

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI 0711969-0 A2**



(22) Data de Depósito: 14/05/2007
(43) Data da Publicação: 24/01/2012
(RPI 2142)

(51) *Int.Cl.:*
C07K 14/21

(54) **Título:** BACTERIOCINAS MODIFICADAS E MÉTODOS PARA SEU USO

(30) **Prioridade Unionista:** 15/05/2006 US 60/747,299

(73) **Titular(es):** Avidbiotics Corporation

(72) **Inventor(es):** Andrew C. Jamieson, David W. Martin, Jr., Dean M. Scholl, Steven R. Williams

(74) **Procurador(es):** Dannemann ,Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) **Pedido Internacional:** PCT US2007068908 de 14/05/2007

(87) **Publicação Internacional:** WO 2007/134303 de 22/11/2007

(57) **Resumo:** BACTERIOCINAS MODIFICADAS E MÉTODOS PARA SEU USO. A presente invenção refere-se a formas modificadas de bacteriocinas de ocorrência natural, tais como as piocinas do tipo R de *Pseudomonas aeruginosa*, são descritas. As bacteriocinas são modificadas nas extremidades de suas fibras caudais em uma região responsável pela especificidade e afinidade de ligação a seus pares de ligação cognatos, ou receptores, tais como aqueles na superfície das bactérias. Métodos para o uso das bacteriocinas modificadas, tais como para ligar receptores, incluindo fatores de virulência ou aptidão, nas superfícies das bactérias, são também descritos.

Complementação trans da estrutura de piocina de R2 de Δprf15 de PA01 com várias fibras caudais de piocina do tipo R, fusões de fibras caudais e chaperonas

Fibra caudal (Prf15)	Atividade bactericida <i>prf15</i> expresso sozinho	Atividade bactericida <i>prf15</i> e chaperona cognata	% de identidade de sequência de PRF15 a PRF15 de R2	% de identidade de sequência de aa 1-429	% de identidade de sequência de aa 430-fim	% de identidade de sequência de Prf16 a Prf16 de R2
R1	+	+++	82	99	52	32
R2	++	+++	100	100	100	100
R3	++	+++	99	99	98	98
R4	++	+++	98	99	99	99
R5	-	+++	83	97	58	35
R2-P2	-	+++ (P2)	14	na	na	6
R2-L413c	-	+++ (413)	19	na	na	6

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**BACTERIO-
CINAS MODIFICADAS E MÉTODOS PARA SEU USO**".

PEDIDOS DE PATENTE RELACIONADOS

Este pedido de patente é relacionado ao Pedido Provisório US
5 60/747.299, depositado em 15 de maio de 2006, que é incorporado por refe-
rência como se completamente exposto.

CAMPO DA DESCRIÇÃO

A presente invenção refere-se às formas modificadas de bacteri-
ocinas de peso molecular alto (hmw) de ocorrência natural, tais como as pio-
cinas do tipo R de *Pseudomonas aeruginosa*. As bacteriocinas são modifica-
das nas extremidades de suas fibras caudais em uma região responsável
10 por especificidade e afinidade de ligação a seus pares de ligação cognatos,
ou receptores, tais como aqueles na superfície das bactérias. Métodos para
o uso das bacteriocinas modificadas, tais como para ligar receptores, inclu-
indo fatores de virulência ou aptidão, nas superfícies das bactérias, são tam-
15 bém descritos.

ANTECEDENTES DA DESCRIÇÃO

Correntemente atenção mais global está focalizada em ameaças
de patógenos virais que de doenças bacterianas. Porém, bactérias resisten-
tes a antibióticos onipresentes continuam afligindo cuidado do paciente e
20 retenção de custo em hospitais e outras instalações de cuidados médicos.
Ao mesmo tempo, há um recuo de desenvolvimento de antibióticos a favor
de fármacos para doenças crônicas e melhorias do estilo de vida. Nos últi-
mos vinte anos apenas duas classes novas de antibióticos (oxazolidinonas e
lipopeptídios) foram introduzidas no mercado norte-americano (Wenzel,
25 2004).

Só nos Estados Unidos, há mais de 2 milhões de casos de in-
fecções bacterianas adquiridas em hospitais a cada ano. Destes, aproxima-
damente 90.000 pessoas morrerão. A estatística mais alarmante é que mais
30 de 70 % destes ofensores bacterianos são resistentes a pelo menos um fár-
maco antibacteriano (Bad Bugs, No Drugs, 2004). Este número continua
aumentando em uma taxa alarmante. O custo anual para a economia dos

EUA destas infecções nosocomiais resistentes a antibióticos excede a 5 bilhões de dólares. A realidade desta situação global ameaçadora forçará um método novo para o desenvolvimento e uso de agentes antibacterianos (Talbot et al., 2006). Onde uso extensivo (e abuso) de antibióticos na medicina humana e animal floresceu, assim também o aparecimento de patógenos bacterianos resistentes a antibiótico, ao ponto que muitos antibióticos que eram uma vez "fármacos milagrosos" são agora clinicamente ineficazes (Microbial Threats to Health, 2003).

Como um exemplo, *Pseudomonas aeruginosa* é um patógeno ubíquo para plantas e animais que está apresentando uma incidência de crescimento rápido de resistência a múltiplos fármacos de antibiótico (Microbial Threats to Health, 2003; Bad Bugs, No Drugs, 2004). *P. aeruginosa* é um bastonete aeróbio, móvel, gram-negativo. *P. aeruginosa* normalmente habita na terra, água, e vegetação. Embora raramente cause doença em pessoas saudáveis, é um patógeno oportunístico que responde por cerca de 10 % de todas as infecções nosocomiais (National Nosocomial Infection Survey report-Data Summary de outubro de 1986-abril de 1996). *P. aeruginosa* é o patógeno mais comum que afeta pacientes com Fibrose Cística (CF) com 61 % dos espécimes de cultura positivos (Govan, J. R. W. e V. Deretic, 1996, Microbiol. Reviews, 60(3):530-574) como também um dos dois patógenos mais comuns observados em unidades de cuidado intensivo (Jarvis, W. R. et al., 1992, J. Antimicrob. Chemother., 29(um supl.):19-24).

Mortalidade de algumas infecções por *P. aeruginosa* pode ser tão alta quanto 50 %. Presentemente, infecção por *P. aeruginosa* ainda pode ser eficazmente controlada através de antibióticos, particularmente usando uma combinação de fármacos. Porém, resistência a vários dos antibióticos comuns foi mostrada e é particularmente problemática em unidades de cuidado intensivo (Archibald, L., et al., 1997, Clin. Infectious Dis., 24(2):211-215; Fish, D., N., et al., 1995, Pharmacotherapy, 15(3):279-291). Adicionalmente, *P. aeruginosa* já demonstrou mecanismos para adquirir plasmídeos contendo múltiplos genes de resistência a antibióticos (Jakoby, G. A. (1986), The bacteria, Vol. X, The biology of Pseudomonas, páginas 265-294, J. R.

Sokach (ed.) Academic Press, Londres) e no momento não há nenhuma vacina aprovada para infecção por *Pseudomonas*.

Como muitas outras espécies bacterianas, a variabilidade da cepa em *P. aeruginosa* é bastante significativa. Variabilidade foi mostrada
5 ocorrer por vários mecanismos diferentes, estes incluem, mas não são limitados a, a integração de pró-fagos em um genoma bacteriano (Zierdt, C. H. e P. J. Schmidt, 1964, J. Bacteriol. 87:1003-1010), a adição do gene de citotoxina de bacteriófagos (Hayashi, T., et al., 1994, FEMS Microbiol. Lett. 122:239-244) e por meio de transpóson (Sinclair, M., I. e B. W. Holloway,
10 1982, J. Bacteriol. 151:569-579). Por meio deste tipo de diversidade, novos mecanismos patogênicos foram incorporados em *P. aeruginosa*. Estas e outras transições tais como a conversão para o fenótipo mucóide, comumente vista em CF, claramente ilustram a necessidade por vigilância continuada.

Estas preocupações apontam para a necessidade por ferramentas
15 de diagnósticos e terapêuticas visadas em identificação apropriada de cepas resistentes a fármacos e erradicação da virulência.

Muitas bactérias produzem bacteriocinas que são substâncias bactericidas durante o crescimento. As bacteriocinas são compostas de polipeptídeos e variam em peso molecular. Embora as bacteriocinas fossem
20 usadas para suas propriedades antibacterianas, algumas têm espectros bactericidas mais limitados que muitos antibióticos clinicamente usados. Por exemplo, algumas bacteriocinas foram relatadas como reconhecendo, e assim agindo apenas em, membros das mesmas espécies ou estritamente relacionadas por sítios de receptor de ligação em organismos sensíveis, ou
25 suscetíveis.

Como uma classificação vasta, as bacteriocinas foram divididas em três tipos. O primeiro são moléculas pequenas que são termoestáveis. Exemplos deste primeiro tipo incluem Colicina V (onde colicinas são específicas para bactérias coliformes). O segundo tipo, piocinas do tipo S produzi-
30 das por *P. aeruginosa*, são moléculas de proteína de peso molecular mais alto. O terceiro tipo inclui bacteriocinas que geneticamente e morfológicamente assemelham-se às porções caudais dos bacteriófagos. Exemplos deste últi-

mo tipo incluem as piocinas do tipo F e do tipo R de *P. aeruginosa* como também enterocolitina de *Yersinia*. Estas piocinas foram relatadas como sendo derivadas de um bacteriófago ancestral, e elas têm similaridades com a família de fago lambda e à família de fago P2, respectivamente.

5 Piocinas do tipo R são similares às porções caudais não-flexíveis e contráteis dos bacteriófagos da família *myoviridae* e são codificadas em um agrupamento simples de genes no genoma de *Pseudomonas* (Shinomiya et al., 1983). Vide Figura 1. Após especificamente ligar a uma bactéria alvo, estas piocinas formam um poro na célula bacteriana, comprometendo a integridade de sua membrana citoplásmica e causando a despolarização da membrana. Piocinas do tipo F são também similares a uma cauda do bacteriófago, mas elas têm uma estrutura flexível e não-contrátil semelhante a bastonetes. Piocinas são produzidas pela grande parte de cepas *P. aeruginosa*, e algumas cepas sintetizam mais de um piocina.

15 Piocinas do tipo R são bacteriocinas de peso molecular alto complexas produzidas por algumas cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, e têm atividade bactericida contra certas outras cepas de *P. aeruginosa* (para uma revisão vide Michel-Briand e Baysse, 2002). Cinco piocinas do tipo R foram identificadas até agora e, com base em seus espectros alvos (vide
20 abaixo), são denominadas R1 a R5. Cepa PAO1 produz piocina R2, que é codificada em um agrupamento de gene que consiste em 16 estruturas de leitura aberta (ORFs), 12 destas apresentam similaridade de seqüência significativa às ORFs dos bacteriófagos P2, PS17, Φ CTX, e outros fagos semelhantes a P2 (Nakayama et al., 2000). Produção de piocina é induzida por dano de DNA (Matsui et al., 1993) e é regulada por RecA, que degrada PrtR, o repressor de PrtN, um regulador de transcrição positiva do agrupamento. Indução dos genes de piocina resulta na síntese de aproximadamente 200 partículas de piocina por célula bacteriana seguido por lise da célula através de mecanismos similares àqueles da lise do bacteriófago. Piocinas matam
25 rápida e especificamente as células alvo primeiro ligando ao lipopolissacarídeo (LPS) por meio de suas fibras caudais, seguido por contração da envoltura e penetração do núcleo através da membrana externa bacteriana, pare-
30

de celular e membrana citoplásmica. Esta penetração compromete a integridade da membrana citoplásmica e a despolarização do potencial da membrana (Uratani e Hoshino, 1984). Em muitos aspectos, as piocinas podem ser vistas como pró-fagos defeituosos adaptados pelo hospedeiro para produzir partículas antibacterianas não-infecciosas resistentes a protease e a ácido, que consistem apenas no aparelho caudal adaptado, ou seja, sem capsídeos ou DNA. A replicação dos genes de piocina requer a replicação do genoma bacteriano no qual eles estão embutidos.

As cinco especificidades diferentes do receptor de piocina estão linearmente relacionadas umas às outras com duas ramificações. (Ito et al, 1970; Meadow e Wells, 1978; Kageyama, 1975). Piocina R5 tem o espectro mais vasto e inclui as especificidades das outras quatro. Os receptores para os outros quatro tipos de R formam duas ramificações, ou famílias das especificidades, que divergem de R5. Uma ramificação inclui os receptores para R3, R4, e R2, naquela ordem onde a especificidade do receptor para piocina R3 é o mais distal da superfície da célula. A segunda ramificação contém o receptor R1 que parece ter um determinante de especificidade não relacionado àqueles para R2, R3, e R4. As duas ramificações parecem estar vinculadas ao receptor para R5 uma vez que todas as *cepas* de *P. aeruginosa* que são sensíveis a quaisquer das piocinas R1-R4 são sensíveis também a R5, enquanto algumas cepas são sensíveis apenas à piocina R5. Algumas cepas de *P. aeruginosa* são resistentes a todas as 5 piocinas do tipo R de ocorrência natural.

Piocinas de *P. aeruginosa* especificamente matam principalmente cepas de *P. aeruginosa* mas também foram mostradas matar algumas cepas de espécies de *Hemophilus*, *Neisseria* e *Campylobacter* (Filiatrault et al., 2001; Morse et al, 1976; Morse et al, 1980; Blackwell et al., 1981, 1982).

A especificidade das piocinas do tipo R é conferida pela fibra caudal codificada por *prf15*. PRF15 é muito estritamente relacionado às fibras caudais de fagos da família *Myoviridae*, particularmente fagos semelhantes a P2 (Nakayama et al., 2000). Estas fibras caudais são homotrímeros dispostos simetricamente em uma estrutura de placa base com seis có-

5 pias por partícula, como mostrado na Figura 1. A região N-terminal da fibra
 caudal liga à placa base, e a porção C-terminal, provavelmente próxima à
 ponta, liga ao receptor bacteriano e assim confere especificidade de matan-
 ça. Uma chaperona cognata, codificada por *prf16* (no caso de piocinas do
 10 tipo R) fica localizada imediatamente a jusante de *prf15*, e é necessária para
 dobramento apropriado da fibra caudal e/ou montagem das fibras caudais na
 estrutura de piocina. Partículas de piocina do tipo R foram descritas como
 imunoquímica e geneticamente similares às caudas de certos bacteriófagos
 de *P. aeruginosa* (Kageyama 1975, Kageyama et al. 1979, Shinomiya et al.
 15 1989, e Shinomiya et al. 1983b). Foi proposto que piocinas do tipo R e bac-
 teriófagos de *Pseudomonas*, tais como PS-17 e Φ CTX, estejam relacionados
 através de um bacteriófago lisogênico ancestral comum dos quais genes que
 codificam as proteínas-cabeça e funções de replicação foram perdidos e os
 genes residuais de fago adaptados para sua função como componentes das
 20 piocinas do tipo R defensivas (Shinomiya et al. 1989).

Bacteriocinas de peso molecular alto do tipo R similares foram
 descritas em outras bactérias incluindo *Yersinia enterocolitica* (Strauch et al.,
 2001), *Listeria monocytogenes* (Zink et al, 1995), *Staphylococcus aureus*
 (Birmingham & Pattee, 1981) e *Erwinia amylovora* (Jabrane et al., 2002).
 25 Classificação e nomenclatura das bacteriocinas sofreram alterações com o
 passar do tempo, particularmente dada evidência expansível de sua origem,
 química e atividades. Tipicamente, a nomenclatura das bacteriocinas é com
 base nas espécies produtoras. Por exemplo, *E. coli* produz bacteriocinas
 denominadas colicinas; *Pseudomonas aeruginosa* produz piocinas; *Listeria*
 30 *monocytogenes* produz monocinas; *Yersinia enterocolitica* produz enteroco-
 liticinas; e assim sucessivamente. Historicamente, a classificação começou
 com a identificação de cerca de 20 colicinas que foram classificadas como
 A-V. Na maioria dos casos, cada bacteriocina parece ser específica em ação
 para as mesmas espécies de organismos, ou taxonomicamente relaciona-
 das. Cepas produtoras de piocinas são tipicamente resistentes a sua própria
 piocina. Um ensaio geral para a concentração de bacteriocina é descrito na
 patente U. S. 4.142.939.

Citação dos documentos acima não é intencionada como uma admissão que qualquer do antecedente seja técnica anterior pertinente. Todas as declarações sobre a data ou representação quanto aos conteúdos destes documentos são com base na informação disponível ao requerente e

5 não constituem nenhuma admissão quanto à exatidão das datas ou conteúdos destes documentos.

SUMÁRIO DA DESCRIÇÃO

Esta descrição refere-se às formas engenheiradas da classe de bacteriocinas que parecem, mas são distintas das caudas dos bacteriófagos.

10 Estas bacteriocinas incluem piocinas do tipo R, bacteriocinas semelhantes à cauda, bacteriocinas do tipo R, ou outras bacteriocinas de peso molecular alto (hmw) relacionadas às estruturas caudais dos bacteriófagos. Para facilidade de referência, o termo "bacteriocina de hmw" será aqui usado para referir-se às bacteriocinas da descrição, incluindo, mas não limitadas a, bacteriocinas do tipo R, piocinas do tipo F e R, monocinas, enterocolitinas, e

15 meningocinas.

Bacteriocinas de HMW naturais são tipicamente termoestáveis, resistentes a tripsina, e podem ser induzidas por agentes que ativam o sistema SOS. Por exemplo, elas também foram identificadas em muitas enterobactérias, espécies *Pseudomonas*, *Rhizobium lupin*, espécies *Bacillus*,

20 espécies *Yersinia*, e espécies *Flavobacterium*.

Uma bacteriocina de hmw engenheirada é composta de múltiplas cópias de várias subunidades de polipeptídeo diferentes e possuem uma ou mais fibras caudais compostas de proteínas de fibra caudal. Cada

25 fibra caudal contém um domínio de ligação de receptor (RBD) que liga a, ou interage com, um receptor para formar um par de ligação. O RBD é a porção de uma fibra caudal que compreende a propriedade de ligação das bactérias que o torna o primeiro membro do par de ligação. Um RBD como descrito aqui compreende modificação de uma proteína na fibra caudal para formar

30 uma fibra caudal modificada. A fibra caudal modificada com as outras subunidades de polipeptídeo forma uma bacteriocina de hmw engenheirada (ou modificada). O receptor ao qual o RBD liga é o segundo membro do par de

ligação, e pode ser igual, ou diferente, ao receptor para uma bacteriocina sem a fibra caudal modificada. Em algumas modalidades da descrição, o segundo membro de um par de ligação é um fator de virulência ou aptidão de uma bactéria patogênica. Em outras modalidades, o segundo membro é um componente da(s) camada(s) mais externa(s) de uma célula bacteriana, tais como uma membrana de célula ou, no caso de bactérias gram-positivas, componente da parede celular.

Em comparação a uma bacteriocina de hmw carecendo da fibra caudal modificada, uma bacteriocina de hmw engenheirada pode diferir no número, maneira, e resistência de ligação de suas interações com um receptor. Desse modo, uma bacteriocina de hmw engenheirada pode ter propriedades de ligação diferentes ou adicionais (por exemplo especificidades de ligação, afinidades, e/ou avides) em comparação a uma bacteriocina sem a modificação. Uma bacteriocina de hmw engenheirada não é uma molécula de ocorrência natural mas pode ser uma versão modificada de uma molécula de ocorrência natural. Alternativamente, uma bacteriocina de hmw engenheirada pode ser uma versão modificada de outra bacteriocina de ocorrência não-natural. Na maioria das modalidades, uma bacteriocina de hmw engenheirada permanece um agente letal para as células bacterianas que expressam um receptor ligado pela bacteriocina.

Em um primeiro aspecto, a descrição inclui uma bacteriocina de hmw compreendendo uma proteína de fibra caudal com um RBD modificado. Exemplos não-limitativos de bacteriocinas de hmw incluem piocinas do tipo F e do tipo R. Em algumas modalidades, o RBD modificado compreende uma alteração na seqüência de aminoácido do domínio com relação a uma bacteriocina de ocorrência natural. Exemplos não-limitativos de uma alteração na seqüência de aminoácido incluem substituição, inserção (adição), ou deleção de um ou mais aminoácidos. Combinações de uma ou mais substituições, inserções (adições), e deleções podem também ser usadas.

Em outras modalidades, a fibra caudal compreende uma seqüência heteróloga, ou de não-bacteriocina, em um ou mais dos três monômeros de proteína de fibra caudal que compõem uma fibra caudal trimérica

simples. E enquanto as fibras caudais em uma bacteriocina nativa, ou de ocorrência natural, podem ser homotriméricas para formar um RBD, a fibra caudal de uma bacteriocina de hmw engenheirada ou é heterotrimérica onde um ou dois dos monômeros de proteína é/são diferente(s) um do outro, ou

5 homotrimérica onde todos os três monômeros de proteína são identicamente não-nativos (ocorrendo não-naturalmente). A presença de seqüência heteróloga (ou não-nativa), em um ou mais monômeros de proteína permite o trímero formar uma fibra caudal com um RBD modificado.

A seqüência heteróloga é desse modo em uma parte do(s) monômero(s) de modo que pelo menos o RBD da fibra caudal é alterado em um

10 trímero montado. O RBD alterado altera as características de ligação e propriedades da fibra caudal e assim a atividade de ligação de uma bacteriocina de hmw contendo a fibra caudal. Em algumas modalidades, o RBD heterólogo é derivado de outra bacteriocina ou uma proteína da cauda de um bacteriófago ou pró-fago. Em muitos casos, o RBD heterólogo é um polipeptídeo

15 incluindo pelo menos parte da porção C-terminal de uma proteína de fibra caudal de uma bacteriocina, uma proteína de fibra caudal de bacteriófago, ou uma proteína de fibra caudal presuntiva, a seqüência desta foi derivada de um gene de um bacteriófago lisogênico viável ou até mesmo defeituoso

20 encontrado dentro do genoma de uma bactéria. O RBD heterólogo é fundido em um polipeptídeo contendo uma região de ligação de placa base (BPAR) de uma bacteriocina de proteína de fibra caudal de hmw. A BPAR contendo polipeptídeo pode conter toda ou parte da porção N-terminal de uma fibra caudal de bacteriocina de hmw, onde a porção N-terminal pode consistir em

25 qualquer parte da fibra caudal exceto grandemente no término C.

Em outras modalidades, o RBD heterólogo é derivado do determinante de tropismo principal (Mtd) de bacteriófago de *Bordetella*. Exemplos não-limitativos incluem um RBD heterólogo que compreende um Mtd modificado ou diversificado, opcionalmente com todo ou parte do RBD de uma fi

30 bra caudal de um bacteriófago. Em algumas modalidades, a fibra caudal de bacteriófago é aquela do bacteriófago semelhante ao miovírus *Vibrio harveyi* (VHML) ou seus derivados diversificados ou aqueles de outro pró-fago ou

bacteriófago que comprometem uma estrutura de Retroelemento de Geração de Diversidade (DGR).

A descrição também inclui uma porção de uma bacteriocina de hmw engenheirada onde a porção retém a atividade da bacteriocina de ligar um receptor em uma superfície de célula bacteriana e depois promover a penetração da membrana celular. Desse modo a porção pode ser qualquer que retenha as atividades de ligação (reconhecimento) e de penetração da membrana de uma bacteriocina de hmw engenheirada. Em algumas modalidades, a porção compreende um ou mais polipeptídeos de bacteriocina que são truncados.

Em um aspecto relacionado, a descrição inclui fibras caudais modificadas que podem fazer parte de uma bacteriocina de hmw da descrição. A fibra caudal trimérica pode compreender uma ou mais proteínas de fibra caudal com um RBD modificado ou um RBD heterólogo. Em algumas modalidades, a proteína de fibra caudal monomérica modificada é derivada de uma bacteriocina do tipo R enquanto em outras modalidades, a proteína de fibra caudal é derivada de uma proteína de fibra caudal de bacteriófago.

A descrição também inclui seqüências de ácido nucléico que codificam uma proteína de fibra caudal modificada, como também vetores e/ou células (hospedeiras) contendo as seqüências de codificação. Os vetores e/ou células hospedeiras podem ser usados para expressar as seqüências de codificação para produzir proteínas de fibra caudal modificadas que formam fibras caudais e são incorporadas em uma bacteriocina de hmw engenheirada da descrição. Uma seqüência que codifica uma proteína de fibra caudal modificada pode também ser introduzidas em uma célula bacteriana que produz, ou é capaz de produzir, uma bacteriocina de hmw na presença da proteína de fibra caudal modificada. Expressão da proteína de fibra caudal modificada resulta na produção de uma bacteriocina de hmw modificada pela célula. Se a(s) seqüência(s) de proteína de fibra caudal de bacteriocina natural for(em) inativada(s) ou removida(s), então apenas bacteriocinas de hmw modificadas serão produzidas. Se a(s) seqüência(s) de proteína de fibra caudal de bacteriocina natural for(em) retida(s), então bacteriocinas de

hmw modificadas serão produzidos juntamente com as fibras caudais de bacteriocina natural, e as piocinas modificadas geradas podem ser misturas de piocinas modificadas e piocinas naturais. Além disso, as piocinas geradas de tais bactérias hospedeiras de produção podem conter piocinas bivalentes (multivalentes), ou seja, contêm partículas de piocina simples com uma mistura de dois tipos de fibras caudais, cada uma com suas propriedades de ligação específicas. Tais piocinas multivalentes têm múltiplas especificidades, duas ou mais, de ligação ou matança dentro da mesma partícula ou molécula de piocina. As bactérias transfeccionadas podem ser propagadas para produzir bacteriocinas de hmw que impeçam ou inibam o crescimento de outras bactérias que expressam um receptor ligado pela bacteriocina de hmw modificada ou por uma das bacteriocinas de hmw da mistura de bacteriocinas de hmw modificadas mais naturais.

Em algumas modalidades, o receptor é um fator de virulência ou aptidão de uma cepa bacteriana virulenta ou patogênica de modo que exposição à bacteriocina de hmw modificada impede ou inibe o crescimento da cepa virulenta ou patogênica. Exemplos não-limitativos de fatores de virulência alvejados por uma bacteriocina de hmw engenheirada incluem aqueles codificados pelas seqüências descritas na patente U. S. 6.355.411 e pedido de patente publicado WO 99/27129 (Ausubel et al.), que é por este meio incorporado por referência como se completamente exposto.

A exposição é opcionalmente por meio de contato, ou cocultivo, com bactérias transfeccionadas que expressam a bacteriocina de hmw. A descrição inclui permitir a propagação das bactérias transfeccionadas *in vivo*, sobre ou dentro de um sujeito animal ou vegetal. A aplicação *in vivo* das bactérias transfeccionadas fornece um estado de proteção contra bactérias que expressam um receptor de superfície alvejado pela bacteriocina de hmw engenheirada. O estado de proteção é análogo a um estado de imunidade onde as bactérias transfeccionadas essencialmente aumentam ou suplementam a imunidade do organismo animal ou vegetal ou outro sistema de defesa.

Em outras modalidades, a seqüência de ácido nucléico que codi-

fica um RBD de uma proteína de fibra caudal monomérica modificada faz parte de um sistema genético que permite a identificação, isolamento físico e/ou seleção da seqüência de codificação. Como exemplos não-limitativos, o sistema genético pode compreender a seqüência de codificação em um fago, fago lisogênico, partícula transdução, cosmídeo, ou genoma de fago que permitem sua identificação, isolamento, e/ou seleção. Em algumas modalidades, a seqüência é fundida com uma porção de um gene de fibra e expresso para produzir um trîmero de fibra caudal modificado que fará a bacteriocina de hmw modificada ligar à superfície e matar o organismo hospedeiro que abriga o fago lisogênico do qual a seqüência de codificação de RBD foi identificada ou isolada. Detecção de um fenótipo no trîmero de fibra caudal modificado permite a seqüência ser selecionada e/ou triada, identificada, e isolada. Em algumas modalidades, o fenótipo pode ser uma propriedade de ligação de receptor desejada, e possivelmente rara.

15 A descrição inclui uma biblioteca de fagos, partículas de transdução, cosmídeos, ou genomas de fago, contendo uma pluralidade de seqüências de DNA e/ou de RNA, cada uma codificando uma proteína de fibra caudal modificada. Este acoplamento de fenótipo de ligação para genótipo de codificação do RBD permite a expressão de uma pluralidade de RBDs modificados de modo que as seqüências que os codificam estão representadas dentro da biblioteca. Em algumas modalidades, os membros de uma biblioteca cada um contêm uma seqüência que codifica uma proteína de fibra caudal modificada de modo que as fibras caudais homotriméricas são expressadas e disponíveis para triagem ou seleção para determinar o respectivo fenótipo de ligação de um membro de biblioteca. Em outras modalidades, os membros de uma biblioteca incluem aqueles com mais de uma seqüência de codificação de uma proteína de fibra caudal modificada de modo que as fibras caudais heterotriméricas descritas aqui podem ser expressadas e triadas ou selecionadas para seus fenótipos de ligação. O fenótipo de ligação de um membro da biblioteca é desse modo acoplado às respectivas seqüências de codificação. Uma vez o genótipo que codifica o RBD desejado ou vantajoso foi assim identificado, este pode ser usado para criar

a fibra caudal para uma bacteriocina de hmw modificada. Desenvolvendo a função da chaperona cognata de uma fibra caudal, tal como VHML, que naturalmente diversifica seu RBD, pode ser assegurado de dobramento apropriado de uma fibra caudal contendo um RBD diversificado derivado de VH-
5 ML.

Vetores, células hospedeiras, fagos, partículas de transdução, cosmídeos, genomas de fago, e bibliotecas como descritos aqui podem ser considerados composições compreendendo uma proteína de fibra caudal que codifica molécula de ácido nucléico.

10 Composições adicionais da descrição compreendem uma bacteriocina de hmw engenheirada ou uma porção antibacteriana da mesma. As composições são antibacterianas em virtude da bacteriocina de hmw, e podem compreender um veículo ou excipiente. Claro que o veículo ou excipiente é um que seja adequado para uso em combinação com uma proteína
15 complexa de subunidades múltiplas como uma bacteriocina de hmw. Em algumas modalidades, o veículo ou excipiente é farmacologicamente aceitável de modo que a composição pode ser usada clínica ou agricolamente. Em outras modalidades, o veículo ou excipiente é adequado para administração tópica, pulmonar, gastrointestinal, ou sistêmica, tal como para um animal hu-
20 mano ou um não-humano. Em modalidades adicionais, o veículo ou excipiente é adequado para administração em um organismo não-animal tal como uma planta ou produto fresco de uma planta como exemplos não-limitativos.

Uma composição como descrita aqui pode compreender mais que um bacteriocina de hmw engenheirada ou compreende um ou mais a-
25 gentes adicionais, incluindo mas não limitados a, uma bacteriocina de hmw de ocorrência natural desejada para o uso com a bacteriocina de hmw engenheirada. Exemplos não-limitativos de um agente adicional incluem uma enzima, um antibiótico, um agente antifúngico, uma bactericida, um analgésico, e um agente antiinflamatório.

30 Em um outro aspecto, a descrição fornece métodos de usar um produto relacionado à bacteriocina de hmw descrito aqui. Modalidades da descrição incluem métodos de inibir crescimento da célula bacteriana ou in-

duzir morte da célula bacteriana. Tais métodos compreendem contatar uma célula ou células bacterianas suscetíveis com uma quantidade eficaz de uma bacteriocina de hmw engenheirada, ou com uma porção antibacteriana da mesma. Alternativamente uma composição contendo a bacteriocina de hmw, ou porção antibacteriana da mesma, pode ser usada. Em alguns casos, uma quantidade eficaz pode ser equivalente a tão pouco quanto uma bacteriocina de hmw, em média, por célula bacteriana. As quantidades mais altas podem também ser usadas.

Em outras modalidades, um método de comprometer a integridade da membrana citoplásmica de uma bactéria é fornecido. O acordo pode resultar na perda de potencial da membrana e/ou perda de um pouco dos conteúdos celulares. Tais métodos compreendem contatar a membrana com uma bacteriocina de hmw engenheirada, ou porção antibacteriana da mesma. Em muitos casos, a membrana será a das bactérias virulentas ou patogênicas.

Em algumas modalidades, os métodos da descrição podem compreender aplicação *in vivo* (ou administração) de uma bacteriocina de hmw engenheirada, ou uma porção antibacteriana da mesma, dentro de um sujeito. Alternativamente, os métodos podem compreender contato *in vitro* ou *ex vivo*.

Em um ainda aspecto adicional, a descrição fornece um método de formar bactérias não-virulentas de bactérias progenitoras virulentas. O método compreende contatar as bactérias virulentas com uma bacteriocina de hmw engenheirada, ou uma porção antibacteriana da mesma que liga um fator de virulência ou aptidão das bactérias virulentas. O contato pode ser sob condições em que nem todas as bactérias são mortas, ou completamente inibidas no crescimento celular, pela quantidade de bacteriocina de hmw, ou porção antibacteriana da mesma, usada. O contato fornece uma pressão seletiva que permite a bactéria alvejada sobreviver a bacteriocina de hmw engenheirada ou porção antibacteriana da mesma e propagar apenas se tiver se tornado uma progênie de bactéria não-virulenta mutante ou modificada que não é suscetível (e tão resistente) à bacteriocina de hmw enge-

nheirada ou porção antibacteriana da mesma. Em algumas modalidades, a resistência é devido à falta de expressão do fator ou receptor de virulência ou aptidão pela bacteriocina de hmw engenheirada, ou porção antibacteriana da mesma, assim evitando ataque pela bacteriocina de hmw engenheirada.

- 5 Em outra modalidade, a resistência pode ser devido a uma alteração no fator de virulência ou aptidão de modo que esta já não serve como um receptor eficaz para o RBD da piocina modificada e na forma alterada também compromete sua função de virulência ou aptidão. A aquisição de resistência pela progênie sobrevivente, e a alteração resultante na virulência ou aptidão de
10 uma bactéria antigamente virulenta, pode ser determinada *in vivo* ou *in vitro* para demonstrar sua patogenicidade comprometida.

Em um aspecto relacionado, a descrição fornece um método de manter uma população de bactérias não-virulentas mediante contato com uma bacteriocina de hmw engenheirada, ou uma porção antibacteriana da
15 mesma, que liga e medeia seu efeito bactericida por meio de um fator de virulência ou aptidão das bactérias virulentas. A presença da bacteriocina de hmw impede crescimento (ou geração ou propagação) das bactérias virulentas e assim mantém a população como não-virulenta. Em algumas modalidades, o contato pode ser pelo uso de uma célula bacteriana, como descrito
20 aqui que expressa a bacteriocina de hmw engenheirada ou porção antibacteriana da mesma.

Os detalhes de uma ou mais modalidades da descrição estão expostos nos desenhos em anexo e na descrição abaixo. Outras características, objetivos, e vantagens da descrição serão evidentes dos desenhos e
25 descrição detalhada, e das reivindicações.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

Figura 1 fornece o micrográfico de elétron de uma partícula de piocina do tipo R revelando 4 das 6 fibras caudais no Painel A, e um esquemático dos componentes principais de uma partícula de piocina do tipo R no
30 Painel B.

Figura 2 fornece ensaios de diluição de mancha serial (5X) das piocinas do tipo selvagem (R2), partículas de piocina produzidas da cepa de

deleção da fibra caudal (PA01Δ*Prf15*), e piocinas complementadas com a fusão da fibra caudal R2-P2. Bactérias alvo são 13s de *P. aeruginosa* e C de *E. coli*. Partículas de piocina R2 do tipo selvagem podem matar *Pseudomonas* mas não *E. coli*. A cepa de deleção da fibra caudal não produz nenhuma
 5 partícula de piocina ativa, mas quando complementada *in trans* com a fusão da fibra caudal R2-P2, esta agora pode matar C de *E. coli*.

Figura 3 é complementar à estrutura de piocina R2 com uma fusão da fibra caudal R2-P2. A porção C-terminal (RBD) do gene da fibra caudal P2 foi fundida com a porção N-terminal (BPAR) da fibra caudal R2,
 10 como mostrado na parte A.

Parte B da Figura 3 mostra um esquemático da piocina R2 do tipo selvagem (esquerda). A piocina R2 é complementada com a construção de fusão de R2 (BPAR)-P2 (RBD) para produzir partículas (direita) que têm as fibras caudais quiméricas incorporadas na estrutura. As partículas de R2-
 15 P2 têm um espectro de matança alterado e agora alvejam certas cepas de *E. coli*.

Figura 4 fornece umas fusões de R2-P2 múltiplas e suas atividades bactericidas. O término N, 1-164 aminoácidos, de R2 (Região de Ligação de Placa Base, "BPAR") foi fundido com várias porções C-terminais de
 20 P2 (RBD). Os números representam os números residentes de aminoácidos das respectivas proteínas. A atividade bactericida das piocinas modificadas (contra C de *E. coli*) contendo cada uma das fibras caudais construídas é indicadas como presente (+) ou ausente (-).

Figura 5 mostra várias porções do término N da fibra caudal R2 (BPAR) fundidas à porção C-terminal 158-669 (RBD) da fibra caudal P2. Os
 25 números representam os números residentes de aminoácidos das respectivas proteínas. A atividade bactericida das piocinas modificadas (contra C de *E. coli*) contendo cada uma das fibras caudais construídas é indicada como presente (+) ou ausente (-).

Figura 6 mostra fusões de R2-P2 múltiplas e suas atividades bactericidas. Término N, 1-240 aminoácidos, de R2 (BPAR) foi fundido com
 30 várias porções C-terminais de P2 (RBD). Os números representam os núme-

ros residentes de aminoácidos das respectivas proteínas. A atividade bactericida das piocinas modificadas (contra C de *E. coli*) contendo cada uma das fibras caudais construídas é indicada como presente (+) ou ausente (-).

Figura 7 fornece várias porções do término N da fibra caudal R2 (BPAR) fundida na porção C-terminal 322-669 (RBD) da fibra caudal P2. Os números representam os números residentes de aminoácidos das respectivas proteínas. A atividade bactericida das piocinas modificadas (contra C de *E. coli*) contendo cada uma das fibras caudais construídas é indicada como presente (+) ou ausente (-).

Figura 8 mostra a complementação *trans* da estrutura de piocina R2 PA01Δprf15 com várias fibras caudais de piocina do tipo R, fusões de fibra caudal e chaperonas. Atividades das piocinas complementadas R1 a R5 foram avaliadas tingindo sobre a cepa indicadora de 13s de *Pseudomonas aeruginosa* que é sensível a todos os tipos de piocina. As piocinas complementadas R2-P2 foram testadas para atividade usando o C de *E. coli* como o indicador, e a piocina complementada R2-L-413c foi testada em cepa de *Yersinia pestis* KIM.

As fibras caudais de Prf15 R2, R3, e R4 poderiam ser complementadas pelo Prf16 endógeno da piocina R2 de PA01Δprf15. Fibras caudais de Prf15 R1 e R5 que diferem no término C comparadas à R2, requereram, para atividade máxima, seu próprio Prf16 cognato (que difere da contraparte de R2). Ambas as fusões R2-P2 como R2-L-413c, que contêm o término C (RBD) das fibras caudais P2 e L-413c do fago, respectivamente, requerem suas chaperonas de montagem da fibra caudal cognata codificadas por gene G do fago.

Figura 9 mostra o vetor de expressão da fibra caudal de piocina e da chaperona pUCP30T. Os genes, *prf15* e *prf16*, são expressados usando um vetor ponte de *Pseudomonas/E. coli* (Schweitzer) com origens de replicação (ori pRO1600, rep, e oriT) para ambas as espécies. Sítios de clonagem são mostrados pelos sítios de clivagem indicados da enzima de restrição. O plasmídeo confere resistência de gentamicina (Gm R) e é mantido adicionando gentamicina aos meios de cultura. Transcrição de ambos os

genes é dirigida pelo promotor de *tac* que é negativamente regulado por *laclQ*. Quando transformados no $\Delta prf15$ de PAO1 da cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, os genes, por exemplo *prf15* e *prf16*, incorporados no plasmídeo são *trans* expressados após terem sido induzidos com IPTG simultaneamente com a indução de mitomicina C daqueles genes de piocina que permanecem nas bactérias de produção do hospedeiro de $\Delta prf15$ de PAO1.

Figura 10 fornece a construção de fibra caudal de piocina específica para *Yersinia pestis*. Similar à estratégia que foi usada para a construção de R2-P2, a porção de codificação C-terminal (RBD) do gene de fibra caudal de L-413c foi fundida com uma porção N-terminal (BPAR) da fibra caudal R2. Quando expressas *in trans* para complementar a cepa de deleção da fibra caudal R2 PA01 $\Delta prf15$, partículas de piocina modificada são produzidas contendo as fibras caudais quiméricas R2-L-413c que podem eficientemente matar *Y. pestis* mas não *Pseudomonas*.

Figura 11 provê as seqüências de aminoácido ou seqüências de ácido nucléico para SEQ ID N^{os}: 1-59, fornecidas nas páginas 11A-11J.

DEFINIÇÕES

Como aqui usado, uma bacteriocina de hmw inclui uma piocina do tipo R, bacteriocina semelhante à cauda, bacteriocina do tipo R, piocinas do tipo F e do tipo R, monocinas, meningocinas, ou outras bacteriocinas de peso molecular alto (hmw). Uma bacteriocina de hmw inclui versões modificadas das piocinas do tipo R e do tipo F, enterocolitocinas, monocinas, e meningocinas (vide Kingsbury "Bacteriocin production by strains of *Neisseria meningitidis*". J Bacteriol. 91(5):1696-9, 1966). Uma bacteriocina de hmw modificada ou engenheirada pode ser uma piocina do tipo R modificada selecionada da piocina R1, R2, R3, R4, ou R5 de *P. aeruginosa*. Uma bacteriocina da descrição pode ser termoestável, resistente a ácido moderado, resistente à tripsina, sedimentável por centrifugação em cerca de 65.000 x g, e resolvível através de microscópio de elétron (vide Jabrane et al. Appl. Environ. Microbiol. 68:5704-5710, 2002; Daw et al. Micron 27:467-479, 1996; Bradley Bacteriol. Rev. 31:230-314, 1967; e Kageyama et al. Life Sciences 9:471-476, 1962. Em muitos casos, uma bacteriocina de hmw engenheirada

aqui tem um ou mais, em qualquer combinação, destas propriedades. Uma propriedade adicional comum às bacteriocinas e bacteriocinas de hmw engenheiradas descritas aqui é que elas não contêm nenhum ácido nucléico e desse modo são deficientes em replicação de modo que elas não podem auto-reproduzirem após ou durante a matança de uma bactéria alvo como muitos bacteriófagos o fazem.

Piocinas, e outras bacteriocinas de hmw reveladas aqui, são moléculas complexas que compreendem múltiplas subunidades de proteína, ou de polipeptídeo, e se assemelham às estruturas caudais dos bacteriófagos da família *myoviridae*. Em piocinas de ocorrência natural, as estruturas de subunidade são codificadas pelo genoma bacteriano tal como aquele de *P. aeruginosa* e formam piocinas para servir como defesas naturais contra outras bactérias (Kageyama, 1975). Uma bactéria alvo sensível pode ser morta por uma molécula de piocina simples (Kageyama, 1964; Shinomiya & Shiga, 1979; Morse et al., 1980; Strauch et al., 2001).

Uma "bactéria alvo" ou "bactérias alvo" referem-se a uma bactéria ou bactérias que estão ligadas por uma bacteriocina de hmw engenheirada da descrição e/ou cujo crescimento, sobrevivência, ou replicação são por ela(s) inibidos. O termo "inibição de crescimento" ou variações do mesmo refere-se à redução ou parada da taxa da divisão de uma célula de bactéria ou cessação da divisão da célula bacteriana, ou à morte das bactérias.

Como aqui usado, um "ácido nucléico" tipicamente refere-se aos polímeros de deoxirribonucleotídeo ou ribonucleotídeo (puros ou misturados) em forma uni ou bifilamentar. O termo pode abranger ácidos nucléicos contendo análogos de nucleotídeo ou resíduos modificados da cadeia principal ou ligações que são sintéticas, de ocorrência natural e de ocorrência não-natural, que têm propriedades de ligação, estruturais ou funcionais similares como o ácido nucléico de referência, e que são metabolizados de uma maneira similar aos nucleotídeos de referência. Exemplos não-limitativos de tais análogos incluem, sem limitação, fosforotioatos, fosforamidatos, fosfonatos de metila, fosfonatos de quiral-metila, ribonucleotídeo de 2-O-metila, e ácidos peptídeo-nucléicos (PNAs). O termo ácido nucléico pode, em alguns contex-

tos, ser usado alternadamente com gene, cDNA, mRNA, oligonucleotídeo, e polinucleotídeo.

Uma seqüência de ácido nucléico particular também abrange variantes de modo conservador modificadas do mesmo (tais como substituições de códon degenerado) e seqüências complementares, como também a seqüência explicitamente indicada. Especificamente, as substituições de códon degeneradas podem ser alcançadas gerando seqüências em que a terceira posição ("oscilante") de um ou mais códons selecionados (ou todos) é substituída com resíduos de base misturada e/ou de deoxiinosina. Desse modo, uma seqüência de ácido nucléico que codifica uma seqüência de proteína revelada aqui também abrange variantes modificadas da mesma como descritas aqui.

Os termos "polipeptídeo", "peptídeo", e "proteína" são tipicamente usados de forma alternada aqui para referirem-se a um polímero de resíduos de aminoácido. Aminoácidos podem ser referidos aqui ou por seus símbolos de três letras comumente conhecidos ou pelos símbolos de uma letra recomendados pela Comissão da Nomenclatura Bioquímica IUPAC-IUB.

Fatores de virulência são aquelas moléculas que contribuem para a patogenicidade de um organismo mas não sua viabilidade geral. Na perda de um fator de virulência o organismo é menos patogênico mas não necessariamente menos viável. Fatores de virulência podem ter uma dentre numerosas funções, por exemplo, regular expressão do gene, fornecer adesão ou mobilidade, bombear para fora agentes antibióticos, ou formar revestimentos protetores incluindo biofilmes.

Fatores de aptidão são aquelas moléculas que contribuem para a viabilidade geral do organismo, taxa de crescimento ou competitividade em seu ambiente. Na perda de um fator de aptidão, o organismo é menos viável ou competitivo e por causa deste comprometimento, indiretamente menos patogênico. Fatores de aptidão podem também possuir uma dentre numerosas funções, por exemplo, adquirir nutrientes, íons ou água, formar componentes ou protetores das membranas da célula ou paredes da célula, repli-

car, reparar ou mutagenizar ácidos nucleicos, fornecer defesa ou ofensa a insultos ambientais ou competitivos.

Alguns fatores de virulência e aptidão estão presentes na superfície da bactéria e assim acessíveis a uma bacteriocina de hmw descrita aqui. Ligando a alguns fatores de virulência ou aptidão de superfície, uma bacteriocina de hmw pode mediar a matança perfurando as membranas da célula, comprometendo a integridade da membrana citoplásmica e/ou dissipando o potencial da membrana da célula. Aquelas moléculas de superfície acessíveis mais prováveis de suportar a ligação e morte da bacteriocina de hmw são proteínas, polissacarídeos, e lipopolissacarídeos da membrana externa. Conseqüentemente, alvos potenciais para bacteriocinas de hmw engenheiradas são fatores de virulência e aptidão que são proteínas, polissacarídeos e lipopolissacarídeos da membrana externa. Alguns exemplos não-limitativos de alvos de fatores de virulência para piocinas engenheiradas incluem metaloproteases de protease de clivagem intramembrana (iCLIP); lectinas de ligação de galactose e fucose de IL e IIL; componentes de superfície microbiana reconhecendo proteínas da molécula de matriz adesiva (MSCRAMM); e adesina, tais como ACE.

O último sucesso de alvejar um fator de virulência específico depende de sua topografia na superfície bacteriana, sua densidade na superfície, talvez sua mobilidade bidimensional dentro da membrana externa, e sua prevalência em isolados clínicos ou de campo do patógeno. Por exemplo, OprM é uma proteína de membrana externa semelhante à porina envolvida em bombas de efluxo múltiplas, por exemplo o sistema de MexAB, e prevalente em muitas bactérias gram-negativas (Wong e Hancock, 2000). TolC, similar a OprM, é uma proteína acessória requerida para muitas bombas de efluxo de patógenos gram-negativos (Koronakis et al., 2004; Piddock, 2006). Além disso, vários membros da família YcrC de secretinas são proteínas de membrana externas necessárias para a translocação de proteínas efetoras patogênicas pelo sistema de secreção do tipo três ("T3SS") em que muitos patógenos gram-negativos tais como *P. aeruginosa* e *Yersinia pestis* são dependentes para intoxicar seu hospedeiro mamífero (Galan e Collmer.

1999; Koster et al., 1997; Cornelis, 2006). Além disso, os membros da família YscW são lipoproteínas também atracadas na membrana externa para ajudar a inserção das secretinas dentro da membrana (Burghout et al., 2004).

5 Exemplos não-limitativos adicionais de fatores de virulência e aptidão incluem uma aquaporina, tal como o canal de água de aquaporina-Z de *E. coli* (vide Calamita, 2000); RetS (vide Goodman et al., 2004; e Zolfa-
 10 ghar et al., 2005); os membros da família 7TMR-DISM (vide Anantharaman et al., 2003); OprM (vide Wong et al., 2000; e SEQ ID Nº: 11); proteínas bacterianas tais como OprJ (SEQ ID Nº: 12), OprN (SEQ ID Nº: 13), AprF (SEQ ID Nº: 14), OpmM (SEQ ID Nº: 15), OpmA (SEQ ID Nº: 16), OpmD (SEQ ID Nº: 17), OpmE (SEQ ID Nº: 18), OpmQ (SEQ ID Nº: 35), OpmB (SEQ ID Nº: 36), OpmJ (SEQ ID Nº: 37), OpmG (SEQ ID Nº: 38), OpmI (SEQ ID Nº: 39), OpmH (SEQ ID Nº: 40), OpmK (SEQ ID Nº: 41), OpmN (SEQ ID Nº: 42),
 15 OpmF (SEQ ID Nº: 43), ou OpmL (SEQ ID Nº: 44); a família OprD das porinas (vide Tamber et al., 2006); ACE, ou o gene de ACE codificado por OG1RF de *E. faecalis* (vide Sreedhar et al., 2000; e Rich, et al., 1999); as lectinas de ligação de galactose e fucose de PA-IL e PA-IIL (vide Mitchell et al., 2002); genes de virulência vegetais e animais descritos por He et al.,
 20 2004; metades de pirofosfato extracelular (vide Bonev et al., 2004); metaloproteases (vide Rudner et al., 1999); e moléculas de superfície codificadas por transpóson (vide Jacobs et al., 2003).

