gram-negative bacteria*. Особенно предпочтительным является Sushi 1 пептид в соответствии с SEQ ID NO:32.

Предпочтительные Sushi пептиды – это Sushi пептиды S1 и S3 и их производные; *FASEB J. 2000 Sep;14(12):1801-13*.

В еще одном аспекте заявленного изобретения, слитая пептидная цепь представляет собой дефензин, предпочтительно Cathelicidine, Cecropin P1, Cecropin A или Magainin II.

В еще одном аспекте заявленного изобретения, слитая пептидная цепь представляет собой гидрофобную пептидную группу. Apidaecine с аминокислотной последовательностью в соответствии с SEQ ID NO:28, WLBU2-

Variant с аминокислотной последовательностью в соответствии с SEQ ID NO:33 и Walmagh1 с аминокислотной последовательностью в соответствии с SEQ ID NO:35. Гидрофобный пептид с аминокислотной последовательностью Phe-Phe-Val-Ala-Pro (SEQ ID NO:17) не является частью заявленного изобретения.

В еще одном аспекте заявленного изобретения, пептидные цепи слитого белка в соответствии с заявленным изобретением, содержат модификации и/или изменения аминокислотных последовательностей. Такие изменения и/или модификации могут содержать мутации, как, например, делеции, инсерции и добавления, субституции или сочетания вышеупомянутых и/или химические изменения аминокислотных остатков, например, биотинилирование, ацетилирование, пегилирование, химические изменения amino-, SH- или карбокси групп.

Специфические примеры слитых белков в соответствии с заявленным изобретением приведены в нижеследующей таблице:

Таблица 3:

Слитый белок	Слитый белок	Энзимная составляющая	Пептидная цепь (N-конец, если не указано иначе)
P1-E6	SEQ ID NO: 36	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Ascaphine 5 (SEQ ID NO:27)
P2-E6	SEQ ID NO: 37	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Apiadaecine (SEQ ID NO:28)
P3-E6	SEQ ID NO: 38	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Nigrocine 2 (SEQ ID NO:26)
P4-E6	SEQ ID NO: 39	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Pseudin 1 (SEQ ID NO:29)
P7-E6	SEQ ID NO: 40	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Ranalexin (SEQ ID NO:30)
P8-E6	SEQ ID NO: 41	KZ144 (SEQ ID NO:25)	WLBU2-Variant (SEQ ID NO:33)
P9-E6	SEQ ID NO: 42	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Sushi 1 (SEQ ID NO:32)
P10-E6	SEQ ID NO: 43	KZ144	Melittin

		(SEQ ID NO:25)	(SEQ ID NO:31)
P11-E6	SEQ ID NO: 44	KZ144 (SEQ ID NO:25)	LL-37 (SEQ ID NO:10)
P12-E6	SEQ ID NO: 45	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Indolicidin (SEQ ID NO:12)
P13-E6	SEQ ID NO: 46	KZ144 (SEQ ID NO:25)	SMAP-29 (SEQ ID NO:11)
P14-E6	SEQ ID NO: 47	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Protegrin (SEQ ID NO:13)
P15-E6	SEQ ID NO: 48	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Cecropin P1 (SEQ ID NO:7)
P16-E6	SEQ ID NO: 49	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Magainin (SEQ ID NO:9)
P17-E6	SEQ ID NO: 50	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Pleurocidin (SEQ ID NO:6)
P18-E6	SEQ ID NO: 51	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Cecropin A (<i>A. aegypti</i>) (SEQ ID NO:14)
P19-E6	SEQ ID NO: 52	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Cecropin A (<i>A. melanogaster</i>) (SEQ ID NO:15)
P20-E6	SEQ ID NO: 53	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Buforin II (SEQ ID NO:8)
P21-E6	SEQ ID NO: 54	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Sarcotoxin IA (SEQ ID NO:16)
P1-E3	SEQ ID NO: 55	STM0016 (SEQ ID NO:22)	Ascaphine 5 (SEQ ID NO:27)
	SEQ ID NO: 56	STM0016 (SEQ ID NO:22)	Nigrocine 2 (SEQ ID NO:26)
	SEQ ID NO: 57	STM0016 (SEQ ID NO:22)	SMAP-29 (SEQ ID NO:11)
	SEQ ID NO: 58	STM0016 (SEQ ID NO:22)	Sarcotoxin IA (SEQ ID NO:16)
P10-E4	SEQ ID NO: 59	N4-gp61 (SEQ ID NO:23)	Melittin (SEQ ID NO:31)

	SEQ ID NO: 60	N4-gp61 (SEQ ID NO:23)	SMAP-29 (SEQ ID NO:11)
P10-E5	SEQ ID NO: 61	N4-gp61 trunc. (SEQ ID NO:24)	Melittin (SEQ ID NO:31)
	SEQ ID NO: 62	N4-gp61 trunc. (SEQ ID NO:24)	Cecropin P1 (SEQ ID NO:7)
	SEQ ID NO: 63	N4-gp61 trunc. (SEQ ID NO:24)	SMAP-29 (SEQ ID NO:11)

Слитый белок в соответствии с заявленным изобретением, и, в особенности, наиболее предпочитаемые слитые белки в соответствии с SEQ ID NO: 36 до 63, могут дополнительно содержать метионин на N-конце.

Слитый белок в соответствии с заявленным изобретением, и, в особенности, наиболее предпочитаемые слитые белки в соответствии с SEQ ID NO: 36 до 63 могут дополнительно содержать таг (метку), например, с целью пурификации. Предпочтительным является His₆-таг, предпочтительно, на С-конце и/или на N-конце слитого белка. Упомянутый таг можно связать со слитым белком при помощи дополнительных аминокислотных остатков, например, по причине клонирования. Предпочтительно, упомянутый таг может быть связан со слитым белком при помощи как минимум 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 дополнительных аминокислотных остатков. В предпочтительном варианте практического воплощения заявленного изобретения, слитый белок содержит His₆-таг на С-конце, связанный со слитым белком при помощи дополнительных аминокислотных остатков лизина и глицина (Lys-Gly) или лейцина и глутаминовой кислоты (Leu-Glu). В другом предпочтительном варианте практического воплощения заявленного изобретения, слитый белок содержит His₆-таг на N-конце, связанный со слитым белком при помощи дополнительных аминокислотных остатков лизина и глицина (Lys-Gly) или лейцина и глутаминовой кислоты (Leu-Glu). Еще в одном предпочтительном варианте практического воплощения заявленного изобретения, слитый белок содержит His₆-таг на N- и С-концах, связанный со слитым белком при помощи

дополнительных аминокислотных остатков лизина и глицина (Lys-Gly) или лейцина и глутаминовой кислоты (Leu-Glu).

В более предпочтительном варианте практического воплощения заявленного изобретения, слитый белок содержит His₆-таг на С-конце, связанный со слитым белком при помощи дополнительных аминокислотных остатков лейцина и глутаминовой кислоты (Leu-Glu), а пептидная цепь слитого белка в соответствии с заявленным изобретением связана с N-концом энзима при помощи дополнительных аминокислотных остатков глицина и серина. В другом предпочтительном варианте практического воплощения заявленного изобретения, слитый белок содержит His₆-таг на С-конце, связанный со слитым белком при помощи дополнительных аминокислотных остатков лейцина и глутаминовой кислоты (Leu-Glu), а пептидная цепь слитого белка в соответствии с заявленным изобретением связана с N-концом энзима при помощи дополнительных аминокислотных остатков глицина и серина (Gly-Ser), причем слитый белок содержит на N-конце дополнительные аминокислотные остатки метионина (Met) или аланина, метионина и глицина (Ala-Met-Gly) или аланина, метионина, глицина и серина (Ala-Met-Gly-Ser). Предпочтительно, применяют слитые белки в соответствии с SEQ ID NO: 77 до 90.

Слитые белки получают построением путем связывания как минимум двух последовательностей нуклеиновой кислоты, с использованием стандартных методов клонирования в соответствии с Sambrook et al. 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Такой белок можно получить, например, в системах экспрессии рекомбинантных ДНК. Подобные слитые белки в соответствии с заявленным изобретением можно получать путем слияния нуклеиновых кислот для эндолизина и соответствующей пептидной цепи.

Слитые белки в соответствии с заявленным изобретением можно слить или связать с другими дополнительными белками. Примером такого дополнительного белка является тиоредоксин.

Помимо вышеописанного, заявленное изобретение относится к изолированной молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей слитый белок в соответствии с заявленным изобретением. Заявленное изобретение также относится к вектору, содержащему молекулу нуклеиновой кислоты в

соответствии с заявленным изобретением. Упомянутый вектор может быть применен в конститутивной или индуцируемой экспрессии упомянутого слитого белка в соответствии с заявленным изобретением.

Заявленное изобретение также относится к способу получения описанных слитых белков из микроорганизма, как, например, генетически модифицированная приемлемая клетка-хозяин, которая экспрессирует упомянутые слитые белки. Упомянутая клетка-хозяин может представлять собой микроорганизм, как, например, бактерия или дрожжевая клетка, или клетка животного, например, млекопитающего, в частности, человека. В одном из вариантов практического воплощения заявленного изобретения, клетка-хозяин представляет собой клетку *Pichia pastoris*. Клетку-хозяина могут выбирать вследствие чисто биологических параметров, например, выход, растворимость, затраты, и пр., но также и по медицинских параметрам, например, непатогенные бактерии или дрожжи, клетки организма человека.

В другом из аспектов, заявленное изобретение относится к способу генетической трансформации приемлемой клетки-хозяина с целью получения слитых белков в соответствии с заявленным изобретением, при котором клетку-хозяина генетически модифицируют путем введения в клетку-хозяин генетического материала, кодирующего упомянутые слитые белки, и последующих трансляции и экспрессии с использованием методов генной инженерии, известных специалистам в данной области.

Еще в одном из аспектов, заявленное изобретение относится к композиции, предпочтительно, фармацевтической композиции, содержащей слитый белок в соответствии с заявленным изобретением и/или хозяин, трансформированный с использованием молекулы нуклеиновой кислоты или вектора, содержащего нуклеотидную последовательность, кодирующую слитый белок в соответствии с заявленным изобретением.

В предпочтительном варианте практического воплощения заявленного изобретения, композиция дополнительно содержит агенты, пермеабилизирующие внешнюю мембрану грамотрицательных бактерий, как, например, хелаты металлов, как-то ЭДТК, ТРИС, молочная кислота, лактоферрин, полимиксин, лимонная кислота и/или другие вещества, как

описано в публикации Vaara (Agents that increase the permeability of the outer membrane. Vaara M. Microbiol. Rev. 1992 Sep; 56 (3):395-441). Предпочтительными также являются композиции, содержащие сочетания вышеупомянутых пермеабилзирующих агентов. Особенно предпочтительной является композиция, содержащая от примерно 10 мкМ до примерно 100 мМ ЭДТК, более предпочтительно от примерно 50 мкМ до примерно 10 мМ ЭДТК, более предпочтительно от примерно 0,5 мМ до примерно 10 мМ ЭДТК, более предпочтительно от примерно 0,5 мМ до примерно 2 мМ ЭДТК, более предпочтительно от примерно 0,5 мМ до 1 мМ ЭДТК. Тем не менее, предпочтительными также являются композиции, содержащие от примерно 10 мкМ до примерно 0,5 мМ ЭДТК. Также предпочтительной является композиция, содержащая от примерно 0,5 мМ до примерно 2 мМ ЭДТК, более предпочтительно от примерно 1 мМ ЭДТК и дополнительно от примерно 10 до примерно 100 мМ ТРИС.

Заявленное изобретение также относится к слитому белку в соответствии с заявленным изобретением и/или хозяину, трансформированному с использованием нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую слитый белок в соответствии с заявленным изобретением для применения в качестве медикаментозного препарата. В другом аспекте, заявленное изобретение относится к применению слитого белка в соответствии с заявленным изобретением и/или хозяину, трансформированному с использованием вектора, содержащего молекулу нуклеиновой кислоты, включающую нуклеотидную последовательность, кодирующую модифицированный слитый белок в соответствии с заявленным изобретением для применения в производстве медикаментозного препарата для лечения и/или профилактики расстройств, заболеваний и прочих дисфункций, ассоциируемых с грамотрицательными бактериями. В частности, применение для лечения и/или профилактики расстройств, заболеваний и пр. дисфункций, которые могут быть вызваны грамотрицательными бактериями, бактериальными группами, семействами, родами или видами, содержащими штаммы, патогенные для человека или животных, а именно *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, в особенности *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*,

Klebsiella, в особенности *K. pneumoniae*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia*, *Yersinia*), *Pseudomonadaceae* (*Pseudomonas*, в особенности *P. aeruginosa*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Shewanella*, *Sphingomonas*, *Comamonas*), *Neisseria*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Brucella*, *Francisella*, *Bordetella*, *Legionella*, *Bartonella*, *Coxiella*, *Haemophilus*, *Pasteurella*, *Mannheimia*, *Actinobacillus*, *Gardnerella*, *Spirochaetaceae* (*Treponema* and *Borrelia*), *Leptospiraceae*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Spirillum*, *Streptobacillus*, *Bacteroidaceae* (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*), *Acinetobacter*, в особенности *A. baumannii*.

Заявленное изобретение также относится к медикаментозному препарату, содержащему слитый белок в соответствии с заявленным изобретением и/или хозяину, трансформированному с использованием нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую слитый белок в соответствии с заявленным изобретением.

Еще в одном из аспектов, заявленное изобретение относится к способу лечения заболеваний, расстройств или прочих дисфункций у пациентов в состоянии необходимости терапии и/или профилактики, причем способ предусматривает введение пациенту эффективной дозы слитого белка в соответствии с заявленным изобретением и/или эффективного количества хозяина, трансформированного с использованием нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую слитый белок в соответствии с заявленным изобретением или композицию в соответствии с заявленным изобретением. Пациент может являться человеком или животным.

В частности, упомянутый способ лечения могут применять для лечения и/или профилактики инфекций кожи, мягких тканей, респираторной системы, легких, пищеварительного тракта, глаз, ушей, зубов, носоглотки, рта, костной системы, влажных поверхностей, осложнений в виде раневых поверхностей при бактериемии и/или эндокардите, вызываемых грамотрицательными бактериями, в частности, вышеперечисленными грамотрицательными бактериями.

Дозировка и путь введения, используемые в способе лечения (или профилактики) в соответствии с заявленным изобретением зависят от специфики заболевания/локализации инфекции. Путь введения, например, может быть

пероральный, наружный, внутриносовой, парентеральный, внутривенный, ректальный или другие.

