



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0078092

(43) 공개일자 2013년07월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 7/00 (2006.01) *A01N* 63/02 (2006.01)

A01P 1/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0146852

(22) 출원일자 2011년12월30일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

한림대학교 산학협력단

강원도 춘천시 한림대학길 1, 한림대학교(옥천동)

(72) 발명자

임성렬

강원도 춘천시 옥천동 한림대학교 바이오메디컬학과

김일기

강원도 삼척시 적노길 179-33(적노동 118-2)

(74) 대리인

강성혜

전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 신규 박테리오파아지 Φ E p 14

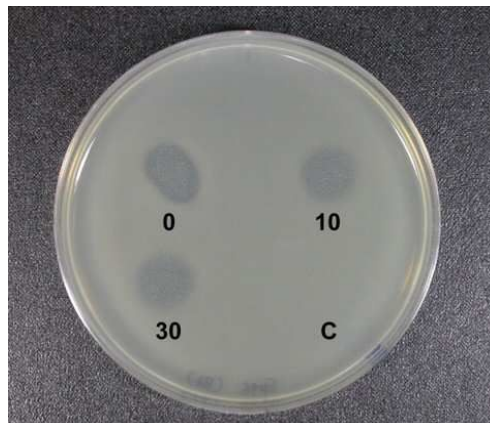
(57) 요약

본 발명자들은 배나무에 가지검은마름병을 일으키는 병원성 박테리아 에르위니아 피리폴리아 (*Erwinia pyrifoliae*)를 감염시키는 박테리오파지를 병든 배나무 조직, 나무 주변의 흙, 그리고 물로부터 분리하였다.

분리된 9개의 박테리오파아지는 투과전자현미경, 기주 범위, 게놈 한정 (genome restriction), DNA-DNA 혼성화 (hybridization) 기법을 이용하여 분석하였다. 전자현미경분석을 통해 박테리오파아지 Φ Ep14는 포도비리대 패밀리 (*Podoviridae* family)에 속하는 것으로 확인되었다. Φ Ep14는 넓은 기주 범위를 나타내었으며, *E. pyrifoliae*를 포함한 *E. amylovora*, *E. persicina*, *E. pisidii*, *Erwinia* sp., 그리고 *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* 균주들을 용해시켰다.

게놈 서열결정을 통해 Φ Ep14는 6,0714 bp 크기의 원형을 띠는 이중나선 게놈을 가졌고 64개의 ORF (Open Reading Frame)를 가지는 것으로 확인되었다. 64개 중의 20개의 ORF가 기능을 가질 것으로 분석되었다. 20개의 ORF는 DNA 패키징, 구조적 요소, 기주 세포 용균 시스템, 그리고 파아지 DNA의 조절, 복제, 변형과 관련된 단백질들을 암호화하는 것으로 분석되었다.

대표도 - 도29



특허청구의 범위

청구항 1

에르위니아 피리폴리아 (*Erwinia pyrifoliae*), 에르위니아 아밀로보라 (*E. amylovora*), 에르위니아 페르시치나 (*E. persicina*), 에르위니아 피시디 (*E. pisidii*), 에르위니아 속 (*Erwinia* sp.), 그리고 판토에아 스튜아티아속 스튜아티 (*Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*)에 대하여 용해능을 갖는 기탁번호 KACC 97010P의 박테리오파아지(Bacteriophage) Φ Ep14.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 박테리오파아지는 서열번호 1의 유전자 서열로 표시되는 유전체를 갖는 것을 특징으로 하는 박테리오파아지 Φ Ep14.

청구항 3

제1항의 박테리오파아지 Φ Ep14를 유효성분으로 포함하는, 아시아 배나무 가지검은마름병 (Asian pear blight) 또는 화상병 (fire blight)의 예방 또는 치료용 농약 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 농약 조성물은 수간주사 조성물, 생물제제 조성물, 비료 조성물, 영양 조성물, 식물 강화 조성물, 식물 보호 조성물, 토양 개량 조성물(soil conditioner composition) 또는 생산량 증가 조성물(yield enhancer composition)임을 특징으로 하는 농약 조성물.

청구항 5

세균의 세포벽을 분해하여 용균하는 활성을 갖는 박테리오파아지 Φ Ep14 엔도라이신과 트랜스멤브레인 도메인을 가지는 박테리오파아지 Φ Ep14 홀린을 함께 처리하여 그람 양성균 또는 그람 음성균을 용균하는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 엔도라이신은 서열번호 5의 아미노산 서열로 표시됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 홀린은 서열번호 19의 아미노산 서열로 표시됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

세균의 세포벽을 분해하여 용균하는 활성을 갖는 박테리오파아지 Φ Ep14 엔도라이신과 트랜스멤브레인 도메인을 가지는 박테리오파아지 Φ Ep14 홀린을 함유하는 아시아 배나무 가지검은마름병 (Asian pear blight) 또는 화상병 (fire blight)의 예방 또는 치료용 농약 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 농약 조성물은 수간주사 조성물, 생물제제 조성물, 비료 조성물, 영양 조성물, 식물 강화 조성물, 식물 보호 조성물, 토양 개량 조성물(soil conditioner composition) 또는 생산량 증가 조성물(yield enhancer composition)임을 특징으로 하는 농약 조성물.

청구항 10

세균의 세포벽을 분해하여 용균하는 활성을 갖는 박테리오파아지 Φ Ep14 엔도라이신과 트랜스멤브레인 도메인을 가지는 박테리오파아지 Φ Ep14 홀린, 박테리오파아지 Φ Ep14 Rz 및 박테리오파아지 Φ Ep14 Rz1을 함유하는 항균 제.

명세서

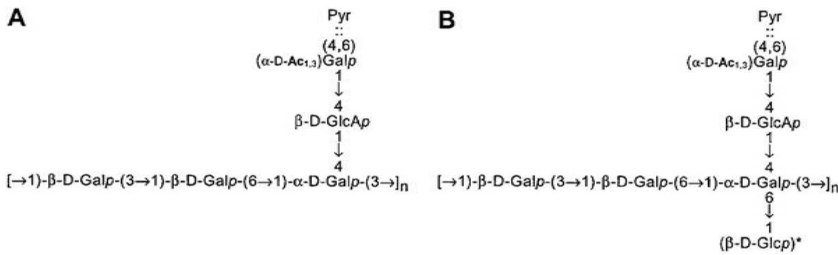
기술분야

- [0001] 본 발명은 배나무 가지검은마름병을 일으키는 병원성 박테리아 에르위니아 피리폴리아 (*Erwinia pyrifoliae*)를 감염시키는 박테리오파아지 Φ Ep14 및 이의 응용에 관한 것이다.

배경기술

- [0002] 배나무 가지검은마름병과 이의 원인균인 에르위니아 피리폴리아(*Erwinia pyrifoliae*)
- [0003] 에르위니아 피리폴리아(*E. pyrifoliae*)는 새로이 기술된 병원균이며, 가지검은마름병 병원균인 에르위니아 아밀로보라(*Erwinia amylovora*)와 밀접한 관련이 있다. 에르위니아 피리폴리아는 아시아 배나무 {피러스 피리폴리아(*Pyrus pyrifolia*)에 심각한 괴사병을 일으킨다. 1995년 춘천 인근 과수원에서 아시아 배 수종인 신고 잎의 중앙맥에 검거나 갈색의 줄무늬와 잎꼭지 괴사가 관찰되었다. 이러한 증상은 가지 전체로 확산되었고 꽃과 작은 과실들에게도 영향을 주어 과실 생산량이 현저히 감소하였다. 남한에서 가지검은마름병은 보고되지 않았다. 그 병원균은 95년부터 98년까지 지속적으로 분리되었다 (1995-1998; Rhim et al., 1999). 이 병원균을 분리해낸 배나무의 증상은 *E. 아밀로보라*에 의한 가지검은마름병과 유사하였지만, 미생물학적 및 생화학적 특징은 *E. 아밀로보라*와 구별되었다 (Rhim et al., 1999; Shrestha et al., 2003). 아시아 배 병원균 *E. 피리폴리아*는 16S 및 23S rDNA 사이의 유전자간 스페이서 부분의 뉴클레오타이드 서열 분석, DNA-DNA 혼성화(hybridization) 동력학 및 G+C 함량과 같은 분자 특징에 의해 새로운 종으로 분류되었다 (Kim et al., 1999).
- [0004] *E. 피리폴리아*의 기주 범위는 아시아 배와 몇몇 유럽 배로 한정되지만 (Kim et al., 2001b), *E. 아밀로보라*는 사과, 배뿐만 아니라 섬개야광나무 (cotoneaster), 산사나무 (hawthorn), 마르멜로 (quince), 라즈베리 (raspberry) 및 관상수도 감염시킨다 (van der Zwet and Keil, 1979). 1983년에 일본에서 에르위니아 (*Erwinia*) 종이 보고되었고, 일본 홋카이도의 과수원에서 아시아 배에 가지 시들음병을 유발하였으며, 이 병원 물질은 임시로 *E. amylovora* pv. *pyri* (Tanii, 1983), *E. amylovora* biovar 4 (Mizuno et al., 2000)로 부르다가 후에 가지마름병 병원균 *E. amylovora* (Beer et al., 1996; Kim et al., 1996)로 정해졌다. 그러나, 그 분자적 성질과 미생물학적 특성은 *E. amylovora*보다는 *E. pyrifoliae*에 더 가깝다. 펄스 필드 젤 전기영동 (pulsed-field gel electrophoresis; PFGE)으로 분석된 유전자 DNA, 엑소폴리사카라이드 합성을 위한 유전자 클러스터 부위 뉴클레오타이드 서열 분석, 총 단백질 패턴은 일본 에르위니아 종이 *E. 아밀로보라*보다는 *E. 피리폴리아*와 좀더 가까운 연관관계임을 나타낸다 (Kim et al., 2001a). *E. 피리폴리아*로부터 얻은 세 가지 플라스미드 pEP36, pEJ30 및 pEA29와 일본 에르위니아 종 및 *E. 아밀로보라* 각각의 서열 또한 일본 에르위니아 종이 *E. 피리폴리아*와 좀더 가까운 연관관계임을 나타낸다 (McGhee et al., 2002; Maxson-Stein et al., 2003). 최근의 연구도 일본 에르위니아 종이 *E. 아밀로보라*보다는 *E. 피리폴리아*와 좀더 가까움을 보여주고 있다 (Matsuura et al., 2007; Waleron et al., 2008; Thapa et al., 2010a).
- [0005] 엑소폴리사카라이드는 아시아 배 병원균 *E. 피리폴리아*의 주요 병원성 인자이다 (Kim et al., 2002). 이는 이온, 양분 및 물과의 결합, 식물 방어 메커니즘에 의한 병원균 인식으로부터 병원균 보호와 같은 다양한 역할을 수행한다. 캡슐이 씌워진 다당류 생산은 많은 그람 음성세균의 공통적인 특징이며 (Sutherland, 1985), 특히 식물 병원균의 특징이다 (Leigh et al., 1992). *E. 피리폴리아*에서, 엑소폴리사카라이드 생산 부위는 *E. 아밀로보라* 내의 *ams*와 같은 캡슐 다당류 (capsular polysaccharide; *cps*)로 나타낸다. *E. 피리폴리아*에서 얻은 엑소폴리사카라이드의 구조는 *E. 아밀로보라*에서 얻은 엑소폴리사카라이드 아밀로보란 (amylovoran)의 구조와 유사하다 (Kim et al., 2002). *E. 피리폴리아*에서 얻은 엑소폴리사카라이드의 반복 단위는 아밀로보란의 반복 단위

와 동일하다. 그러나, 중요한 차이점은 *E. 아밀로보라*의 엑소폴리사카라이드는 글루코스 잔기를 포함하는데 반해 *E. 피리폴리애*의 엑소폴리사카라이드는 그렇지 않다는 점이다. 양쪽 균의 엑소폴리사카라이드 결여 변이체는 모두 비병원성이다 (Bellemann and Geider, 1992; Bernhard et al., 1993; Kim et al., 2002; Steinberger and Beer, 1988).



[0006]

[0007]

위의 A는 *E. 피리폴리애*, B는 *E. 아밀로보라* 유래 엑소폴리사카라이드의 반복 단위의 구조를 나타낸다.

[0008]

몇몇 박테리오파아지는 세균 다당류를 분해할 수 있는 디폴리머레이즈 효소를 방출한다. 이 효소는 일부는 자유롭게 확산 가능한 단백질로 존재하고, 일부는 파아지 입자에 단단히 부착된 형태로 존재한다 (Adam and Park, 1956). 바이러스의 엑소폴리사카라이드-디폴리머레이즈는 *엔테로박터 아에로게네스* (Yurewicz et al., 1971), *E. 아밀로보라* (Hartung et al., 1988, Vandenberg et al., 1986), *클렙시엘라 아에로게네스* (*Klebsiella aerogenes*) (Sutherland, 1976), *슈도모나스 아에루기노사* (*Pseudomonas aeruginosa*) (Bartel et al., 1968), 및 *리조비움 트리폴리* (*Rhizobium trifolii*) (Higashi and Abe, 1978)를 포함하여 다양한 파아지에 감염된 그람 음성균에서 이미 밝혀진 바 있다. 디폴리머레이즈는 캡슐 엑소폴리사카라이드 (2차 수용체)에 결합하여 파아지가 세포 표면에 도달할 때까지 폴리머를 분해하고, 외부 막 수용체 (1차 수용체)에 결합하여 세균을 감염시키고 용혈 상태 (lytic state) 또는 용원 상태 (lysogenic state)로 존재한다 (Lindberg, 1977). *E. 아밀로보라*를 배양한 론 상에서 EPS 분해로 바퀴모양을 형성하는 *E. 콜라이* 세포를 스크리닝하여 *E. 아밀로보라* 파아지 Φ Ealh로부터 EPS-디폴리머레이즈를 발현하는 3.3 kb DNA 조각을 분리하였고 (Hartung et al., 1988), 서열 결정하였다 (Kim and Geider, 2000). 그 아미노산 서열은 몇몇 관련 있는 박테리오파아지에서 매우 보존적이었다. Φ Ealh 유래 EPS-디폴리머레이즈 유전자를 클론하여 세균에서 발현시켰다. 효소는 *E. 피리폴리애*의 엑소폴리사카라이드(EPS)를 분해하였다 (Kim and Geider, 2000; Kim et al., 2002).

[0009]

박테리오파아지

[0010]

박테리오파아지는 세균 세포를 감염시키는 바이러스이다. 이들은 전형적으로 매우 특이적이며, 종종 단일 세균 종에 속하는 특정 균주를 감염시키는 것으로 한정된다. 그러나, 어떤 박테리오파아지는 비교적 기주 범위가 넓어서 같은 속에 해당하는 다양한 종을 감염시키거나 심지어는 정상 기주와 밀접하게 관련 있는 다른 속의 세균을 감염시킬 수도 있다. 파아지는 세균의 기생생물이다 (Monk et al. 2010). 바이러스와 마찬가지로, 파아지는 자신의 물질대사 체계를 갖고 있지 않으며, 라이프 사이클을 완성하기 위해 기주의 대사물질에 의존해야 한다. 파아지는 단백질 외피로 싸인 단일 또는 이중 가닥 DNA 또는 RNA로 이루어진 게놈으로 구성된다.

[0011]

박테리오파아지는 각각 1915년 및 1917년에 Fredrick Twort 및 Felix d'Herelle에 의해 독립적으로 발견되었다. 파아지는 주로 세균 기주가 실험실 내에서 잘 성장하고 파아지에 의해 쉽게 감염되기 때문에 세균 유전학과 세포 조절 메커니즘 연구에 자주 이용되어 왔다. 파아지는 또한 거의 한 세기 동안 세균에 의한 질병을 구제하기 위한 항미생물제로 이용되어 왔지만, 항생제가 도입되면서 파아지 사용은 감소해왔다. 항생제 내성 세균의 출현으로 인해 파아지 치료법은 의학, 식품 및 농업 분야에서 다시 주목받고 있다 (Balogh et al., 2010; Mahony et al., 2011; Maura and Debarbieux, 2011; Thiel, 2004).

[0012]

지구상에는 약 10^{31} 개의 파아지가 있는 것으로 추정되며, 지난 세기말까지 약 5,100개의 파아지가 확인되고 보고되었다 (Ackermann, 2001). 파아지는 핵산 타입, 형태학적 특징 및 외피 또는 지방의 존재 유무에 따라 13개의 패밀리로 분류된다. 대부분의 박테리오파아지 (약 96%)는 카우도바이랄스 (*Caudovirales*)로 분류되는데, 이 파아지는 대형 캡시드와 이중사슬 DNA를 가지는 꼬리 달린 파아지이며, 꼬리의 형태학적 특징에 따라 세 가지 패밀리로 분류된다: 미오비리대 (*Myoviridae*)는 수축성 꼬리를 가지며, 시포비리대 (*Siphoviridae*)는 종종 유연한 긴 비수축성 꼬리를 가지고, 포도비리대 (*Podoviridae*)는 매우 짧은 꼬리가 특징이다. 나머지 파아지들은 정방

형, 필라멘트형 또는 다형태성이며, 몇몇 타입은 외피에 지방이 함유되어 있다.

[0013] 박테리오파아지가 기주 세포에 접합하면 바이러스 게놈이 세포 내로 들어가 단백질과 결합하며, 바이러스 게놈은 새로운 후손 비리온 생산을 조절한다. 일반적으로 박테리오파아지에는 바이러스성 파아지와 잠재성 파아지의 두 종류 타입이 있다. 바이러스성 파아지는 용균 라이프 사이클에서만 번식할 수 있고, 이때 기주 세포는 파괴된다. 잠재성 파아지는 부가적으로 용원성 라이프 사이클(lysogenic life cycle)로 스위치를 돌릴 수 있고, 이때 파아지 게놈은 기주 게놈에 통합되어 복제된다.

[0014] 가지검은마름병 병원균 E. 아밀로보라의 박테리오파아지

[0015] E. 아밀로보라의 첫 번째 박테리오파아지는 1970년대에 밝혀졌다 (Erskine, 1973; Ritchie and Klos, 1979). 이후 계속하여 E. 아밀로보라 감염성 파아지들이 분리되고 플라크 형성, 기주 범위 분석, 전자 현미경, 제한효소 분해조각 길이 다형성 (restriction fragment length polymorphism; RFLP) 및 PCR에 기반하여 다른 서브타입으로 분류되었다 (Gill et al., 2003; Schnabel and Jones, 2001). E. 아밀로보라로부터 최근 박테리오파아지들이 분리되었지만 (Born et al., 2011; Muller et al., 2011), E. 피리폴리아로부터 분리된 파아지는 없었다. E. 아밀로보라 파아지들의 몇몇 게놈 서열들이 알려졌지만, 서열이 알려진 E. 피리폴리아 파아지는 없었다.

[0016] 아시아 배나무는 한국에서 경제적으로 가장 중요한 수종 중 하나이다. E. 피리폴리아는 아시아 배나무에 가지시들음병(shoot blight)을 일으킨다. 이 병증은 과실 생산 손실로 이어진다. 이러한 질병의 제어를 위해 스트렙토마이신 및 옥시테트라사이클린 같은 항생제가 사용되어 왔다. 가지검은마름병 병원균인 E. 아밀로보라를 제어하기 위해 박테리오파아지가 최근 평가되고 있다. 그러나, E. 피리폴리아를 감염시키는 파아지는 병증이 있는 배나무에서 분리된 적이 없었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0017] 따라서, 본 발명은 가지검은마름병에 감염된 아시아 배나무에 조직, 주변의 흙, 물로부터 병원균인 E. 피리폴리아를 감염시키는 파아지를 분리하여 배나무의 가지검은마름병 치료제로 이용하려는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0018] 본 발명자들은 배나무에 가지검은마름병을 일으키는 병원성 박테리아 에르위니아 피리폴리아 (*Erwinia pyrifoliae*)를 감염시키는 박테리오파아지를 병든 배나무 조직, 나무 주변의 흙, 그리고 물로부터 분리하였다.

[0019] 분리된 9개의 박테리오파아지는 투과전자현미경, 기주 범위, 게놈 한정 (genome restriction), DNA-DNA 혼성화 (hybridization) 기법을 이용하여 분석하였다.

[0020] 전자현미경분석을 통해 박테리오파아지 ΦEp14는 포도비리대 패밀리 (*Podoviridae* family)에 속하는 것으로 확인되었다. ΦEp14는 넓은 기주 범위를 나타내었으며, *E. pyrifoliae*를 포함한 *E. amylovora*, *E. persicina*, *E. pisidii*, *Erwinia* sp., 그리고 *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* 균주들을 용해시켰다.

[0021] 게놈 서열결정을 통해 ΦEp14는 6,0714 bp 크기의 원형을 띠는 이중나선 게놈을 가졌고 64개의 ORF (Open Reading Frame)를 가지는 것으로 확인되었다. 64개 중의 20개의 ORF가 기능을 가질 것으로 분석되었다. 20개의 ORF는 DNA 패키징, 구조적 요소, 기주 세포 용균 시스템, 그리고 파아지 DNA의 조절, 복제, 변형과 관련된 단백질들을 암호화하는 것으로 분석되었다.

[0022] *E. pyrifoliae*와 *P. stewartii* subsp. *stewartii* 균주 내에서 박테리오파아지 ΦEp14 디폴리머레이즈 (ORF16) 유전자의 발현은 두 균주의 엑소폴리사카라이드의 생성을 억제하였다. 박테리오파아지 ΦEp14의 용균 카세트는 엔도라이신, 홀린, Rz, 그리고 Rz1 단백질을 암호화한다. 엔도라이신 (ORF28)은 *E. pyrifoliae*, *Bacillus polyfermenticus*, *Micrococcus lysodeikticus*의 세포벽을 분해하였지만, 살아있는 *E. pyrifoliae*에는 활성을 보이지 않았다. 홀린 (Holin; ORF29)은 하나의 트랜스메μβ레인 도메인 (transmembrane domain; TMD)을 가지고

있고, 대장균에서 발현시 대장균의 성장을 억제하는 것을 확인할 수 있었다. Rz1 단백질 (ORF31)은 하나의 TMD와 C-말단에 고하전된 친수성 부분 (highly charged hydrophilic region)을 가지고 있다. 대장균에서 Rz 유전자의 발현은 대장균의 성장을 억제하였다. 활성을 지니는 Rz 단백질의 생산을 위해서는 카나마이신 저항성 유전자와 카나마이신이 반드시 필요한 것으로 확인되었다. 자연상태 (Native)와 변성된 상태 (denatured) Rz 단백질은 대부분의 세균에 대해 활성 (성장억제)을 보이는 것으로 나타났지만, 카나마이신 저항성 유전자를 지니는 세균에 대해서는 활성을 나타내지 않았다. 대장균에서 Rz1 유전자의 발현은 대장균의 성장에 영향을 미치지 않았다. 덧붙여, Rz1 단백질 (ORF32)도 Rz 단백질과 거의 동일한 특성을 보였다.

[0023] 본 발명은 에르위니아 피리폴리아 (*Erwinia pyrifoliae*), 에르위니아 아밀로보라 (*E. amylovora*), 에르위니아 페르시치나 (*E. persicina*), 에르위니아 피시디 (*E. pisidii*), 에르위니아 속 (*Erwinia* sp.), 그리고 판토에아 스텐아티 아속 스텐아티 (*Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*)에 대하여 용해능을 갖는 기탁번호 KACC 97010P(2011.11.29. 기탁)의 박테리오파아지(Bacteriophage) Φ Ep14에 관한 것이다.

[0024] 또한, 본 발명은 상기 박테리오파아지가 서열번호 1의 유전자 서열로 표시되는 유전체를 갖는 것을 특징으로 한다.

[0025] 또한, 본 발명은 기탁번호 KACC 97010P의 박테리오파아지(Bacteriophage) Φ Ep14를 에르위니아 피리폴리아 (*Erwinia pyrifoliae*), 에르위니아 아밀로보라 (*E. amylovora*), 에르위니아 페르시치나 (*E. persicina*), 에르위니아 피시디 (*E. pisidii*), 에르위니아 속 (*Erwinia* sp.) 또는 판토에아 스텐아티 아속 스텐아티 (*Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*)의 세균과 함께 배양하여 세균을 용균하는 방법에 관한 것이다.

[0026] 또한, 본 발명은 박테리오파아지 Φ Ep14를 유효성분으로 포함하는, 아시아 배나무 가지검은마름병 (Asian pear blight) 또는 화상병 (fire blight)의 예방 또는 치료용 농약 조성물에 관한 것이다.

[0027] 또한, 본 발명은 상기 농약 조성물이 수간주사 조성물, 생물제제 조성물, 비료 조성물, 영양 조성물, 식물 강화 조성물, 식물 보호 조성물, 토양 개량 조성물(soil conditioner composition) 또는 생산량 증가 조성물(yield enhancer composition)임을 특징으로 한다.

[0028] 또한, 본 발명은 세균의 세포벽을 분해하여 용균하는 활성을 갖는 박테리오파아지 Φ Ep14 엔도라이신과 트랜스 멤브레인 도메인을 가지는 박테리오파아지 Φ Ep14 홀린을 함께 처리하여 그램 양성균 또는 그램 음성균을 용균하는 방법에 관한 것이다.

[0029] 또한, 본 발명은 상기 엔도라이신이 서열번호 5의 아미노산 서열로 표시됨을 특징으로 한다.

[0030] 또한, 본 발명은 상기 홀린이 서열번호 19의 아미노산 서열로 표시됨을 특징으로 한다.

[0031] 또한, 본 발명은 세균의 세포벽을 분해하여 용균하는 활성을 갖는 박테리오파아지 Φ Ep14 엔도라이신과 트랜스 멤브레인 도메인을 가지는 박테리오파아지 Φ Ep14 홀린을 함유하는 아시아 배나무 가지검은마름병 (Asian pear blight) 또는 화상병 (fire blight)의 예방 또는 치료용 농약 조성물에 관한 것이다.

[0032] 상기 농약 조성물은 수간주사 조성물, 생물제제 조성물, 비료 조성물, 영양 조성물, 식물 강화 조성물, 식물 보호 조성물, 토양 개량 조성물(soil conditioner composition) 또는 생산량 증가 조성물(yield enhancer composition)임을 특징으로 한다.

[0033] 또한, 본 발명은 세균의 세포벽을 분해하여 용균하는 활성을 갖는 박테리오파아지 Φ Ep14 엔도라이신과 트랜스 멤브레인 도메인을 가지는 박테리오파아지 Φ Ep14 홀린, 박테리오파아지 Φ Ep14 Rz 및 박테리오파아지 Φ Ep14 Rz1을 함유하는 항균제에 관한 것이다. 항균제 조성물은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자들에게 알려져 있는 조성에 위의 네 가지 단백질을 가하여 제조한다.

[0034] 일 구체예에 따르면, 농약 조성물은 비료 조성물, 영양 조성물, 식물 강화 조성물, 식물 보호 조성물, 토양 개량 조성물(soil conditioner composition) 및 생산량 증가 조성물(yield enhancer composition) 중 하나 이상으로 사용된다.

[0035] 일 구체예에 따르면, 농약 조성물은 수화제(wettable powder), 입상 수화제(water dispersible granule), 분체(dusting powder), 액상 수화제(suspension concentrate), 유제(emulsifiable concentrate), 정제(tablet),

액제(liquid) 및 오일 현탁제(oil suspension) 중 하나 이상을 포함하는 군으로부터 선택되는 제형으로 제제화된다. 일 구체예에 따르면, 농약 조성물은 입상 수화제 조성물이다.

[0036] 일 구체예에 따르면, 본 발명은 또한 주로 식물의 기부(basal) 및 또한 식물의 잎 부분에 농약 조성물을 시용함으로써 식물을 처리하는 방법에 관한 것이다.

[0037] 일 구체예에 따르면, 하나 이상의 분산제는 w/w(dry weight by weight basis)로 약 2% 내지 약 60%의 범위로 있을 수 있다. Rhone Poulenc, Witco, Westvaco, International Speciality products, Croda chemicals, Borregaard, BASF, Rhodia, 등에서 판매되는 분산제와 같은, 다양한 분산제가 농약 조성물에 사용하기 위해 상업적으로 입수가 가능하다. 일 구체예에 따르면, 농약 조성물에 사용될 수 있는 분산제는 폴리비닐피롤리돈, 폴리비닐알코올, 리그노설포네이트, 페닐 나프탈렌 설포네이트, 에톡시화(ethoxylated) 알킬 페놀, 에톡시화지방산, 알콕시화 선형 알코올, 환방향족(polyaromatic) 설포네이트, 소듐 알킬 아릴 설포네이트, 글리세릴 에스테르, 말레산 무수물 공중합체, 포스페이트 에스테르, 아릴 술폰산과 포름알데히드의 축합반응 생성물, 알킬아릴 술폰산과 포름알데히드의 축합반응 생성물, 에틸렌 옥시드와 지방산 에스테르의 첨가 반응 생성물, 에틸렌 옥시드와 지방산 에스테르의 첨가 반응 생성물의 염, 축합된(condensed) 나프탈렌의 설포네이트, 에틸렌 옥시드와 지방산 에스테르의 첨가 반응 생성물, 에틸렌 옥시드와 지방산 에스테르의 첨가 반응 생성물의 염, 리그닌 유도체, 나프탈렌 포름알데히드 축합물, 이소테실술포숙신산 하프 에스테르(half ester)의 소듐 염, 폴리카르복실레이트, 소듐 알킬벤젠설포네이트, 설폰화 나프탈렌의 소듐 염, 설폰화 나프탈렌의 암모늄 염, 폴리아크릴산의 염, 페놀설폰산의 염, 및 나프탈렌 설폰산의 염을 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다. 그러나, 당해 분야의 당업자는 본 발명 청구항의 범위를 벗어나지 않는다면 당해 분야에서 알려진 다른 분산제를 사용하는 것이 가능하다는 점을 이해할 것이다.

[0038] 일 구체예에 따르면, 본 발명의 박테리오파지 ϕ Ep14와 하나 이상의 분산제의 퍼센트 부(percent part)의 총수는 건조(w/w)에 기초할 때 100을 초과하지 않는다.

[0039] 일 구체예에 따르면, 농약 조성물은 습윤제, 결합제, 충전제(filler) 및 유기 첨가제 중 하나 이상을 추가로 포함할 수 있다. 일 구체예에 따르면, 습윤제는 약 0.1% 내지 약 5% 범위에 있을 수 있다. 일 구체예에 따르면, 농약 조성물에 사용될 수 있는 습윤제는 페닐 나프탈렌 설포네이트, 알킬 나프탈렌 설포네이트, 소듐 알킬 나프탈렌 설포네이트, 설폰화 알킬카르복실레이트의 소듐 염, 폴리옥시알킬화 에틸 페놀, 폴리옥시에톡시화(polyoxyethoxylated) 지방성 알코올, 폴리옥시에톡시화 지방성 아민, 리그닌 유도체, 알칸 설포네이트, 알킬벤젠 설포네이트, 폴리카르복시산의 염, 설포숙신산의 에스테르의 염, 알킬나프탈렌설포네이트, 알킬벤젠설포네이트, 알킬폴리글리콜 에테르 설포네이트, 알킬 에테르 포스페이트, 알킬 에테르 술페이트 및 알킬 설포숙신산 모노에스테르를 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다. 그러나, 당해 분야의 당업자는 본 발명의 청구항의 범위를 벗어나지 않는다면 당해 분야에서 알려진 다른 습윤제를 사용하는 것이 가능하다는 점을 이해할 것이다.

[0040] 일 구체예에 따르면, 결합제는 약 0.1% 내지 약 7%의 범위에 있을 수 있다. 일 구체예에 따르면, 농약 조성물에 사용될 수 있는 결합제는 폴리비닐 알코올, 페닐 나프탈렌 설포네이트, 리그닌 유도체, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리알킬피롤리돈, 카르복시메틸셀룰로오스, 크산탄 검, 폴리에톡시화 지방산, 폴리에톡시화 지방성 알코올, 에틸렌 옥시드 공중합체, 프로필렌 옥시드 공중합체, 폴리에틸렌 글리콜 및 폴리에틸렌 옥시드를 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다. 그러나, 당해 분야의 당업자는 본 발명의 청구항의 범위를 벗어나지 않는다면 당해 분야에서 알려진 다른 결합제를 사용하는 것이 가능하다는 점을 이해할 것이다.

[0041] 일 구체예에 따르면, 충전제는 약 0.1% 내지 약 10%의 범위에 있을 수 있다. 일 구체예에 따르면, 충전제는 벤토나이트, 서브-벤토나이트(sub-bentonite), 아타풀자이트(attapulgite), 카올리나이트(kaolinite), 몬모릴로나이트, 보크사이트, 수화된 알루미늄(hydrated alumina), 하소된(calcined) 알루미늄, 규조토(diatomaceous earth), 백악(chalk), 백토(fuller's earth), 돌로마이트, 규조토(kieselguhr), 황토(loess), 프로필리트(prophyllite), 탈크(talc), 버미큘라이트(vermiculite), 석회암(limestone), 천연 및 합성 실리케이트(silicate), 실리카(silica) 및 고령토(china clay)를 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다. 그러나, 당해 분야의 당업자는 본 발명의 청구항의 범위를 벗어나지 않는다면 당해 분야에서 알려진 다른 충전제를 사용하는 것이 가능하다는 점을 이해할 것이다.

[0042] 일 구체예에 따르면, 농업 용도 조성물에 사용되는 유기 첨가제는 약 0.01% 내지 약 50%의 범위에 있을 수 있다. 일 구체예에 따르면, 유기 첨가제는 다량 영양소(macronutrient), 미량 영양소 퇴비 비료(micronutrient compost fertilizer), 천연 원소(natural element), 천연 유기체(natural organism), 트리코데르마(trichoderma), 부식산(humic acid) 추출물, 바실러스 투링지엔시스(bacillus thuringiensis), 바이러스, 천연

곰팡이, 식물 추출물, 제충국, 생물학적 제어 산물(biological control product), 천연 오일, 천연 추출물, 광물 및 요소 군을 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다. 미량 영양소는 아연, 철, 망간, 구리, 보론, 코발트, 바나듐, 셀레늄, 실리콘 및 니켈로부터 선택될 수 있다. 대량 영양소는 질소, 인, 칼륨, 칼슘 및 마그네슘을 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다. 그러나, 당해 분야의 당업자는 본 발명의 청구항의 범위를 벗어나지 않는다면 당해 분야에서 알려진 다른 유기 첨가제를 사용하는 것이 가능하다는 점을 이해할 것이다.

[0043] 일 구체예에 따르면, 농약 조성물은 수화제, 분제, 입상 수화제, 액상 수화제, 유제, 정제, 펠렛, 액제 및 오일 현탁제를 포함하는 군으로부터 선택되는 제형으로 제제화될 수 있다. 일 구체예에 따르면, 농약 조성물은 입상 수화제로 제제화될 수 있다. 일 구체예에 따르면, 입상 수화제는 약 0.1mm 내지 약 2.5mm의 크기 범위에 있다. 입상 수화제는 입자를 포함할 수 있다. 입자는 약 1 미크론 내지 약 12 미크론의 크기 범위에 있을 수 있다. 그러나, 당해 분야의 당업자는 본 발명의 청구항의 범위를 벗어나지 않는다면 당해 분야에서 알려진 다른 제형으로 농약 조성물을 제제화하는 것이 가능하다는 점을 이해할 것이다.

[0044] 일 구체예에 따르면, 농약 조성물은 비료 조성물, 영양 조성물, 식물 강화 조성물, 식물 보호 조성물, 토양 개량 조성물 및 생산량 증가 조성물 중 하나 이상으로 사용될 수 있다. 그러나, 당해 분야의 당업자는 본 발명의 청구항의 범위를 벗어나지 않는다면 당해 분야에서 알려진 다른 제형으로 농약 조성물을 제제화하는 것이 가능하다는 점을 이해할 것이다.

[0045] 일 구체예에 따르면, 농약 조성물을 제조하는 방법이 개시되어 있다. 상기 방법은 혼합용 탱크에서 유효량의 물과 함께, 하나 이상의 분산제와 본 발명의 박테리오파아지 Φ Ep14를 처음에 혼합하는 단계를 포함한다. 박테리오파아지 Φ Ep14와 하나 이상의 분산제는 건조된 분말 제형으로 될 수 있다. 탱크에서 혼합하는 단계는 성질상 매우 균일한 슬러리를 제공한다. 통상적으로, 슬러리는 전체 슬러리 중 약 25% 내지 약 55%로 변화할 수 있는 물을 포함한다. 일 구체예에 따르면, 혼합하는 단계는 상기 혼합용 탱크에 건조 분말 형태의 습윤제, 결합제, 충전제 및 유기 첨가제 중 하나 이상을 첨가하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 그런 다음, 슬러리는 적절한 습식 분쇄 장치에서 처리되고, 상기 분쇄 장치에서 입자 크기는 약 1 미크론 내지 약 12 미크론의 범위로 떨어지게 된다. 분쇄 이후에 생성된 슬러리는 필요하다면, 임의의 더 큰 입자를 위해 체로 걸러질 수 있다. 일 구체예에 따르면, 슬러리는 적절한 분무건조 장치에서 건조와 응집화 처리되어, 농약 조성물을 제공하게 된다.

[0046] 일 구체예에 따르면, 식물을 처리하는 방법은 약 0.1% 내지 약 10%(w/w) 범위의 박테리오파아지 Φ Ep14와 약 90% 내지 약 99.9% 범위의 하나 이상의 분산제를 포함할 수 있는 농약 조성물의 유효량을 식물의 기부 및 식물의 잎 부분에 사용하는 단계를 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0047] 본 발명의 신규 박테리오파아지 Φ Ep14를 이용하면 아시아 배나무에 가지검은마름병을 일으키는 에르위니아 피리폴리아에를 용해시켜 가지검은마름병의 예방 또는 치료용으로 이용할 수 있다.

[0048] 또한, 본 발명에 따르면 신규 박테리오파아지 Φ Ep14의 유전자 서열 중 ORF16 디폴리머레이즈 유전자를 발현하면 에르위니아 피리폴리아 및 판토에아 스튜아티 아속 스튜아티의 엑소폴리사카라이드 생성을 억제하여 이들의 병원성을 제어할 수 있다.

[0049] 또한, 본 발명에 따르면 신규 박테리오파아지 Φ Ep14의 유전자 서열 중 ORF28 엔도라이신 유전자를 발현하면 에르위니아 피리폴리아, 바실러스 폴리퍼멘티쿠스 및 마이크로코커스 라이소테익티커스의 세포벽을 분해시켜 이들 세균의 병원성을 제어할 수 있다.

[0050] 또한, 본 발명에 따르면 신규 박테리오파아지 Φ Ep14의 유전자 서열 중 ORF29 홀린 유전자를 E. 콜라이 내에서 발현하면 E. 콜라이 성장을 억제할 수 있다.

[0051] 또한, 본 발명에 따르면 신규 박테리오파아지 Φ Ep14의 유전자 서열 중 Rz 유전자를 E. 콜라이 내에서 발현하면 E. 콜라이 성장을 억제할 수 있다. 이때 Rz 유전자의 발현시에는 카나마이신 저항성 유전자와 카나마이신을 함께 처리한다.

도면의 간단한 설명

[0052] 도 1은 E. 피리폴리아 균주 Ep16/96 론 상에 파아지에 의해 형성된 플라크이다. a, Φ Ep3; b, Φ Ep4; c, Φ

Ep5; d, ϕ Ep6; e, ϕ Ep10-1; f, ϕ Ep11; g, ϕ Ep12; h, ϕ Ep13; i, ϕ Ep14.

도 2는 E. 피리폴리에 균주 Ep16/96 론 상에 박테리오파아지의 스팟 시험결과이다. 1, ϕ Ep3; 2, ϕ Ep4; 3, ϕ Ep5; 4, ϕ Ep6; 5, ϕ Ep10-1; 6, ϕ Ep11; 7, ϕ Ep12; 8, ϕ Ep13; 9, ϕ Ep14.

도 3은 E. 피리폴리에 박테리오파아지의 전자현미경 사진이다. 1, ϕ Ep4; 2, ϕ Ep6; 3, ϕ Ep11; 4, ϕ Ep12; 5, ϕ Ep13; 6, ϕ Ep14.

^a 배율은 x 50,000이고 막대 길이는 150 nm이다.

^b 배율은 x 85,000이고 막대 길이는 90 nm이다.

도 4는 파아지 DNA의 *KpnI* 제한효소 프로파일을 비교한 것이다. 레인 M, 1 kb+ DNA ladder (Solgent).

도 5는 파아지 DNA의 제한효소 절단결과 및 서던 혼성화 분석결과이다.(A) *KpnI*으로 절단한 파아지 게놈 DNA를 함유하는 EtBr 염색 젤: 해당 파아지 DNA 탐침은 양측에서 지시된다. 레인 M, 1 kb+ DNA ladder (Solgent).

도 6은 ϕ Ep14 게놈을 제한효소 절단 분석한 결과이다. 레인 1, *Asc I*; 2, *PfIMI*; 3, *Asc I*과 *PfIMI*; 4, 절단 안함; M, 1 kb+ DNA ladder (Solgent).

도 7은 파아지 ϕ Ep14 게놈 지도이다. 전사 방향은 화살표로 표시하였다. 모듈은 다음과 같다: 파아지 패키징, 황색; 조절, 흑색; 구조, 청색; 복제 및 대사, 핑크; 세포 용해, 적색; 통합, 하늘색. 선택된 유전자는 다음을 지시한다; 셀룰레이즈, 갈색; 엑소폴리사카라이드-디폴리머레이즈, 녹색; 기타, 회색.

도 8 (A)는 TMpred 프로그램을 이용하여 예측한 ϕ Ep14 홀린 (ORF29)의 트랜스멤브레인 부분이다. i $\rightarrow$ o 및 o $\rightarrow$ i는 각각 안쪽 $\rightarrow$ 바깥쪽 나선 및 바깥쪽 $\rightarrow$ 안쪽 나선을 나타낸다. (B) 홀린의 아미노산 서열이다. 트랜스멤브레인 도메인은 밑줄로 표시되어 있다 (10-29). 하전된 아미노산은 양 및 음 기호로 각각 표시되어 있다.

도 9 (A)는 TMpred 프로그램을 이용하여 예측한 예상 ϕ Ep14 홀린1 (ORF30)의 트랜스멤브레인 부분이다. i $\rightarrow$ o 및 o $\rightarrow$ i는 각각 안쪽 $\rightarrow$ 바깥쪽 나선 및 바깥쪽 $\rightarrow$ 안쪽 나선을 나타낸다. (B) 예상 홀린1의 아미노산 서열. 트랜스멤브레인 도메인은 밑줄로 표시되어 있다 (22-40). 하전된 아미노산은 양 및 음 기호로 각각 표시되어 있다.

도 10 (A)는 Rz 단백질의 트랜스멤브레인 부분을 예측한 것이다. i $\rightarrow$ o 및 o $\rightarrow$ i는 각각 안쪽 $\rightarrow$ 바깥쪽 나선 및 바깥쪽 $\rightarrow$ 안쪽 나선을 나타낸다. (B) Rz 단백질의 아미노산 서열. 트랜스멤브레인 도메인은 밑줄로 표시되어 있다 (10-29). 하전된 아미노산은 양 및 음 기호로 각각 표시되어 있다.

도 11은 ϕ Ep14 Rz-Rz1 유전자 (ORF31 및 ORF32)의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열이다. Rz1 유전자는 Rz 유전자에 완전히 포함되어 있고, 다른 리딩 프레임 (+1)이 있다. 두 유전자로부터 추론되는 아미노산 서열이 뉴클레오타이드 서열 아래 표시되어 있다.

도 12는 각각 (A) pUC18, (B) pCel15F1 및 (C) pCel15F1R가 하보링된 E. 콜라이 JM109에 대한 카복시메틸 셀룰로오스 플레이트 분석 결과이다. 세균 콜로니는 100 μ g/ml의 앰피실린을 함유한 1% CMC 플레이트에서 24시간 동안 37 $^{\circ}$ C로 배양하였다. 플레이트는 0.1% 콩고 레드로 염색한 후 1 M NaCl로 탈색하였다.

도 13a 내지 도 13c는 순서대로 연속되는 도면이며, 바이러스 엑소폴리사카라이드-디폴리머레이즈로 ORF16 (ϕ Ep14_dpo)의 아미노산 서열을 배열한 것이다. 동일한 아미노산 서열은 서열 아래에 작은 박스로 표시하였다. ϕ Ep14_dpo; ϕ EB_EamP-L1_dpo, accession no. AEJ81510; ϕ EIMelight_dpo, accession no. CBW54806; ϕ Ealh_dpo, accession no. CAC17009; ϕ Ea100_dpo, accession no. CBX45113; ϕ Era103_dpo, accession no. YP_001039683.

도 14는 E. 피리폴리에 균주 Ep16/96의 GFP 유전자를 발현시킨 사진이다. 형질변환된 세포는 형광현미경 하에서 잘 관찰되었다.

도 15는 E. 피리폴리에 균주 Ep16/96 (pUC18) (A), Ep16/96 (pUC18-Dpo16F) (B), 및 Ep16/96 (pUC19-Dpo16F)의 콜로니 형태이다. 각 균주는 4일간 1% 글루코스 함유 NA 플레이트 상에서 배양하였다.

도 16은 CPG 한천 플레이트 상에서 판토에아 스투아티 아속 스투아티 (*Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*) KACC10085 균주 (pBGS18) 및 (pBGS18-Dpo16F)의 엑소폴리사카라이드 생산을 나타낸다. 플레이트는 4일간 28 $^{\circ}$ C로 배양하였다.

도 17은 E. 콜라이 M15(pREP4) 내에서 발현된 Φ Ep14 엔도라이신을 SDS-PAGE 한 것이다. 레인 1, 1 mM IPTG로 0 ~ 4시간 유도한 후 E. 콜라이 M15(pREP4, pQE30) 총 단백질 추출물; 2-6, E. 콜라이 M15(pREP4, pLys28) 총 단백질 추출물; M, 단백질 크기 마커 (Elpisbio).