 Outros exemplos não-limitativos de fatores de virulência alvejados por uma bacteriocina de hmw engenheirada descrita incluem aqueles
 25 codificados pelas estruturas de leitura aberta (ORFs) descritas na patente U. S. 6.355.411 e WO 99/27129, que são por este meio incorporados em suas totalidades como se completamente expostos. Em algumas modalidades, um fator alvejado por uma bacteriocina descrita aqui é codificado pelas ORFs a seguir da patente U. S.:

Número da ORF	Codificação
5	Desconhecida
9	Desconhecida
21	Possivelmente receptor
23	Possivelmente transportador de ABC
33	Desconhecida
41	Possivelmente semelhante à mucina
43	Desconhecida
51	Desconhecida
53	Possivelmente semelhante à mucina
85	Desconhecida
89	Possivelmente receptor de lipoproteína
91	Desconhecida
95	Possivelmente proteofosfoglicano, superfície da célula
107	Possivelmente ABC
110	Possivelmente glicosiltransferase da membrana
113	Possivelmente proteína de resistência de multifármaco MexA
132	Possivelmente muc d
134	Possivelmente 6-UDP manose desidrogenase
149	Possivelmente transportador de MDR alvo potencial
150	Possivelmente proteína de resistência de multifármaco MexA
203	Possivelmente componente de ATPase do transportador de ABC
204	Possivelmente componente de ATPase de transporte de ABC
205	Possivelmente componente de ATPase de transporte de ABC
206	Possivelmente componente de ATPase de transporte de ABC
207	Possivelmente componente de ATPase de transporte de ABC
208	Possivelmente componente de ATPase de transporte de ABC
209	Possivelmente ABC
213	Possivelmente antiportadores de Na ⁺ /H ⁺ e K ⁺ /H ⁺ do tipo NhaP

Número da ORF	Codificação
215	Desconhecida
227	Possivelmente receptor
239	Possivelmente deoxicitidina trifosfato desaminase
241	Possivelmente UTPase
249	Desconhecida
255	Desconhecida
261	Possivelmente 6-fosfogliconato desidrogenase
263	Possivelmente transportador de ABC
273	Desconhecida
277	Possivelmente o membro da família de PE-PGRS
289	Possivelmente 6-fosfogliconato desidrogenase
291	Possivelmente glicosil transferase
297	Possivelmente ligA
301	Possivelmente glicosiltransferase
309	Possivelmente bomba de efluxo de cátion/multifármaco
323	Desconhecida
327	Desconhecida
331	Possivelmente sensor com PilR cinase putativa
333	Possivelmente transporte de proteína de Tonb
341	Possivelmente Pil R
349	Possivelmente Pil A ou R
363	Possivelmente orfz
365	Possivelmente transportador de ABC
375	Possivelmente mucina
377	Possivelmente pilus fimT
381	Possivelmente antígeno de imobilização H1
383	Possivelmente fimU
387	Possivelmente pilus PilV
393	Possivelmente pilW et

Número da ORF	Codificação
401	Possivelmente pil X
403	Possivelmente antígeno cd3
411	Desconhecida
413	Desconhecida
419	Possivelmente pil E
421	Possivelmente pyl y2
427	Possivelmente antígeno da membrana externa de PE-PGRS
437	Possivelmente ligA de ABC

DESCRIÇÃO DETALHADA DOS MODOS DE PRATICAR A DESCRIÇÃO GERAL

Bacteriocinas de hmw têm a habilidade para matar bactérias rapidamente. Alguns relatórios prematuros de estudos *in vivo* mostraram que elas podem ser eficazes em camundongos para esta aplicação (Haas et al., 1974; Merrikin e Terry, 1972). Os inventores determinaram recentemente que piocina R2 do tipo selvagem podem salvar camundongos de peritonite aguda causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a antibióticos quando administrada intraperitoneal ou intravenosamente e que as piocinas R2 podem atuar em doses muito baixas, tais como 10^9 piocinas ou menos que 1 µg de proteína total em uma dose única (dados não mostrados).

Para as bacteriocinas de hmw serem clinicamente úteis como agentes antibacterianos, porém, o problema de seus espectros bactericidas estreitos deve ser focalizado. Embora isto possa ser visto como uma vantagem em que é possível especificamente alvejar uma espécie ou cepa particular sem afetar a flora normal, os tipos de espécies/cepas que são sensíveis às bacteriocinas conhecidas são limitados. Por exemplo, piocinas são conhecidas ser correntemente produzidas por algumas cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, e têm atividade contra uma faixa estreita de outras cepas de *Pseudomonas* e algumas outras espécies gram-negativas. Bacteriocinas do tipo R foram relatadas de outras espécies (tais como *Erwinia*, vide Jabrane 2002, e *Yersinia enterocolitica*, vide Strauch) mas a ocorrência parece ser

limitada. Por outro lado, fagos de *Myoviridae* são bastante difundidos e comuns e são encontrados ao longo da classe bacteriana.

Esta descrição demonstra que é possível alterar o espectro de uma piocina e assim qualquer bacteriocina de hmw. Um determinante principal do espectro entre as piocinas e seus fagos relacionados fica na fibra caudal que especificamente liga à superfície bacteriana interagindo através de sua porção C-terminal (RBD) com um componente do LPS ou outra estrutura de superfície da célula. O LPS pode ser altamente variável entre espécies diferentes, e cepas de bactérias, e fibras caudais de bacteriófago são em si altamente variáveis, particularmente nesta região C-terminal que interage com a superfície da célula (Tetart, Desplats). Esta variabilidade aparentemente reflete as adaptações constantes dos fagos às superfícies hospedeiras variáveis. Observou-se que tipos de fago diferentes que infetam o mesmo hospedeiro (os fagos de *E. coli* P2, Mu, e P1) têm similaridade de seqüência na porção C-terminal da fibra caudal (Haggard-Ljungquist E, Halling C, Calendar R.), indicando que transferência horizontal nestas regiões genéticas provavelmente representa um papel na especificidade do hospedeiro. Por exemplo, piocina R2 tem um grau muito alto de similaridade de seqüência ao fago de *Pseudomonas* phiCTX, um fago que é também muito estritamente relacionado ao fago de *E. coli* P2. Comparando as seqüências de fibra caudal da piocina R2 e P2, mais similaridade de seqüência é vista no término N (BPAR) que com o término C (RBD), sugerindo que o término C represente o papel na especificidade do hospedeiro.

Como revelado aqui, é possível alterar o espectro alvo de uma piocina ou outro bacteriocina de hmw criando a porção C-terminal do gene de fibra caudal. É notável que esta alteração de espectro pode ocorrer ao longo das barreiras das espécies, demonstrando que piocinas do tipo R naturais e outras bacteriocinas de hmw naturais como reveladas aqui podem ser modificadas e desenvolvidas em antimicrobianos com espectros mais vastos.

BACTERIOCINAS DE HMW MODIFICADAS

A descrição provê bacteriocinas de hmw engenheiradas com

especificidades e/ou afinidades de ligação alteradas. Em algumas modalidades, uma bacteriocina de hmw da descrição liga especificamente às moléculas de superfície exposta que atuam como fatores de virulência ou de fatores aptidão de bactérias patogênicas. O termo "especificamente (ou seletivamente) liga" refere-se a uma reação de ligação que é determinativa da presença do ligante ligado, freqüentemente em uma população heterogênea de proteínas e outra substância biológica. Como resultado, a bacteriocina de hmw engenheirada uma vez ligada especificamente pode de modo genérico matar as bactérias patogênicas. Além disso, para se tornarem resistentes à bacteriocina de hmw engenheirada, as bactérias patogênicas alvejadas têm que perder seu sítio de reconhecimento ou de ligação para a bacteriocina de hmw. Declarado diferentemente, se a bacteriocina de hmw modificada específica e exclusivamente usar o fator de virulência ou aptidão como seu receptor, as bactérias seriam forçadas a perder sua virulência ou aptidão para escapar da matança pela bacteriocina de hmw engenheirada.

Uma bacteriocina de hmw modificada da descrição se assemelha a uma cauda do bacteriófago mas compreende uma capacidade de ligação, ou domínio de ligação de receptor (RBD), que foi alterada com relação a uma bacteriocina não-alterada, de ocorrência natural, ou nativa. O RBD pode ser alterado na seqüência de aminoácido mediante o uso de técnicas de DNA recombinantes como descritas aqui. O termo "recombinante", tipicamente usado com referência a uma célula, ou ácido nucléico, proteína, ou vetor, indica que a célula, ácido nucléico, proteína ou vetor, foi modificada pela introdução de um ácido nucléico ou proteína heteróloga ou a alteração de um ácido nucléico nativo ou proteína, ou que a célula é derivada de uma célula assim modificada. Assim uma célula recombinante expressa genes que não são encontrados dentro da forma nativa (não-recombinante) da célula ou expressa genes nativos que são expressados anormalmente, infra-expressados, ou não expressados de modo algum.

Em muitas modalidades, o RBD pode ser modificado para ser aquele de uma fibra caudal de outra bacteriocina ou um bacteriófago. Como exemplo não-limitativo descrito aqui, o RBD de piocina R2 é modificado fun-

dindo a porção C-terminal da proteína de fibra caudal (RBD) de um fago (que infeta um hospedeiro diferente) com a porção N-terminal (BPAR) da proteína de fibra caudal R2. Fundindo o término C da fibra caudal P2 a *PRF15* de R2 e co-expressando o chaperona cognata de P2, o espectro da
5 bactéria alvo da R2 é alterado para matar o C de *E. coli*. Vide Figura 2.

Em modalidades adicionais, bacteriocinas de hmw são do contrário engenheirados. A descrição inclui uma bacteriocina de hmw projetada ou selecionada para reconhecer, ou alvejar, uma molécula de superfície de uma bactéria (tal como uma bactéria patogênica). A molécula de superfície
10 pode ser considerada um receptor em uma bactéria reconhecida, ou ligada, pela bacteriocina de hmw.

A descrição é com base nas propriedades de uma fibra caudal de bacteriocina de hmw para ligar ou interagir com um receptor para formar um par de ligação. A ligação ou interação ocorre através do RBD da fibra
15 caudal, que é o primeiro membro do par de ligação com o receptor sendo o segundo membro do par. Em muitas modalidades, o receptor é uma molécula de superfície de célula bacteriana ou porção da mesma. Em outras modalidades, o receptor é uma molécula com propriedades de um fator de virulência ou aptidão de uma bactéria patogênica.

20 Uma bacteriocina de hmw modificada ou engenheirada descrita aqui compreende uma fibra caudal tendo tanto uma região de ligação de placa base (BPAR) como um RBD modificado, ou heterólogo. Como descrito aqui, a fibra caudal é uma estrutura trimérica de três subunidades de proteína de fibra caudal, cada uma desta também compreende um primeiro domí-
25 nio correspondendo, e formando, a BPAR em uma fibra caudal e um segundo domínio correspondendo, e formando, um RBD modificado ou heterólogo em uma fibra caudal.

Tipicamente, "heterólogo" quando usado com referência a porções de uma proteína ou seqüência de ácido nucléico indica que a seqüên-
30 cia compreende duas ou mais subseqüências que usualmente não são encontradas na mesma relação uma com a outra na natureza. Por exemplo, uma proteína heteróloga indica que a proteína compreende duas ou mais

subseqüências que não são encontradas na mesma relação uma com a outra na natureza. "Heterólogo" também significa que a seqüência de aminoácido ou de ácido nucléico não é normalmente encontrada junto com as outras seqüências ou não é normalmente contida no plasmídeo, vetor, ou hospedeiro selecionado. Em outras palavras, não é nativa ao sistema para o qual é agora utilizado. Por exemplo, proteínas produzidas por um organismo do qual não é a fonte do tipo selvagem daquelas proteínas.

Assim em muitas modalidades, a descrição inclui que uma proteína de fibra caudal de bacteriocina de hmw compreendendo um BPAR da proteína e um RBD modificado, ou heterólogo. O BPAR encontra-se tipicamente na região N-terminal de uma proteína de fibra caudal, enquanto o RBD encontra-se tipicamente na região C-terminal. Diferente do RBD modificado, ou heterólogo, a proteína de fibra caudal pode ser aquela de qualquer bacteriocina de hmw de ocorrência natural, com uma piocina, monocina, enterocolitina, ou meningocina que são exemplos não-limitativos. Em algumas modalidades, a proteína de fibra caudal de R1-piocina, R2-piocina, R3-piocina, R4-piocina, e R5-piocina, como representadas pela SEQ ID Nº: 1, 3, 5, 7, 9, respectivamente, podem ser usadas como descritas aqui. Em modalidades adicionais, a proteína de fibra caudal pode ser aquela ou aquelas do fago Φ CTX SEQ ID Nº: 45, ou aquela do fago PS17 SEQ ID Nº: 19 ou aquela do bacteriófago de VHML SEQ ID Nº: 21 e 22.

Modalidades da descrição incluem combinações de uma BPAR de proteína de fibra caudal de bacteriocina de hmw e um RBD de uma proteína de fibra caudal de bacteriófago, como mostradas na Figura 3. Em alguns casos, uma combinação pode incluir os aminoácidos N-terminais da posição 1 a cerca da posição 164 ou posição 240 de uma proteína de fibra caudal de bacteriocina. Este fragmento de polipeptídeo pode ser fundido com uma região de uma proteína de fibra caudal do bacteriófago incluindo sua porção C-terminal contendo um RBD. A região pode ser um fragmento de polipeptídeo que carece da região N-terminal da posição 1 a cerca da posição 150, cerca da posição 170, cerca da posição 190, cerca da posição 290, cerca da posição 300, ou cerca da posição 320.

Usando a piocina R2 e a proteína de fibra caudal do fago P2 como exemplos não-limitativos, o fragmento contendo BPAR pode incluir os aminoácidos N-terminais da posição 1 à posição 164 ou 240. Vide Figuras 4-7. O fragmento contendo RBD pode incluir o C-terminal, e de cerca de 347 a
 5 cerca de 755 aminoácidos em comprimento das proteínas de fibra caudal P2 ou fago relacionadas. A fusão pode ser facilmente preparada através de técnicas de DNA recombinante com seqüências de ácido nucléico que codificam a proteína de fibra caudal R2, tal como *prf15*, e o gene de fato P2 *H* que codifica sua proteína de fibra caudal. A chaperona cognata do RBD necessi-
 10 ta ser coexpressada com os genes de fibra caudal de fusão para assegurar a montagem das fibras caudais modificadas em uma estrutura de piocina funcional. Vide figura 8.

Em outras modalidades, um RBD modificado compreende uma alteração na seqüência de aminoácido do RBD com relação a um RBD de
 15 ocorrência natural ou com relação à BPAR presente na proteína de fibra caudal. Exemplos não-limitativos de uma alteração na seqüência de aminoácido incluem substituição, inserção (ou adição), ou deleção de um ou mais aminoácidos.

Em modalidades compreendendo a substituição de resíduos de
 20 aminoácido de RBD, cerca de 1 %, cerca de 2 %, cerca de 3 %, cerca de 4 %, cerca de 5 %, cerca de 6 %, cerca de 7 %, cerca de 8 %, cerca de 9 %, cerca de 10 %, cerca de 11 %, cerca de 12 %, cerca de 13 %, cerca de 14 %, cerca de 15 %, cerca de 16 %, cerca de 17 %, cerca de 18 %, cerca de 19 %, cerca de 20 %, cerca de 22 %, cerca de 24 %, cerca de 26 %, cerca
 25 de 28 %, cerca de 30 %, cerca de 35 %, cerca de 40 %, cerca de 45 %, ou cerca de 50 %, ou mais, do término C em uma proteína de fibra caudal são substituídos. Em algumas modalidades, as substituições estão dentro de cerca de 245, cerca de 260, cerca de 275, ou cerca de 290, ou mais, resíduos do término C.

30 As posições para substituição podem ser qualquer um ou mais, em qualquer combinação, dentro daquela região. Posições exemplares incluem, mas não são limitadas a, 448, 449, 452, 453, 454, 455, 459, 460,

462, 463, 464, 469, 472, 473, 474, 475, 478, 480, 484, 485, 486, 491, 494, 496, 497, 498, 499, 505, 506, 507, 508, 510, 512, 514, 517, 518, 519, 520, 521, 523, 527, 528, 530, 531, 533, 535, 537, 538, 541, 543, 546, 548, 561, 603, 604, 605, 606, 610, 618, 621, 624, 626, 627, 628, 629, 631, 632, 633, 638, 641, 642, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 657, 659, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, e 691, como também qualquer combinação das mesmas, na SEQ ID Nº: 1, 3, 5, 7, ou 9. Em algumas modalidades, a substituição é conservadora como descrita aqui. Em outras modalidades, a substituição é com uma substituição não-conservadora.

Em outras modalidades, inserções e deleções dos resíduos de aminoácido dentro da mesma região no término C de uma proteína de fibra caudal podem ser feitas.

15 RBD DE BACTERIÓFAGOS

Outras fontes de RBD incluem, mas não são limitadas a, fagos T-4 e outro T-par ou pseudoT-par, fagos T-3 e T-7, supergrupo de fagos T-7, fago Mu, fago P22, fago L-413c, e fagos lambdóides.

RBD DE DIVERSIFICAÇÃO

20 Em outras modalidades, uma proteína de fibra caudal compreende uma substituição, ou inserção, de um RBD derivado de um organismo que diversifica a estrutura desenvolvendo uma Retroelemento Gerador de Diversidade (DGR), como descrito no Pedido de Patente publicado US 2006-0121450, publicado em 8 de junho de 2006 (incorporado aqui por referência
25 como se completamente exposto). O determinante de tropismo principal (Mtd) do bacteriófago de *Bordetella* BPP-1 é uma tal estrutura. A sequência de Mtd é representada pela SEQ ID Nº: 24 como descrita aqui. Em outras modalidades, a substituição é com parte da sequência de Mtd, tal como, mas não limitada a, a região dos resíduos 49 a 381, dos resíduos 171 a 381, ou
30 dos resíduos 306 a 381, da SEQ ID Nº: 24. A inserção da sequência de Mtd, ou qualquer fragmento da mesma (tal como aqueles listados acima), à terminação de uma proteína de fibra caudal, tal como após a posição 691 da

SEQ ID Nº: 3, está dentro das modalidades descritas aqui. A substituição da sequência de Mtd, ou qualquer fragmento da mesma (tal como aqueles listados acima), pode ser para qualquer região de não-BPAR de uma proteína de fibra caudal. Exemplos não-limitativos incluem a região da SEQ ID Nº: 1, 3, 5, 7, ou 9 começando por cerca da posição 643, 625, 562, 448, 428, 231, e 163 através do término C da sequência (vide figuras 4-7 para exemplificação destas substituições).

Como descrito aqui, a sequência de Mtd em uma fibra caudal pode ser diversificada para produzir uma pluralidade de RBDs modificados ou heterólogos. A sequência de ácido nucléico que codifica Mtd compreende uma região variável (VR) que pode ser operativamente ligada, em *cis* ou *in trans*, a uma região modelo (TR) de modo que a TR é uma sequência modelo que direciona mutagênese loco-específica da VR. A ligação operativa entre as regiões VR e TR também inclui uma ligação operativa às sequências que codificam uma atividade de transcriptase reversa (TR) que pode estar presente *in trans* com relação à VR. Sítios de variabilidade na VR de Mtd correspondem aos resíduos de adenina na região modelo em geral homóloga, TR sendo invariante e essencial para alterações da sequência na VR. Assim embora uma molécula inicial possa conter uma TR que é idêntica à VR, os resíduos de adenina presentes na TR resultarão no mutagênese ou diversificação das posições correspondentes na sequência de VR. Assim se a sequência de TR for uma repetição direta perfeita da sequência na VR, diversificação da região VR resulta em um ou mais resíduos de adenina na VR, também encontrados na TR, sendo mutados para outro nucleotídeo, que é citosina, timina ou guanina sem alteração na sequência de TR. Este sistema pode ser usado para alterar a região VR, e desse modo o RBD, de uma proteína de fibra caudal modificada como descrita aqui.

Sob diversificação, a proteína de fibra caudal pode ser variada de modo que o RBD resultante tenha pelo menos 80 %, pelo menos 85 %, pelo menos 90 %, ou pelo menos 95 % homologia ao determinante de tropismo principal (Mtd) do bacteriófago de *Bordetella* BPP-1, como representado pela SEQ ID Nº: 24. Como descrito aqui, a proteína de fibra caudal e

combinação de Mtd podem ser uma substituição, ou uma inserção, de uma seqüência de Mtd ou porção da mesma na seqüência de proteína de fibra caudal. Desse modo a proteína de fibra caudal resultante pode ser vista como compreendendo uma substituição ou inserção com um domínio de ligação com pelo menos 80 %, pelo menos 85 %, pelo menos 90 %, ou pelo menos 95 % homologia como recitado acima.

Uma molécula de ácido nucléico que codifica uma fibra caudal e combinação de Mtd pode ser usada para diversificação e variação da seqüência. Desse modo combinações de ácido nucléico das seqüências que codificam toda ou parte de uma proteína de fibra caudal, e toda ou parte de um Mtd, estão dentro das modalidades descritas. Outras modalidades incluem moléculas de ácido nucléico que codificam qualquer proteína de fibra caudal com uma RBD modificado ou heterólogo como descrito aqui. Em algumas modalidades, RBD modificado ou heterólogo codificado compreende uma alteração na seqüência de aminoácido do RBD com relação a um RBD de ocorrência natural ou com relação ao BPAR presente na proteína de fibra caudal como descrito acima.

Em modalidades adicionais, uma proteína de fibra caudal que codifica a molécula de ácido nucléico pode ser feita disponível para diversificação para formar uma proteína de fibra caudal modificada descrita aqui. A molécula de ácido nucléico, sob controle de um promotor adequado, é operativamente colocada 5' para uma região de atd-TR-brt. A seqüência de TR pode ser referida como TR' e preparada com base na seqüência de VR como debatido abaixo. A construção de ácido nucléico resultante pode carregar uma deleção da estrutura de terminador de transcrição a montante do atd.

Uma região da molécula de ácido nucléico que codifica a extremidade C-terminal da proteína de fibra caudal como descrita acima, é selecionada para ser a VR e depois operativamente ligada a uma seqüência de TR' que contém os resíduos de adenina nas posições, que quando variada, alterações de aminoácido variadas, diretas na seqüência codificada pela VR. Tais resíduos de adenina podem ser deliberadamente projetados para estar

na primeira ou segunda posição dos códons dentro da VR. A sequência de TR' pode ser inicialmente idêntica à VR selecionada seguida por mutagênese loco-direcionada ou síntese de novo de ácido nucléico para preparar a sequência de TR' que contém os resíduos de adenina nas posições correspondentes para direcionar mutagênese e diversificação na proteína de fibra caudal codificada.

PREPARAÇÃO E USO DE BACTERIOCINAS DE HMW

As moléculas de ácido nucléico descritas aqui podem ser usadas para expressar e preparar proteínas de fibra caudal, incluindo proteínas modificadas ou criadas, por quaisquer meios conhecidos à pessoa versada. Em algumas modalidades, a expressão é por meio do uso de um vetor que contém a molécula de ácido nucléico operavelmente ligada a um promotor que pode direcionar a expressão da proteína de fibra caudal codificada.

Em muitas modalidades, a expressão pode ocorrer com expressão de um gene acessório, tal como uma sequência de codificação de "chaperona" relatada para várias bacteriocinas e bacteriófagos. A presença de uma chaperona facilita a montagem de uma bacteriocina de hmw da descrição sem necessariamente se tornar uma parte da bacteriocina. A chaperona pode ser proteína cognata, ou correspondente, para o RBD usado em uma bacteriocina de hmw da descrição tal como mostrada na figura 8. Um exemplo não-limitativo de uma chaperona é codificado através de *prf16* de R2 (SEQ ID N°: 4), e corresponde (ou é a chaperona cognata) à proteína de fibra caudal codificada de piocina R2 por *prf15* (SEQ ID N°: 3). Outros exemplos incluem gene *G* na P2 (SEQ ID N°: 26), gene *G* em L-413c (SEQ ID N°: 29), a chaperona cognata, SEQ ID N°: 20, para a fibra caudal PS17, e a Orf 38 (SEQ ID N°: 23) em bacteriófagos de VHML que são chaperonas cognatas para os genes de fibra caudal em cada fago. Estes genes são homólogos ao fago T4 gp38 (SEQ ID N°: 32) que é conhecido ser responsável pelo dobramento apropriado da fibra caudal de T4 (SEQ ID N°: 31) em trímeros (Burda, Qu, Hash emolhossen).

O uso de uma chaperona cognata é vantajoso porque uma chaperona não-cognata pode ser insuficiente para corretamente dobrar uma

proteína de fibra caudal dada e/ou juntá-la em uma bacteriocina de hmw, como mostrado na figura 8. Como um exemplo não-limitativo, o produto gênico de *prf16* de R2 foi observado ser insuficiente para complementar o dobramento de uma fibra caudal modificada comprometendo um BPAR de R2 fundido com uma porção de BRD de P2 de uma fibra caudal. Sem estar preso à teoria, e oferecido para melhorar a compreensão da descrição presente, acredita-se que uma chaperona possa especificamente agir na porção C-terminal de sua proteína de fibra caudal cognata e que as fibras caudais e suas chaperonas coevoluíram. Porém, Qu et al. isolou um mutante de fibra caudal de gp37 de T4 que suprime o requerimento por gp38, sua chaperona cognata. Este mutante teve em gp37 uma duplicação de um motivo de espiral encaracolado, que pode por si só representar um papel de dobramento. Portanto, acredita-se também que uma proteína de fibra caudal possa ser projetada para conter um tal alteração de forma que ela se dobre corretamente sem a necessidade de coexpressar uma chaperona cognata.

Portanto, modalidades da descrição incluem uma célula bacteriana transfeccionada com uma molécula de ácido nucléico que codifica uma proteína de fibra caudal modificada ou engenheirada, opcionalmente coexpressada com uma chaperona, como descrita aqui. Expressão da molécula de ácido nucléico, opcionalmente com uma proteína acessória (chaperona), resulta na produção de fibras caudais modificadas ou criadas da descrição. A descrição também inclui expressão de mais que proteína de fibra caudal modificada ou engenheirada através do uso de mais de uma molécula de ácido nucléico para resultar em fibras caudais homotriméricas ou até mesmo heterotriméricas misturadas. Adicionalmente, seqüências que codificam a proteína de fibra caudal e chaperona podem ser contidas dentro de uma molécula de ácido nucléico simples, tal como um plasmídeo ou outro vetor, ou através de moléculas separadas. Onde uma molécula de ácido nucléico simples for usada, as seqüências opcionalmente podem estar sob o controle da(s) mesma(s) seqüência(s) reguladora(s). Alternativamente, as seqüências de codificação podem ser sob controle regulador separado.

Em algumas modalidades, a célula bacteriana é também capaz

de expressar as subunidades adicionais para formar uma bacteriocina de hmw que compreende uma fibra caudal modificada ou engenheirada. Em um grupo de modalidades, a seqüência de proteína de fibra caudal de codificação endógena da célula bacteriana é inativada ou deletada. Opcionalmente, as outras subunidades podem ser codificadas através das seqüências em uma molécula de ácido nucléico, tal como um plasmídeo ou outro vetor, separado daquela que contém uma seqüência que codifica uma proteína de fibra caudal e/ou chaperona. Desse modo a proteína de fibra caudal e/ou chaperona pode(m) ser fornecida(s) com uma ou mais moléculas de ácido nucléico *in trans* com relação às outras subunidades.

Os ácidos nucléicos, vetores, e células bacterianas Podem ser usados em um método de produzir uma bacteriocina de hmw modificada ou engenheirada como descrita aqui. Um tal método pode compreender cultivar células bacterianas que contêm moléculas de ácido nucléico como descritas acima sob condições que resultam na expressão e produção da fibra caudal e bacteriocina de hmw. Em algumas modalidades da descrição as condições são *in vivo* dentro de um animal.

Em um grupo de modalidades, um método de preparar uma bacteriocina de hmw compreende expressar as subunidades de bacteriocina, incluindo a proteína de fibra caudal modificada ou engenheirada, em uma bactéria hospedeira, e colher a bacteriocina de hmw da cultura bacteriana. A bactéria hospedeira é uma bactéria de produção hospedeira complementar que codifica e expressa as outras subunidades necessárias para a produção da bacteriocina. O termo "bactéria hospedeira" ou "bactérias hospedeiras" refere-se a uma bactéria ou bactérias usadas para produzir uma bacteriocina de hmw descrita aqui. Bactéria ou bactérias hospedeiras podem também ser referidas como "bactéria de produção hospedeira" ou "bactérias de produção hospedeira". O "colher uma bacteriocina de hmw de uma cultura bacteriana" em geral compreende remover a bacteriocina da cultura bacteriana hospedeira.

Em um grupo alternativo de modalidades, um método de preparar uma bacteriocina de hmw com uma fibra caudal modificada como descri-

ta aqui é fornecido. O método pode compreender preparar uma molécula de ácido nucléico que codifica uma proteína de fibra caudal modificada por qualquer meio descrito aqui e expressar a molécula de ácido nucléico em uma célula sob condições em que uma bacteriocina de hmw é produzida.

5 Modalidades da descrição incluem uma bacteriocina de hmw que compreende uma proteína de fibra caudal como descrita aqui. Em um grupo de modalidades, a bacteriocina compreende uma proteína de fibra caudal compreendida em parte da seqüência de aminoácido representada pela SEQ ID Nº: 1, 3, 5, 7, 9. Em outras modalidades, a bacteriocina é uma
10 piocina, monocina, enterocolitina, ou meningocina modificada ou engenheirada compreendendo uma fibra caudal com um RBD modificado heterólogo. Em muitas modalidades, o RBD modificado heterólogo liga um fator de virulência ou aptidão bacteriana.

 Em outras modalidades, bacteriocinas de hmw engenheiradas
15 com fibras caudais multivalentes são descritas. Mtd de bacteriófago de *Bordetella bronchiseptica* BPP-1 foi descoberto através de análise cristalográfica de raio X ser um homotrîmero piramidal altamente entrelaçado com os três conjuntos de doze resíduos de aminoácido variáveis que formam três sítios de ligação de receptor bastante planos com a base da pirâmide e localizados
20 em um domínio de lecitina do tipo C convergentemente evoluído ("CTL"). Comparação das estruturas de cinco variantes de Mtd em resolução de 1,5 angström mostrou que a conformação de cadeia principal dos resíduos variáveis é estruturalmente invariante, com inserções na CTL e montagem trimérica ambas contribuindo para a formação de um andaime estático para exibição
25 combinação combinatória de resíduos variáveis, assim minimizando a incidência de desdobramento da proteína (McMahon et al., 2005). Desse modo uma fibra caudal simples pode ser gerada para conter três monômeros misturados corretamente dobrados uma vez que as estruturas das fibras de Mtd variantes são idênticas com exceção dos doze resíduos de aminoácido expostos a
30 solvente não-interagentes.

 A estrutura da variante de Mtd-P1 dominante ligada a seu receptor, o pertactina de fator de virulência de *Bordetella*, foi também solucionada

por cristalografia e caracterizada. Um dos monômeros de Mtd liga um domínio estrutural em pertactina; um segundo monômero idêntico do mesmo Mtd liga um domínio estrutural diferente, não-simétrico da mesma molécula de pertactina (monomérica); um terceiro monômero de Mtd permanece não-

5 ligado.

As estruturas de Mtd variantes acima e a interação de ligação entre Mtd e seu alvo, pertactina, podem ser aplicadas ao projeto e seleção de fibras caudais multivalentes. Por exemplo, é evidente que um monômero de Mtd pode exibir afinidades por dois domínios estruturais diferentes e ainda em formato multimérico pode possuir avides suficiente para realizar ligação e infecção de fago funcional. Além disso, nem todos os monômeros de uma fibra não necessitam estar ligados a um receptor para prover avides adequada para ligação e infecção de fago. Estes dados e conclusões juntamente com o conhecimento que para pelo menos bacteriófagos de T4, também myoviridae, apenas três (homotrimérica) fibras caudais necessitam estar ligadas a receptores para desencadear contração da envoltura da cauda e penetração do núcleo das membranas bacterianas, indicam vários meios de gerar uma bacteriocina de hmw multivalente. Tais bacteriocinas de hmw multivalentes engenheiradas têm faixas de hospedeiro mais vastas e são até mesmo capazes de ligar a mais que uma virulência simples ou fator de aptidão no mesmo organismo bacteriano, assim tornando mais difícil para as bactérias alvejadas desenvolverem resistência por perda mutacional da expressão de todos receptores alvejados relevantes. Uma bacteriocina do tipo R pode ser engenheirada para possuir dois conjuntos independentes de três

10

15

20

25

30

fibras caudais idênticas, as fibras de um conjunto compreendidas dos mesmos três monômeros não-idênticos, e as fibras do outro conjunto compreendidas de três monômeros não-idênticos diferentes. Cada monômero pode possuir afinidades de ligação por dois epítomos diferentes (por exemplo dois receptores diferentes), da mesma maneira que Mtd. Assim qualquer bactéria que expressa qualquer uma ou mais das 12 moléculas de receptor alvejadas diferentes (2 "epítomos"/monômero vezes 3 monômeros/fibra caudal vezes 2 conjuntos de fibras caudais diferentes/bacteriocina do tipo R é igual a 12 re-

ceptores alvejados) ligaria à bacteriocina de hmw multivalente engenheirada e desencadearia sua penetração da membrana. Tais bacteriocinas de hmw engenheiradas têm uma faixa de hospedeiro não-naturalmente vasta e, além disso, tornam-se altamente improváveis que uma bactéria que expressa
5 mais que um receptor alvejado simples pudesse ficar resistente às bacteriocinas de hmw engenheiradas.

Em outros aspectos, métodos para o uso de uma bacteriocina de hmw da descrição são fornecidos. Em algumas modalidades, um método de comprometer a integridade da membrana citoplásmica de uma bactéria é
10 descrito. O método pode compreender contatar uma bactéria alvo com uma bacteriocina de hmw, ou porção da mesma, como descrita aqui. Alternativamente, o contato pode ser com uma bacteriocina de hmw contendo a composição descrita aqui.

Em um grupo de modalidades, o contato ocorre *in vivo* dentro de
15 um sujeito. Desse modo um método de comprometer a integridade da membrana de uma bactéria em um sujeito é descrito. O método pode compreender administrar uma bacteriocina de hmw ou uma porção da mesma como descrito aqui para o sujeito. Em outro grupo de modalidades, o contato ocorre *in vitro*.

20 Em ainda modalidades adicionais, um método de formar progênie de bactéria não-virulenta ou imprópria de bactéria progenitora virulenta é fornecida. O método pode compreender contatar as bactérias virulentas com uma bacteriocina de hmw que liga um fator de virulência ou aptidão das ditas bactérias progenitoras virulentas como descritas aqui. O método depois po-
25 de continuar permitindo a seleção da progênie de bactérias não-virulentas que já não expressam o fator de virulência ou aptidão.

Em uma modalidade alternativa, um método de manter uma população de bactérias não-virulentas é fornecido. O método pode compreender contatar a população com uma bacteriocina de hmw que liga um fator de
30 virulência ou aptidão de bactérias virulentas. O método depois continua e impede a propagação de bactérias virulentas. Sem estar preso à teoria, e oferecido para melhorar a compreensão da descrição, um aparecimento de

resistência bacteriana para uma bacteriocina de hmw engenheirada será acompanhado por uma virulência ou aptidão comprometida das bactérias patogênicas.

Os métodos da descrição podem também ser aplicados em um ambiente onde crescimento bacteriano não é desejado ou é considerado ser prejudicial. Exemplos não-limitativos incluem a esterilização de ambientes, incluindo ambientes médicos e instalações de sala de operação; como também áreas de preparação de alimentos, incluindo áreas onde carne ou peixe crus são manipulados. Os métodos podem também ser usados para esterilizar objetos sensíveis a calor, dispositivos médicos, e implantes de tecidos, incluindo órgãos de transplante.

Os métodos podem ser usados como uma terapia isolada ou como uma terapia adjunta, tal como para o tratamento de populações bacterianas. Numerosos agentes antimicrobianos (incluindo antibióticos e agentes quimioterapêuticos) são conhecidos que seriam úteis em combinação com estes métodos para tratar condições com base em bactéria.

BACTÉRIAS ALVO

As bacteriocinas de hmw engenheiradas podem ser modificadas da descrição para alvejar um receptor em uma variedade de espécies e cepas bacterianas, incluindo bactérias patogênicas, tais como bactérias nosocomiais ou piogênicas, como exemplos não-limitativos. Além de alvejar os fatores de virulência de bactérias seletas como descritas aqui, as bactérias que já são suscetíveis aos bacteriófagos são um grupo não-limitativo de bactérias que podem ser inibidas por uma bacteriocina de hmw, tais como uma piocina engenheirada, da descrição. Estas bactérias incluem as bactérias gram-negativas que são suscetíveis, como também não sensíveis, às piocinas de ocorrência natural. Exemplos não-limitativos adicionais incluem bactérias gram-negativas como um grupo como também bactérias gram-positivas. Há relatórios de entidades semelhantes à bacteriocina em grama bactérias positivas (Thompson & Pattee, 1981; Birmingham & Pattee, 1981; Zink et al., 1995). Em algumas modalidades, a bactéria alvo é identificada ou diagnosticada. Exemplos não-limitativos de tais bactérias incluem aquelas do

gênero *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, ou *Streptococcus*.

Como um exemplo não-limitativo de alvejar um fator de virulência, a descrição inclui o uso de uma proteína de fibra caudal de fago da qual
 5 RBD como aquela da proteína de gp37 de um fago semelhante a T-par ou RB-69 nomeado AV17 que infeta o O157:H7 de *E. coli* mas não infeta uma cepa mutante derivada desta que perdeu o antígeno de O157. (Vide Yoichi et al., 2005). A ligação deste fago parece requerer a presença do antígeno de O157, um fator de virulência, envolvido na adesão do intestino do orga-
 10 nismo de *E. coli* patogênico de O157:H7. Portanto, uma bacteriocina de hmw da descrição pode conter uma proteína de fibra caudal modificada contendo o RBD da proteína de gp37 (SEQ ID Nº: 33) do fago acima descrito AV17 de modo que a bacteriocina de hmw modificada alveja um fator de virulência, o antígeno de O157, de O157:H7 de *E. coli*. A chaperona cognata para a fibra
 15 caudal de AV17 tem SEQ ID Nº: 34.

Outras bactérias alvo incluem aquelas responsáveis por infecções de *P. aeruginosa* tópicas ou localizadas em humanos. Uma "infecção" refere-se ao crescimento de bactérias, tais como em um sujeito ou tecido ou célula não-bacteriana, em que as bactérias na verdade ou potencialmente
 20 poderiam causar doença ou um sintoma no sujeito, tecido ou célula não-bacteriana. Tratamento de uma infecção pode incluir tratamento profilático de substâncias ou materiais. Exemplos não-limitativos incluem órgãos doados, tecidos, e células; equipamento médico, como um respirador ou máquina de diálise; ou feridas, tais como aquelas durante ou após a cirurgia. Outros usos incluem a remoção de bactérias alvo que podem causar problemas
 25 sob crescimento adicional. Em modalidades adicionais, uma bacteriocina de hmw é usada para tratar plantas ou partes de plantas colhidas com infecções ou contaminações bacterianas, ou tratar ocorrências ambientais das bactérias alvo, tais como em um hospital ou ambiente comercial.

30 A descrição provê o tratamento, por administração ou contata com uma bacteriocina de hmw descrita aqui para alvejar as bactérias, de tais infecções em tecidos e sujeitos como segue. As infecções incluem as infec-

ções comuns da córnea ("ceratite" e úlceras córneas), pelo menos dois terços destas são causados por *P. aeruginosa*. Cerca de 30 % destes patógenos são relatados ser resistentes a antibióticos múltiplos (Mah-Sadorra et al., 2005). Infecção bacteriana da córnea é considerada uma condição relativamente incomum mas séria que requer atenção médica urgente por causa do potencial para visão reduzida ou até mesmo perda de visão no(s) olho(s) afetado(s). Outras infecções comuns que podem ser tratadas, e são causadas por *P. aeruginosa* resistente a antibióticos, incluem infecções da orelha, por exemplo "swimmer's ear" (Roland & Stroman, 2002), aquelas secundárias a queimaduras severas e ferimentos (Holder, 1993), e fibrose cística. Fibrose cística é consistentemente agravada por infecções crônicas, resistentes a antibiótico causadas por *P. aeruginosa* e seu parente próximo, *Burkholderia cepacia* (Govan & Deretic, 1996), e estes patógenos em fibrose cística podem ser tratados pelo uso de uma bacteriocina de hmw engenheirada. Porque as bacteriocinas como piocinas tolerarão a secagem por refrigeração (Higerd et al., 1969), a descrição inclui uma formulação secada por refrigeração de uma bacteriocina para administração para intensificar a probabilidade da liberação com sucesso para a via aérea superior e/ou inferior do trato respiratório.

Como descrito aqui, o tratamento de um sujeito é tipicamente tratamento de "um sujeito em necessidade de tratamento". A determinação, ou diagnose, da necessidade pelo tratamento pode ser feita por uma pessoa versada, tal como um clínico, para uso dos meios reconhecidos na técnica. Em algumas modalidades, o sujeito é um animal ou planta com uma infecção bacteriana que é potencialmente de ameaça à vida ou que prejudica a saúde ou encurta o período de vida do organismo.

Em modalidades adicionais, um método para matar ou inibir o crescimento de bactérias em um biofilme é fornecido. Um tal método pode compreender contatar um biofilme com uma bacteriocina de hmw descrita aqui que alveja bactérias no biofilme.

Como descrito aqui, uma bacteriocina de hmw antibacteriana é usada para inibir crescimento, sobrevivência, ou replicação de uma bactéria

particular. A bactéria pode ser uma cepa patogênica ou ambientalmente deletéria, ou pode ser tratada de uma maneira profiláctica. Um microorganismo patogênico em geral causa doença, às vezes apenas em circunstâncias particulares.

5 As bactérias podem também ser aquelas de uma infecção nosocomial (derivada de hospital), bactérias ambientais, e bactérias piogênicas (formadoras de pus). Os métodos e composições da descrição podem ser usados para inibir crescimento de bactérias nosocomiais, incluindo bactérias que povoam um ambiente de hospital típico, ou bactérias que estão presen-

10 tes na pele humana ou no trato gastrointestinal humano, ou bactérias que infectam e formam pus em feridas. Infecções nosocomiais são infecções que ficam evidentes durante uma permanência em hospital ou são relacionadas a um procedimento executado em um hospital. Estas infecções relacionadas a procedimento freqüentemente ficam evidentes após os pacientes serem

15 tido alta hospitalar. As infecções bacterianas nosocomiais mais comum são infecções do trato urinário, infecções do local cirúrgico, pneumonia, diarreia e colite da pseudomembrana associada com *C. difficile*, e infecções sistêmicas sérias em que as bactérias podem se desenvolver do sangue.

Os métodos e composições podem ser usados da descrição para

20 inibir crescimento de bactérias gram-negativas ou gram-positivas. Exemplos não-limitativos de bactérias gram-positivas incluem *Staphylococcus* (piogênicas), *Enterococcus* (oportunisticas), *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, e *Clostridium*. Exemplos não-limitativos de bactérias gram-negativas incluem *Pseudomonas* (piogênicas), *E. coli* (oportunisticas), *Salmonella* (oportunisticas), *Campylobacter* (oportunisticas), *Proteus* (piogênicas), *Klebsiella* (oportunisticas), *Enterobacter* (piogênicas), *Citrobacter* (piogênicas), bastonetes não-fermentadores gram-negativos (tais como *Acinetobacter*), e *Shigella*. Os cocos piogênicos

25 são bactérias esféricas que causam várias infecções supurativas (produtoras de pus) em animais. Inclusos estão *Staphylococcus aureus* de cocos gram-positivos, *Streptococcus pyogenes*, e *Streptococcus pneumoniae*, e os cocos gram-negativos, *Neisseria gonorrhoeae*, e *N. meningitidis*.

30

Em modalidades adicionais, os métodos revelados e composições da descrição são usados para inibir crescimento, particularmente de bactérias resistentes a antibióticos. Exemplos não-limitativos incluem numerosos patógenos bacterianos que se tornaram resistentes a multi-fármacos (MDR).

ENGENHEIRANDO PIOCINAS COMO UM EXEMPLO REPRESENTATIVO NÃO-LIMITATIVO

François Jacob descobriu e primeiro descreveu piocinas como bacteriocinas de peso molecular alto (Jacob, 1954). Entidades semelhantes a sebaceteriocina similares foram descritas em outras múltiplas bactérias gram-negativas (Coetzee et al., 1968) como também em *Listeria monocytogenes* (Zink et al. 1995) e *Staphylococcus aureus* (Thompson e Pattee, 1981) ambos destes são organismos gram-positivos. Embora as piocinas se assemelhem morfológicamente às caudas dos bacteriófagos contráteis (myoviridae), elas não são fagos defeituosos simples; há diferenças significantes. Por exemplo, as diferenças existem na estabilidade física e química entre as piocinas e as caudas do fago (Kageyama & Egami, 1962; Nakayama et al., 2000).

Embora as faixas de hospedeiro de piocinas sejam relativamente estreitas e usualmente restringidas às cepas das mesmas espécies, há exceções (Morse et al, 1976; Blackwell et al., 1982). Por outro lado, bacteriófagos de myoviridae podem exibir faixas de hospedeiro vastas, e suas faixas de hospedeiro, como aquelas das piocinas, são determinadas pelas especificidades de ligação das pontas de suas fibras caudais (Tetart et al., 2001).

Para numerosas fibras caudais de fago, o terceiro distal (3'-terminal) do gene varia nos mutantes ou variantes com faixas de hospedeiro de fago alteradas, ou "tropismos" (Ackermann, 2003). Como um exemplo não-limitativo, o determinante de tropismo principal (Mtd), a proteína ligadora de receptor de bacteriófago de *Bordetella* BPP-1, varia grandemente em sequência (Liu et al., 2004; Doulatov et al. 2004). Variação em Mtd depende de um retroelemento codificado por fago (Retroelemento Gerador de Diversidade, ou DGR) que pertence a uma família de DGRs implicados na geração da

variação da sequência em vários genomas de fago e bacterianos. O DGR de *Bordetella* pode produzir mais de 10^{13} variantes de sequência diferentes de Mtd, rivalizando as 10^{14} - 10^{16} possíveis seqüências de anticorpos. Variantes de Mtd são produzidas por um único processo de mutagênese adenina-específico que envolve transcriptase reversa codificada por DGR (bRT) e uma região modelo estável (TR). Variabilidade em Mtd é focalizada em 12 aminoácidos codificados por adenina que são difratados ao longo de sua região variável C-terminal (VR) (Doulatov et al. 2004). As estruturas cristalin-
 5 lucionadas e confirmadas, como descrito abaixo, que a ponta da estrutura determina a especificidade de ligação e assim o tropismo principal (faixa de hospedeiro) do fago (McMahon et al., 2005). Desse modo, como também descrito abaixo, Mtd e seu sistema de DGR relacionado pode ser usado na prática da descrição.

15 Muitas espécies de *Pseudomonas* possuem os genes para as piocinas do tipo R (Takeya et al., 1969; Kageyama, 1975). O locus da piocina do tipo R consiste em cerca de 16 grupos de complementação incluindo cerca de 10 genes estruturais mais genes reguladores e de chaperona (Shinomiya et. al. 1983a; Shinomiya et al., 1983b). As piocinas do tipo R morfo-
 20 lógica e geneticamente se assemelham às caudas de bacteriófagos de myoviridae mas não têm nenhuma estrutura de cabeça e desse modo nenhum conteúdo de ácido nucléico (Kageyama, 1964; Ishii et al., 1965; Shimizu et al., 1982). Crê-se que elas tenham evoluído da estrutura caudal de fago de um antepassado relacionado com P2, mas elas não são fagos defeituosos
 25 simples, após terem sido também adaptadas para seu papel como agentes bactericidas defensivos (Nakayama et al, 2000). Similar aos bacteriófagos, porém, as piocinas se ligam aos "receptores" específicos moleculares nas bactérias alvo e penetram suas membranas com uma estrutura de "núcleo" ou semelhante a agulha (Uratani & Hoshino, 1984). Como uma conseqüên-
 30 cia imediata da penetração do núcleo das membranas, a bactéria é morta pelo comprometimento da integridade de sua membrana citoplásmica e dissipação de seu potencial da membrana, um evento bactericida que pode ser

o resultado de um ataque por uma piocina simples (Iijima, 1978; Uratani & Hoshino, 1984; Strauch et al., 2001).

O RBD, ou Determinante de Ligação de Receptor da ligação de piocina R, de uma piocina do tipo R típica liga a uma molécula de superfície bacteriana. No caso de um isolado de piocina R2, o RBD reside na porção carbóxi-terminal de sua fibra caudal. A fibra caudal é um homotrímero do produto do gene de *prf15* (Nakayama et al., 2000). Modificação do RBD no gene de *prf15* e recombinação do gene de *prf15* modificado em um sistema que produz piocinas do tipo R permite a produção de uma piocina engenheirada com especificidade de ligação modificada.

O determinante de tropismo principal (Mtd) do bacteriófago de *Bordetella* possui várias propriedades únicas e úteis como um domínio de ligação. A forma funcional de Mtd em bacteriófago de *Bordetella* é um homotrímero que liga a proteína de fator de virulência, pertactina, em *Bordetella*. Desse modo, o gene *mtd* pode ser fundido na extremidade distal do gene *prf15* para tirar proveito das propriedades de Mtd. Assim conforme descrito aqui, um aspecto da descrição inclui construção de uma proteína de fusão entre a proteína de fibra caudal de piocina do tipo R de *P. aeruginosa* (Prf15) e o determinante de tropismo principal (Mtd) do fago de *Bordetella*, BPP-1. Uma fusão de Prf15-Mtd pode ser usada para complementar *in trans* uma deleção de *prf15* de piocina de PA01 de *P. aeruginosa* para ligar e matar *Bordetella bronchiseptica* de expressão de pertactina ou *E. coli* de expressão de pertactina.