Для введения слитого белка в соответствии с заявленным изобретением и/или эффективного количества хозяина, трансформированного с использованием нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую слитый белок в соответствии с заявленным изобретением или композицию в соответствии с заявленным изобретением, в место локализации (или возможного распространения инфекции), применяют такую форму упаковки, которая защищает активные компоненты от воздействий внешних факторов, таких как протеазы, окисление, иммунный ответ и т.п., вплоть до достижения ими очага инфекции. Следовательно, лекарственная форма может представлять собой капсулу, драже, таблетку, порошок, суппозиторий, эмульсию, гель, лосьон, крем, мазь, инъекционный раствор, сироп, спрей, состав для ингаляций или любую другую приемлемую по медицинским показаниям упаковку. Предпочтительно, фармацевтическая композиция может содержать подобранные носители, стабилизаторы, красители, буферы или другие подходящие реагенты. Например, для местного нанесения лекарственная форма может представлять собой лосьон, крем, гель, мазь или пластырь, для назофарингального применения - физраствор для интраназального нанесения при помощи спрея. Для перорального применения с целью лечения и/или профилактики очага инфекции, к примеру, во внутренних органах, возникает необходимость в дополнительной защите слитого белка в соответствии с заявленным изобретением от агрессивного воздействия среды желудочно-кишечного тракта вплоть до проникновения в очаг инфекции. Таким образом, при пероральном введении в очаг инфекции во внутренних органах требуется использование бактерии как носителя, который преодолет начальные стадии пищеварения в желудке и только после этого секретируется на слитый белок в соответствии с заявленным изобретением.

В одном из узконаправленных воплощений заявленного изобретения, использование слитого белка в соответствии с заявленным изобретением и/или хозяина, трансформированного с использованием вектора, содержащего молекулу нуклеиновой кислоты с нуклеотидной последовательностью,

кодирующей слитый белок в соответствии с заявленным изобретением, для применения в производстве медикаментозного средства для лечения и/или профилактики дисфункции, заболевания или симптоматики, вызванных *Pseudomonas*, в особенности *Pseudomonas aeruginosa* в особенности, поражения внутренних органов, в частности у грудных младенцев, инфекционные менингиты, например, геморрагический менингит, инфекции среднего уха, кожного покрова (*Ecthyma gangraenosum*), в частности ожоги, мочеполового тракта, риниты, бактериальные пневмонии, в частности, при которых пациент страдает от кистозного фиброза (муковисцидоза) или гематологических осложнений, например, при лейкемии, при развитии нейтропении в период проведения иммунодепрессивной терапии, септицемии, в особенности вследствие длительной внутривенной или мочевого катетеризации, полостных хирургических операций и тяжелых ожоговых поражений, эндокардита, в частности, при котором пациент находится на внутривенном катетерном введении лекарственных препаратов, или пациент с осложнениями после открытого хирургического вмешательства на сердце, при тяжелых инфекциях глаз, в частности, после использования зараженных офтальмологических растворов или тяжелых ожоговых поражений лица, остеохондроза, в частности вследствие тяжелых травм или колотых ран с входным отверстием сквозь грязную одежду.

В другом специализированном варианте практического воплощения заявленного изобретения, дисфункция, заболевание или симптоматика вызваны бактериями *Burkholderia pseudomallei*, в особенности болезнь Уитмора, хроническая пневмония, септицемия, в частности, при которой у пациента наблюдается травматическое поражение кожного покрова.

В другом узконаправленном практическом воплощении заявленного изобретения, дисфункция, заболевание или симптоматика вызваны бактериями *Salmonella thyphimurium* и *Salmonella enteritidis*, в особенности острые гастроэнтериты и локальные гнойные процессы, в частности остеомиелит, эндокардит, холецистит и особенно менингит, вызванный бактериями *Salmonella thyphimurium*, при котором возраст пациента менее 2 лет.

В другом узконаправленном практическом воплощении заявленного изобретения, дисфункция, заболевание или симптоматика вызваны бактериями *Salmonella typhi*, в частности тиф.

В другом узконаправленном практическом воплощении заявленного изобретения, дисфункция, заболевание или симптоматика вызваны бактериями *Salmonell paratyphi*, в частности паратиф.

В другом узконаправленном практическом воплощении заявленного изобретения, дисфункция, заболевание или симптоматика вызваны бактериями *Acinetobacter baumannii*, в частности, бронхит, пневмония, раневые инфекции и септицемия, в особенности вследствие внутривенной катетеризации.

В другом узконаправленном практическом воплощении заявленного изобретения, дисфункция, заболевание или симптоматика вызваны бактериями *Escherichia coli*, в особенности экстраинтестинальные инфекции, в частности аппендицит, гнойный холецистит, перитонит, гнойный менингит и инфекции мочеполового тракта, интраинтестинальные инфекции, вызванные бактериями *E. coli*, в частности эпидемический энтерит, а также инфекционные заболевания, подобные дизентерии, септицемия, энтеротоксемия, мастит и дизентерия.

В другом узконаправленном практическом воплощении заявленного изобретения, дисфункция, заболевание или симптоматика вызваны бактериями *Klebsiella pneumoniae*, в частности пневмония, бактериемия, менингит и инфекции мочеполового тракта.

Предпочтительно, слитый белок в соответствии с заявленным изобретением используется как компонент терапии или профилактики, в случае, если инфекция вызвана мультирезистентными бактериальными штаммами, в частности, штаммами, устойчивыми к одному или более из следующей группы антибиотиков: стрептомицин, тетрациклин, цефалотин, гентамицин, цефатоксин, цефалоспорин, цефтазидим или имипенем. Кроме этого, слитый белок в соответствии с заявленным изобретением применяют как компонент терапии путем введения в сочетании с традиционными антибактериальными препаратами, такими как антибиотики, лантибиотики, бактериоцины или эндолизины и т.п.

Заявленное изобретение также относится к фармацевтическому препарату, содержащему одно или более отделений, причем как минимум одно отделение содержит один или более слитых белков эндолизина в соответствии с заявленным изобретением и/или один или более хозяинов, трансформированных с использованием нуклеиновой кислоты с нуклеотидной последовательностью, кодирующей слитый белок в соответствии с заявленным изобретением, или композицию в соответствии с заявленным изобретением.

В другом аспекте практической реализации, заявленное изобретение относится к процессу приготовления фармацевтической композиции, причем данный процесс включает добавление путем смешивания одной или более слитых белков с заявленным изобретением и/или один или более хозяев, трансформированных с использованием нуклеиновой кислоты с нуклеотидной последовательностью, кодирующей слитый белок в соответствии с заявленным изобретением, с фармацевтически приемлемым растворителем, эксципиентом или носителем.

В более расширенном аспекте, композиция в соответствии с заявленным изобретением представляет собой косметическую композицию. Некоторые виды бактерий могут вызывать раздражение на открытых участках тела пациента, например, на кожном покрове. Для предотвращения появления таких раздражений кожного покрова или вероятного патогенного влияния упомянутых бактериальных организмов, представляется возможным применение специальных косметических составов, которые содержат достаточное количество слитого белка в соответствии с заявленным изобретением для разрушения уже размножившихся или потенциально опасных очагов инфекции, вызванных грамотрицательными бактериями.

В расширенном аспекте, заявленное изобретение относится к применению слитого белка в соответствии с заявленным изобретением в качестве средства диагностики в здравоохранении, пищевой и природоохранной промышленности, в частности в качестве средства диагностики для диагностирования бактериальных инфекций, вызванных в частности грамотрицательными бактериями. Слитый белок в соответствии с заявленным изобретением можно применять в качестве инструмента направленного разрушения патогенных

бактерий, в особенности грамотрицательных патогенных бактерий. Разрушению бактериальных стенок слитым белком в соответствии с заявленным изобретением можно способствовать путем добавления детергентов, как например Triton X-100 или других добавок, которые ослабляют клеточную защиту бактерий, например, полимиксин В. Специально направленное разрушение клеток необходимо как начальный этап последующего направленного уничтожения бактерий с использованием НК-методов, как например, полимеразная цепная реакция (ПЦР), гибридизация нуклеиновой кислоты или амплификация, основанная на последовательности нуклеиновых кислот, иммунобиологических методов, например, IMS, иммунофлюоресценции или анализ ELISA, или методов, основанных на распознавании клеточного материала бактерий, как то энзим-анализы с использованием протеинов, чувствительных к определенным группам или видам бактерий (например, β -галактозидаза для энтеробактерий, коагулаза для коагулаз-положительных штаммов).

В расширенном аспекте, заявленное изобретение относится к использованию слитого белка в соответствии с заявленным изобретением, для устранения, уменьшения и/или профилактики заражения грамотрицательными бактериями пищевых продуктов, оборудования на пищеперерабатывающих предприятиях, различных поверхностей, контактирующих с пищевыми продуктами, как, например, полки и места хранения пищевых продуктов, а также в любой другой области, где присутствует вероятность заражения пищевых продуктов, медицинского инструментария или прочих поверхностей в клиниках и хирургических блоках патогенными, потенциально болезнетворными и пр. нежелательными бактериями.

В частности, слитые белки в соответствии с заявленным изобретением можно применять в профилактических целях в качестве обеззараживающего средства. Такое обеззараживающее средство можно использовать до или после хирургических вмешательств, или, например, во время гемодиализа. Кроме того, слитый белок в соответствии с заявленным изобретением можно применять как компонент терапии у недоношенных детей, пациентов с ослабленной иммунной реакцией, или пациентов с протезными устройствами. Данную терапию можно проводить как профилактику, так и в острый период. В этом же контексте,

внутрибольничные инфекции, в особенности вызванные резистентными к антибиотикам штаммами, как например, бактериями *Pseudomonas aeruginosa* (FQRP), *Acinetobacter* и энтеробактерии, как, например *E.coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia* и *Yersinia* можно лечить – как профилактически, так и в стадии острого обострения – с использованием слитого белка в соответствии с заявленным изобретением. В связи с этим, слитый белок в соответствии с заявленным изобретением можно использовать в качестве дезинфицирующего средства, а также в сочетании с другими ингредиентами в составе дезинфицирующего раствора, как, например, детергенты, поверхностно-активные вещества, растворители, антибиотики, лантибиотики или бактериоцины.

Применение слитого белка в соответствии с заявленным изобретением в качестве дезинфицирующего средства, например, в клиниках, стоматологических и ветеринарных кабинетах, кухне или ванной комнате сопровождается приготовлением состава в виде жидкости, порошка, геля, или ингредиента дезинфицирующих салфеток или простыней. В данный состав можно дополнительно включить подходящий носитель, добавки, растворители и/или эксципиенты для различных способов применения, а также агенты, которые способствуют повышению антимикробной активности, такие, как, например, ЭДТК или агенты, повышающие антимикробную активность слитых белков. Слитые белки можно использовать с традиционными дезинфицирующими агентами, такими, как например, этиловые спирты, альдегиды, окислители, фенолы, четвертичные аммониевые соединения или УФ-излучение. Для дезинфекции, например, поверхностей, объектов и/или приборов, слитый белок можно наносить на указанные поверхности, объекты и/или приборы. Нанесение можно осуществлять при помощи мягкой ткани, смоченной в дезинфицирующем составе, нанесенном при помощи спрея или окунания. Слитые белки можно использовать в различных концентрациях, в зависимости от соответствующего способа нанесения и времени воздействия для достижения эффекта полного обеззараживания.

Другим аспектом заявленного изобретения является тот факт, что заявленное изобретение может служить универсальным алгоритмом, т.е., любая пептидная цепь, заявленная в описании, может быть слита с любым эндолизином, аутолизином или бактериоцином, также заявленными в описании. Таким образом, представляется возможным комбинировать соответствующую пептидную цепь, которая позволяет осуществить связывание слитого белка с соответствующими бактериями и эндолизином, аутолизином или бактериоцином, которые препятствуют росту соответствующих бактерий. Наконец, представляется возможным построение приемлемого слитого белка для любых бактерий, которые необходимо уничтожить.

Далее по тексту описания заявленного изобретения следует расширенное описание применимости заявленного изобретения; тем не менее, следует понимать, что подробное описание и конкретные примеры, при том, что таковые служат исключительно цели продемонстрировать примеры практического воплощения заявленного изобретения, не носят ограничительный характер, поскольку различные изменения и модификации, не выходящие за рамки цели и задач изобретения, понятны специалистам в данной области техники. Необходимо понимать, что как описание, так и примеры носят иллюстративный характер и не являются ограничительными касательно сути заявленного изобретения.

Если не указано иначе, в нижеследующих примерах использованы стандартные методики, принятые в молекулярной биологии, как, например, описано в издании Sambrock et al., 1989, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

Пример 1. Клонирование, экспрессия и очистка gp144 и gp188, модифицированных с использованием амфипатичного пептида.

В качестве доказательного примера, продемонстрировали потенциал ЛПС-разрушающей активности амфипатичных пептидов при направлении gp144 и gp188 через внешнюю мембрану и последующую антибактериальную активность в отношении грамотрицательных бактерий. Gp144 и gp188 представляют собой модульные эндолизины, полученные из *Pseudomonas aeruginosa* фагов фКЗ и EL

с N-концевым пептидогликанным связыванием и C-концевым каталитическим доменом (Briers et al., 2007).

Для удлинения 5' конца открытой рамки считывания, кодирующей gp144 или gp188 с геным фрагментом, кодирующим амфипатичный $\alpha 4$ спиральный T4 лизосом (aa 143-155: Pro-Asn-Arg-Ala-Lys-Arg-Val-Ile-Thr-Thr-Phe-Arg-Thr в соответствии с SEQ ID NO: 92), применили хвост PCR с удлиненным 5' праймером и стандартным 3' праймером. Продукт ПЦР клонировали в экспрессионном векторе pEXP5CT/TOPO® (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA).

Экспрессию всех составляющих провели в клетках *E. coli* BL21 (DE3) pLysS. Все белки подвергли очистке при помощи Ni^{2+} аффинной хроматографии с использованием C-концевого 6xHis-тага. Выход при различных очистках представлен в табл.4. Показательно, что получение $\alpha 4$ -KZ144 не оказало токсичного воздействия на хозяина, по сравнению с KZ144, приводя к значительно большему выходу.

Очищенные стоковые растворы показали степень очистки ~90%. Все производные gp144 показали образование мультимеров, которые могут быть превращены в мономеры путем аддиции β -меркапто-этанола, что доказывает, что меж-дисульфидные связи вызывают мультимеризацию.

Таблица 4 – Выходы рекомбинантной очистки эндолизинов, модифицированных с использованием амфипатичного пептида*.

Слитый белок	Эндолизин	
	gp144	gp188
$\alpha 4$ спиральный	179 мг	38 мг

Примечание*. Показан общий выход очищенного рекомбинантного белка на литр экспрессионной культуры клеток *E. coli*. Данное значение определили спектрофотометрическим измерением концентрации белка и общего объема очищенного стокового раствора. Очистку производных gp188 провели при более жестких условиях (65 мМ имидазола), по сравнению с производными gp144 (50 мМ имидазола) с целью обеспечения высокой степени очистки.

Характеристика gp144 и gp188, модифицированных с использованием амфипатичного пептида

1.А. Энзиматическая (ферментативная) активность gp144 и gp188, модифицированных с использованием амфипатичного пептида

Для оценки влияния модификации на энзиматическую активность gp144 или gp188, измерили специфическую активность вариантов при помощи хлороформ-пермеабиллизированных клеток *Pseudomonas aeruginosa* и сравнили с соответствующим немодифицированным эндолизином. Измерили различные величины прироста всех модифицированных эндолизинов с целью определения (построения) соответствующей кривой насыщаемости. Угловым коэффициентом линейной регрессии линейной области данной кривой служит мерой специфичной активности и экспрессирован относительно углового коэффициента немодифицированных gp144 или gp188 (табл.5).

Таблица 5 – Энзиматическая активность gp144 или gp188, модифицированных с использованием амфипатичного пептида*.