도 18은 파아지 Φ Ep14 엔도라이신을 자이모그램 분석한 것이다. E. 콜라이 M15(pREP4, pQE30)의 세포 용해물 (레인 1, 3, 5) 및 E. 콜라이 M15(pREP4, pLys28)의 세포 용해물 (레인 2, 4, 6)을 0.2% E. 피리폴리에 Ep16/96이 없는 상태 (레인 1, 2) 및 있는 상태 (레인 3, 4) 또는 0.2% *B. polyfermenticus* SCD가 있는 상태 (레인 5, 6)로 12% SDS-아크릴아마이드 젤 상에서 분해하였다. 효소 활성은 청색 바탕에 선명한 띠로 보이며, 화살표로 나타내었다. M은 단백질 크기 마커이다.

도 19는 파아지 Φ Ep14 엔도라이신의 류라미데이즈 활성을 나타낸다. 0.2% *M. 라이소데익티커스* 및 1% 아가로스를 함유한 혼합물 (20 ml)을 90 mm 페트리 디쉬에 부었다. 한천 상에 지름 5 mm의 홀을 형성하였다. E. 콜라이 M15(pREP4, pLys28) 세포 추출물 (A) 및 M15(pREP4, pQE30) (B)를 홀에 가하였다. 플레이트는 오버나이트로 28 °C에서 배양하였다.

도 20은 Φ Ep14 엔도라이신의 성장 저해 분석 결과이다. 유도된 E. 콜라이 세포의 용해물을 E. 피리폴리에 Ep16/96 론 상에 스팟팅하였다. (A) M15(pREP4, pQE30) 용해물, (B) M15(pREP4, pLys28) 용해물.

도 21은 E. 콜라이 내에서 Φ Ep14 Rz 유전자 발현을 나타낸다. E. 콜라이 M15(pREP4, pQE30) (실선) 또는 M15(pREP4, pQE30-Rz) (점선) 배양액은 OD 0.5 (600 nm)가 될 때까지 37 °C로 배양하였다. ●, IPTG로 유도한 것 (최종 농도 1 mM). □, IPTG로 유도하지 않은 것.

도 22는 E. 피리폴리에 Ep16/96 지시자 론 상에서 파아지 Φ Ep14 Rz 단백질의 활성을 나타낸다. (A) 앰피실린과 카나마이신이 함유된 LB 배지에서 E. 콜라이 M15(pREP4, pQE30) 세포 추출물; (B) 앰피실린이 함유된 배지에서 M15(pREP4, pQE30-Rz) 세포 추출물; (C) 앰피실린과 카나마이신이 함유된 LB 배지에서 M15(pREP4, pQE30-Rz) 세포 추출물.

도 23은 각기 다른 농도의 Rz 단백질로 처리하였을 때 E. 피리폴리에 Ep16/96 세포의 성장 저해효과를 나타낸다. E. 콜라이 M15(pREP4, pQE30-Rz)로부터 유도된 세포 추출물을 양을 달리하여 2 ml의 E. 피리폴리에 Ep16/96 배양액에 NBGYE 브로쓰에 1.3×10^6 cfu로 가하였다. ■, 10 ug; ▲, 30 ug; □, 50 ug; ○, 75 ug. M15(pREP4, pQE30)로부터 유도된 세포 추출물 (◆, 260 ug)을 대조군으로 하였다. 각각 24, 48 및 72시간 후, 100 μ l의 각 혼합물을 LB 플레이트 상에 뿌렸다 (표 10).

도 24는 LB-X-Gal-IPTG 한천 상에 플라스미드를 하보링한 E. 콜라이 BL21(DE3)으로부터 β -갈락토시데이즈의 배출을 나타낸다. (A) pET15b; (B) pET15b-Rz; (C) pET15b-RzKm.

도 25는 가열변성된 Φ Ep14 Rz 단백질의 E. 피리폴리에 Ep16/96 균주에 대한 항균활성을 나타낸다. M15(pREP4, pQE30)의 세포 추출물을 10, 20 및 30분간 100 °C로, 그리고 30분간 80 °C로 배양하였다. 미처리 세포 추출물 ("0")은 양성 대조군으로 사용하였고, E. 콜라이 M15(pREP4, pQE30) 세포 추출물은 30분 동안 가열하고 ("c") 음성 대조군으로 이용하였다. 플레이트는 28 °C에서 오버나이트 배양하였다.

도 26은 Φ Ep14 Rz 단백질과 Φ EA1h 라이소자임 간의 유사성을 나타낸다 (13% 동일성).

도 27은 E. 피리폴리에 Ep16/96 론 상에서 Φ Ep14 Rz1 단백질의 활성을 나타낸다. (A) E. 콜라이 M15(pREP4, pQE30-Rz1) 세포를 앰피실린 함유 LB 배지 내에서 유도하였다 ; (B) M15(pREP4, pQE30-Rz1) 세포를 앰피실린과 카나마이신 함유 배지에서 유도하였다.

도 28은 파아지 Φ Ep14 Rz1 단백질의 류라미데이즈 활성을 나타낸다. 0.2% *M. 라이소데익티커스* 및 1% 아가로스를 함유한 혼합물 (20 ml)을 90 mm 페트리 디쉬에 부었다. 한천 상에 지름 5 mm의 홀을 형성하였다. E. 콜라이 M15(pREP4, pQE30) 세포 추출물 (A) 및 M15(pREP4, pQE30-Rz1) (B)를 홀에 가하였다. 플레이트는 오버나이트로 28 °C에서 배양하였다.

도 29는 가열변성된 Φ Ep14 Rz1 단백질의 E. 피리폴리에 Ep16/96 균주에 대한 항균활성을 나타낸다. M15(pREP4, pQE30-Rz1)의 세포 추출물을 10, 20 및 30분간 100 °C로 배양하였다. 미처리 세포 추출물 ("0")은 양성 대조군으로 사용하였고, E. 콜라이 M15(pREP4, pQE30) 세포 추출물은 30분 동안 가열하고 ("c") 음성 대조군으로 이용하였다. 플레이트는 28 °C에서 오버나이트 배양하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0053] 아래에서는 구체적인 실시예를 들어 본 발명의 구성을 좀더 자세히 설명한다. 그러나, 본 발명의 범위가 실시예의 기재에만 한정되는 것이 아님은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 자명하다.

[0054] 실시예 1. 박테리오파아지, 생물체, 플라스미드 및 프라이머

[0055] 본 발명에 사용된 박테리오파아지는 표 1에 나타내었다. 표 2에 나타낸 E. 콜라이 균주들은 분자 클로닝, 플라스미드 변식 및 유전자 발현에 이용하였다. 플라스미드와 프라이머는 각각 표 3, 표 4(표 3과 연속된 표임)와 표 5, 표 6(표 5와 연속된 표임)에 나타내었다. 다른 균주들은 표 8 내지 표 17에 각각 나타내었다.

표 1

Phage	Source ^a / bacterial host/ year of isolation/ location	Reference
ΦEp3	Soil; <i>E. pyrifoliae</i> Ep16/96; 2007/ Chuncheon	this study
ΦEp4	Pear (aerial); <i>E. pyrifoliae</i> Ep16/96; 2005/ Chuncheon	this study
ΦEp5	Soil; <i>E. pyrifoliae</i> Ep16/96; 2007/ Cheonan	this study
ΦEp6	Soil; <i>E. pyrifoliae</i> Ep16/96; 2007/ Chuncheon	this study
ΦEp10-1	Pear (aerial); <i>E. pyrifoliae</i> Ep16/96; 2005/ Chuncheon	this study
ΦEp11	Pear (aerial); <i>E. pyrifoliae</i> Ep16/96; 2007/ Chuncheon	this study
ΦEp12	Soil; <i>E. pyrifoliae</i> Ep16/96; 2007/ Chuncheon	this study
ΦEp13	Water; <i>E. pyrifoliae</i> Ep16/96; 2007/ Chuncheon	this study
ΦEp14	Pear (aerial); <i>E. pyrifoliae</i> Ep16/96; 2007/ Chuncheon	this study

^a Source of phage isolation in the orchard

[0056]

[0057] 실시예 2. 박테리오파아지 분리

[0058] 가지검은마름병 증상을 나타내는 강원도 춘천의 배 과수원에서 2005년과 2007년에 시료를 수집하였다. 가지, 잎, 과실은 지면으로부터 1m 높이의 것으로, 토양은 20-30cm 깊이에서 채취하였다. 물 시료는 과수원 인근의 작은 연못에서 채취하였다. 60ml의 NBGYE가 담긴 플라스크에 E. 피리폴리에 Ep16/96 걸쳐 600μl로 접종하고 28℃에서 OD₆₀₀이 0.4가 될 때까지 배양하였다. 10g의 조직 또는 15g(습윤중량)의 토양을 각 플라스크에 가하고 혼합물을 28℃에서 120 rpm 교반하며 2-3일간 배양하였다. 물 시료는 30 ml의 2X NBGYE를 300 μl의 오버나이트 Ep16/96 걸쳐 및 30 ml의 0.45 μm로 여과한 물을 플라스크에 가한 후 혼합물을 28℃에서 격렬하게 흔든후 2-3일간 배양하였다. 각 혼합물에 최종 농도 1%(v/v)가 되도록 클로로포름을 30분 동안 가하여 4℃에서 8,000 x g로 20분간 원심분리하였다. 상층액은 0.45 μm 공극의 시린지 필터로 여과하고 4℃에서 보관하였다. 플라크 형성은 이중층 한천 기술 (double layer agar technique)을 이용하였다 (Adam, 1959). 100 μl의 상층액을 100 μl의 18-20시간 배양한 *E. pyrifoliae* Ep16/96 겹쳐와 혼합한 후 28℃에서 10분간 배양하고, 이 혼합물은 3 ml의 0.7 % NAGYE과 혼합한 다음 NAG에 부었다. 플라크 형성은 24시간 후 및 48시간 후에 확인하였다. 하나의 플라크를 집어 0.5-1 ml의 20 mM 인산칼륨 완충액(pH 6.8)이 담긴 마이크로원심분리 튜브에 넣고 교반하여 추출하였다. 튜브를 8,000 x g로 원심분리하고 추출액은 새로운 마이크로원심분리 튜브에 옮겨 4℃에 보관하였다. 파아지는 단일 플라크 분리방법을 이용하여 세 번 이상 정제하였다.

[0059] 실시예 3. 플라크 분석

[0060] 파아지 용균액은 20 mM 인산칼륨 완충액 (pH 6.8)으로 10번 순차 희석하였다. 그리고 나서, 100 μ l의 파아지 희석액들을 100 μ l의 *E. pyrifoliae* 균주 Ep16/96 오버나잇 배양액과 혼합한 다음 10분간 배양하였다. 3 ml의 0.7 % NAGYE을 가한 다음, 혼합물을 NAG에 부었다. 24시간 또는 48시간 동안 28℃로 배양한 후 플라크 수를 세었다.

표 2

Strains	Description	Reference or source
<i>E. coli</i>		
DH5 α	F- ϕ 80 <i>lacZ</i> Δ M15 Δ (<i>lacZYA-argF</i>) <i>U169 deoR recA1 endA1 hsdR17</i> (rk-, mk+) <i>phoA supE44 thi-1 gyrA96 relA1</i>	Takara
JM109	<i>endA1 recA1 gyrA96 thi hsdR17</i> (rk-, mk+) <i>relA1 supE44</i> Δ (<i>lac-proAB</i>)[F' <i>traD36 proAB lagI</i> Δ M15]	Promega
Top10	F- <i>mcrA</i> Δ (<i>mrr-hsdRMS-mcrBC</i>) 80 <i>lacZ</i> Δ M15 Δ <i>lacX74 recA1 araD139</i> Δ (<i>araleu</i>)7697 <i>galU galK rpsL</i> (Str ^R) <i>endA1 nupG</i>	Invitrogen
M15(pREP4)	F- Δ <i>lacZ lacI</i> ^s on pREP4 (Km ^r)	Qiagen
BL21(DE3)	F- <i>ompT gal dcm lon hsdS_B</i> (r _B ⁻ m _B ⁻) λ (DE3 [<i>lacI lacUV5-T7 gene1</i> <i>ind1 sam7 nin5</i>])	Novagen
DH2	DH1 with prophage λ CH616, carrying fd gene 2	Geider et al. (1985)
S17-1	<i>thi pro recA hsdR hsdMC</i> RP4-2-Tc::Mu-Km::Tn7 in the chromosome	Simon et al. (1983)
DH10B	F- <i>mcrA</i> Δ (<i>mrr-hsdRMS-mcrBC</i>) 80 <i>lacZ</i> Δ M15 Δ <i>lacX74 recA1 endA1 araD139</i> Δ (<i>ara, eu</i>)7697 <i>galU galK</i> λ - <i>rpsL nupG</i>	Invitrogen
<i>Bacillus polyfermenticus</i> SCD	Wile-type	Jun et al. (2000)

[0061]

[0062] 실시예 4. 파아지 용균액 스톱 제조

[0063] 이중층 한천 기술을 이용하여 높은 역가의 파아지 용균액 (high titer phage lysate)을 제조하였다. 100 μ l의 *E. pyrifoliae* Ep16/96 오버나잇 배양액과 100 μ l (ca. 10^5 - 10^6 PFU per ml)의 파아지 용균액을 혼합하였다. 혼합물을 28℃에서 10분간 배양한 후 3 ml의 0.7% NAGYE와 혼합하여 NAG에 부었다. 28℃에서 오버나잇 배양한 후, 얻어진 슬러리는 3ml의 20 mM 인산칼륨 완충액 (pH 6.8)과 함께 실온에서 한 시간 동안 배양하고, 유리막대로 긁어내어 50ml의 원심분리 튜브에 옮겼다. 튜브는 4℃에서 8,000 x g로 20분간 원심분리하였다. 상층액은 0.45 μ m 공극의 시린지 필터로 여과하였다. 이 과정을 통해 용균액 1ml당 약 10^9 - 10^{10} PFU를 얻었다. 파아지 용균액은 4℃에 보관하였다. 장기 보관은 7 % (v/v) DMSO (Dimethylsulfoxide)에 넣어 -80℃로 보관하였다.

[0064] 실시예 5. 기주범위분석 (Host range analysis)

[0065] 시험대상 세균 균주들을 NBGYE 또는 NB 배지에서 오버나잇 배양하였다. 3 ml의 0.7% NAGYE 또는 NA를 100 μ l의 세포와 혼합한 다음 NAG 또는 NA에 평판배양하였다. 10 μ l (ca. 1.0×10^8 PFU per ml)의 파아지 용균액을 세균론 상에 스팟팅한 다음 28 ℃ 또는 37 ℃로 24시간 또는 48시간 동안 배양하였다. 각 균주는 시간을 달리하여

세 번씩 시험하였다.

표 3

Plasmid	Description	Reference or source
pBluescriptII KS+	Cloning vector, 3.0 kb, Ap ^r	Stratagene
pBGS18	pUC18 (ori colE1), Km ^r	Spratt et al. (1986)
pUC18	Cloning vector, 2.7 kb, Ap ^r	Fermentas
pUC19	Cloning vector, 2.7 kb, Ap ^r	Fermentas
pQE30	6x his-tag, ColE1 ori, T5 promoter, 3.4 kb, Ap ^r	Qiagen
pET15b	6x his-tag, ColE1 ori, T7 promoter, <i>lacI</i> , 5.7 kb, Ap ^r	Novagen
pCR4Blunt-TOPO	Cloning vector, 3.96 kb, Ap ^r , Km ^r	Invitrogen
pSup104	RSF1010 derivative, broad host range of replication, 9.5 kb, Cm ^r , Tet ^r	Priefer et al. (1985)
pSup2021	(pBR328mob)::Tn5, Ap ^r , Cm ^r , Km ^r	Simon et al. (1983)
pfdA8	Suicide plasmid, fd-ori, requires fd gene 2, 1.74 kb, Km ^r	Geider et al. (1985)
pBlue-cpsB810	810 bp PCR fragment with internal part of <i>cpsB</i> from <i>E. pyrifoliae</i> strain Ep16/96 subcloned into the <i>EcoRV</i> sites of pBluescript KS+	this study
pfdA8-cpsB810	0.84 kb with internal part of <i>cpsB</i> <i>Bam</i> HI- <i>Sal</i> I fragment from pBlue-cpsB810 subcloned into the <i>Bgl</i> II and <i>Sal</i> I sites of pfdA8	this study
pBGS18-GFP	<i>Eco</i> RI and <i>Hind</i> III fragment from pUCGFP subcloned into pBGS18	this study
pUCGFP	0.75 kb GFP PCR fragment of p35S-GFP subcloned into the <i>Eco</i> RI and <i>Hind</i> III of pUC18(contained an artificial RBS for expression under <i>lac</i> promoter)	this study
P35S-GFP	Green fluorescent protein, 4.5 kb, Ap ^r , GenBank accession no. U28417	Niedz et al. (1995)
pRB373	Shuttle vector, 5.8 kb, <i>E. coli</i> (Ap ^r), <i>Bacillus subtilis</i> (Neo ^r , Km ^r)	Brückner (1992)
pRB373-Cm	3.5 kb <i>Bam</i> HI and <i>Pst</i> I fragment of pSup104 into pRB373, Ap ^r , Cm ^r	this study

[0066]

표 4

Plasmid	Description	Reference or source
pUC18-Dpo16F	2.81 kb PCR fragment of depolymerase gene from Φ Ep14 subcloned into the <i>Eco</i> RI and <i>Hind</i> III sites of pUC18 (contained an artificial RBS for expression under <i>lac</i> promoter)	this study
pUC19-Dpo16F	<i>Eco</i> RI and <i>Hind</i> III fragment of pUC18-Dpo16F into pUC19 against <i>lac</i> promoter	this study
pBGS18-Dpo16F	<i>Eco</i> RI and <i>Hind</i> III fragment of pUC18-Dpo16F into pBGS18	this study
pLys28	0.6 kb PCR fragment of endolysin gene from Φ Ep14 subcloned into the <i>Bam</i> HI and <i>Hind</i> III sites of pQE30	this study
pKan	4.2 kb, Km ^r	Bloom et al. (1996)
pUC19-Km	1.87 kb <i>Bam</i> HI and <i>Hind</i> III fragment of pKan subcloned into pUC19	this study
pET15b-Rz	0.57 kb PCR fragment of lysis gene from Φ Ep14 subcloned into the <i>Nde</i> I and <i>Bam</i> HI sites into pET15b	this study
pET15b-RzKm	1.87 kb <i>Eco</i> RI and <i>Hind</i> III fragment of pUC19-Km into pET15b-Rz	this study
pET15b-RzCm	3.0 kb <i>Hind</i> III fragment of pRB373 into pET15b-Rz	this study
pET15b-RzCmKm	3.0 kb <i>Hind</i> III fragment of pRB373 into pET15b-RzKm	this study
pQE30-Rz	0.57 kb PCR fragment of lysis gene from Φ Ep14 subcloned into the <i>Bam</i> HI and <i>Sal</i> I sites into pQE30	this study
pQE30-Rz1	0.3 kb PCR fragment of Rz1 gene from Φ Ep14 subcloned into the <i>Bam</i> HI and <i>Sal</i> I site of pQE30	this study

[0067]

[0068] 실시예 6. 투과전자현미경 (Transmission electron microscopy)

[0069] 파아지 용균액 한 방울을 포름바로 코팅한 200-by-200 메쉬 니켈 격자 위에 스팟팅하여 2분간 두었다. 과량의 용액은 제거하였다. 격자 위의 파아지는 2% 우라닐 아세테이트 (uranyl acetate)로 2분간 네거티브 염색한 다음 Zeiss EM-109 전자현미경으로 50 kV로 관찰하였다.

표 5

Primer	Sequence	Reference or source
Cellulase gene cloning		
Cell15F1 (<i>Eco</i> RI)	GCGAATTCAAAGAGGAGAAATTAAC TGTGC RBS CGCTCACGCCCGACG	This study ΦEp14 ORF15, forward
Cell15R (<i>Hind</i> III)	GGCAAGCTTTTAATCAGAGGCCAGAAGCGG	This study ΦEp14 ORF15, reverse
Dpo gene cloning		
Dpo16K (<i>Eco</i> RI)	GGCGAATTCGAGGAGAAATTAAC TATGGCTA AGAGCCTTGT RBS	this study ΦEp14 ORF16, forward
Dpo16L (<i>Hind</i> III)	GGCAGATGTTTAGGCATAAAGCTTTTAGCGG TTGATGATGG	this study ΦEp14 ORF16, reverse
Endolysin gene cloning		
Lys28F (<i>Bam</i> HI)	GCCGGATCCTCTCAGAACCTGACTGAACAG	this study ΦEp14 ORF28, forward
Lys28R (<i>Hind</i> III)	ATTAAGCTTTCACGCCCCCGGAAGTGTTT	this study ΦEp14 ORF28, reverse
Rz gene cloning		
ForpQE30		
Rz31A (<i>Bam</i> HI)	ATGGATCCATGAGCCTCCTTCCGCG	this study ΦEp14 ORF31, forward
Rz31B (<i>Sal</i> I)	TATGTCGACTTAGCGCTTGCACTGCCG	this study ΦEp14 ORF31, reverse
ForpET15b		
Rz31E1 (<i>Nde</i> I)	GACGCATATGAGCCTCCTTCCGCGAAGG	this study ΦEp14 ORF31, forward
Rz31F (<i>Bam</i> HI)	GAACGGATCCTTAGCGCTTGCACTGCCGAA	this study ΦEp14 ORF31, reverse
Rz1 gene cloning		
Rz1F (<i>Bam</i> HI)	GTAGGATCCATGCCCCGACGAAGGCCG	this study ΦEp14 ORF32, forward
Rz1R (<i>Sal</i> I)	GGCCGTCGACCTATTTTGGCGTTGTCCCG	this study ΦEp14 ORF32, reverse

[0070]

표 6

Primer	Sequence	Reference or source
GFP gene cloning		
GFP-F (<i>Eco</i> RI)	GCGAATTCAAAGAGGAGAAATTAACATGA GTAAAGGAGAAG RBS	this study
GFP-R (<i>Hind</i> III)	GGCAAGCTTTTATTTGTATAGTTCATCCA	this study
Internal part of <i>cpsB</i> gene from <i>E. pyrifoliae</i> strain Ep16/96		
- a 810 bp product		
<i>cpsBep1</i>	ACGCTTGATTGTCTGAACGA	this study
<i>cpsBep2</i>	CATAAGGCGCTTGAGGAAGT	this study
Underlined, restriction enzyme site; italics, RBS (ribosome binding site); bold, start or stop codon		

[0071]

[0072] 실시예 7. 파아지 DNA 분리 (Phage DNA isolation)

[0073] *E. 피리폴리아* 균주 Ep16/96을 28℃에서 과격하게 교반하면서 NBGYE 내에서 오버나잇 배양하였다. 60 ml의 NBGYE가 든 두 개의 플라스크에 600 μl의 오버나잇 배양한 *E. 피리폴리아* Ep16/96 배양액을 각각 접종하고 28℃에서 0.4 of OD₆₀₀ (ml당 약 1.2×10⁸ CFU)값이 0.4가 될 때까지 배양하였다. *E. 피리폴리아* Ep16/96 세포를 파아지懸液으로 감염시켜 감염 다중도 (multiplicity of infection; MOI)가 0.1이 되도록 하고 28℃에서 오버나잇 배양하였다. 각 결과로 얻어진 혼합물은 최종 농도 1%(v/v) 되도록 클로로포름을 가한 후 30분간 교반하고 4℃에서 8,000 x g로 20분간 원심분리하였다. DNA는 QIAGEN Lambda Midi Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 이용하여 정제하였다.

[0074] 실시예 8. 박테리오파아지 ΦEp14 게놈 서열결정 및 서열분석

[0075] 게놈 완전 서열결정은 마크로젠(Macrogen Inc., Seoul, Korea)에 의해 수행되었다. 간단히 설명하면, 파아지 게놈 DNA를 네블라이저로 자르고 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), 뚱뚱한 끝 (blunt-end) 재생 및 탈인산화하였다. 원하는 크기 (2-5 kb)의 DNA 조각들은 뚱뚱한 끝 상태로 pCR4Blunt-TOPO 벡터 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)에 연결되었고 *E. 콜라이* DH10B 세포에 전기천공으로 집어넣었다. 서열결정 반응은 ABI Prism 373XL DNA 분석기 (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA)로 분석하였다. 클론은 10배 이상의 redundancy가 얻어질 때까지 서열결정하였다. 콘택(contigs) 간의 겹은 채워지고 게놈의 말단은 파아지 게놈 DNA 상에서 프라이머 워킹 (primer walking)에 의해 서열결정되었다. 서열 데이터의 결합은 SeqMan II (Dnastar, Madison, WI, USA) 서열 분석 소프트웨어를 이용하여 수행하였다. ATG 또는 GTG 개시 코돈을 바탕으로 GeneMark (Lukashin and Borodovsky, 1998) (<http://opal.biology.gatech.edu/GeneMark/>), Glimmer (Delcher et al. 1999) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/MICROBES/glimmer_3.cgi) 및 ORF finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>)를 이용하여 오픈 리딩 프레임 (ORFs)을 예측하였다. 번역된 오픈 리딩 프레임은 보존된 도메인의 서치를 포함하는 BLASTp (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (Altschul et al. 1997)를 이용하여 GenBank 데이터베이스 내의 단백질과 비교하였다. tRNAscan-SE (<http://lowelab.ucsc.edu/tRNAscan-SE/>) (Lowe and Eddy, 1997)로 추정 tRNA 서치를 수행하였다. 아미노산과 뉴클레오타이드 정렬은 ClustalW (<http://www.ebi.ac.uk/tools/clustalw2>)를 이용하여 수행하였다. 트랜스멤브레인 부위 (transmembrane region)는 TMpred 프로그램 (Hofmann and Stoffel, 1993)을 이용하여 European Molecular Biology network-Swiss node (http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html)에서 예측하였

다.

[0076] **실시예 9. 파아지 DNA 분석 (Phage DNA analysis)**

[0077] 파아지 DNA를 *KpnI*로 37℃에서 16시간 동안 절단하고, 70℃로 10분간 가열한 후 즉시 냉각시켰다. DNA 조각을 0.8% 아가로스 젤에 전개시켰다. 젤은 에티듐 브로마이드로 염색하고, UV에 노출한 후, gel documentation system (Vilber Lourmat, France)을 이용하여 촬영하였다.

[0078] **실시예 10. 서던 블랏 혼성화 (Southern blot hybridization)**

[0079] 파아지 DNA는 *KpnI*로 절단하고, 얻어진 조각들은 0.8 % 아가로스 젤에 전개시킨 후 hybond-N+ 막 (Amersham, UK)으로 이동시켰다 (Sambrook and Russell ; 2001). *KpnI*로 절단한 파아지 DNA 전부를 디그옥시제닌 (digoxigenin; DIG) DNA 레이블링 키트 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)로 레이블했다. 레이블 반응은 37℃로 16시간 동안 수행하였다. 혼성화는 68℃로 16-20시간 수행하였고, 막은 세척한 후 Roche Diagnostics로 탐색하였다.

[0080] **실시예 11. 염색체 DNA 분리**

[0081] 세균 게놈 DNA 분리는 Neumann et al.(1992)의 방법을 변형하여 수행하였다. 세균 세포는 100 ml LB 배지에서 배양한 후 6,000 x g로 10분간 원심분리하여 수확하였다. 펠렛은 무균수로 한 번 세척한 후 10 mg/ml 라이소자임을 함유한 5 ml의 SET 완충액 (50 mM NaCl, 25 mM EDTA, 20 mM Tris-Cl, pH 7.5)에 재현탁하여 50 ml 팔콘 튜브로 옮겼다. 37℃에서 한 시간 동안 배양한 후 2.5 ml의 0.5 M EDTA를 가하고 튜브를 실온에서 5분간 배양하였다. 그런 다음 4 ml의 10% (w/v) SDS 및 640 μ l의 프로티네이즈 K (18 mg/ml)를 가하고 가끔 뒤집어 주면서 65℃에서 0.5-1시간 동안 배양하였다. DNA를 추출하기 위해 용균된 세포를 동량의 페놀: 클로로포름: 아이소아밀알콜 (phenol:chloroform:isoamylalcohol; PCI) (25:24:1)과 서서히 혼합하였다. 4,000 x g로 15분간 원심분리한 후 위쪽 수상 (aqueous phase)은 새 튜브로 옮겨 RNase A (10 mg/ml)를 최종 농도 20 μ g/ml가 되도록 가하고 한 시간 동안 37℃에서 배양하였다. 이 용액은 동량의 PCI로 추출하였다. 최종적으로 5 M NaCl이 최종농도 0.1 M가 되게 가하고 100% 에탄올 2배 부피를 가하여 서서히 뒤집어 주었다. DNA를 다 쪼개 다음 70% 에탄올로 행구고 건조시킨 후 적절한 양의 TE (10/1) 완충액 (pH 8.0)에 용해시켰다.

[0082] **실시예 12. 세균 형질전환 (Transformation of bacteria)**

[0083] **실시예 12.1 CaCl_2 또는 RbCl 방법에 의한 형질전환 (Transformation by calcium chloride or rubidium chloride method)**

[0084] CaCl_2 를 이용하여 *E. 콜라이* 컴피턴트 세포를 제조하였다. *E. 콜라이* 균주는 500 μ l의 CaCl_2 에 재현탁하여 4℃에 보관하였다. 세포는 6,000 x g로 10분간 원심분리하여 수확하고 5 ml의 미리 식힌 0.1 M CaCl_2 로 세 번 세척하였다. 세포를 수집하여 500 μ l의 CaCl_2 에 재현탁하고 4℃에 보관하였다.

[0085] 효율적인 컴피턴트 세포를 제조하기 위해 RbCl 방법을 선택하였다. 2 ml의 오버나잇 배양액을 200 ml의 LB 배지에서 OD₆₀₀이 0.4-0.6이 될 때까지 배양하였다. 배양액은 얼음에서 30분간 식힌 다음 6,000 x g로 10 분간 4℃에서 원심분리하였다. 세포를 모으고 40 ml의 차가운 TFBII에 재현탁한 다음 부드럽게 흔들면서 얼음에 한 시간 동안 두었다. 원심분리 후 세포를 8 ml의 차가운 TFBII에 재현탁하고 살균된 에펜도르프 튜브에 100 μ l씩 분주하여 -80℃에 보관하였다.

[0086] 형질전환을 위해 연결된 DNA 또는 플라스미드를 100 μ l의 컴피턴트 세포와 혼합하여 10분간 차갑게 두었다. 42℃로 1분간 열충격을 가한 후 세균은 5분간 차갑게 배양한 후 500 μ l의 LB 배지를 가하였다. 혼합물은 37℃에서 흔들며 90분간 더 배양한 후 적절한 항생제 플레이트에 가하였다. 재조합 플라스미드는 Wizard® Plus SV Minipreps DNA Purification System (Promega, Madison, WI, USA)을 이용하여 분리하였다.

[0087] **실시예 12.2 전기천공을 이용한 형질전환 (Transformation using electroporation)**

[0088] *E. pyrifoliae* 단일 콜로니 또는 LB 한천 플레이트에서 얻은 식물-관련 세균을 5 ml의 LB 브로쓰에 접종하였다. 배양액은 28℃에서 회전 교반기로 격렬하게 폭기하며 배양하였다. 100 μ l의 선배양 세포 (pre-cultured cells)를 100 ml의 LB 브로쓰에 넣고 OD₆₀₀가 0.4-0.6 될 때까지 배양하였다. 배양액을 15-30분간 얼음 위에 놓고 이후 세포를 50 ml의 얼음물로 두 번 세척하였고, 6,000 x g로 10분간 4℃에서 원심분리하여 수확하였다. 상층액은 조심스럽게 따라버리고, 펠렛은 3 ml의 차가운 물과 1 ml의 차가운 40% 글리세롤로 재현탁하였다. 재현탁한 세포는 살균된 에펜도르프 튜브당 100 μ l씩 담아 -80℃에서 보관하였다.

[0089] 전기천공을 위하여 1-2 μ l의 플라스미드 DNA를 컴피턴트 세포와 혼합하여 얼음 위에서 10분간 배양하였다. 차가워진 혼합물은 차가운 2-mm 전기천공 큐벳 (Bio-Rad, CA, USA)으로 옮겨 담고 2.5 kV, 200 Ω 저항 및 40 μ F 전기용량으로 Bio-Rad MicroPulser 전기천공기로 전기천공하였다. 800 μ l의 LB 배지를 전기천공된 세포에 가하고 90분 동안 28℃로 배양하였다. 세포는 항생제를 함유한 LB 한천 플레이트에 뿌렸다.

[0090] **실시예 12.3. 접합 (Conjugation)**

[0091] *E. pyrifoliae* 16/96 및 *E. coli* S17-1(pSup2021) 균주를 항생제를 포함하는 5 ml의 LB 배지에서 오버나잇 배양하였다. 1 ml의 각 배양액을 6,000 x g로 10분간 원심분리한 후 100 μ l의 LB 배지에 재현탁하였다. 50 μ l를 혼합하여 LB 한천 플레이트 상에 위치한 나이트로셀룰로스 필터에 뿌리고 28℃에서 오버나잇 배양하였다. 세균은 5 ml의 LB 배지에서 보텍싱하며 재현탁하였고, 10⁻² 내지 10⁻³로 희석하고 50 μ g/ml의 카나마이신 함유 LB 배지에 뿌렸다. 28℃로 2-3일간 배양한 후 카나마이신 저항성 콜로니를 LB-Km 배지 및 MM2-Km 배지 양쪽에서 동시에 배양하였다. MM2-Km 한천 플레이트 상의 점액성 콜로니를 선택하였다.

[0092] **실시예 12.4. *E. 피리폴리아* 균주 Ep16/96 cpsB의 특정 부위 돌연변이**

[0093] cpsB 유전자의 돌연변이를 위해 복제시 박테리오파아지 fd의 유전자 2 단백질을 필요로 하는 플라스미드 pfdA8를 자살 벡터로 이용하였다. cpsB 유전자의 뉴클레오타이드 서열은 *E. 피리폴리아* 균주 Ep16/96의 게놈 완전 서열 (GenBank database accession no: FN392235)로부터 얻었다. cpsB 유전자의 내부 절단에 의해 얻은 810 bp DNA 조각은 cpsBep1 및 cpsBep2 프라이머 (Table. 4)를 이용한 PCR로 증폭하였고, pBluescript KS+의 *EcoRV* 부위에 클론하였다. *E. 콜라이* DH5 α 내로 형질전환한 후 형질전환체를 Ap 및 X-Gal 함유 LB 한천 배지에 나타내었다. 플라스미드 pBlue-cpsB810를 제한 효소 *Bam*HI 및 *Sal*I으로 절단한 다음 pfdA8의 *Bgl*III 및 *Sal*I 부위로 이동시켰다. 얻어진 플라스미드는 pfdA8-cpsB810으로 표시하고, fd 유전자 2의 발현으로 *E. coli* DH2 내에서 증식시켰다. 이 플라스미드를 *E. 피리폴리아* 균주 Ep16/96에 전기천공으로 도입하여 플라스미드로 단일 교차 상동 재조합 (single cross-over homologous recombination)하여 cpsB를 파괴하였다. 카나마이신 저항성 콜로니에 대해 MM2 한천 플레이트 상에서 엑소폴리사카라이드 합성능을 분석하였다.

[0094] **실시예 13. 중합효소 연쇄반응**

[0095] Eppendorf mastercycler gradient 5331을 이용하여 PCR 증폭을 수행하였다. 반응은 10x PCR 완충액 5 μ l, 각 프라이머 10 pmol, 0.2 mM의 각 dNTP들 및 1 u의 *Taq* 또는 *Pfu* DNA 폴리머레이즈를 함유한 50 μ l 부피 내에서 수행되었다. 클로닝용 PCR 산물은 QIAquick-spin PCR Purification Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)로 스핀 컬럼을 이용하여 정제되었다.

[0096] **실시예 14. Φ Ep14 셀룰레이즈 유전자 (ORF15)**

[0097] **실시예 14. 1. Φ Ep14 셀룰레이즈 유전자 클로닝**

[0098] pUC18 또는 pUC19를 클로닝하기 위해, 정제된 파아지 DNA 유래 셀룰레이즈 유전자의 PCR 증폭에 프라이머 Cel15F1 및 Cel15R (Table. 4)을 이용하였다. PCR 산물을 정제하고 *Eco*RI 및 *Hind*III로 절단하고, pUC18 및

pUC19에 연결하였다. 연결된 DNA는 *E. 콜라이* JM109를 형질변환시켰다. 형질변환된 세포의 선택은 암피실린 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)이 함유된 LB 한천 플레이트에서 수행하였다. 결과로 얻어진 플라스미드는 pCel15F1 및 pCel15F1R로 각각 명명하였다. 뉴클레오타이드 서열은 DNA 서열결정으로 확인하였다.

실시예 14. 2. 셀룰레이즈 플레이트 분석 (Cellulase plate assay)

셀룰레이즈 활성을 나타내는 데는 콩고 레드 투명존 분석방법 (Congo red clearing zone assay; Wood et al., 1982)이 적절하다. pCel15F1, pCel15F1R 또는 pUC18을 포함하고 있는 *E. 콜라이* JM109 균주를 이쑤시개로 1% (w/v) 카복시메틸 셀룰로스 (Sigma, St. Louis, MO, USA) 및 암피실린 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)을 함유하는 LB 한천 플레이트에 접종시켰다. 플레이트는 37°C에서 오버나잇 배양한 후 실온에서 30분간 0.1% (w/v) 콩고 레드 용액으로 염색한 후 1 M NaCl로 탈색 처리하였다.

실시예 15. Φ Ep14 엑소폴리사카라이드-디폴리머레이즈 유전자 (ORF16)

실시예 15. 1. *E. 피리폴리*에서 Φ Ep14 엑소폴리사카라이드-디폴리머레이즈 유전자 클로닝 및 발현

엑소폴리사카라이드-디폴리머레이즈 유전자를 *lac* 프로모터 하에서 발현시키기 위해 정방향 프라이머 상에 공통 라이보솜 결합 부위 (consensus ribosome binding site) 및 ATG 개시코돈에 스페이서가 제공되었다. 프라이머 Dpo16K 및 Dpo16L (Table. 4)는 PCR 증폭으로 제조하였다. PCR 산물은 정제한 후 *Eco*RI 및 *Hind*III로 절단하고 pUC18, pUC19 및 pBGS18 벡터에 삽입하였다. 얻어진 플라스미드 pUC18-Dpo16F, pUC19-Dpo16F 및 pBGS18-Dpo16F는 *E. 피리폴리* 균주 Ep16/96를 전기형질변환시켰다. 플라스미드 pBGS18-Dpo16F도 *P. 스튜어티*(*P. stewartii*) 아종 *스튜어티*(*stewartii*) KACC10085에 도입되었다.

실시예 16. Φ Ep14 엔도라이신 유전자 (ORF28)

실시예 16. 1. Φ Ep14 엔도라이신 유전자 클로닝과 발현

정제된 파아지 DNA 유래 엔도라이신 유전자의 PCR 증폭을 위해 프라이머 Lys28F 및 Pys28R (Table. 4)를 이용하였다. PCR 산물을 정제하고, *Bam*HI 및 *Hind*III로 절단하고, 발현 벡터 pQE30에 연결하였다. 연결된 DNA는 *E. coli* JM109로 형질변환되었다. 형질변환된 세포의 선택은 암피실린 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)이 함유된 LB 한천 플레이트에서 수행하였다. 정확하게 삽입되었는지 및 유전자 서열은 플라스미드 인서트의 뉴클레오타이드 서열결정으로 체크하였다. 얻어진 플라스미드는 pLys28로 명명하고, 발현을 위해 *E. 콜라이* M15(pREP4)에 도입되었다.

E. 콜라이 M15(pREP4, pLys28)는 암피실린 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 및 카나마이신 (25 $\mu\text{g}/\text{ml}$)이 함유된 5 ml LB 배지에서 오버나잇 배양하였다. 오버나잇 배양액은 100 ml LB 배지에 넣어 희석한 후 37°C에서 격렬하게 흔들며 배양하였다. OD₆₀₀ 값이 0.5가 되었을 때 배양액에 1 mM IPTG를 가하였다. 시료는 IPTG를 가하기 직전 및 다양한 시각에 채취하여 SDS-PAGE로 분석하였다.

3시간 동안 유도한 배양액은 침전시키고 펠렛은 음과처리 완충액 [10 mM 이미다졸, 0.3 M NaCl, 50 mM NaH₂PO₄ (pH 7.8)]에 현탁시켰다. 음과처리 후 10,000 x g로 30분간 원심분리하여 투명한 세포 용균액을 얻었고, -80°C로 보관하였다.

실시예 16. 2. 자이모그램 분석 (Zymogram assay)

실시예 16. 2. 1. 기질 (농축된 세포 현탁액) 제조

Deutsch et al. (2004)의 방법을 약간 응용하여 농축된 세포 현탁액을 제조하였다. *B. 폴리퍼멘티쿠스* SCD 또는 *E. 피리폴리* Ep16/96 균주를 LB 배지에서 오버나잇 배양하였다. 배양액은 원심분리 (6,000 x g, 4°C, 10분)하여 세포를 살균수로 세 번 세척하였다. 침전은 최초 배양액 1% (v/v)를 함유한 살균수에 재현탁했다. 현탁액은 15분간 121°C로 오토클레이브한 다음 4°C에 보관하였다.

[0112] 실시예 16. 2. 2. SDS-PAGE 및 복원용 (renaturing) SDS-PAGE

[0113] Laemmli (1970)의 방법에 따라 SE260 Mini-Vertical unit (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)로 SDS-PAGE를 수행하였다. Leclerc and Asselin (1989) 및 Takac et al. (2005)의 방법을 변형하여 자이모그램을 수행하였다. 세포 추출액을 100℃에서 10분간 시료 완충액과 함께 배양한 다음 4% (v/v)의 살균한 *B. 폴리퍼멘티* 쿠스 SCD 및 *E. 피리폴리애* Ep16/96 세포가 함유된 12% (w/v) 폴리아크릴아마이드 분리용 젤 (pH 8.8)에 로딩하였다. 전기영동 후 젤들은 실온에서 증류수에 넣어 30분간 세척하였다. 젤들은 1% (v/v) Triton X-100을 함유한 50 mM Tris-Cl (pH 7.5)로 옮겨 실온에서 부드럽게 흔들며 오버나잇 배양하여 단백질을 복원 (renaturation)시켰다. 젤은 증류수로 세척한 후 0.1% (w/v) 메틸렌 블루를 함유한 0.01% (w/v) KOH로 실온에서 두 시가 동안 염색하고, 증류수로 세척하였다. 용균 활성은 청색 바탕의 투명 존으로 체크하였다.

[0114] 실시예 16. 3. *M. 라이소데익티쿠스*에 대한 한천 웰 확산 분석법 (Agar-well diffusion assay against *M. lysodeikticus*)

[0115] 0.2% *M. 라이소데익티쿠스* (*lysodeikticus*) ATCC 4698 (Sigma, St. Louis, MO, USA)을 함유한 1% 아가로스 젤 20 ml를 90 mm 페트리 디쉬에 붓고 실온에서 한 시간 건조시켰다. 직경 5 mm 웰을 한치 플레이트에 뚫었다. 40 μ l의 세포 추출액을 각 웰에 넣고, 28℃에서 오버나잇 배양하였다. 용균 활성은 불투명한 바탕에 웰 주위의 투명 존으로 체크하였다.

[0116] 실시예 16. 4. 항균 활성

[0117] 엔도라이신의 항균 활성은 *E. pyrifoliae* Ep16/96 세포 론 상에서 성장 억제정도를 분석하여 얻어내었다. NAG 한천 플레이트에 100 μ l의 오버나잇 배양액을 함유한 3 ml의 0.7% NAGYE를 가하고 엔도라이신을 함유한 10 μ l의 세포 용균액을 표면에 가하였다. 플레이트는 28℃에서 오버나잇 배양하였다.

[0118] 실시예 17. Φ Ep14 Rz 유전자 (ORF31)

[0119] 실시예 17. 1. Φ Ep14 Rz 유전자 발현용 벡터 구축

[0120] 먼저 pQE30 내로의 클로닝을 위해, Rz 유전자를 증폭하기 위한 *E. pyrifoliae* Ep16/96 Φ Ep14의 게놈 서열로부터 프라이머를 디자인하였다. 프라이머 Rz31A 및 Rz31B (Table. 4)를 PCR 반응시켰다. 증폭된 조각들은 *Bam*HI 및 *Sa*II로 절단하고, 정제하고 pQE30에 연결하였다. 제조된 플라스미드 pQE30-Rz는 *E. 콜라이* 균주 M15(pREP4)에 형질변환되었다.

[0121] 실시예 17. 2. Φ Ep14 Rz 유전자 발현

[0122] *E. 콜라이* M15(pREP4, pQE30-Rz) 내에 Rz 유전자를 클로닝하기 위해, 이 균주를 앰피실린 (100 μ g/ml) 및 카나마이신 (25 μ g/ml)을 함유한 200 ml의 LB 배지에서 37℃로 배양하였다. OD₆₀₀ 0.5가 되면 배양액에 1 mM IPTG를 가하여 유도하고 200 rpm으로 한 시간 동안 배양하였다. 배양액은 6,000 x g로 10분간 원심분리하고, 침전물은 2.5 ml의 완충액 [10 mM 이미다졸, 0.3 M NaCl, 50 mM NaH₂PO₄ (pH 7.8)]에 현탁하였다. 음파처리 후 10,000 x g로 30분간 원심분리하여 투명한 세포 용균액을 얻었고 -80℃에 보관하였다. 단백질 농도는 Bio-Rad Bradford assay kit로 측정하였다.

[0123] 실시예 17. 3. 플레이트 성장 저해 분석 (Plate growth inhibition assay)

[0124] Rz 단백질에 대한 세균 균주의 민감성 (Table. 8)은 지표 세포 (indicator cells) 론이 자란 한천 플레이트 상에서 스팟 테스트로 분석하였다. 각 균주의 오버나잇 배양액 (100 μ l)을 3 ml의 0.7 % NAGYE와 혼합하고 NAG 플레이트 표면에 가한 후 10 μ l의 세포 용균액을 그 표면에 스팟팅하였다. 식물 병원균주의 경우 28℃로 오버나잇 배양하고 *E. 콜라이* 균주는 37℃로 배양하여 저해 존을 체크하였다.