Adicionalmente, o bacteriófago P2 ou P4 pode ser usado como um substituto para abrigar o gene de fusão da fibra caudal de *prf15*-*mtd* de modo que o genótipo é acoplado ao fenótipo de ligação da fibra caudal. Isto permite transdução eficiente, seleção, e isolamento do gene de fibra caudal que codifica o RBD desejado.

MODOS DE ADMINISTRAÇÃO

Uma bacteriocina de hmw engenheirada da descrição pode ser administrada por qualquer meio adequado. Exemplos não-limitativos incluem administração tópica, ou localizada, como também pulmonar (inalação), gas-

trintestinal, por cateter ou tubo de gotejamento, ou administração sistêmica a um sujeito. Exemplos representativos, e não-limitativos, de administração sistêmica incluem administração intraperitoneal e intravenosa. Os efeitos protetores das piocinas intraperitoneal e intravenosamente administradas foram demonstrados em camundongos infectados sistemicamente com doses letais de cepas de *P. aeruginosa* sensíveis *in vitro* às piocinas administradas (Merrikin & Terry, 1972; Haas et al., 1974). Em algumas modalidades, contato entre uma bacteriocina de hmw descrita aqui e uma população bacteriana alvo resulta em uma diminuição na população de pelo menos 10, pelo menos 100, pelo menos 1000, ou pelo menos 10.000, ou mais, vezes com relação à ausência da bacteriocina. Em outras modalidades, o contato pode resultar em uma diminuição na detectabilidade das bactérias por pelo menos 5, pelo menos 10, pelo menos 20, pelo menos 30, pelo menos 40, ou pelo menos 50, ou mais, vezes com relação à ausência da bacteriocina.

Uma bacteriocina de hmw engenheirada da descrição pode ser administrada em qualquer sujeito afligido, diagnosticado como afligido, ou suspeito de estar afligido, com uma infecção ou contaminação através de bactérias suscetíveis à bacteriocina de hmw. Exemplos não-limitativos de tal um sujeito incluem espécies animais (mamífero, réptil, anfíbio, aviário, e peixe) como também insetos, plantas e fungos. Exemplos representativos, e não-limitativos, de espécies mamíferas incluem os seres humanos; primatas não-humanos; espécies agricolamente relevantes tais como bois, porcos, cabras, e ovelha; roedores, tais como camundongos e ratos; mamíferos para companhia, exibição ou exposição, tais como cachorros, gatos, cobaias, coelhos, e cavalos; e mamíferos para o trabalho, tais como cachorros e cavalos. Exemplos representativos, e não-limitativos, de espécies aviárias incluem galinhas, patos, gansos, e pássaros para companhia ou exposição tais como papagaios e periquitos. Um sujeito animal tratado com uma bacteriocina engenheirada da descrição pode também ser um animal quadrúpede, um bípede, um aquático, um vertebrado, ou um invertebrado, incluindo insetos.

Em algumas modalidades, o sujeito a ser tratado é uma criança

ou outro animal jovem que ainda têm que alcançar a maturidade. Desse modo a descrição inclui o tratamento de condições pediátricas compreendendo infecção com bactérias ou outro microorganismo suscetível a uma bacteriocina de hmw da descrição.

5 A descrição também provê o tratamento ou prevenção de uma infecção oportunística, tal como aquela sendo o resultado de um crescimento indesejável de bactérias que estão presentes na flora microbiana de um sujeito animal humano ou não-humano. Uma infecção oportunística pode ser o resultado de uma condição imunossuprimida em um sujeito ou o resultado de tratamento antibiótico alterando a flora comensal do trato geniturinário (GU) ou gastrintestinal (GI). Desse modo a descrição também provê o tratamento ou profilaxia de sujeitos imunossuprimidos e sujeitos expostos a outros agentes farmacêuticos. Uma bacteriocina de hmw com sua atividade antibacteriana pode ser usada em combinação com outro agente antibacteriano ou antimicrobiano, tal como um agente antibiótico ou antifúngico como exemplos não-limitativos. Um "agente antimicrobiano" é um agente ou composto que pode ser usado para inibir o crescimento ou matar organismos unicelulares. Agentes antimicrobianos incluem antibióticos, agentes quimioterapêuticos, anticorpos (com ou sem complemento), inibidores químicos de DNA, RNA, proteína, lipídio, ou síntese ou funções da parede celular.

20 Em algumas modalidades, uma bacteriocina de hmw é formulada com um excipiente ou veículo "farmaceuticamente aceitável". Um tal componente é um que seja adequado para uso com humanos, animais, e/ou plantas sem efeitos colaterais adversos impróprios. Exemplos não-limitativos de efeitos colaterais adversos incluem toxicidade, irritação, e/ou resposta alérgica. O excipiente ou o veículo são tipicamente um que sejam comensuráveis com uma razão razoável de benefício/risco. Em muitas modalidades, o veículo ou excipiente são adequados para administração tópica ou sistêmica. Veículos farmacêuticos não-limitativos incluem soluções aquosas ou não-aquosas estéreis, suspensões, e emulsões. Exemplos incluem, mas não são limitados a, excipientes farmacêuticos padrões tais como uma solução salina tamponada de fosfato, água, emulsões tais como emulsão de ó-

leo/água, e vários tipos de agentes umectantes. Exemplos de solventes não-aquosos são propileno glicol, polietileno glicol, óleos vegetais tais como azeite de oliva, e ésteres orgânicos injetáveis tais como etiloleato. Veículos aquosos incluem água, soluções alcoólicas/aquosas, emulsões ou suspensões, incluindo meios salinos e tamponados. Veículos parenterais incluem solução de cloreto de sódio, dextrose de Ringer, dextrose e cloreto de sódio, óleos de Ringer tratados com lactato ou fixos. Veículos intravenosos incluem repositores de fluidos e nutrientes, repositores de eletrólito (tais como aqueles com base na dextrose de Ringer), e outros.

10 Formulações e composições farmacêuticas adicionais descritas aqui compreendem uma bacteriocina de hmw isolada específica para um hospedeiro bacteriano; uma mistura de duas, três, cinco, dez, ou vinte ou mais bacteriocinas que alvejam os mesmos hospedeiros bacterianos; e uma
15 mistura de duas, três, cinco, dez, ou vinte ou mais bacteriocinas que alvejam hospedeiros bacterianos diferentes ou cepas diferentes do mesmo hospedeiro bacteriano.

 Opcionalmente, uma composição compreendendo uma bacteriocina de hmw da descrição pode também ser liofilizado usando meios bem conhecidos na técnica. Reconstituição subsequente e uso podem ser praticados como conhecido no campo.

20 Também fornecidas são formulações compreendendo bacteriocina de hmw microencapsulada. Em algumas modalidades, estas podem fornecer cinética de liberação contínua ou permitir ingestão oral para atravessar o estômago e para dentro do intestino delgado ou grande. Em geral,
25 as composições farmacêuticas podem ser preparadas em várias formas, tais como grânulos, tabletes, pílulas, supositórios, cápsulas (por exemplo, adaptadas para liberação oral), microcontas, microesferas, lipossomas, suspensões, pomadas, pastas, loções, e outros. Veículos e/ou diluentes orgânicos ou inorgânicos do tipo farmacêutico adequados para uso oral e tópico podem
30 ser usados para compor as composições compreendendo os compostos terapêuticamente ativos. Agentes estabilizantes, agentes intumescentes e emulsificantes, sais para variar a pressão osmótica, ou tampões podem ser

incluídos para garantir um valor de pH adequado.

Um bacteriocina de hmw é tipicamente usada em uma quantidade ou concentração que são "seguras e eficazes", que refere-se a uma quantidade que é suficiente para produzir uma resposta terapêutica desejada sem efeitos colaterais adversos impróprios como aqueles descritos acima. Uma bacteriocina de hmw pode também ser usada em uma quantidade ou concentração que são "terapeuticamente eficazes", que refere-se a uma quantidade eficaz para render uma resposta terapêutica desejada, tal como, mas não limitada a, uma quantidade eficaz para reduzir a taxa de divisão da célula bacteriana, ou causar cessação da divisão da célula bacteriana, ou causar morte ou taxa de diminuição do crescimento da população das bactérias. A quantidade segura e eficaz ou quantidade terapeuticamente eficaz variará com vários fatores mas podem ser facilmente determinadas pelo médico versado sem experimentação imprópria. Exemplos não-limitativos de fatores incluem a condição particular sendo tratada, a condição física do sujeito, o tipo de sujeito sendo tratado, a duração do tratamento, a natureza da terapia simultânea (se houver), e as formulações específicas empregadas.

Adicionalmente, e em antecipação de um possível aparecimento de resistência bacteriana a uma bacteriocina de hmw engenheirada, pode haver um comprometimento concomitante da virulência ou aptidão dos organismos onde a bacteriocina alveja o fator de virulência ou aptidão das bactérias alvejadas. Porque um mecanismo fundamental, mas não-limitativo, pelo qual uma bactéria pode tornar-se resistente a uma bacteriocina de hmw é a perda de seu receptor para a bacteriocina, o alvejamento de um fator de virulência ou aptidão como descrito aqui fornece muitas vantagens sobre os antibióticos tradicionais e bacteriófagos. A resistência a antibióticos e bacteriófagos tradicionais pode ser o resultado de muitos mecanismos diversos diferentes da perda do receptor ou molécula alvo do agente antibacteriano. Como exemplos não-limitativos, uma bacteriocina de hmw da descrição não estaria sujeito a uma bomba de efluxo bacteriana para remover a bacteriocina do ambiente celular e não estaria sujeito a um mecanismo de desativação do ácido nucléico bacteriano.

Tendo agora em geral descrito o assunto inventivo, o mesmo será entendido mais facilmente em referência aos exemplos a seguir que são fornecidos por via de ilustração, e não são intencionados ser limitativos da descrição, a menos que especificado.

5 EXEMPLOS

Os exemplos a seguir são oferecidos para ilustrar, mas não limitar o assunto reivindicado.

EXEMPLO 1: BACTERIOCINAS DE HMW MODIFICADAS CONTENDO UMA PROTEÍNA DE FUSÃO

10 a) Sistema de complementação

Para facilitar a preparação de uma bacteriocina de hmw modificada como descrita aqui, a construção de um sistema para complementar as fibras caudais *in trans* foi estabelecida. Usando a piocina R2 como um modelo representativo, criação de uma deleção da sequência de codificação de *prf15* de R2 no genoma de PAO1 de *P. aeruginosa* foi usada para criar uma plataforma em que uma proteína de fibra caudal complementar, tal como um produto de gene de *prf15* modificado, foi expressada *in trans*.

Em geral, a deleção foi feita pelo método de Hoang et al. criar *P. cepa de aeruginosa Δprf15 de PAO1*. A região de codificação de *prf16*, SEQ ID N°: 4, para o chaperona de R2 a extremidade do R2 *prf15* gene sobrepõe através de 8 nucleotídeos e o sítio de ligação de ribossoma mente dentro da região de codificação de *prf15*, SEQ ID N°: 3. A proteína de *prf16*, que necessariamente não é incorporada na estrutura de piocina, foi relatada ser requerida, para atividade máxima, para montagem da fibra caudal trimérica (Figura 8 e Nakayama et al., 2000). Portanto, tanto o sítio de começo de transcrição para *prf16* e seu sítio de ligação de ribossoma são deixados intactos de modo que a chaperona seria produzida sob indução da construção de piocina modificada que codifica uma piocina defeituosa "sem-cauda" ("tail-less").

30 Brevemente, uma deleção dentro da estrutura dos códons 11-301 de PRF15 foi feita em PAO1 como segue. Um fragmento de KpnI-AgeI de 1,1 kb a montante da deleção desejada foi amplificado por PCR de DNA

genômico de PAO1 usando iniciadores AV085 (5'-GCTTCAATGTGCAGCGTTTGC) (SEQ ID Nº: 46), e AV088 (5'-GCCACACCGGTAGCGGAAAGGCCACCGTATTTCGGAGTAT) (SEQ ID Nº: 47), e um fragmento de *AgeI*-*EcoRI* de 2,2 kb foi amplificado usando iniciadores AV087 (5'-ATACTCCGAAATACGGTGGCCTTTCCGCTACCGGTGTGGC) (SEQ ID Nº: 48) e AV086 (5'-TCCTTGAATTCCGCTTGCTGCCGAA GTTCTT) (SEQ ID Nº: 49). Os fragmentos de restrição resultantes foram clonados nos sítios de *KpnI* e *EcoRI* de pEX18Gm (Hoang et al) para fazer pEXGm- $\Delta prf15$. A construção acabada foi transformada na cepa PAO1 através de eletroporação (Chuanchuen et al). Os integrantes foram selecionados com 100 µg/ml de gentamicina, e segregantes foram depois selecionados em meios contendo 5 µg/ml de sucrose e carecendo de NaCl e gentamicina. Candidatos de deleção foram confirmados por análise de PCR, indução de piocina, e seqüenciação de um fragmento amplificado por PCR.

15 Cepa $\Delta prf15$ de PAO1 cresce similarmente a sua cepa de origem, PAO1, e os genes de codificação de piocina permanecem induzíveis através da resposta de SOS, conduzindo à lise da célula. Embora pareça haver alguma produção de produtos de gene de piocina, não pareceu que partículas de piocina de "cauda-menos" estáveis foram produzidas de $\Delta prf15$ de PAO1.

20 Prf15 de piocina R2 foi expressado *in trans* primeiro clonando a seqüência de codificação no vetor ponte de faixa de hospedeiro vasta de *Pseudomonas/E. coli*, pUCP30T. Vide Figura 9. Em algumas construções de inicial, a transcrição foi dirigida constitutivamente ou sob controle de *lacI* do promotor *tac*. Mas em outras construções, a transcrição foi modificada para ser regulada com um promotor de *prf15* endógeno de modo que a expressão seria regulada pela resposta de SOS. Isto permitiu induzir a expressão do gene *prf15* modificado de forma síncrona com a expressão dos outros genes de piocina que residem no genoma de $\Delta prf15$ de PAO1.

30 Brevemente, o vetor de faixa de hospedeiro vasta pUCP30T (Schweizer, H. P et al) foi modificado preenchendo o único sítio de *BspHI* para formar pUCP30T Δ Bsp. Um promotor de *tac* foi amplificado por PCR de um

vetor de expressão de Mtd (um presente de Jeffery F. Miller, UCLA) usando iniciadores AV110 (5'-TTTATTAGCGGAAGAGCCGACTGCACGGTGCACC AATG) (SEQ ID Nº: 50) e AV114 (5'-CCCTCGAATTCATGAATACTGTT TCCTGTGTGAAATTG) (SEQ ID Nº: 51), depois clonado em pUCP30TΔBsp para criar pUCP-tac.

A região de codificação de PRF15 de R2 foi amplificada de um subclone usando iniciadores AV118 (5'-CTTCCTTTCATGACGACCAAT ACTCCGAA) (SEQ ID Nº: 52) e AV116 (5'-ACCACGAATTCTTCATC GTC-CAAATGCCTC) (SEQ ID Nº: 53), enquanto *prf15* e *prf16* de R2 foram ampli-
 ficados usando iniciadores AV118 e AV086 (5'-TCCTTGAATTCCGCTTGC TGCCGAAGTTCTT) (SEQ ID Nº: 49). Os fragmentos amplificados de *prf15* e *prf15/16* foram clonados em pUCPtac digerido com BspHI e EcoRI para render pUCP-tac-*prf15* e PUCP-tac-*prf15/16*.

Para expressão usando o promotor de *prf15* endógeno, *prf15* e *prf16* foram amplificados juntamente com a seqüência de 1088 bp a montante de *prf15* de um subclone usando iniciadores AV107 (5'-CACCATCTAGACAATACGAGAGCGACAAGTC) (SEQ ID Nº: 54) e AV091 (5'-TCCTCAAGCTTACGTTGGTTACCGTAACGCCGTG) (SEQ ID Nº: 55) e clonados em pUCP30T digerido com XbaI e HindIII para criar pUCP-R2p-*prf15/16*.

Bactérias em crescimento em suspensão de fase log e contendo os plasmídeos de expressão foram tratadas com 3 µg C/ml de mitomicina para induzir produção das piocinas. Piocinas estáveis foram produzidas sob indução com rendimentos similares aos do PAO1 de tipo selvagem. As piocinas tiveram o mesmo espectro bactericida e nível de atividade que a piocina R2 produzida de PAO1. Parece que a produção de um complexo de piocina estável requer a expressão de uma proteína de fibra caudal além de expressão dos outros genes de codificação de piocina, e expressão do gene de fibra caudal *in trans* é suficiente.

Quando *prf15* foi expressado constitutivamente do promotor de *tac*, o crescimento celular foi notadamente mais lento que quando regulado por *lacI* ou pelo promotor endógeno. Embora pareça que a produção de

PRF15 sozinho na célula seja prejudicial, os rendimentos das piocinas geradas de ambos os promotores são comparáveis.

Uma construção de plasmídeo foi preparada da qual *prf16* de R2 foi coexpressada com *prf15* de R2 para assegurar *prf16* de expressão temporal apropriada para dobramento de PRF15 expresso *in trans*.

b) Bacteriocinas de hmw recombinantes

Como descrito aqui, cinco piocinas de tipos R diferentes, com base nos espectros e denominadas R1-5, foram reconhecidas. Porque as seqüências de gene que codificam as proteínas de fibra caudal foram conhecidas apenas para R1 (SEQ ID Nº: 1) e R2 (SEQ ID Nº: 3), PCR foi usada para isolar e seqüenciar os genes de fibra caudal de piocina R3 (SEQ ID Nº: 5), R4 (SEQ ID Nº: 7), e R5 (SEQ ID Nº: 9) juntamente com suas seqüências de codificação de chaperona cognata presentes em suas cepas produtoras, SEQ ID Nº: 6, 8, e 10, respectivamente. Os genes de chaperona das piocinas R1 e R2 foi também clonado e seqüenciado, SEQ ID Nº: 2 e 4, respectivamente. Para confirmar a hipótese que a fibra caudal dita os espectros, as seqüências que codificam as proteínas de fibra caudal das piocinas R1, R3, R4, e R5 foram obtidas e expressadas *in trans* em $\Delta prf15$ de PAO1 de modo que elas seriam incorporadas na estrutura de piocina R2. Cada uma das cepas recombinantes resultantes foi depois induzida para produzir as piocinas e o espectro de cada um foi determinado através de ensaios de tingimento, como mostrados nas Figuras 2 e 8.

c) Proteínas de fusão como proteínas de fibra caudal

Uma fusão das seqüências de gene *prf15* de fibra caudal R2 e de gene *H* de P2 de bacteriófago foi criada, expressada e usada para produzir bacteriocinas de hmw modificadas adicionais da descrição. P2 de bacteriófago infeta muitas cepas de *E. coli*, tem um gene *H* de codificação de fibra caudal, (SEQ ID Nº: 25) que tem similaridade de seqüência significativa a *prf15* de R2 (SEQ ID Nº: 3), particularmente à porção de codificação do término N. A porção de gene *H* que codificam os resíduos de 551 aminoácidos C-terminais da proteína de fibra caudal de P2, que é a região putativa que confere especificidade alvo (RBD), foi fundida na porção de *prf15* que codifi-

ca a porção de ligação de placa base N-terminal de 164 aminoácidos (BPAR) de PRF15 de R2 para codificar uma proteína de fibra caudal modificada (SEQ ID N°: 27).

P2 de bacteriófago também codifica uma chaperona de fibra caudal putativa, codificada pelo gene *G* (SEQ ID N°: 26), similar àquele codificado por *prf16* de piocina R2 (SEQ ID N°: 4), e as chaperonas de muitos outros fagos de *myoviridae*. Porque é provável que a chaperona codificada pelo gene *G* seja importante para o dobramento da porção C-terminal da proteína caudal de P2 na fusão, construções foram feitas para coexpressar o gene *G* de P2.

A porção de *prf15* de R-2 que codifica aminoácidos 1-164 foi amplificada de um subclone usando iniciadores AV118 e AV127 (5'-TTCTTTAAGCTTTTCCTTCACCCAGTCCTG) (SEQ ID N°: 56) e foi digerido com BspHI e HindIII. A porção do gene *H* de P2 que codifica os aminoácidos da posição 158 a 669 foi amplificada de uma matéria-prima de fago de P2 (Richard Calendar) usando iniciadores AV124 (5'-CCTCCTGAATTCTTATTGCGGCATTTC CG) (SEQ ID N°: 57) e AV126 (5'-TCCTTCGAATTCTTACACCTGCGCAACGT) (SEQ ID N°: 58). Gene *H* de P2 158-669 mais gene *G* foi amplificado usando iniciadores AV124 e AV125 (5'-CCTCCTGAATTCTTATTGCGGCATTTC CG) (SEQ ID N°: 59). Cada um dos produtos de PCR de P2 foi digerido com HindIII e EcoRI. pUCP-tac-R2-P2H foi criado clonando o fragmento de *prf15* que codifica o fragmento de 1-164 aminoácidos junto com o fragmento do gene *H* de P2 que codifica o fragmento de 158-669 aminoácidos em pUCP-tac digerido com BspHI e EcoRI. pUCP-tac-R2-P2HG foi gerado clonando o fragmento de *prf15* que codifica o fragmento de 1-164 aminoácidos junto com o fragmento do gene *H* de P2 que codifica o fragmento de 158-669 aminoácidos mais gene *G* em pUCP-tac digerido com BspHI e EcoRI.

Brevemente, $\Delta prf15$ de PA01 foi transformado com as construções de fusão do gene *H* de *prf15*-P2 e produção da piocina foi induzida com mitomicina C. Partículas de piocina foram purificadas e testadas para atividade através de testes de tingimento e pelo ensaio de sobrevivência bacteri-

ano (vide Figura 2). As partículas de piocinas purificadas contendo a fibra caudal de fusão de R2-P2 tiveram atividade bactericida contra cepa de C1a de *E. coli* mas foram incapazes de matar 13s da cepa de *P. aeruginosa*. Além disso, a expressão do gene *G* de P2 foi necessária para produzir piocina ativa. Isto confirma a hipótese que a chaperona é requerido para dobramento apropriado da porção C-terminal da fibra caudal, como mostrado na Figura 8.

As habilidades de uma faixa de fusões de proteína de fibra caudal de R2-P2 diferentes para formar piocinas funcionais que matam C1a de *E. coli* foram exploradas por uma série de fusões de R2-P2 diferentes. Exemplos representativos destas fusões são mostrados nas Figuras 4-7, junto com a indicação de suas atividades bactericidas contra C1a de *E. coli*.

d) Fusões adicionais

Uma bacteriocina de hmw adicional modificada foi produzida para alvejar *Y. pestis*. L-413c é um yersiniofago que infeta a maioria das cepas de *Y. pestis* (Richard Calendar, comunicação pessoal). A maioria do genoma de L-413c é altamente similar a P2 com a exceção notável do gene *H* de fibra caudal, SEQ ID Nº: 28 que divergiu consideravelmente. Sem estar preso à teoria, e oferecido para melhorar a compreensão da descrição, variação no gene *H* de fibra caudal, e desse modo na proteína codificada, é a característica que mais provavelmente conta para sua faixa de hospedeiro divergente.

O término N do gene *H* de L-413c (SEQ ID Nº: 28), porém, compartilha similaridade de sequência consideravelmente com sua contraparte de P2 (SEQ ID Nº: 25), provavelmente devido à sua função da ligação de placa base. Uma fusão foi construída para criar uma fibra caudal de fusão com os 1-164 aminoácidos N-terminais de PRF15 de R2 fundidos com a porção C terminal (posições 158-913) da fibra caudal de L-413c para criar uma fibra caudal modificada, como mostrado na Figura 10 (SEQ ID Nº: 30). A fusão foi expressada em $\Delta prf15$ de PAO1 junto com a chaperona cognata de fibra caudal de L-413c, gene *G* (SEQ ID Nº: 29), como descrito acima. Após indução, as partículas de piocinas produzidas mataram KIM de *Y. pes-*

tis como também C de *E. coli* e desse modo têm um espectro de matança análogo à faixa de hospedeiro de L-413c de yersiniofago. As piocinas modificadas não mataram nenhuma das cepas de *Pseudomonas*.

Uma partícula de piocina de hmw modificada também foi feita com uma fibra caudal de fusão nova criada entre o BPAR de fibra caudal de piocina do tipo R de *P. aeruginosa* (codificado por *prf15*) e o gene *orf34* de fibra caudal e/ou o RBD do gene *orf35* de fibra caudal de VHML (SEQ ID N^o: 21 e 22, respectivamente). Para criar as partículas de piocina, o gene de chaperona cognata de VHML (SEQ ID N^o: 23) foi coexpressado com os genes modificados da fusão da fibra caudal. Piocinas com as fibras caudais modificadas foram formadas e analisadas. A bacteriocina de hmw modificada resultante com o RBD derivado de VHML pode ser submetida à diversificação pelo DGR natural de VHML.

O determinante de tropismo principal (Mtd) do bacteriófago de *Bordetella* BPP-1 tem um domínio de lectina do tipo C (CTL) que serve como um determinante de ligação para muitos tipos diferentes de moléculas e em muitos contextos biológicos diferentes (Drickamer, 1999; McMahon et al., 2005). Em BPP-1, Mtd é incorporado como um domínio globular homotrimérico localizado ao término da cauda do fago onde pode ligar à proteína de superfície, pertactina, um fator de virulência expressado na superfície externa de *Bordetella bronchiseptica* e *Bordetella pertussis* (Liu et al., 2004). Neste contexto, Mtd é também o alvo da mutagênese "homing" mediada por fago que pode resultar no bacteriófago, que adquire um determinante de ligação novo para infectar seu hospedeiro variável constante.

Recentes estudos estruturais no domínio de Mtd e várias de suas variantes diversificadas, mostraram como a ponta da fibra trimérica forma um andaime rígido que pode conter mais de 10 trilhões de ligantes de ligação variantes (McMahon et al. 2005). Fundindo o domínio de Mtd na proteína de fibra caudal de piocina e depois diversificando o domínio de Mtd usando o sistema de DGR descrito pelo Miller e colegas (Liu et al., 2004; Doulatov et al., 2004), cria-se uma biblioteca muito grande de variantes, da qual para selecionar e obter os genes que codificam as caudas de piocina com

especificidade de ligação alterada.

EXEMPLO 2: ENSAIOS DE PROTEÍNAS DE FUSÃO

a) Purificação e Ensaios de Piocina

PAO1 e derivados foram crescidos agitando a 200 rpm a 37°C em meio suplementar G com 50 µg/ml de gentamicina quando necessário para manter plasmídeos. Quando as culturas alcançaram OD600 de 0,250, mitomicina C foi adicionada a uma concentração final de 3 µg/ml. As culturas foram incubadas para uma adição 2,5 horas até que lise ocorresse. Cinco µl de DNase1 foram adicionados, e a cultura foi deixada incubar um adicional de 30 min. Restos foram removidos por centrifugação a 12.000 rpm em um rotor de Beckman JLA-16.250 durante 1 hora. Sulfato de amônio saturado foi lentamente adicionado, a uma taxa de 1 ml/min, ao sobrenadante agitando em gelo, para um volume final adicionado de 65 ml por 100 ml do sobrenadante do lisado. Este foi armazenado a 4° C durante a noite. O precipitado de sulfato de amônio foi colhido através de centrifugação a 12.000 rpm durante 1 hora, e a pelota foi ressuspensa em 10 ml de tampão de TN50 (10 mM de tris, 50 mM de NaCl, pH 7,5). Partículas de piocina na solução ressuspensa foram depois sedimentadas a velocidade alta, 20.000 rpm (65,000 x g) em um rotor de Beckman JA-25.50 durante 1 hora, e ressuspensas em 3-5 ml de tampão de TN50. Preps de piocina foram julgadas ser >90 % puras por análise eletroforética em gel de SDS poliacrilamida.

Ensaios de piocina quantitativos foram executados contando sobrevivência bacteriana em um método ligeiramente modificado como descrito por Kagayama et al., 1964. As amostras de piocina foram incubadas com bactérias alvo (cerca de 1×10^9 CFU/ml) durante 40 minutos a 37°C. As amostras foram depois diluídas e banhadas para contar os sobreviventes. O número de partículas de piocina é relacionado à fração de sobreviventes bacterianos em uma distribuição de Poisson, $m = -\ln S$ onde m = o número médio de eventos letais / célula e S é a fração de sobreviventes. O número total de partículas de piocina ativas/ml = $m \times$ células/ml. Strain13s era a *Pseudomonas aeruginosa* usada nestes ensaios e é um isolado clínico resistente a muitos antibióticos, mas sensível a todas as 5 piocinas do tipo R. O

alvo de *E. coli* era C1a, gentilmente fornecido por Richard Calendar.

Ensaio semiquantitativo foram também executados por um método de mancha onde as amostras de piocina foram serialmente diluídas em tampão de TN50 e tingidas em tecidos de bactérias alvo. Após incubação durante a noite a 37°C, a atividade de piocina poderia ser observada por uma zona clara de matança no tecido. Figura 2 mostra resultados representativos deste formato de ensaio.

EXEMPLO 3: BACTERÍÓFAGO RECOMBINANTE PARA TRIAR FIBRAS CAUDAIS ENGENHEIRADAS

O bacteriófago P4 é usado como um substituto abrigar o gene da fusão de fibra caudal com base em Prf15 de modo que o genótipo é acoplado ao fenótipo de ligação da fibra caudal. Isto permite seleção e transdução eficientes do gene de fibra caudal desejado.

Bacteriófago P2 é um colifago temperado que pode infectar outras espécies entéricas, e pode replicar em, mas não infeta, *P. aeruginosa* (Bertani & Seis, 1988; Kahn et al., 1991). Piocinas do tipo R são geneticamente de forma estrita e estruturalmente relacionadas a P2, e a proteína de fibra caudal P2, codificada por gene *H*, mostra homologia a *prf15* na porção N-terminal onde a ligação da placa base ocorre (Desfigurado-Ljungquist et al., 1992; Nakayama et al., 2000). Desenvolvendo o bacteriófago P2 ou P4 como um fago substituto, no qual as fibras caudais codificadas por plasmídeo estão incorporadas no lugar das fibras codificadas por fago de P2, permite a exibição e seleção das fibras de fusão em um contexto que estritamente se assemelha a seu contexto funcional intencionado na piocina.

O genótipo de fibra caudal pode ser acoplado fisicamente ao fenótipo de ligação em uma partícula de fago de transdução para seleção genética, similar à tecnologia de exibição de fago. Quando um fago de P2 com uma mutação ambarina em seu gene da proteína de fibra (*H*) infeta *E. coli* abrigando um plasmídeo com um sítio de empacotamento de córs, que normalmente atua como um sinal para empacotar DNA genômico de bacteriófago (Ziermann & Calendar, 1991; Kahn et al., 1991), empacotará o plasmídeo contendo córs nas cabeças de fago de P2 recentemente sintetizado. O

plasmídeo codifica e expressa o gene de fusão de cauda com base em *prf15* e confere resistência a gentamicina. A fibra caudal de fusão expressa do plasmídeo no *E. coli* infectado com P2 é incorporada no bacteriófago P2 no lugar do produto de gene H defeituoso (âmbar truncado) (proteína de fibra caudal de P2). Sob lise das bactérias, as partículas de transdução com base em P2 liberadas carregam o plasmídeo contendo cópias contendo o gene de fusão de cauda com base em *prf15* ao invés do genoma de P2 e possui fibras caudais de fusão de Prf15 ao invés de fibras caudais de P2.

Partículas de fago de transdução com a habilidade para ligar células e desencadear o mecanismo de injeção de bacteriófago depois conferem resistência a gentamicina para alvejar de forma bem sucedida as bactérias, das quais o gene de fusão de fibra selecionado foi isolado do plasmídeo após replicação das bactérias sob seleção de gentamicina. O gene de fibra caudal nos plasmídeos é também facilmente manipulado para criar muitas junções de fusão e diversificar o RBD a fim de reprojeter e otimizar a função do RBD de fibra caudal modificada.

Este método também supera muitas das dificuldades impostas por exibição C-terminal de uma proteína trimérica quando usar os sistemas de exibição de fago convencionais (Reteve & Sidhu, 2004). Bacteriófago P2 tem fibras caudais que geneticamente e morfolologicamente se assemelham às daquelas das piocinas (Nakayama et al., 2000). Fibras caudais ligam às placas de base de P2 e piocinas por meio de seus terminos N, e há similaridade de sequência significativa dos terminos N de P2 e fibras caudais de R2 (Nakayama et al, 2000; Haggard-Ljungquist et al., 1992). Além disso, o gene de fibra caudal do fago relacionado a P2, PS17, pode complementar o gene de fibra caudal da piocina R-2, *prf15* (Shinomiya, 1984; Shinomiya & Ina, 1989).

Alternativamente, o RBD é fundido diretamente ao domínio N-terminal da fibra caudal do gene H, ou os genes de fibra caudal do fago de VHML de *Vibrio harveyi* (que como BPP-1 também contém um DGR funcional) são fundidos ao domínio N-terminal do gene H de P2.

EXEMPLO 4: MÉTODOS PARA RESTABELECE O GENE DE FIBRA CAUDAL DESEJADO

Um bacteriófago P2, P4 ou Φ CTX carregando um gene de fibra caudal engenheirado atua como um substituto para acoplar o genótipo de fibra caudal da piocina ao fenótipo de ligação. Seleccionando ou triando fenótipos de ligação específicos das bibliotecas diversificadas ou mutagenizadas dos genes de fibra caudal abrigados nos bacteriófagos substitutos, pode-se isolar os genes de fibra caudal que codificam uma especificidade de ligação desejada. A seleção pode ser realizada por ciclos de enriquecimento simples ou múltiplos de adsorver os bacteriófagos substitutos ou partículas de transdução em moléculas alvo de fase sólida, ou primeiro removendo aglutinantes indesejados e depois isolando, dentre os substitutos restantes, aqueles que ligam às moléculas alvo intencionadas, ou vice-versa. Alternativamente, a seleção pode ocorrer aplicando etapa de ligação sozinha. Por fim, o substituto que exibe o fenótipo de ligação desejado pode ser submetido à extração de DNA e isolamento do gene de fibra caudal abrigado clonando os fragmentos da enzima de restrição ou através de reações de PCR usando iniciadores de oligonucleotídeo que ligam as seqüências de DNA específicas periféricas à porção diversificada do gene de fibra caudal.

O bacteriófago substituto desejado pode ser purificado em placa em um tecido de bactérias expressando o alvo molecular de interesse, por exemplo, um fator de virulência ou aptidão através do qual os bacteriófagos substitutos infetam o hospedeiro. As bactérias de expressão de fator podem ser o patógeno de interesse, por exemplo *Pseudomonas aeruginosa*, ou um não-patógeno, por exemplo *E. coli* engenheirado para expressar o fator de virulência ou aptidão alvejado. Técnicas de colocação em placa replicativa ou serial podem ser desenvolvidas para assegurar que o bacteriófago substituto não forme placas em cepas bacterianas estritamente relacionadas que não expressam o fator alvo. Por exemplo, mutantes insercionais de *Pseudomonas aeruginosa* que perderam a expressão dos fatores de virulência específicos podem ser usados para triar, depletar mediante adsorção, os bacteriófagos substitutos antes ou após formar as placas, ou *panning* em, suas bactérias de contraparte de expressão do fator de virulência ou aptidão (isogênicas).

Embora os fagos substitutos ou partículas de transdução não formarão placas nas bactérias de expressão alvo, as bactérias infectadas ou transduzidas ainda adquirirão resistência a antibióticos juntamente com o plasmídeo ou fasmídeo abrigado e portanto podem ser seletivamente crescidas e subsequente-
5 mente extraídas para isolar o plasmídeo de multicópia e seu gene de fibra caudal desejado.

Estas técnicas permitem a identificação e isolamento dos bacteriófagos substitutos ou partículas de transdução que exibem os fenótipos de ligação específicos desejados dos quais se extrai os genes de fibra caudal
10 de bacteriocina de hmw não-naturais, específicos, desejados. Além disso, a ligação dos substitutos às moléculas, células ou tecidos mamíferos pode ser desenvolvida para depletar das bibliotecas quaisquer genes codificando as fibras caudais que poderiam causar eventos adversos se incorporados nas bacteriocinas de hmw terapêuticas.

Há uma biblioteca disponível das cepas bacterianas de *Pseudomonas aeruginosa* insercionais mutantes que diferem da *Pseudomonas aeruginosa* de PA14 parental altamente patogênica apenas pela falta de expressão de uma série de fatores de virulência específicos, perdendo-se de cada mutante não-redundante, isogênico (vide o sítio de rede em ausubel-
15 lab.mgh.harvard.edu/cgi-bin/pa14/home.cgi). Estas cepas mutantes isogênicas provêm ferramentas para assegurar a especificidade dos bacteriófagos substitutos para os fatores de virulência alvejados e não para outras moléculas de superfície prevalecentes. Por exemplo, a população de bacteriófagos P4 substitutos que podem ser incubados com uma cultura de densidade alta
20 de um mutante de *Pseudomonas aeruginosa* perdendo um fator de virulência particular alvejado a fim de adsorver e depletar de uma população de bacteriófagos substitutos ou partículas de transdução, aqueles que ligam às moléculas de superfície presentes tanto no mutante isogênico como na cepa parental virulenta. A população depletada será enriquecida em substitutos
25 que ligam ao fator de virulência desejado. Uma vez os bacteriófagos substitutos que ligam e infectam as bactérias que expressam o fator de virulência ou aptidão particular são isolados, cada um pode ser triado diretamente para
30

sua inabilidade para infectar a cepa mutante isogênica carecendo do fator alvejado. O plasmídeo selecionado pode ser recompactados nas partículas de transdução substitutos e pode reciclar qualquer número de vezes através do processo de adsorção-depleção e de infecção para também enriquecer e eventualmente purificar o plasmídeo baseado em pUC que codifica as fibras caudais desejadas para alvejar o fator de virulência ou aptidão.

EXEMPLO 5: MÉTODOS PARA PRODUZIR BACTERIOCINAS DE HMW ENGENHEIRADAS

O gene de fibra caudal modificado é recombinado ou (i) em um plasmídeo sob um promotor regulado para expressão em bactérias de produção também abrigando, por exemplo em um cromossomo artificial bacteriano (BAC), o agrupamento de genes de piocina R (incluindo os genes de endolisina) do qual os genes prtR, prtN, prf15 e holin (prf9 ou PA0614) residentes foram deletados ou do contrário invalidados, ou (ii) no agrupamento de piocinas contendo vetor de BAC em si, usando uma reação de permuta alélica mediada por plasmídeo.

Sob indução dos genes de piocina e do gene de fibra caudal engenheirado, tais como induzindo prtN diretamente por meio de um promotor regulável engenheirado tal como *lac* ou *tac*, as células hospedeiras sintetizam as piocinas até seus nutrientes sejam depletados e eles deixem de crescer (Young, Ry, 2006). As bactérias produtoras não fazem lise na ausência de clorofórmio, porque a inativação do gene holin impede o acesso da endolisina citoplásmica à parede da célula bacteriana, como é necessário para lise da célula. As células exaustas são colhidas por centrifugação ou filtração e depois congeladas até que uma deseje colher as piocinas solúveis que encheram o citoplasma celular. Ao descongelar, a membrana celular interna se rompe, liberando endolisina para lise das bactérias e assim liberação da coleta das piocinas modificadas. O rompimento das membranas bacterianas pode ser acelerado ou completado se necessário mediante a adição de quantidades pequenas de clorofórmio ao solvente aquoso no qual a pasta bacteriana é descongelada.

REFERÊNCIA

- Ackermann HW. 2003. Bacteriophage observations and evolution. *Res Microbiol.* 154:245-251
- 5 Aiache JM, S Meski, E Beyssac, G Serpin. 1997. The formulation of drug for ocular administration. *J Biomater Appl.* 11:329-48
- Anantharaman et al. "Application of comparative genomics in the identification and analysis of novel families of membrane-associated receptors in bacteria." *BMC Genomics*, 4:34, 2003
- 10 Bad Bugs, No Drugs: As Antibiotic Discovery Stagnates A Public Health Crisis Brews, julho de 2004. Infectious Diseases Society of America
- Beisel KW, LD Hazlett, RS Berk. 1983. Dominant susceptibility effect on the murine corneal response to *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Soc Exp Biol Med.* 172:488-491
- 15 Bertani LE, e EW Six. 1988. The P2-like phages and their parasite, P4. Em R. Calendar (ed.), *The Bacteriophages*, vol. 2. Plenum Publishing Corp., Nova Iorque. páginas 73-143
- Birmingham VA, PA Pattee. 1981. Genetic Transformation in *Staphylococcus aureus*: Isolation and Characterization of a Competence-Confering Factor from Bacteriophage 80 α Lysates. *Journal of Bacteriology* 20 148:301-307
- Blackwell CC, e Law JA. 1981. Typing of non-serogroupable *Neisseria meningitidis* by means of sensitivity to R-type pyocins of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect.* 3(4):370-8.
- 25 Blackwell CC, FP Winstanley, WA Telfer-Brunton. 1982. Sensitivity of thermophilic campylobacters to R-type pyocins of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Med Microbiology.* 15:247-51
- Bonev et al. "Targeting extracellular pyrophosphates underpins the high selectivity of nisin." *The FASEB Journal.* 18:1862-1869, 2004
- 30 Burda MR, Miller S. Folding of coliphage T4 short tail fiber in vitro. Analysing the role of a bacteriophage-encoded chaperone. *Eur J Biochem.* out. de 1999;265(2):771-8.
- Burns RP. 1969. *Pseudomonas aeruginosa* keratitis: mixed infec-

tions of the eye. Am J Ophthalmol. 67:257–262

Calamita, "The *Escherichia coli* aquaporin-Z water channel." Molecular Microbiology 37(2):254-262, 2000

Chappell JD, AE Prota, TS Dermody, T Stehle. 2002. The crystal structure of reovirus attachment protein $\sigma 1$ reveals evolutionary relationship to adenovirus fiber. The EMBO Journal 21:1-11

Cheng KH, SL Leung, HW Hoekman. 1999. Incidence of contact lens-associated microbial keratitis and its related morbidity. Lancet. 354:181–185

Choi HK, JB Gaynor, KG White, C Lopez, CM Bosio, RR Karkhoff-Schweizer, HP Schweizer. 2005. A T-7 based broad-range bacterial cloning and expression vector. Nature Methods. 2:443-448

Chuanchuen, R, Narasaki, C.T. e Schweizer, H.P., Benchtop and microcentrifuge preparation of *Pseudomonas aeruginosa* competent cells, BioTechniques 33:760-763 (outubro de 2002).

Coetzee HL, HC De Klerk, JN Coetzee, JA Smit. 1968. Bacteriophage-tail-like particles associated with intra-species killing of *Proteus vulgaris*. J Gen Virol. 2:29-36.

Cole N, MDP Willcox, SMJ Fleiszig. 1998. Different Strains Of *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated From Ocular Infections Or Inflammation Display Distinct Corneal Pathologies In An Animal Model. Curr Eye Res. 17:730–735

Cooper RL, IJ Constable. 1977. Infective keratitis in soft contact lens wearers. Br J Ophthalmol. 61:250–254

Cowell BA, C Wu, SMJ Fleiszig. 1999, Use of an Animal Model in Studies of Bacterial Corneal Infection. Inst Lab Animal Res J. 40:43–50

Desplats C, Krisch HM. The diversity and evolution of the T4-type bacteriophages. Res Microbiol. Maio de 2003;154(4):259-67.

Doulatov S, A Hodes, L Dai, N Mandhana, M Liu, R Deora, RW-Simons, S Zimmerly, JF Miller. 2004. Tropism switching in *Bordetella* bacteriophage defines a family of diversity-generating retroelements. Nature. 431:476-481

Drickamer K. 1999. C-type lectin-like domains. *Current Opinion in Structural Biology*. 9:585–590 Farmer JJ, LG Herman. 1969.

Dyke J, Berk R S. Growth inhibition and pyocin receptor properties of endotoxin from *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Soc Exp Biol Med*.
5 1974;145:1405–1408.

Epidemiologic Fingerprinting of *Pseudomonas aeruginosa* by the Production of and Sensitivity to Pyocin and Bacteriophage. *Applied Microbiol*. 18:760-765

Filiatrault MJ, Munson RS Jr, e Campagnari AA. 2001. Genetic
10 analysis of a pyocin-resistant lipooligosaccharide (LOS) mutant of *Haemophilus ducreyi*: restoration of full-length LOS restores pyocin sensitivity. *J Bacteriol*. 183(19):5756-61.

Fleiszig SMJ, DJ Evans. 2002. The pathogenesis of bacterial keratitis: studies with *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Exp Optom*. 85.5:271–
15 278

Gerke JR, MV Magliocco. 1971. Experimental *Pseudomonas aeruginosa* infection of the mouse cornea. *Infect Immun*. 3:209 –216

Gillor, O, LM Nigro, A. Riley. 2005. Genetically engineered bacteriocins and their potential as the next generation of antimicrobials. *Curr*.
20 *Pharm. Des*. 11:1067-1075

Goodman et al. "A Signaling Network Reciprocally Regulates Genes Associated with Acute Infection and Chronic Persistence in *Pseudomonas aeruginosa*." *Developmental Cell* 7:745–754, 2004

Govan, JRW & V Deretic. 1996. Microbial Pathogenesis in Cystic
25 Fibrosis: Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*, *Microbiological Reviews*. 60:539–574

Haas H, Sacks T, Saltz N. Protective effect of pyocin against lethal *Pseudomonas aeruginosa* infections in mice. *J Infect Dis*. Abril de
1974;129(4):470-2.

Haggard-Ljungquist E, Halling C, Calendar R. NA sequences of the tail fiber genes of bacteriophage P2: evidence for horizontal transfer of tail fiber genes among unrelated bacteriophages. *J Bacteriol*. Março de
30

1992;174(5):1462-77.

Hashemolhosseini S, Montag D, Kramer L, Henning U. Determinants of receptor specificity of coliphages of the T4 family. A chaperone alters the host range. J Mol Biol. 26 de agosto de 1994;241(4):524-33.

Hazlett LD, D Rosen, RS Berk. 1976. Experimental eye infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. Ophthalmic Res. 8:311–318

He et al. "The broad host range pathogen *Pseudomonas aeruginosa* strain PA14 carries two pathogenicity islands harboring plant and animal virulence genes." PNAS 101:2530–2535, 2004

Held H, SS Sidhu. 2004. Comprehensive Mutational Analysis of the M13 Major Coat Protein, J Mol Biol. 340:587-97

Hensley S, B Wysocki. As Industry Profits Elsewhere, U.S. Lacks Vaccines, Antibiotics, The Wall Street Journal 8 de novembro de 2005: p A1

Higerd TB, CA Baechler, RS Berk. 1969. Morphological Studies On Relaxed and Contracted Forms of Purified Pyocin Particles. J. Bacteriology. 98:1378-89

Hoang, T. T., Karkhoff-Schweizer, R. R., Kutchma, A. J. e Schweizer, H. P., A broad-host-range Flp-FRT recombination system for site-specific excision of chromosomally-located DNA sequences: application for isolation of unmarked *Pseudomonas aeruginosa* mutants Gene 212 (1), 77-86 (1998)

Hobden JA, DS Rootman, RJ O'Callaghan, JM Hill. 1988. Iontophoretic application of tobramycin to uninfected and *Pseudomonas aeruginosa*-infected rabbit corneas. Antimicrob Agents Chemother. 32:978–981

Holder IA. 1993. *Pseudomonas aeruginosa* Burn Infections: Pathogenesis and Treatment. Em M Campa, M Bendinelli, e H Friedman (ed.) *Pseudomonas aeruginosa* as an Opportunistic Pathogen. Plenum Press, Nova Iorque, N.I. págs. 275-295

Iijima M. 1978. Mode of Action of Pyocin R1. J. Biochem (Tokyo) 83:395-402

Ishii S, Y Nishi, e F Egami. 1965. The fine structure of a pyocin.

J. Mol. Biol. 13:428-431

Ito, S., Kagayama, M. e F. Egami. Isolation and characterization of pyocins from several strains of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Gen. Appl. Microbiol. 16 205-214 (1970).

- 5 Jabrane A, Sabri A, Compere P, Jacques P, Vandenberghe I, Van Beeumen J, Thonart P Characterization of serracin P, a phage-tail-like bacteriocin, and its activity against *Erwinia amylovora*, the fire blight pathogen. Appl Environ Microbiol. Novembro de 2002;68(11):5704-10.

- 10 Jacob F. 1954. Biosynthèse induite et mode d'action d'une pyocin, antibiotique de *Pseudomonas pyocyanea*. Annals Inst. Pasteur. 86:149-60

Jacobs et al. "Comprehensive transposon mutant library of *Pseudomonas aeruginosa*." PNAS 100(24):14339-14344, 2003

- 15 Kageyama M, F Egami. 1962. On the purification and some properties of a pyocin, a bacteriocin produced by *Pseudomonas aeruginosa*. Life Sciences 9: 471-6

Kageyama M, K Ikeda, e F Egami. 1964. Studies of a pyocin. III. Biological properties of the pyocin. J. Biochem. 55:59-64.

- 20 Kageyama M, Shimomiya T, Aihara Y, Kobayashi M. 1979. Characterization of a bacteriophage related to R-type pyocins. J Virol. 32:951-957.

Kageyama M. 1964. Studies of a pyocin I. Physical and chemical properties. J. Biochem. 55:49-53

- 25 Kageyama, M. Bacteriocins and bacteriophages in *Pseudomonas aeruginosa*, em: Microbial Drug Resistance, University Park Press, Baltimore. págs. 291-305 1975.