Слитый белок	Эндолизин	
	gp144	gp188
α 4 спиральный	23%	146%

*Примечание**. Определена специфичная энзиматическая активность различных вариантов, и экспрессирована относительно специфичной активности соответствующего начального эндолизина (=100%), с одновременным тестированием. Буферные условия теста представляли собой оптимальные условия соответствующих эндолизинов ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ I = 120 мМ рН 6,2 и I = 80 мМ рН 7,3 для gp144 и gp188, соответственно).

1.Б. Антибактериальная активность gp144 и gp188, модифицированных с использованием амфипатичного пептида

Экспоненциальные клетки ($\sim 10^6$ /мл) *P. aeruginosa* PAO1 инкубировали при комнатной температуре с немодифицированными и модифицированными gp144/gp188. По истечении 1 часа, клеточные суспензии разбавили и поместили в чашки Петри. Остаточные колонии пересчитали после ночного инкубирования

(табл.6). Немодифицированный gp144 gp188 не уменьшает число клеток в значительной степени, по сравнению с отрицательным контролем. Данный факт наглядно демонстрирует эффективность внешней мембраны как защитного барьера. Слитые белки с амфипатичным α 4-спиральным инактивирует Экспоненциальные клетки с 50 ± 11 и 34 ± 11 % для α 4-KZ144 и α 4-EL188, соответственно. При использовании стационарных клеток с 100-кратно увеличенной плотностью, данные величины одинаковы (35 ± 18 и 32 ± 17 %, соответственно). Несмотря на довольно высокую вариабельность между различными репликами, данные величины значительно различаются от необработанных клеток ($\alpha = 0.05$). В целом, модифицированные gp144 производные показывают тенденцию к более высокой антибактериальной активности, чем gp188 производные.

Таблица 6 – Антибактериальная активность эндолизинов gp144 и gp188 и их производных*.

Экспоненциально растущие клетки	Эндолизины			
	gp144		gp188	
Слитый	%	лог	%	лог
немодифицированный	0 ± 15	$0.00 \pm 0,06$	10 ± 13	$0,05 \pm 0,06$
α 4 спиральный	50 ± 11	$0,31 \pm 0,09$	34 ± 11	$0,19 \pm 0,07$

*Примечание** Экспоненциально растущие клетки *P. aeruginosa* PAO1 разбавили 100 х и инкубировали (конечная плотность $\sim 10^6$ /мл) с 10 мкг недиализованного белка (конечная концентрация 100 мкг/мл, буфер: 20 мМ NaH_2P_0_4 -NaOH pH7.4; 0.5 М NaCl; 0.5 М имидазола) в течение 1 часа при комнатной температуре. Аликвоты разбавили поместили в чашки Петри. Антибактериальная активность выражена как относительная инактивация (%) ($=100-(N_i/N_0)*100$ м N_0 = число необработанных клеток и N_i = число обработанных клеток) и в логарифмических единицах ($=\log_{10}N_0/N_i$). Все образцы реплицировали в шесть раз. Представлены средние/стандартные отклонения. Статистический анализ осуществили с использованием Т-теста.

Пример 2. Клонирование, экспрессия и очистка gp144 and gp188, модифицированных с использованием гидрофобного пептида.

В качестве доказательного примера, продемонстрировали потенциал ЛПС-разрушающей активности гидрофобных пентапептидов при направлении gp144 и gp188 через внешнюю мембрану и последующую антибактериальную активность

в отношении граммотрицательных бактерий. Gr144 и gr188 представляют собой модульные эндолизины, полученные из *Pseudomonas aeruginosa* фагов фКЗ и EL с N-концевым пептидогликанным связыванием и C-концевым каталитическим доменом (Briers et al., 2007).

Для удлинения 5' конца открытой рамки считывания, кодирующей gr144 или gr188, генным фрагментом, кодирующим 5 гидрофобных остатков (Phe-Phe-Val-Ala-Pro), применили хвост ПЦР с удлиненным 5' праймером и стандартным 3' праймером. Продукт ПЦР клонировали в экспрессионном векторе pEXP5CT/TOPO® (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA).

Экспрессию всех составляющих провели в клетках *E. coli* BL21 (DE3) pLysS. Все белки подвергли очистке при помощи Ni²⁺ аффинной хроматографии с использованием C-концевого 6xHis-тага. Выход при различных очистках представлен в табл.7.

Очищенные стоковые растворы показали степень очистки ~90%. Все производные gr144 показали образование мультимеров, которые могут быть превращены в мономеры путем аддиции β-меркапто-этанола, что доказывает, что междисульфидные связи вызывают мультимеризацию.

Таблица 7 - Выходы рекомбинантной очистки производных эндолизинов*.

Слитый белок	Эндолизин	
	gp144	gp188
Phe-Phe-Val-Ala-Pro	25 мг	85 мг

*Примечание**. Показан общий выход очищенного рекомбинантного белка на литр экспрессионной культуры клеток *E. coli*. Данное значение определили спектрофотометрическим измерением концентрации белка и общего объема очищенного стокового раствора. Очистку производных gp188 провели при более жестких условиях (65 мМ имидазола), по сравнению с производными gp144 (50 мМ имидазола) с целью обеспечения высокой степени очистки.

Характеристика gp144 и gp188, модифицированных с использованием гидрофобного пентапептида

2.А. Энзиматическая (ферментативная) активность gp144 и gp188, модифицированных с использованием гидрофобного пентапептида

Для оценки влияния модификации на энзиматическую активность gp144 или gp188, измерили специфическую активность вариантов при помощи хлороформ-пермеабиллизированных клеток *Pseudomonas aeruginosa* и сравнили с соответствующим немодифицированным эндолизинном. Измерили различные величины прироста всех модифицированных эндолизинов с целью определения (построения) соответствующей кривой насыщаемости. Угловым коэффициентом линейной регрессии линейной области данной кривой служит мерой специфичной активности и экспрессирован относительно углового коэффициента немодифицированных gp144 или gp188 (табл.8).

Таблица 8 – Энзиматическая активность gp144 или gp188, модифицированных с использованием гидрофобного пептида*.

Слитый белок	Эндолизин	
	gp144	gp188
Гидрофобный пентапептид	150%	100%

Примечание*. Определена специфичная энзиматическая активность различных вариантов, и экспрессирована относительно специфичной активности соответствующего начального эндолизина (=100%), с одновременным тестированием. Буферные условия теста представляли собой оптимальные условия соответствующих эндолизинов ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ I = 120 мМ рН 6,2 и I = 80 мМ рН 7,3 для gp144 и gp188, соответственно).

2.Б. Антибактериальная активность gp144 и gp188, модифицированных с использованием гидрофобного пентапептида

Экспоненциальные клетки ($\sim 10^6$ /мл) *P. aeruginosa* PAO1 инкубировали при комнатной температуре с немодифицированными и модифицированными gp144/gp188. По истечении 1 часа, клеточные суспензии разбавили и поместили в чашки Петри. Остаточные колонии пересчитали после ночного инкубирования (табл.9). Немодифицированный gp144 gp188 не уменьшает число клеток в значительной степени, по сравнению с отрицательным контролем. Данный факт наглядно демонстрирует эффективность внешней мембраны как защитного барьера. Инкубация с использованием гидрофобных пентапептидных слитых

белков вызывает значительное снижение ($\alpha = 0.05$) числа бактериальных клеток (83 ± 7 и $69 \pm 21\%$ для модифицированных gp144 и gp188, соответственно). В целом, модифицированные gp144 производные показывают тенденцию к более высокой антибактериальной активности, чем gp188 производные.

Таблица 9 - Антибактериальная активность эндолизинов gp144 и gp188 и их производных*.

Экспоненциально растущие клетки	Эндолизины			
	gp144		gp188	
Слитый	%	log	%	log
немодифицированный	0 ± 15	$0,00 \pm 0,06$	10 ± 13	$0,05 \pm 0,06$
Гидрофобный пентапептид	83 ± 7	$0,9 \pm 0,2$	69 ± 21	$0,7 \pm 0,3$

*Примечание**. Экспоненциально растущие клетки *P. aeruginosa* PAO1 разбавили 100 х и инкубировали (конечная плотность $\sim 10^6$ /мл) с 10 мкг недиализированного белка (конечная концентрация 100 мкг/мл, буфер: 20 mM NaH_2P_0_4 -NaOH pH7.4; 0.5 M NaCl; 0.5 M имидазола) в течение 1 часа при комнатной температуре. Аликвоты разбавили поместили в чашки Петри. Антибактериальная активность выражена как относительная инактивация (%) ($=100-(N_i/N_0)*100$ с N_0 = число необработанных клеток и N_i = число обработанных клеток) и в логарифмических единицах ($=\log_{10}N_0/N_i$). Все образцы реплицировали в шесть раз. Представлены средние/стандартные отклонения. Статистический анализ осуществили с использованием Т-теста.

Пример 3: Клонирование, экспрессия и очистка KZ144 и STM0016, модифицированных с использованием различных пептидных цепей на N-конце эндолизина.

KZ144 в соответствии с SEQ ID NO: 25 представляет собой модульный эндолизин, получаемый из *Pseudomonas aeruginosa* фага фKZ с N-концевым пептидогликанным связыванием и C-концевым каталитическим доменом (Briers et al., 2007). Эндолизин KZ144 кодируют молекулой нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 64. Молекулу нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 64 получили синтетическим путем с BamH I (5'-GGA TCC-3') сайтом рестрикции на 5'-конце молекулы нуклеиновой кислоты и Xho I (5'-CTC GAG-3') сайтом рестрикции на 3'-конце молекулы нуклеиновой кислоты.

STM0016 является гипотетическим белком с гомологией в отношении *E. coli* фага N4 эндолизина N4-gp61. Эндолизин STM0016 кодируют молекулой

нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 65. Молекулу нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 65 получили синтетическим путем с BamH I (5'-GGA TCC-3') сайтом рестрикции на 5'-конце молекулы нуклеиновой кислоты и Xho I (5'-CTC GAG-3') сайтом рестрикции на 3'-конце молекулы нуклеиновой кислоты.

N4-gp61 является *E. coli* N4 фагом эндолизина. Эндолизин кодируют молекулой нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 91. Молекулу нуклеиновой кислоты в соответствии с SEQ ID NO: 91 получили синтетическим путем с BamH I (5'-GGA TCC-3') сайтом рестрикции на 5'-конце молекулы нуклеиновой кислоты и Xho I (5'-CTC GAG-3') сайтом рестрикции на 3'-конце молекулы нуклеиновой кислоты.

Представленные в табл.10 пептидные цепи использовали для получения слитых белков с эндолизином KZ144 или STM0016:

Таблица 10:

Пептидная цепь	Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая пептидную цепь
Pseudin 1 (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO: 66
Ranalexin (SEQ ID NO:30)	SEQ ID NO: 67
Sushi 1 (SEQ ID NO:32)	SEQ ID NO: 68
WLBU2-Variant (SEQ ID NO:33)	SEQ ID NO:69
Melittin (SEQ ID NO:31)	SEQ ID NO:70
SMAP-29 (SEQ ID NO:11)	SEQ ID NO:71
Pleurocidin (SEQ ID NO: 6)	SEQ ID NO: 72
Cecropin A (<i>A. aegypti</i>)	SEQ ID NO:73

(SEQ ID NO:14)	
Cecropin A (<i>A. melanogaster</i>) (SEQ ID NO:15)	SEQ ID NO:74
Buforin II (SEQ ID NO:8)	SEQ ID NO:75
Sarcotoxin IA (SEQ ID NO:16)	SEQ ID NO:76

Молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие соответствующие пептидные цепи, получили синтетическим путем с Nde I (5'-CAT ATG-3') сайтом рестрикции на 5'-конце молекулы нуклеиновой кислоты и BamH I (5'-GGA TCC-3') сайтом рестрикции на 3'-конце молекулы нуклеиновой кислоты, за исключением молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей Sushi 1 пептид, который получили с Nco I сайтом рестрикции плюс два дополнительных нуклеотида (5'-CCA TGG GC-3') на 5'-конце молекулы нуклеиновой кислоты.

Слитые белки получают путем соединения как минимум двух последовательностей нуклеиновых кислот с использованием стандартных методов клонирования, описанных, например, в публикации Sambrook et al. 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Таким образом, молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие пептидные цепи, частично расщепили с соответствующими энзимами рестрикции Nde I и BamH I, и, в случае, молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей пептидную цепь Sushi 1, поглощение осуществили с энзимами рестрикции Nco I и BamH I. После этого, расщепленные нуклеиновые кислоты, кодирующие пептидные цепи, лигандировали в pET21 b экспрессионном векторе (Novagen, Darmstadt, Germany), который также до этого подвергли расщеплению с соответствующими энзимами рестрикции Nde I and BamH I. Расщепленную молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую пептидную цепь Sushi I лигандировали в модифицированный pET32 b экспрессионный вектор (немодифицированный вектор производства компании Novagen, Darmstadt, Germany), который также до этого подвергли расщеплению с соответствующими энзимами рестрикции Nco I

and BamH I. Модификация pET32b экспрессионного вектора относится к делеции последовательности, кодирующей S-таг и центральный His-таг.

После этого, молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую эндолизин KZ144, частично расщепили с энзимом рестрикции BamH I и Xho I, таким образом, чтобы было возможно лигандировать эндолизин в pET21b экспрессионном векторе (Novagen, Darmstadt, Germany) и в модифицированном pET32 b экспрессионном векторе, соответственно, который также до этого подвергли расщеплению с соответствующими энзимами рестрикции BamH I and Xho I. Молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую эндолизин STM0016 и молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую эндолизин N4gp61, подвергли частичному расщеплению с энзимом рестрикции BamH I and Xho I, таким образом, чтобы было возможно лигандировать эндолизин в pET21b экспрессионном векторе (Novagen, Darmstadt, Germany).

Таким образом, молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую пептидную цепь, лигандировали в соответствующем векторе на 5'-конце молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей эндолизин KZ144 или STM0016. Помимо этого, молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующей эндолизин KZ144 или STM0016, лигандировали в соответствующей плазмиде, таким образом, чтобы молекула, кодирующая His-таг, состоящий из шести гистидиновых остатков, ассоциировалась на 3'-конце молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей эндолизин.

Поскольку некоторые слитые белки могут либо проявлять токсичность после экспрессии в бактериальных клетках, либо терять гомогенность вследствие деградации белка, стратегическим выходом из сложившейся дилеммы была бы экспрессия данных слитых белков, в слиянии или соединении в другими белками. Примером такого прочего дополнительного белка является тиоредоксин, который показал способность опосредовать экспрессию токсичных антимикробных пептидов в клетках *E.coli* (TrxA mediating fusion expression of antimicrobial peptide CM4 from multiple joined genes in Escherichia coli. Zhou L, Zhao Z, Li B, Cai Y, Zhang S. Protein Expr Purif. 2009 Apr;64(2):225-230). В случае слитого белка, состоящего из N-концевого Sushi 1 пептида и эндолизина KZ144, Sushi 1 пептид лигандируют в модифицированном pET32 b экспрессионном

векторе, таким образом, чтобы дополнительный тиоредоксин ассоциировался на 5'-конце Sushi 1 пептида. Тиоредоксин можно удалить из экспрессированного слитого белка путем использования энтерокиназы, причем сайт рестрикции энтерокиназы вводят между молекулой нуклеиновой кислоты, кодирующей Sushi пептид и молекулой, кодирующей тиоредоксин.