[0125] **실시예 17. 4. 배양액 내에서 세포 성장 분석 (Cell growth assay in culture)**

[0126] *E. coli* 균주 Ep16/96을 NBGYE 배지에서 28℃로 오버나잇 배양하였다. 오버나잇 배양액은 NBGYE 배지 내에서 6.5×10^5 cfu/ml가 되도록 희석하고 시험관에 분주하였다 (2 ml/tube). 다양한 양의 투명해진 세포 용균액 (10-200 µg의 총 단백질을)을 가하여 28℃로 3일간 200 rpm으로 배양하였다. IPTG로 유도된 *E. coli* M15 (pREP4, pQE30)의 용균액을 음성 대조군으로 삼았다. 세균 성장속도는 600 nm의 광학밀도를 측정하여 모니터링하였다.

[0127] **실시예 18. 뉴클레오타이드 접근 번호 (Nucleotide accession number)**

[0128] 본 발명의 ΦEp14 뉴클레오타이드 서열은 젠뱅크 데이터베이스에 접근번호 JN585957로 기탁되어 있다.

[0129] **<결과>**

[0130] **1. *E. coli* 박테리오파아지 분리**

[0131] *E. coli*를 감염시킨 9개의 박테리오파아지를 아시아 배 가지검은마름병과 유사한 증상을 보이는 춘천 인근의 배 과수원에서 2005년 및 2007년 채취한 식물, 토양 및 물 시료로부터 분리하였다. ΦEp5는 천안의 배 과수원의 토양 시료에서 분리하였고, 그곳에서는 가지검은마름병 증세가 나타나지 않았으나, 식물에서 파아지 분리는 실패하였다. 이들 중 네 개는 조직에서 수집된 것이고, 네 가지는 토양 시료, 한 가지는 물 시료에서 수집된 것이다 (표 1). 본 발명에서 분리된 아홉 가지 파아지의 특성은 표 5에 나타내었다. 이들 분리체는 4℃ 보관 시 비교적 안정적이었다.

표 7

Property	Phage								
	ΦEp3	ΦEp4	ΦEp5	ΦEp6	ΦEp10-1	ΦEp11	ΦEp12	ΦEp13	ΦEp14
Source	Soil	Aerial	Soil	Soil	Aerial	Aerial	Soil	Water	Aerial
Host strain for isolation	Ep 96/16	Ep 96/16	Ep 96/16	Ep 96/16	Ep 96/16	Ep 96/16	Ep 96/16	Ep 96/16	Ep 96/16
Plaque type	Clear	Turbid	Clear	Clear	Turbid	Clear	Turbid	Turbid	Clear
Diameter (mm)	0.5-1	3-4	0.5-1	0.5-1	1-3	0.5-1	1-4	2-3	0.5-1
Particle morphology									
Width of particle head (nm) ^a	NT ^d	85	NT	60	NT	51	47	105	51
Length of tail (nm) ^a		132		-		-	-	151	-
Morphotype ^b	NT	A1	NT	C1	NT	C1	C1	A1	C1
Estimated genome size (kb) ^c	63.5	NT	48.4	49.6	NT	50	NT	NT	49

^a Means of measurements of 4 to 10 phage particles.

^b Morphotype A1 belongs to *Myoviridae*, and C1 belongs to *Podoviridae*.

^c Estimated from sum of fragment sizes of phage DNA digested with *Bam*HI or *Kpn*I.

^d NT, not tested.

[0132]

[0133] **2. 플라크 형태**

[0134] 기주인 *E. coli* 균주 Ep16/96 론 상에서 플라크 형태를 조사하였다. 파아지 ΦEp4, ΦEp10-1, ΦEp13은 뚜렷한 투명 무리를 가진 1 내지 4 mm 플라크를 만들었고, 플라크가 성장을 멈춘 후에도 확장을 계속 했다. 파

아지 ΦEp12는 2-3 mm의 투명 플라크를 만들었고, 나머지는 0.5-1 mm의 깨끗한 플라크를 만들었다 (도 1, 도 2)

[0135] 3. 전자 현미경

[0136] 여섯 개의 파아지 입자의 형태를 투과 전자 현미경으로 관찰하였다 (도 3). 박테리오파아지는 Ackermann (2001, 2007) 및 Bradley (1967)의 방법에 따라 형태 유형으로 분류된다. 관찰된 모든 파아지는 꼬리가 있고, 따라서 카우도바이랄스 (Caudovirales)에 속한다. 파아지들은 형태학적 특성에 근거하여 두 패밀리 범주로 분류된다. 파아지 ΦEp4 및 ΦEp13은 대칭적인 헤드와 수축성 꼬리로 이루어진다. 다른 박테리오파아지들 ΦEp6, ΦEp11, ΦEp12 및 ΦEp14는 대칭적인 헤드와 좀더 짧고 수축성인 꼬리를 가진다. 따라서, 파아지 ΦEp4 및 ΦEp13은 미오비리데 (Myoviridae) 패밀리 또는 브래들리 (Bradley) 그룹 A1에 속하고, 파아지 ΦEp6, ΦEp11, ΦEp12 및 ΦEp14는 포도비리데 (Podoviridae) 패밀리 또는 브래들리 그룹 C1의 특징들과 일치한다. 박테리오파아지들의 형태학적 특징은 표 5에 요약되어 있다.

[0137] 4. 기주 범위 (Host range)

[0138] *E. 아밀로보라* KACC10060^T, *E. 콜라이* DH5 α 및 일곱 *E. 피리폴리애* 균주를 포함하는 식물 관련 세균에 대한 9종의 박테리오파아지의 기주 범위를 각 세균 론 상에서 조사하였다. 기주 범위 분석에 총 106개의 세균 균주를 사용하였다 (표 6). 모든 파아지들이 7종의 *E. 피리폴리애* 균주, *E. 아밀로보라* KACC10060^T, *E. 페르시치나* KACC10053^T, *E. 피시디* KCAA10086^T, 에르위니아 속 및 *P. 스튜어티* 아속 *스튜어티* KACC10085^T를 감염시켰다. 시험 대상 106개의 세균 균주 중 각 파아지에 민감한 균주의 수는 다음과 같다: ΦEp3, 27; ΦEp4, 32; ΦEp5, 28; ΦEp6, 28; ΦEp10-1, 35; ΦEp11, 28; ΦEp12, 27; ΦEp13, 39; ΦEp14, 28. 파아지 ΦEp5, ΦEp6, ΦEp11 및 ΦEp14는 기주 범위가 동일하며, ΦEp10-1 및 ΦEp13은 기주 범위가 유사하다.

표 8

Bacterial host	Source	Sensitivity								
		ΦEp3	ΦEp4	ΦEp5	ΦEp6	ΦEp10-1	ΦEp11	ΦEp12	ΦEp13	ΦEp14
<i>Erwinia pyrifoliae</i>										
Ep1/96	Kim et al. (1999)	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++
Ep4/97	Kim et al. (1999)	+++	++	+++	+++	++	+++	++	++	+++
Ep8/95	Kim et al. (1999)	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++
Ep12/96	Rhim, unpublished	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++
Ep16/96 ^T	Kim et al. (1999)	+++	++	+++	+++	++	+++	++	++	+++
Ep28/96	Kim et al. (1999)	+++	++	++	+++	++	++	+++	++	++
Ep102/98	Kim et al. (1999)	++	++	+++	++	++	+++	+++	++	++
<i>Erwinia amylovora</i>	KACC 10600 ^T	++	+	++	++	+	++	+	+	++
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> LBA 4404	Lab. stock	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	KACC 11541 ^T	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	KACC 10645 ^T	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[0140] 5. 서던 블랏에 의한 파아지 게놈 비교 (Phage genome comparison by Southern blot)

[0141] *E. 피리폴리애* 균주 Ep16/96의 혼합 용균액 (crude lysates)으로부터 파아지 DNA를 분리하였다. 제한 효소 *KpnI* 을 이용하여 DNA 제한 프로파일을 만들었으나, 파아지 ΦEp12는 *KpnI* (도 4) 저항성이었다. 파아지 ΦEp5 및 ΦEp14는 시료를 채취한 지역이 다르긴 하지만 동일한 제한 프로파일을 나타내었다 (표 1). 파아지 ΦEp6 및 ΦEp11은 유사한 제한 프로파일을 나타내었고, 이는 ΦEp5 및 ΦEp14의 것보다 유사하였다. 파아지 ΦEp10-1 및

ΦEp13은 유사한 제한 패턴을 나타내었다. 다른 파아지들은 구별되는 제한 패턴을 나타내었다.

[0142] 파아지 게놈 간의 관련성을 조사하기 위해 서던 블랏 분석을 수행하였다 (도 5). 파아지 ΦEp4, ΦEp10-1 및 ΦEp14 용균액에서 얻은 게놈 DNA는 DIG로 표지하여 유사 DNA 서열을 탐지하는 탐침으로 이용하였다. 도 5는 파아지 ΦEp14, ΦEp3, ΦEp4 및 ΦEp10-1에 대하여 탐침으로 얻은 서던 블랏 결과를 나타낸다. 파아지 ΦEp14는 파아지 ΦEp5, ΦEp6 및 ΦEp11와 강하게 혼성화하였고, 파아지 ΦEp3와는 약하게 혼성화 결합하였다. 파아지 ΦEp4는 파아지 ΦEp10-1 및 ΦEp13와 약하게 결합하였고, 파아지 ΦEp10-1은 파아지 ΦEp4와 비교할 때 ΦEp13와 좀더 강하게 혼성화하였다. 따라서, 파아지 ΦEp5, ΦEp6, ΦEp11 및 ΦEp14는 ΦEp3보다 좀더 가까운 연관관계를 나타내었고, 파아지 ΦEp10-1 및 ΦEp13은 다른 파아지들보다 좀더 유사하다. 파아지 ΦEp12는 이들 파아지들과 완전히 달랐다.

[0143] 6. 박테리오파아지 ΦEp14의 게놈 구성 및 규명

[0144] 박테리오파아지 ΦEp14의 완전한 게놈 서열은 쏫건 라이브러리 전략을 이용하여 결정하였다. 파아지 ΦEp14의 게놈은 이중 사슬 DNA 분자로서 60,714 bp이고, 평균 G+C 함량 62.78%이다. 쏫건 라이브러리의 서열 어셈블리와 뒤이은 프라이머 이동 염기배열 결정법 (primer walking)으로 폐쇄된 원모양의 서열을 얻었다. ΦEp14 DNA는 제한효소 및 아가로스 젤 분석을 통하여 원형 게놈의 특징을 보여주었다. ΦEp14 DNA는 게놈 서열에서 단 한 번 나타나는 *Asc* I 및 *Pf*/MI로 한 번 또는 두 번 절단하였다. 한 번만 자르는 제한효소 (*Asc* I 및 *Pf*/MI)로 게놈을 절단하면 DNA는 절단되지 않은 DNA와 겔 상에서 유사한 위치를 나타내었다. *Asc* I 및 *Pf*/MI로 두 번 절단하면 도 6과 같이 DNA 두 조각이 만들어진다. 따라서, 이는 ΦEp14 게놈이 고리모양으로 순서를 바꾸는 것을 암시한다.

[0145] ΦEp14 게놈에는 64개의 추정 단백질 코딩 부위가 있다. 54개의 추정 ORF에는 ATG 개시코돈이 있으며, 대체 개시코돈인 GTG가 10개의 추정 ORF에 있다. 64개의 ORF 중, 22개는 반대방향으로 전사된다 (도 7). 추정 ORF들은 BLASTp와 보존 도메인을 이용하여 분석하였다. 44개의 ORF에 대해 의미 있는 매치가 얻어졌고, 이 중 20개의 ORF에 대해서는 생물학적 기능이 결정되었다. tRNA 유전자는 발견되지 않았다.

[0146] 7. 추정 ΦEp14 유전자에 대한 생물정보공학적 분석

[0147] 64 ORF의 추론된 아미노산 서열을 데이터베이스의 알려진 서열과 비교하여 기능이 알려진 유전자와의 유사성을 나타내었다. 각 단백질 간의 기능 결정 및 유의미한 유사성은 표 7에 제시되었다.

6

Gene	Range (bp)	Start codon	Size (aa)	Predicted function	Homologue(s) [source], identical/overall (% aa identity)	blastP e-value	Accession No.
ORF1	33-842	ATG	270	Terminase small subunit	Terminase small subunit [<i>Syntrophobomus glycolicus</i> DSM 8211]: 112/236 (47%) Bcep_2_gp36 [Burkholderia phage Bcep22]: 115/261 (45%)	3e-65	YP_004264701
ORF2	1060-839	ATG	74	HTH_XRE-like protein	Hypothetical protein YpIP31758_A0085 [<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> HP 31758]: 33/60 (55%)	1e-16	YP_001393295
ORF3	1167-2840	ATG	588	Terminase large subunit	gp44 [Burkholderia phage BcepIL02]: 299/521 (57%) Bcep_2_gp49 [Burkholderia phage Bcep22]: 306/531 (58%) Putative terminase large subunit protein [<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i> AAC00-1]: 284/533 (53%)	0.0	YP_002922716
ORF4	2853-3353	ATG	167	Hypothetical	gp049 [Prutiria phage vB_Eamp-S6]: 43/107 (40%)	8e-17	AENI568
ORF5	3350-4228	ATG	293	Phage minor tail protein	Phage minor tail protein L [Kahnelia sp. Y9602]: 91/311 (29%)	7e-17	YP_004212564
ORF6	4293-4712	ATG	140	Hypothetical	Hypothetical protein OINT_30000018 [<i>Ochrobactrum tusumedium</i> LMG 3301]: 50/143 (35%) Bcep_2_gp30 [Burkholderia phage Bcep22]: 45/140 (33%)	7e-14	ZP_04683511
						4e-13	NP_944279

표 10

Gene	Range (bp)	Start codon	Size (aa)	Predicted function	Homologue(s) [source]; identical/overall (% aa identity)	blastP e-value	Accession No.
ORF7	4705-7050	GTG	782	Portal protein	Hypothetical protein PBC5p43 [Sinorhizobium phage PBC5]; 398/701 (57%) Hypothetical protein ONT_3000019 [Ochrobactrum intermedium LMG 3301]; 388/720 (54%)	0.0 0.0	NP_542303 ZP_04683512
					Hypothetical protein PAZWK3B_16720 [Roseobacter sp. AzwK-3b]; 372/688 (54%)	0.0	ZP_01903563
ORF8	7063-7944	ATG	294	Hypothetical	Bcep22gp51 [Burkholderia phage Bcep22]; 382/745 (51%) [Roseobacter sp. AzwK-3b]; 372/688 (54%)	0.0	NP_944280
ORF9	7956-8147	GTG	64	Hypothetical	Bcep22gp51 [Burkholderia phage Bcep22]; 96/323 (30%) gp49 [Burkholderia phage BcepIL02]; 24/47 (51%)	2e-29 5e-06	NP_944281 YP_002922721
ORF10	8260-9357	ATG	366	Hypothetical	Hypothetical protein PBC5p07 [Sinorhizobium phage PBC5]; 241/365 (66%)	0.0	NP_542267
ORF11	9370-9828	ATG	153	Hypothetical	gp51 [Burkholderia phage BcepIL02]; 62/152 (41%)	9e-20	YP_002922723
ORF12	9896-10630	ATG	245	Hypothetical	Bcep22gp57 [Burkholderia phage Bcep22]; 74/257 (29%)	8e-16	NP_944286
ORF13	10630-11361	ATG	244	Hypothetical	Hypothetical protein ONT_3000028 [Ochrobactrum intermedium LMG 3301]; 87/234 (37%) Hypothetical protein PBC5p08 [Sinorhizobium phage PBC5]; 85/237 (36%)	2e-46 1e-43	ZP_04683519 NP_542268

표 11

Gene	Range (bp)	Start codon	Size (aa)	Predicted function	Homologue(s) [source]; identical/overall (% aa identity)	blastP e-value	Accession No.
ORF14	11358-11975	ATG	206	Hypothetical	gp34 [Burkholderia phage BocepII.02]; 80/212 (38%)	2e-37	YP_002922726
ORF15	11989-13848	GTG	620	Cellulase	Glycoside hydrolase [Ervicia phage vB_Eamp-86]; 219/488 (45%)	2e-134	AE181614
ORF16	13920-16706	ATG	929	EPS-depolymerase	EPS depolymerase [Ervicia phage vB_Eamp-L1]; 233/684 (34%)	6e-110	AE181510
ORF17	16716-17075	ATG	120	Hypothetical	Hypothetical protein KPN2242_07405 [Klebsiella pneumoniae KCTC 2242]; 35/92 (38%)	1e-09	AE197399
ORF18	17148-17444	ATG	99	Hypothetical			
ORF19	17508-20396	ATG	963	Hypothetical	Hypothetical protein [Aeropyrum plasmid NIES-39]; 41/82 (50%)	3e-13	BA194221
ORF20	20400-20765	ATG	122	Tail fiber protein	Conserved hypothetical protein [Ochrobactrum intermedium LMG3301]; 45/100 (45%)	1e-18	ZP_04683524
					Hypothetical protein PBC5_p14 [Sinorhizobium phage PBC5]; 41/100 (41%)	2e-16	NP_542274
ORF21	20762-22501	ATG	580	Hypothetical	Bocep22 gp67 [Burkholderia phage Bocep22]; 275/580 (47%)	0.0	NP_944296
					gp63 [Burkholderia phage BocepII.02]; 273/580 (47%)	0.0	YP_002922735

표 12

Gene	Range (bp)	Start codon	Size (aa)	Predicted function	Homologue(s) [source]: identical/overall (% aa identity)	blastP e-value ≤ 0.001	Accession No.
ORF22	22501-23061	ATG	187	Hypothetical	Putative plasmid-related protein [<i>Clostridium difficile</i> QCD-63q42]; 37/177 (21%)	8e-06	ZP_05328688
ORF23	23564-23106	ATG	153	Hypothetical			
ORF24	23563-24876	ATG	438	Hypothetical	Hypothetical protein PBC5p19 [<i>Stenotrophobium</i> phage PBC5]; 183/377 (49%)	2e-106	NP_542279
ORF25	24876-25859	ATG	328	Unknown			
ORF26	25870-27066	ATG	399	Hypothetical	Beep22 gp74 [<i>Buhalodieria</i> phage Beep22]; 99/351 (28%)	8e-23	NP_944302
ORF27	27076-41820	GTG	4913	DNA methylase	Putative DNA methylase [<i>Stenotrophobium</i> phage PBC5]; 923/1622 (57%), 408/935 (44%) DNA methylase [<i>Coli probacrum</i> intermediate LMG 3301]; 948/1808 (52%), 373/934 (40%), 81/244 (33%)	0.0	NP_542283 ZP_04683497
ORF28	41947-42537	ATG	197	Endolysin	Endolysin [<i>Pseudomonas</i> phage Psp1]; 93/191 (49%)	5e-54	ACZ55949
ORF29	42537-42887	ATG	117	Holin	Hypothetical protein PSEBR_cmgm36 [<i>Pseudomonas brassicaevarum</i> subsp. <i>brassicaevarum</i> NFA421]; 38/117 (32%)	5e-05	YP_004355204

표 14

Gene	Range (bp)	Start codon	Size (aa)	Predicted function	Homologue(s) [source]: identical/overall (% aa identity)	blastP e-value	Accession No.
ORF35	43896-43690	ATG	69	HTH_MarR-SF-like protein	Hypothetical protein Xant_0132 [<i>Xanthobacter autotrophicus</i> Py2]; 39/67 (58%)	3e-22	YP_001415641
ORF36	46288-45995	ATG	98	Hypothetical			
ORF37	46560-46285	ATG	92	Hypothetical			
ORF38	46775-46557	ATG	73	Hypothetical	Conserved hypothetical protein [Escherichia coli F11]; 36/62 (59%)	1e-16	ZP_03035535
ORF39	47404-46772	ATG	211	Hypothetical	Hypothetical protein [EBPR-19phovirus 4]; 28/63 (44%)	4e-09	AEI71108
ORF40	47639-47391	ATG	83	Hypothetical	Hypothetical protein YPTB1780 [<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> IP 32955]; 41/78 (53%)	5e-21	YP_070306
ORF41	48190-47639	ATG	184	Hypothetical	Hypothetical protein ECL_A166 [<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. <i>cloacae</i> ATCC13047]; 42/100 (42%)	3e-15	YP_003602661
ORF42	48674-48204	ATG	157	Hypothetical	Hypothetical protein PY54p47 [<i>Yersinia</i> phage PY54]; 39/95 (41%)	8e-15	NP_892093
ORF43	49449-48856	GTG	198	HTH_XRE-like protein	Bcep22 gp13 [Burkholderia phage Bcep22]; 69/174 (40%)	2e-39	NP_944241

표 15

Gene	Range (bp)	Start codon	Size (aa)	Predicted function	Homologue(s) [source]; identical/overall (% aa identity)	blastP e-value Accession No.
ORF44	49380-50122	ATG	181	WHITE_GmR-like protein	Hypothetical protein NMB1094 [Neisseria meningitidis MCS8]; 26/72 (36%)	1e-04 NP_275082
ORF45	50124-50406	ATG	101	Hypothetical		
ORF46	50436-50708	GTG	91	Hypothetical		
ORF47	50730-51725	GTG	332	Unknown		
ORF48	51722-52084	ATG	121	Hypothetical		
ORF49	52081-52512	GTG	144	Hypothetical	gp8 [Burkholderia phage Bcep176]; 81/117 (70%)	2e-53 YP_355343
ORF50	52787-53107	ATG	107	Hypothetical		
ORF51	53104-53796	ATG	231	Adenine-specific DNA-methyltransferase	MT-A70 family protein [Parvosa sp. AB]; 131/203 (65%) Site-specific DNA-methyltransferase (adenine-specific) [Enterobacter hormaechei ATCC 49162]; 123/207 (60%)	6e-87 ZP_07380442 3e-86 ZP_08496431
ORF52	53793-53900	ATG	36	Hypothetical		

표 16

Gene	Range (bp)	Start codon	Size (aa)	Predicted function	Homologue(s) [source]; identical/overall (% aa identity)	blastP e-value	Accession No.
ORF53	53897-54775	ATG	293	phage O family protein	Hypothetical protein YPTB1793 [<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> IP 32953]; 132/300 (44%)	4e-67	YP_070319
ORF54	54768-55583	ATG	272	Hypothetical	Hypothetical protein YPTB1794 [<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> IP 32953]; 105/226 (46%)	8e-62	YP_070320
ORF55	55580-55909	ATG	110	Hypothetical			
ORF56	56250-56050	ATG	67	Hypothetical			
ORF57	56444-56247	ATG	66	Hypothetical			
ORF58	56776-56441	ATG	112	Hypothetical			
ORF59	57743-56769	ATG	325	Hypothetical	gp03 [Burkholderia phage BcepII.02]; 22/39 (56%)	0.001	YP_002922675
ORF60	58317-58023	GTG	165	Hypothetical	gp46 domain protein [Escherichia coli STEC7v]; 36/99 (36%)	2e-08	EGE64983
ORF61	58882-58371	ATG	104	Hypothetical			
ORF62	59457-58879	GTG	193	Hypothetical	Hypothetical protein BGP 3825 [Beggiatoa sp. PSJ]; 23/59 (39%)	6e-07	ZP_01999338

표 17

Gene	Range (bp)	Start codon	Size (aa)	Predicted function	Homologue(s) [source; identical/overall (% aa identity)]	blastP e-value	Accession No.
ORF63	60189-59506	ATG	228	Hypothetical		≤0.001	
ORF64	60619-60377	ATG	81	Hypothetical			

[0156]

[0157] 8. 파아지 ΦEp14의 ORF들과 유사성

[0158] 8. 1. ORF1 및 3

[0159] ORF1은 신트로포보툴루스 글리콜리쿠스 (*Syntrophobotulus glycolicus*) DSM 8271의 터미네이즈 작은 서브유닛 (236 aa 중 47% 동일성) 및 부르크홀데리아 (*Burkholderia*) 파아지 Bcep22의 gp36 (261 aa 중 45% 동일성)에 대해 유사성을 나타낸다. ORF3는 부르크홀데리아 (*Burkholderia*) 파아지 BcepIL02의 gp44 (521 aa 중 57% 동일성), 부르크홀데리아 (*Burkholderia*) 파아지 Bcep22의 gp49 (531 aa 중 58% 동일성), 애시도보락스 아베네 (*Acidovorax avenae*) 아종 시트룰리 (*citulli*) AAC00-1의 추정 터미네이즈 큰 서브유닛 단백질 (533 aa 중 53% 동일성), 및 다양한 다른 파아지 유래 터미네이즈의 큰 서브유닛과 유사성을 나타낸다.

- [0160] 8. 2. ORF2
- [0161] ORF2는 보존 도메인 서치를 바탕으로 HTH_XRE 패밀리에 유사 단백질을 코딩한다. ORF2는 예르시니아 슈도투베르쿨로시스(*Yersinia pseudotuberculosis*) IP 31578의 YpsI31758_A0035 (60 aa 중 55% 동일성)에 대해 유사성을 나타낸다. 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*) 프로파아지 PBSX는 추정 HTH (Wood, 1990)를 포함하는 XRE 억제자를 코딩한다. 따라서, ORF2의 산물은 전사 억제자로 작용할 수 있다.
- [0162] 8. 3. ORF5
- [0163] ORF5 유전자 산물은 파아지 마이너 테일 단백질을 코딩하며, 라넬라 속(*Rahnella* sp.) Y9602의 파아지 마이너 테일 단백질 L (311 aa 중 29% 동일성)과 유사성을 나타낸다.
- [0164] 8. 4. ORF7
- [0165] ORF7은 시노리조비움(*Sinorhizobium*) 파아지 PBC5의 PBC5p43 (701 aa 중 57% 동일성), 오크로박테리움 인터미디움(*Ochrobactrum intermedium*) LMG 3301의 OINT_3000019 (720 aa 중 54% 동일성), 로즈박테리움 속(*Roseobacter* sp.) AzwK-3b의 RAZWK3N_16720 (688 aa 중 54% 동일성) 및 부르크홀데리아(*Burkholderia*) 파아지 Bcep22의 gp51 (745 aa 중 51% 동일성)와 유사성을 나타낸다.
- [0166] 8. 5. ORF15
- [0167] ORF15는 셀룰레이스를 코딩하며, 에르위니아(*Erwinia*) 파아지 vB_EamP-L1의 글라이코사이드 하이드롤레이스 (488 aa 중 45% 동일성)에 유사성을 보이며, 아미노산 258-594 부위는 셀룰레이스 (글라이코실 하이드롤레이스 패밀리에 5)(pfam00150)와 유사성을 나타낸다.
- [0168] 8. 6. ORF16
- [0169] 박테리오파아지가 코딩하는 디폴리머레이스는 세균 세포 표면에 존재하는 다당류를 파괴한다 (Hughes, 1998). ORF16 유전자 산물은 EPS-디폴리머레이스를 코딩하고, 에르위니아(*Erwinia*) 파아지 vB_EamP-L1의 EPS-디폴리머레이스 (684 aa 중 34% 동일성) 및 ΦEah1, ΦEa100, Era103와 같은 다른 E. 아밀로보라 박테리오파아지의 EPS-디폴리머레이스와 유사성을 나타낸다. ΦEp14 EPS-디폴리머레이스의 N-말단 (아미노산 8-82)은 calx-beta 도메인과 유사성을 나타낸다.
- [0170] 8. 7. ORF20
- [0171] ORF20은 *O. 인터미디움* (*intermedium*) LMG 3301의 OINT_3000033 (100 aa 중 45% 동일성) 및 시노리조비움(*Sinorhizobium*) 파아지 PBC5의 PBC5g14 (100 aa 중 41% 동일성)과 유사성을 나타낸다. ORF20은 테일의 파이버 단백질을 코딩한다.
- [0172] 8. 8. ORF27
- [0173] ORF27은 DNA 메틸레이스 또는 헬리케이스인 것으로 보이며, 아데닌 또는 사이토신과 같은 잔기에 메틸기를 가하거나 복제 이전 DNA를 푸는 역할을 한다. 가장 높은 유사성을 보인 것은 시노리조비움 파아지 PBC5의 추정 DNA 메틸레이스 (1662 aa 중 57% 동일성 및 935 aa 중 44% 동일성)이며, ORF27의 두 부분 (aa 1733-3337 및 aa 3999-4914)에서 유사성을 나타내었다. 이는 또한 세균 유래 DNA 메틸레이스 또는 헬리케이스와 유사성을 보였다.
- [0174] 8. 9. ORF28-32

[0175] 서열 분석에서 용균 카세트 (lysis cassette)는 ORF28 내지 ORF32로 구성된다. ORF28 및 ORF29는 기주 세포의 용균에 관여하는 것으로 추측되었다. ORF28에 의해 코딩되는 유전자의 산물은 슈도모나스 (*Pseudomonas*) 파아지 PaP1의 엔도라이신 (191 aa 중 99% 동일성; Sun et al., 2010)과 가장 높은 서열 유사성을 나타내었다. 엔도라이신 (Endolysin)은 세포벽의 펩타이드글라이칸을 파괴한다. 분비신호 서열 (secretory signal sequence)이 부족하면, 대부분의 엔도라이신은 침투성 단백질인 홀린 (holin)의 도움 없이 뮤레인 (murein)에 도달하지 못한다. 홀린과 엔도라이신은 2요소 세포 용균 시스템을 이루는데, 이 효소들은 이중쇄 DNA 파아지에 의해 코딩된다. 홀린은 보통 1차 구조에 따라 두 종류로 분류된다. I 종 홀린 (Class I holins)은 세 개의 트랜스멤브레인 도메인을 가지며, 반면 II 종 홀린은 두 개의 트랜스멤브레인 도메인을 가진다 (Young, 2000). ORF29에서 추정되는 아미노산 서열은 슈도모나스 브라시카세아룸 아속 (*Pseudomonas brassicacearum* subsp.) 브라시카세아룸 (*brassicacearum*) NFM421의 PSEBR_cmegm96 (117 aa 중 32% 동일성)과 유사성을 보인다. ORF29의 개시코돈은 앞쪽 (upstream)에 위치한 엔도라이신 유전자의 종결코돈과 하나의 뉴클레오타이드가 겹친다. 이는 It revealed that the ORF29 N-말단에 하나의 트랜스멤브레인 도메인이 있으며, C-말단 서열에 전하가 많아 홀린 서열과 결합하기에 좋은 특징을 나타낸다 (도 8). 따라서, ORF29에 의해 코딩된 산물은 홀린의 좋은 후보자가 될 수 있다. ORF30에서 추정되는 아미노산 서열은 *P. syringae* pv. *syringae* B728a로부터 추정되는 리포프로테인 (94 aa 중 33% 동일성)과 유사성을 나타낸다. ORF30에 의해 코딩되는 산물은 테이타베이스 내에서 알려진 홀린 서열과는 서열 유사성이 없음에도 불구하고 다른 홀린으로서 기능할 것으로 예상된다. 이것도 또한 홀린 서열 즉, 하나의 트랜스멤브레인 도메인과 C-말단 부분의 하전된 잔기와 관련된 대부분의 특징들을 나타낸다(도 9). ORF31은 *Xenorhabdus nematophila* ATCC19061의 XNC1_1187 (146 aa 중 50% 동일성), *Rahnella* sp. Y9602의 라이신 단백질 (174 aa 중 42% 동일성), *X. bovienii* SS-2004의 엔도캡티테이즈 (143 aa 중 47% 동일성) 및 몇몇 파아지의 추정 Rz 엔도캡티테이즈와 유사성을 나타내며, 보존 도메인 탐색 결과 아미노산 91 내지 185 유래 파아지 용균 도메인 (pfam03245, 9.93e-12)으로 밝혀졌다. ORF31이 코딩하는 산물은 하나의 트랜스멤브레인 도메인과 C-말단의 많이 대전된 (highly charged) 친수성 부분이다 (도 10). ORF32는 ORF31의 +1 리딩 프레임 내에 완전히 포함된 유전자 산물로서 (도 11), NCBI의 ORF finder를 통해 확인되었으며, GeneMark 및 Glimmer 프로그램으로는 발견되지 않았다. 이것은 101개의 아미노산 폴리펩타이드를 코딩하며, 프롤린 잔기를 많이 포함하고 (101개 잔기 중 18개), *E. coli* O103:H2 str. 12009의 추정 리포프로테인 Rz1 전구체 (74 aa 중 47% 동일성)와 유사성을 보인다. 위에 언급한 바와 같이, ORF31은 하나의 트랜스멤브레인 도메인과 하전된 C-말단 서열을 가지며, 몇몇 파아지 유래 추정 Rz 엔도캡티테이즈와 유사성을 나타내며, 특히 ORF32에 포함되어 있다. 그러므로, 이는 ORF31이 Rz 단백질에 대응함을 암시한다.

[0176] 8. 10. ORF33

[0177] ORF33의 산물은 파아지 인테그레이즈 (integrase)로 확인되었다. 이것은 *Mesorhizobium loti* MAFF303099의 인테그레이즈 후보자 (probable integrase) (365 aa 중 68% 동일성), *Bradyrhizobium* sp. BTAi1의 추정 인테그레이즈 (365 aa 중 67% 동일성), *Oligotropha carboxidovorans* OM5의 추정 인테그레이즈 (365 aa 중 67% 동일성) 및 *Afipia* sp. 1NLS2의 인테그레이즈 패밀리 단백질들 (365 aa 중 67% 동일성)과 매우 현저한 유사성을 보이며 보존적인 멀티도메인 INT_P4 (박테리오파아지 P4 인테그레이즈; cd00801, 1.19e-38)를 코딩하는데, 이는 잠재성 파아지, 삽입 플라스미드, 병원성 유전자 섬 및 공생 유전자 섬, 및 다른 이동성 유전자 요소들에서 발견된다. P4 인테그레이즈는 파아지 게놈과 박테리아 유전자에 위치하는 접합 부위 간의 삽입 및 제거 부위 특이적 재조합 반응을 매개한다. 또한, DNA 절단-재결합 효소, 인테그레이즈, 리콤비네이즈의 INT_REC_C (cd01182, 1.41e-15) C-말단 촉매 도메인은 파아지 ϕ Ep14 인테그레이즈 내에 존재한다. 파아지 람다와 같이, ORF33은 유전자 지도 상에서 왼쪽으로 전사되는데, 다시 말하면, 파아지의 대부분의 유전자와 반대방향으로 유전자 클러스터 내에 존재한다 (도 7).

[0178] 8. 11. ORF35

[0179] ORF35는 HTH_17 (pfam12728, 9.27e-05)의 DNA-결합 나선-접힘-나선 도메인 (helix-turn-helix domain) 을 코딩하는데, 이는 전사 조절자로서 기능을 수행한다. 이것은 *Xanthobacter autotrophicus* Py2의 Xaut_0732 (67 aa 중 58% 동일성)와 유사성을 나타낸다.

[0180] 8. 12. ORF43 및 ORF44

[0181] ORF43과 ORF44는 N-말단 (aa 17-62)에 HTH_XRE 모티프 (smart00530, 4.62e-05) 및 C-말단 (aa 131-169)에 HTH_IcIR (pfam09339, 2.36e-05)의 IcIR 나선-접힘-나선 도메인을 각각 포함한다. ORF43이 코딩하는 유전자 산물은 *Burkholderia* 파아지의 Bcep22gp13 (174 aa 중 40% 동일성)과 유사성을 나타내며, ORF44는 *Neisseria meningitidis* MC58의 NMB2094 (72 aa 중 36% 동일성)와 유사성을 나타낸다.

[0182] 8. 13. ORF51

[0183] ORF51은 아데닌-특이적 DNA 메틸레이즈를 코딩하며, *Pantoea* 속 aB의 MT-A70 패밀리 단백질 (203 aa 중 65% 동일성) 및 *Enterobacter hormaechei* ATCC 49162의 아데닌-특이적 DNA 메틸레이즈 (207 aa 중 60% 동일성)과 유사성을 나타낸다. MT-A70은 인간 mRNA 및 m6A 메틸트랜스퍼레이즈 (A-MTase)의 S-아데노실메티오닌-결합 서브유닛이며, mRNA 전구체 내에서 서열 특이적으로 아데닌을 메틸화한다.

[0184] 8. 14. ORF53

[0185] ORF53은 파아지 O 패밀리 단백질인 것으로 보이며, *Y. pseudotuberculosis* IP 32953의 YPTB1793 (300 aa 중 44% 동일성), *Pantoea ananatis* AJ13355의 파아지 오리진 유래 추정 전사 조절자 (148 aa 중 55% 동일성) 및 *E. pyrifoliae* Ep1/96의 파아지 O 패밀리 단백질 (153 aa 중 53% 동일성)과 유사성을 나타낸다.

[0186] 9. 파아지 ϕ Ep14 셀룰레이즈 유전자의 발현

[0187] 650 bp 조각을 Cel15F1 및 Cel15R 프라이머를 이용하여 증폭하였다. PCR 산물은 벡터 pUC18 및 pUC19 내로 삽입되었다. 그 결과 얻어진 재조합 플라스미드는 각각 pCel15F1과 pCel15F1R로 표시하고, *E. coli* JM109에 도입되었다. pCel15F1R은 전사 방향이 반대이다. pCel15F1, pCel15F1R 또는 pUC18을 함유한 *E. coli* JM109를 1% CMC 및 100 μ g/ml의 앰피실린을 함유한 LB 한천 플레이트에서 배양한 후 0.1% 콩고 레드 용액으로 플레이트를 염색하고, 1M NaCl로 탈색하였다. 플라스미드 pCel15F1은 셀룰레이즈 활성을 나타내었고, pCel15F1R은 약한 활성을 나타내었다 (도 12).

[0188] 10. 파아지 ϕ Ep14 엑소폴리사카라이드-디폴리머레이즈의 일부 특성 규명

[0189] 10. 1. 서열 분석

[0190] ϕ Ep14 ORF16은 *Pantoea* 파아지 및 *E. amylovora* 박테리오파아지의 EPS-디폴리머레이즈와 밀접한 관련이 있다. ORF16에 의해 코딩되는 EPS-디폴리머레이즈는 *Erwinia* 파아지 vB_EamP-L1의 같은 효소 (51% 유사성, 34% 동일성; Born et al., 2011), *Pantoea* 파아지 LIMelight의 같은 효소 (50% 유사성, 33% 동일성; Adriaenssens et al., 2011), *Erwinia* 파아지 Φ Ea1h의 같은 효소 (50% 유사성, 33% 동일성; Kim and Geider, 2000; Muller et al., 2011a), *Erwinia* 파아지 Φ Ea100의 같은 효소 (49% 유사성, 33% 동일성; Muller et al., 2011a), 및 *Erwinia* 파아지 Era103의 같은 효소 (49% 유사성, 33% 동일성; Vandenberg and Cole, 1986)와 현저한 유사성을 나타낸다. vB_EamP-L1, LIMelight, Φ Ea1h, Φ Ea100 및 Era103 유래 EPS-디폴리머레이즈들은 ORF16의 배열에서 구조적으로 보존된 부분을 공통적으로 가진다 (도 13).

[0191] 10. 2. EPS-디폴리머레이즈 유전자의 발현

[0192] 프라이머 Dpo16K 및 Dpo16L을 이용하여 약 2,835 bp 크기의 조각을 증폭하였다. *lac*-프로모터의 제어 하에 프로모터 없는 유전자를 발현시키기 위해 PCR 산물을 벡터 pBGS18 및 pUC18 내로 클론하였다. *lac*-프로모터에 반하여, 이것을 pUC19 내로 서브클론 하였다. 재조합 플라스미드로 *E. pyrifoliae*를 형질변환하기 전에 EPS-디폴리머레이즈 유전자가 *lac*-프로모터의 제어 하에 *E. pyrifoliae* 내로 전사될 수 있는지를 시험하였다. pBGS18 또는 pUC18 내에서 *lac*-프로모터 제어 하에 녹색형광단백질 (Green Fluorescence protein; GFP) 유전자는 전자천공을 이용하여 *E. pyrifoliae* Ep16/96 균주 내로 도입되었다. 모든 *E. pyrifoliae* Ep16/96 세포에서 GFP가 발현

되었고 (도 14), 이는 *E. pyrifoliae* 내에서 *lac*-프로모터가 EPS-디폴리머레이즈 유전자를 성공적으로 전사함을 가리킨다. 제조합 플라스미드 pUC18-Dpo16F 및 pUC19-Dpo16F는 *E. pyrifoliae* Ep16/96 균주 내로 전기형질변환 되었고, pBGS18-Dpo16F는 단옥수수과 옥수수에 스튜어트 세균 시들음병과 잎마름병의 원인균인 *P. stewartii* 아속 *stewartii* KACC10085 내로 전기형질변환되었다. 1% 글루코스 함유 NA 플레이트에서 배양하면, *E. pyrifoliae* Ep16/96 균주 (pUC18-Dpo16F)는 점액이나 분비물을 생산하지 않았던 반면 (도 15B), pUC18 또는 pUC19-Dpo16F가 하보링된 균주에 의해서는 점액과 분비물이 생산되었다 (도 15A 및 15C). 따라서, 이러한 결과는 *E. pyrifoliae*에서 유리되는 엑소폴리사카라이드가 EPS-디폴리머레이즈에 의해 분해됨을 가리킨다. *E. pyrifoliae* 유래 엑소폴리사카라이드 (피리폴란; pyrifolan) 및 *P. stewartii* 유래 엑소폴리사카라이드의 반복 단위의 구조는 유사하다 (Kim et al., 2002; Nintz et al., 1996). Φ Ep14 EPS-디폴리머레이즈가 스튜어탄 (stewartan; *P. stewartii*의 엑소폴리사카라이드)을 분해하는지 시험하기 위해, *P. stewartii* 아종 *stewartii* KACC10085를 pBGS18-Dpo16F로 형질변환시켰다. *P. stewartii* 아종 *stewartii* KACC10085 균주 (pBGS18-Dpo16)는 노랑고 끈적이는 점액을 생성하지 않았고 (도 16B), 반면 대조군 플라스미드 pBGS18이 하보링된 균주는 점액을 생성하였다 (도 16A).

[0193] 11. Φ Ep14 엔도라이신 특성 규명

[0194] 11. 1. 서열 분석

[0195] Φ Ep14 게놈의 41,947-41,537 뉴클레오타이드에 위치한 엔도라이신 유전자는 197 aa 단백질을 코딩하며, 계산된 분자량은 21.8 kDa이며, 예측 pI는 9.18이다. 이것은 *Pseudomonas* 파아지 PaP1 유래 엔도라이신 (67% 유사성, 49% 동일성; Sun et al., 2010), *Pseudomonas* 파아지 PAK_P1 유래 pg077 (67% 유사성, 49% 동일성; Debarbieux et al., 2010), *Pantoea* 중 aB 유래의 보존적 이론 단백질 (conserved hypothetical protein)(66% 유사성, 49% 동일성) 및 *Pseudomonas* 파아지 JG004의 엔도라이신 (66% 유사성, 48% 동일성; Garbe et al., 2011)과 유사성을 가진다.

[0196] 11. 2. Φ Ep14 엔도라이신 유전자의 클로닝 및 발현

[0197] 프라이머 Lys28F 및 Lys28R을 이용하여 PCR로 유전자를 증폭하여 발현벡터 pQE30에 끼워넣었다. 얻어진 플라스미드를 pLys28이라고 명명하고, *E. coli* M15 (pREP4)에 형질변환하였고, 세포 밀도 (A_{600}) 0.5에서 IPTG를 가하여 엔도라이신 생산을 유도하였다. *E. coli* M15(pREP4, pLys28) 세포의 총 단백질 추출물은 IPTG 유도 후 다양한 시간 간격 (0-4 hr)을 두어 SDS-PAGE로 분석하였다. 예상 분자량 약 23 kDa의 제조합 융합 단백질이 발현되었다 (도 17).

[0198] 11. 3. Φ Ep14 엔도라이신의 활성

[0199] 11. 3. 1. 자이모그램 분석

[0200] 세균 세포벽에 대한 Φ Ep14 엔도라이신의 용균 활성을 조사하기 위해 자이모그램 분석을 수행하였다 (도 18). IPTG로 유도된 *E. coli* M15(pREP4, pLys28)의 총 단백질 추출물은 멸균된 *E. pyrifoliae* 또는 *B. polyfermenticus* SCD 세포를 함유하는 SDS-폴리아크릴아마이드 젤에서 분리되었다. 젤 복원 (renaturation) 후, 하나의 투명 띠가 약 23 kDa에서 발견되었는데 (도 18, 레인 4 및 6), 이는 SDS-PAGE에 의해 나타난 제조합 엔도라이신의 크기와 일치하였다.

[0201] 11. 3. 2. 한천 웰-확산 분석 (Agar well-diffusion assay)

[0202] pLys28 또는 pQE30이 하보링된 *E. coli* M15(pREP4)의 유도된 배양액을 감압동결건조된 *M. lysodeikticus* 세포를 함유한 한천 플레이트 홀에 가하였다. 제조합 엔도라이신 단백질을 함유한 홀 주위에 투명한 부분이 관찰된 반면 (도 19A), 대조군 용해물은 용균 효과가 관찰되지 않았다 (도 19B).

