(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년09월07일
(11) 등록번호 10-2441211
(24) 등록일자 2022년09월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 9/24 (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 9/2402 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7002048
(22) 출원일자(국제) 2015년06월26일
심사청구일자 2020년06월26일
(85) 번역문제출일자 2017년01월23일
(65) 공개번호 10-2017-0026505
(43) 공개일자 2017년03월08일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/037962
(87) 국제공개번호 WO 2015/200783
국제공개일자 2015년12월30일
(30) 우선권주장
62/017,618 2014년06월26일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
JP2013541333 A*
US20100172918 A1
THE JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES,2013, Vo.208, No.7, pp.1142-1151
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
더 락커펠러 유니버시티
미국 뉴욕 10065 뉴욕 요크 애비뉴 1230
(72) 발명자
피셰티 빈센트
미국 10065 뉴욕주 뉴욕 요크 에비뉴 1230
슈 레이몬드
미국 10065 뉴욕주 뉴욕 요크 에비뉴 1230
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김진희, 김태홍

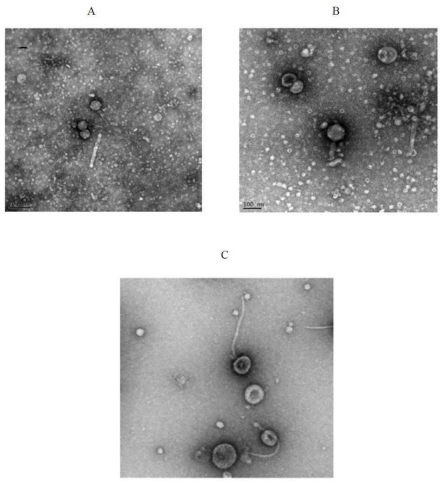
전체 청구항 수 : 총 17 항 심사관 : 한지혜

(54) 발명의 명칭 **아시네토박터 라이신**

(57) 요 약

그램 음성 박테리아에 대하여 사멸 활성을 갖는 아시네토박터 라이신 폴리펩타이드 및 변이체 펩타이드. 아시네토박터 라이신 폴리펩타이드를 사용하여 박테리아 감염 또는 박테리아 콜로니화를 치료하는 방법.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12Y 302/01017 (2013.01)
C07K 2319/00 (2013.01)
(72) 발명자
루드 롤프
미국 10065 뉴욕주 뉴욕 요크 에비뉴 1230
와이너 벤자민
미국 10065 뉴욕주 뉴욕 요크 에비뉴 1230

명 세 서

청구범위

청구항 1

폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 단편으로서, 상기 폴리펩타이드는 서열번호 1 또는 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 폴리펩타이드 단편은 서열번호 43의 아미노산 서열을 포함하며, 상기 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 단편은 아미노산 서열 SQSRESQC(서열번호 44)를 갖는 항미생물 펩타이드에 접합되어 접합된 폴리펩타이드가 얻어지고, 접합된 폴리펩타이드는 항박테리아 활성을 갖는, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 폴리펩타이드 단편이 서열번호 43의 아미노산 서열로 구성되는 것인, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 단편.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 단편의 C-말단이 상기 항미생물 펩타이드에 접합되거나, 상기 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 단편의 N-말단이 상기 항미생물 펩타이드에 접합되는 것인, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 단편.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 접합된 폴리펩타이드가 그램 음성 박테리아에 대하여 항박테리아 활성을 갖는 것인, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 단편.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 접합된 폴리펩타이드가 아시네토박터(*Acinetobacter*) 속의 박테리아에 대해 항박테리아 활성을 갖는 것인, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 단편.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 박테리아가 이. 콜라이(*E. coli*), 피. 애루기노사(*P. aeruginosa*) 또는 에이. 바우마니(*A. baumannii*)인, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드 단편.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 기재된 하나 이상의 접합된 폴리펩타이드, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 완충제, 또는 방부제를 포함하는, 박테리아 감염을 갖는 대상체를 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 박테리아 감염이 상처 감염인, 약제학적 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 국소적으로, 피하로, 정맥내 주사로 또는 경구적으로 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 10

제7항에 있어서, 크림, 연고, 살브(salve), 겔, 로젠지, 스프레이, 또는 에어로졸 형태인, 약제학적 조성물.

청구항 11

박테리아 생물막의 형성을 억제하거나 이를 파괴하는 것을 포함하는 박테리아 감염 치료를 위한 약제학적 조성

물로서, 제1항 또는 제2항에 기재된 하나 이상의 접합된 폴리펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 12

물품을 살균하는 방법으로서, 상기 물품을 제7항에 따른 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 물품을 살균하는 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 물품이 단단한 표면을 갖는 것인, 물품을 살균하는 방법.

청구항 14

물품 상의 박테리아 생물막의 형성을 억제하거나 이를 파괴하는 방법으로서, 상기 물품을 생물막의 박테리아를 사멸하는 데 유효한 양의 제7항에 따른 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 박테리아 생물막의 형성을 억제하거나 이를 파괴하는 방법.

청구항 15

제12항에 있어서, 상기 물품이 조리대, 키보드, 외과 기구, 또는 의료 장비인, 물품을 살균하는 방법.

청구항 16

제7항에 있어서, 수술 상처를 세척하는 것을 포함하는 수술 상처를 갖는 대상체의 치료에 사용되는 약제학적 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 수술 상처가 상기 상처의 수술적 봉합 전에 세척되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 교차 참조**

[0002] 본 PCT 출원은 2014년 6월 26일자로 제출된 미국 가특허 출원 제62/017,618호에 대한 우선권을 청구하고, 이의 기재내용은 본 명세서에 그 전문이 참고로서 포함된다.

[0003] **서열 목록**

[0004] 본 출원은 2015년 6월 24일에 생성되고 본 명세서와 함께 전자 제출된 표제 "235932-373399_Sequence_Listing_ST25"의 서열 목록(57KB)의 전문을 참고로서 포함한다.

[0005] **분야**

[0006] 아시네토박터(*Acinetobacter*)에 특이적인 박테리오파지 용해 효소를 포함하는 조성물 및 아시네토박터 감염의 치료 방법.

배 경 기 술

[0007] 아시네토박터 바우마니-칼코아세티쿠스(*Acinetobacter baumannii-calcoaceticus*) 컴플렉스 및 이러한 종의 다른 멤버는 해로움 없이 자주 인간 피부에 대량 서식한다. 그러나, 찰과상, 상처 또는 수술로부터의 피부에 대한 부상은 상처, 혈액, 연조직, 및 중추신경계의 아시네토박터 감염을 야기할 수 있다. 아시네토박터 종의 80% 초과가 또한 다제내성(MDR)(적어도 세 부류의 항생제)인 것을 고려하면, 이러한 감염은 높은 비율의 질병률 및 사망률, 장기간 병원 체류, 및 상당한 건강 관리 비용을 포함한 부정적인 임상 결과를 야기할 수 있다. 군 인력 및 운동선수는 아시네토박터 종에 의한 감염에 취약할 수 있는 부상(피부 박리로부터 심각한 상처까지)의 증가된 위험을 갖고, 따라서 이들을 빠르고 효과적으로 제거하는 방법은 후속적인 문제를 감소시키거나 제거할 수 있다. MDR 아시네토박터로 인한 발병은 전세계적으로 병원에서 보고되었고; 보다 최근에, 이들은 군 의료 시설에서 심각한 문제가 되고 있다. 이의 MDR로 인하여, 아시네토박터 감염은 치료하기 힘들고, 이들 유기체에 의한 이러한 감염은 일반적으로 불량한 결과를 야기한다. 따라서, 이러한 병원체를 방제하는 신규하고 우수한 방식이 요구된다.

[0008] 모든 공지된 항생제에 내성이 있는 아시네토박터 바우마니(*Acinetobacter baumannii*) 균주가 현재 보고되었다. 이러한 최근 발생한 내성 프로파일과 상승적인 작용은 병원 환경 도처에서 오랜 기간 동안 생존하고, 따라서 이의 병원내 확산 능력을 강화시키는 에이. 바우마니(*A. baumannii*)의 비상한 능력이다. 유기체는 일반적으로, 피부 무결성 및 기도 보호에 결함이 있는 위독한 입원 대상체를 표적으로 한다. 이와 같이, 병원에서 획득된 폐렴은 여전히 에이. 바우마니로 인한 가장 흔한 감염이다. 그러나, 최근에, 중추신경계, 피부 및 연조직, 및 뼈와 관련된 감염이 특정한 시설에서 매우 문제가 되는 것으로 드러났다. 이러한 내성 문제로 인하여, 이들 병원체를 방제하는 신규한 방법이 반드시 개발되어야 한다.

[0009] 박테리오파지-인코딩된 라이신으로 알려진 항미생물제가 확인되었다. 박테리오파지는 박테리아를 감염시키는 바이러스이고, 10^6개의 별개의 박테리오파지 종이 존재하는 것으로 추정된다. 박테리오파지 라이신은 일반적으로 속- 또는 종-특이적이고, 즉 스타필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 파지 라이신은 표적화된 치료적 접근을 제공하는 스타필로코쿠스 아우레우스에 대해서만 오직 활성을 갖을 수 있다. 몇몇 경우에, 라이신은 몇몇 속 또는 종에 대한 활성을 갖을 수 있다.

[0010] 박테리오파지는 이들의 호스트 박테리아를 감염시켜 더 많은 바이러스 입자를 생성한다. 생식 주기의 끝에서 이

들은 박테리아 내에 갇힌 자손 파지를 어떻게 방출할지의 문제에 직면한다. 이들은 감염된 박테리아의 세포벽을 분해하는 "라이신"이라고 지칭되는 효소를 생성하여 자손 파지를 방출함으로써 이러한 문제를 해결한다. 용해 시스템은 박테리아 세포벽을 분해할 수 있는, 홀린 및 적어도 하나의 펩티도글리칸 가수분해효소, 또는 라이신으로 이루어진다. 전형적으로, 홀린은 세포막의 구멍을 형성하는 파지 감염의 후기 단계에서 발현되고, 이는 라이신(들)이 자손 파지의 방출을 야기하는 세포벽 펩티도글리칸에 접근하는 것을 가능하게 한다. 유의미하게, 홀린의 부재하에, 외생적으로 첨가된 라이신은 건강하고 감염되지 않은 세포의 세포벽을 용해시켜 "외부용균(lysis from without)"으로 알려진 현상을 생성한다.

발명의 내용

[0011] 우리는 최근에 아시네토박터 박테리아를 특이적으로 공격하는 몇몇 파지 라이신을 확인하고 정제하고 특성화하였다. 이는 대부분의 라이신이 오직 그램-양성 박테리아에 대하여만 항박테리아 활성을 갖기 때문에 돌파구가 된다. 본 발명의 정제된 파지 라이신은 다양한 적용, 예를 들면, 박테리아 감염의 치료, 및 살균에 잘 맞는다.

도면의 간단한 설명

[0012] **도 1A**. 에이. 바우마니 균주 1790로부터 유도된 파지를 나타내는 음성 염색 전자 현미경 사진.

도 1B. 에이. 바우마니 균주 1794로부터 유도된 파지를 나타내는 음성 염색 전자 현미경 사진.

도 1C. 에이. 바우마니 균주 1796으로부터 유도된 파지를 나타내는 음성 염색 전자 현미경 사진.

도 2. 아가에 내장된 살아있는 에이. 바우마니의 투명화(clearing)에서 라이신 클론 활성의 대표적인 이미지.

도 3. 용해 활성의 4개 부류를 나타내는 클로닝된 라이신의 아미노산 서열의 도식: i) 글리코실 가수분해효소 패밀리, ii) 파지 베이스플레이트 라이소자임, iii) 라이소자임 오토라이신, 및 iv) 라이신.

도 4. 클로닝된 라이신에 대한 뉴클레오타이드 서열의 정렬.

도 5. 클로닝된 라이신의 아미노산 서열의 정렬.

도 6은 13개의 상이한 에이. 바우마니 임상적 분리균에 대한 21개의 클로닝된 작제물의 용해 활성을 나타내는 그래프이다.

도 7A 및 도 7B. 에이. 바우마니 세포로부터의 사이토졸 내용물을 함유하는 세포질 막의 수포가 F307에 의한 처리 후 관찰된다(화살표).

도 8. F307 폴리펩타이드에 의한 처리 전과 후의 균주 1791 에이. 바우마니의 3일 생물막의 주사 전자 현미경 사진.

도 9는 F307 폴리펩타이드에 의한 처리 후 아시네토박터 생물막을 갖는 전체 카테터 조각 상의 박테리아 수의 감소를 나타내는 그래프이다.

도 10은 대조군과 비교하여 F307 폴리펩타이드로 처리된 에이. 바우마니로 감염된 마우스의 생존을 나타내는 그래프이다.

도 11. F307, 짧은 확장이 없는 P307 폴리펩타이드 및 짧은 확장이 있는 P307 폴리펩타이드(P307Ex)의 서열.

도 12. 도 12A는 에이. 바우마니 균주 #1791, S5 및 ATCC17978에 대한 P307, P307SQ-8C 및 $P307_{AE-8}$의 시험관내 살박테리아 활성의 비교 그래프이다. 도 12B는 에이. 바우마니 균주 #1791 및 S5에 대한 P307, P307SQ-8C, 및 P307CS-8의 생체내 살박테리아 활성을 비교를 나타낸다. 도 12C는 에이. 바우마니 균주 #1791, S5 및 ATCC17978에 대한 P307SQ-8C 및 P307CS-8의 비교 생체내 살박테리아 활성의 비교를 나타낸다.

도 13. pH 최적(13A), 및 NaCl 최적(13B)을 조사하기 위한 에이. 바우마니 균주 #1791에 대한 P307 및 P307SQ-8C의 생체내 살박테리아 활성. 변수를 제외하고 동일한 조건을 50 mM 트리스-HCl, pH 7.5와 사용하여 농도 최적(13C), 및 치사 동역학(13D)을 측정하였다. 오차 막대는 표준 편차를 나타내고, 흑색 수평선은 검출 한계를 표시한다.

도 14는 P307 및 P307SQ-8C에 대한 상이한 박테리아 종의 민감성을 나타내는 그래프이다. 오차 막대는 표준 편차를 나타내고, 흑색 수평선은 검출 한계를 표시한다.

도 15. 도 15A 및 도 15B는 에이. 바우마니 균주 번호 1791(15A)의 대수기 및 정지기 및 생물막 기(15B)에 대한 P307 및 P307SQ-8C의 살박테리아 활성을 나타내는 그래프이다.

도 16. 도 16은 B 세포 생존(16A) 및 용혈(16B)에 의해 측정된 P307 및 P307SQ-8C의 세포독성 효과를 나타낸다.

도 17. 도 17A는 P307 및 P307SQ-8C의 활성에 대한 0, 0.1 및 1 mM에서 DTT의 효과를 나타낸다. 도 17B는 알라닌에 의한 P307SQ-8C의 말단 시스테인의 치환 효과를 나타낸다(P307SQ-8A).

도 18은 대조군 펩타이드 및 P307에 있어서, 이동을 나타내는 DNA 이동 겔이다.

도 19. 도 7A-C는 에이. 바우마니 균주 번호 1791의 대표적인 투과 전자 현미경 사진을 나타낸다: 미처리 대조군(19A), 5분(19B) 및 2시간(19C) 동안 P307SQ-8C 300 ㎍/㎖로 처리. 배율, ×2600(좌측, 축적 막대 = 2 ㎛) 및 ×5000(우측 상부 및 하부, 축적 막대 = 0.5 ㎛). 도 7D는 pH 7.5 및 8.8에서 그램 음성 박테리아 케이. 뉴모니아(*K. pneumoniae*) 및 이. 콜라이(*E. coli*)에 대한 P307SQ-8C의 살박테리아 활성을 나타낸다.

도 20은 P307 및 P307SQ-8C로 처리된 에이. 바우마니 균주 #1791 및 S5의 막 투과성을 나타낸다.

도 21은 하이드록실 라디칼 스캐빈저, 티오우레아 및 혐기성 조건에 의한 P307 또는 P307SQ-8C의 살박테리아 활성의 억제를 나타낸다.

도 22는 폴리믹신 B 및 P307SQ-8C에 의한 피부 감염 치료의 효과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명은 항박테리아 활성을 갖는 폴리펩타이드 및 기재된 폴리펩타이드를 사용하는 방법을 제공한다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, 단수형은 내용이 달리 명백하게 지시하지 않는 한, 복수의 대상을 포함한다.

[0014] "포함하다", "포함된", "포함하는", "함유하다", "함유하는" 등과 같은 용어는 미국 특허법에서 부여된 의미를 갖고; 이들은 포괄적이거나 개방형(open-ended)이고, 추가의 기재되지 않은 원소 또는 방법 단계를 배제하지 않는다. "본질적으로 이루어지는" 및 "본질적으로 이루어진다"와 같은 용어는 미국 특허법에서 부여된 의미를 갖고; 이들은 청구된 발명의 기본적이고 신규한 특성에 중요한 영향을 미치지 않는 추가의 성분 또는 단계의 포함을 허용한다. 용어 "이루어지다" 및 "이루어진"은 미국 특허법에서 이들에게 부여된 의미를 갖고; 즉, 이들 용어는 폐쇄형(close ended)이다.

[0015] 제1 양상에 있어서, 본 발명은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 또는 서열번호 21에 대해서 적어도 90%, 또는 적어도 91%, 또는 적어도 92%, 또는 적어도 93%, 또는 적어도 94%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 96%, 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 또는 폴리펩타이드의 단편을 제공하고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항박테리아 활성을 갖는다.

[0016] 제1 양상의 또 다른 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드의 단편은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 또는 서열번호 21에 대해서 적어도 95%, 또는 적어도 96%, 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항박테리아 활성을 갖는다.

[0017] 제1 양상의 또 다른 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드의 단편은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 또는 서열번호 21에 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항박테리아 활성을 갖는다.

[0018] 제2 양상에서, 본 발명은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15,

서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 또는 서열번호 21에 대해서 적어도 90%, 또는 적어도 91%, 또는 적어도 92%, 또는 적어도 93%, 또는 적어도 94%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 96%, 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드, 또는 폴리펩타이드의 단편을 제공하고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항박테리아 활성을 갖는다.

[0019] 제2 양상의 또 다른 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드의 단편은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 또는 서열번호 21에 대해서 적어도 95%, 또는 적어도 96%, 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항박테리아 활성을 갖는다.

[0020] 제2 양상의 또 다른 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드의 단편은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 또는 서열번호 21에 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항박테리아 활성을 갖는다.

[0021] 제3 양상에 있어서, 본 발명은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 또는 서열번호 21에 대해서 적어도 80%, 또는 적어도 85%, 또는 적어도 90%, 또는 적어도 91%, 또는 적어도 92%, 또는 적어도 93%, 또는 적어도 94%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 96%, 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 또는 폴리펩타이드의 단편을 제공하고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항미생물 펩타이드에 접합되어 접합된 폴리펩타이드를 수득하고, 접합된 폴리펩타이드는 항박테리아 활성을 갖는다.

[0022] 제3 양상의 하나의 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드의 단편은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 또는 서열번호 21에 대해서 적어도 90%, 또는 적어도 92%, 또는 적어도 94%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 96%, 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항미생물 펩타이드에 접합되어 접합된 폴리펩타이드를 수득하고, 접합된 폴리펩타이드는 항박테리아 활성을 갖는다.

[0023] 제4 양상에 있어서, 본 발명은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 또는 서열번호 21에 대해서 적어도 80%, 또는 적어도 85%, 또는 적어도 90%, 또는 적어도 91%, 또는 적어도 92%, 또는 적어도 93%, 또는 적어도 94%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 96%, 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩타이드, 또는 폴리펩타이드의 단편를 제공하고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항미생물 펩타이드에 접합되어 접합된 폴리펩타이드를 수득하고, 접합된 폴리펩타이드는 항박테리아 활성을 갖는다.

[0024] 제4 양상의 하나의 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드의 단편은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 또는 서열번호 21에 대해서 적어도 90%, 또는 적어도 92%, 또는 적어도 94%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 96%, 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99%, 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열로 이루어지고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항미생물 펩타이드에 접합되어 접합된 폴리펩타이드를 수득하고, 접합된 폴리펩타이드는 항박테리아 활성을 갖는다.

[0025] 제3 또는 제4 양상의 몇몇 실시형태에 있어서, 항미생물 펩타이드는 아미노산 서열 SQSRESQC(서열번호 44)를 포함하고, 여기서 적어도 하나의 아미노산은 시스테인이고, 항미생물 펩타이드의 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개의 아미노산은 보존적으로 치환된다. 항미생물 펩타이드의 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개의 아미노산은 보존적

으로 치환된다. 제3 또는 제4 양상의 다른 실시형태에 있어서, 항미생물 펩타이드는 아미노산 서열 SQSRESQC(서열번호 44)를 포함한다. 제3 또는 제4 양상의 다른 실시형태에 있어서, 항미생물 펩타이드는 아미노산 서열 SQSRESQC(서열번호 44)를 포함하고, 여기서 항미생물 펩타이드의 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개의 아미노산은 보존적으로 치환되고, 항미생물 펩타이드는 8개의 아미노산으로 이루어진다. 제3 또는 제4 양상의 다른 실시형태에 있어서, 항미생물 펩타이드는 아미노산 서열 SQSRESQC(서열번호 44)로 이루어진다.

[0026] 제3 또는 제4 양상의 몇몇 실시형태에 있어서, 항미생물 펩타이드는 아미노산 서열 CSQRQSES(서열번호 50)를 포함하고, 여기서 적어도 하나의 아미노산은 시스테인이고, 항미생물 펩타이드의 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개의 아미노산은 보존적으로 치환된다. 제3 또는 제4 양상의 다른 실시형태에 있어서, 항미생물 펩타이드는 아미노산 서열 CSQRQSES(서열번호 50)를 포함한다. 제3 또는 제4 양상의 다른 실시형태에 있어서, 항미생물 펩타이드는 아미노산 서열 CSQRQSES(서열번호 50)를 포함하고, 여기서 항미생물 펩타이드의 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개의 아미노산은 보존적으로 치환되고, 항미생물 펩타이드는 8개의 아미노산으로 이루어진다. 제3 또는 제4 양상의 다른 실시형태에 있어서, 항미생물 펩타이드는 아미노산 서열 CSQRQSES(서열번호 50)로 이루어진다.

[0027] 제3 또는 제4 양상의 몇몇 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드 또는 단편의 C-말단은 항미생물 펩타이드에 접합된다. 제3 또는 제4 양상의 다른 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드 또는 단편의 C-말단은 항미생물 펩타이드의 N-말단에 접합된다. 제3 또는 제4 양상의 다른 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드 또는 단편의 N-말단은 항미생물 펩타이드에 접합된다. 제3 또는 제4 양상의 다른 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드 또는 단편의 N-말단은 항미생물 펩타이드의 C-말단에 접합된다. 제3 또는 제4 양상의 임의의 실시형태에 있어서, 항미생물 펩타이드는 펩타이드 결합을 통해 폴리펩타이드 또는 단편에 접합될 수 있다.

[0028] 본 발명의 기재내용의 펩타이드의 또 다른 실시형태는 아미노산 서열 NAKDYKGAAAEFPKWNKAGGRVLAGLVKRRKSQSRESQA(서열번호 53)를 갖는 펩타이드이다. 또 다른 실시형태는 아미노산 서열 NAKDYKGAAAEFPKWNKAGGRVLAGLVKRRKCSQRQSES(서열번호 51)를 갖는 펩타이드이다.

[0029] 몇몇 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편 또는 접합된 폴리펩타이드는 그램-음성 박테리아에 대하여 항박테리아 활성을 갖는다. 몇몇 실시형태에 있어서, 그램-음성 박테리아는 아시네토박터 속이다.

[0030] 몇몇 실시형태에 있어서 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편 또는 접합된 폴리펩타이드는 이. 콜라이, 피. 애루기노사(*P. aeruginosa*) 또는 에이. 바우마니에 대하여 항박테리아 활성을 갖는다.

[0031] 몇몇 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편 또는 접합된 폴리펩타이드는 그램-양성 박테리아에 대하여 항박테리아 활성을 갖는다. 몇몇 실시형태에 있어서, 그램-양성 박테리아는 에스. 아우레우스(*S. aureus*) 또는 비. 안트라시스(*B. anthracis*)이다.

[0032] 몇몇 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드는 동결건조된다.

[0033] 본 발명의 폴리펩타이드의 특정한 실시형태는 표 1에서 제공된다.

표 1

[0034]

서열번호 1	F307		서열번호 11	F330		서열번호 21	F311
서열번호 2	F376		서열번호 12	F328		서열번호 43	P307
서열번호 3	F351		서열번호 13	F324		서열번호 44	SQSRESQC
서열번호 4	F347		서열번호 14	F321		서열번호 45	P307SQ-8C (P307Ex)
서열번호 5	F344		서열번호 15	F320		서열번호 48	AEMLFLK
서열번호 6	F340		서열번호 16	F315		서열번호 49	P307AE-8
서열번호 7	F338		서열번호 17	F306		서열번호 50	CSQRQSES
서열번호 8	F336		서열번호 18	F303		서열번호 51	P307CS-8
서열번호 9	F334		서열번호 19	F301		서열번호 52	SQSRESQA
서열번호 10	F332		서열번호 20	F309		서열번호 53	P307SQ-8A

[0035] P307SQ-8C 및 P307Ex는 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다.

[0036] 본 발명은 또한 본 발명의 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편 또는 접합된 폴리펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 몇몇 실시형태에 있어서, 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체, 완충제, 또는 방부제를 포함하는 약제학적 조성물이다.

[0037] 몇몇 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 국소 투여를 위하여 제형화된다. 다른 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 피하 전달을 위하여 제형화된다. 다른 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 정맥내 전달을 위하여 제형화된다. 다른 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 경구 전달을 위하여 제형화된다.

[0038] 몇몇 실시형태에 있어서, 조성물은 항생제를 추가로 포함한다. 적합한 항생제의 예는 아목시실린, 아우그멘틴, 아목시실린, 암피실린, 아즐로실린, 플루클록사실린, 메즐로실린, 메티실린, 페니실린 G, 페니실린 V, 세팔렉신, 세파제돈, 세푸록심, 로라카베프, 세메타졸, 세포테탄, 세폭시틴, 시프로플록사신, 레바퀸, 및 플록사신, 테트라사이클린, 독시사이클린, 또는 미노사이클린, 겐타마이신, 아미카신, 및 토브라마이신, 클라리트로마이신, 아지트로마이신, 에리트로마이신, 답토마이신, 네오마이신, 카나마이신, 또는 스트렙토마이신을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0039] 몇몇 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 응고제를 추가로 포함한다.

[0040] 몇몇 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 동결건조된다.

[0041] 본 발명은 또한 치료가 필요한 대상체를 치료하는 방법으로서, 대상체에게 본 발명의 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편 또는 접합된 폴리펩타이드, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 완충제, 또는 방부제를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0042] 하나의 실시형태에 있어서, 방법은 치료가 필요한 대상체를 치료하는 방법으로서, 대상체에게 본 발명의 폴리펩타이드, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 완충제, 또는 방부제를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법이다.

[0043] 또 다른 실시형태에 있어서, 방법은 치료가 필요한 대상체를 치료하는 방법으로서, 대상체에게 본 발명의 폴리펩타이드 단편, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 완충제, 또는 방부제를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법이다.

[0044] 하나의 실시형태에 있어서, 방법은 치료가 필요한 대상체를 치료하는 방법으로서, 대상체에게 본 발명의 접합된 폴리펩타이드, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 완충제, 또는 방부제를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법이다.

[0045] 하나의 실시형태에 있어서, 방법은 박테리아 감염을 갖는 대상체를 치료하는 방법이고, 치료는 대상체에게 본 발명의 접합된 폴리펩타이드, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 완충제, 또는 방부제를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 치료적 치료이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 대상체는 다른 치료 양식에 무반응성인 박테리아 감염을 갖는다. 예를 들면, 박테리아 감염은 하나 이상의 항생제에 대한 내성이 있을 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 박테리아 감염은 상처 감염이다.

[0046] 하나의 실시형태에 있어서, 방법은 치료가 필요한 대상체를 예방적으로 치료하는 방법으로서, 대상체에게 본 발명의 접합된 폴리펩타이드, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 완충제, 또는 방부제를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 대상체는 수술을 받았거나 받는 중이고, 수술 상처는 본 발명의 약제학적 조성물과 접촉된다. 특정한 실시형태에 있어서, 수술 상처는 상처의 봉합 전에 약제학적 조성물에 의해 세척된다. 다른 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 봉합 후 상처에 적용되고, 예를 들면, 약제학적 조성물은 상처의 봉합된 또는 스테이플된 부위에 적용된다.

[0047] 몇몇 실시형태에 있어서, 본 발명의 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하는 방법은 항생제와 조합으로 투여된다. 몇몇 실시형태에 있어서, 방법은 본 발명의 약제학적 조성물을 국소적으로 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시형태에 있어서, 방법은 본 발명의 약제학적 조성물을 피하적으로 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시형태에 있어서, 방법은 본 발명의 약제학적 조성물을 정맥내 주입으로 투여하는 단계를 포함한다. 다른 실시형태에 있어서, 방법은 본 발명의 약제학적 조성물을 경구적으로 투여하는 단계를 포함한다.

[0048] 몇몇 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 단위 투약 형태로 존재한다. 다른 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 크림, 연고, 살브(salve), 겔, 로젠지, 스프레이, 또는 에어로졸의 형태로 존재한다.

[0049] 또한 박테리아 생물막의 형성을 억제하거나 이를 파괴하는 것을 포함하는 박테리아 감염을 치료하는 방법으로서, 치료가 필요한 대상체에게, 본 발명의 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편 또는 접합된 폴리펩타이드를 생물막에서 박테리아를 사멸하는데 유효한 양을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.

[0050] 물품을 살균하는 방법으로서, 물품을 살균하는데 충분한 시간 동안 물품을 본 발명의 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편 또는 접합된 폴리펩타이드를 포함하는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는 방법이 추가로 제공된다. 몇몇 실시형태에 있어서, 물품은 단단한 표면을 갖는다. 몇몇 실시형태에 있어서, 물품은 조리대, 키보드, 외과 기구, 또는 의료 장비이다.

[0051] 물품 위의 박테리아 생물막의 형성을 억제하거나 이를 파괴하는 방법으로서, 물품을 생물막에서 박테리아를 사별하는데 유효한 양의 본 발명의 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편 또는 접합된 폴리펩타이드와 접촉시키는 단계를 포함하는 방법이 추가로 제공된다.

[0052] 본 발명의 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편 또는 접합된 폴리펩타이드를 포함하는 조성물을 함유하는 제조 물품이 또한 제공된다. 몇몇 실시형태에 있어서, 제조 물품은 본 발명의 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편 또는 접합된 폴리펩타이드를 함유하는 스프레이 병이다.

[0053] 몇몇 실시형태에 있어서, 제조 물품은 본 발명의 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 단편 또는 접합된 폴리펩타이드 및 담체, 완충제 또는 방부제를 포함하는 약제학적 조성물을 함유한다. 몇몇 실시형태에 있어서, 제조 물품은 바이알이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 제조 물품은 전달 장치이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 제조 물품에 함유된 조성물은 동결건조된다.

[0054] 기재내용의 폴리펩타이드의 구조에서 변형 및 변화가 만들어질 수 있으며, 여전히 폴리펩타이드와 유사한 특성을 갖는 분자를 수득할 수 있다(예를 들면, 보존적 아미노산 치환). 예를 들면, 특정한 아미노산은 활성의 상당한 손실 없이 서열에서 다른 아미노산으로 치환될 수 있다. 이는 폴리펩타이드의 생물학적 기능적 활성을 정의하는 폴리펩타이드의 상호작용적인 능력 및 성질이기 때문에, 특정한 아미노산 서열 치환이 폴리펩타이드 서열에서 만들어질 수 있지만, 그럼에도 불구하고 성질이 유사한 폴리펩타이드가 수득된다.