Последовательность слияний эндолизин-пептид контролировали при помощи секвенирования ДНК, а корректные клоны трансформировали в *E. coli* BL21(DE3) (Novagen, Darmstadt, Germany) для экспрессии белка.

Рекомбинантную экспрессию слитого белка в соответствии с SEQ ID NO: 77 до 90 осуществили в клетках *E. coli* BL21 (DE3) pLysS и *E. coli* BL21 (DE3) (Novagen, Darmstadt, Germany). Клетки росли до достижения уровня значения оптической плотности OD600 0,5-0,8 мкм. Затем индуцировали экспрессию слитого белка с 1 mM IPTG (изопропилтиогалактозидом) и осуществили экспрессию при 37°C в течение 4 часов.

Клетки *E. coli* BL21 собрали центрифугированием в течение 20 мин при 6000г и дезинтегрировали путем разрушения ультразвуком на льду. Суммарный экстракт растворимой и нерастворимой фракций клеток *E. coli* сепарировали центрифугированием (Sorvall, SS34, 30 мин, 15 000 оборотов в минуту). Все белки очистили при помощи Ni²⁺ аффинной хроматографии (Akta FPLC, GE Healthcare) с использованием С-концевого 6xHis-тага, кодируемого векторами pET21b и pET32b.

Как описано выше, некоторые слитые белки экспрессировали с использованием модифицированного pET32b вектора (S-таг и центральный His-таг удалили), который соединяет слиянием тиоредоксин на N-конце необходимых белков. Вектор также содержит сайт расщепления энтерокиназы, как раз непосредственно перед необходимым белком. Данный сайт позволяет осуществить протеолитическое расщепление между тиоредоксином и необходимым белком, который может быть очищен через оставшийся С-концевой His-таг. Для повышения антимикробной активности слитого белка Sushi 1-KZ144, может возникнуть необходимость удаления тиоредоксина путем электролитического расщепления. В связи с этим, слитый белок расщепили с использованием 2-4 юнитов/мг рекомбинантной энтерокиназы (Novagen,

Darmstadt, Germany) для удаления тиоредоксина в соответствии с протоколом производителя. После энтекрокиназного расщепления, слитый белок очистили при помощи His-таг очистки, как описано далее по тексту.

Ni²⁺ аффинную хроматографию осуществили в 4 последовательных этапа, все при комнатной температуре:

1. Эквилибрация *Histrap HP 5* мл колонки (GE Healthcare) с 10 объемами колонки отмывочного буфера (20 мМ имидазола, 1 М NaCl и 20 мМ Hepes (N-2-гидроксиэтилпиперазин-N-2-этансульфоновой кислоты) при pH 7,4) при скорости потока 3-5 мл/мин.
2. Загрузка всего лизата (с требуемым объемом слитого белка) в *Histrap HP 5* ml колонки при скорости потока 3-5 мл/мин.
3. Отмывка колонки с 10 объемами колонки отмывочного буфера для удаления несвязанного образца, с последующей повторной отмывкой с 10% элюирующего буфера (500 мМ имидазола, 0,5 М NaCl и 20 мМ Hepes при pH 7.4) при скорости потока 3-5 мл/мин.
4. Элюирование связанных слитых белков из колонки с линейным градиентом 4 объемов колонки элюирующего буфера (500 мМ имидазола, 0,5 мМ NaCl и 20 мМ Hepes при pH 7,4) до 100% при скорости потока 3-5 мл/мин.

Очищенные стоковые растворы слитых белков в элюирующем буфере (20 мМ Hepes pH 7,4; 0,5 М NaCl; 500 мМ имидазола) показали как минимум 90% степень чистоты, в соответствии с визуальным контролем на SDS-PAGE гелях (данные не приведены).

Пример 4: Антимикробная активность эндолизина KZ144, модифицированного с использованием различных пептидных цепей на N-конце.

Слитый белок, содержащий KZ144 и пептидную цепь $\alpha 4$ спираль построили в соответствии с описанием в примере 1. Другие слитые белки, содержащие KZ144 и соответствующие пептидные цепи, построили в соответствии с описанием в примере 3.

Клетки *E. coli* DSMZ 11753, *Acinetobacter baumannii* DSMZ 30007 и *Pseudomonas aeruginosa* PAO1p (Burn wound isolate, Queen Astrid Hospital, Brussels; Pirnay JP et al. (2003), *J Clin Microbiol.*, 41(3):1192-1202) использовали в качестве тест-штаммов. Инкубированные в течение ночного времени суток культуры разбавили в 10 раз в свежей среде Лурия-Бертани и вырастили до $OD_{600}=0.6$. Культуру осадил центрифугированием и разбавили в 10 раз в буфере разбавления (10 мМ HEPES, 0,5 мМ ЭДТК; pH 7.4). Бактерии инкубировали при комнатной температуре с 10 мкг недиализованного слитого белка при конечной концентрации 100 мкг/мл в буфере (20 мМ NaH_2PO_4 -NaOH pH 7,4; 0,5 М NaCl; 0,5 М имидазола). По истечении 1 часа, в ФСБ построили серии разведения клеток и высеяли на среду Лурия-Бертани. Дополнительно, отрицательный контроль высеяли с использованием буфера (20 мМ NaH_2PO_4 -NaOH pH 7,4; 0,5 М NaCl; 0,5 М имидазола). Остаточные колонии пересчитали после ночной инкубации при 37°C. На основе чисел клеток, рассчитали антибактериальную активность в логарифмических юнитах ($=\log_{10}N_0/N_i$ с N_0 = число необработанных клеток и N_i = число обработанных клеток) (табл.11). все образцы реплицировали как минимум в 4 раза.

Антимикробная активность данных слитых белков представлена в следующей таблице.

Таблица 11: Антимикробная активность KZ144, модифицированного с использованием различных пептидных цепей, в отношении грамотрицательных бактерий

Слитый белок	Энзимная составляющая	Пептидная цепь (N-концевая, если не указано иначе)	Активность в отношении <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Активность в отношении <i>E. coli</i> DSMZ 11753	Активность в отношении <i>Acinetobacter baumannii</i> DSMZ 30007
SEQ ID NO: 77	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Pseudin 1 (SEQ ID NO:29)	+	не опр.	не опр.
SEQ ID NO: 78	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Ranalexin (SEQ ID NO:30)	+	не опр.	не опр.
SEQ ID NO: 79	KZ144 (SEQ ID	Sushi 1 (SEQ ID	+	не опр.	++

	NO:25)	NO:32)			
SEQ ID NO: 80	KZ144 (SEQ ID NO:25)	WLBU2- Variant (SEQ ID NO:33)	не опр.	+	не опр..
SEQ ID NO: 81	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Melittin (SEQ ID NO:31)	+	не опр.	не опр.
SEQ ID NO: 82	KZ144 (SEQ ID NO:25)	SMAP-29 (SEQ ID NO:11)	+++	+++	не опр.
SEQ ID NO: 83	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Cecropin A (A. aegypti) (SEQ ID NO:14)	++	+	++
SEQ ID NO: 84	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Pleurocidin (SEQ ID NO: 6)	+	не опр.	не опр.
SEQ ID NO: 85	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Cecropin A (A. melanogaster) (SEQ ID NO:15)	+	не опр.	не опр.
SEQ ID NO: 86	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Buforin II (SEQ ID NO:8)	+	не опр.	не опр.
SEQ ID NO: 87	KZ144 (SEQ ID NO:25)	Sarcotoxin IA (SEQ ID NO:16)	++	++	++
SEQ ID NO: 93	KZ144 (SEQ ID NO:25)	α 4 helix (SEQ ID NO:92)	\pm	не опр.	не опр.

Сокращения: \pm < 1 лог; +: 1 лог; ++: 2-3 лог; +++: 4 или более лог; не опр. обозначает, что данный штамм не был тестирован с соответствующим слитым белком.

Пример 5: Антимикробная активность эндолизина STM0016, модифицированного с использованием различных пептидных цепей на N-конце.

Слитые белки, состоящие из STM0016 и пептидную цепь Sarcotoxin IA или SMAP-29 построили в соответствии с описанием в примере 3.

Клетки *E. coli* DSMZ 11753, *Salmonella typhimurium* DSMZ 17058 and *Pseudomonas aeruginosa* PAO1p (Burn wound isolate, Queen Astrid Hospital, Brussels; Pirnay JP et al. (2003), *J Clin Microbiol.*, 41(3):1192-1202) использовали в

качестве тест-штаммов. Исследовали в соответствии с описанием в примере 4 антимикробную активность слитых белков, состоящих из эндолизина STM0016 и пептида Sarcotoxin IA или SMAP-29. Антимикробная активность данных слитых белков представлена в следующей таблице.

Таблица 12:

Слитый белок	Энзимная составляющая	Пептидная цепь (N-концевая, если не указано иначе)	Активность в отношении <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Активность в отношении <i>E. coli</i> DSMZ 11753	Активность в отношении <i>Salmonella typhimurium</i> DSMZ 17058
SEQ ID NO: 88	STM0016 (SEQ ID NO: 22)	Sarcotoxin IA (SEQ ID NO:16)	+	не опр.	+
SEQ ID NO: 89	STM0016 (SEQ ID NO: 22)	SMAP-29 (SEQ ID NO: 11)	+	+	+

Сокращения: +: 1 лог; не опр. обозначает, что данный штамм не был тестирован с соответствующим слитым белком.

Пример 6: Антимикробная активность эндолизина N4gp61, модифицированного с использованием пептидной цепи на N-конце.

Слитый белок, содержащий N4gp61 и пептидную цепь SMAP-29 спираль построили в соответствии с описанием в примере 3.

Клетки *E. coli* DSMZ 11753, *Salmonella typhimurium* DSMZ 17058 и *Pseudomonas aeruginosa* PAO1p (Burn wound isolate, Queen Astrid Hospital, Brussels; Pirnay JP et al. (2003), *J Clin Microbiol.*, 41(3):1192-1202) использовали в качестве тест-штаммов. Исследовали в соответствии с описанием в примере 4 антимикробную активность слитого белка, состоящего из эндолизина N4gp61 и пептида SMAP-29. Антимикробная активность данного слитого белка представлена в следующей таблице.

Таблица 13:

Слитый белок	Энзимная составляющая	Пептидная цепь (N-концевая, если не указано иначе)	Активность в отношении <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Активность в отношении <i>E. coli</i> DSMZ 11753	Активность в отношении <i>Salmonella typhimurium</i> DSMZ 17058
SEQ ID NO: 90	N4-gp61 (SEQ ID NO: 23)	SMAP-29 (SEQ ID NO: 11)	+	+	+

Сокращения: +: 1 лог; не опр. обозначает, что данный штамм не был тестирован с соответствующим слитым белком.

Пример 7: Антимикробная активность эндолизина gp188, модифицированного с использованием пептидной цепи на N-конце.

Слитые белки, содержащие эндолизин gp188 и пептидные цепи $\alpha 4$ спирали, SMAP-29 или Sarcotoxin IA построили в соответствии с описанием в примере 1. Клетки *E. coli* DSMZ 11753, *Acinetobacter baumannii* DSMZ 30007 и *Pseudomonas aeruginosa* PAO1p (Burn wound isolate, Queen Astrid Hospital, Brussels; Pirnay JP et al. (2003), *J Clin Microbiol.*, 41(3):1192-1202) использовали в качестве тест-штаммов. Исследовали в соответствии с описанием в примере 4 антимикробную активность слитого белка, состоящего из эндолизина gp188 и соответствующих пептидных цепей. Антимикробная активность данных слитых белков представлена в следующей таблице.

Таблица 14:

Слитый белок	Энзимная составляющая	Пептидная цепь (N-концевая, если не указано иначе)	Активность в отношении <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Активность в отношении <i>E. coli</i> DSMZ 11753	Активность в отношении <i>Acinetobacter baumannii</i> DSMZ 30007
SEQ ID NO: 94	gp188 (SEQ ID NO:2)	$\alpha 4$ helix (SEQ ID NO: 92)	±	n.d.	n.d.

SEQ ID NO: 95	gp188 (SEQ ID NO:2)	SMAP-29 (SEQ ID NO: 11)	++	++	++
SEQ ID NO: 96	gp188 (SEQ ID NO:2)	Sarcotoxin IA (SEQ ID NO: 16)	+	+	+

Сокращения: $\pm < 1$ лог; +: 1 лог; ++: 2-3 лог; не опр. обозначает, что данный штамм не был тестирован с соответствующим слитым белком.

Пример 8: Антимикробная активность эндолизина *Salmonella*, модифицированного с использованием пептидной цепи SMAP-29 на N-конце.

Слитые белки, содержащие эндолизин *Salmonella* с аминокислотной последовательностью в соответствии с SEQ ID NO: 3 и пептидной цепью SMAP-29 построили в соответствии с описанием в примере 3. Клетки *E. coli* DSMZ 11753 и *Salmonella typhimurium* DSMZ 17058 использовали в качестве тест-штаммов. Исследовали в соответствии с описанием в примере 4 антимикробную активность слитого белка. Антимикробная активность данного слитого белка представлена в следующей таблице.

Таблица 15:

Слитый белок	Энзимная составляющая	Пептидная цепь (N-концевая, если не указано иначе)	Активность в отношении <i>E. coli</i> DSMZ 11753	Активность в отношении <i>Salmonella typhimurium</i> DSMZ 17058
SEQ ID NO: 97	<i>Salmonella endolysin</i> (SEQ ID NO:3)	SMAP-29 (SEQ ID NO: 11)	+	+

Сокращения: +: 1 лог;

Пример 9: Антимикробная активность эндолизина *Acinetobacter baumannii*, модифицированного с различными пептидными цепями на N-конце.

Слитые белки, содержащие эндолизин *Acinetobacter baumannii* с аминокислотной последовательностью в соответствии с SEQ ID NO: 5 и пептидными цепями SMAP-29, Pseudin 1 и Sushi 1 построили в соответствии с

описанием в примере 3. Клетки *Acinetobacter baumannii* DSMZ 30007 и *Pseudomonas aeruginosa* PAO1p (Burn wound isolate, Queen Astrid Hospital, Brussels; Pirnay JP et al. (2003), *J Clin Microbiol.*, 41(3):1192-1202) использовали в качестве тест-штаммов. Исследовали в соответствии с описанием в примере 4 антимикробную активность слитых белков. Антимикробная активность данных слитых белков представлена в следующей таблице 16.

Таблица 16:

Слитый белок	Энзимная составляющая	Пептидная цепь (N-концевая, если не указано иначе)	Активность в отношении <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Активность в отношении <i>Acinetobacter baumannii</i> DSMZ 30007
SEQ ID NO: 98	<i>Acinetobacter baumannii</i> эндолизин (SEQ ID NO:5)	Pseudin 1 (SEQ ID NO: 29)	±	не опр.
SEQ ID NO: 99	<i>Acinetobacter baumannii</i> эндолизин (SEQ ID NO:5)	SMAP-29 (SEQ ID NO: 11)	++	++
SEQ ID NO: 100	<i>Acinetobacter baumannii</i> эндолизин (SEQ ID NO:5)	Sushi 1 (SEQ ID NO: 32)	+	+

Сокращения: $\pm < 1$ лог; +: 1 лог; ++: 2-3 лог; не опр. обозначает, что данный штамм не был протестирован с соответствующим слитым белком.

