(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112292143 A
(43)申请公布日 2021.01.29

(21)申请号 201980036016.9

(22)申请日 2019.08.23

(30)优先权数据
62/721969 2018.08.23 US
62/722793 2018.08.24 US
PCT/US2019/024912 2019.03.29 US
62/849320 2019.05.17 US
62/860836 2019.06.13 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.11.27

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/047916 2019.08.23

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/046747 EN 2020.03.05

(71)申请人 康特拉费克特公司
地址 美国纽约州

(72)发明人 R·舒赫

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 任晓华 李唐

(51)Int.Cl.
A61K 38/16(2006.01)
A61K 38/46(2006.01)
A61P 31/04(2006.01)
C07K 14/005(2006.01)
C12N 15/62(2006.01)

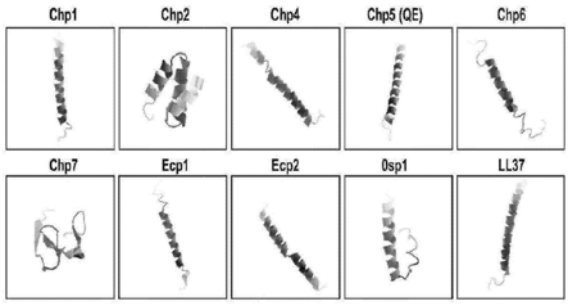
权利要求书10页 说明书61页
序列表134页 附图6页

(54)发明名称

溶素-抗微生物肽(AMP)多肽构建体、溶素、其分离的编码多核苷酸及其用途

(57)摘要

本公开涉及溶素-AMP多肽构建体、分离的溶素多肽以及包含所述分离的多肽和/或溶素-AMP多肽构建体的药物组合物。本文还提供了使用所述溶素-AMP多肽构建体、分离的溶素多肽和药物组合物的方法，包括治疗其中存在肺表面活性剂的器官或组织的细菌感染或与生物膜相关的革兰氏阴性细菌感染的方法。另外，本文公开了编码所述溶素-AMP多肽构建体和分离的溶素多肽的分离的多核苷酸。



CN 112292143 A

1.溶素-AMP多肽构建体,其包含:

(a)包含以下多肽序列的第一组分:

(i)选自以下的溶素:GN76 (SEQ ID NO:203)、GN4 (SEQ ID NO:74)、GN146 (SEQ ID NO:78)、GN14 (SEQ ID NO:124)、任选地具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)、GN76 (SEQ ID NO:203)、任选地具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)、溶素Pap2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN202 (SEQ ID NO:118)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN485 (SEQ ID NO:68)、GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175);或

(ii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:203、74、78、124、84、22、96、26、56、118、58、60、64、66、28、68、173或175中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽;或

(iii)所述溶素的活性片段;和

b)包含以下多肽序列的第二组分:

(i)至少一种选自以下的抗微生物肽(AMP):Chp1 (SEQ ID NO:133)、Chp2 (SEQ ID NO:70)、CPAR39 (SEQ ID NO:135)、Chp3 (SEQ ID NO:137)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Chp6 (SEQ ID NO:106)、Chp7 (SEQ ID NO:139)、Chp8 (SEQ ID NO:141)、Chp9 (SEQ ID NO:143)、Chp10 (SEQ ID NO:145)、Chp11 (SEQ ID NO:147)、Chp12 (SEQ ID NO:149)、Gkh1 (SEQ ID NO:151)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Unp1 (SEQ ID NO:153)、Ecp1 (SEQ ID NO:155)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Tma1 (SEQ ID NO:157)、Osp1 (SEQ ID NO:108)、Unp2 (SEQ ID NO:159)、Unp3 (SEQ ID NO:161)、Gkh3 (SEQ ID NO:163)、Unp5 (SEQ ID NO:165)、Unp6 (SEQ ID NO:167)、Spi1 (SEQ ID NO:169)、Spi2 (SEQ ID NO:171)、Ecp3 (SEQ ID NO:177)、Ecp4 (SEQ ID NO:179)、ALCES1 (SEQ ID NO:181)、AVQ206 (SEQ ID NO:183)、AVQ244 (SEQ ID NO:185)、CDL907 (SEQ ID NO:187)、AGT915 (SEQ ID NO:189)、HH3930 (SEQ ID NO:191)、Fen7875 (SEQ ID NO:193)、SBR77 (SEQ ID NO:195)、Bdp1 (SEQ ID NO:197)、LVP1 (SEQ ID NO:199)、Lvp2 (SEQ ID NO:201)、七叶内酯片段(SEQ ID NO:80)、RI12 (SEQ ID NO:88)、TI15 (SEQ ID NO:94)、RI18 (SEQ ID NO:92)、FIRL (SEQ ID NO:114)、LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)、RR12whydro (SEQ ID NO:110)、RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)和阳离子肽(SEQ ID NO:120),或

(ii)具有AMP活性的多肽,其中所述多肽与SEQ ID NO:133、70、135、137、102、106、139、141、143、145、147、149、151、90、153、155、104、157、108、159、161、163、165、167、169、171、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、80、88、94、92、114、76、110、131和120中的至少一个具有至少80%同一性,

其中所述溶素-AMP多肽构建体包括至少一种选自以下的活性:在肺表面活性剂存在的情况下,抑制铜绿假单胞菌细菌生长,减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌。

2.根据权利要求1所述的溶素-AMP多肽构建体,其中所述第一组分选自GN394 (SEQ ID NO:48)、GN396 (SEQ ID NO:50)、GN408 (SEQ ID NO:52)和GN418 (SEQ ID NO:54)。

3.根据权利要求1或2所述的溶素-AMP多肽构建体,其中所述构建体进一步包含至少一种结构稳定组分,以维持所述构建体中的所述第一和/或第二组分的结构的至少一部分与

未缀合的溶素和/或AMP中实质上相同。

4.根据权利要求3所述的溶素-AMP多肽构建体,其中所述至少一种结构稳定组分是肽。

5.根据权利要求4所述的溶素-AMP多肽构建体,其中所述肽选自TAGGTAGG (SEQ ID NO:72)、IGEM (BBa_K1485002) (SEQ ID NO:82)、PPTAGGTAGG (SEQ ID NO:98)、IGEM +PP (SEQ ID NO:16的残基44-58)和AGAGAGAGAGAGAGAGAS (SEQ ID NO:122)。

6.权利要求1-5中任一项的溶素-AMP多肽构建体,其中所述GN37溶素(SEQ ID NO:84)包含单个提高pI的突变,且其中所述GN316 (SEQ ID NO:22)包含单个点突变,其中具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)是GN217 (SEQ ID NO:8),且其中具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)选自GN396 (SEQ ID NO:50)、GN408 (SEQ ID NO:52)、GN418 (SEQ ID NO:54)和GN394 (SEQ ID NO:48)。

7.根据权利要求1-5中任一项所述的溶素-AMP多肽构建体,其中所述溶素-AMP多肽构建体包含:(i)选自以下的多肽序列:GN168 (SEQ ID NO:2)、GN176 (SEQ ID NO:4)、GN178 (SEQ ID NO:6) GN218 (SEQ ID NO:10)、GN223 (SEQ ID NO:12)、GN239 (SEQ ID NO:14)、GN243 (SEQ ID NO:16)、GN280 (SEQ ID NO:18)、GN281 (SEQ ID NO:20)、GN349 (SEQ ID NO:30)、GN351 (SEQ ID NO:32)、GN352 (SEQ ID NO:34)、GN353 (SEQ ID NO:36)、GN357 (SEQ ID NO:38)、GN359 (SEQ ID NO:40)、GN369 (SEQ ID NO:42)、GN370 (SEQ ID NO:44)、GN371 (SEQ ID NO:46)、GN428 (SEQ ID NO:60)和GN93 (SEQ ID NO:62),或(ii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:2、4、6、10、12、14、16、18、20、30、32、34、36、38、40、42、44、46、60和62中的至少一个具有至少80%序列同一性的多肽。

8.根据权利要求1-5中任一项所述的溶素-AMP多肽构建体,其中所述溶素-AMP多肽构建体包含:(i)选自GN351 (SEQ ID NO:32)和GN370 (SEQ ID NO:36)的多肽序列,或(ii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:32和36中的至少一个具有至少80%同一性的多肽。

9.分离的多肽,其包含选自GN121 (SEQ ID NO:175)、GN217溶素(SEQ ID NO:8)、GN394溶素(SEQ ID NO:48)、GN396溶素(SEQ ID NO:50)、GN408溶素(SEQ ID NO:52)、GN418溶素(SEQ ID NO:54)、GN428 (SEQ ID NO:60)和GN486 (SEQ ID NO:66)的溶素或其活性片段,其中所述溶素或其活性片段包括至少一种选自以下的活性:在肺表面活性剂存在的情况下,抑制铜绿假单胞菌细菌生长,减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌。