[0055] 이러한 아미노산 치환은 일반적으로 아미노산 측쇄 치환체의 상대적인 유사성, 예를 들면, 이들의 소수성, 친수성, 전하, 크기 등을 기반으로 한다. 다양한 상기 특성을 고려한 예시적인 치환은 당해 분야의 숙련가에게 잘 알려지고 하기를 포함한다(원래 잔기: 예시적인 치환): (Ala: Gly, Ser), (Arg: Lys), (Asn: Gln, His), (Asp: Glu, Cys, Ser), (Gln: Asn), (Glu: Asp), (Gly: Ala), (His: Asn, Gln), (Ile: Leu, Val), (Leu: Ile, Val), (Lys: Arg), (Met: Leu, Tyr), (Ser: Thr), (Thr: Ser), (Tip: Tyr), (Tyr: Trp, Phe), 및 (Val: Ile, Leu). 본 기재내용의 실시형태는 따라서 상기 기재된 바와 같은 폴리펩타이드의 기능적 또는 생물학적 등가물을 고려한다. 특히, 폴리펩타이드의 실시형태는 관심있는 폴리펩타이드에 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 및 95% 서열 동일성을 갖는 변이체를 포함할 수 있다.

[0056] 당해 분야에 알려진 바와 같은 "동일성"은 서열을 비교함으로써 측정되는 바와 같은, 둘 이상의 폴리펩타이드 서열 사이의 관계이다. "동일성"은 당해 분야에 잘 알려진 공지된 알고리즘에 의해 용이하게 계산될 수 있다. 동일성을 측정하는 바람직한 방법은 시험된 서열 사이의 가장 큰 매치를 제공하도록 설계된다. 동일성을 측정하는 방법은 공개적으로 이용 가능한 컴퓨터 프로그램으로 코드화된다. 2개의 서열 사이의 퍼센트 동일성은 니델만 및 운스취(*Needelman anc Wunsch*)(J. Mol. Biol., 48: 443-453, 1970) 알고리즘(예를 들면, NBLAST, 및 XBLAST)를 포함하는 분석 소프트웨어(즉, 제네틱스 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group)의 서열 분석 소프트웨어 팩키지, 미국 위스콘신주 매디슨 소재)를 사용하여 측정될 수 있다.

[0057] 동일성은 "지역적 동일성" 또는 "전역적 동일성"으로 측정될 수 있다. 지역적 동일성은 이러한 서열의 스트링 사이의 매치에 의해 측정된 바와 같은 폴리펩타이드 사이의 서열 관련성의 정도를 나타낸다. 전역적 동일성은 참고 폴리펩타이드의 전체 길이와 비교된 폴리펩타이드의 서열 관련성의 정도를 나타낸다. 달리 특정되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 동일성은 전역적 동일성을 의미한다. 본 명세서에서 전역적 동일성에 대한 퍼센트는 지역적 및 전역적 동일성 둘 다에 있어서 디폴트 설정을 사용하여 소프트웨어 맥벡터(MacVector)를 통해 사용되는 클러스탈더블유(ClustalW) 알고리즘을 사용하여 계산된다.

[0058] **폴리펩타이드의 제조**

[0059] 본 발명의 폴리펩타이드는 임의의 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들면, 폴리펩타이드는 이. 콜라이를 포함하지만 이에 한정되지 않는 박테리아에서, 또는 폴리펩타이드에 대한 다른 기존의 시스템(예를 들면, 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*), 드로소필라(Drosophila) Sf9 세포를 사용하는 바큘로바이러스 발현계, 이스트 또는 사상균 발현계, 포유동물 세포 발현계)에서 제조될 수 있거나, 이들은 화학적으로 합성될 수 있다.

[0060] 폴리펩타이드가 박테리아, 예를 들면, 이. 콜라이에서 제조되는 것인 경우, 펩타이드를 인코딩하는 핵산 분자는

또한 세포로부터 성숙 펩타이드의 분비를 허용하는 리더 서열을 인코딩할 수 있다. 따라서, 펩타이드를 인코딩하는 서열은, 예를 들면, 천연 발생 박테리아 ST 펩타이드의 프리(pre) 서열 및 프로(pro) 서열을 포함할 수 있다. 분비된 성숙 펩타이드는 배양 배지로부터 정제될 수 있다.

[0061] 본 명세서에 기재된 펩타이드를 인코딩하는 서열은 박테리아 세포에서 핵산 분자를 전달 및 유지할 수 있는 벡터 내로 삽입될 수 있다. DNA 분자는 자율 복제 벡터(적합한 벡터는, 예를 들면, pGEM3Z 및 pcDNA3, 및 이의 유도체를 포함한다) 내로 삽입될 수 있다. 벡터는 박테리아 또는 박테리오파지 DNA 벡터, 예를 들면, 박테리오파지 람다 또는 M13 및 이의 유도체일 수 있다. 본 명세서에 기재된 핵산을 함유하는 벡터의 건설 후, 박테리아와 같은 호스트 세포의 형질전환이 뒤따를 수 있다. 적합한 박테리아 호스트는 이. 콜라이, 비 서브틸리스(*B subtilis*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 살모넬라(*Salmonella*)를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 유전적 작제물은 또한, 인코딩 핵산 분자 이외에, 프로모터 및 조절 서열과 같은 발현을 가능하게 하는 요소를 포함한다. 발현 벡터는 전사 개시를 조절하는 전사 조절 서열, 예를 들면, 프로모터, 인핸서, 오퍼레이터, 및 리프레서 서열을 함유할 수 있다. 다양한 전사 조절 서열은 당해 분야의 숙련가에게 잘 알려져 있다. 발현 벡터는 또한 번역 조절 서열(예를 들면, 비번역 5' 서열, 비번역 3' 서열, 또는 내부 리보솜 진입 부위)을 포함할 수 있다. 벡터는 자율 복제를 할 수 있거나, 이는 호스트 DNA 내로 통합되어 펩타이드 제조 동안 안정성을 보장할 수 있다.

[0062] 본 발명에 따른 핵산의 하나의 실시형태는 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 또는 서열번호 45의 아미노산 서열에 대해서 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 또는 폴리펩타이드의 단편을 인코딩하는 핵산이고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항박테리아 활성을 갖는다.

[0063] 또 다른 실시형태에 있어서, 핵산은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 또는 서열번호 45의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 또는 폴리펩타이드의 단편을 인코딩하고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항박테리아 활성을 갖는다.

[0064] 또 다른 실시형태에 있어서, 핵산은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 또는 서열번호 45의 아미노산 서열 핵산으로 이루어진 폴리펩타이드, 또는 폴리펩타이드의 단편을 인코딩하고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항박테리아 활성을 갖는다.

[0065] 또 다른 실시형태에 있어서, 핵산은 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34, 서열번호 35, 서열번호 36, 서열번호 37, 서열번호 38, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 또는 서열번호 42의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0066] 또 다른 실시형태에 있어서, 핵산은 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34, 서열번호 35, 서열번호 36, 서열번호 37, 서열번호 38, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 또는 서열번호 42의 뉴클레오타이드 서열로 이루어진다.

[0067] 또 다른 실시형태는 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 또는 서열번호 45의 아미노산 서열에 대해서 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 또는 폴리펩타이드의 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하는 발현 벡터이고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항박테리아 활성을 갖는다.

[0068] 또 다른 실시형태에 있어서, 발현 벡터는 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 또는 서열번호 45의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드, 또는 폴리펩타이드의 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하고,

여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항박테리아 활성을 갖는다.

[0069] 또 다른 실시형태, 발현 벡터는 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 9, 서열번호 10, 서열번호 11, 서열번호 12, 서열번호 13, 서열번호 14, 서열번호 15, 서열번호 16, 서열번호 17, 서열번호 18, 서열번호 19, 서열번호 20, 서열번호 21, 또는 서열번호 45의 아미노산 서열 핵산으로 이루어진 폴리펩타이드, 또는 폴리펩타이드의 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하고, 여기서 폴리펩타이드 또는 단편은 항박테리아 활성을 갖는다.

[0070] 또 다른 실시형태에 있어서, 발현 벡터는 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34, 서열번호 35, 서열번호 36, 서열번호 37, 서열번호 38, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 또는 서열번호 42의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산을 포함한다.

[0071] 또 다른 실시형태에 있어서, 발현 벡터는 서열번호 22, 서열번호 23, 서열번호 24, 서열번호 25, 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 28, 서열번호 29, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34, 서열번호 35, 서열번호 36, 서열번호 37, 서열번호 38, 서열번호 39, 서열번호 40, 서열번호 41, 또는 서열번호 42의 뉴클레오타이드 서열로 이루어진 핵산을 포함한다.

[0072] 표 2는 이들이 인코딩하는 폴리펩타이드에 상응하는 뉴클레오타이드 서열번호를 나타내는 본 발명의 핵산의 구체적인 실시형태를 제공한다.

표 2

[0073]

뉴클레오타이드 서열번호	상응하는 아미노산 서열번호		뉴클레오타이드 서열번호	상응하는 아미노산 서열번호
22	1		33	12
23	2		34	13
24	3		35	14
25	4		36	15
26	5		37	16
27	6		38	17
28	7		39	18
29	8		40	19
30	9		41	20
31	10		42	21
32	11			

[0074] 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산은 또한 정제를 가능하게 하기 위하여 펩타이드 친화력 태그, 예를 들면, 글루타티온 S-트랜스페라제(GST), 말토스 E 결합 단백질, 단백질 A, FLAG 태그, 헥사-히스티딘, myc 태그 또는 인플루엔자 HA 태그를 인코딩하는 핵산에 융합될 수 있다. 친화력 태그 또는 리포터 융합은 흥미있는 펩타이드의 리딩 프레임을 친화력 태그를 인코딩하는 유전자의 리딩 프레임에 결합시켜 번역 융합이 발생되도록 한다. 융합 유전자의 발현은 흥미있는 펩타이드와 친화력 태그 둘 다를 포함하는 단일 펩타이드의 번역을 야기한다. 친화력 태그가 이용되는 몇몇 예시에 있어서, 프로테아제 인식 부위를 인코딩하는 DNA 서열은 친화력 태그와 흥미있는 펩타이드를 위한 리딩 프레임 사이에 융합될 것이다.

[0075] 박테리아 이외의 단백질 발현계에서 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 및 변이체의 미성숙 및 성숙 형태의 제조에 적합하고 당해 분야에 잘 알려진 유전적 작제물 및 방법은 또한 생물학적 시스템에서 폴리펩타이드를 제조하는데 사용될 수 있다.

[0076] 폴리펩타이드 및 이의 변이체는 자동 펩타이드 합성기를 사용하는 고체상 방법에 의해 합성될 수 있다. 예를 들면, 펩타이드는 이중 커플링 프로그램을 사용하는 Cyc(4-CH_2 Bxl)-OCH_2-4-(옥시메틸)-페닐아세트아미도메틸 수지 상에서 합성될 수 있다. 펩타이드는 또한 전통적인 FMOC 보호(즉, DCC-HOBt와의 커플링 및 DMF 중의 피페리딘에 의한 탈보호화)를 사용하는 고체상 합성을 포함하는 다수의 기타 방법에 의해 합성될 수 있다.

[0077] **치료적 및 예방적 조성물 및 이의 용도**

[0078] 본 발명은 치료가 필요한 대상체에게 본 발명의 폴리펩타이드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법

을 제공한다. 대상체는 인간 또는 또 다른 동물이고, 이는 영장류, 예를 들면, 원숭이 및 침팬지; 가축 동물, 예를 들면, 소, 돼지, 말 또는 닭; 및 반려 동물, 예를 들면, 개, 고양이, 및 설치류를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 특정한 실시형태에 있어서, 대상체는 인간이다. 또 다른 특정한 실시형태에 있어서, 대상체는 비인간 포유동물이다. 하나의 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드는 단독 항박테리아제로서 투여된다. 또 다른 실시형태에 있어서, 폴리펩타이드는 하나 이상의 다른 항박테리아제와 조합으로 투여된다.

[0079] 기재된 약제학적 조성물의 투여 방법은 경구 또는 비경구일 수 있고, 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 관절내, 활막내, 피하, 비강내, 경막외, 국소 및 경구 경로를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 화합물은 임의의 편리한 경로에 의해, 예를 들면, 주입 또는 볼루스 주사에 의해, 상피 또는 점막피부 내벽(예를 들면, 구강 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 다른 생물학적 활성제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신적 또는 국소적일 수 있다. 게다가, 심실내 및 척수강내 주사를 포함한 임의의 적합한 경로로 본 발명의 약제학적 조성물을 중추신경계로 도입하는 것이 바람직할 수 있고; 심실내 주사는, 예를 들면, 저장소, 예를 들면, 옴마야(Ommaya) 저장소에 연결된 심실내 카테터에 의해 가능할 수 있다. 흡입기 또는 네뷸라이저의 사용, 및 에어로졸화제와의 제형화에 의해 폐 투여가 또한 사용될 수 있다. 특정한 실시형태에 있어서, 본 발명의 약제학적 조성물은 피부에의 국소 사용과 같이 치료가 필요한 부위에 국소적으로 투여되는 것이 바람직할 수 있고; 당해 분야에 공지된 임의의 적합한 방법이 사용될 수 있다.

[0080] 본 발명의 하나의 양상에 있어서, 박테리아 감염의 치료적 또는 예방적 치료를 위하여 본 발명의 기재내용의 폴리펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 본 발명의 실시형태는 국소 치료를 위하여 제형화된 약제학적 조성물이다. 본 발명의 또 다른 실시형태는 전신적 감염을 위하여 제형화된 약제학적 조성물이다.

[0081] 이러한 조성물은 본 발명의 폴리펩타이드의 치료적 유효량 및 약제학적으로 허용 가능한 담체, 완충제, 또는 방부제를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 목적하는 특정한 투약 형태에 적합한 용매, 희석제, 또는 다른 액체 비히클, 분산액 또는 현탁액 보조제, 계면활성제, 등장제, 증점제 또는 유화제, 고체 결합제, 윤활제 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 이러한 약제학적 담체는 무균 액체, 예를 들면, 물 및 오일일 수 있고, 이는 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것들, 예를 들면, 땅콩유, 대두유, 광유, 참기름 등을 포함한다. 염류 용액 및 수성 덱스트로스 및 글리세롤 용액이 또한 액체 담체로서, 특히 주사 가능한 용액을 위하여 사용될 수 있다. 적합한 약제학적 부형제는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실라카 겔, 스테아르산나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 염화나트륨, 탈지분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함한다. 조성물은 또한 습윤제, 유화제, 방부제, 또는 pH 완충제를 함유할 수 있다. 이들 조성물은 용액, 현탁액, 에멀전, 정제, 필, 로젠지, 캡슐, 분말, 국소 투여용 패치 등의 형태를 취할 수 있다. 국소 적용을 위하여, 약제학적으로 허용 가능한 조성물은 하나 이상의 담체 중에 현탁되거나 용해된 활성 성분을 함유한 적합한 연고, 로션 또는 크림으로 제형화될 수 있다. 국소 투여를 위한 담체는 광유, 액체 페트롤라텀, 화이트 페트롤라텀, 프로필렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 화합물, 유화 왁스, 폴리소르베이트 60, 세틸 에스터 왁스, 에테아릴 알코올, 2-옥틸도데칸올, 벤질 알코올 및 물을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 조성물은 전통적인 결합제 및 담체, 예를 들면, 트리글리세라이드와 함께 좌제로서 제형화될 수 있다. 경구 제형은 표준 담체, 예를 들면, 약제학적 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 스테아르산마그네슘, 나트륨 사카린, 셀룰로스, 탄산마그네슘 등을 포함할 수 있다. 당해 분야의 숙련가는 치료적 제제의 제형화에 능통하다. 예를 들면, 문헌 [*Remington* The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Md.(2000); *Remington's Pharmaceutical Sciences,* 19th Edition(Mack Publishing Company, 1995)]을 참조한다.

[0082] 본 발명은 또한 본 발명의 약제학적 조성물의 하나 이상의 성분으로 채워진 하나 이상의 컨테이너를 포함하는 약제학적 팩 또는 키트를 제공한다. 이러한 컨테이너(들)와 임의로 연관되어 약제 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 조절하는 정부 기관에 의해 규정된 형태의 안내문이 있고, 이러한 안내문은 (a) 인간 투여를 위한 제조, 사용 또는 판매에 대한 기관의 승인, (b) 사용 방법, 또는 둘 다를 반영한다.

[0083] **실시예**

[0084] 하기 실시예는 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드를 어떻게 제조하고 사용하는지에 대하여 당해 분야의 숙련가에게 추가의 정보를 제공하기 위하여 기재되고, 발명자들이 본 발명으로서 고려하는 것의 범위를 제한하는 것을 의도하지 않는다. 사용된 숫자(예를 들면, 양, 온도 등)에 관하여 정확성을 보장하기 위하여 노력하였지만, 몇몇 실험 오차 및 편차가 고려되어야 한다. 달리 지시되지 않는 한, 분자량은 평균 분자량이고, 온도는 섭씨 온도이다.

[0085] **실시예 1**

[0086] 항박테리아 활성을 갖는 폴리펩타이드의 확인.

[0087] 에이. 바우마니의 임상적 분리균 15개를 뉴욕 병원으로부터 입수하였다. 에이. 바우마니의 균주를 단리하고, 미토마이신 C로 처리하여 프로파지 유도를 유도하였다. 상청액을 수집하고, 파지를 폴리에틸렌 글리콜(PEG)로 침전시켰다. 3개의 에이. 바우마니 분리균으로부터의 상청액을 음성 염색 EM 및 파지의 촬영 이미지로 시험하였다(도 1A, 도 1B 및 도 1C).

[0088] 파지 DNA를 아가로스 겔 전기영동 및 고분자량 DNA의 추출에 의해 공침전된 화합물로부터 분리하였다. 이러한 DNA로부터, 발현 가능한 링커 샷건 라이브러리(E-LASL)를 이전에 기재된 바와 같이 건설하였다(Schmitz JE. et al., 2008, Appl. Environ. Microbiol. 74:1649-1652). 간략하게, 모든 샘플에 있어서, DNA 100 ng을 제한 효소 TSP509I(공통 서열 AATT)로 단편화하였다. 페놀-클로로포름 추출 및 에탄올 침전 후, DNA를 상보적 5' 오버행(AATTCGGCTCGAG, 오버행은 밑줄로 표시된다(서열번호 46))을 갖는 링커 서열 40 ng에 결찰하였다. 결찰 혼합물을 링커-표적화된 프라이머 CCATGACTCGAGCCGAATT(서열번호 47)를 사용하는 Taq-기반 PCR에 대하여 주형으로서 사용하였다.

[0089] 증폭된 삽입물을 pBAD TOPO® TA 발현 키트(인비트로젠(Invitrogen), 제조사 지침에 따라)를 사용하여 아라비노스-유도 가능한 pBAD 플라스미드 내로 결찰하였다. 재조합 벡터를 형질전환성 이. 콜라이 TOP10(인비트로젠)으로 형질전환시켰다. 이러한 클론이 용해 활성을 갖는지를 측정하기 위하여, 이. 콜라이를 암피실린 100 ㎍/㎖ 및 5% 섬유소제거 양 혈액으로 보충된 LB 아가 위에 플레이팅하였다. 밤새 37℃에서 성장 후, 플레이트를 상업적인 네블라이저의 출구에 부착된 밀봉된 컨테이너에 넣었다. 분무된 아라비노스를 1시간 동안 컨테이너 내로 연속 펌핑하였다. 플레이트를 37℃로 되돌리고, 콜로니는 주위 혈액 아가 중의 용혈 영역이 발달한 것으로 확인되었다. 선택된 클론으로 별개의 LB-암피실린 플레이트(아라비노스 결핍) 위에 줄을 긋고, 유도된 발현 없이 번식하도록 하였다(Schmitz JE, et al., 2010 Appl. Environ. Microbiol.76:7181-7187).

[0090] 에이. 바우마니의 사멸 활성을 측정하기 위하여, 본질적으로 문헌 [Schmitz JE, et al., 2010 Appl. Environ. Microbiol.76:7181-7187]에 기재된 바와 같은 이차 스크린을 수행하였다. 0.2% 아라비노스로 보충된 LB-암피실린 플레이트 위에 약 1-cm × 2-cm 패치로서 히트(hit)를 줄로 그었다. 37℃에서 밤새 배양 후, 플레이트를 클로로포름 증기에 노출시켜 임의의 여전히 생존 가능한 이. 콜라이를 사멸하고 투과성화시켰다. 그 다음, 패치를 에이. 바우마니를 함유하는 용융된 소프트 아가와 겹쳐놓고, 투명 환(clearing zone)을 관찰하였다. 클론 주변의 투명 환이 존재하는 21개의 양성 클론을 확인하였다. 도 2는 아가에 내장된 투명한 살아있는 에이. 바우마니에서 라이신 클론 활성의 대표적인 스크린을 나타낸다.

[0091] 양성 클론의 삽입물을 서열화하고, NCBI 단백질 데이터베이스의 서열과 비교하였다. 정렬은 21개의 클론 중에서 용해 활성의 4개의 부류가 존재하는 것을 나타냈다: i) 9개는 글리코실 가수분해효소 패밀리이고, ii) 7개는 파지 베이스플레이트 라이소자임이고, iii) 2개는 라이소자임 오토라이신이고, iv) 3개는 라이신이었다(도 3). 여기서 참고하기 쉽도록, 부류와 상관없이, 이들 서열에 의해 인코딩된 폴리펩타이드는 "라이신"으로서 지칭된다. 도 4는 21개의 클론을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열의 유사성을 기반으로 한 서열 정렬을 나타낸다. 도 5는 21개의 클론의 폴리펩타이드 서열의 유사성을 기반으로 한 서열 정렬을 나타낸다.

[0092] **실시예 2**

[0093] 양성 클론의 활성.

[0094] 21개의 상이한 작제물을 13개의 상이한 에이. 바우마니 임상적 분리균에 대한 활성에 대하여 스크리닝하였다. 작제물을 이. 콜라이에서 재조합적으로 발현시켰다. 세포를 30℃에서 200rpm으로 성장시키고, 중간-대수기에 도달시, 0.2% 아라비노스를 첨가하여 이들을 유도하였다. 유도를 밤새 계속하였다. 아침에, 세포를 회전 하강시키고, 50 mM 인산나트륨 버퍼 pH 7.0로 3회 세척한 후, 에멀시플렉스(Emulsiflex) 균질기에서 균질화시켰다. 세포 파괴물을 원심분리(16000 g, 45분)로 제거하고, 용해물을 0.22 um 무균 필터를 통해 통과시켜 미정제 용해물을 생성하였다.

[0095] TSB 중에서 밤새 성장한 에이. 바우마니를 50℃ 소프트 아가 TSB와 혼합하고, 아가 상층으로서 TSB 아가 플레이트에 부었다. 플레이트를 실온에서 굳도록 하였다. 미정제 용해물(10 ul)을 에이. 바우마니를 갖는 소프트 아가 플레이트에 가하고, 2시간 동안 실온에서 날마다 배양하였고, 이 때 잔여 시간 동안 4℃로 유지하였다. 플레이트를 투명 환이 가시적이 될 때까지 배양하였다(4-5 일). 미정제 용해물의 원래 스폿보다 큰 투명 환을 점수화

하였다. 각각의 라이신 위의 숫자는 라이신에 대한 얼마나 많은 염색이 가장 효과적인지를 나타낸다.

[0096] 결과를 도 6에 나타낸다. 라이신 작제물을 x축에 나타내고, 용해된 아시네토박터 균주의 퍼센트를 y축에 나타낸다. 각각의 막대 위의 숫자는 라이신이 가장 효과적인 균주의 수를 지시하고, 숫자가 없는 것은 하나의 균주를 지시한다. 볼 수 있는 바와 같이, 라이신 F307은 시험된 균주의 약 90%를 용해시켰고, 7개의 균주에 대하여 가장 큰 활성을 갖는다.

[0097] **실시예 3**

[0098] F307에 의한 에이. 바우마니의 용해.

[0099] 도 7은 F307 폴리펩타이드로 처리 후 에이. 바우마니 균주 1791 세포의 대표적인 투과 전자 현미경 사진을 나타낸다. 현미경 사진은 F307이 세포질막의 압출을 통해 세포의 외부에 대한 용해를 유발하는 것으로 보인다(도 7 참조, 화살표). 에이. 바우마니 균주 1791의 100 ㎖ 배양 2개를 BHI 배지에서 출발시키고, 500 ㎖ 플라스크에서 1.5시간 동안 37℃에서, 200 rpm으로 성장시켰다. 그 다음, 세포를 원심분리하고, 1X PBS 버퍼로 1회 세척하였다. 그 다음, 이들을 1X PBS 1.2 ㎖ 중에 재현탁시켰다. EDTA를 250 μM의 최종 농도로 각각의 샘플에 첨가하였다. 실험 샘플에 라이신 300㎕를 가하고(대략 1.2 mg 최종 농도), 대조군(EDTA 단독) 및 실험군(EDTA+F307 라이신)을 25℃에서 배양하였다. 시간점을 0.5, 1, 5, 10, 15, 및 30분에 취하였다. 반응을 급랭시키고, CAC 버퍼(10 mm 카코딜산나트륨, 0.1 m CaCl2, pH 6.5) 중에 2.5% 글루터알데하이드(Gluteraldhyde)를 사용하여 세포를 고정하였다.

[0100] **실시예 4**

[0101] 시험관내 및 생체내 카테터 위의 에이. 바우마니 생물막에 대한 F307 폴리펩타이드의 효과.

[0102] F307 라이신에 의한 카테터 부착성 에이. 바우마니 1791의 시험관내 처리

[0103] 무균 메스를 사용하여 카테터 튜브(케어퓨전(CareFusion) Ref#72023E)를 3 인치 길이 절편으로 절단하였다. 에이. 바우마니 1791의 밤새 배양을 사용하여 TSB 0.2% 글루코스(대략 1X105 CFU/㎖) 50 ㎖를 1:1000 접종하였다. 각각의 3 인치 카테터 튜브를 1:1000 희석된 배양의 300 내지 350㎕로 시딩(seeding)하였다. 그 다음, 카테터를 클램핑하고, 37℃ 배양기에서 3일 동안 플라스틱 컨테이너에 넣어 생물막 형성이 발생하도록 하였다. 3일 후, 카테터를 PBS 또는 인산나트륨 버퍼 pH 7.5로 2회 세척한 다음, F307 300 내지 350㎕를 튜브에 첨가하였다(대략 1 mg 최종 농도). 그 다음, 카테터를 클램핑하였다. 카테터를 시간점 0, 15분, 30분, 및 1시간에 취하였다. 카테터를 50 mM 인산나트륨 pH 7.5로 2회 세척하고, 작은 조각으로 절단하였다. 이들을 1.5 ㎖ 에펜도르프 튜브에 넣고, 50 mM NaP 버퍼 pH 7.5 500 ㎕를 가하였다. 튜브를 20분 동안 초음파처리하고, 1분 동안 보텍싱하였다. 그 다음, 샘플을 연속 희석하고, 20 ㎕를 BHI 아가 플레이트의 사분면에 놓고, 37℃에서 밤새 배양하였다. CFU를 다음날 아침에 계산하였다.

[0104] 에이. 바우마니의 콜로니 형성 단위(CFU)의 수에서 약 4-로그 하락이 처리 30분 후 관찰되었다. 표 3은 CFU 계수를 나타낸다. 도 8은 F307 폴리펩타이드 250 ㎍ 처리 전과 후, 에이. 바우마니 균주 1791의 3일 생물막의 주사 전자 현미경 사진을 나타낸다.

표 3

[0105] 카테터 위의 에이. 바우마니 생물막 처리.

샘플	CFU
미처리	1.4×10^7
미처리 복제	3.0×10^6
15분 F307 처리	9.0×10^4
30분 F307 처리	6.0×10^3

[0106] **실시예 5**

[0107] 마우스 카테터 모델; 카테터 튜브의 몇몇 3 인치 절편을 에이. 바우마니 균주 1791로 시딩하였다(1:1000). 에이. 바우마니 생물막을 상기 기재된 바와 같이 형성하였다. BALB/C 마우스 20 마리의 등을 면도하고, 이들의

등을 살균한 다음, 절개를 만들어 카테터 1 인치 절편을 등 피부 아래 이미 형성된 생물막과 함께 배치하였다. 그 다음, 절개를 스테이플로 봉합하였다. 24시간 후, F307(1 mg)(n=10) 250 ㎕ 또는 대조군 비히클(n=10) 250 ㎕를 마우스의 피부 아래에 있는 카테터 내로 직접 주사하였다. 4시간 후, 처리를 반복하였다. 3시간 후, 카테터를 마우스로부터 제거하고, 실험 4에 기재된 바와 같이 분석하였다. 도 9는 대조군과 비교하여 F307 폴리펩타이드 처리한 마우스에서 약 2-로그만큼 박테리아 수의 감소를 나타낸다.

[0108] **실시예 6**

[0109] F307 폴리펩타이드는 에이. 바우마니의 치사 주사 후 죽음으로부터 마우스를 구하였다.

[0110] C57BL/6 마우스 22 마리에게 에이. 바우마니 균주 10^8 CFU를 복강내(IP) 제공하였다. 2시간 후, 마우스 2 마리를 안락사시키고, 장기를 하기 기재된 바와 같이 시험하고, 마우스 10 마리에게 F307 1 mg을 IP 주사하고, 마우스 10 마리에게 대조군 비히클을 IP 주사하였다. 라이신의 이러한 용량으로 처리된 동물은 50% 생존을 보인 반면, 대조군 마우스는 감염 후 14 일에 오직 10% 생존만을 보였다(도 10).

[0111] 감염 후 안락사시킨 마우스 2 마리로부터의 장기를 시험하여 장기가 F307 폴리펩타이드로 처리된 시간에 에이. 바우마니로 감염되어 있었다는 것을 확인하였다. 간, 비장, 신장, 및 심장을 마우스로부터 절개하였다. 그 다음, 장기를 1X PBS 500 ㎕ 중에 균질화시켰다. 희석액을 만들고, 뇌 심장 침출(BHI) 플레이트에 플레이팅하였다. 플레이트를 37℃에서 밤새 배양하였다. 콜로니 형성 단위의 숫자를 계수하였다. 2시간 시간점에 대조군 마우스를 희생시키고, 시험된 모든 장기에서 아시네토박터가 보였고, 이는 장기가 처리 시간에 에이. 바우마니로 감염되었다는 것을 나타낸다.

[0112] **실시예 7**

[0113] P307 폴리펩타이드(서열번호 43)를 에이. 바우마니 균주의 임상적 분리균 18개에 대하여 이중으로 시험하였다. 에이. 바우마니 균주를 배양하여 정지기에 도달하였다. 세포를 20 mM 트리스 pH 7.5로 3회 세척하고, 약 0.7의 OD(595nm)와 동일한 버퍼 중에 재현탁시켰다. 이들 세포에, P307(250 ug/㎖) 또는 상응하는 용적의 버퍼를 가하고, 혼합물을 60분 동안 실온에서 배양하도록 하였다. 혼합물의 희석액을 만들고, 콜로니 형성 단위의 후속적인 계수를 위하여 TSB 아가 플레이트에 플레이팅하였다.

[0114] P307 폴리펩타이드 처리는 P307 250 ㎍과 60분 동안 배양 후, 대조군에 비하여, 박테리아 생존능이 1 내지 8-로그 하락을 야기하였다. 결과를 표 4에 나타낸다. P307를 완전한 길이의 F307 폴리펩타이드(서열번호 1)와 비교하는 경우, P307 폴리펩타이드는 더 높은 활성을 가졌다.

표 4

[0115] 18개의 에이. 바우마니 균주에 대한 P307 활성.

