

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.12.30

(51) Int. Cl. *C12N 1/06* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2017.11.30

(54) МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПЕПТИДЫ

(31) PCT/IB2016/057193

(32) 2016.11.30

(33) IB

(86) PCT/IB2017/057513

(87) WO 2018/100516 2018.06.07

(71) Заявитель:
САСИНАПАС КО., ЛТД. (ТН)

(72) Изобретатель:
Гриссль Мартин (DE)

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В. (RU)**

(57) Настоящее изобретение относится к области антимикробных агентов. В частности, настоящее изобретение относится к полипептидам, содержащим последовательность пептидогликангидролазы и пептидную последовательность, гетерологичную пептидогликангидролазе, где указанная гетерологичная пептидная последовательность содержит специфический мотив последовательности длиной 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот. Настоящее изобретение также относится к соответствующим нуклеиновым кислотам, векторам, бактериофагам, клеткам-хозяевам, композициям и наборам. Настоящее изобретение также относится к применению указанных полипептидов, нуклеиновых кислот, векторов, бактериофагов, клеток-хозяев, композиций и наборов в способах лечения организма человека или животного с помощью хирургии или терапии, агентов в способах диагностики, осуществляемых в отношении организма человека или животного. Полипептиды, нуклеиновые кислоты, векторы, бактериофаги, клетки-хозяева, композиции и наборы по изобретению также могут быть использованы в качестве противомикробного средства, например в пище или корме, в косметике, или в качестве дезинфицирующего агента.

		Положение в мотиве последовательности																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Алгоритмия мотива последовательности	1			X	X												X	X			
	2				X			X			X	X			X	X		X	X		
	3								X				X						X	X	
	4			X				X	X		X	X						X	X		
	5			X				X			X				X	X		X			
	6		X	X				X	X						X	X					
	7		X	X				X	X		X	X				X		X			
	8		X					X	X		X				X			X			
	9		X			X	X							X	X		X	X			
	10		X	X		X	X				X										
	11	X	X							X			X	X				X		X	
	12	X	X			X				X	X						X	X			
	13	X				X			X	X			X				X	X			
	14	X			X	X						X	X				X	X			
	15	X		X	X			X				X	X								
	16	X	X					X	X		X	X					X		X	X	
	17	X		X				X	X								X		X		
	18			X				X	X		X					X			X		

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПЕПТИДЫ

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к области антимикробных агентов. В частности, настоящее изобретение относится к полипептидам, содержащим последовательность пептидогликангидролазы и пептидную последовательность, гетерологичную пептидогликангидролазе, где указанная гетерологичная пептидная последовательность включает специфический мотив последовательности длиной 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот. Настоящее изобретение также относится к соответствующим нуклеиновым кислотам, векторам, бактериофагам, клеткам-хозяевам, композициям и наборам. Настоящее изобретение также относится к применению указанных полипептидов, нуклеиновых кислот, векторов, бактериофагов, клеток-хозяев, композиций и наборов в способах лечения организма человека или животного с помощью хирургии или терапии или в способах диагностики, осуществляемых в отношении организма человека или животного. Полипептиды, нуклеиновые кислоты, векторы, бактериофаги, клетки-хозяева, композиции и наборы согласно изобретению также можно использовать в качестве противомикробного средства, например в пище или корме, в косметике или в качестве дезинфицирующего агента.

Описание предшествующего уровня техники

Резистентность к обычным антибиотикам становится возрастающим фактором риска для здоровья человечества. Новые механизмы резистентности к антибиотикам появляются и быстро распространяются по всему миру. Следовательно, возможность лечения распространенных инфекционных заболеваний в ближайшем будущем может стать все более сложной. Эта опасность известна в данной области и исследуются новые подходы к борьбе с инфекционными агентами.

Среди этих новых подходов - слияние пептидогликангидролаз с антимикробными пептидами. В WO 2010/149792 было показано, что такие слияния эффективны в лечении против ряда бактерий. В WO 2010/149792 раскрыты различные комбинации пептидогликангидролаз и пептидов. Интересно, что, по неизвестным причинам, не все комбинации пептидогликангидролаз и пептидов одинаково эффективны. В то время как комбинации с 29-мерным антимикробным пептидом SMAP-29 (SEQ ID NO: 1) проявляли очень высокую антимикробную активность, другие пептиды в сочетании с теми же пептидогликангидролазами увеличивали антимикробную активность в меньшей степени.

Таким образом, в данной области все еще существует потребность в дальнейшем улучшении конструкции таких антибактериальных агентов.

Таким образом, целью изобретения было предложить новые антимикробные агенты, которые обеспечивают улучшенные результаты по сравнению со случайными комбинациями пептидогликангидролаз с антимикробными пептидами.

Эта проблема решена изобретением, изложенным ниже и в прилагаемой формуле изобретения.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Автор настоящего изобретения неожиданно обнаружил, что эффективные антимикробные комбинации пептидогликангидролаз и пептидов могут быть целенаправленно созданы, если используются

пептиды, обладающие определенным общим мотивом аминокислотной последовательности. Используя эту схему, автор изобретения сделал ранее существовавшие антимикробные пептиды более эффективными. Более того, путем введения соответствующих мутаций автору изобретения даже удалось трансформировать совершенно неродственный пептид, то есть ранее неизвестный как обладающий какой-либо антимикробной активностью, *de novo* в полезное в этом отношении соединение.

В первом аспекте настоящее изобретение относится к полипептиду, содержащему мотив последовательности, который:

1) имеет длину 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот;

2) содержит по меньшей мере 40% и не более чем 60% аминокислот, выбранных из первой группы аминокислот, состоящей из лизина, аргинина и гистидина,

где каждая аминокислота независимо выбрана из указанной первой группы,

где каждая аминокислота, выбранная из этой первой группы, расположена в указанном мотиве последовательности либо отдельно, в паре вместе с дополнительной аминокислотой, выбранной из первой группы, либо в блоке с 2 дополнительными аминокислотами, выбранными из первой группы, но не встречается в блоке с 3 или более аминокислотами, выбранными из первой группы, где по меньшей мере 2 пары аминокислот, выбранных из первой группы, присутствуют в указанном мотиве последовательности, и где не более одного блока с 3 последовательными аминокислотами, выбранными из первой группы, присутствует в указанном мотиве последовательности, с дополнительным условием, что если такой блок с 3 аминокислотами первой группы присутствует в указанном мотиве последовательности, тогда аминокислоты в положениях 12, -11, -8, -5, -4, +6, +7, +10, +13 и +14 относительно первой аминокислоты блока из 3 аминокислот - при условии, что соответствующее положение может быть найдено в указанном мотиве последовательности - не выбраны из указанной первой группы,

3) содержит по меньшей мере 40% и не более 60% аминокислот, выбранных из второй группы аминокислот, состоящей из аланина, глицина, изолейцина, лейцина, фенилаланина, серина, треонина, триптофана, тирозина и валина,

где каждая аминокислота независимо выбрана из указанной второй группы,

где по меньшей мере три разные аминокислоты выбраны из этой второй группы, если сумма аминокислот, выбранных из первой группы и выбранных из второй группы, составляет 100% мотива последовательности;

где мотив последовательности не содержит последовательность AFV, если мотив последовательности содержит по меньшей мере два отдельных несмежных остатка фенилаланина и по меньшей мере одному из этих остатков фенилаланина непосредственно предшествует остаток лизина, и

где мотив последовательности не содержит последовательность AALTH (SEQ ID NO: 2), если мотив последовательности содержит по меньшей мере три несмежных остатка гистидина,

4) где остальные аминокислоты указанного мотива последовательности, если таковые присутствуют в мотиве, выбраны из третьей группы, состоящей из аспарагина, аспарагиновой кислоты, глутамина, глутаминовой кислоты, метионина или цистеина, где каждая из указанных аминокислот независимо выбрана из указанной третьей группы, и где глутамин может быть выбран только один раз, и при этом выбор, кроме того, может не включать комбинацию глутамина и глутаминовой кислоты, и

где указанный полипептид не содержит последовательность пептида SMAP-29 (SEQ ID NO:1).

Особенно предпочтительными воплощениями полипептида по изобретению являются слитые белки

по изобретению, в которых полипептид по изобретению дополнительно содержит последовательность пептидогликангидролазы.

В дополнительных аспектах настоящее изобретение относится к нуклеиновым кислотам, кодирующим полипептид по изобретению, к векторам или бактериофагам, содержащим нуклеиновую кислоту по изобретению, а также к клеткам-хозяевам, содержащим полипептид по изобретению, нуклеиновую кислоту, вектор и/или бактериофаг.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится также к композициям, содержащим полипептид, нуклеиновую кислоту, вектор, бактериофаг и/или клетку-хозяина по настоящему изобретению. Такие композиции предпочтительно представляют собой фармацевтические композиции, содержащие фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент.

В еще одном аспекте настоящее изобретение включает наборы, содержащие полипептид по изобретению, нуклеиновую кислоту, вектор, бактериофаг и/или клетку-хозяина, и дополнительно включающие пептидогликангидролазу, или нуклеиновые кислоты, векторы, бактериофаги и/или клетки-хозяева, кодирующие или содержащие, соответственно, указанную пептидогликангидролазу.

Наконец, настоящее изобретение относится к полипептидам, нуклеиновым кислотам, векторам, бактериофагам, клеткам-хозяевам, композициям и/или наборам по настоящему изобретению для использования в способах лечения, в частности для лечения или профилактики бактериальных инфекций.

ОПИСАНИЕ ИЛЛЮСТРАТИВНЫХ ВОПЛОЩЕНИЙ

Определения

Используемый здесь термин “полипептид”, в частности, относится к полимеру из аминокислотных остатков, связанных пептидными связями в определенной последовательности. Аминокислотные остатки полипептида могут быть модифицированы, например посредством ковалентных присоединений различных групп, таких как углеводы и фосфаты. Другие вещества, такие как гем или липид, могут быть более слабо ассоциированы с полипептидом, образуя конъюгированные полипептиды, которые также включены в используемый здесь термин “полипептид”. Подразумевается, что используемый здесь термин также охватывает белки. Таким образом, термин “полипептид” также охватывает, например, комплексы двух или более аминокислотных полимерных цепей. Термин “полипептид” охватывает воплощения полипептидов, которые возможно имеют модификации, обычно используемые в данной области, например биотинилирование, ацетилирование, пегилирование, химические изменения amino-, SH- или карбоксильных групп (например защитные группы) и т.д. Как станет понятно из приведенного ниже описания, полипептид по изобретению может представлять собой искусственно сконструированный полипептид, который не существует в этой форме в природе. Такой полипептид может, например, демонстрировать искусственные мутации по сравнению с природным полипептидом, или может содержать гетерологичные последовательности, или может представлять собой фрагмент природного полипептида, который не встречается в этой форме в природе. Кроме того, полипептид по настоящему изобретению может представлять собой слитый белок, то есть представлять собой связь по меньшей мере двух аминокислотных последовательностей, которые не встречаются в этой комбинации в природе. Используемый здесь термин “полипептид” не ограничен определенной длиной цепи аминокислотного полимера. Однако минимальная длина составляет 16 аминокислот. Обычно, но не обязательно, длина типичный полипептид по настоящему изобретению не превышает примерно 1000 аминокислот. Полипептид по изобретению может, например, иметь длину не более чем примерно 750 аминокислот, не более чем примерно 500 аминокислот или не более

чем примерно 300 аминокислот. Таким образом, возможный диапазон длины полипептида по изобретению, без ограничения указанным, может составлять от 16 до 1000 аминокислот, от 16 до примерно 50 аминокислот, от примерно 200 до примерно 750 аминокислот, или от примерно 225 до примерно 600 аминокислот, или от примерно 250 до примерно 350 аминокислот.

Используемый здесь термин “пептидогликангидролаза” является общепонятным в данной области техники. Он относится к любому полипептиду, который способен гидролизовать пептидогликан бактерий, таких как грамотрицательные бактерии. Этот термин не ограничен конкретным механизмом ферментативного расщепления. С точки зрения механизма расщепления, пептидогликангидролаза может представлять собой, например, эндопептидазу, хитиназу, T4-подобную мурамидазу, лямбда-подобную мурамидазу, N-ацетил-мурамоил-L-аланинамидазу (амидазу), мурамоил-L-аланинамидазу, мурамидазу, литическую трансгликозилазу (C), литическую трансгликозилазу (M), N-ацетилмурамидазу (лизозим), N-ацетилглюкозаминидазу или трансгликозилазу. Кроме того, этот термин охватывает природные пептидогликангидролазы, такие как пептидогликангидролазы эукариотического, прокариотического или вирусного (в частности бактериофагового) происхождения. Термин охватывает, например, лизоцимы позвоночных (такие как лизоцим яичного белка и лизоцим человека), эндолизины (например эндолизин KZ144 или эндолизин Lys394), ассоциированные с вирионом пептидогликангидролазы (VAPGH), бактериоцины (например лизостафин) и аутолизины. “Пептидогликангидролаза” также может представлять собой синтетический или искусственно модифицированный полипептид, способный гидролизовать пептидогликан бактерий. Например, ферментативно активные перетасованные эндолизины, в которых домены двух или более эндолизинов поменены местами/подвергнуты обмену, квалифицируются как “пептидогликангидролаза”, также как усеченные эндолизины, в которых остается только ферментативно активный домен. Активность может быть измерена с помощью анализов, хорошо известных специалистам в данной области, таких как, например, антибактериальные анализы, которые, например, описаны в Briers et al. (*J. Biochem. Biophys Methods*; 2007; 70: 531-533) или Donovan et al. (*J. FEMS Microbiol Lett.* 2006 Dec; 265(1) и в аналогичных публикациях.

Когда здесь делается ссылка на “аминокислотные остатки”, тогда обычно подразумеваются остатки L-аминокислот.

Используемый здесь термин “эндолизин” относится к ферменту, происходящему из бактериофага, который подходит для гидролиза клеточных стенок бактерий. Эндолизины содержат по меньшей мере один “ферментативно активный домен” (EAD), имеющий по меньшей мере одну из следующих активностей: эндопептидазы, хитиназы, T4-подобной мурамидазы, лямбда-подобной мурамидазы, N-ацетилмурамоил-L-аланинамидазы (амидазы), мурамоил-L-аланинамидазы, мурамидазы, литической трансгликозилазы (C), литической трансгликозилазы (M), N-ацетилмурамидазы (лизозим), N-ацетилглюкозаминидазы или трансгликозилазы. Кроме того, эндолизины могут также содержать участки, которые являются ферментативно неактивными, но связываются с клеточной стенкой бактерий-хозяев, так называемые CBD (домены, связывающие клеточную стенку).

Используемый здесь термин “содержащий” не следует истолковывать как ограниченный значением “состоящий из” (то есть исключающий наличие других объектов). Скорее, “содержащий” подразумевает, что может присутствовать возможный дополнительный объект. Термин “содержащий” охватывает, в качестве предполагаемых воплощений, попадающих в его объем, “состоящий из” (то есть исключающий присутствие дополнительных других объектов) и “содержащий, но не состоящий из” (то есть требующий присутствия

дополнительных других объектов), причем первый вариант является более предпочтительным.

Используемые здесь “a” или “an” могут означать “один”, но это также соответствует значению “один или более,” “по меньшей мере один” и “один или более одного”.