10.权利要求9的分离的多肽,其中所述溶素选自GN121 (SEQ ID NO:175)和GN428 (SEQ ID NO:60)。

11.分离的多核苷酸,其包含编码溶素-抗微生物肽(AMP)多肽构建体的核酸分子,

所述核酸分子包含:

(a)编码第一组分的第一核酸分子,所述第一组分包含:

(i)选自以下的溶素:GN76 (SEQ ID NO:203)、GN4 (SEQ ID NO:74)、GN146 (SEQ ID NO:78)、GN14 (SEQ ID NO:124)、任选地具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)、任选地具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)、溶素Pap2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN202 (SEQ ID NO:118)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN485 (SEQ ID NO:68)、GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175);或

(ii)具有溶素活性的多肽,其中所述多肽与SEQ ID NO:203、74、78、124、84、22、96、26、56、118、58、60、64、66、28、68、173或175中的至少一个具有至少80%同一性;或

(iii)所述溶素的活性片段;

(b)编码第二组分的第二核酸分子,所述第二组分包含以下的多肽序列:

(i)至少一种选自以下的抗微生物肽(AMP):Chp1 (SEQ ID NO:133)、Chp2 (SEQ ID NO:70)、CPAR39 (SEQ ID NO:135)、Chp3 (SEQ ID NO:137)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Chp6 (SEQ ID NO:106)、Chp7 (SEQ ID NO:139)、Chp8 (SEQ ID NO:141)、Chp9 (SEQ ID NO:143)、Chp10 (SEQ ID NO:145)、Chp11 (SEQ ID NO:147)、Chp12 (SEQ ID NO:149)、Gkh1 (SEQ ID NO:151)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Unp1 (SEQ ID NO:153)、Ecp1 (SEQ ID NO:155)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Tma1 (SEQ ID NO:157)、Osp1 (SEQ ID NO:108)、Unp2 (SEQ ID NO:159)、Unp3 (SEQ ID NO:161)、Gkh3 (SEQ ID NO:163)、Unp5 (SEQ ID NO:165)、Unp6 (SEQ ID NO:167)、Spi1 (SEQ ID NO:169)、Spi2 (SEQ ID NO:171)、Ecp3 (SEQ ID NO:177)、Ecp4 (SEQ ID NO:179)、ALCES1 (SEQ ID NO:181)、AVQ206 (SEQ ID NO:183)、AVQ244 (SEQ ID NO:185)、CDL907 (SEQ ID NO:187)、AGT915 (SEQ ID NO:189)、HH3930 (SEQ ID NO:191)、Fen7875 (SEQ ID NO:193)、SBR77 (SEQ ID NO:195)、Bdp1 (SEQ ID NO:197)、LVP1 (SEQ ID NO:199)、Lvp2 (SEQ ID NO:201)、七叶内酯片段(SEQ ID NO:80)、RI12 (SEQ ID NO:88)、TI15 (SEQ ID NO:94)、RI18 (SEQ ID NO:92)、FIRL (SEQ ID NO:114)、LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)、RR12whydro (SEQ ID NO:110)、RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)和阳离子肽(SEQ ID NO:120),或

(ii)具有AMP活性的多肽,其中所述多肽与SEQ ID NO:133、70、135、137、102、106、139、141、143、145、147、149、151、90、153、155、104、157、108、159、161、163、165、167、169、171、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、80、88、94、92、114、76、110、131和120中的至少一个具有至少80%同一性,

其中所述溶素-AMP多肽构建体包括至少一种选自以下的活性:在肺表面活性剂存在的情况下,抑制铜绿假单胞菌细菌生长,减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌。

12.权利要求11的分离的多核苷酸,其中所述核酸分子进一步包含(c)编码包含至少一种结构稳定组分的第三组分的第三核酸分子,其中所述至少一种结构稳定组分维持所述构建体中的所述第一和/或第二组分的结构的至少一部分与未缀合的溶素和/或AMP中实质上相同。

13.权利要求12的分离的多核苷酸,其中所述至少一种结构稳定组分包含肽。

14.权利要求13的分离的多核苷酸,其中所述肽选自TAGGTAGG (SEQ ID NO:72)、IGEM (BBa_K1485002) (SEQ ID NO:82)、PPTAGGTAGG (SEQ ID NO:98)、IGEM +PP (SEQ ID NO:16的残基44-58)和AGAGAGAGAGAGAGAGAS (SEQ ID NO:122)。

15.权利要求11-14中任一项的分离的多核苷酸,其中所述GN37 (SEQ ID NO:84)包含单个提高pI的突变,且其中所述GN316 (SEQ ID NO:22)包含单个点突变,其中具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)是GN217 (SEQ ID NO:8),且其中具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)选自GN396 (SEQ ID NO:50)、GN408 (SEQ ID NO:52)、GN418 (SEQ ID NO:54)和GN394 (SEQ ID NO:48)。

16.权利要求11-14中任一项的分离的多核苷酸,其中编码所述溶素-AMP多肽构建体的核酸分子是

(i)选自GN168 (SEQ ID NO:2)、GN176 (SEQ ID NO:4)、GN178 (SEQ ID NO:6)、GN218 (SEQ ID NO:10)、GN223 (SEQ ID NO:12)、GN239 (SEQ ID NO:14)、GN243 (SEQ ID NO:16)、GN280 (SEQ ID NO:18)、GN281 (SEQ ID NO:20)、GN349 (SEQ ID NO:30)、GN351 (SEQ ID NO:32)、GN352 (SEQ ID NO:34)、GN353 (SEQ ID NO:36)、GN357 (SEQ ID NO:38)、GN359溶素(SEQ ID NO:40)、GN369溶素(SEQ ID NO:42)、GN370溶素(SEQ ID NO:44)、GN371溶素(SEQ ID NO:46)和GN93溶素(SEQ ID NO:62);或

(ii) 编码多肽的核酸分子,所述多肽具有溶素活性且与SEQ ID NO:2、4、6、10、12、14、16、18、20、30、32、34、36、38、40、42、44、46或62中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性。

17.分离的多核苷酸序列,其包含编码选自GN121 (SEQ ID NO:175)、GN217溶素(SEQ ID NO:8)、GN394溶素(SEQ ID NO:48)、GN396溶素(SEQ ID NO:50)、GN408溶素(SEQ ID NO:52)、GN418溶素(SEQ ID NO:54)、GN428 (SEQ ID NO:60)和GN486 (SEQ ID NO:66)的溶素或其活性片段的核酸分子,其中所述溶素或其活性片段在肺表面活性剂存在的情况下,抑制铜绿假单胞菌细菌生长,减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌。

18.权利要求11-17中任一项的分离的多核苷酸,其中所述分离的多核苷酸包含DNA。

19.权利要求11-17中任一项的分离的多核苷酸,其中所述分离的多核苷酸包含cDNA。

20.重组载体,其包含根据权利要求11-18中任一项所述的分离的多核苷酸序列。

21.权利要求20中任一项的重组载体,其中所述分离的多核苷酸序列可操作地连接至异源启动子。

22.权利要求20-21中任一项的重组载体,其中所述重组载体是重组表达载体。

23.分离的宿主细胞,其包含权利要求20-22中任一项的重组载体。

24.药物组合物,其包含分离的溶素和/或溶素-抗微生物肽(AMP)多肽构建体和药学上可接受的载体,

其中所述分离的溶素包含以下中的至少一种:

(i) GN121 (SEQ ID NO:175)、GN123 (SEQ ID NO:173)、GN217 (SEQ ID NO:8)、GN316变体(SEQ ID NO:24)、GN316 (SEQ ID NO:22)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN394 (SEQ ID NO:48)、GN396 (SEQ ID NO:50)、GN408 (SEQ ID NO:52)、GN418 (SEQ ID NO:54)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN485 (SEQ ID NO:68)、溶素PaP2_gp17 (SEQ ID NO:96),

(ii)其活性片段,或

(iii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:175、173、8、24、22、26、28、48、50、52、54、56、58、60、64、66、68或96中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽;

其中所述溶素-AMP多肽构建体包含:

(a)包含以下多肽序列的第一组分:

(i)选自以下的溶素:GN76 (SEQ ID NO:203)、GN4 (SEQ ID NO:74)、GN146 (SEQ ID NO:78)、GN14 (SEQ ID NO:124)、任选地具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)、