균주	대조군 1	대조군 2	대조군 평균	P307 1	P307 2	P307 평균	차이	로그 하락
1775	1.00E+08	4.50E+08	2.75E+08	1.00E+07	1.50E+07	1.25E+07	2.20E+01	1.34
1776	5.50E+08	3.50E+08	4.50E+08	8.80E+05	7.50E+05	8.15E+05	5.52E+02	2.74
1777	7.00E+08	4.00E+08	5.50E+08	6.50E+06	9.00E+06	7.75E+06	7.10E+01	1.85
1788	2.00E+08	3.00E+08	2.50E+08	1.50E+07	1.20E+07	1.35E+07	1.85E+01	1.27
1789	4.50E+08	3.50E+08	4.00E+08	1.10E+07	1.30E+07	1.20E+07	3.33E+01	1.52
1790	1.50E+08	2.00E+08	1.75E+08	5.50E+05	1.80E+05	3.65E+05	4.79E+02	2.68
1791	9.0E+08	4.5E+08	6.8E+08	2.2E+05	2.2E+05	2.2E+05	3.1E+03	3.49
1792	1.2E+09	8.5E+08	1.0E+09	7.1E+05	7.5E+05	7.3E+05	1.4E+03	3.15
1793	3.5E+08	5.0E+08	4.3E+08	6.5E+05	5.6E+05	6.1E+05	7.0E+02	2.85
1794	7.5E+08	4.0E+08	5.8E+08	7.0E+05	6.0E+05	6.5E+05	8.8E+02	2.95
1795	9.5E+08	1.3E+09	1.1E+09	9.0E+06	2.5E+07	1.7E+07	6.6E+01	1.82
1796	1.0E+09	7.0E+08	8.5E+08	8.2E+05	8.2E+05	8.2E+05	1.0E+03	3.02
1797	1.2E+09	9.0E+08	1.1E+09	6.7E+05	6.5E+05	6.6E+05	1.6E+03	3.20
1798	4.0E+08	4.0E+08	4.0E+08	2.7E+05	6.5E+05	4.6E+05	8.7E+02	2.94
1799	5.5E+08	3.5E+08	4.5E+08	2.9E+07	7.0E+06	1.8E+07	2.5E+01	1.40
S1	1.4E+09	1.1E+09	1.3E+09	4.2E+07	3.0E+07	3.6E+07	3.5E+01	1.54
S3	2.5E+08	2.0E+08	2.3E+08	6.8E+05	6.5E+05	6.7E+05	3.4E+02	2.53
S5	1.1E+09	8.5E+08	9.8E+08	1.0E+00	1.0E+00	1.0E+00	9.8E+08	8.99

[0116] **실시예 8**

[0117] 짧은 확장 펩타이드의 첨가는 P307의 증가된 항박테리아 활성을 야기하였다.

[0118] 펩타이드 SQSRESQC(서열번호 44)는 C형 간염 바이러스로부터 유래되고, 그램-양성 및 그램-음성 박테리아에 대하여 항미생물 활성을 갖는 것으로 나타났다. 우리는 접합된 이러한 서열을 P307(P307Ex)에 접합시켜 활성에 대한 이의 효과를 측정하였다. F307, p307 및 P307Ex의 서열(각각 서열번호 1, 43 및 45)은 도 11에 제공되고, 여기서 F307 서열의 일부는 밑줄 표시되어 P307의 위치를 나타내고, P307 서열의 일부는 이중 밑줄 표시되어 항미생물 서열의 위치를 나타낸다.

[0119] P307 및 P307Ex를 6개의 박테리아 균주에 대하여 이중으로 분석하였다. 항박테리아성 산도를 실시예 5에 기재된 바와 같이 측정하였다. P307Ex 처리는 **에이. 바우마니 1791**의 3.2 로그 하락을 야기한 반면, P307 처리는 2.9 로그 하락을 야기하고, 이는 항미생물 펩타이드의 첨가가 P307의 활성을 증가시켰음을 입증하였다. 결과는 표 5에 나타낸다.

표 5

[0120]

균주	대조군 1	P307 EX1	P307 EX 2	P307Ex 평균	차이	로그 하락
1775	5.00E+08	1.60E+05	1.10E+05	1.35E+05	3.70E+03	3.5
1776	5.00E+08	5.50E+05	6.50E+05	6.00E+05	8.33E+02	2.9
1777	6.50E+08	6.50E+04	2.80E+05	1.73E+05	3.77E+03	3.5
1788	3.50E+08	8.80E+05	5.80E+05	7.30E+05	4.79E+02	2.6
1789	4.00E+08	1.10E+07	1.30E+07	1.20E+07	3.33E+01	1.5
1790	2.00E+08	1.50E+04	2.00E+04	1.75E+04	1.14E+04	4.0
1791	3.50E+08	4.00E+04	4.50E+04	4.25E+04	8.24E+03	3.9
1792	1.00E+08	4.00E+04	5.00E+03	2.25E+04	4.44E+03	3.6
1793	1.50E+08	3.50E+04	2.00E+04	2.75E+04	5.45E+03	3.7
1794	5.00E+07	1.40E+05	1.00E+05	1.20E+05	4.17E+02	2.6
1795	4.00E+08	5.50E+04	1.30E+05	9.25E+04	4.32E+03	3.6
1796	2.50E+08	3.80E+05	2.50E+05	3.15E+05	7.94E+02	2.8
1797	2.50E+08	5.50E+06	8.50E+06	7.00E+06	3.57E+01	1.5
1798	3.50E+08	3.40E+05	3.70E+05	3.55E+05	9.86E+02	3.0
1799	3.50E+08	5.00E+03	3.00E+04	1.75E+04	2.00E+04	4.3
S1	8.50E+08	5.90E+05	7.00E+05	6.45E+05	1.32E+03	3.1
S3	3.00E+08	1.60E+07	1.40E+07	1.50E+07	2.00E+01	1.3
S5	1.50E+09	5.00E+05	2.90E+05	3.95E+05	3.80E+03	3.57

[0121] P307 및 P307Ex를 에이. 바우마니 균주 1791, 이. 콜라이, 피. 아에루기노사 균주 PAO1, 에스. 아우레우스 균주 RN4220, 에스. 아우레우스 균주 8325 및 비. 안트라시스에 대한 활성에 대하여 시험하였다. 표 6에 나타낸 바와 같이, P307 및 P307은 에이. 바우마니 및 비. 안트라시스에 대하여 더 활성을 가졌다.

표 6

[0122] 다른 박테리아 종에 대한 P307 및 P307Ex.

샘플	에이. 바우마니 1791	이. 콜라이	비. 안트라시스 Δ스턴	슈도모나스 아에루기노사 PAO1	에스. 아우레우스 RN4220	에스. 아우레우스 8325
대조군 1	5.50E+08	5.50E+08	2.40E+07	1.30E+09	1.50E+09	6.50E+08
대조군 2	2.60E+08	4.50E+08	2.80E+07	4.50E+08	7.50E+08	9.50E+08
P307EX 1	1.10E+05	3.50E+08	2.60E+03	4.70E+07	5.20E+07	3.20E+07
P307EX 2	3.90E+05	3.00E+08	2.90E+03	3.70E+07	5.80E+07	3.60E+07
P307 1	5.80E+05	3.50E+08	3.10E+03	5.60E+07	8.00E+08	4.80E+07
P307 2	3.70E+05	3.50E+08	4.00E+03	4.00E+07	4.50E+08	4.40E+07
평균 대조군	4.05E+08	5.00E+08	2.60E+07	8.75E+08	1.13E+09	8.00E+08

평균 P307EX	2.50E+05	3.25E+08	2.75E+03	4.20E+07	5.50E+07	3.40E+07
평균 P307	4.75E+05	3.50E+08	3.55E+03	4.80E+07	6.25E+08	4.60E+07
차이 P307EX	1.62E+03	1.54E+00	9.45E+03	2.08E+01	2.05E+01	2.35E+01
차이 P307	8.53E+02	1.43E+00	7.32E+03	1.82E+01	1.80E+00	1.74E+01
로그 하락 P307EX	**3.2**	**0.2**	**4.0**	**1.3**	**1.3**	**1.4**
로그 하락 P307	**2.9**	**0.2**	**3.9**	**1.3**	**0.3**	**1.2**

[0123] **실시예 9**

[0124] P307은 B 세포 또는 적혈구에 독성이 아니다.

[0125] P307을 적혈구와 혼합하여 이것이 용해를 유발할 수 있는지 여부를 측정하였다. P307 200 ㎍에서 용해가 관찰되지 않았다. P307을 B 세포주의 용해에 대하여 시험하는 경우, 24시간 후, 세포 수에 오직 약간의 영향만을 미치는 것으로 확인되었다. 결과는 표 7에 나타낸다.

표 7

[0126] (생존%)

샘플	**0분**	**5분**	**30분**	**1시간**	**2시간**	**3시간**	**24시간**
초기 세포 단독	97%			83.60%		85%	88.20%
트리스-HCl pH=6.8		97.20%	89.70%	94.70%	81.50%	90.90%	89.90%
200 ㎍ P307		94.60%	1100%	71.40%	71.90%	58.60%	76.30%
20 ㎍ P307		97.20%	88.60%	89.70%	90.30%	91.00%	94.20%
2 ㎍ P307		95.20%	76.90%	89.30%	92.50%	93.80%	96.30%

[0127] 실시예 10 내지 20에서 사용된 펩타이드는 화학적으로 합성되었다.

[0128] 미리 커플링된 왕(Wang)(*p*-알콕시-벤질 알코올) 수지(바켐(Bachem), 미국 캘리포니아주 토란스 소재) 상에서 프로테인 테크놀로지스 심포니(Protein Technologies Symphony)™ 펩타이드 합성기(피티아이 투손(PTI Tucson), 미국 애리조나주 소재)를 사용하여 펩타이드를 생성하였다. 반응 용기에 25μM로 로딩하고, 펩타이드를 Fmoc 보호된 아미노산(아나스펙(Anaspec), 미국 캘리포니아주 새너제이 소재)을 사용하여 연장하였다(1997. Standard Fmoc protocols. **289**:44-67). 아민의 탈보호화는 NMP(N-메틸피롤리딘온) 중의 20% 피페리딘(시그마-알드리치(Sigma-Aldrich))에 의해 달성하였다. 일차 용매로서 NMP(EMD)를 사용하고, 0.6 M HATU/Cl-HOBT(아자벤조트리아졸 테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트/6-클로로-1-하이드록시벤조트리아졸)(피쓰리 바이오시스템스(P3 Biosystems), 미국 켄터키주 셀비빌 소재) 및 0.4 M NMM(N-메틸모르폴린)를 사용하여 반복적인 커플링 반응을 수행하였다(1989. New Coupling Reagents in Peptide Chemistry 30:1927-1930). 100 ㎖ 둥근 바닥 플라스크로 옮겨 수지 개열 및 측쇄 탈보호화를 달성하고, 6시간 기간 프레임 동안 95:2:2:1 비의 트라이이소프로필실란(플루카(Fluka)), 탈기수, 및 3,6-다이옥사-1,8-옥탄다이티올(DODT, 시그마-알드리치)을 갖는 농축된 서열화 등급의 트라이플루오르아세트산(피셔(Fisher)) 4.0 ㎖과 반응시켰다. 그 후, 50 ㎖ 둥근 바닥 플라스크로 컬럼 여과를 수행하고, 회전 증발기를 사용하여 TFA 용적을 2 ㎖로 감소시켰다. 차가운 tert-부틸 메틸 에터(TBME, 시그마-알드리치) 40 ㎖를 함유하는 팔콘 튜브 50 ㎖로 옮김으로써 표준 에터 침전을 개별적인 펩타이드에 대하여 수행하였다. 샘플을 얼음 욕조에 2시간 동안 넣어 침전을 보조한 후, 원심분리(3300 rpm, 5분)를 사용하여 펠렛을 형성하였다. 과량의 에터를 진공 흡인으로 제거하고, 펩타이드 펠렛을 흄 후드에서 밤새 건조되도록 하였다. 건조된 펩타이드 펠렛을 20% 아세토나이트릴 및 10 ㎖ HPLC 등급 물 중에 용해시키고, LC/MS를 위하여 하위 샘플링하고, 동결건조하였다. 워터스(Waters) BEH C18 컬럼을 사용하는 역상 액큐티(Aquity)™ UPLC(워터스 크로마토그래피(Waters Chromatography), 미국 매사추세츠주 밀포드 소재)으로 모든 미정제 생성물을 후속적으로 분석하였다. 개별적인 펩타이드 완전성을 써모핀니간 엘티큐(ThermoFinnigan LTQ)™(써모 피셔(Thermo Fisher), 미국 매사추세츠주 월섬 소재) 분광계 시스템을 사용하는 직렬 전자분무 질량 분광계로 확인하였다. 워터스 600 Prep HPLC 상에서 Vydac C18 RP 분취 컬럼에서 분취 크로마토그래피를 달성하였다. 개별적인 분획들을 30초 간격으로 수집하고, LC/MS를 사용하여 특성화하고, 목적하는 생성물을 함유한 분획들을 동결건조하였다. 다양한 분석을 위하여 오토클레이빙된 밀리-큐(Milli-Q) 물 중에 재현탁시키기 전까지, 이들을 -20℃에서 저장하였다. 그 다음, 스톡 용액을 4℃에서 저장하였다. 펩타이드는 이들의 아미노산 서열, 등전점(pI) 및 분자량(MW)에 대하여 표 8에 요약한다.

표 8

[0129]

명칭	아미노산 서열	pI	MW	서열번호
F307		10.12	16 kDa	1
P307	NAKDYKGAAAEFPKWNKAGGRVLAGLVKRRK	10.71	3.4 kDa	43
P307AE-8	NAKDYKGAAAEFPKWNKAGGRVLAGLVKRRK**AEMELFLK**	10.21	4.4 kDa	49
P307SQ-8C	NAKDYKGAAAEFPKWNKAGGRVLAGLVKRRK**SQSRESQC**	10.38	4.3 kDa	45
P307CS-8	NAKDYKGAAAEFPKWNKAGGRVLAGLVKRRK**CSQRQSES**	10.38	4.3 kDa	51
P307SQ-8A	NAKDYKGAAAEFPKWNKAGGRVLAGLVKRRK**SQSRESQA**	10.69	4.3 kDa	53

[0130] **실시예 10**

[0131] 본 발명의 기재내용의 펩타이드의 시험관내 살박테리아 활성의 비교.

[0132] 펩타이드, P307, P307AE-8, P307SQ-8C, 및 P307CS-8의 시험관내 살박테리아 활성을 측정하기 위하여, 박테리아를 2시간 동안 실온에서 펩타이드로 처리하였다. 생존한 세포를 연속 희석하고, TSB 아가 플레이트에 플레이팅하여 활성을 측정하였다.

[0133] 에이. 바우마니 균주 #1791, S5 및 ATCC17978을 처리함으로써 펩타이드, P307, P307AE-8 및 P307SQ-8C 50 ㎍/㎖의 살박테리아 활성을 비교하였다. 검출 한계(<10 cfu/㎖) 이하로 박테리아 약 10^6 cfu/㎖를 감소시킨 P307SQ-8C가 가장 활성이 높았다. P307은 P307AE-8-보다 약간 더 높은 활성이었지만, 두 펩타이드 모두는 생존 가능한 박테리아에서 3.8-로그-단위 감소를 유도하였다(도 2A). 8개의 아미노산, SQSRESQC이 어떻게 P307SQ-8C의 더 높은 활성에 기여하는지를 조사하기 위하여, P307 50 ㎍/㎖과 동일한 몰 농도의 펩타이드 SQSRESQC를 그 자체로 또는 P307와 조합으로 에이. 바우마니 균주 #1791 및 S5에 가하였다. 활성을 P307 및 P307SQ-8C 50 ㎍/㎖와 비교하였다. 조합은 단지 P307만큼 활성이었고, SQSRESQC 펩타이드 단독은 활성을 갖지 않았다(도 2B). 따라서 연관(linkage)은 P307SQ-8C의 높은 살박테리아 활성에 필수적이다. 그 다음, 우리는 서열과 조성의 중요성을 조사하였다. P307SQ-8C에서 마지막 8개의 아미노산을 스크램블링함으로써, 우리는 P307에 대한 CSQRQSES의 C-말단 첨가로 P307CS-8을 합성하였다. P307SQ-8C와 P307CS-8의 활성은 비슷하였다(도 2C). 오차 막대는 표준 편차를 나타내고, 흑색 수평선은 검출 한계를 표시한다. 따라서, 우리는 P307SQ-8C의 우수한 활성이 마지막 8개의 아미노산의 순서와 관계없이 마지막 8개의 아미노산의 조성으로부터 유래된다고 결론지었다. 추가의 조사를 위하여, 우리는 이것이 가장 활성이 크고 이의 활성이 P307와 비슷하기 때문에 P307SQ-8C를 사용하였다.

[0134] **실시예 11**

[0135] P307 및 P307SQ-8C의 살박테리아 활성

[0136] P307 및 P307SQ-8C의 시험관내 활성에 대한 pH 및 NaCl의 효과를 조사하였다. 에이. 바우마니 균주 #1791을 펩타이드 50 ㎍/㎖로 처리하여 각각의 조건을 시험하였다. 2 버퍼 시스템(인산나트륨 및 트리스-HCl)을 사용하여 pH 6.8, 7.5, 8.0 및 8.8을 시험하였다. 펩타이드는 트리스-HCl에서 더 활성이 높았고, pH가 높을수록 사멸을 더 우수하게 유발하였다(도 13A). 따라서, 우리는 근사치가 생리학적 pH인 50 mM 트리스-HCl, pH 7.5에 의한 우리의 시험관내 실험을 계속하기로 선택하였다. 두 펩타이드 모두의 활성은 NaCl의 농도에 반비례하였다(도 13B). 그 다음, 에이. 바우마니 균주 #1791를 처리함으로써 P307의 적정 및 P307 및 P307SQ-8C의 치사 동역학을 조사하였다. P307의 활성은 농도-의존적이었고, 4 ㎍/㎖로부터 시작하였다(도 13C). P307SQ-8C는 P307보다 빠르게 작용하였고, 5분 시간점에서 이미 약 3.2-로그-단위 감소를 야기하였다(도 13D). 실온 또는 37℃에서 펩타이드의 활성은 차이가 없었다(데이터 도시되지 않음). 이러한 시험관내 특성화 실험으로부터, 달리 지시되지 않는 한, 우리는 우리의 최적 실험 조건이 50 mM 트리스-HCl, pH 7.5, 50 ㎍/㎖ 펩타이드 및 실온(22 내지 25℃)에서 2시간인 것으로 결정하였다.

[0137] **실시예 12**

[0138] 그 다음, 우리는 상이한 박테리아 종, 에이. 바우마니(균주 번호 1775, 1776, 1777, 1788, 1789, 1790, 1791, 1792, 1793, 1794, 1796, 1797, 1798, 1799, ATCC 17978 및 S1, S3, D5), 바실러스 안트라시스(*Bacillus anthracis*)(Δ스턴), 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*)(DH5α), 슈도모나스 애루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)(PA01), 스타필로코쿠스 아우레우스(RN4220) 및 클렙시엘라 뉴모니아(*Klebsiella pneumonia*)의 균주 2개(ATCC 700603 및 ATCC10031)에 대한 P307 및 P307SQ-8C의 시험관내 살박테리아 스펙트럼을 조사하였다.

이들 박테리아 종을 50 mM 트리스-HCl, pH 7.5 중에서 2시간 동안 실온에서 P307 또는 P307SQ-8C 50 ㎍/㎖로 처리하여 펩타이드의 특이성을 조사하였다. 시험된 박테리아 중에서, 에이. 바우마니 균주는 지속적으로 펩타이드에 가장 큰 민감성을 나타냈고, P307 및 P307SQ-8C에 의해 각각 2.7- 및 6.2-로그-단위 감소의 평균을 나타냈다. 바실러스 안트라시스, 슈도모나스 아에루기노사 및 스타필로코쿠스 아우레우스는 중간 정도로 민감하였다. P307 및 P307SQ-8C는 이들 박테리아에 있어서 각각 약 1.3- 및 2.9-로그 단위 감소의 평균을 생성하였다. 그러나, 에스케리키아 콜라이 및 클렙시엘라 뉴모니아는 두 펩타이드 모두에 내성이 있다(도 14).

[0139] **실시예 13.**

[0140] 추가로, 상이한 성장기에서 에이. 바우마니에 대한 펩타이드의 활성을 조사하기 위하여, 우리는 대수기, 정지기 및 생물막 상태에서 균주 #1791의 민감성을 비교하였다. 대수기(신선한 배지에서 1:100 밤새 배양의 접종 후 3시간) 및 정지기(밤새 배양)에서의 박테리아를 2시간 동안 실온에서 P307 또는 P307SQ-8C 50 ㎍/㎖로 처리하였다. 생존한 세포를 연속 희석하고, TSB 아가 플레이트에 플레이팅하여 cfu/㎖를 측정하였다(도 15A). 균주 #1791 약 10^5 cfu/㎖를 약 2.5 cm 길이의 카테터 내부의 0.2% 글루코스를 갖는 TSB 중에서 72시간 동안 37℃에서 배양함으로써 에이. 바우마니 생물막을 확립하였다. 그 다음, 카테터를 세척하여 부유 세포를 제거하고, P307 또는 P307SQ-8C 250 ㎍/㎖로 처리하였다. 실온에서 2시간 및 24시간 후, 생물막을 철저하게 파괴하고, 생존한 세포를 재현탁시켜 플레이팅하고, 계수하여 시험관내 생물막에 대한 펩타이드의 사멸 효능을 측정하였다(도 15B). 대수기 유기체는 정지기보다 P307에 약간 더 민감하였다(약 3.7- 대 2.4-로그-단위 감소). P307SQ-8C과의 이러한 차이는 없는 것으로 보인다(도 15A). 생물막은 모든 성장기에서 가장 큰 내성을 가졌다. 생물막을 2 또는 24시간 동안 P307 또는 P307SQ-8C 250 ㎍/㎖로 처리하였다. 2시간 후, cfu/㎖에서의 약 3- 및 4-로그-단위 감소가 각각 P307 및 P307SQ-8C에 대하여 관찰되었다. 24시간 후, P307은 추가의 약 1.3-로그-단위 감소를 생성한 반면, P307SQ-8C는 그렇지 않았다(도 15B).

[0141] **실시예 14**

[0142] 펩타이드 P307 및 P307SQ-8C의 효능을 몇몇 임상적으로 사용되는 항생제와 비교하기 위하여, 우리는 2개의 에이. 바우마니 균주, #1791 및 ATCC17978에 대하여 최소 억제 농도 분석을 수행하였다. 마이크로티터 희석 방법을 사용하여 에이. 바우마니 균주 #1791, #1798, S5 및 ATCC17978에 대하여 레보플록사신, 세프타지딤, 폴리믹신 B, P307 및 P307SQ-8C의 MIC를 측정하였다. 항생제에 대하여, 문헌 [Etest Lood R, et al., 2015 Antimicrob. Agents Chemother. 59:1983-1991]에 따라 측정된 MIC의 1.5 내지 2배 연속 희석(3개는 낮고, 3개는 높음)이 포함되었다. 펩타이드에 대하여, 2배 연속 희석(500-31.25 ㎍/㎖)을 시험하였다. 밤새 배양을 뮐러-힌톤(Mueller-Hinton) 브로쓰(pH 7.9) 중의 0.001의 OD_{600}(약 10^5 cfu/㎖)으로 재현탁시켰다. 각각의 희석에 대하여 최종 100㎕가 되도록 항생제 또는 펩타이드를 가하였다. 박테리아를 37℃에서 24시간 동안 220 rpm으로 성장하도록 하였다. 그 다음, 595 nm에서 흡광도를 스펙트라맥스 플러스 리더(SpectraMax Plus Reader)(몰레큘라 디바이시스(Molecular Devices))에서 판독하였다. 완전하게 박테리아 성장을 억제하는 항미생물제의 가장 낮은 농도로서 MIC를 측정하였다. 알라마르®블루(Alamar®Blue)를 사용하여 OD_{595}로부터 수득된 데이터를 확인하였다. 실험을 적어도 2회 이중으로 수행하였다.

[0143] 균주는 모든 항미생물제에 대하여 다양한 정도의 민감성을 나타냈다(표 9).

표 9

[0144]

에이. 바우마니 균주	레보플록사신		세프타지딤		폴리믹신 B		P307		P307SQ-8C	
	㎍/㎖	μM	㎍/㎖	μM	㎍/㎖	μM	㎍/㎖	μM	㎍/㎖	μM
#1791	6	16.6	250	457	0.25	0.19	375	110	125	29
ATCC17978	≤0.1	0.3	12	21.9	0.25	0.19	750	220	≤500	≤116

[0145] P307SQ-8C는 P307보다 낮은 MIC를 갖고, 이는 시험관내 사멸 활성에 따른 것이다(도 2 및 도 3).

[0146] **실시예 15**

[0147] B 세포 생존 및 용혈에 의해 측정된 P307 및 P307SQ-8C의 세포독성 효과.

[0148] 록펠러 대학 병원(The Rockefeller University Hospital)에서의 류마티스열 환자로부터 수득된 인간 B 세포를 10% 소 혈청, 페니실린 및 스트렙토마이신으로 보충된 RPMI 배지에서 성장시켰다. 세포를 저속 원심분리로 수확

하고, 배지에서 1회 세척하고, 트리판 블루 배제 시험에 의해 측정된 바, 미리 가온된 배지에 10^7 세포/㎖의 농도로 재현탁시켰다. 펩타이드(P307, P307SQ-8C 및 멜리틴)를 배양 배지 중에 연속 희석하고(80-0.3125 μM), 5×10^4 살아있는 세포에 가하였다. 세포를 1시간 동안 37℃에서 가습된 5% CO_2 대기에서 배양하고, 그 후, 이들을 제조사의 지침에 따라 염색하였다(셀타이터(CellTiter) 96 비방사성 세포 증식 분석; 프로메가(Promega)). 샘플을 추가 4시간 동안 배양한 후, 가용화/중단(Solubilization/Stop) 용액을 가하고, 밤새 배양하였다. 570 nm에서의 흡광도를 스펙트라맥스 플러스 리더(몰레큘라 디바이시스)에서 측정하였다. 반응을 이중으로 2회 수행하고, 대표적인 데이터를 평균 ± 표준 편차로서 나타낸다.

[0149] 건강한 개체로부터의 인간 혈액을 EDTA-튜브에 모으고, 적혈구(RBC)를 저속 원심분리를 통해 수집하였다. 세포를 PBS 중에 세척하고, 10% RBC 용액으로 재현탁시켰다. P307 및 P307SQ-8C를 PBS 중에서 연속 희석하였다(80-0.3125 μM). PBS 및 1% 트리톤(Triton) X-100를 각각 음성 및 양성 대조군으로서 사용하였다. 샘플을 혼합하고 1시간 동안 37℃에서 배양하였다. 상청액을 수집하고, 405 nm에서의 흡광도를 스펙트라맥스 플러스 리더(몰레큘라 디바이시스)를 통해 기록하였다. 반응을 이중으로 2회 수행하고, 대표적인 데이터를 평균 ± 표준 편차로서 나타낸다.

[0150] 펩타이드의 연속 희석을 약 5×10^4 살아있는 B 세포와 함께 1시간 동안 37℃에서 가습된 5% CO_2 대기에서 배양하고, 멜리틴을 양성 대조군으로서 사용하였다. 셀타이터 96® 비방사성 세포 증식 분석(프로메가)를 제조사의 프로토콜에 따라 사용하여 B 세포의 생존을 정량하였다. 적혈구(RBC)를 펩타이드의 연속 희석과 함께 배양하고, 상청액으로의 헤모글로빈의 방출을 OD_{405}로 측정하여 용혈을 측정하였다. 트리톤 X-100을 양성 대조군으로서 사용하였다. 오차 막대는 표준 편차를 나타낸다.

[0151] 인간 B 세포 및 적혈구(RBC)를 사용하여 펩타이드를 이의 세포독성에 대하여 시험하였다. 멜리틴 양성 대조군과 대조적으로, B 세포의 막은 P307 또는 P307SQ-8C에 의해 영향을 받지 않는다. 심지어 시험된 가장 높은 농도(80 μM)에서, 세포의 생존능은 여전히 버퍼 대조군과 동일하다(도 16A). 유사하게, RBC의 완전성은 또한 트리톤 X-100 양성 대조군과 비교하여 펩타이드에 의해 영향을 받지 않는다(도 16B).

[0152] **실시예 16**

[0153] 4.3 kD으로 운용되는 P307SQ-8A와 비교하여, P307SQ-8C의 일부(약 25%)를 이론적 분자량의 두 배로 운용한다(데이터 도시되지 않음). P307SQ-8C의 높은 활성에 대한 이황화 결합 형성의 중요성을 측정하기 위하여, P307 및 P307SQ-8C의 살박테리아 활성을 0, 0.1 및 1 mM 다이티오트레이톨(DTT)의 존재하에 비교하였다. 에이. 바우마니 균주 #1791을 50 mM 트리스-HCl, pH 7.5 중에서 2시간 동안 실온에서 P307 50 ㎍/㎖ 또는 P307SQ-8C 10 ㎍/㎖로 처리하였다. 생존한 세포를 연속 희석하고, TSB 아가 위에 플레이팅하였다. P307SQ-8C는 더 높은 DTT 농도와 함께 활성이 낮아진 반면, P307의 활성은 약간 증가한다(도 17A). P307SQ-8C 활성의 이황화 형성의 중요성을 추가로 확인하기 위하여, 우리는 알라닌으로 변경된 마지막 시스테인을 갖는 P307SQ-8A를 합성하였다. 에이. 바우마니 균주 번호 1791 및 ATCC17978를 각각의 펩타이드 10 ㎍/㎖로 처리하였다. P307SQ-8C 및 P307SQ-8A의 살박테리아 분석은 전자가 후자보다 약간 더 활성인 것으로 나타냈다(도 17B). 이들 결과는 모두 P307-SQ-8C의 우수한 활성의 부분이 두 분자 사이의 이황화 결합 형성으로부터 유래된다는 것을 가리킨다.

[0154] **실시예 17**

[0155] 그 다음, 우리는 펩타이드에 양 전하를 제공하여(순 전하 +7) P307이 DNA에 결합되는지 여부를 조사하였다. 펩타이드 P307을 상이한 펩타이드:DNA 비(0:1-15:1)로 DNA와 혼합하고, 아가로스 겔에서 분석하기 전에 1시간 동안 배양하였다. 양성 대조군 펩타이드와 비교하여, 시험된 DNA에 대한 펩타이드의 어떠한 비율에서도 P307에 있어서 분자량의 이동이 관찰되지 않았다(도 18).

[0156] **실시예 18**

[0157] 펩타이드가 DNA와 상호작용에 의해 박테리아를 사멸하는 것으로 나타나지 않았기 때문에, 우리는 투과 전자 현미경(TEM)을 사용하여 이들이 박테리아 막에 영향을 미치는지 여부를 조사하였다. 에이. 바우마니 균주 #1791을 5분 또는 2시간 동안 버퍼(대조군) 또는 P307SQ-8C 300 ㎍/㎖로 처리하였다. 샘플의 TEM 이미지 비교는 내막의 붕괴 또는 세포내 밀도의 변화를 드러낸다(도 19A, B 및 C). 게다가, 우리는 pH 7.5에서의 내성 박테리아(도 3)가 pH 8.8에서의 P307에 민감하다는 것을 확인하였고, 이는 이. 콜라이 및 케이. 뉴모니아(도 19D)를 포함한다. 펩타이드의 전하는 7.5 내지 8.8의 pH 변화만큼 다양하지 않기 때문에, 우리는 변화가 박테리아 막에서 발

생한다고 추론하였다. 더 높은 pH에서, 박테리아 막은 더 음성적으로 하전되고, 이는 양성적으로 하전된 펩타이드가 더 강한 이온 상호작용을 확립하도록 한다.

[0158] **실시예 19**

[0159] 이론과 결부되는 것을 바라지 않고, 우리는 하기 작용 메커니즘을 가설로 세운다: P307SQ-8C는 박테리아 막과 상호작용하여 세포 내로 진입하고, 그 과정에서, 세포질막을 파괴한다. 막 투과성화는 펩타이드가 이량체화된 경우 더 효과적이다. 파괴는 반응성 산소 종, 예를 들면, 하이드록실 라디칼의 생성을 유도하고, 이는 세포내 내용물을 파괴한다. 이러한 가설을 조사하기 위하여, 우리는 사이톡스® 그린(SYTOX® Green) 흡수 분석을 사용하여 막 파괴를 측정하였다.

[0160] 박테리아의 밤새 배양은 50 mM 트리스-HCl pH 7.5 중에서 세척하고, 0.3 OD_{600}(약 10^7 cfu/㎖)로 재현탁시켰다. 벤조나제(Benzonase)® 뉴클레아제(25 U/㎖)(노바겐(Novagen)) 및 사이톡스® 그린(1 μM)(인비트로젠)을 박테리아 세포에 가하고, 15분 동안 실온에서 어둠 속에서 배양하였다. 펩타이드를 가하고(50 ㎍/㎖; 14.7 μM P307 및 11.6 μM P307SQ-8C), 멜리틴(14.7 μM)(시그마(Sigma))을 대조군으로서 사용하였다. 상대 형광 단위(RFU)를 스펙트라맥스 플러스 리더(몰레큘라 디바이시스)에서 실온에서(ex: 485 nm, em: 520 nm) 2시간 동안 측정하였다. 반응을 이중으로 2회 수행하고, 대표적인 데이터를 평균 ± 표준 편차로서 나타낸다.