Полипептиды

Как уже упоминалось, настоящее изобретение относится в первую очередь к полипептиду, содержащему мотив последовательности, который:

1) имеет длину 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот;

2) содержит по меньшей мере 40% и не более 60% аминокислот, выбранных из первой группы аминокислот, состоящей из лизина, аргинина и гистидина,

где каждая аминокислота независимо выбрана из указанной первой группы,

где каждая аминокислота, выбранная из этой первой группы, расположена в указанном мотиве последовательности либо отдельно, в паре вместе с дополнительной аминокислотой, выбранной из первой группы, либо в блоке с 2 дополнительными аминокислотами, выбранными из первой группы, но не встречается в блоке с 3 или более аминокислотами, выбранными из первой группы, где по меньшей мере 2 пары аминокислот, выбранных из первой группы, присутствуют в указанном мотиве последовательности, и где не более одного блока с 3 последовательными аминокислотами, выбранными из первой группы, присутствует в указанном мотиве последовательности, с дополнительным условием, что, если такой блок с 3 аминокислотами первой группы присутствует в указанном мотиве последовательности, то аминокислоты в положениях 12, -11, -8, -5, -4, +6, +7, +10, +13, и +14 относительно первой аминокислоты 3 аминокислотного блока - при условии, что соответствующее положение может быть найдено в указанном мотиве последовательности - не выбраны из указанной первой группы,

3) содержит по меньшей мере 40% и не более 60% аминокислот, выбранных из второй группы аминокислот, состоящей из аланина, глицина, изолейцина, лейцина, фенилаланина, серина, треонина, триптофана, тирозина и валина,

где каждая аминокислота независимо выбрана из указанной второй группы,

где по меньшей мере три разные аминокислоты выбраны из этой второй группы, если сумма аминокислот, выбранных из первой группы и выбранных из второй группы, составляет 100% мотива последовательности;

где мотив последовательности не содержит последовательность AFV, если мотив последовательности содержит по меньшей мере два отдельных несмежных остатка фенилаланина и по меньшей мере одному из этих остатков фенилаланина непосредственно предшествует остаток лизина, и

где мотив последовательности не содержит последовательность AALTH (SEQ ID NO: 2), если мотив последовательности содержит по меньшей мере три несмежных остатка гистидина,

4) где остальные аминокислоты указанного мотива последовательности, если таковые присутствуют в мотиве, выбраны из третьей группы, состоящей из аспарагина, аспарагиновой кислоты, глутамина, глутаминовой кислоты, метионина или цистеина, где каждая из указанных аминокислот независимо выбрана из указанной третьей группы, и где глутамин может быть выбран только один раз и где выбор, кроме того, может не включать комбинацию глутамина и глутаминовой кислоты, и

где указанный полипептид не содержит последовательность пептида SMAP-29 (SEQ ID NO:1).

Мотив последовательности, определенный выше в (1) – (3), может представлять собой только часть последовательности полипептида по изобретению, т.е. полипептид по изобретению длиннее, чем мотив последовательности. Альтернативно, мотив последовательности может представлять собой последовательность полипептида по изобретению, то есть последовательность полипептида по изобретению идентична последовательности мотива последовательности. Более того, и как будет понятно из примера, представленного на Фиг. 1, возможно, что полипептид по изобретению содержит один или более таких мотивов последовательности. Например, 20-мерный мотив может заведомо содержать 16-мерный мотив, также соответствующий изложенным выше критериям. Тот факт, что полипептид по изобретению содержит “а” мотив последовательности, определенный выше, не означает, что полипептид по изобретению может содержать только “один” мотив последовательности и никаких дополнительных (например перекрывающихся) мотивов последовательности, также удовлетворяющих изложенным выше ограничениям.

Мотив последовательности полипептида по изобретению может иметь длину 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот. Предпочтительно, мотив последовательности имеет длину 17, 18 или 19 аминокислот, еще более предпочтительно 17 или 18 аминокислот в длину.

Мотив последовательности полипептида по изобретению содержит по меньшей мере 40% и не более 60% аминокислот, выбранных из первой группы аминокислот. Указанная первая группа состоит из лизина, аргинина и гистидина. Если мотив последовательности имеет длину 16 аминокислот, он будет содержать по меньшей мере 7 и не более 9 аминокислот, выбранных из этой первой группы. Если мотив последовательности имеет длину 17 аминокислот, он будет содержать по меньшей мере 7 и не более 10 аминокислот, выбранных из этой первой группы. Если мотив последовательности имеет длину 18 аминокислот, он будет содержать по меньшей мере 8 и не более 10 аминокислот, выбранных из этой первой группы. Если мотив последовательности имеет длину 19 аминокислот, он будет содержать по меньшей мере 8 и не более 11 аминокислот, выбранных из этой первой группы. Если мотив последовательности имеет длину 20 аминокислот, он будет содержать по меньшей мере 8 и не более 12 аминокислот, выбранных из этой первой группы.

Предпочтительными аминокислотами для выбора из этой первой группы являются лизин и аргинин. Предпочтительно, мотив последовательности не содержит более чем 50% остатков гистидина. Еще более предпочтительно, мотив последовательности не содержит более чем 25% остатков гистидина. В некоторых воплощениях изобретения мотив последовательности содержит только один остаток гистидина или даже не содержит его совсем.

Аминокислоты, выбранные из первой группы, выбраны независимо. Это подразумевает, например, что, если данный мотив последовательности включает, например, восемь аминокислот, выбранных из первой группы, каждый из этих восьми аминокислотных остатков может быть выбран независимо от предыдущих или последующих выборов из указанной первой группы. Таким образом, выбранные аминокислоты могут содержать все три типа аминокислот (лизин, аргинин и гистидин), могут быть идентичными (например 8 остатков лизина или 8 остатков аргинина соответственно) или могут содержать только два из трех типов аминокислот (например лизин и аргинин). Аналогично, независимый отбор не предписывает какого-либо конкретного соотношения между отдельно выбранными аминокислотами. Например, и не ограничиваясь этим, 8 аминокислот, выбранных из этой первой группы, могут представлять собой 8 остатков лизина, 7 остатков аргинина и 1 остаток гистидина, или 3 остатка аргинина, 4 остатка

лизина и 1 остаток гистидина.

Расположение аминокислотных остатков, выбранных из первой группы в мотиве последовательности, подчиняется определенным ограничениям. Каждая аминокислота, выбранная из этой первой группы, может быть только расположена в указанном мотиве последовательности либо отдельно, в паре вместе с другой аминокислотой, выбранной из первой группы, либо в блоке с двумя дополнительными аминокислотами, выбранными из первой группы.

“Одна” означает, что аминокислота, выбранная из указанной первой группы, например лизин (K), не является фланкированной другой аминокислотой из указанной первой группы ни с N-конца, ни с C-конца. Смежные аминокислотные остатки могут быть выбраны из второй или, сообразно обстоятельствам, из третьей группы (например LKE, N-KE (на N-конце мотива), LK-C (на C-конце мотива)). Следует отметить, что возможные дополнительные аминокислоты в полипептиде по изобретению, но за пределами мотива последовательности, не принимают во внимание для определения этого положения. Таким образом, аминокислота из первой группы на одном из двух концов мотива последовательности, считается расположенной отдельно, даже если предшествующий (N-конец) или последующий (C-конец) аминокислотный остаток вне мотива последовательности случайно представляет собой также остаток аргинина, гистидина или лизина.

“Попарное расположение вместе с другой аминокислотой, выбранной из первой группы” означает, что в мотиве последовательности аминокислота, выбранная из первой группы, непосредственно соседствует с другой аминокислотой, выбранной из первой группы. Эти две аминокислоты образуют таким образом пару аминокислот, выбранных из первой группы. Указанная пара, в свою очередь, фланкирована с C-конца и с N-конца аминокислотами из второй или, сообразно обстоятельствам, третьей группы (например LKRE (SEQ ID NO:3), N-KRE (на N-конце мотива), LKR-C (на C-конце мотива)). Возможные дополнительные аминокислоты в полипептиде по изобретению, но вне мотива последовательности, опять же, не учитываются для определения этого положения.

“В блоке с 2 дополнительными аминокислотами, выбранными из первой группы” означает, что три аминокислоты, выбранные из первой группы, находятся непосредственно рядом друг с другом. Указанный блок (или триплет) фланкирован с C-конца и с N-конца аминокислотами из второй или, сообразно обстоятельствам, третьей группы (например LKRKE (SEQ ID NO:4), N-KRKE (на N-конце мотива; SEQ ID NO:5), LKRK-C (на C-конце мотива; SEQ ID NO: 6)). Возможные дополнительные аминокислоты в полипептиде по изобретению, но вне мотива последовательности, опять же не учитываются для этого определения положения. Для аминокислот, расположенных таким образом (триплет; блок с 3 аминокислотами первой группы), должно быть выполнено дополнительное требование к положению, а именно, что ни одна из аминокислот в положениях -12, -11, -8, -5, -4, +6, +7, +10, +13 и +14 относительно первой аминокислоты блока из 3 аминокислот - при условии, что соответствующее положение может быть найдено в указанном мотиве последовательности – не представляет собой аминокислоту, выбранную из указанной первой группы. Отрицательные значения указывают положения в направлении N-конца от первой аминокислоты триплета; положительные значения относятся к положениям в направлении C-конца от первой аминокислоты триплета. Основой для расчета положений является первая (N-концевая) аминокислота триплета (например аминокислота, непосредственно находящаяся в направлении N-конца к триплету, будет -1, аминокислота, непосредственно находящаяся в направлении N-конца к триплету, будет +3). Таким образом, это ограничение исключает такую последовательность, как RRRGLRH (SEQ ID NO: 7),

поскольку положение +6 (H) соответствует аминокислоте первой группы. Присутствуют соответствующие положения (-12, -11, -8, -5, -4, +6, +7, +10, +13 и +14) в мотиве последовательности или нет будет зависеть от положения триплета в мотиве последовательности и длины мотива последовательности. Например, если триплет расположен на N-конце мотива последовательности, то все отрицательные значения являются неактуальными (т.е. не должны приниматься во внимание). То же самое относится и к положительным значениям, если триплет расположен на C-конце мотива последовательности. Однако в предпочтительных воплощениях мотив последовательности вообще не содержит такой триплетный блок аминокислот первой группы, то есть не содержит блок, состоящий из 3 аминокислот, выбранных из первой группы.

Понятно, что требования к положениям по одному, в паре с другой аминокислотой, выбранной из первой группы, и к блоку с двумя другими аминокислотами, выбранными из первой группы, не перекрываются и эти термины являются взаимоисключающими (например триплет не рассматривается как пример “одного” и/или “совместной пары” и т.д.).

Еще одно требование к положениям аминокислот, выбранных из первой группы, состоит в том, что мотив последовательности должен содержать по меньшей мере 2 пары аминокислот, выбранных из первой группы. Однако предпочтительно, чтобы не все аминокислоты, выбранные из первой группы, были расположены попарно в мотиве последовательности.

Мотив последовательности полипептида по изобретению не содержит блоков из 4 (квартет) или более аминокислот (квинтет, секстет и т. д.), выбранных из первой группы (то есть аминокислота из первой группы не встречается в блоке с 3 или более аминокислотами, выбранными из первой группы). Таким образом, мотив последовательности может, например, не содержать такие последовательности, как “KRKK” (SEQ ID NO: 8) или “RRRR” (SEQ ID NO: 9).

Поскольку аминокислоты первой группы составляют только от 40 до 60% мотива последовательности, остальные аминокислоты необходимо выбирать из других аминокислотных остатков. Как указано выше, мотив последовательности включает также по меньшей мере 40% и не более 60% аминокислот, выбранных из второй группы аминокислот. Указанная вторая группа состоит из аминокислотных остатков аланина, глицина, изолейцина, лейцина, фенилаланина, серина, треонина, триптофана, тирозина и валина. Как и ранее для первой группы аминокислот, каждая из аминокислот второй группы аналогично по существу независимо выбрана, то есть каждая аминокислота выбрана независимо от любых предыдущих или последующих выбранных аминокислот из указанной второй группы.

Однако для второй группы существуют некоторые ограничения этого общего принципа независимого выбора. Первое ограничение применяют, если сумма аминокислот, выбранных из первой группы и выбранных из второй группы, составляет 100% аминокислот в мотиве последовательности (т.е. в мотиве последовательности нет аминокислот из третьей группы). В таком сценарии по меньшей мере три разные аминокислоты должны быть выбраны из второй группы. В таком сценарии аминокислоты второй группы могут, например, не ограничиваться только остатками валина и триптофана.

Дополнительное (позиционное) ограничение заключается в том, что мотив последовательности может не содержать последовательность триплета AFV (аланин, фенилаланин, валин), если мотив последовательности содержит по меньшей мере два отдельных несмежных остатка фенилаланина и по меньшей мере одному из этих остатков фенилаланина (в направлении N-конца) непосредственно предшествует остаток лизина (то есть KF). Несмежные остатки фенилаланина представляют собой остатки фенилаланина, которые не находятся рядом в последовательности, но которые разделены одной или более

другими аминокислотами. Одиночные остатки фенилаланина означают, что они не являются частью пары остатков фенилаланина или блока из нескольких остатков фенилаланина, но расположены отдельно в мотиве последовательности.

Следующее ограничение состоит в том, что мотив последовательности не содержит последовательность AALTH (то есть аланин, аланин, лизин, треонин, гистидин), если мотив последовательности содержит по меньшей мере три отдельных несмежных остатка гистидина. Несмежные остатки гистидина представляют собой остатки гистидина, которые не находятся рядом, но которые разделены одной или более другими аминокислотами. Одиночные остатки гистидина означают, что они не являются частью пары остатков гистидина или блока из нескольких остатков гистидина, но расположены отдельно в мотиве последовательности.

В предпочтительном воплощении менее 5 остатков изолейцина (например 4, 3, 2, 1 или 0) выбраны из указанной второй группы, в частности, если полипептид не содержит последовательность пептидогликангидролазы и/или имеет короткую длину, например имеет длину в диапазоне от 16 до 50 аминокислот.

Возможно, что мотив последовательности полипептида по изобретению не состоит исключительно из аминокислот, выбранных из первой и второй группы (то есть они вместе составляют менее 100%). В таком сценарии оставшиеся аминокислоты указанного мотива последовательности выбраны из третьей группы аминокислот, причем указанная группа состоит из аспарагина, аспарагиновой кислоты, глутамина, глутаминовой кислоты, метионина и цистеина. Как и ранее для первой и второй группы аминокислот, каждую из аминокислот третьей группы аналогично по существу выбирают независимо, то есть каждую аминокислоту выбирают независимо от любых предыдущих или последующих выбранных аминокислот из указанной второй группы. Однако, как и ранее для второй группы, существуют некоторые ограничения в отношении выбора аминокислоты из указанной третьей группы: глутамин может быть выбран только один раз, и одновременный выбор глутамина и глутаминовой кислоты не допускается, т.е. если глутамин присутствует в мотиве последовательности, то глутаминовая кислота не может присутствовать и наоборот). Предпочтительно, аминокислоты, выбранные из третьей группы, ограничены аспарагином, аспарагиновой кислотой, глутамином и глутаминовой кислотой, то есть выбранные аминокислоты третьей группы не включают остатки метионина или цистеина.

В предпочтительных воплощениях мотив последовательности содержит только один, или еще более предпочтительно, не содержит ни одного аминокислотного остатка из третьей группы.

В предпочтительных воплощениях настоящего изобретения расположение выбранных аминокислот в мотиве последовательности соответствует требованиям, представленным в одной из возможных альтернатив мотивов последовательности, изображенных на Фиг. 1 (и Фиг. 2a, 2b, 2c, 2d и 2e, соответственно). На Фиг.1 показано, что в определенных положениях для данных 16-мерной, 17-мерной, 18-мерной, 19- мерной или 20- мерной последовательностей не могут присутствовать аминокислоты, выбранные из первой группы. В этих положениях могут присутствовать только аминокислоты, выбранные из второй и/или третьей группы (если они есть). Предпочтительно, в указанных положениях присутствуют аминокислоты из второй группы. Аминокислоты из первой группы могут присутствовать только в любом из оставшихся положений мотива последовательности. Это не означает, что в этих оставшихся положениях могут находиться только аминокислоты первой группы. Аминокислоты второй и возможно третьей группы также могут находиться в этих оставшихся положениях, при условии, что общие процентные требования

для первой и второй группы удовлетворяются.

Предпочтительно, мотив последовательности полипептида по изобретению имеет спиральную структуру.

Мотив последовательности полипептида по изобретению не содержит никаких других аминокислотных остатков, кроме тех, которые определены в первой, второй или третьей группе. В частности, мотив последовательности полипептида по изобретению не содержит пролиновых остатков, и, если третья группа ограничена аспарагином, аспарагиновой кислотой, глутамином и глутаминовой кислотой, то метионин и цистеин также отсутствуют.

Однако, как и в последовательности SMAP-29, в полипептиде по изобретению вполне может присутствовать остаток пролина. Например, предпочтительно, если пролиновый остаток находится в пределах 1-10, предпочтительно 1-5 аминокислотных остатков в направлении N-конца или C-конца от мотива последовательности, причем последний вариант является предпочтительным. В случаях, когда полипептид по изобретению также включает последовательность пептидогликангидролазы (см. ниже), предпочтительно, если такой остаток пролина находится между последовательностью пептидогликангидролазы и мотивом последовательности. Предпочтительно, мотив последовательности находится в направлении N-конца к последовательности пептидогликангидролазы, а остаток пролина расположен где-то посередине, обычно ближе к мотиву последовательности.