Слитые белки в табл.11-16 без тагов (меток) и линкеров также были протестированы в соответствии с вышеописанными опытами по определению активности. Все они показали антимикробную активность в отношении используемых бактериальных штаммов (данные не приведены).



Евразийский патентный
поверенный
Владимир В. Гончаров
Регистрационный номер 184

SEQUENCE LISTING

<110> Katholieke Universiteit Leuven
Lysando Holding Est.

<120> ANTIMICROBIAL AGENTS

<130> LYS-002 PCT

<140> unknown

<141> 2010-06-28

<150> 09 163 953.4

<151> 2009-06-26

<160> 100

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 260

<212> PRT

<213> unknown

<220>

<223> phiKZgp144

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

Ser Ile Glu Ser Ala Phe Asp Tyr Glu Ile Lys Ala Lys Thr Ser Ser

115

120

125

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala His Arg Lys
260

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

<220>
<223> ELgp188

<400> 2

Met Asn Phe Arg Thr Lys Asn Gly Tyr Arg Asp Leu Gln Ala Leu Val
1 5 10 15

Lys Glu Leu Gly Leu Tyr Thr Gly Gln Ile Asp Gly Val Trp Gly Lys
20 25 30

Gly Thr Ser Ser Ser Thr Glu Thr Leu Leu Arg Gly Tyr Ala Glu Val

35

40

45

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

Ser Gly Tyr Asn Val Ile Thr Ala Leu Gln Arg Asn Leu Ala Phe Leu
65 70 75 80

Gly Leu Tyr Ser Leu Thr Val Asp Gly Ile Trp Gly Asn Gly Thr Leu
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Ile Ser Tyr
290

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

<220>
<223> Salmonella endolysin

<400> 3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Arg Val Leu Ile
180

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

<220>
<223> Enterobacteria phage T4 endolysin

<400> 4

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

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

Leu Thr Lys Ser Pro Ser Leu Asn Ala Ala Lys Ser Glu Leu Asp Lys
35 40 45

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Lys Asn

<210> 5
<211> 280
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Acinetobacter baumannii endolysin

<400> 5

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Tyr Arg Glu Lys Thr Ala Ala
275 280

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

<220>
<223> amphipatic peptide Pleurocidin

<400> 6

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

Gly Lys Ala Ala Leu Thr His Tyr Leu
20 25

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

<220>
<223> amphipatic peptide Cecropin P1

<400> 7

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

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

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

<220>
<223> amphipatic peptide Buforin II

<400> 8

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

Arg Leu Leu Arg Lys
20

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

<220>
<223> amphipatic peptide Magainin

<400> 9

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

Val Gly Glu Ile Met Asn Ser
20

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

<220>
<223> amphipatic peptides Cathelidicine LL-37

<400> 10

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

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

Pro Arg Thr Glu Ser
35

<210> 11
<211> 29
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> SMAP-29

<400> 11

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

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

<210> 12
<211> 13
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Indolicidin

<400> 12

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

<210> 13
<211> 18
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Protegrin

<400> 13

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

Gly Arg

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

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

<400> 14

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

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

Ala Leu Arg Lys
35

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

<213> unknown

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

<400> 15

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

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

Asn Val Ala Ala Thr Ala Arg Gly
35 40

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

<220>
<223> Sarcotoxin IA

<400> 16

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

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

Asn Val Ala Ala Thr Ala Arg
35

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

<220>
<223> Pentapeptide

<400> 17

Phe Phe Val Ala Pro
1 5

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

<220>
<223> E. coli phage K1F

<400> 18

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Leu Val Thr Ser Asp Arg Gly
145 150

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

<220>
<223> Buforin I

<400> 19

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

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

Leu Leu Arg Lys Gly Asn Tyr
35

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

<220>
<223> PSP3 gp10 Salmonella endolysin

<400> 20

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gly Val Met Ala
165

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

<220>
<223> E. coli phage endolysin P2gp09

<400> 21

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gly Val Pro Ala
165

<210> 22
<211> 176
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> STM0016

<400> 22

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> E.coli Phage N4 muramidase N4-gp61

<400> 23

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 24
<211> 184
<212> PRT
<213> unknown

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

<400> 24

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Cys Asn Glu Asp Ile Val Asn
180

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

<220>
<223> E.coli phage KZ144

<400> 25

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Arg Lys

<210> 26

<211> 22

<212> PRT

<213> unknown

<220>

<223> Nigrocine 2

<400> 26

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

Val Ser Gly Leu Val Cys
20

<210> 27

<211> 24

<212> PRT

<213> unknown

<220>

<223> Ascaphine 5

<400> 27

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

Val Ala Ser His Ile Ala Asn Gln
20

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> unknown

<220>

<223> Apidaecin

<400> 28

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

Leu

<210> 29

<211> 24

<212> PRT

<213> unknown

<220>

<223> Pseudin 1

<400> 29

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

Lys Leu Ile Asn Asn His Val Gln
20

<210> 30
<211> 18
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Ranalexin

<400> 30

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

Lys Cys

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

<220>
<223> Melittin

<400> 31

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

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

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

<220>
<223> Sushi 1

<400> 32

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

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

Ser Ser

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

<220>
<223> WLUB2 variant

<400> 33

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

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

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

<220>
<223> OBPgpLYS

<400> 34

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> 35 Walmagh1

<400> 35

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

Val Pro

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

<220>
<223> Ascaphine5-KZ144

<400> 36

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> Apidaecine-KZ144

<400> 37

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

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

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

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

Asn Cys Leu Asp Ser Asp Gly Ile Val Gly Lys Asn Thr Trp Ala Glu
65 70 75 80

Leu Phe Ser Lys Tyr Ser Pro Pro Ile Pro Tyr Lys Thr Ile Pro Met
85 90 95

Pro Thr Ala Asn Lys Ser Arg Ala Ala Ala Thr Pro Val Met Asn Ala
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala His Arg Lys
275

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

<220>
<223> Nigrocine2-KZ144

<400> 38

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

Val Ser Gly Leu Val Cys Lys Val Leu Arg Lys Gly Asp Arg Gly Asp
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
275 280

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

<220>
<223> Pseudin1-KZ144

<400> 39

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 40
<211> 277
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Ranalexin-KZ144

<400> 40

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

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

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

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

Asp Asn Cys Leu Asp Ser Asp Gly Ile Val Gly Lys Asn Thr Trp Ala
65 70 75 80

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

Met Pro Thr Ala Asn Lys Ser Arg Ala Ala Ala Thr Pro Val Met Asn
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Ala His Arg Lys
275

<210> 41
<211> 286
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> WLBU2-Variant-KZ144

<400> 41

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

Val Val Arg Val Val Lys Arg Trp Val Lys Arg Lys Val Leu Arg Lys
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> Sushil-KZ144

<400> 42

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

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

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

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

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

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

Glu Leu Phe Ser Lys Tyr Ser Pro Pro Ile Pro Tyr Lys Thr Ile Pro
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Ala His Arg Lys
290

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

<220>
<223> Melttin-KZ144

<400> 43

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

Ile Ser Trp Ile Lys Arg Lys Arg Gln Gln Lys Val Leu Arg Lys Gly
20 25 30

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

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

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

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

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

Ala Ala Ala Thr Pro Val Met Asn Ala Val Glu Asn Ala Thr Gly Val
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 44
<211> 296
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> LL-37-KZ144

<400> 44

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

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

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

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

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

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

Thr Trp Ala Glu Leu Phe Ser Lys Tyr Ser Pro Pro Ile Pro Tyr Lys
100 105 110

Thr Ile Pro Met Pro Thr Ala Asn Lys Ser Arg Ala Ala Ala Thr Pro
115 120 125

Val Met Asn Ala Val Glu Asn Ala Thr Gly Val Arg Ser Gln Leu Leu
130 135 140

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
290 295

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

<220>
<223> Indolicidin-KZ144

<400> 45

Ile Leu Pro Trp Lys Trp Pro Trp Trp Pro Trp Arg Arg Lys Val Leu
1 5 10 15

Arg Lys Gly Asp Arg Gly Asp Glu Val Cys Gln Leu Gln Thr Leu Leu
20 25 30

Asn Leu Cys Gly Tyr Asp Val Gly Lys Pro Asp Gly Ile Phe Gly Asn
35 40 45

Asn Thr Phe Asn Gln Val Val Lys Phe Gln Lys Asp Asn Cys Leu Asp
50 55 60

Ser Asp Gly Ile Val Gly Lys Asn Thr Trp Ala Glu Leu Phe Ser Lys
65 70 75 80

Tyr Ser Pro Pro Ile Pro Tyr Lys Thr Ile Pro Met Pro Thr Ala Asn
85 90 95

Lys Ser Arg Ala Ala Ala Thr Pro Val Met Asn Ala Val Glu Asn Ala
100 105 110

Thr Gly Val Arg Ser Gln Leu Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ile Glu Ser
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> SMAP-29-KZ144

<400> 46

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> Protegrin-KZ144

<400> 47

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

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

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

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

Asp Asn Cys Leu Asp Ser Asp Gly Ile Val Gly Lys Asn Thr Trp Ala
65 70 75 80

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

Met Pro Thr Ala Asn Lys Ser Arg Ala Ala Ala Thr Pro Val Met Asn
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Ala His Arg Lys
275

<210> 48
<211> 290
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Cecropin P1-KZ144

<400> 48

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Lys
290

- <210> 49
- <211> 282
- <212> PRT
- <213> unknown

- <220>

<223> Magainin-KZ144

<400> 49

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 50

<211> 284

<212> PRT

<213> unknown

<220>

<223> Pleurocidin-KZ144

<400> 50

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 51

<211> 295

<212> PRT

<213> unknown

<220>

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

<400> 51

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

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

Ala Leu Arg Lys Lys Val Leu Arg Lys Gly Asp Arg Gly Asp Glu Val
35 40 45

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

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

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

Trp Ala Glu Leu Phe Ser Lys Tyr Ser Pro Pro Ile Pro Tyr Lys Thr
100 105 110

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

Met Asn Ala Val Glu Asn Ala Thr Gly Val Arg Ser Gln Leu Leu Leu
130 135 140

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Val Ala Ala His Arg Lys
290 295

<210> 52

<211> 299

<212> PRT

<213> unknown

<220>

<223> Cecropin A (D.melanogaster)-KZ144

<400> 52

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

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

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

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

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

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

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

Pro Tyr Lys Thr Ile Pro Met Pro Thr Ala Asn Lys Ser Arg Ala Ala
115 120 125

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

Gln Leu Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ile Glu Ser Ala Phe Asp Tyr Glu
145 150 155 160

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> BuforinII-KZ144

<400> 53

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
275 280

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

<220>
<223> Sarcotoxin IA-KZ144

<400> 54

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Lys Thr Ile Pro Met Pro Thr Ala Asn Lys Ser Arg Ala Ala Ala
115 120 125

Thr Pro Val Met Asn Ala Val Glu Asn Ala Thr Gly Val Arg Ser Gln
130 135 140

Leu Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ile Glu Ser Ala Phe Asp Tyr Glu Ile
145 150 155 160

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 55
<211> 200
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Ascaphine 5-STM0016

<400> 55

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Trp Ile Lys Asn Arg Val Thr
195 200

<210> 56
<211> 198
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Nigrocine2-STM0016

<400> 56

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Lys Asn Arg Val Thr
195

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

<220>
<223> SMAP-29-STM0016

<400> 57

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> Sarcotoxin IA-STM0016

<400> 58

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

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

Asn Val Ala Ala Thr Ala Arg Asn Pro Ile Ile Asp Gly Ile Ile Ala
35 40 45

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

His Trp Gly Ile Thr Glu Ala Thr Ala Arg Ala His Gly Tyr Ala Gly
65 70 75 80

Asp Met Arg Asp Leu Thr His Ala Glu Ala Tyr Ala Ile Leu Glu Glu
85 90 95

Asp Tyr Trp Ile Lys Pro Gly Phe Asp Val Ile Ser Thr Leu Ser Trp
100 105 110

Pro Val Ser Phe Glu Leu Cys Asp Ala Ala Val Asn Ile Gly Ala Tyr
115 120 125

His Pro Ser Ala Trp Leu Gln Arg Trp Leu Asn Val Phe Asn His Glu
130 135 140

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

Thr Leu Ala Ala Leu Glu His Tyr Leu Ala Trp Arg Gly Gln Glu Gly
165 170 175

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

Leu Asn Val Ala Glu Lys Asn His Asn Asn Glu Gln Phe Ile Tyr Gly
195 200 205

Trp Ile Lys Asn Arg Val Thr
210 215

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

<220>

<223> Melittin-N4gp61

<400> 59

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Arg Cys Asn Glu Asp Ile Val Asn
225 230

<210> 60
<211> 236
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> SMAP-29-N4gp61

<400> 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Trp Leu Gln Glu Ser Leu Asn Ala Phe Ser Arg Asn Gly Lys Asp Tyr
145 150 155 160

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

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

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

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

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

<210> 61

<211> 210

<212> PRT

<213> unknown

<220>

<223> Melittin-N4gp61trunc

<400> 61

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Asn
210

<210> 62
<211> 215
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Cecropin P1-N4gp61trunc

<400> 62

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cys Asn Glu Asp Ile Val Asn
210 215

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

<220>
<223> SMAP-29-N4gp61trunc

<400> 63

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Asp Ile Val Asn
210

- <210> 64
- <211> 777
- <212> DNA
- <213> unknown

- <220>
- <223> KZ144

<400> 64
aaagtattac gcaaaggcga taggggtgat gaggtatgtc aactccagac actcttaaat 60
ttatgtggct atgatgttgg aaagccagat ggtatTTTTTg gaaataacac ctTTaatcag 120
gtagtTaaat ttcaaaaaga taattgtcta gatagTgatg gtattgtagg taagaatact 180

tgggctgaat tattcagtaa atattctcca cctattcctt ataaaactat ccctatgcc	240
actgcaaata aatcacgtgc agctgcaact ccagttatga atgcagtaga aatgctact	300
ggcgttcgta gccagttgct actaacattt gcttctattg aatcagcatt cgattacgaa	360
ataaaagcta agacttcac agctactggg tggttccaat tccttactgg aacatggaaa	420
acaatgattg aaaattatgg catgaagtat ggcgtactta ctgatccaac tggggcatta	480
cgtaaagatc cacgtataag tgctttaatg ggtgccgaac taattaaaga gaatatgaat	540
attcttcgtc ctgtccttaa acgtgaacca actgatactg atctttatct agctcacttc	600
tttgggcctg gtgcagcccg tcgtttcctg accactggcc agaatgaatt agctgctacc	660
catttcccaa aagaagctca ggcaaacc ca tctatctttt ataacaaga tgggtcacct	720
aaaaccattc aagaagtta taacttaatg gatggtaaag ttgcagcaca tagaaaa	777