任选地具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)、溶素Pap2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN202 (SEQ ID NO:118)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN485 (SEQ ID NO:68)、GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175)；或

(ii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:203、74、78、124、84、22、26、56、118、58、60、64、66、28、68、173或175中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽；或

(iii)所述溶素的活性片段；和

b)包含以下多肽序列的第二组分：

(i)至少一种选自以下的抗微生物肽(AMP)：Chp1 (SEQ ID NO:133)、Chp2 (SEQ ID NO:70)、CPAR39 (SEQ ID NO:135)、Chp3 (SEQ ID NO:137)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Chp6 (SEQ ID NO:106)、Chp7 (SEQ ID NO:139)、Chp8 (SEQ ID NO:141)、Chp9 (SEQ ID NO:143)、Chp10 (SEQ ID NO:145)、Chp11 (SEQ ID NO:147)、Chp12 (SEQ ID NO:149)、Gkh1 (SEQ ID NO:151)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Unp1 (SEQ ID NO:153)、Ecp1 (SEQ ID NO:155)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Tma1 (SEQ ID NO:157)、Osp1 (SEQ ID NO:108)、Unp2 (SEQ ID NO:159)、Unp3 (SEQ ID NO:161)、Gkh3 (SEQ ID NO:163)、Unp5 (SEQ ID NO:165)、Unp6 (SEQ ID NO:167)、Spi1 (SEQ ID NO:169)、Spi2 (SEQ ID NO:171)、Ecp3 (SEQ ID NO:177)、Ecp4 (SEQ ID NO:179)、ALCES1 (SEQ ID NO:181)、AVQ206 (SEQ ID NO:183)、AVQ244 (SEQ ID NO:185)、CDL907 (SEQ ID NO:187)、AGT915 (SEQ ID NO:189)、HH3930 (SEQ ID NO:191)、Fen7875 (SEQ ID NO:193)、SBR77 (SEQ ID NO:195)、Bdp1 (SEQ ID NO:197)、LVP1 (SEQ ID NO:199)、Lvp2 (SEQ ID NO:201)、七叶内酯片段(SEQ ID NO:80)、RI12 (SEQ ID NO:88)、TI15 (SEQ ID NO:94)、RI18 (SEQ ID NO:92)、FIRL (SEQ ID NO:114)、LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)、RR12whydro (SEQ ID NO:110)、RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)和阳离子肽(SEQ ID NO:120)，或(ii)具有AMP活性的多肽，其中所述多肽与SEQ ID NO:133、70、135、137、102、106、139、141、143、145、147、149、151、90、153、155、104、157、108、159、161、163、165、167、169、171、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、80、88、94、92、114、76、110、131和120中的至少一个具有至少80%同一性，

其中所述药物组合物在肺表面活性剂存在的情况下，抑制铜绿假单胞菌细菌生长，减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌。

25.权利要求24的药物组合物，其中所述溶素-AMP多肽构建体进一步包含至少一种结构稳定组分，以维持所述构建体中的所述第一和/或第二组分的结构的至少一部分与未缀合的溶素和/或AMP中实质上相同。

26.权利要求25的药物组合物，其中所述至少一种结构稳定组分是肽。

27.权利要求26的药物组合物，其中所述肽选自TAGGTAGG (SEQ ID NO:72)、IGEM (BBa_K1485002) (SEQ ID NO:82)、PPTAGGTAGG (SEQ ID NO:98)、IGEM +PP (SEQ ID NO:16的残基44-58)和AGAGAGAGAGAGAGAGAS (SEQ ID NO:122)。

28.权利要求24-27中任一项的药物组合物，其中所述溶素选自GN316 (SEQ ID NO:22)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN485 (SEQ ID NO:68)、溶素

PaP2_gp17 (SEQ ID NO:96)及其活性片段。

29.权利要求28的药物组合物,其中所述溶素或其活性片段相对于SEQ ID NO:22、26、28、56、58、60、64、68或96包含至少一个氨基酸取代。

30.权利要求24-29中任一项的药物组合物,其中所述溶素-AMP多肽构建体包含选自GN168 (SEQ ID NO:2)、GN176 (SEQ ID NO:4)、GN178 (SEQ ID NO:6) GN218 (SEQ ID NO:10)、GN223 (SEQ ID NO:12)、GN239 (SEQ ID NO:14)、GN243 (SEQ ID NO:16)、GN280 (SEQ ID NO:18)、GN281 (SEQ ID NO:20)、GN349 (SEQ ID NO:30)、GN351 (SEQ ID NO:32)、GN352 (SEQ ID NO:34)、GN353 (SEQ ID NO:36)、GN357 (SEQ ID NO:38)、GN359 (SEQ ID NO:40)、GN369 (SEQ ID NO:42)、GN370 (SEQ ID NO:44)、GN371 (SEQ ID NO:46)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN93 (SEQ ID NO:62)中的至少一个的多肽序列,或具有溶素活性且与SEQ ID NOS:2、4、6、10、12、14、16、18、20、30、32、34、36、38、40、42、44、46、60和62中的至少一个具有至少80%同一性的多肽序列。

31.权利要求24-29中任一项的药物组合物,其中所述分离的溶素包含选自GN121 (SEQ ID NO:175)和GN428 (SEQ ID NO:60)中的至少一个的多肽序列,或具有溶素活性且与SEQ ID NO:175和60中的至少一个具有至少80%同一性的多肽序列。

32.权利要求24-31中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物被配制为溶液、悬浮液、乳液、可吸入粉末、气溶胶或喷雾剂。

33.权利要求24-32中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物进一步包含适合于治疗革兰氏阴性细菌的抗生素。

34.治疗由革兰氏阴性细菌引起的细菌感染的方法,其中所述革兰氏阴性细菌包括铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的一种或多种额外物种,所述方法包括:

向诊断为具有细菌感染、处于细菌感染的风险中或表现出细菌感染的症状的受试者施用根据权利要求24-33中任一项所述的药物组合物。

35.权利要求34的方法,其中所述细菌感染是局部或全身性病原性细菌感染。

36.预防或治疗细菌感染的方法,其包括:

向诊断为具有细菌感染、处于细菌感染的风险中或表现出细菌感染的症状的受试者共同施用第一有效量的根据权利要求24-35中任一项所述的药物组合物和第二有效量的适合于治疗革兰氏阴性细菌感染的抗生素的组合。

37.用于加强适合于治疗革兰氏阴性细菌感染的抗生素的效力的方法,

其包括:

将所述抗生素与含有有效量的分离的溶素和/或溶素-抗微生物肽(AMP)多肽构建体的组合物组合共同施用,

其中所述分离的溶素包含以下中的至少一种:

(i) GN121 (SEQ ID NO:175)、GN123 (SEQ ID NO:173)、GN217 (SEQ ID NO:8)、GN316变体(SEQ ID NO:24)、GN316 (SEQ ID NO:22)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN394 (SEQ ID NO:48)、GN396 (SEQ ID NO:50)、GN408 (SEQ ID NO:52)、GN418 (SEQ ID NO:54)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN485 (SEQ ID NO:68)、溶素PaP2_gp17 (SEQ ID NO:96),或

(ii)其活性片段,或

(iii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:175、173、8、24、22、26、28、48、50、52、54、56、58、60、64、66、68或96中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽;

其中所述溶素-AMP多肽构建体包含:

(a)包含以下多肽序列的第一组分:

(i)选自以下的溶素:GN76 (SEQ ID NO:203)、GN4 (SEQ ID NO:74)、GN146 (SEQ ID NO:78)、GN14 (SEQ ID NO:124)、任选地具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)、任选地具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)、溶素Pap2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN202 (SEQ ID NO:118)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN485 (SEQ ID NO:68)、GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175);或

(ii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:203、74、78、124、84、22、96、26、56、118、58、60、64、66、28、68、173或175中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽;或

(iii)所述溶素的活性片段;和

b)包含以下多肽序列的第二组分:

(i)至少一种选自以下的抗微生物肽(AMP):Chp1 (SEQ ID NO:133)、Chp2 (SEQ ID NO:70)、CPAR39 (SEQ ID NO:135)、Chp3 (SEQ ID NO:137)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Chp6 (SEQ ID NO:106)、Chp7 (SEQ ID NO:139)、Chp8 (SEQ ID NO:141)、Chp9 (SEQ ID NO:143)、Chp10 (SEQ ID NO:145)、Chp11 (SEQ ID NO:147)、Chp12 (SEQ ID NO:149)、Gkh1 (SEQ ID NO:151)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Unp1 (SEQ ID NO:153)、Ecp1 (SEQ ID NO:155)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Tma1 (SEQ ID NO:157)、Osp1 (SEQ ID NO:108)、Unp2 (SEQ ID NO:159)、Unp3 (SEQ ID NO:161)、Gkh3 (SEQ ID NO:163)、Unp5 (SEQ ID NO:165)、Unp6 (SEQ ID NO:167)、Spi1 (SEQ ID NO:169)、Spi2 (SEQ ID NO:171)、Ecp3 (SEQ ID NO:177)、Ecp4 (SEQ ID NO:179)、ALCES1 (SEQ ID NO:181)、AVQ206 (SEQ ID NO:183)、AVQ244 (SEQ ID NO:185)、CDL907 (SEQ ID NO:187)、AGT915 (SEQ ID NO:189)、HH3930 (SEQ ID NO:191)、Fen7875 (SEQ ID NO:193)、SBR77 (SEQ ID NO:195)、Bdp1 (SEQ ID NO:197)、LVP1 (SEQ ID NO:199)、Lvp2 (SEQ ID NO:201)、七叶内酯片段(SEQ ID NO:80)、RI12 (SEQ ID NO:88)、TI15 (SEQ ID NO:94)、RI18 (SEQ ID NO:92)、FIRL (SEQ ID NO:114)、LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)、RR12whydro (SEQ ID NO:110)、RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)和阳离子肽(SEQ ID NO:120),或

(ii)具有AMP活性的多肽,其中所述多肽与SEQ ID NO:133、70、135、137、102、106、139、141、143、145、147、149、151、90、153、155、104、157、108、159、161、163、165、167、169、171、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、80、88、94、92、114、76、110、131和120中的至少一个具有至少80%同一性,

其中所述组合物包括至少一种选自以下的活性:在肺表面活性剂存在的情况下,抑制铜绿假单胞菌细菌生长,减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌,且

其中在肺表面活性剂存在的情况下,与单独施用所述抗生素或所述溶素或溶素-AMP多肽构建体相比,所述组合的施用更有效地抑制革兰氏阴性细菌的生长,或减少革兰氏阴性

细菌的种群,或杀死革兰氏阴性细菌。

38.抑制革兰氏阴性细菌的至少一种物种的生长或减少革兰氏阴性细菌的至少一种物种的种群或杀死革兰氏阴性细菌的至少一种物种的方法,其中所述革兰氏阴性细菌的至少一种物种是铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的一种或多种额外物种,所述方法包括:

使所述细菌与含有有效量的分离的溶素和/或溶素-抗微生物肽(AMP)多肽构建体的组合物接触,

其中所述分离的溶素包含以下中的至少一种:

(i) GN121 (SEQ ID NO:175)、GN123 (SEQ ID NO:173)、GN217 (SEQ ID NO:8)、GN316变体(SEQ ID NO:24)、GN316 (SEQ ID NO:22)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN394 (SEQ ID NO:48)、GN396 (SEQ ID NO:50)、GN408 (SEQ ID NO:52)、GN418 (SEQ ID NO:54)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN485 (SEQ ID NO:68)、溶素PaP2_gp17 (SEQ ID NO:96),或

(ii)其活性片段,或

(iii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:175、173、8、24、22、26、28、48、50、52、54、56、58、60、64、66、68或96中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽;

其中所述溶素-AMP多肽构建体包含:

(a)包含以下多肽序列的第一组分:

(i)选自以下的溶素:GN76 (SEQ ID NO:203)、GN4 (SEQ ID NO:74)、GN146 (SEQ ID NO:78)、GN14 (SEQ ID NO:124)、任选地具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)、任选地具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)、溶素Pap2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN202 (SEQ ID NO:118)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN485 (SEQ ID NO:68)、GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175);或

(ii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:203、74、78、124、84、22、96、26、56、118、58、60、64、66、28、68、173或175中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽;或

(iii)所述溶素的活性片段;和

b)包含以下多肽序列的第二组分:

(i)至少一种选自以下的抗微生物肽(AMP):Chp1 (SEQ ID NO:133)、Chp2 (SEQ ID NO:70)、CPAR39 (SEQ ID NO:135)、Chp3 (SEQ ID NO:137)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Chp6 (SEQ ID NO:106)、Chp7 (SEQ ID NO:139)、Chp8 (SEQ ID NO:141)、Chp9 (SEQ ID NO:143)、Chp10 (SEQ ID NO:145)、Chp11 (SEQ ID NO:147)、Chp12 (SEQ ID NO:149)、Gkh1 (SEQ ID NO:151)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Unp1 (SEQ ID NO:153)、Ecp1 (SEQ ID NO:155)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Tma1 (SEQ ID NO:157)、Osp1 (SEQ ID NO:108)、Unp2 (SEQ ID NO:159)、Unp3 (SEQ ID NO:161)、Gkh3 (SEQ ID NO:163)、Unp5 (SEQ ID NO:165)、Unp6 (SEQ ID NO:167)、Spi1 (SEQ ID NO:169)、Spi2 (SEQ ID NO:171)、Ecp3 (SEQ ID NO:177)、Ecp4 (SEQ ID NO:179)、ALCES1 (SEQ ID NO:181)、AVQ206 (SEQ ID NO:

183)、AVQ244 (SEQ ID NO:185)、CDL907 (SEQ ID NO:187)、AGT915 (SEQ ID NO:189)、HH3930 (SEQ ID NO:191)、Fen7875 (SEQ ID NO:193)、SBR77 (SEQ ID NO:195)、Bdp1 (SEQ ID NO:197)、LVP1 (SEQ ID NO:199)、Lvp2 (SEQ ID NO:201)、七叶内酯片段(SEQ ID NO:80)、RI12 (SEQ ID NO:88)、TI15 (SEQ ID NO:94)、RI18 (SEQ ID NO:92)、FIRL (SEQ ID NO:114)、LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)、RR12whydro (SEQ ID NO:110)、RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)和阳离子肽(SEQ ID NO:120),或

(ii)具有AMP活性的多肽,其中所述多肽与SEQ ID NO:133、70、135、137、102、106、139、141、143、145、147、149、151、90、153、155、104、157、108、159、161、163、165、167、169、171、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、80、88、94、92、114、76、110、131和120中的至少一个具有至少80%同一性,且

其中所述组合物包括至少一种选自以下的活性:在肺表面活性剂存在的情况下,抑制铜绿假单胞菌细菌生长,减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌。

39.权利要求34、35和38中任一项的方法,其中所述革兰氏阴性细菌的一种或多种额外物种选自:克雷伯氏菌属物种、肠杆菌属物种、大肠杆菌、弗氏柠檬酸杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、鼠疫耶尔森氏菌和土拉热弗朗西斯氏菌。

40.权利要求36或37的方法或权利要求33的药物组合物,其中所述抗生素选自头孢他啶、头孢吡肟、头孢哌酮、头孢吡普、环丙沙星、左氧氟沙星、氨基糖苷类、亚胺培南、美罗培南、多利培南、庆大霉素、妥布霉素、阿米卡星、哌拉西林、替卡西林、青霉素、利福平、多粘菌素B和粘菌素中的一种或多种。

41.前述权利要求中任一项的溶素-AMP多肽构建体、分离的多肽、分离的多核苷酸、重组载体、宿主细胞、药物组合物或方法,其中所述至少一种活性进一步包括抑制除了铜绿假单胞菌以外的革兰氏阴性细菌的至少一种物种的生长,或减少除了铜绿假单胞菌以外的革兰氏阴性细菌的至少一种物种的种群。

42.权利要求38的溶素-AMP多肽构建体、分离的多肽、分离的多核苷酸、重组载体、宿主细胞、药物组合物或方法,其中所述除了铜绿假单胞菌以外的革兰氏阴性细菌的至少一种物种选自:克雷伯氏菌属物种、肠杆菌属物种、大肠杆菌、弗氏柠檬酸杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、鼠疫耶尔森氏菌和土拉热弗朗西斯氏菌。

43.前述权利要求中任一项的溶素-AMP多肽构建体、分离的多肽、分离的多核苷酸、重组载体、宿主细胞、药物组合物或方法,其中所述溶素-AMP多肽构建体或所述分离的多肽使铜绿假单胞菌对抗生素重新敏化。

44.权利要求43的溶素-AMP多肽构建体、分离的多肽、分离的多核苷酸、重组载体、宿主细胞、药物组合物或方法,其中所述抗生素是碳青霉烯。

45.前述权利要求中任一项的溶素-AMP多肽构建体、分离的多肽、分离的多核苷酸、重组载体、宿主细胞、药物组合物或方法,其中所述抗生素是美罗培南。

46.前述权利要求中任一项的溶素-AMP多肽构建体、分离的多肽、分离的多核苷酸、重组载体、宿主细胞、药物组合物或方法,其中由革兰氏阴性细菌引起的细菌感染是其中存在肺表面活性剂的器官或组织的细菌感染。