Полипептид по настоящему изобретению не содержит последовательность SEQ ID NO: 1. В некоторых воплощениях полипептид по настоящему изобретению может содержать SEQ ID NO: 10. Однако в предпочтительных воплощениях полипептид по настоящему изобретению также не содержит последовательность SEQ ID NO: 10.

Полипептид по настоящему изобретению предпочтительно представляет собой искусственный полипептид, который не встречается в природе. Примерами таких искусственно созданных последовательностей являются SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 23. Другими примерами являются SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73 и SEQ ID NO: 74. Таким образом, особенно предпочтительными примерами полипептидов по настоящему изобретению являются полипептиды, содержащие любую из SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73 или SEQ ID NO: 74.

В предпочтительных воплощениях полипептид по настоящему изобретению дополнительно содержит последовательность пептидогликангидролазы. Такой полипептид (представляющий собой слитый белок по настоящему изобретению) содержит:

- а) последовательность пептидогликангидролазы, и
- б) пептидную последовательность, где указанная пептидная последовательность предпочтительно является гетерологичной по отношению к пептидогликангидролазе, и где указанная (гетерологичная) пептидная последовательность содержит мотив последовательности, который:
 - 1) имеет длину 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот;
 - 2) содержит по меньшей мере 40% и не более 60% аминокислот, выбранных из первой группы аминокислот, состоящей из лизина, аргинина и гистидина;

где каждая аминокислота независимо выбрана из указанной первой группы;

где каждая аминокислота, выбранная из этой первой группы, расположена в указанном мотиве последовательности либо отдельно, в паре вместе с дополнительной аминокислотой, выбранной из первой группы, или в блоке с 2 другими аминокислотами, выбранными из первой группы, но не встречается в блоке с 3 или более аминокислотами, выбранными из первой группы, где по меньшей мере 2 пары аминокислот, выбранных из первой группы, присутствуют в указанном мотиве последовательности, и где не более одного блока с 3 последовательными аминокислотами, выбранными из первой группы, присутствует в указанном мотиве последовательности, при условии, что если такой блок с 3 аминокислотами первой группы присутствует в указанном мотиве последовательности, то аминокислоты в положениях -12, -11, -8, -5, -4, +6, +7, +10, +13 и +14 относительно первой аминокислоты блока из 3 аминокислот, при условии, что соответствующее положение может находиться в указанном мотиве последовательности, не выбраны из указанной первой группы,

- 3) содержит по меньшей мере 40% и не более 60% аминокислот, выбранных из второй группы аминокислот, состоящей из аланина, глицина, изолейцина, лейцина, фенилаланина, серина, треонина, триптофана, тирозина и валина,

где каждая аминокислота независимо выбрана из указанной второй группы, где по меньшей мере три разные аминокислоты выбраны из этой второй группы, если сумма аминокислот, выбранных из первой группы и выбранных из второй группы, составляет 100% мотива последовательности;

где мотив последовательности не содержит последовательность AFV, если мотив последовательности содержит по меньшей мере два отдельных несмежных остатка фенилаланина и по меньшей мере одному из этих остатков фенилаланина непосредственно предшествует остаток лизина, и

где мотив последовательности не содержит последовательность AALTH (SEQ ID NO: 2), если мотив последовательности содержит по меньшей мере три отдельных несмежных остатка гистидина,

- 4) где остальные аминокислоты указанного мотива последовательности, если таковые присутствуют в мотиве, выбраны из третьей группы, состоящей из аспарагина, аспарагиновой кислоты, глутамина, глутаминовой кислоты, метионина или цистеина, где каждая из указанных аминокислот независимо выбрана из указанной третьей группы, и где глутамин может быть выбран только один раз и где выбор, кроме того, не включает комбинацию глутамина и глутаминовой кислоты, и

- в) где указанный слитый белок не содержит последовательность SEQ ID NO:1.

Понятно, что признаки и характеристики мотива последовательности полипептида по изобретению, которые были подробно объяснены выше, также применимы к мотиву последовательности (гетерологичной) пептидной последовательности.

Пептидогликангидролаза слитого белка по изобретению может представлять собой любую пептидогликангидролазу, способную разрушать бактериальный пептидогликан. Такой пептидогликангидролазой может быть, с точки зрения ферментативной активности, например

эндопептидаза, N-ацетилмурамоил-L-аланинамидаза (амидаза), N-ацетилмурамидаза, N-ацетилглюкозаминидаза или литическая трансглюкозилаза, которые, таким образом, подходят для разрушения пептидогликана бактериальных клеточных стенок. Предпочтительно, пептидогликангидролаза разрушает пептидогликан грамотрицательных бактерий, таких как *K. pneumoniae*, *E. coli* или *P. aeruginosa*.

Структура пептидогликана бактериальной клеточной стенки, в целом, является очень консервативной с незначительными модификациями (Schleifer & Kandler 1972). Бактериальные виды имеют межпептидные мостики, состоящие из разных аминокислот, или даже могут не иметь межпептидного мостика. В структурах пептидогликана, где отсутствует межпептидный мостик диаминопимелиновая кислота (DAP) или мезо-диаминопимелиновая кислота (mDAP; аминокислота, представляющая собой эпсилон-карбоксии производное лизина, являющееся типичным компонентом пептидогликана) (диаминопимелиновая кислота представляет собой остаток, замещающий аминокислоту L-Lys и непосредственно соединяющийся с концевой аминокислотой D-Ala противоположной пептидной цепи. Таким образом, существуют ограниченные типы химических связей, которые могут быть гидролизованы пептидогликангидролазами. Пептидогликангидролазы имеют по меньшей мере один ферментный домен, обладающий ферментативной активностью, как указано выше. Кроме того, пептидогликангидролаза содержит в некоторых случаях по меньшей мере один домен, подходящий для связывания с пептидогликаном и поддерживающий ферментативную активность пептидогликангидролазы. Домены связывания обычно называют доменами связывания клеточной стенки (CBD).

Примерами пептидогликангидролаз являются лизоцимы позвоночных (такие как лизоцим белка куриного яйца и человеческий лизоцим), эндолизины (например эндолизин KZ144 или эндолизин Lys394), ассоциированные с вирионом пептидогликангидролазы (VAPGH), бактериоцины (например лизостафин) и автолизины. Наиболее предпочтительно, пептидогликангидролаза слитого белка по настоящему изобретению представляет собой эндолизин. Наиболее предпочтительно, пептидогликангидролаза представляет собой эндолизин. Особенно предпочтительные последовательности пептидогликангидролаз представлены как SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 27.

Пептидогликан-разрушающую активность грамотрицательных и грамположительных бактерий можно измерить с помощью анализов, хорошо известных в данной области, например муралитических анализов, где наружная мембрана грамотрицательных бактерий проницаема или удалена (например с помощью хлороформа), чтобы обеспечить возможный доступ фермента к слою пептидогликана. Если фермент активен, деградация слоя пептидогликана приведет к снижению мутности, которое можно измерить фотометрически (см., например, Briers et al., J. Biochem. Biophys Methods 70: 531-533, (2007) или Schmelcher et al., Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials. Schmelcher M, Donovan DM, Loessner MJ. Future Microbiol. 2012 Oct;7(10):1147-7).

Слитый белок по настоящему изобретению предпочтительно также проявляет активность пептидогликан-разрушающего фермента, то есть способен разрушать бактериальный пептидогликан. Предпочтительно, слитый белок по настоящему изобретению способен разрушать пептидогликан грамотрицательных бактерий, таких как *K. pneumoniae*, *E. coli* или *P. aeruginosa*.

Пептидная последовательность, содержащая мотив последовательности по настоящему изобретению, предпочтительно является гетерологичной по отношению к последовательности пептидогликангидролазы. Таким образом, пептидная последовательность, содержащая мотив последовательности по настоящему изобретению, и последовательность пептидогликангидролазы

предпочтительно не находятся вместе в природной полипептидной цепи. Еще более предпочтительно, мотив последовательности и последовательность пептидогликангидролазы не находятся вместе в природной полипептидной цепи.

В слитом белке по изобретению пептидная последовательность, содержащая мотив последовательности по настоящему изобретению, предпочтительно представляет собой искусственную пептидную последовательность, которая не встречается в природе. Особенно предпочтительными примерами гетерологичных пептидов, содержащих мотив последовательности согласно настоящему изобретению, являются SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73 и SEQ ID NO: 74.

В предпочтительных воплощениях слитого белка по настоящему изобретению (гетерологичная) пептидная последовательность (или мотив последовательности) связана с последовательностью пептидогликангидролазы при помощи дополнительных промежуточных аминокислотных остатков (линкеров), такими как аминокислотные остатки глицин, серин и серин (Gly-Ser-Ser), глицин, аланин, глицин и аланин (Gly-Ala-Gly-Ala; SEQ ID NO: 28), глицин, аланин, глицин, аланин, глицин, аланин, глицин и аланин (Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala; SEQ ID NO: 29), или глицин, аланин, глицин, аланин, глицин, аланин, глицин, аланин, глицин, аланин, глицин и аланин (Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ala; SEQ ID NO:30).

Полипептид по настоящему изобретению и, в частности, слитый белок по настоящему изобретению, конечно, могут содержать дополнительные элементы аминокислотной последовательности, например один или более тэгов, например His-тэг, Strep-тэг, Avi-тэг, Мус-тэг, Gst-тэг, JS-тэг, цистеин-тэг, FLAG-тэг или другие тэги, известные в данной области, тиоредоксин, мальтозосвязывающие белки (MBP) и т.д.

В данном контексте полипептид по изобретению может дополнительно содержать тэг, например, для очистки. Предпочтительным является His6-тэг (SEQ ID NO: 31), предпочтительно на С-конце и/или N-конце полипептида по изобретению. Указанный тэг может быть связан с полипептидом при помощи дополнительных аминокислотных остатков, например, из-за клонирования. Предпочтительно указанный тэг может быть связан с белком при помощи по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 дополнительных аминокислотных остатков. В некоторых воплощениях указанные дополнительные аминокислотные остатки могут не распознаваться и/или не расщепляться протеазами. В других воплощениях указанные дополнительные аминокислотные остатки распознаются и/или расщепляются протеазами. В предпочтительном воплощении полипептид по изобретению содержит His6-тэг на своем С-конце, связанный с полипептидом при помощи дополнительных аминокислотных остатков лизина и глицина (Lys-Gly) или лейцина и глутаминовой кислоты (Leu-Glu). В другом предпочтительном воплощении полипептид по изобретению содержит His6-тэг на своем N-конце, связанный с полипептидом дополнительными аминокислотными остатками лизина и глицина (Lys-Gly) или лейцина и глутаминовой кислоты (Leu-Glu). В другом предпочтительном воплощении полипептид содержит His6-тэг на своем N- и С-конце, связанный с полипептидом дополнительными аминокислотными остатками лизина и глицина (Lys-Gly) или лейцина и глутаминовой кислоты (Leu-Glu).

Особенно предпочтительные слитые белки по настоящему изобретению могут содержать последовательности SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:42 и SEQ ID NO:43. Другая

группа слитых белков по настоящему изобретению включает SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 или SEQ ID NO: 78.

Полипептид по настоящему изобретению может быть получен стандартными способами, известными в данной области, например путем рекомбинантной экспрессии нуклеиновых кислот, кодирующих соответствующий полипептид, в соответствующих клетках-хозяевах. Если полипептид по изобретению дополнительно содержит, например, удлинения или тэги, и т.д., то такие слитые белки могут быть получены путем связывания нужных последовательностей отдельных нуклеиновых кислот с использованием стандартных методов клонирования, описанных, например, в Sambrook et al. 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Такой полипептид также может быть получен способами, известными в данной области, например в рекомбинантных системах экспрессии ДНК. Относительно короткие полипептиды по изобретению, например длиной до 50 аминокислот, также, например, могут быть получены синтетическим путем.

Нуклеиновые кислоты, векторы, бактериофаги и клетки-хозяева

Настоящее изобретение также относится к нуклеиновым кислотам, кодирующим один или более полипептидов по настоящему изобретению. Нуклеиновая кислота по изобретению может принимать все возможные для нуклеиновой кислоты формы. В частности, нуклеиновые кислоты по настоящему изобретению могут представлять собой РНК, ДНК или их гибриды. Они могут быть одноцепочечными или двухцепочечными. Они могут иметь размер небольших транскриптов или целых геномов, таких как геном бактериофага. При использовании в данном документе, нуклеиновая кислота, кодирующая один или более полипептидов по настоящему изобретению, может представлять собой нуклеиновую кислоту, соответствующую смысловой цепи. Также включена антисмысловая цепь. Нуклеиновая кислота может включать гетерологичный промотор для экспрессии полипептида по изобретению. Особенно предпочтительные нуклеиновые кислоты кодируют слитый белок по настоящему изобретению.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к вектору, содержащему нуклеиновую кислоту по настоящему изобретению. Такой вектор может, например, быть экспрессионным вектором, обеспечивающим экспрессию полипептида по изобретению. Указанная экспрессия может быть конститутивной или индуцибельной. Вектор также может быть клонирующим вектором, содержащим последовательность нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению для клонирования.

Настоящее изобретение также относится к бактериофагу, содержащему нуклеиновую кислоту по изобретению, в частности содержащему нуклеиновую кислоту по изобретению, кодирующую слитый белок по настоящему изобретению.

Настоящее изобретение также относится к (выделенным) клеткам-хозяевам, содержащим полипептид, нуклеиновую кислоту, вектор или бактериофаг по настоящему изобретению. Клетки-хозяева могут быть выбраны, в частности, из группы, состоящей из бактериальных клеток и дрожжевых клеток. При необходимости, другими подходящими клетками-хозяевами могут быть immortalized клеточные линии, например млекопитающего (в частности человека). Особенно предпочтительные клетки-хозяева содержат слитый белок по настоящему изобретению.

Композиции

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к композиции, содержащей полипептид по настоящему изобретению, нуклеиновую кислоту по настоящему изобретению, вектор по настоящему изобретению, бактериофаг по настоящему изобретению и/или клетку-хозяина по настоящему изобретению.

Особенно предпочтительная композиция по настоящему изобретению содержит слитый белок по настоящему изобретению. Другие предпочтительные композиции содержат полипептид по настоящему изобретению и пептидогликангидролазу.

Композиция по настоящему изобретению может быть фармацевтической композицией, содержащей фармацевтически приемлемый разбавитель, наполнитель или носитель.

В еще одном аспекте композиция по настоящему изобретению представляет собой косметическую композицию. Некоторые виды бактерий могут вызывать раздражение на поверхностях, подверженных воздействию окружающей среды, на теле пациента, таких как кожа. Чтобы предупредить такие раздражения или ликвидировать незначительные проявления указанных бактериальных патогенов, можно использовать специальные косметические препараты, которые содержат достаточные количества полипептида по изобретению, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина и/или композиции для достижения комедолитического эффекта.

Наборы

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к набору, содержащему полипептид по настоящему изобретению, нуклеиновую кислоту по настоящему изобретению, вектор по настоящему изобретению, бактериофаг по настоящему изобретению и/или клетку-хозяина по настоящему изобретению, и дополнительно содержащему пептидогликангидролазу или нуклеиновую кислоту, вектор, бактериофаги и/или клетки-хозяина, кодирующие или содержащие, соответственно, такую пептидогликангидролазу. Предпочтительно, набор содержит полипептид по настоящему изобретению и/или пептидогликангидролазу.

Особенно предпочтительный набор по настоящему изобретению содержит полипептид по настоящему изобретению, но не слитый белок по настоящему изобретению, то есть полипептид в наборе не содержит последовательность пептидогликангидролазы.

В другом воплощении набор по изобретению содержит по меньшей мере один дополнительный антимикробный агент, такой как антибиотик или антимикробный пептид.

Применения

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к полипептиду по настоящему изобретению, нуклеиновой кислоте по настоящему изобретению, вектору по настоящему изобретению, бактериофагу по настоящему изобретению, клетке-хозяину по настоящему изобретению и/или композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения организма человека или животного с помощью хирургии или терапии или в диагностических способах, осуществляемых в отношении человека или животного. В таких случаях можно использовать антибактериальную активность полипептида по настоящему изобретению, в частности, при использовании слитого белка по настоящему изобретению.