[0203] 11. 3. 3. 항균활성 분석

- [0204] Φ Ep14 엔도라이신을 외부에서 넣어주었을 때 성장 억제를 유도할 수 있는지를 시험하기 위해 *E. coli* M15(pREP4, pLys28) 용해물을 생균 *E. pyrifoliae* Ep16/96이 있는 한천 플레이트 상에 스팟팅하였다. 이 효소는 *E. pyrifoliae*의 성장을 직접적으로 억제하지는 못하였다 (도 20).
- [0205] **12. Φ Ep14 Rz 단백질 특성 규명**
- [0206] **12. 1. Φ Ep14 Rz 유전자 클로닝 및 발현**
- [0207] Rz 유전자를 PCR로 증폭한 다음 발현 벡터 pQE30에 클론하였다. 얻어진 플라스미드 pQE30-Rz를 *E. coli* M15(pREP4)에 도입하여 OD₆₀₀ 값이 0.5일 때 IPTG를 가하여 Rz 유전자 발현을 유도하였다 (도 21). IPTG 유도 후 *E. coli* 균주 M15(pREP4, pQE30-Rz)의 세포 성장이 억제되었고, 배양액에서는 세포 용균 현상이 나타났다. 유도되지 않은 쪽과 유도된 M15(pREP4, pQE30)의 배양액에서 성장에는 차이가 없었다.
- [0208] **12. 2. Rz 단백질 생산에 필요한 요건**
- [0209] 처음에 *E. coli* 균주 DH5 α 는 재조합 플라스미드 선택용 클로닝 호스트 균주로 이용되었다. 앰피실린 함유 LB 플레이트 상에서 선택되었을 때 모든 저항성 콜로니에는 pQE30이 있었다. Rz 유전자의 발현이 *E. coli* DH5 α 세포에 치명적일 것으로 예측되었다. 재조합 플라스미드 선택은 *E. coli* JM109 균주로도 가능했는데, 이는 pQE30-Rz를 하보링한 세포에 *lac* 억제자가 필요함을 가리키며, 플라스미드 pQE30-Rz가 *E. coli* M15(pREP4) 내로 도입되었다. *lac* 억제자 유전자를 가진 플라스미드 pREP4는 Rz 단백질에 의한 세포 손상을 피하기 위해 IPTG가 없을 때 pQE-플라스미드 내에서 *lac*-프로모터를 억제하는 것이 중요하다. *E. coli* M15(pREP4, pQE30-Rz)가 앰피실린만을 함유한 배지에서 성장할 때 유도된 세포 용해물은 활성을 나타내지 않았으며 (도 22B), 이는 앰피실린과 카나마이신을 함유한 배지에서와 대조적이었다 (도 22C). pET15b에는 *lac* 억제자와 앰피실린-저항성 유전자가 있다. 유도된 *E. coli* BL21(DE3) (pET15b-Rz) 용해물도 마찬가지로 활성이 없었다. 카나마이신-카셋을 함유하는 pET15b-RzKm이 하보링된 BL31(DE3)이 앰피실린과 카나마이신을 포함하는 배지에서 성장하였고, 유도된 용해물은 활성을 나타내었다. 이러한 결과들을 표 18에 요약하였다.
- [0210] **12. 3. 플레이트 성장 억제 분석 (Plate growth inhibition assay)**
- [0211] Φ Ep14 Rz 단백질에 영향을 받는 세균 균주를 조사하기 위해, 성장저해분석을 수행하였다. 시험된 대부분의 세균 균주들은 Φ Ep14 Rz 단백질에 민감하였으나, 카나마이신 저항성 유전자를 발현하는 모든 균주들과 *Delftia acidovorans* KACC10255는 영향을 받지 않았으며, 네 개의 균주만이 약간 민감하였다: *B. cepacia* KACC10167, *P. chlororaphis* KACC10216, *P. fluorescens* ATCC31948 및 *R. radiobacter* KACC10798 (표 19 ~ 표 26).

표 18

Strains and plasmids	Relevant characteristics	Growth condition and reaction ^a
M15(pREP4, pQE30-Rz)	Ap ^R , pREP4 with Km ^R	LB with Ap and Km; +
M15(pREP4, pQE30-Rz)	Ap ^R , pREP4 with Km ^R	LB with Ap, without Km; -
BL21(DE3)[pET15b-RzKm]	Ap ^R , insertion of Km-cassette ^b into pET15b-Rz	LB with Ap and Km; +
BL21(DE3)[pET15b-RzKm]	Ap ^R , insertion of Km-cassette ^b into pET15b-Rz	LB with Ap, without Km; -
BL21(DE3)[pET15b-RzCm]	Ap ^R , insertion of Cm-cassette ^c into pET15b-Rz	LB with Ap and Cm; -
BL21(DE3)[pET15b-RzKmCm]	Ap ^R , Km ^R , insertion of Cm-cassette ^c into pET15b-RzKm	LB with Ap, Cm, Km; +

^a Symbols; +, present; -, absent

^b Km-cassette from pKan

^c Cm-cassette from pSup104

[0212]

[0213] 12. 4. 배양액에서 *E. pyrifoliae* 성장 저해

[0214]

유도된 *E. coli* M15(pREP4, pQE30-Rz)에서 얻어진 세포 용해물을 2 ml의 접종시 ca. 1.3×10^6 cfu인 *E. pyrifoliae* Ep16/96 배양액에 가하였고, 세포 성장은 광학 밀도 (A_{600})를 측정하여 모니터링하였다. 도 23과 같이, 세포 성장은 세포 용해물의 양에 의존적이었고, 반면 대조군 균주 M15(pREP4, pQE30)의 용해물은 세포 성장 저해에 아무런 영향도 없었다. 비록 M15(pREP4, pQE30-Rz) 용해물 유래 단백질을 50 μ g을 가하여 배양 24시가 후까지 세포 성장이 저해되었더라도, 세포 생존율은 회복되었다. 75 μ g의 단백질을 함유하는 배지에서 세포 성장은 완전히 파괴되었고, 배양 후 72 시간 동안 배양액을 플레이팅해도 한천 상에 콜로니가 형성되지 않았다 (표 27).

표 19

Strain	Relevant characteristics, reference, source	Reaction ^a
<i>Erwinia pyrifoliae</i>		
Ep1/96	Wild-type	+
Ep1/96 (pBGS18)	Km ^R	-
Ep4/97	Wild-type	+
Ep8/95	Wild-type	+
Ep12/96	Wild-type	+
Ep16/96 ^T	Wild-type	+
Ep16/96 (pBGS18)	Km ^R	-
Ep16/96::Tn5	Km ^R , Random Tn5 insertion	-
Ep16/96-cpsBm1	cpsB, Km ^R	-
Ep28/96	Wild-type	+
Ep102/98	Wild-type	+
<i>E. amylovora</i>	KACC 10060 ^T	+
<i>Escherichia coli</i>		
BL21(DE3)	Novagen	+
JM109	Promega	+
Sure	Km ^R , Tc ^R	-
SG13009(pREP4)	Km ^R , Qiagen	-
M15(pREP4)	Km ^R , Qiagen	-
DH5α	Takara	+
DH5α (pBGS18)	Km ^R	-
TG1		+
HB101		+

[0215]

표 20

Strain	Relevant characteristics, reference, source	Reaction ^a
<i>E. coli</i>		
XL1-Blue	Stratagene	+
Top10	Invitrogen	+
<i>E. vulneris</i>	KCCM40420 ^T	+
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> LBA4404	Lab. stock	+
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	KACC 11541 ^T	+
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	KACC 10645 ^T	+
<i>Brenneria salicis</i>	KACC 10049 ^T	+
<i>Burkholderia cepacia</i>	KACC 10167 ^T	(+)
<i>B. gladioli</i>	KACC 11889 ^T	+
<i>B. glumae</i>	KACC 10359	+
<i>Chromobacterium violaceum</i>	KACC 11542	+
<i>Delftia acidovorans</i>	KACC 10255	-
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	KACC 10528 ^T	+
<i>E. cloacae</i> subsp. <i>dissolvens</i>	KACC 10526 ^T	+
<i>E. pyrinus</i>	KCTC 2520	+
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	KCCM 11653	+
<i>E. mallotivora</i>	KACC 10548	+
<i>E. persicina</i>	KACC 10053 ^T	+
<i>E. psidii</i>	KACC 10086 ^T	+
	KACC 10533	+

[0216]

표 21

Strain	Relevant characteristics, reference, source	Reaction ^a
<i>E. rhapontici</i>	KACC 10050 ^T	+
	KACC 10531	+
<i>E. tracheiphila</i>	KACC 10084 ^T	+
<i>Erwinia</i> sp.	KACC 10206	+
	KACC 10207	+
	KACC 10252	+
	KACC 10257	+
	KACC 10263	+
	KACC 10296	+
	KACC 10297	+
	KACC 10299	+
	KACC 10300	+
	KACC 10301	+
	KACC 10344	+
	KACC 10369	+
	KACC 10370	+
	KACC 10403	+
<i>Klebsiella pneumonia</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	KACC 11402 ^T	+
<i>Pantoea agglomerans</i>	KACC 10253	+
	KCTC 2479	+
<i>P. ananatis</i>	KACC 10059 ^T	+
<i>P. citrea</i>	KCTC 12451	+
<i>P. stewartii</i> subsp. <i>stewartii</i>	KACC 10085 ^T	+
	KACC 10529	+

[0217]

표 22

Strain	Relevant characteristics, reference, source	Reaction ^a
<i>Pectobacterium atrosepticum</i>	KACC 10463	+
	KACC 10477 ^T	+
	KACC 10478	+
	KACC 10532	+
	KACC 10567	+
<i>P. betavasculorum</i>	KACC 10056 ^T	+
	KACC 10538	+
<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	KACC 10057 ^T	+
	KACC 10225	+
	KACC 10345	+
	KACC 10346	+
	KACC 10347	+
	KACC 10408	+
	KACC 10435	+
	KACC 10436	+
	KACC 10437	+
	KACC 10441	+
	KACC 10442	+
	KACC 10565	+
	KACC 10566	+
	KACC 11130	+
	KCCM11652 ^T	+
<i>P. carotovorum</i> subsp. <i>odoriferum</i>	KACC 10486	+
	KACC 12727 ^T	+

[0218]

표 23

Strain	Relevant characteristics, reference, source	Reaction ^a
<i>P. chrysanthemi</i>	KACC 10163	+
	KACC 10404	+
	KACC 10434	+
	KACC 10438	+
	KACC 10449	+
	KACC 10451	+
	KACC 10452	+
	KACC 10453	+
	KACC 10456	+
	KACC 10457	+
	KACC 10657	+
	KACC 10658	+
	KCTC 2569	+
	KACC 10061 ^T	+
<i>P. wasabiae</i>	KACC 10406	+
	KACC 10868	+
	KACC 10869	+
	KACC 10259 ^T	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KACC 10216	(+)
<i>P. chlororaphis</i>	ATCC 31948 ^T	+
<i>P. fluorescens</i> A506	KACC 10327	(+)
	KACC 10266 ^T	+
<i>P. putida</i>	KACC 10290 ^T	+
<i>P. syringae</i> pv. <i>maculicola</i>	KACC 11637	+

[0219]

표 24

Strain	Relevant characteristics, reference, source	Reaction ^a
<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	KACC 10134	+
	KACC 11639	+
<i>P. syringae</i> pv. <i>tabaci</i>	KACC 10388	+
<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>	KACC 10135	+
<i>Ralstonia solanacearum</i>	KACC 10814 ^T	+
	KACC 11166	+
	KACC 11167	+
	KACC 11168	+
	KACC 11170	+
<i>Rhizobium radiobacter</i>	KACC 10798 ^T	(+)
<i>R. rhizogenes</i>	KACC 10734 ^T	+
<i>Serratia liquefaciens</i>	KACC 11932 ^T	+
<i>S. marcescens</i>	KACC 10002	+
<i>S. quinivorans</i>	KACC 12326 ^T	+
<i>S. rubidasa</i>	KACC 12615 ^T	+
<i>Xanthomonas axonopodis</i>	KACC 12122	+
<i>X. citri</i>	KCTC 2499	+
<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	KACC 10884	+

[0220]

표 25

Strain	Relevant characteristics, reference, source	Reaction ^a
<i>Bacillus amyloliquifaciens</i> EXTN-1	KACC 12719	+
<i>B. amyloliquifaciens</i> IN937a	KACC 12710	+
<i>B. cereus</i> AP08	KACC 12700	+
<i>B. longisporus</i> AP115	KACC 12715	+
<i>B. megaterium</i> AP53	KACC 12701	+
<i>B. subtilis</i>		
AP40	KACC 12711	+
AP264	KACC 12702	+
GB03	KACC 12707	+
<i>B. pumilis</i>		
AP62	KACC 12708	+
AP70	KACC 12712	+
AP265	KACC 12703	+
AP266	KACC 12704	+
AP269	KACC 12706	+
<i>B. sphaericus</i> AP268	KACC 12705	+
<i>B. thuringiensis</i> AP73	KACC 12709	+
<i>Brevibacillus laterosporus</i>		
AP162	KACC 12713	+
AP177	KACC 12716	+
AP182	KACC 12717	+

[0221]

표 26

Strain	Relevant characteristics, reference, source	Reaction ^a
<i>Paenibacillus macerans</i> AP76	KACC 12714	+
<i>P. polymixa</i> E681	KACC 12720	+

^a Symbols; +, present (clear or turbid); (+), weak; -, absent.
 ATCC, American Type Culture Collection; KACC, Korean Agricultural Culture Collection; KCCM, Korean Culture Center of Microorganisms; KCTC, Korean Collection for Type Cultures. ^T, Type strain

[0222]

표 27

Soluble extract	Incubation time (hr)		
	24	48	72
Control	+	+	+
30 ug	+	+	+
50 ug	+	+	+
75 ug	—	—	—

+, Bacteria recovered; -, no bacteria recovered.

[0223]

[0224] 12. 5. β 갈락토시데이즈 분비

[0225] 앰피실린 함유 배지에서 배양된 *E. coli* BL21(DE3)(pET15b-Rz) 또는 BL21(DE3)(pET15b-RzKm) 세포들에 IPTG 유도 후 세포 성장 지체가 유도되었고 (데이터 나타내지 않음), 이는 세포막 손상이 원인이라고 생각된다. Rz 단백질이 세포막 손상 효과를 나타내는지를 알아보기 위해, 이러한 플라스미드가 하보링된 *E. coli* 균주들을 LB-X-Gal-IPTG를 함유한 한천 플레이트에서 배양하였다. Rz 유전자를 발현시키자 배지에 β 갈락토시데이즈가 분비되었다 (도 24). 이와 같은 결과들은 상기 성장 저해와 밀접한 관련이 있다.

[0226] 12. 6. 효소 활성

[0227] Φ Ep14 Rz 단백질이 효소 활성이 있는가를 알아보기 위해 기질로서 감압 동결건조한 *M. lysodeikticus* 세포를 이용하여 한천 웰-활산 분석을 수행하였다. 홀에 투명한 존이 나타나지 않았고, 열을 가하여 변성시킨 Rz 단백질 또한 투명 존이 없었다. 이 결과는 자연 상태 및 열 변성 상태의 Rz 단백질 모두 용균 활성을 나타내지 않음을 말해준다 (데이터 나타내지 않음).

[0228] 12. 7. 열 변성된 Rz 단백질의 항균활성

[0229] 짧은 시간 또는 긴 시간 열 변성시킨 후, Φ Ep14 Rz 단백질을 함유한 세포 용해물은 *E. pyrifoliae* Ep16/96 론 상에서 여전히 세포 성장 저해를 나타내었다 (도 25). 따라서, Rz 단백질의 항균활성은 온전한 단백질 구조에

의존적이지 않았다. ϕ Ea1h 라이소자임에 대해서도 유사한 결과가 보고되었다 (Salm and Geider, 2004). 그러나, Φ Ep14 Rz 단백질과 ϕ Ea1h 라이소자임 간의 서열 유사성은 매우 낮았다 (도 26).

[0230] 13. Φ Ep14 Rz1 단백질의 부분적 특성 규명

[0231] 13. 1. Φ Ep14 Rz1 유전자 클로닝과 발현

[0232] Φ Ep14 Rz1 유전자를 Rz 유전자 내의 +1 리딩 프레임에 완전히 끼워넣었다. 프라이머 Rz1F 및 Rz1R을 이용하여, 유전자를 PCR로 증폭시키고 플라스미드 pQE30에 클로닝하였다. 제조된 플라스미드 pQE30-Rz1을 *E. coli* M15(pREP4) 내로 도입하여 IPTG를 가하여 Rz1 유전자 발현을 유도하였다.

[0233] 13. 2. 플레이트 성장 저해 분석 (Plate growth inhibition assay)

[0234] IPTG로 유도한 후 M15(pREP4, pQE30-Rz1) 배양액에서 맑아진 세포 용균액을 제조하여 *E. pyrifoliae* Ep16/96 세포 문 상에서 저해 존의 형성을 시험하였다 (도 27). 용균액이 한천 상에 저해존을 형성하였다. 흥미롭게도 Rz1 유전자 발현은 Rz 유전자와 같이 활성 단백질 생산을 위해 배지 내에 필수적으로 카나마이신을 가해줄 필요가 있었다.

[0235] 13. 3. 효소 활성

[0236] Rz1 단백질이 뮤라미데이즈 (muramidase) 활성을 나타내는지를 확인하기 위해 감압 동결건조된 *M. lysodeikticus* 세포로 한천 웰-확산 분석을 수행하였다 (도 28). 홀 주위에 투명한 존이 관찰되지 않았다.

[0237] 13. 4. 열 변성된 Rz1 단백질의 항균 활성

[0238] 열 변성된 Rz1 단백질이 *E. pyrifoliae* Ep16/96의 성장에 미치는 영향을 조사하였다. 놀랍게도 이 단백질은 Rz 단백질과 같은 결과를 보여주었다 (도 29).

수탁번호

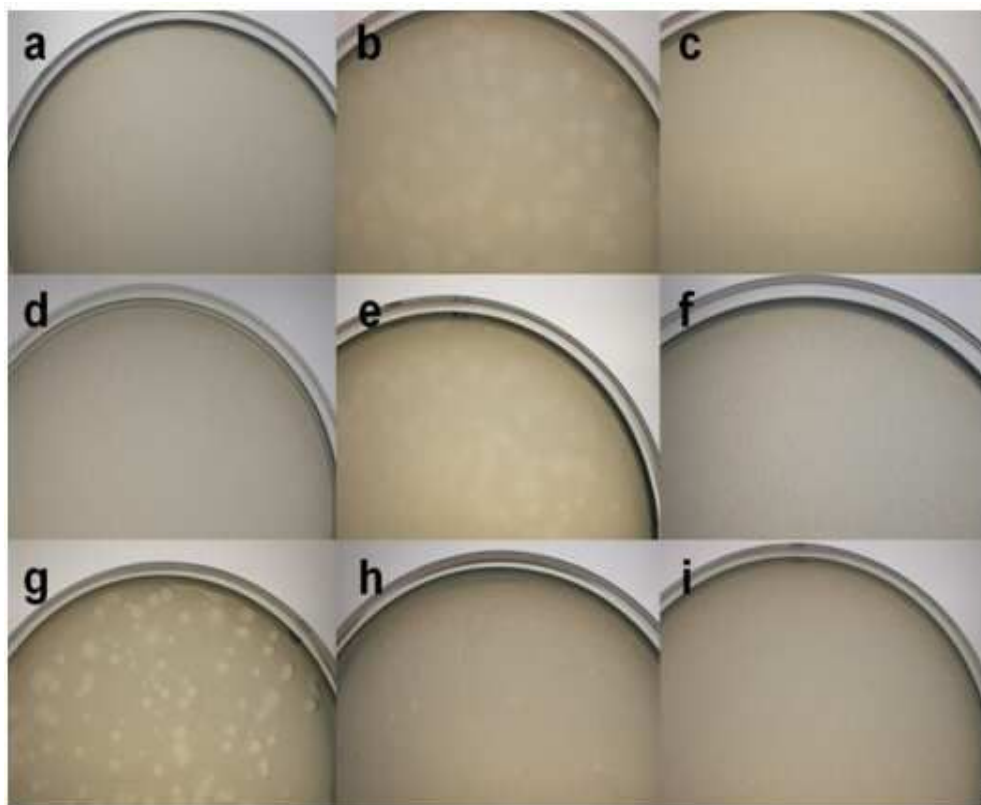
기탁기관명 : 국립농업과학원 농업유전자원센터

수탁번호 : KACC97010P

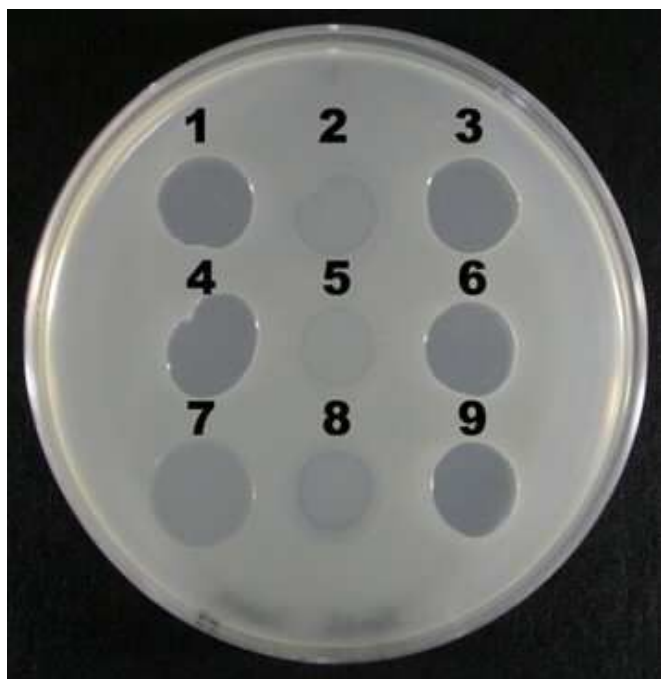
수탁일자 : 20111129

도면

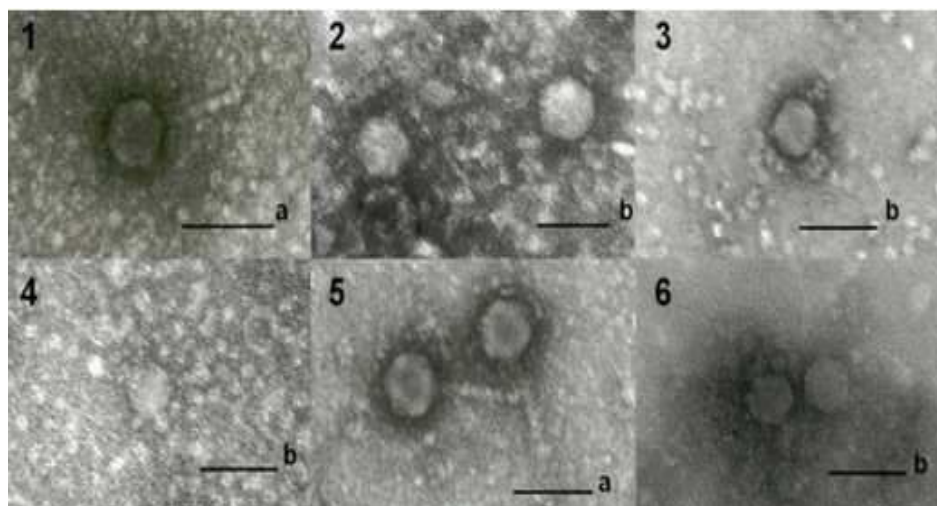
도면1



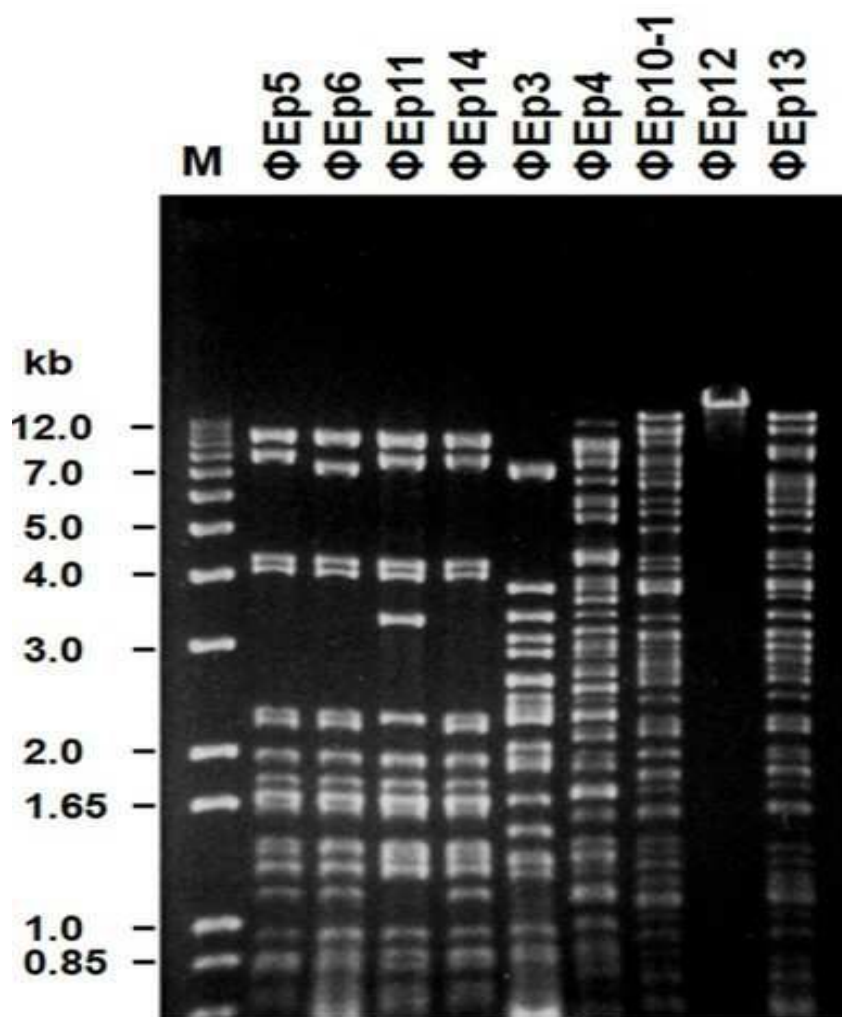
도면2



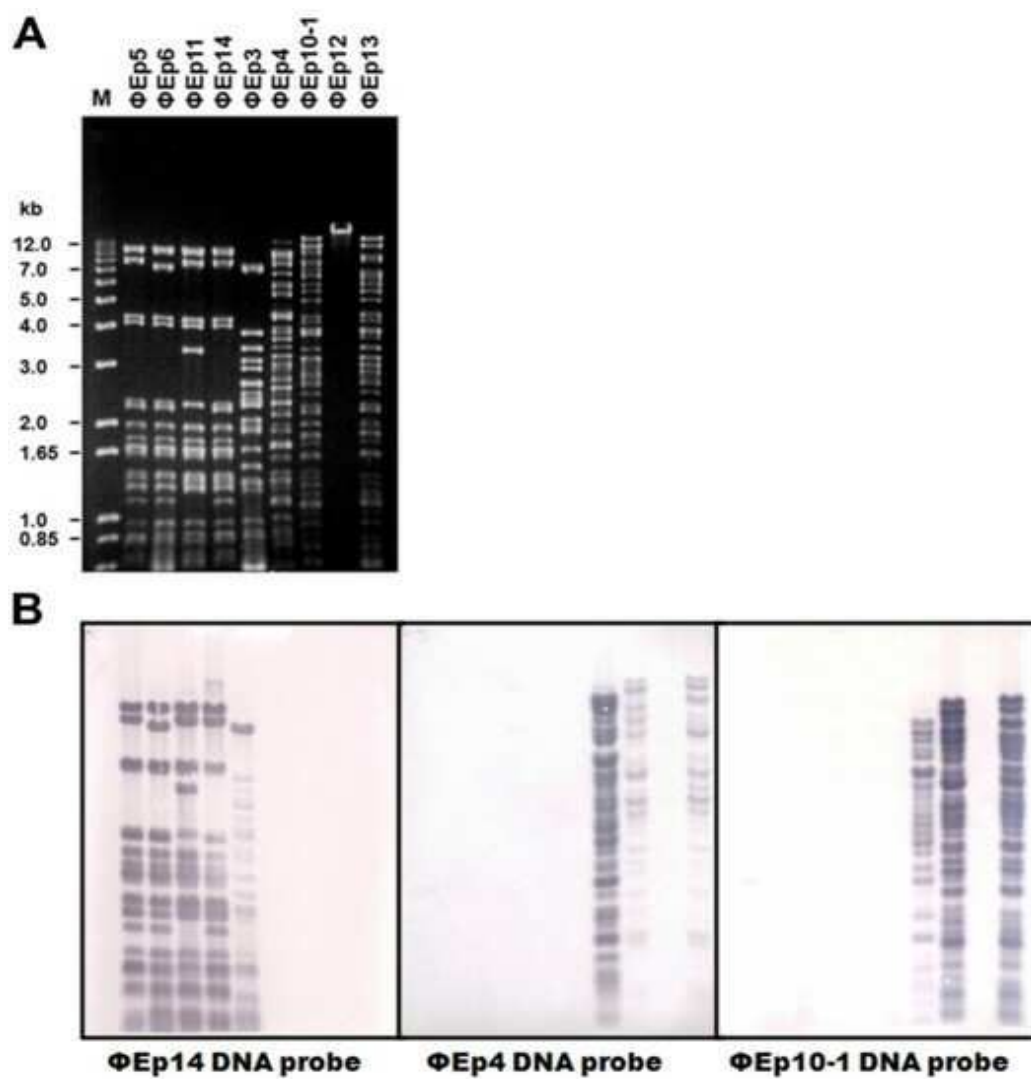
도면3



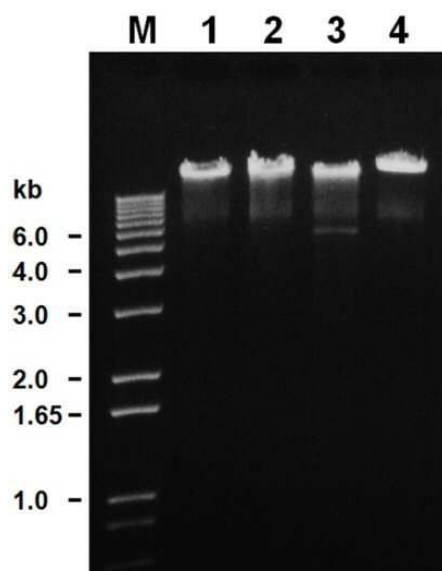
도면4



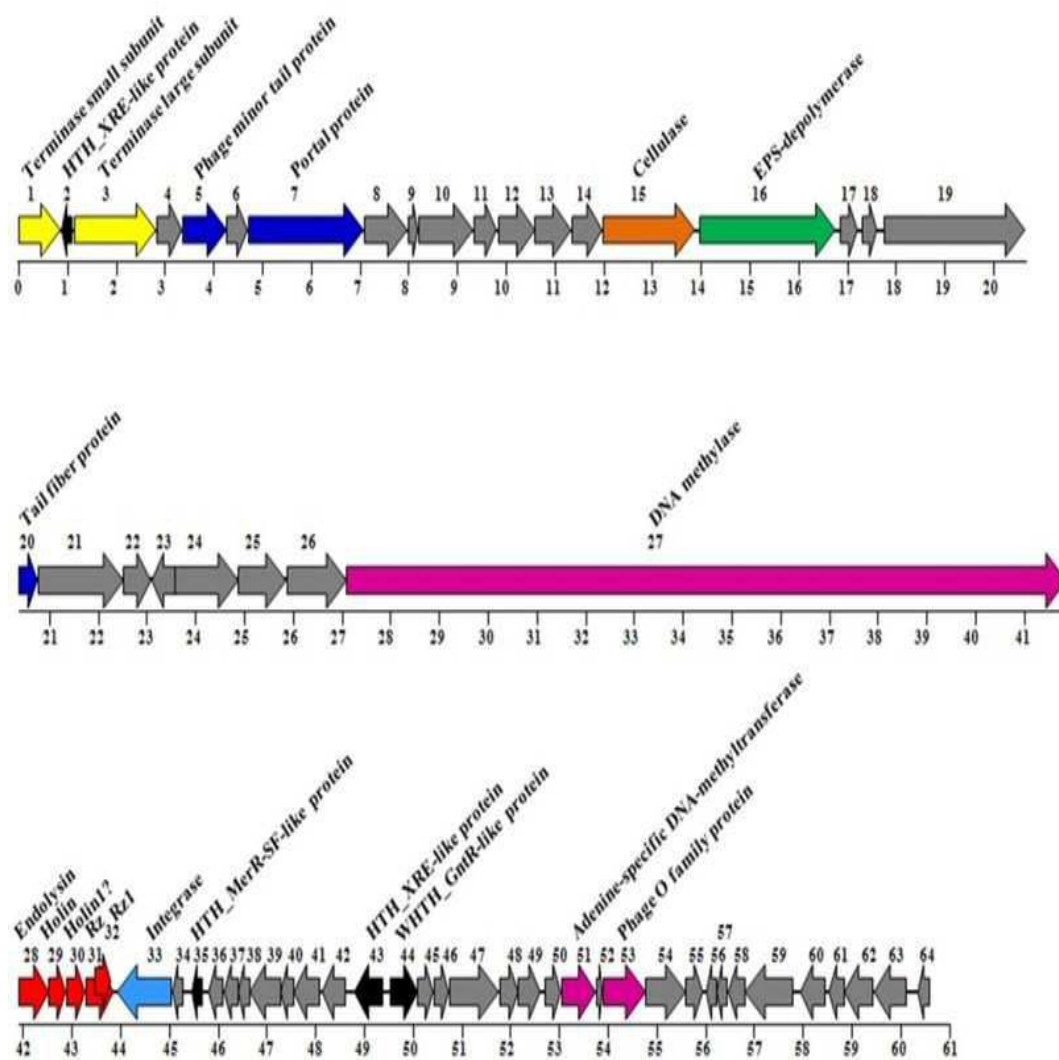
도면5



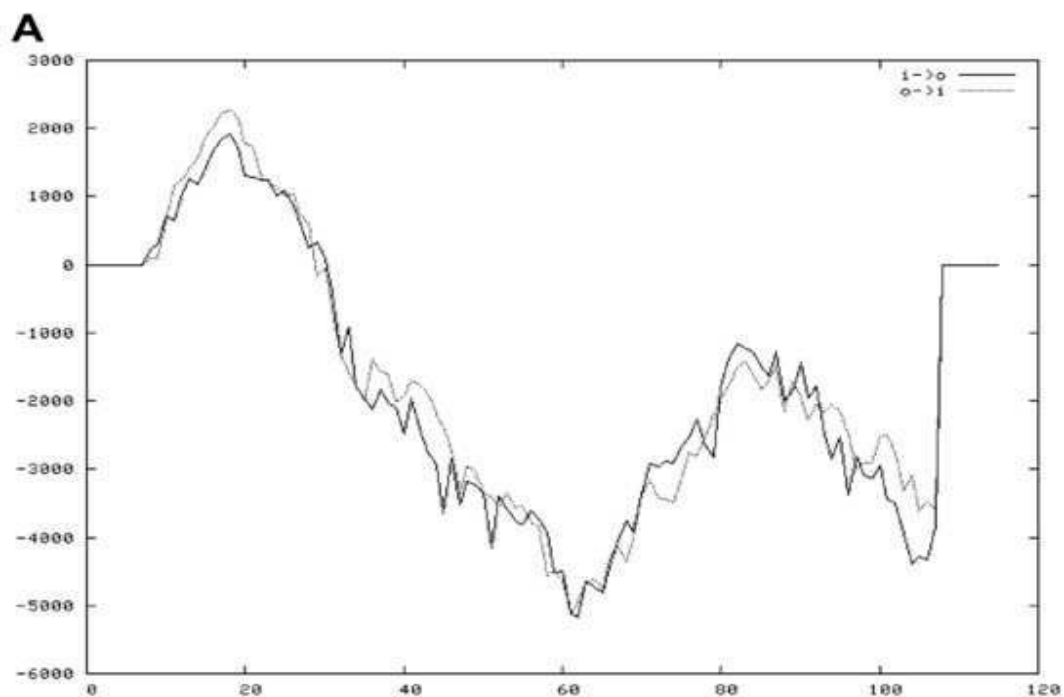
도면6



도면7



도면8

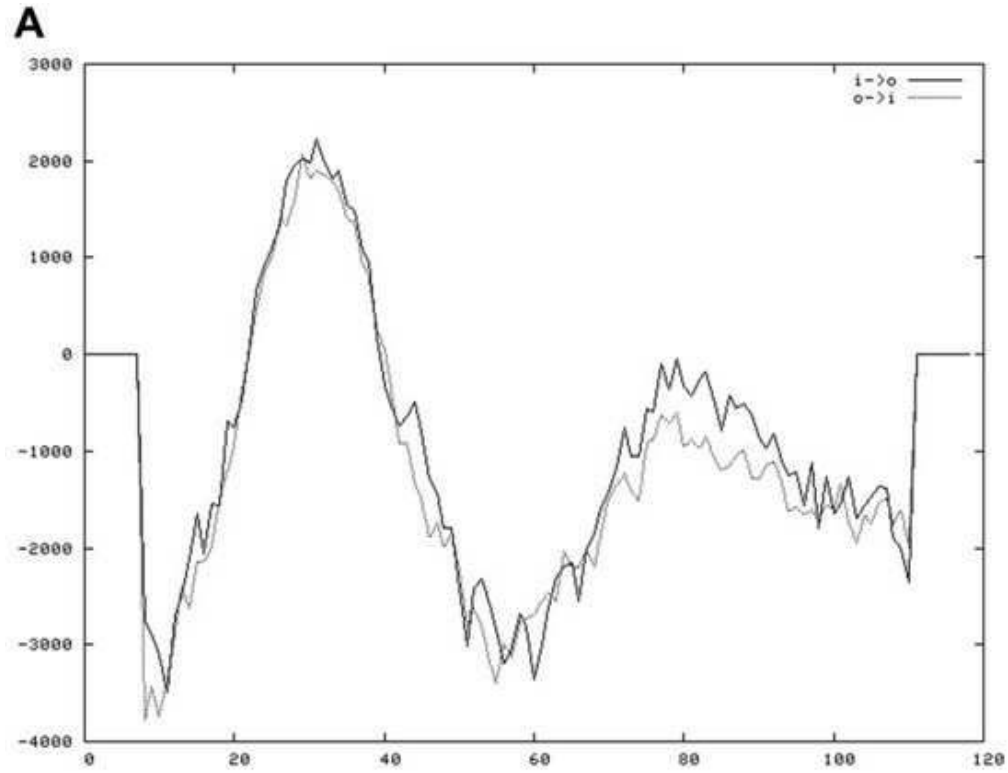


B

-- + --+ --+ - --++ +
MDDLTPPGGLWASLGVAVTGIVGGAIWL VQKLSSGSVDRA GDRAEVNII AVLQEERDKWR 60

- - -++ - -+ - - + - -+ -++ +
ELYTASEAEKRQYFQQFMEASSQV NLLTEKVSILTEQVEALKSEVERLNTALEKNR* 117

도면9



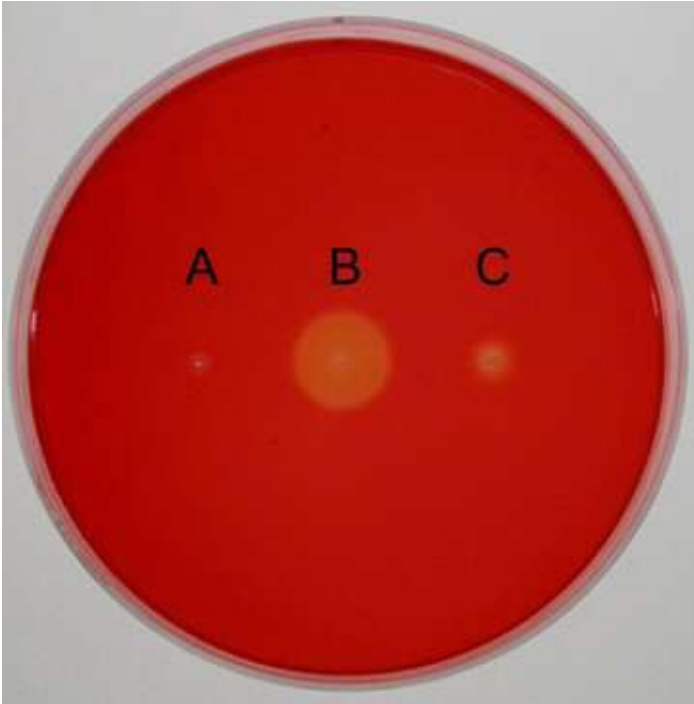
B

	+	-+	+	-		-	-	+		
MSHNHAGKQCPGDKSPWKS	<u>WEMWGLCFLVASGGIAGATITNYVYQND</u>								AHEQIAAVKTAY	60
--	+	+			-	+	-	-+		-+
EEAGKSRLQALTMCLNQTTGAANQAASAAIDAAAKASAAGEAADKAAAAVTAPNADVPR*										120

도면11

	<u>ATG</u> AGCCTCCTTTCCGCGAAGGCCAAAGCCGCCATTGCCGGCGGTGTGGTGCTGGTGGCC	60
Rz	M S L L S A K A K A A I A G G V V L V A	20
	GTTGCCGCTGGTGCCGGCGTGACCGGCAAGATCCTCTCTATCACCCACGCCCGCGACGTC	120
Rz	V A A G A G V T G K I L S I T H A R D V	40
	GCCAGCTGAAGCAGGAGCAGGCCGACGAACGCGCGCAGTGGGAGGCCGACAAGGCCGCC	180
Rz	A Q L K Q E Q A D E R A Q W E A D K A A	60
	ATATCGAAGAAGGCGCAGCAGGACACCGACGCCGCTTA <u>TGCC</u> CGCACGAAGGCCCGCGCAG	240
Rz	I S K K A Q Q D T D A A Y A R T K A A Q	80
Rz1	M P A R R P R R	8
	GACGCACTGGCCGCCCTCGATGCGCAAAAATCACAGGAACTGGCCGATGCCGAACGTGAA	300
Rz	D A L A A L D A Q K S Q E L A D A E R E	100
Rz1	T H W P P S M R K N H R N W P M P N V K	28
	AACTCTGATCTGCGCGATGCTGTTGCCGCTGGCGATAAGCGGGTGCGCATCCTCTCCGCG	360
Rz	N S D L R D A V A A G D K R V R I L S A	120
Rz1	T L I C A M L L P L A I S G C A S S P R	48
	AACCTCGCCACAGCCAGCTTACAGCCCGTCAGCACGCCGCGAGGCCGAAATCCCAGCGCC	420
Rz	N L A T A Q L T A R Q H A A G R N P S A	140
Rz1	T S P Q P S L Q P V S T P Q A E I P A P	68
	GGCAGCGTGGGCGATGGAGCCGCACTCGAACTCTCTACCGCTGCTGGACAGCGTGTCTC	480
Rz	G S V G D G A A L E L S T A A G Q R V L	160
Rz1	A A W A M E P H S N S L P L L D S V F S	88
	GATCTCCGCGCCGGAATCATCCGGGACAACGCCAAAA <u>TAG</u> ACTACCTGCAAGGCTACGTC	540
Rz	D L R A G I I R D N A K I D Y L Q G Y Y	180
Rz1	I S A P E S S G T T P K *	101
	CGCGACGTGGTTGGGCGAGTGAAGCGC <u>TAA</u>	570
Rz	R D V V R Q C K R *	190

도면12



도면 13a

ΦEp14_dpo	MAKSLV GATTALFVVR LSTPVTEKVTVAVWQTE DGTGHAGI DY EAAAGTVEFAPGETEKG I	60
ΦvB_EamP-L1_dpo	-----MADQST IVEIPLTSATRAV T I P-----FDYL TRSAV V--	32
ΦLIMElight_dpo	-----MANSWQTETGKAGQYT IWN I PYLSRSD I YVY IAGTQKS--	39
ΦEalh_dpo	-----	
ΦEal00_dpo	-----	
ΦEral03_dpo	-----	

ΦEp14_dpo	EVVVLGREDGSTGNGLTFYVRLRPVNAVLLDELNECRI TVETDEGVVTTSVVWATGPKG	120
ΦvB_EamP-L1_dpo	-----LT I KQVDDVTFEKLRLTDDYR	54
ΦLIMElight_dpo	-----FTWDSDTVVRLGTALVGGEEVL	61
ΦEa1h_dpo	-----	
ΦEa100_dpo	-----	
ΦEa103_dpo	-----	

```

ΦEp14_dpo      KKGDPGLSAYELAKVQGYEGSLTDWLGGAGVQAVYMASQAAQAQKEQLNRAFRFEPGNKV 180
ΦvB_EamP-L1_dpo  FTG---LTEVTLNGDYSSFGLLEVKRHTPATRLVDFRDGSVLTANSLN-----ISQL 104
ΦLIMElight_dpo  YMR---RTAREKLRILFSEGAAFSRDNLDEQNMQLFLYLSQELVEGRSIEGFYGDISMNTF 118
ΦEa1h_dpo      -----
ΦEa100_dpo     -----
ΦEa103_dpo     -----

```

ΦEp14_dpo PELPPIEQMEGKIVVVRNGAPYGMQASNDTALGLAVNLGKNDGSSMVGHTDKADGKAKTV 240
 ΦvB_EamP-L1_dpo QAIIHAE-----EGRFEITTEIREATADAQRFAQAAAAAGESKTYFDSTQKIWDGIL 157
 ΦLIMEight_dpo RITHLGNPINDTDAANKLYVDEEVKEVNRQAVRVPESTVAVT-PTVAGFKNKLGFDSVG 177
 ΦEa1h_dpo -----
 ΦEa100_dpo -----
 ΦEa103_dpo -----

Φ Ep14_dpo	GATLDRLVDEDAAKKTKAQDRQDALNSAMGFSQIQVPSWAALATVVPYTKADQQVILRGW	300
Φ vB_EamP-L1_dpo	DS-----IQAGDGKTLGYLATPAG----FSAIGGYISFDALRLAKPQFGQRPVKLESY	207
Φ LIMEight_dpo	NP-----VSATPIEGSATELELDLQDIDGMSILGRVDSIATLRTIAPRQDKRFVSVQSY	231
Φ Ealh_dpo	-----MPETKIKPWNTETIWT-----DSIATLRTMDPVVSGHTVEVAGY	38
Φ Eal00_dpo	-----MPETKIKPWNTETIWT-----DSIATLRTMDPVVSGHTVEVAGY	38
Φ Eal03_dpo	-----MPETKIKPWNTETIWT-----DSIATLRTMDPVVSGHTVEVAGY	38

Φ Ep14_dpo	NAG-----STHGGSIFKAVAGAATSD--GGTYCPVNGNWYWKRVQEDALLTIYDFGARV	352
Φ vB_EamP-L1_dpo	IAG-----KYLGGGEFVG---HLTTAPDNGGTIASGPTHHWKRTDDNGSLNWHFGAVM	258
Φ LIMEight_dpo	SAGWAATSKAPMGGFEEYLANDTTTADGGVTIVGLNGARWRPMISLDHVTVEHFGAMV	291
Φ Ealh_dpo	YKG-----SLKGGGKFAYDPNDTTTADGGGFTIVTATGKRFRKADPIDLDITHFAYC	92
Φ Eal00_dpo	YKG-----SLKGGGKFAYDPNDTTTADGGGFTIVTATGKRFRKADPIDLDITHFAYC	92
Φ Eral03_dpo	YKG-----SLKGGGKFAYDPNDTTTADGGGFTIVTATGKRFRKADPIDLDITHFAYC	92