47.预防、破坏或根除革兰氏阴性细菌生物膜的方法,其包括:

使表面与包含有效杀死生物膜中的革兰氏阴性细菌的权利要求1-8中任一项的溶素-

AMP多肽构建体、权利要求9-10中任一项的分离的多肽或权利要求24-32中任一项的药物组合物的组合物接触，其中有效地预防、破坏或根除所述生物膜。

48.预防、破坏或根除革兰氏阴性细菌生物膜的方法，其包括：

向有此需要的受试者施用包含有效杀死生物膜中的革兰氏阴性细菌的权利要求1-8中任一项的溶素-AMP多肽构建体、权利要求9-10中任一项的分离的多肽或权利要求24-32中任一项的药物组合物的组合物，其中有效地预防、破坏或根除表面上的所述生物膜。

49.权利要求47或48的方法，其中所述表面包括医疗装置的表面。

50.权利要求49的方法，其中所述医疗装置是隐形眼镜、药物泵、植入物、导管或假体装置。

51.权利要求47-50中任一项的方法，其中所述组合物或药物组合物进一步包含一种或多种抗生素。

52.权利要求47-50中任一项的方法，其中所述表面另外与一种或多种抗生素接触。

53.权利要求51或52的方法，其中所述一种或多种抗生素选自青霉素、头孢菌素、单环内酰胺、氟喹诺酮、碳青霉烯类、氨基糖苷、多粘菌素、大环内酯类或磷霉素。

54.权利要求47-53中任一项的方法，其中所述表面是生物表面。

55.权利要求47-54中任一项的方法，其中所述表面感染具有选自以下的革兰氏阴性细菌感染：骨髓炎、细菌性心内膜炎、扁桃体炎鼻窦炎、角膜的感染、尿道感染、胆道的感染、感染性肾结石、尿道炎、前列腺炎、中耳感染、牙菌斑的形成、牙龈炎、牙周炎、囊性纤维化、伤口感染和医疗装置的感染。

56.权利要求47-55中任一项的方法，其中预防生物膜形成。

57.权利要求47-55中任一项的方法，其中破坏或根除所述生物膜。

溶素-抗微生物肽(AMP)多肽构建体、溶素、其分离的编码多核苷酸及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

本申请要求2019年3月29日提交的PCT申请号PCT/US2019/024912的优先权，并且依赖于其申请日，所述PCT申请号PCT/US2019/024912要求2018年8月24日提交的美国临时申请号62/722,793、2018年3月29日提交的美国临时申请号62/650,235和2018年8月23日提交的美国临时申请号62/721,969的优先权，并且还依赖于2019年5月17日提交的美国临时申请号62/849,320和2019年6月13日提交的美国临时申请号62/860,836(其各自通过引用以其整体并入本文)的申请日。

[0002] 序列表

本申请含有序列表，该序列表已经以ASCII格式电子提交，并且在此通过引用以其整体并入。所述ASCII副本，在2019年8月22日创建，命名为0341_0021-00-304_ST25.txt，且大小为249,856字节。

[0003] 公开领域

本公开涉及抗细菌剂的领域，并且更具体地涉及具有针对革兰氏阴性细菌的溶素活性的多肽，以及这些药剂在杀死革兰氏阴性细菌和对抗细菌感染和污染中的用途。

[0004] 背景

革兰氏阴性细菌，特别是假单胞菌属的成员和新出现的多药抗性病原体鲍氏不动杆菌，是严重且可能威胁生命的侵入性感染的重要原因。假单胞菌感染在烧伤伤口、慢性伤口、慢性阻塞性肺病症(COPD)、囊性纤维化、植入的生物材料上以及医院表面和供水系统(在此处其对脆弱患者构成许多威胁)内的表面生长中构成主要问题。

[0005] 一旦在患者中建立，铜绿假单胞菌可能特别难以治疗。该基因组编码许多抗性基因，包括赋予对β-内酰胺和氨基糖苷抗生素的抗性的多药外排泵和酶，由于缺乏新型抗微生物治疗剂，这使针对该革兰氏阴性病原体的疗法特别有挑战性。铜绿假单胞菌在生物膜中生长的能力使该挑战复杂化，所述能力可以通过保护细菌免于宿主防御和化学疗法来增强其引起感染的能力。

[0006] 在健康护理环境中，铜绿假单胞菌的药物抗性菌株的发生率正在增加。在社区医院中的健康护理相关的血流感染(BSI)的一项观察性研究中，铜绿假单胞菌是前四种多药抗性(MDR)病原体之一，占18%的总体医院死亡率。此外，充分记录了MDR铜绿假单胞菌的暴发。结果不佳与经常需要用最后使用的药物(诸如粘菌素)进行治疗的铜绿假单胞菌的MDR菌株相关。

[0007] 此外，由于感染环境中的因素(诸如肺表面活性剂)，而不是抗生素抗性发展，而观察到某些抗生素在抗击感染中的有效性降低。某些抗生素，诸如达托霉素，例如在严重的社区获得性肺炎的临床试验中未能符合标准。已经显示这种缺陷是由于达托霉素和肺表面活性剂之间的相互作用，所述肺表面活性剂抑制该抗生素的活性，特别是在肺部环境中，且更通常在其中存在肺部表面活性剂的气道环境中。Silverman, J.A. 等人, "Surfactant Inhibition of Daptomycin," *JID*, 191: 2149-2152 (2005)。因此，达托霉素未指示用于

治疗肺部感染和更通常气道(特别是下呼吸道)感染,并且本领域技术人员将不采用包括达托霉素的治疗方案来治疗此类感染。达托霉素在肺表面活性剂存在的情况下不能抗击感染,已经引人注目地显示于例如Koplowicz, Y.B.等人, "Development of daptomycin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Pneumonia during high-dose daptomycin therapy", *Clin Infect Dis*. 49(8):1286-7 (2009)。近来的研究已经集中于通过测试和评估结构相关的脂肽A54145的杂合分子的抗细菌活性来克服达托霉素在表面活性剂存在的情况下的无活性。Nguyen, K.T. 等人, "Genetically engineered lipopeptide antibiotics related to A54145 and daptomycin with improved properties", *Antimicrob. Agents Chemother*. 2010 Apr; 54(4):1404-1413。

[0008] 肺表面活性剂(上皮内衬液的主要组分),是一种复杂的脂质-和-蛋白混合物,其覆盖气道的内表面,降低肺泡内的表面张力。表面活性剂主要由二棕榈酰磷脂酰胆碱(在所有哺乳动物物种中的~80%)连同显著量的磷脂酰甘油(PG)和较小量的次要磷脂、中性脂质和胆固醇构成。存在4种蛋白组分:亲水性蛋白SP-A和SP-D和疏水性蛋白SP-B和SP-C。Goerke, J., "Pulmonary Surfactant: functions and molecular composition", *Biochim. Biophys. Acta*. 1998; 1408:79-89。将达托霉素插入由磷脂酰胆碱(PC)和PC/PG构成的人工膜囊泡中。Lakey J.H. 等人, "Fluorescence indicates a calcium-dependent interaction between the lipopeptide antibiotic LY146032 and phospholipid membranes," *Biochemistry* 1988; 27:4639-45; Jung, D. 等人, "Structural transitions as determinants of the action of the calcium-dependent antibiotic daptomycin", *Chem. Biol*. 2004; 11:949-57。

[0009] 因此,在其他方面有效的抗生素被存在于作为感染部位的器官或组织中的因子(诸如在肺部感染或其他气道感染和更通常呼吸道感染的情况下,肺表面活性剂)抑制的程度上,会恢复且甚至加强此类抗生素的活性的治疗方案会具有商业和公共健康价值。

[0010] 除了上面讨论的达托霉素以外,已知被肺表面活性剂抑制的其他抗生素包括但不限于:妥布霉素,一种用于治疗由革兰氏阴性细菌铜绿假单胞菌(肺炎的常见原因)引起的感染的氨基糖苷((van 't Veen, A. 等人, "Influence of pulmonary surfactant on *in vitro* bactericidal activities of amoxicillin, ceftazidime, and tobramycin", *Antimicrob. Agents Chemother*. 39:329-333 (1995)),以及粘菌素,一种针对革兰氏阴性细菌(包括铜绿假单胞菌)具有广泛活性的环状脂肽(多粘菌素)。Schwameis, R. 等人, "Effect of Pulmonary surfactant on antimicrobial activity *in vitro*", *Antimicrob. Agents Chemother*. 57(10):5151-54 (2013)。