Такой способ обычно включает введение субъекту эффективного количества полипептида по изобретению (например слитого белка по изобретению), нуклеиновой кислоты, вектора, бактериофага, клетки-хозяина или композиции. Субъектом может быть, например, человек или животное, причем субъекты-люди являются более предпочтительными. В частности, полипептид по изобретению, нуклеиновая кислота по изобретению, вектор по изобретению, бактериофаг по изобретению, клетка-хозяин по изобретению и/или композиция по изобретению можно использовать в способах лечения или предупреждения бактериальных инфекций, таких как грамотрицательные бактериальные инфекции. Без ограничения нижесказанным, способ лечения может включать лечение и/или предупреждение инфекций кожи, мягких тканей, дыхательной системы, легких, пищеварительного тракта, глаз, уха, зубов, носоглотки,

рта, костей, влажных, ран при бактериемии и/или эндокардита.

Дозировка и способ введения, используемые в способе лечения (или предупреждения) согласно настоящему изобретению, зависят от конкретного заболевания/места инфекции, подлежащего лечению. Способ введения может быть, например, пероральным, местным, нозоглоточным, парентеральным, внутривенным, ректальным или любым другим способом введения.

Для применения полипептида по изобретению (например слитого белка по изобретению), нуклеиновой кислоты, вектора, бактериофага, клетки-хозяина или композиции, на место инфекции (или место, находящееся под угрозой инфекции) можно использовать композицию, которая защищает активное соединение от воздействия окружающей среды, такого как протеазы, окисление, иммунная реакция и т. д., пока он не достигнет места инфекции. Следовательно, композиция может представлять собой капсулу, драже, пилюлю, суппозиторий, раствор для инъекций или любую другую медицинскую приемлемую галеновую форму. Предпочтительно галеновая композиция может содержать подходящие носители, стабилизаторы, ароматизаторы, буферы или другие подходящие реагенты. Например, для местного применения композиция может представлять собой лосьон или пластырь, для назофарингеального применения композиция может представлять собой физиологический раствор для применения посредством распыления в нос.

Предпочтительно, полипептид по изобретению (например слитый белок), нуклеиновую кислоту, вектор, бактериофаг, клетку-хозяина или композицию используют в комбинации с другими традиционными антибактериальными агентами, такими как антибиотики, лантибиотики, бактериоцины или эндолизины и др. Введение традиционного антибактериального средства может происходить до, одновременно или после введения полипептида (например слитого белка), нуклеиновой кислоты, вектора, бактериофага, клетки-хозяина или композиции.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к полипептиду по изобретению, нуклеиновой кислоте, вектору, бактериофагу, клетке-хозяину или композиции для применения в качестве диагностического средства в медицинской диагностике, в контроле за пищевыми продуктами, в контроле за кормами или в контроле за окружающей средой, в частности в качестве диагностического средства в диагностике бактериальной инфекции, в частности, вызванной грамотрицательными бактериями. При этом полипептид по изобретению, нуклеиновую кислоту, вектор, клетку-хозяина или композицию можно использовать в качестве инструмента для специфической дегградации пептидогликана патогенных бактерий, в частности грамотрицательных патогенных бактерий. Дегградация бактериальных клеток с помощью полипептида по изобретению, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина или композиции может быть усилена добавлением детергентов, таких как Triton X-100 или других добавок, которые ослабляют оболочку бактериальных клеток, таких как полимиксин В. Специфическая дегградация клеток необходима в качестве начального этапа для последующего специфического обнаружения бактерий с использованием методов на основе нуклеиновой кислоты, таких как ПЦР, гибридизация нуклеиновой кислоты или NASBA (амплификация нуклеиновокислотной последовательности), иммунологических методов, таких как IMS (иммуномагнитная сепарация), иммунофлуоресцентного метода или ELISA, или других методов, основанных на клеточном содержимом бактериальных клеток, таких как ферментные анализы, с использованием белков, специфичных в отношении отдельных бактериальных групп или видов (например β -галактозидаза для энтеробактерий, коагулаза для коагулазоположительных штаммов).

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к применению полипептида по

изобретению, нуклеиновой кислоты по изобретению, вектора по изобретению, бактериофага по изобретению, клетки-хозяина по изобретению и/или композиции по изобретению, в качестве антимикробного средства в пище, корме или косметике, или для использования в качестве дезинфицирующего агента. Их можно использовать, в частности, для обработки или предупреждения грамотрицательного бактериального загрязнения пищевых продуктов, оборудования для пищевой промышленности, предприятий пищевой промышленности, поверхностей (неодушевленных объектов), соприкасающихся с пищевыми продуктами (таких как полки и зоны хранения продуктов), кормов, оборудования для обработки кормов, заводов по обработке кормов, поверхностей (неодушевленных объектов), соприкасающихся с кормами (таких как полки и зоны хранения кормов), медицинских приборов или поверхностей (неодушевленных объектов) в больницах, кабинетах врачей и другого медицинского оборудования.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Ниже дано краткое описание прилагаемых фигур. Фигуры предназначены для более подробной иллюстрации настоящего изобретения. Однако они не предназначены для ограничения объема изобретения этими конкретными примерами.

На Фиг. 1 показаны требования к положению предпочтительных мотивов последовательности по настоящему изобретению. В таблице указаны мотивы последовательности от 16 (белые) до 20 (темно-серые) аминокислот в положениях по длине, в которых не может присутствовать аминокислота, выбранная из первой группы (соответствующие положения помечены как "X"). В указанных положениях (то есть в положениях, помеченных как "X") могут присутствовать только аминокислоты, выбранные из второй или, сообразно обстоятельствам, из третьей группы. Более предпочтительно, в указанных положениях присутствуют только аминокислоты, выбранные из второй группы. Аминокислоты, выбранные из первой группы мотива последовательности, могут присутствовать только в положениях, которые не помечены как "X". Однако в указанных непомеченных положениях аминокислоты второй или, сообразно обстоятельствам, третьей группы также могут присутствовать. Всего предусмотрено 18 альтернатив, каждая из которых имеет длину 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот. В таблице также четко указано положение, в котором возможно может присутствовать триплет аминокислот из первой группы (три положения подряд без "X"). В качестве альтернативы 1 это будут положения от 8 до 10. Как требуется для мотива последовательности полипептида по настоящему изобретению, аминокислоты в положениях -5 (то есть положение 3), -4 (то есть положение 4), +6 (то есть положение 14), +7 (то есть положение 15) и +10 (то есть положение 8) относительно первой аминокислоты из 3 аминокислотного блока (то есть положение 8) не должны быть выбраны из первой группы. Относительные положения 12, -11, -8, +13 и +14 не могут находиться в первой альтернативе и поэтому не приняты во внимание.

На Фиг. 2 более подробно иллюстрирует требования к положению для предпочтительных мотивов последовательности. "X" обозначает, что мотив последовательности не имеет в соответствующем положении аминокислоты, выбранной из первой группы. Фиг. 2a: требования к положению для мотивов последовательности длиной 16 аминокислот. Фиг. 2b: требования к положению для мотивов последовательности длиной 17 аминокислот. Фиг. 2c: требования к положению для мотивов последовательности длиной 18 аминокислот. Фиг. 2d: требования к положению для мотивов последовательности длиной 19 аминокислот. Фиг. 2e: требования к положению для мотивов последовательности длиной 20 аминокислот.

Примеры

Ниже представлены конкретные примеры, иллюстрирующие различные воплощения и аспекты изобретения. Однако объем настоящего изобретения не следует ограничивать конкретными воплощениями, описанными здесь. Действительно, различные модификации изобретения, в дополнение к описанным здесь, станут очевидными для специалистов в данной области техники из предшествующего описания, прилагаемых фигур и приведенных ниже примеров. Все такие модификации подпадают в объем прилагаемой формулы изобретения.

Пример 1: Адаптация антимикробного пептида Cescropin A (A. aegypti) к мотиву последовательности по настоящему изобретению усиливает антибактериальную активность

Антимикробный пептид Cescropin A (A. aegypti) (GGLKKLGKKLEGAGKRVFNAAEKALPVVAGAKALRK; SEQ ID NO: 44) был предложен в данной области техники в качестве кандидата для слияния, например с эндолизинами (см. WO 2010/149792). Однако, слияние Cescropin A (A. aegypti) с эндолизином KZ144 не так эффективно против бактерий *P. aeruginosa* и *E. coli*, как слияние пептида SMAP-29 с KZ144. Кроме того, Cescropin A (A. aegypti) не соответствует мотиву последовательности по настоящему изобретению, поскольку Cescropin A (A. aegypti) не имеет мотива последовательности, удовлетворяющего требованию, согласно которому в нем должно присутствовать по меньшей мере 40% аминокислот из первой группы. Таким образом, автор изобретения сделал вывод, что введение дополнительных аминокислот указанной группы может повысить антибактериальную активность.

Для проверки этой гипотезы автор изобретения сливал Cescropin A (A. aegypti) с эндолизином Lys394 с получением слитого белка, содержащего последовательность SEQ ID NO: 45. Параллельно был создан аналогичный слитый белок, в котором пептидная последовательность Cescropin A (A. aegypti) была укорочена с С-конца, мутирована в различных положениях (пептид: GGLKKLGKKLKKAGKRVFKAACKAL; SEQ ID NO: 11) и слита с эндолизином Lys394. Полученный слитый белок содержит последовательность SEQ ID NO:32. Благодаря введению дополнительных остатков лизина, модифицированная последовательность Cescropin A (A. aegypti) теперь соответствовала требованиям к мотиву последовательности по настоящему изобретению. Оба слитых белка были протестированы на их антибактериальную активность в отношении бактерий *K. pneumoniae*.

Бактерии выращивали в среде (Лурия-Бертани) и разбавляли 1:10 в среде Мюллера-Хинтона. При оптической плотности OD₆₀₀ примерно 0,6 бактерии разбавляли в той же среде 1:10 с последующим разбавлением 1: 500. Белковый буфер (20 mM HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота), 500 mM NaCl, pH 7,4) и белки пипетировали в 96-луночный планшет, используя разные концентрации белков и конечный объем 20 мкл, включая конечную концентрацию EDTA 500 мкМ. 180 мкл бактериальных клеток или среды (Мюллера-Хинтона) в качестве контроля помещали в 96-луночный планшет и перемешивали. Планшет инкубировали в течение 18-22 часов при 37°C и определяли рост бактерий, измеряя значения OD₆₀₀ в лунках. Определяли MIC (минимальная ингибирующая концентрация), представляющую собой концентрацию белка в лунке, которая демонстрировала такое же значение OD₆₀₀, что и контроль, не содержащий бактерий.

Таблица 1: Минимальная ингибирующая концентрация тестируемых слитых белков

Минимальная ингибирующая концентрация (MIC; мкг/мл)

Бактериальный штамм	SEQ ID NO:45	SEQ ID NO:32
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	25	≤5

Слияние Сесропин А (*A. aegypti*) с эндолизином Lys394 (SEQ ID NO:45) показало антибактериальную активность с MIC 25 мкг/мл. У слияния с мутантной последовательностью Сесропин А (*A. aegypti*) (SEQ ID NO:32) MIC была значительно ниже. Не более 5 мкг/мл означает, что уже при (самой низкой) начальной концентрации рост бактерий не наблюдался. Более низкие концентрации не тестировали, то есть фактическая MIC может быть даже ниже, чем 5 мкг/мл. Создание варианта Сесропин А (*A. aegypti*), соответствующего требованиям к мотиву последовательности по настоящему изобретению, таким образом, улучшало антибактериальную активность исходного антимикробного пептида.

Пример 2: Улучшение антибактериальной активности не зависит от эндолизиновой группировки

Чтобы проверить, является ли увеличение антибактериальной активности уникальным для комбинации пептида и эндолизина, использованной в примере 1, автор изобретения протестировал те же пептиды (т.е. SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 44) в слиянии с другим эндолизином, OBPgpLys. Полученные полипептиды (SEQ ID NO: 46 и SEQ ID NO: 33) тестировали по существу, как описано в примере 1, но на бактериях *P. aeruginosa* PAO1.

Таблица 2: Минимальная ингибирующая концентрация тестируемых слитых белков

Бактериальный штамм	Минимальная ингибирующая концентрация (MIC; мкг/мл)	
	SEQ ID NO:46	SEQ ID NO:33
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	17,5	12,5

Слияние Сесропин А (*A. aegypti*) с эндолизином OBPgpLys (SEQ ID NO:46) показало антибактериальную активность с MIC 17,5 мкг/мл. У слияния с мутантной последовательностью Сесропин А (*A. aegypti*) (SEQ ID NO:33) MIC была значительно ниже (12,5 мкг/мл). Следовательно, улучшение антибактериальной активности не зависит от последовательности используемого эндолизина.

Пример 3: Адаптация пептида BMAP-28 к мотиву последовательности по настоящему изобретению увеличивает антибактериальную активность

BMAP-28, бычий пептид семейства кателицидинов (GGLRSLGRKILRAWKKYGPIIVPIIRIG; SEQ ID NO: 47), был слит с производным эндолизина KZ144 (SEQ ID NO: 25) с получением слитого белка, содержащего SEQ ID NO: 48. Параллельно был создан аналогичный слитый белок, в котором последовательность пептида BMAP-28 была мутирована в двух положениях (пептид: RGLRRLGRKILRAWKKYGPIIVPIIRIG; SEQ ID NO: 12) и слита с тем же производным эндолизина KZ144 (слитый белок: SEQ ID NO: 34). Благодаря введению двух аминокислот аргининов в N-концевую область пептида BMAP-28, указанная последовательность теперь соответствовала мотиву последовательности по настоящему изобретению. В обоих слитых белках тестировали их антибактериальную активность в отношении бактерий *E.coli*.

Бактерии выращивали в среде (Лурия-Бертани) и разбавляли 1:10 в среде Мюллера-Хинтона. При оптической плотности OD₆₀₀ примерно 0,6 бактерии разбавляли в той же среде 1:10 с последующим

разбавлением 1:500. Белковый буфер (20 mM HEPES, 500 mM NaCl, pH 7,4) и белки пипетировали в 96-луночный планшет, используя разные концентрации белков и конечный объем 20 мкл, включая конечную концентрацию EDTA 500 мкМ. 180 мкл бактериальных клеток или среды (Мюллера-Хинтона) в качестве контроля помещали в 96-луночный планшет и перемешивали. Планшет инкубировали в течение 18-22 часов при 37°C и определяли рост бактерий, измеряя значения OD₆₀₀ в лунках. Была определена MIC, которая представляет собой концентрацию белка в лунке, соответствующую такому же значению OD₆₀₀, что и в контроле без бактерий.

Таблица 3: Минимальная ингибирующая концентрация тестируемых слитых белков

Бактериальный штамм	Минимальная ингибирующая концентрация (MIC; мкг/мл)	
	SEQ ID NO:48	SEQ ID NO:34
E. coli 03-07953	более 30	10

“Более 30” означает, что для немутантного слитого белка с исходным пептидом BMAP-28 (SEQ ID NO: 48) антибактериальная активность не может наблюдаться до концентрации 30 мкг/мл. Антибактериальная активность при более высоких концентрациях возможна, но не была экспериментально подтверждена. Напротив, значительная антибактериальная активность наблюдалась для слитого белка с мутированным фрагментом пептида BMAP-28, с MIC, равной 10 мкг/мл. Этот результат подчеркивает важность мотива последовательности, идентифицированного автором изобретения, и показывает, что разработка соответствующих полипептидов будет способствовать созданию новых антибактериальных агентов.

Пример 4: Тип положительно заряженной аминокислоты в мотиве последовательности не имеет большого значения.