Kahn ML, RG Ziermann, DW Deho, M Ow, G Sunshine, R Candler. 1991. Bacteriophage P2 and P4. Methods Enzymol. 204:264-280

- 30 Kumazaki T, Y Shimizu, SI Ishii. 1982. Isolation and Characterization of Pyocin R1 Fibers. J. Biochemistry. 91:825-35

Lee EJ, DJ Evans e SMJ Fleiszig. 2003. Role of *Pseudomonas aeruginosa* ExsA in Penetration through Corneal Epithelium in a Novel in vivo

Model. Investigative Ophthalmology & Visual Science. 44:5220-5227

Lee FK, Dudas KC, Hanson JA, Nelson MB, LoVerde PT, Apicella MA. 1999 The R-type pyocin of *Pseudomonas aeruginosa* C is a bacteriophage tail-like particle that contains single-stranded DNA. Infect Immun. 67(2):717-25.

Liu M, M Gingery, SR. Doulatov, Y Liu, A Hodes, S Baker, P Davis, M Simmonds, C Churcher, K Mungall, MA Quail, A Preston, ET Harvill, DJ Maskell, FA Eiserling, J Parkhill, e JF Miller. 2004. Genomic and Genetic Analysis of Bordetella Bacteriophages Encoding Reverse Transcriptase-Mediated Tropism-Switching Cassettes. J. Bacteriology. 186 476-481

Mah-Sadorra JH, SG Yavuz, D M Najjar, PR Laibson, CJ Rapuano, EJ Cohen. 2005. Trends in contact lens-related corneal ulcers. Cornea. 24:51-58

Matsui H, Sano Y, Ishihara H, Shinomiya T. Regulation of pyocin genes in *Pseudomonas aeruginosa* by positive (prtN) and negative (prtR) regulatory genes. J Bacteriol. Março de 1993;175(5):1257-63.

McMahon SA, JL Miller, JA Lawton, DE Kerkow, A Hodes, MA Marti-Renom, S Doulatov, E Narayanan, A Sali, JF Miller, P Ghosh. 2005. The C-type Lectin Fold as an Evolutionary Solution for Massive Sequence Variation. Nature Struct. & Molecular Biol. 12:886 - 892

McNamara NA, KA Polse, SA Fukunaga, JS Maebori, RM Suzuki. 1998. Soft lens extended wear affects epithelial barrier function. Ophthalmology. 105:2330-2335

Meadow, P.M., e Wells P.L. Receptor sites for R-type pyocins and bacteriophage E79 in the core part of the lipopolysaccharide of *Pseudomonas aeruginosa* PAC1. J. Gen. Microbiol. 108:339-343. 1978

Merrikin DJ, Terry CS. Use of pyocin 78-C2 in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infection in mice. Appl Microbiol. Janeiro de 1972;23(1):164-5.

Michel-Briand, Y., e Baysse, C. The pyocins of *Pseudomonas aeruginosa*. Biochimie. Maio-junho de 2002;84(5-6):499-510.

Microbial Threats To Health: Emergence, Detection, And Res-

ponse, March 2003 Institute of Medicine, Washington, DC

Mitchell et al. "Structural basis for oligosaccharide-mediated adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* in the lungs of cystic fibrosis patients." *Nature Structural Biology* 9:918-921, 2002

- 5 Morse SA, Jones BV, e Lysko PG. 1980. Pyocin inhibition of *Neisseria gonorrhoeae*: mechanism of action. *Antimicrob Agents Chemother.* 18(3):416-23.

- Morse SA, Vaughan P, Johnson D, e Iglewski BH. 1976. Inhibition of *Neisseria gonorrhoeae* by a bacteriocin from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 10(2):354-62.

Mosig G e F Eiserling. 2006. T4 and Related Phages: Structure and Development, in *The Bacteriophages*. Calendar, R. ed. Segunda edição, Oxford University Press, NI, NI. Págs. 225-267

- 15 Nakayama K, Kanaya S, Ohnishi M, Terawaki Y, Hayashi T. The complete nucleotide sequence of phi CTX, a cytotoxin-converting phage of *Pseudomonas aeruginosa*: implications for phage evolution and horizontal gene transfer via bacteriophages. *Mol Microbiol.* Janeiro de 1999;31(2):399-419.

- 20 Nakayama K, Takashima K, Ishihara H, Shinomiya T, Kageyama M, Kanaya S, Ohnishi M, Murata T, Mori H, Hayashi T. The R-type pyocin of *Pseudomonas aeruginosa* is related to P2 phage, and the F-type is related to lambda phage. *Mol Microbiol.* Outubro de 2000;38(2):213-31.

- 25 Papanikolopoulou K, V Forge, P Goeltz, e A Mitraki. 2004. Formation of Highly Stable Chimeric Trimers by Fusion of an Adenovirus Fiber Shaft Fragment with the Foldon Domain of Bacteriophage T4 Fibritin. *Journal of Biological Chemistry.* 279: 8991–8998

- 30 Preston MI, SML Fleiszig, TS Zaidi, JB Goldberg, VD Shortridge, MI Vasil, GB Pier. 1995. Rapid and Sensitive Method for Evaluating *Pseudomonas aeruginosa* Virulence Factors during Corneal Infections in Mice. *Infection and Immunity.* 63:3497–3501

Qu Y, Hyman P, Harrah T, Goldberg E. In vivo bypass of chaperone by extended coiled-coil motif in T4 tail fiber. *J Bacteriol.* Dezembro de

2004;186(24):8363-9.

Ramphal R, MT McNiece, FM Polack. 1981. Adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to the injured cornea: a step in the pathogenesis of corneal infections. *Ann. Ophthalmol.* 13:421–425

5 Rich, et al. "ACE is a collagen binding MSCRAMM from *Enterococcus faecalis*." *J. Biol. Chem.* 274:26939–26945, 1999

Riley MA, JE Wertz. 2002. Bacteriocins: evolution, ecology, and application. *Annu. Rev. Microbiol.* 56:117-137

10 Roland PS, DW Stroman. 2002. Microbiology of Acute Otitis Externa. *Laryngoscope.* 112:1166-1177

Rudner et al. "A family of membrane-embedded metalloproteases involved in regulated proteolysis of membrane-associated transcription factors." *PNAS* 96(26):14765–14770, 1999

15 Schweizer HP. 2001. Vectors to express foreign genes and techniques to monitor gene expression in *Pseudomonads*. *Current Opinion in Biotechnology.* 12:439-445

Schweizer, H. P., Klassen, T. e Hoang,T., Improved methods for gene analysis and expression in *Pseudomonas*, Não-publicado

20 Shimizu Y, T Kamazaki, SI Ishii. 1982. Specific Cleavage at Fibers of a Bacteriophage-Tail-Like Bacteriocin, Pyocin R1 by Successive Treatment with Organomercurial Compounds and Trypsin. *J Virology* 44:692-695

25 Shinomiya T & S Ina. 1989. Genetic Comparison of Bacteriophage PS17 and *Pseudomonas aeruginosa* R-Type Pyocin. *J. Bacteriology* 171:2287-2292

Shinomiya T, S Shiga, A Kikuchi, M Kageyama. 1983b. Genetic determinant of pyocin R2 in *Pseudomonas aeruginosa* PAO. II. Physical characterization of pyocin R2 genes using R-prime plasmids constructed from R68.45. *Mol Gen Genet.* 189:382-389

30 Shinomiya T, S Shiga, M Kageyama. 1983a. Genetic determinant of pyocin R2 in *Pseudomonas aeruginosa* PAO. I. Localization of the pyocin R2 gene cluster between the *trpCD* and *trpE* genes. *Mol Gen Genet.*

189:375-38

Shinomiya T, S Shiga. 1979. Bactericidal Activity of the Tail of *Pseudomonas aeruginosa* Bacteriophage PS17. *J of Virology* 32:958-967

Shinomiya T. 1984. Phenotypic Mixing of Pyocin R2 and Bacteriophage PS17 in *Pseudomonas aeruginosa* PAO. *J. Virology*. 49:310-314

Sreedhar et al. "*Enterococcus faecalis* Adhesin, ACE, Mediates Attachment to Extracellular Matrix Proteins Collagen Type IV and Laminin as well as Collagen Type I." *Infect. Immun.* 68(9):5218–5224, 2000

Strauch E, Kaspar H, Schaudinn C, Dersch P, Madela K, Gewinner C, Hertwig S, Wecke J, Appel B. Characterization of enterocolicin, a phage tail-like bacteriocin, and its effect on pathogenic *Yersinia enterocolitica* strains. *Appl Environ Microbiol.* Dezembro de 2001;67(12):5634-42.

Takeya K, Y Minamishima, Y Ohnishi, K Amako. 1969. Rod-shaped pyocin28, *J. Gen. Virol.* 4:145-149

Talbot GH, J Bradley, JE Edwards, D Gilbert, M Scheld, JG Bartlett. 2006. Bad Bugs Need Drugs: An Update on the Development Pipeline from the Antimicrobial Availability. *Clin Infect. Dis.* 42:657-668

Tamber et al. *J. Bact.* 188(1):45-54, 2006

Tetart F, C Desplats, M Kutateladze, C Monod, H-W Ackermann, HM Kirsch. 2001. Phylogeny of the Major Head and tail genes of the Wide-Ranging T4-Type Bacteriophages. *J Bacteriology* 183:358-366

Tetart F, Desplats C, Kirsch HM. Genome plasticity in the distal tail fiber locus of the T-even bacteriophage: recombination between conserved motifs swaps adhesin specificity. *J Mol Biol.* 25 de setembro de 1998;282(3):543-56.

Thompson NE, PA Pattee. 1981. Genetic transformation in *Staphylococcus aureus*: demonstration of a competence-conferring factor of bacteriophage origin in bacteriophage 80a lysates. *J. Bacteriol.* 148:294-300

Twining SS, X Zhou, DP Shulte, PM Wilson, B Fish, J Moulder. 1996. Effect of vitamin A deficiency on the early response to experimental *Pseudomonas keratitis*. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 37:511–522

Uratani, Y., e Hoshino, T. Pyocin R1 inhibits active transport in

Pseudomonas aeruginosa and depolarizes membrane potential. J Bacteriol. Fevereiro de 1984;157(2):632-6.

van Horn DL, SD Davis, RA Hyndiuk, TVP Alpren. 1978. Pathogenesis of experimental *Pseudomonas* keratitis in the guinea pig: bacteriologic, clinical, and microscopic observations. Invest Ophthalmol Vis Sci. 17:1076–1086

van Raaij MJ, A Mitraki, G Lavigne, S Cusack. 1999. A triple β -spiral in the adenovirus fibre shaft reveals a new structural motif for a fibrous protein. Nature. 401:935-38.

10 van Raaij MJ, G Schoehn, MR Burda, S Miller. 2001. Crystal Structure of a Heat and Protease-stable Part of the Bacteriophage T4 Short Tail Fibre. J. Mol. Biol. 314:1137-1146

Weigele PR, E Scanlon, e J King. 2003. Homotrimeric, β -Stranded Viral Adhesins and Tail Proteins. J of Bacteriology. 185:4022–4030

15 Wenzel RP. 2004. The Antibiotic Pipeline — Challenges, Costs, and Values New Engl J Med. 351:523-526

West SHE, HP Schweizer, AK Sample, LJ Runyen-Janecky. 1994. Construction of Improved *Escherichia-Pseudomonas* Shuttle Vectors Derived from pUC18/19 and Sequence of the Region Required for Their Replication in *Pseudomonas aeruginosa* Gene 128:81-86

20 Wong et al. "Insertion Mutagenesis and Membrane Topology Model of the *Pseudomonas aeruginosa* Outer Membrane Protein OprM." J. Bacteriol. 182(9):2402–2410, 2000

Yoichi M, M Abe, K Miyanaga, H Unno, Y Tanji. 2005. Alteration of tail fiber protein gp38 enables T2 phage to infect *Escherichia coli* O157:H7. J. Biotech. 115:101-107

Young, Ry, "Phage Lysis" in Phages, Waldor, Friedman e Adhya, eds. ASM Press, Washington, DC, pág. 95, 2006

30 Ziermann R, R Calendar. 1991. Characterization of the cos site of bacteriophages P2 and P4. Gene. 96:9-15

Zink R, MJ Loessner e S Scherer. 1995. Characterization of cryptic prophages (monocins) in *Listeria* and sequence analysis of a ho-

lin/endolysin gene. Microbiology. 141:2577-2584

Zolfaghar et al. "Mutation of retS, encoding a putative hybrid two-component regulatory protein in *Pseudomonas aeruginosa*, attenuates multiple virulence mechanisms." Microbes Infect. 15 de julho de 2005 Epub a ser publicado

Todas as referências citadas aqui são por este meio incorporadas por referência em suas totalidades, quer previamente de modo específico incorporadas ou não. Como aqui usado, os termos "um", "uma", e "qualquer" são cada intencionados a incluir tanto as formas singulares como plurais.

Tendo agora completamente descrito o assunto revelado, será apreciado por aqueles versados na técnica que o mesmo pode ser executado dentro de uma gama extensiva de parâmetros, concentrações, e condições equivalentes sem abandonar o espírito e escopo da descrição e sem experimentação imprópria. Embora esta descrição tenha sido descrita com relação às modalidades específicas da mesma, será entendido que é também capaz de outras modificações. Este pedido de patente é intencionado abranger quaisquer variações, usos, ou adaptações do assunto seguindo, em geral, os princípios da descrição e incluindo tais abandonos da descrição como vem dentro de prática conhecida ou habitual dentro da técnica ao qual o assunto pertence e como podem ser aplicados às características essenciais anteriormente expostas.

Listagem de Sequência

<110> AvidBiotics Corporation
 Martin, David W.
 Jamieson, Andrew C.
 Scholl, Dean M.
 Williams, Steven R.

<120> "BACTERIOCINAS MODIFICADAS E MÉTODOS PARA SEU USO"

<130> 026200-000110PC

<140> PCT/US2007/068908

<141> 2007-05-14

<150> US 60/747,299

<151> 2006-05-15

<160> 59

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 701

<212> PRT

<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 1

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

Ala Ala Ala Leu Ala Ala Ala Ser Ala Ala Gly Lys Lys Trp Gln Pro
 20 25 30

Thr His Met Leu Ile Gly Asp Ala Gly Gly Ala Pro Gly Asp Thr Pro
 35 40 45

Asp Pro Leu Pro Ser Ala Ala Gln Lys Ser Leu Ile Asn Gln Arg His
 50 55 60

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

Leu Val Ala Glu Val Val Leu Pro Val Glu Val Gly Gly Phe Trp Ile
 85 90 95

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

Asn Cys Pro Pro Ser Tyr Lys Ala Ala Met Glu Ser Gly Ser Ala Arg
 115 120 125

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

Gln Leu Leu Ile Asp Asn Gly Ile Ile Tyr Ala Thr Gln Asp Trp Val
145 150 155 160

Lys Glu Lys Val Ala Ala Asp Phe Lys Gly Arg Lys Ile Leu Ala Gly
165 170 175

Asn Gly Leu Val Gly Gly Gly Asp Leu Ser Ala Asp Arg Ser Ile Gly
180 185 190

Leu Ala Pro Ser Gly Val Thr Ala Gly Ser Tyr Arg Ser Val Thr Val
195 200 205

Asn Ala Asn Gly Val Val Thr Gln Gly Ser Asn Pro Thr Thr Leu Ala
210 215 220

Gly Tyr Ala Ile Gly Asp Ala Tyr Thr Lys Ala Asp Thr Asp Gly Lys
225 230 235 240

Leu Ala Gln Lys Ala Asn Lys Ala Thr Thr Leu Ala Gly Tyr Gly Ile
245 250 255

Thr Asp Ala Leu Arg Val Asp Gly Asn Ala Val Ser Ser Ser Arg Leu
260 265 270

Ala Ala Pro Arg Ser Leu Ala Ala Ser Gly Asp Ala Ser Trp Ser Val
275 280 285

Thr Phe Asp Gly Ser Ala Asn Val Ser Ala Pro Leu Ser Leu Ser Ala
290 295 300

Thr Gly Val Ala Ala Gly Ser Tyr Pro Lys Val Thr Val Asp Thr Lys
305 310 315 320

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

Leu Asp Ala Ser Lys Leu Val Ser Gly Val Leu Ala Glu Gln Arg Leu
340 345 350

Pro Val Phe Ala Arg Gly Leu Ala Thr Ala Val Ser Asn Ser Ser Asp
355 360 365

Pro Asn Thr Ala Thr Val Pro Leu Met Leu Thr Asn His Ala Asn Gly

370		375		380
Pro Val Ala Gly Arg Tyr Phe Tyr Ile Gln Ser Met Phe Tyr Pro Asp				
385		390		395 400
Gln Asn Gly Asn Ala Ser Gln Ile Ala Thr Ser Tyr Asn Ala Thr Ser				
	405		410	415
Glu Met Tyr Val Arg Val Ser Tyr Ala Ala Asn Pro Ser Ile Arg Glu				
	420		425	430
Trp Leu Pro Trp Gln Arg Cys Asp Ile Gly Gly Ser Phe Thr Lys Thr				
	435		440	445
Thr Asp Gly Ser Ile Gly Asn Gly Val Asn Ile Asn Ser Phe Val Asn				
	450		455	460
Ser Gly Trp Trp Leu Gln Ser Thr Ser Glu Trp Ala Ala Gly Gly Ala				
465		470		475 480
Asn Tyr Pro Val Gly Leu Ala Gly Leu Leu Ile Val Tyr Arg Ala His				
	485		490	495
Ala Asp His Ile Tyr Gln Thr Tyr Val Thr Leu Asn Gly Ser Thr Tyr				
	500		505	510
Ser Arg Cys Cys Tyr Ala Gly Ser Trp Arg Pro Trp Arg Gln Asn Trp				
	515		520	525
Asp Asp Gly Asn Phe Asp Pro Ala Ser Tyr Leu Pro Lys Ala Gly Phe				
	530		535	540
Thr Trp Ala Ala Leu Pro Gly Lys Pro Ala Thr Phe Pro Pro Ser Gly				
545		550		555 560
His Asn His Asp Thr Ser Gln Ile Thr Ser Gly Ile Leu Pro Leu Ala				
	565		570	575
Arg Gly Gly Leu Gly Ala Asn Thr Ala Ala Gly Ala Arg Asn Asn Ile				
	580		585	590
Gly Ala Gly Val Pro Ala Thr Ala Ser Arg Ala Leu Asn Gly Trp Trp				
	595		600	605
Lys Asp Asn Asp Thr Gly Leu Ile Val Gln Trp Met Gln Val Asn Val				
	610		615	620

Gly Asp His Pro Gly Gly Ile Ile Asp Arg Thr Leu Thr Phe Pro Ile
625 630 635 640

Ala Phe Pro Ser Ala Cys Leu His Val Val Pro Thr Val Lys Glu Val
645 650 655

Gly Arg Pro Ala Thr Ser Ala Ser Thr Val Thr Val Ala Asp Val Ser
660 665 670

Val Ser Asn Thr Gly Cys Val Ile Val Ser Ser Glu Tyr Tyr Gly Leu
675 680 685

Ala Gln Asn Tyr Gly Ile Arg Val Met Ala Ile Gly Tyr
690 695 700

<210> 2

<211> 146

<212> PRT

<213> *Pseudomonas aeruginosa*

<400> 2

Met Ile Phe Phe His Ala Ala Thr Gly Gly Phe Tyr Ser Lys Glu Ile
1 5 10 15

His Gly Ser Arg Met Pro Leu Glu Asp Glu Met His Pro Leu Glu Asp
20 25 30

Ala Glu Tyr Gln Ala Leu Leu Arg Ala Gln Ser Glu Gly Lys Arg Ile
35 40 45

Val Thr Asp His Thr Gly Arg Pro Ile Cys Val Asp Pro Pro Ala Pro
50 55 60

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

Leu Gln Leu Thr Asp Gly Pro Leu Ala Arg His Arg Asp Glu Gln Asp
85 90 95

Leu Gly Lys Thr Thr Thr Leu Ser Gln Glu Gln Leu Arg Glu Leu Thr
100 105 110

Leu Tyr Arg Ala Val Leu Arg Asp Trp Pro Ile Ala Ala Glu Phe Pro
115 120 125

Asp Leu Asn Ala Arg Pro Glu Pro Pro Ala Trp Leu Gln Ser Leu Ile
 130 135 140

Thr Pro
 145

<210> 3
 <211> 691
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 3

Met Ala Thr Asn Thr Pro Lys Tyr Gly Gly Leu Leu Thr Asp Ile Gly
 1 5 10 15

Ala Ala Ala Leu Ala Thr Ala Ser Ala Ala Gly Lys Lys Trp Gln Pro
 20 25 30

Thr His Met Leu Ile Gly Asp Ala Gly Gly Ala Pro Gly Asp Thr Pro
 35 40 45

Asp Pro Leu Pro Ser Ala Ala Gln Lys Ser Leu Ile Asn Gln Arg His
 50 55 60

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

Leu Val Ala Glu Val Val Leu Pro Val Glu Val Gly Gly Phe Trp Ile
 85 90 95

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

Asn Cys Pro Pro Ser Tyr Lys Ala Ala Met Glu Ser Gly Ser Ala Arg
 115 120 125

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

Gln Leu Leu Ile Asp Asn Gly Ile Ile Tyr Ala Thr Gln Asp Trp Val
 145 150 155 160

Lys Glu Lys Val Ala Ala Asp Phe Lys Gly Arg Lys Ile Leu Ala Gly
 165 170 175

Asn Gly Leu Leu Gly Gly Gly Asp Leu Ser Ala Asp Arg Ser Ile Gly
 180 185 190

Leu Ala Pro Ser Gly Val Thr Ala Gly Ser Tyr Arg Ser Val Thr Val
 195 200 205

Asn Ala Asn Gly Val Val Thr Gln Gly Ser Asn Pro Thr Thr Leu Ala
 210 215 220

Gly Tyr Ala Ile Gly Asp Ala Tyr Thr Lys Ala Asp Thr Asp Gly Lys
 225 230 235 240

Leu Ala Gln Lys Ala Asn Lys Ala Thr Thr Leu Ala Gly Tyr Gly Ile
 245 250 255

Thr Asp Ala Leu Arg Val Asp Gly Asn Ala Val Ser Ser Ser Arg Leu
 260 265 270

Ala Ala Pro Arg Ser Leu Ala Ala Ser Gly Asp Ala Ser Trp Ser Val
 275 280 285

Thr Phe Asp Gly Ser Ala Asn Val Ser Ala Pro Leu Ser Leu Ser Ala
 290 295 300

Thr Gly Val Ala Ala Gly Ser Tyr Pro Lys Val Thr Val Asp Thr Lys
 305 310 315 320

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

Leu Asp Ala Ser Lys Leu Val Ser Gly Val Leu Ala Glu Gln Arg Leu
 340 345 350

Pro Val Phe Ala Arg Gly Leu Ala Thr Ala Val Ser Asn Ser Ser Asp
 355 360 365

Pro Asn Thr Ala Thr Val Pro Leu Met Leu Thr Asn His Ala Asn Gly
 370 375 380

Pro Val Ala Gly Arg Tyr Phe Tyr Ile Gln Ser Met Phe Tyr Pro Asp
 385 390 395 400

Gln Asn Gly Asn Ala Ser Gln Ile Ala Thr Ser Tyr Asn Ala Thr Ser
 405 410 415

Glu Met Tyr Val Arg Val Ser Tyr Ala Ala Asn Pro Ser Ile Arg Glu
 420 425 430

Trp Leu Pro Trp Gln Arg Cys Asp Ile Gly Gly Ser Phe Thr Lys Glu
 435 440 445

Ala Asp Gly Glu Leu Pro Gly Gly Val Asn Leu Asp Ser Met Val Thr
 450 455 460

Ser Gly Trp Trp Ser Gln Ser Phe Thr Ala Gln Ala Ala Ser Gly Ala
 465 470 475 480

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

Ser Asn Phe Ile Tyr Gln Thr Tyr Gln Ala Tyr Asp Gly Glu Ser Phe
 500 505 510

Tyr Phe Arg Cys Arg His Ser Asn Thr Trp Phe Pro Trp Arg Arg Met
 515 520 525

Trp His Gly Gly Asp Phe Asn Pro Ser Asp Tyr Leu Leu Lys Ser Gly
 530 535 540

Phe Tyr Trp Asn Ala Leu Pro Gly Lys Pro Ala Thr Phe Pro Pro Ser
 545 550 555 560

Ala His Asn His Asp Val Gly Gln Leu Thr Ser Gly Ile Leu Pro Leu
 565 570 575

Ala Arg Gly Gly Val Gly Ser Asn Thr Ala Ala Gly Ala Arg Ser Thr
 580 585 590

Ile Gly Ala Gly Val Pro Ala Thr Ala Ser Leu Gly Ala Ser Gly Trp
 595 600 605

Trp Arg Asp Asn Asp Thr Gly Leu Ile Arg Gln Trp Gly Gln Val Thr
 610 615 620

Cys Pro Ala Asp Ala Asp Ala Ser Ile Thr Phe Pro Ile Pro Phe Pro
 625 630 635 640

Thr Leu Cys Leu Gly Gly Tyr Ala Asn Gln Thr Ser Ala Phe His Pro
 645 650 655

Gly Thr Asp Ala Ser Thr Gly Phe Arg Gly Ala Thr Thr Thr Ala
 660 665 670

Val Ile Arg Asn Gly Tyr Phe Ala Gln Ala Val Leu Ser Trp Glu Ala
675 680 685

Phe Gly Arg
690

<210> 4
<211> 152
<212> PRT
<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 4

Met Lys Gly Glu Tyr Tyr Phe Ser Pro Ser Gln Val Ala Phe Tyr Pro
1 5 10 15

Ala Ser Leu Arg Glu Val Tyr Glu Tyr Ala Gly Cys Trp Pro Val Asp
20 25 30

Gly Glu Trp Val Ser Ala Glu Leu His Glu Gln Leu Met Asn Glu Gln
35 40 45

Ala Ala Gly Arg Ala Ile Ser Ser Asp Val Asn Gly Asn Pro Val Ala
50 55 60

Ile Glu Arg Pro Pro Leu Ser Arg Gln Gln Arg Ser Thr His Glu Arg
65 70 75 80

Arg Trp Arg Asp Ser Gln Leu Leu Ala Thr Asp Gly Leu Val Val Arg
85 90 95

His Arg Asp Gln Leu Glu Thr Gly Lys Glu Thr Thr Leu Leu Pro Val
100 105 110

Gln Tyr His Glu Leu Met Ser Tyr Arg Ala Ser Leu Arg Asp Trp Pro
115 120 125

Glu Glu Pro Leu Phe Pro Asp Ser Gly Gly Arg Pro Ser Val Pro Asp
130 135 140

Trp Leu Arg Arg Tyr Val Thr Pro
145 150

<210> 5
<211> 691
<212> PRT
<213> Pseudomonas aeruginosa

<220>

<221> MISC_FEATURE
 <222> (324)..(324)
 <223> Outra

<400> 5

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

Ala Ala Ala Leu Ala Ala Ala Ser Ala Ala Gly Lys Lys Trp Gln Pro
 20 25 30

Thr His Met Leu Ile Gly Asp Ala Gly Gly Ala Pro Gly Asp Thr Leu
 35 40 45

Asp Pro Leu Pro Ser Ala Ala Gln Lys Ser Leu Ile Asn Gln Arg His
 50 55 60

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

Leu Val Ala Glu Val Val Leu Pro Val Glu Val Gly Gly Phe Trp Ile
 85 90 95

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

Asn Cys Pro Pro Ser Tyr Lys Ala Ala Met Glu Ser Gly Ser Ala Arg
 115 120 125

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

Gln Leu Leu Ile Asp Asn Gly Ile Ile Tyr Ala Thr Gln Asp Trp Val
 145 150 155 160

Lys Glu Lys Val Ala Ala Asp Phe Lys Gly Arg Lys Ile Leu Ala Gly
 165 170 175

Asn Gly Leu Leu Gly Gly Gly Asp Leu Ser Ala Asp Arg Ser Ile Gly
 180 185 190

Leu Ala Pro Ser Gly Val Thr Ala Gly Ser Tyr Arg Ser Val Thr Val
 195 200 205

Asn Ala Asn Gly Val Val Thr Gln Gly Ser Asn Pro Thr Thr Leu Ala
 210 215 220

Gly Tyr Ala Ile Gly Asp Ala Tyr Thr Lys Ala Asp Thr Asp Gly Lys
 225 230 235 240

Leu Ala Gln Lys Ala Asn Lys Ala Thr Thr Leu Ala Gly Tyr Gly Ile
 245 250 255

Thr Asp Ala Leu Arg Val Asp Gly Asn Ala Val Ser Ser Ser Arg Leu
 260 265 270

Ala Ala Pro Arg Ser Leu Ala Ala Ser Gly Asp Ala Ser Trp Ser Val
 275 280 285

Thr Phe Asp Gly Ser Ala Asn Val Ser Ala Pro Leu Ser Leu Ser Ala
 290 295 300

Thr Gly Val Ala Ala Gly Ser Tyr Pro Lys Val Thr Val Asp Thr Lys
 305 310 315 320

Gly Arg Val Xaa Ala Gly Met Ala Leu Ala Ala Thr Asp Ile Pro Gly
 325 330 335

Leu Asp Ala Ser Lys Leu Val Ser Gly Val Leu Ala Glu Gln Arg Leu
 340 345 350

Pro Val Phe Ala Arg Gly Leu Ala Thr Ala Val Ser Asn Ser Ser Asp
 355 360 365

Pro Asn Thr Ala Thr Val Pro Leu Met Leu Thr Asn His Ala Asn Gly
 370 375 380

Pro Val Ala Gly Arg Tyr Phe Tyr Ile Gln Ser Met Phe Tyr Pro Asp
 385 390 395 400

Gln Asn Gly Asn Ala Ser Gln Ile Ala Thr Ser Tyr Asn Ala Thr Ser
 405 410 415

Glu Met Tyr Val Arg Val Ser Tyr Ala Ala Asn Pro Ser Ile Arg Glu
 420 425 430

Trp Leu Pro Trp Gln Arg Cys Asp Ile Gly Gly Ser Phe Thr Lys Glu
 435 440 445

Ala Asp Gly Glu Leu Pro Gly Gly Val Asn Leu Asp Ser Met Val Thr
 450 455 460

Ser Gly Trp Trp Ser Gln Ser Phe Thr Ala Gln Ala Ala Ser Gly Ala
465 470 475 480

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

Ser Asn Phe Ile Tyr Gln Thr Tyr Gln Ala Tyr Asp Gly Glu Ser Phe
500 505 510

Tyr Phe Arg Cys Arg Tyr Ser Asn Thr Trp Leu Pro Trp Arg Arg Met
515 520 525

Trp His Gly Gly Asp Phe Asn Pro Ser Asp Tyr Leu Leu Lys Ser Gly
530 535 540

Phe Tyr Trp Asn Ala Leu Pro Gly Lys Pro Ala Thr Phe Pro Pro Ser
545 550 555 560

Ala His Asn His Asp Val Gly Gln Leu Thr Ser Gly Ile Leu Pro Leu
565 570 575

Ala Arg Gly Gly Val Gly Ser Asn Thr Ala Ala Gly Ala Arg Ser Thr
580 585 590

Ile Gly Ala Gly Val Pro Ala Thr Ala Ser Leu Gly Ala Ser Gly Trp
595 600 605

Trp Arg Asp Asn Asp Thr Gly Leu Ile Arg Gln Trp Gly Gln Val Thr
610 615 620

Cys Pro Ala Asp Ala Asp Ala Ser Ile Thr Phe Pro Ile Pro Phe Pro
625 630 635 640

Thr Leu Cys Leu Gly Gly Tyr Ala Asn Gln Thr Ser Ala Phe Gln Pro
645 650 655

Gly Thr Asp Ala Ser Thr Gly Phe Arg Gly Ala Thr Thr Thr Thr Ala
660 665 670

Val Ile Arg Asn Gly Tyr Phe Ala Gln Ala Val Leu Ser Trp Glu Ala
675 680 685

Phe Gly Arg
690

<210> 6
 <211> 152
 <212> PRT
 <213> *Pseudomonas aeruginosa*

<400> 6

Met Lys Gly Glu Tyr Tyr Phe Ser Pro Ser Gln Val Ala Phe Tyr Pro
 1 5 10 15

Ala Ser Leu Arg Glu Val Tyr Glu His Ala Gly Cys Trp Pro Val Asp
 20 25 30

Gly Glu Trp Val Ser Ala Glu Leu His Glu Gln Leu Met Asn Glu Gln
 35 40 45

Ala Ala Gly Arg Ala Ile Ser Ser Asp Val Asn Gly Asn Pro Val Ala
 50 55 60

Ile Glu Arg Pro Pro Leu Ser Arg Gln Gln Arg Ser Thr His Glu Arg
 65 70 75 80

Arg Trp Arg Asp Ser Gln Leu Leu Ala Thr Asp Gly Leu Val Val Arg
 85 90 95

His Arg Asp Gln Leu Glu Thr Gly Lys Glu Thr Thr Leu Leu Pro Val
 100 105 110

Gln Tyr His Glu Leu Met Ser Tyr Arg Ala Ser Leu Arg Asp Trp Pro
 115 120 125

Glu Glu Pro Leu Phe Pro Asp Ser Gly Gly Arg Pro Ser Val Pro Asp
 130 135 140

Trp Leu Arg Arg Tyr Val Thr Pro
 145 150

<210> 7
 <211> 691
 <212> PRT
 <213> *Pseudomonas aeruginosa*

<400> 7

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

Ala Ala Ala Leu Ala Ala Ala Ser Ala Ala Gly Lys Lys Trp Gln Pro
 20 25 30

Thr His Met Leu Ile Gly Asp Ala Gly Gly Ala Pro Gly Asp Thr Pro
 35 40 45

Asp Pro Leu Pro Ser Ala Ala Gln Lys Ser Leu Ile Asn Gln Arg His
 50 55 60

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

Leu Val Ala Glu Val Val Leu Pro Val Glu Val Gly Gly Phe Trp Ile
 85 90 95

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

Asn Cys Pro Pro Ser Tyr Lys Ala Ala Met Glu Ser Gly Ser Ala Arg
 115 120 125

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

Gln Leu Leu Ile Asp Asn Gly Ile Ile Tyr Ala Thr Gln Asp Trp Val
 145 150 155 160

Lys Glu Lys Val Ala Ala Asp Phe Lys Gly Arg Lys Ile Leu Ala Gly
 165 170 175

Asn Gly Leu Val Gly Gly Gly Asp Leu Ser Ala Asp Arg Ser Ile Gly
 180 185 190

Leu Ala Pro Ser Gly Val Thr Ala Gly Ser Tyr Arg Ser Val Thr Val
 195 200 205

Asn Ala Asn Gly Val Val Thr Gln Gly Ser Asn Pro Thr Thr Leu Ala
 210 215 220

Gly Tyr Ala Ile Gly Asp Ala Tyr Thr Lys Ala Asp Thr Asp Gly Lys
 225 230 235 240

Leu Ala Gln Lys Ala Asn Lys Ala Thr Thr Leu Ala Gly Tyr Gly Ile
 245 250 255

Thr Asp Ala Leu Arg Val Asp Gly Asn Ala Val Ser Ser Ser Arg Leu
 260 265 270

Ala Ala Pro Arg Ser Leu Ala Ala Ser Gly Asp Ala Ser Trp Ser Val
275 280 285

Thr Phe Asp Gly Ser Ala Asn Val Ser Ala Pro Leu Ser Leu Ser Ala
290 295 300

Thr Gly Val Ala Ala Gly Ser Tyr Pro Lys Val Thr Val Asp Thr Lys
305 310 315 320

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

Leu Asp Ala Ser Lys Leu Val Ser Gly Val Leu Ala Glu Gln Arg Leu
340 345 350

Pro Val Phe Ala Arg Gly Leu Ala Thr Ala Val Ser Asn Ser Ser Asp
355 360 365

Pro Asn Thr Ala Thr Val Pro Leu Met Leu Thr Asn His Ala Asn Gly
370 375 380

Pro Val Ala Gly Arg Tyr Phe Tyr Ile Gln Ser Met Phe Tyr Pro Asp
385 390 395 400

Gln Asn Gly Asn Ala Ser Gln Ile Ala Thr Ser Tyr Asn Ala Thr Ser
405 410 415

Glu Met Tyr Val Arg Val Ser Tyr Ala Ala Asn Pro Ser Ile Arg Glu
420 425 430

Trp Leu Pro Trp Gln Arg Cys Asp Ile Gly Gly Ser Phe Thr Lys Glu
435 440 445

Ala Asp Gly Glu Leu Pro Gly Gly Val Asn Leu Asp Ser Met Val Thr
450 455 460

Ser Gly Trp Trp Ser Gln Ser Phe Thr Ala Gln Ala Ala Thr Gly Ala
465 470 475 480

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

Ser Asn Phe Ile Tyr Gln Thr Tyr Gln Ala Tyr Asp Gly Glu Ser Phe
500 505 510

Tyr Phe Arg Cys Arg His Ser Asn Thr Trp Phe Pro Trp Arg Arg Met

515	520	525
Trp His Gly Gly Asp Phe Asn Pro Ser Asp Tyr Leu Leu Lys Ser Gly		
530	535	540
Phe Tyr Trp Asn Ala Leu Pro Gly Lys Pro Ala Thr Phe Pro Pro Ser		
545	550	555 560
Ala His Asn His Asp Val Gly Gln Leu Thr Ser Gly Ile Leu Pro Leu		
	565	570 575
Ala Arg Gly Gly Val Gly Ser Asn Thr Ala Ala Gly Ala Arg Ser Thr		
	580	585 590
Ile Gly Ala Gly Val Pro Ala Thr Ala Ser Leu Gly Ala Ser Gly Trp		
	595	600 605
Trp Arg Asp Asn Asp Thr Gly Leu Ile Arg Gln Trp Gly Gln Val Thr		
	610	615 620
Cys Pro Ala Asp Ala Asp Ala Ser Ile Thr Phe Pro Ile Pro Phe Pro		
	625	630 635 640
Thr Leu Cys Leu Gly Gly Tyr Ala Asn Gln Thr Ser Ala Phe His Pro		
	645	650 655
Gly Thr Asp Ala Ser Thr Gly Phe Arg Gly Ala Thr Thr Thr Thr Ala		
	660	665 670
Val Ile Arg Asn Gly Tyr Phe Ala Gln Ala Val Leu Ser Trp Glu Ala		
	675	680 685
Phe Gly Arg		
690		

<210> 8
 <211> 152
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (17)..(17)
 <223> Outra

<400> 8

Met Lys Gly Glu Tyr Tyr Phe Ser Pro Ser Gln Val Ala Phe Tyr Pro

1 5 10 15
 Xaa Ser Leu Arg Glu Val Tyr Glu Tyr Ala Gly Cys Trp Pro Val Asp
 20 25 30
 Gly Glu Trp Val Ser Ala Glu Leu His Glu Gln Leu Met Asn Glu Gln
 35 40 45
 Ala Ala Gly Arg Ala Ile Ser Ser Asp Val Asn Gly Asn Pro Val Ala
 50 55 60
 Ile Glu Arg Pro Pro Leu Ser Arg Gln Gln Arg Ser Ala His Glu Arg
 65 70 75 80
 Arg Trp Arg Asp Ser Gln Leu Leu Ala Thr Asp Gly Leu Val Val Arg
 85 90 95
 His Arg Asp Gln Leu Glu Thr Gly Lys Glu Thr Thr Leu Leu Pro Val
 100 105 110
 Gln Tyr His Glu Leu Met Ser Tyr Arg Ala Ser Leu Arg Asp Trp Pro
 115 120 125
 Glu Glu Pro Leu Phe Pro Asp Ser Gly Gly Arg Pro Ser Val Pro Asp
 130 135 140
 Trp Leu Arg Arg Tyr Val Thr Pro
 145 150

 <210> 9
 <211> 702
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa

 <400> 9
 Met Thr Thr Asn Thr Pro Lys Tyr Gly Gly Leu Leu Thr Asp Ile Gly
 1 5 10 15
 Ala Ala Ala Leu Ala Ala Ala Ser Ala Ala Gly Lys Lys Trp Gln Pro
 20 25 30
 Thr His Met Leu Ile Gly Asp Ala Gly Gly Ala Pro Gly Ala Thr Pro
 35 40 45
 Asp Pro Ile Pro Ala Ala Thr Gln Thr Lys Leu Ile Asn Gln Arg Tyr
 50 55 60

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

Leu Val Ala Glu Val Val Leu Pro Val Glu Val Gly Gly Phe Trp Ile
 85 90 95

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

Asn Cys Pro Pro Ser Tyr Lys Ala Ala Met Glu Ser Gly Ser Ala Arg
 115 120 125

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

Gln Leu Leu Ile Asp Asn Gly Ile Ile Tyr Ala Thr Gln Asp Trp Val
 145 150 155 160

Lys Glu Lys Val Ala Ala Asp Phe Lys Gly Arg Lys Ile Leu Ala Gly
 165 170 175

Asn Gly Leu Val Gly Gly Gly Asp Leu Ser Ala Asp Arg Ser Ile Gly
 180 185 190

Leu Ala Pro Ser Gly Val Thr Ala Gly Ser Tyr Arg Ser Val Thr Val
 195 200 205

Asn Ala Asn Gly Val Val Thr Gln Gly Ser Asn Pro Ser Thr Leu Ala
 210 215 220

Gly Tyr Ala Ile Gly Asp Ala Tyr Thr Lys Ala Asp Thr Asp Gly Lys
 225 230 235 240

Leu Ala Gln Lys Ala Asn Lys Ala Thr Thr Leu Ala Gly Tyr Gly Ile
 245 250 255

Thr Asp Ala Leu Arg Val Asp Gly Asn Ala Val Ser Ser Ser Arg Leu
 260 265 270

Ala Ala Pro Arg Ser Leu Ala Ala Ser Gly Asp Ala Ser Trp Ser Val
 275 280 285

Thr Phe Asp Gly Ser Ala Asn Val Ser Ala Pro Leu Ser Leu Ser Ala
 290 295 300

Thr Gly Val Ala Ala Gly Ser Tyr Pro Lys Val Thr Val Asp Thr Lys
305 310 315 320

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

Leu Asp Ala Ser Lys Leu Val Ser Gly Val Leu Ala Glu Gln Arg Leu
340 345 350

Pro Val Phe Ala Arg Gly Leu Ala Thr Ala Val Ser Thr Thr Ser Asp
355 360 365

Pro Asn Thr Ala Thr Val Pro Leu Met Leu Thr Asn His Ala Asn Gly
370 375 380

Pro Val Ala Gly Arg Tyr Phe Tyr Ile Gln Ser Met Phe Tyr Pro Asp
385 390 395 400

Gln Asn Gly Asn Ala Ser Gln Ile Ala Thr Ser Tyr Asn Ala Thr Ser
405 410 415

Glu Met Tyr Val Arg Val Ser Tyr Ala Ala Asn Pro Ser Ala Arg Asp
420 425 430

Trp Leu Pro Trp Lys Arg Cys Asp Ile Gly Gly Ser Phe Ser Lys Glu
435 440 445

Ala Asp Gly Ala Leu Gly Gly Ala Val Asn Leu Asn Ser Leu Ile Thr
450 455 460

Ser Gly Trp Trp Tyr Gln Thr Ala Asn Ala Gln Ala Glu Ser Gly Ala
465 470 475 480

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

Thr Asn Phe Ile Tyr Gln Thr Tyr Gln Val Tyr Asp Gly Glu Gly Phe
500 505 510

Tyr Phe Arg Cys Arg Tyr Thr Asn Thr Trp Tyr Pro Trp Arg Arg Val
515 520 525

Trp His Gly Ala Asp Phe Asn Pro Asn Asp Tyr Leu Leu Lys Ser Gly
530 535 540

Phe Thr Trp Ala Ala Leu Pro Gly Lys Pro Ala Thr Phe Pro Pro Thr

545 550 555 560
 Gly His Asn His Asp Ala Ala Gln Ile Thr Ser Gly Ile Leu Pro Leu
 565 570 575
 Ala Arg Gly Gly Leu Gly Ser Asn Thr Ala Ala Gly Ala Arg Asn Asn
 580 585 590
 Ile Gly Ala Gly Val Pro Ala Thr Ala Asn Arg Ser Leu Asn Gly Trp
 595 600 605
 Trp Lys Asp Asn Asp Thr Gly Leu Ile Val Gln Trp Met Thr Val Ser
 610 615 620
 Val Gly Asp His Pro Gly Gly Ile Val Asn Arg Ser Leu Thr Phe Pro
 625 630 635 640
 Ile Ala Phe Pro Thr Thr Cys Leu His Val Val Pro Ser Val Lys Glu
 645 650 655
 Leu Gly Arg Pro Ala Thr Ser Ala Ser Thr Val Thr Leu Ala Asp Val
 660 665 670
 Ser Val Ser Thr Thr Gly Cys Val Ile Val Ala Thr Glu Tyr His Gly
 675 680 685
 Ala Val Gln Asn Tyr Ala Ile Arg Leu Val Ala Ile Gly Cys
 690 695 700

 <210> 10
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa

 <400> 10
 Met Ile Phe Phe His Ala Ala Thr Gly Gly Phe Tyr Ser Lys Asp Val
 1 5 10 15

 His Gly Asp Arg Met Pro Ile Asp Ala Arg Met Tyr Pro Leu Glu Glu
 20 25 30

 Ala Glu Tyr Leu Ala Leu Leu Val Ala Gln Ser Glu Gly Lys Gln Ile
 35 40 45

 Val Ala Asp Ala Ala Gly Arg Pro Phe Cys Ile Asp Pro Pro Ala Pro
 50 55 60

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

Leu Thr Leu Thr Asp Gly Pro Ile Ala Arg His Arg Asp Glu Leu Asp
85 90 95

Leu Gly Lys Ile Thr Thr Leu Asn Gln Ala Gln Leu Leu Glu Leu Thr
100 105 110

Leu Tyr Arg Ala Ser Leu Arg Asp Trp Pro Ala Ser Ala Ala Phe Pro
115 120 125

Asp Leu Gly Ala Arg Pro Glu Pro Pro Leu Trp Leu Glu Pro Leu Ile
130 135 140

Thr Pro
145

<210> 11
<211> 485
<212> PRT
<213> *Pseudomonas aeruginosa*

<400> 11

Met Lys Arg Ser Phe Leu Ser Leu Ala Val Ala Ala Val Val Leu Ser
1 5 10 15

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

Ala Ala Tyr Pro Gln Gly Gln Ala Tyr Gly Gln Asn Thr Gly Ala Ala
35 40 45

Ala Val Pro Ala Ala Asp Ile Gly Trp Arg Glu Phe Phe Arg Asp Pro
50 55 60

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

Arg Val Ala Ala Leu Asn Val Glu Ala Phe Arg Ala Gln Tyr Arg Ile
85 90 95

Gln Arg Ala Asp Leu Phe Pro Arg Ile Gly Val Asp Gly Ser Gly Thr
100 105 110

Arg Gln Arg Leu Pro Gly Asp Leu Ser Thr Thr Gly Ser Pro Ala Ile

115	120	125																	
Ser	Ser	Gln	Tyr	Gly	Val	Thr	Leu	Gly	Thr	Thr	Ala	Trp	Glu	Leu	Asp				
130						135					140								
Leu	Phe	Gly	Arg	Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Asp	Gln	Ala	Leu	Glu	Gln	Tyr				
145					150					155					160				
Leu	Ala	Thr	Glu	Gln	Ala	Gln	Arg	Ser	Ala	Gln	Thr	Thr	Leu	Val	Ala				
				165					170					175					
Ser	Val	Ala	Thr	Ala	Tyr	Leu	Thr	Leu	Lys	Ala	Asp	Gln	Ala	Gln	Leu				
			180					185					190						
Gln	Leu	Thr	Lys	Asp	Thr	Leu	Gly	Thr	Tyr	Gln	Lys	Ser	Phe	Asp	Leu				
		195					200					205							
Thr	Gln	Arg	Ser	Tyr	Asp	Val	Gly	Val	Ala	Ser	Ala	Leu	Asp	Leu	Arg				
210						215					220								
Gln	Ala	Gln	Thr	Ala	Val	Glu	Gly	Ala	Arg	Ala	Thr	Leu	Ala	Gln	Tyr				
225					230					235					240				
Thr	Arg	Leu	Val	Ala	Gln	Asp	Gln	Asn	Ala	Leu	Val	Leu	Leu	Leu	Gly				
				245					250					255					
Ser	Gly	Ile	Pro	Ala	Asn	Leu	Pro	Gln	Gly	Leu	Gly	Leu	Asp	Gln	Thr				
			260					265					270						
Leu	Leu	Thr	Glu	Val	Pro	Ala	Gly	Leu	Pro	Ser	Asp	Leu	Leu	Gln	Arg				
		275					280					285							
Arg	Pro	Asp	Ile	Leu	Glu	Ala	Glu	His	Gln	Leu	Met	Ala	Ala	Asn	Ala				
290						295					300								
Ser	Ile	Gly	Ala	Ala	Arg	Ala	Ala	Phe	Phe	Pro	Ser	Ile	Ser	Leu	Thr				
305					310					315					320				
Ala	Asn	Ala	Gly	Thr	Met	Ser	Arg	Gln	Leu	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp	Ala				
				325					330					335					
Gly	Ser	Gly	Ser	Trp	Leu	Phe	Gln	Pro	Ser	Ile	Asn	Leu	Pro	Ile	Phe				
			340					345					350						
Thr	Ala	Gly	Ser	Leu	Arg	Ala	Ser	Leu	Asp	Tyr	Ala	Lys	Ile	Gln	Lys				
		355					360					365							

Asp Ile Asn Val Ala Gln Tyr Glu Lys Ala Ile Gln Thr Ala Phe Gln
370 375 380

Glu Val Ala Asp Gly Leu Ala Ala Arg Gly Thr Phe Thr Glu Gln Leu
385 390 395 400

Gln Ala Gln Arg Asp Leu Val Lys Ala Ser Asp Glu Tyr Tyr Gln Leu
405 410 415

Ala Asp Lys Arg Tyr Arg Thr Gly Val Asp Asn Tyr Leu Thr Leu Leu
420 425 430

Asp Ala Gln Arg Ser Leu Phe Thr Ala Gln Gln Gln Leu Ile Thr Asp
435 440 445

Arg Leu Asn Gln Leu Thr Ser Glu Val Asn Leu Tyr Lys Ala Leu Gly
450 455 460

Gly Gly Trp Asn Gln Gln Thr Val Thr Gln Gln Gln Thr Ala Lys Lys
465 470 475 480

Glu Asp Pro Gln Ala
485

<210> 12
<211> 479
<212> PRT
<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 12