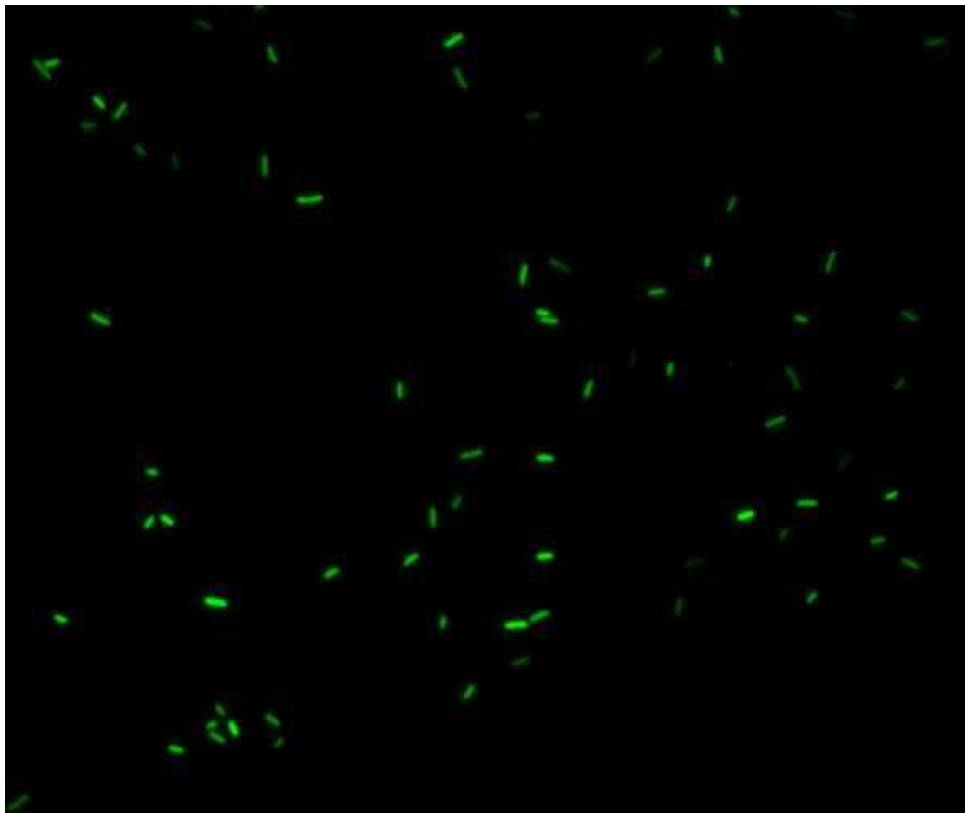
도면 13b

[illegible]

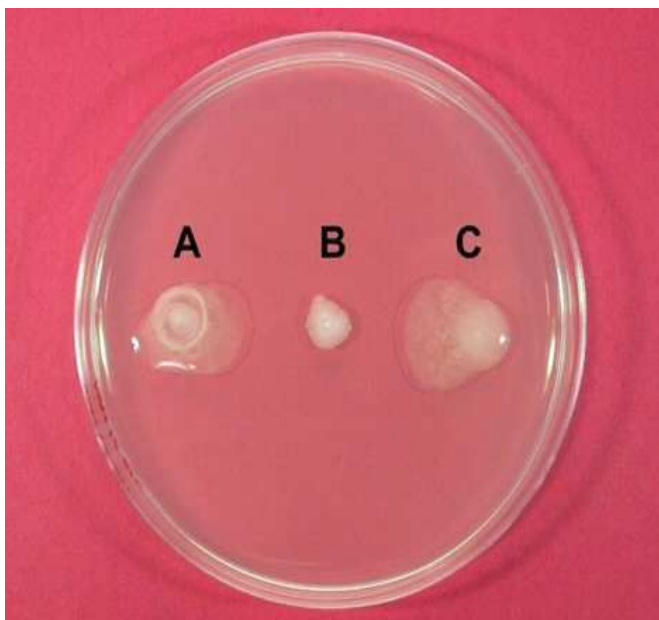
도면13c

ΦEp14_dpo	SETILTNNTTSAEKWVEVGKVI LQ-DRGRTCRM SLLGT SGWNSAAGEMKVPAGT GFGGGGRS	711
ΦvB_EamP-L1_dpo	SQYKMSNMTGNAYWYEI GTLGFSGAVGVSCDI ELVGT GHFDSA VADAR-PQGT NFGGGKS	614
ΦLIMElight_dpo	SQFKYSNMTANQVWIDVGSFTLDGAT GESVVLKFVGA GHFDAATANPR-PGGT NYGAGET	646
ΦEa1h_dpo	SQFKYSNMTANQVWIDVGSFTLAGAT GEGINLEFVGA GHFDAATSNPR-PNGT NYGGGKT	448
ΦEa100_dpo	SQFKYSNMTANQVWIDVGSFTLAGAT GEGINLEFVGA GHFDAATSNPR-PNGT NYGGGKT	448
ΦEra103_dpo	SQFKYSNMTANQVWIDVGSFTLAGAT GEGINLEFVGA GHFDAATSNPR-PNGT NYGGGKT	448
	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	
ΦEp14_dpo	DIFIECKVPDSQDTGVIEVHHGEGASPIQDVKYTR-SWQTVTIYVKMAAYCLSAALFIE	770
ΦvB_EamP-L1_dpo	VIRVQQKDSNTKMA----ASWYGEQASPI SDVRI VLGKNRPRIFVQLRGYTG GYATTFH	670
ΦLIMElight_dpo	TIMMQKDSDAKSR----ASWYSHGASPI VAVRVAT-NKNRPHVYVQLAQYTG PVAMTVH	701
ΦEa1h_dpo	TIMMQKDSDAKAR----ASWFHSGASPI VAVRVAM-NRNRPHVYIQLAPYTGPI AMTVH	503
ΦEa100_dpo	TIMMQKDSDAKAR----ASWFHSGASPI VAVRVAM-NRNRPHVYIQLAPYTGPI AMTVH	503
ΦEra103_dpo	TIMMQKDSDAKAR----ASWFHSGASPI VAVRVAM-NRNRPHVYIQLAPYTGPI AMTVH	503
	■ ■ ■ ■ ■	
ΦEp14_dpo	SNGLSRAQTGKPFYTQLTNVDVADI GAVPGIKQASARWSYNRGVYNDNGFGMDLDTGDLL	830
ΦvB_EamP-L1_dpo	TNDKSNFEGGQH FYLSPVFAAID IATVPTAV-QVPAHWSYNNSAFG---LGYNMTD GQLM	726
ΦLIMElight_dpo	TSKSNFEGGQH FYQNVLMTEVTADAAAAAAPLPATWNVSNNGNYG---LGMMDTGRLS	758
ΦEa1h_dpo	TSSKSNFEGGIHY YQNI VMTEVTADVAAAAAPLPATWNVSNNGNYG---LGMQLDTGKLA	560
ΦEa100_dpo	TSSKSNFEGGIHY YQNI VMTEVTADVAAAAAPLPATWNVSNNGNYG---LGMQLDTGKLA	560
ΦEra103_dpo	TSSKSNFEGGIHY YQNI VMTEVTADVAAAAAPLPATWNVSNNGNYG---LGMQLDTGKLA	560
	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	
ΦEp14_dpo	LYTKLKMSKGAADFIPIMLNG-ERFYIQATDKFANRVPYVTFDQLPSPSDYVYQVLCSD	889
ΦvB_EamP-L1_dpo	LEG-KTSNQAASEYLPIMKNGLDKVI ALQPLVGSVRTPRVTLAELPRATEHPYGVVLYSD	785
ΦLIMElight_dpo	LDGPGLVASNAS SHLPVQYNGSDVLLAVQPSPLSTRVQRVTKATLPKATENPYGVVLYTD	818
ΦEa1h_dpo	VDGPALAGSNAS SHFPQYNGKDVL LAVQPSPLSTRIQRCTIATLPKATENPYGVVLYSD	620
ΦEa100_dpo	VDGPALAGSNAS SHFPQYNGKDVL LAVQPSPLSTRIQRCTIATLPKATENPYGVVLYSD	620
ΦEra103_dpo	VDGPALAGSNAS SHFPQYNGTDVLLAVQPSPLSTRIQRCTIATLPKATENPYGVVLYSD	620
	■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■	
ΦEp14_dpo	TAKS---PSMQMLYSNGYRWIYQAYPTETVTKIADGSPINR	928
ΦvB_EamP-L1_dpo	AVSGNGTITWRMAFSTGSFWFTADGANNLGAGSVSSQG----	823
ΦLIMElight_dpo	AVTGNGVTQWRMAFCTGEAWFTADGQTNLGTGSVTK-----	854
ΦEa1h_dpo	AVSGKGVTITWRMAFCGSAWFTVDGGTNLGTGTVSNT-----	657
ΦEa100_dpo	AVSGKGVTITWRMAFCGSAWFTVDGGTNLGTGTVSNT-----	657
ΦEra103_dpo	AVSGNGVTITWRMAFCGSAWFTVDGGTNLGTGTVSNT-----	657
	■ ■ ■	

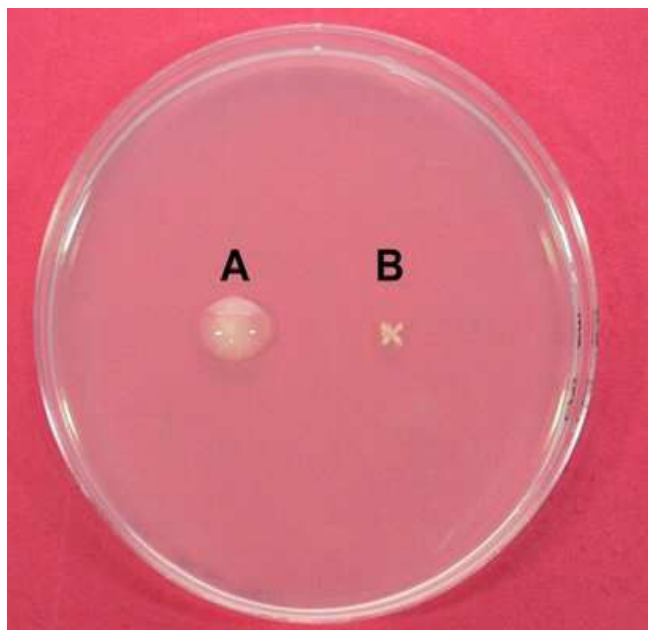
도면14



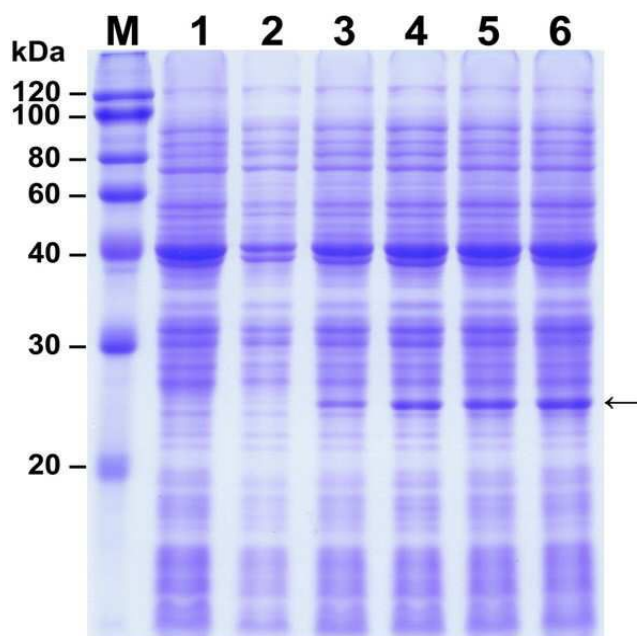
도면15



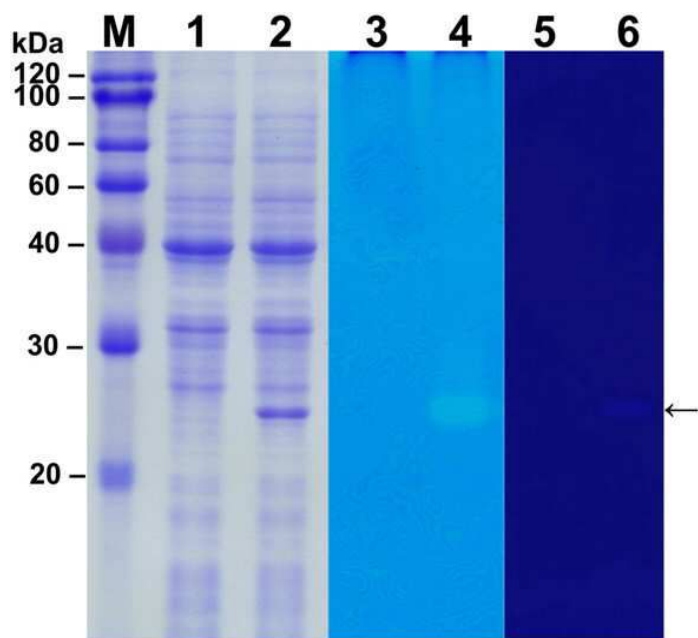
도면16



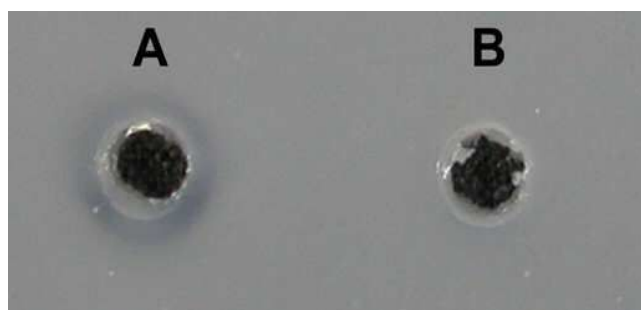
도면17



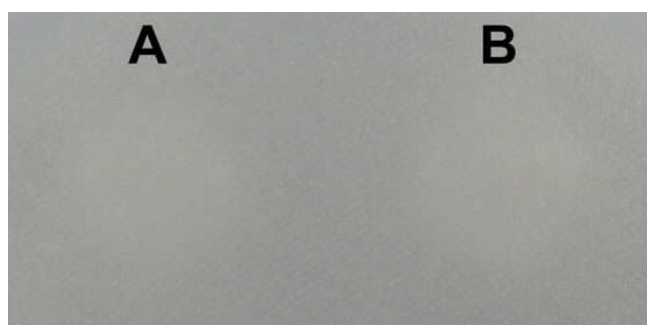
도면18



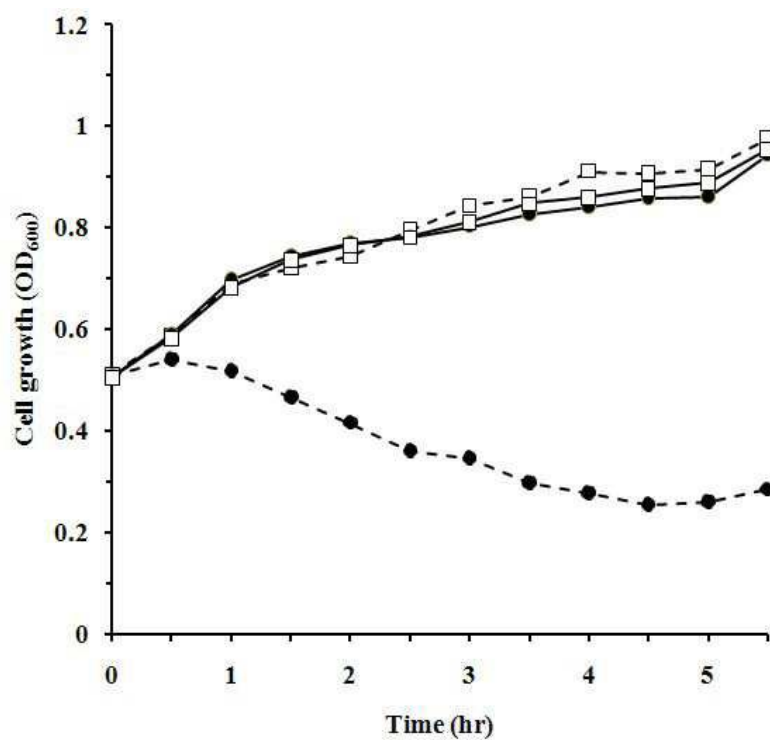
도면19



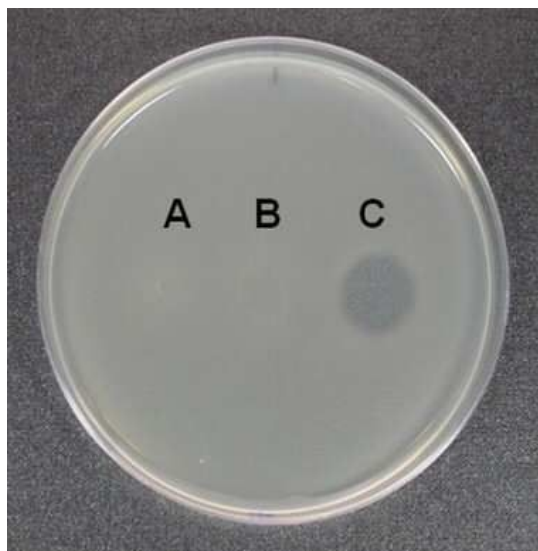
도면20



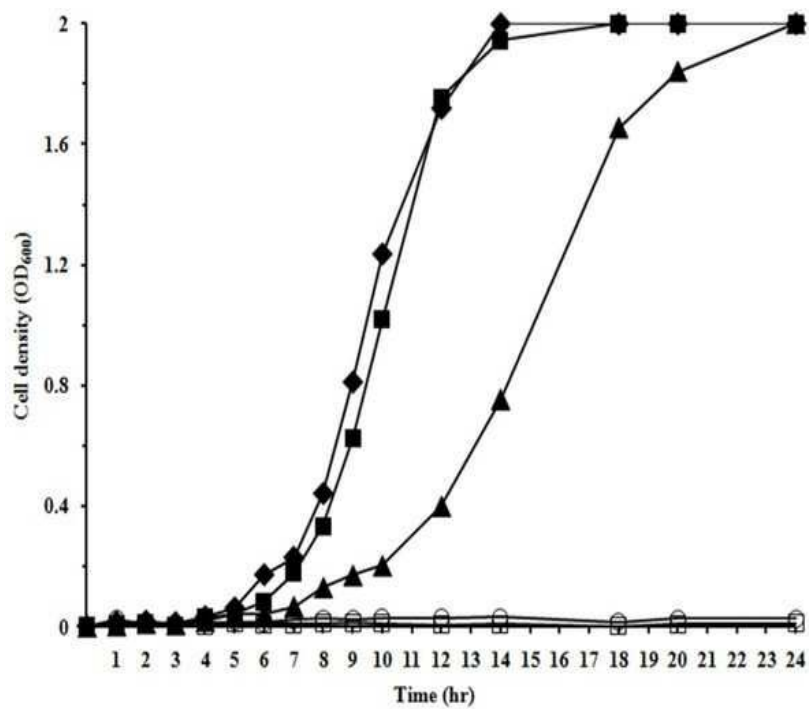
도면21



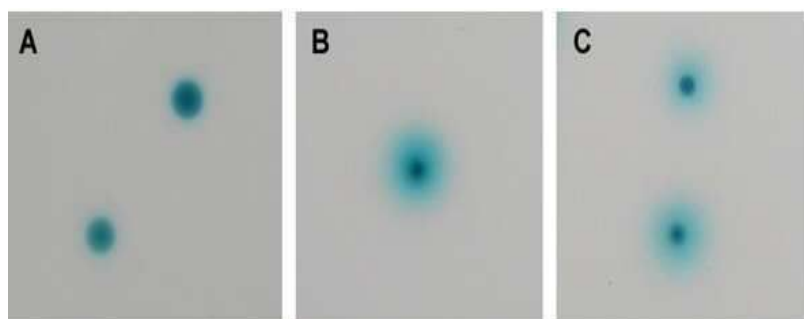
도면22



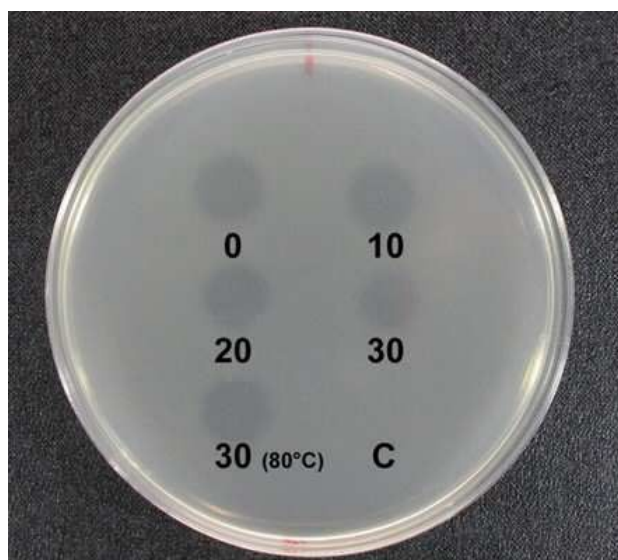
도면23



도면24



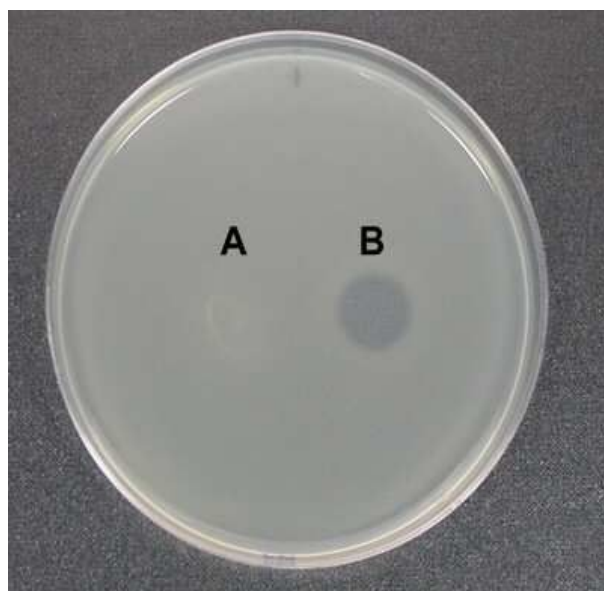
도면25



도면26

φEp14 Rz	MSLLSAKAKAAIAGGVVLVAVAAAG--AGVTGKILSITHARDVAQLKQEQADERAQWEADK	58
	..*.*.***. :*:.. :*.. :*: :*: :*: :*: :*: :*	
φEa1h lyz	-----MSVKKALAGGACSLALVTASFFGIVTDKVRISQE-GLEHLIDCEGCKRQAYKDG-	53
φEp14 Rz	AAISKKAQQDTDAAVARTKAAQDALAALDAQKSQELADAERENSCLRDAVAA GDKRVRI L	118
	:.. : : :*: :*: :* :* :* :* :* :*	
φEa1h lyz	AGVPTAGVGSTIGIVMGRLYTDGEVAKMLAKDVMIAEQCLNRNVKVDLNQGEWIDAYVSFV	113
φEp14 Rz	SANLATAQLTARQHAAGRNPASGVSVDGAALSTAAQQRVLDLRAGIIRDNAKIDYLOG	178
	:* :*: : :* :* :* :* :* :* :* :*	
φEa1h lyz	FNVGCSAFVSSTTYRI L NG-----VKPGTRI QACEAMGMINKITVNGVKVFSQGVYNRR-	167
φEp14 Rz	YVRDVVRQCKR-	189
	:*: :*	
φEa1h lyz	-IKDMALCVKYM	178

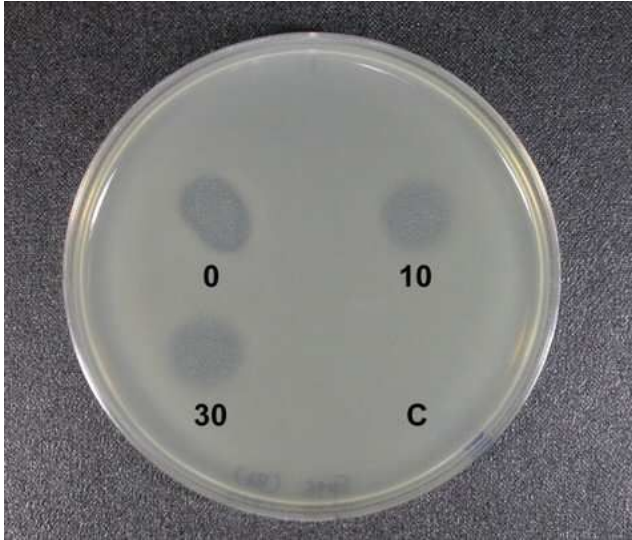
도면27



도면28



도면29



서열 목록

<110> Industry Academic Cooperation Foundation, Hallym University

<120> New Bacteriophage Ep14

<130> hallym-srlim-ep14

<160> 19

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 60714

<212> DNA

<213> bacteriophage Ep14

<400> 1

ggagtcaacc cactgaattt gcagaccagc cgatgccaac aaagaaaccg cctactcagg 60

caaaaaagaa tagagcgccg tctaagcgtt ctaggacgac cccgaacaaa gaagcgctga 120

cctcagacca gcaaaacttt gtggatgaac tgttgatgga ttagcacatg attggatggc 180

gtgcctacca gcgcgcctac aagtgtctta accgccgctc ctgcgagcag tcggcctctc 240

gcctgttgag tttagtcaag gtgcaggagg ccatcaagaa gggcatggcg gcccgttctg 300

agcgatttca gtacggctag gatgagctgc tgcgtcgtct cgtccacatc gccaccgcag 360

accgaacga gatcgttcac taccggcgcg actgctgccg ttagtgcac ggcatcgagc 420

accagtacca gtggcgcat gagaacgagt tcgcagaggc attgctgaag gccagcgaac 480

gcgacgacga cgacgacggc ccgcagcgac cgctaccgac gaacgacggc ggctatggct 540

tcaaccctaa gcgcgagcct catcccgagt gcccgaaactg cgacgggtgac ggctatggcc 600

acatgcacgt cgaggacacg cgcttctctt ccggacctgc gcggatgctc tatgccggca	660
tggaatgac gaaggagggc atcaagccca agatgcacga ccagatggcc gctgcgcaga	720
tggtggcccg tcacctcggc atgttcaacg ataagctcac cctgaagggc gacaaggaga	780
acccgctggt agcgtctgtg gagtctctgc cgggcgcaac gctcaagccg gtggacgact	840
aatgtggcg ggcaacggta ctcaggcgct tcaggcgct cgcaacgtcc ggccacagct	900
cacgcatggt gatttgacgt gtcgccagct ccaccagccg cgtggcgccc cgctgttccc	960
agctgaggta ggtcttgcgg cttaccccca gctcttcgc tgcccgtcc tgagaccagc	1020
ccaaatccac acgccacagc ttcagctcat aaccacccat acgcaccct ctttgatcag	1080
gaagaaatcg gacaccagag ccggggattg tcgcacggaa agtaacgtaa ctacacattt	1140
cgcacgtttt gcgggggcat tcgatcatgg ctctagcgt tagggaggct ccaccagctc	1200
cacagcagac ccacattcag gaacacgagg caccgcccac ggtaagcctg ccggttctc	1260
acgacttcgt accgcatacc gcagctgacc tgcgtgtgtg cctctctgac ccgatgtggc	1320
gcatttgctc cgggcagctc taaaaatca tgatcaaggg tgacgacaac gacgacgacg	1380
acgacgcgt cgtgggtccc ttcaagccca acagagcgca gcgccggctc atcaagcgga	1440
tgcacagccg caacatcatc ctgaaggccc gccagctcgg ctttacgacg ttcctatgta	1500
tcttcttctt cgactgcacc ctgttccggc cgaacgtgcg gcccgcatc atcgcccacg	1560
aagaggacgc ggcggaaggc atcttccgag acaaggtgaa gttcgctac ctcaacctgc	1620
cggctcacct gcgcgagggt atgcccctga agcgtgacgc agctgaagag cttctgttcg	1680
cccacaaca cagctcgatc cgcgtctcca cgtcgatgcg ttcgggcacc atgcagtacc	1740
tgcacatttc cgagttcggg aagatatgcg ccaagcgtcc ggacagggcc gaagaggttg	1800
tccgaggctc tatccctacc gtcccccc gaggcgggat gctcttcatt gagagcacgg	1860
cagaaggccg ggacggtcac ttctacaaga tgaccacgaa ggccgaacag ctgcgcagc	1920
tgggccgcag gtcaccccc aaggagtacc gcttccactt cttcccatgg tggcaggagt	1980
cgaactaccg catggaccgc gaaggcgtgg tcatcagccg ggcagaccat gattatttcg	2040
acaaggtaga gggcatcatg ggatgctcga tcgacatcga gcagcgcgca tggatgtag	2100
cgacccgcga caacgacttc tccggagagg aagagtcgat gtggcaggag tacccatcca	2160
caccggccga agcctttcag gtgtccaata agggctgcta ctatgcggtc cagatggcga	2220
aggtgcgcaa agagaagcgc ctcacgcggg tacggtcga gccgggctat ccggttaaca	2280
ccttctggga catcggggca ggcgacggca cggccatctg gtccaccag caggttggcg	2340

tgcagcatcg cttcatcaac ttcgtggaag gctggggcga gccatacgcc catttcgtca	2400
agctgatgca ggagtaccag caggagacgg gatgcgtctg gggacgtcac tacctgccgc	2460
acgatggcac ccacgagaag cagggcgaga ccaacaacaa cagcccacgc accatgctgg	2520
agaacctcgg cctgaccaag atcgagattg tcccgcgtat ctccgagatc cagcacggca	2580
ttcaggcgac ccgcgatttc ctgcctcgt gctggttcga tgaggaaggg tgcaaggaag	2640
gcgtggtcca catcgagacc tacaagaaga aatggagcaa ccagctccag acgtacacgg	2700
atgagccgct tcacgacatc cactcggaag cgteccagcg cctcaggcag gcggcccaga	2760
cattcaccaa cacccaacat tccaagacgc cagcgggcaa acgtccgaag cgtcgcaaca	2820
gaggcggcct agccgcataa cgagaggtag gcatgagtta tcagaacaaa gcaggcaggc	2880
aggaagccca gaaaggagcc gcaggcgggtg cgttcgtcat catcgtggat atggacggca	2940
acccggctgc ggtgggcggt ggcagtggta cccacctgac gccgcttctc tcccgttctg	3000
gggatgtgtc cggcaacccg gccatgaaca cgttgctcgg acgctgaac gacatcacca	3060
aggccgtgag tgcgccgaaa ttcacctacg tcaacggcac ggtccagacg acggccgcga	3120
acggtaccga cttcgtggca ttcctaacc tcggggctga gatgctggac atcaccaacg	3180
ataccggtgc cgatctggag taccgacgca atgggagcgc caacacctc ccaatcctga	3240
acggccagtc gcgcctcatt cagggcacga ccaacatcaa ccagatcagc gttcgccgca	3300
cggacacggg cacaacgcag gtgaaggtga aaggggaggc gttcaagcta tgagtttacc	3360
tgccgtgaag atccgctcat tcaccggcag cagctcgttc actcggggcg gcagcgtccc	3420
ggtgattgac ctgttaacgc cggcgctcga tcgacgctg atgttcacag gcccggcgca	3480
ctcttatgtc gccaaagatg gctcgttgaa gcaatcagcc gtgaacgaat ggccgctgga	3540
gttccgcgac ggcggtccgg ttggccgcca tgagccagag ccggccacct cgaacctcat	3600
caccgatcca gtgttcgcca acatcgtgaa taccaccag tcgaacgacg gcaagtggtc	3660
agcctatggc ggtgggtctgg gtaccgtgca ggccaacacc ggtatcaacg gtggtccggc	3720
cttcaacacg actgccggct acagcaaggg tggcgtctac gatggttccg cgttcgtcgt	3780
gccagacacc gcagactggc agcagcaggc cttcgcgaac ggctggcaac gcatcaagat	3840
gcagggggcg ttcagtgcg actctccgca gtcgcgctt tatatcgccc ggaggactc	3900
ggtgaatttc atctacttca cctgtcagt gccggcaggc gaggcgacat tcacggagt	3960
ccgcctaccg tggcagggcg ctaactcgaa ctccgctcac agctggccgc aggcagaacg	4020
cggcaccctc gcgacgtcac cggatgatcg caatcgtgcc gcctcttcgg tctacgtgag	4080
acgcgaagga ggtgcgaaag gcgtgcggct gatttacagc gacgggacga aaacggagct	4140
ggcgttcggg gcgctcaacg cctgccgct tccgatcgca tcacaggact gggccaagag	4200

gtatctgaca cgcacgcagt atttctaatt tcgtggctaa tgtgttgtca aaacggcaac	4260
atatagggca ttaacgcaac aggggtgaaac taatggctca ttatgatctg gacttgacgc	4320
agccggcctt caccaaggcc cgaggcgagc tgacaatcta cggatgcatgg catggacgca	4380
gactgcgacc gtgccttgtc gtgtttccta cctaccgcgc cggcgtgccg ctggtgatcg	4440
aggtaggacga cgcacggcgc tggaaccccg acgacatcga ggcggaccgc cgcgccaaca	4500
tgcgactgac cgtggccttc cttcaggcga acggcatgga cgcgaccaac cccttcacgg	4560
ccatgaaggt ggcctcgctg gttcacgact atctgggcga cctcctgcgc attccaccga	4620
agtcgggcga gaccatcgtg gttgccgatg ccatccagac tgaccgcaac agcggcgagc	4680
tcacgcaccg ggagatcatc caacgtgttt gacgacgaca tcaaactcgag cggaatggac	4740
tttgccaatg gacgggtaga cagcaccgac ctttacacgc ggatgccgga acaggacgcc	4800
gacactccga agcagcgag caagctcgat agccccaga tggaagcagc ccaccgccgg	4860
ctgttcgtc tgtatgagga cgagcttgat cgccagtctg agaaccgtgc gcagatggcg	4920
cgcgatgagg acttctacga caacgaccag tggcgggaag aggatgcccg agcgttgcg	4980
gaccgtggac aggtgccgt ggtctacaac gtgatttctt ccagcatcaa ctgggtgctg	5040
ggtaccgaga agcgcggcgc caccgattac aagatcctgc cccgtcgaa ggacgcgggt	5100
aagccggccg agcgcaaac ccagctcatg aagtacctga gcgacgtcaa cgcttcgccg	5160
ttccaccggt cccgcgcgtt cgaggacagc gtgaaggtag gcatcggtg gattgagacc	5220
ggtgtgcaga acgaggacga cggcgagccg gtgttcaccc ggtacgagag ctggcgcaac	5280
atcctctggg atagcgctg caccgagaaa gacctgaagg actgccgta tatcttcgg	5340
gccaagtggg tggatctga catcgagag gccatgttc ccgaccgat cggtagcctg	5400
cgcgccgag ctgccgcaa tcaggcctac ggtctggacg aacagggcga tgacccatg	5460
gacagcatgg agaaccagct gtcgggctat gcctctatcc gtgccttcaa tgacggttc	5520
cagcgtggcc gcgtgcgcct gatcgagggt tggtagcgca agcccacaaa ggccaagcgc	5580
atggtaggcg gtgacttctc cggcgagctg tttagacgaac agaaccgtc acccgccac	5640
cagcagagca ttgacgacgg cgaaggtgtg ccgaccgacc gttccatgat gcagatgcac	5700
gtcgccatca tgtgcaacgt cgggatgtc tatcacgcc cgtcgctta ccgtcacaac	5760
cagttcccgt tcacgcctct ctggtgtac gcgccgtggc gcgatggcct tccctacgc	5820
atgatccggg gaatgcgca catgcaggag gacatcaaca agcgtgcctc caaggcgtg	5880
cacatcctga gcacgaaca ggtcatcatg gatgaggcg cggtagacga cctcgacgag	5940
ttcgcgagg aagtttccc cctgatgcc atactggtga agaaaaagg ctaccagtc	6000
gaaatcaacg ccgaacggga gcttgcgcc gcgcacctg acctgatgag ccggtctatt	6060

tcgatgatcc agacctctc tggcgtcacc gatgagaaca tgggccgctc taccaatgcg	6120
accagcggac gagcgattaa cgcccgctcag gagcagggaa gcatgaccac ggccgggatt	6180
ttcgataatc tacgcttcgc cgtgcagatc catggctcga aagagctgtc gcttatcgag	6240
cagttcttca ccgagcgtaa gcagttccgc atcacgaacg cgcgcggcac cccggaatat	6300
atcgaggiga acgacggact gccggagaac gacatcgctt gctcgaaggc cgatttcac	6360
atcagcgatg cagactggcg cgcgagcgtc cggcaggccc agacggaaga gctgttcgcc	6420
ctgttcgagc agctggcacc ggtggccctt cagattgcgc tcgtgatgct cgacctcatc	6480
gtagagggca tggacattac cagccgcgac gagatcgtga agcgcacccg tcaggtcacg	6540
ggaatgcgcg acccggacgc ggaggaaatg acgccggaag agaaggcgca ggaacaggcc	6600
aagcagcagg cagagcagca gcaggccgag ctgaaccagc gcgcagccat ggcaagatc	6660
gcccgcgacg aagcagccgc acagaaggac atggcgagcg tcggcaaggt gcaggcagac	6720
gtcaagaagg tgctcggctc actggccggc gagaacgtca acacgcagct cgcagcactt	6780
caggccgcaa tcgccccat ccagacaccg ggcgccgtgg gattggcaga cggcatcctt	6840
cacgagtcgg gcttcattgc ccgcaccgaa gaggatgcag ccacacaggc ggccgtggaa	6900
gaggcccagc aacagcaaca ggagcaggca cagcagcagc aggcacagca ggaacaggaa	6960
gcggcggcgc agcaggaaca ggagcagcag ccggcgagc aggaacaaca gccagagcct	7020
caggcgctg gtatcggtca attcgataa ggaacaatca tcatggcatc acacggttta	7080
accctgaag agctggcaat gctcaccgac gaagagcgcg aaggcttgga ggccgaggaa	7140
gaggaagagc acgaggaaga agagctggaa gaaggccaga ccaagcccaa gcctgaagag	7200
gccgaggaag aggaagagcc taagcccggc accaagcccg agggcgagga agagcctaag	7260
cccgtaccg agcaggagca ggaagagcag caggagcgcc agcgcacccg cgttcagatg	7320
ttccgttctg acgtgccaga ggacatcgag acccagcgca ccgccctcga taccgcgag	7380
gatgagctgg taacgaagtt cgatgaaggc gacatcacct tcgcggagta caacaagggc	7440
atccgtgagc tgaacggcga gcgtccaag ctcgatcgtc tggagctgaa ggcagagctg	7500
gccgccgagg cgaaccagag ccgcagtcag gaggactggg cgaacctctg cgaggatttc	7560
gtgcaggcta accccatcat cggcaagaac gagaccttgt ggaacgcctt cgacgtcaaa	7620
ctgcgtcagg tgacggccgc gaccatggat gccggcggca ccacgcgcca gcgcgatctg	7680
gagaaggcct tcaagctgat gcaggaggat ttaggcatca ccgccccacc agcgaccgac	7740
actccgaacc cgaagaaggg caaaaagaca ccggtagagg ttccaccaac cctgggccgc	7800

gtgccggcat cgcagcagac ggacaccgag gacggcaaat acgtcacct cgaccgtctg	7860
gcagagaccg atccggagaa gtacgaggcc gcgctgatga aaatgagcga cgccgagcgt	7920
gacgcttaca tgcaggcagg ctgaggggaa cgaccgtgat taaacatgac ctgcgggtag	7980
gggaaacat cgaatcggc gggagcaagg taactcttcg ccggaagtcg ggccaaatcg	8040
cttcgcttgt gatagatgca ccggacgacg tgctcatcag gcgtcagctg aaaccgcatg	8100
aaacacagga ggatagcacc gctgacaagc ccaaattagc cgtgtgaaca gtgtttgcat	8160
tatgacaaca cacacacgat aatcgtaaca aatcaagtgc tgcgcatgac gtgcggtttt	8220
tcaaccaac cacaccgcac gttttgagga catagcacta tgggtcaaac cgtaattccc	8280
ttcggagatc cgaaggccca gaagaaatgg tcaggtcagc tcttcgtaga aactaccaag	8340
aagagctact tcgaccgttt tgaaggcacc agcgaataca gcgtcatcca gcgtaagacc	8400
gatctggagt ccgacgccgg cgaccgcacg tccttcgacc tgtccgtgca gctgcgcggc	8460
aagcctacag ccggcgatga ccgtctgaaa ggcaaggaag aagccctgaa gttcttcacc	8520
gacgaagtaa tcatcgacca gctgcgtaaa tccgtttccg caggcggtaa gatgacccgc	8580
aagcgcaccg cgcatgacct gcgtaagggt gcaaaggatc gtctgtccga ctactgggcg	8640
cagtacattg acgagctgaa gttcgtctac atgtctggcc tgcgtggtac caatgaagat	8700
ttcattgagg acttcgacta tgccggccac gcgggcaacc cgctacgcca gcctgatgca	8760
caacacctcc tgttcgttgg tgcggccaac tcgaaggcgt cactgactgc cgacgacaag	8820
atgagccgcg tcaccatcga acgcgccacc accaaagccc gtatgatgcg tgctcgcat	8880
cctaagaccg cgaacctgct gccggtctcc gtggcgggcg agaagcacta cgctgtgctg	8940
atgtctccgt atcaggagta cgatctgcgc aacgaagtgg gcgagcgtgg ctggctggaa	9000
gtgcagaagg cggccgcagc tgctgaaggc aagaacaacc cgatctttaa gggcgggctg	9060
ggcatgatta acaacgccgt gctgcactcg cagcagtcgg tcatccgtat gaacgactac	9120
ggtgccggcc agaactgca ggagctcgc gcgctgttcc tcggccgtca ggagctgtc	9180
atgcctacg gtaccgccgg tggccttcgc ttacgtgga aggaagagac cgacgacttc	9240
ggcaacgagc cgaccgtcgc agccggtacc atcctcggga ttccaaaac ccgcttcaac	9300
aagcgcgatt tcggcatcct taccatcgac accgctgcca aagaccgaa cgagtaagga	9360
gggcaccaca tggcacttat ctctacgag ttgcctcgg gcgttcgtcc gacgtaccgc	9420
cctcagactg ctggcgcgt tcacagccag ctgttccacg ttgctatccc ggccggcggt	9480
ttcgtttccg gcgacattct ggagctggct atcctgcctc cgtatgcgcg catcgtggac	9540
gcccagctga tcctcggcgg tggcgtggc gtggccggcc agaccgtga cgtcggtatc	9600
atgtccggtg agccgggcca gccaccaac gatgacggtt cagcccgtac catgggtaac	9660

gagctgttcg ccggcgagc gctggacggc attcagcgtc tgggcaagac cgacgccctg	9720
ttctgcaaaa agaccgacaa ggccccgtct atcggcgtga agttcaacgc cgccgtgcc	9780
ttctgtggccg gtaagcaagt cgccttgagc ctgcacttcg cgcagtaagg cccgcaacgg	9840
aaagaggggc gaaagcccc tttttcttcc cccatttctt cccgaggtta tcccgatgaa	9900
aattgaatgc ctgattatcc gtccggggcg cactaaagta gatttagacg cccctaagcg	9960
tcagtaccat ttccgcccgt ctgacgagtt cgacggccgc cacgttgctg aagtaggcga	10020
ggcgagccac gcggccatgc tgctgcgcat ccgtgaggcc taccgcgcct tagacgctga	10080
cgaaccggca ccgactggcg atgatgagga ccagctgcct acgcgcgtcc tgaacggctc	10140
acaggtccac gatgcccgt acaccatcca cggcggtgac gaaatcgagc tggatgacct	10200
cgtttccatg gcgttcgagg actctggcct gtctgaggct gagggtgacg agcttccgga	10260
tcaggagcgc tacgagctta tcgacgccac cctgaccgag cttcaggggc cagaccgcgc	10320
cgaagagcag accccgccac cagcgccggc aaccatcaac atccagagca gcgcggagaa	10380
ccacgaagcc gagcagctgc cagctgaaga cgacaacacc ccggcaccgg aacagccagc	10440
cccggaaacc ccggacgtgc tgaagccggc cagcgaagcc ccggcaccgg ccgaaccac	10500
caccgcgat ctggcgaaac tcgatgagca tagcctgcgc gagaagttca aagagaagtt	10560
cggccgctac ccgtccaagc agatgaagcc ggccaacatc gttgcggcac tggctgagga	10620
cgacgactga tgagaacggc gcgcgacctc ttcgagaagg cagggatcct gctgaatgat	10680
accggcgagt tcaccgcgcg ccgcacctcc ctgacggagt tgtcggggtg gctgaacgac	10740
gggctgacgg ccatcgtgct ccagaagccc agcgccaccg cacaaccgt cacgtcaac	10800
ctgaacgaag gcacgtccca gcagctgccc gagaagtaca acagatcct gcgcccgtg	10860
cgcaacgtgc ggggcgagaa gtcagaccgc cagccgcgca aggtgctgtc cgtggtgtcg	10920
aacgagacga tcaacccat caaacccggc tggcagcaca gctacagcgt gccgttcgcc	10980
cagcaggtga agcacttcat ctttgacgag gcgaaccctc gggccttcta cgtctacccc	11040
ggcaacgacg gcaccggcta tatggaagtc gttctgtctg ccgttcccgc ttagtgagag	11100
cctaccggcg agccggacga gctggcgagc tacgagctgc cgatcccgat tgatgacatc	11160
tatttcggcg tgctgctgga ttacgtgctg taccggtccc gctcgaagga tgcgcaggag	11220
tcgggcaacg ccagcgcgc gagcctccac tatcagcagt tcgccaacgc ccttggcatt	11280
caagtaccg tcgaaacgaa catgtgcct aacaacaagg ccggcgtggg cggtggcgct	11340
gttgagatga cgcaacaatg atccgcgaca tcgaagagct tctacccaaa gtgatgcagt	11400
gggcgcccgg atgccggag cctaccgtg ttgagcacgt ccgtgccgt gccgtgaagc	11460
tgtgtaaacg cagcggtgc tggcgtgacc atgaccagtt cgaggtggcc ggccgctaca	11520