В следующем эксперименте автор изобретения сравнил слитый белок, состоящий из фрагмента MSI 78 (4-20) (KFLKKAKKFGKAFVKIL; SEQ ID NO: 49) и эндолизина Lys394 (слитый белок: SEQ ID NO: 50), с аналогичным слитым белком, в котором модифицированный пептид MSI 78 (4-20) (RFLRRARRFGRAFVRIL; SEQ ID NO: 13) слит с эндолизином Lys394 (слитый белок: SEQ ID NO: 35). В модифицированном пептиде MSI 78 (4-20) (SEQ ID NO: 13) остатки лизина пептида MSI 78 (4-20) были замещены остатками аргинина. У обоих слитых белков была определена их антибактериальная активность в отношении бактерий E.coli

Бактерии выращивали в среде (Лурия-Бертани) и разбавляли 1:10 в среде Мюллера-Хинтона. При оптической плотности OD₆₀₀ примерно 0,6 бактерии разбавляли в той же среде 1:10 с последующим разбавлением 1: 500. Белковый буфер (20 mM HEPES, 500 mM NaCl, pH 7,4) и белки пипетировали в 96-луночный планшет, используя разные концентрации белков и конечный объем 20 мкл, включая конечную концентрацию EDTA 500 мкМ. 180 мкл бактериальных клеток или среды (Мюллера-Хинтона), в качестве контроля, помещали в 96-луночный планшет и перемешивали. Планшет инкубировали в течение 18-22 часов при 37°C и определяли рост бактерий, измеряя значения OD₆₀₀ в лунках. Определяли MIC, которая представляет собой концентрацию белка в лунке, демонстрирующую такое же значение OD₆₀₀, что и контроль без бактерий.

Таблица 4: Минимальная ингибирующая концентрация тестируемых слитых белков

Бактериальный штамм	Минимальная ингибирующая концентрация (MIC; мкг/мл)	
	SEQ ID NO:50	SEQ ID NO:35
E. coli 03-07953	10,2	6

Оба слитых белка проявляли антибактериальную активность по существу в одинаковом диапазоне. Таким образом, тип положительно заряженной аминокислоты, выбранной из первой группы, в мотиве последовательности по изобретению (например К или R) является маловажным.

Пример 5: Адаптация пептида магаинина к мотиву последовательности по настоящему изобретению улучшает антибактериальную активность

Магаинин, антимикробный пептид из *Xenopus laevis* (GIGKFLHSAKKFGKAFVGEIMNS; SEQ ID NO:51), сливали с эндолизином Lys394 (SEQ ID NO: 24), с получением слитого белка, содержащего SEQ ID NO: 52. Параллельно создавали аналогичный слитый белок. Пептидную последовательность магаинина укорачивали и соединяли с линкером (пептид: GIKKFLKSAKKFGKAFKKVIRGGGGS; SEQ ID NO: 14). Указанную пептидную последовательность сливали с эндолизином Lys394 (слитый белок: SEQ ID NO:36). У обоих слитых белков определяли их антибактериальную активность в отношении бактерий *P. aeruginosa* PAO1, как описано в примере 2.

Таблица 5: Минимальная ингибирующая концентрация тестируемых слитых белков

Бактериальный штамм	Минимальная ингибирующая концентрация (MIC; мкг/мл)	
	SEQ ID NO:52	SEQ ID NO:36
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	более 30	≤5

“Более 30” означает, что для немутантного слитого белка с исходным пептидом магаинин (SEQ ID NO: 52) антибактериальная активность не может наблюдаться вплоть до концентрации 30 мкг/мл. Антибактериальная активность при более высоких концентрациях возможна, но не была подтверждена экспериментально. Напротив, значительная антибактериальная активность наблюдалась для слитого белка с мутированным пептидным фрагментом магаинина с MIC ≤5 мкг/мл.

Пример 6: Адаптация пептида HPA-NT3 к мотиву последовательности по настоящему изобретению увеличивает антибактериальную активность

HPA-NT3, пептид, полученный из *Helicobacter pylori* (FKRLKKLFFKKIWNWK; SEQ ID NO: 53), сливали с производным эндолизина KZ144 (SEQ ID NO: 25) с получением слитого белка, содержащего SEQ ID NO: 54. Параллельно создавали аналогичный слитый белок, в котором пептидная последовательность HPA-NT3 была адаптирована к мотиву последовательности по настоящему изобретению (пептид: KRLKKLAKKIWKWGRRGPGS; SEQ ID NO: 15) и слита с тем же производным эндолизина KZ144 (слитый белок: SEQ ID NO: 37). У обоих слитых белков определяли их антибактериальную активность к бактериям *P. aeruginosa* PAO1, как описано в примере 2.

Таблица 6: Минимальная ингибирующая концентрация тестируемых слитых белков

Минимальная ингибирующая концентрация

Бактериальный штамм	(MIC; мкг/мл)	
	SEQ ID NO:54	SEQ ID NO:37
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	более 18	12,5

“Более 18” означает, что для немутантного слитого белка с исходным пептидом HPA-NT3 (SEQ ID NO: 54) антибактериальная активность не может наблюдаться вплоть до концентрации 18 мкг/мл. Антибактериальная активность при более высоких концентрациях возможна, но не была подтверждена экспериментально. Напротив, антибактериальная активность наблюдалась для слитого белка с мутантным пептидом HPA-NT3 (SEQ ID NO: 15), с MIC, равной 12,5 мкг/мл. Адаптация антимикробного пептида к мотиву по настоящему изобретению, таким образом, увеличивает антибактериальную активность слитого белка.

Пример 7: Создание de novo искусственного антимикробного пептида, начиная с мотива последовательности стонустоксина

В попытке дальнейшего подтверждения пригодности идентифицированного мотива последовательности автор изобретения попытался преобразовать пептидную последовательность, ранее неизвестную в отношении какой-либо антимикробной активности, в полезную пептидную последовательность для слияния с эндолизином. Для этой цели автор изобретения опирался на аминокислоты 298-326 альфа-субъединицы стонустоксина (IPLINDKISNFQQIFQDYMLTVQKKIAEK; SEQ ID NO:55). Стонустоксин является компонентом яда бородавчатки. Воздействие яда включает сильную боль, шок, паралич и гибель ткани. Антимикробная активность, однако, не известна.

SEQ ID NO: 55 сливали с производным эндолизина KZ144 с получением слитого белка, содержащего SEQ ID NO: 56. Параллельно создавали аналогичный слитый белок, в котором последовательность бородавчатки была мутирована в различных положениях (пептид: IKLIKRVIKKFKKIFRKYPLTVKKGIAVG; SEQ ID NO: 16) и слита с тем же производным эндолизина KZ144 (слитый белок: SEQ ID NO: 38). Благодаря замене нескольких аминокислот в последовательности бородавчатки, первые 18 аминокислот указанной последовательности теперь соответствовали мотиву последовательности по настоящему изобретению. В частности, был увеличен процент положительно заряженных аминокислот в указанном мотиве последовательности (с остатками лизина и аргинина) и удален остаток пролина. У обоих слитых белков определяли их антибактериальную активность к бактериям *P. aeruginosa*.

Бактерии выращивали в среде (Лурия-Бертани) и разбавляли 1:10 в среде Мюллера-Хинтона. При оптической плотности OD₆₀₀ примерно 0,6 бактерии разбавляли в той же среде 1:10 с последующим разведением 1: 500. Белковый буфер (20 mM HEPES, 500 mM NaCl, pH 7,4) и белки пипетировали в 96-луночный планшет, используя разные концентрации белков и конечный объем 20 мкл, включая конечную концентрацию EDTA 500 мкМ. 180 мкл бактериальных клеток или среды (Мюллера-Хинтона) в качестве контроля помещали в 96-луночный планшет и перемешивали. Планшет инкубировали в течение 18-22 часов при 37°C и определяли рост бактерий, измеряя значения OD₆₀₀ в лунках. Была определена MIC, которая представляет собой концентрацию белка в лунке, демонстрирующую такое же значение OD₆₀₀, что и контроль без бактерий.

Таблица 7: Минимальная ингибирующая концентрация тестируемых слитых белков

Бактериальный штамм	Минимальная ингибирующая концентрация (MIC; мкг/мл)	
	SEQ ID NO:56	SEQ ID NO:38
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	более 91	17

"Более 91" означает, что для немутантного слитого белок (SEQ ID NO: 56) с исходным пептидом стонустоксином (SEQ ID NO: 55) не могло наблюдаться никакой антибактериальной активности до концентрации 91 мкг/мл. Антибактериальная активность для более высоких концентраций не может быть исключена, но не была проверена. Это и ожидалось, так как фрагмент стонустоксина, использованный в указанном слиянии, не известен какой-либо антимикробной активностью, а один эндолизин KZ144 в принципе неактивен в отношении бактерий *P. aeruginosa*. Напротив, неожиданная антибактериальная активность de novo наблюдалась для слитого белка с мутированным пептидным фрагментом стонустоксина, с MIC всего лишь 17. Этот результат подчеркивает важность мотива последовательности, идентифицированного автором изобретения, и показывает, что разработка соответствующих полипептидов будет способствовать созданию новых антибактериальных агентов.

Пример 8: Создание de novo искусственного антимикробного пептида, начиная с мотива последовательности белка CagL

Автор изобретения создал еще два новых антимикробных пептида de novo на основе аминокислот 26-48 белка CagL из *Helicobacter pylori*. (GLKQLDSTYQETNQQVLKLNDE; SEQ ID NO:57). Белок CagL является специализированным адгезином *Helicobacter pylori*, который нацелен на поверхность пилуса, где он связывается с интегрином $\alpha 5 \beta 1$ и опосредует рецептор-зависимую доставку белка CagA в эпителиальные клетки желудка. О его противомикробной активности не сообщалось.

SEQ ID NO: 57 сливали с производным эндолизина KZ144, с получением слитого белка, содержащего SEQ ID NO: 58. Параллельно создавали два аналогичных слитых белка, в которых последовательность CagL была мутирована в различных положениях (пептид 1: GLKKLKRVRKWKVAVKKVLKLGSGS; SEQ ID NO: 17, включающий C-концевой линкер; пептид 2: GLKVLKKAYRRIRKAVRKILKA; SEQ ID NO: 18) для соответствия мотиву последовательности по настоящему изобретению. Пептиды сливали с тем же производным эндолизина KZ144 (слитые белки: SEQ ID NO:39 и SEQ ID NO:40). В обоих слитых белках определяли антибактериальную активность к бактериям *P. Aeruginosa*, как описано в примере 2.

Таблица 8: Минимальная ингибирующая концентрация тестируемых слитых белков

Бактериальный штамм	Минимальная ингибирующая концентрация (MIC; мкг/мл)		
	SEQ ID NO:58	SEQ ID NO:39	SEQ ID NO:40
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	более 90	12,5	15

Более 90 означает, что для немутированного слитого белка (SEQ ID NO:58) с исходным пептидом CagL (SEQ ID NO:57) антибактериальная активность не могла наблюдаться до концентрации 90 мкг/мл. Это

и ожидалось, так как фрагмент CagL, использованный в указанном слиянии, не известен какой-либо антимикробной активностью, а один эндолизин KZ144 неактивен в отношении *P. aeruginosa*. Напротив, неожиданная антибактериальная активность de novo наблюдалась для обоих слитых белков с мутированным пептидным фрагментом CagL, с MIC, составляющей всего лишь 12,5 и 15 мкг/мл.

Пример 9: Создание de novo искусственного антимикробного пептида, начиная с мотива последовательности белка IE1

Следующий антимикробный пептид был создан de novo на основе аминокислот 178-198 белка IE1 (YKEKFMVCLKQIVQYAVNS; SEQ ID NO:59). IE1 происходит от цитомегаловируса человека и его антимикробная активность не известна.

Снова SEQ ID NO:59 был слит с производным эндолизина KZ144 с получением слитого белка, содержащего SEQ ID NO: 60. Паралельно был создан слитый белок, в котором последовательность IE1 была мутирована в различных положениях (пептид: YKRAFKKVLKRIRRYAKRS; SEQ ID NO: 19) и слита с тем же производным эндолизина KZ144 (слитый белок: SEQ ID NO: 41). У обоих слитых белков определяли их антибактериальную активность к бактериям *P. Aeruginosa*, как описано в примере 2.

Таблица 9: Минимальная ингибирующая концентрация тестируемых слитых белков

Бактериальный штамм	Минимальная ингибирующая концентрация (MIC; мкг/мл)	
	SEQ ID NO: 60	SEQ ID NO:41
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	более 30	15-20

"Более 30" означает, что для немутированного слитого белка (SEQ ID NO: 60) с исходным пептидом IE1 (SEQ ID NO: 59) антибактериальная активность не могла наблюдаться до концентрации 30 мкг/мл. Антибактериальная активность для более высоких концентраций не может быть исключена, но не была проверена и не ожидалась, так как какая-либо антимикробная активность фрагмента IE1, использованного в указанном слиянии, неизвестна. Напротив, неожиданная антибактериальная активность de novo наблюдалась для слитого белок с мутированным фрагментом пептида IE1, с MIC в интервале от 15 до 20 мкг/мл.

Пример 10: Создание дополнительного слитого белка, содержащего пептид с мотивом последовательности по настоящему изобретению

Автор изобретения также создал еще один слитый белок, содержащий последовательность SEQ ID NO: 42. Указанный слитый белок содержит пептид в соответствии с настоящим изобретением (SEQ ID NO: 20). У слитого белка определяли антибактериальную активность к бактериям *P. Aeruginosa*, как показано в примере 2.

Таблица 10: Минимальная ингибирующая концентрация исследуемого слитого белка

Бактериальный штамм	Минимальная ингибирующая концентрация (MIC; мкг/мл)
	SEQ ID NO:42
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	менее или равная 5

Значительная антибактериальная активность наблюдалась для слитого белка с новым пептидом, с MIC менее или равной 5 мкг/мл.

Пример 11: Создание дополнительных вариантов слитого белка, содержащих пептид с мотивом последовательности по настоящему изобретению

Автор изобретения создал дополнительные слитые белки, содержащие пептид, соответствующий мотиву настоящего изобретения (SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68). У слитых белков определяли антибактериальную активность к бактериям *E. coli*.

Таблица 11: Минимальная ингибирующая концентрация тестируемых слитых белков

Бактериальный штамм	Минимальная ингибирующая концентрация (MIC; мкг/мл)			
	SEQ ID NO: 61	SEQ ID NO: 62	SEQ ID NO: 63	SEQ ID NO: 64
<i>E. coli</i> DSMZ 11753	≤5	≤5	≤5	≤5
Бактериальный штамм	SEQ ID NO: 65	SEQ ID NO: 66	SEQ ID NO: 67	SEQ ID NO: 68
<i>E. coli</i> DSMZ 11753	≤5	7,5	≤5	≤5

Антибактериальная активность наблюдалась у всех слитых белков.

Пример 12: Адаптация пептида MW2 (Briers et al) к мотиву последовательности по настоящему изобретению

В работе Briers et al. (MBio. 2014;5(4):e01379-14) сообщалось о создании различных слитых белков, в том числе пептида MW2 (SEQ ID NO: 69). Указанный пептид не соответствует мотиву последовательности по настоящему изобретению. Начав с этого пептида, автор изобретения создал слитый белок, содержащий указанный пептид и производное эндолизина KZ144 (SEQ ID NO: 25), полученный слитый белок соответствовал SEQ ID NO: 70. Кроме того, автор изобретения создал ряд производных пептида SEQ ID NO: 69 (SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73 и SEQ ID NO: 74). Эти производные соответствовали мотиву последовательности по настоящему изобретению, тогда как MW2 не соответствовал. Полученные слитые белки представлены в SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77 и SEQ ID NO: 78. У слитых белков определяли антибактериальную активность к бактериям *P. aeruginosa* PAO1, как описано в примере 2.

Таблица 12: Минимальная ингибирующая концентрация исследуемых слитых белков

Бактериальный штамм	Минимальная ингибирующая концентрация (MIC; мкг/мл)				
	SEQ ID NO: 70	SEQ ID NO: 75	SEQ ID NO: 76	SEQ ID NO: 77	SEQ ID NO: 78
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	>30	10	10	25	20

Антибактериальная активность наблюдалась у всех слитых белков. Следует отметить, что слитые белки на основе четырех производных пептида MW2 (т.е. адаптированных к мотиву последовательности по

настоящему изобретению) обладают улучшенной антибактериальной активностью по сравнению с слитым белок с пептидом MW2 “дикого типа”.

Пример 13: Применение пептида магаинин в комбинации с еще одной пептидогликангидролазой

Автор изобретения также соединил два пептида из примера 5 с еще одной пептидогликангидролазой, а именно с белком базальной пластинки хвоста вибриофага ICP1 (SEQ ID NO: 27). Полученные слитые белки содержали последовательности SEQ ID NO: 79 и SEQ ID NO: 43. Слитые белки были протестированы на антибактериальную активность в отношении бактерий E. coli.