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

Leu Gly Ala Cys Ser Met Ala Pro Thr Tyr Glu Arg Pro Ala Ala Pro
20 25 30

Val Ala Asp Ser Trp Ser Gly Ala Ala Ala Gln Arg Gln Gly Ala Ala
35 40 45

Ile Asp Thr Leu Asp Trp Lys Ser Phe Ile Val Asp Ala Glu Leu Arg
50 55 60

Arg Leu Val Asp Met Ala Leu Asp Asn Asn Arg Ser Leu Arg Gln Thr
65 70 75 80

Leu Leu Asp Ile Glu Ala Ala Arg Ala Gln Tyr Arg Ile Gln Arg Ala
85 90 95

Asp Arg Val Pro Gly Leu Asn Ala Ala Ala Thr Gly Asn Arg Gln Arg
100 105 110

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

Tyr Gln Val Gly Leu Ala Leu Pro Glu Tyr Glu Leu Asp Leu Phe Gly
130 135 140

Arg Val Lys Ser Leu Thr Asp Ala Ala Leu Gln Gln Tyr Leu Ala Ser
145 150 155 160

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

Gln Ala Tyr Leu Ser Tyr Asp Gly Ala Leu Arg Arg Leu Ala Leu Thr
180 185 190

Arg Gln Thr Leu Val Ser Arg Glu Tyr Ser Phe Ala Leu Ile Asp Gln
195 200 205

Arg Arg Ala Ala Gly Ala Ala Thr Ala Leu Asp Tyr Gln Glu Ala Leu
210 215 220

Gly Leu Val Glu Gln Ala Arg Ala Glu Gln Glu Arg Asn Leu Arg Gln
225 230 235 240

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

Ala Ala Gln Ala Ile Pro Arg Ser Pro Gly Gln Arg Pro Lys Leu Leu
260 265 270

Gln Asp Ile Ala Pro Gly Thr Pro Ser Glu Leu Ile Glu Arg Arg Pro
275 280 285

Asp Ile Leu Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Ala Arg Asn Ala Asp Ile
290 295 300

Gly Ala Ala Arg Ala Ala Phe Phe Pro Arg Ile Ser Leu Thr Gly Ser
305 310 315 320

Phe Gly Thr Ser Ser Ala Glu Met Ser Gly Leu Phe Asp Gly Gly Ser

•

```
<210> 13
<211> 472
<212> PRT
<213> Pseudomonas aeruginosa
```

<400> 13

Met	Ile	His	Ala	Gln	Ser	Ile	Arg	Ser	Gly	Leu	Ala	Ser	Ala	Leu	Gly
1				5					10					15	
Leu	Phe	Ser	Leu	Leu	Ala	Leu	Ser	Ala	Cys	Thr	Val	Gly	Pro	Asp	Tyr
			20					25					30		
Arg	Thr	Pro	Asp	Thr	Ala	Ala	Ala	Lys	Ile	Asp	Ala	Thr	Ala	Ser	Lys
		35					40					45			
Pro	Tyr	Asp	Arg	Ser	Arg	Phe	Glu	Ser	Leu	Trp	Trp	Lys	Gln	Phe	Asp
	50					55					60				

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

Asp Leu Arg Val Ala Phe Ala Arg Leu Arg Ala Ala Arg Ala Leu Arg
85 90 95

Asp Asp Val Ala Asn Asp Arg Phe Pro Val Val Thr Ser Arg Ala Ser
100 105 110

Ala Asp Ile Gly Lys Gly Gln Gln Pro Gly Val Thr Glu Asp Arg Val
115 120 125

Asn Ser Glu Arg Tyr Asp Leu Gly Leu Asp Ser Ala Trp Glu Leu Asp
130 135 140

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

Glu Ala Ala Glu Ala Asp Leu Gln Gln Leu Gln Val Ser Leu Ile Ala
165 170 175

Glu Leu Val Asp Ala Tyr Gly Gln Leu Arg Gly Ala Gln Leu Arg Glu
180 185 190

Lys Ile Ala Leu Ser Asn Leu Glu Asn Gln Lys Glu Ser Arg Gln Leu
195 200 205

Thr Glu Gln Leu Arg Asp Ala Gly Val Gly Ala Glu Leu Asp Val Leu
210 215 220

Arg Ala Asp Ala Arg Leu Ala Ala Thr Ala Ala Ser Val Pro Gln Leu
225 230 235 240

Gln Ala Glu Ala Glu Arg Ala Arg His Arg Ile Ala Thr Leu Leu Gly
245 250 255

Gln Arg Pro Glu Glu Leu Thr Val Asp Leu Ser Pro Arg Asp Leu Pro
260 265 270

Ala Ile Thr Lys Ala Leu Pro Ile Gly Asp Pro Gly Glu Leu Leu Arg
275 280 285

Arg Arg Pro Asn Ile Arg Ala Ala Glu Arg Arg Val Ala Ala Ser Thr
290 295 300

Ala Asp Val Gly Val Ala Thr Ala Asp Leu Phe Pro Ala Gly Gln Pro
305 310 315 320

Gln Arg Leu Pro Arg Leu His Arg Arg Ala Gly Ser Gln Ile Gly Ser
325 330 335

Ser Ala Ala Arg Ala Trp Ser Val Gly Pro Ser Ile Ser Trp Ala Ala
340 345 350

Phe Asp Leu Gly Ser Val Arg Ala Arg Leu Arg Gly Ala Lys Ala Asp
355 360 365

Ala Asp Ala Ala Leu Ala Ser Tyr Glu Gln Gln Val Leu Leu Ala Leu
370 375 380

Glu Glu Ser Ala Asn Ala Phe Ser Asp Tyr Gly Lys Arg Gln Glu Arg
385 390 395 400

Leu Val Ser Leu Val Arg Gln Ser Glu Ala Ser Arg Ala Ala Ala Gln
405 410 415

Gln Ala Ala Ile Arg Tyr Arg Glu Gly Thr Thr Asp Phe Leu Val Leu
420 425 430

Leu Asp Ala Glu Arg Glu Gln Leu Ser Ala Glu Asp Ala Gln Ala Gln
435 440 445

Ala Glu Val Glu Leu Tyr Arg Gly Ile Val Ala Ile Tyr Arg Ser Leu
450 455 460

Gly Gly Gly Trp Gln Pro Ser Ala
465 470

<210> 14
<211> 472
<212> PRT
<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 14

Met Ile His Ala Gln Ser Ile Arg Ser Gly Leu Ala Ser Ala Leu Gly
1 5 10 15

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

Arg Thr Pro Asp Thr Ala Ala Ala Lys Ile Asp Ala Thr Ala Ser Lys
35 40 45

Pro Tyr Asp Arg Ser Arg Phe Glu Ser Leu Trp Trp Lys Gln Phe Asp
 50 55 60

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

Asp Leu Arg Val Ala Phe Ala Arg Leu Arg Ala Ala Arg Ala Leu Arg
 85 90 95

Asp Asp Val Ala Asn Asp Arg Phe Pro Val Val Thr Ser Arg Ala Ser
 100 105 110

Ala Asp Ile Gly Lys Gly Gln Gln Pro Gly Val Thr Glu Asp Arg Val
 115 120 125

Asn Ser Glu Arg Tyr Asp Leu Gly Leu Asp Ser Ala Trp Glu Leu Asp
 130 135 140

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

Glu Ala Ala Glu Ala Asp Leu Gln Gln Leu Gln Val Ser Leu Ile Ala
 165 170 175

Glu Leu Val Asp Ala Tyr Gly Gln Leu Arg Gly Ala Gln Leu Arg Glu
 180 185 190

Lys Ile Ala Leu Ser Asn Leu Glu Asn Gln Lys Glu Ser Arg Gln Leu
 195 200 205

Thr Glu Gln Leu Arg Asp Ala Gly Val Gly Ala Glu Leu Asp Val Leu
 210 215 220

Arg Ala Asp Ala Arg Leu Ala Ala Thr Ala Ala Ser Val Pro Gln Leu
 225 230 235 240

Gln Ala Glu Ala Glu Arg Ala Arg His Arg Ile Ala Thr Leu Leu Gly
 245 250 255

Gln Arg Pro Glu Glu Leu Thr Val Asp Leu Ser Pro Arg Asp Leu Pro
 260 265 270

Ala Ile Thr Lys Ala Leu Pro Ile Gly Asp Pro Gly Glu Leu Leu Arg
 275 280 285

Arg Arg Pro Asn Ile Arg Ala Ala Glu Arg Arg Val Ala Ala Ser Thr
290 295 300

Ala Asp Val Gly Val Ala Thr Ala Asp Leu Phe Pro Ala Gly Gln Pro
305 310 315 320

Gln Arg Leu Pro Arg Leu His Arg Arg Ala Gly Ser Gln Ile Gly Ser
325 330 335

Ser Ala Ala Arg Ala Trp Ser Val Gly Pro Ser Ile Ser Trp Ala Ala
340 345 350

Phe Asp Leu Gly Ser Val Arg Ala Arg Leu Arg Gly Ala Lys Ala Asp
355 360 365

Ala Asp Ala Ala Leu Ala Ser Tyr Glu Gln Gln Val Leu Leu Ala Leu
370 375 380

Glu Glu Ser Ala Asn Ala Phe Ser Asp Tyr Gly Lys Arg Gln Glu Arg
385 390 395 400

Leu Val Ser Leu Val Arg Gln Ser Glu Ala Ser Arg Ala Ala Ala Gln
405 410 415

Gln Ala Ala Ile Arg Tyr Arg Glu Gly Thr Thr Asp Phe Leu Val Leu
420 425 430

Leu Asp Ala Glu Arg Glu Gln Leu Ser Ala Glu Asp Ala Gln Ala Gln
435 440 445

Ala Glu Val Glu Leu Tyr Arg Gly Ile Val Ala Ile Tyr Arg Ser Leu
450 455 460

Gly Gly Gly Trp Gln Pro Ser Ala
465 470

<210> 15
<211> 451
<212> PRT
<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 15

Met Asn Arg Leu Arg Ala Cys Leu Leu Ser Ser Ala Leu Leu Ser Ala
1 5 10 15

Ser Ser Ala Gln Ala Leu Gly Leu Leu Asp Ala Tyr Gln Leu Ala Val

[illegible]

Leu Pro Arg Leu Ser Leu Tyr Ala Ser Ser Ser Lys Thr His Ser Ala
 275 280 285

Ser Glu Ser Thr Tyr Glu Gln Lys Tyr Asp Thr Asp Ser Val Gly Leu
 290 295 300

Arg Leu Ser Leu Pro Leu Phe Glu Gly Gly Arg Val Ser Ala Ala Thr
 305 310 315 320

Arg Gln Ala Gly Asp Lys Tyr Ala Gln Ala Gln Ala Glu Leu Asp Ala
 325 330 335

Gln Val Ala Ser Val Ile Asn Asp Leu His Ser Gln Phe Asp Leu Thr
 340 345 350

Ala Ser Ser Leu Ala Lys Val Arg Ala Tyr Glu Met Ala Val Ala Ala
 355 360 365

Ala Arg Glu Gln Val Thr Ala Thr Arg Arg Ser Val Ala Gly Gly Glu
 370 375 380

Arg Val Asn Arg Asp Val Leu Asp Ala Glu Gln Gln Phe Tyr Gly Ala
 385 390 395 400

Arg Arg Asp Leu Ala Glu Ala Arg Tyr Ala Tyr Leu Asn Ala Trp Leu
 405 410 415

Arg Leu Arg Gln Leu Ala Gly Val Leu Glu Asp Arg Asp Leu Ala Val
 420 425 430

Leu Ala Ala Tyr Phe Gly Ala Gly Glu Gly Arg Ala Gln Val Thr Ala
 435 440 445

Ala Ile Arg
 450

<210> 16
 <211> 479
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 16

Met Lys Gly Thr Pro Leu Leu Leu Ile Ala Ser Leu Ala Leu Gly Ala
 1 5 10 15

Cys Ser Leu Gly Pro Asp Phe Thr Arg Pro Asp Arg Pro Ala Pro Gly
 20 25 30

Glu Trp Ser Leu Gln Ala Ala Ala Gly Asn Pro Ser His Leu Ala Ala
 35 40 45

Ala Pro Leu Ala Ala Gln Trp Trp Thr Leu Phe Asp Asp Ala Gln Leu
 50 55 60

Asn Ala Leu Leu Gln Arg Val Gln Arg Ala Asn Leu Asp Leu Arg Ser
 65 70 75 80

Ala Ala Ala Arg Leu Gln Gln Ser Arg Ala Ile Arg Arg Ser Leu Gly
 85 90 95

Gly Asp Ala Leu Pro Ser Val Asp Ala Ser Gly Asn Tyr Gln Arg Gln
 100 105 110

Arg Thr Thr Ser Ala Gly Leu Phe Asp Pro Ser Gly Lys Ala Gly Lys
 115 120 125

Gly Asn Tyr Asn His Ala Leu Ala Gly Phe Asp Ala Ser Trp Glu Leu
 130 135 140

Asp Phe Trp Gly Arg Val Arg Arg Glu Leu Glu Ala Ala Asp Ala Thr
 145 150 155 160

Val Glu Ala Ser Glu Asn Glu Leu Arg Asp Val Gln Val Ser Val Leu
 165 170 175

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

Ala Ala Ile Ile Arg Asp Asn Leu Glu Thr Ala Arg Arg Ser Leu Glu
 195 200 205

Leu Thr Arg Thr Arg Leu Ala Asn Gly Val Ala Thr Asp Leu Glu Val
 210 215 220

Ala Gln Ala Leu Ala Gln Val Ala Ser Met Glu Ala Arg Leu Pro Glu
 225 230 235 240

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

Gly Ala Ser Pro Gly Ser Leu Leu Ala Glu Leu Gly Pro Ala Arg Ala

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

<210> 17
 <211> 487
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa
 <400> 17

Met Lys Arg Ser Tyr Pro Asn Leu Ser Arg Leu Ala Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15

Val Gly Thr Gly Leu Ala Ala Cys Ser Val Gly Pro Asp Tyr Gln Arg
20 25 30

Pro Gln Ser Pro Pro Pro Arg Val Ala Ser Glu His Leu Gly Glu Phe
35 40 45

Ser Gly Glu Arg Arg Glu Ala Pro Trp Trp Ser Phe Phe Asp Asp Pro
50 55 60

Gln Leu Val Arg Leu Val Asp Gln Ala Leu Ala Arg Asn His Asp Ile
65 70 75 80

Arg Glu Ala Arg Ala Asn Leu Arg Ser Ala Arg Ala Leu Phe Asp Asp
85 90 95

Arg Trp Leu Asp Gln Leu Pro Gln Val Thr Ser Gln Ala Gly Tyr Ser
100 105 110

Arg Ser Ile Glu Gln Gln Leu Asp Tyr Asp Gly Glu Pro Arg Arg Arg
115 120 125

Leu Ala Glu Ser Tyr Arg Ala Gly Phe Asp Ala Gln Trp Glu Ile Asp
130 135 140

Leu Phe Gly Arg Leu Gly Arg Leu Ser Asp Ala Ala Leu Ala Arg Ala
145 150 155 160

Glu Ala Ala Asp Ala Asp Leu Arg Leu Val Arg Leu Ser Ile Ala Ala
165 170 175

Asp Thr Ala Arg Ala Tyr Phe Glu Ile Gln Gly Tyr Gln Arg Arg Leu
180 185 190

Asp Val Ala Arg Ala Gln Val Arg Ser Trp Arg Asp Thr Leu Glu Leu
195 200 205

Thr Arg Ser Ser Leu Gln Leu Gly Ser Gly Leu Pro Glu Asp Val Glu
210 215 220

Asn Ala Gln Ala Asn Leu Leu Arg Ser Glu Ala Ala Ile Pro Pro Leu
225 230 235 240

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

485

<210> 18
 <211> 491
 <212> PRT
 <213> *Pseudomonas aeruginosa*

<400> 18

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

Gly Cys Ala Ala Val Gly Pro Asp Tyr Ala Pro Pro Ser Ala Ser Ala
 20 25 30

Pro Ala Ser Phe Gly Ala Met Pro Ala Gly Ile Asp Gly Ser Gly Val
 35 40 45

Glu Ile Glu Trp Trp Arg Gly Phe Asp Glu Pro Ala Leu Glu Ser Leu
 50 55 60

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

Arg Leu Asp Glu Ala Lys Ala Leu Leu Arg Glu Asn Arg Glu Glu Phe
 85 90 95

Leu Pro Arg Gly Gly Pro Ala Phe Asp Tyr Gln Ala Arg Arg Arg Gly
 100 105 110

Glu Val Glu Thr Pro Ala Gly Gln Gln Arg Asp Ile Glu Thr Tyr Arg
 115 120 125

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

Arg Ser Val Glu Ala Ala Glu Ala Gln Ala Gly Ser Arg Glu Ala Leu
 145 150 155 160

Leu Arg Asn Val Gln Ala Ser Val Ala Ala Thr Val Ala Met Ser Trp
 165 170 175

Phe Gln Leu Gln Gly Ile Glu Ala Glu Leu Ala Val Val His Asp Ile
 180 185 190

Ala Gly Asn Gln Arg Asp Ser Leu Glu Met Val Glu Arg Leu Val Ser
 195 200 205

Ala Gly Ser Ala His Glu Phe Asp Arg Leu Arg Ala Glu Ala Leu Leu
 210 215 220
 His Asn Val Glu Ala Ala Val Pro Asp Leu Glu Arg Arg Arg Ala Ala
 225 230 235 240
 Thr Arg Asn Ala Leu Ala Val Leu Leu Ala Glu Ala Pro Gln Ala Phe
 245 250 255
 Ser Pro Pro Val Ala Arg Ala Ser Gly Glu Arg Leu Thr Leu Arg Thr
 260 265 270
 Leu Gly Val Gly Asp Pro Ala Gly Leu Leu Ala Arg Arg Ala Asp Ile
 275 280 285
 Ala Ala Ala Glu Arg Asn Leu Ala Ala Ala Thr Ala Arg Ile Gly Val
 290 295 300
 Glu Thr Ala Gly Leu Tyr Pro Gln Val Glu Val Arg Gly Ser Ile Gly
 305 310 315 320
 Leu Val Ala Gly Asn Leu Asp Ala Leu Asp Glu Ser Gly Thr Ser Phe
 325 330 335
 Asn Val Leu Asn Pro Val Ile Arg Trp Ala Leu Leu Asp Arg Gly Arg
 340 345 350
 Val Trp Ala Arg Ile Ala Ala Ser Glu Ala Arg Ala Gln Glu Ala Leu
 355 360 365
 Ile Leu Tyr Asp Arg Thr Val Leu Arg Ala Leu Gln Glu Thr Asp Asp
 370 375 380
 Ala Phe Asn Gly Tyr Gly Ala Ala Ala Asp Arg Leu Arg Leu Arg Leu
 385 390 395 400
 Leu Glu Ala Thr Ala Asn Arg Glu Ala Ala Arg Leu Ala Arg Glu Arg
 405 410 415
 Phe Val Gln Gly Asp Gly Glu Tyr Leu Asp Val Leu Glu Ala Glu Arg
 420 425 430
 Ser Asp Tyr Leu Ser Arg Arg Ala Leu Ser Ile Ala Arg Thr Glu Gln
 435 440 445

Arg Leu Ala Val Val Gly Ile Tyr Lys Ala Leu Gly Gly Gly Trp Glu
 450 455 460

Ala Cys Ala Gly Ala Arg Arg Cys Gly Val Ala Thr Asp Asp Thr Ser
 465 470 475 480

Pro Gly Val Ala Arg Gln Arg Asp Ser Arg Ser
 485 490

<210> 19
 <211> 779
 <212> PRT
 <213> Fago PS17

<400> 19

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

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

Met Leu Ile Gly Asp Ala Gly Gly Ala Pro Gly Gln Thr Pro Asp Pro
 35 40 45

Val Pro Ser Pro Leu Gln Thr Lys Leu Val Arg Gln Arg Tyr Arg Val
 50 55 60

Lys Leu Asn Arg Leu Val Ala Ala Asp Asn Ser Pro Ser Val Leu Ile
 65 70 75 80

Ala Glu Ala Ile Leu Pro Gln Asp Val Gly Gly Trp Trp Met Arg Glu
 85 90 95

Leu Gly Leu Glu Asp Ser Asp Gly Asp Met Ile Ala Val Ala Asn Cys
 100 105 110

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

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

Leu Ile Asp Pro Asn Val Val Thr Ala Thr Val Ala Asp Leu Gln Asn
 145 150 155 160

Ala Leu Leu Glu Val Arg Ala Thr Asn Asp Ala Thr Gly Gln Met Thr
 165 170 175

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

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

Arg Ala Thr Ser Gly Ser Asn Pro Thr Thr Leu Gly Gly Tyr Gly Ile
 210 215 220

Thr Asp Ala Leu Ala Lys Ser Asp Ala Val Asp Val Pro Ala Pro Asn
 225 230 235 240

Lys Leu Leu Arg Leu Asn Ala Ala Ser Gln Leu Pro Ala Ser Ile Thr
 245 250 255

Gly Asn Ala Ala Thr Ala Thr Lys Leu Ala Val Pro Arg Met Leu Ser
 260 265 270

Phe Thr Gly Asp Ala Thr Gly Gly Ala Ser Phe Asp Gly Ser Ala Asn
 275 280 285

Ala Ala Val Ala Leu Thr Leu Ala Asn Ser Gly Val Thr Ala Gly Thr
 290 295 300

Tyr Ala Lys Val Thr Val Asn Gly Lys Gly Leu Val Thr Gly Gly Ala
 305 310 315 320

Gln Leu Thr Ala Ala Asp Ile Pro Ala Leu Asp Ala Gly Lys Val Val
 325 330 335

Ser Gly Val Leu Pro Ile Ala Arg Gly Gly Thr Gly Asn Ala Ile Gly
 340 345 350

Gln Ala Ala Thr Ala Val Lys Leu Ala Ser Pro Arg Thr Leu Ala Ile
 355 360 365

Ala Gly Asp Ala Thr Gly Ser Ala Ala Phe Asp Gly Ser Ala Asn Ala
 370 375 380

Ser Ile Ser Val Thr Leu Ala Asn Thr Gly Val Ala Val Gly Thr Tyr
 385 390 395 400

Thr Lys Val Arg Val Asn Ala Lys Gly Leu Val Thr Ser Ala Ala Ser
 405 410 415

Leu Thr Ala Asp Asp Val Pro Trp Leu Asp Ala Ser Lys Val Thr Ser
 420 425 430

Gly Met Phe Ala Asp Ala Arg Leu Pro Trp Tyr Ala Gln Gly Leu Cys
 435 440 445

Thr Ser Ala Pro Asn Thr Thr Asp Pro Asn Thr Thr Asn Ile Pro Leu
 450 455 460

Ile Leu Thr Asn His Glu Asn Gly Pro Ile Pro Gly Thr Phe Phe Tyr
 465 470 475 480

Ile Gln Thr Met Met Tyr Asn Gln Arg Asn Gly Asn Ala Ala Gln Ile
 485 490 495

Ala Val Arg Tyr Ala Ala Asn Ala Glu Met Tyr Val Arg Tyr Met Tyr
 500 505 510

Asp Val Gly Asn Lys Arg Gly Val Trp Ser Ala Trp Lys Arg Cys Asp
 515 520 525

Val Gly Gly Ser Phe Ala Lys Glu Ala Asp Gly Glu Leu Gly Gly Gly
 530 535 540

Val Asn Leu Asp Thr Met Ile Ala Ser Gly Trp Trp His Gln Pro Phe
 545 550 555 560

Ser Ala Asn Ala Lys Asn Gly Thr Asn Tyr Pro Val Gly Glu Ala Gly
 565 570 575

Leu Leu Thr Val His Ala Pro Thr Ser Thr Met Ile Tyr Gln Thr Tyr
 580 585 590

Arg Gly Tyr Ala Ala Gly Gly Leu Tyr Trp Arg Cys Arg Tyr Asn Gly
 595 600 605

Thr Trp Ser Ala Trp Tyr Arg Ala Trp Asp Ser Gly Asn Phe Asn Pro
 610 615 620

Ala Asn Tyr Val Ala Arg Ser Glu Tyr Ser Trp Ala Ser Leu Pro Gly
 625 630 635 640

Lys Pro Ala Thr Phe Pro Pro Ser Gly His Asn His Asp Ala Thr Gln
 645 650 655

Ile Thr Ser Gly Ile Leu Pro Leu Ala Arg Gly Gly Leu Gly Ala Asn
660 665 670

Asn Ala Val Thr Ala Arg Ser Asn Ile Gly Ala Gly Thr Ile Ala Thr
675 680 685

Ala Ser Leu Gly Ser Ser Gly Trp Trp Arg Asp Asn Asp Thr Gly Tyr
690 695 700

Ile Arg Gln Trp Gly Arg Val Thr Val Pro Gly Asp Gly Ser Ala Ala
705 710 715 720

Ile Thr Phe Pro Ile Ala Phe Pro Ser Val Cys Leu Gly Gly Phe Ala
725 730 735

Gly Gln Thr Ala Asn Phe His Pro Gly Thr Asp Ala Ser Thr Ser Phe
740 745 750

Tyr Asn Gln Ser Thr Thr Gly Ala Thr Leu Glu Asn Gly Tyr Gln Phe
755 760 765

Gln Ala Val Leu Leu Trp Glu Ala Phe Gly Arg
770 775

<210> 20
<211> 153
<212> PRT
<213> Fago PS17

<400> 20

Met Ser Ala Ser Asp Tyr Val Phe Ser Pro Ser Ala Arg Val Phe Tyr
1 5 10 15

Pro Val Ala Leu Arg Glu Val Tyr Glu Thr Gly Glu Gly Trp Pro Ala
20 25 30

Asp Ala Val Pro Val Ser Asn Glu Arg Tyr Leu His Leu Leu Ala Gly
35 40 45

Gln Glu Ala Gly Met Arg Ile Ala Ala Asn Ala Ser Gly Gln Pro Val
50 55 60

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

Arg Ala Trp Arg Asp Ala Gln Leu Ala Gln Thr Asp Gly Met Val Ala
85 90 95

Arg His Arg Asp Glu Arg Asp Leu Gly Asn Asp Thr Thr Leu Gln Pro
 100 105 110

Glu Gln Phe Val Glu Val Met Asn Tyr Arg Ala Ala Leu Arg Asn Trp
 115 120 125

Pro Asp Asp Pro Ala Phe Pro Asp Pro Ala Ser Arg Pro Glu Pro Pro
 130 135 140

Ala Trp Leu Ala Glu Glu Gly Thr Asn
 145 150

<210> 21
 <211> 178
 <212> PRT
 <213> *Vibrio harveyi*

<400> 21

Met Ala Gly Leu Lys Leu Gln Phe Thr Glu Ala Gly Leu Ala Glu Leu
 1 5 10 15

Ile Ser Ala Lys Glu Gln Gly Ile Lys Gly Ala Ile Ser His Leu Ala
 20 25 30

Phe Gly Asp Met Ala Tyr Thr Pro Asn Lys Ser Gln Thr Arg Leu Gln
 35 40 45

Arg Glu Gln Glu Arg Val Glu Ile Ala Asp Tyr Gln Asp Gly Gly Leu
 50 55 60

Ser Leu Arg Met Ala Ala Val Phe Ser Gly Glu Lys Glu Tyr Ala Ile
 65 70 75 80

Arg Glu Ile Gly Val Phe Leu Ser Thr Gly Thr Leu Leu Gly Val Tyr
 85 90 95

Ser Gln Ser Gly Lys Thr Ile Gly Tyr Arg Thr Pro Ser Val Lys Val
 100 105 110

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

Thr Val Val Val Gly Thr Glu Asn Leu Asn Leu Ile Leu Asp Ala Glu
 130 135 140

Phe Met Glu Ser Ala Ala Ser Phe Met Arg Leu Gly Ala Ala Thr Ile
 145 150 155 160

Arg Gln Ala Leu Trp Asn Leu Gln Leu Ser Glu Lys Ile Arg Ala Leu
 165 170 175

Glu Ser

<210> 22
 <211> 410
 <212> PRT
 <213> *Vibrio harveyi*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (18)..(18)
 <223> Outra

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (22)..(22)
 <223> Outra

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (340)..(340)
 <223> Outra

<400> 22

Met Gly Thr Ile Thr Glu Gln Ile Glu Ser Leu Lys Thr Ala Ser Ala
 1 5 10 15

Glu Xaa Thr Ala Ala Xaa Gln Ala Leu Ala Gln Glu Val Ser Gly Lys
 20 25 30

Met Ala Ala Ile Asp Lys Lys Thr Asn Asp Ser Ile Ala Lys Val Lys
 35 40 45

Ser Thr Tyr Asp Gln Lys Ala Asn Gly Leu Thr Ile Ile Ala Thr Asp
 50 55 60

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

Ile Tyr Asp Ala Gln Gly Asn Pro Asn Ile Met Cys Val Ile Pro Arg
 85 90 95

Phe Asn Ile Glu Asp Leu Gly Leu Thr Glu Leu Asp Leu Gly Thr Gly
 100 105 110

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

Val Gly Lys Tyr Leu Ala Ser Ser Ala Ala Gly Gly Ser Ala Val Ile
 130 135 140

Gly Gly Pro Gln Pro Arg Thr Ser Val Asn Tyr Asp Thr Ala Lys Gln
 145 150 155 160

Leu Cys Thr Gln Lys Gly Asp Asn Trp His Leu Met Ser Ile His Glu
 165 170 175

Trp Ala Ala Ile Ala Leu Trp Ser Leu Ala Asn Gly Thr Val Pro Arg
 180 185 190

Gly Asn Thr Asn Tyr Gly Arg Ser His Glu Ala Lys Trp Glu Thr Ala
 195 200 205

Arg Arg Ala Asp Asn Gly Leu Pro Gly Asp Thr Ser Gly Thr Gly Arg
 210 215 220

Thr Asp Thr Gly Lys Gly Pro Ala Thr Trp Asn His Asp His Thr Glu
 225 230 235 240

Phe Gly Val Cys Asp Leu Val Gly Asn Val Trp Glu Trp Ile Asp Gln
 245 250 255

Met Lys Leu Asp Asp Gly Gln Ile Leu Thr Thr Leu Asp Asn Asn Pro
 260 265 270

Gly Val Ala Glu Ala Asn Trp His Arg His Pro Ala Tyr Phe Asp Ser
 275 280 285

Thr Ser Asp Asn Gln Ser Gly Ala Gly Asn Asn Gly Ser Pro Val Leu
 290 295 300

Ser Asn Ser Val Thr Lys Arg Asn Gly Pro Ala Asp Asp Asp Ser His
 305 310 315 320

Asp Tyr Pro Tyr Met His Asn Pro His Phe Ala Ala Ile Thr Lys Ser
 325 330 335

Ala Gly Tyr Xaa Pro Asn Glu Leu Leu Arg Arg Leu Leu Ile Glu Ser

340

345

350

Ala Thr Ala Thr Thr Val Gly Gly Gly Leu Trp Cys Arg Asn Tyr Gly
 355 360 365

Asp Arg Phe Pro Leu Arg Gly Gly Tyr Trp Asn Asn Gly Ser Ser Ala
 370 375 380

Gly Leu Gly Ala Leu Tyr Leu Ser Tyr Ala Arg Ser Asn Ser Asn Ser
 385 390 395 400

Ser Ile Gly Phe Arg Pro Ala Phe Phe Val
 405 410

<210> 23

<211> 91

<212> PRT

<213> *Vibrio harveyi*

<400> 23

Met Phe Ser Tyr Ile Phe Gln Gly Arg Thr His Thr Asp Thr Thr Arg
 1 5 10 15

Ser Tyr Met Asn Ser Leu Gly Met Thr Gln Glu Gln Val Asp Ser Val
 20 25 30

Leu Gln Gln Lys Asp Phe Glu Glu Ala Gln Asn Leu Val Lys Arg Gln
 35 40 45

Glu Ala Tyr Arg Leu Glu Ser Asp Pro Leu Phe Met Glu Trp Gln Tyr
 50 55 60

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

Ile Lys Ala Arg Tyr Pro Leu Pro Ser Glu Ser
 85 90

<210> 24

<211> 381

<212> PRT

<213> *Fago Bordetella BPP-1*

<400> 24

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

Thr Phe Thr Gly Ala Ala Arg Glu Ile Thr Val Asp Thr Asp Lys Asn
 20 25 30

Thr Val Val Val His Asp Gly Ala Thr Ala Gly Gly Phe Pro Leu Ala
 35 40 45

Arg His Asp Leu Val Lys Thr Ala Phe Ile Lys Ala Asp Lys Ser Ala
 50 55 60

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

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

Ala Ile Thr Met Pro Ala Leu Thr Ala Gly Thr Asp Tyr Ala Ile Tyr
 100 105 110

Val Cys Asp Asp Gly Thr Val Arg Ala Asp Ser Asn Phe Ser Ala Pro
 115 120 125

Thr Gly Tyr Thr Ser Thr Thr Ala Arg Lys Val Gly Gly Phe His Tyr
 130 135 140

Ala Pro Gly Ser Asn Ala Ala Ala Gln Ala Gly Gly Asn Thr Thr Ala
 145 150 155 160

Gln Ile Asn Glu Tyr Ser Leu Trp Asp Ile Lys Phe Arg Pro Ala Ala
 165 170 175

Leu Asp Pro Arg Gly Met Thr Leu Val Ala Gly Ala Phe Trp Ala Asp
 180 185 190

Ile Tyr Leu Leu Gly Val Asn His Leu Thr Asp Gly Thr Ser Lys Tyr
 195 200 205

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

Phe Gly Gly Asp Gly Ser Ala Ala Tyr Ser Asp Gly Ala Trp Tyr Asn
 225 230 235 240

Phe Ala Glu Val Met Thr His His Gly Lys Arg Leu Pro Asn Tyr Asn
 245 250 255

Glu Phe Gln Ala Leu Ala Phe Gly Thr Thr Glu Ala Thr Ser Ser Gly

260

265

270

Gly Thr Asp Val Pro Thr Thr Gly Val Asn Gly Thr Gly Ala Thr Ser
 275 280 285

Ala Trp Asn Ile Phe Thr Ser Lys Trp Gly Val Val Gln Ala Ser Gly
 290 295 300

Cys Leu Trp Thr Trp Gly Asn Glu Phe Gly Gly Val Asn Gly Ala Ser
 305 310 315 320

Glu Tyr Thr Ala Asn Thr Gly Gly Arg Gly Ser Val Tyr Ala Gln Pro
 325 330 335

Ala Ala Ala Leu Phe Gly Gly Ala Trp Asn Gly Thr Ser Leu Ser Gly
 340 345 350

Ser Arg Ala Ala Leu Trp Tyr Ser Gly Pro Ser Phe Ser Phe Ala Phe
 355 360 365

Phe Gly Ala Arg Gly Val Cys Asp His Leu Ile Leu Glu
 370 375 380

<210> 25
 <211> 669
 <212> PRT
 <213> Bacteriófago P2

<400> 25

Met Ser Ile Lys Phe Arg Thr Val Ile Thr Thr Ala Gly Ala Ala Lys
 1 5 10 15

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

Met Ala Val Gly Asp Gly Gly Gly Lys Leu Pro Val Pro Asp Ala Gly
 35 40 45

Gln Thr Gly Leu Ile His Glu Val Trp Arg His Ala Leu Asn Lys Ile
 50 55 60

Ser Gln Asp Lys Arg Asn Ser Asn Tyr Ile Ile Ala Glu Leu Val Ile
 65 70 75 80

Pro Pro Glu Val Gly Gly Phe Trp Met Arg Glu Leu Gly Leu Tyr Asp
 85 90 95

Asp Ala Gly Thr Leu Ile Ala Val Ala Asn Met Ala Glu Ser Tyr Lys
 100 105 110

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

Ile Ile Val Ser Ser Val Ala Ser Val Glu Leu Thr Ile Asp Thr Thr
 130 135 140

Thr Val Met Ala Thr Gln Asp Tyr Val Asp Asp Lys Ile Ala Glu His
 145 150 155 160

Glu Gln Ser Arg Arg His Pro Asp Ala Ser Leu Thr Ala Lys Gly Phe
 165 170 175

Thr Gln Leu Ser Ser Ala Thr Asn Ser Thr Ser Glu Thr Leu Ala Ala
 180 185 190

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

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

Ser Ala Thr Asn Ser Thr Ser Glu Thr Leu Ala Ala Thr Pro Lys Ala
 225 230 235 240

Val Lys Thr Val Met Asp Glu Thr Asn Lys Lys Ala Pro Leu Asn Ser
 245 250 255

Pro Ala Leu Thr Gly Thr Pro Thr Thr Pro Thr Ala Arg Gln Gly Thr
 260 265 270

Asn Asn Thr Gln Ile Ala Asn Thr Ala Phe Val Met Ala Ala Ile Ala
 275 280 285

Ala Leu Val Asp Ser Ser Pro Asp Ala Leu Asn Thr Leu Asn Glu Leu
 290 295 300

Ala Ala Ala Leu Gly Asn Asp Pro Asn Phe Ala Thr Thr Met Thr Asn
 305 310 315 320

Ala Leu Ala Gly Lys Gln Pro Lys Asp Ala Thr Leu Thr Ala Leu Ala
 325 330 335

Gly Leu Ala Thr Ala Ala Asp Arg Phe Pro Tyr Phe Thr Gly Asn Asp
 340 345 350

Val Ala Ser Leu Ala Thr Leu Thr Lys Val Gly Arg Asp Ile Leu Ala
 355 360 365

Lys Ser Thr Val Ala Ala Val Ile Glu Tyr Leu Gly Leu Gln Glu Thr
 370 375 380

Val Asn Arg Ala Gly Asn Ala Val Gln Lys Asn Gly Asp Thr Leu Ser
 385 390 395 400

Gly Gly Leu Thr Phe Glu Asn Asp Ser Ile Leu Ala Trp Ile Arg Asn
 405 410 415

Thr Asp Trp Ala Lys Ile Gly Phe Lys Asn Asp Ala Asp Gly Asp Thr
 420 425 430

Asp Ser Tyr Met Trp Phe Glu Thr Gly Asp Asn Gly Asn Glu Tyr Phe
 435 440 445

Lys Trp Arg Ser Arg Gln Ser Thr Thr Thr Lys Asp Leu Met Thr Leu
 450 455 460

Lys Trp Asp Ala Leu Asn Ile Leu Val Asn Ala Val Ile Asn Gly Cys
 465 470 475 480

Phe Gly Val Gly Thr Thr Asn Ala Leu Gly Gly Ser Ser Ile Val Leu
 485 490 495

Gly Asp Asn Asp Thr Gly Phe Lys Gln Asn Gly Asp Gly Ile Leu Asp
 500 505 510

Val Tyr Ala Asn Ser Gln Arg Val Phe Arg Phe Gln Asn Gly Val Ala
 515 520 525

Ile Ala Phe Lys Asn Ile Gln Ala Gly Asp Ser Lys Lys Phe Ser Leu
 530 535 540

Ser Ser Ser Asn Thr Ser Thr Lys Asn Ile Thr Phe Asn Leu Trp Gly
 545 550 555 560

Ala Ser Thr Arg Pro Val Val Ala Glu Leu Gly Asp Glu Ala Gly Trp
 565 570 575

His Phe Tyr Ser Gln Arg Asn Thr Asp Asn Ser Val Ile Phe Ala Val

580

585

590

Asn Gly Gln Met Gln Pro Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Ser Arg Tyr
 595 600 605

Val Lys Asp Val Arg Leu Gly Thr Arg Val Val Gln Leu Met Ala Arg
 610 615 620

Gly Gly Arg Tyr Glu Lys Ala Gly His Thr Ile Thr Gly Leu Arg Ile
 625 630 635 640

Ile Gly Glu Val Asp Gly Asp Asp Glu Ala Ile Phe Arg Pro Ile Gln
 645 650 655

Lys Tyr Ile Asn Gly Thr Trp Tyr Asn Val Ala Gln Val
 660 665

<210> 26

<211> 175

<212> PRT

<213> Bacteriófago P2

<400> 26

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

Gln Tyr Gln Leu Thr Lys Asn Phe Asp Val Ile Trp Leu Trp Ser Glu
 20 25 30

Asp Gly Lys Asn Trp Tyr Glu Glu Val Lys Asn Phe Gln Pro Asp Thr
 35 40 45

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

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

Asp Ile Thr Ser Asn Arg Arg Ala Asp Asp Ser Gly Lys Trp Met Phe
 85 90 95

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

Gln Gln Ala Glu Ser Gln Lys Ala Ala Leu Leu Ser Glu Ala Glu Asn
 115 120 125

Val Ile Gln Pro Leu Glu Arg Ala Val Arg Leu Asn Met Ala Thr Asp
 130 135 140

Glu Glu Arg Ala Arg Leu Glu Ser Trp Glu Arg Tyr Ser Val Leu Val
 145 150 155 160

Ser Arg Val Asp Pro Ala Asn Pro Glu Trp Pro Glu Met Pro Gln
 165 170 175

<210> 27

<211> 676

<212> PRT

<213> Sequência Artificial

<220>

<223> Constructo sintético – bacteriocina hmw modificada-R2-P2 fusão da proteína

<400> 27

Met Ala Thr Asn Thr Pro Lys Tyr Gly Gly Leu Leu Thr Asp Ile Gly
 1 5 10 15

Ala Ala Ala Leu Ala Thr Ala Ser Ala Ala Gly Lys Lys Trp Gln Pro
 20 25 30

Thr His Met Leu Ile Gly Asp Ala Gly Gly Ala Pro Gly Asp Thr Pro
 35 40 45

Asp Pro Leu Pro Ser Ala Ala Gln Lys Ser Leu Ile Asn Gln Arg His
 50 55 60

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

Leu Val Ala Glu Val Val Leu Pro Val Glu Val Gly Gly Phe Trp Ile
 85 90 95

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

Asn Cys Pro Pro Ser Tyr Lys Ala Ala Met Glu Ser Gly Ser Ala Arg
 115 120 125

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

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

145		150		155		160
Lys Glu Lys Leu Ala Glu His Glu Gln Ser Arg Arg His Pro Asp Ala						
		165		170		175
Ser Leu Thr Ala Lys Gly Phe Thr Gln Leu Ser Ser Ala Thr Asn Ser						
		180		185		190
Thr Ser Glu Thr Leu Ala Ala Thr Pro Lys Ala Val Lys Ala Ala Tyr						
		195		200		205
Asp Leu Ala Asn Gly Lys Tyr Thr Ala Gln Asp Ala Thr Thr Ala Arg						
		210		215		220
Lys Gly Leu Val Gln Leu Ser Ser Ala Thr Asn Ser Thr Ser Glu Thr						
		225		230		235
Leu Ala Ala Thr Pro Lys Ala Val Lys Thr Val Met Asp Glu Thr Asn						
		245		250		255
Lys Lys Ala Pro Leu Asn Ser Pro Ala Leu Thr Gly Thr Pro Thr Thr						
		260		265		270
Pro Thr Ala Arg Gln Gly Thr Asn Asn Thr Gln Ile Ala Asn Thr Ala						
		275		280		285
Phe Val Met Ala Ala Ile Ala Ala Leu Val Asp Ser Ser Pro Asp Ala						
		290		295		300
Leu Asn Thr Leu Asn Glu Leu Ala Ala Ala Leu Gly Asn Asp Pro Asn						
		305		310		315
Phe Ala Thr Thr Met Thr Asn Ala Leu Ala Gly Lys Gln Pro Lys Asp						
		325		330		335
Ala Thr Leu Thr Ala Leu Ala Gly Leu Ala Thr Ala Ala Asp Arg Phe						
		340		345		350
Pro Tyr Phe Thr Gly Asn Asp Val Ala Ser Leu Ala Thr Leu Thr Lys						
		355		360		365
Val Gly Arg Asp Ile Leu Ala Lys Ser Thr Val Ala Ala Val Ile Glu						
		370		375		380
Tyr Leu Gly Leu Gln Glu Thr Val Asn Arg Ala Gly Asn Ala Val Gln						
		385		390		395
						400

Lys Asn Gly Asp Thr Leu Ser Gly Gly Leu Thr Phe Glu Asn Asp Ser
 405 410 415

Ile Leu Ala Trp Ile Arg Asn Thr Asp Trp Ala Lys Ile Gly Phe Lys
 420 425 430

Asn Asp Ala Asp Gly Asp Thr Asp Ser Tyr Met Trp Phe Glu Thr Gly
 435 440 445

Asp Asn Gly Asn Glu Tyr Phe Lys Trp Arg Ser Arg Gln Ser Thr Thr
 450 455 460

Thr Lys Asp Leu Met Thr Leu Lys Trp Asp Ala Leu Asn Ile Leu Val
 465 470 475 480

Asn Ala Val Ile Asn Gly Cys Phe Gly Val Gly Thr Thr Asn Ala Leu
 485 490 495

Gly Gly Ser Ser Ile Val Leu Gly Asp Asn Asp Thr Gly Phe Lys Gln
 500 505 510

Asn Gly Asp Gly Ile Leu Asp Val Tyr Ala Asn Ser Gln Arg Val Phe
 515 520 525

Arg Phe Gln Asn Gly Val Ala Ile Ala Phe Lys Asn Ile Gln Ala Gly
 530 535 540

Asp Ser Lys Lys Phe Ser Leu Ser Ser Ser Asn Thr Ser Thr Lys Asn
 545 550 555 560

Ile Thr Phe Asn Leu Trp Gly Ala Ser Thr Arg Pro Val Val Ala Glu
 565 570 575

Leu Gly Asp Glu Ala Gly Trp His Phe Tyr Ser Gln Arg Asn Thr Asp
 580 585 590

Asn Ser Val Ile Phe Ala Val Asn Gly Gln Met Gln Pro Ser Asn Trp
 595 600 605

Gly Asn Phe Asp Ser Arg Tyr Val Lys Asp Val Arg Leu Gly Thr Arg
 610 615 620

Val Val Gln Leu Met Ala Arg Gly Gly Arg Tyr Glu Lys Ala Gly His
 625 630 635 640

Thr Ile Thr Gly Leu Arg Ile Ile Gly Glu Val Asp Gly Asp Asp Glu
645 650 655

Ala Ile Phe Arg Pro Ile Gln Lys Tyr Ile Asn Gly Thr Trp Tyr Asn
660 665 670

Val Ala Gln Val
675

<210> 28
<211> 913
<212> PRT
<213> Bacteriófago L-413c

<400> 28

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

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

Met Ala Val Gly Asp Gly Asn Gly Lys Leu Pro Val Pro Asp Ala Gly
35 40 45

Gln Thr Lys Leu Val His Glu Val Trp Arg His Ala Leu Asn Lys Val
50 55 60

Ser Val Asp Asn Lys Asn Lys Asn Tyr Ile Val Ala Glu Leu Val Val
65 70 75 80

Pro Pro Glu Val Gly Gly Phe Trp Met Arg Glu Leu Gly Leu Tyr Asp
85 90 95

Asp Ala Gly Thr Leu Ile Ala Val Ser Asn Met Ala Glu Ser Tyr Lys
100 105 110

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

Ile Ile Leu Ser Asn Val Ala Ser Val Glu Leu Ser Ile Asp Ala Ser
130 135 140

Thr Val Met Ala Thr Gln Asp Tyr Val Asp Asp Lys Ile Ala Glu His
145 150 155 160

Glu Gln Ser Arg Arg His Pro Asp Ala Thr Leu Thr Glu Lys Gly Phe

165										170					175				
Thr	Gln	Leu	Ser	Ser	Ala	Thr	Asn	Ser	Thr	Ser	Glu	Lys	Leu	Ala	Ala				
			180					185					190						
Thr	Pro	Lys	Ala	Val	Lys	Ala	Ala	Asn	Asp	Asn	Ala	Asn	Ser	Arg	Leu				
		195					200					205							
Ala	Lys	Asn	Gln	Asn	Gly	Ala	Asp	Ile	Gln	Asp	Lys	Ser	Ala	Phe	Leu				
	210					215					220								
Asp	Asn	Ile	Gly	Val	Thr	Ser	Leu	Thr	Phe	Met	Lys	His	Asn	Gly	Met				
225					230					235					240				
Ile	Pro	Thr	Thr	Asp	Asn	Leu	Asp	Ser	Tyr	Gly	Pro	Glu	Glu	Lys	Tyr				
				245					250					255					
Leu	Gly	Thr	Trp	Ser	Cys	Pro	Ser	Gln	Ser	Thr	Ala	Lys	Pro	Glu	Ser				
			260					265					270						
Gly	Tyr	Pro	Glu	Asp	Lys	Gly	Asn	Gly	Val	Leu	Glu	Val	Phe	Asn	Ala				
		275					280					285							
Gly	Arg	Phe	His	Cys	Thr	Gln	Arg	Tyr	Thr	Thr	Arg	Thr	Gly	Asn	Ile				
	290					295					300								
Tyr	Ile	Arg	Met	Leu	Asp	Ala	Glu	Trp	Asn	Pro	Ala	Ser	Pro	Thr	Trp				
305					310					315					320				
Ser	Ala	Trp	Arg	Val	Ile	Thr	Ser	Gly	Thr	Arg	Pro	Leu	Ser	Thr	Ser				
				325					330					335					
Ile	Asp	Leu	Asn	Ser	Leu	Gly	Gly	Ala	Glu	His	Leu	Gly	Ile	Trp	Arg				
			340					345					350						
Asn	Ser	Ser	Thr	Ser	Ile	Ala	Ser	Phe	Glu	Arg	His	Phe	Pro	Glu	Asp				
		355					360					365							
Gly	Ser	Phe	Gly	Gln	Gly	Ile	Leu	Glu	Val	Phe	Glu	Gly	Gly	Leu	Tyr				
	370					375					380								
Gly	Arg	Met	Gln	Arg	Tyr	Thr	Thr	Arg	Ser	Gly	Thr	Met	Tyr	Ile	Arg				
385					390					395					400				
Gly	Leu	Thr	Ala	Ser	Trp	Asp	Ala	Glu	Asn	Pro	Gln	Trp	Glu	Asp	Trp				
				405					410					415					