acgacattcc ggccatcctg ccgggtaccg cgctgttcga gatcgagagc ctgacgttcg	11580
acggcgaccc gctcgaaccg gtgcccttct cgaccgacat gctcaccaga cccggcgagg	11640
atgacgagac cggccggccg ggccagttct cgatgatgtg gccgaacgcc atcatgctgc	11700
atccgggcgg gaccgggacg gttcacgtct cgatgttctt catgccgtcg gacaacgcgg	11760
agacgctgcc agtgtggatg ttcgaccagt ttccgaaga gctgggtggc ggcgcgctga	11820
gtacgctcct gttgctgccg aaccagccat tcatgaacc gcagatggcc gccctgttcg	11880
gcagtcagtt cgccggcgcg ctcgatcgca acttcgcatt caacaaacgg gggcaacagc	11940
gtgcgcgagt ccgtactaaa cctcctacc tctgacgcta tccggggcgt gccgctcacg	12000
cccgcagatc cgcccccacc gcgcgaccgt gttgtgaccg acctcggcgc gaccatcatg	12060
cagcgccacc gcaaagcctc ccgcgacgtc ctgactaca cgatcgacct catggaccag	12120
ctggccggcg gcgaggacat cgtgagctgc gcgcgtggg ctgatgaagg cccgatggcc	12180
gcgacccggc tctgttcaa cgattacctg atggttctct ggggtggccg cggtctgggt	12240
ggcgcacagc gcgcgaccgt cagcgtggaa gtgaccacca gcaagggccg cgtgcttcag	12300
ctgcacttcg ccatggtgac ggacggggaa accctctgga tccccgcac ccgtgtgacg	12360
ccgcctaagg tggcgatcgt cagcgttcgc gacctgaagc cgcctgtcgt gcccaggat	12420
gagccgaaaa tcacgtcac gcctgccgtt ctggacttcc ccggcttcta ttacggcggt	12480
gtgagcgacc cgagaccgt catggtccag aacaccggca agctgccagt gcggttctg	12540
agcatcaaca ccagcgccg ctactcgag aagaacgaca gcagcgcgga gctgatgccg	12600
ggcgagcgct tcccgatctc catcacgttc gccccggagc tgggtgcgcc tctgaacggc	12660
cagctggaaa tcaacatcgg tgacggtgcc cgcagctata ccacctgac cggtaccgtc	12720
acgcacagct cgcgcctcgc caccagcggc aatcagttcg tggacgtgaa caatcgcgcc	12780
gtgcagctgc gctctatcaa ctggttcggt gccgaaagcg acctctacat gcctcacggc	12840
ttatgggcgc gtggacaccg gaccatcatc gaccagatcg cggccatggg cttcaactgc	12900
ctgcgcctgc cgttctctgg cgacgtctgc aacacgacgc agatgccgaa gccaacgtc	12960
atgcagaagg ccggcaacga gaacctgatt ggaaaaaccg cgatcgaggt gctggacgcc	13020
atcattagct actgcgctgg caaaggatc tataatcatc tcgaccacca tcgccgccac	13080
gccggcactg gcgcggacgg ttcccggtg gatcgacct ataccgtgga taagtggctc	13140
gcgagctggc gtttcatggc cgagcgctat gccggcaacg agtgggtgat cggcgcgac	13200
ctgcacaacg agccgataa cctcgactgg aaccagtggg cgacctatgc cgagcttgcc	13260

ggcaacgccca tccacgagat ccagccgcag tggattatgt tcgtgcaggg cgtggcgacc	13320
tacaaaggcg taggcgcgtg gtggggcggc cagctggccg gcgtgcgcga tcggccggtg	13380
gtgtgaagc accgcgaccg cctcgatac tcaccgcacg aatacggcca gtcagtaggc	13440
cagcagacgt ggcttgcga tgaggcgggc aacatgccgg ccaactggcc gctcaacctc	13500
tacgccatct ggcgcgagcg ctggggcttc ctgttcgagg aagcgattgc cccggtctgg	13560
gttggcgagt tcggcgccca ctttggtgtg gacggcagcg gcaacgtcgg tgccatgccg	13620
aacggcggct atgagcgcca gtggctcacc gagctgatga agtacatgaa tggcgatttc	13680
aacggcgacg gcgtgcggga gctgctggac gggcagcgcg gcatgtcctt cgccttctgg	13740
tcctttaacc cgaacagtgg cgacactggc gggctggtcc gcgatgactg gaccacgacg	13800
caggattaca aattgcagct tctggggccg cttctggcct ctgattaatc ggtcagcgcg	13860
ccgggggaac aggacgttg cccggcgcaa gaccatcaca caccactaag gaaacgatta	13920
tggctaagag ccttgtgggg gctaccaccg ccctgtttgt tgtcagactg tcaacgccc	13980
tcactgaaaa ggtaacagtg gcatggcaga cagaggacgg taccggtcac gccggcattg	14040
actacgaggc cgctgccggc accgtggaat ttgcgccggg cgagacagaa aaggggatcg	14100
aggttgtcgt gctcgccgt gaggacggct caacgggcaa cggcctgacc ttctacgttc	14160
gtctgcgtcc gccgtgaat gccgtgctgc tggacgagct gaacgagtgc cgcatactg	14220
tggaaaccga cgaaggcgtg gtgacacct ctgttgcgt cgcgaccggg ccgaagggtg	14280
agaagggcga tccggccctg agcgccctacg agctggcgaa ggttcagggc tacgagggca	14340
gtctgaccga ctggctgggc ggtgccggcg tgcaggctgt tgtcatggcc tcacaggcgg	14400
ccgcacaggc gaaagagcag ctgaaccgcg ctttccgctt cgagccgggt aataaggtgc	14460
cggagctgcc gcctatcgag cagatggaag gcaagatcgt cgttgtccgc aacggtgcgc	14520
cggtagggat gcaggcgagc aacgacaccg cgctcggcct ggccgtgaac ctcgtaaga	14580
acgacggctc cagcatgggt ggccacaccg acaaagcgga cggcaaagcc aagacggtag	14640
gcgcaaccct cgatcggtg gtggatgagg acgcagctca gaagaaaacc gcacaggacc	14700
gtcaggacgc gctgaacagt gcgatgggt tctcgagat cgggcagggt ccatcatggg	14760
cggcgctggc taccgtgggt ccgaccaagg ccgatcagca ggtcattctg cgcggctgga	14820
atgtggctc taccacggc ggcggcatct tcaaggctgt tgcagggtcg gccaccagcg	14880
atggcggtac cgtgtgccc gtcaacggca actggtactg gaagcgctg caggaagatg	14940
cgctgctgac catctacgac ttcggcgcc gcgtcgatgg cgtcaccgat gacatgccgg	15000
caatcaagc gatgtacgag gcgaccgta aaaacgccgt ggcgaaccg gtagcgctcc	15060
gtctgccagc tggctcggtt ggtgtgtcgg gaacgatgga ctttcgggc agcaccgagc	15120

agtcgatctt ccgcctgaag gggccagacg tcgagttcgg cgtggtgccg gtgacgaaga	15180
ttattccgct cgacaaaacc agcaccgtgc cgctgttcca gctgaacgca cgccgtatgg	15240
aagtgagcgg cctccacatc gacacgacca ccgacaacgt gaagccgttc ctgaagaacg	15300
tgtgcccgcg tggtagtac gttcgcgtga agtgcgccg cgtcaacaac tccgcaggcc	15360
tgacgttcga cctcgtggac accatcgaca ccaagttcga gcaggtctac gcctacagca	15420
tttccggcgg ctctctgcgc accagctggt caaacctcga tccgggcggc tggaaccacc	15480
cgaccgtat cgaaatctcg aatgcgaact tctccagctc gaagaagggt gagccaatcc	15540
gcgccattcg tgccggccag tcgatcatgc gcaacgtgtg gttctcgaac aacgaataca	15600
ccttcgacat ttctcagggt ggctggctgt tcgataccgt catcatggaa aacagcacct	15660
atccggccaa aatcaagtac gccaaagatt tcaagacaaa ctgccgtttc gagcagggtg	15720
cgacacttga tgagaacggt accgacttcg acccatcatg ggatcagggt aaacctctgc	15780
cgacgtgggt aacgaacgcc atggatcagg gcggcgttga cctgcgtatc accggtcac	15840
gcttcgattg cggcgtgtcc acgcagttcg atttctccga aaccatctg accaacacca	15900
ccagcgtga gaagtgggtg gaagtaggca aagtcactct tcaggaccgt ggccgcacct	15960
gccgcatgag cctgttgggt acgtcaggct ggaacagtgc agccggcgag atgaaagtgc	16020
cagccggtac cggcttcggc ggccggccga gcgacatctt catcgagtgc aaggtgccgg	16080
actcgagga caccggcgtg atcgaggctc actggcatgg cgaaggcgca agccctatcc	16140
aagacgtgaa gtacaccgcg tcatggcaga cggtcacgat ctacgtgaag atggcggcct	16200
actgcctgag cgcggccctg ttcacgaga gcaatggcct gtctcgtgcg cagaccggca	16260
agccgttcta cagcgagctg accaacgttg acgttgccga catcggcgcg gtgccgggca	16320
tcaagcaggc ctccgcgcgc tggtccttca acaggggctt ttacaacgac aacggcttcg	16380
gcatggattt agataccggc gatctgtgc tgtacaccaa gctgaagatg agcaaaggcg	16440
cggcagactt catcccgate atgctgaacg gcgagcgctt ctacattcag gcaacggaca	16500
aattcgcgaa ccgctgtccg tattacacct ttgaccaact gccttcacct tcggattacg	16560
tctactgtca ggtactatgt tctgacacgg cgaaaagccc atccatgcag atgctgtatt	16620
ccaacggcta ccgctggatt tatcaggcct atccgaccga aaccgtcact aaaattgccg	16680
atggtagccc catcatcaac cgctaaggac gcacatgac agttaccgtt cagaaagcgc	16740
tgaacagcac cacggaatac ccgactatg gcatgagcac agagaacgag ccgaaggctc	16800
acgaagtgag ctacaccgct cgcgggctgg aggacttcga cgggcatctg gcaacagccg	16860
tcttttcgt gaagatcggg gacgtggcaa tctccgagcc ttaccgtctg cgcttcacct	16920
actcgggcga ggggaaccgc ctcgatcagg cagagccggc gctggaggcc tttctggcga	16980

agcaggaagc ggccgcgaaa gccgcagctg aacaggagga agggaccgcc gaaaccccgt	17040
ccgaaagttc gtccgaagtg ttgtcaaatt cataatgcgt gtttgggaatt agcaacatat	17100
aatcagctgg ccggggcggtt cccggccact caaatggaga aaggaaaatg gcagcagcaa	17160
caactgtaac cgtcgccgca atcgacgaca ttccagcgaa caacctgcaa gtggttcttg	17220
gccagattta cggcaaagca cagtacgcgg ccaacaccgt tggtcaggta caggccaag	17280
ctcagtgggc cgctgatact gctggtgcag cagctggtac cgctcagtac gctgccgatg	17340
gcgtgggctt cctcgactat cagctgcgtc aggtagcggc tgaagtcggt atcgacatcc	17400
cgcctctgga aaccgccggc cagctctgac aagcagctga gtaagcgaac cccttcaggc	17460
atcaccccaa gccccctttt tgggggcttt ttctaccgg agcaaatatg gcacgtaatg	17520
cgatctttac ggtcacgctc tccgaaccct ccgataagct ggtaactgtc gattaccgca	17580
cggtcgattt cacagccaaa gcgccggagg attacaccgc gctttctggc cgcctgattt	17640
tcgagccggg ggaggtgagc aagaccgtct ctgtaccgt tctggacaat gaaccggcg	17700
aaccgccga acgttcac ctagcccttt tcaacctca aaacgccgac gtcgcgcgc	17760
tcgatggcta ttgcgacatt ccggccggcg gccacggcga acgcggcaac ggcccgtca	17820
tcatggcagg cctcatcaca aactcatggc acaacgagat ggggcgcggg ggctacttcc	17880
acgcctacag cggcacgtct gagggccaga gcacggcat cgagggatcg ttgctggcat	17940
cccgcgtgct caccggcgcc accagcgccg aagcgacagc ggccacatgg taccgtcaga	18000
acggcctgaa catgctcgat gcgctcgga acggctcgct gaccggccc atgctgcgc	18060
agccggtgcc gtcagaccg aaaaccatca cgctccttca ctggctcttt gcagctcgcg	18120
gcgacatccc ctgcagggc atcaactaca cgccaaggc ggtaccgtct ggccgcaagc	18180
tgacgtgcc ggcaaaggac gcttcaagg tctggatgat ttaccggcc accagctacc	18240
tgtgtacag ctccccattc agcccgacct ttgacagcgc cgcaccgggt ggtgacacct	18300
cgatccgctt gactgaggcc gactacaagg ttgccggcga caccatcgaa gtgacgtgc	18360
cagctggtgc cccggccaac gtcgcatgt ggaactggt ctacggctac cagaacgccg	18420
gcaccatcaa acagggtgag gcggaagagg cctatccggt ctggacgccg atcgagccgg	18480
gctattcggc ctgcgcctt gacacgttcc gctggttcga gtacgccatg acgctggcgg	18540
ccaacctgca tacgcgcgac ggcgcgagca cgaagtggac ccgtttgcgg gcggccatgc	18600
gccggactgc cgttcgggc cagtaatca gcgacctgc cgaggatc acgctatgc	18660
cgcagttcga cgcgatcccg gtgacgggcg agccgtctgg catgttctgc tggtaaacc	18720

atccggacgc caaggcacc tctgccgagc tgattgcca gggcgccagc tccgagtggc	18780
tgggctataa ctcttggtcc cgcgtgggag gctccggtgg atcagttcgc cccggtgagt	18840
tcgtgtggac cccggacctt atcgggaaat cggtcattgc cggcgacgtg ttcaacggcg	18900
cgtgaaggc gagcgtaccg gcagcggcag cggctctgca ggtgcagatc gggcgaggct	18960
tcaacgacga gtggcggcag aaaacagcgt atcaggaggc cgatcacttc ctgttcgtgg	19020
ccgtctcgat gaacaagcgg ccaaaccttg cggccggcga gcaactgtac gtctacctgt	19080
catcgaccaa gtcttacagc aaggacacgc gctggctactg cgacatcggc cagctgcccc	19140
agctgaaggt tgacggctcc ctgagctacc tctgatccc gcgcacctcg ttcaaacgca	19200
aagacggcga caacaccgag ctgccggccg gcacgcggtt cgagagcttc gggatctcca	19260
tcgagatgaa ggcggcctac gagctgaagc tggcggcgct tcgcccgatc ggtggcgctt	19320
cggccgatgc cgtgaaggt gagctcgcta aagcggcggc cggctccgtg atgccgttct	19380
tcccgggtgc gatgcccttc gccatcaacg ccgataccgt gaagcagcaa ttcgtgggct	19440
ggaacggctc gcccttcac ggctaccagc tgcccattt ctggtacttc ctgcggagg	19500
acgccgcagc ggtgcatccg ggcatcacc catcccagct gcctgtcgcg cttctgacg	19560
gctccctgag ctatccgatc cggccagcca cggccagcgg tgcgaccaag acgccggcgg	19620
cgctgctgtg tgagcaacag atgctcttc tcgcggccgc gagcgataag tgggtgaagg	19680
atggcggcac ccgaggcggc tacgtcaca cgttcgtct gaacacgccg gcgcgatga	19740
gcctcggcaa tccgaccca cactcatggg tgtacacgaa cgacgatccc aacacgcgt	19800
gggcccggta cctgatgcgc gtcacgaga gctgcgcgaa gctgcctac ctgtcccga	19860
acctgtccgc gttcaggat gccggcggca tggccttcaa tcaggccttc gacggcgtga	19920
gcttcatcaa tcagctgtgg cctgacctga acggccagcg cgtcacgatc ggcggcaagg	19980
ccaccatgat ttacgcttc ccgaccgact ttgacgatcc gcgcaaaggt ccgccgcagc	20040
gcctgtacga agagcctcac tcggccgccc tgctgctgcg cgctgcctg tggctgaacc	20100
tatccgaaa gctgtcgcg gcgcaaagcc tcatcgtggc cgcctgggt aagcgtgct	20160
gggattacat ggagctgcgc taccgccgcg acgaggcgca ctcgatgcgc ttcacatggg	20220
ccaacttcga cggcgccaac tcagagcagt ggtacggctt ctggcacttc gagatcgtcg	20280
ccaccatggc ctacctgctt cagaaccca ccggcatccc tgacggcgtg gacgcggcca	20340
ccatgcgcgc gggctggtg gaaaccaat catggctcca gaaaaacgtg aggtaacgaa	20400
tgtccgtcct actgaaaaac aacccccga cgacgtggc aaccgccatt tcctctgtcg	20460
atagctgat ccgcttcgc gtggccatg gcgatatgtt cccgaccccg acgaagcctg	20520
aagagtgggt cccggtcacg atcaggagc agagcggcaa tatcgagggtg tgccggcca	20580

gcctgcgcaa cggatgatgca atttccgtcc agcgcggcgc ggaaggctcg caggctcggg	20640
ccttcacgcg tggatgcagcc gtcgagctgc gcctgactgc cggcgactcg gctgacctga	20700
agggcatggg aggcgctggc aagctcctgt tgaacatcac cgatgcgaag ctggagggcc	20760
aatgatccgg attagctctt tcgcggggga aatccccgc atcatcccc gcctgttgca	20820
ggagaactat gcgcaggtag cccagaacac gaagctggag aacggcgcgc tgctgcctat	20880
ccggcgcggc cgcttcacga cgacctgcc gcaggactg ctttcggtct acaaagccgg	20940
gaacgaatgg ctgggctggc cggatgcgct ggatgtcgag ccgggaccgg tggcgagcga	21000
tcgtctgtac atcaccgggt acggcacgcc taagctgcgc gtcgatggca cgctctaaa	21060
tctggccctg ccgcgtccgc aaaaccgct gacggccacc gtcaacggca cgcctgacga	21120
tcagctgtcg tctacggtca tcttctcta cacgaacgtc agccagtctg atgaagagag	21180
cgagccggcg gacctgtcga tcggcgtggc gtggtctccg ggctgcccgg tcacgtgtc	21240
gggcttcag ctgccaccag ccggccgggg catcaaccgc cagcgcatct accgatcgca	21300
gaccagcagc ctccgagaca cgacctgta ttctgtggcc gaacggccgg cgacggcggc	21360
caacttcgcc tacaccgaca ccagctacc gatgaacgag ccgtggcgt ccacggacta	21420
caaccgcct ccggacaacc ttcaggggct gacgtcgctc ccgaacggca tgatggccgc	21480
gttcgtgggt aagaaggtct atttttgcga accctaccgg ccgcacgcat ggccggaaaa	21540
gtacatcatg accgtggatt acaacgtctg cgggctggcc gcgttcggat cctcgtggc	21600
cgtgatgacg gagggaatgc cctacgtcat gcagggtacc gccccgaca acatggtctc	21660
ggaacgtatc gaggtgaacc ttccgtgtgt gaccgtgcc ggcatcgtgg atctgggcta	21720
ttccgtctgc taccgtcca caaaggggct ggtgacgtg gggggcggcg gcgcggccgt	21780
ggcgtctgag aacctgttca cgcaggacca gtggcagagc atgtcgccgg cgtcgttcgt	21840
ggccggccag ttctccggcc ggtacatggc atcctacgac tacaccgacg cgctgggtaa	21900
ggcgacggc ggaatgtca tcatgacct gtcaggctcg caaccgttc tcgtgcgggc	21960
cagcgatgac gctgaccca tgttctaca gctggggagc gggaagctct tcatcgtccg	22020
gaataagcgt gaggtgtacg agtgggacgc catcagcgag ctgtatggcg agcagctgtg	22080
gcgtcgaaa aagtctgtgc tgccgactga gaccaacttc gcctgcatca tggtagggg	22140
cgaggacgcc ttctcgaac accagcgcgc ccagattgag gcgaagaacg ccgcgatcag	22200
ggcacggaac cgggcgcgca tcgagcaggg aaaaaccggc ggcacatga acgatatggc	22260
cctcaacatg ctgccgttgg ccggcagctc gctggagccg gtgcagagcg acgaaccgac	22320
gttctccgcg accgtctatg ccgatggccg ggccgtggcg accatctacc acctgaaccg	22380
ggtgctgccg ctgccgggag gctacatggc ccgccagtgg gaaatcgaga tccggggcaa	22440

tcagatgggtg acgggcatcg ctatcgcgta ctcggccacc gaaatcgcgg aggggtggctg	22500
atggcagcac aaatcacccc cagcgagttc gcccggtttc gcgagatact tgaagtgtctg	22560
gccgggatgc gggcgatcc ccgcaagttc gcgctccggg ctggtaccgt ggccgacctt	22620
caggagctta ttggcgggct gaagctctcc gcgacgtcgc ttccgcctc gctgggtaaa	22680
atcagtgcgc cgggtggcggc cgctgaaggc tcgacgtcgc gcacgcagga gaacatcagc	22740
gcgcttcagg gccatgtcgg gcagctggac aacagcattg ccggcctgtc cgggcagctg	22800
caaacgccca tgcagcagct ggcgagcctg aacggcgagc tggacgaggc agagcgagg	22860
atcggcggcg tggcgagca ggccagcgat actgccagcc agctcgaca ggtgcgccgc	22920
gaggccggcg gggtaacggt cccgaccag caatccgggg aggtttccgg cgccccaact	22980
gccagtatt ttaacaggct ggtggccgac gtcggtgccg tgttgaccgc gctacagcag	23040
ctaaaaaccg cagtggactg agccttttag cctgtctatc cgttgccgat ttatctatga	23100
tgttgtcaga acggcaacag agcggacacg gtatgaatgg gttgatttac ggcgaggacg	23160
atgcctcgt ggcttggcg tccgataata tcgggtttga gccacgagac gacgtaaagg	23220
caatgggctg gcaggtgac ggcgctcttc gcgctgtttg cctctgggac ggcttctcgg	23280
cgtgcgactg caacatccac atagcgagcg acggtaaggg ccaactggctg acccggaagt	23340
ttctcaccgc gtctttatg caccgttcg tacagtggga actgaggcgc gttacaggcc	23400
tcgtcccttc caaaaacct gagcactgc gcttcgacct gcacctcggc ttcaagcagg	23460
aagggtggt ccgtcatgca ctccctgacg acgacattat ccttcttggg ctgctgcgcg	23520
aggactgccg ctacatccca cagagataca ggagataaca ccatgcacaa cgagatcccg	23580
atggtttcga cgggtgctgtt ggcttgttt ctgttcacac ggccccagct tcctcaattc	23640
gcgctcgcat tcggggcat caacgacccc caccagccc agaaaaccga gcgcaaggct	23700
tgggaagatt tgctcctgtt caaaaaggc agctccaaag ccccgcgcc agaccgcaa	23760
atcggtgccg cagccctcaa agaggcccag ctgggcgaag agtggctgaa gttcgcacgc	23820
gagcagtacg gcgtggcaaa cgagcgccag gccgaacagg acaagatgc caacgagta	23880
tcgaagcagc agctcgacaa ctgcgcacc gccagcagt gggccgcaga ggaccgcgc	23940
cgctataaaa acacgttcca gccgttgacg gatgacttca tcaacacggc caaaaactgg	24000
gacagcaagg cccggcagga caagctggcg gcagaggcga aggccgacgt catcaacaac	24060
gcggccccc agcgatcggc cggcgacgc aacatggccg caatgggct gaacccaac	24120
agcggccgtt atgtgccgt cgatcgttcg gccgacgtcg ccacgtcgt ggccgctgcc	24180

ggcgcggaga acacctcacg caacaacgtg cgcaatcagg ccacggccat gaaggcggac	24240
gcggtgaaca tggggaacgg tctggccgtg aacccggcca actccctcgg catgtccacc	24300
tggggcggct cggcgcccat gggtaccgtc agcgggaaca acgctcaggc ggctggcaac	24360
gcgcagatcg tgggtaacgg ctatcaggcc gcgatgtcgg gctacggcaa tcaggcctcg	24420
atcctgaacc agcagtiacag caaccagctc tctgcatggc agaccagca gcagatgaag	24480
gcgcaatcca gctccagcct gticggcggc ctggggaacc tcgccggcat gggcctcatg	24540
gcgtggtcct cgaaggagct gaaagaggac aagcggccga tggaaggcgc gctcgtatgcc	24600
gtcaactcga tgccggtgga gcagtggag tacaaggatg gcgtggccga cgaaggccag	24660
cacatcggcc cgtatgcaga ggatittgca gccgcgaccg gcaagggcga cggcaaggct	24720
atcaatctca tggacagcgt gggcctcacc atgaaggcgg ttcaggagct gtcgagcaag	24780
gtggacgaca tcgcaaatc ggccggcgtc ggcatgtcca aacgcacacg acctaaggcc	24840
tcggccaaag cggcaccaca gaaggaggcc gcgtaatggc tgatgcaggg atgggcttag	24900
gctcgttcgc cggcggcatg gcgaacggta tgcagatggc cgagcagatg aagcgtcgc	24960
gcgaagagca gaagcgtctg gaggaagaga gcaaggcccg gcaggaggaa gagcgccgc	25020
gtcgtgaaca gcagagccag cagcagcagc aacagcagca gcagcagcag ccggacatga	25080
acatgatcgc ccagatcaag gagaagttca gcggcagcgg cacaggcagt gagggcaacg	25140
ccggtaccgc gctttcggga tctctgacaa cggccgccgg cgcaggtgaa ggcaactggcg	25200
ccatgggtat gccgacgagc tacacggcct acgttggtgg atcagccgct ggcgctggtg	25260
caggaaccgc cggcgctggt gcaggtacgg ctgctgcttc tggcgctggc tcaaccggtg	25320
ccatgggtat gtctaccggc tggggcgctt atgccggtgg taccgcagcc gctggcgctg	25380
gtacggccgc tggagctggt acccccagc gcgcaggaac ggccgcaggt gttggtggcg	25440
gtgccgcagc ggggtggcgt ggtctcggtg cgatcggcgg cggtaggagcc gctgccggtg	25500
gtgcagctgg tggtagttcg gccgctggcg ccggtactgc tgccgctgcc tcaggtccgt	25560
ggggctggat tgctgccgc atcgcggcca acgagatttc agcgcaaac ggccgggtacc	25620
gtcgcaacgg ctggcagggc gccaaaggatc tgttcggtgg caaggtcatg gagcaggacg	25680
cgaaccagcg tttctccaag tatctcgcg gctatgacga cgacaagacc ggctgatgc	25740
acgacgccgg cgcgttcaa gagttcaaca cgctcgactt caaaaacggc tctaagaaga	25800
tcacgaacgg cggcacgcct aaccgtatct tcagcggcct caaaaaaac tttagctgag	25860
ggataatcta tggccgattt cggtatcgga ttgggggcgt ttttgaatgg cgtggcgaat	25920
ggcgcgaagg tctattcgga tattcaggac gccaaatcta agaagaagct gcgtgatgcg	25980
cagatgcagg actttgaaca ggcccggcag gataaggcgg actaccgcaa cctgtccacg	26040

cagggcatgg cagacgcaaa ggccaacaca gacggccaga ccgacaacgt tctgaactac	26100
tacatgaaga acaccgcgcc caagctacag cagcactggc tggagacggg cgacgtcacc	26160
aaggctgagg ccttcggtaa gtggatccaa gacaccaacg tgcagcaggg gatgcgccac	26220
agcgccgcta tgatgcgctc ggccatgacc ggtgacgcgg acggtttcgc caagaacctc	26280
gtcgcggcct acaaccagcc cggctatttc gatgacggtt tcgaggccac cagcgccaac	26340
gtcacgcgcg atgcgaaggg caacgccgcc ggcatggtgg tgaactgcg caaccagcga	26400
accggcgaag agaccgagca cactttcaac agcatggagg acgtgtacaa aatggctcag	26460
gcgttctcct ctccggacgc ggtgttcagt cacggcatga aggagctgga gagcgcgcag	26520
gccgcccggt ccaaaatcgc ggaagagaac cgccagtggg atcgtaccgt tgccggcaag	26580
cagctggacc acggctaccg cgtgcaggag aagtcggcag atcaggattt ccagctacag	26640
cgcgataaca acagctcgca gctgcgacag gctgaagaga ccaacaaagc ccgcaccggt	26700
gccggcagca cgaagatgcg cgatgcgcag gccacgatct cgatgctgaa ggccaacggc	26760
tggagcgacg acgatgtgaa agcgaacctg ccttccatcc tcggtatcga aaaccgctca	26820
cgtccagtta gctctcgcat cgacgattac gttaagatga tgggcgcca cgaaccgaaa	26880
ttcttcgcc tgtctcagga cgagcagatt tcacaggctc gggcgtacat ccagaaagta	26940
gacagccaga gtgctgggcc gggcggcggt gcaggcctgc cgacacgctc cggagcaacc	27000
ggcggccagc agggcgcggg aatgcccttc tacgatcgcc gtaccaactc aatcatttac	27060
cgctgaggac gaaacgtgcc acgtaacgat ttacagtcac cgcttgagaa ggtgctttcc	27120
gagcaacctt cttacggctt gccggccggc ttcgaggaag ccaccaaaagc agccaccagc	27180
gcaccgcgtt ccagccgtcg ccagtctgcc gattattcgg caggcgcttc cttccagtca	27240
gatttcgagg ccgcgtcacg caaatacggc gtgccggtga acgtgctgat gggcttcgcg	27300
gagcaggagt cgagcttcaa cccgaccgcg ctgggccagc ccacgaagta cggccgggcc	27360
aaaggcctga tgcagtatat cgacagcacc gcgtcateca tgggtatcaa cccttacgac	27420
ccggtgcagt cgatcgacgc ggccgcgcgc cagctgcgcc agcgccctga taagggtac	27480
tcgatgcagg aggcggtctc cgcgcacttc ggcggtgacg atcgccgcca gtggggacca	27540
aagacgcagg cttatggccg tgagggtgtg gcgcgtgccg acaagttcgc cggcatcact	27600
ccgggcgctt ccccaccgg cgccagcag caggcgccg gcgtcaacga ctatccgccg	27660
gcgcagagcg cgatggagaa catgcagcag aacgagctgc gttccgccgc gatccaccgt	27720
cagaagatgc tgagtgagct gaacgcggac gaaccgcacc gctaccgcc gctgtcgccg	27780
gaggaaatgc agcagatcca gcaggcgag gacagcgga agagcgaggt gacgttcaac	27840
ggcaaccgca ccccgatccg catcccgctt attcaaggtc tgggcgggtg caagccgcag	27900

gacgcacaaa agccgcagca ggaacagggc tggatggact gggccggcgg tgtcgcgagc	27960
gatgccggcc agctgctgaa gtctggcctg aacacggccg ctgaggatgt gcaggagctg	28020
gtggggcgta ttcctgttgt cggtcagccg atcgtgcgcg ctgccgaccg tttcgaccgc	28080
tggcggaacg gcaagggcac gcaggagatt ttcaaggagt gggacgagag caccgaaaag	28140
gcatattccc cgcagctggc gactgccctg aaaaagtcat gggtagtga gccgggcgac	28200
gatctgggcg gcggcaaaaa ggccaccggc tacagcttcg gcccggcgtg gtcagatcct	28260
cgcgcttaca tgtccggcat tctcgaaagc ctgccgaaa tggccgtcac catgggcgga	28320
tcgggcagac tggcgaccat ggcctacaag cgtgccctcg ctggtggcgc atcacgcgag	28380
gtagcagccc gcgccgagc gcgaaccgcg accgttgccg gcggcatcct tgagggtggt	28440
ctgggtggtg cgcagctcgc ccgccagact cgcgacgaaa tcaacaaaat gaccccgac	28500
cagctgaagg acagccatgc cttcagtcg ctgatgtccg aggcaagac gttcgagcag	28560
gcgcgatcgg cgctggcgga aagctccgcg agtaaggcct tcgtgctggc cggcgtcgt	28620
actggcctgt tcggtggcat gggcgaccgt gcgctggcga agatcatcac caacggtgcc	28680
ggcggccggc tgaagtgcg cctgaccggt gcaatcggtg aaggcctgtt cgaggaagtt	28740
ccgcagtctg cccttcagca gatgggcgag aactacgcca tgcaggacgc ggacccgagc	28800
cgccgcctga tgcagggtgt agcgaaccaa gccgccggcg gtctggccgt gggcggtctg	28860
atgggtgccg gcatgggtgc cgcagctcca cagctccaga acaacgacgc tgccgtgcag	28920
gatcagcagc cggctggcgc gctgccggca ccggtgaga ccgttcagca gtctgccgaa	28980
cgtaccccg acgtcacccc ggaagcctct ggcccgtgg ggcgctcgt tcagggcgt	29040
gccccggaga ccgccaccga aacgcgtcac ccgcaggacg tggccgaagc agctgcttcg	29100
cagtggctgg gtgagccggg cagtaaggca accttcagcc cggccgagga tccggacacc	29160
accttcaccg tgaccgtgga aggtatcgc aacggcgagg tgttcgcccg ttccgaggac	29220
ggctccccgt tccagttcgg ccgtgatgag gttgtccgc acgccatcgt caccgccgca	29280
gaacaggcct caaatgaggg tgcaaaaacg gaagtggcac cggcggaagg cgcgccagcc	29340
gcgccgcagg aagccgcagc ccagctccg gaaccagccc cgcgcgtggt gcaggaagag	29400
cgccccgagg agcgaacctt tgccgaaatg agcgaggaag agcttcgcgg ccgcatgaag	29460
tatctggccc agcagctaa aaatagcggc tgggataagc gtctcacgca ggaacgtcgc	29520
cgcgtggagg cggctatcaa tgccaagtc aaagaacgtg acacagctcc cgccgggggc	29580
atcgaacagc caaacactga agtttctct tccagaccgg ttgatcagca acgagcagta	29640

cgtggcagcg tggaggtgc tgaacgcgct gaagcgcaat ccatcgacgg agctgccgga	29700
cgagctgac gaggtgtggg agaagatgca cctgttgccg cgaccgccgc tgtctctgac	29760
gctgcactaa agggcacaga cggcgcggct aagtgggttcg gtaccgccga gaaggccgcc	29820
cagcacatcg ccaagaagaa gctcaccggg taccgcgtcg agcaggtagg cccgaagcgc	29880
ttcgagatcc accgcgcaga ggaaccacc gcgcaggccc aggaccagca ggacaattca	29940
ccggccggtg acgttggcca acagcctcag gcagtgaata aacctgctgg cccgttcgcc	30000
aacctgctg agaagctggt gggcgaaatc ggcaagggtg tgtcacgctc cgaggacgctc	30060
ggcccgccca aggctggcgg caagtaccag atcacccgca tcgagaagaa cggcaacgtt	30120
cacctgatgg accgcgatac cgccgataag gttgtcgtga cccgaatga cgccgagcga	30180
gcgcgcggcc gcaacgcgca gtggacctcc accgacgtgg ctgaagaggt gcgttctgct	30240
gccccgactg ttgcgaaaac agaacggac ggccgcgact ggcaacgctt tgacgatgac	30300
agcggcacgc tgctggtacc gcgcgagcag atgccgcaga ttaagaccga gcaccggggc	30360
gcgtggtga acttctgaa tgctcgaggc atcgagcacg aggaaaagac cgtcaaccct	30420
gacaccctga agccgacgca ggcggaatac tcgcaggcca aggtccgcga agccgtcgag	30480
cgcaacagcg accggcgcat cctcgtggcc gatggcgacc agattattga tggatcatcat	30540
cagtggctgg cgaagaagga gctgggcgag ccaatccgcg tcacgacct gaaggcgat	30600
gttctggccg tgctggacgc tcggaaggag ttcccaagct ccaccgtcga aaccattct	30660
gcatcaaacc cggccaaaac cgatacaaaa ccggcaaaag ctacatcaga agagccaaaa	30720
accgcaccgg aaaccgcgaa agccgaacca gcacgcgatg aggccgtgaa ggccaaagac	30780
gccgatcgct tcggtgacaa caagctgttc accaccgacc gcgtggccgc agcgcgtgcc	30840
cgcatgaaat ccaagtctgg ccagctcaac agcggcatgg acccggaat gctgatcgac	30900
ggcatgacca tcgccggcgc gtacatcgag agcggatgc gcaagttctc cgactacgcc	30960
aaggcgatgg tggatgactt cggcggcggc gtgaagccat acctcctgtc gttctgggaa	31020
ggtgccccga actatccggg cctcgatacc gaaggcatga ccagcgttcg cgacagtgcg	31080
gccgagcaca aggcgtgct ggctcctgag gacgtcaaga cggaagccgt gggcgaggtg	31140
gtgaaggctc cggccaaacg tacccgcaag acgggcaaat ccggcgacat gtcctgacg	31200
caggattggg gcgtcgagca catcgacggc tacggcgagt ccaccagcgg ccgtgagacc	31260
ggcagcgacc tgaaagacgc tttcctgaag gactccgcc agtacctgaa cgcggtggcg	31320
gacgcgtgg agaacaccgg tticagcccc accaagaacg ccaaaggcaa gtttgtcggt	31380
gcggtcaacg tcaacgcggc cggcgatgcc gtatcaggcg acatcacact ggtgatggat	31440
ggcccgagc gccgtggcgt ctacatcaac atcagcggca cgtcgttgcg cggcgcggtt	31500

ccgaccaccc agagcgggat cggcatcatg taccgggcga ccactccgga ggaccgtac	31560
ggatcccgtt ccacaaacca gtgggcgccc gtttctctgt ccgtaccga cctgtccacg	31620
ctggtgctgt agcacgtcga gagcgtggtg aagcgtgacg gcgcgtggc agaacagcag	31680
gctcgcaacg aagaacgccg gcagtcggcg gatcaggctc gcacgaccgg cggcctcgat	31740
gatatggttt cgcaattcga caatgaggta gtcacgaatg aacctaaca actgggtgag	31800
ccaagcacgg acacactgga aggaacacca gccaacgacg ttcaaacagc ttcaggcgag	31860
cggccagctg ggcgcgccct tgagacaggc ggccgagcgg acgcacgagg aaatgacgga	31920
gctggaagaa gcgggcctga gcaatcagga agcgtgggaa atgacgcgcg agaagtacct	31980
gtttccgccg gaagaggccg ggatgacgga cgacgagccg atgcagagcg gccgggcgat	32040
gcaggacgta atggcgatcc tcaaccagca ggacgcggac gagctgccga actaaaacc	32100
gccgccggca caccggcgca ggaccggccg gccccgtgt tcaccatcga ccctgccacg	32160
atcggcaagg gtggcgataa gaccaagtac cgcaacaacg ttgccgtat cgcctgctg	32220
aaggatctgg aggcctctgg ccgtcaggcg accgcagcgg agcaacagac cctcgcgcaa	32280
tacgtcggct gggcgccat cccgagcc ttcaccgca acgacgtac cgccacgaag	32340
ggctgggaga aggaagcgcg cgagctgcgc gagctgctga ccgatgaaga atacgaagcg	32400
gcgaccgcct cgaccgtaa cgcgcactac accagccctg agatcgtgc cgcatgttg	32460
aaagccgtcg agcgtctggg cttaccggt ggccgcgtca tcgagccatc cgtgggcgtg	32520
ggtaacttct tcggcatgat gccggccggc gtctgtagcg cctcgcagct gcacggcgtg	32580
gagctggacc gcatcacctc cggcatagcc gccagctgt acccggaagc gaagatgcc	32640
cgcatgggtt atcaggaata tgccatccct gacgggcatt tcgacgtggc gatcggaac	32700
ccgccgttcg gctccgagaa gctctacgac gggaagcgca aagacctgtc cggcttctcg	32760
atccacaact actttttcgc ccgtccatc gacgcgtgc gcccgaaagg cgtgctggcg	32820
atggtggtca cgaaccgttt cctcgacagc gccagcgaca agggccgtca gtacatggcg	32880
gatcgtgcgg acctgctggg cgcggttcgc ctgccgaaca acgcctttgc caagaacgc	32940
ggcactgagg tgacgaccga cattatcttc ctgcgcaagc gcgctgaagg tgaggcggcc	33000
aacggcacca gctggctgaa caccgtggac tataaggaca ccaacggcgc aaccgtgccg	33060
ctgaacgagt atttcggcg caaccggac atgatgctgg gtgacttcgg cgcttatggc	33120
tcgatgtacc gcgaaggcga tgccgcgtg gtggctcgtg aaggccagaa cacggccgc	33180
gagctggaac gtgcatttgc ccgctgccc gagaacgtga tcaccgccc ggtggagggtg	33240
aagcccgaga cccgcgagac cgtgaaggca gaggcggccc gcgtcggtc catgttcac	33300
aacggcgacg gccgcgtgat gctgcgccc gaggcagctg tgggcgagaa cacggccgag	33360

gctgtgacct tcccagcac gaaggcagaa gagcgctca ccggcatgat ccgctgcgc	33420
gatgcccigt cagcctgcg tcagtaccag ctgtcgaaca ccgccaaga cgccacgatc	33480
gagcaggccc gcgttgccct gaacaaggtc tatgacaagt tcgttgacgc ccatggcccc	33540
atcaacatgg acgtcaacaa ggcctgttc cgcgacgatc cgacgtggcc gcagatttcc	33600
gcgctggagg acggtttcga taagggtatc tccgctgccg tcgcaaaaa gaccggcgag	33660
gaagcccgtg agccatcggc caagaaggcc gccatcttca ccaagcgcac ccagcagcca	33720
tacgcaccgg tcacatcggc cggcaccgag aaggatgcac tggtagcgtc tctggccgag	33780
cgcggccgag ttgacatggg cctcatgtcc gagctgtacg gcaagagcga ggaagccatt	33840
gcccagcagc tggcgacact gctgtttaac gctccgggca ccggctggca gaccgcgag	33900
gagtiacctgt ccggcaacgt caagcggag ctggcgacag ccgcgaggc cgccagacc	33960
gatccggctt atgcccga cgtcgaagcg ctggaggctg tacagccgaa ggacatcgag	34020
gcggtggaca tcaacgtgaa gcccggtccc gcatgggtac cggctgacac catggccgag	34080
ttcgtgacc acatcaccga aggtccggc gcgaaggcgt tctacaacaa actgacggcc	34140
cgtgggtcct tccccgttt gacggccagc agctccgct ctgcccgtc cggcaccagc	34200
cgcataaagc tcggcgcat cctcgaagcc gctgccgctc agaaggcgt gcaggtttac	34260
gaccagcatc aggacggctc gcgcacctg aacgagaccg aaaccagct ggcaaacgac	34320
aaagccaatc tgggtgcgtc ggaatgggac cgctggatct ggggcgacga tgcgcgccgc	34380
cagagccttg ccgcctcta taacgaccag ttcaacaccg acgttgcccg cgacttcgac	34440
ggctcacacc tgaccttccc cggcaaggct agcgacgaca tcgtgaagct gcgcccgcac	34500
cagtcgaatt tcgtctggcg cgtcgtgcag ggtggcacgt cgtggccga tcacgtcgtc	34560
ggtgccggca agacgttctc gctggtggct tccatcatgg agctgcgccg cctcggactg	34620
gcccgaagc ctgtcctgac cgtgccgaac catctggtag gccagtgggc tgctgacttc	34680
ctgaagctct atccgggcgc caacgtgctg gccgcctcga aagccgattt tgagaagggc	34740
aagcgtcagc gcctgttcgc ccgcatcgt accggcgatt gggacgtggt gatcgtggct	34800
cacttttct tcggcaaggt ccagatggac ccggagctgg aggcagactt catccgcgag	34860
gaaatccgc acctgaccga ctcgatcagc cagattgaag cggccgaagg caagcgacc	34920
cgcaacgtga agcaggcgca ggaccgaaa accgcctcg aagagaagct gaaaaagctc	34980
atcgactcgg agcggaaagga caacagcctg tactggtctg agctgggtat cgacgcgtg	35040
gccgtggatg agttccacga gttaagaac ctgcgttca ccaccgcat gaggaacgtg	35100

gccggcctcg gcaacccgac gggaagccag aaggccatgg atatgtacat gaagatccgg	35160
cacgtcctgt ccgtcaccgg cgggcgcaac gtgattacgg ccaccggcac gccgatcagc	35220
aacaccatgg ctgagatgta caccatgcag cgctacatgg attacgacac cctgaaggct	35280
cagggactgt cgcacttcga tgcgtgggcg cgcatgttcg gtgaggttgt caccgattgg	35340
gagctgtcac cgtccggcca gtacaagatg aacagccggt tcgcgaagtt cgtcaacatg	35400
ccggagctga tgcagcgtta cacctcgttc gcggacaccg tgaaccgtga cgacatcaac	35460
cgtatgctgg cggcccaagg taagcgctg ccggtgccga agctggccgg cggcaagccg	35520
aacaacgtcg tagtggatcg ctccgtagag caggccggct acatcggta gccgaccacc	35580
gacgcgaacg gcatggaagt ctaccggaa ggctcgctcg tctaccgtgc cgagaacatt	35640
ccgaagaagc ccgaaaaggg cgcggacaac atgctgaaaa tcatgtcgga cgcccgaag	35700
gctgcgtcg atatgcctt gattgaccgc agcctgccgg acaatccaaa cagcaaggct	35760
aatcacgtcg ccggcagcat caaggctatc tacgacgagt ggacgccga tcgcggcacg	35820
cagctggtgt ttatcgacct ctccacggc aagggcgcgga aggcggccga gtcggcccgc	35880
attcgcgaca tcatgcccc ttccgagagc gacgatccgg ccgtggccga agcagcccag	35940
agcgagctgg ataagctgtc tccggatgag ctgctggcgc tcgatggcga tttctctgtc	36000
tacgatgacc tgaagcagaa gctcatcgac cggggcatcc cagaggccga gatcgcttc	36060
atccacgacg cgaacaccga gcttcagaaa gaagagctgt tcggcaaggt ccgcaccggc	36120
cgcgtccgcg tcctgttcgg ctccacggct aagatgggtg ccggcatgaa cgtgcaaaac	36180
aggctggtgg ctctccacca cctcgacgca ccatggcgcc cgtctgacct cgaacagcgc	36240
gagggccgca tcatccgtca gggtaacgag ctgtacgacc gcgaccgga aggcttcgag	36300
gtgcgcatca accgctacgc cacgaaacag accctcgaca gccgcatgtg gcagacgatc	36360
gagagcaagg cgaacttcat cgagcaggta cgcaagggca acaccggtac ccgcgagatc	36420
gaggacattg gcggcgaggc ggccaacgcg gccgaaatga aggcggccag ctccggcaac	36480
ccgtcatcc tcgaagaaat gaccctgcgc cagaaggctc gcacgtgga gaacgagcgc	36540
accgccacg accgcgacca gtaccggatc cgcgaccgta tcagcatgga agagggaac	36600
gtgcgtcaca tcgagcgcac cctgcgccag ctgcgtgagg acgccagcg cgagctgccg	36660
gcgaaattcg cggtagaggt aggcggccag acctcgaga agcgtgtga tgccggcgag	36720
gccattctgg ccgtcggcg caacatggag cgcaaggca tcgaagagca ggccatcggc	36780
aactatggcg gcttcagcct gcacatggag cgcgtcagcg ccgagcgctt catcctgtct	36840
gccaacggca ccggcagtta cgaggtaccg gtggcgctgg gtaccgacgc acaggggctt	36900
gccacccgcc tgaccaacgc cgttcgcgac ctgcagccg cgatcgagaa gatggaggcg	36960