Таблица 13: Минимальная ингибирующая концентрация тестируемых слитых белков

Бактериальный штамм	Минимальная ингибирующая концентрация (MIC; мкг/мл)	
	SEQ ID NO: 79	SEQ ID NO:43
E. coli DSMZ 11753	1	≤0,5

Оба полученных слитых белка демонстрируют антибактериальную активность. Пептид, соответствующий мотиву последовательности по настоящему изобретению (SEQ ID NO: 14), снова обеспечивает лучшую активность, чем пептид дикого типа (SEQ ID NO: 51).

Пример 14: Другие пептиды

В последней серии экспериментов автор изобретения создал три дополнительных слитых белка, каждый из которых содержал последовательность эндолизина и пептид, соответствующий мотиву последовательности по настоящему изобретению. Этими тремя пептидами были SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 23. Все три полученных слитые белка показали превосходную антибактериальную активность.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> SASINAPAS CO.,LTD.

<120> Modified peptides

<130> [FILL IN]

<150> PCT/IB2016/057193

<151> 2016-11-30

<160> 79

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 29

<212> PRT

<213> unknown

<220>

<223> SMAP-29 ОВЦЫ

<400> 1

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> 2

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> последовательность, которая не является частью мотива последовательности, если

мотив последовательности содержит по меньшей мере три несмежных остатков гистидина

<400> 2

Ala Ala Leu Thr His
1 5

<210> 3

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Пример парного блока аминокислот первой группы
внутри последовательности

<400> 3

Leu Lys Arg Glu
1

<210> 4
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Пример блока триплета аминокислот пераой группы
внутри последовательности

<400> 4

Leu Lys Arg Lys Glu
1 5

<210> 5
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Пример N-концевого триплетного блока аминокислот первой
группы
<400> 5

Lys Arg Lys Glu
1

<210> 6
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Пример C-концевого триплетного блока аминокислот первой
группы
<400> 6

Leu Lys Arg Lys
1

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Пример последовательности, исключенной из мотива последовательности,
если присутствует триплет аминокислот первой группы
<400> 7

Arg Arg Arg Gly Leu Arg His
1 5

<210> 8
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>

<223> Пример последовательности, недопустимой в мотиве последовательности

<400> 8

Lys Arg Lys Lys
1

<210> 9

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Пример последовательности, недопустимой в мотиве последовательности

<400> 9

Arg Arg Arg Arg
1

<210> 10

<211> 18

<212> PRT

<213> Unknown

<220>

<223> SMAP-29 овцы;ак 1-18

<400> 10

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

Tyr Gly

<210> 11

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Мутированный пептид, происходящий из Сесропин А (A. aegypti)

<400> 11

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

Val Phe Lys Ala Ala Lys Lys Ala Leu
20 25

<210> 12

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Мутированный пептид, происходящий из ВМАР-28

<400> 12

Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Leu Arg Ala Trp Lys Lys
1 5 10 15

Tyr Gly Pro Ile Ile Val Pro Ile Ile Arg Ile Gly
20 25

<210> 13

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> мутированный пептид, происходящий из пептида MSI-78 (4-20)

<400> 13

Arg Phe Leu Arg Arg Ala Arg Arg Phe Gly Arg Ala Phe Val Arg Ile
1 5 10 15

Leu

<210> 14

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> мутированный пептид, происходящий из магаинина

<400> 14

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

Lys Lys Val Ile Arg Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 15

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> мутированный пептид, происходящий из пептида HPA-NT3

<400> 15

Lys Arg Leu Lys Lys Leu Ala Lys Lys Ile Trp Lys Trp Gly Arg Arg
1 5 10 15

Gly Pro Gly Ser
20

<210> 16
<211> 29
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> мутированный пептид, происходящий из аминокислот 298-326
альфа-субъединицы стонустоксина

<400> 16

Ile Lys Leu Ile Lys Arg Val Ile Lys Lys Phe Lys Lys Ile Phe Arg
1 5 10 15

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

<210> 17
<211> 27
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> мутированный пептид, происходящий из аминокислот 26-48 белка CagL

<400> 17

Gly Leu Lys Lys Leu Lys Arg Val Tyr Arg Lys Trp Val Lys Ala Val
1 5 10 15

Lys Lys Val Leu Lys Leu Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 18
<211> 22
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> мутированный пептид, происходящий из аминокислот 26-48 белка CagL

<400> 18

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

Arg Lys Ile Leu Lys Ala
20

<210> 19
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> мутированный пептид, происходящий из аминокислот 178-198 белка IE1

<400> 19

Tyr Lys Arg Ala Phe Lys Lys Val Leu Lys Arg Ile Arg Arg Tyr Ala
1 5 10 15

Lys Arg Ser

<210> 20

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> синтетическая последовательность

<400> 20

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

Val Leu Lys Thr Ala Lys Gly Val
20

<210> 21

<211> 20

<212> PRT

<213> unknown

<220>

<223> CAP18AA

<400> 21

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

Leu Lys Lys Ile
20

<210> 22

<211> 20

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> синтетическая последовательность

<400> 22

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

Leu Lys Lys Ile
20

<210> 23
<211> 29
<212> PRT
<213> artificial sequence

<220>
<223> синтетическая последовательность

<400> 23

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

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

<210> 24
<211> 136
<212> PRT
<213> Unknown

<220>
<223> S394 эндолизин без N-концевого метионина
<400> 24

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

Pro Glu Leu Gln Lys Val Ala Arg Arg Ala Leu Glu Leu Ser Pro Tyr
20 25 30

Asp Phe Thr Ile Val Gln Gly Ile Arg Thr Val Ala Gln Ser Ala Gln
35 40 45

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

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

Ile Asp Trp Lys Asp Leu Glu Ala Phe Trp Ala Val Lys Lys Ala Phe
85 90 95

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

Trp Asn Ser Ser Gly Asp Tyr His Asp Glu Ile Asp Arg Gly Thr Tyr
115 120 125

Asp Gly Gly His Val Glu Leu Val
130 135

<210> 25
<211> 259
<212> PRT
<213> artificial sequence

<220>

<223> Мутированный KZ144 с C14S, C23S и C50S, без N-концевого метионина

<400> 25

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

Thr Leu Leu Asn Leu Ser 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

Ser 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> 327
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> фрагмент OBPgpLYS

<400> 26

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

Leu Ala Ser Leu Ser Leu Tyr Gly Gly Arg Ile Asp Gly Leu Phe Gly
20 25 30

Glu Lys Cys Arg Gly Ala Ile Ile Leu Met Leu Asn Lys Val Tyr Pro
35 40 45

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

Val Phe Thr Phe Leu Gln Thr Ala Leu Ala Gly Val Gly Leu Tyr Thr
65 70 75 80

Ile Thr Ile Asp Gly Lys Trp Gly Gly Thr Ser Gln Gly Ala Ile Asp
85 90 95

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

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

Ile Glu Gln Leu Arg Ala Met Leu Pro Thr Asp Arg Gln Gly Tyr Ala
130 135 140

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

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

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

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

Phe Lys Gly Arg Gly Leu Leu Gln Ile Thr Gly Arg Leu Asn Tyr Val
210 215 220

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

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

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

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

Val Asn Gly Tyr Ala Lys Gln Ala Asn Pro Tyr Tyr Pro Asn Arg Asp
290 295 300

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

Lys Lys Ala Leu Gly Ile Val
325

<210> 27
<211> 237
<212> PRT
<213> unknown

<220>
<223> Белок базальной пластинки хвоста вибрио фага ICP1 без N-концевого метионина

<400> 27

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

Tyr Leu Thr Ala Leu Gly Tyr Asp Thr Lys Gly Val Glu Gly Thr Phe
20 25 30

Glu Gly Gly Thr Glu Ser Ala Val Lys Ala Phe Gln Lys Asp Met Ser

35

40

45

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

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

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

Lys Gly Glu Lys His Asn Pro Arg Val Val Gln Tyr Phe Lys Asp Ala
100 105 110

His Ser Ser Trp Phe Thr Asp Asp Glu Thr Pro Trp Cys Ala Ala Ala
115 120 125

Val Ser Ser Trp Leu Glu Arg Ala Gly Ile Arg Ser Val Arg Ser Ala
130 135 140

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

Phe Gly Ala Ile Val Val Leu Glu Arg Gly Ala Asn Ser Gly His Val
165 170 175

Gly Phe Val Asn Gly Val Thr Ala Asp Gly Lys Gln Ile Lys Val Leu
180 185 190

Gly Gly Asn Gln Ser Asp Ser Val Asn Glu Arg Met Phe Gln Val Thr
195 200 205

Arg Val Leu Gly Tyr Arg Gln Pro Glu Gly Phe Val Leu Pro Pro Cys
210 215 220

Pro Ile Val Gly Lys Gly Glu Leu Ser Lys Ser Glu Ala
225 230 235

<210> 28

<211> 4

<212> PRT

<213> artificial

<220>

<223> линкер

<400> 28

Gly Ala Gly Ala
1

<210> 29
<211> 8
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> линкер

<400> 29

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala
1 5

<210> 30
<211> 12
<212> PRT
<213> artificial

<220>
<223> линкер

<400> 30

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala
1 5 10

<210> 31
<211> 6
<212> PRT
<213> artificial sequence

<220>
<223> His-Tag (6x)

<400> 31

His His His His His His
1 5

<210> 32
<211> 169
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> мутированный пептид, происходящий из Cecropin A (A. aegypti), соединенный
с
эндолизином S394

<400> 32

Met Gly Gly Leu Lys Lys Leu Gly Lys Lys Leu Lys Lys Ala Gly Lys
1 5 10 15

Arg Val Phe Lys Ala Ala Lys Lys Ala Leu Gly Gly Gly Ser Gly Ser
20 25 30

Met Ser Phe Lys Phe Gly Lys Asn Ser Glu Lys Gln Leu Ala Thr Val

35

40

45

Lys Pro Glu Leu Gln Lys Val Ala Arg Arg Ala Leu Glu Leu Ser Pro
 50 55 60

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

Gln Asn Ile Ala Asn Gly Thr Ser Phe Leu Lys Asp Pro Ser Lys Ser
 85 90 95

Lys His Val Thr Gly Asp Ala Ile Asp Phe Ala Pro Tyr Ile Asn Gly
 100 105 110

Lys Ile Asp Trp Lys Asp Leu Glu Ala Phe Trp Ala Val Lys Lys Ala
 115 120 125

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

Asp Trp Asn Ser Ser Gly Asp Tyr His Asp Glu Ile Asp Arg Gly Thr
 145 150 155 160

Tyr Asp Gly Gly His Val Glu Leu Val
 165

<210> 33

<211> 355

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> мутированный пептид, происходящий из Cecropin A (A. aegypti), соединенный
 с
 эндолизином OBPgpLys

<400> 33

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

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

Lys Asn Ala Ser Ile Ile Met Ser Ile Gln Arg Thr Leu Ala Ser Leu
 35 40 45

Ser Leu Tyr Gly Gly Arg Ile Asp Gly Leu Phe Gly Glu Lys Cys Arg
 50 55 60

Gly Ala Ile Ile Leu Met Leu Asn Lys Val Tyr Pro Asn Phe Ser Thr

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

325

330

335

His Met Lys Glu Arg Val Gln Met Leu Ala Val Thr Lys Lys Ala Leu
 340 345 350

Gly Ile Val
 355

<210> 34

<211> 290

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> мутированный пептид, происходящий из BMAP-28, соединенный с мутированным
 KZ144
 с C14S, C23S и C50S

<400> 34

Met Arg Gly Leu Arg Arg Leu Gly Arg Lys Ile Leu Arg Ala Trp Lys
 1 5 10 15

Lys Tyr Gly Pro Ile Ile Val Pro Ile Ile Arg Ile Gly Gly Ser Lys
 20 25 30

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

Leu Leu Asn Leu Ser 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 Ser
 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 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

65				70				75				80			
Ser	Phe	Leu	Lys	Asp	Pro	Ser	Lys	Ser	Lys	His	Val	Thr	Gly	Asp	Ala
				85					90					95	
Ile	Asp	Phe	Ala	Pro	Tyr	Ile	Asn	Gly	Lys	Ile	Asp	Trp	Lys	Asp	Leu
				100					105					110	
Glu	Ala	Phe	Trp	Ala	Val	Lys	Lys	Ala	Phe	Glu	Gln	Ala	Gly	Lys	Glu
				115					120					125	
Leu	Gly	Ile	Lys	Leu	Arg	Phe	Gly	Ala	Asp	Trp	Asn	Ser	Ser	Gly	Asp
				130					135					140	
Tyr	His	Asp	Glu	Ile	Asp	Arg	Gly	Thr	Tyr	Asp	Gly	Gly	His	Val	Glu
				145					150					155	160
Leu	Val														

100

105

110

Trp Lys Asp Leu Glu Ala Phe Trp Ala Val Lys Lys Ala Phe Glu Gln
 115 120 125

Ala Gly Lys Glu Leu Gly Ile Lys Leu Arg Phe Gly Ala Asp Trp Asn
 130 135 140

Ser Ser Gly Asp Tyr His Asp Glu Ile Asp Arg Gly Thr Tyr Asp Gly
 145 150 155 160

Gly His Val Glu Leu Val
 165

<210> 37

<211> 282

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> мутированный пептид, происходящий из пептида HPA-NT3, соединенный
 с мутированным KZ144 с C14S, C23S и C50S

<400> 37

Met Lys Arg Leu Lys Lys Leu Ala Lys Lys Ile Trp Lys Trp Gly Arg
 1 5 10 15

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

Asp Glu Val Ser Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Ser 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 Ser 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> 38

<211> 291

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> мутированный пептид, происходящий из аминокислот 298-326
альфа-субъединицы стонустоксина, соединенный с мутированным KZ144
с C14S, C23S и C50S

<400> 38

Met Ile Lys Leu Ile Lys Arg Val Ile Lys Lys Phe Lys Lys Ile Phe
1 5 10 15

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

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

Thr Leu Leu Asn Leu Ser 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

Ser 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
290

<210> 39
<211> 289

<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>

<223> мутированный пептид, происходящий из аминокислот 26-48 белка CagL, соединенный с мутированным KZ144 с C14S, C23S и C50S

<400> 39

Met Gly Leu Lys Lys Leu Lys Arg Val Tyr Arg Lys Trp Val Lys Ala
1 5 10 15

Val Lys Lys Val Leu Lys Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Lys Val
20 25 30

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

Leu Asn Leu Ser 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 Ser 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

<210> 40

<211> 284

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> мутированный пептид, происходящий из аминокислот 26-48 белка CagL,
соединенный с мутированным KZ144 с C14S, C23S и C50S

<400> 40

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

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

Arg Gly Asp Glu Val Ser Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Ser 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 Ser 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> 41

<211> 281

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> мутированный пептид, происходящий из аминокислот 178-198 белка IE1,
соединенный с мутированным KZ144 с C14S, C23S и C50S

<400> 41

Met Tyr Lys Arg Ala Phe Lys Lys Val Leu Lys Arg Ile Arg Arg Tyr
1 5 10 15

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

Glu Val Ser Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Ser 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 Ser 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> 42

<211> 168

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> синтетическая последовательность

<400> 42

Met Gly Phe Phe Lys Lys Ala Trp Arg Lys Val Lys His Ala Gly Arg
1 5 10 15

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

Ser Phe Lys Phe Gly Lys Asn Ser Glu Lys Gln Leu Ala Thr Val Lys
35 40 45

Pro Glu Leu Gln Lys Val Ala Arg Arg Ala Leu Glu Leu Ser Pro Tyr
50 55 60

Asp Phe Thr Ile Val Gln Gly Ile Arg Thr Val Ala Gln Ser Ala Gln
65 70 75 80

Asn Ile Ala Asn Gly Thr Ser Phe Leu Lys Asp Pro Ser Lys Ser Lys
85 90 95

His Val Thr Gly Asp Ala Ile Asp Phe Ala Pro Tyr Ile Asn Gly Lys
100 105 110

Ile Asp Trp Lys Asp Leu Glu Ala Phe Trp Ala Val Lys Lys Ala Phe
115 120 125

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

Trp Asn Ser Ser Gly Asp Tyr His Asp Glu Ile Asp Arg Gly Thr Tyr
145 150 155 160

Asp Gly Gly His Val Glu Leu Val
165

<210> 43

<211> 267

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> мутированный пептид, происходящий из пептида магаинин, соединенный с
белком базальной пластинки хвоста вибрио фага ICP1

<400> 43

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

Phe Lys Lys Val Ile Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Ile Leu
20 25 30