[0011] 为了解决对具有新型机制的新的抗微生物剂的需求,研究人员正在研究各种药物和生物制剂。一类这样的抗微生物剂包括溶素。溶素是细胞壁肽聚糖水解酶,其充当"分子剪刀"以降解用于维持细胞形状且用于承受内部渗透压的肽聚糖网状结构。肽聚糖的降解导致渗透裂解。然而,至少部分地由于存在在革兰氏阳性细菌中不存在且限制对次相邻的肽聚糖的接近的外膜(OM),溶素通常针对革兰氏阴性细菌不是有效的。还已经开发了修饰的溶素("artylysins")。包含与具有聚阳离子、两亲性和疏水性特征的特定α-螺旋结构域融合的溶素的这些药剂能够跨OM易位。然而,artylysins通常表现出低体内活性。

[0012] 尽管近来的出版物已经描述了可以在体内以不同水平的效力针对革兰氏阴性细菌使用的新型溶素，但仍然存在对于用于治疗侵入性感染的，在人血液基质或肺表面活性剂中保留靶向MDR铜绿假单胞菌和其他革兰氏阴性细菌的活性的额外抗细菌剂的连续医疗需求。

[0013] 概述

本申请涉及包含溶素和抗微生物肽(AMP)的新型多肽构建体，其可用于例如治疗细菌感染，包括由革兰氏阴性细菌、特别是多药抗性的革兰氏阴性细菌(包括但不限于铜绿假单胞菌)引起的感染。还提供了新鉴定的溶素及其变体，以及其他溶素的变体。如本文所述，所述溶素-AMP多肽构建体、新获得的溶素和变体溶素可以包含在药物组合物中，所述药物组合物可以用于例如治疗细菌感染。本文还尤其提供了使用所述溶素-AMP多肽构建体、新鉴定的溶素和变体溶素用于治疗细菌感染、加强抗生素的效力并通常抑制革兰氏阴性细菌、诸如铜绿假单胞菌的生长、减少革兰氏阴性细菌、诸如铜绿假单胞菌的种群或杀死革兰氏阴性细菌、诸如铜绿假单胞菌的方法。还提供了溶素变体多肽和编码所述构建体和溶素变体的多核苷酸。在某些实施方案中，所述溶素-AMP多肽构建体、新获得的溶素和变体溶素可用于治疗其中存在肺表面活性剂的器官或组织中的细菌感染，诸如例如肺炎(包括医院获得性肺炎)和囊性纤维化。在其他实施方案中，可以使用所述溶素-AMP多肽构建体、新获得的溶素和变体溶素来治疗与生物膜相关的革兰氏阴性细菌感染。

[0014] 在一个方面，本公开涉及溶素-AMP多肽构建体，其包含：(a)包含以下多肽序列的第一组分：(i)选自以下的溶素：GN76 (SEQ ID NO:203)、GN4 (SEQ ID NO:74)、GN146 (SEQ ID NO:78)、GN14 (SEQ ID NO:124)、任选地具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)、任选地具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)、溶素Pap2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN202 (SEQ ID NO:118)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN485 (SEQ ID NO:68)、GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175)；或(ii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:203、74、78、124、84、22、96、26、56、118、58、60、64、66、28、68、173或175中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽；或(iii)所述溶素的活性片段；和

b)包含以下多肽序列的第二组分：(i)至少一种选自以下的抗微生物肽(AMP)：Chp1 (SEQ ID NO:133)、Chp2 (SEQ ID NO:70)、CPAR39 (SEQ ID NO:135)、Chp3 (SEQ ID NO:137)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Chp6 (SEQ ID NO:106)、Chp7 (SEQ ID NO:139)、Chp8 (SEQ ID NO:141)、Chp9 (SEQ ID NO:143)、Chp10 (SEQ ID NO:145)、Chp11 (SEQ ID NO:147)、Chp12 (SEQ ID NO:149)、Gkh1 (SEQ ID NO:151)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Unp1 (SEQ ID NO:153)、Ecp1 (SEQ ID NO:155)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Tma1 (SEQ ID NO:157)、Osp1 (SEQ ID NO:108)、Unp2 (SEQ ID NO:159)、Unp3 (SEQ ID NO:161)、Gkh3 (SEQ ID NO:163)、Unp5 (SEQ ID NO:165)、Unp6 (SEQ ID NO:167)、Spi1 (SEQ ID NO:169)、Spi2 (SEQ ID NO:171)、Ecp3 (SEQ ID NO:177)、Ecp4 (SEQ ID NO:179)、ALCES1 (SEQ ID NO:181)、AVQ206 (SEQ ID NO:183)、AVQ244 (SEQ ID NO:185)、CDL907 (SEQ ID NO:187)、AGT915 (SEQ ID NO:189)、HH3930 (SEQ ID NO:191)、Fen7875 (SEQ ID NO:193)、SBR77 (SEQ ID NO:195)、Bdp1 (SEQ ID NO:197)、LVP1 (SEQ ID NO:199)、Lvp2 (SEQ ID NO:201)、七叶内

酯片段(SEQ ID NO:80)、RI12 (SEQ ID NO:88)、TI15 (SEQ ID NO:94)、RI18 (SEQ ID NO:92)、FIRL (SEQ ID NO:114)、LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)、RR12whydro (SEQ ID NO:110)、RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)和阳离子肽(SEQ ID NO:120)，或(ii)具有AMP活性的多肽，其中所述多肽与SEQ ID NO:133、70、135、137、102、106、139、141、143、145、147、149、151、90、153、155、104、157、108、159、161、163、165、167、169、171、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、80、88、94、92、114、76、110、131和120中的至少一个具有至少80%同一性，其中所述溶素-AMP多肽构建体包括至少一种选自以下的活性：在人血清不存在和/或存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下，抑制铜绿假单胞菌细菌生长，减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌。

[0015] 在另一个方面，本公开涉及分离的多肽，其包含选自GN121 (SEQ ID NO:175)、GN217溶素(SEQ ID NO:8)、GN394溶素(SEQ ID NO:48)、GN396溶素(SEQ ID NO:50)、GN408溶素(SEQ ID NO:52)、GN418溶素(SEQ ID NO:54)、GN428 (SEQ ID NO:60)和GN486 (SEQ ID NO:66)的溶素或其活性片段，其中所述溶素或其活性片段在人血清不存在和/或存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下，抑制铜绿假单胞菌细菌生长，减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌。

[0016] 本公开还涉及分离的多核苷酸，其包含编码溶素-抗微生物肽(AMP)多肽构建体的核酸分子，所述核酸分子包含：

(a)编码第一组分的第一核酸分子，所述第一组分包含：(i)选自以下的溶素：GN76 (SEQ ID NO:203)、GN4 (SEQ ID NO:74)、GN146 (SEQ ID NO:78)、GN14 (SEQ ID NO:124)、任选地具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)、任选地具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)、溶素Pap2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN202 (SEQ ID NO:118)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN485 (SEQ ID NO:68)、GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175)；或(ii)具有溶素活性的多肽，其中所述多肽与SEQ ID NO:203、74、78、124、84、22、96、26、56、118、58、60、64、66、28、68、173或175中的至少一个具有至少80%同一性；或(iii)所述溶素的活性片段；和

(b)编码第二组分的第二核酸分子，所述第二组分包含：(i)至少一种选自以下的抗微生物肽(AMP)：Chp1 (SEQ ID NO:133)、Chp2 (SEQ ID NO:70)、CPAR39 (SEQ ID NO:135)、Chp3 (SEQ ID NO:137)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Chp6 (SEQ ID NO:106)、Chp7 (SEQ ID NO:139)、Chp8 (SEQ ID NO:141)、Chp9 (SEQ ID NO:143)、Chp10 (SEQ ID NO:145)、Chp11 (SEQ ID NO:147)、Chp12 (SEQ ID NO:149)、Gkh1 (SEQ ID NO:151)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Unp1 (SEQ ID NO:153)、Ecp1 (SEQ ID NO:155)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Tma1 (SEQ ID NO:157)、Osp1 (SEQ ID NO:108)、Unp2 (SEQ ID NO:159)、Unp3 (SEQ ID NO:161)、Gkh3 (SEQ ID NO:163)、Unp5 (SEQ ID NO:165)、Unp6 (SEQ ID NO:167)、Spi1 (SEQ ID NO:169)、Spi2 (SEQ ID NO:171)、Ecp3 (SEQ ID NO:177)、Ecp4 (SEQ ID NO:179)、ALCES1 (SEQ ID NO:181)、AVQ206 (SEQ ID NO:183)、AVQ244 (SEQ ID NO:185)、CDL907 (SEQ ID NO:187)、AGT915 (SEQ ID NO:189)、HH3930 (SEQ ID NO:191)、Fen7875 (SEQ ID NO:193)、SBR77 (SEQ ID NO:195)、Bdp1 (SEQ ID NO:197)、LVP1 (SEQ ID NO:199)、Lvp2 (SEQ ID NO:201)、七叶内酯片段(SEQ ID NO:80)、RI12 (SEQ ID NO:88)、TI15 (SEQ ID