gccaaaggcca ccagcgagaa ggctatcccg gccctgcgcg agcaggtgaa ggcatggccg	37020
aagggcgagc agctggaaga gaccacccgc cgccacgcgg aggttatcga gcagctgaag	37080
cctaaaaagc aggaccagag tgttgcgaaa ccggcaacgg acgcgccgga acagcaatac	37140
aacgacctga gcgagggcag cgccttcgca gcggacgcta tggccgagct ggccgccccat	37200
gatgagatgt ttgcctatcc gcgcgccacc gggcagcggg ccttgcaggg cgtgttcgat	37260
accgtcatgc cggacgtgaa gatccgctgg gagacgccga agctcgacga caacagcaac	37320
gagacggagg taacgcacat ccgtggcgtg accgggcgcg gccgtgacat caatatctac	37380
cagacccccg aggaagtgtg gttcgacgtc tccaacgtta acgaggggtga aggcggtgcc	37440
ggcatctatc aggcggtggc agagtatgcc ctgaacaccg gccggaagtt cgtaggcgat	37500
ccggatggcc tgtcagacat cgcgctgcgc cgccgcactg aggctatgct gtcctctgcg	37560
ctgaagcacg gcacgaccga ccatctggag ccgcacgagc gccagctgaa gggcgataaa	37620
gcactgggtg ttcctgcgct ccgctggaaa gaaggcgatt ttgcgtttaa tatccgtagc	37680
ctgatcgata catcgctggc taacatcaag gcagcagttc cggagattga ccgtgcaaga	37740
tacgactttg aaagcggaca ttaccgcaca ggtgatggaa agcccttact ggcagaaaacg	37800
attgaacgct gggttggaca tccaaagctg cgtgcggcgc gagcaggcag cgcaacggtt	37860
aaaagaagta ttctcctcaa ttccctttca cgcactgaag gcagcgcgca atccggacta	37920
ctggagagac ttttcgcgct cagcgggtcaa ctcttaagcc ccgagcttca caacaccttc	37980
tacgactggt ccaacgacca gccttaccaa cgtctccac agggaatcg catccagctg	38040
aacgcgcgtc tgcgcaagct ggagcagatg aacgccctcg ggcagatcac cccggaagaa	38100
tattcgcagc gtatctctga gattgcggag ttgctggaag gccggacat ggagaacgcc	38160
gcgaagaagg ctttcgaga gcgcagcgc ggttccgata tggctgctgga gcgcctgcac	38220
cgtgccccgc gccgtggtga catttccgag cagcccgccg acatcgcgat ctgggcactg	38280
aaccagaacc cgcagctggc cgacgagctg ggtatctcga tccgcgagaa aggcggtagc	38340
cgctacgacc gcgtggagcg catcgcgcac ctgatgtcgg gcaacatgcg cgacaccag	38400
ccgatccagc aaatcctcca ccacaccgag cgcatgatgc cgcctgaggt gcagaagggg	38460
atcgcggccg agtacaacaa ggcatgggac cgggcctata agaaggcctc tccggagctg	38520
cgcgcggctc tcgatgcgct gcgcctgtct cgcttcggtg acaaagccgc ccgcgaggcg	38580
acatgaagg ctttcgagaa cggcacgctg gactaccacc agcactacca gctcaccaac	38640
gcctcggaat actgggcggt gaacgcggcc gaaatcatgg ccgatcgcta cgtggcgagc	38700
acggaaggct ggcgccagc cgcccgccag ttgctgaaag agttcgtcca gaaggctcgc	38760
ggctggttcc gtctgtcctc gaacgtgcc gtcatcaaag gcctgaacgc cgtcaccaac	38820

ggcgatggca cgttccgcag cggcgacatg ttgggtgttc acccggcagc tgaccggccg	38880
gccttcaatg accagcctga aggcgactat gccaacatgc cgaagtatgg cagcggcatg	38940
gacccgcgcc cggaaatccc gaccgacgca caggaccggg gcacgatccg cagctggtgg	39000
gatggcttca aggatgccgt gaagaacgcg ctttcggacc tgaccacgca ggccatgcag	39060
aaaggtctgg cgtcctgcc gatgcgcccc ctcatcaccg agctgggtaa aaacctgccg	39120
gcggccggcg actacatgcg cctgaagcag agcatggacg ccatgcgctc cgaatggcac	39180
gccaagacgg acaaggtggc ccagcgctgg ctgaagtacc gcgtgaagca cccgatcgag	39240
aacagcgagc tgatggacct catgcacgag tccaccctg cgcaggttga cccggcgtat	39300
gccttcgctc cgctgatgac ctcccgcgag cgggacgcgc tgcgcactgc tgcctctggc	39360
agcgagaccg agaataagct gctgaagaag gcggccagcg atcggaagcg ccgcgaggct	39420
caccgcacgc tggagcagcg cttcaagtcg ctgtcaccgg aagcgcaggc gctcttcaac	39480
gaagtgcgga acgcctacac cgagctggca gacgcctatg aggccgtcct catgcagaac	39540
atggagaagg ccatcaacgt gcgcatcacc cgcgccgaac gtgagcaccg ctacgagatg	39600
gagcggatcc gcgatgaggc gctggagggc gaagagaagg cagacgccgt gcaggaggcg	39660
accgcaaac tgcgcgcggc caaaaccaag atcgctgga accgcaaggc ccgcatcacg	39720
cagctgcgcc agcagttcga gaccgagcgc ctggccggcc cgtacttccc gctggccccg	39780
ttcggcaacc tgttcgtgac cgtgcgcgag aaggagaccg ggcacgtcgt gtcgttctcc	39840
cgcttcgagc acgcccgcga ccagcgccgt ttctccaaga tgatgaaggc aaaccggaa	39900
tacgacgtcg agatcggcgc gctggatgac accgcagctg tccgcaaagc cgtggaccg	39960
aacttcgtgg ccgacgtcga ggacatcctt caggatctgc ccggtgccga gaagtgaa	40020
gacgagggtg ggcagcgcta ccttgaaagc ctgccggata tgtccgtgcg taaaaccgc	40080
attcacgtc tgggccgtgc cggcttcgat gctgatgcc tgcgcgcgtt cggctccgc	40140
atgttccacg gttcgcacca gctggcccgct ctggctcatt ccttcgacat ggaagaggcc	40200
atcaatcagg cccgcgagga agcccgtac gctggatgac ctgtccgcga ctcgctggtg	40260
gtgaacgaga tggccaagcg ccacgagttc gtgatgaacc cgaccggcgg cccgctggcg	40320
cagaccgtaa ctgaggcggc cttcgtctgg gcgctggccg gctcaccgaa agcggccgtc	40380
atgaacctgt tccagaccac catcatgggt gtgccgatgc tggccgccta cgacggcgcg	40440
cgtctgaaca gcatggcccc agctgcgaag gagctgaacg ttgcgtgat cgacttcacg	40500
cgcggccgtg gcttcgcgga gcgtccaaa ggcctgacgg ccgacgagcg ggatgcgatg	40560

cagaagggt acaacatcgg cattatcgac cgtaccaggt cgcacgatct ggccggcatc	40620
ggtgagaccg gtgtggagta caagccattc cgtaccaagg tgatgaacat cctcggctgg	40680
ggcttccacc actccgagcg cctgaaccgt gaggtgacgt tctcgtctgc ctaccgcatg	40740
gcccgtaaaga agggcgaggg gcacgataag gccatcaaca cgcccggcga tctgacgtgg	40800
aaaacgcact tcgactacca gaacacctcg cgccctcgcg tgatgcactc cgacctcatg	40860
aaggcggcgc tgggtgttccg gaacttccaa gtgaacatgc tctatcgtct gttccgcgac	40920
acctatcagg ctatccacgc tgacggcaag caggcgaagc gcgaagcgct cacgcagctg	40980
gccggcgctca ccggcatgat gatgctgaat gccggcatca ccggcacatg gctgttcggt	41040
atcgcatga tgatggccgg cctcttcacc gacgacggcg acgatccgca ggttgagctg	41100
aagaagggca tgggtcaacgc cctcggggccg atgatggccg gcatcatcct cgacggcggtt	41160
ccgggctaca ccaccggcac cagcctgtct ggttccgtgg gtatgccgga tctgtggttc	41220
cgctcacctg accgcgagct ggaaggtaa gactcgttcc aatactggca gtcgcagctg	41280
ctgggtgcgg ctccgtcgct ggctgagaac gtggcgcgcg gctacaagat gatcaccgat	41340
ggcaacacct atcgcgccat cgagaccatg atgccgaaaa tgttcaagga tccgatgcgc	41400
gcctaccggt tcgcaacgga cggggcgacg aacctgcgcg gcgataccgt ggacagctc	41460
accacctcgg acgtggtgaa gcaggcgctg ggcttcacgc cggcgcggtt ggccgagcaa	41520
tacgcatca actcccgaa ctacaacaag cagcaggcga tcaccggcga gcgtaagcgc	41580
ctcatcgacc gctactggaa ggccggcgag aaagaggacg acgccgcgca ggataagctg	41640
ctggatgaga tcgaccgtt caacgataaa taccgggagc aggtcatcag cggccggagc	41700
ctgagcggtt cgccaaggt cgcacacaaa aacgcggatc aggccaccgg cgggatgcgc	41760
tacaacaaca agctgcgcga gcggctgctg gaggaacagg caccaagcgt ctataagtaa	41820
tgagaaatcc ccgtccggc ggggtttctt tttgtgcgtc gttgtggaat tgaaaacagc	41880
gggcctataa tcgcaacata ccaaaccacaa ggcgcatgac gtgccaccaa ccaaaggatga	41940
gcacgaatgt ctcagaacct gactgaacag gatttcattg ccgctgccgc gcgcctgaat	42000
gcgccgtat ccgccgtcaa ggcggtggcg tccgtcgaaa gcgccggcaa cggtttctc	42060
tccgggggccc gtcccaaggt ccagtttgaa cccacgtca tgtacagcga gctgacgaag	42120
ctcttcggca aggcacgcgc cgagctggag ctgtccgtc acccgatct cgttccccgc	42180
agcccgga gctaccagag cctcgaaaaa gaaaacgcgg acatggaccg cgccgccccaa	42240
gagatcgacc gcaccgtgc cctgcaatcg gccagctggg gcgcttttca gattatgggc	42300
tatcactgga aaacctcggg gtacgtacc cttcaggagt tcatcaacgc ccagtacag	42360
gccgccggcc agctcgacag ctctgtgcgc ttcatcttgg ccgatgctg cttgtgtaat	42420

gcgttgcgcc ggaaggagtg ggccaccttc gcgcggatct acaacggccc gaactacgcg	42480
aagaaccgct acgacacgaa gctggcggac gctgacaaac acttccgggg ggctgatgg	42540
atgacctgac ccctccgggc ggctgtggg ccagtctggg tgttcagta accggcatcg	42600
tcggcgggtgc aatctggctc gtccagaaac tttaagcgg ttcggtcgat cgggcaggcg	42660
accgggctga agtcaacatt atcgcggtgc ttcaggaaga gcgggacaag tggcgggagc	42720
tttacaccgc ctccgaagct gagaagcgcc agtattttca gcaattcatg gaagccagct	42780
ctcaggtgaa ttactcacg gagaaggctc cgatcctgac cgagcagggtg gaagcgctga	42840
aaagtgaggt agagcgctt aacacggcgc tggagaaaaa ccgatgagcc acaaccatgc	42900
aggaaagcag tgccccggag ataagtcgcc gtggaaatcg tgggagatgt ggggagtgtt	42960
atgcttctc gtgcctcag gcggcatcgc tggcgccacg attaccaact atgtggtgca	43020
gaacgacgcc cagcagcaga tagcggcctg taagaccgcc tacgaagagg cggggaaatc	43080
ccgccttcag gcgtcacca tgtgcctgaa ccagaccacc ggtgcggcca atcaggccgc	43140
cagtgcggcg atcgacccg cagccaaagc gtcagcagca caggaggcgg ccgacaaagc	43200
cgccgcagct gtaccgcac ctaacgcgga cgtgccgga tgagcctcct ttccgcgaag	43260
gccaaagccg ccattgccgg cgggtgtgtg ctggtggccg ttcccgtgg tgccggcgtg	43320
accggcaaga tcctctctat caccacgcc cgcgacgtcg ccagctgaa gcaggagcag	43380
gccagcaac gcgcgcagt ggagccgac aaggccgcca tatcgaagaa ggcgagcag	43440
gacaccgacg ccgcttatgc ccgcacgaag gccgcgagg acgcaatggc cgccctcgat	43500
gcgcaaaaat cacaggaact ggccgatgcc gaacgtgaaa actctgatct gcgcgatgct	43560
gttgccgtg gcgataagcg ggtgcgcac cttccgga acctcgccac agcccagctt	43620
acagcccgtc agcacgccg aggcgaaat ccagcgccg gcagcgtggg cgatggagcc	43680
gcactcgaac tctctaccg tctggacag cgtgttctcg atctccgcgc cggaatcatc	43740
cgggacaacg ccaaaataga ctacctgaa ggctacgtcc gcgacgtgtg tcggcagtgc	43800
aagcgctaaa aaagaagccc cgggaaacgg gggctttttc tcttcaggcg gcttcgaaa	43860
cccgcaggcg cttccgctc ttctggtcct cgtccagcat ggcccgcacg aacctgtccc	43920
atactccat ggctcgcgc ttctcgggca ttagctgta gcggtcatag tgccgcgagc	43980
tgactcgtg ccggtatagg ttctgaagcc ggtccctta tctcctgcgt cagccggcc	44040
ttgcctgcca gcgttttcca cgtccgcgc aggtcgcggt tcgtgatgtc cggcagcacg	44100
ccccgggtccc gttgcccca aaggcgga tagagggtgc cgtgactgac gggcttctcg	44160
ggatccatct gcgaggggaa gaaccagccg tgctcgttcg tgccgatttc gtccagcagc	44220
tcgatggcga gcgacggcag cgggatcgtg tgaggttcc cgttcttcgt ctttgaccag	44280

tcgagcagcc cttcagcctt gtcgtactgg tcccgggtgca gggcggcaat ttctctccacg	44340
cgctgccccg tgagcatcag caggcgcatg gcgtcaaggt acgggccatg gatgggcctg	44400
tccgggtttc ccagccagtc ccacatgcgg cagtagtccg cctcactgag ccagcgcgtg	44460
ccaaccacct taggctcggg ggggatcagc gccgcccggg tgtgaatgag cttgaaccgg	44520
cgcgggctgc tggagcggta gtccagctcc gatttcagcc cccacgcgaa ggccgcccgg	44580
atgtaggagc gaacgtggtc cgccatggag tttttgccgc gctcgaagat gggccggagc	44640
acgttcagca cgtcctctgg ctcgatgtcg cgggcgaggc ggttcggcc gagaccatcc	44700
gtgattttat ccagcccctt cttcgcttcc acgaagctca ttttcccctg agccttcagg	44760
ttatcaacgt aggcgtcgaa caggtcgcca acggtgcccc gccggctgtc accgcctgcc	44820
acctgatc aggcaccctt gttgatggcc gtggagaagt cgcggccgaa cacctcgcgg	44880
gcgtcgcga gcgtcatgtg ggggtagtcg cccatcttcg agagggtgcg cttattgtcg	44940
cgcactgct gcgcgtacca cgtcgtcgtg acgcgggtag gcatgggctt gatgatgagc	45000
acgaggcggc cgacgcgcg cccttcacca tcggccagtg tggcctgctt ccggctcttc	45060
tcaaccggtt tgatagcgtt ccgatctgt ccgtctgtca gccttgcat ggctcacacc	45120
tccgctttca caacggccgg tgccattccg acaacacgaa cgttacgca aaacggccag	45180
cgatcgagcg gctggctgtc ctgaagcggg gcggccgtct ggctgtcgt cgctgcactg	45240
gtggagctgg tggccggtgc ggccggccgg gacgccttgg cgtcagtcgt gggggtggtg	45300
tgccgttcgg cgtcggtgcc gagagcggcg gtcatgtcgt ctcgtttcaa aatcgcttcc	45360
tctgttggg gcggttagcg ggtgatagcc gatcgctaac tggtgccggg agtggtgccg	45420
gaatggccgg cgactgggtt ttattgatcg gaaaccgcta ccagtcaaca gggcagaaaa	45480
cgtaagcgtt tcagcgggtt tgagcgtgaa cgagcgtgaa ctaaaaatag gtgctggggg	45540
gattgtggaa cagattaac tgttgacctc agcacttaga aaacattgtc tttttagcga	45600
gaagggtttc agctgggtggc ggggtgggtgt gacggtttga aatcagactc agccacattc	45660
ccgctacctg caccagcggc accagtcgtt cactctcgta cactcgcggc gcatttgacg	45720
gtgttgcgct cgtcccatgc gtccagctcg ctttcctcat acaggaccgt cttgccgatc	45780
ttggtgaact tcgggcccga gcgcaggctc cgccagttcg ccagcgiccg cacggaaacc	45840
agccccgggt aacggtcggc cacttcgtcc tgagtggagt aacgcttttt gctcatgcca	45900
tgtccagtg attcggctgt ttactgtttt gacaacactc ctaacaggac cgcaacggaa	45960
cgaaggggg gagtccgtga actccccgac taacctactg gcgtttgaag cggtggaagg	46020

ctgcgcgaa ccagcccatc gcggccggt caggctccgg ggtggacgtc acaatgatgc	46080
gtccgggagg cggtgccttc cgggcctcct tccggaggaa caccatcgac cgcgcggtgc	46140
gccagcgggt gctgacgtaa tcccagtagg ctccggccgg cgtgctgccc gaaccgaaca	46200
ccggcacgag tggcacgcgg gtgacggggt gaggcacgcc gcagtaccag acgcccagca	46260
gctgccagag gcgaggtagc cgcctcatgc gtcgaacttc ccgttccact cgcgctcagg	46320
gatcggcgcg taacgctgga tggccggcgc gttctcgatg gccttcttca cgtcgcccag	46380
cgcgtaccc agcgcgttct cggccagcat caggcgccgc gtgcccttct ggtcgtgct	46440
gttcgtgtgc aggtacatgg cggtgcggcc gtcgtgaag tcgtgcgtca ggtcagcag	46500
ctgtttctcg ccttcgtcgg tggtagcgt caccgtcacc ttgatcgct tagggttcat	46560
gctgcaccgc ctgcccgc tggcgccgc atcggctga tgcgtccag ctcgatgtga	46620
ccacggccat agccaccac gcgcgcggc gtgtcgcggt agtaatatc gttgtgcgc	46680
gcgatccacg cggtagcgt ttggtggagc tggacgcgt tgcggccaga agcccgacc	46740
acgatgccgg tgtgcgttt gatagcgcc atcattcacc agccttaggc gtcgcccg	46800
gcagggtgac gatcgaccg tctctgacgt ccagctcgtt gccggcgtcg tcatagaagc	46860
cccagccgta gaggttgcct tcgccggtgt acttcagcgt agcccgtgg ccggccggt	46920
cgctgcgttt ggtgtggcgc gtgtaccga ccagtacag gtgctggatc tggatggtca	46980
tgtggtccgc caccatgcc tcgcgggcaa tctctgacg tgcctgata aagtccgct	47040
ggctcttgat gcgcggccgc tcgatcgtgc catccagcg cgtgtgtgc tgggggcatg	47100
agacgctggc cgagtaggc tagatggcaa ggcgctcgt cggcccgcc gccgcgacct	47160
caggcgtggc gttccctcg acgcgcactt cgcggaactc gatatggtcg atgctgacgc	47220
agccggtgac gtccttcacc ttcacgacga cctcgccgtg cccgaggatc cacggttccc	47280
cgcgtatcca tgtcgcgcgg cgggtgtcct cgcccttgat cgggtaatac cagacagggg	47340
tgtgtccgg aaaacgcgt gcaaaagact gagectgagc ttctgggttt ctacgttgtg	47400
ccatttctt tctcggaaat gagccggcgc gttgcgacgt ccacgatgac gtcgctctcg	47460
aatggccgga ctgtgtgttt tggtttgacc gggcgctcgt tcaggtaggt gagcttgccc	47520
ggtgtgaata tcgcgacgtc tgccagctgg aacacggccg caatccgttt gatgtcgtcc	47580
tgcaagcccc cctcttcagc gtgctgccag acagcggcgc ggccctgttc ctcttcatc	47640
aggcctgcgc acccttgtga cgcagccaga cgcagaccgg gccgccgtcg tcgctctcgt	47700
ggatcgaacc gacgaaccag ccgtcgccct caggctttgc cggttcccat gccagtatgt	47760
cgttgtgcc agcgcctatg cgcctcatca gctcttcggc gtcgggatcg ctctccatcc	47820
acgcggccgc gaactccagc cctgtgagct gcgtccaccg gctgaacgcc tcgtcggtaa	47880

ggtggccggg gtaatcgacg tgggcgtagt agccgaggct gcaccgggca ggctcgcacg	47940
gccggagcca ttgcccgtg ccgtgtgagc gccacatgtc caccagcatt tcaggcggcc	48000
ggccatacag cttgtaggcc agcagcagat cagggtgagg cccgaagtcg cacacgttct	48060
tctcgatgtg gtcgcggctc atccacagca ggatgctggc cttgccgtca tctccgtca	48120
cttcgagctg ggcggcctcg acgcagcggg aatagcggac gtcgttgaac tgcttcagtt	48180
ggaattgcat cgcgtctcct tggtagtcg ccggtcttgg cgagcacgtt ctgaaggata	48240
ggcagcacgt cgcgcagctg cgccaccagc tcgggatacct gctggacgag ctggaggcgg	48300
cgggacgact gccgggatat cttgctgatg aggggtgcga agccggccgc aacggcgcag	48360
cgtcttttc actcgcgaac ttctcgggt ggctgatcg ccatcggtac cgggtctttg	48420
ccccagcctt gcccgacct gaagccgacc gggtaggcat aagcggccgc gtactgacgt	48480
ccgcccacct cgcggccgt ctcgatcatg aagcgtggc ccggtctggc ggtgaattgg	48540
gttttcatca tgcgggtaac ggtctgctcg accgtgatgc ggccgggtgaa gcgccagccg	48600
ccgtcgattt ccatttcaac cagcaccttg tcgccggttt tcagcccccac gaaacgcggg	48660
tttaggtag tcataatttc gggaagtctc agtcgtgggg cgcatcatgc gccctgaaaa	48720
cgtgccggtt ggatggctca acagccggcc cccgttcccc tgaattagggt tgaacgttca	48780
acaattaagc ggctcagtt tccttcgcc gttttcattt taggattatg cgtttctaaa	48840
ttgcaaacgg tattttcagt gcatcgtcag gatgcagcgc cgcgccacg tcagccgggc	48900
gctgtcatgc cgccagttgc cgttgccgaa gaggttgaac gtaccggggg cataaccgcg	48960
ccggatcgtg gcgaagcgca tcttctgttc gtctcgtatg agcacgccgc agtagaggcc	49020
cagcagctcg ttgcctcct gccaggccc gaggaacgtc acccagccgt cagtgaatgc	49080
cagcggtag tggcggtgc ggtaggaaac ggcaatcacg tcgtcgggca cgccatcagg	49140
gataggtatg cgctcgtatg cgtctttctc tgcgtatagc atttaccgt cgccgttgta	49200
ataggcgaga acgtcacaac gccggctggc ggatttggcc gactcgtatg cggcgttcgc	49260
cagaacttca gtaccggaa tgtcagaac ctgcgccagc ttaccgctt ctggcagctg	49320
catcttgcgt ttaccgtcca gcgagcgca taacgtgcc ggccagacgt ccatttgctt	49380
cgcgacctcg cgtaaaacta tacgacgatc ggccatgtgg tccatgaaga accgtttgtt	49440
cactggcact agaacctcct gctcaagcca cttgtgacct tacgcttatg gccccgttt	49500
tcaaaacgca atcgctgtt ttgatttgtg gtctctttt tgggaacatt gtttcgttt	49560
tagaaacagg ggcgaaggta tggaactgaa atcaccaat gaaatcaacg gttcagctat	49620
ccggcgcttc cggatggcgc gcaacgagcg gctggaggat ttctggggcg ctgttggtta	49680
ttcgacatca cgcggttcgc gctacgaaac aggcgacacg ctgccggagc acgttcgccg	49740

gctggtttat ctgcactacg tcgtcggcat tccgacgaac atgcaggggg cagagtttca	49800
aaacctcgtg caaaccatcg aacaggggag cgcgcgcaag gtggaagagg ctcgggaaat	49860
tgtggaacag ctacaggcgc tgacggccaa gagcctgagc gtcttgaagg gggcaccatc	49920
ggtgcaagta tctgaggatg atcagctttt agctgatgca aggggctgga tcgccggctc	49980
cggagagggc acaacgatag cgaaactcgc gaagcacttc ggcatcacca agcccgaggc	50040
gcgtcgcac tgcaatcagc tcgtggaaga gggtttctg gagaagccag cccatcgaag	50100
cgaatattac ccggaggcct gatatgtcgc ttctcatgac cgtgccgtt gtcggtgccg	50160
ttgccaccgt cgcattcaac ttcttccgc tcggcaaacc gactcactcg ggcacccggc	50220
acggccggca cgagccgccg gcgaagtga cgaagaggc gagcttctgg ctgaccgtcc	50280
tgaacccggt gcggtcgtg ggcgacgtca ttcacggcta caccaccttc agcacggcaa	50340
tcggccggct gctggctctg tcgttctcgc tgggtgtcct ctggacggcc ggcttctga	50400
tctgggcagc gagcaacgcc gcctaagggg agtatgtggc agtaacagtt acgtggcgcg	50460
atgggtggaa acaccgatc gtcacaccga gtgtcgga gctgccgcg aaggccgtcg	50520
tctggtgggg tgacgcggtg atctacatga aggacggctc ccggctggaa agcagctggc	50580
acagccgccg ccccatctct gccgaacagg caaaagaggc catgcgcgca gtcgcgccg	50640
acatgatcgc agatttagaa aaccggacg acgccgtaga cagcggcttc gtcatgaaat	50700
gccgttaac aaccaacgag gaaaggaaag tggaaggcac taaacacgag ttcgtactga	50760
aaaagaccgt cgccatgttc aacaagctga cgggcaaaaa gatgaccacc aaagagggtg	50820
gcgttttct cgaccttat gactttgtgg cggatcacgc cgccccggac acgccggcag	50880
agccaacgcc gtgggataag gccaccagcg agaccgtgc cgaagcccag ccgcagacca	50940
tcgagcgcg gcccgtccc gtcgatctgg aaatcccgc attcatcggc cgcgaggttg	51000
aaaaggccgt cgccccgaa cctgagcagc cgcagtcagc cgtgccgtg ctgaagaag	51060
ccatgagccg tggtaatggc ctctgtgtgg tgacggacag cccggacacc aaagtgaaac	51120
cggcccgccg tgagttcacc ttgcgccgg caccggcca acctgcgcca gcgcgcccg	51180
ccaagtatgc ccgcgccg atccgcacca gcgaccgca gcacatcccc ggctatgact	51240
ggcagattgt cgtgctcat cgccagaagc gcgaagagaa cagctacatc gtccacttcg	51300
cgaacgcgc gacacaggac gagtttgac agcatttcgc cctgttcgcc agccagagcc	51360
actatgtcca cctgaacgag tggatccgg gtgactggca gggcatcaca gacagctacc	51420
gcaagggcta cagccggccg gccaaaccgg cggaacagcc gcgcccgtg ccggcatcga	51480

ccgtggttca ccaagccaaa gcgccagagc ctgagctggt gggccgcgac gtctcgcagc	51540
cggcgatctc cgcaccgtgg gaacaggccg ataaggcgtt ccgcatccgc taccactccg	51600
acgcgctggg cggcatcaac ttccactacg tcgataagaa gccgagccgc gctgaaatgg	51660
cccacttcca tcacaccaag tgtctggcgg ccgtgcagtc gcgcccgact gagggggcag	51720
catgaccgac ttccagaagc agggccagga ggccatccag aaagcgctcc gcgacgggac	51780
atggcagaac atcagctggc ttgccagcgc cgtagaagag catggcttgc cggcgggtgtt	51840
gtcaaattctc cccgatggtg acaaaaagac aacagccggt ggcgcgctcca ccagcgaggc	51900
cagcgtgacc accgaagagg aaggtccggg ctggccggag tgggcgacgt ggctgtgca	51960
gctccccggc ctcacaccga gcgtggtgta cttcgagcgc aaaccgcaga cagcgggtgat	52020
taaggccttc gccggcgag ctggcgtagc gccagacgtg tggcgggttg aggaacgcga	52080
gtgaactgga cggaagacga gctgaaggag ctacaggcca aagccgaggc gcgcaggaag	52140
ggagacaaac ccgtcaagcc ggccggcaag cagaaaatgc aggcgctggg ccggtgaag	52200
cagggcgaga agaacaacac cgaacaggcc tacgaggacc atctggagtg gcgaaagcac	52260
gtcggggaaa tcctctggta caagtctgag ggcgtgaagc tccgtctggc tgacaacacc	52320
ttctacacct gcgactatct cgtcatgctc gcgaacggcc agctggaggc ccacgaggtg	52380
aaaggcttct ggaccgacga tgcccgcgtg aaaatcaagg tcgcggccga tctctatccg	52440
ttccgcttca tcgccgtgca gaaggtgaag aaggcggacg gcggcggctg gcgctttgaa	52500
gccttttctg gactcgggtg ttgtcaaaac gataacacat gaggcaggat cgcaatgagt	52560
gattcggcat ggccgggtca caaccgccac agtcgggaat cagcgtgaag taactttttg	52620
cgctggggcg tgagacacc accctgattg tgctaatac gacaccagta gccgccgcgc	52680
tgcgtagtgt ccagtaaaa ccggcagttt tgtcgatacg gttttgccgg gagtctcacc	52740
actacgcagc acggcggttt tttattgtga gtatttcacg aaaggaatgt tcgaccacgt	52800
tctaccgcgc ggctttcgtt gcccgagggt tggttaacca ttcgagctga acgctcgct	52860
cataccgctt gccggcgatc cctcggacct tcccgatccc gcgccccgcg tccacgccta	52920
catgatggcg gtctacgaac ggacagggga accgctcacc agccgcgaaa tccaccgcgc	52980
cctcggggcg tacgttcagc tgcatggcga ctcgccatgg tactggcgctc tcgactgctg	53040
gccgctcgaa cacctctacg atgcctcgct cctgtacgaa gagccggcca gcgaggtgca	53100
gccaatgagcg gcccttacca actcatctac gccgatccct gctggtccta cgacaacaaa	53160
ggcaccgggg cgaaggctga caatcactac ccgaccatga cgctggagca gctgaagcgc	53220
ctccctgttt gggatctggc cgctgacgat tgcgtgctcg cgatgtggtg ggttggcccg	53280
atggagcgcg aggcgcgcgc actggccgaa gcgtggggct tcaaggtccg gaacatgaag	53340

ctgttcacat gggcgaagct caaccagatg gccgaacgcg acatcaccac ggcgctggcc	53400
gccggcaagg tgcccgactt cgccgccttc atgcagctgc tgaacgacaa aacgaagatg	53460
ggcctcggga actacaccg cgccaacagc gaggacgtgc tggcggccgt tcgcgccgt	53520
gggctggagc ggctggccgg caacgtgaag cagatggtct acgcgccgat cggccggcac	53580
agcgcgaagc ctgatgaggt gcgccagcgc ctcatcgcc tctatggccc ggacatttcc	53640
cgcacgagc tgttcagtcg gggcgatgcc cccggctggc accactgggg caacgagaac	53700
ccccgcaacg acgtcgagct ggtggccggg gccgcgcagc tgcagacgca cgccaacgac	53760
aataagccgg ccggtgccgg taaggaatgc gcatgaaaac cctgctgctg ggcatagtcc	53820
tgttcgggct ggcgctggctc atcgccacc cagaccgctt ttacgccttc ctgattggg	53880
cttcggaggc gcgcttatga gcctgctgtt caagttccgc ccgctggtca tcaatccgga	53940
gctggccgag cgtatcgcc tgaacgagc catcgtgctc cagcaactga attactggct	54000
caccgagacc gaaagcggga tcgaggtgaa cgcccgccgc tgggtctaca acaccacga	54060
ccagtggcg aagcagttcc ctctctggc cgtggacacc gtgaaacggg cgcttaccgt	54120
cctgacgaaa cagggcacg tgattgccga aaagctccag aaatcccaga gaaaccacac	54180
gaatttctac acgatagagt tcgagcatcc tgccctgacc gaagaggga atttgccctc	54240
atcgaagagg gcaaaagcac catcatctga agagggcaaa atgcaccaat cgacgggggc	54300
agattgcct gatgtgaaga gggcaaattg ccctgttctt cttacagaga ttacaacaga	54360
gactactaca gagattacag cagagacttc tcaacaaggc ggggcggccg aaagcgtgcc	54420
tgcggtgttg tcaaaacaga aacagaaggc atccaccagc aacacggcag agctgggcgc	54480
tctccctgag tggatcccg cagaggcatg ggtcgcgttc gtggaaatgc ggaaggccat	54540
gggtagcaaa ggcaagctca ccccgccagc tgcgaagctc atcatcaaga agctgggcga	54600
gctggctgca cagggccacc cgccgggcgc agtcctcgaa cagtcggtga tgaacaactg	54660
gcgcggtgtg ttcgagctga agaaccagca gagcggcggc cggcagcagc agctggagac	54720
gcgcaatgc tccgcatcg aagagttcgt gaacgggggc cagcgcaatg gttgagggtg	54780
ataagcgcga gttcgcggaa atcatggggg ccgtcatggc cctgtacggt agggatgcca	54840
cccagccgct gttgcgctg tacttcgcgg cgctgggcgc tcactcgtg gagcacgtcc	54900
ggcaggcgct ggaccgtgg gtaaaggatc cggagcacgg ccagttcatg ccgaagccgg	54960
ccgaaatcat ccgcacgatt gagtacccc acggcagcag ccgggcgcgc tggctctctg	55020
ccaacgaagc atgggcgcag gccatccgg cagcggacga aagcgccacc gtcgtctgga	55080
cgccagagac gcgaaggcg tgggaagtgc cccggccgct gttcgaggct ggcgacaagg	55140
taggcgcgc catggccttc ctgccggcat acgagcggct ggtggagcag gcccgcacg	55200

agggaagga gccgcacttc gaagtgtccg ccggctggga tccgaagatg cgcctcgcgg	55260
ccgtcgagaa ggcccggacc attgccctgc ttccaccagc tcgccctgag ccggttctcg	55320
cgatcgaggg gccggccggc gaagagttca cggccgagca gctggaggcg aaccgcgagc	55380
gcatggccgc gaacctgcgc cagctggccg aaaacctcgc agagcgcgcc gagcagaacg	55440
agaaggaccg catcgaggcg gcggcacgcg cccggcagca gttcgaggat cgcaaggcgg	55500
ccatggtggc cgaggcagag gcgcacttcg cgaaggacga gaagccggac gatgccgccc	55560
cggtgccgga ggcagctgaa tgaccgagaa ggaaatcaat caccgcatcg cggccatgct	55620
gcgctatccc atcatcgaga acgaccagac ggaccttgca gaggtggtgg taggcgttcg	55680
cgacgggaag cgcgtggagt tcgacttctg caacagctgg ggggacggcg ggccgtgct	55740
ggagcgcttc ggctctcgc tccgtacga tggccacatc tggcacgcag agccgtggt	55800
gccacgccct cgcaacccg ctgaagggtc cgcacgtgc gagggccgca tctgtacga	55860
cagcaagccg ctggtggccg caatgcgcac cattctggcg atgaagtaag cacggatcat	55920
taaacgaac aggagcgccg tcagggcgct ctttctgtt ttgtgtaggt gtggatgggt	55980
acaggcgaga aaaagccgct gcggcccgga ggcttcgcac agcggctggt tcggttggt	56040
ggtctggccc tatttcttca ggcgttcgct ccggtacatc agcagcgccct tcgctacgat	56100
ctcttcgcgg gtcaggctcg tggcgtccag cagctcctgc atcgcatcgg cggcaacctt	56160
caccatccat gtgttcagct gcttgctgcc ggccggccagg cgcttctgcc ggtgggcctt	56220
cacatagtcg tacccggtgc cggcgctcat ggtgcctcca cgcggcggggt tatctccacc	56280
ggcacgcaca ccgcgtccg gtcgtggtc gccttgccgc tcaggttctc gcacatggcc	56340
ttcgtggagt agaaataatc gtccaccggc tcgtcgcggc aatcgctccg tgccggcccg	56400
cagatggcga tgaccagcat ccacctgca atcgctcga tcacgctcg ttcctcacgc	56460
ggtcagggtc gccaatcacc gtcaccggcc agcagaagcc cggctcgtc atgttcacgc	56520
gcactgagcg ggtgttcgc ggccggttga tgcgttcccg gtcccggcgg tccttgttgt	56580
gctgggtgga gcacacgac caggtgttgt tactcacacg gcgaatggtg ccgtggcgcg	56640
ggtccacgct gcacacactg ccgtgaagt ggctcatgcc ggccggccaga gcttcctcgc	56700
gggcgatgcc gatcgacgtt ttcttgccgc cggcccggg ttgggtctgg ttggtctgac	56760
gtctctggtt actcatgctc acctcgctgg gcagcttga tcaggttacg ggccgcgcgg	56820
gccatgatgg cgttctcgcg ggacaggctc ccggcgacgg cgtggcacag gtcgatgcc	56880
tcgttcagcc agctctcatc ggccggccggc gtcgtcacgt tgcggaacc cagcaggctc	56940

tcgatagcgt ccagcacgtc ctgcacgtc gggtcagtca ggcccagcgt cagcgccaca	57000
cgcctcatgg cggcgcgag ctcatccacg ttgctccgag catcgtcacg ctgcgacacg	57060
gccgtgagggt ggctctcctt caggccgagc accgtctccg gcagatcgtc cgcgtcctgc	57120
gcattccacgc cggcgccctc cagcgtgtcg ttgaacagcg cgaacgatac ctcatggcg	57180
cgcggcagct ggtcgaagcg gatgtccggt accgtgggtct ttccgcagat cgtgtccagc	57240
agggcgtgaa ggcggaata gtccaccttc gcctgtggt ggttatcctt cgcctcatg	57300
agctggcgat cgagcgcttc cagctggcgg tcacgtgca tcaggccgtc gttctggcgg	57360
gtcatcagct cctgcacgtc ggccagcttc ggcaggaacg cggcatagct ctcatgccg	57420
aacatcacac aggctcatc caccagctgc tgcattgctg gcgacggctt cagtcctcg	57480
cccggatgct cggcgccctg caccagcttc cagcctccgt cgcggagctg gctcacgatg	57540
tccgccagcg ctgctgttc ggccgagcgc tctcgccat tcaggatcac gtccagctgg	57600
cgggtcaggg cgcgggtgtt ctctgcgca tctgatagc ccaccacgat ctcttcagg	57660
tcatcaatcc ggccggactg gtctgccac ttacggcag cggaagagag catgtcatc	57720
tgcgcggcgg cctgcaccag catcttgagg ccggtgccg ctccaggat gcgcctgcg	57780
ccttcacgta gtccggatc tgtacagcg tgatgattgg ttgatgtca taggttctcc	57840
agtgctccg caggaggggc ggtgtgtagt tcaggatgata gctgcaaatt cgcaacactg	57900
acggtagcca aaaggcgac aagaccacga agataccag gccacatc gcggcgagg	57960
tcggggcgggt tcaggctgaa aaagcgttga ttgcggctgg tcattagtag tctcgtgtc	58020
agttagagggt tgtgtccca gacggcgatc ggctcgtctg attggttag acgatttcc	58080
cacaggaacc agccattgcc ggccggctgg cgcagctccc attgcgcta gtcgtccgtg	58140
tcgtccctt cagggggcag caggtagttc gtcgttagg tcaggttatg cagagcgaac	58200
cactcgttca gctcttcggc gctctcatg ccctccgat aagcagggtg cgaccacagg	58260
ccttcgtcgt cgcgtctac ggccgtgcc gtgatgaggc tgttatccac cataggtacg	58320
gtagcagaca cagggataag cagctcggac ggccacagca ggcacgcgc atggttcag	58380
tctttgccgg caacgacgtt gtcacgtc acatgggttag cgcggccaac gagcatcggc	58440
tggtgggtgt cgatggcgat caggttctcg ccgtgccctt ggttcaccag ctggcccag	58500
gcgcagggcc aattcactta cgtcatact cacaatcatt cctcaggccg cgcggcgcg	58560
gccggcaaag ttattcggac aaaagctctt tcatgaaatc gcggtaccgg gcacgcact	58620
cggcgccctg atcctcatcc agcaccgca ctccagtcgg caggtaggcg agcgtcgtgt	58680
agttgcggct atgcagggt aagatgcga gtggctgcc caccttaggg gcggcgcata	58740
ctttcgtgtt caccacaca cgtgtcggc atggctgca gtcgatgacc ttgcgtctt	58800

gaacgtacca gacgggtgaag tcttgcctct tgtctctccag atccaccatg accaccggag	58860
agggtcttctt ggcgcggtctc attgggcccgt ccagcgctgc acgcggcggc tgtccactac	58920
cagctcaacg aggcagttat catcctcacg gccgtgttc cggcgcatgg ccgccacctt	58980
caggtctaac agctcatggc ctgccggcgt gctgggtggac tcatcaggcg tcataggctc	59040
ggccagcgtc tcgatcgtaa tcatgagcgc gccttcggac gggatgcgcc gattgcagag	59100
gcccggcttc cacatcagca cctcaccttt cacgaacggt tcggctgggtg gcacgagcag	59160
cgccagacgg tcccgcagct tgccggccag ctgcacctga taccgcgcgt gcttctcgtc	59220
ctcggtcagc tcggccgcca gttcgggtgcc gtcagccacc tcgaagaagt gcgccgcagc	59280
ttcggtagtg agggtagtca ggccgtgggtc atcagcggcc ttcagggttc cgccgcaggc	59340
gatagcctca tagttcggcg cgccgggtaaa gccgttccag ccttcgcgac aggtcagcgg	59400
gatggagttc tggttcagtg cgtgcgccag agcgcgggca aatacgtctt tattcacaga	59460
gttatactct tgttattggc cccggcgcac cggggcgggc agtggttagc gggccagtac	59520
gaccagctgg cagcgctcga tgtcgatacc gcgcgtctgg gggatcatgt tcatggccgc	59580
cacagcgtgc tcacgctcga agtacgagcc gtgcttgatg agcttgctt caaagctcgc	59640
catgcagatg ccgacgacgt agcgcttacc aaccgcgtgc gcgtcgtcga ttgagtga	59700
gtctttgaac agctcgcgcg cttctttcag gggcagagca tcaggctcgg gggccagctt	59760
gccgtcaacc gcagccttca gggcgctcgtc agcgctcatg taacggacgg tcttccgtt	59820
ccagtcgatg aagggtggtgc cgttccactc ggtgacggcg gccggcgtgc cgttgtcat	59880
gaggaaggtc tgatgcgcga ccagcacttc gccgcgtgg gtggccgcga agaaatcggc	59940
ctcttctga gtgtggaat cgaagcgtc gccatggacg gtggtagcgt tcgggcggaa	60000
cacatccacc acgaagtac gggcatcgtc agctgcgttg aagaaaggc gctcggcctt	60060
ctggtgctgc gtggtcaggg tcacgttaaa gtgagcggca gcggtgcgga cctctttcga	60120
ggtgtgcagg tatttagtcg cgagatagtt cagtaacgag acaacggcac tgcggtcttg	60180
agcattcatc aacctttctt cggtttagca tcggggcgat ttatgtaata actactgaga	60240
cttaatctta tctgataagg tattacattg caactttagt ttgcagttta ggaattgctt	60300
caggagaggt agcggcgcaa tcgccgcat tcaaccagt gtcaccaatc cacgcgcaaa	60360
aacagctccg cattcttcag tccatcagca gcgctatgac gcggacaccc gcttcagatg	60420
ccgcatgag gcctagccag agaccggcg actgcgttaa cccaagcagg cgatgggccg	60480
tgcccaattc atcagcgaat tgctcatccg ttgtgcagtc ggtatagccc gacaggctcg	60540
ccggcgcttc gtccatcaga gtggcgtcct tgagccgata gccgccgaag cgcgtgtca	60600
ccgggtccca gcggaccatc ttctttgctg tagcagccag tgtttgcaat ctggaactcc	60660

cgtttctaca atcgcaacag cgcgatccgg ggcttaaacc cgaaccggat cgtg 60714

<210> 2

<211> 2787

<212> DNA

<213> bacteriophage Ep14

<400> 2

atggctaaga gccttgtggg ggctaccacc gccctgtttg ttgtcagact gtcaacgccc 60

gtcactgaaa aggtaacagt ggcatggcag acagaggacg gtaccgggtca cgccggcatt 120

gactacgagg ccgctgccgg caccgtggaa ttgtcgccgg gcgagacaga aaaggggatc 180

gaggttgtcg tgctcgccgg tgaggacggc tcaacgggca acggcctgac cttctacgtt 240

cgtctgctgc cgccgggtgaa tgccgtgtcg ctggacgagc tgaacagtg ccgcatact 300

gtggaaaccg acgaaggcgt ggtgacgacc tctgttgtcg tcgcgaccgg gccgaagggt 360

aagaaggcg atccgggcct gagcgctac gagctggcga aggttcaggg ctacgagggc 420

agtctgaccg actggctggg cgggtgccgg gtgcaggctg ttgtcatggc ctcacaggcg 480

gccgcacagg cgaaagagca gctgaaccgc gctttccgct tcgagccggg taataagggtg 540

ccggagctgc cgcctatcga gcagatggaa ggcaagatcg tcgttgtccg caacggtgctg 600

ccggtgggga tgcaggcgag caacgacacc gcgctcgcc tggccgtgaa cctcggtgtaag 660

aacgacggct ccagcatggt gggccacacc gacaaagcgg acggcaaagc caagacggta 720

ggcgcaacc tcgatcggct ggtggatgag gacgcagctc agaagaaaac cgcacaggac 780

cgtcaggacg cgctgaacag tgcgatggg tttctgcaga tcgggcagggt tccatcatgg 840

gcggcgctgg ctaccgtggt gccaccaag gccgatcagc aggtcattct gcgcggctgg 900

aatgctggct ctaccacagg cggcggcatc ttcaaggctg ttgcaggctg ggccaccagc 960

gatggcggta ccgtgtgccc ggtcaacggc aactggtact ggaagcgcgt gcaggaagat 1020

gcgctgctga ccatctacga cttcggcgcc cgcgtcgatg gcgtcaccga tgacatgccg 1080

gcaatcaagg cgatgtacga ggcgaccgt aaaaacgccg tggcgaacc ggtaggcgtc 1140

cgtctgccag ctggtccggt tgggtgtgtg ggaacgatgg acctttcggg cagcaccgag 1200

cagtcgatct tccgcctgaa ggggccagac gtcgagttcg gcgtgggtgcc ggtgacgaag 1260

attattccgc tcgacaaaac cagcaccgtg ccgctgttcc agctgaacgc acgccgtatg 1320

gaagtgagcg gcctccacat cgacacgacc accgacaacg tgaagccgtt cctgaagaac 1380

gtgtgccgc gtggtgagta cgttcgctg aagtgcgtcc gcgtcaaca ctccgcaggc 1440

ctgacgttcg acctcgtgga caccatcgac accaagttcg agcaggtcta cgcctacagc 1500

atttcggcgcg gtttctctgcg caccagctgg tcaaacctcg atccgggcgg ctggaaccac 1560
 ccgaccgcta tcgaaatctc gaatgcgaac ttctccagct cgaagaaggt ggagccaatc 1620

cgcgccattc gtgccggcca gtcgatcatg cgcaacgtgt ggttctcgaa caacgaatac 1680
 accttcgaca ttcttcaggg tggttggttg ttcgataccg tcatcatgga aaacagcacc 1740
 tatccggcca aaatcaagta cgccaagatt ttcaagacaa actgccgttt cgagcagggt 1800
 gcgacacttg atgagaacgg taccgacttc gacctatcat gggatcaggg taaacctctg 1860
 ccgacgtggg taacgaacgc catggatcag ggcggtgttg acctgcgtat caccggtca 1920
 cgcttcgatt gcggcgtgtc caccgacttc gatttctccg aaaccatcct gaccaacacc 1980
 accagcgtcg agaagtgggt ggaagtaggc aaagtcaccc ttccaggaccg tggccgcacc 2040

tgccgcata gcctgttggg tacgtcaggc tggaacagtg cagccggcga gatgaaagt 2100
 ccagccggtg ccggcttcgg cggcgccgcg agcgacatct tcatcgagt caagtgccg 2160
 gactcgcagg acaccggcgt gatcgaggtt cactggcatg gcgaaggcgc aagccctatc 2220
 caagacgtga agtacaccg ctcatggcag acggtcacga tctacgtgaa gatggcggcc 2280
 tactgcctga gcgcggccct gttcatcgag agcaatggcc tgtctcgtgc gcagaccggc 2340
 aagccgttct acacgcagct gaccaacgtt gacgttgccg acatcggcgc ggtgccgggc 2400
 atcaagcagg cctccgcgcg ctggtccgtc aacaggggcg ttacaacga caacggcttc 2460

ggcatggatt tagataccgg cgatctgtg ctgtacacca agctgaagat gagcaaaggc 2520
 gcggcagact tcatcccgat catgctgaac ggcgagcgt tctacattca ggcaacggac 2580
 aaattcgcga accgctgccc gtattacacc tttagaccaac tgccttcacc ttcggattac 2640
 gtctactgtc aggtactatg ttctgacacg gcgaaaagcc catccatgca gatgtgtat 2700
 tccaacggct accgctggat ttatcaggcc tatccgaccg aaaccgtcac taaaattgcc 2760
 gatggtagcc ccatcatcaa ccgctaa 2787