Lys Arg Gly Ser Ser Gly Ala Asp Val Lys Asn Met Gln Glu Tyr Leu
35 40 45

Thr Ala Leu Gly Tyr Asp Thr Lys Gly Val Glu Gly Thr Phe Glu Gly
50 55 60

Gly Thr Glu Ser Ala Val Lys Ala Phe Gln Lys Asp Met Ser Phe Thr
65 70 75 80

Val Val Asp Gly Ile Ile Gly Asn Gln Thr Ala Lys His Leu Val Asp
85 90 95

Met Tyr Tyr Gly Lys Val Val Pro Phe Gly Tyr Val Thr Asn Thr Pro
100 105 110

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

Glu Lys His Asn Pro Arg Val Val Gln Tyr Phe Lys Asp Ala His Ser
130 135 140

Ser Trp Phe Thr Asp Asp Glu Thr Pro Trp Cys Ala Ala Ala Val Ser
145 150 155 160

Ser Trp Leu Glu Arg Ala Gly Ile Arg Ser Val Arg Ser Ala Arg Ala
165 170 175

Arg Asp His Ile Asn Phe Gly Thr Lys Leu Leu Glu Pro Arg Phe Gly
180 185 190

Ala Ile Val Val Leu Glu Arg Gly Ala Asn Ser Gly His Val Gly Phe
195 200 205

Val Asn Gly Val Thr Ala Asp Gly Lys Gln Ile Lys Val Leu Gly Gly
210 215 220

Asn Gln Ser Asp Ser Val Asn Glu Arg Met Phe Gln Val Thr Arg Val
225 230 235 240

Leu Gly Tyr Arg Gln Pro Glu Gly Phe Val Leu Pro Pro Cys Pro Ile
245 250 255

Val Gly Lys Gly Glu Leu Ser Lys Ser Glu Ala
260 265

<210> 44
<211> 36
<212> PRT
<213> Aedes aegypti

<400> 44

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> 45
<211> 184
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>

<223> Cecropin A (A. aegypti), соединенный с эндолизинном S394

<400> 45

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 Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ser Met
35 40 45

Ser Phe Lys Phe Gly Lys Asn Ser Glu Lys Gln Leu Ala Thr Val Lys
50 55 60

Pro Glu Leu Gln Lys Val Ala Arg Arg Ala Leu Glu Leu Ser Pro Tyr
65 70 75 80

Asp Phe Thr Ile Val Gln Gly Ile Arg Thr Val Ala Gln Ser Ala Gln
85 90 95

Asn Ile Ala Asn Gly Thr Ser Phe Leu Lys Asp Pro Ser Lys Ser Lys
100 105 110

His Val Thr Gly Asp Ala Ile Asp Phe Ala Pro Tyr Ile Asn Gly Lys
115 120 125

Ile Asp Trp Lys Asp Leu Glu Ala Phe Trp Ala Val Lys Lys Ala Phe
130 135 140

Glu Gln Ala Gly Lys Glu Leu Gly Ile Lys Leu Arg Phe Gly Ala Asp
145 150 155 160

Trp Asn Ser Ser Gly Asp Tyr His Asp Glu Ile Asp Arg Gly Thr Tyr
165 170 175

Asp Gly Gly His Val Glu Leu Val
180

<210> 46

<211> 366

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Cecropin A (A. aegypti), соединенный с эндолизином OBPgpLys

<400> 46

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 Asn Ser Glu Lys Asn Ala Ser Ile
35 40 45

Ile Met Ser Ile Gln Arg Thr Leu Ala Ser Leu Ser Leu Tyr Gly Gly
50 55 60

Arg Ile Asp Gly Leu Phe Gly Glu Lys Cys Arg Gly Ala Ile Ile Leu
65 70 75 80

Met Leu Asn Lys Val Tyr Pro Asn Phe Ser Thr Asn Lys Leu Pro Ser
85 90 95

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

Ala Gly Val Gly Leu Tyr Thr Ile Thr Ile Asp Gly Lys Trp Gly Gly
115 120 125

Thr Ser Gln Gly Ala Ile Asp Ala Leu Val Lys Ser Tyr Arg Gln Ile
130 135 140

Thr Glu Ala Glu Arg Ala Gly Ser Thr Leu Pro Leu Gly Leu Ala Thr
145 150 155 160

Val Met Ser Lys His Met Ser Ile Glu Gln Leu Arg Ala Met Leu Pro
165 170 175

Thr Asp Arg Gln Gly Tyr Ala Glu Val Tyr Ile Asp Pro Leu Asn Glu
180 185 190

Thr Met Asp Ile Phe Glu Ile Asn Thr Pro Leu Arg Ile Ala His Phe
195 200 205

Met Ala Gln Ile Leu His Glu Thr Ala Cys Phe Lys Tyr Thr Glu Glu
210 215 220

Leu Ala Ser Gly Lys Ala Tyr Glu Gly Arg Ala Asp Leu Gly Asn Thr
225 230 235 240

Arg Pro Gly Asp Gly Pro Leu Phe Lys Gly Arg Gly Leu Leu Gln Ile
245 250 255

Thr Gly Arg Leu Asn Tyr Val Lys Cys Gln Val Tyr Leu Arg Glu Lys
260 265 270

Leu Lys Asp Pro Thr Phe Asp Ile Thr Ser Ser Val Thr Cys Ala Gln
275 280 285

Gln Leu Ser Glu Ser Pro Leu Leu Ala Ala Leu Ala Ser Gly Tyr Phe
290 295 300

Trp Arg Phe Ile Lys Pro Lys Leu Asn Glu Thr Ala Asp Lys Asp Asp
305 310 315 320

Ile Tyr Trp Val Ser Val Tyr Val Asn Gly Tyr Ala Lys Gln Ala Asn
325 330 335

Pro Tyr Tyr Pro Asn Arg Asp Lys Glu Pro Asn His Met Lys Glu Arg
340 345 350

Val Gln Met Leu Ala Val Thr Lys Lys Ala Leu Gly Ile Val
355 360 365

<210> 47
<211> 28
<212> PRT
<213> Unknown

<220>
<223> ВМАР-28, бычий

<400> 47

Gly Gly Leu Arg Ser Leu Gly Arg Lys Ile Leu Arg Ala Trp Lys Lys
1 5 10 15

Tyr Gly Pro Ile Ile Val Pro Ile Ile Arg Ile Gly
20 25

<210> 48

<211> 290

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> BMAP-28, соединенный с мутированным KZ144 с C14S, C23S и C50S

<400> 48

Met Gly Gly Leu Arg Ser Leu Gly Arg Lys Ile Leu Arg Ala Trp Lys
1 5 10 15

Lys Tyr Gly Pro Ile Ile Val Pro Ile Ile Arg Ile Gly Gly Ser Lys
20 25 30

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

Leu Leu Asn Leu Ser 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 Ser
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> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> пептид MSI-78 (4-20)

<400> 49

Lys Phe Leu Lys Lys Ala Lys Lys Phe Gly Lys Ala Phe Val Lys Ile
1 5 10 15

Leu

<210> 50
<211> 162
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> пептид MSI-78 (4-20), соединенный с эндолизином S394

<400> 50

Met Lys Phe Leu Lys Lys Ala Lys Lys Phe Gly Lys Ala Phe Val Lys
1 5 10 15

Ile Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Ser Phe Lys Phe Gly Lys
20 25 30

Asn Ser Glu Lys Gln Leu Ala Thr Val Lys Pro Glu Leu Gln Lys Val
35 40 45

Ala Arg Arg Ala Leu Glu Leu Ser Pro Tyr Asp Phe Thr Ile Val Gln
50 55 60

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

Ser Phe Leu Lys Asp Pro Ser Lys Ser Lys His Val Thr Gly Asp Ala
85 90 95

Ile Asp Phe Ala Pro Tyr Ile Asn Gly Lys Ile Asp Trp Lys Asp Leu
100 105 110

Glu Ala Phe Trp Ala Val Lys Lys Ala Phe Glu Gln Ala Gly Lys Glu
115 120 125

Leu Gly Ile Lys Leu Arg Phe Gly Ala Asp Trp Asn Ser Ser Gly Asp
130 135 140

Tyr His Asp Glu Ile Asp Arg Gly Thr Tyr Asp Gly Gly His Val Glu
145 150 155 160

Leu Val

<210> 51
<211> 23
<212> PRT
<213> *Xenopus laevis*

<400> 51

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> 52
<211> 163
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>

<223> Пептид магаинин, соединенный с эндолизином S394

<400> 52

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

Phe Val Gly Glu Ile Met Asn Ser Gly Ser Met Ser Phe Lys Phe Gly
20 25 30

Lys Asn Ser Glu Lys Gln Leu Ala Thr Val Lys Pro Glu Leu Gln Lys
35 40 45

Val Ala Arg Arg Ala Leu Glu Leu Ser Pro Tyr Asp Phe Thr Ile Val
50 55 60

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

Thr Ser Phe Leu Lys Asp Pro Ser Lys Ser Lys His Val Thr Gly Asp
85 90 95

Ala Ile Asp Phe Ala Pro Tyr Ile Asn Gly Lys Ile Asp Trp Lys Asp
100 105 110

Leu Glu Ala Phe Trp Ala Val Lys Lys Ala Phe Glu Gln Ala Gly Lys
115 120 125

Glu Leu Gly Ile Lys Leu Arg Phe Gly Ala Asp Trp Asn Ser Ser Gly
130 135 140

Asp Tyr His Asp Glu Ile Asp Arg Gly Thr Tyr Asp Gly Gly His Val
145 150 155 160

Glu Leu Val

<210> 53
<211> 15
<212> PRT
<213> Helicobacter pylori

<400> 53

Phe Lys Arg Leu Lys Lys Leu Phe Lys Lys Ile Trp Asn Trp Lys
1 5 10 15

<210> 54
<211> 277
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>

<223> Аминокислоты XXX пептида HPA-NT3, соединенного с мутированным KZ144 с C14S, C23S и C50S

<400> 54

Met Phe Lys Arg Leu Lys Lys Leu Phe Lys Lys Ile Trp Asn Trp Lys

1		5		10		15											
Gly	Ser	Lys	Val	Leu	Arg	Lys	Gly	Asp	Arg	Gly	Asp	Glu	Val	Ser	Gln		
			20					25					30				
Leu	Gln	Thr	Leu	Leu	Asn	Leu	Ser	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	Ser	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> 55

<211> 29

<212> PRT

<213> Synanceia verrucosa

<400> 55

Ile Pro Leu Ile His Asp Lys Ile Ser Asn Phe Gln Gln Ile Phe Gln
1 5 10 15

Asp Tyr Met Leu Thr Val Gln Lys Lys Ile Ala Glu Lys
20 25

<210> 56

<211> 291

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Аминокислоты 298-326 альфа-субъединицы стонустоксина, соединенной с
мутированным KZ144 с C14S, C23S и C50S

<400> 56

Met Ile Pro Leu Ile His Asp Lys Ile Ser Asn Phe Gln Gln Ile Phe
1 5 10 15

Gln Asp Tyr Met Leu Thr Val Gln Lys Lys Ile Ala Glu Lys Gly Ser
20 25 30

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

Thr Leu Leu Asn Leu Ser 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

Ser 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
290

<210> 57
<211> 22
<212> PRT
<213> Helicobacter pylori

<400> 57

Gly Leu Lys Gln Leu Asp Ser Thr Tyr Gln Glu Thr Asn Gln Gln Val
1 5 10 15

Leu Lys Asn Leu Asp Glu
20

<210> 58
<211> 284
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>

<223> Аминокислоты 26-48 белка CagL, соединенного с мутированным KZ144 с C14S, C23S и C50S

<400> 58

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

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

Arg Gly Asp Glu Val Ser Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Ser 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 Ser 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> 59
<211> 19
<212> PRT
<213> Human cytomegalovirus

<400> 59

Tyr Lys Glu Lys Phe Met Val Cys Leu Lys Gln Ile Val Gln Tyr Ala
1 5 10 15

Val Asn Ser

<210> 60
<211> 281
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Аминокислоты 178-198 белка IE1, соединенного с мутированным KZ144 с
C14S, C23S и C50S

<400> 60

Met Tyr Lys Glu Lys Phe Met Val Cys Leu Lys Gln Ile Val Gln Tyr
1 5 10 15

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

Glu Val Ser Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Ser 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 Ser 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> 61

<211> 278

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> синтетическая последовательность

<400> 61

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

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

[illegible]

<210> 62
<211> 286
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> синтетическая последовательность

<400> 62

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

Lys Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ser Lys Val Leu Arg Lys
20 25 30

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

Ser 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 Ser 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> 63
 <211> 279
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> синтетическая последовательность

<400> 63

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Val Ala Ala His Arg Lys
275

<210> 64
<211> 285
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> синтетическая последовательность

<400> 64

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

Lys Tyr Lys Pro Lys Pro Lys Pro Gly Ser Lys Val Leu Arg Lys Gly
20 25 30

Asp Arg Gly Asp Glu Val Ser Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Ser
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	Ser	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> 65
 <211> 280
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <223> синтетическая последовательность

<400> 65

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

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

Val Ser Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Ser 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 Ser 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> 66

<211> 284

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> синтетическая последовательность

<400> 66

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

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

Arg Gly Asp Glu Val Ser Gln Leu Gln Thr Leu Leu Asn Leu Ser 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 Ser 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> 67
 <211> 280
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

 <220>
 <223> синтетическая последовательность

 <400> 67

Met	Gly	Arg	Lys	Ile	Ala	His	Gly	Val	Lys	Lys	Tyr	Gly	Arg	Gly	Leu	1	5	10	15
Arg	Arg	Leu	Gly	Ser	Lys	Val	Leu	Arg	Lys	Gly	Asp	Arg	Gly	Asp	Glu	20	25	30	
Val	Ser	Gln	Leu	Gln	Thr	Leu	Leu	Asn	Leu	Ser	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	Ser	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> 68

<211> 291

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> синтетическая последовательность

<400> 68

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

Arg Arg Leu 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	Ser	Gln	Leu	Gln	35	40	45	
Thr	Leu	Leu	Asn	Leu	Ser	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
Ser	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
290

<210> 69
<211> 25
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> синтетическая последовательность; MW2

<400> 69

Gly Lys Pro Gly Trp Leu Ile Lys Val Ala Leu Lys Phe Lys Lys Leu
1 5 10 15

Ile Arg Arg Pro Leu Lys Arg Leu Ala
20 25

<210> 70
<211> 295
<212> PRT
<213> artificial sequence

<220>
<223> пептид MW2, соединенный с мутированным KZ144 с C14S, C23S и C50S

<400> 70

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

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

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

Leu Ser 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 Ser 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 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> 71

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> синтетическая последовательность; мутант MW2 (I7R;L11R;P20G)

<400> 71

Gly Lys Pro Gly Trp Leu Arg Lys Val Ala Arg Lys Phe Lys Lys Leu
1 5 10 15

Ile Arg Arg Gly Leu Lys Arg Leu Ala
20 25

<210> 72

<211> 25

<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> синтетическая последовательность; мутант MW2 (P3V;I7R;L11R)

<400> 72

Gly	Lys	Val	Gly	Trp	Leu	Arg	Lys	Val	Ala	Arg	Lys	Phe	Lys	Lys	Leu
1			5						10					15	

Ile	Arg	Arg	Pro	Leu	Lys	Arg	Leu	Ala
			20					25

<210> 73
<211> 25
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> синтетическая последовательность; мутант MW2 (I7R)

<400> 73

Gly	Lys	Pro	Gly	Trp	Leu	Arg	Lys	Val	Ala	Leu	Lys	Phe	Lys	Lys	Leu
1			5						10					15	

Ile	Arg	Arg	Pro	Leu	Lys	Arg	Leu	Ala
			20					25

<210> 74
<211> 25
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> синтетическая последовательность; мутант MW2 (L11R)

<400> 74

Gly	Lys	Pro	Gly	Trp	Leu	Ile	Lys	Val	Ala	Arg	Lys	Phe	Lys	Lys	Leu
1			5						10					15	

Ile	Arg	Arg	Pro	Leu	Lys	Arg	Leu	Ala
			20					25

<210> 75
<211> 295
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> мутированный пептид, происходящий из пептида MW2, соединенный с мутированным KZ144 с C14S, C23S и C50S