NO:94)、RI18 (SEQ ID NO:92)、FIRL (SEQ ID NO:114)、LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)、RR12whydro (SEQ ID NO:110)、RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)和阳离子肽(SEQ ID NO:120),或(ii)具有AMP活性的多肽,其中所述多肽与SEQ ID NO:133、70、135、137、102、106、139、141、143、145、147、149、151、90、153、155、104、157、108、159、161、163、165、167、169、171、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、80、88、94、92、114、76、110、131和120中的至少一个具有至少80%同一性,其中所述溶素-AMP多肽构建体包括至少一种选自以下的活性:在人血清不存在和/或存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下,抑制铜绿假单胞菌细菌生长,减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌。

[0017] 在又另一个方面,本公开涉及分离的多核苷酸序列,其包含编码选自GN121 (SEQ ID NO:175)、GN217溶素(SEQ ID NO:8)、GN394溶素(SEQ ID NO:48)、GN396溶素(SEQ ID NO:50)、GN408溶素(SEQ ID NO:52)、GN418溶素(SEQ ID NO:54)、GN428 (SEQ ID NO:60)和GN486 (SEQ ID NO:66)的溶素或其活性片段的核酸分子,其中所述溶素或其活性片段在人血清不存在和/或存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下,抑制铜绿假单胞菌细菌生长,减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌。

[0018] 在一个方面,本公开涉及药物组合物,其包含分离的溶素和/或溶素-抗微生物肽(AMP)多肽构建体和药学上可接受的载体,

其中所述分离的溶素包括以下中的至少一种:(i) GN121 (SEQ ID NO:175)、GN123 (SEQ ID NO:173)、GN217 (SEQ ID NO:8)、GN316变体(SEQ ID NO:24)、GN316 (SEQ ID NO:22)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN394 (SEQ ID NO:48)、GN396 (SEQ ID NO:50)、GN408 (SEQ ID NO:52)、GN418 (SEQ ID NO:54)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN485 (SEQ ID NO:68)、溶素PaP2_gp17 (SEQ ID NO:96),(ii)其活性片段,或(iii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:175、173、8、24、22、26、28、48、50、52、54、56、58、60、64、66、68或96中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽;

其中所述溶素-AMP多肽构建体包含:(a)包含以下多肽序列的第一组分:(i)选自以下的溶素:GN76 (SEQ ID NO:203)、GN4 (SEQ ID NO:74)、GN146 (SEQ ID NO:78)、GN14 (SEQ ID NO:124)、任选地具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)、任选地具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)、溶素Pap2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN202 (SEQ ID NO:118)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN485 (SEQ ID NO:68)、GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175);或(ii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:203、74、78、124、84、22、96、26、56、118、58、60、64、66、28、68、173或175中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽;或(iii)所述溶素的活性片段;和b)包含以下多肽序列的第二组分:(i)至少一种选自以下的抗微生物肽(AMP):Chp1 (SEQ ID NO:133)、Chp2 (SEQ ID NO:70)、CPAR39 (SEQ ID NO:135)、Chp3 (SEQ ID NO:137)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Chp6 (SEQ ID NO:106)、Chp7 (SEQ ID NO:139)、Chp8 (SEQ ID NO:141)、Chp9 (SEQ ID NO:143)、Chp10 (SEQ ID NO:145)、Chp11 (SEQ ID NO:147)、Chp12 (SEQ ID NO:149)、Gkh1 (SEQ ID NO:151)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Unp1 (SEQ ID NO:153)、Ecp1 (SEQ ID NO:155)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Tma1 (SEQ ID NO:157)、Osp1

(SEQ ID NO:108)、Unp2 (SEQ ID NO:159)、Unp3 (SEQ ID NO:161)、Gkh3 (SEQ ID NO:163)、Unp5 (SEQ ID NO:165)、Unp6 (SEQ ID NO:167)、Spi1 (SEQ ID NO:169)、Spi2 (SEQ ID NO:171)、Ecp3 (SEQ ID NO:177)、Ecp4 (SEQ ID NO:179)、ALCES1 (SEQ ID NO:181)、AVQ206 (SEQ ID NO:183)、AVQ244 (SEQ ID NO:185)、CDL907 (SEQ ID NO:187)、AGT915 (SEQ ID NO:189)、HH3930 (SEQ ID NO:191)、Fen7875 (SEQ ID NO:193)、SBR77 (SEQ ID NO:195)、Bdp1 (SEQ ID NO:197)、LVP1 (SEQ ID NO:199)、Lvp2 (SEQ ID NO:201)、七叶内酯片段(SEQ ID NO:80)、RI12 (SEQ ID NO:88)、TI15 (SEQ ID NO:94)、RI18 (SEQ ID NO:92)、FIRL (SEQ ID NO:114)、LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)、RR12whydro (SEQ ID NO:110)、RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)和阳离子肽(SEQ ID NO:120)，或(ii)具有AMP活性的多肽，其中所述多肽与SEQ ID NO:133、70、135、137、102、106、139、141、143、145、147、149、151、90、153、155、104、157、108、159、161、163、165、167、169、171、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、80、88、94、92、114、76、110、131和120中的至少一个具有至少80%同一性，其中所述药物组合物包括至少一种选自以下的活性：在人血清不存在和/或存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下，抑制铜绿假单胞菌细菌生长，减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌。

[0019] 在另一个方面，本公开涉及治疗由革兰氏阴性细菌引起的细菌感染的方法，其中所述革兰氏阴性细菌包括铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的一种或多种额外物种，所述方法包括：向诊断为具有细菌感染、处于细菌感染的风险中或表现出细菌感染的症状的受试者施用如本文所述的药物组合物。在某些实施方案中，所述细菌感染在其中存在肺表面活性剂的器官或组织中，诸如在肺或气道中。

[0020] 在又另一个方面，本公开涉及预防或治疗细菌感染的方法，其包括：向诊断为具有细菌感染、处于细菌感染的风险中或表现出细菌感染的症状的受试者共同施用第一有效量的如本文所述的药物组合物和第二有效量的适合于治疗革兰氏阴性细菌感染的抗生素的组合。

[0021] 在一个方面，本公开涉及用于加强适合于治疗革兰氏阴性细菌感染的抗生素的效力的方法，其包括：共同施用所述抗生素与含有有效量的分离的溶素和/或溶素-抗微生物肽(AMP)多肽构建体的组合物，

其中所述分离的溶素包含以下中的至少一种：(i) GN121 (SEQ ID NO:175)、GN123 (SEQ ID NO:173)、GN217 (SEQ ID NO:8)、GN316变体(SEQ ID NO:24)、GN316 (SEQ ID NO:22)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN394 (SEQ ID NO:48)、GN396 (SEQ ID NO:50)、GN408 (SEQ ID NO:52)、GN418 (SEQ ID NO:54)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN485 (SEQ ID NO:68)、溶素PaP2_gp17 (SEQ ID NO:96)，或(ii)其活性片段，或(iii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:175、173、8、24、22、26、28、48、50、52、54、56、58、60、64、66、68或96中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽；

其中所述溶素-AMP多肽构建体包含：(a)包含以下多肽序列的第一组分：(i)选自以下的溶素：GN76 (SEQ ID NO:203)、GN4 (SEQ ID NO:74)、GN146 (SEQ ID NO:78)、GN14 (SEQ ID NO:124)、任选地具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)、任选地具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)、溶素Pap2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN329 (SEQ ID NO:26)、