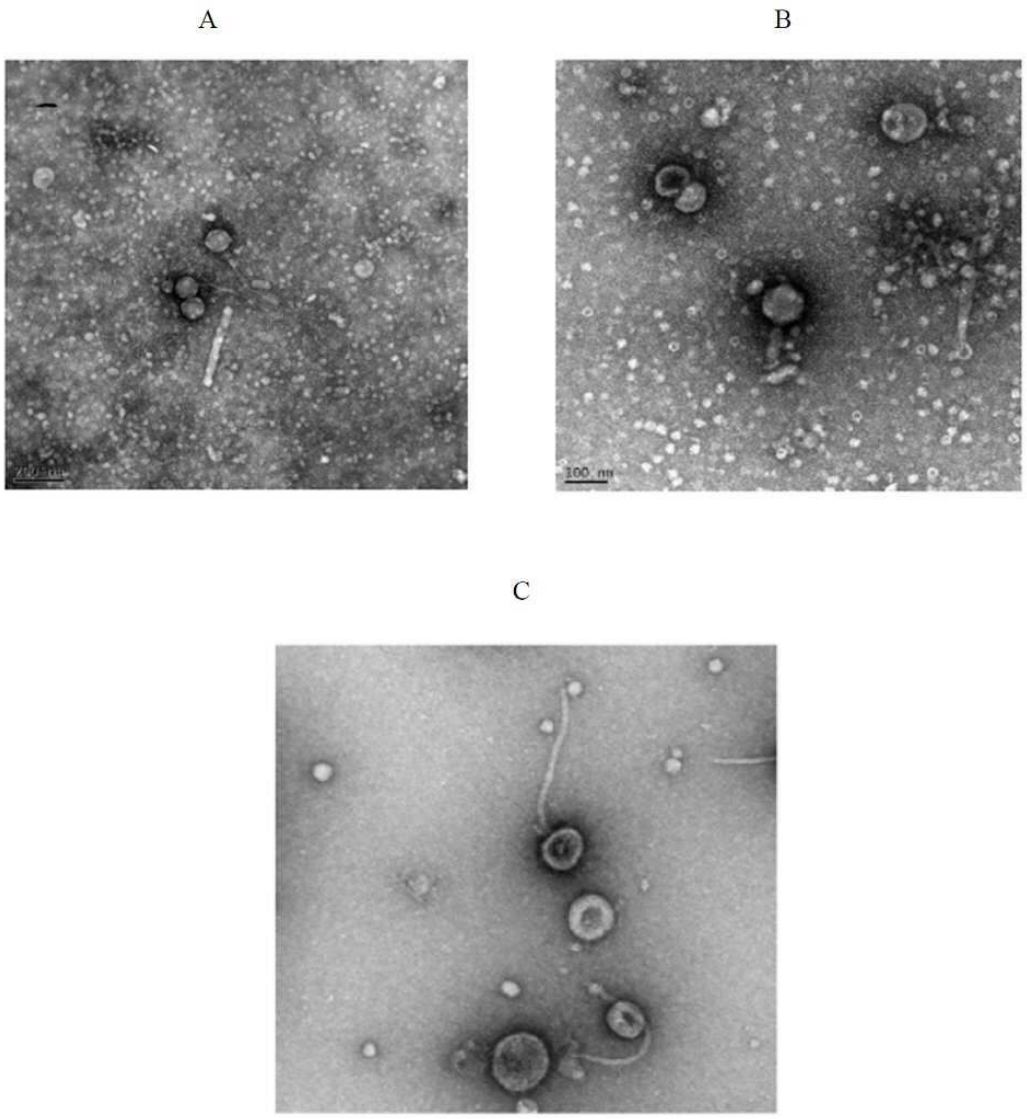
[0161] 두 펩타이드 모두는 민감성 박테리아의 막을 투과성화하고, 이는 이것이 세포내 DNA와 결합함에 따른 사이톡스® 그린 염료의 형광 신호의 증가를 야기하였다(도 20). 하이드록실 라디칼 스캐빈저, 티오우레아의 존재하에 박테리아를 P307 및 P307SQ-8C로 처리함으로써 하이드록실 라디칼 형성을 조사하였다. 폴리믹신 B는 이의 박테리아 활성이 부분적으로 하이드록실 라디칼 사멸 경로에 의존하는 것으로 보고되었기 때문에 대조군으로서 포함되었다. 티오우레아(300 mM)는 P307 및 P307SQ-8C의 활성을 완전하게 억제하였다(도 21A). 그러나, 티오우레아가 다른 경로에 의해 활성에 영향을 미치는 것은 무시될 수 없다. 따라서, 살박테리아 활성을 또한 호기성 및 혐기성 조건하에 비교하였다. 에이. 바우마니가 엄격한 호기성 박테리아이기 때문에, 이. 콜라이를 50 mM 트리스-HCl, pH 8.8과 함께 살박테리아 분석을 위하여 사용하였다. 두 펩타이드 모두의 활성은 혐기성 조건에 의해 완전하게 억제되었다(도 21B). 우리는 산소-의존성 수송 메커니즘에 대한 효과와 같은 다른 가능성을 배제할 수 없지만, 현재 결과는 우리의 하이드록실 라디칼 형성 가설을 지지한다.

[0162] **실시예 20**

[0163] 피부 감염이 에이. 바우마니에 의한 질환의 흔한 경로이기 때문에, 우리는 마우스 피부 모델을 사용하여 P307SQ-8C의 생체내 활성을 조사하였다. 40마리의 암컷 CD-1 마우스(연령 6 내지 8주; 찰스 리버 라보라토리스(Charles River Laboratories))의 등을 전기 레이저로 면도하였다. 나이르(Nair)™(신체 및 다리용 제모 로션, 알로에 및 라놀린)을 면도된 부위에 도포하여 임의의 남은 털을 제거하였다. 그 다음, 부위를 알코올 와이프로 살균하고, 테이프-스트립핑으로 피부 박리를 유도하였다. 그 다음, 스트립핑된 테이프의 대략 1㎠ 면적을 표시하고, 약 10^8 cfu/㎖의 에이. 바우마니 균주 번호 1791 10㎕로 감염시켰다. 박테리아가 16 내지 18시간 동안 콜로니를 형성하도록 하고, 그 다음, 감염된 면적을 미처리한 채로 남겨두거나, P307SQ-8C 200㎍ 또는 폴리믹신 B 2㎍으로 2시간 동안 처리하였다. 피부에 남은 박테리아를 수확하기 위하여, 마우스를 희생시키고, 감염된 피부를 PBS 500㎕ 중에서 1분 동안 마이크로백(슈어드 엘티디(Seward Ltd.), 영국)을 사용하는 스토마커® 80 바이오마스터(Stomacher® 80 Biomaster)에서 처리하였다. 용액을 연속 희석하고, 선별을 위하여 레보플록사신 4 ㎍/㎖ 및 암피실린 12 ㎍/㎖를 함유한 LB 아가에 플레이팅하였다. 각각의 동물로부터 수득된 cfu/㎖는 점으로서 표시되고, 수평 막대는 평균을 나타낸다. 두 처리는 박테리아 로딩을 유의미하게 감소시킨다(p-값 = 0.0023, 일반적인 일방 ANOVA)(도 22).

도면

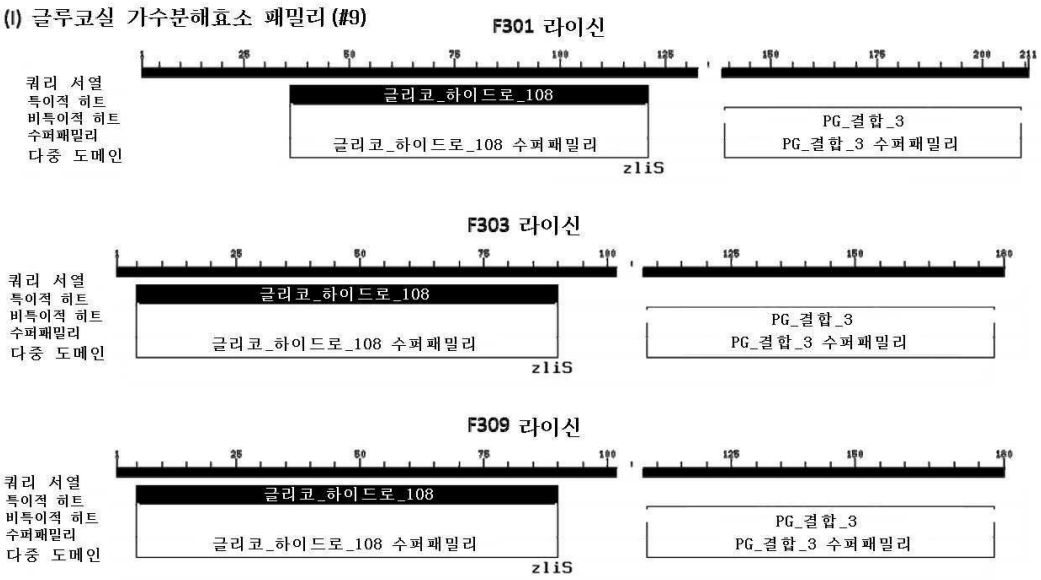
도면1



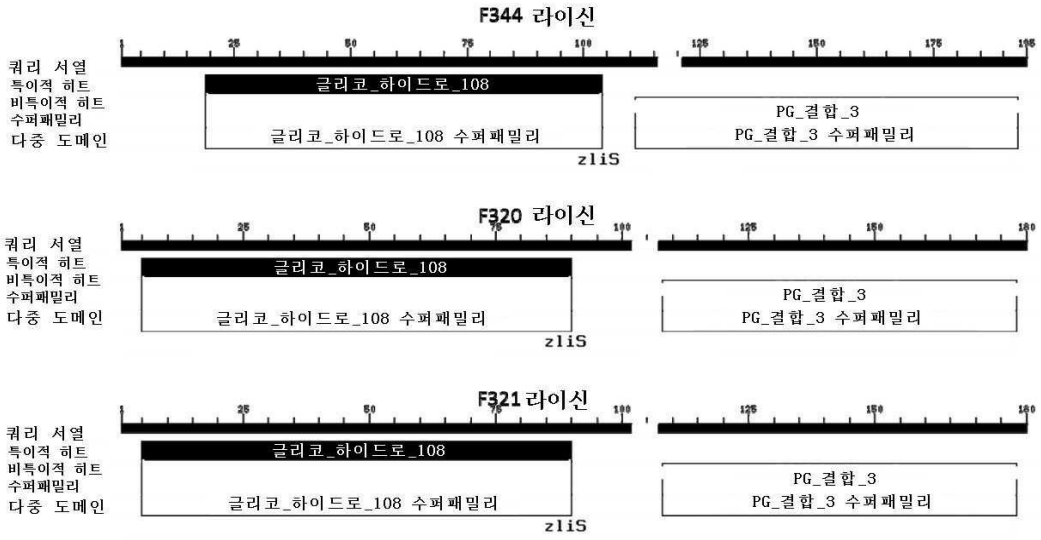
도면2



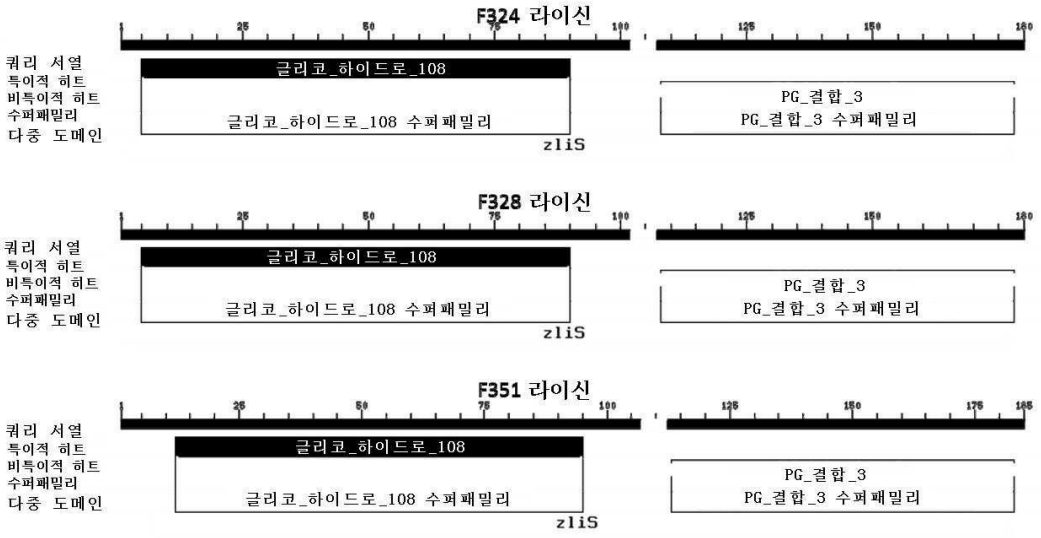
도면3a


(I) 글루코실 가수분해효소 패밀리 (#9)
F301 라이신
쿼리 서열
특이적 히트
비특이적 히트
수퍼패밀리
다중 도메인
글리코_하이드로_108
글리코_하이드로_108 수퍼패밀리
PG_결합_3
PG_결합_3 수퍼패밀리
zliS
F303 라이신
쿼리 서열
특이적 히트
비특이적 히트
수퍼패밀리
다중 도메인
글리코_하이드로_108
글리코_하이드로_108 수퍼패밀리
PG_결합_3
PG_결합_3 수퍼패밀리
zliS
F309 라이신
쿼리 서열
특이적 히트
비특이적 히트
수퍼패밀리
다중 도메인
글리코_하이드로_108
글리코_하이드로_108 수퍼패밀리
PG_결합_3
PG_결합_3 수퍼패밀리
zliS

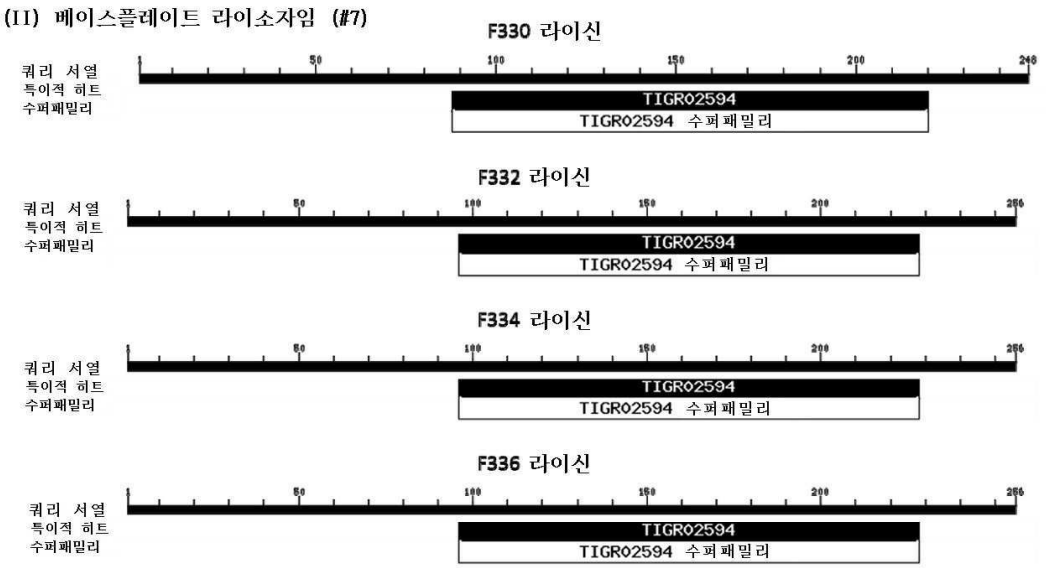
도면3b


F344 라이신
쿼리 서열
특이적 히트
비특이적 히트
수퍼패밀리
다중 도메인
글리코_하이드로_108
글리코_하이드로_108 수퍼패밀리
PG_결합_3
PG_결합_3 수퍼패밀리
zliS
F320 라이신
쿼리 서열
특이적 히트
비특이적 히트
수퍼패밀리
다중 도메인
글리코_하이드로_108
글리코_하이드로_108 수퍼패밀리
PG_결합_3
PG_결합_3 수퍼패밀리
zliS
F321 라이신
쿼리 서열
특이적 히트
비특이적 히트
수퍼패밀리
다중 도메인
글리코_하이드로_108
글리코_하이드로_108 수퍼패밀리
PG_결합_3
PG_결합_3 수퍼패밀리
zliS

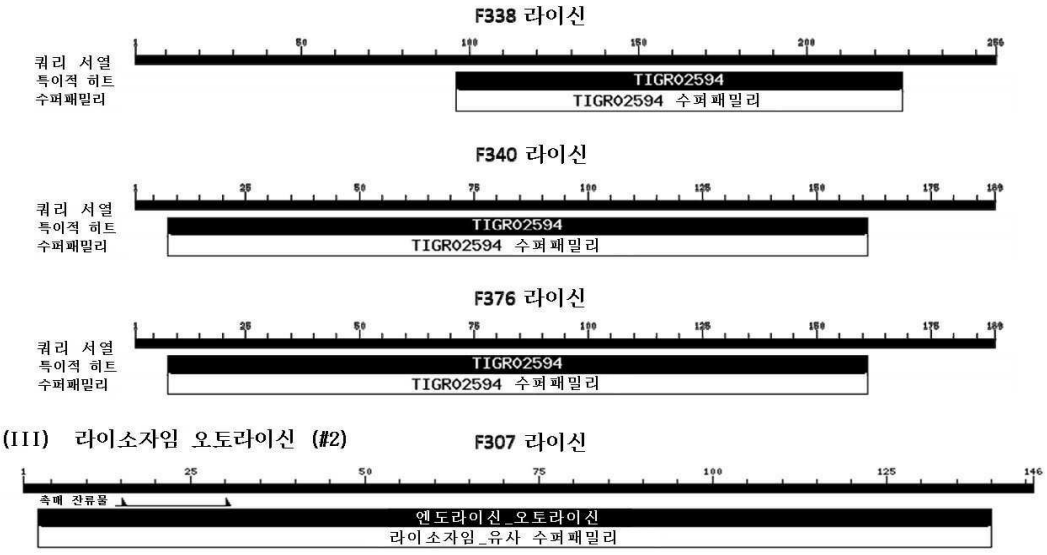
도면3c


F324 라이신
쿼리 서열
특이적 히트
비특이적 히트
수퍼패밀리
다중 도메인
글리코_하이드로_108
글리코_하이드로_108 수퍼패밀리
PG_결합_3
PG_결합_3 수퍼패밀리
zliS
F328 라이신
쿼리 서열
특이적 히트
비특이적 히트
수퍼패밀리
다중 도메인
글리코_하이드로_108
글리코_하이드로_108 수퍼패밀리
PG_결합_3
PG_결합_3 수퍼패밀리
zliS
F351 라이신
쿼리 서열
특이적 히트
비특이적 히트
수퍼패밀리
다중 도메인
글리코_하이드로_108
글리코_하이드로_108 수퍼패밀리
PG_결합_3
PG_결합_3 수퍼패밀리
zliS

도면3d

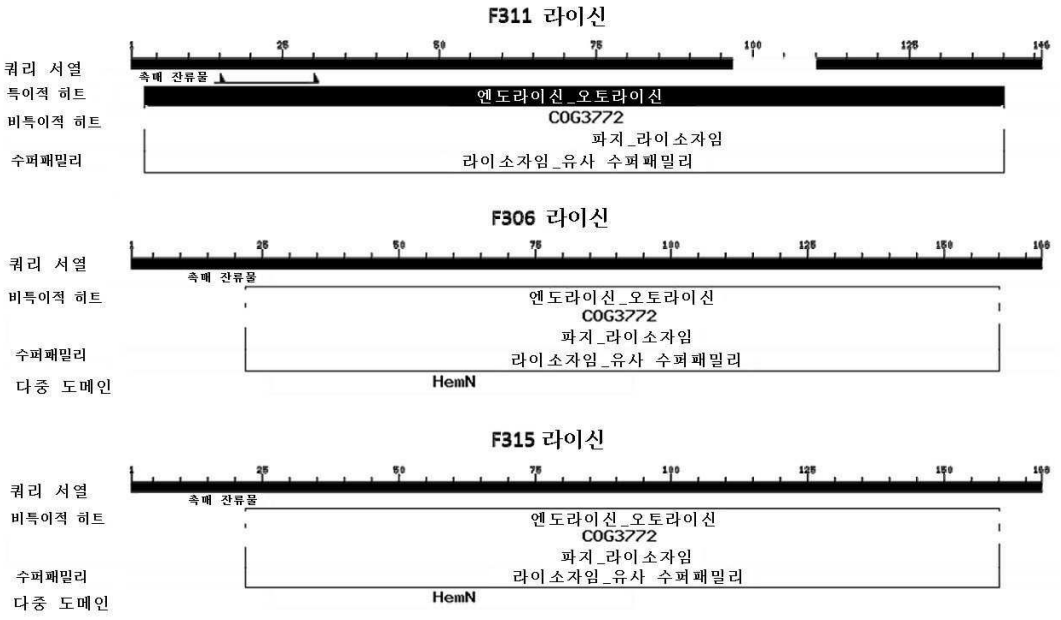

(II) 베이스플레이트 라이소자임 (#7)
F330 라이신
F332 라이신
F334 라이신
F336 라이신
쿼리 서열
특이적 히트
수퍼패밀리
TIGR02594
TIGR02594 수퍼패밀리

도면3e

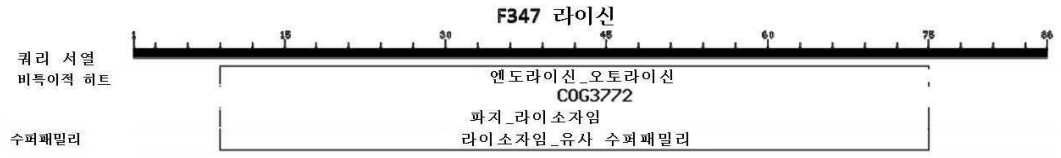

F338 라이신
F340 라이신
F376 라이신
쿼리 서열
특이적 히트
수퍼패밀리
TIGR02594
TIGR02594 수퍼패밀리

(III) 라이소자임 오토라이신 (#2)
F307 라이신
측폐 잔류물
엔도라이신_오토라이신
라이소자임_유사 수퍼패밀리

도면3f


F311 라이신
쿼리 서열
속배 잔류물
특이적 히트
엔도라이신_오토라이신
비특이적 히트
COG3772
파지_라이소자임
수퍼패밀리
라이소자임_유사 수퍼패밀리
F306 라이신
쿼리 서열
속배 잔류물
비특이적 히트
엔도라이신_오토라이신
COG3772
파지_라이소자임
수퍼패밀리
라이소자임_유사 수퍼패밀리
다중 도메인
HemN
F315 라이신
쿼리 서열
속배 잔류물
비특이적 히트
엔도라이신_오토라이신
COG3772
파지_라이소자임
수퍼패밀리
라이소자임_유사 수퍼패밀리
다중 도메인
HemN

도면3g


F347 라이신
쿼리 서열
비특이적 히트
엔도라이신_오토라이신
COG3772
파지_라이소자임
수퍼패밀리
라이소자임_유사 수퍼패밀리

도면4a

클러스탈더블유(v1.83) 다중 서열 정렬

정렬된 21 서열　　진행 시간: 1.8 초
삽입된 갭 = 540　　보존된 동일성 = 1
스코어 = 0

쌍 정렬 방식: 느림
쌍 정렬 파라미터:
개방 갭 페널티 = 10.0　　확장된 갭 페널티 = 5.0

다중 정렬 파라미터:
개방 갭 페널티 = 10.0　　확장된 갭 페널티 = 5.0
지연 발산 = 40%　　전이: 중량측정됨

```
F376    1 ------------------------------------------------------------   0
F311    1 ------------------------------------------------------------   0
F328    1 ------------------------------------------------------------   0
F324    1 ------------------------------------------------------------   0
F347    1 ------------------------------------------------------------   0
F351    1 ------------------------------------------------------------   0
F344    1 ------------------------------------------------------------   0
F340    1 ------------------------------------------------------------   0
F338    1 ATGAAGTTAATTGAAAACAATGCTTGGCAGTATCTATCTGTTAAGTTACCCGCCGTAGGT  60
F336    1 ------------------------------------------------------------   0
F334    1 ------------------------------------------------------------   0
F332    1 ATGAAGTTAATTGAAAACAATGCTTGGCAGTATCTATCTGTCAAGTTACCCGCCGTAGGT  60
F330    1 -----------------CTGGATCCGGTGATGACGAT--GACAAG---CTCGCCCT---T  35
F307    1 ------------------------------------------------------------   0
F309    1 ------------------------------------------------------------   0
F303    1 ------------------------------------------------------------   0
F301    1 ------------------------------------------------------------   0
F320    1 ------------------------------------------------------------   0
F306    1 ------------------------------------------------------------   0
F321    1 ------------------------------------------------------------   0
F315    1 ------------------------------------------------------------   0
F376    1 ------------------------------------------------------------   0
F311    1 ------------------------------------------------------------   0
```

도면4b

```
F328    1 ------------------------------------------------------------   0
F324    1 ------------------------------------------------------------   0
F347    1 ------------------------------------------------------------   0
F351    1 ------------------------------------------------------------C   1
F344    1 ------------------------------------------------------------   0
F340    1 ------------------------------------------------------------   0
F338   61 GCATTCATCATGCT-AATTTTATTGCCAGCACTACAATGGGGTGTTGATTATGAAGTTAT 119
F336    1 ------------------------------------------------------------   0
F334    1 ------------------------------------------------------------   0
F332   61 GCATTCATCATGCT-AATTTTATTGCCAGCACTACAATGGGGTGTTGATTATGAAGTTAT 119
F330   36 CCACAACTCGAGCCGAATTTTATTGCCAGCACTACAATGGGGTGTTGATTATGAAGTTAT  95
F307    1 ------------------------------------------------------------   0
F309    1 ------------------------------------------------------------   0
F303    1 ------------------------------------------------------------   0
F301    1 ------------------------------------------------------------   0
F320    1 ------------------------------------------------------------   0
F306    1 ------------------------------------------------------------   0
F321    1 ------------------------------------------------------------   0
F315    1 ------------------------------------------------------------   0
F376    1 ----------------------------------TTAAGCCTCTGAAACACTCGTAACAGA  27
F311    1 ------------------------------------------------------------   0
F328    1 ----------------------------------------------------CTAGCCGAT   9
F324    1 --------------ATGAAAAT-TGAACAATATCTTGATGATT------TGATTAAACGC  39
F347    1 ----------------------------------------------------TCACTGC   7
F351    2 TGAAGGAAACCGAAATGAATAT-TGAAAAATATCTTGATGAAT------TAATTAAGCGT  54
F344    1 ------------------------------------------------TCATATAAC-AAC  12
F340    1 ----------------------------------TTAAGCCTCTGAAACACTCGTAACAGA  27
F338  120 TCCTGAAAAATATCATGCATTTGTTACTGGTACTTTGATGCTTGTTCTGTCATGGATTGG 179
F336    1 ----------------------------------TTAGGCTTCCAAAACCCTAGTAGCTGT  27
F334    1 ----------------------------------TTAGGCTTCCAAAACCCTAGTAGCTGT  27
F332  120 TCCTGAAAAATATCATGCATTTGTTACTGGTACTTTGATGCTTGTTCTGTCATGGATTGG 179
F330   96 TCCTGAAAAATATCATGCATTTGTTACTGGTACTTTGATGCTTGTTCTGTCATGGATTGG 155
F307    1 ------------------------------------------------------------GT   2
F309    1 --------------ATGAAAAT-TGAACAATATCTTGATGATT------TGATTAAACGC  39
F303    1 ----------------------------------------------------CTAGCCGAT   9
F301    1 ----------------------------------------------------CTAGCCGAT   9
F320    1 ----------------------------------------------------CTAGCCGAT   9
```

도면4c

```
F306    1 ----------------------------------ATGTCAAACAAGACTAAAATCATAGT  26
F321    1 --------------ATGAAAAT-TGAACAATATCTTGATGATT------TGATTAAACGC  39
F315    1 ----------------------------------------------------TCACTGC   7
F376   28 AACGATTTTTAGGACTGGTAAATCGTATCGGTGAGCAG---CTGGTTTACTTGTTTTGCC  84
F311    1 ---------------------------------------------TCAT-TTTAA-AAA  12
F328   10 CCGGTTAGCGATCCAGCCATAAAAAAACTGCTCTTGGC---TTTTATTACGTTCAC-AGA  65
F324   40 GAAGGCGGTTATGTAA--ATAATCCAGTGGATCGAGG---AGGTGCTACCAAATAC-GGT  93
F347    8 GCTCCTATACATTT-------TGCGTGTCGTT--CTAC---TTGTCTGGTCCAGAC-GCC  54
F351   55 GAAGGCGGGTATGTAA--ATAACCCAGCTGATCGGGG---CGGTGCAACTAAATAT-GGC 108
F344   13 TCGATTGGCGATCCAACCATAGAAAAACTGTTCCTGGC---TAGGATTGCGTTCAC-AGA  68
F340   28 AACGATTTTTAGGACTGGTAAATCGTATCGGTGAGCAG---CTGGTTTACTTGTTTTGCC  84
F338  180 AAAGAAAATTTCTCAACCACGACTTAATGGCCCGCAATTAACAGGCCAGTTAGTA-GGG  237
F336   28 TACGCCTTTTAATTGTGGCAATGTATAACGCTTACTTG---CTGGTTGAGTTGTACGACC  84
F334   28 TACGCCTTTTAATTGTGGCAATGTATAACGCTTACCTG---CTGGTTGAGTTGTACGACC  84
F332  180 AAAGAAAATTTCTCAACCACGACTTAATGGCCCGCAATTAACAGGCCAGTTAGTA-GGG  237
F330  156 AAAGAAAATTTCTCAACCACGACTTAATGGCCCGCAATTAACAGGCCAGTTAGTA-GGG  213
F307    3 GAAAACAAGTAACCCA--GGAGTGGATTTAATCAAA----------GGCTTTGAA-GGT  48
F309   40 GAAGGCGGTTATGTAA--ATAATCCAGTAGATCGAGG---AGGTGCTACCAAATAC-GGT  93
F303   10 CCGGTTAGCAATCCAGCCATAGAAGAATTGCTCTTGCT---TAGGATTACGCTCAC-AAA  65
F301   10 CCGGTTAGCGATCCAGCCATAAAAAAACTGCTCTTGGC---TTTTATTACGTTCAC-AGA  65
F320   10 CCGGTTAGCAATCCAGCCATAGAAGAATTGCTCTTGCT---TGGGATTACGCTCAC-AAA  65
F306   27 AACAACATTAAGCGCA--TCAGCGCTTTTTTTTGCATC--TTTAATTGGCTATGAG-GGG  81
F321   40 GAAGGTGGTTATGTAA--ATAATCCAGTAGATCGAGG---AGGTGCTACCAAATAC-GGT  93
F315    8 ACCGCCATACACTT-------GCTATAACAAT--CTTG---TTGGCGTGTCCAGAC-ACC  54
F376   85 ATACCACATAAAGGCTTCAAAAGCCGAAACGTCATATACTGCAAAACAAACTT-TATTTG 143
F311   13 T----AACTCCATTTCAGCTTTGCGACGT-TTCACCAGTCCTGC-CAATACACGACCGCC  66
F328   66 TTT-CAATGTATCGTTGGCCTTGCATAATATTTAACACGCGCAC-TAAGACCTTTTCGCC 123
F324   94 AT--TACTGAAGCTGTAGCACGTGAAAACGGCTATAAGGGCAAT-ATGAA-AGATTTGC  148
F347   55 ATAACACCCGTTTTTACGAA---CAGAGCAATCGCGCTTTGCA-ACGTACTTATATTTA  109
F351  109 AT--CACACAAGCTGTTGCGCGTGAAAATGGCTGGAATGGCAAT-ATGAA-AGATTTGC  163
F344   69 TTT-CAATGTAACGTTGCCCTTGCATGATATTAAGAACACGCAC-CAGGACTTTTTCGCC 126
F340   85 ATACCACATAAAGGCTTCAAAAGCCGAAACGTCATATACTGCAAAACAAACTT-TATTTG 143
F338  238 AT--CAATTCT-TTATTGAATATCCCAACACCAACAAAGCCTG-ATGAATTAGCTTGGA  292
F336   85 ATACCATCTGAATTCTTGAAAGTCAGAGTCATTATAAAGTGCATAACAAACTT-TATTTG 143
F334   85 ATACCATCTGAATTCTTGAAAGTCAGAGTCATTATAAAGTGCATAACAAACTT-TATTTG 143
F332  238 AT--CAATTCT-TTATTGAATATCCCAACACCAACAAAGCCTG-ATGAATTAGCTTGGA  292
F330  214 AT--CAATTCT-TTATTGAATATCCCAACACCAACAAAGCCTG-ATGAATTAGCTTGGA  268
```