<210> 65
 <211> 528
 <212> DNA
 <213> unknown

<220>
 <223> STM0016

<400> 65	
aaccggatta tcgatggcat tatcgcgctg gaaggagggt acgtctttaa tccgaaagat	60
aagggtagag caacacattg gggattaca gaagcgacgg cacgagcaca tggttatgca	120
ggagacatgc gtgatctaac tcatgccgaa gcctacgcaa tacttgagga ggattactgg	180
atcaaaccgg gttttgatgt tatctcaacg ctgtcgtggc ctgtgagctt tgaattgtgt	240
gatgcagcgg ttaacatagg tgcataccac cctagtgcct ggttacagag atggcttaac	300
gtgttcaatc acgaaggcaa acgctatcca gacattcatg tagacggcaa cattggctcc	360
aggactttag cagccttaga acattacttg gcttgagag ggcaagaagg tgaagctgta	420
ctggtgaaag ctctgaattg cagccaaggg acctactatc taaacgtcgc tgagaagaac	480
cacaacaacg aacagttcat ctacggttg atcaagaatc gtgtgacc	528

<210> 66
 <211> 528
 <212> DNA
 <213> unknown

<220>
 <223> Pseudin 1

<400> 66
 aacccgatta tccgatggcat tatcgcgctg gaaggagggtt acgtctttaa tccgaaagat 60
 aagggtggag caacacattg gggattaca gaagcgacgg cagagcaca tggttatgca 120
 ggagacatgc gtgatctaac tcatgccgaa gcctacgcaa tacttgagga ggattactgg 180
 atcaaaccgg gttttgatgt tatctcaacg ctgtcgtggc ctgtgagctt tgaattgtgt 240
 gatgcagcgg ttaacatagg tgcataccac cctagtgcct ggttacagag atggcttaac 300
 gtgttcaatc acgaaggcaa acgctatcca gacattcatg tagacggcaa cattgggtccc 360
 aggactttag cagccttaga acattacttg gcttggagag ggcaagaagg tgaagctgta 420
 ctggtgaaag ctctgaattg cagccaaggg acctactatc taaacgtcgc tgagaagaac 480
 cacaacaacg aacagttcat ctacggttgg atcaagaatc gtgtgacc 528

<210> 67
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> unknown

<220>
 <223> Ranalexin

<400> 67
 ttctgggcg gtctgattgt tccagctatg atctgtgcgg tgaccaaaaa atgc 54

<210> 68
 <211> 102
 <212> DNA
 <213> unknown

<220>
 <223> Sushi 1

<400> 68
 ggcttcaaac tgaaaggtat ggctcgtatc tctgtctgc caaacgtca gtggtctaac 60
 tttccaccga aatgcatccg tgaatgcgcg atggttagct ct 102

<210> 69
 <211> 81
 <212> DNA
 <213> unknown

<220>
 <223> WLBU2-Variant

<400> 69
 aaacgtggg ttaaacgcgt gaaacgtgtc aaacgttggg tcaaacgtgt tgtccgtgta 60
 gtgaaacggt ggggtgaaacg c 81

<210> 70
<211> 78
<212> DNA
<213> unknown

<220>
<223> Melittin

<400> 70
ggatcgggtg ctgtgctgaa agttctgacc actggtctgc cggcactgat ttcttggatc 60
aaacgcaaac gtcagcag 78

<210> 71
<211> 87
<212> DNA
<213> unknown

<220>
<223> SMAP-29

<400> 71
cgtggtctgc gtcgcctggg tcgcaaaatt gcgcacggcg tcaaaaaata cggccccgacc 60
gtgctgcgca ttatccgcat cgctggt 87

<210> 72
<211> 75
<212> DNA
<213> unknown

<220>
<223> Pleurocidin

<400> 72
ggctgggggtt ctttctttaa aaaagcggct cacgttggca aacatgtagg taaagcagct 60
ctgaccact atctg 75

<210> 73
<211> 108
<212> DNA
<213> unknown

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

<400> 73
ggcggcctga aaaaactggg caaaaaactg gaaggtgccg gcaaactgtg gttcaacgct 60
gcagaaaaag cactgccggt tgtagctggt gctaaagctc tccgtaaa 108

<210> 74
<211> 120
<212> DNA
<213> unknown

<220>
<223> Cecropin A (D. melanogaster)

<400> 74
ggctggctga aaaaaattgg caaaaaaatc gaacgcgtgg gccagcacac gcgtgatgca 60
accatccagg gtctgggtat cccacagcag gcagctaacg tagccgcgac tgctcgtggt 120

<210> 75
<211> 63
<212> DNA
<213> unknown

<220>
<223> Buforin II

<400> 75
accgtagct ctcgtgctgg cctgcagttt ccggttggtc gcgtgcaccg tctgctccgc 60
aaa 63

<210> 76
<211> 117
<212> DNA
<213> unknown

<220>
<223> Sarcotoxin IA

<400> 76
ggatggctca aaaagattgg caagaaaatc gagcgagtcg gtcagcatac gcgtgatgca 60
actatccagg gtttaggtat cgcacagcaa gcagctaatg tagcagctac tgctcgg 117

<210> 77
<211> 294
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Pseudin 1-KZ144

<400> 77

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His His His His His His
290

<210> 78
<211> 288
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Ranalexin-KZ144

<400> 78

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> Sushil-KZ144

<400> 79

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

Pro Asn Gly Gln Trp Ser Asn Phe Pro Pro Lys Cys Ile Arg Glu Cys
20 25 30

Ala Met Val Ser Ser Gly Ser Lys Val Leu Arg Lys Gly Asp Arg Gly
35 40 45

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

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

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

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

Tyr Lys Thr Ile Pro Met Pro Thr Ala Asn Lys Ser Arg Ala Ala Ala
115 120 125

Thr Pro Val Met Asn Ala Val Glu Asn Ala Thr Gly Val Arg Ser Gln
130 135 140

Leu Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ile Glu Ser Ala Phe Asp Tyr Glu Ile
145 150 155 160

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His His
305

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

<220>
<223> WLBU2-Variant-KZ144

<400> 80

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Leu Glu His His His His His His
290 295

<210> 81
<211> 296
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Melttin-KZ144

<400> 81

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

Leu Ile Ser Trp Ile Lys Arg Lys Arg Gln Gln Gly Ser Lys Val Leu
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Glu His His His His His His
290 295

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

<220>
<223> SMAP-29-KZ144

<400> 82

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Arg Lys Leu Glu His His His His His His
290 295

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

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

<400> 83

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

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

Lys Ala Leu Arg Lys Gly Ser Lys Val Leu Arg Lys Gly Asp Arg Gly
35 40 45

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

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

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

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

Tyr Lys Thr Ile Pro Met Pro Thr Ala Asn Lys Ser Arg Ala Ala Ala
 115 120 125

Thr Pro Val Met Asn Ala Val Glu Asn Ala Thr Gly Val Arg Ser Gln
 130 135 140

Leu Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ile Glu Ser Ala Phe Asp Tyr Glu Ile
 145 150 155 160

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His His
305

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

<220>
<223> Pleurocidin-KZ144

<400> 84

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu His His His His His His
290 295

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

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

<400> 85

Met Gly Trp Leu Lys Lys Ile Gly Lys Lys Ile Glu Arg Val Gly Gln
1 5 10 15

His Thr Arg Asp Ala Thr Ile Gln Gly Leu Gly Ile Pro Gln Gln Ala
20 25 30

Ala Asn Val Ala Ala Thr Ala Arg Gly Gly Ser Lys Val Leu Arg Lys
35 40 45

Gly Asp Arg Gly Asp Glu Val Cys Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu
50 55 60

Cys Gly Tyr Asp Val Gly Lys Pro Asp Gly Ile Phe Gly Asn Asn Thr
65 70 75 80

Phe Asn Gln Val Val Lys Phe Gln Lys Asp Asn Cys Leu Asp Ser Asp
85 90 95

Gly Ile Val Gly Lys Asn Thr Trp Ala Glu Leu Phe Ser Lys Tyr Ser
100 105 110

Pro Pro Ile Pro Tyr Lys Thr Ile Pro Met Pro Thr Ala Asn Lys Ser
115 120 125

Arg Ala Ala Ala Thr Pro Val Met Asn Ala Val Glu Asn Ala Thr Gly
130 135 140

Val Arg Ser Gln Leu Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ile Glu Ser Ala Phe
145 150 155 160

Asp Tyr Glu Ile Lys Ala Lys Thr Ser Ser Ala Thr Gly Trp Phe Gln
165 170 175

Phe Leu Thr Gly Thr Trp Lys Thr Met Ile Glu Asn Tyr Gly Met Lys
180 185 190

Tyr Gly Val Leu Thr Asp Pro Thr Gly Ala Leu Arg Lys Asp Pro Arg
195 200 205

Ile Ser Ala Leu Met Gly Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met Asn Ile
210 215 220

Leu Arg Pro Val Leu Lys Arg Glu Pro Thr Asp Thr Asp Leu Tyr Leu
225 230 235 240

Ala His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr Thr Gly
245 250 255

Gln Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln Ala Asn
260 265 270

Pro Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu
275 280 285

Val Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys Leu Glu
290 295 300

His His His His His His
305 310

<210> 86
<211> 291
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> BuforinII-KZ144

<400> 86

Met Thr Arg Ser Ser Arg Ala Gly Leu Gln Phe Pro Val Gly Arg Val
1 5 10 15

His Arg Leu Leu Arg Lys Gly Ser Lys Val Leu Arg Lys Gly Asp Arg
20 25 30

Gly Asp Glu Val Cys Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Cys Gly Tyr
35 40 45

Asp Val Gly Lys Pro Asp Gly Ile Phe Gly Asn Asn Thr Phe Asn Gln
50 55 60

Val Val Lys Phe Gln Lys Asp Asn Cys Leu Asp Ser Asp Gly Ile Val
65 70 75 80

Gly Lys Asn Thr Trp Ala Glu Leu Phe Ser Lys Tyr Ser Pro Pro Ile
85 90 95

Pro Tyr Lys Thr Ile Pro Met Pro Thr Ala Asn Lys Ser Arg Ala Ala
100 105 110

Ala Thr Pro Val Met Asn Ala Val Glu Asn Ala Thr Gly Val Arg Ser
115 120 125

Gln Leu Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ile Glu Ser Ala Phe Asp Tyr Glu
130 135 140

Ile Lys Ala Lys Thr Ser Ser Ala Thr Gly Trp Phe Gln Phe Leu Thr
145 150 155 160

Gly Thr Trp Lys Thr Met Ile Glu Asn Tyr Gly Met Lys Tyr Gly Val
165 170 175

Leu Thr Asp Pro Thr Gly Ala Leu Arg Lys Asp Pro Arg Ile Ser Ala
180 185 190

Leu Met Gly Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met Asn Ile Leu Arg Pro
195 200 205

Val Leu Lys Arg Glu Pro Thr Asp Thr Asp Leu Tyr Leu Ala His Phe
210 215 220

Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr Thr Gly Gln Asn Glu
225 230 235 240

Leu Ala Ala Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln Ala Asn Pro Ser Ile
245 250 255

Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val Tyr Asn
260 265 270

Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys Leu Glu His His His
275 280 285

His His His
290

<210> 87
<211> 309
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Sarcotoxin IA-KZ144

<400> 87

Met Gly Trp Leu Lys Lys Ile Gly Lys Lys Ile Glu Arg Val Gly Gln
1 5 10 15

His Thr Arg Asp Ala Thr Ile Gln Gly Leu Gly Ile Ala Gln Gln Ala
20 25 30

Ala Asn Val Ala Ala Thr Ala Arg Gly Ser Lys Val Leu Arg Lys Gly
35 40 45

Asp Arg Gly Asp Glu Val Cys Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Cys
50 55 60

Gly Tyr Asp Val Gly Lys Pro Asp Gly Ile Phe Gly Asn Asn Thr Phe
65 70 75 80

Asn Gln Val Val Lys Phe Gln Lys Asp Asn Cys Leu Asp Ser Asp Gly
85 90 95

Ile Val Gly Lys Asn Thr Trp Ala Glu Leu Phe Ser Lys Tyr Ser Pro
100 105 110

Pro Ile Pro Tyr Lys Thr Ile Pro Met Pro Thr Ala Asn Lys Ser Arg
115 120 125

Ala Ala Ala Thr Pro Val Met Asn Ala Val Glu Asn Ala Thr Gly Val
130 135 140

Arg Ser Gln Leu Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ile Glu Ser Ala Phe Asp
145 150 155 160

Tyr Glu Ile Lys Ala Lys Thr Ser Ser Ala Thr Gly Trp Phe Gln Phe
165 170 175

Leu Thr Gly Thr Trp Lys Thr Met Ile Glu Asn Tyr Gly Met Lys Tyr
180 185 190

Gly Val Leu Thr Asp Pro Thr Gly Ala Leu Arg Lys Asp Pro Arg Ile
195 200 205

Ser Ala Leu Met Gly Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met Asn Ile Leu
210 215 220

Arg Pro Val Leu Lys Arg Glu Pro Thr Asp Thr Asp Leu Tyr Leu Ala
225 230 235 240

His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr Thr Gly Gln
245 250 255

Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln Ala Asn Pro
260 265 270

Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile Gln Glu Val
275 280 285

Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys Leu Glu His
290 295 300

His His His His His
305

<210> 88
<211> 226
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Sarcotoxin IA-STM0016

<400> 88

Met Gly Trp Leu Lys Lys Ile Gly Lys Lys Ile Glu Arg Val Gly Gln
1 5 10 15

His Thr Arg Asp Ala Thr Ile Gln Gly Leu Gly Ile Ala Gln Gln Ala
20 25 30

Ala Asn Val Ala Ala Thr Ala Arg Gly Ser Asn Pro Ile Ile Asp Gly
35 40 45

Ile Ile Ala Leu Glu Gly Gly Tyr Val Phe Asn Pro Lys Asp Lys Gly
50 55 60

Gly Ala Thr His Trp Gly Ile Thr Glu Ala Thr Ala Arg Ala His Gly
65 70 75 80

Tyr Ala Gly Asp Met Arg Asp Leu Thr His Ala Glu Ala Tyr Ala Ile
85 90 95

Leu Glu Glu Asp Tyr Trp Ile Lys Pro Gly Phe Asp Val Ile Ser Thr
100 105 110

Leu Ser Trp Pro Val Ser Phe Glu Leu Cys Asp Ala Ala Val Asn Ile
115 120 125

Gly Ala Tyr His Pro Ser Ala Trp Leu Gln Arg Trp Leu Asn Val Phe
130 135 140

Asn His Glu Gly Lys Arg Tyr Pro Asp Ile His Val Asp Gly Asn Ile
145 150 155 160

Gly Pro Arg Thr Leu Ala Ala Leu Glu His Tyr Leu Ala Trp Arg Gly
165 170 175

Gln Glu Gly Glu Ala Val Leu Val Lys Ala Leu Asn Cys Ser Gln Gly
180 185 190

Thr Tyr Tyr Leu Asn Val Ala Glu Lys Asn His Asn Asn Glu Gln Phe
195 200 205

Ile Tyr Gly Trp Ile Lys Asn Arg Val Thr Leu Glu His His His His
210 215 220

His His
225

<210> 89
<211> 216
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> SMAP-29-STM0016

<400> 89

Met Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Ala His Gly Val Lys
1 5 10 15