Ile Ala Val Gly Tyr Gln Ser Thr Gly Trp Thr Tyr Ser Gly Asp Leu
 420 425 430

Asp Asp Leu Leu Lys Pro Gly Ile Tyr Ser Val Thr Lys Gln Ala Thr
 435 440 445

Asn Ala Pro Val Thr Asp Ser Lys Asp Leu Ala Val Gly Ser Ile Val
 450 455 460

Glu Val Lys Lys Arg Cys Asp Ile Glu Ser Tyr Ile Gln Thr Tyr Thr
 465 470 475 480

Thr Val Ser Ala Thr Asp Ala Tyr Lys Asn Arg Thr Phe Gln Arg Thr
 485 490 495

Arg Ala Ser Gly Glu Ala Asp Trp Gly Glu Trp Ala Glu Val Tyr Asn
 500 505 510

Ser Lys Ser Leu Leu Thr Lys Leu Gly Val Gly Gly Val Thr Asp Arg
 515 520 525

Leu Ser Ser Leu Asp Trp Gln Thr Tyr Asp Phe Val Pro Gly Ser Met
 530 535 540

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

Trp Gly Val Ile Asp Thr Asn Leu Ile Asn Ile Thr Val Gly Pro Ser
 565 570 575

Glu Gly Gly Gly Val Ala Arg Ser Met Gln Val Trp Arg Ser Thr Ser
 580 585 590

Asn Lys Thr Asn Tyr Arg Phe Phe Thr Val Arg Leu Tyr Gly Asn Pro
 595 600 605

Gly Glu Arg Ser Phe Asn Ile Arg Arg Leu Pro Ile Ile Asp Glu Ala
 610 615 620

Gln Thr Trp Glu Ala Lys Gln Thr Phe Ser Ala Gly Leu Ser Gly Glu
 625 630 635 640

Leu Ser Gly Asn Ala Ala Thr Ala Thr Lys Leu Lys Thr Ala Arg Lys
 645 650 655

Ile Asn Asn Val Ser Phe Asp Gly Thr Ser Asp Ile Asn Leu Thr Pro
 660 665 670

Lys Asn Ile Gly Ala Phe Ala Ser Gly Lys Thr Gly Asp Thr Val Ala
 675 680 685

Asn Asp Lys Ala Val Gly Trp Asn Trp Ser Ser Gly Ala Tyr Asn Ala
 690 695 700

Thr Thr Gly Gly Ala Ser Thr Leu Ile Leu His Phe Asn Ile Gly Glu
 705 710 715 720

Gly Ser Cys Pro Ala Ala Gln Phe Arg Val Asn Tyr Lys Asn Gly Gly
 725 730 735

Ile Phe Tyr Arg Ser Ala Arg Asp Gly Tyr Gly Phe Glu Ala Asp Trp
 740 745 750

Ser Glu Phe Tyr Thr Thr Thr Arg Lys Pro Thr Ala Gly Asp Val Gly
 755 760 765

Ala Leu Ser Leu Ser Gly Gly Gln Leu Asn Gly Ala Leu Gly Ile Gly
 770 775 780

Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Asn Ser Ile Val Leu Gly Asp Asn Asp
 785 790 795 800

Thr Gly Phe Lys Gln Asn Gly Asp Gly Asn Leu Asp Val Tyr Ala Asn
 805 810 815

Ser Val His Val Met Arg Phe Val Ser Gly Ser Ile Gln Ser Asn Lys
 820 825 830

Thr Ile Asn Ile Thr Gly Arg Val Asn Pro Ser Asp Tyr Gly Asn Phe
 835 840 845

Asp Ser Arg Tyr Val Arg Asp Val Arg Leu Gly Thr Arg Val Val Gln
 850 855 860

Thr Met Gln Lys Gly Val Met Tyr Glu Lys Ser Gly His Val Ile Thr
 865 870 875 880

Gly Leu Gly Ile Val Gly Glu Val Asp Gly Asp Asp Pro Ala Val Phe
 885 890 895

Arg Pro Ile Gln Lys Tyr Ile Asn Gly Thr Trp Tyr Asn Val Ala Gln
 900 905 910

Val

<210> 29
 <211> 175
 <212> PRT
 <213> Bacteriófago L-413c

<400> 29

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

Gln Tyr Gln Leu Thr Lys Asn Phe Asp Val Ile Trp Leu Trp Ser Glu
 20 25 30

Asp Gly Lys Asn Trp Tyr Glu Glu Val Ser Asn Phe Gln Glu Asp Thr
 35 40 45

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

Asp Ala Ser Thr Phe Asn Pro Glu Gly Phe Ser Val Val Glu Val Pro
 65 70 75 80

Asp Ile Thr Ala Asn Arg Arg Ala Asp Asp Ser Gly Lys Trp Met Phe
 85 90 95

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

Gln Gln Ala Glu Ser Gln Lys Ala Ala Leu Leu Ser Glu Ala Glu Ser
 115 120 125

Val Ile Gln Pro Leu Glu Arg Ala Val Arg Leu Asn Met Ala Thr Asp
 130 135 140

Glu Glu Arg Ser Arg Leu Glu Ala Trp Glu Arg Tyr Ser Val Leu Val
 145 150 155 160

Ser Arg Val Asp Pro Ala Asn Pro Glu Trp Pro Glu Met Pro Gln
 165 170 175

<210> 30
 <211> 920

<212> PRT

<213> Sequência artificial

<220>

<223> Constructo sintético – bacteriocina hmw modificada -R2- L413 C fusão n proteína

<400> 30

Met Ala Thr Asn Thr Pro Lys Tyr Gly Gly Leu Leu Thr Asp Ile Gly
 1 5 10 15

Ala Ala Ala Leu Ala Thr Ala Ser Ala Ala Gly Lys Lys Trp Gln Pro
 20 25 30

Thr His Met Leu Ile Gly Asp Ala Gly Gly Ala Pro Gly Asp Thr Pro
 35 40 45

Asp Pro Leu Pro Ser Ala Ala Gln Lys Ser Leu Ile Asn Gln Arg His
 50 55 60

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

Leu Val Ala Glu Val Val Leu Pro Val Glu Val Gly Gly Phe Trp Ile
 85 90 95

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

Asn Cys Pro Pro Ser Tyr Lys Ala Ala Met Glu Ser Gly Ser Ala Arg
 115 120 125

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

Gln Leu Leu Ile Asp Asn Gly Ile Ile Tyr Ala Thr Gln Asp Trp Val
 145 150 155 160

Lys Glu Lys Val Ala Glu His Glu Gln Ser Arg Arg His Pro Asp Ala
 165 170 175

Thr Leu Thr Glu Lys Gly Phe Thr Gln Leu Ser Ser Ala Thr Asn Ser
 180 185 190

Thr Ser Glu Lys Leu Ala Ala Thr Pro Lys Ala Val Lys Ala Ala Asn
 195 200 205

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

Gln Asp Lys Ser Ala Phe Leu Asp Asn Ile Gly Val Thr Ser Leu Thr
 225 230 235 240

Phe Met Lys His Asn Gly Met Ile Pro Thr Thr Asp Asn Leu Asp Ser
 245 250 255

Tyr Gly Pro Glu Glu Lys Tyr Leu Gly Thr Trp Ser Cys Pro Ser Gln
 260 265 270

Ser Thr Ala Lys Pro Glu Ser Gly Tyr Pro Glu Asp Lys Gly Asn Gly
 275 280 285

Val Leu Glu Val Phe Asn Ala Gly Arg Phe His Cys Thr Gln Arg Tyr
 290 295 300

Thr Thr Arg Thr Gly Asn Ile Tyr Ile Arg Met Leu Asp Ala Glu Trp
 305 310 315 320

Asn Pro Ala Ser Pro Thr Trp Ser Ala Trp Arg Val Ile Thr Ser Gly
 325 330 335

Thr Arg Pro Leu Ser Thr Ser Ile Asp Leu Asn Ser Leu Gly Gly Ala
 340 345 350

Glu His Leu Gly Ile Trp Arg Asn Ser Ser Thr Ser Ile Ala Ser Phe
 355 360 365

Glu Arg His Phe Pro Glu Asp Gly Ser Phe Gly Gln Gly Ile Leu Glu
 370 375 380

Val Phe Glu Gly Gly Leu Tyr Gly Arg Met Gln Arg Tyr Thr Thr Arg
 385 390 395 400

Ser Gly Thr Met Tyr Ile Arg Gly Leu Thr Ala Ser Trp Asp Ala Glu
 405 410 415

Asn Pro Gln Trp Glu Asp Trp Ile Ala Val Gly Tyr Gln Ser Thr Gly
 420 425 430

Trp Thr Tyr Ser Gly Asp Leu Asp Asp Leu Leu Lys Pro Gly Ile Tyr
 435 440 445

Ser Val Thr Lys Gln Ala Thr Asn Ala Pro Val Thr Asp Ser Lys Asp

450		455		460
Leu Ala Val Gly Ser Ile Val Glu Val Lys Lys Arg Cys Asp Ile Glu				
465		470		475
Ser Tyr Ile Gln Thr Tyr Thr Thr Val Ser Ala Thr Asp Ala Tyr Lys				
		485		490
Asn Arg Thr Phe Gln Arg Thr Arg Ala Ser Gly Glu Ala Asp Trp Gly				
		500		505
Glu Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ser Lys Ser Leu Leu Thr Lys Leu Gly				
		515		520
Val Gly Gly Val Thr Asp Arg Leu Ser Ser Leu Asp Trp Gln Thr Tyr				
		530		535
Asp Phe Val Pro Gly Ser Met Ile Thr Val Arg Leu Ser Asp Met Thr				
		545		550
Asn Ile Pro Asp Gly Met Glu Trp Gly Val Ile Asp Thr Asn Leu Ile				
		565		570
Asn Ile Thr Val Gly Pro Ser Glu Gly Gly Gly Val Ala Arg Ser Met				
		580		585
Gln Val Trp Arg Ser Thr Ser Asn Lys Thr Asn Tyr Arg Phe Phe Thr				
		595		600
Val Arg Leu Tyr Gly Asn Pro Gly Glu Arg Ser Phe Asn Ile Arg Arg				
		610		615
Leu Pro Ile Ile Asp Glu Ala Gln Thr Trp Glu Ala Lys Gln Thr Phe				
		625		630
Ser Ala Gly Leu Ser Gly Glu Leu Ser Gly Asn Ala Ala Thr Ala Thr				
		645		650
Lys Leu Lys Thr Ala Arg Lys Ile Asn Asn Val Ser Phe Asp Gly Thr				
		660		665
Ser Asp Ile Asn Leu Thr Pro Lys Asn Ile Gly Ala Phe Ala Ser Gly				
		675		680
Lys Thr Gly Asp Thr Val Ala Asn Asp Lys Ala Val Gly Trp Asn Trp				
		690		695

Ser Ser Gly Ala Tyr Asn Ala Thr Thr Gly Gly Ala Ser Thr Leu Ile
705 710 715 720

Leu His Phe Asn Ile Gly Glu Gly Ser Cys Pro Ala Ala Gln Phe Arg
725 730 735

Val Asn Tyr Lys Asn Gly Gly Ile Phe Tyr Arg Ser Ala Arg Asp Gly
740 745 750

Tyr Gly Phe Glu Ala Asp Trp Ser Glu Phe Tyr Thr Thr Thr Arg Lys
755 760 765

Pro Thr Ala Gly Asp Val Gly Ala Leu Ser Leu Ser Gly Gly Gln Leu
770 775 780

Asn Gly Ala Leu Gly Ile Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Asn Ser
785 790 795 800

Ile Val Leu Gly Asp Asn Asp Thr Gly Phe Lys Gln Asn Gly Asp Gly
805 810 815

Asn Leu Asp Val Tyr Ala Asn Ser Val His Val Met Arg Phe Val Ser
820 825 830

Gly Ser Ile Gln Ser Asn Lys Thr Ile Asn Ile Thr Gly Arg Val Asn
835 840 845

Pro Ser Asp Tyr Gly Asn Phe Asp Ser Arg Tyr Val Arg Asp Val Arg
850 855 860

Leu Gly Thr Arg Val Val Gln Thr Met Gln Lys Gly Val Met Tyr Glu
865 870 875 880

Lys Ser Gly His Val Ile Thr Gly Leu Gly Ile Val Gly Glu Val Asp
885 890 895

Gly Asp Asp Pro Ala Val Phe Arg Pro Ile Gln Lys Tyr Ile Asn Gly
900 905 910

Thr Trp Tyr Asn Val Ala Gln Val
915 920

<210> 31
<211> 1026
<212> PRT

<213> Bacteriófago AV17

<400> 31

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

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

Leu Lys Asp Arg Thr Ile Phe Thr Lys Asp Asp Ser Gly Asn Ile Ile
 35 40 45

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

Asn Gly Leu Leu Arg Leu Asn Gly Asp Tyr Val Gln Thr Gly Gly Met
 65 70 75 80

Thr Val Asn Gly Pro Ile Gly Ser Thr Asp Gly Val Thr Gly Lys Ile
 85 90 95

Phe Arg Ser Thr Gln Gly Ser Phe Tyr Ala Arg Ala Thr Asn Asp Thr
 100 105 110

Ser Asn Ala His Leu Trp Phe Glu Asn Ala Asp Gly Thr Glu Arg Gly
 115 120 125

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

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

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

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

Ala Lys Ala Phe Gly Gln Tyr Asp Ser His Ser Leu Val Asn Tyr Val
 195 200 205

Tyr Pro Gly Thr Gly Glu Thr Asn Gly Val Asn Tyr Leu Arg Lys Val
 210 215 220

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

225		230		235		240
Thr Gly Leu Ala Asp	Glu Val Ser Trp	Trp Ser Gly Asp Thr	Pro Val			
	245	250	255			
Phe Lys Leu Tyr Gly Ile Arg Asp	Asp Gly Arg Met Ile Ile Arg Asn					
	260	265	270			
Ser Leu Ala Leu Gly Thr Phe Thr Thr Asn Phe Pro Ser Ser Asp Tyr						
	275	280	285			
Gly Asn Val Gly Val Met Gly Asp Lys Tyr Leu Val Leu Gly Asp Thr						
	290	295	300			
Val Thr Gly Leu Ser Tyr Lys Lys Thr Gly Val Phe Asp Leu Val Gly						
	305	310	315			320
Gly Gly Tyr Ser Val Ala Ser Ile Thr Pro Asp Ser Phe Arg Ser Thr						
	325	330	335			
Arg Lys Gly Ile Phe Gly Arg Ser Glu Asp Gln Gly Ala Thr Trp Ile						
	340	345	350			
Met Pro Gly Thr Asn Ala Ala Leu Leu Ser Val Gln Thr Gln Ala Asp						
	355	360	365			
Asn Asn Asn Ala Gly Asp Gly Gln Thr His Ile Gly Tyr Asn Ala Gly						
	370	375	380			
Gly Lys Met Asn His Tyr Phe Arg Gly Thr Gly Gln Met Asn Ile Asn						
	385	390	395			400
Thr Gln Gln Gly Met Glu Ile Asn Pro Gly Ile Leu Lys Leu Val Thr						
	405	410	415			
Gly Ser Asn Asn Val Gln Phe Tyr Ala Asp Gly Thr Ile Ser Ser Ile						
	420	425	430			
Gln Pro Ile Lys Leu Asp Asn Glu Ile Phe Leu Thr Lys Ser Asn Asn						
	435	440	445			
Thr Ala Gly Leu Lys Phe Gly Ala Pro Ser Gln Val Asp Gly Thr Arg						
	450	455	460			
Thr Ile Gln Trp Asn Gly Gly Thr Arg Glu Gly Gln Asn Lys Asn Tyr						
	465	470	475			480

Val Ile Ile Lys Ala Trp Gly Asn Ser Phe Asn Ala Thr Gly Asp Arg
 485 490 495

Ser Arg Glu Thr Val Phe Gln Val Ser Asp Ser Gln Gly Tyr Tyr Phe
 500 505 510

Tyr Ala His Arg Lys Ala Pro Thr Gly Asp Glu Thr Ile Gly Arg Ile
 515 520 525

Glu Ala Gln Phe Ala Gly Asp Val Tyr Ala Lys Gly Ile Ile Ala Asn
 530 535 540

Gly Asn Phe Arg Val Val Gly Ser Ser Ala Leu Ala Gly Asn Val Thr
 545 550 555 560

Met Ser Asn Gly Leu Phe Val Gln Gly Gly Ser Ser Ile Thr Gly Gln
 565 570 575

Val Lys Ile Gly Gly Thr Ala Asn Ala Leu Arg Ile Trp Asn Ala Glu
 580 585 590

Tyr Gly Ala Ile Phe Arg Arg Ser Glu Ser Asn Phe Tyr Ile Ile Pro
 595 600 605

Thr Asn Gln Asn Glu Gly Glu Ser Gly Asp Ile His Ser Ser Leu Arg
 610 615 620

Pro Val Arg Ile Gly Leu Asn Asp Gly Met Val Gly Leu Gly Arg Asp
 625 630 635 640

Ser Phe Ile Val Asp Gln Asn Asn Ala Leu Thr Thr Ile Asn Ser Asn
 645 650 655

Ser Arg Ile Asn Ala Asn Phe Arg Met Gln Leu Gly Gln Ser Ala Tyr
 660 665 670

Ile Asp Ala Glu Cys Thr Asp Ala Val Arg Pro Ala Gly Ala Gly Ser
 675 680 685

Phe Ala Ser Gln Asn Asn Glu Asp Val Arg Ala Pro Phe Tyr Met Asn
 690 695 700

Ile Asp Arg Thr Asp Ala Ser Ala Tyr Val Pro Ile Leu Lys Gln Arg
 705 710 715 720

Tyr Val Gln Gly Asn Gly Cys Tyr Ser Leu Gly Thr Leu Ile Asn Asn
 725 730 735

Gly Asn Phe Arg Val His Tyr His Gly Gly Gly Asp Asn Gly Ser Thr
 740 745 750

Gly Pro Gln Thr Ala Asp Phe Gly Trp Glu Phe Ile Lys Asn Gly Asp
 755 760 765

Phe Ile Ser Pro Arg Asp Leu Ile Ala Gly Lys Val Arg Phe Asp Arg
 770 775 780

Thr Gly Asn Ile Thr Gly Gly Ser Gly Asn Phe Ala Asn Leu Asn Ser
 785 790 795 800

Thr Ile Glu Ser Leu Lys Thr Asp Ile Met Ser Ser Tyr Pro Ile Gly
 805 810 815

Ala Pro Ile Pro Trp Pro Ser Asp Ser Val Pro Ala Gly Phe Ala Leu
 820 825 830

Met Glu Gly Gln Thr Phe Asp Lys Ser Ala Tyr Pro Lys Leu Ala Val
 835 840 845

Ala Tyr Pro Ser Gly Val Ile Pro Asp Met Arg Gly Gln Thr Ile Lys
 850 855 860

Gly Lys Pro Ser Gly Arg Ala Val Leu Ser Ala Glu Ala Asp Gly Val
 865 870 875 880

Lys Ala His Ser His Ser Ala Ser Ala Ser Ser Thr Asp Leu Gly Thr
 885 890 895

Lys Thr Thr Ser Ser Phe Asp Tyr Gly Thr Lys Gly Thr Asn Ser Thr
 900 905 910

Gly Gly His Thr His Ser Gly Ser Gly Ser Thr Ser Thr Asn Gly Glu
 915 920 925

His Ser His Tyr Ile Glu Ala Trp Asn Gly Thr Gly Val Gly Gly Asn
 930 935 940

Lys Met Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Tyr Arg Ala Gly Gly Ser Asn Thr
 945 950 955 960

Asn Ala Ala Gly Asn His Ser His Thr Phe Ser Phe Gly Thr Ser Ser
 965 970 975

Ala Gly Asp His Ser His Ser Val Gly Ile Gly Ala His Thr His Thr
 980 985 990

Val Ala Ile Gly Ser His Gly His Thr Ile Thr Val Asn Ser Thr Gly
 995 1000 1005

Asn Thr Glu Asn Thr Val Lys Asn Ile Ala Phe Asn Tyr Ile Val
 1010 1015 1020

Arg Leu Ala
 1025

<210> 32
 <211> 183
 <212> PRT
 <213> Bacteriófago T4

<400> 32

Met Lys Ile Tyr His Tyr Tyr Phe Asp Thr Lys Glu Phe Tyr Lys Glu
 1 5 10 15

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

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

Glu Arg Thr Gln Asp Trp Ile Tyr Glu Glu Asp His Arg Gly Lys Arg
 50 55 60

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

Pro Val Gly Ile Thr Phe Asp Glu Pro Gly Glu Phe Asp Ile Trp Thr
 85 90 95

Asp Asp Gly Trp Lys Glu Asp Glu Thr Tyr Lys Arg Val Leu Ile Arg
 100 105 110

Asn Arg Lys Ile Glu Glu Leu Tyr Lys Glu Phe Gln Val Leu Asn Asn
 115 120 125

Met Ile Glu Ala Ser Val Ala Asn Lys Lys Glu Lys Phe Tyr Tyr Lys
 130 135 140

Asn Leu Lys Arg Phe Phe Ala Leu Leu Glu Lys His Glu His Leu Gly
 145 150 155 160

Gly Glu Phe Pro Ser Trp Pro Glu Lys Glu Gln Lys Pro Trp Tyr Lys
 165 170 175

Arg Leu Phe Lys His Tyr Val
 180

<210> 33
 <211> 1083
 <212> PRT
 <213> Bacteriófago AV17

<400> 33

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

Ala Arg Pro Ala Ala Ser Val Leu Ala Glu Gly Glu Leu Ala Ile Asn
 20 25 30

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

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

Thr Gly Asn Tyr Asn Gln Thr Gly Asp Tyr Thr Leu Asn Gly Val Phe
 65 70 75 80

Thr Gln Thr Gly Asn Phe Asn Leu Thr Gly Ile Ala Arg Val Thr Arg
 85 90 95

Asp Ile Ile Ala Ala Gly Gln Ile Met Thr Glu Gly Gly Glu Leu Ile
 100 105 110

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

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

Gln Val Leu Asn Ile Arg Val Gln Asp Tyr Ala Ala Gly Ser Glu Ser
 145 150 155 160

Thr Tyr Ala Phe Ser Gly Ser Gly Leu Phe Thr Ser Pro Glu Val Ser
 165 170 175
 Ala Trp Lys Ser Ile Ser Ser Pro Gln Ile Leu Thr Asn Lys Val Ile
 180 185 190
 Thr Asn Asn Lys Ser Thr Gly Asp Tyr Asp Ile Tyr Ser Met Ala Asp
 195 200 205
 Asn Val Pro Leu Ser Glu Ser Thr Thr Ala Ile Asn His Leu Arg Val
 210 215 220
 Met Arg Asn Ala Val Gly Ser Gly Ile Phe His Glu Val Lys Asp Asn
 225 230 235 240
 Asp Gly Ile Thr Trp Tyr Ser Gly Asp Gly Leu Asp Ala Tyr Leu Trp
 245 250 255
 Ser Phe Thr Trp Ser Gly Gly Ile Lys Ser Ser His Ser Ile Ser Ile
 260 265 270
 Gly Leu Thr Pro Gly Asn Lys Asp Tyr Ser Ile Leu Gly Pro Ser Ser
 275 280 285
 Ile Ala Leu Gly Asp Asn Asp Thr Gly Phe Lys Trp His Gln Asp Gly
 290 295 300
 Tyr Tyr Phe Ser Val Asn Asn Gly Thr Lys Thr Phe Leu Phe Asn Pro
 305 310 315 320
 Ser Glu Thr Thr Ser Leu Arg Lys Phe Val Ala Gly Tyr Ser Thr Asn
 325 330 335
 Gly Thr Asp Leu Thr Thr Pro Pro Thr Glu Asn Tyr Ala Leu Ala Thr
 340 345 350
 Val Val Thr Tyr His Asp Asn Asn Ala Phe Gly Asp Gly Gln Thr Leu
 355 360 365
 Leu Gly Tyr Tyr Gln Gly Gly Asn Tyr His His Tyr Phe Arg Gly Lys
 370 375 380
 Gly Thr Thr Asn Ile Asn Thr His Gly Gly Leu Leu Val Thr Pro Gly
 385 390 395 400
 Asn Ile Asp Val Ile Gly Gly Ser Val Asn Ile Asp Gly Arg Asn Asn

405	410	415
Ser Ser Thr Leu Met Phe Arg Gly Asn Thr Thr Gly Tyr Ser Ser Val 420 425 430		
Asp Asn Met Asp Ile Lys Val Trp Gly Asn Thr Phe Val Asp Pro Ser 435 440 445		
Gly Gly Ile Arg Lys Asn Ile Met Glu Ile Ser Asp Ala Thr Ser Trp 450 455 460		
Met Ser Tyr Ile Gln Arg Leu Thr Thr Gly Glu Val Glu Met Asn Val 465 470 475 480		
Asn Gly Ser Phe Glu Ser Ser Gly Val Thr Ala Gly Asp Arg Gly Val 485 490 495		
His Thr Thr Gly Glu Ile Ser Ser Gly Ala Val Asn Ala Leu Arg Ile 500 505 510		
Trp Asn Ala Asp Tyr Gly Ala Ile Phe Arg Arg Ser Glu Gly Ser Leu 515 520 525		
His Ile Ile Pro Thr Ala Tyr Gly Glu Gly Lys Asn Gly Asp Ile Gly 530 535 540		
Pro Leu Arg Pro Phe Ser Leu Ala Leu Asp Thr Gly Lys Val Thr Ile 545 550 555 560		
Pro Asp Leu Gln Ser Ser Tyr Asn Thr Phe Ala Ala Asn Gly Tyr Ile 565 570 575		
Lys Phe Val Gly His Gly Ala Gly Ala Gly Gly Tyr Asp Ile Gln Tyr 580 585 590		
Ala Gln Ala Ala Pro Ile Phe Gln Glu Ile Asp Asp Asp Ala Val Ser 595 600 605		
Lys Tyr Tyr Pro Ile Val Lys Gln Lys Phe Leu Asn Gly Lys Ala Val 610 615 620		
Trp Ser Leu Gly Thr Glu Ile Asn Ser Gly Thr Phe Val Ile His His 625 630 635 640		
Leu Lys Glu Asp Gly Ser Gln Gly His Thr Ser Arg Phe Asn Gln Asp 645 650 655		

Gly Thr Val Asn Phe Pro Asp Asn Val Ser Val Gly Gly Gly Glu Ala
 660 665 670

Thr Ile Ala Arg Asn Gly Asn Ile Trp Ser Asp Ile Trp Lys Thr Phe
 675 680 685

Thr Ser Ala Gly Asp Thr Thr Asn Ile Arg Asp Ala Ile Ala Thr Arg
 690 695 700

Val Ser Lys Glu Gly Asp Thr Met Thr Gly Thr Leu Trp Ile Asn Lys
 705 710 715 720

Asp Ala Ala Gly Ile Val Leu Asn Pro Pro Leu Thr Ser Asp Ser Ser
 725 730 735

Phe Ile Arg Ser Asp Thr Ala Gly Ala Asn Asn Trp Tyr Ile Gly Lys
 740 745 750

Gly Gly Ala Asp Asn Gly Leu Gly Phe Tyr Ser Tyr Val Thr Gln Gly
 755 760 765

Gly Val Tyr Ile Thr Asn Asn Gly Glu Ile Ser Leu Ser Pro Gln Gly
 770 775 780

Gln Gly Thr Phe Asn Phe Asn Arg Asp Arg Leu His Ile Asn Gly Thr
 785 790 795 800

Gln Trp Ala Ala His Gln Gly Gly Gly Trp Gly Asn Gln Trp Asn Gln
 805 810 815

Glu Ala Pro Val Phe Val Asp Phe Gly Asn Val Gly Asn Asp Ser Tyr
 820 825 830

Tyr Pro Ile Ile Lys Gly Lys Ser Gly Ile Thr Asn Glu Gly Tyr Ile
 835 840 845

Ser Gly Val Asp Phe Gly Met Arg Arg Ile Thr Asn Thr Trp Ala Gln
 850 855 860

Gly Ile Ile Arg Val Gly Asn Gln Glu Asn Gly Tyr Asp Pro Gln Ala
 865 870 875 880

Val Tyr Glu Phe His His Asn Gly Thr Phe Tyr Ala Pro Ser Leu Leu
 885 890 895

Lys Ser Ser Arg Val Ser Ala Gly Gly Gly Asp Pro Ala Trp Gly Gly
 900 905 910

Pro Cys Ile Val Leu Gly Asp Asn Asp Thr Gly Leu Leu Trp Glu Asn
 915 920 925

Asp Gly Ile Phe Asn Ala Tyr Ala Asn Gly Gln Gly Val Phe Ser Phe
 930 935 940

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

Ala Gly Met Tyr Val Arg Asp Asn Ile Asp Val Asn Asp Val Tyr Ile
 965 970 975

Arg Ser Asp Ile Arg Cys Lys Ser Glu Ile Lys Leu Ile Lys Asn Ala
 980 985 990

Gln Glu Lys Ser Lys Leu Leu Gly Gly Tyr Thr Tyr Leu Leu Lys Asn
 995 1000 1005

Ser Val Thr Asp Glu Val Lys Pro Ser Ala Gly Leu Ile Ala Gln
 1010 1015 1020

Glu Val Gln Glu Val Leu Pro Glu Leu Val Ser Glu Asp Lys Glu
 1025 1030 1035

Thr Gly Leu Leu Arg Leu Asn Tyr Asn Gly Ile Ile Gly Leu Asn
 1040 1045 1050

Thr Ala Ala Ile Asn Glu His Thr Asp Glu Ile Lys Glu Leu Lys
 1055 1060 1065

Ser Glu Ile Thr Glu Leu Lys Ala Leu Ile Lys Ser Leu Ile Lys
 1070 1075 1080

<210> 34
 <211> 259
 <212> PRT
 <213> Bacteriófago AV17

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (164)..(164)
 <223> Outra

<400> 34

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

Val Phe Gly Ser Ser Pro Ser Trp Gly Ala Thr Gly Thr Ile Tyr Gly
245 250 255

Ser Trp Ile

```
<210> 35
<211> 472
<212> PRT
<213> Pseudomonas aeruginosa
```

<400> 35

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

Gly Ser Thr Pro Ala Pro Leu Asp Ser Gly Leu Ala Ala Pro Ser Gln
20 25 30

Trp Arg Tyr Leu Ala Ala Gly Arg Ser Asp Ala Ser Asp Ile Arg Gln
35 40 45

Trp Trp Lys Ala Phe Gly Ala Pro Glu Leu Asp Ser Leu Leu Gln Arg
50 55 60

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

Gln Ala Gln Ala Ser Ala Val Ile Ala Gly Ala Pro Leu Leu Pro Glu
85 90 95

Leu Asn Ala Thr Leu Gly Ala Ser Arg Gln Lys Leu Leu Arg Asp Ser
100 105 110

Gly Tyr Ser Gly Thr Asp Ala Thr Ser Asp Asn Asp Ala Val Asp Ser
115 120 125

Phe Ser Ala Gly Leu Ser Ala Ser Tyr Glu Val Asp Phe Trp Gly Gly
130 135 140

Arg Gln Ala Ala Tyr Arg Ser Ala Leu Glu Ser Leu Lys Ala Ser Glu
145 150 155 160

Tyr Asp Arg Ala Thr Val Glu Leu Thr Leu Leu Ser Gly Val Ala Asn
165 170 175

Ser Tyr Leu Gln Val Leu Ala Leu Arg Glu Gln Gln Arg Ile Ala Arg
180 185 190

Leu Asn Leu Asp Asn Ala Glu His Val Leu Arg Leu Val Glu Thr Arg
 195 200 205

His Ala Ala Gly Ser Ala Thr Ala Leu Glu Val Ala Gln Gln Ser Ser
 210 215 220

Leu Val Ala Ser Gln Arg Lys Gln Leu Pro Leu Leu Glu Gln Gln Ala
 225 230 235 240

His Glu Ala Leu Ile Thr Leu Ala Thr Leu Ile Gly Glu Pro Val Gln
 245 250 255

Ala Leu Gln Val Ala Glu Arg Pro Phe Asp Ser Leu Arg Trp Pro Glu
 260 265 270

Thr Gly Ala Gly Leu Pro Ser Glu Leu Leu Ser Arg Arg Pro Asp Ile
 275 280 285

Ala Asn Ala Glu Ala Gln Leu Ala Ala Ala Gln Ala Asp Val Gln Val
 290 295 300

Ala Arg Ala Ala Leu Phe Pro Lys Leu Thr Leu Ser Ala Ser Leu Ser
 305 310 315 320

Ser Gly Ala Asn Arg Ala Ala Asp Thr Phe Arg Asn Pro Tyr Tyr Asn
 325 330 335

Leu Gly Ala Asn Leu Leu Ala Pro Ile Phe Asn His Gly Arg Leu Arg
 340 345 350

Ala Glu Arg Asp Arg Ser Leu Ala Arg Gln Glu Glu Leu Leu Glu Thr
 355 360 365

Tyr Arg Lys Ala Ile Leu Thr Ala Phe Ala Asp Thr Glu Arg Ser Leu
 370 375 380

Asn Ser Ile Asp Gly Leu Asp Arg Gln Leu His Trp Gln Gln Gln Glu
 385 390 395 400

Leu Glu Gln Ala Gln Arg Ala Phe Asp Leu Ser Asp Ser Arg Tyr Gln
 405 410 415

Ala Gly Ala Glu Thr Leu Leu Thr Val Leu Glu Thr Gln Arg Thr Leu
 420 425 430

Tyr Ala Ala Gln Asp Ala Ala Val Gln Leu Arg Leu Ala Arg Leu Gln
 435 440 445

Ala Ser Val Gly Leu Tyr Lys Ala Leu Gly Gly Gly Trp Gln Ser Asp
 450 455 460

Arg Gln Gly Leu Ala Arg Lys Asp
 465 470

<210> 36
 <211> 498
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 36

Met Lys His Thr Pro Ser Leu Leu Ala Leu Ala Leu Val Ala Ala Leu
 1 5 10 15

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

Pro Ala Glu Phe Lys Glu Ala Glu Gly Trp Arg Arg Ala Glu Pro Arg
 35 40 45

Asp Val Phe Gln Arg Gly Ala Trp Trp Glu Leu Tyr Gly Asp Gln Thr
 50 55 60

Leu Asn Asp Leu Gln Met His Leu Glu Arg Ser Asn Gln Thr Leu Ala
 65 70 75 80

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

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

Ser Gly Gln Gly Gly Gly Asp Ser Thr Val Leu Leu Pro Gly Gly Ser
 115 120 125

Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Ala Ile Ser Thr Ser Tyr Ser Thr
 130 135 140

Asn Leu Ser Val Ser Trp Glu Val Asp Leu Trp Gly Lys Leu Arg Arg
 145 150 155 160

Gln Leu Glu Ala Asn Gln Ala Ser Leu His Ala Ser Ala Ala Asp Leu

165					170					175					
Ala	Ala	Val	Arg	Leu	Ser	Gln	Gln	Ser	Gln	Leu	Ala	Gln	Asn	Tyr	Leu
			180					185					190		
Gln	Leu	Arg	Val	Met	Asp	Glu	Gln	Ile	Arg	Leu	Leu	Asn	Asp	Thr	Val
		195					200					205			
Thr	Ala	Tyr	Glu	Arg	Ser	Leu	Lys	Val	Ala	Glu	Asn	Lys	Tyr	Arg	Ala
	210					215					220				
Gly	Ile	Val	Thr	Arg	Ala	Asp	Val	Ala	Gln	Ala	Arg	Thr	Gln	Leu	Lys
225					230					235					240
Ser	Thr	Gln	Ala	Gln	Ala	Ile	Asp	Leu	Lys	Tyr	Gln	Arg	Ala	Gln	Leu
				245					250					255	
Glu	His	Ala	Ile	Ala	Val	Leu	Val	Gly	Leu	Pro	Pro	Ala	Gln	Phe	Asn
			260					265					270		
Leu	Pro	Pro	Val	Ala	Ser	Val	Pro	Lys	Leu	Pro	Asp	Leu	Pro	Ala	Val
		275					280					285			
Val	Pro	Ser	Gln	Leu	Leu	Glu	Arg	Arg	Pro	Asp	Ile	Ala	Ser	Ala	Glu
	290					295					300				
Arg	Lys	Val	Ile	Ser	Ala	Asn	Ala	Gln	Ile	Gly	Val	Ala	Lys	Ala	Ala
305					310					315					320
Tyr	Phe	Pro	Asp	Leu	Thr	Leu	Ser	Ala	Ala	Gly	Gly	Tyr	Arg	Ser	Gly
				325					330					335	
Ser	Leu	Ser	Asn	Trp	Ile	Ser	Thr	Pro	Asn	Arg	Phe	Trp	Ser	Ile	Gly
			340					345					350		
Pro	Gln	Phe	Ala	Met	Thr	Leu	Phe	Asp	Gly	Gly	Leu	Ile	Gly	Ser	Gln
		355					360					365			
Val	Asp	Gln	Ala	Glu	Ala	Thr	Tyr	Asp	Gln	Thr	Val	Ala	Thr	Tyr	Arg
	370					375					380				
Gln	Thr	Val	Leu	Asp	Gly	Phe	Arg	Glu	Val	Glu	Asp	Tyr	Leu	Val	Gln
385					390					395					400
Leu	Ser	Val	Leu	Asp	Glu	Glu	Ser	Gly	Val	Gln	Arg	Glu	Ala	Leu	Glu
				405					410					415	

Ser Ala Arg Glu Ala Leu Arg Leu Ala Glu Asn Gln Tyr Lys Ala Gly
420 425 430

Thr Val Asp Tyr Thr Asp Val Val Thr Asn Gln Ala Thr Ala Leu Ser
435 440 445

Asn Glu Arg Thr Val Leu Thr Leu Leu Gly Ser Arg Leu Thr Ala Ser
450 455 460

Val Gln Leu Ile Ala Ala Met Gly Gly Gly Trp Asp Ser Ala Asp Ile
465 470 475 480

Glu Arg Thr Asp Glu Arg Leu Gly Arg Val Glu Glu Gly Leu Pro Pro
485 490 495

Ser Pro

<210> 37

<211> 482

<212> PRT

<213> *Pseudomonas aeruginosa*

<400> 37

Met Pro Leu Ala Ser His Leu Arg Cys Val Ala Leu Ala Leu Gly Ile
1 5 10 15

Ser Thr Ala Leu Gly Cys Ala Asn Arg Asn Gln Pro Ala Pro Arg Ala
20 25 30

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

Ala Leu Pro Ala Gln Trp Trp Thr Leu Tyr Gln Asp Pro Gly Leu Asn
50 55 60

His Leu Val Ala Ala Ala Leu Arg His Asn Arg Asp Leu Ala Ala Ala
65 70 75 80

Asp Ala His Ala Arg Ala Leu Leu Gly His Leu Arg Gly Ala Gln Gly
85 90 95

Glu Arg Trp Pro Arg Thr Glu Val Gly Tyr Gly Tyr Gln Tyr Gly Arg
100 105 110

Asp Gly Asp Asp Gln Thr Leu Ala Glu Ala Thr Asp Glu Asp Leu His
115 120 125

Ser Gln Trp Lys His Thr Val Arg Leu Asp Leu Ser Tyr Gln Leu Asp
130 135 140

Leu Trp Gly Glu Val Arg Ala Arg Ile Ala Ala Ala Lys Ala Asp Ala
145 150 155 160

Glu Ala Ala Gln Ala Ala Arg Asp Leu Leu Arg Val Ser Val Ala Ser
165 170 175

Gln Thr Thr Leu Ala Tyr Val Arg Ala Cys Ala Leu Ala Arg Arg Ala
180 185 190

Glu Val Gln Arg Arg Ser Val Gly Leu Leu Asp Ala Ser Leu Ala Leu
195 200 205

Ser Glu Arg Gln Leu Ala Ala Gly Leu Ser Ser Glu Leu Gln Arg Arg
210 215 220

Arg Leu Leu Ala Leu Arg Glu Arg Thr Arg Ala Ala Leu Pro Met Leu
225 230 235 240

Glu Ala Arg Arg Arg Ala Ala Leu Tyr Glu Leu Ala Leu Leu Ser Gly
245 250 255

Arg Ser Pro Arg Gln Leu Asp Ala Pro Ala Ala Thr Cys Ala Gly Ile
260 265 270

Pro Gln Leu Arg Arg Ala Leu Pro Thr Gly Asp Gly Trp Ser Leu Leu
275 280 285

Ala Arg Arg Pro Asp Val Arg Ala Ala Glu Arg Arg Leu Ala Ala Ala
290 295 300

Asp Ala Arg Arg Ala Leu Ala Glu Ala Glu Leu Tyr Pro Arg Ile Ser
305 310 315 320

Phe Ala Val Gly Ala Glu Thr Ser Ala Ala Thr Leu Ala Gly Leu Gly
325 330 335

Gly Ser Gly Ala Leu Ala Tyr Ala Ala Gly Pro Leu Leu Ser Trp Arg
340 345 350

Phe Pro Asn Arg Glu Ser Ala Arg Gly Arg Leu Asp Ser Ala Ala Ala

355 360 365
 Glu Arg Asp Ala Ala Leu Ala Arg Phe Asp Gly Ala Val Leu Gly Ala
 370 375 380
 Leu Arg Glu Val Glu Arg Ala Leu Ala Leu Tyr Ala Gly Glu Arg Gln
 385 390 395 400
 Arg Arg Ala Asp Leu Gln Arg Ala Leu Asp Glu Gln Arg His Ala Tyr
 405 410 415
 Arg Leu Ala Arg Ser Asn Tyr Arg Ala Gly Ala Leu Asp Ala Leu Glu
 420 425 430
 Leu Leu Asp Ser Gln Arg Ser Leu Val Ala Asp Arg Ala Arg Leu Val
 435 440 445
 Asp Ala Glu Met Arg Val Ala Glu Arg Gln Val Glu Leu Phe Arg Ala
 450 455 460
 Leu Gly Gly Gly Trp Gln Ala Ala Ser Ser Pro Ser His Gln Glu Asn
 465 470 475 480

Gly Gln

<210> 38
 <211> 492
 <212> PRT
 <213> *Pseudomonas aeruginosa*

<400> 38

Met Pro Phe Pro Leu Leu His Pro Trp Pro Gln Arg Leu Ala Leu Ala
 1 5 10 15
 Ser Ala Ile Leu Leu Ala Ala Gly Cys Val Thr Ser Glu Gly Leu Glu
 20 25 30
 Pro Asn Ala Arg Leu Gln Pro Ala Gly Ala Leu Gln Ala Gly Arg Ser
 35 40 45
 Leu Asp Gly Val Ala Leu Ser Pro Ala Ala Trp Pro Arg Gln Asp Trp
 50 55 60
 Trp Thr Gly Leu Gly Asp Arg Gln Leu Asp Gln Leu Ile Gly Glu Ala
 65 70 75 80

Leu Gln Gly Thr Pro Asp Leu Gln Ile Ala Glu Ala Arg Ala Arg Gln
 85 90 95

Ala Ala Ala Thr Ala Gln Ala Gln Asp Ala Ala Arg Gln Pro Thr Leu
 100 105 110

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

Pro Ala Pro Leu Gly Gly Arg Tyr Ser Ala Ile Lys Tyr Leu Ser Leu
 130 135 140

Gly Phe Asn Tyr Asp Phe Asp Leu Trp Gly Gly Glu Arg Ala Ala Trp
 145 150 155 160

Glu Ala Ala Leu Gly Gln Ala Asn Ala Ala Arg Ile Asp Ser Gln Ala
 165 170 175

Ala Arg Ile Gly Leu Ser Ala Ser Ile Ala Arg Ala Tyr Ser Asp Leu
 180 185 190

Ala His Ala Phe Thr Val Arg Asp Leu Ala Glu Glu Glu Leu Lys Arg
 195 200 205

Ser Gln Arg Met Thr Glu Leu Ser Gln Lys Arg Met Ser Ala Gly Leu
 210 215 220

Asp Ser Lys Val Gln Leu Gln Gln Thr Gln Thr Gln Leu Ala Thr Ala
 225 230 235 240

Arg Gln Gln Leu Ser Ala Ala Glu Gln Asp Ile Ala Ser Ala Arg Ile
 245 250 255

Ala Leu Ala Val Leu Leu Gly Lys Gly Pro Asp Arg Gly Leu Glu Leu
 260 265 270

Gln Arg Pro Gln Pro Leu Asn Pro Ala Ser Leu Ser Leu Pro Ser Val
 275 280 285

Leu Pro Ala Glu Leu Leu Gly Arg Arg Ala Asp Ile Val Ala Ala Arg
 290 295 300

Trp Arg Val Glu Ala Ala Arg Arg Asn Ile Asp Ser Ala Lys Thr Glu
 305 310 315 320

Asp Ile Ala Pro Glu Ala Ala Thr Leu Asp Ala Asn Ala Leu Ala Thr
35 40 45

Asp His Ala Ile Gln Ala Ala Ala Arg Glu Ala Gly Trp Pro Gln Ala
 50 55 60

Gln Trp Trp Lys Val Tyr Ala Asp Pro Gln Leu Asp Ala Trp Ile Glu
 65 70 75 80

Lys Ala Leu Asp Gly Asn Pro Gly Leu Ala Val Ala His Ala Arg Val
 85 90 95

Arg Gln Ala Lys Ser Met Ala Gly Leu Val Glu Ser Ile Glu Ser Pro
 100 105 110

Gln Ile Glu Gly Lys Gly Ser Leu Val Arg His Arg Trp Pro Asp Asp
 115 120 125

Tyr Phe Tyr Gly Pro Gly Asp Leu Ala Arg Thr Thr Ser Trp Asn Asn
 130 135 140

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

Arg Ser Asp Ser Glu Arg Ala Val Asp Leu Ala His Met Ala Ala Ala
 165 170 175

Glu Ala Arg Gln Ala Gln Leu Glu Leu Glu Gly Asn Ile Val Arg Ala
 180 185 190

Tyr Val Gln Leu Ser Leu Gln Tyr Ala Glu Met Asp Ile Ala Lys Ala
 195 200 205

Met Leu Gln Gln Gln Arg Asp Ile Leu Ala Leu Ala Gln Arg Arg Leu
 210 215 220

Arg Gly Gly Ile Gly Thr His Phe Glu Val Ser Gln Ala Glu Val Pro
 225 230 235 240

Leu Pro Glu Thr Glu Arg Arg Ile Glu Val Ile Asp Glu Glu Ile Gln
 245 250 255

Leu Thr Arg Asn Leu Leu Ala Ala Leu Ala Gly Lys Gly Pro Gly Glu
 260 265 270

Gly Arg Thr Ile Arg Arg Pro Ser Leu Asn Leu Ala Ala Gln Pro Ser
 275 280 285

Leu Pro Ser Ala Leu Pro Ala Glu Leu Leu Gly Arg Arg Pro Asp Val
 290 295 300

Val Ala Arg Arg Trp Gln Val Ala Ala Leu Ala Lys Gly Val Asp Val
 305 310 315 320

Ala Arg Ala Asp Phe Tyr Pro Asn Val Asp Leu Met Ala Ser Val Gly
 325 330 335

Phe Ser Ala Val Gly Gly Gly Met Leu Glu Phe Phe Arg Ser Ala Lys
 340 345 350

Tyr Thr Tyr Ser Ala Gly Pro Ala Val Thr Leu Pro Ile Phe Asp Gly
 355 360 365

Gly Arg Leu Arg Ser Gln Leu Gly Glu Ala Ala Ala Gly Tyr Asp Ala
 370 375 380

Ala Val Glu Gln Tyr Asn Gln Thr Leu Val Asp Ala Leu Lys Asn Ile
 385 390 395 400

Ser Asp Gln Leu Ile Arg Leu His Ser Val Asp Ile Gln Lys Asp Phe
 405 410 415

Ala Ala Gln Ser Val Ala Ser Ala Gln Lys Thr Tyr Asp Ile Ala Thr
 420 425 430

Leu Ala Tyr Gln Arg Gly Leu Thr Asp Tyr Leu Asn Val Leu Asn Ala
 435 440 445

Gln Thr Arg Leu Phe Gln Gln Gln Leu Val Gln Glu Gln Val Gln Ala
 450 455 460

Ala Arg Leu Ala Ala His Ala Ser Leu Leu Thr Ala Leu Gly Gly Gly
 465 470 475 480

Val Gly Ala Gly Ala Asp Thr Pro Ala Gln Arg Lys Leu Ala Pro Glu
 485 490 495

Asn Val Pro Val Arg Ala Val Ser Ser Arg
 500 505

<210> 40

<211> 482

<212> PRT

<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 40

Met Leu Arg Arg Leu Ser Leu Ala Ala Ala Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val Ala Trp Ala Ala Gln Pro Thr Pro Leu Pro Thr Lys Thr Asp Leu
20 25 30