도면4d

```
F307   49 CTA-CGATTGA---AAGCC-TATGACGATGGTGTGGGCGTTTGG-ACCATTGGCTTTGGC 102
F309   94 AT--TACTGAAGCTGTAGCACGTGAAAACGGCTATAAGGGCAAT-ATGAA-AGATTTGC  148
F303   66 TTT-CGATATATCGCTGGCCTTGCATGATATTAAGAACTCGCAC-TAGGACTTTCTCACC 123
F301   66 TTT-CAATGTATCGTTGGCCTTGCATAATATTTAACACGCGCAC-TAAGACCTTTTCGCC 123
F320   66 TTT-CGATATATCGCTGGCCTTGCATGATATTAAGAACTCGCAC-TAGGACTTTCTCACC 123
F306   82 -TA-CAAATCA---AAGCCATATTTAGATAGCGCTAAAGTGGCA-ACGATTGGTATCGGA 135
F321   94 AT--TACTGAAGCTGTAGCACGTGAAAACGGCTATAAGGGCAAT-ATGAA-AGATTTGC  148
F315   55 ATAACAACCATTGGACCGAA---TCGAGCAATCACGCTTTGCA-ACATATTTGTATTTC  109
F376  144 ACTGATTACCACCTAAGCAAATTA-ATTTACCAGTAGGTGTTTTAC---CAACAACGAAA 199
F311   67 AGCTTTGTTCCATTTTGGGAATTCTGCTGCT-GCACCTTTATAGTCCTT-AGCATTTAAC 124
F328  124 TTCTTTGCCACGTTTGGCCAAGTAAGTTTTTAGAGCTCCTAAAGTGTTAGAACCATAAAC 183
F324  149 CTCTTGATGTGGCCAAA-GCAATTTA--TCGGAAACAGTACTGGA-TAGA-GCCAC-GTT 202
F347  110 AGTAAAGAGTCGCAAGCTGCTTTATATTGACCAGC-----CTTTA-----AATGCTTAAG 159
F351  164 CGCTTGATGTGGCCAAA-GCTATTTA--CAAGAAGCAATACTGGA-CAGC-TCCGC-GAT 217
F344  127 GTCTTTTCCACGCTTGGCCAGATAAGTTTTGAGTGCATTAAGAGTTGCTGGACCATAAAT 186
F340  144 ACTGATTACCACCTAAGCAAATTA-ATTTACCAGTGGGTGTTTTAC---CAACAACGAAA 199
F338  293 TTGCGGAAGCAAA-AAA-GCATCTTGGCCTTCAAGAAATACCTGG-TAAACAGCAT-AAC 348
F336  144 ACTGATTGCCTCCAAGGCATACTA-ACTTTCCAGACTTTTTGTCACGGCCAACTACAAAA 202
F334  144 ACTGATTGCCTCCAAGGCATACTA-ACTTTCCAGACTTTTTGTCACGGCCAACTACAAAA 202
F332  293 TTGCAGAAGCAAA-AAA-GCATCTTGGCCTTCAAGAAATACCTGG-TAAACAGCAT-AAC 348
F330  269 TTGCAGAAGCAAA-AAA-GCATCTTGGCCTTCAAGAAATACCTGG-TAAACAGCAT-AAC 324
F307  103 ACCATCAAATACCCGAACGGTGTGCGAGTCAAAAAAGGCGATA---CATGCACTGA-ATC 158
F309  149 CTCTTGATGTGGCCAAA-GCAATTTA--TCGGAAACAGTACTGGA-TAGA-GCCAC-GTT 202
F303  124 TTCTTTCCCACGTTTGGCCAAGTAAGTTTTGAGAGCTCCTAATGTGCTAGAACCATAAAC 183
F301  124 TTCTTTGCCACGTTTGGCCAAGTAAGTTTTTAGAGCTCCTAAAGTGTTAGAACCATAAAC 183
F320  124 TTCTTTCCCACGTTTGGCCAAGTAAGTTTTGAGAGCTCCTAATGTGCTAGAACCATAAAC 183
F306  136 TCCACTTCCTATGAAAACGGTACCAAGGTCAAAATGACTGACAAGCCGATTACAAA-AGA 194
F321  149 CTCTTGATGTGGCCAAA-GCAATTTA--TCGGAAACAGTACTGGA-TAGA-GCCAC-GTT 202
F315  110 AGTAATGAAGCACAAGCTTGCTTATATTGCCCTGC-----TTTGA-----GATTACGAAG 159
F376  200 GTTACATGGCCACCGCCCTCTCTTGATTTTACCGCAACACACCCATAACAAGGCTTGTYT 259
F311  125 TTTTTTAGCAAAGTAGATTTGCTAAGATTGCCTTC-GCCTAAGT-TAT-AAGTGAATG-A 180
F328  184 GCCATCAACCTT-CAAGTCTGCATAACCAGCTTT--ACCTTGAT-TGTTAAGCAAGTTCA 239
F324  203 TTGATCAGGTTAATA---CTCTTAGCTCTGCAGT-------AGC-TG--AAGA------- 242
F347  160 CATTGATG------ATTT-TGCG-AATGTTGGCACACCGTATTGATACGTGAA---ATCA 208
F351  218 TTGACCAAGTAAATG---CTGTTTCTTCTGCAGT-------AGC-TG--AAGA------- 257
F344  187 TCCGTCAACTGT-TAAATCTGGCCAACCTGCTTT--ACCTTGGT-TATTCAGCAAATTTA 242
F340  200 GTTACATGGCCACCGCCCTCTCTTGATTTTACCGCAACACACCCATAACAAGGCTTGTCT 259
```

도면4e

```
F338  349 CCAACTATTTTAAAATGGCTCTCGGAGCTAAAGGCTTGGTGGGC-TG-ACGATGAAACG  405
F336  203 CAAACATGCCCACCACCCTTTCGAGTTTTAATAGCTACACAACCGTAAGCGGGTTTAGCT 262
F334  203 CAAACATGCCCACCACCCTTTCGAGTTTTAATAGCTACACAACCGTAAGCGGGTTTAGCT 262
F332  349 CCAACTATTTTAAAATGGCTCTCGGAGCTAAAGGCTTGGTGGGC-TG--ACGATGAAACG 405
F330  325 CCAACTATTTTAAAATGGCTCTCGGAGCTAAAGGCTTGGTGGGC-TG--ACGATGAAACG 381
F307  159 TCAAGCGGAAGAATA---CCTTCGCAA-TGACTT-------AGT-TG--TATTTGAAA-202
F309  203 TTGATCAGGTTAATA---CTCTTAGCTCTGCAGT-------AGC-TG--AAGA------- 242
F303  184 GCCATCAACCTT-CAAGTCTGCATAACCAGCTTT--ACCTTGAT-TGTTAAGCAAGTTCA 239
F301  184 GCCATCAACCTT-CAAGTCTGCATAACCAGCTTT--ACCTTGAT-TGTTAAGCAAGTTCA 239
F320  184 GCCATCAACCTT-CAAGTCTGCATAACCAGCTTT--ACCTTGAT-TGTTAAGCAAGTTCA 239
F306  195 ACGTGCTGTTCAA-A---TTGCCAAAGCTCACAT-------TGC-TA--AAGATGAGGTG 240
F321  203 TTGATCAGGTTAATA---CTCTTAGCTCTGCAGT-------AGC-TG--AAGA------- 242
F315  160 CATTGATG------AGCCGTTCC-AAT-TTGCTTGGCCATAGTTGTAAACAAA---GTCT 208
F376  260 AATTTGACTCCGCCTTCTTTGATGTATTC--AAGTGCGGCAT------ACCAGTTGAAAG 311
F311  181 GGCCAAAGCATCGAATTGGTTTTGATTAA-GTGGTACT-----------TTCAC-CAAGC 227
F328  240 AAGCACGTTGTAAAAGTGGTTTTGCAAAG-TTGATACCACAG-------TTCACACCAGT 291
F324  243 ACTT----TTAGACACTGGT-GTGAACTG--TGGTATCAACT----TTGCAAAACCA--- 288
F347  209 AGGTA---TAGGTCATATTCAGTCTGTGA--TAATT---CGG------CT-----CGAGT 249
F351  258 GCTT----CTAGACACTGGT-GTGAATTG--CGGTACCGGAT----TTGCAAAACCT--- 303
F344  243 AAGCACGCTGTAAGAGTGGTTTTGCAAAT-CCGGTACCGCAA-------TTTACCCCAGT 294
F340  260 AATTTGACTCCGCCTTCTTTGATGTATTC--AAGTGCGGCAT------ACCAGTTGAAAG 311
F338  406 GCTTGGTGTGGGACCTTCGTTGCACATTGCTTGAAATCAGCTGGAATTGCTTATCCTAAG 465
F336  263 AATTT---TGTACCATAATTCACATAATC--CAATGCACGGT------ACCAATGCTTAG 311
F334  263 AATTT---TGTACCATAATTCACATAATC--CAATGCACGGT------ACCAATGCTTAG 311
F332  406 GCTTGGTGTGGGACCTTCGTTGCACATTGCTTGAAATCAGCTGGAATTGCTTATCCTAAG 465
F330  382 GCTTGGTGTGGGACCTTCGTTGCACATTGCTTGAAATCAGCTGGAATTGCTTATTCTAAG 441
F307  203 GCGC----TAT-CAATCGTTTGGTGAAAG--TTCCGCTTAAT-------CAAAACCA--- 245
F309  243 ACTT----TTAGACACTGGT-GTGAACTG--TGGTATCAACT----TTGCAAAACCA--- 288
F303  240 AAGCACGTTGTAAAAGTGGTTTTGCAAAG-TTGATACCACAG-------TTCACACCAGT 291
F301  240 AAGCACGTTGTAAAAGTGGTTTTGCAAAG-TTGATACCACAG-------TTCACACCAGT 291
F320  240 AAGCACGTTGTAAAAGTGGTTTTGCAAAG-TTGATACCACAG-------TTCACACCAGT 291
F306  241 GCAT----TTCGCAAGTCGTTGCAGGGCG--TGAGGCTAACT-------CAGACTGA--- 284
F321  243 ACTT----TTAGACACTGGT-GTGAACTG--TGGTATCAACT----TTGCAAAACCA--- 288
F315  209 AAGTA---CACATCATATTCAGTCTGAGT--TAGCCTCACGC------CCTGCAACGACT 257
F376  312 GATAA--AAGCCTGGTGGGGCCTTTGTTCC-TGATTT---ATAAGTTTTGGAACGCGAGT 365
F311  228 GATTG--ATAGCATTTTCAAATGCGACCAAGTCATTGCGAAGATATCCTTCTGCTTGAGA 285
F328  292 GTCTA--AAAGT-TCTTCAGCTACTGCAGAGCTAAGAGTATTAACCTGATCAAAACGTGG 348
```

도면4f

```
F324  289 CTTTT--ACAACGTGCTTTGAACTTGCTTAACAATCAAGGTAAAGCTGGTTATGCAG--A 344
F347  250 TGTGG--AAGGCAG---------------------------------------------- 261
F351  304 CTTTT--ACAACGAGCTTTGAACTTGCTTAATAACCAAGGTAAAGCTGGATATGCAG--A 359
F344  295 ATCTA--AAAGC-TCTTCAGCAACTAACGAGCTAATTACATTCACTTGATCAAATCGCGG 351
F340  312 GATAA--AAGCCTGGTGGGGCCTTTGTTCC-TGATTT---ATAAGTTTTGGAACGCGAGT 365
F338  466 CATTG--GTACCGTGCATTGGATTATGTGAATTAT-GGTACAAAATTAGCTAAACCC--G 520
F336  312 GATAAGCAATTCCAGCTGATTTCAAGCAATGTGCAAC---GAAGGTCCCACACCAAGCCG 368
F334  312 GATAAGCAATTCCAGCTGATTTCAAGCAATGTGCAAC---GAAGGTCCCACACCAAGCCG 368
F332  466 CATTG--GTACCGTGCATTGGATTATGTGAATTAT-GGTACAAAATTAGCTAAACCC--G 520
F330  442 CATTG--GTACCGTGCATTGGATTATGTGAATTAT-GGTACAAAATTAGCTAAACCC--G 496
F307  246 -ATTC--GATGCTTTGGCCTCATTCACTTA-CAACCTTGGTGAGGGCAATCTTAGTA--T 299
F309  289 CTTTT--ACAACGTGCTTTGAACTTGCTTAACAATCAAGGTAAAGCTGGTTATACAG--A 344
F303  292 GTCTA--AAAGT-TCTTCAGCTACTGCAGAGCTAAGAGTATTAACCTGATCAAAACGTGG 348
F301  292 GTCTA--AAAGT-TCTTCAGCTACTGCAGAGCTAAGAGTATTAACCTGATCAAAACGTGG 348
F320  292 GTCTA--AAAGT-TCTTCAGCTACTGCAGAGCTAAGAGTATTAACCTGATCAAAACGTGG 348
F306  285 -ATAT--GATGTGTACTTAGACTTTGTTTA-CAACTATGGCCAAGCAAATTGGAACG--G 338
F321  289 CTTTT--ACAACGTGCTTTGAACTTGCTTAACAATCAAGGTAAAGCTGGTTATGCAG--A 344
F315  258 TGCGA--AATGCCACCTCATCTTTAGCAATGTGAGCTTTGGCAATTTGAACAGCACGTTC 315
F376  366 TTACACT-TCCTCTTTGAAATCCCGCCGTTTGG-AGA--CAGTGCGCAACGAATGTTCCG 421
F311  286 CTCAGTGCATATATCGCCTTTTTTGACACGC----ACTCCATTAGG------ATATTTAA 335
F328  349 CTCTATCCA-GTACTGTTTCCGATAAATTGCTTTGGCCACATCAAGAGGCAAATCTTTCA 407
F324  345 CTTGAAGGTTG-ATGGCGTTT-ATGGTTCTA---ACACTT--TAGGA-----GCTCTAAA 392
F347  262 ---------------------------------------------------------- 261
F351  360 TTTAGAGGTTG-ATGGTGTTT-ATGGCTCAG---CAACGC--TAGGT-----GCCCTTAA 407
F344  352 ATCTGTCCA-ATACTGCTTTTTATAAATGGCTTTGGCCACATCAAGCGGTAAATCTTTCA 410
F340  366 TTACACT-TCCTCTTTGAAATCCCGCCGTTTGG-AGA--CAGTGCGCAACGAATGTTCCG 421
F338  521 CTT-ACGGTTGTGTAGCTATT-AAAACTCGA---AAGGGTGGTGGGC-----ATGTTTGT 570
F336  369 TTTCATCGTCAGCCCACCAAGCCTTTAGCTCCG-AGAGCCATTTTAAAATAGTTGGGTTA 427
F334  369 TTTCATCGTCAGCCCACCAAGCCTTTAGCTCCG-AGAGCCATTTTAAAATAGTTGGGTTA 427
F332  521 CTT-ACGGTTGTGTAGCTATT-AAAACTCGA---AAGGGTGGTGGGC-----ATGTTTGT 570
F330  497 CTT-ACGGTTGTGTAGCTATT-AAAACTCGA---AAGGGTGGTGGGC-----GTGTTTGT 546
F307  300 ATC-AACTTTGCTAAAAAAGC-TTAATGCCA---AAGACTA-TAAAG-----GTGCTGCA 348
F309  345 CTTGAAGGTTG-ATGGCGTTT-ATGGTTCTA---GCACAT--TAGGA-----GCTCTCAA 392
F303  349 CTCTATCCA-GTACTGTTTCCGATAAATTGCTTTGGCCACATCAAGAGGCAAATCTTTCA 407
F301  349 CTCTATCCA-GTACTGTTTCCGATAAATTGCTTTGGCCACATCAAGAGGCAAATCTTTCA 407
F320  349 CTCTATCCA-GTACTGTTTCCGATAAATTGCTTTGGCCACATCAAGAGGCAAATCTTTCA 407
F306  339 CTC-ATCAATGCTTCGTAATC-TCAAAGCAG---GGCAATA-TAAGC-----AAGCTTGT 387
```

도면4g

```
F321  345 CTTGAAGGTTG-ATGGCGTTT-ATGGTTCTA---ACACTT--TAGGA-----GCTCTAAA 392
F315  316 TTTTGTAATCGGCTTGTCAGTCATTTTGACCTT-GGTACCGTTTTCATAGGAAGTGGATC 374
F376  422 CACCATG---CAGTTTCATCGTCAAG---CCAAGAGG---ACTTTAAGTCCTTCAGCCAT 472
F311  336 T--TGTTC-C-AAATCCAATG----GTCCAAACGCCC-----ACACCAT----CGTCATA 378
F328  408 TATTGCCC-TTATAGCCGTTTTCACGTGCTACAGCTTCAGTAATACCGTATTTGGTAGCA 466
F324  393 A-ACTTAC-TTGGCCA-AACGTGGCAA--AGAAGGCG-----AAAAGGTATTAGTGCGCG 442
F347  262 ------------------------------------------------------------ 261
F351  408 A-ACATAC-TTGTCAA-AACGTGGGAA--AGAAGGTG-----AGAAGGTTCTGGTGCGAG 457
F344  411 TGTTGCCC-TTAAAGCCGTTAGTACGTGCTACTGCTTCAGTAATACCGTACTTTGTTTCA 469
F340  422 CACCATG---CAGTTTCATCGTCAAG---CCAAGAGG---ACTTTAAGTCCTTCAGCCAT 472
F338  571 T-TTGTAG-TTGGCCGTGACAAAAAGTCTGGAAAGTT-----AGTATGCCTTGGAGGCAA   6
F336  428 TGCTGTTTACCAGGTATTTCTTGAAGG--CCAAGATG---CTTTT--TTGCTTCTGCAAT 480
F334  428 TGCTGTTTACCAGGTATTTCTTGAAGG--CCAAGATG---CTTTT--TTGCTTCTGCAAT 480
F332  571 T-TTGTAG-TTGGCCGTGACAAAAAGTCTGGAAAGTT-----AGTATGCCTTGGAGGCAA 623
F330  547 T-TTGTAG-TTGGCCGTGACAAAAAGTCTGGAAAGTT-----AGTATGCCTTGGAGGCAA 599
F307  349 G-CTGAAT-TT--CCTAAATG-GAATA--AG--G--C-----GG---GTGGTCGT--GTC 387
F309  393 A-ACTTAC-TTGGCCA-AACGTGGGAA--AGAAGGTG-----AGAAAGTCCTAGTGCGAG 442
F303  408 TATTGCCC-TTATAGCCGTTTTCACGTGCTACAGCTTCAGTAATACCGTATTTGGTAGCA 466
F301  408 TATTGCCC-TTATAGCCGTTTTCACGTGCTACAGCTTCAGTAATACCGTATTTGGTAGCA 466
F320  408 TATTGCCC-TTATAGCCGTTTTCACGTGCTACAGCTTCAGTAATACCGTATTTGGTAGCA 466
F306  388 G-CTTCAT-TA--CTGAAATACAAATA--TGTTG--C-----AAAGCGTGATTGCTCGAT 434
F321  393 A-ACTTAC-TTGGCCA-AACGTGGCAA--AGAAGGCG-----AAAAGGTCTTAGTGCGCG 442
F315  375 CGATACCAATCGTTGCCACTTTAGCGCTATCTAAATA---TGGCTTTGATTTGTACCCCT 431
F376  473 TTGA--TGATT-GTCTGGTTGTGTTTGGGGCCGGCGATTTCAGCCAA--------CCCTA 521
F311  379 GGCTTTCAAAC-----GTTTACCTTC---AAA---GCCTTTG-ATT-----AGATTGATT 421
F328  467 CCTCCTCGATCTACTGGATTATTTAC---ATAACCGCCTACGCGTT-----TAATCAAAT 518
F324  443 T--GTTAAATA-------TTATGCA----AGGCCAACGAT-ACATT----GAAATC---- 480
F347  262 ------------------------------------------------------------ 261
F351  458 T--GCTCAATA-------TTATGCA----AGGGCAACGCT-ACATT----GAAATC---- 495
F344  470 CCGCCTCGATCTGCTGGGTTGTTTAC---GTACCCGCCCTCACGCT-----TAATTAACT 521
F340  473 TTGA--TGATT-GTCTGGTTGTGTTTGGGGCCGGCGATTTCAGCCAA--------CCCTA 521
F338  624 TCAGTCAAATAAAGTTTGTTATGCACTTTATAATGACTCTGACTTTCAA-GAATTCAGAT 682
F336  481 CCAAGCTAATTCATCAGGCTTTGTT-GGTGTTGGGATATTCAATAAAGAATTGATCCCTA 539
F334  481 CCAAGCTAATTCATCAGGCTTTGTT-GGTGTTGGGATATTCAATAAAGAATTGATCCCTA 539
F332  624 TCAGTCAAATAAAGTTTGTTATGCACTTTATAATGACTCTGACTTTCAA-GAATTCAGAT 682
F330  600 TCAGTCAAATAAAGTTTGTTATGCACTTTATAATGACTCTGACTTTCAA-GAATTCAGAT 658
F307  388 TTGGCTGGAT-----TAGTTA-AAC----GTCGCAAAGCTGAAAT-----GGAGTTAT-T 431
```

도면4h

```
F309  443 T--TCTTAATA-------TCATGCA----AGGCCAGCGAT-ATATC----GAAATT---- 480
F303  467 CCTCCTCGATCTACTGGATTATTTAC---ATAACCGCCTTCGCGTT-----TAATCAAAT 518
F301  467 CCTCCTCGATCTACTGGATTATTTAC---ATAACCGCCTTCGCGTT-----TAATCAAAT 518
F320  467 CCTCCTCGATCTACTGGATTATTTAC---ATAACCGCCTTCGCGTT-----TAATCAAAT 518
F306  435 TCGGTCCAATGG---TTGTTATGGT----GTCTGGACACGCCAAC-----AAGATCGT-T 481
F321  443 T--GTTAAATA-------TTATGCA----AGGCCAACGAT-ACATT----GAAATC---- 480
F315  432 CATAGCCAATTAAAGATGCAAAAAAAAGCGCTGATGCGCTTAATGTTGTTACTATGATTT 491
F376  522 TGTGACGGCGAGCCT-CTGCGATCCACG-----GTAATTCTGGA-TTTGCACTC--AT-- 570
F311  422 CCT---GA-GTT--ACTTG-TTTTCAT---------------------------------- 441
F328  519 CATCAAGATATT--GTTCAATTTTCAT---------------------------------- 543
F324  481 --TGTGAACGTA--ATAAAA--GCCAAGAGCAGTTTTTTTATGGCTG-GATCGCTAACCG 533
F347  262 ------------------------------------------------------------ 261
F351  496 --TGTGAGCGTA--ATCCAA--AGCAGGAACAGTTTTTCTATGGCTG-GATTGCTAACCG 548
F344  522 CGTCCAGATATT--GTTCAATGTTCATTTCGGTTTCCTTCAGATGTAAAAAACCGCCCGA 579
F340  522 TGTGACGGCGAGCCT-CTGCGATCCACG-----GTAATTCTGGA-TTTGCACTC--AT-- 570
F338  683 GGTATGGTCGTACAACTCAACCAGCAAGTAAGCGTTATACATTGCCACAATTAAAAGGCG 742
F336  540 CTAACTGGCCTGTTAATTGCGGGCCATTAAGTCGTGGTTGAGAAATTTTCTTTCCAATCC 599
F334  540 CTAACTGGCCTGTTAATTGCGGGCCATTAAGTCGTGGTTGAGAAATTTTCTTTCCAATCC 599
F332  683 GGTATGGTCGTACAACTCAACCAGCAAGTAAGCGTTATACATTGCCACAATTAAAAGGCG 742
F330  659 GGTATGGTCGTACAACTCAACCAGCAAGTAAGCGTTATACATTGCCACAATTAAAAGGCG 718
F307  432 TTTA-AAATGA------------------------------------------------- 441
F309  481 --TGTGAGCGTA--ATCCTA--AGCAAGAGCAATTCTTCTATGGCTG-GATTGCTAACCG 533
F303  519 CATCAAGATATT--GTTCAATTTTCAT---------------------------------- 543
F301  519 CATCAAGATATT--GTTCAATTTTCATTTCACTTTCCTTTAGACGTAAAAAAGCCACCAG 576
F320  519 CATCAAGATATT--GTTCAATTTTCAT---------------------------------- 543
F306  482 ATAGCAAGTGTATGGCGGTGCAATGA---------------------------------- 507
F321  481 --TGTGAACGTA--ATAAAA--GCCAAGAGCAGTTTTTTTATGGCTG-GATCGCTAACCG 533
F315  492 TAGTCTTGTTTGACAT------------------------------------------- 507
F376  571 ------------------------------------------------------------ 570
F311  442 ------------------------------------------------------------ 441
F328  544 ------------------------------------------------------------ 543
F324  534 GATCGGCTAG---------------------------------------------------- 543
F347  262 ------------------------------------------------------------ 261
F351  549 GATCGGCTAG---------------------------------------------------- 558
F344  580 AGGCGGCAT----------------------------------------------------- 588
F340  571 ------------------------------------------------------------ 570
F338  743 TAACAGCTACTAGGGTTTTGGAAGCCTAA------------------------------- 771
```

도면4i

```
F336  600 ATGACAGAACAAGCATCAAAGTACCAGTAACAAATGCATGATATTTTTCAGGAATAACTT 659
F334  600 ATGACAGAACAAGCATCAAAGTACCAGTAACAAATGCATGATGTTTTTCAGGAATAACTT 659
F332  743 TAACAGCTACTAGGGTTTTGGAAGCCTAA---------------------------- 771
F330  719 TAACAGCTACTAGGGTTTTGGAAGCCTAA---------------------------- 747
F307  442 ------------------------------------------------------- 441
F309  534 GATCGGCTAG----------------------------------------------- 543
F303  544 ------------------------------------------------------- 543
F301  577 TTGATCCGTGAACTTGATATTTATATTGATCCAGAAGTGCAGGCTGAGGTTTTTGGTCAG 636
F320  544 ------------------------------------------------------- 543
F306  508 ------------------------------------------------------- 507
F321  534 GATCGGCTAG----------------------------------------------- 543
F315  508 ------------------------------------------------------- 507
F376  571 ------------------------------------------------------- 570
F311  442 ------------------------------------------------------- 441
F328  544 ------------------------------------------------------- 543
F324  544 ------------------------------------------------------- 543
F347  262 ------------------------------------------------------- 261
F351  559 ------------------------------------------------------- 558
F344  589 ------------------------------------------------------- 588
F340  571 ------------------------------------------------------- 570
F338  772 ------------------------------------------------------- 771
F336  660 CATAATCAACACCCCATTGTAGTGCTGGCAATAAAATTAGCATGATGAATGCACCTACGG 719
F334  660 CATAATCAACACCCCATTGTAGTGCTGGCAATAAAATTAGCATGATGAATGCACCTACGG 719
F332  772 ------------------------------------------------------- 771
F330  748 ------------------------------------------------------- 747
F307  442 ------------------------------------------------------- 441
F309  544 ------------------------------------------------------- 543
F303  544 ------------------------------------------------------- 543
F301  637 ------------------------------------------------------- 636
F320  544 ------------------------------------------------------- 543
F306  508 ------------------------------------------------------- 507
F321  544 ------------------------------------------------------- 543
F315  508 ------------------------------------------------------- 507
F376  571 ------------------------------------------------------- 570
F311  442 ------------------------------------------------------- 441
F328  544 ------------------------------------------------------- 543
F324  544 ------------------------------------------------------- 543
```

도면4j

```
F347  262 ------------------------------------------------------------ 261
F351  559 ------------------------------------------------------------ 558
F344  589 ------------------------------------------------------------ 588
F340  571 ------------------------------------------------------------ 570
F338  772 ------------------------------------------------------------ 771
F336  720 CGGGTAACTTAACAGATAGATACTGCCAAGCATTGTTTTCAATTAACTTCAT-------- 771
F334  720 CGGGTAACTTAACAGATAGATACTGCCAAGCATTGTTTTCAATTAACTTCAT-------- 771
F332  772 ------------------------------------------------------------ 771
F330  748 ------------------------------------------------------------ 747
F307  442 ------------------------------------------------------------ 441
F309  544 ------------------------------------------------------------ 543
F303  544 ------------------------------------------------------------ 543
F301  637 ------------------------------------------------------------ 636
F320  544 ------------------------------------------------------------ 543
F306  508 ------------------------------------------------------------ 507
F321  544 ------------------------------------------------------------ 543
F315  508 ------------------------------------------------------------ 507
```

도면5a

클러스탈더블유(v1.83) 다중 서열 정렬

정렬된 21 서열 진행 시간: 0.3 초
삽입된 갭 = 50 보존된 동일성 = 1
스코어 = 83346

쌍 정렬 방식: 느림
쌍 정렬 파라미터:
개방 갭 페널티 = 10.0 확장된 갭 페널티 = 0.1
유사성 매트릭스: 곤넷(gonnet)

다중 정렬 파라미터:
개방 갭 페널티 = 10.0 확장된 갭 페널티 = 0.1
지연 발산 = 40% 갭 거리 = 8
유사성 매트릭스: 곤넷

```
F307    1 ------------------------------------------------------------   0
F376    1 ------------------------------------------------------------   0
F351    1 ------------------------------------------------------------   0
F347    1 ------------------------------------------------------------   0
F344    1 ------------------------------------------------------------   0
F340    1 ------------------------------------------------------------   0
F338    1 MKLIENNAWQYLSVKLPAVGAFIMLILLPALQWGVDYEVIPEKYHAFVTGTLMLVLSWIG  60
F336    1 MKLIENNAWQYLSVKLPAVGAFIMLILLPALQWGVDYEVIPEKYHAFVTGTLMLVLSWIG  60
F334    1 MKLIENNAWQYLSVKLPAVGAFIMLILLPALQWGVDYEVIPEKHHAFVTGTLMLVLSWIG  60
F332    1 MKLIENNAWQYLSVKLPAVGAFIMLILLPALQWGVDYEVIPEKYHAFVTGTLMLVLSWIG  60
F330    1 ----LDPVMTMTSSPFHNS----SRILLPALQWGVDYEVIPEKYHAFVTGTLMLVLSWIG  52
F328    1 ------------------------------------------------------------   0
F324    1 ------------------------------------------------------------   0
F321    1 ------------------------------------------------------------   0
F320    1 ------------------------------------------------------------   0
F315    1 ------------------------------------------------------------   0
F306    1 ------------------------------------------------------------   0
F303    1 ------------------------------------------------------------   0
F301    1 ----------------------------------------------------------LTKN   4
F309    1 ------------------------------------------------------------   0
F311    1 ------------------------------------------------------------   0
```