Lys Tyr Gly Pro Thr Val Leu Arg Ile Ile Arg Ile Ala Gly Gly Ser
20 25 30

Asn Pro Ile Ile Asp Gly Ile Ile Ala Leu Glu Gly Gly Tyr Val Phe
35 40 45

Asn Pro Lys Asp Lys Gly Gly Ala Thr His Trp Gly Ile Thr Glu Ala
50 55 60

Thr Ala Arg Ala His Gly Tyr Ala Gly Asp Met Arg Asp Leu Thr His
65 70 75 80

Ala Glu Ala Tyr Ala Ile Leu Glu Glu Asp Tyr Trp Ile Lys Pro Gly
85 90 95

Phe Asp Val Ile Ser Thr Leu Ser Trp Pro Val Ser Phe Glu Leu Cys
100 105 110

Asp Ala Ala Val Asn Ile Gly Ala Tyr His Pro Ser Ala Trp Leu Gln
115 120 125

Arg Trp Leu Asn Val Phe Asn His Glu Gly Lys Arg Tyr Pro Asp Ile
130 135 140

His Val Asp Gly Asn Ile Gly Pro Arg Thr Leu Ala Ala Leu Glu His
145 150 155 160

Tyr Leu Ala Trp Arg Gly Gln Glu Gly Glu Ala Val Leu Val Lys Ala
165 170 175

Leu Asn Cys Ser Gln Gly Thr Tyr Tyr Leu Asn Val Ala Glu Lys Asn
180 185 190

His Asn Asn Glu Gln Phe Ile Tyr Gly Trp Ile Lys Asn Arg Val Thr
195 200 205

Leu Glu His His His His His His
210 215

<210> 90
<211> 247
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> SMAP-29-N4gp61

<400> 90

Met Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Ala His Gly Val Lys
1 5 10 15

Lys Tyr Gly Pro Thr Val Leu Arg Ile Ile Arg Ile Ala Gly Gly Ser
20 25 30

Ala Ile Ser Lys Lys Lys Val Gly Gly Val Gly Gly Val Ile Ala Ala
35 40 45

Ile Ile Ala Ala Val Phe Ala Val Glu Gly Gly Tyr Val Asn Asp Pro
50 55 60

Lys Asp Pro Gly Gly Glu Thr Asn His Gly Val Thr Ile Gln Val Ala
65 70 75 80

Gln Lys His Lys Gln Glu Leu Glu Ser Met Tyr Asn Trp Asp Gly Ser
85 90 95

Met Lys Asn Leu Thr Gln Glu Met Ala Ser Ser Ile Tyr Tyr Asn Asp
100 105 110

Tyr Ile Leu Lys Pro Gly Phe Val Lys Phe Ala Asp Val Ser Pro Ala
115 120 125

Val Thr Glu Lys Leu Val Asp Ala Gly Val Asn Thr Gly Pro Ala Arg
130 135 140

Pro Ser Arg Trp Leu Gln Glu Ser Leu Asn Ala Phe Ser Arg Asn Gly
145 150 155 160

Lys Asp Tyr Pro Lys Ile Gln Val Asp Gly Lys Val Gly Ser Gly Thr
165 170 175

Leu Ser Ala Tyr Lys Ser Leu Gln Asn Lys Arg Gly Lys Val Glu Ala
180 185 190

Cys Lys Leu Ile Leu Lys Ser Leu Asp Gly Lys Gln Leu Asn Tyr Tyr
195 200 205

Leu Ser Leu Asn Met Pro Glu Tyr Thr Thr Gly Trp Ile Ala Asn Arg
210 215 220

Ile Gly Asn Val Pro Leu Glu Arg Cys Asn Glu Asp Ile Val Asn Leu
225 230 235 240

Glu His His His His His His
245

- <210> 91
- <211> 624
- <212> DNA
- <213> unknown

- <220>
- <223> N4gp61

<400> 91
 atggccatct cgaagaaaaa agttggaggt gttggtggag ttattgcggc aatcattgct 60
 gcagtatttg ccgttgaagg tggatacgtt aatgacccga aagatccagg aggtgaaaca 120
 aaccatggtg taactattca ggtcgcacaa aaacacaagc aagaacttga gtcgatgtat 180
 aactgggacg ggtcaatgaa gaatctgaca caggagatgg cctcaagtat atattacaac 240
 gattatatcc tcaagcctgg ctttgtgaaa tttgcggatg taagtccagc ggttacggaa 300
 aaacttggtg atgctggagt aaatacaggt ccagcaagac caagccgttg gttacaagaa 360
 tccttgaatg ctttctcacg caacggcaaa gattatccga aatccaagt tgacgggaaa 420
 gtaggttctg gaactttgag tgcttacaaa agcctgcaga ataagcgagg aaaagtggaa 480
 gcctgcaaat taatactgaa gtctctggat ggcaagcagc taaactacta tctgagcctc 540
 aatatgcctg agtataccac aggttggatt gcgaatcgta ttggaaatgt gcctttggaa 600
 cgctgtaatg aagatatcgt caac 624

<210> 92
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> unknown

<220>
 <223> beta 4 helix

<400> 92

Pro Asn Arg Ala Lys Arg Val Ile Thr Thr Phe Arg Thr
 1 5 10

<210> 93
 <211> 272
 <212> PRT
 <213> unknown

<220>
 <223> beta 4 helix:KZ144

<400> 93

Pro Asn Arg Ala Lys Arg Val Ile Thr Thr Phe Arg Thr Lys Val Leu
 1 5 10 15

Arg Lys Gly Asp Arg Gly Asp Glu Val Cys Gln Leu Gln Thr Leu Leu
 20 25 30

Asn Leu Cys Gly Tyr Asp Val Gly Lys Pro Asp Gly Ile Phe Gly Asn
 35 40 45

Asn Thr Phe Asn Gln Val Val Lys Phe Gln Lys Asp Asn Cys Leu Asp
50 55 60

Ser Asp Gly Ile Val Gly Lys Asn Thr Trp Ala Glu Leu Phe Ser Lys
65 70 75 80

Tyr Ser Pro Pro Ile Pro Tyr Lys Thr Ile Pro Met Pro Thr Ala Asn
85 90 95

Lys Ser Arg Ala Ala Ala Thr Pro Val Met Asn Ala Val Glu Asn Ala
100 105 110

Thr Gly Val Arg Ser Gln Leu Leu Leu Thr Phe Ala Ser Ile Glu Ser
115 120 125

Ala Phe Asp Tyr Glu Ile Lys Ala Lys Thr Ser Ser Ala Thr Gly Trp
130 135 140

Phe Gln Phe Leu Thr Gly Thr Trp Lys Thr Met Ile Glu Asn Tyr Gly
145 150 155 160

Met Lys Tyr Gly Val Leu Thr Asp Pro Thr Gly Ala Leu Arg Lys Asp
165 170 175

Pro Arg Ile Ser Ala Leu Met Gly Ala Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met
180 185 190

Asn Ile Leu Arg Pro Val Leu Lys Arg Glu Pro Thr Asp Thr Asp Leu
195 200 205

Tyr Leu Ala His Phe Phe Gly Pro Gly Ala Ala Arg Arg Phe Leu Thr
210 215 220

Thr Gly Gln Asn Glu Leu Ala Ala Thr His Phe Pro Lys Glu Ala Gln
225 230 235 240

Ala Asn Pro Ser Ile Phe Tyr Asn Lys Asp Gly Ser Pro Lys Thr Ile
245 250 255

Gln Glu Val Tyr Asn Leu Met Asp Gly Lys Val Ala Ala His Arg Lys
260 265 270

<210> 94
<211> 304
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> beta 4 helix:gp188

<400> 94

Pro Asn Arg Ala Lys Arg Val Ile Thr Thr Phe Arg Thr Asn Phe Arg
1 5 10 15

Thr Lys Asn Gly Tyr Arg Asp Leu Gln Ala Leu Val Lys Glu Leu Gly
20 25 30

Leu Tyr Thr Gly Gln Ile Asp Gly Val Trp Gly Lys Gly Thr Ser Ser
35 40 45

Ser Thr Glu Thr Leu Leu Arg Gly Tyr Ala Glu Val Val Gly Lys Asn
50 55 60

Thr Gly Gly Ile Gly Leu Pro Thr Thr Ser Asp Ala Ser Gly Tyr Asn
65 70 75 80

Val Ile Thr Ala Leu Gln Arg Asn Leu Ala Phe Leu Gly Leu Tyr Ser
85 90 95

Leu Thr Val Asp Gly Ile Trp Gly Asn Gly Thr Leu Ser Gly Leu Asp
100 105 110

Lys Ala Phe Glu Val Tyr Lys Glu Arg Tyr Arg Thr Pro Thr Tyr Asp
115 120 125

Ile Ala Trp Ser Gly Lys Val Ser Pro Ala Phe Thr Ala Lys Val Lys
130 135 140

Asp Trp Cys Gly Val His Val Pro Asn His Arg Ala Pro His Trp Leu
145 150 155 160

Met Ala Cys Met Ala Phe Glu Thr Gly Gln Thr Phe Ser Pro Ser Ile
165 170 175

Lys Asn Ala Ala Gly Ser Glu Ala Tyr Gly Leu Ile Gln Phe Met Ser
180 185 190

Pro Ala Ala Asn Asp Leu Asn Val Pro Leu Ser Val Ile Arg Ser Met
195 200 205

Asp Gln Leu Thr Gln Leu Asp Leu Val Phe Lys Tyr Phe Glu Met Trp
210 215 220

Met Lys Arg Gly Lys Arg Tyr Thr Gln Leu Glu Asp Phe Tyr Leu Thr
225 230 235 240

Ile Phe His Pro Ala Ser Val Gly Lys Lys Ala Asp Glu Val Leu Phe
245 250 255

Leu Gln Gly Ser Lys Ala Tyr Leu Gln Asn Lys Gly Phe Asp Val Asp
260 265 270

Lys Asp Gly Lys Ile Thr Leu Gly Glu Ile Ser Ser Thr Leu Tyr Thr
275 280 285

Thr Tyr Tyr Lys Gly Leu Leu Pro Glu Asn Arg His Val Ile Ser Tyr
290 295 300

<210> 95
<211> 320
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> SMAP-29:gp188

<400> 95

Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Ala His Gly Val Lys Lys
1 5 10 15

Tyr Gly Pro Thr Val Leu Arg Ile Ile Arg Ile Ala Gly Asn Phe Arg
20 25 30

Thr Lys Asn Gly Tyr Arg Asp Leu Gln Ala Leu Val Lys Glu Leu Gly
35 40 45

Leu Tyr Thr Gly Gln Ile Asp Gly Val Trp Gly Lys Gly Thr Ser Ser
50 55 60

Ser Thr Glu Thr Leu Leu Arg Gly Tyr Ala Glu Val Val Gly Lys Asn
65 70 75 80

Thr Gly Gly Ile Gly Leu Pro Thr Thr Ser Asp Ala Ser Gly Tyr Asn
85 90 95

Val Ile Thr Ala Leu Gln Arg Asn Leu Ala Phe Leu Gly Leu Tyr Ser
100 105 110

Leu Thr Val Asp Gly Ile Trp Gly Asn Gly Thr Leu Ser Gly Leu Asp
115 120 125

Lys Ala Phe Glu Val Tyr Lys Glu Arg Tyr Arg Thr Pro Thr Tyr Asp
130 135 140

Ile Ala Trp Ser Gly Lys Val Ser Pro Ala Phe Thr Ala Lys Val Lys
145 150 155 160

Asp Trp Cys Gly Val His Val Pro Asn His Arg Ala Pro His Trp Leu
165 170 175

Met Ala Cys Met Ala Phe Glu Thr Gly Gln Thr Phe Ser Pro Ser Ile
180 185 190

Lys Asn Ala Ala Gly Ser Glu Ala Tyr Gly Leu Ile Gln Phe Met Ser
195 200 205

Pro Ala Ala Asn Asp Leu Asn Val Pro Leu Ser Val Ile Arg Ser Met
210 215 220

Asp Gln Leu Thr Gln Leu Asp Leu Val Phe Lys Tyr Phe Glu Met Trp
225 230 235 240

Met Lys Arg Gly Lys Arg Tyr Thr Gln Leu Glu Asp Phe Tyr Leu Thr
245 250 255

Ile Phe His Pro Ala Ser Val Gly Lys Lys Ala Asp Glu Val Leu Phe
260 265 270

Leu Gln Gly Ser Lys Ala Tyr Leu Gln Asn Lys Gly Phe Asp Val Asp
275 280 285

Lys Asp Gly Lys Ile Thr Leu Gly Glu Ile Ser Ser Thr Leu Tyr Thr
290 295 300

Thr Tyr Tyr Lys Gly Leu Leu Pro Glu Asn Arg His Val Ile Ser Tyr
305 310 315 320

<210> 96
<211> 330
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Sarcotoxin IA:gp188

<400> 96

Gly Trp Leu Lys Lys Ile Gly Lys Lys Ile Glu Arg Val Gly Gln His
1 5 10 15

Thr Arg Asp Ala Thr Ile Gln Gly Leu Gly Ile Ala Gln Gln Ala Ala
20 25 30

Asn Val Ala Ala Thr Ala Arg Asn Phe Arg Thr Lys Asn Gly Tyr Arg
35 40 45

Asp Leu Gln Ala Leu Val Lys Glu Leu Gly Leu Tyr Thr Gly Gln Ile
50 55 60

Asp Gly Val Trp Gly Lys Gly Thr Ser Ser Ser Thr Glu Thr Leu Leu
65 70 75 80

Arg Gly Tyr Ala Glu Val Val Gly Lys Asn Thr Gly Gly Ile Gly Leu
85 90 95

Pro Thr Thr Ser Asp Ala Ser Gly Tyr Asn Val Ile Thr Ala Leu Gln
100 105 110

Arg Asn Leu Ala Phe Leu Gly Leu Tyr Ser Leu Thr Val Asp Gly Ile
115 120 125

Trp Gly Asn Gly Thr Leu Ser Gly Leu Asp Lys Ala Phe Glu Val Tyr
130 135 140

Lys Glu Arg Tyr Arg Thr Pro Thr Tyr Asp Ile Ala Trp Ser Gly Lys
145 150 155 160

Val Ser Pro Ala Phe Thr Ala Lys Val Lys Asp Trp Cys Gly Val His
165 170 175

Val Pro Asn His Arg Ala Pro His Trp Leu Met Ala Cys Met Ala Phe
180 185 190

Glu Thr Gly Gln Thr Phe Ser Pro Ser Ile Lys Asn Ala Ala Gly Ser
195 200 205

Glu Ala Tyr Gly Leu Ile Gln Phe Met Ser Pro Ala Ala Asn Asp Leu
210 215 220

Asn Val Pro Leu Ser Val Ile Arg Ser Met Asp Gln Leu Thr Gln Leu
225 230 235 240

Asp Leu Val Phe Lys Tyr Phe Glu Met Trp Met Lys Arg Gly Lys Arg
245 250 255

Tyr Thr Gln Leu Glu Asp Phe Tyr Leu Thr Ile Phe His Pro Ala Ser
260 265 270

Val Gly Lys Lys Ala Asp Glu Val Leu Phe Leu Gln Gly Ser Lys Ala
275 280 285

Tyr Leu Gln Asn Lys Gly Phe Asp Val Asp Lys Asp Gly Lys Ile Thr
290 295 300

Leu Gly Glu Ile Ser Ser Thr Leu Tyr Thr Thr Tyr Tyr Lys Gly Leu
305 310 315 320

Leu Pro Glu Asn Arg His Val Ile Ser Tyr
325 330

<210> 97
<211> 209
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> SMAP-29:Salmonella endolysin