Ile Ser Val Tyr Lys Glu Ala Val Asp Asn Asn Ala Asp Leu Ala Ala
35 40 45

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

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

Arg Ile Ala Phe Asp Glu Arg Pro Ala Thr Val Lys Arg Asn Ser Gln
85 90 95

Val Val Gln Ala Thr Leu Ser Gln Pro Leu Phe Arg Ala Asp Arg Trp
100 105 110

Phe Gln Trp Gln Ala Ala Lys Glu Thr Ser Asp Gln Ala Arg Leu Glu
115 120 125

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

Phe Thr Val Leu Arg Ala Gln Asp Asn Leu Ala Thr Ser Lys Ala Glu
145 150 155 160

Glu Ala Ala Phe Lys Arg Gln Leu Asp Gln Ala Asn Glu Arg Phe Asp
165 170 175

Val Gly Leu Ser Asp Lys Thr Asp Val Leu Glu Ala Gln Ala Ser Tyr
180 185 190

Asp Thr Ala Arg Ala Asn Arg Leu Ile Ala Glu Gln Arg Val Asp Asp
195 200 205

Ala Phe Gln Ala Leu Val Thr Leu Thr Asn Arg Asp Tyr Ser Ala Ile
210 215 220

Glu Gly Met Arg His Thr Leu Pro Val Val Pro Pro Ala Pro Asn Asp
225 230 235 240

Ala Lys Ala Trp Val Asp Thr Ala Val Gln Gln Asn Leu Arg Leu Leu
 245 250 255

Ala Ser Asn Tyr Ala Val Asn Ala Ala Glu Glu Thr Leu Arg Gln Arg
 260 265 270

Lys Ala Gly His Leu Pro Thr Leu Asp Ala Val Ala Gln Tyr Gln Lys
 275 280 285

Gly Asp Asn Asp Ala Leu Gly Phe Ala Asn Ser Ala Ala Asn Pro Leu
 290 295 300

Val His Tyr Gly Lys Tyr Val Asp Glu Arg Ser Ile Gly Leu Glu Leu
 305 310 315 320

Asn Ile Pro Ile Tyr Ser Gly Gly Leu Thr Ser Ser Gln Val Arg Glu
 325 330 335

Ser Tyr Gln Arg Leu Asn Gln Ser Glu Gln Ser Arg Glu Gly Gln Arg
 340 345 350

Arg Gln Val Val Gln Asp Thr Arg Asn Leu His Arg Ala Val Asn Thr
 355 360 365

Asp Val Glu Gln Val Gln Ala Arg Arg Gln Ala Ile Ile Ser Asn Gln
 370 375 380

Ser Ser Leu Glu Ala Thr Glu Ile Gly Tyr Gln Val Gly Thr Arg Asn
 385 390 395 400

Ile Val Asp Val Leu Asn Ala Gln Arg Gln Leu Tyr Ala Ala Val Arg
 405 410 415

Asp Tyr Asn Asn Ser Arg Tyr Asp Tyr Ile Leu Asp Thr Leu Arg Leu
 420 425 430

Lys Gln Ala Ala Gly Thr Leu Ser Pro Ala Asp Leu Glu Ala Leu Ser
 435 440 445

Ala Tyr Leu Lys Gln Asp Tyr Asp Pro Asp Lys Asp Phe Leu Pro Pro
 450 455 460

Asp Leu Ala Lys Ala Ala Ala Glu Gln Leu Gln Ser Lys Pro Arg Gln
 465 470 475 480

Gln Tyr

<210> 41
 <211> 471
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 41

Met Arg Ala Leu Ala Gly Leu Leu Cys Gly Leu Leu Gly Leu Val Pro
 1 5 10 15

Gly Ala Ala Ala Tyr Glu Pro Asp Val Phe Gly Thr Thr Gly Gln Val
 20 25 30

Ala Gly Gln Ala Val Tyr Asp Leu Gly Gly Ser Gly Leu Pro Cys Arg
 35 40 45

Gly Gly Pro Pro Pro Thr Glu Leu Ser Leu Glu Glu Ala Ile Glu Arg
 50 55 60

Ile Leu Cys His Asp Pro Gln Thr Arg Leu Ala Trp Ala Asn Ala Lys
 65 70 75 80

Ala Gln Ala Ala Gln Val Gly Ile Gly Lys Ser Ala Tyr Leu Pro Arg
 85 90 95

Leu Asp Gly Arg Leu Asp Ala Ser Arg Gly Tyr Ser Asp Met Asp Tyr
 100 105 110

Arg Asp Ala Pro Tyr Leu Ser Gly Asp Gly His Arg His Arg Arg Gly
 115 120 125

Ala Ser Leu Gln Leu Ser Trp Val Leu Phe Asp Phe Gly Arg Arg Ser
 130 135 140

Ala Ala Leu Arg Asn Ala Gln Gln Leu Leu Leu Ala Ala Asn Ala Ser
 145 150 155 160

Gln Asp Ala Thr Leu Gln Asn Thr Phe Ala Leu Ala Ala Gln Ala Tyr
 165 170 175

Tyr Asp Ala Leu Ala Ala Gln Arg Ser Leu Ala Ala Ser Arg Gln Val
 180 185 190

Ala Glu Leu Ala Ala Gln Asn Leu Glu Ala Ala Asp Ala Lys Tyr Arg

195	200	205
Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ser Asp Arg Leu Gln Ala Gln Thr Ala Leu 210 215 220		
Ser Gln Ala Ser Leu Ala Gln Val Arg Asp Glu Gly Ala Leu Ser Asn 225 230 235 240		
Ala Leu Gly Val Ile Ala Leu Arg Met Gly Leu Ala Pro Asp Thr Pro 245 250 255		
Leu Arg Leu Ser Gly Glu Leu Glu Ala Gln Pro Asp Thr Gly Phe Val 260 265 270		
Lys Ala Ile Asp Glu Met Leu Ala Glu Ala Arg Arg Glu His Pro Ala 275 280 285		
Leu Leu Ala Ala Gln Ala Arg Leu Lys Ala Ala Ala Ser Val Glu 290 295 300		
Glu Ser Arg Ala Ala Gly Arg Pro Ser Leu Ala Leu Ser Ala Asn Leu 305 310 315 320		
Ala Arg Ser His Ser Asp Gln Ala Met Ala Phe Asn Gly Asp Thr Arg 325 330 335		
Glu Arg Asp Arg Ser Ile Gly Leu Gln Leu Asn Ile Pro Leu Phe Glu 340 345 350		
Gly Phe Glu Arg Thr Tyr Gln Val Arg Asn Ala Leu Ala Arg Arg Glu 355 360 365		
Ala Ser Glu Ala Glu Leu Ala Asp Thr Glu Gln Gln Val Ser Leu Glu 370 375 380		
Val Trp Asn Asn Tyr Gln Ser Leu Ser Val Glu Thr Arg Ser Leu Ala 385 390 395 400		
Arg Thr Arg Glu Leu Val Glu Gln Ser Arg Gln Ser Leu Glu Val Val 405 410 415		
Gln Gly Arg Tyr Arg Ser Gly Val Gly Ser Met Ile Glu Leu Leu Asn 420 425 430		
Ala Leu Thr Ala Tyr Ala Ser Ala Glu Asp Gln His Ile Arg Ala Leu 435 440 445		

Gly Asn Trp Gln Thr Ser Arg Leu Arg Leu Ala Ala Ser Leu Gly Arg
 450 455 460

Leu Gly Phe Trp Ser Leu Arg
 465 470

<210> 42
 <211> 428
 <212> PRT
 <213> *Pseudomonas aeruginosa*

<400> 42

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

Leu Leu Met Gly Leu Cys Leu Gly Leu Pro Ala Leu Ala Asn Glu Ala
 20 25 30

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

Arg Ala Leu Arg Ser Asn Pro Glu Leu Ala Ala Val Gly Arg Glu Thr
 50 55 60

Glu Ile Ala Ser Gly Ala Arg Gln Gln Ala Gly Leu Ile Pro Asn Pro
 65 70 75 80

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

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

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

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

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

Asp Leu Ala Arg Arg Ala Leu Gln Ala Ala Asp Arg Arg Val Lys Ala
 165 170 175

Gly Ser Ile Ser Ser Val Glu Arg Val Arg Ala Gln Val Leu Ala Asp
 180 185 190

Asn Ala Gln Leu Asp Leu Ser Gln Ala Glu Leu Glu Gln Gln Arg Thr
 195 200 205

Tyr Val Gln Leu Ser Ser Thr Trp Asp Glu Pro Gln Pro Gly Phe Ala
 210 215 220

Arg Val Gly Gly Ala Leu Asp Ala Val Pro Ala Ser Ile Thr Arg Gly
 225 230 235 240

Ala Leu Leu Arg His Leu Asp Glu Ser Pro Thr Leu Arg Leu Ala Ala
 245 250 255

Gln Glu Val Ala Arg Gly Glu Ala Gln Val Asp Leu Glu Lys Arg Gln
 260 265 270

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

Ala Arg Asp Gly Arg Gly Glu Arg Val Asn Leu Ile Gly Leu Ser Met
 290 295 300

Pro Leu Pro Leu Phe Asp Arg Asn Gln Gly Asn Ile Tyr Ala Ala Gln
 305 310 315 320

Ser Arg Ala Asp Gln Ala Arg Asp Leu Gln Arg Ala Thr Leu Leu Arg
 325 330 335

Leu Arg Ser Glu Ala Val Gln Ala Tyr Asp Gln Leu Arg Thr Ser Glu
 340 345 350

Gln Glu Leu Ala Leu Val Arg Arg Asp Leu Leu Pro Gly Ala Gln Ser
 355 360 365

Ala Leu Asp Ser Met Thr Arg Gly Phe Glu Met Gly Lys Phe Asn Phe
 370 375 380

Leu Asp Val Leu Asp Ala Gln Arg Thr Leu Val Gly Val Arg Ala Gln
 385 390 395 400

Tyr Val Arg Ala Leu Asp Ala Ala Ala Gln Ala Arg Val Ser Met Glu
 405 410 415

Arg Leu Leu Gly Glu Asp Ile Gly His Leu Gly Gln

420

425

<210> 43
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 43

Met Asn Arg Trp Gly Leu Gly Val Leu Trp Leu Val Thr Ala Leu Pro
 1 5 10 15

Val Ala Ala Ser Val Asn Pro Ala Leu Ser Pro Asp Val Pro Ser Met
 20 25 30

Ala Arg Glu Gln Gly Arg Ser Val Leu Leu Ser Glu Gln Val Ile Asp
 35 40 45

Leu Ser Leu Ser Asp Ala Val Tyr Leu Gly Leu Arg Asn Asn Arg Gly
 50 55 60

Ile Arg Ser Ala Tyr Leu Gln Arg Ile Ala Gln Lys Phe Asp Leu Arg
 65 70 75 80

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

Arg Ala Asn Arg Ala Thr Glu Asp Arg Thr Arg Thr Ser Asn Val Ser
 100 105 110

Pro Thr Ala Thr Leu Leu Gly Glu Tyr Gly Thr Arg Phe Ser Leu Ala
 115 120 125

Trp Val Lys Gln Phe Arg Thr Ala Asp Glu Ala Gly Arg Tyr Arg Ser
 130 135 140

Asp Gly Leu Asp Leu Thr Val Val Gln Pro Leu Leu Arg Asp Ala Gly
 145 150 155 160

Trp Asp Val Thr Thr Ala Pro Leu Arg Leu Ala Arg Leu Ser Glu Asp
 165 170 175

Ala Asn Arg Leu Gln Leu Lys Ala Ser Val Ser Gln Thr Ile Ser Gln
 180 185 190

Val Ile Gly Ala Tyr Arg Glu Leu Leu Arg Ala Gln Glu Gln Ala Arg
 195 200 205

Ile Ala Arg Glu Ala Leu Ala Arg Thr Gln Glu Leu Leu Glu Val Asn
 210 215 220

Arg Ala Met Ile Arg Ala Gly Arg Met Ala Glu Phe Glu Ile Val Gln
 225 230 235 240

Thr Glu Ala Asp Val Ala Ser Gln Glu Leu Asn Val Glu Glu Ser Thr
 245 250 255

Asn Gln Val Asp Ser Ala Arg Leu Ala Leu Leu Gln Leu Leu Ala Leu
 260 265 270

Asp Leu Ser Thr Gln Ile Arg Ala Ser Asp Ala Leu Ala Ala Thr Pro
 275 280 285

Ile Glu Val Asp Arg Gln Gln Ala Ile Arg Thr Ala Leu Gln Gln Gln
 290 295 300

Pro Glu Tyr Leu Gln Arg Leu Ile Gly Ser Arg Gln Ala Asp Leu Asn
 305 310 315 320

Leu Val Leu Ala Lys Asn Gln Arg Leu Trp Asp Val Ser Leu Val Gly
 325 330 335

Gly Ala Ser Gln Ile Arg Asp Arg Tyr Ser Glu Gly Gly Gly Asp Asn
 340 345 350

Ser Arg Ser Trp Asp Ser Tyr Ala Gly Val Gln Val Glu Ile Pro Ile
 355 360 365

Gly Asp Leu Ser Arg Arg Gln Ala Glu Val Arg Ala Gln Val Asp Val
 370 375 380

Glu Asn Gln Lys Ile Leu Ile Glu Asp Ala Arg Gln Thr Leu Glu Gln
 385 390 395 400

Asn Val Ile Asp Ala Val Arg Asp Leu Gly Thr Arg Trp Arg Gln Tyr
 405 410 415

Gln Ile Ala Gln Arg Ala Thr Ala Leu Ser Arg Arg Lys Leu Glu Ile
 420 425 430

Glu Arg Glu Lys Leu Arg Val Gly Arg Ser Ser Asn Phe Gln Val Leu
 435 440 445

Ser Phe Glu Thr Asp Leu Arg Asn Val Glu Asn Thr Gln Leu Asn Ala
 450 455 460

Leu Ile Ser Phe Leu Asn Ala Gln Thr Gln Leu Asp Leu Ile Val Gly
 465 470 475 480

Met Thr Leu Asp Ser Trp Glu Ile Ser Leu Asn Asp His
 485 490

<210> 44
 <211> 425
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 44

Met Arg Gly Arg Arg Gln Tyr Ala Arg Lys Gly Arg Arg His Gly Lys
 1 5 10 15

Gly Ala Ile Trp Leu Leu Ser Leu Gly Leu Pro Met Phe Ala Ser Ala
 20 25 30

Met Pro Leu Asp Gln Ala Val Arg Ala Gly Leu Ala Ile His Pro Glu
 35 40 45

Val Arg Ser Ala Met Ala Glu Ala Asp Arg Ala Gly Thr Glu Val Glu
 50 55 60

Met Ala Lys Gly Gly Tyr Tyr Pro Ser Val Thr Met Ser Gly Gly Pro
 65 70 75 80

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

Met Leu Tyr Asp Trp Gly Arg Val Thr Ser Lys Val Asp Ser Ala Ser
 100 105 110

Ala Thr Gln Arg Lys Leu Ser Glu Ala Val Leu Val Ala Arg Asp Asp
 115 120 125

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

Arg Arg Val Glu Ala Val Arg Glu His Ile Gln Arg Leu Asp Gly Ile
 145 150 155 160

Arg Glu Met Thr Gln Ala Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Ala Asp Arg Ser
 165 170 175

Glu Leu Asp Arg Ala Asn Leu Glu Leu Ser Arg Ala Gln Glu Gln Leu
 180 185 190

Ser Leu Glu Lys Gly Asn Leu Gln Asp Ala Arg Asn Gln Tyr Ala Ile
 195 200 205

Leu Val Gly Gln Glu Pro Ala Asp Leu Val Glu Pro Glu Pro Met Ser
 210 215 220

Leu Gln Arg Tyr Leu Ala Ala Ser Asp Met Ala Arg Val Ile Arg Glu
 225 230 235 240

Ser Pro Leu Gln Arg Lys Ala Leu Glu Asp Ala Asn Val Ala Glu Ala
 245 250 255

Glu Val Arg Glu Ala Lys Ala Ser Leu Leu Pro Gln Leu Asn Leu Glu
 260 265 270

Ala Ser Ala Leu Arg Arg Glu Ile Gly Gly His Pro Glu Ser Asp Ser
 275 280 285

Val Val Ser Leu Arg Phe Arg Met Asp Thr Phe Gln Gly Leu Ser Asn
 290 295 300

Phe Arg Arg Pro Thr Ala Ala Gln Gln Arg Leu Glu Ser Ala Lys Trp
 305 310 315 320

Ser Ala Asp Ala Met Gln Arg Asp Ile Arg Arg Gln Leu Gln Asn Leu
 325 330 335

Phe Asp Asn Gly Asp Thr Leu Arg Trp Arg Glu Gln Ser Leu Thr Gln
 340 345 350

Gln Val Thr Glu Ser Glu Gln Val Gly Glu Leu Tyr Arg Glu Gln Phe
 355 360 365

Glu Val Gly Arg Arg Asp Val Ile Asp Leu Leu Asn Val Gln Arg Glu
 370 375 380

Arg Phe Glu Ala Glu Arg Gln Leu Ile Asn Leu Arg Ile Glu Arg Lys
 385 390 395 400

Arg Ile Glu Tyr Arg Ala Ala Ala Gln Val Gly Leu Leu Gly Pro Leu
 405 410 415

Leu Glu Asn Arg Leu Asn His Gly Ser
 420 425

<210> 45
 <211> 761
 <212> PRT
 <213> Bacteriófago phiCTX

<400> 45

Met Thr Ser Pro Lys Tyr Gly Gly Leu Leu Thr Asp Ile Gly Ala Ala
 1 5 10 15

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

Met Leu Ile Gly Asp Ala Gly Gly Ala Pro Gly Glu Thr Ala Asp Pro
 35 40 45

Ile Pro Ser Ala Ala Gln Thr Lys Leu Ile Arg Gln Arg Tyr Arg Ala
 50 55 60

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

Ala Glu Leu Val Leu Pro Met Ala Ile Gly Gly Phe Trp Ile Arg Glu
 85 90 95

Ile Gly Leu Glu Asp Ala Asp Gly Lys Phe Val Ala Val Ala Asn Cys
 100 105 110

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

Thr Ile Arg Val Gln Ile Ile Leu Ser Gly Met Glu His Val Glu Leu
 130 135 140

Ile Ile Asp Asp Gly Ile Val Tyr Ala Thr Gln Asp Trp Val Thr Ala
 145 150 155 160

Lys Val Ala Ala Asp Phe Lys Gly Arg Lys Val Leu Ala Gly Asn Gly
 165 170 175

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

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

195	200	205
Asn Gly Ile Val Thr Ala Gly Ser Asn Pro Thr Thr Leu Gly Gly Tyr 210 215 220		
Gly Ile Thr Asp Ala Leu His Ala Ser Glu Ala Val Thr Thr Pro Thr 225 230 235 240		
Ala Asn Lys Leu Leu Arg Leu Asn Ala Ala Gly Leu Leu Pro Ala Ser 245 250 255		
Ile Thr Gly Asn Ala Ala Thr Ala Ser Arg Leu Ala Ala Pro Ile Thr 260 265 270		
Leu Ser Ala Ser Gly Asp Ala Thr Trp Ser Ala Arg Phe Asp Gly Ala 275 280 285		
Thr Asn Val Asn Gly Val Leu Thr Leu Ala Asn Ser Gly Val Thr Ala 290 295 300		
Gly Thr Tyr Ala Lys Val Thr Val Asn Ala Lys Gly Leu Val Thr Gly 305 310 315 320		
Ala Thr Gly Leu Val Ala Ser Asp Ile Pro Ala Leu Asp Ala Gly Lys 325 330 335		
Ile Thr Ser Gly Ile Leu Pro Ala Ala Arg Gly Gly Thr Gly Asn Gly 340 345 350		
Ile Gly Gln Ala Ala Thr Ala Val Lys Leu Val Ala Pro Arg Thr Ile 355 360 365		
Tyr Leu Gly Gly Asp Val Ser Gly Ser Thr Thr Phe Asp Gly Ser Ala 370 375 380		
Asn Ala Gly Ile Thr Val Thr Leu Ala Asn Gly Val Asn Ala Gly Ser 385 390 395 400		
Tyr Pro Lys Val Thr Val Asn Ala Lys Gly Leu Val Thr Gly Gly Gly 405 410 415		
Gly Leu Thr Ala Ala Asp Ile Pro Ala Leu Asp Ala Ser Lys Ile Ala 420 425 430		
Thr Gly Arg Leu Asp Leu Glu Arg Leu Pro Leu Val Ser Gln Gly Leu 435 440 445		

Ala Thr Ala Val His Thr Ser Val Asp Pro Asn Ser Val Val Ile Pro
 450 455 460

Leu Val Leu Thr Asn His Ala Asn Gly Pro Val Ala Gly Arg Tyr Tyr
 465 470 475 480

Tyr Ile Gln Thr Met Phe Tyr Pro Thr Val Glu Gly Asn Ala Thr Gln
 485 490 495

Ile Ala Thr Gly Tyr Ala Gly Val Ala Asp Met Tyr Val Arg Tyr Ala
 500 505 510

Tyr Ala Ser Pro Ala Thr Thr Asp Ser Ser Lys Arg Glu Trp Ser Ala
 515 520 525

Trp Val Arg Cys Asp Leu Gly Gly Ala Phe Ala His Ala Pro Asp Gly
 530 535 540

Glu Leu Gly Gly Tyr Val Asn Leu Asp Ser Met Ile Ala Ser Gly Trp
 545 550 555 560

Trp His Gln Pro Phe Thr Ala Asn Ala Lys Asn Gly Ala Asn Tyr Pro
 565 570 575

Val Gly Glu Ala Gly Leu Leu Thr Val His Ala Pro Thr Ala Ser Met
 580 585 590

Ile Tyr Gln Thr Tyr Arg Gly Tyr Ala Ala Gly Gly Leu Tyr Trp Arg
 595 600 605

Cys Arg Tyr Asn Gly Thr Trp Ser Ala Trp Tyr Arg Ala Trp Asp Ser
 610 615 620

Gly Asn Phe Asn Pro Ala Asn Tyr Val Ala Lys Ser Glu Tyr Ser Trp
 625 630 635 640

Ala Ser Leu Pro Gly Lys Pro Ser Asn Phe Pro Pro Ser Val His Val
 645 650 655

His Ser Ala Ala Ser Arg Gly Val Ser Gly Trp Tyr Lys Asn Asn Asp
 660 665 670

Thr Gly Val Ile Phe Gln Trp Val Asn Leu Ser Ile Gly Asp His Pro
 675 680 685

Gly Gly Val Ile Asp Arg Val Val Thr Phe Pro Ile Ala Phe Pro Asn
 690 695 700

Ala Cys Leu His Val Val Pro Thr Val Arg Glu Asn Gly Arg Pro Ala
 705 710 715 720

Ile Pro Ala Ser Thr Val Thr Val Ala Glu Lys Ala Arg Thr Ala Thr
 725 730 735

Asn Cys Thr Ile Val Ser Ser Glu Tyr Ile Gly Asn Val Gln Asn Phe
 740 745 750

Gly Ile Asn Val Phe Ala Ile Gly Tyr
 755 760

<210> 46
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Iniciador AV085

<400> 46
 gcttcaatgt gcagcgtttg c

21

<210> 47
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Iniciador AV088

<400> 47
 gccacaccgg tagcggaaaag gccaccgtat ttcggagtat

40

<210> 48
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Iniciador AV087

<400> 48
 atactccgaa atacggtggc ctttccgcta ccggtgtggc

40

<210> 49
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

<220>
<223> Iniciador AV086

<400> 49
tccttgaatt ccgcttgctg ccgaagttct t 31

<210> 50
<211> 38
<212> DNA
<213> Sequência Artificial

<220>
<223> Iniciador AV110

<400> 50
tttattagcg gaagagccga ctgcacggtg caccaatg 38

<210> 51
<211> 38
<212> DNA
<213> Sequência Artificial

<220>
<223> Iniciador AV114

<400> 51
ccctcgaatt catgaatact gtttcctgtg tgaaattg 38

<210> 52
<211> 29
<212> DNA
<213> Sequência Artificial

<220>
<223> Iniciador AV118

<400> 52
cttcctttca tgacgaccaa tactccgaa 29

<210> 53
<211> 30
<212> DNA
<213> Sequência Artificial

<220>
<223> Iniciador AV116

<400> 53
accacgaatt cttcatcgtc caaatgcctc 30

<210> 54
<211> 31
<212> DNA
<213> Sequência Artificial

<220>
 <223> Iniciador AV107

 <400> 54
 caccatctag acaatacgag agcgacaagt c 31

 <210> 55
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

 <220>
 <223> Iniciador AV091

 <400> 55
 tcctcaagct tacgttggtt accgtaacgc cgtg 34

 <210> 56
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

 <220>
 <223> Iniciadores AV118 e AV127

 <400> 56
 ttctttaagc ttttccttca cccagtctcg 30

 <210> 57
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

 <220>
 <223> Iniciador AV124

 <400> 57
 cctcctgaat tcttattgag gcatttcg 29

 <210> 58
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

 <220>
 <223> Iniciador AV126

 <400> 58
 tccttcgaat tcttacacct gcgcaacgt 29

 <210> 59
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Sequência Artificial

 <220>

<223> Iniciadores AV124 e AV125

<400> 59
cctcctgaat tcttattgag gcatttccg

REIVINDICAÇÕES

1. Molécula de ácido nucléico que codifica uma proteína de fibra caudal de bacteriocina de peso molecular alto (hmw) compreendendo uma região de ligação de placa de base (BPAR) e um domínio de ligação de receptor heterólogo (RBD).
5
2. Molécula de ácido nucléico de acordo com a reivindicação 1, em que o dito RBD compreende uma substituição, inserção, ou deleção de um ou mais aminoácidos com relação a um RBD de ocorrência natural de uma proteína de fibra caudal.
10
3. Molécula de ácido nucléico de acordo com a reivindicação 2, em que o dito RBD é de uma proteína de fibra caudal de bacteriófago.
15
4. Molécula de ácido nucléico de acordo com a reivindicação 3, em que o dito RBD de uma proteína de fibra caudal de bacteriófago ou de bacteriocina de hmw compreende de cerca de 347 a cerca de 755 aminoácidos, em comprimento, incluindo o término C, da dita proteína.
20
5. Molécula de ácido nucléico de acordo com a reivindicação 1, adicionalmente compreendendo uma seqüência de ácido nucléico que codifica uma chaperona cognata da proteína de fibra caudal.
25
6. Molécula de ácido nucléico de acordo com a reivindicação 1, em que o RBD expresso liga um receptor correspondente em uma superfície de uma célula bacteriana depois compromete a integridade de uma membrana citoplásmica da dita célula.
30
7. Molécula de ácido nucléico de acordo com a reivindicação 1, em que a bacteriocina é uma piocina do tipo R, monocina, enterocolitina, ou meningocina.
35
8. Molécula de ácido nucléico de acordo com a reivindicação 1, em que o RBD expresso liga um fator de virulência ou aptidão em uma superfície de uma célula bacteriana.
40
9. Bacteriocina de hmw compreendendo uma proteína de fibra caudal codificada por uma molécula de ácido nucléico como definido em quaisquer das reivindicações 1-8.
45
10. Bacteriocina de acordo com a reivindicação 9 em que a pro-

teína de fibra caudal compreende toda ou parte da seqüência de aminoácido representada pela SEQ ID Nº: 1, 3, 5, 7, 9, 27, e/ou 30.

11. Bacteriocina de acordo com a reivindicação 9, em que o dito RBD liga um fator de virulência ou aptidão bacteriana.

5 12. Porção da bacteriocina como definido na reivindicação 9, em que a porção de RBD liga um receptor em uma superfície da célula e depois compromete a integridade da membrana citoplásmica da célula.

13. Composição antibacteriana compreendendo a bacteriocina como definido na reivindicação 9, e um veículo ou excipiente.

10 14. Composição de acordo com a reivindicação 13, em que o veículo ou excipiente é farmacologicamente aceitável.

15 15. Composição de acordo com a reivindicação 14, em que o dito veículo ou excipiente é adequado para administração tópica, oral, ou sistêmica.

16 16. Célula bacteriana transfeccionada ou transformada com, ou contendo, uma molécula de ácido nucléico como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 8.

20 17. Célula bacteriana de acordo com a reivindicação 16, em que a expressão da dita proteína de fibra caudal e/ou sua chaperona cognata é regulada por um promotor sensível a prtN ou um promotor natural.

18. Célula bacteriana de acordo com a reivindicação 17, em que a célula codifica e é capaz de expressar a proteína de fibra caudal de bacteriocina.

25 19. Célula bacteriana de acordo com a reivindicação 18, em que a seqüência de codificação da proteína de fibra caudal endógena da bacteriocina é inativada ou excluída.

20. Método de produzir uma bacteriocina de hmw, o dito método compreendendo cultivar a célula bacteriana como definido na reivindicação 16, sob condições que resultam na produção da bacteriocina.

30 21. Método de acordo com a reivindicação 20, em que as ditas condições são *in vivo*.

22. Método de comprometer a integridade de uma membrana

citoplásmica de uma célula bacteriana, o dito método compreendendo contatar a dita bactéria com a bacteriocina como definido na reivindicação 9.

23. Método de acordo com a reivindicação 22, em que o dito contato ocorre *in vivo*.

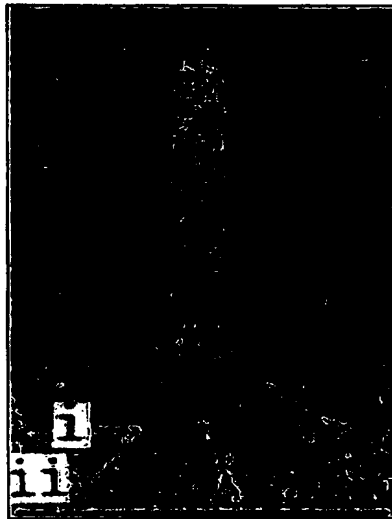
5 24. Método de comprometer a integridade de uma membrana citoplásmica de uma célula bacteriana em um sujeito, o dito método compreendendo administrar uma bacteriocina como definido na reivindicação 9, ao dito sujeito.

25. Método de formar progênie de bactérias não-virulentas de
10 bactérias progenitoras virulentas, o dito método compreendendo contatar as bactérias virulentas com uma bacteriocina como definido reivindicação 11, em que a bacteriocina liga o fator de virulência ou aptidão das ditas bactérias progenitoras virulentas, e selecionar a progênie de bactérias não-virulentas.

26. Método de manter uma população de bactérias não-
15 virulentas, o dito método compreendendo contatar a dita população com uma bacteriocina como definido na reivindicação 11, em que a bacteriocina liga o fator de virulência ou aptidão de bactérias virulentas, para impedir a propagação das bactérias virulentas.

Piocina do tipo R

A)



B)

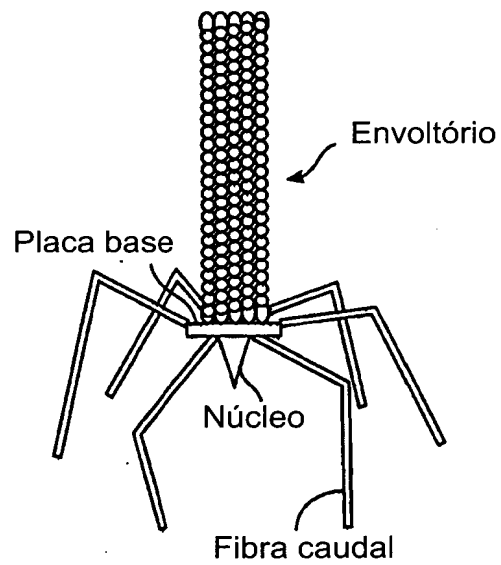


FIG. 1

Ensaio de diluição serial de tingimento

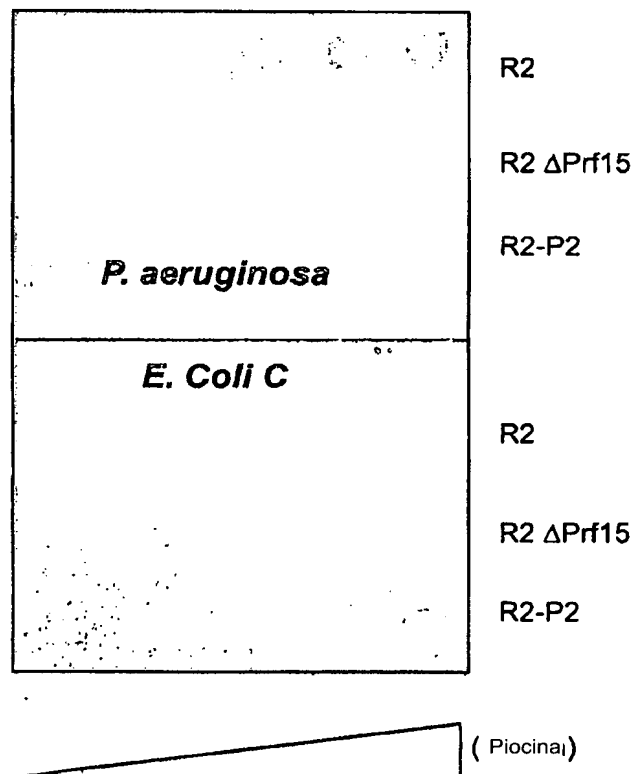


FIG. 2

Complementação da estrutura de piocina R2 com
uma fusão da fibra caudal R2-P2

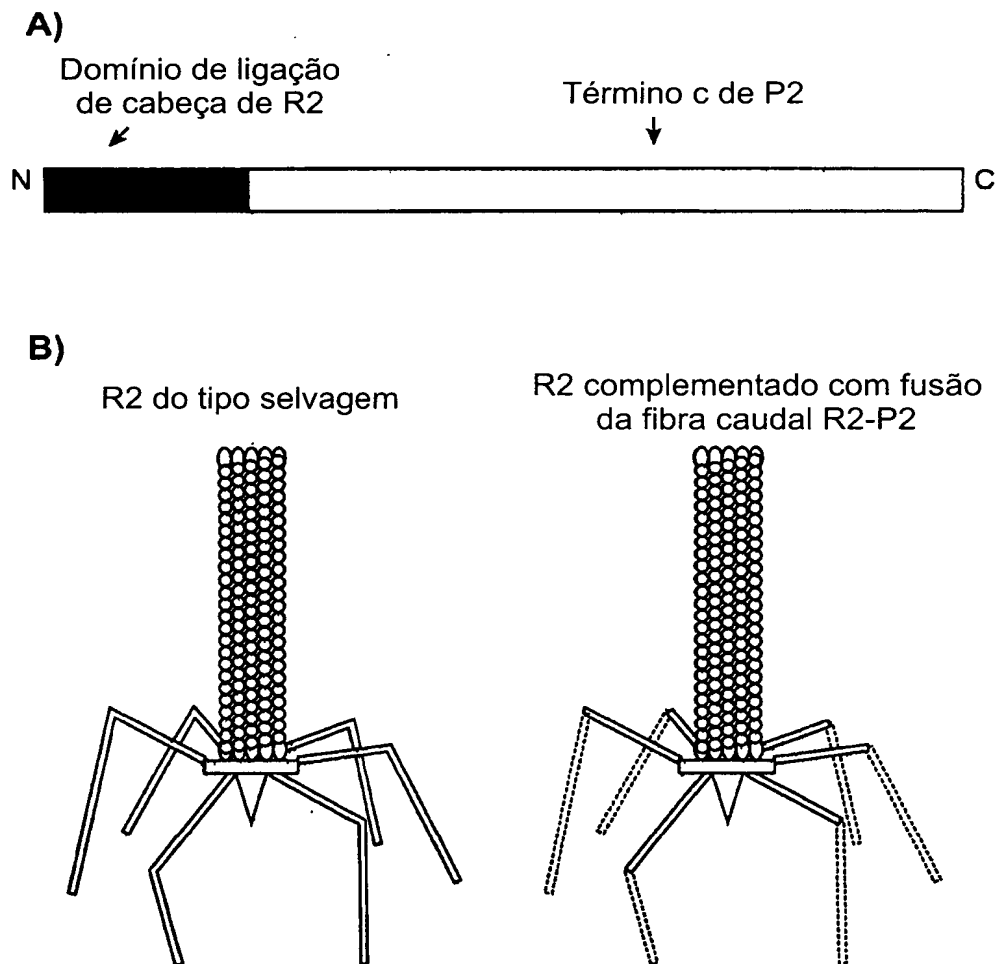


FIG. 3

Fusões R2-P2 múltiplas e suas atividades bactericidas

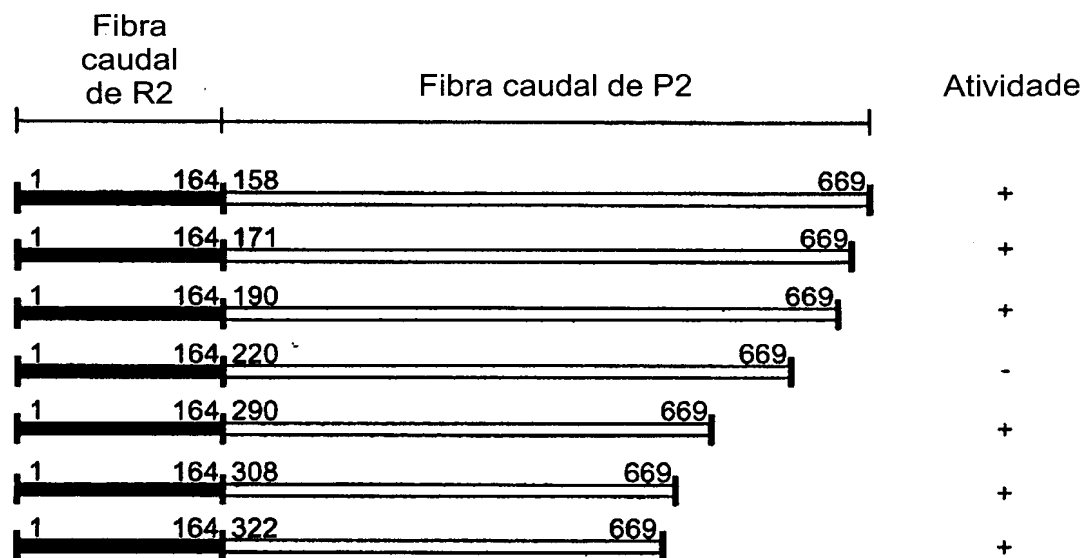


FIG. 4

Várias porções do término N da fibra caudal de R2 (BPAR) fundidas à porção 158-669 C-terminal (RBD) da fibra caudal de P2

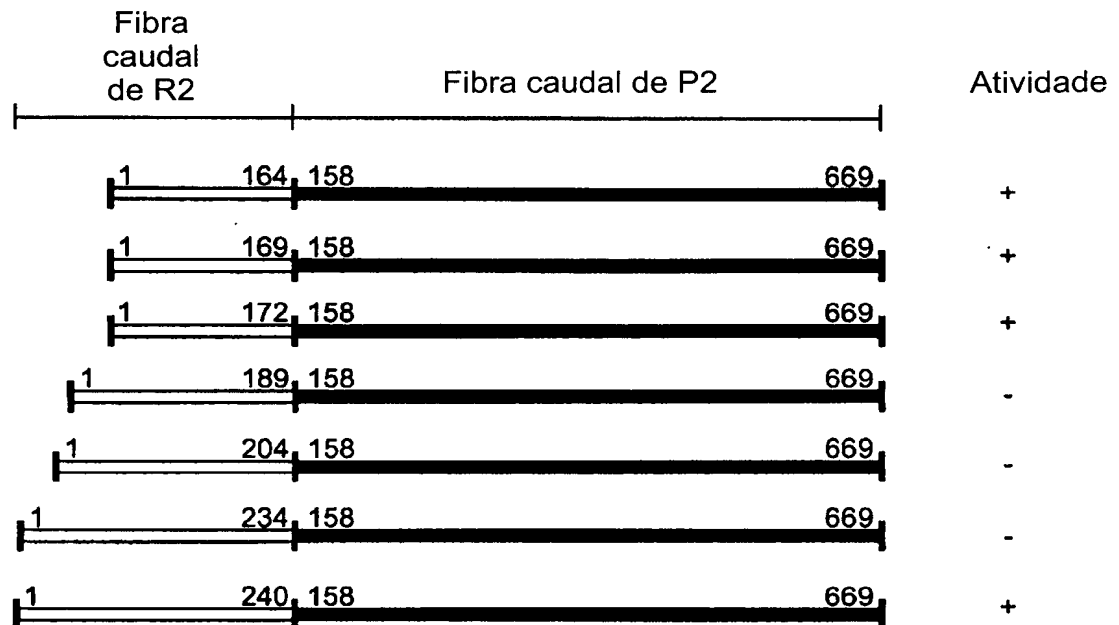


FIG. 5

Fusões R2-P2 múltiplas e suas atividades bactericidas

Fibra caudal de R2		Fibra caudal de P2		Atividade
1	240	158	669	+
1	240	171	669	-
1	240	190	669	-
1	240	203	669	-
1	240	220	669	-
1	240	254	669	+/-
1	240	290	669	-
1	240	308	669	-
1	240	322	669	+

FIG. 6

Várias porções do término N da fibra caudal de R2 (BPAR)
fundidas à porção 322-669 C-terminal (RBD) da fibra caudal de P2

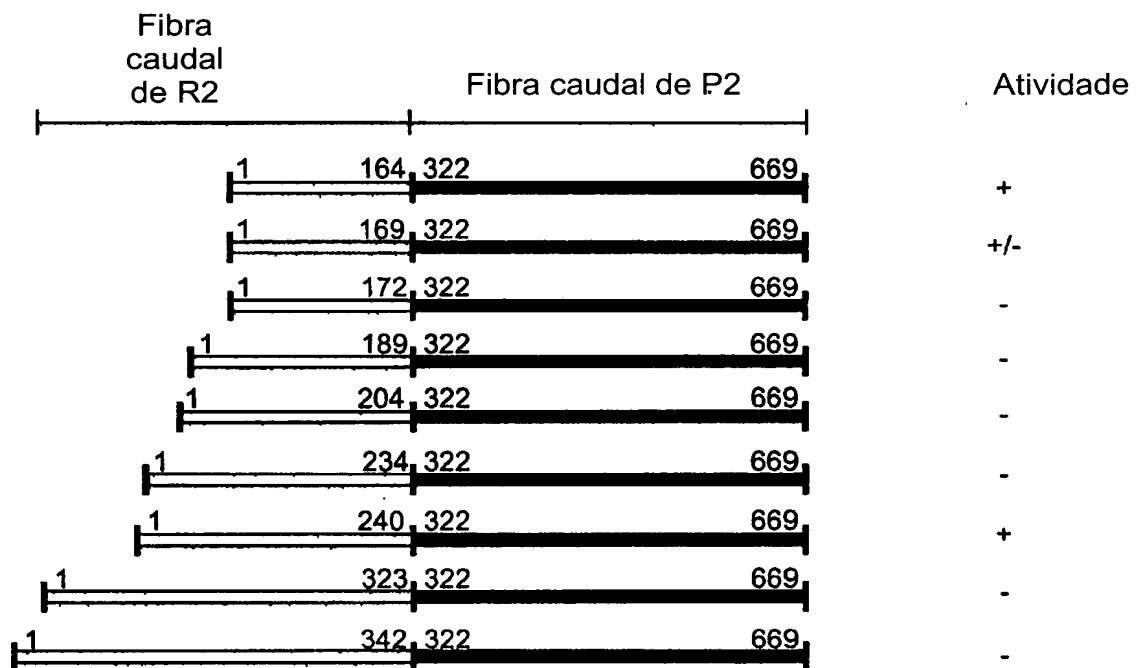


FIG. 7

Complementação trans da estrutura de piocina de R2 de Δ prf15 de PA01 com várias fibras caudais de piocina do tipo R, fusões de fibras caudais e chaperonas

Fibra caudal (Prf15)	Atividade bactericida <i>prf15</i> expresso sozinho	Atividade bactericida <i>prf15</i> e chaperona cognata	% de identidade de sequência de PRF15 a PRF15 de R2	% de identidade de sequência de aa 1-429	% de identidade de sequência de aa 430-fim	% de identidade de sequência de Prf16 a Prf16 de R2
R1	+	+++	82	99	52	32
R2	++	+++	100	100	100	100
R3	++	+++	99	99	98	98
R4	++	+++	98	99	99	99
R5	-	+++	83	97	58	35
R2-P2	-	+++ (P2)	14	na	na	6
R2-L413c	-	+++ (413)	19	na	na	6

FIG. 8

Vetor de expressão da fibra caudal de piocina & chaperona

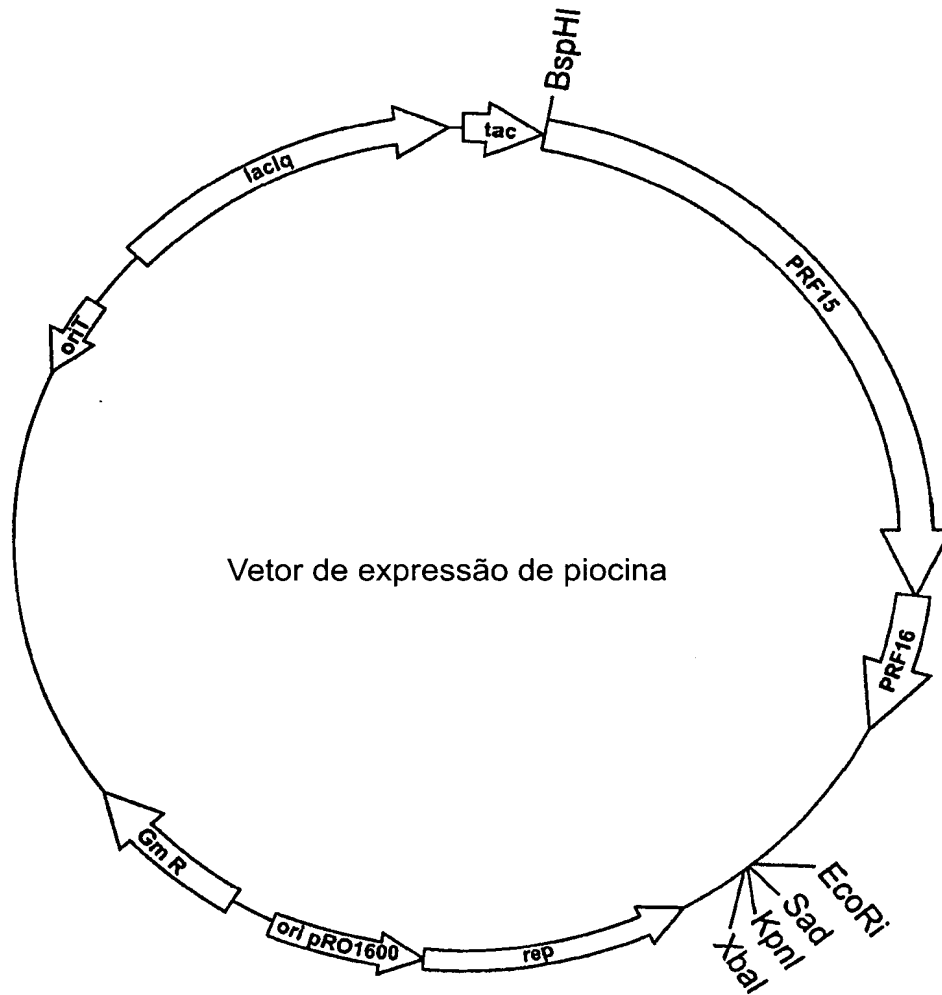


FIG. 9

Construção da fibra caudal de piocina específica para *Yerhinia pestis*

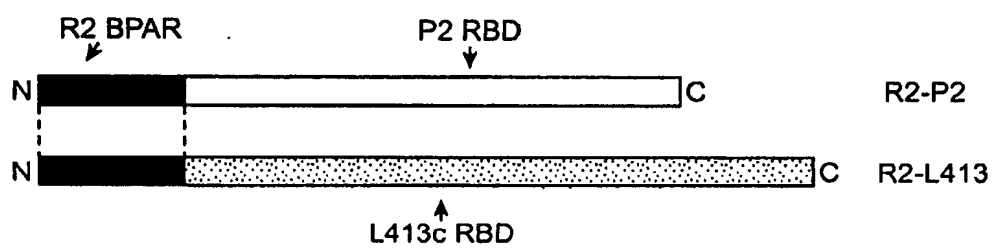


FIG. 10

Listagens de sequência

SEQ ID NO:1 >R1 prf15

MTTNTPKYGGLLTDIGAAALAAASAAGKKWQPTHMLIGDAGGAPGDTDPDPLPSAAQKSLI
 NQRHRAQLNRLFVSDKNANTLVAEVVLPVEVGFWIREIGLQDADGKFVAVSNCPPSYKA
 AMESGSARTQTIRVNIALSGLENVQLLIDNGIIYATQDWVKEKVAADFKGRKILAGNGLV
 GGGDLSADRSIGLAPSGVTAGSYRSVTVNANGVVTTQGSNPTTLAGYAIGDAYTKADTDGK
 LAQKANKATTLAGYGITDALRVDGNAVSSSRLAAPRSLAASGDASWSVTFDGSANVSAPL
 SLSATGVAAGSYPKVTVDTKGRVTAGMALAATDIPGLDASKLVSGVLAEQRLPVFARGLA
 TAVSNSSDPNTATVPLMLTNHANGPVAGRYFYIQSMFYPDQNGNASQIATSYNATSEMYV
 RVSYAANPSIREWLPWQRCDIGGSFTKTTDGSIGNGVNINSFVNSGWWLQSTSEWAAGGA
 NYPVGLAGLLIVYRAHADHIYQTYVTLNGSTYSRCCYAGSWRPWRQNWDDGNFDPASYLP
 KAGFTWAALPGKPATFPFSGHNHDTSQITSGILPLARGGLGANTAAGARNNIGAGVPATA
 SRALNSGWKNDNTGLIVQWMQVNVGDHPGGI IDRTLTFPIAFPSACLHVVPVKEVGRPA
 TSASTVTADVSVSNTGCVIVSSEYYGLAQNYGIRVMAIGY

SEQ ID NO:2 >R1 prf16

MIFFHAATGGFYKIEHGSRMPLDEMHPLEDAEYQALLRAQSEGKRIVTDHTGRPICVD
 PPAPAKDILVQRERIWRDRQLQLTGDLARHRDEQDLGKTTTLSQEQLRELTLYRAVLRLD
 WPAAEFPDNLNARPEPPAWLQSLITP

SEQ ID NO:3 >R2 prf15

MATNTPKYGGLLTDIGAAALATASAAGKKWQPTHMLIGDAGGAPGDTDPDPLPSAAQKSLI
 NQRHRAQLNRLFVSDKNANTLVAEVVLPVEVGFWIREIGLQDADGKFVAVSNCPPSYKA
 AMESGSARTQTIRVNIALSGLENVQLLIDNGIIYATQDWVKEKVAADFKGRKILAGNGLL
 GGGDLSADRSIGLAPSGVTAGSYRSVTVNANGVVTTQGSNPTTLAGYAIGDAYTKADTDGK
 LAQKANKATTLAGYGITDALRVDGNAVSSSRLAAPRSLAASGDASWSVTFDGSANVSAPL
 SLSATGVAAGSYPKVTVDTKGRVTAGMALAATDIPGLDASKLVSGVLAEQRLPVFARGLA
 TAVSNSSDPNTATVPLMLTNHANGPVAGRYFYIQSMFYPDQNGNASQIATSYNATSEMYV
 RVSYAANPSIREWLPWQRCDIGGSFTKEADGELPGGVNLD SMVTSGWWSQSFTAQAASGA
 NYPPIVRAGLLHVYAASSNFIYQTYQAYDGESFYFRCRHSNTWFPWRRMWHGGDFNPSTDY
 LKSGFYWNALPGKPATFPFSAHNHDVGQLTSGILPLARGGVGSNTAAGARSTIGAGVPAT
 ASLGASGWWRDNDTGLIRQWQVTCPADADASITFPIPFPTLCLGGYANQTSAPHPGTDA
 STGFRGATTTTAVIRNGYFAQAVLSWEAFGR