도면5b

```
F307    1 ---------------------------VKTSNPGVDLIKGFEGLRLKAYDDGVGVWTIGF  33
F376    1 ---------------------------MSANP-ELPWIAEARRHIGLAEIAGPKHNQTII  32
F351    1 ----------------------LKETEMNIEKYLDELIKREGGYVNNPADRGGATKYGIT  38
F347    1 ------------------------------------------------LPSTTR-----   6
F344    1 -------------MPPSGGFLHLKETEMNIEQYLDELIKREGGYVNNPADRGGETKYGIT  47
F340    1 ---------------------------MSANP-ELPWIAEARRHIGLAEIAGPKHNQTII  32
F338   61 KKISQPRLNGPQLTGQLVGINSLLNIPTPTKPDELAWIAEAKKHLGLQEIPGKQHNPTIL 120
F336   61 KKISQPRLNGPQLTGQLVGINSLLNIPTPTKPDELAWIAEAKKHLGLQEIPGKQHNPTIL 120
F334   61 KKISQPRLNGPQLTGQLVGINSLLNIPTPTKPDELAWIAEAKKHLGLQEIPGKQHNPTIL 120
F332   61 KKISQPRLNGPQLTGQLVGINSLLNIPTPTKPDELAWIAEAKKHLGLQEIPGKQHNPTIL 120
F330   53 KKISQPRLNGPQLTGQLVGINSLLNIPTPTKPDELAWIAEAKKHLGLQEIPGKQHNPTIL 112
F328    1 ---------------------------MKIEQYLDDLIKRVGGYVNNPVDRGGATKYGIT  33
F324    1 ---------------------------MKIEQYLDDLIKREGGYVNNPVDRGGATKYGIT  33
F321    1 ---------------------------MKIEQYLDDLIKREGGYVNNPVDRGGATKYGIT  33
F320    1 ---------------------------MKIEQYLDDLIKREGGYVNNPVDRGGATKYGIT  33
F315    1 ----------------MSNKTKIIVTTLSASALFFASLIGYEGYKSKPYLDSAKVATIGI  44
F306    1 ----------------MSNKTKIIVTTLSASALFFASLIGYEGYKSKPYLDSAKVATIGI  44
F303    1 ---------------------------MKIEQYLDDLIKREGGYVNNPVDRGGATKYGIT  33
F301    5 LSLHFWININIKFTDQLVAFLRLKESEMKIEQYLDDLIKREGGYVNNPVDRGGATKYGIT  64
F309    1 ---------------------------MKIEQYLDDLIKREGGYVNNPVDRGGATKYGIT  33
F311    1 ---------------------------MKTSNSGINLIKGFEGKRLKAYDDGVGVWTIGF  33
F307   34 GTIKYPNGVRVKKGDTCTESQAEEYLRNDLVV-------------------------FES  68
F376   33 KWLKDLKSSWLDDETAWCGTFVAHCLQTAGFQRGSVNSRSKTYKSGTKAPPGFYPFNWYA  92
F351   39 QAVARENGWNGNMKDLPLDVAKAIYKKQYWTAPRFDQVNA------------VSSAVAEE  86
F347    7 ------------------------------------------------------------   6
F344   48 EAVARTNGFKGNMKDLPLDVAKAIYKKQYWTDPRFDQVNV------------ISSLVAEE  95
F340   33 KWLKDLKSSWLDDETAWCGTFVAHCLQTAGFQRGSVNSRSKTYKSGTKAPPGFYPFNWYA  92
F338  121 KWLSELKAWWADDETAWCGTFVAHCLKSAGIA---------------------YPKHWYR 159
F336  121 KWLSELKAWWADDETAWCGTFVAHCLKSAGIA---------------------YPKHWYR 159
F334  121 KWLSELKAWWADDETAWCGTFVAHCLKSAGIA---------------------YPKHWYR 159
F332  121 KWLSELKAWWADDETAWCGTFVAHCLKSAGIA---------------------YPKHWYR 159
F330  113 KWLSELKAWWADDETAWCGTFVAHCLKSAGIA---------------------YSKHWYR 151
F328   34 EAVARENGYKGNMKDLPLDVAKAIYRKQYWIEPRFDQVNT------------LSSAVAEE  81
F324   34 EAVARENGYKGNMKDLPLDVAKAIYRKQYWIEPRFDQVNT------------LSSAVAEE  81
F321   34 EAVARENGYKGNMKDLPLDVAKAIYRKQYWIEPRFDQVNT------------LSSAVAEE  81
F320   34 EAVARENGYKGNMKDLPLDVAKAIYRKQYWIEPRFDQVNT------------LSSAVAEE  81
F315   45 GSTSYENGTKVKMTDKPITKERAVQIAKAHIA-------------------------KDE  79
```

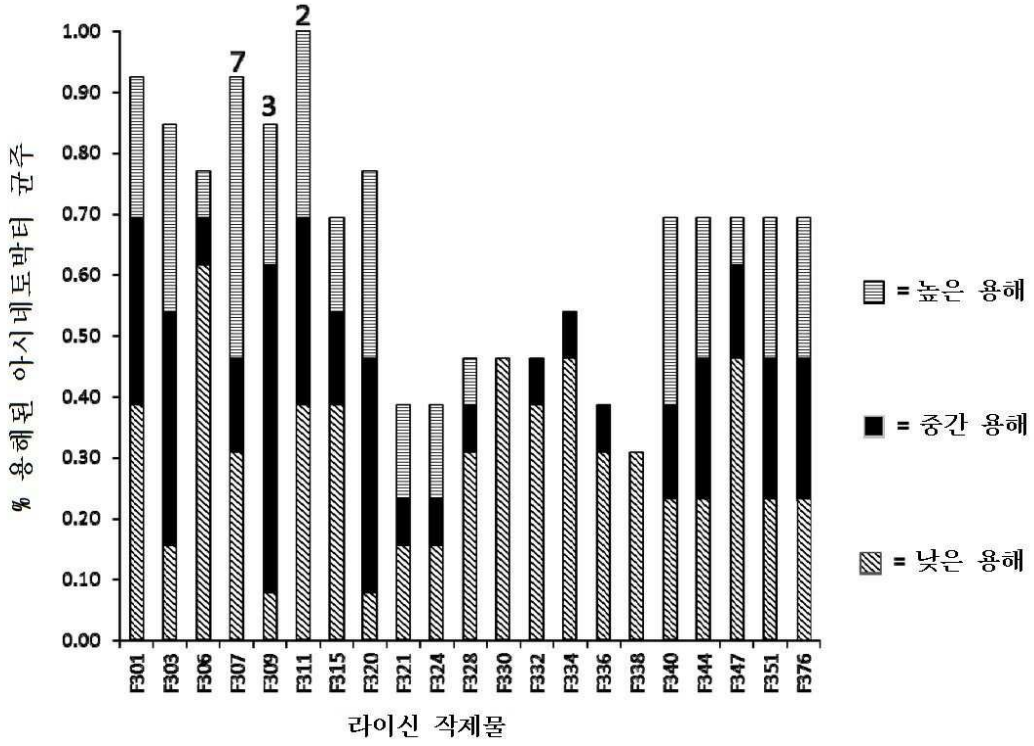
도면5c

```
F306   45 GSTSYENGTKVKMTDKPITKERAVQIAKAHIA-------------------------KDE  79
F303   34 EAVARENGYKGNMKDLPLDVAKAIYRKQYWIEPRFDQVNT------------LSSAVAEE  81
F301   65 EAVARENGYKGNMKDLPLDVAKAIYRKQYWIEPRFDQVNT------------LSSAVAEE 112
F309   34 EAVARENGYKGNMKDLPLDVAKAIYRKQYWIEPRFDQVNT------------LSSAVAEE  81
F311   34 GTIKYPNGVRVKKGDICTESQAEGYLRNDLVA-------------------------FEN  68
F307   69 AINR--LVKVPLNQNQFDALASFTYNLG------EGNLSISTLLKKLNAKDYKGAAAEFP 120
F376   93 ALEYIKEGGVKLXKPCYGCVAVKSREGGGHVTFVVGKTP-TGKLICLGGNQSNKVCFAVY 151
F351   87 LLDTGVNCGTGFAKPLLQRALNLLNNQG------KAGYADLEVDGVYGSATLGALKTYLS 140
F347    7 ---------AELSQTEYDLYLDFTYQYG------VPTFAKSSMLKHLKAGQYKAACDSLL  51
F344   96 LLDTGVNCGTGFAKPLLQRALNLLNNQG------KAGWPDLTVDGIYGPATLNALKTYLA 149
F340   93 ALEYIKEGGVKLDKPCYGCVAVKSREGGGHVTFVVGKTP-TGKLICLGGNQSNKVCFAVY 151
F338  160 ALDYVNYG-TKLAKPAYGCVAIKTRKGGGHVCFVVGRDKKSGKLVCLGGNQSNKVCYALY 218
F336  160 ALDYVNYG-TKLAKPAYGCVAIKTRKGGGHVCFVVGRDKKSGKLVCLGGNQSNKVCYALY 218
F334  160 ALDYVNYG-TKLAKPAYGCVAIKTRKGGGHVCFVVGRDKKSGKLVCLGGNQSNKVCYALY 218
F332  160 ALDYVNYG-TKLAKPAYGCVAIKTRKGGGHVCFVVGRDKKSGKLVCLGGNQSNKVCYALY 218
F330  152 ALDYVNYG-TKLAKPAYGCVAIKTRKGGGRVCFVVGRDKKSGKLVCLGGNQSNKVCYALY 210
F328   82 LLDTGVNCGINFAKPLLQRALNLLNNQG------KAGYADLKVDGVYGSNTLGALKTYLA 135
F324   82 LLDTGVNCGINFAKPLLQRALNLLNNQG------KAGYADLKVDGVYGSNTLGALKTYLA 135
F321   82 LLDTGVNCGINFAKPLLQRALNLLNNQG------KAGYADLKVDGVYGSNTLGALKTYLA 135
F320   82 LLDTGVNCGINFAKPLLQRALNLLNNQG------KAGYADLKVDGVYGSSTLGALKTYLA 135
F315   80 VAFRKSLQGVRLTQTEYDVYLDFVYNYG------QANWNGSSMLRNLKAGQYKQACASLL 133
F306   80 VAFRKSLQGVRLTQTEYDVYLDFVYNYG------QANWNGSSMLRNLKAGQYKQACASLL 133
F303   82 LLDTGVNCGINFAKPLLQRALNLLNNQG------KAGYADLKVDGVYGSSTLGALKTYLA 135
F301  113 LLDTGVNCGINFAKPLLQRALNLLNNQG------KAGYADLKVDGVYGSNTLGALKTYLA 166
F309   82 LLDTGVNCGINFAKPLLQRALNLLNNQG------KAGYTDLKVDGVYGSSTLGALKTYLA 135
F311   69 AINR--LVKVPLNQNQFDALASFTYNLG------EGNLSKSTLLKKLNAKDYKGAAAEFP 120
F307  121 KWNKAGGR------------VLAGLVKRRKAEMELFLK-----------------------146
F376  152 DVSAFEAFMWYGKTSKPAAHRYDLPVLKIVSVTSVSEA----------------------189
F351  141 KRGKEGEKVLVRVLNIMQGQRYIEICERNPKQEQFFYGWIANRIG----------------185
F347   52 KYKYVAKRDCS-----VRKNGCYGVWTRQVERHAKCIGAQ---------------------86
F344  150 KRGKDGEKVLVRVLNIMQGQRYIEICERNPSQEQFFYGWIANRVVI---------------195
F340  152 DVSAFEAFMWYGKTSKPAAHRYDLPVLKIVSVTSVSEA----------------------189
F338  219 NDSDFQEFRWYGRTTQPASKRYTLPQLKGVTATRVLEA----------------------256
F336  219 NDSDFQEFRWYGRTTQPASKRYTLPQLKGVTATRVLEA----------------------256
F334  219 NDSDFQEFRWYGRTTQPAGKRYTLPQLKGVTATRVLEA----------------------256
F332  219 NDSDFQEFRWYGRTTQPASKRYTLPQLKGVTATRVLEA----------------------256
F330  211 NDSDFQEFRWYGRTTQPASKRYTLPQLKGVTATRVLEA----------------------248
```

도면5d

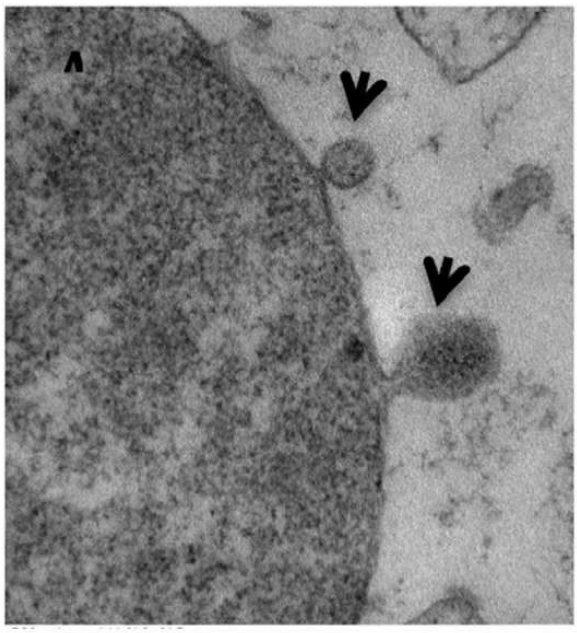
```
F328  136 KRGKEGEKVLVRVLNIMQGQRYIEICERNKSQEQFFYGWIANRIG----------------180
F324  136 KRGKEGEKVLVRVLNIMQGQRYIEICERNKSQEQFFYGWIANRIG----------------180
F321  136 KRGKEGEKVLVRVLNIMQGQRYIEICERNKSQEQFFYGWIANRIG----------------180
F320  136 KRGKEGEKVLVRVLNIMQGQRYIEICERNPKQEQFFYGWIANRIG----------------180
F315  134 KYKYVAKRDCS-----IRSNGCYGVWTRQQDCYSKCMAVQ----------------------168
F306  134 KYKYVAKRDCS-----IRSNGCYGVWTRQQDRYSKCMAVQ----------------------168
F303  136 KRGKEGEKVLVRVLNIMQGQRYIEICERNPKQEQFFYGWIANRIG----------------180
F301  167 KRGKEGEKVLVRVLNIMQGQRYIEICERNKSQEQFFYGWIANRIG----------------211
F309  136 KRGKEGEKVLVRVLNIMQGQRYIEICERNPKQEQFFYGWIANRIG----------------180
F311  121 KWNKAGGR------------VLAGLVKRRKAEMELFLK----------------------146
```

도면6

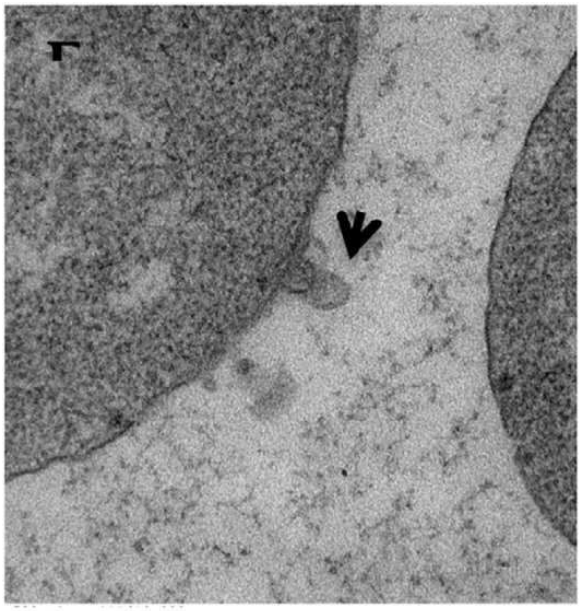


도면7

A

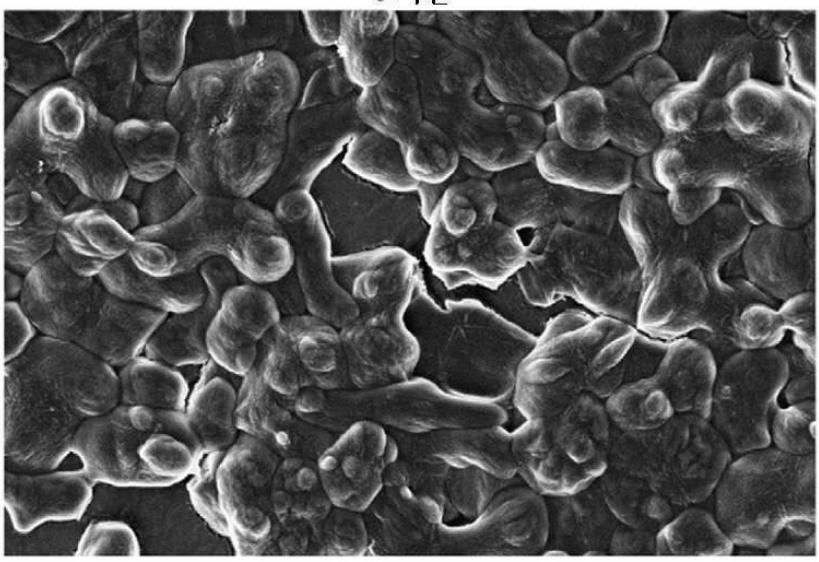


B

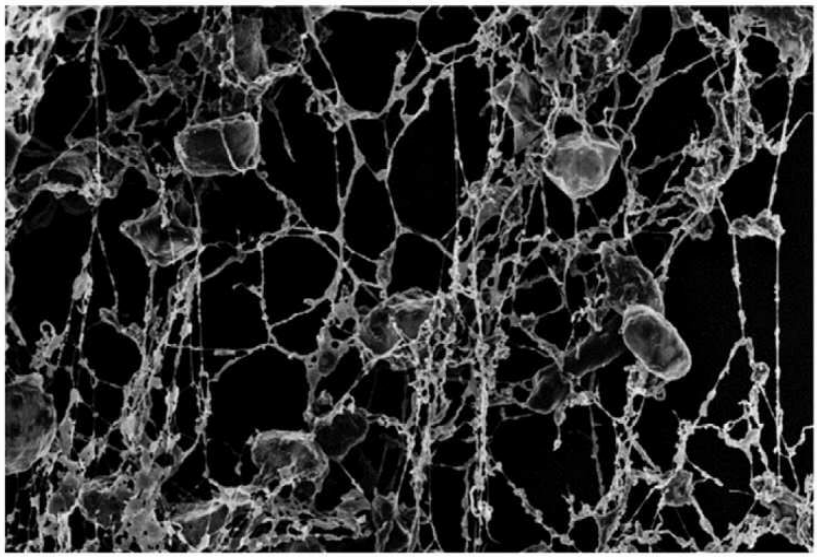


도면8

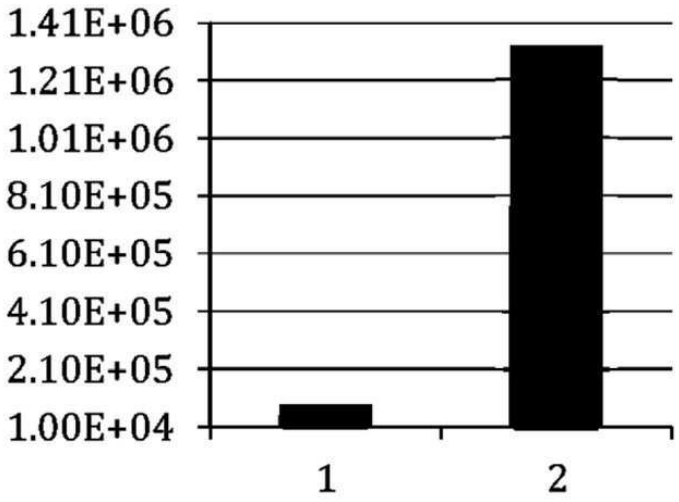
0 시간



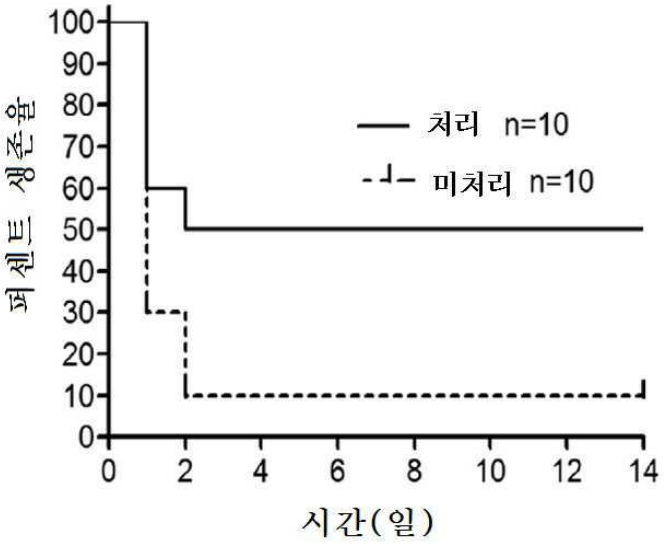
30 분



도면9



도면10



도면11

F307

VKTSNPGVDL IKGFEGLRLK AYDDGVGVWT IGFGTIKYPN GVRVKKGDTC TESQAEEYLR

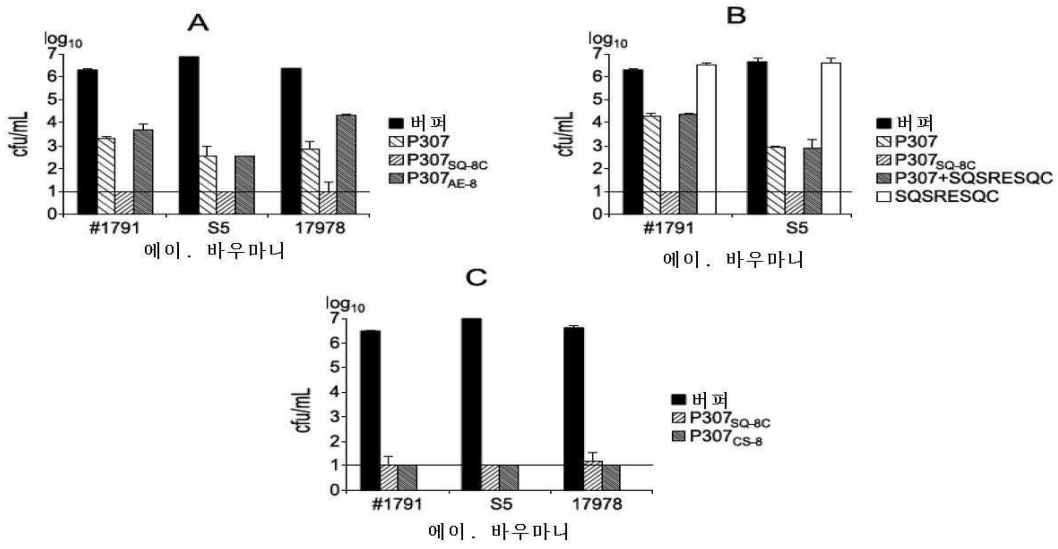
NDLVVFESAI NRLVKVPLNQ NQFDALASFT YNLGEGNLSI STLLKKL**NAK DYKGAAAEFP**

KWNKAGGRVL AGLVKRRKAE MELFLK (서열 번호 1)

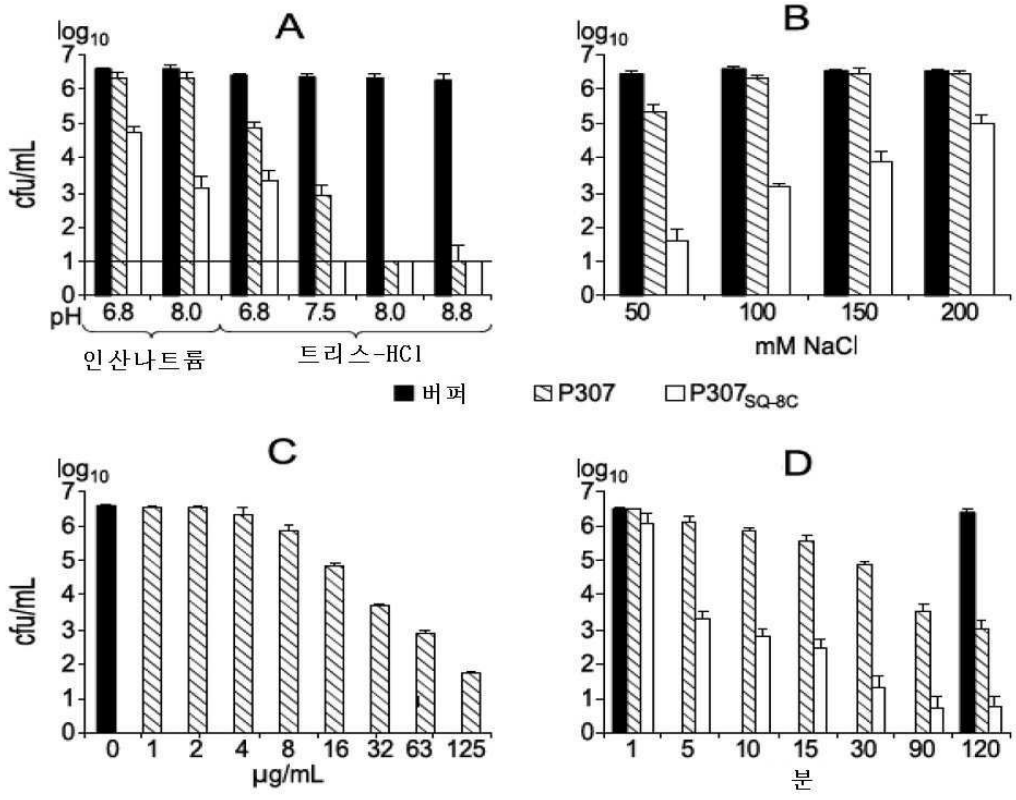
P307- NAKDYKGAAAEFPKWNKAGGRVLAGLVKRRK -- 3.4 kDa (서열 번호 43)

P307Ex - NAKDYKGAAAEFPKWNKAGGRVLAGLVKRRKSQSRESQC -- 4.3 kDa (서열 번호 45)

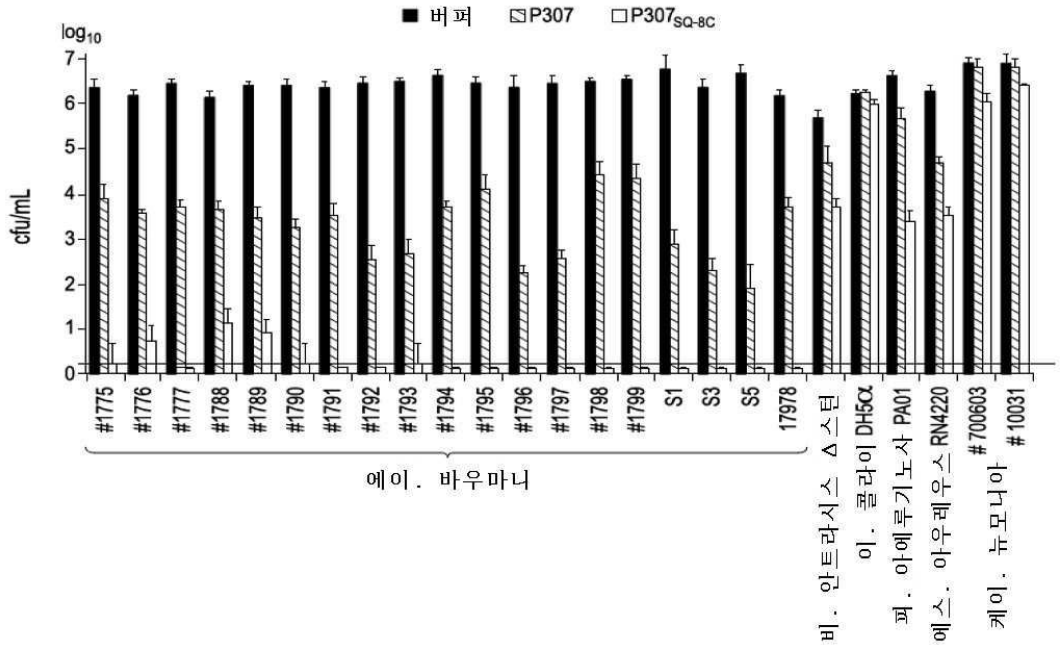
도면12


A
log10
cfu/mL
버퍼
P307
P307SQ-8C
P307AE-8
#1791
S5
17978
에이. 바우마니
B
버퍼
P307
P307SQ-8C
P307+SQSRESQC
SQSRESQC
C
P307CS-8

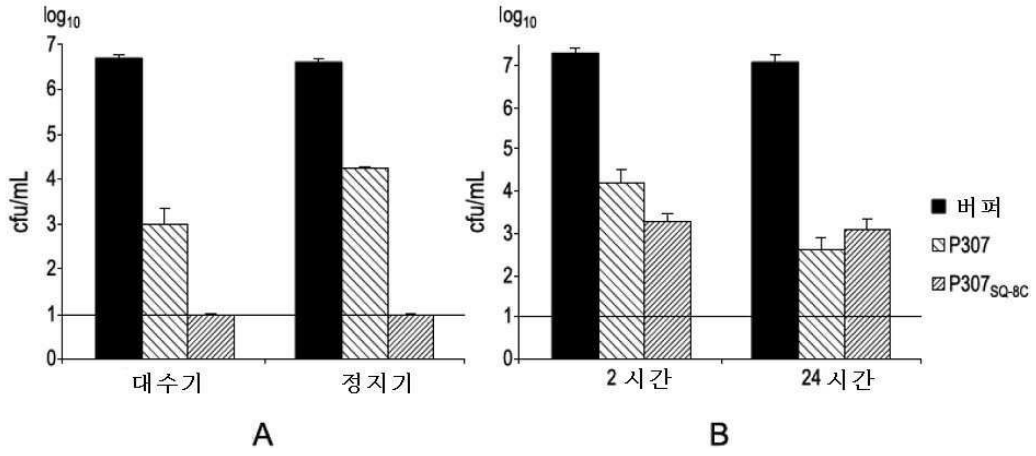
도면13


A
B
C
D
log10
cfu/mL
pH
6.8
8.0
7.5
8.8
인산나트륨
트리스-HCl
mM NaCl
버퍼
P307
P307SQ-8C
μg/mL
분