<400> 97

Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Ala His Gly Val Lys Lys
1 5 10 15

Tyr Gly Pro Thr Val Leu Arg Ile Ile Arg Ile Ala Gly Lys Pro Lys
20 25 30

Asp Glu Ile Phe Asp Glu Ile Leu Gly Lys Glu Gly Gly Tyr Val Asn
35 40 45

His Pro Asp Asp Lys Gly Gly Pro Thr Lys Trp Gly Ile Thr Glu Lys
50 55 60

Val Ala Arg Ala His Gly Tyr Arg Gly Asp Met Arg Asn Leu Thr Arg
65 70 75 80

Gly Gln Ala Leu Glu Ile Leu Glu Thr Asp Tyr Trp Tyr Gly Pro Arg
85 90 95

Phe Asp Arg Val Ala Lys Ala Ser Pro Asp Val Ala Ala Glu Leu Cys
100 105 110

Asp Thr Gly Val Asn Met Gly Pro Ser Val Ala Ala Lys Met Leu Gln
115 120 125

Arg Trp Leu Asn Val Phe Asn Gln Gly Gly Arg Leu Tyr Pro Asp Met
130 135 140

Asp Thr Asp Gly Arg Ile Gly Pro Arg Thr Leu Asn Ala Leu Arg Val
145 150 155 160

Tyr Leu Glu Lys Arg Gly Lys Asp Gly Glu Arg Val Leu Leu Val Ala
165 170 175

Leu Asn Cys Thr Gln Gly Glu Arg Tyr Leu Glu Leu Ala Glu Lys Arg
180 185 190

Glu Ala Asp Glu Ser Phe Val Tyr Gly Trp Met Lys Glu Arg Val Leu
195 200 205

Ile

<210> 98
<211> 303
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Pseudin 1:Acinetobacter baumannii endolysin

<400> 98

Gly Leu Asn Thr Leu Lys Lys Val Phe Gln Gly Leu His Glu Ala Ile
1 5 10 15

Lys Leu Ile Asn Asn His Val Gln Glu Tyr Asp Met Ile Leu Lys Phe
20 25 30

Gly Ser Lys Gly Asp Ala Val Ala Thr Leu Gln Lys Gln Leu Ala Lys
35 40 45

Met Gly Tyr Lys Gly Val Lys Asp Lys Pro Leu Ser Val Asp Gly His
50 55 60

Phe Gly Glu Ser Thr Glu Phe Ala Val Ile Gln Leu Gln Arg Lys Phe
65 70 75 80

Gly Leu Val Ala Asp Gly Lys Val Gly Asp Lys Thr Arg Gln Ala Leu
85 90 95

Ala Gly Asp Ser Val Ser Lys Phe Leu Lys Asp Glu Asp Tyr Lys Lys
100 105 110

Ala Ala Ile Arg Leu Lys Val Pro Glu Leu Val Ile Arg Val Phe Gly
115 120 125

Ala Val Glu Gly Leu Gly Val Gly Phe Leu Pro Asn Gly Lys Ala Lys
130 135 140

Ile Leu Phe Glu Arg His Arg Met Tyr Phe Tyr Leu Cys Gln Ala Leu
145 150 155 160

Gly Lys Thr Phe Ala Asn Ser Gln Val Lys Ile Thr Pro Asn Ile Val
165 170 175

Asn Thr Leu Thr Gly Gly Tyr Lys Gly Asp Ala Ala Glu Tyr Thr Arg
180 185 190

Leu Ser Met Ala Ile Asn Ile His Lys Glu Ser Ala Leu Met Ser Thr
195 200 205

Ser Trp Gly Gln Phe Gln Ile Met Gly Glu Asn Trp Lys Asp Leu Gly
210 215 220

Tyr Ser Ser Val Gln Glu Phe Val Asp Gln Gln Gln Leu Asn Glu Gly
225 230 235 240

Asn Gln Leu Glu Ala Phe Ile Arg Phe Ile Glu Trp Lys Pro Gly Leu
245 250 255

Leu Glu Ala Leu Arg Lys Gln Asp Trp Asp Thr Val Phe Thr Leu Tyr
260 265 270

Asn Gly Lys Asn Tyr Lys Lys Leu Gly Tyr Gln Ala Lys Phe Gln Lys
275 280 285

Glu Trp Asp His Leu Glu Pro Ile Tyr Arg Glu Lys Thr Ala Ala
290 295 300

<210> 99
<211> 308
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> SMAP-29: *Acinetobacter baumannii* endolysin

<400> 99

Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Ala His Gly Val Lys Lys
1 5 10 15

Tyr Gly Pro Thr Val Leu Arg Ile Ile Arg Ile Ala Gly Glu Tyr Asp
20 25 30

Met Ile Leu Lys Phe Gly Ser Lys Gly Asp Ala Val Ala Thr Leu Gln
35 40 45

Lys Gln Leu Ala Lys Met Gly Tyr Lys Gly Val Lys Asp Lys Pro Leu
50 55 60

Ser Val Asp Gly His Phe Gly Glu Ser Thr Glu Phe Ala Val Ile Gln
65 70 75 80

Leu Gln Arg Lys Phe Gly Leu Val Ala Asp Gly Lys Val Gly Asp Lys
85 90 95

Thr Arg Gln Ala Leu Ala Gly Asp Ser Val Ser Lys Phe Leu Lys Asp
100 105 110

Glu Asp Tyr Lys Lys Ala Ala Ile Arg Leu Lys Val Pro Glu Leu Val
115 120 125

Ile Arg Val Phe Gly Ala Val Glu Gly Leu Gly Val Gly Phe Leu Pro
130 135 140

Asn Gly Lys Ala Lys Ile Leu Phe Glu Arg His Arg Met Tyr Phe Tyr
145 150 155 160

Leu Cys Gln Ala Leu Gly Lys Thr Phe Ala Asn Ser Gln Val Lys Ile
165 170 175

Thr Pro Asn Ile Val Asn Thr Leu Thr Gly Gly Tyr Lys Gly Asp Ala
180 185 190

Ala Glu Tyr Thr Arg Leu Ser Met Ala Ile Asn Ile His Lys Glu Ser
195 200 205

Ala Leu Met Ser Thr Ser Trp Gly Gln Phe Gln Ile Met Gly Glu Asn
210 215 220

Trp Lys Asp Leu Gly Tyr Ser Ser Val Gln Glu Phe Val Asp Gln Gln
225 230 235 240

Gln Leu Asn Glu Gly Asn Gln Leu Glu Ala Phe Ile Arg Phe Ile Glu
245 250 255

Trp Lys Pro Gly Leu Leu Glu Ala Leu Arg Lys Gln Asp Trp Asp Thr
260 265 270

Val Phe Thr Leu Tyr Asn Gly Lys Asn Tyr Lys Lys Leu Gly Tyr Gln
275 280 285

Ala Lys Phe Gln Lys Glu Trp Asp His Leu Glu Pro Ile Tyr Arg Glu
290 295 300

Lys Thr Ala Ala
305

<210> 100
<211> 313
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Sushi 1: *Acinetobacter baumannii* endolysin

<400> 100

Gly Phe Lys Leu Lys Gly Met Ala Arg Ile Ser Cys Leu Pro Asn Gly
 1 5 10 15
 Gln Trp Ser Asn Phe Pro Pro Lys Cys Ile Arg Glu Cys Ala Met Val
 20 25 30
 Ser Ser Glu Tyr Asp Met Ile Leu Lys Phe Gly Ser Lys Gly Asp Ala
 35 40 45
 Val Ala Thr Leu Gln Lys Gln Leu Ala Lys Met Gly Tyr Lys Gly Val
 50 55 60
 Lys Asp Lys Pro Leu Ser Val Asp Gly His Phe Gly Glu Ser Thr Glu
 65 70 75 80
 Phe Ala Val Ile Gln Leu Gln Arg Lys Phe Gly Leu Val Ala Asp Gly
 85 90 95
 Lys Val Gly Asp Lys Thr Arg Gln Ala Leu Ala Gly Asp Ser Val Ser
 100 105 110
 Lys Phe Leu Lys Asp Glu Asp Tyr Lys Lys Ala Ala Ile Arg Leu Lys
 115 120 125
 Val Pro Glu Leu Val Ile Arg Val Phe Gly Ala Val Glu Gly Leu Gly
 130 135 140
 Val Gly Phe Leu Pro Asn Gly Lys Ala Lys Ile Leu Phe Glu Arg His
 145 150 155 160
 Arg Met Tyr Phe Tyr Leu Cys Gln Ala Leu Gly Lys Thr Phe Ala Asn
 165 170 175
 Ser Gln Val Lys Ile Thr Pro Asn Ile Val Asn Thr Leu Thr Gly Gly
 180 185 190
 Tyr Lys Gly Asp Ala Ala Glu Tyr Thr Arg Leu Ser Met Ala Ile Asn
 195 200 205
 Ile His Lys Glu Ser Ala Leu Met Ser Thr Ser Trp Gly Gln Phe Gln
 210 215 220
 Ile Met Gly Glu Asn Trp Lys Asp Leu Gly Tyr Ser Ser Val Gln Glu
 225 230 235 240

Phe Val Asp Gln Gln Gln Leu Asn Glu Gly Asn Gln Leu Glu Ala Phe
245 250 255

Ile Arg Phe Ile Glu Trp Lys Pro Gly Leu Leu Glu Ala Leu Arg Lys
260 265 270

Gln Asp Trp Asp Thr Val Phe Thr Leu Tyr Asn Gly Lys Asn Tyr Lys
275 280 285

Lys Leu Gly Tyr Gln Ala Lys Phe Gln Lys Glu Trp Asp His Leu Glu
290 295 300

Pro Ile Tyr Arg Glu Lys Thr Ala Ala
305 310

Формула изобретения

1. Слитый белок, состоящий из энзима, с функцией разрушения клеточной стенки грамотрицательных бактерий, и удлиненной пептидной цепи, слитой с энзимом на N- или C-концах или на обоих концах, в котором удлиненная пептидная цепь представляет собой амфипатичный пептид, Sushi пептид, дефензин, гидрофобный пептид или антимикробный пептид.
2. Слитый белок по п.1, *характеризующийся* тем, что имеет последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 63 до 90.
3. Слитый белок по пп.1 или 2, *характеризующийся* тем, что имеет дополнительный аминокислотный остаток на N-конце.
4. Слитый белок по любому из предшествующих п.п., *характеризующийся* тем, что включает таг или дополнительный белок на C- и/или N-концах.
5. Слитый белок по п.4, *характеризующийся* тем, что таг или дополнительный белок связаны со слитым белком одним или более дополнительными аминокислотными остатками.
6. Слитый белок по любому из предшествующих п.п., *характеризующийся* тем, что удлиненная пептидная цепь связана со слитым белком одним или более дополнительными аминокислотными остатками.
7. Слитый белок по п.1, в котором энзим представляет собой эндолизин, аутолизин или бактериоцин.
8. Слитый белок по п.7, в котором энзим имеет аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 22-25.
9. Слитый белок по п.1, в котором антимикробный пептид имеет аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 6 до 16 или 26 до 31.
10. Слитый белок по п.1, в котором Sushi пептид имеет аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 32.
11. Слитый белок по п.1, в котором гидрофобный пептид имеет аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 28, 33 или 35.

12. Слитый белок по любому из предшествующих пп., в котором грамотрицательные бактерии относятся к группе, включающей *Enterobacteriaceae*,

в частности *Escherichia, Salmonella, Shigella, Citrobacter, Edwardsiella, Enterobacter, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Proteus, Providencia, Serratia*, и *Yersinia, Pseudomonadaceae*,

в частности *Pseudomonas, Burkholderia, Stenotrophomonas, Shewanella, Sphingomonas* и *Comamonas, Neisseria, Moraxella, Vibrio, Aeromonas, Brucella, Francisella, Bordetella, Legionella, Bartonella, Coxiella, Haemophilus, Pasteurella, Mannheimia, Actinobacillus, Gardnerella, Spirochaetaceae*,

в частности *Treponema* и *Borrelia, Leptospiraceae, Campylobacter, Helicobacter, Spirillum, Streptobacillus, Bacteroidaceae*,

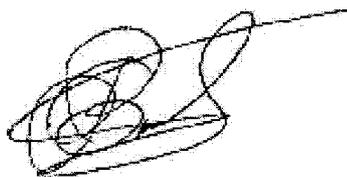
в частности *Bacteroides, Fusobacterium, Prevotella* и *Porphyromonas*, и *Acinetobacter*,

в частности *A. baumannii*.

13. Слитый белок по п.1, в котором амфипатичный пептид состоит как минимум из одного положительно заряженного аминокислотного остатка, относящегося к группе, включающей остатки лизина, аргинина и гистидина, в сочетании с как минимум одним гидрофобным аминокислотным остатком из группы, включающей остатки валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, триптофана, цистеина, аланина, тирозина, гистидина, треонина, серина, пролина и глицина.
14. Слитый белок по п.1, в котором либо как минимум 70% упомянутых аминокислотных остатков в упомянутом амфипатичном пептиде представляют собой остатки аргинина или лизина, либо как минимум примерно 30% упомянутых аминокислотных остатков в упомянутом амфипатичном пептиде представляют собой остатки валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, триптофана, цистеина, аланина, тирозина, гистидина, треонина, серина, пролина и глицина.
15. Слитый белок по любому из предшествующих п.п., в котором удлиненная пептидная цепь состоит из как минимум примерно от 5 до 100

аминокислотных остатков, в частности от 5 до 50 аминокислотных остатков, в частности от 5 до 30 аминокислотных остатков.

16. Изолированная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая слитый белок по любому из пп.1-15.
17. Вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п.16.
18. Клетка-хозяин, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по п.16 или вектор по п.17.
19. Клетка-хозяин по п.18, *характеризующаяся* тем, что представляет собой бактериальную или дрожжевую клетку.
20. Применение слитого белка по любому из п.п.1-15 в качестве медикаментозного препарата, средства диагностики или компонента косметического препарата.
21. Применение слитого белка по любому из п.п.1-15 в качестве медикаментозного препарата для лечения или профилактики инфекций, вызываемых грамотрицательными бактериями.
22. Применение слитого белка по любому из п.п.1-15 в качестве дезинфектанта.
23. Применение слитого белка по любому из п.п.1-15 для обработки или профилактики заражения грамотрицательными бактериями пищевых продуктов, оборудования на предприятиях пищевой промышленности, поверхностей, контактирующих с пищевыми продуктами, медицинского оборудования, поверхностей в стационарах и хирургических блоках.
24. Применение слитого белка по любому из п.п.1-15 в качестве средства диагностики в медицине, пищевой промышленности и природоохранной деятельности.
25. Фармацевтическая композиция, содержащая слитый белок по любому из п.п.1-15.



Евразийский патентный
поверенный
Владимир В. Гончаров
Регистрационный номер 184