<210> 3
 <211> 928
 <212> PRT

<213> bacteriophage Ep14

<400> 3

Met Ala Lys Ser Leu Val Gly Ala Thr Thr Ala Leu Phe Val Val Arg

1 5 10 15

Leu Ser Thr Pro Val Thr Glu Lys Val Thr Val Ala Trp Gln Thr Glu

20 25 30

Asp Gly Thr Gly His Ala Gly Ile Asp Tyr Glu Ala Ala Ala Gly Thr
 35 40 45
 Val Glu Phe Ala Pro Gly Glu Thr Glu Lys Gly Ile Glu Val Val Val
 50 55 60

 Leu Gly Arg Glu Asp Gly Ser Thr Gly Asn Gly Leu Thr Phe Tyr Val
 65 70 75 80
 Arg Leu Arg Pro Pro Val Asn Ala Val Leu Leu Asp Glu Leu Asn Glu
 85 90 95
 Cys Arg Ile Thr Val Glu Thr Asp Glu Gly Val Val Thr Thr Ser Val
 100 105 110
 Val Val Ala Thr Gly Pro Lys Gly Lys Lys Gly Asp Pro Gly Leu Ser
 115 120 125
 Ala Tyr Glu Leu Ala Lys Val Gln Gly Tyr Glu Gly Ser Leu Thr Asp

 130 135 140
 Trp Leu Gly Gly Ala Gly Val Gln Ala Val Val Met Ala Ser Gln Ala
 145 150 155 160
 Ala Ala Gln Ala Lys Glu Gln Leu Asn Arg Ala Phe Arg Phe Glu Pro
 165 170 175
 Gly Asn Lys Val Pro Glu Leu Pro Pro Ile Glu Gln Met Glu Gly Lys
 180 185 190
 Ile Val Val Val Arg Asn Gly Ala Pro Val Gly Met Gln Ala Ser Asn
 195 200 205

 Asp Thr Ala Leu Gly Leu Ala Val Asn Leu Gly Lys Asn Asp Gly Ser
 210 215 220
 Ser Met Val Gly His Thr Asp Lys Ala Asp Gly Lys Ala Lys Thr Val
 225 230 235 240
 Gly Ala Thr Leu Asp Arg Leu Val Asp Glu Asp Ala Ala Gln Lys Lys
 245 250 255
 Thr Ala Gln Asp Arg Gln Asp Ala Leu Asn Ser Ala Met Gly Phe Ser
 260 265 270
 Gln Ile Gly Gln Val Pro Ser Trp Ala Ala Leu Ala Thr Val Val Pro

275 280 285
 Thr Lys Ala Asp Gln Gln Val Ile Leu Arg Gly Trp Asn Ala Gly Ser
 290 295 300
 Thr His Gly Gly Gly Ile Phe Lys Ala Val Ala Gly Ala Ala Thr Ser
 305 310 315 320
 Asp Gly Gly Thr Val Cys Pro Val Asn Gly Asn Trp Tyr Trp Lys Arg
 325 330 335
 Val Gln Glu Asp Ala Leu Leu Thr Ile Tyr Asp Phe Gly Ala Arg Val
 340 345 350

 Asp Gly Val Thr Asp Asp Met Pro Ala Ile Lys Ala Met Tyr Glu Ala
 355 360 365
 Thr Arg Lys Asn Ala Val Ala Asn Pro Val Gly Val Arg Leu Pro Ala
 370 375 380
 Gly Pro Val Gly Val Ser Gly Thr Met Asp Leu Ser Gly Ser Thr Glu
 385 390 395 400
 Gln Ser Ile Phe Arg Leu Lys Gly Pro Asp Val Glu Phe Gly Val Val
 405 410 415
 Pro Val Thr Lys Ile Ile Pro Leu Asp Lys Thr Ser Thr Val Pro Leu

 420 425 430
 Phe Gln Leu Asn Ala Arg Arg Met Glu Val Ser Gly Leu His Ile Asp
 435 440 445
 Thr Thr Thr Asp Asn Val Lys Pro Phe Leu Lys Asn Val Cys Pro Arg
 450 455 460
 Gly Glu Tyr Val Arg Val Lys Cys Val Arg Val Asn Asn Ser Ala Gly
 465 470 475 480
 Leu Thr Phe Asp Leu Val Asp Thr Ile Asp Thr Lys Phe Glu Gln Val
 485 490 495

 Tyr Ala Tyr Ser Ile Ser Gly Gly Phe Leu Arg Thr Ser Trp Ser Asn
 500 505 510
 Leu Asp Pro Gly Gly Trp Asn His Pro Thr Ala Ile Glu Ile Ser Asn
 515 520 525
 Ala Asn Phe Ser Ser Ser Lys Lys Val Glu Pro Ile Arg Ala Ile Arg

530 535 540
 Ala Gly Gln Ser Ile Met Arg Asn Val Trp Phe Ser Asn Asn Glu Tyr
 545 550 555 560
 Thr Phe Asp Ile Ser Gln Gly Gly Trp Leu Phe Asp Thr Val Ile Met

 565 570 575
 Glu Asn Ser Thr Tyr Pro Ala Lys Ile Lys Tyr Ala Lys Ile Phe Lys
 580 585 590
 Thr Asn Cys Arg Phe Glu Gln Gly Ala Thr Leu Asp Glu Asn Gly Thr
 595 600 605
 Asp Phe Asp Pro Ser Trp Asp Gln Gly Lys Pro Leu Pro Thr Trp Val
 610 615 620
 Thr Asn Ala Met Asp Gln Gly Gly Val Asp Leu Arg Ile Thr Gly Ser
 625 630 635 640

 Arg Phe Asp Cys Gly Val Ser Thr Gln Phe Asp Phe Ser Glu Thr Ile
 645 650 655
 Leu Thr Asn Thr Thr Ser Ala Glu Lys Trp Val Glu Val Gly Lys Val
 660 665 670
 Ile Leu Gln Asp Arg Gly Arg Thr Cys Arg Met Ser Leu Leu Gly Thr
 675 680 685
 Ser Gly Trp Asn Ser Ala Ala Gly Glu Met Lys Val Pro Ala Gly Thr
 690 695 700
 Gly Phe Gly Gly Gly Arg Ser Asp Ile Phe Ile Glu Cys Lys Val Pro

 705 710 715 720
 Asp Ser Gln Asp Thr Gly Val Ile Glu Val His Trp His Gly Glu Gly
 725 730 735
 Ala Ser Pro Ile Gln Asp Val Lys Tyr Thr Arg Ser Trp Gln Thr Val
 740 745 750
 Thr Ile Tyr Val Lys Met Ala Ala Tyr Cys Leu Ser Ala Ala Leu Phe
 755 760 765
 Ile Glu Ser Asn Gly Leu Ser Arg Ala Gln Thr Gly Lys Pro Phe Tyr
 770 775 780

Thr Gln Leu Thr Asn Val Asp Val Ala Asp Ile Gly Ala Val Pro Gly
785 790 795 800
Ile Lys Gln Ala Ser Ala Arg Trp Ser Val Asn Arg Gly Val Tyr Asn
805 810 815
Asp Asn Gly Phe Gly Met Asp Leu Asp Thr Gly Asp Leu Leu Leu Tyr
820 825 830
Thr Lys Leu Lys Met Ser Lys Gly Ala Ala Asp Phe Ile Pro Ile Met
835 840 845
Leu Asn Gly Glu Arg Phe Tyr Ile Gln Ala Thr Asp Lys Phe Ala Asn

850 855 860
Arg Val Pro Tyr Tyr Thr Phe Asp Gln Leu Pro Ser Pro Ser Asp Tyr
865 870 875 880
Val Tyr Cys Gln Val Leu Cys Ser Asp Thr Ala Lys Ser Pro Ser Met
885 890 895
Gln Met Leu Tyr Ser Asn Gly Tyr Arg Trp Ile Tyr Gln Ala Tyr Pro
900 905 910
Thr Glu Thr Val Thr Lys Ile Ala Asp Gly Ser Pro Ile Ile Asn Arg
915 920 925

<210> 4

<211> 591

<212> DNA

<213> bacteriophage Ep14

<400> 4

atgtctcaga acctgactga acaggatttc attgccgtg ccgcgcgcct gaatgcgcgcg	60
ctatccgccg tcaaggcggg ggcgtccgtc gaaagcgccg gcaacggttt cctctccggg	120
ggccgtccca aggtccagtt tgaacccac gtcatgtaca gcgagctgac gaagctcttc	180
ggcaaggcac gcgccgagct ggagctgtcc cgtcaccgcg atctcgttgc ccgcagcgcc	240
ggcagctacc agagcctcga aaaagaaaac gcggacatgg accgcgccgc ccaagagatc	300
gaccgcaccg ctgcctgca atcgcccgagc tggggcgctt ttcagattat gggtatcac	360
tggaacacct gcgggtacgc tacccttcag gagttcatca acgcccagta cacggccgcc	420
ggccagctcg acagcttcgt gcgttcatt ctggccgatg ctgcttgcgt gaatgcgttg	480
cgccggaagg agtgggccc cttcgcgcgg atctacaacg gcccgaaacta cgcaagaac	540

cgctacgaca cgaagctggc ggacgctgac aaacacttcc ggggggcgtg a

591

<210> 5

<211> 196

<212> PRT

<213> bacteriophage Ep14

<400> 5

Met Ser Gln Asn Leu Thr Glu Gln Asp Phe Ile Ala Ala Ala Ala Arg

1 5 10 15

Leu Asn Ala Pro Leu Ser Ala Val Lys Ala Val Ala Ser Val Glu Ser

20 25 30

Ala Gly Asn Gly Phe Leu Ser Gly Gly Arg Pro Lys Val Gln Phe Glu

35 40 45

Pro His Val Met Tyr Ser Glu Leu Thr Lys Leu Phe Gly Lys Ala Arg

50 55 60

Ala Glu Leu Glu Leu Ser Arg His Arg Asp Leu Val Ala Arg Ser Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gln Glu Ile Asp Arg Thr Ala Ala Leu Gln Ser Ala Ser Trp Gly

100 105 110

Ala Phe Gln Ile Met Gly Tyr His Trp Lys Thr Cys Gly Tyr Ala Thr

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Arg Arg Lys Glu Trp Ala Thr Phe Ala Arg Ile Tyr Asn Gly Pro Asn

165 170 175

Tyr Ala Lys Asn Arg Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Asp Ala Asp Lys His

180 185 190

Phe Arg Gly Ala

195

<210> 6
 <211> 570
 <212> DNA
 <213> bacteriophage Ep14
 <400> 6
 atgagcctcc tttccgcgaa ggccaaagcc gccattgccg gcggtgtggt gctggtggcc 60
 gttgccgctg gtgccggcgt gaccggcaag atcctctcta tcaccacgc cgcgcacgtc 120
 gcccagctga agcaggagca ggccgacgaa cgcgcgcagt gggaggccga caaggccgcc 180
 atatcgaaga aggcgcagca ggacaccgac gccgcttatg cccgcacgaa ggccgcgcag 240
 gacgcactgg ccgccctcga tgcgcaaaaa tcacaggaac tggccgatgc cgaacgtgaa 300
 aactctgatc tgcgcgatgc tgttgccgct ggcgataagc ggggtgcgcat cctctccgcg 360
 aacctcgcca cagcccagct tacagcccg cagcacgccg caggccgaaa tcccagcgcc 420
 ggcagcgtgg gcgatggagc cgcactcgaa ctctctaccg ctgctggaca gcgtgttctc 480
 gatctccgcg ccggaatcat ccgggacaac gccaaaatag actacctgca aggctacgtc 540
 cgcgacgtgg ttcggcagtg caagcgctaa 570

<210> 7
 <211> 189
 <212> PRT
 <213> bacteriophage Ep14
 <400> 7
 Met Ser Leu Leu Ser Ala Lys Ala Lys Ala Ala Ile Ala Gly Gly Val
 1 5 10 15
 Val Leu Val Ala Val Ala Ala Gly Ala Gly Val Thr Gly Lys Ile Leu
 20 25 30
 Ser Ile Thr His Ala Arg Asp Val Ala Gln Leu Lys Gln Glu Gln Ala
 35 40 45
 Asp Glu Arg Ala Gln Trp Glu Ala Asp Lys Ala Ala Ile Ser Lys Lys
 50 55 60
 Ala Gln Gln Asp Thr Asp Ala Ala Tyr Ala Arg Thr Lys Ala Ala Gln
 65 70 75 80
 Asp Ala Leu Ala Ala Leu Asp Ala Gln Lys Ser Gln Glu Leu Ala Asp
 85 90 95

Ala Glu Arg Glu Asn Ser Asp Leu Arg Asp Ala Val Ala Ala Gly Asp
100 105 110
Lys Arg Val Arg Ile Leu Ser Ala Asn Leu Ala Thr Ala Gln Leu Thr
115 120 125
Ala Arg Gln His Ala Ala Gly Arg Asn Pro Ser Ala Gly Ser Val Gly
130 135 140
Asp Gly Ala Ala Leu Glu Leu Ser Thr Ala Ala Gly Gln Arg Val Leu
145 150 155 160
Asp Leu Arg Ala Gly Ile Ile Arg Asp Asn Ala Lys Ile Asp Tyr Leu
165 170 175
Gln Gly Tyr Val Arg Asp Val Val Arg Gln Cys Lys Arg
180 185

<210> 8
<211> 303
<212> DNA
<213> bacteriophage Ep14
<400> 8
atgcccgac gaagccgcg caggacgcac tggccgccct c gatgcgcaa aaatcacagg 60
aactggccga tgccgaacgt gaaaactctg atctgcgcga tgctgttgcc gctggcgata 120
agcgggtgcg catctctcc gcgaacctcg ccacagccca gcttacagcc cgtcagcacg 180
ccgcaggcgg aaatcccagc gccggcagcg tggcgatgg agccgcactc gaactctcta 240
ccgctgctgg acagcgtgtt ctgatctcc gcgccggaat catccgggac aacgcaaaa 300
tag 303

<210> 9
<211> 100
<212> PRT
<213> bacteriophage Ep14
<400> 9
Met Pro Ala Arg Arg Pro Arg Arg Thr His Trp Pro Pro Ser Met Arg
1 5 10 15
Lys Asn His Arg Asn Trp Pro Met Pro Asn Val Lys Thr Leu Ile Cys
20 25 30

Ala Met Leu Leu Pro Leu Ala Ile Ser Gly Cys Ala Ser Ser Pro Arg

35

40

45

Thr Ser Pro Gln Pro Ser Leu Gln Pro Val Ser Thr Pro Gln Ala Glu

50

55

60

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

65

70

75

80

Pro Leu Leu Asp Ser Val Phe Ser Ile Ser Ala Pro Glu Ser Ser Gly

85

90

95

Thr Thr Pro Lys

100

<210> 10

<211> 116

<212> PRT

<213> bacteriophage Ep14

<400> 10

Met Asp Asp Leu Thr Pro Pro Gly Gly Leu Trp Ala Ser Leu Gly Val

1

5

10

15

Ala Val Thr Gly Ile Val Gly Gly Ala Ile Trp Leu Val Gln Lys Leu

20

25

30

Ser Ser Gly Ser Val Asp Arg Ala Gly Asp Arg Ala Glu Val Asn Ile

35

40

45

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

50

55

60

Ala Ser Glu Ala Glu Lys Arg Gln Tyr Phe Gln Gln Phe Met Glu Ala

65

70

75

80

Ser Ser Gln Val Asn Leu Leu Thr Glu Lys Val Ser Ile Leu Thr Glu

85

90

95

Gln Val Glu Ala Leu Lys Ser Glu Val Glu Arg Leu Asn Thr Ala Leu

100

105

110

Glu Lys Asn Arg

115

<210> 11

<211> 119

<212> PRT

<213> bacteriophage Ep14

<400> 11

Met Ser His Asn His Ala Gly Lys Gln Cys Pro Gly Asp Lys Ser Pro

1 5 10 15

Trp Lys Ser Trp Glu Met Trp Gly Val Leu Cys Phe Leu Val Ala Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ala His Glu Gln Ile Ala Ala Val Lys Thr Ala Tyr Glu Glu Ala Gly

50 55 60

Lys Ser Arg Leu Gln Ala Leu Thr Met Cys Leu Asn Gln Thr Thr Gly

65 70 75 80

Ala Ala Asn Gln Ala Ala Ser Ala Ala Ile Asp Ala Ala Ala Lys Ala

85 90 95

Ser Ala Ala Gln Glu Ala Ala Asp Lys Ala Ala Ala Ala Val Thr Ala

100 105 110

Pro Asn Ala Asp Val Pro Arg

115

<210> 12

<211> 823

<212> PRT

<213> vB_EamP-L1

<400> 12

Met Ala Asp Gln Ser Thr Ile Val Glu Ile Pro Leu Thr Ser Ala Thr

1 5 10 15

Arg Ala Val Thr Ile Pro Phe Asp Tyr Leu Thr Arg Ser Ala Val Val

20 25 30

Leu Thr Ile Lys Gln Val Asp Asp Val Thr Phe Glu Lys Thr Leu Arg

35 40 45

Leu Thr Asp Asp Tyr Arg Phe Thr Gly Leu Thr Glu Val Thr Leu Asn

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

305 310 315 320
 Pro Ser Val Met Ile Ile Pro Phe Asn Lys Thr Ser Met Ala Tyr Met

 325 330 335
 Phe Arg Phe Lys Ala Arg Arg Met Asp Val Ser Phe Ile Tyr Val Asn
 340 345 350
 Gly Ala Gly Ser Lys Cys Gly Phe Leu Glu Asn Thr Val Thr Arg Gly
 355 360 365
 Asp Tyr Cys Arg Ile His Ala Val Gln Ala Arg Gly Met Thr Gly Arg
 370 375 380
 Val Phe His Val Phe Asp Thr Ile Asp Thr Ala Val Thr Gln Cys Tyr
 385 390 395 400

 Ser Ser Gln Gly Lys Ala Ser Phe Phe Arg Thr Asp Trp Ser Asn Glu
 405 410 415
 Asn Pro Gly Ala Trp Asp His Pro Thr Ala Ile Lys Ile Thr Asp Cys
 420 425 430
 Asn Phe Glu Gly His Thr Gly Glu Tyr Ala Val Ser Cys Ile Arg Ala
 435 440 445
 Gly Gln Ser Val Met Glu Asp Val Trp Phe Asp His Cys Asp Gln Gly
 450 455 460
 Phe Asp Ile Ser Gln Gly Gly Trp Leu Leu Lys Asn Val Thr Gln Glu

 465 470 475 480
 Asn Ser Lys Leu Pro Ser Gly Ala Gln Tyr Ala Lys Val Ile Gln Ile
 485 490 495
 Lys Cys Arg Phe Ala Gln Gly Ala Gly Leu Ser Pro Gly Val Ser Gly
 500 505 510
 Tyr Asp Pro Ala Gln Asp Pro Ser Gly Ser Met Pro Ser Trp Val Asn
 515 520 525
 Ser Val Tyr Glu Arg Gly Thr Ala Asn Trp Asp Gln Leu Gly Phe Ile
 530 535 540

 Asn Thr Gly Ser Met Ser Tyr Gly Tyr Glu Ser Ser Gln Tyr Lys Met
 545 550 555 560

Ser Asn Met Thr Gly Asn Ala Val Trp Tyr Glu Ile Gly Thr Leu Gly
565 570 575

Phe Ser Gly Ala Val Gly Val Ser Cys Asp Ile Glu Leu Val Gly Thr
580 585 590

Gly His Phe Asp Ser Ala Val Ala Asp Ala Arg Pro Gln Gly Thr Asn
595 600 605

Phe Gly Gly Gly Lys Ser Val Ile Arg Val Gln Gln Lys Asp Ser Asn
610 615 620

Thr Lys Met Ala Ala Ser Trp Tyr Gly Glu Gln Ala Ser Pro Ile Ser
625 630 635 640

Asp Val Arg Ile Val Leu Gly Asn Lys Asn Arg Pro Arg Ile Phe Val
645 650 655

Gln Leu Arg Gly Tyr Thr Gly Gly Val Ala Thr Thr Phe His Thr Asn
660 665 670

Asp Lys Ser Asn Phe Glu Gly Gly Gln His Phe Tyr Leu Ser Pro Val
675 680 685

Phe Ala Ala Ile Asp Ile Ala Thr Val Pro Thr Ala Val Gln Val Pro
690 695 700

Ala His Trp Ser Val Asn Asn Ser Ala Phe Gly Leu Gly Tyr Asn Met
705 710 715 720

Thr Asp Gly Gln Leu Met Leu Glu Gly Lys Thr Ser Asn Gln Ala Ala
725 730 735

Ser Glu Tyr Leu Pro Ile Lys Met Asn Gly Leu Asp Lys Val Ile Ala
740 745 750

Leu Gln Pro Leu Val Gly Ser Val Arg Thr Pro Arg Tyr Thr Leu Ala
755 760 765

Glu Leu Pro Arg Ala Thr Glu His Pro Tyr Gly Val Val Leu Val Ser
770 775 780

Asp Ala Val Ser Gly Asn Gly Thr Thr Thr Trp Arg Met Ala Phe Ser
785 790 795 800

Thr Gly Ser Phe Trp Phe Thr Ala Asp Gly Ala Asn Asn Leu Gly Ala
805 810 815

Gly Ser Val Ser Ser Gln Gly

820

<210> 13

<211> 2787

<212> PRT

<213> phage LIMelight

<400> 13

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1 5 10 15

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

20 25 30

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

35 40 45

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

50 55 60

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

65 70 75 80

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

85 90 95

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

100 105 110

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

115 120 125

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

130 135 140

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

145 150 155 160

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

165 170 175

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

180 185 190

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

195

200

205

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

210

215

220

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

225

230

235

240

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

245

250

255

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

260

265

270

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

275

280

285

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

290

295

300

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

305

310

315

320

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

325

330

335

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

340

345

350

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

355

360

365

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

370

375

380

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

385

390

395

400

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

405

410

415

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

420

425

430

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

435

440

445

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

450 455 460

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

465 470 475 480

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

485 490 495

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

500 505 510

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

515 520 525

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

530 535 540

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

545 550 555 560

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

565 570 575

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

580 585 590

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

595 600 605

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

610 615 620

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

625 630 635 640

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

645 650 655

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

660 665 670

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

675 680 685

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

690 695 700

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

705 710 715 720

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

725 730 735

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

740 745 750

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

755 760 765

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

770 775 780

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

785 790 795 800

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

805 810 815

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

820 825 830

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

835 840 845

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

850 855 860

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

865 870 875 880

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

885 890 895

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

900 905 910

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

915 920 925

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

930 935 940

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

945 950 955 960
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 965 970 975
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 980 985 990
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

 995 1000 1005
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1010 1015 1020
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1025 1030 1035 1040
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 1045 1050 1055
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 1060 1065 1070

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 1075 1080 1085
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1090 1095 1100
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1105 1110 1115 1120
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 1125 1130 1135
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

 1140 1145 1150
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 1155 1160 1165
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1170 1175 1180
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1185 1190 1195 1200
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1205

1210

1215

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1220

1225

1230

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1235

1240

1245

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1250

1255

1260

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1265

1270

1275

1280

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1285

1290

1295

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1300

1305

1310

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1315

1320

1325

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1330

1335

1340

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1345

1350

1355

1360

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1365

1370

1375

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1380

1385

1390

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1395

1400

1405

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1410

1415

1420

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1425

1430

1435

1440

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1445

1450

1455

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1460 1465 1470

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1475 1480 1485

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1490 1495 1500

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1505 1510 1515 1520

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1525 1530 1535

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1540 1545 1550

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1555 1560 1565

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1570 1575 1580

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1585 1590 1595 1600

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1605 1610 1615

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1620 1625 1630

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1635 1640 1645

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1650 1655 1660

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1665 1670 1675 1680

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1685 1690 1695

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1700 1705 1710

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1715

1720

1725

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1730

1735

1740

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1745

1750

1755

1760

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1765

1770

1775

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1780

1785

1790

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1795

1800

1805

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1810

1815

1820

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1825

1830

1835

1840

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1845

1850

1855

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1860

1865

1870

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1875

1880

1885

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1890

1895

1900

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1905

1910

1915

1920

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1925

1930

1935

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1940

1945

1950

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1955 1960 1965
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1970 1975 1980
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
1985 1990 1995 2000
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
2005 2010 2015
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
2020 2025 2030
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
2035 2040 2045
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
2050 2055 2060
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
2065 2070 2075 2080
2085 2090 2095
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
2100 2105 2110
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
2115 2120 2125
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
2130 2135 2140
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
2145 2150 2155 2160
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
2165 2170 2175
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
2180 2185 2190
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
2195 2200 2205
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2210

2215

2220

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2225

2230

2235

2240

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2245

2250

2255

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2260

2265

2270

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2275

2280

2285

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2290

2295

2300

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2305

2310

2315

2320

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2325

2330

2335

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2340

2345

2350

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2355

2360

2365

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2370

2375

2380

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2385

2390

2395

2400

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2405

2410

2415

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2420

2425

2430

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2435

2440

2445

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2450

2455

2460

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2465 2470 2475 2480
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2485 2490 2495
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2500 2505 2510

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2515 2520 2525
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2530 2535 2540
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2545 2550 2555 2560
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2565 2570 2575
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

 2580 2585 2590
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2595 2600 2605
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2610 2615 2620
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2625 2630 2635 2640
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2645 2650 2655

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2660 2665 2670
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2675 2680 2685
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2690 2695 2700
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 2705 2710 2715 2720

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2725 2730 2735

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2740 2745 2750

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2755 2760 2765

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

2770 2775 2780

Ala Ala Ala

2785

<210> 14

<211> 657

<212> PRT

<213> phage Ealh

<400> 14

Met Pro Glu Thr Lys Ile Lys Pro Trp Asn Thr Glu Ile Trp Thr Asp

1 5 10 15

Ser Ile Ala Thr Leu Arg Thr Met Asp Pro Val Val Ser Gly His Thr

20 25 30

Val Glu Val Ala Gly Tyr Tyr Lys Gly Ser Leu Lys Gly Gly Gly Lys

35 40 45

Phe Ala Tyr Asp Pro Asn Asp Thr Thr Thr Ala Asp Asp Gly Gly Phe

50 55 60

Thr Ile Val Thr Ala Thr Gly Lys Arg Phe Lys Arg Ala Asp Pro Ile

65 70 75 80

Asp Thr Leu Asp Ile Thr His Phe Gly Ala Tyr Cys Asn Gly Ile Ala

85 90 95

Asp Asp Met Phe Ala Val Val Arg Met Arg Ala Trp Ala Ala Thr Ile

100 105 110

Asn Ala Thr Phe Asn Pro Gly Val Arg Ile Pro Ser Gly Ile Thr Thr

115 120 125

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

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

Tyr Gly Tyr Glu Ser Ser Gln Phe Lys Val Ser Asn Met Thr Ala Asn
 385 390 395 400
 Gln Val Trp Ile Asp Val Gly Ser Phe Thr Leu Ala Gly Ala Thr Gly
 405 410 415
 Glu Gly Ile Asn Leu Glu Phe Val Gly Ala Gly His Phe Asp Ala Ala
 420 425 430

 Thr Ser Asn Pro Arg Pro Asn Gly Thr Asn Tyr Gly Gly Gly Lys Thr
 435 440 445
 Thr Ile Met Met Gln Gln Lys Asp Ser Asp Ala Lys Ala Arg Ala Ser
 450 455 460
 Trp Phe Ser His Gly Ala Ser Pro Ile Val Ala Val Arg Val Ala Met
 465 470 475 480
 Asn Arg Asn Arg Pro His Val Tyr Ile Gln Leu Ala Pro Tyr Thr Gly
 485 490 495
 Pro Ile Ala Met Thr Val His Thr Ser Ser Lys Ser Asn Phe Glu Gly

 500 505 510
 Gly Ile His Tyr Tyr Gln Asn Ile Val Met Thr Glu Val Thr Ala Asp
 515 520 525
 Val Ala Ala Ala Ala Ala Pro Leu Ile Pro Ala Thr Trp Asn Val Ser
 530 535 540
 Asn Gly Asn Tyr Gly Leu Gly Met Gln Leu Asp Thr Gly Lys Leu Ala
 545 550 555 560
 Val Asp Gly Pro Ala Leu Ala Gly Ser Asn Ala Ser Ser His Phe Pro
 565 570 575

 Ile Gln Tyr Asn Gly Lys Asp Val Leu Leu Ala Val Gln Pro Ser Pro
 580 585 590
 Leu Ser Thr Arg Ile Gln Arg Cys Thr Ile Ala Thr Leu Pro Lys Ala
 595 600 605
 Thr Glu Asn Pro Tyr Gly Val Val Leu Val Ser Asp Ala Val Ser Gly
 610 615 620
 Lys Gly Val Thr Thr Trp Arg Met Ala Phe Cys Asp Gly Ser Ala Trp
 625 630 635 640

Phe Thr Val Asp Gly Gly Thr Asn Leu Gly Thr Gly Thr Val Ser Asn

645 650 655

Thr

<210> 15

<211> 657

<212> PRT

<213> phage Ea100

<400> 15

Met Pro Glu Thr Lys Ile Lys Pro Trp Asn Thr Glu Ile Trp Thr Asp

1 5 10 15

Ser Ile Ala Thr Leu Arg Thr Met Asp Pro Val Val Ser Gly His Thr

20 25 30

Val Glu Val Ala Gly Tyr Tyr Lys Gly Ser Leu Lys Gly Gly Gly Lys

35 40 45

Phe Ala Tyr Asp Pro Asn Asp Thr Thr Thr Ala Asp Asp Gly Gly Phe

50 55 60

Thr Ile Val Thr Ala Thr Gly Lys Arg Phe Lys Arg Ala Asp Pro Ile

65 70 75 80

Asp Thr Leu Asp Ile Thr His Phe Gly Ala Tyr Cys Asn Gly Ile Ala

85 90 95

Asp Asp Met Phe Ala Val Val Arg Met Arg Ala Trp Ala Ala Thr Ile

100 105 110

Asn Ala Thr Phe Asn Pro Gly Val Arg Ile Pro Ser Gly Ile Thr Thr

115 120 125

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

130 135 140

Arg Gly Pro Glu Val Ala Tyr Gly Arg Ile Pro Ala Ala Gln Ile Gln

145 150 155 160

Pro Phe Asp Leu Ser Tyr Thr Gly Tyr Leu Ile Lys Val Lys Ala Arg

165 170 175

Arg Met Glu Val Ser Asn Leu Met Leu Ser Gly Val Gly Ser Gln Cys

180	185	190	
Gly Phe Leu Glu Asn Thr Val Thr Arg Gly Asp Tyr Cys Arg Ile His			
195	200	205	
Gly Ile Gln Ala Arg Asn Leu Thr Gly Arg Ala Phe His Val Tyr Asp			
210	215	220	
Thr Ile Asp Thr Ala Val Thr Gln Cys Tyr Ser Thr Ser Gly Lys Ala			
225	230	235	240
Ser Phe Phe Arg Thr Asp Trp Ser Asn Glu Lys Pro Gly Ala Trp Asp			
245	250	255	
His Pro Thr Ala Ile Tyr Ile Ala Asp Cys Asn Phe Glu Thr His Thr			
260	265	270	
Gly Glu Tyr Ala Val Ser Cys Ile Arg Ala Gly Gln Ser Val Met Arg			
275	280	285	
Asn Cys Trp Phe Asp Arg Asn Glu Arg Gly Phe Asp Ile Ser Gln Gly			
290	295	300	
Gly Trp Leu Leu Glu Asn Ile Thr Gln Glu Asn Ser Val Tyr Pro Ser			
305	310	315	320
Ala Thr Gln Tyr Ala Lys Ile Val Gln Ile Arg Asn Arg Phe Ala Gln			
325	330	335	
Gly Lys Gly Met Asp Asp Thr Val Ser Gly Tyr Asp Pro Ser Gln Asp			
340	345	350	
Pro Ser Gly Gln Pro Pro Ser Trp Val Asn Ser Gly Tyr Glu Asn Gly			
355	360	365	
Thr Ala Glu Phe Ala Leu Leu Gly Phe Ile Asn Ser Gly Ser Met Ser			
370	375	380	
Tyr Gly Tyr Glu Ser Ser Gln Phe Lys Val Ser Asn Met Thr Ala Asn			
385	390	395	400
Gln Val Trp Ile Asp Val Gly Ser Phe Thr Leu Ala Gly Ala Thr Gly			
405	410	415	
Glu Gly Ile Asn Leu Glu Phe Val Gly Ala Gly His Phe Asp Ala Ala			
420	425	430	

Thr Ser Asn Pro Arg Pro Asn Gly Thr Asn Tyr Gly Gly Gly Lys Thr
435 440 445

Thr Ile Met Met Gln Gln Lys Asp Ser Asp Ala Lys Ala Arg Ala Ser
450 455 460

Trp Phe Ser His Gly Ala Ser Pro Ile Val Ala Val Arg Val Ala Met
465 470 475 480

Asn Arg Asn Arg Pro His Val Tyr Ile Gln Leu Ala Pro Tyr Thr Gly
485 490 495

Pro Ile Ala Met Thr Val His Thr Ser Ser Lys Ser Asn Phe Glu Gly
500 505 510

Gly Ile His Tyr Tyr Gln Asn Ile Val Met Thr Glu Val Thr Ala Asp
515 520 525

Val Ala Ala Ala Ala Ala Pro Leu Ile Pro Ala Thr Trp Asn Val Ser
530 535 540

Asn Gly Asn Tyr Gly Leu Gly Met Gln Leu Asp Thr Gly Lys Leu Ala
545 550 555 560

Val Asp Gly Pro Ala Leu Ala Gly Ser Asn Ala Ser Phe His Phe Pro
565 570 575

Ile Gln Tyr Asn Gly Lys Asp Val Leu Leu Ala Val Gln Pro Ser Pro
580 585 590

Leu Ser Thr Arg Ile Gln Arg Cys Thr Ile Ala Thr Leu Pro Lys Ala
595 600 605

Thr Lys Asn Pro Tyr Gly Val Val Leu Val Ser Asp Ala Val Ser Gly
610 615 620

Lys Gly Val Thr Thr Trp Arg Met Ala Phe Cys Asp Gly Ser Ala Trp
625 630 635 640

Phe Thr Val Asp Gly Gly Thr Asn Leu Gly Thr Gly Thr Val Ser Asn
645 650 655

Thr

<210> 16

<211> 657

<212> PRT

<213> phage Era103

<400> 16

Met Pro Glu Thr Lys Ile Lys Pro Trp Asn Thr Glu Ile Trp Thr Asp

1 5 10 15

Ser Ile Ala Thr Leu Arg Thr Met Asp Pro Val Val Ser Gly His Thr

20 25 30

Val Glu Val Ala Gly Tyr Tyr Lys Gly Ser Leu Lys Gly Gly Gly Lys

35 40 45

Phe Ala Tyr Asp Pro Asn Asp Thr Thr Thr Ala Asp Asp Gly Gly Phe

50 55 60

Thr Ile Val Thr Ala Thr Gly Lys Arg Phe Lys Arg Ala Asp Pro Ile

65 70 75 80

Asp Thr Leu Asp Ile Thr His Phe Gly Ala Tyr Cys Asn Gly Ile Ala

85 90 95

Asp Asp Met Phe Ala Val Val Arg Met Arg Ala Trp Ala Ala Thr Ile

100 105 110

Asn Ala Thr Phe Asn Pro Gly Val Arg Ile Pro Ser Gly Ile Thr Thr

115 120 125

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

130 135 140

Arg Gly Pro Glu Val Ala Tyr Gly Arg Ile Pro Ala Ala Gln Ile Gln

145 150 155 160

Pro Phe Asp Leu Ser Tyr Thr Gly Tyr Leu Ile Lys Val Lys Ala Arg

165 170 175

Arg Met Glu Val Ser Asn Leu Met Leu Ser Gly Val Gly Ser Gln Cys

180 185 190

Gly Phe Leu Glu Asn Thr Val Thr Arg Gly Asp Tyr Cys Arg Ile His

195 200 205

Gly Ile Gln Ala Arg Asn Leu Thr Gly Arg Ala Phe His Val Tyr Asp

210 215 220

Thr Ile Asp Thr Ala Val Thr Gln Cys Tyr Ser Thr Ser Gly Lys Ala

225 230 235 240

 Ser Phe Phe Arg Thr Asp Trp Ser Asn Glu Asn Pro Gly Ala Trp Asp
 245 250 255
 His Pro Thr Ala Ile Tyr Ile Ala Asp Cys Asn Phe Glu Thr His Thr
 260 265 270
 Gly Glu Tyr Ala Val Ser Cys Ile Arg Ala Gly Gln Ser Val Met Arg
 275 280 285
 Asn Cys Trp Phe Asp Arg Asn Glu Arg Gly Phe Asp Ile Ser Gln Gly
 290 295 300
 Gly Trp Leu Leu Glu Asn Ile Thr Gln Glu Asn Ser Val Tyr Pro Ser

 305 310 315 320
 Ala Thr Gln Tyr Ala Lys Ile Val Gln Ile Arg Asn Arg Phe Thr Gln
 325 330 335
 Gly Lys Gly Met Asp Asp Thr Val Ser Gly Tyr Asp Pro Ser Gln Asp
 340 345 350
 Pro Ser Gly Gln Pro Pro Tyr Trp Val Asn Ser Gly Tyr Glu Asn Gly
 355 360 365
 Thr Ala Glu Phe Ala Leu Leu Gly Phe Ile Asn Ser Gly Ser Met Ser
 370 375 380

 Tyr Gly Tyr Glu Ser Ser Gln Phe Lys Val Ser Asn Met Thr Ala Asn
 385 390 395 400
 Gln Val Trp Ile Asp Val Gly Ser Phe Thr Leu Ala Gly Ala Thr Gly
 405 410 415
 Glu Gly Ile Asn Leu Glu Phe Val Gly Ala Gly His Phe Asp Ala Ala
 420 425 430
 Thr Ser Asn Pro Arg Pro Asn Gly Thr Asn Tyr Gly Gly Gly Lys Thr
 435 440 445
 Thr Ile Met Met Gln Gln Lys Asp Ser Asp Ala Lys Ala Arg Ala Ser

 450 455 460
 Trp Phe Ser His Gly Ala Ser Pro Ile Val Ala Val Arg Val Ala Met
 465 470 475 480

Asn Arg Asn Arg Pro His Val Tyr Ile Gln Leu Ala Pro Tyr Thr Gly
 485 490 495
 Pro Ile Ala Met Thr Val His Thr Ser Ser Lys Ser Asn Phe Glu Gly
 500 505 510
 Gly Ile His Tyr Tyr Gln Asn Ile Val Met Thr Glu Val Thr Ala Asp
 515 520 525

Val Ala Ala Ala Ala Ala Pro Leu Ile Pro Ala Thr Trp Asn Val Ser
 530 535 540
 Asn Gly Asn Tyr Gly Leu Gly Met Gln Leu Asp Thr Gly Lys Leu Ala
 545 550 555 560
 Val Asp Gly Pro Ala Leu Ala Gly Ser Asn Ala Ser Phe His Phe Pro
 565 570 575
 Ile Gln Tyr Asn Gly Thr Asp Val Leu Leu Ala Val Gln Pro Ser Pro
 580 585 590
 Leu Ser Thr Arg Ile Gln Arg Cys Thr Ile Ala Thr Leu Pro Lys Ala

595 600 605
 Thr Glu Asn Pro Tyr Gly Val Val Leu Val Ser Asp Ala Val Ser Gly
 610 615 620
 Asn Gly Val Thr Thr Trp Arg Met Ala Phe Cys Asp Gly Ser Ala Trp
 625 630 635 640
 Phe Thr Val Asp Gly Gly Thr Asn Leu Gly Thr Gly Thr Val Ser Asn
 645 650 655
 Thr

<210> 17
 <211> 178
 <212> PRT
 <213> phage Ealh
 <400>

17
 Met Ser Val Lys Lys Ala Leu Ala Gly Gly Ala Cys Ser Leu Ala Leu
 1 5 10 15
 Val Thr Ala Ser Phe Phe Gly Ile Val Thr Asp Lys Val Arg Ile Ser

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

<210> 18

<211> 351

<212> DNA

<213> bacteriophage Ep14

<400> 18

atggatgacc tgaccctcc gggcggcctg tgggccagtc tgggtgttgc agtaaccggc 60

atcgtcggcg gtgcaatctg gctcgtccag aaactttcaa gcggttcggt cgatcgggca 120

ggcgaccggg ctgaagtcaa cattatcgcg gtgcttcagg aagagcggga caagtggcgg 180

gagctttaca ccgcctccga agctgagaag cgccagtatt ttcagcaatt catggaagcc 240

agctctcagg tgaatttact cacggagaag gtctcgatcc tgaccgagca ggtggaagcg 300

ctgaaaagtg aggtagagcg ccttaacacg gcgctggaga aaaaccgatg a 351

<210> 19

<211> 116

<212> PRT

<213> bacteriophage Ep14

<400> 19

Met Asp Asp Leu Thr Pro Pro Gly Gly Leu Trp Ala Ser Leu Gly Val

1 5 10 15

Ala Val Thr Gly Ile Val Gly Gly Ala Ile Trp Leu Val Gln Lys Leu

20 25 30

Ser Ser Gly Ser Val Asp Arg Ala Gly Asp Arg Ala Glu Val Asn Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ala Ser Glu Ala Glu Lys Arg Gln Tyr Phe Gln Gln Phe Met Glu Ala

65 70 75 80

Ser Ser Gln Val Asn Leu Leu Thr Glu Lys Val Ser Ile Leu Thr Glu

85 90 95

Gln Val Glu Ala Leu Lys Ser Glu Val Glu Arg Leu Asn Thr Ala Leu

100 105 110

Glu Lys Asn Arg

115