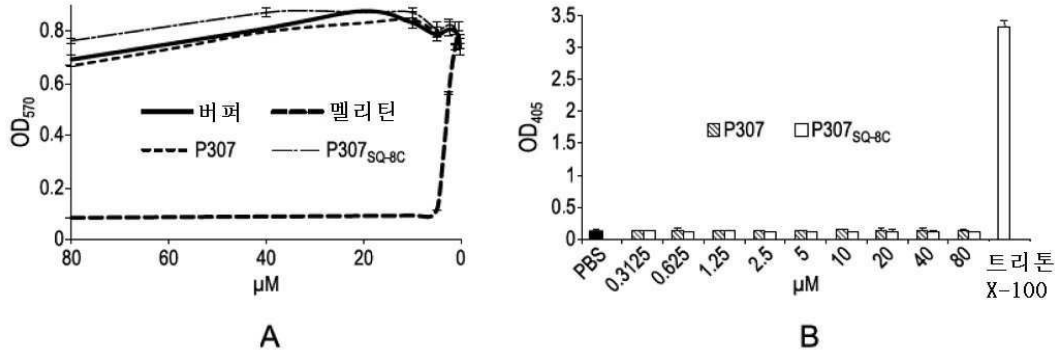
도면14



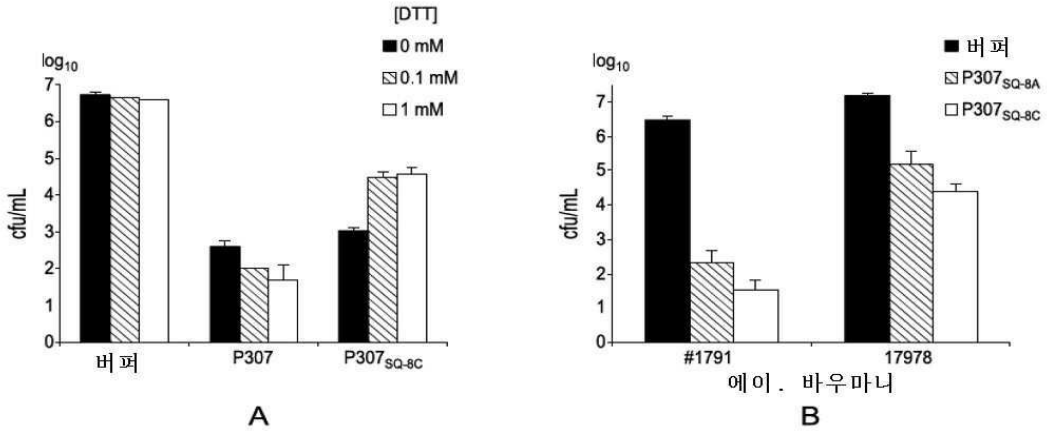
도면15



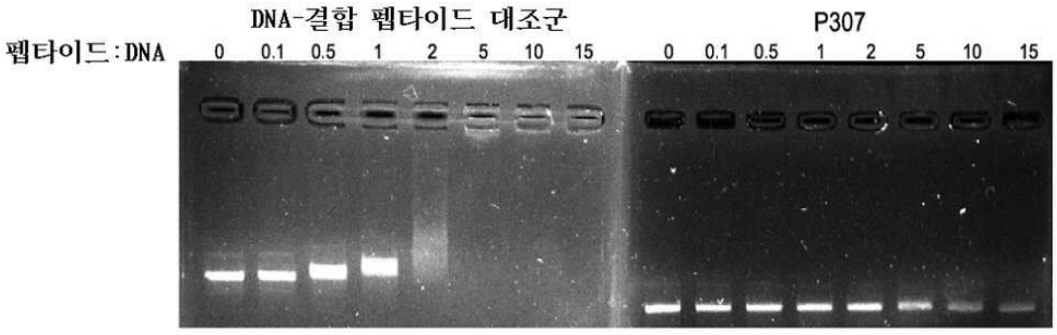
도면16



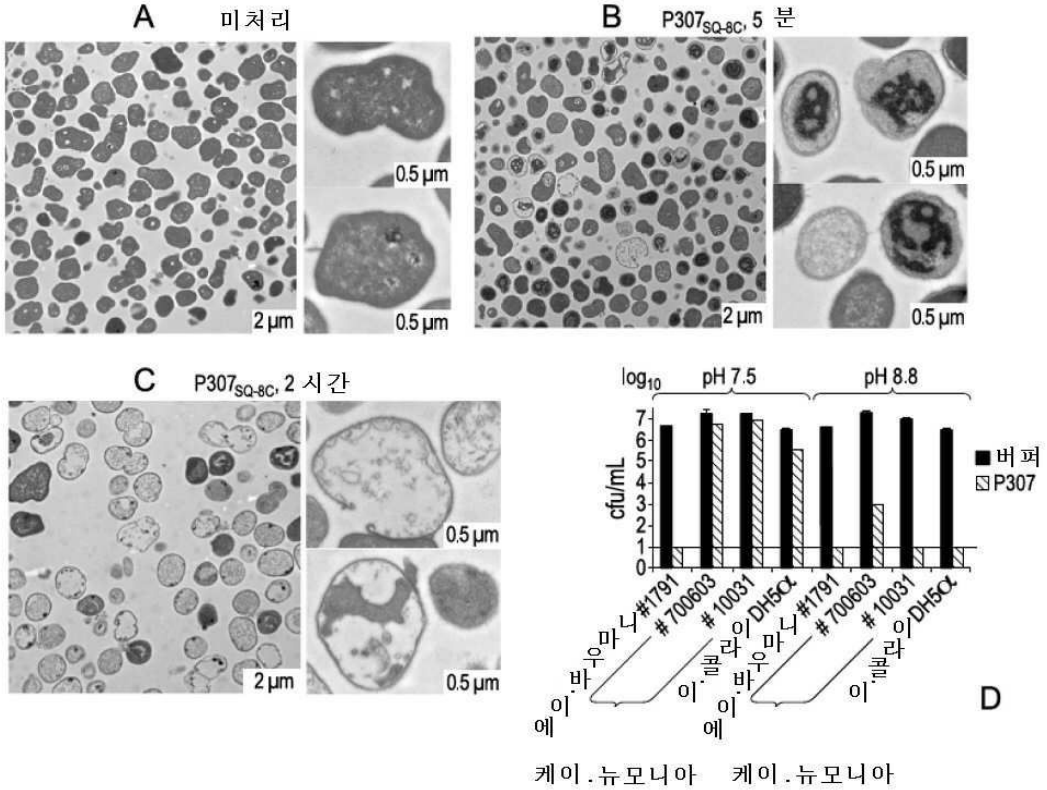
도면17



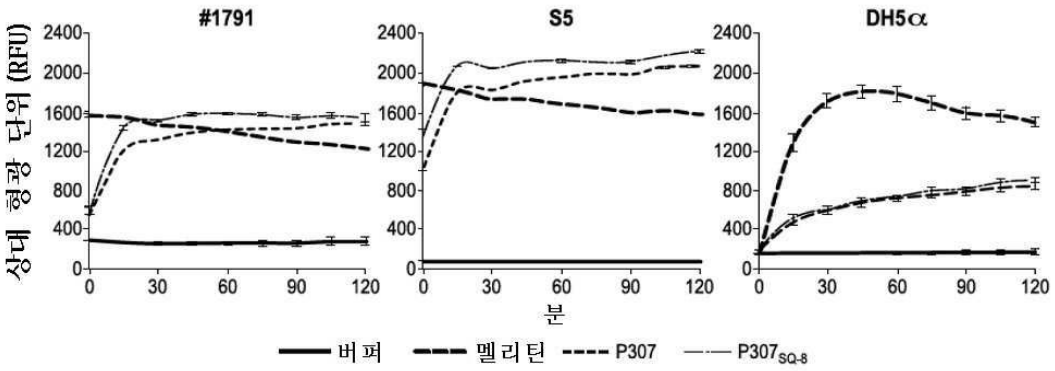
도면18



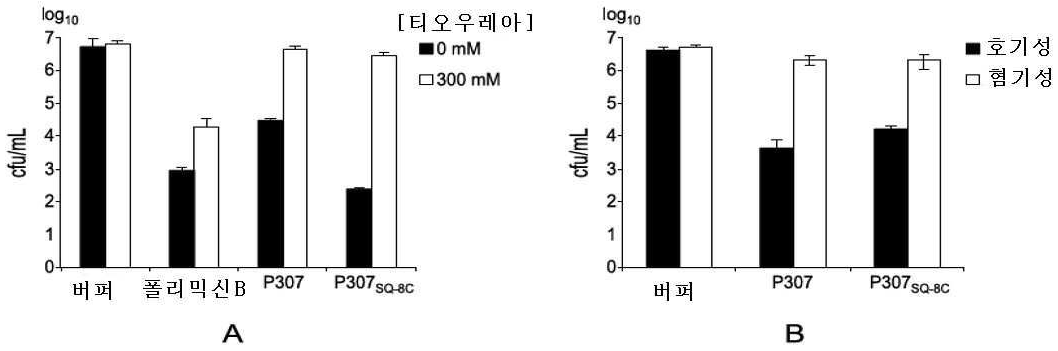
도면19



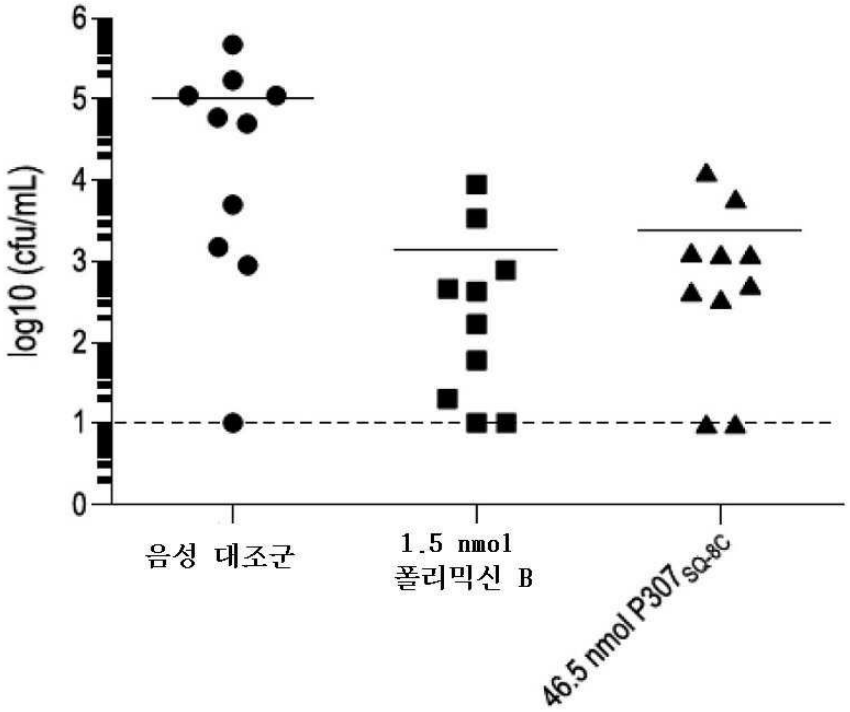
도면20



도면21



도면22



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> The Rockeffer University Office of Techonology Transfer

<120> ACINETOBACTER LYSINS

<130> 235932-373399

<150> 62/017,618

<151> 2014-06-26

<150> PCT/US15/37962

<151> 2015-06-26

<160> 53

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 146

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 1

Val Lys Thr Ser Asn Pro Gly Val Asp Leu Ile Lys Gly Phe Glu Gly
1 5 10 15

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

Phe Gly Thr Ile Lys Tyr Pro Asn Gly Val Arg Val Lys Lys Gly Asp
35 40 45

Thr Cys Thr Glu Ser Gln Ala Glu Glu Tyr Leu Arg Asn Asp Leu Val
50 55 60

Val Phe Glu Ser Ala Ile Asn Arg Leu Val Lys Val Pro Leu Asn Gln
65 70 75 80

Asn Gln Phe Asp Ala Leu Ala Ser Phe Thr Tyr Asn Leu Gly Glu Gly
85 90 95

Asn Leu Ser Ile Ser Thr Leu Leu Lys Lys Leu Asn Ala Lys Asp Tyr
100 105 110

Lys Gly Ala Ala Ala Glu Phe Pro Lys Trp Asn Lys Ala Gly Gly Arg
115 120 125

Val Leu Ala Gly Leu Val Lys Arg Arg Lys Ala Glu Met Glu Leu Phe
130 135 140

Leu Lys

145

<210> 2

<211> 189

<212

> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<220><221> MOD_RES

<222> (105)..(105)

<223> METHYLATION, Abu

<400> 2

Met Ser Ala Asn Pro Glu Leu Pro Trp Ile Ala Glu Ala Arg Arg His
1 5 10 15

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

Lys Trp Leu Lys Asp Leu Lys Ser Ser Trp Leu Asp Asp Glu Thr Ala
35 40 45

Trp Cys Gly Thr Phe Val Ala His Cys Leu Gln Thr Ala Gly Phe Gln
50 55 60

Arg Gly Ser Val Asn Ser Arg Ser Lys Thr Tyr Lys Ser Gly Thr Lys
65 70 75 80

Ala Pro Pro Gly Phe Tyr Pro Phe Asn Trp Tyr Ala Ala Leu Glu Tyr
85 90 95

Ile Lys Glu Gly Gly Val Lys Leu Asx Lys Pro Cys Tyr Gly Cys Val
100 105 110

Ala Val Lys Ser Arg Glu Gly Gly Gly His Val Thr Phe Val Val Gly
115 120 125

Lys Thr Pro Thr Gly Lys Leu Ile Cys Leu Gly Gly Asn Gln Ser Asn
130 135 140

Lys Val Cys Phe Ala Val Tyr Asp Val Ser Ala Phe Glu Ala Phe Met
145 150 155 160

Trp Tyr Gly Lys Thr Ser Lys Pro Ala Ala His Arg Tyr Asp Leu Pro

165 170 175

Val Leu Lys Ile Val Ser Val Thr Ser Val Ser Glu Ala
180 185

<210> 3

<211> 185

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 3

Leu Lys Glu Thr Glu Met Asn Ile Glu Lys Tyr Leu Asp Glu Leu Ile
1 5 10 15

Lys Arg Glu Gly Gly Tyr Val Asn Asn Pro Ala Asp Arg Gly Gly Ala
20 25 30

Thr Lys Tyr Gly Ile Thr Gln Ala Val Ala Arg Glu Asn Gly Trp Asn
35 40 45

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

Lys Gln Tyr Trp Thr Ala Pro Arg Phe Asp Gln Val Asn Ala Val Ser
65 70 75 80

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

Gly Phe Ala Lys Pro Leu Leu Gln Arg Ala Leu Asn Leu Leu Asn Asn
100 105 110

Gln Gly Lys Ala Gly Tyr Ala Asp Leu Glu Val Asp Gly Val Tyr Gly
115 120 125

Ser Ala Thr Leu Gly Ala Leu Lys Thr Tyr Leu Ser Lys Arg Gly Lys
130 135 140

Glu Gly Glu Lys Val Leu Val Arg Val Leu Asn Ile Met Gln Gly Gln
145 150 155 160

Arg Tyr Ile Glu Ile Cys Glu Arg Asn Pro Lys Gln Glu Gln Phe Phe
165 170 175

Tyr Gly Trp Ile Ala Asn Arg Ile Gly

180 185

<210> 4

<211> 86

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 4

Leu Pro Ser Thr Thr Arg Ala Glu Leu Ser Gln Thr Glu Tyr Asp Leu
1 5 10 15

Tyr Leu Asp Phe Thr Tyr Gln Tyr Gly Val Pro Thr Phe Ala Lys Ser
20 25 30

Ser Met Leu Lys His Leu Lys Ala Gly Gln Tyr Lys Ala Ala Cys Asp
35 40 45

Ser Leu Leu Lys Tyr Lys Tyr Val Ala Lys Arg Asp Cys Ser Val Arg
50 55 60

Lys Asn Gly Cys Tyr Gly Val Trp Thr Arg Gln Val Glu Arg His Ala
65 70 75 80

Lys Cys Ile Gly Ala Gln
85

<210> 5

<211> 195

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 5

Met Pro Pro Ser Gly Gly Phe Leu His Leu Lys Glu Thr Glu Met Asn
1 5 10 15

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

Asn Asn Pro Ala Asp Arg Gly Gly Glu Thr Lys Tyr Gly Ile Thr Glu
35 40 45

Ala Val Ala Arg Thr Asn Gly Phe Lys Gly Asn Met Lys Asp Leu Pro
50 55 60

Leu Asp Val Ala Lys Ala Ile Tyr Lys Lys Gln Tyr Trp Thr Asp Pro

65 70 75 80

Arg Phe Asp Gln Val Asn Val Ile Ser Ser Leu Val Ala Glu Glu Leu

85 90 95

Leu Asp Thr Gly Val Asn Cys Gly Thr Gly Phe Ala Lys Pro Leu Leu

100 105 110

Gln Arg Ala Leu Asn Leu Leu Asn Asn Gln Gly Lys Ala Gly Trp Pro

115 120 125

Asp Leu Thr Val Asp Gly Ile Tyr Gly Pro Ala Thr Leu Asn Ala Leu

130 135 140

Lys Thr Tyr Leu Ala Lys Arg Gly Lys Asp Gly Glu Lys Val Leu Val

145 150 155 160

Arg Val Leu Asn Ile Met Gln Gly Gln Arg Tyr Ile Glu Ile Cys Glu

165 170 175

Arg Asn Pro Ser Gln Glu Gln Phe Phe Tyr Gly Trp Ile Ala Asn Arg

180 185 190

Val Val Ile

195

<210> 6

<211> 189

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 6

Met Ser Ala Asn Pro Glu Leu Pro Trp Ile Ala Glu Ala Arg Arg His

1 5 10 15

Ile Gly Leu Ala Glu Ile Ala Gly Pro Lys His Asn Gln Thr Ile Ile

20 25 30

Lys Trp Leu Lys Asp Leu Lys Ser Ser Trp Leu Asp Asp Glu Thr Ala

35 40 45

Trp Cys Gly Thr Phe Val Ala His Cys Leu Gln Thr Ala Gly Phe Gln

50 55 60

Arg Gly Ser Val Asn Ser Arg Ser Lys Thr Tyr Lys Ser Gly Thr Lys

65 70 75 80

Ala Pro Pro Gly Phe Tyr Pro Phe Asn Trp Tyr Ala Ala Leu Glu Tyr
85 90 95
Ile Lys Glu Gly Gly Val Lys Leu Asp Lys Pro Cys Tyr Gly Cys Val
100 105 110
Ala Val Lys Ser Arg Glu Gly Gly Gly His Val Thr Phe Val Val Gly

115 120 125
Lys Thr Pro Thr Gly Lys Leu Ile Cys Leu Gly Gly Asn Gln Ser Asn
130 135 140
Lys Val Cys Phe Ala Val Tyr Asp Val Ser Ala Phe Glu Ala Phe Met
145 150 155 160
Trp Tyr Gly Lys Thr Ser Lys Pro Ala Ala His Arg Tyr Asp Leu Pro
165 170 175
Val Leu Lys Ile Val Ser Val Thr Ser Val Ser Glu Ala

180 185

<210> 7
<211> 256
<212> PRT
<213> Acinetobacter baumannii
<400> 7
Met Lys Leu Ile Glu Asn Asn Ala Trp Gln Tyr Leu Ser Val Lys Leu
1 5 10 15
Pro Ala Val Gly Ala Phe Ile Met Leu Ile Leu Leu Pro Ala Leu Gln
20 25 30
Trp Gly Val Asp Tyr Glu Val Ile Pro Glu Lys Tyr His Ala Phe Val
35 40 45

Thr Gly Thr Leu Met Leu Val Leu Ser Trp Ile Gly Lys Lys Ile Ser
50 55 60
Gln Pro Arg Leu Asn Gly Pro Gln Leu Thr Gly Gln Leu Val Gly Ile
65 70 75 80
Asn Ser Leu Leu Asn Ile Pro Thr Pro Thr Lys Pro Asp Glu Leu Ala
85 90 95
Trp Ile Ala Glu Ala Lys Lys His Leu Gly Leu Gln Glu Ile Pro Gly

100 105 110

Lys Gln His Asn Pro Thr Ile Leu Lys Trp Leu Ser Glu Leu Lys Ala
115 120 125
Trp Trp Ala Asp Asp Glu Thr Ala Trp Cys Gly Thr Phe Val Ala His
130 135 140
Cys Leu Lys Ser Ala Gly Ile Ala Tyr Pro Lys His Trp Tyr Arg Ala
145 150 155 160
Leu Asp Tyr Val Asn Tyr Gly Thr Lys Leu Ala Lys Pro Ala Tyr Gly
165 170 175

Cys Val Ala Ile Lys Thr Arg Lys Gly Gly Gly His Val Cys Phe Val
180 185 190
Val Gly Arg Asp Lys Lys Ser Gly Lys Leu Val Cys Leu Gly Gly Asn
195 200 205
Gln Ser Asn Lys Val Cys Tyr Ala Leu Tyr Asn Asp Ser Asp Phe Gln
210 215 220
Glu Phe Arg Trp Tyr Gly Arg Thr Thr Gln Pro Ala Ser Lys Arg Tyr
225 230 235 240

Thr Leu Pro Gln Leu Lys Gly Val Thr Ala Thr Arg Val Leu Glu Ala
245 250 255

<210> 8
<211> 256
<212> PRT
<213> Acinetobacter baumannii
<400> 8

Met Lys Leu Ile Glu Asn Asn Ala Trp Gln Tyr Leu Ser Val Lys Leu
1 5 10 15
Pro Ala Val Gly Ala Phe Ile Met Leu Ile Leu Leu Pro Ala Leu Gln
20 25 30
Trp Gly Val Asp Tyr Glu Val Ile Pro Glu Lys Tyr His Ala Phe Val

35 40 45
Thr Gly Thr Leu Met Leu Val Leu Ser Trp Ile Gly Lys Lys Ile Ser

50 55 60

Gln Pro Arg Leu Asn Gly Pro Gln Leu Thr Gly Gln Leu Val Gly Ile
65 70 75 80

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

Trp Ile Ala Glu Ala Lys Lys His Leu Gly Leu Gln Glu Ile Pro Gly

100 105 110

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

Trp Trp Ala Asp Asp Glu Thr Ala Trp Cys Gly Thr Phe Val Ala His
130 135 140

Cys Leu Lys Ser Ala Gly Ile Ala Tyr Pro Lys His Trp Tyr Arg Ala
145 150 155 160

Leu Asp Tyr Val Asn Tyr Gly Thr Lys Leu Ala Lys Pro Ala Tyr Gly

165 170 175

Cys Val Ala Ile Lys Thr Arg Lys Gly Gly Gly His Val Cys Phe Val
180 185 190

Val Gly Arg Asp Lys Lys Ser Gly Lys Leu Val Cys Leu Gly Gly Asn
195 200 205

Gln Ser Asn Lys Val Cys Tyr Ala Leu Tyr Asn Asp Ser Asp Phe Gln
210 215 220

Glu Phe Arg Trp Tyr Gly Arg Thr Thr Gln Pro Ala Ser Lys Arg Tyr

225 230 235 240

Thr Leu Pro Gln Leu Lys Gly Val Thr Ala Thr Arg Val Leu Glu Ala
245 250 255

<210> 9

<211> 256

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 9

Met Lys Leu Ile Glu Asn Asn Ala Trp Gln Tyr Leu Ser Val Lys Leu
1 5 10 15

Pro Ala Val Gly Ala Phe Ile Met Leu Ile Leu Leu Pro Ala Leu Gln
20 25 30

Trp Gly Val Asp Tyr Glu Val Ile Pro Glu Lys His His Ala Phe Val
35 40 45
Thr Gly Thr Leu Met Leu Val Leu Ser Trp Ile Gly Lys Lys Ile Ser
50 55 60
Gln Pro Arg Leu Asn Gly Pro Gln Leu Thr Gly Gln Leu Val Gly Ile
65 70 75 80
Asn Ser Leu Leu Asn Ile Pro Thr Pro Thr Lys Pro Asp Glu Leu Ala
85 90 95

Trp Ile Ala Glu Ala Lys Lys His Leu Gly Leu Gln Glu Ile Pro Gly
100 105 110
Lys Gln His Asn Pro Thr Ile Leu Lys Trp Leu Ser Glu Leu Lys Ala
115 120 125
Trp Trp Ala Asp Asp Glu Thr Ala Trp Cys Gly Thr Phe Val Ala His
130 135 140
Cys Leu Lys Ser Ala Gly Ile Ala Tyr Pro Lys His Trp Tyr Arg Ala
145 150 155 160

Leu Asp Tyr Val Asn Tyr Gly Thr Lys Leu Ala Lys Pro Ala Tyr Gly
165 170 175
Cys Val Ala Ile Lys Thr Arg Lys Gly Gly Gly His Val Cys Phe Val
180 185 190
Val Gly Arg Asp Lys Lys Ser Gly Lys Leu Val Cys Leu Gly Gly Asn
195 200 205
Gln Ser Asn Lys Val Cys Tyr Ala Leu Tyr Asn Asp Ser Asp Phe Gln
210 215 220

Glu Phe Arg Trp Tyr Gly Arg Thr Thr Gln Pro Ala Gly Lys Arg Tyr
225 230 235 240
Thr Leu Pro Gln Leu Lys Gly Val Thr Ala Thr Arg Val Leu Glu Ala
245 250 255

<210> 10

<211> 256

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 10

Met Lys Leu Ile Glu Asn Asn Ala Trp Gln Tyr Leu Ser Val Lys Leu
1 5 10 15

Pro Ala Val Gly Ala Phe Ile Met Leu Ile Leu Leu Pro Ala Leu Gln
20 25 30

Trp Gly Val Asp Tyr Glu Val Ile Pro Glu Lys Tyr His Ala Phe Val
35 40 45

Thr Gly Thr Leu Met Leu Val Leu Ser Trp Ile Gly Lys Lys Ile Ser
50 55 60

Gln Pro Arg Leu Asn Gly Pro Gln Leu Thr Gly Gln Leu Val Gly Ile
65 70 75 80

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

Trp Ile Ala Glu Ala Lys Lys His Leu Gly Leu Gln Glu Ile Pro Gly
100 105 110

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

Trp Trp Ala Asp Asp Glu Thr Ala Trp Cys Gly Thr Phe Val Ala His
130 135 140

Cys Leu Lys Ser Ala Gly Ile Ala Tyr Pro Lys His Trp Tyr Arg Ala
145 150 155 160

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

Cys Val Ala Ile Lys Thr Arg Lys Gly Gly Gly His Val Cys Phe Val
180 185 190

Val Gly Arg Asp Lys Lys Ser Gly Lys Leu Val Cys Leu Gly Gly Asn
195 200 205

Gln Ser Asn Lys Val Cys Tyr Ala Leu Tyr Asn Asp Ser Asp Phe Gln

210 215 220

Glu Phe Arg Trp Tyr Gly Arg Thr Thr Gln Pro Ala Ser Lys Arg Tyr
225 230 235 240

Thr Leu Pro Gln Leu Lys Gly Val Thr Ala Thr Arg Val Leu Glu Ala
245 250 255

<210> 11

<211> 248

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 11

Leu Asp Pro Val Met Thr Met Thr Ser Ser Pro Phe His Asn Ser Ser
1 5 10 15

Arg Ile Leu Leu Pro Ala Leu Gln Trp Gly Val Asp Tyr Glu Val Ile
20 25 30

Pro Glu Lys Tyr His Ala Phe Val Thr Gly Thr Leu Met Leu Val Leu
35 40 45

Ser Trp Ile Gly Lys Lys Ile Ser Gln Pro Arg Leu Asn Gly Pro Gln
50 55 60

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

Pro Thr Lys Pro Asp Glu Leu Ala Trp Ile Ala Glu Ala Lys Lys His
85 90 95

Leu Gly Leu Gln Glu Ile Pro Gly Lys Gln His Asn Pro Thr Ile Leu
100 105 110

Lys Trp Leu Ser Glu Leu Lys Ala Trp Trp Ala Asp Asp Glu Thr Ala
115 120 125

Trp Cys Gly Thr Phe Val Ala His Cys Leu Lys Ser Ala Gly Ile Ala
130 135 140

Tyr Ser Lys His Trp Tyr Arg Ala Leu Asp Tyr Val Asn Tyr Gly Thr
145 150 155 160

Lys Leu Ala Lys Pro Ala Tyr Gly Cys Val Ala Ile Lys Thr Arg Lys
165 170 175

Gly Gly Gly Arg Val Cys Phe Val Val Gly Arg Asp Lys Lys Ser Gly
180 185 190
Lys Leu Val Cys Leu Gly Gly Asn Gln Ser Asn Lys Val Cys Tyr Ala
195 200 205

Leu Tyr Asn Asp Ser Asp Phe Gln Glu Phe Arg Trp Tyr Gly Arg Thr
210 215 220
Thr Gln Pro Ala Ser Lys Arg Tyr Thr Leu Pro Gln Leu Lys Gly Val
225 230 235 240
Thr Ala Thr Arg Val Leu Glu Ala
245

<210> 12
<211> 180
<212> PRT
<213> Acinetobacter baumannii
<400> 12

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

Tyr Val Asn Asn Pro Val Asp Arg Gly Gly Ala Thr Lys Tyr Gly Ile
20 25 30
Thr Glu Ala Val Ala Arg Glu Asn Gly Tyr Lys Gly Asn Met Lys Asp
35 40 45
Leu Pro Leu Asp Val Ala Lys Ala Ile Tyr Arg Lys Gln Tyr Trp Ile
50 55 60
Glu Pro Arg Phe Asp Gln Val Asn Thr Leu Ser Ser Ala Val Ala Glu
65 70 75 80

Glu Leu Leu Asp Thr Gly Val Asn Cys Gly Ile Asn Phe Ala Lys Pro
85 90 95
Leu Leu Gln Arg Ala Leu Asn Leu Leu Asn Asn Gln Gly Lys Ala Gly
100 105 110
Tyr Ala Asp Leu Lys Val Asp Gly Val Tyr Gly Ser Asn Thr Leu Gly
115 120 125
Ala Leu Lys Thr Tyr Leu Ala Lys Arg Gly Lys Glu Gly Glu Lys Val

130 135 140

Leu Val Arg Val Leu Asn Ile Met Gln Gly Gln Arg Tyr Ile Glu Ile
145 150 155 160
Cys Glu Arg Asn Lys Ser Gln Glu Gln Phe Phe Tyr Gly Trp Ile Ala
165 170 175
Asn Arg Ile Gly
180

<210> 13
<211> 180
<212> PRT
<213> Acinetobacter baumannii
<400> 13

Met Lys Ile Glu Gln Tyr Leu Asp Asp Leu Ile Lys Arg Glu Gly Gly
1 5 10 15

Tyr Val Asn Asn Pro Val Asp Arg Gly Gly Ala Thr Lys Tyr Gly Ile
20 25 30
Thr Glu Ala Val Ala Arg Glu Asn Gly Tyr Lys Gly Asn Met Lys Asp
35 40 45
Leu Pro Leu Asp Val Ala Lys Ala Ile Tyr Arg Lys Gln Tyr Trp Ile
50 55 60
Glu Pro Arg Phe Asp Gln Val Asn Thr Leu Ser Ser Ala Val Ala Glu
65 70 75 80

Glu Leu Leu Asp Thr Gly Val Asn Cys Gly Ile Asn Phe Ala Lys Pro
85 90 95
Leu Leu Gln Arg Ala Leu Asn Leu Leu Asn Asn Gln Gly Lys Ala Gly
100 105 110
Tyr Ala Asp Leu Lys Val Asp Gly Val Tyr Gly Ser Asn Thr Leu Gly
115 120 125
Ala Leu Lys Thr Tyr Leu Ala Lys Arg Gly Lys Glu Gly Glu Lys Val
130 135 140

Leu Val Arg Val Leu Asn Ile Met Gln Gly Gln Arg Tyr Ile Glu Ile

145 150 155 160

Cys Glu Arg Asn Lys Ser Gln Glu Gln Phe Phe Tyr Gly Trp Ile Ala

165 170 175

Asn Arg Ile Gly

180

<210> 14

<211> 180

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 14

Met Lys Ile Glu Gln Tyr Leu Asp Asp Leu Ile Lys Arg Glu Gly Gly

1 5 10 15

Tyr Val Asn Asn Pro Val Asp Arg Gly Gly Ala Thr Lys Tyr Gly Ile

20 25 30

Thr Glu Ala Val Ala Arg Glu Asn Gly Tyr Lys Gly Asn Met Lys Asp

35 40 45

Leu Pro Leu Asp Val Ala Lys Ala Ile Tyr Arg Lys Gln Tyr Trp Ile

50 55 60

Glu Pro Arg Phe Asp Gln Val Asn Thr Leu Ser Ser Ala Val Ala Glu

65 70 75 80

Glu Leu Leu Asp Thr Gly Val Asn Cys Gly Ile Asn Phe Ala Lys Pro

85 90 95

Leu Leu Gln Arg Ala Leu Asn Leu Leu Asn Asn Gln Gly Lys Ala Gly

100 105 110

Tyr Ala Asp Leu Lys Val Asp Gly Val Tyr Gly Ser Asn Thr Leu Gly

115 120 125

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

130 135 140

Leu Val Arg Val Leu Asn Ile Met Gln Gly Gln Arg Tyr Ile Glu Ile

145 150 155 160

Cys Glu Arg Asn Lys Ser Gln Glu Gln Phe Phe Tyr Gly Trp Ile Ala

165 170 175

Asn Arg Ile Gly
180

<210> 15

<211> 180

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 15

Met Lys Ile Glu Gln Tyr Leu Asp Asp Leu Ile Lys Arg Glu Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Leu Pro Leu Asp Val Ala Lys Ala Ile Tyr Arg Lys Gln Tyr Trp Ile
50 55 60