SEQ ID NO:4 >R2 PRF16

MKGEYYFSPSQVAFYPASLREVYEGCWVPVDGEWVSAELHEQLMNEQAAGRAISSDVNG
 NPVAIERPPLSRQQRSTHERRWRDSQLLATDGLVVRHRDQLETGKETTLPLVQYHELSY
 RASLRDWPEEPLFPDSGGRPSVPDWLRRYVTP

SEQ ID NO:5 >R3 prf15

MTTNTPKYGGLLTDIGAAALAAASAAGKKWQPTHMLIGDAGGAPGDTLDPLPSAAQKSLI
 NQRHRAQLNRLFVSDKNANTLVAEVVLPVEVGFWIREIGLQDADGKFVAVSNCPPSYKA
 AMESGSARTQTIRVNIALSGLENVQLLIDNGIIYATQDWVKEKVAADFKGRKILAGNGLL
 GGGDLSADRSIGLAPSGVTAGSYRSVTVNANGVVTTQGSNPTTLAGYAIGDAYTKADTDGK
 LAQKANKATTLAGYGITDALRVDGNAVSSSRLAAPRSLAASGDASWSVTFDGSANVSAPL
 SLSATGVAAGSYPKVTVDTKGRVXAGMALAATDIPGLDASKLVSGVLAEQRLPVFARGLA
 TAVSNSSDPNTATVPLMLTNHANGPVAGRYFYIQSMFYPDQNGNASQIATSYNATSEMYV
 RVSYAANPSIREWLPWQRCDIGGSFTKEADGELPGGVNLD SMVTSGWWSQSFTAQAASGA
 NYPPIARAGLLHVYAASSNFIYQTYQAYDGESFYFRCRYSNWLPWRRMWHGGDFNPSTDY
 LKSGFYWNALPGKPATFPFSAHNHDVGQLTSGILPLARGGVGSNTAAGARSTIGAGVPAT
 ASLGASGWWRDNDTGLIRQWQVTCPADADASITFPIPFPTLCLGGYANQTSAPFPGTDA
 STGFRGATTTTAVIRNGYFAQAVLSWEAFGR

FIG. 11A

12/20

SEQ ID NO:6 >R3 prf16
MKGEYFSPSQVAFYPASLREVYEHAGCWPVDGEWVSAELHEQLMNEQAAGRAISSDVNG
NPVAIERPPLSRQQRSTHERRWRDSQLLATDGLVVRHRDQLETGKETTLTPVQYHELMYSY
RASLRDWPEEPLFPDSSGGRPSVPDWLRRYVTP

SEQ ID NO:7 >R4 prf15
MTTNTPKYGGLLTDIGAAALAAASAAGKKWQPTHMLIGDAGGAPGDTDPDPLPSAAQKSLI
NQRHRAQLNRLFVSDKNANTLVAEVVLPVEVGGFWIREIGLQDADGKFVAVSNCPPSYKA
AMESGSARTQTIRVNIALSGLENVQLLIDNGIIYATQDWVKEKVAADFKGRKILAGNGLV
GGGDLSDADRSIGLAPSGVTTAGSYRSVTVNANGVVTQGSNPTTLAGYAIGDAYTKADTDGK
LAQKANKATTLAGYGITDALRVDGNAVSSSRLAAPRSLAASGDASWSVTFDGSANVSAPL
SLSATGVAAGSYPKVTVDTKGRVTAGMALAATDIPGLDASKLVSGVLAEQRLPVFARGLA
TAVSNSSDPNTATVPLMLTNHANGPVAGRYFYIQSMFYPDQNGNASQIATSYNATSEMYV
RVSYAANPSIREWLPWQRCDIGGSFTKEADGELRGGVNLDSMVTSGWWSQSFTQAATGA
NYPPIVRAGLLHVYAASSNFIYQTYQAYDGESFYFRCHSNTWFPWRRMWHGGDFNPSDYL
LKSGFFWNALPGKPATFPFSAHNHDVQQLTSGILPLARGGVGSNTAAGARSTIGAGVPAT
ASLGASGWWRDNDTGLIRQWQVTCPADADASITFPIPFPTLCLGGYANQTSAFHPGTDA
STGFRGATTTTAVIRNGYFAQAVLSWEAFGR

SEQ ID NO:8 >R4 prf16
MKGEYFSPSQVAFYPXSLREVYEHAGCWPVDGEWVSAELHEQLMNEQAAGRAISSDVNG
NPVAIERPPLSRQQRSAHERRWRDSQLLATDGLVVRHRDQLETGKETTLTPVQYHELMYSY
RASLRDWPEEPLFPDSSGGRPSVPDWLRRYVTP

SEQ ID NO:9 >R5 prf15
MTTNTPKYGGLLTDIGAAALAAASAAGKKWQPTHMLIGDAGGAPGATPDPIPAATQTKLI
NQRHRAQLNRLFVSDKNINTLVAEVVLPVEVGGFWIREIGLQDADGKFVAVSNCPPSYKA
AMESGSARTQTIRVNIALSGLENVQLLIDNGIIYATQDWVKEKVAADFKGRKILAGNGLV
GGGDLSDADRSIGLAPSGVTTAGSYRSVTVNANGVVTQGSNPTTLAGYAIGDAYTKADTDGK
LAQKANKATTLAGYGITDALRVDGNAVSSSRLAAPRSLAASGDASWSVTFDGSANVSAPL
SLSATGVAAGSYPKVTVDTKGRVTAGMALAATDIPGLDASKLVSGVLAEQRLPVFARGLA
TAVSTSDPNTATVPLMLTNHANGPVAGRYFYIQSMFYPDQNGNASQIATSYNATSEMYV
RVSYAANPSARDWLPWKRCIDIGGSFSKEADGALGGAVNLNSLITSGWVYQTANAQAESGA
NYPVPRAGLLQVHNAGTNFIYQTYQVYDGEFGFYFRCRYTNTWYPWRRVWHGADFNPNNDYL
LKSGFTWAALPGKPATFPPTGHNHDAQAQITSGILPLARGGLGSNTAAGARNNIGAGVPAT
ANRSLNGWWDNDTGLIVQWMTVSVGDHPGGIVNRSLTFPIAFPTTCLHVVPVSKELGRP
ATSASTVTLADVSSTTGCVIVATEYHGAQVNYAIRLVAIGC

SEQ ID NO:10 >R5 prf16
MIFFHAATGGFYSKDVHGDMPIDARMYPLEEAEYLALLVAQSEGKQIVADAAGRPFPCID
PPAPAEVLAHRERIWRDRQLTLTDGPIARHRDELGLKITTLNQAQLELTLYRASLRD
WPASAAFPDLGARPEPPLWLEPLITP

SEQ ID NO:11 > OprM
MKRSFSLSLAVALVLSGCSLIPDYQRPEAPVAAAYPQGQAYGQNTGAAAVPAADIGWREF
FRDPQLQQLIGVALENNRDLRVAALNVEAFRAQYRIQRADLFPRIGVDGSGTRQRLPGDL
STTGSPAISSQYGVTLGTTAWELDLFGRRLSLRDQALEQYLATEQAQRSAQTTLVASVAT
AYLTLKADQAQLQTLKDTLGTQYKSFDLTQRSYDVGVASALDLRQAQTAVEGARATLAQY
TRLVAQDQNALVLLGSGIPANLPQGLGLDQTLLEVPAGLPSDLLQRRPDILEAEHQLM
AANASIGAARAAFPFISILTANAGTMSRQLSGLFDAGSGSWLFQPSINLPIFTAGSLRAS
LDYAKIQKDINVAQYKAIQTAQEVADGLAARGTFTEQLQAQRDLVKASDEYYQLADKR
YRTGVDNYLTLDDAQRSLFTAQQQLITDRNLQLTSEVNLYKALGGGWNQQTVTQQQTAKK
EDPQA

FIG. 11B

13/20

SEQ ID NO:12 > OprJ

MRKPAFGVSALLIALTLGACSMAPTYERPAAPVADSWSGAAAQRQGAIDTLDWKSFIVD
AELRRLVDMALDNNRSLRQTLLDIEAARAQYRIQRADRVPGLNAAATGNRQRQPADLSAG
NRSEVASSYQVGLALPEYELDLFGRVKS LTDAALQQYLASEEAAARAIALVAEVSQAYL
SYDGA LRRLALTRQTLVSREYSFALIDQRRAGAATAALDYQEALGLVEQARAEQERNLRQ
KQQA FNALVLLGSDDAQAIPRSPGQRPKLLQDIAPGTPSELIERRPDILAEHRLRAR
NADIGAARA AFFPRISLTGSFGTSSAEMSGLFDGGSRSWSFLPTLTLPIDFGGRNRANLS
LAEARKDSAVAAYEGTIQTAFREVADALAASDTLRREKALRALANSSNEALKLAKARYE
SGVDNHLRYLDAQRSSFLNEIAFIDGSTQRQIALVDLFRALGGGWDEGRSLVVRHGGRS

SEQ ID NO:13 > OprN

MIHAQSIRSGLASALGLFSLALSACTVGPDPYRTPDTAAKIDATASKPYDRSRFESLWW
KQFDPTLNQLVEQSLSGNRDLRVAFARLRAARALRDDVANDRFVVTSRASADIGKGOQ
PGVTEDRVNSERYDLGLDSAWELDLFGRI RRQLESSDALSEAAEADLQQLQVSLIAELVD
AYGQLRGAQLREKIALSNLENQKESRQLTEQLRDAGVGAELDVLRADARLAATAASVPQL
QAEARARHRIATLLGQRPEELTVDLSPRDLPAITKALPIGDPGELLRRRPNI RAAERRV
AASTADVGVATADLFPAQGPQRLPRLHRRAGSQIGSSAARAWSVGPSISWAADFGLSVRA
RLRGAKADADAALASYEQVLLALEESANAFSDYGRQERLVSLVRQSEASRAAAQQA I
RYREGTTDFVLVLLDAEREQLSAEDAQAQAEVELYRGIVAIYRSLGGGWQPSA

SEQ ID NO:14 > AprF

MRRLMTWLFGAFLLLLREDAFALGLLDGYHLALENDPQFQAAIQEHEAGRQYRALGRAAL
LPRLVYSYNRGRSWSVDVTQTTRGDFKEDRDYDSYVSTLSLQQLPFDYEA FSRYRKGVAQ
ALLSDERFRSQSQELLVRVLEAYTGALLAQDQIELARAQKRSYREQFQLNQRQFERGNGT
RTDTLETQARENLAQAQETEARDSQDAALRELERLVGAPLEIADLAPLGERFQVRPLSPA
SYTAWRDLALAENPELASLRHAVDVARYEVEQNRA DFLPRLGLYASTGKSKSGSENTYNQ
RYETDSVGIQLSVPLFSGGETLAATRQATHRMEKSHYDLDDKVRET LNQVRKMYNQSSSS
AAKIRAYEMTVDSARTLVMATRKSIAAGVRVNLDDLNAEQALYSAMNELSKAKYDYLTAW
ARLRFYAGVLDEADLELVAANFVSGETPARRRDCATTD CPAPLHTLSKTDTEENRSALN

SEQ ID NO:15 > OpmM

MNRLRACLLSSALLSASSAQALGLLDAYQLAVRHDPTFQAALHERRAGSENRAIGRAGLL
PSLRDYDNKARNDSTVSQGDARVERDYRSYASTLSLEQPLFDYEA YARYRQGEAQALFAD
EQFRGRSQELAVRLFAAYSETLFAREQVVLAEAQRALETQLAFNQRAFEEGEGTFTDLL
ETRARLSLTRAEBIAASDRAAAARRTLEAMLGQALEDELA APIERFPALRLQPATFEGW
RQVALQRSaelGAQRHALEAAAYEVERNRAGHLPRLSLYASSSKTHSASESTYEQYD TD
SVGLRLSLPLFEGGRVSAATRQAGDKYAQAQAE LDAQVASVINDLHSQFDLTASSLAKVR
AYEMAVAAAREQVTATRRSVAGGERVNRDVLDAEQQPYGARRDLAEARYAYLNAWLRLRQ
LAGVLEDRDLAVLAAYFGAGEGRAQVTAAIR

SEQ ID NO:16 > OpmA

MKGTPLLLIASLALGACSLGPDFTRPDRPAPGEWSLQAAAGNPSHLAAAPLAAQWTLFD
DAQLNALLQVRQANLDLRSAAARLQQSRAIRRS LGGDALPSVDASGNYQRQTTSAGLF
DPSGKAGKGNYNHALAGFDASWELDFWGRVRRELAADATVEASENELRDVQVSVLAEAA
RDYIQLRGEQNRAAI IRDNLETARRSLELTRRLANGVATDLEVAQALAQVASMEARLPE
VEKNQAHLVNALGYLVGASPGSLLAELGPARAIPRPPGSVPVGLPSELAQRRPDIRRAEA
RLHAATASIGVAKADFYPRITLNGNFGFESLQLSSLGWDHQRQFAIGPAFSLPIFEGGRL
RGRLELREAQQQEEAIDYQRTVLRAWQEVDDAMHDYAA NQRRQERLGEAVAQNRRALQSA
REQYRAGAVDFLSVLDSQRQLLDNQEQQVASDEAVSLTLVNLYKALGGGWSPTS DPASG

SEQ ID NO:17 > OpmD

MKRSYPNLSRLALALAVGTGLAACSVGPDYQRPQSPPPRVASEHLGEFSGERREAPWWSF
FDDPQLVRLVDQALARNHDI REARANLSARALFDDRWDQLPQVTSQAGYSRSIEQQLD
YDGEPRRRLAESYRAGFDAQWEIDLFGRLGRLSDAALARAEEAADLRLVRLSIAADTAR
AYFEIQGYQRRLDVARAQVRSWRDTLELTRSSLQLGSGLPEDVENAQANLLRSEAIPPL
TTALESARYRLDVL RGEAPGSGAPILDGGAAPLAKNPLGVDVDRILQRPDVVSAERQL
AASTEDVGAATAELYPRDLGGFIGFFALRSGDLGSASRAFELAPSVSWPAFRLGNVRAR
LRAVEAQSDAALARYQRSLLAQEDVGNALNQLAEHQRRRLVALFQSATHGANALEIANER
YRAGAGSYLAVLENQRALYQIREELAQAETASFVNVIALYKALGWGSGDLAPGAGQLAAG
ETAGANR

FIG. 11C

SEQ ID NO:18 > Opme

MKPYLRSSLSALILLGGCAAVGPDYAPPSASAPASFGAMPAGIDGSGVEIEWRGFDEPA
 LESLIQRALAAANDIALAGARLDEAKALLRENREEFLPRGGPAFDYQARRRGEVETPAGO
 QORDIETYRGALDASWEIDLFGVRVRSVEAAEAQAGSREALLRNVQASVAATVAMSWFQLQ
 GIEAELAVVHDIAGNQDSLEMVRLVSAGSAHEFDRLRAEALLHNVEAAVPLERRRAA
 TRNALAVLLAEAPQAFSPVARASGERLTLRTLGVGDPAGLLARRADIAAERNLAAATA
 RIGVETAGLYPQVEVRGSI GLVAGNLDALDESGTSFNVLPVIRWALLDRGRVWARIAAS
 EARAQEALILYDRTVLRALQETDDAFNGYGAAADRLRLRLEATANREARLARERFVQG
 DGEYLDVLEAERSDYLSRRALSIA RTEQRLAVVGIYKALGGGWEACAGARRCGVATDDTS
 PGVARQRDSRS

SEQ ID NO:19 > Gene H de Ps17

MSTNQYGGFLTDKGAQVEAASGGRLRRNITHMLIGDAGGAPGQTPDPVPSPLQTKLVRO
 RYRVKLNRLVAADNSPSVLIAEAILPQDVGGWWMRELGLESDGDMIAVANCAPSYKPLV
 NEGSGRTQTVRLHIAFSHAETVDLLIDPNVVTATVADLQNALLEV RATNDATGQMTRGTD
 GKLLALPLSLSLTGIAAGTYRSLTVDKGRATSGSNPTTLGGYGITDALAKSDAVDVPAPN
 KLLRLNAASQLPASITGNAATATKLAVPRMLSFTGDATGGASFDGSANAAVALTLANSV
 TAGTYAKVTVNGKGLVTGGAQLTAADI PALDAGKVVSGLVPIARGGTGNAIGQAATAVKL
 ASPRTLAIAGDATGSAAFDGSANASISVTLANTGVAVGTYTKVRVNAKGLVTSAA SLTAD
 DVPWLDASKVTSGMFADARLPWYAQGLCTSA PNTTDPNTNIPILITNHENGPIPGTFFY
 IQTMMYNQRNGNAAQIAVRYAANAEMYVRYMYDVGNKRGVWSAWKRCVVGGSFAKEADGE
 LGGGVNLDTMIASGWWHQPFSA NAKNGTNPVGEAGLLTVHAPTSTMIYQTYRGAAGGL
 YWRCRYNGTWSAWYRAWDSGNFNPNANYVARSEYSWASLPGKPATFPSPGHNHDTAQITSG
 ILPLARGGLGANNVARTARSNIGAGTIATASLGSSGWRDNDTGYIRQWGRVTVPGDGSA
 ITFPIAFPSVCLGGFAGQTANFHPGTDASTSFYNQSTTGATLENGYQFQAVLLWEAFGR

SEQ ID NO:20 > Gene G de Ps17

MSASDYVFSPSARVFPVALREVYETGEGWPADAVPVSNERYLHLLAGQEAGMRIAANAS
 GQPVLDPPPLTEABERRTKARAWRDAQLAQTDGMVARHRDERDLGNDTTLQPEQFVEVMN
 YRAALRNWPDPAFDPASRPEPPAWLAEEGTN

SEQ ID NO:21 > VHML 34

MAGLKLQFTEAGLAELISAKEQGIKGAISHLAFGDMAYTPNKSQTRLQREQERVEIADYQ
 DGGLSLRMAAVFSGEKEYAIREIGVFLSTGTLLGVYSQSGKTIGYRTPSVKVMQWLTLNI
 TALPSDSVTVVVGTEENLNLILDAEFMESAASFMLGAATIRQALWNLQLSEKIRALES

SEQ ID NO:22 > VHML 35

MGTITEQIESLKTASAEXTAAXQALAEVSGKMAAIDKKTND SI AKVKSTYDQKANGLTI
 IATDGYRKAVEHNSGGGRNTVIYDAQGNPNIMCVIPRFNIEDLGLTELDLGTGVHPAFVTN
 GAPRGEILVGKYLASSAAGGS AVIGGPQPRTSVNYDTAKQLCTQKGDNWHLMSIHEWAAI
 ALWSLANGTVPRGNTNYGRSHEAKWETARRADNGLPGDTS GTGRDGTGKGPATWNHDHTE
 FGVC DLVGNVWEWIDQMKLDDGQILTTLDNPNPGVAEANWHRHPAYFDSTSDNQSAGNNG
 SPVLSNSVTKRNGPADDDSHDYPYMHNPFAAITKSAGYXPNE LLRRL LIESATATTVGG
 GLWCRNYGDRFPLRGGYWNNGSSAGLGALYLSYARSNSNS SIGFRPAFFV

SEQ ID NO:23 > VHML 38

MFSYIFQGRTHDTTRS YMNSLGMTQE QVDSVLQKDFEEAQN LVK RQEAYRLES DPLFM
 EWQYDNTPESEQAWRDKVAEIKARYPLPSES

SEQ ID NO:24 > MTD

MSTAVQFRGGTTAQHATFTGAAREITVDTDKNTVVVHDGATAGGFPLARHDLVKTAFIKA
 DKS AVAFTRTGNATASIKAGTIVEVNGKLVQFTADTAITMPALTAGTDYAIYVCDDGTVR
 ADSNFSAPTGYTSTTARKVGGFHYAPGSNAAAQAGGNTTAQINEYSLWDIKFRPAALDPR
 GMTLVAGAFWADIYLLGVNHLTDGTSKYNVTIADGSASPKKSTKFGGDGSAAYS DGAWYN
 FAEVMTHHGKRLPNYNEFQALAFGTTEATSSGGTDVPTTG VNGTGATSAWNIFTSKWGVV
 QASGCLWTWGNEFGGVNGASEYTANTGGRGSVYAQPAAALFGGAWNGTSLSGSRAALWYS
 GPSFSFAFFGARGVCDHLILE

FIG. 11D

SEQ ID NO:25 > Gene H de P2

MSIKFRVTITAGAAKLAATAPGRRKVGITTMVAVGDGGGKLPVPDAGQTGLIHEVVRHA
LNKISQDKRNSNYIIAELVIPPEVGGFWMRELGLYDDAGTLIAVANMAESYKPALAEGSG
RWQTCRMVIVSSVASVELTIDTTTVMATQDYVDDKIAEHEQSRRHDPASLTAKGFTQLS
SATNSTSETLAATPKAVKAAAYDLANGKYTAQDATTARKGLVQLSSATNSTSETLAATPKA
VKTVMDETNNKAPLNSPALTGTPTTPTARQGTNNNTQIANTAFVMAAIAALVDSSPDALNT
LNELAAALGNDPNFATTMTNALAGKQPKDATLTALAGLATAADRFPYFTGNDVASLATLT
KVGRDILAKSTVAAVIEYLGLQETVNRAGNAVQKNGDTLSGGLTFENDSILAWIRNTDWA
KIGFKNDADGDTDSYMWFEFGDNGNEYFKWRSRQSTTTKDLMTLKWDAALNVLVNAVINGC
FGVGTTNALGGSSIVLGDNDTGFKQNGDGILDVYANSQRVFRFQNGVAIAFKNIQAGDSK
KFSLSSTSTSTKNITFNLWGASTRPVVAELGDEAGWHFYFSQRNTDNSVIFAVNGQMOPSN
WGNFDSRYVKDVRLLGTRVVQLMARGGRYEKAGHTITGLRIIGEVDGDDEAIFRPIQKYIN
GTWYNVAQV

SEQ ID NO:26 > Gene G de P2

MQHLKNIKSGNPKTKEQYQLTKNFDVIWLWSEDKKNWYEEVKNFQPDITIKIVYDENNIIV
AITRDASTLNPEGFSVVEVPDITSNRRADDSGKWMFKDGAVVKRIYTADEQQQQAESQKA
ALLSEAENVIQPLERAVRLNMTDEERARLESWERYSVLVS RVDPANPEWPEMPQ

SEQ ID NO:27 >R2-P2 1-164:158-669

MATNTPKYGGLLTDIGAAALATASAAGKKWQPTHMLIGDAGGAPGDTDPDLPSSAAQKSLI
NQRHRAQLNRLFVSDKNANTLVAEVVLPVEVGGFWIREIGLQDADGKFVAVSNCPPSYKA
AMESGSARTQITRVNIALSGLENVQLLIDNGIIYATQDWVKEKLAHEQSRRHDPASLTA
KGFTQLSSATNSTSETLAATPKAVKAAAYDLANGKYTAQDATTARKGLVQLSSATNSTSET
LAATPKAVKTVMDETNNKAPLNSPALTGTPTTPTARQGTNNNTQIANTAFVMAAIAALVDS
SPDALNTLNELAAALGNDPNFATTMTNALAGKQPKDATLTALAGLATAADRFPYFTGNDV
ASLATLTKVGRDILAKSTVAAVIEYLGLQETVNRAGNAVQKNGDTLSGGLTFENDSILAW
IRNTDWAIGFKNDADGDTDSYMWFEFGDNGNEYFKWRSRQSTTTKDLMTLKWDAALNVLV
NAVINGCFGVGTTNALGGSSIVLGDNDTGFKQNGDGILDVYANSQRVFRFQNGVAIAFKN
IQAGDSKKFSLSSSTSTSTKNITFNLWGASTRPVVAELGDEAGWHFYFSQRNTDNSVIFAVN
GQMOPSNWGNFDSRYVKDVRLLGTRVVQLMARGGRYEKAGHTITGLRIIGEVDGDDEAIFR
PIQKYINGTWYNVAQV

SEQ ID NO:28 > Gene H de L413-c

MSTKFKTVITTAGAAKLAATVPGGKKVNL SAMAVGDGNGKLPVPDAGQTKLVHEVVRHA
LNKVSVDNKNKNYIVAEVLVPPPEVGGFWMRELGLYDDAGTLIAVSNMAESYKPELAEGSG
RAQTCRMVILI SNVASVELSIDASTVMATQDYVDDKIAEHEQSRRHDPATLTAKGFTQLS
SATNSTSEKLAATPKAVKAANDNANSRLAKNQNGADIQDKSAFLDNIGVTSLTFMKHNGM
IPTTDNLDSYGPEEKYLGWSCPSTAKPESGYPEDKNGVLEVFNAGRPHCTQRYTTR
TGNIIYIRMLDAEWNPASPTWSAWRVITSGTRPLSTSIDLNSLGGAHLGIWRNSSTSIAS
FERHFPEDGSFGQGILEVFEGLYGRMORYTTRSGTMYIRGLTASWDAENPQWEDWIAVG
YQSTGWTYSGDLDDLKPGIYSVTQATNAPVTDSDKDLAVGSIVEVKKRCDI ESYIQTYT
TVSATDAYKNRTFQRTASGEADWGEAEVYNSKSLTLKLGVGVTDRLLSSLDWQTYDFV
PGSMITVRLSDMTNIPDGMWGVITDNLINITVGPSEGGGVARSQVWRSTSNKTNRYRFF
TVRLYGNPGRSFNIRRLPIIDEAQWEAKQTFSGAGLSGELSGNAATATKLTARKINNV
SFDGTSIDINLTPKNIGAFASGKTGDTVANDKAVGWNWSSGAYNATTGGASTLILHPNIGE
GSCPAAQFRVNYKNGGIFYRSARDGYGEADWSEFYTTTRKPTAGDVGALSLSGGQLNGA
LGIGTSSDLGGNSIVLGDNDTGFKQNGDGNLDVYANSVHVMRFVSGSIQSNKTINITGRV
NPSDYGNFDSRYVRDVRLLGTRVVQTMQKGVMEKSGHVIITGLGIVGEVDGDDPAVFRPIQ
KYINGTWYNVAQV

SEQ ID NO:29 > Gene G de L413-c

MQHLKNIKSGNPKTKEQYQLTKNFDVIWLWSEDKKNWYEEVSNFQEDTIIKIVYDENNIIV
GITRDASTLNPEGFSVVEVPDITANRRADDSGKWMFKDGAVIKRIYTADEQQQQAESQKA
ALLSEAESVIQPLERAVRLNMTDEERSRLEAWERYSVLVS RVDPANPEWPEMPQ

FIG. 11E

SEQ ID NO:30 >R2-L-413c 1-164:158-913
 MATNTPKYGGLLTDIGAAALATASAAGKKWQPTHMLIGDAGGAPGDTDPDPLPSAAQKSLI
 NQRHRAQLNRLFVSDKNANTLVAEVVLPVEVGGFWIREIGLQDADGKFVAVSNCPPSYKA
 AMESGSARTQTIRVNIALSGLENVQLLIDNGIIYATQDWVKEKVAEHEQSRRHPDATLTE
 KGFTQLSSATNSTSEKLAATPKAVKAANDNANSRLAKNQNGADIQDKSAFLDNIGVTSLT
 FMKHNGMIPTTDNLSYGPEEKYLGWSCPSTAKPESGYPEDKGNVLEVFNAGRFHC
 TQRYTTRTGNIIYIRMLDAEWNPASPTWSAWRVITSGTRPLSTSIDLNSLGGAEHLGIWRN
 SSTSIASFERHFPEDGSFGQGILEVFEGGLYGRMQRYTTRSGTMYIRGLTASWDAENPQW
 EDWIAVGYQSTGWTYSGDLDDLLKPGIYSVTQATNAPVTDSDKLAVGSIVEVKKRCDIE
 SYIQTYTTVSATDAYKNRTFQRTASGEADWGEVAEVYNSKSLTLKLGVGGVTDRLSSLD
 WQTYDFVPGSMITVRLSDMTNIPDGMWGVITNLINITVGPSEGGGVARSMMQVWRSTSN
 KTNRYRFTVRLYGNPGRSFRNIRRLPIIDEAQWEAKQTFSSAGLSGELSNGAATATKLKT
 ARKINNVSFDGTSIDNLTTPKNIGAFASGKTGDTVANDKAVGWNWSSGAYNATTGGASTLI
 LHFNTGEGSCPAAQFRVNYKNGGIFYRSARDGYGFEADWSEFYTTTRKPTAGDVGALSLS
 GGQLNGALGIGTSSDLGGNSIVLGDNDTGFKQNGDGNLDVYANSVHVMRFVSGSIQSNKT
 INITGRVNPDSYGNFDSRYVRDVRGLGTRVVQTMQKGVMEYKSGHVITGLGIVGEVDGDDP
 AVFRPIQKYINGTWYNVAQV

SEQ ID NO:31 : Fibra caudal de T4 (gp37)
 MATLKQIQFKRSKIAGTRPAASVLAEGELAINLKDRITFTKDDSGNII DLGFAKGGQVDG
 NVTINGLLRLNGDYVQTGGMTVNGPIGSTDGVTKIFRSTQGSFYARATNDTSNAHLWFE
 NADGTERGVIYARPQTTTDGEIRLVRVQGTGSTANSEFYFRSINGGEFQANRILASDSL
 TKRIAVDTVIHDAKAFQYDSHSLVNYVYPGTGETNGVNYLRKVRKSGGTIYHEIVTAQ
 TGLADEVSWWSGDTVPVFKLYGIRDDGRMIIRNSLALGTFTTNFPSSDYGNVGVMDKYL
 LGDVTVTGLSYKKTGVFDLVGGGYSVASITPDSFRSTRKGI FGRSEDQGATWIMPGTNAAL
 LSVQTQADNNNAGDGQTHIGYNAGGKMNHYFRGTGQMNINTQQGMEINPGILKLVTSNN
 VQFYADGTISSIQPIKLDNEIFLTNSNNTAGLKFGAPSQVDGTRTIQWNGGTREGQNKNY
 VIKAWGNSFNATGDRSRETQVQVSDSQGYFYFAHRKAPTGETIGRIEAFAGDVYAKG
 I IANGNFRVVGSSALAGNVMTSNGLFVQGGSSITGQVKIGGTANALRIWNAEYGAIFRRS
 ESNFYIIPTNQNEGESGDIHSSLRPVRIGLNDGMVGLGRDSFIVDQNNALTTINSNSRIN
 ANFRMQLGQSAYIDAECTDAVRPAGAGSFASQNNEDVRAPFYMNIIDRTDASAYVPILKQR
 YVQNGCYSLGTLINNGNFRVHYHGGDNGSTGPQTADFGWEFIKNGDFISPRDLIAGKV
 RFDRGTGNITGGSGNFANLNSTIESLKTDIMSSYPGAPIPWPSDSVPAGFALMEGQTFDK
 SAYPKLAVAYPSGVI PDMRGQTIKKGKPSGRAVLSAEADGVKAHSHSASASSTDLGKTTS
 SFDYGTGKTNSTGGHSHSGSGSTSTNGEHSYIEAWNGTGVGNGKMSYAI SYRAGGSNT
 NAAGNHSHTFSFGTSSAGDHSVSGIGAHTHTVAIGSHGHTITVNSTGNTENTVKNIAFN
 YIVRLA

SEQ ID NO:32 > Chaperona de T4 (gp38)
 MKIYHYFDTKEFYKEENYKPVKGLGLPAHSTIKKPLEPKEGYAVVFDERTQDWIYEEDH
 RGKRAWTFNKEEIFISDIGSPVGITFDEPGEFDIWTDDGWKEDETYKRVLIRNRKIEELY
 KEFQVLNNMIEASVANKKEKFYYKNLKRFFALLEKHEHLGGEFFPSWPEKEQKPWKRLFK
 HYV

FIG. 11F

SEQ ID NO:33 > Fibra caudal de Ab17

MATLKQIQFKRSKTAGARPAASVLAEGELAINLKDRVLFTKDDQGNIIDLGFAKGGSIDG
NVIHTGNYNQGTGDTLNGVFTQTGNFNLGTGIARVTRDIIAAGQIMTEGGELITKSSGTAH
VRFFDNNRERGI IYAPANDGLTTQVLNIRVQDYAAGSESTYAFSGSGLFTSPEVSAWKS
ISSPQILTNKVITNNKSTGDYDIYSMADNVPLSESTTAINHLRVMRNAVSGIFHEVKDN
DGITWYSGDGLDAYLWSFTWSSGGIKSSHSISIGLTPGNKDYSILGPSSIALGDNDTGFKW
HQDGYFVSNNGTKTFLPNPSETTSLRKVFAGYSTNGTDLTTPPTENYALATVVTYHDNN
AFGDGQTLGYYQGGNYHHYFRGKGTNTNTHGGLLVTPGNIDVIGGSVNIDGRNNSSTL
MFRGNTTGYSSVDNMDIKVWGNTFVDPSGGIRKNIMEISDATSWMSYIQRLTTGEVEMNV
NGSFESSGVTAGDRGVHTTGEISSGAVNALRIWNADYGAIFRRSEGLHIIPTAYGEGKN
GDIGPLRPFSLALDTGKVTIPDLQSSYNTFAANGYIKFVGHGAGAGGYDIQYAAAPIFO
EIDDDAVSKYYPIVKQKFLNGKAVWSLGEINSCTFVIHHLKEDGSQGHTSRFNQDGTVN
FPDNVSVGGGEATIA RN GN IWS DIWKTFTSAGDTTNRDAIATRVSKEGDTMTGLWINK
DAAGIVLNPPLTSDSSFIRSDTAGANNWYIGKGGADNGLGFYSYVTQGGVYITNNGEISL
SPQGGQTFNFRDRLHNGTQWAAHQGGGWNQWQNEAPVVD FGNVGNDSYYP I IKGKS
GITNEGYISGVDFGMRRI TNTWAQGI I RVGNQENGYDPQAVYEFHNGTFYAPSLLKSSR
VSAGGGDPAWGGPCIVLGDNDTGLLWENDGIFNAYANGQGVFSFRPGLAQTFGDVNFHCN
AGMYVRDNIDVNDVYIRSDIRCKSEIKLIKNAQEKSKLLGGYTYLLKNSVTDEVKPSAGL
IAQEVQEVLPPELVSEDKETGLLRNLNYNGI IGLNTAAINEHTDEIKELKSEITELKALIKS
LIK

SEQ ID NO:34 > Montagem da fibra caudal de Ab17

MAVVGIPGWIGTSAVAETGQRWMTAASRELRLGNPSWMSQFAGRSREI IHTLGADHNFNG
QWFRDRCFEAGSAPIVFNITGNLVSYSKDVPLFFMYGDTTPNEYVTLN IHGGVHMWGRGNG
GTVNGNPPTNGGDVIQNDIGGRLRIWNYGVIA SGGGGG GAVSLXNSWAPNATAGGGGGRP
FGIGGGGVNWPGGNASYDAPGGAGYTSQFGGGNGGDAGGRGGDGWGNHLRSRGGGAPGRA
VFGSSPSWGATGTIYGSWI

SEQ ID NO:35 > OpmQ

MKNLSLSISACLLLGACGSTPAPLD SGLAAPSQWRYLAAGRS D ASDIRQWWKAFGAPELDS
LLQRALLNSQDLGA AVARVRQAQASAVIAGAPLLPELNATLGASRQKLLRDSGYSGT DAT
SNDNDAVDSFSAGLSASYEVD F WGGGQAAYRSALSLKASEYDRATVELTLLSGVANSYLQ
VLALREQQRIARLNLDNAEHVLRRLVETRHAAGSATALEVAQQSSLVASQKQLPLLEQQA
HEALITLATLIGEPVQALQVAERPFDSL RWPETGAGLPSELLSRRPDIANA E AQLAAAQA
DVQVARAALFPKLTLSASLS S GANRAADTFRNPNYNLGANLLAPIFNHGRRLRAERDRSLA
RQEELLETYRKAILTAFADTERSLNSIDGLDRQLHWQQQELEQAQRAFDLSDSR YQAGAE
TLLTVLETQRTLYAAQDAAVQLRLARLQASVGLYKALGGGWQSDRQGLARKD

SEQ ID NO:36 > OpmB

MKHTPSLLALALVAALGGCAIGPDYQRPDLAVPAEFKEAEGWRRAEPRDVFQRGAWWELY
GDQTLNDLQMHLEERSNQTLAQSVAFRQAEALVRGARA AFFPSITGNVGKTRSGQGGGDS
TVLLPGGSTVSSGGSGAISTSYSTNLSVSWEDVLWGKLRRQLEANQASLHASAADLA AVR
LSQSQSLAQNYLQLRVMDEQIRLLNDT V TAYERSLKVAENKYRAGIVTRADVAQARTQLK
STQAQAI DLKYQRAQLEHAI AVLVLGPPAQFNLPPVASVPKLPDLPAVVPSQLLERRPDI
ASAERKVISANAQIGVAKAAYFPDLTLSAAGGYRSGSLSNWISTPNRFWSIGPQFAMTLF
DGGIGSQVDQAEATYDQTVATYRQTVLDGFREVEDYLVQLSVLDEESGVQREALE SARE
ALRLAENQYKAGTVDYTDVVTNQATALS NERTVLTLLGSRLTASVQLIAAMGGGWDSADI
ERTDERLGRVEEGLPPSP

SEQ ID NO:37 OpmJ

MPLASHLRCVALALGISTALGCANRNQAPAPRAESLDPGLSRVAGTRGDALPAQWWTL YQD
PGLNHLVAAALRHNRDLAAADAHARALLGHLRGAQGERWPRTEVGYGYQYGRDGDQTLA
EATDEDLHSQWKHTVRLDLSYQLDLWGEVRARIAAAKADAEAAQAARDLLRVSVASQTTL
AYVRACALARAEVQRRSVGLLDASLALSERQLAAGLSSELQRRRLALRERTRALPML
EARRRAALYELALLSGRSRQLDAPAATCAGI PQLRRALPTGDGWSLLARRPDVRAAERR
LAAADARRALAEALYPRISFAVGAETSAATLAGLGGSGALAYAAGPLLSWRFPNRESAR
GRLDSAAERDAALARFDGAVLGALREVERALALYAGERQRRADLQRALDEQRHAYRLAR
SNYRAGALDALELLDSQRSVLADRARLVDAEMRVAERQVELFRALGGGWQAASSPSHQEN
GQ

FIG. 11G

SEQ ID NO:38 > OpmG

MPFPLLHPWPQRLALASAILLAAGCVTSEGLEPNARLQPAGALQAGRSLDGVALSPAAMP
RQDWTGLGDRQLDQLIGEALQGTPLQIAEARARQAAATAQAQDAARQPTLDAKASYSG
IRAPTSVAPAPLGGRYSAIKYLSLGFNYDFDLWGGERAWEAALGQANAARIDSQAARIG
LSASIARAYSDLAHAFTVRDLAEEELKRSQRMTELSQKRMSAGLDSKVQLQQTQTQLATA
RQQLSAAEQDIASARIALAVLLGKGPDRGLELQRPQPLNPASLSLPSVLPAELLGRRADI
VAARWRVEAARRNIDSAKTEFYPNLNLGAMAGLAALHTSDVLQAPSRFFQVAPAIISLP
DGGRRRANLAERDADYDLAVGQYNKTLVQALGEVSDDLGLKRSLEQQVIDQRQARDIARS
NFDLAMRRYGEGVGSYLDALSVQQQLLVAERQLASLESQQIDLSVQLVQALGGGFQPSR
SAALATAKAPAE

SEQ ID NO:39 > OpmI

VPRALRKELTLVGSFVGFLVVFSASISGCVSTGDIAPAAATLDANALATDHAIQAAAREAG
WPQAQWVKVYADPQLDAWIEKALDGNPGLAVAHARVRQAKSMAGLVESIESPQIEGKGS
VRHRWPDYFYGPGDLARTTSWNNSTEIGLNYKLDLWGRDRSDSERAVDLAHMAAABARQ
AQLELEGNIVRAYVQLSLQYAEMDIKAMLQQORDILALAQRRLRGGIGTHFEVSQAEVP
LPETERRIEVIDEEIQLTRNLLAALAGKGPGEGRITRRPSLNLAQPSLPSALPAELLGR
RPDVVARRWQVAALAKGVDVARADFYPNVDLMASVGFSAVGGGMLEFFRSKYTYTSAGPA
VTLPIFDGGRRLRSQGEAAAGYDAAVEQYNQTLVDALKNISDQLIRLHSVDIQKDFAAQS
VASAQKTYDIATLAYQRGLTDYLNVLNAQTRLFQQQLVQEQVQAARLAHAHSLTLALGGG
VGAGADTPAQRKLAPENVPVRAVSSR

SEQ ID NO:40 > OpmH

MLRRSLAAAVAAATGVAAWAQPTPLPTKTDLISVYKEAVDNNADLAAAQADYLARKEVV
PQARAGLLPQLGAGARVGDTRIAFDERPATVKRNSQVVQATLSQPLFRADRFQWQAAKE
TSDQARLEFSATQQDLILRSAETYFTVLRAQDNLATSKAEAAAFKRQLDQANERFDVGLS
DKTDVLEAQASYDTARANRLIAEQRVDDAFQALVTLTNRDYSIEGMRHTLPVVPAPND
AKAWVDTAVQQNLRLLASNYAVNAEETLRQRKAGHLPTLDAVAQYQKGDNDALGFANSA
ANPLVHYGKYVDERSIGLELNIPIYSGGLTSSQVRESYQRLNQSEQSREGQRRQVVQDTR
NLHRAVNTDVEQVQARRQAIISNQSSLEATEIGYQVGTNRNIVDVLNAQRQLYAAVRDYN
SRYDYILDTRLKQAAGTLPADLEALSAYLKQDYDPDKDFLPDLAKAAAEQLQSKPRQ
QY

SEQ ID NO:41 > OpmK

MRALAGLLCGLLGLVPGAAAYEPDVFGTTGQVAGQAVYDLGGSGLPCRGGPPPTELSLEE
AIERILCHDPQTRLAWANAKAQAAQVIGKSAYLPRLDGRLDASRGYSMDMDYRDAPYLSG
DGHRRRRGASLQLSWVLFDFGRRSAALRNAQQLLLAANASQDATLQNTFALAAQAYYDAL
AAQRSLAASRQVAELAAQNLEAADAKYRAGAAALSDRLQAQTALSQASLAQVRDEGALSN
ALGVIALRMGLAPDTPRLSGLLEAQPDTGFVKAIDEMLAEARREHPALLAAQARLKAAA
ASVEESRAAGRPSLALSANLARSHSDQAMAFNGDTRERDRSIGLQLNIPLFEGFERTYQV
RNALARREASEAELADTEQQVSLEVWNNYQSLSVETRSLARTRELVEQSRQSLEVVQGRY
RSGVGSMIELLNALTAYASAEDQHIALGNWQTSRLRLAASLGRGLGFWSLR

SEQ ID NO:42 > OpmN

MPILRPLASAGKRACWLLMGLCLGLPALANEAPVSFNGTSSISLEQALERALRSNPELA
GRETEIASGARQQAGLIPNPDLSWSVEDTRQGNRQTSVSIAQPLELGGKRGARVEVAKRG
SEIAWTQLEVRRAELRAQVRGAYYAALTAQERVRLAKTSLDLARRALQAADRRVKAGSIS
SVERVRAQLADNAQLDLQAELEQQRTYVQLSSTWDEPQPGFARVGGALDAVPASITRG
ALLRHLDESPTLRLLAAQEVARGEAQVDLEKRORIPNLTVSIGSKYDQTARDGRGERVNL
GLSMPLPLFDRNQGNIIYAAQSRADQARDLQRATLLRLRSEAVQAYDQLRTSEQELALVRR
DLLPGAQSSALDSMTRGFEMGKFNFVLDVLDQRTLVGVRAQYVVRALDAAAQARVSMERLLG
EDIGHLGQ

FIG. 11H

19/20

SEQ ID NO:43 > OpmF

MNRWGLGVLWLVLTALPVAASVNPALSPDVPSMAREQGRSVLLSEQVIDLSLSDAVYLGRLR
NNRGIRSAYLQRIQKFDLRVAADAFNPKLVVRG DYRANRATEDRTRTSNVSPATLLGE
YGTRFSLAWVKQFRTADEAGRYRSDGLDLTVVQPLL RDAGWDVTTAPLRLARLSE DANRL
QLKASVSQTISQVIGAYRELLRAQE QARIAREALARTQELLE VN RAMIRAGRMAEF EIVQ
TEADVASQELNVEESTNQVDSARLALLQLLALDLSTQIRASDALAATPIEVDRQQAIRTA
LQQQPEYLQRLIGSRQADLNLVLAKNQRLWDVSLVGGASQIRDRYSEG GGDNSRSWDSYA
GVQVEIPIGDLSSRRQAEVRAQVDVENQKILIEDARQTLEQNVIDAVRDLGTRWRQYQIAQ
RATALSRKLEIEREKL RVGRSSNFQVLSFETDLRNVENTQLNALISFLNAQTQLDLIVG
MTLDSWEISLNDH

SEQ ID NO:44 > OpmL

MRGRRQYARKGRRHKGAIWLLSLGLPMFASAMPLDQAVRAGLAIHPEVRSAMAEADRAG
TEVEMAKGGYYPVMTMSGGPQEFDFGEIVYDLTASQMLYDWGRVTSKVDSASATQRKLSE
AVLVARDDAALDIVEYTLVDVLASERRVEAVREHIQRLDGI REMTQARGGDGYADRSELDR
ANLELSRAQEQLSLEKGNLQDARNQYAILVGQEPADLVEPEPMSLQRYLAASDMARVIRE
SPLQRKALEDANVAEAEVREAKASLLPQLNLEASALRREIGGHPESDSVVS LRFMDTFQ
GLSNFRPTAAQQRLES AKWSADAMQRDIRRQLQNLFDNGD TLRWREQSLTQQVTESEQV
GELYREQFEVGRRDVIDLLNVQRRERFEAERQLINLRIERKRIEYRAAAQVGLGLPLENR
LNHGS

SEQ ID NO:45 > Gene H de phiCTX

MTSPKYGGLLTDIGAAALIAASEAGKKWQPTHMLIGDAGGAPGETADPIPSAAQTKLIRQ
RYRAQLNRLFVSEQSANVLVAELVLPMAIGGFWIREIGLEDADGKFVAVANCPPSFKASV
ESGSARTQTIRVQIILSGMEHVELIIDDGIVYATQDWVTAKVAADFKGRKVLAGNGLVGG
GDLSADRTIALPASGVGAGTYRAVTNVANGIVTAGSNPTTLGGYGITDALHASEAVTTPT
ANKLLRLNAAGLLPASITGNAATASRLAAPITLSASGDATWSARFDGATNVNGVLT LANS
GVTAGTYAKVTVNAGLVTGATGLVASDIPALDAGKITSGILPAARGGTGNGIGQATAV
KLVAPRTIYLGGDVSGSTTFDGSANAGITVTLANGVNAGSYPKVTVNAGLVTGGGGLTA
ADIPALDASKIATGRDLRLPLVSQGLATAVHTSVDPNSVVIPLVLTNHANGPVAGRY Y
YIQTMFYPTVEGNATQIATGYAGVADMYVRYAYASPATTDSSKREWSAWVRCDLGGAPAH
APDGELGGYVNLDSMIASGWWHPPTANAKNGANYPVGEAGLLTVHAPTASMIYQTYRGY
AAGGLYWRCRYNGTWSAWYRAWDSGNFNPANYVAKSEYSWASLPGKPSNFPPSVHVHSA
SRGVSGWYKNNDTG VIFQWVNLSIGDHPGGVIDRVVTFPIAFPNACLHVVP TVRENGRPA
IPASTVTVAEKARTATNCTIVSSEYIGNVQNFGINVFAIGY

SEQ ID NO:46 > AV085

GCTTCAATGTGCAGCGTTTGC

SEQ ID NO:47 > AV088

GCCACACCGGTAGCGGAAAGGCCACCGTATTTCCGAGTAT

SEQ ID NO:48 > AV087

ATACTCCGAAATACGGTGGCCTTTCCGCTACCGGTGTGGC

SEQ ID NO:49 > AV086

TCCTTGAATTCCGCTTGCTGCCGAAGTTCTT

SEQ ID NO:50 > AV110

TTTATTAGCGGAAGAGCCGACTGCACGGTGCACCAATG

SEQ ID NO:51 > AV114

CCCTCGAATTCATGAATACTGTTTCTGTGTGAAATTG

SEQ ID NO:52 > AV118

CTTCCTTTCATGACGACCAATACTCCGAA

SEQ ID NO:53 > AV116

ACCACGAATTCTTCATCGTCCAAATGCCTC

FIG. 11I

SEQ ID NO:54 > AV107
CACCATCTAGACAATACGAGAGCGACAAGTC

SEQ ID NO:55 > AV091
TCCTCAAGCTTACGTTGGTTACCGTAACGCCGTG

SEQ ID NO:56 > AV127
TTCTTTAAGCTTTTCCTTCACCCAGTCCTG

SEQ ID NO:57 > AV124
CCTCCTGAATTCTTATTGCGGCATTTCCG

SEQ ID NO:58 > AV126
TCCTTCGAATTCTTACACCTGCGCAACGT

SEQ ID NO:59 > AV125
CCTCCTGAATTCTTATTGCGGCATTTCCG

FIG. 11J

RESUMO

Patente de Invenção: "**BACTERIOCINAS MODIFICADAS E MÉTODOS PARA SEU USO**".

5 A presente invenção refere-se a formas modificadas de bacteriocinas de ocorrência natural, tais como as piocinas do tipo R de *Pseudomonas aeruginosa*, são descritas. As bacteriocinas são modificadas nas extremidades de suas fibras caudais em uma região responsável pela especificidade e afinidade de ligação a seus pares de ligação cognatos, ou receptores, tais como aqueles na superfície das bactérias. Métodos para o uso das
10 bacteriocinas modificadas, tais como para ligar receptores, incluindo fatores de virulência ou aptidão, nas superfícies das bactérias, são também descritos.