<400> 75

Met	Gly	Lys	Pro	Gly	Trp	Leu	Arg	Lys	Val	Ala	Arg	Lys	Phe	Lys	Lys	1	5	10	15
Leu	Ile	Arg	Arg	Gly	Leu	Lys	Arg	Leu	Ala	Gly	Ser	Lys	Val	Leu	Arg	20	25	30	
Lys	Gly	Asp	Arg	Gly	Asp	Glu	Val	Ser	Gln	Leu	Gln	Thr	Leu	Leu	Asn	35	40	45	
Leu	Ser	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	Ser	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> 76

<211> 295

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> мутированный пептид, происходящий из пептида MW2, соединенный с
мутированным KZ144
с C14S, C23S и C50S

<400> 76

Met Gly Lys Val Gly Trp Leu Arg Lys Val Ala Arg Lys Phe Lys Lys
1 5 10 15

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

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

Leu Ser 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 Ser 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> 77
<211> 295
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> мутированный пептид, происходящий из пептида MW2, соединенный с
мутированным KZ144
с C14S, C23S и C50S

<400> 77

Met Gly Lys Pro Gly Trp Leu Arg Lys Val Ala Leu Lys Phe Lys Lys
1 5 10 15

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

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

Leu Ser 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 Ser 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
290 295

<210> 78

<211> 295

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> мутированный пептид, происходящий из пептида MW2, соединенный с мутированным KZ144 с C14S, C23S и C50S

<400> 78

Met Gly Lys Pro Gly Trp Leu Ile Lys Val Ala Arg Lys Phe Lys Lys
1 5 10 15

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

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

Leu Ser 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 Ser 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> 79

<211> 264

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> пептид магаинин, соединенный с белком базальной пластинки хвоста
вибриофага
ICP1

<400> 79

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

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

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

Gly Tyr Asp Thr Lys Gly Val Glu Gly Thr Phe Glu Gly Gly Thr Glu
50 55 60

Ser Ala Val Lys Ala Phe Gln Lys Asp Met Ser Phe Thr Val Val Asp
65 70 75 80

Gly Ile Ile Gly Asn Gln Thr Ala Lys His Leu Val Asp Met Tyr Tyr
85 90 95

Gly Lys Val Val Pro Phe Gly Tyr Val Thr Asn Thr Pro Trp Val Ser
100 105 110

Glu Ala Ile Glu Asp Tyr Phe Val Ser Glu Ile Lys Gly Glu Lys His
115 120 125

Asn Pro Arg Val Val Gln Tyr Phe Lys Asp Ala His Ser Ser Trp Phe
130 135 140

Thr Asp Asp Glu Thr Pro Trp Cys Ala Ala Val Ser Ser Trp Leu
145 150 155 160

Glu Arg Ala Gly Ile Arg Ser Val Arg Ser Ala Arg Ala Arg Asp His
165 170 175

Ile Asn Phe Gly Thr Lys Leu Leu Glu Pro Arg Phe Gly Ala Ile Val
180 185 190

Val Leu Glu Arg Gly Ala Asn Ser Gly His Val Gly Phe Val Asn Gly
195 200 205

Val Thr Ala Asp Gly Lys Gln Ile Lys Val Leu Gly Gly Asn Gln Ser
210 215 220

Asp Ser Val Asn Glu Arg Met Phe Gln Val Thr Arg Val Leu Gly Tyr
225 230 235 240

Arg Gln Pro Glu Gly Phe Val Leu Pro Pro Cys Pro Ile Val Gly Lys
245 250 255

Gly Glu Leu Ser Lys Ser Glu Ala
260

формула изобретения

1. Слитый белок, содержащий последовательность:

а) пептидогликангидролазы, и

б) пептидную последовательность, гетерологичную по отношению к пептидогликангидролазе, где указанная гетерологичная пептидная последовательность содержит мотив последовательности, который:

1) имеет длину 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот;

2) содержит по меньшей мере 40% и не более 60% аминокислот, выбранных из первой группы аминокислот, состоящей из лизина, аргинина и гистидина,

где каждая аминокислота независимо выбрана из указанной первой группы,

где каждая аминокислота, выбранная из этой первой группы, располагается в указанном мотиве последовательности либо отдельно, попарно вместе с дополнительной аминокислотой, выбранной из первой группы, либо в блоке с 2 дополнительными аминокислотами, выбранными из первой группы, но не находится в блоке с 3 или более аминокислотами, выбранными из первой группы, где по меньшей мере 2 пары аминокислот, выбранных из первой группы, присутствуют в указанном мотиве последовательности, и где в указанном мотиве последовательности присутствует не более одного блока с 3 последовательными аминокислотами, выбранными из первой группы, с дополнительным условием, что если такой блок с 3 аминокислотами первой группы присутствует в указанном мотиве последовательности, тогда аминокислоты в положениях -12, -11, -8, -5, -4, +6, +7, +10, +13 и +14 относительно первой аминокислоты 3-аминокислотного блока, при условии, что соответствующее положение может находиться в указанном мотиве последовательности, не выбраны из указанной первой группы,

3) содержит по меньшей мере 40% и не более 60% аминокислот, выбранных из второй группы аминокислот, состоящей из аланина, глицина, изолейцина, лейцина, фенилаланина, серина, треонина, триптофана, тирозина и валина,

где каждая аминокислота независимо выбрана из указанной второй группы,

где по меньшей мере три разные аминокислоты выбраны из этой второй группы, если сумма аминокислот, выбранных из первой группы и выбранных из второй группы, составляет 100% мотива последовательности;

где мотив последовательности не содержит последовательность AFV, если мотив последовательности содержит по меньшей мере два отдельных несмежных остатка фенилаланина и по меньшей мере одному из этих остатков фенилаланина непосредственно предшествует остаток лизина, и

где мотив последовательности не содержит последовательность AALTH (SEQ ID NO: 2), если этот мотив последовательности содержит по меньшей мере три отдельных, несмежных остатка гистидина,

4) где остальные аминокислоты указанного мотива последовательности, если таковые присутствуют в мотиве, выбраны из третьей группы, состоящей из аспарагина, аспарагиновой кислоты, глутамина, глутаминовой кислоты, метионина или цистеина, где каждая из указанных аминокислот независимо выбрана из указанной третьей группы, и где глутамин может быть выбран только один раз, и где выбор, кроме того, может не включать комбинацию глутамина и глутаминовой кислоты, и

в) где указанный слитый белок не содержит последовательность SEQ ID NO:1.

2. Слитый белок по п. 1, в котором мотив последовательности соответствует одному из мотивов последовательности, изображенных на Фиг. 1, и где “X” означает, что мотив последовательности не имеет в соответствующем положении аминокислоты, выбранной из первой группы.

3. Слитый белок по п. 2, где “X” означает, что мотив последовательности имеет в указанном положении аминокислоту, выбранную из второй группы.

4. Слитый белок по любому из пп. 1-3, где мотив последовательности имеет длину 17, 18 или 19 аминокислот.

5. Слитый белок по любому из пп. 1-4, где аминокислоты, выбранные из третьей группы, выбраны из аспарагина, аспарагиновой кислоты, глутамина и глутаминовой кислоты.

6. Слитый белок по любому из пп. 1-5, где мотив последовательности содержит не более одной аминокислоты, выбранной из третьей группы, предпочтительно мотив последовательности не содержит никакой аминокислоты, выбранной из третьей группы.

7. Слитый белок по любому из пп. 1-6, где мотив последовательности не содержит блок, состоящий из 3 аминокислот первой группы.

8. Слитый белок по любому из пп. 1-7, где пептидная последовательность представляет собой искусственную пептидную последовательность, не встречающуюся в природе.

9. Слитый белок по любому из пп. 1-8, где пептидогликангидролаза представляет собой эндолизин Lys394, KZ144, OBPgpLys или белок базальной пластинки хвоста вибриофага ICP1, в частности, где слитый белок содержит последовательность SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26 или SEQ ID NO:27.

10. Слитый белок по любому из пп. 1-9, где мотив последовательности является спиральным.

11. Слитый белок по любому из пп. 1-10, где остаток пролина находится в пределах 1-5 аминокислотных остатков в направлении N-конца или C-конца от мотива последовательности.

12. Слитый белок по п. 11, в котором указанный остаток пролина расположен между последовательностью пептидогликангидролазы и мотивом последовательности.

13. Слитый белок по любому из пп. 1-12, где мотив последовательности находится в направлении N-конца от последовательности пептидогликангидролазы.

14. Слитый белок по любому из пп. 1-13, который содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 и SEQ ID NO: 43.

15. Полипептид, содержащий последовательность SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22 или SEQ ID NO: 23.

16. Нуклеиновая кислота, кодирующая слитый белок по любому из пп. 1-14 или полипептид по п. 15.

17. Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 16.

18. Бактериофаг, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 16.

19. Клетка-хозяин, содержащая слитый белок по любому из пп. 1-14, полипептид по п. 15, нуклеиновую кислоту по п. 16, вектор по п. 17 и/или бактериофаг по п. 18.

20. Композиция, содержащая слитый белок по любому из пп. 1-14, полипептид по п. 15, нуклеиновую кислоту по п. 16, вектор по п. 17, бактериофаг по п. 18 и/или клетку-хозяина по п. 19.

21. Композиция по п. 20, представляющая собой фармацевтическую композицию, содержащую фармацевтический приемлемый разбавитель, эксципиент или носитель, или где композиция представляет собой косметическую композицию, содержащую приемлемый разбавитель, эксципиент или носитель.

22. Набор, содержащий (1) слитый белок по любому из пп. 1 - 14, полипептид по п. 15, нуклеиновую кислоту по п. 16, вектор по п. 17, бактериофаг по п. 18, клетку-хозяина по п. 19 и/или композицию по любому из пп. 20-21 и дополнительно содержащий (2) пептидогликангидролазу, или нуклеиновую кислоту, вектор, бактериофаг, и/или клетки-хозяева, кодирующие или содержащие, соответственно, указанную пептидогликангидролазу.

23. Слитый белок по любому из пп. 1-14, полипептид по п. 15, нуклеиновая кислота по п. 16, вектор по п. 17, бактериофаг по п. 18, клетка-хозяин по п. 19, композиция по любому из пп. 20-21 или набор по п. 22 для использования в способе лечения организма человека или животного с помощью хирургии или терапии, или в способе диагностики, осуществляемом в отношении организма человека или животного, в частности для использования в способе лечения или предупреждения бактериальных инфекций.

24. Применение слитого белка по любому из пп. 1-14, полипептида по п. 15, нуклеиновой кислоты по п. 16, вектора по п. 17, бактериофага по п. 18, клетки-хозяина по п. 19, композиции по любому из пп. 20-21 или набора по п. 22 в качестве антимикробного средства в пищевых продуктах, кормах или косметических продуктах, или в качестве дезинфицирующего средства.

25. Применение слитого белка по любому из пп. 1-14, полипептида по п. 15, нуклеиновой кислоты по п. 16, вектора по п. 17, бактериофага по п. 18, клетки-хозяина по п. 19, композиции по любому из пп. 20-21 или набора по п. 22 для обработки или предупреждения загрязнения грамотрицательными бактериями пищевых продуктов, оборудования для пищевой промышленности, предприятий по производству пищевой продукции, поверхностей, контактирующих с пищевыми продуктами, кормов, оборудования для производства кормов, поверхностей, контактирующих с кормами, медицинских устройств или поверхностей неодушевленных объектов в больницах, кабинетах врачей и в других медицинских учреждениях.

Фиг. 1

		Положение в мотиве последовательности																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Альтернативы мотива последовательности	1			X	X			X				X			X	X			X		
	2			X	X			X		X	X				X				X		
	3			X				X		X	X				X			X	X		
	4			X			X	X		X					X			X	X		
	5			X			X	X		X				X	X						
	6		X	X			X			X				X	X				X		X
	7		X	X			X			X	X			X				X			X
	8		X				X			X	X			X			X	X			X
	9		X			X	X			X				X			X	X			X
	10		X			X	X			X			X	X			X				X
	11	X	X			X				X			X	X				X		X	X
	12	X	X			X			X	X			X				X	X		X	X
	13	X				X			X	X			X			X	X	X			
	14	X			X	X			X				X				X	X			
	15	X			X	X			X			X	X				X			X	
	16	X			X				X			X	X				X			X	
	17	X			X			X	X			X								X	
	18				X			X	X			X				X				X	

Фиг. 2а

Положение в мотиве последовательности																	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
1		X	X			X				X			X	X			
2		X	X			X			X	X			X				
3		X				X			X	X			X				
4		X			X	X			X				X				
5		X			X	X			X			X	X				
6	X	X			X				X			X	X				
7	X	X			X			X	X			X					
8	X				X			X	X			X			X		
9	X			X	X			X				X			X		
10	X	X		X	X			X			X	X			X		
11	X	X		X				X			X	X			X		
12	X	X		X			X	X			X				X		
13	X			X			X	X			X			X	X		
14	X		X	X			X				X			X	X		
15	X		X	X			X			X	X			X			
16	X		X				X			X	X			X			
17	X		X			X	X			X				X			
18			X			X	X			X			X	X			

Альтернативы мотива последовательности

Фиг. 2b

Положение в мотиве последовательности																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1			X	X			X				X			X	X		
2			X	X			X			X	X			X			
3			X				X			X	X			X			X
4			X			X	X			X				X			X
5			X			X	X			X			X	X			X
6		X	X			X				X			X	X			X
7		X	X			X			X	X			X				X
8		X				X			X	X			X			X	X
9		X			X	X			X				X			X	X
10		X			X	X			X			X	X			X	
11	X	X			X				X			X	X			X	
12	X	X			X			X	X			X				X	
13	X				X			X	X			X			X	X	
14	X			X	X			X				X			X	X	
15	X			X	X			X			X	X			X		
16	X			X				X			X	X			X		
17	X			X			X	X			X				X		
18				X			X	X			X			X	X		

Положение в мотиве последовательности																		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
1		X	X			X				X			X	X			X	
2			X			X			X	X			X				X	
3						X			X	X			X			X	X	
4			X		X	X			X				X			X	X	
5			X		X	X			X			X	X			X		
6	X	X			X				X			X	X			X		
7		X	X		X			X	X			X				X		
8		X			X			X	X			X			X	X		
9		X		X	X			X				X			X	X		
10		X		X	X			X			X	X			X			
11	X	X		X				X			X	X			X			
12	X	X		X			X	X			X				X			
13	X			X			X	X			X			X	X			
14	X		X	X			X				X			X	X			
15	X		X	X			X			X	X			X				
16	X		X				X			X	X			X			X	
17	X		X			X	X			X				X			X	
18			X			X	X			X			X	X			X	
Альтернативы мотива последовательности																		

Фиг. 2с

Положение в мотиве последовательности																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1			X	X			X				X			X	X			X	
2			X	X			X			X	X			X				X	
3			X				X			X	X			X			X	X	
4			X			X	X			X				X			X	X	
5			X			X	X			X			X	X			X		
6		X	X			X				X			X	X			X		
7		X	X			X			X	X			X				X		
8		X				X			X	X			X			X	X		
9		X			X	X			X				X			X	X		
10		X			X	X			X			X	X			X			
11	X	X			X				X			X	X			X			X
12	X	X			X			X	X			X				X			X
13	X				X			X	X			X			X	X			X
14	X			X	X			X				X			X	X			X
15	X			X	X			X			X	X			X				X
16	X			X				X			X	X			X			X	X
17	X			X			X	X			X				X			X	X
18				X			X	X			X			X	X			X	
Альтернативы мотива последовательности																			

Фиг. 2d

Положение в мотиве последовательности																				
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
1		X	X			X				X			X	X			X			
2			X			X			X				X				X			
3			X			X			X	X			X			X	X			
4			X		X	X			X				X			X	X			
5			X		X	X			X			X	X			X				
6	X	X	X		X				X			X	X			X		X		
7	X	X	X		X			X	X			X				X			X	
8		X			X			X	X			X			X	X			X	
9		X		X	X			X				X			X	X			X	
10		X		X	X			X			X	X			X				X	
11	X	X		X				X			X	X			X			X	X	
12	X	X		X			X	X			X				X			X	X	
13	X			X			X	X			X			X	X			X		
14	X		X	X			X				X			X	X			X		
15	X		X	X			X			X	X			X				X		
16	X		X				X			X	X			X			X	X		
17	X		X	X		X	X			X				X			X	X		
18			X			X	X			X			X	X			X			

Альтернативы мотива последовательности

Альтернативы мотива последовательности

Фиг. 2e