Glu Pro Arg Phe Asp Gln Val Asn Thr Leu Ser Ser Ala Val Ala Glu
65 70 75 80

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

Leu Leu Gln Arg Ala Leu Asn Leu Leu Asn Asn Gln Gly Lys Ala Gly
100 105 110

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

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

Leu Val Arg Val Leu Asn Ile Met Gln Gly Gln Arg Tyr Ile Glu Ile
145 150 155 160

Cys Glu Arg Asn Pro Lys Gln Glu Gln Phe Phe Tyr Gly Trp Ile Ala
165 170 175

Asn Arg Ile Gly
180

<210> 16

<211> 168

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 16

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

Leu Phe Phe Ala Ser Leu Ile Gly Tyr Glu Gly Tyr Lys Ser Lys Pro
20 25 30

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

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

Glu Arg Ala Val Gln Ile Ala Lys Ala His Ile Ala Lys Asp Glu Val
65 70 75 80

Ala Phe Arg Lys Ser Leu Gln Gly Val Arg Leu Thr Gln Thr Glu Tyr
85 90 95

Asp Val Tyr Leu Asp Phe Val Tyr Asn Tyr Gly Gln Ala Asn Trp Asn
100 105 110

Gly Ser Ser Met Leu Arg Asn Leu Lys Ala Gly Gln Tyr Lys Gln Ala
115 120 125

Cys Ala Ser Leu Leu Lys Tyr Lys Tyr Val Ala Lys Arg Asp Cys Ser
130 135 140

Ile Arg Ser Asn Gly Cys Tyr Gly Val Trp Thr Arg Gln Gln Asp Cys
145 150 155 160

Tyr Ser Lys Cys Met Ala Val Gln
165

<210> 17

<211> 168

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 17

Met Ser Asn Lys Thr Lys Ile Ile Val Thr Thr Leu Ser Ala Ser Ala

1 5 10 15

Leu Phe Phe Ala Ser Leu Ile Gly Tyr Glu Gly Tyr Lys Ser Lys Pro

20 25 30

Tyr Leu Asp Ser Ala Lys Val Ala Thr Ile Gly Ile Gly Ser Thr Ser

35 40 45

Tyr Glu Asn Gly Thr Lys Val Lys Met Thr Asp Lys Pro Ile Thr Lys

50 55 60

Glu Arg Ala Val Gln Ile Ala Lys Ala His Ile Ala Lys Asp Glu Val

65 70 75 80

Ala Phe Arg Lys Ser Leu Gln Gly Val Arg Leu Thr Gln Thr Glu Tyr

85 90 95

Asp Val Tyr Leu Asp Phe Val Tyr Asn Tyr Gly Gln Ala Asn Trp Asn

100 105 110

Gly Ser Ser Met Leu Arg Asn Leu Lys Ala Gly Gln Tyr Lys Gln Ala

115 120 125

Cys Ala Ser Leu Leu Lys Tyr Lys Tyr Val Ala Lys Arg Asp Cys Ser

130 135 140

Ile Arg Ser Asn Gly Cys Tyr Gly Val Trp Thr Arg Gln Gln Asp Arg

145 150 155 160

Tyr Ser Lys Cys Met Ala Val Gln

165

<210> 18

<211> 180

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 18

Met Lys Ile Glu Gln Tyr Leu Asp Asp Leu Ile Lys Arg Glu Gly Gly

1 5 10 15

Tyr Val Asn Asn Pro Val Asp Arg Gly Gly Ala Thr Lys Tyr Gly Ile

20 25 30

Thr Glu Ala Val Ala Arg Glu Asn Gly Tyr Lys Gly Asn Met Lys Asp

35 40 45

Leu Pro Leu Asp Val Ala Lys Ala Ile Tyr Arg Lys Gln Tyr Trp Ile
50 55 60
Glu Pro Arg Phe Asp Gln Val Asn Thr Leu Ser Ser Ala Val Ala Glu
65 70 75 80
Glu Leu Leu Asp Thr Gly Val Asn Cys Gly Ile Asn Phe Ala Lys Pro
85 90 95
Leu Leu Gln Arg Ala Leu Asn Leu Leu Asn Asn Gln Gly Lys Ala Gly
100 105 110

Tyr Ala Asp Leu Lys Val Asp Gly Val Tyr Gly Ser Ser Thr Leu Gly
115 120 125
Ala Leu Lys Thr Tyr Leu Ala Lys Arg Gly Lys Glu Gly Glu Lys Val
130 135 140
Leu Val Arg Val Leu Asn Ile Met Gln Gly Gln Arg Tyr Ile Glu Ile
145 150 155 160
Cys Glu Arg Asn Pro Lys Gln Glu Gln Phe Phe Tyr Gly Trp Ile Ala
165 170 175

Asn Arg Ile Gly
180

<210> 19
<211> 211
<212> PRT
<213> Acinetobacter baumannii
<400> 19
Leu Thr Lys Asn Leu Ser Leu His Phe Trp Ile Asn Ile Asn Ile Lys
1 5 10 15
Phe Thr Asp Gln Leu Val Ala Phe Leu Arg Leu Lys Glu Ser Glu Met
20 25 30
Lys Ile Glu Gln Tyr Leu Asp Asp Leu Ile Lys Arg Glu Gly Gly Tyr
35 40 45

Val Asn Asn Pro Val Asp Arg Gly Gly Ala Thr Lys Tyr Gly Ile Thr

50 55 60

Glu Ala Val Ala Arg Glu Asn Gly Tyr Lys Gly Asn Met Lys Asp Leu

65 70 75 80

Pro Leu Asp Val Ala Lys Ala Ile Tyr Arg Lys Gln Tyr Trp Ile Glu

85 90 95

Pro Arg Phe Asp Gln Val Asn Thr Leu Ser Ser Ala Val Ala Glu Glu

100 105 110

Leu Leu Asp Thr Gly Val Asn Cys Gly Ile Asn Phe Ala Lys Pro Leu

115 120 125

Leu Gln Arg Ala Leu Asn Leu Leu Asn Asn Gln Gly Lys Ala Gly Tyr

130 135 140

Ala Asp Leu Lys Val Asp Gly Val Tyr Gly Ser Asn Thr Leu Gly Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Arg Val Leu Asn Ile Met Gln Gly Gln Arg Tyr Ile Glu Ile Cys

180 185 190

Glu Arg Asn Lys Ser Gln Glu Gln Phe Phe Tyr Gly Trp Ile Ala Asn

195 200 205

Arg Ile Gly

210

<210> 20

<211> 180

<212> PRT

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 20

Met Lys Ile Glu Gln Tyr Leu Asp Asp Leu Ile Lys Arg Glu Gly Gly

1 5 10 15

Tyr Val Asn Asn Pro Val Asp Arg Gly Gly Ala Thr Lys Tyr Gly Ile

20 25 30

Thr Glu Ala Val Ala Arg Glu Asn Gly Tyr Lys Gly Asn Met Lys Asp

35 40 45

Leu Pro Leu Asp Val Ala Lys Ala Ile Tyr Arg Lys Gln Tyr Trp Ile
50 55 60
Glu Pro Arg Phe Asp Gln Val Asn Thr Leu Ser Ser Ala Val Ala Glu
65 70 75 80
Glu Leu Leu Asp Thr Gly Val Asn Cys Gly Ile Asn Phe Ala Lys Pro

85 90 95
Leu Leu Gln Arg Ala Leu Asn Leu Leu Asn Asn Gln Gly Lys Ala Gly
100 105 110
Tyr Thr Asp Leu Lys Val Asp Gly Val Tyr Gly Ser Ser Thr Leu Gly
115 120 125
Ala Leu Lys Thr Tyr Leu Ala Lys Arg Gly Lys Glu Gly Glu Lys Val
130 135 140
Leu Val Arg Val Leu Asn Ile Met Gln Gly Gln Arg Tyr Ile Glu Ile

145 150 155 160
Cys Glu Arg Asn Pro Lys Gln Glu Gln Phe Phe Tyr Gly Trp Ile Ala
165 170 175
Asn Arg Ile Gly
180

<210> 21
<211> 146
<212> PRT
<213> Acinetobacter baumannii
<400> 21
Met Lys Thr Ser Asn Ser Gly Ile Asn Leu Ile Lys Gly Phe Glu Gly
1 5 10 15
Lys Arg Leu Lys Ala Tyr Asp Asp Gly Val Gly Val Trp Thr Ile Gly

20 25 30
Phe Gly Thr Ile Lys Tyr Pro Asn Gly Val Arg Val Lys Lys Gly Asp
35 40 45
Ile Cys Thr Glu Ser Gln Ala Glu Gly Tyr Leu Arg Asn Asp Leu Val
50 55 60
Ala Phe Glu Asn Ala Ile Asn Arg Leu Val Lys Val Pro Leu Asn Gln

65 70 75 80

Asn Gln Phe Asp Ala Leu Ala Ser Phe Thr Tyr Asn Leu Gly Glu Gly

85 90 95

Asn Leu Ser Lys Ser Thr Leu Leu Lys Lys Leu Asn Ala Lys Asp Tyr

100 105 110

Lys Gly Ala Ala Ala Glu Phe Pro Lys Trp Asn Lys Ala Gly Gly Arg

115 120 125

Val Leu Ala Gly Leu Val Lys Arg Arg Lys Ala Glu Met Glu Leu Phe

130 135 140

Leu Lys

145

<210> 22

<211> 441

<

212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 22

gtgaaaacaa gtaacccagg agtggattta atcaaaggct ttgaaggtct acgattgaaa 60

gcctatgacg atggtgtggg cgtttggacc attggctttg gcaccatcaa atacccgaac 120

ggtgtgcgag tcaaaaaagg cgatacatgc actgaatctc aagcggaaga ataccttcgc 180

aatgacttag ttgtatttga aagcgctatc aatcgtttgg tgaaagttcc gcttaatcaa 240

aaccaattcg atgctttggc ctcattcact tacaaccttg gtgagggcaa tcttagtata 300

tcaactttgc taaaaaagct taatgccaaa gactataaag gtgctgcagc tgaatttcct 360

aaatggaata aggcgggtgg tcgtgtcttg gctggattag ttaaacgtcg caaagctgaa 420

atggagttat ttttaaaatg a 441

<210> 23

<211> 570

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 23

ttaagcctct gaaacactcg taacagaaac gatttttagg actggtaaat cgtatcggtg 60

agcagctggt ttacttgttt tgccatacca cataaaggct tcaaaagccg aaacgtcata 120

tactgcaaaa caaactttat ttgactgatt accacctaag caaattaatt taccagtagg 180

tgttttacca acaacgaaag ttacatggcc accgccctct cttgatttta ccgcaacaca 240

cccataacaa ggcttgtyta atttgactcc gccttctttg atgtattcaa gtgcggcata 300

ccagttgaaa ggataaaagc ctggtggggc ctttgttcct gatttataag ttttggaacg 360

cgagtttaca cttcctcttt gaaatcccgc cgtttggaga cagtgcgcaa cgaatgttcc 420

gcaccatgca gtttcatcgt caagccaaga ggactttaag tccttcagcc atttgatgat 480

tgtctggttg tgtttggggc cggcgatttc agccaaccct atgtgacggc gagcctctgc 540

gatccacggt aattctggat ttgcactcat 570

<210> 24

<211> 558

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 24

ctgaaggaaa ccgaaatgaa tattgaaaaa tatcttgatg aattaattaa gcgtgaaggc 60

gggtatgtaa ataacccagc tgatcggggc ggtgcaacta aatatggcat cacacaagct 120

gttgcgcgtg aaaatggctg gaatggcaat atgaaagatt tgccgcttga tgtggccaaa 180

gctatttaca agaagcaata ctggacagct ccgcgatttg accaagtaaa tgctgtttct 240

tctgcagtag ctgaagagct tctagacact ggtgtgaatt gcggtaccgg atttgcaaaa 300

cctcttttac aacgagcttt gaacttgctt aataaccaag gtaaagctgg atatgcagat 360

ttagaggttg atggtgttta tggctcagca acgctaggtg cccttaaaac atacttgtca 420

aaacgtggga aagaaggtga gaaggttctg gtgcgagtgc tcaatattat gcaagggcaa 480

cgctacattg aaatctgtga gcgtaatcca aagcaggaac agtttttcta tggctggatt 540

gctaaccgga tcggctag 558

<210> 25

<211> 261

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 25

tcactgcgct cctatacatt ttgcgtgtcg ttctacttgt ctggtccaga cgccataaca 60

cccgttttta cgaacagagc aatcgcgctt tgcaacgtac ttatatttaa gtaaagagtc 120

gcaagctgct ttatattgac cagcctttaa atgcttaagc attgatgatt ttgcgaatgt 180

tggcacaccg tattgatacg tgaaatcaag gtataggtca tattcagtct gtgataattc 240

ggctcgagtt gtggaaggca g 261

<210> 26

<211> 588

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 26

tcatataaca actcgattgg cgatccaacc atagaaaaac tgttcctggc taggattgcg 60

ttcacagatt tcaatgtaac gttgcccttg catgatatta agaacacgca ccaggacttt 120

ttcgccgtct tttccacgct tggccagata agttttgagt gcattaagag ttgctggacc 180

ataaattccg tcaactgtta aatctggcca acctgcttta ccttggttat tcagcaaatt 240

taaagcacgc tgtaagagtg gttttgcaaa tccggtaccg caatttaccc cagtatctaa 300

aagctcttca gcaactaacg agctaattac attcacttga tcaaatcgcg gatctgtcca 360

atactgcttt ttataaatgg ctttggccac atcaagcggt aaatctttca tgttgccctt 420

aaagccgtta gtacgtgcta ctgcttcagt aataccgtac tttgtttcac cgcctcgatc 480

tgctgggttg tttacgtacc cgccctcacg cttaattaac tcgtccagat attgttcaat 540

gttcatttcg gtttccttca gatgtaaaaa accgcccgaa ggcggcat 588

<210> 27

<211> 570

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 27

ttaagcctct gaaacactcg taacagaaac gatttttagg actggtaaat cgtatcggtg 60

agcagctggt ttacttgttt tgccatacca cataaaggct tcaaaagccg aaacgtcata 120

tactgcaaaa caaactttat ttgactgatt accacctaag caaattaatt taccagtggg 180

tgttttacca acaacgaaag ttacatggcc accgccctct cttgatttta ccgcaacaca 240

cccataacaa ggcttgtcta atttgactcc gccttctttg atgtattcaa gtgcggcata 300

ccagttgaaa ggataaaagc ctggtggggc ctttgttcct gatttataag ttttggaacg 360

cgagtttaca cttcctcttt gaaatcccgc cgtttggaga cagtgcgcaa cgaatgttcc 420

gcaccatgca gtttcatcgt caagccaaga ggactttaag tccttcagcc atttgatgat 480

tgtctggttg tgtttggggc cggcgatttc agccaaccct atgtgacggc gagcctctgc 540

gatccacggt aattctggat ttgcactcat 570

<210> 28

<211> 771

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 28

atgaagttaa ttgaaaacaa tgcttggcag tatctatctg ttaagttacc cgccgtaggt 60

gcattcatca tgctaatttt attgccagca ctacaatggg gtgttgatta tgaagttatt 120

cctgaaaaat atcatgcatt tgttactggt actttgatgc ttgttctgtc atggattgga 180

aagaaaattt ctcaaccacg acttaatggc ccgcaattaa caggccagtt agtagggatc 240

aattctttat tgaatatccc aacaccaaca aagcctgatg aattagcttg gattgcggaa 300

gcaaaaaagc atcttggcct tcaagaaata cctggtaaac agcataaccc aactatttta 360

aaatggctct cggagctaaa ggcttggtgg gctgacgatg aaacggcttg gtgtgggacc 420

ttcgttgcac attgcttgaa atcagctgga attgcttatc ctaagcattg gtaccgtgca 480

ttggattatg tgaattatgg tacaaaatta gctaaacccg cttacggttg tgtagctatt 540

aaaactcgaa agggtggtgg gcatgtttgt tttgtagttg gccgtgacaa aaagtctgga 600

aagttagtat gccttggagg caatcagtca aataaagttt gttatgcact ttataatgac 660

tctgactttc aagaattcag atggtatggt cgtacaactc aaccagcaag taagcgttat 720

acattgccac aattaaaagg cgtaacagct actagggttt tggaagccta a 771

<210> 29

<211> 771

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 29

ttaggcttcc aaaaccctag tagctgttac gccttttaat tgtggcaatg tataacgctt 60

acttgctggt tgagttgtac gaccatacca tctgaattct tgaaagtcag agtcattata 120

aagtgcataa caaactttat ttgactgatt gcctccaagg catactaact ttccagactt 180

tttgtcacgg ccaactacaa aacaaacatg cccaccaccc tttcgagttt taatagctac 240

acaaccgtaa gcgggtttag ctaattttgt accataattc acataatcca atgcacggta 300

ccaatgctta ggataagcaa ttccagctga tttcaagcaa tgtgcaacga aggtcccaca 360

ccaagccgtt tcatcgtcag cccaccaagc ctttagctcc gagagccatt ttaaaatagt 420

tgggttatgc tgtttaccag gtatttcttg aaggccaaga tgctttttg cttctgcaat 480

ccaagctaat tcatcaggct ttgttggtgt tgggatattc aataaagaat tgatccctac 540

taactggcct gttaattgcg ggccattaag tcgtggttga gaaattttct ttccaatcca 600

tgacagaaca agcatcaaag taccagtaac aaatgcatga tatttttcag gaataacttc 660

ataatcaaca ccccattgta gtgctggcaa taaaattagc atgatgaatg cacctacggc 720

gggtaactta acagatagat actgccaagc attgttttca attaacttca t 771

<210> 30

<211> 771

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 30

ttaggcttcc aaaaccctag tagctgttac gccttttaat tgtggcaatg tataacgctt 60

acctgctggt tgagttgtac gaccatacca tctgaattct tgaaagtcag agtcattata 120

aagtgcataa caaactttat ttgactgatt gcctccaagg catactaact ttccagactt 180

tttgtcacgg ccaactacaa aacaaacatg cccaccaccc tttcgagttt taatagctac 240

acaaccgtaa gcgggtttag ctaattttgt accataattc acataatcca atgcacggta 300

ccaatgctta ggataagcaa ttccagctga tttcaagcaa tgtgcaacga aggtcccaca 360

ccaagccgtt tcatcgtcag cccaccaagc ctttagctcc gagagccatt ttaaaatagt 420

tgggttatgc tgtttaccag gtatttcttg aaggccaaga tgctttttg cttctgcaat 480

ccaagctaat tcatcaggct ttgttggtgt tgggatattc aataaagaat tgatccctac 540

taactggcct gttaattgcg ggccattaag tcgtggttga gaaattttct ttccaatcca 600

tgacagaaca agcatcaaag taccagtaac aaatgcatga tgtttttcag gaataacttc 660

ataatcaaca ccccattgta gtgctggcaa taaaattagc atgatgaatg cacctacggc 720

gggtaactta acagatagat actgccaagc attgttttca attaacttca t 771

<210> 31

<211> 771

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 31

atgaagttaa ttgaaaacaa tgcttggcag tatctatctg tcaagttacc cgccgtaggt 60

gcattcatca tgctaatttt attgccagca ctacaatggg gtgttgatta tgaagttatt 120

cctgaaaaat atcatgcatt tgttactggt actttgatgc ttgttctgtc atggattgga 180

aagaaaattt ctcaaccacg acttaatggc ccgcaattaa caggccagtt agtagggatc 240

aattctttat tgaatatccc aacaccaaca aagcctgatg aattagcttg gattgcagaa 300

gcaaaaaagc atcttggcct tcaagaaata cctggtaaac agcataaccc aactatttta 360

aaatggctct cggagctaaa ggcttggtgg gctgacgatg aaacggcttg gtgtgggacc 420

ttcgttgcac attgcttgaa atcagctgga attgcttatc ctaagcattg gtaccgtgca 480

ttggattatg tgaattatgg tacaaaatta gctaaacccg cttacggttg tgtagctatt 540

aaaactcgaa agggtggtgg gcatgtttgt tttgtagttg gccgtgacaa aaagtctgga 600

aagttagtat gccttggagg caatcagtca aataaagttt gttatgcact ttataatgac 660

tctgactttc aagaattcag atggtatggt cgtacaactc aaccagcaag taagcgttat 720

acattgccac aattaaaagg cgtaacagct actagggttt tggaagccta a 771

<210> 32

<211> 747

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 32

ctggatccgg tgatgacgat gacaagctcg cccttccaca actcgagccg aattttattg 60

ccagcactac aatggggtgt tgattatgaa gttattcctg aaaaatatca tgcatttgtt 120

actggtactt tgatgcttgt tctgtcatgg attggaaaga aaatttctca accacgactt 180

aatggcccgc aattaacagg ccagttagta gggatcaatt ctttattgaa tatcccaaca 240

ccaacaaagc ctgatgaatt agcttggatt gcagaagcaa aaaagcatct tggccttcaa 300

gaaatacctg gtaaacagca taacccaact attttaaaat ggctctcgga gctaaaggct 360

tggtgggctg acgatgaaac ggcttggtgt gggaccttcg ttgcacattg cttgaaatca 420

gctggaattg cttattctaa gcattggtac cgtgcattgg attatgtgaa ttatggtaca 480

aaattagcta aacccgctta cggttgtgta gctattaaaa ctcgaaaggg tggtgggcgt 540

gtttgttttg tagttggccg tgacaaaaag tctggaaagt tagtatgcct tggaggcaat 600

cagtcaaata aagtttgtta tgcactttat aatgactctg actttcaaga attcagatgg 660

tatggtcgta caactcaacc agcaagtaag cgttatacat tgccacaatt aaaaggcgta 720

acagctacta gggttttgga agcctaa 747

<210> 33

<211> 543

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 33

ctagccgatc cggttagcga tccagccata aaaaaactgc tcttggcttt tattacgttc 60

acagatttca atgtatcgtt ggccttgcat aatatttaac acgcgcacta agacctttc 120

gccttctttg ccacgtttgg ccaagtaagt ttttagagct cctaaagtgt tagaaccata 180

aacgccatca accttcaagt ctgcataacc agctttacct tgattgttaa gcaagttcaa 240

agcacgttgt aaaagtggtt ttgcaaagtt gataccacag ttcacaccag tgtctaaaag 300

ttcttcagct actgcagagc taagagtatt aacctgatca aaacgtggct ctatccagta 360

ctgtttccga taaattgctt tggccacatc aagaggcaaa tctttcatat tgcccttata 420

gccgttttca cgtgctacag cttcagtaat accgtatttg gtagcacctc ctcgatctac 480

tggattattt acataaccgc ctacgcgttt aatcaaatca tcaagatatt gttcaatttt 540

cat 543

<210> 34

<211> 543

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 34

atgaaaattg aacaatatct tgatgatttg attaaacgcg aaggcggtta tgtaaataat 60

ccagtggatc gaggaggtgc taccaaatac ggtattactg aagctgtagc acgtgaaaac 120

ggctataagg gcaatatgaa agatttgcct cttgatgtgg ccaaagcaat ttatcggaaa 180

cagtactgga tagagccacg ttttgatcag gttaatactc ttagctctgc agtagctgaa 240

gaacttttag acactggtgt gaactgtggt atcaactttg caaaaccact tttacaacgt 300

gctttgaact tgcttaacaa tcaaggtaaa gctggttatg cagacttgaa ggttgatggc 360

gtttatggtt ctaacacttt aggagctcta aaaacttact tggccaaacg tggcaaagaa 420

ggcgaaaagg tattagtgcg cgtgttaaat attatgcaag gccaacgata cattgaaatc 480

tgtgaacgta ataaaagcca agagcagttt ttttatggct ggatcgctaa ccggatcggc 540

tag 543

<210> 35

<211> 543

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 35

atgaaaattg aacaatatct tgatgatttg attaaacgcg aaggtggtta tgtaaataat 60

ccagtagatc gaggaggtgc taccaaatac ggtattactg aagctgtagc acgtgaaaac 120

ggctataagg gcaatatgaa agatttgcct cttgatgtgg ccaaagcaat ttatcggaaa 180
cagtactgga tagagccacg ttttgatcag gttaatactc ttagctctgc agtagctgaa 240
gaacttttag acactggtgt gaactgtggt atcaactttg caaaaccact tttacaacgt 300
gctttgaact tgcttaacaa tcaaggtaaa gctggttatg cagacttgaa ggttgatggc 360
gtttatggtt ctaacacttt aggagctcta aaaacttact tggccaaacg tggcaaagaa 420
ggcgaaaagg tcttagtgcg cgtgttaaat attatgcaag gccaacgata cattgaaatc 480
tgtgaacgta ataaaagcca agagcagttt ttttatggct ggatcgctaa ccggatcggc 540

tag 543

<210> 36
<211> 543
<212> DNA
<213> Acinetobacter baumannii
<400> 36

ctagccgatc cggttagcaa tccagccata gaagaattgc tcttgcttgg gattacgctc 60
acaaatttcg atatatcgct ggccttgcat gatattaaga actcgcacta ggactttctc 120
accttctttc ccacgtttgg ccaagtaagt tttgagagct cctaatgtgc tagaaccata 180
aacgccatca accttcaagt ctgcataacc agctttacct tgattgttaa gcaagttcaa 240
agcacgttgt aaaagtggtt ttgcaaagtt gataccacag ttcacaccag tgtctaaaag 300

ttcttcagct actgcagagc taagagtatt aacctgatca aaacgtggct ctatccagta 360
ctgtttccga taaattgctt tggccacatc aagaggcaaa tctttcatat tgcccttata 420
gccgttttca cgtgctacag cttcagtaat accgtatttg gtagcacctc ctcgatctac 480
tggattattt acataaccgc cttcgcgttt aatcaaatca tcaagatatt gttcaatttt 540
cat 543

<210> 37
<211> 507
<212> DNA
<213> Acinetobacter baumannii
<400> 37

tcactgcacc gccatacact tgctataaca atcttgttgg cgtgtccaga caccataaca 60

accattggac cgaatcgagc aatcacgctt tgcaacatat ttgtatttca gtaatgaagc 120

acaagcttgc ttatattgcc ctgctttgag attacgaagc attgatgagc cgttccaatt 180

tgcttggcca tagttgtaaa caaagtctaa gtacacatca tattcagtct gagttagcct 240

cacgccctgc aacgacttgc gaaatgccac ctcatcttta gcaatgtgag ctttggcaat 300

ttgaacagca cgttcttttg taatcggctt gtcagtcatt ttgaccttgg taccgttttc 360

ataggaagtg gatccgatac caatcgttgc cactttagcg ctatctaaat atggctttga 420

tttgtacccc tcatagccaa ttaaagatgc aaaaaaaagc gctgatgcgc ttaatgttgt 480

tactatgatt ttagtcttgt ttgacat 507

<210> 38

<211> 507

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 38

atgtcaaaca agactaaaat catagtaaca acattaagcg catcagcgct ttttttgca 60

tctttaattg gctatgaggg gtacaaatca aagccatatt tagatagcgc taaagtggca 120

acgattggta tcggatccac ttcctatgaa aacggtacca aggtcaaaat gactgacaag 180

ccgattacaa aagaacgtgc tgttcaaatt gccaaagctc acattgctaa agatgaggtg 240

gcatttcgca agtcgttgca gggcgtgagg ctaactcaga ctgaatatga tgtgtactta 300

gactttgttt acaactatgg ccaagcaaat tggaacggct catcaatgct tcgtaatctc 360

aaagcagggc aatataagca agcttgtgct tcattactga aatacaaata tgttgcaaag 420

cgtgattgct cgattcggtc caatggttgt tatggtgtct ggacacgcca acaagatcgt 480

tatagcaagt gtatggcggt gcaatga 507

<210> 39

<211> 543

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 39

ctagccgatc cggttagcaa tccagccata gaagaattgc tcttgcttag gattacgctc 60

acaaatttcg atatatcgct ggccttgcat gatattaaga actcgcacta ggactttctc 120

accttctttc ccacgtttgg ccaagtaagt tttgagagct cctaatgtgc tagaaccata 180

aacgccatca accttcaagt ctgcataacc agctttacct tgattgttaa gcaagttcaa 240

agcacgttgt aaaagtggtt ttgcaaagtt gataccacag ttcacaccag tgtctaaaag 300

ttcttcagct actgcagagc taagagtatt aacctgatca aaacgtggct ctatccagta 360

ctgtttccga taaattgctt tggccacatc aagaggcaaa tctttcatat tgcccttata 420

gccgttttca cgtgctacag cttcagtaat accgtatttg gtagcacctc ctcgatctac 480

tggattattt acataaccgc cttcgcgttt aatcaaatca tcaagatatt gttcaatttt 540

cat 543

<210> 40

<211> 636

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 40

ctagccgatc cggttagcga tccagccata aaaaaactgc tcttggcttt tattacgttc 60

acagatttca atgtatcgtt ggccttgcat aatatttaac acgcgcacta agacctttc 120

gccttctttg ccacgtttgg ccaagtaagt ttttagagct cctaaagtgt tagaaccata 180

aacgccatca accttcaagt ctgcataacc agctttacct tgattgttaa gcaagttcaa 240

agcacgttgt aaaagtggtt ttgcaaagtt gataccacag ttcacaccag tgtctaaaag 300

ttcttcagct actgcagagc taagagtatt aacctgatca aaacgtggct ctatccagta 360

ctgtttccga taaattgctt tggccacatc aagaggcaaa tctttcatat tgcccttata 420

gccgttttca cgtgctacag cttcagtaat accgtatttg gtagcacctc ctcgatctac 480

tggattattt acataaccgc cttcgcgttt aatcaaatca tcaagatatt gttcaatttt 540

catttcactt tcctttagac gtaaaaaagc caccagttga tccgtgaact tgatatttat 600

attgatccag aagtgcaggc tgaggttttt ggtcag 636

<210> 41

<211> 543

<212> DNA

<213> Acinetobacter baumannii

<400> 41

atgaaaattg aacaatatct tgatgatttg attaaacgcg aaggcggtta tgtaaataat 60

ccagtagatc gaggaggtgc taccaaatac ggtattactg aagctgtagc acgtgaaaac 120

ggctataagg gcaatatgaa agatttgcct cttgatgtgg ccaaagcaat ttatcggaaa 180

cagtactgga tagagccacg ttttgatcag gttaatactc ttagctctgc agtagctgaa 240

gaacttttag acactggtgt gaactgtggt atcaactttg caaaaccact tttacaacgt 300

gctttgaact tgcttaacaa tcaaggtaaa gctggttata cagacttgaa ggttgatggc 360

gtttatggtt ctagcacatt aggagctctc aaaacttact tggccaaacg tgggaaagaa 420

ggtgagaaag tcctagtgcg agttcttaat atcatgcaag gccagcgata tatcgaaatt 480
tgtgagcgta atcctaagca agagcaattc ttctatggct ggattgctaa ccggatcggc 540
tag 543

<210> 42
<211> 441
<212> DNA
<213> Acinetobacter baumannii
<400> 42

tcattttaaa aataactcca tttcagcttt gcgacgtttc accagtcctg ccaatacacg 60
accgccagct ttgttccatt ttgggaattc tgctgctgca cctttatagt ccttagcatt 120
taacttttt agcaaagtag atttgctaag attgccttcg cctaagttat aagtgaatga 180

ggccaaagca tcgaattggt tttgattaag tggtactttc accaagcgat tgatagcatt 240
ttcaaatgcg accaagtcat tgcgaagata tccttctgct tgagactcag tgcatatatc 300
gccttttttg acacgcactc cattaggata tttaattgtt ccaaatccaa tggtccaaac 360
gcccacacca tcgtcatagg ctttcaaacg tttaccttca aagcctttga ttagattgat 420
tcctgagtta cttgttttca t 441

<210> 43
<211> 31
<212> PRT
<213> Acinetobacter baumannii
<400> 43

Asn Ala Lys Asp Tyr Lys Gly Ala Ala Ala Glu Phe Pro Lys Trp Asn

1 5 10 15

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

<210> 44
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Ex
<400> 44

Ser Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys

1 5

<210> 45

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> P307Ex

<400> 45

Asn Ala Lys Asp Tyr Lys Gly Ala Ala Ala Glu Phe Pro Lys Trp Asn

1 5 10 15

Lys Ala Gly Gly Arg Val Leu Ala Gly Leu Val Lys Arg Arg Lys Ser

20 25 30

Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys

35

<210> 46

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer

<400> 46

aattcggctc gag 13

<210> 47

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Primer

<400> 47

ccatgactcg agccgaatt 19

<210> 48

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide Extension

<400> 48

Ala Glu Met Leu Phe Leu Lys

1 5

<210> 49

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> P307AE-8

<400> 49

Asn Ala Lys Asp Tyr Lys Gly Ala Ala Ala Glu Phe Pro Lys Trp Asn

1 5 10 15

Lys Ala Gly Gly Arg Val Leu Ala Gly Leu Val Lys Arg Arg Lys Ala

20 25 30

Glu Met Glu Leu Phe Leu Lys

35

<210> 50

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide Extension

<400> 50

Cys Ser Gln Arg Gln Ser Glu Ser

1 5

<210> 51

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> P307CS-8

<400> 51

Asn Ala Lys Asp Tyr Lys Gly Ala Ala Ala Glu Phe Pro Lys Trp Asn

1 5 10 15

Lys Ala Gly Gly Arg Val Leu Ala Gly Leu Val Lys Arg Arg Lys Cys

20 25 30

Ser Gln Arg Gln Ser Glu Ser

35

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptide Extension

<400> 52

Ser Gln Ser Arg Glu Ser Gln Ala

1 5

<210> 53

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> P307SQ-8A

<400> 53

Asn Ala Lys Asp Tyr Lys Gly Ala Ala Ala Glu Phe Pro Lys Trp Asn

1 5 10 15

Lys Ala Gly Gly Arg Val Leu Ala Gly Leu Val Lys Arg Arg Lys Ser

20 25 30

Gln Ser Arg Glu Ser Gln Ala

35