GN424 (SEQ ID NO:56)、GN202 (SEQ ID NO:118)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN485 (SEQ ID NO:68)、GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175)；或(ii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:203、74、78、124、84、22、26、56、118、58、60、64、66、28、68、173或175中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽；或(iii)所述溶素的活性片段；和b)包含以下多肽序列的第二组分：(i)至少一种选自以下的抗微生物肽(AMP)：Chp1 (SEQ ID NO:133)、Chp2 (SEQ ID NO:70)、CPAR39 (SEQ ID NO:135)、Chp3 (SEQ ID NO:137)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Chp6 (SEQ ID NO:106)、Chp7 (SEQ ID NO:139)、Chp8 (SEQ ID NO:141)、Chp9 (SEQ ID NO:143)、Chp10 (SEQ ID NO:145)、Chp11 (SEQ ID NO:147)、Chp12 (SEQ ID NO:149)、Gkh1 (SEQ ID NO:151)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Unp1 (SEQ ID NO:153)、Ecp1 (SEQ ID NO:155)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Tma1 (SEQ ID NO:157)、Osp1 (SEQ ID NO:108)、Unp2 (SEQ ID NO:159)、Unp3 (SEQ ID NO:161)、Gkh3 (SEQ ID NO:163)、Unp5 (SEQ ID NO:165)、Unp6 (SEQ ID NO:167)、Spi1 (SEQ ID NO:169)、Spi2 (SEQ ID NO:171)、Ecp3 (SEQ ID NO:177)、Ecp4 (SEQ ID NO:179)、ALCES1 (SEQ ID NO:181)、AVQ206 (SEQ ID NO:183)、AVQ244 (SEQ ID NO:185)、CDL907 (SEQ ID NO:187)、AGT915 (SEQ ID NO:189)、HH3930 (SEQ ID NO:191)、Fen7875 (SEQ ID NO:193)、SBR77 (SEQ ID NO:195)、Bdp1 (SEQ ID NO:197)、LVP1 (SEQ ID NO:199)、Lvp2 (SEQ ID NO:201)、七叶内酯片段(SEQ ID NO:80)、RI12 (SEQ ID NO:88)、TI15 (SEQ ID NO:94)、RI18 (SEQ ID NO:92)、FIRL (SEQ ID NO:114)、LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)、RR12whydro (SEQ ID NO:110)、RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)和阳离子肽(SEQ ID NO:120)，或(ii)具有AMP活性的多肽，其中所述多肽与SEQ ID NO:133、70、135、137、102、106、139、141、143、145、147、149、151、90、153、155、104、157、108、159、161、163、165、167、169、171、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、80、88、94、92、114、76、110、131和120中的至少一个具有至少80%同一性，其中所述组合物包括至少一种选自以下的活性：在人血清不存在和/或存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下，抑制铜绿假单胞菌细菌生长，减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌，且其中在人血清存在或不存在或存在和不存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下，与单独施用所述抗生素或所述溶素或溶素-AMP多肽构建体相比，所述组合的施用更有效地抑制革兰氏阴性细菌的生长，或减少革兰氏阴性细菌的种群，或杀死革兰氏阴性细菌。

[0022] 在另一个方面，本公开涉及抑制革兰氏阴性细菌的至少一种物种的生长或减少革兰氏阴性细菌的至少一种物种的种群或杀死革兰氏阴性细菌的至少一种物种的方法，其中所述革兰氏阴性细菌的至少一种物种是铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的一种或多种额外物种，所述方法包括：使所述细菌与含有有效量的分离的溶素和/或溶素-抗微生物肽(AMP)多肽构建体的组合物接触，

其中所述分离的溶素包含以下中的至少一种：(i) GN121 (SEQ ID NO:175)、GN123 (SEQ ID NO:173)、GN217 (SEQ ID NO:8)、GN316变体(SEQ ID NO:24)、GN316 (SEQ ID NO:22)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN394 (SEQ ID NO:48)、GN396 (SEQ ID NO:50)、GN408 (SEQ ID NO:52)、GN418 (SEQ ID NO:54)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID

NO:66)、GN485 (SEQ ID NO:68)、溶素PaP2_gp17 (SEQ ID NO:96)，或(ii)其活性片段，或(iii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:175、173、8、24、22、26、28、48、50、52、54、56、58、60、64、66、68或96中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽；

其中所述溶素-AMP多肽构建体包含：(a)包含以下多肽序列的第一组分：(i)选自以下的溶素：GN76 (SEQ ID NO:203)、GN4 (SEQ ID NO:74)、GN146 (SEQ ID NO:78)、GN14 (SEQ ID NO:124)、任选地具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)、任选地具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)、溶素Pap2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN202 (SEQ ID NO:118)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN485 (SEQ ID NO:68)、GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175)；或(ii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:203、74、78、124、84、22、96、26、56、118、58、60、64、66、28、68、173或175中的至少一个的多肽序列具有至少80%序列同一性的多肽；或(iii)所述溶素的活性片段；和b)包含以下多肽序列的第二组分：(i)至少一种选自以下的抗微生物肽(AMP)：Chp1 (SEQ ID NO:133)、Chp2 (SEQ ID NO:70)、CPAR39 (SEQ ID NO:135)、Chp3 (SEQ ID NO:137)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Chp6 (SEQ ID NO:106)、Chp7 (SEQ ID NO:139)、Chp8 (SEQ ID NO:141)、Chp9 (SEQ ID NO:143)、Chp10 (SEQ ID NO:145)、Chp11 (SEQ ID NO:147)、Chp12 (SEQ ID NO:149)、Gkh1 (SEQ ID NO:151)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Unp1 (SEQ ID NO:153)、Ecp1 (SEQ ID NO:155)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Tma1 (SEQ ID NO:157)、Osp1 (SEQ ID NO:108)、Unp2 (SEQ ID NO:159)、Unp3 (SEQ ID NO:161)、Gkh3 (SEQ ID NO:163)、Unp5 (SEQ ID NO:165)、Unp6 (SEQ ID NO:167)、Spi1 (SEQ ID NO:169)、Spi2 (SEQ ID NO:171)、Ecp3 (SEQ ID NO:177)、Ecp4 (SEQ ID NO:179)、ALCES1 (SEQ ID NO:181)、AVQ206 (SEQ ID NO:183)、AVQ244 (SEQ ID NO:185)、CDL907 (SEQ ID NO:187)、AGT915 (SEQ ID NO:189)、HH3930 (SEQ ID NO:191)、Fen7875 (SEQ ID NO:193)、SBR77 (SEQ ID NO:195)、Bdp1 (SEQ ID NO:197)、LVP1 (SEQ ID NO:199)、Lvp2 (SEQ ID NO:201)、七叶内酯片段(SEQ ID NO:80)、RI12 (SEQ ID NO:88)、TI15 (SEQ ID NO:94)、RI18 (SEQ ID NO:92)、FIRL (SEQ ID NO:114)、LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)、RR12whydro (SEQ ID NO:110)、RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)和阳离子肽(SEQ ID NO:120)，或(ii)具有AMP活性的多肽，其中所述多肽与SEQ ID NO:133、70、135、137、102、106、139、141、143、145、147、149、151、90、153、155、104、157、108、159、161、163、165、167、169、171、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、80、88、94、92、114、76、110、131和120中的至少一个具有至少80%同一性，且其中所述组合物包括至少一种选自以下的活性：在人血清不存在和/或存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下，抑制铜绿假单胞菌细菌生长，减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌。

[0023] 附图简述

图1描绘由I-Tasser预测的衣原体噬菌体肽(Chp)家族成员Chp1、Chp 2、Chp4、Chp5、Chp6、Chp7、Ecp1、Ecp2和Osp1的结构的三维模型。包括人先天性免疫效应肽LL-37用于比较。α螺旋结构是明显的，并且顶部末端通常是N-末端。

[0024] 图2A是显示如实施例6中所述，在N-苯基-1-萘胺(NPN)和缓冲液、GN121或GN351存在的情况下铜绿假单胞菌随时间的百分比相对荧光单位(RFU)的图。

[0025] 图2B是显示如实施例6中所述，在NPN和缓冲液、GN428或GN370存在的情况下铜绿假单胞菌随时间的百分比RFU的图。

[0026] 图3是一系列显微照片，其显示用100%人血清中的GN121 (10 μg/mL)或缓冲液对照(“未处理”)处理15分钟的铜绿假单胞菌菌株1292的显微镜分析(2000倍放大)。将样品使用活/死细胞活力试剂盒(ThermoFisher)染色，并通过微分干涉反差(DIC)和荧光显微镜两者进行检查。显微照片显示，在未处理的行中不存在死细菌，且在经处理的行中的活细菌减少，如实施例7中所述。

[0027] 图4A-4E显示如实施例9中所述，在21天连续传代中达到铜绿假单胞菌(菌株WC-452)的最小抑制浓度(MIC)所需的GN溶素和环丙沙星的倍数变化：GN121 (图4A)、GN351 (图4B)、GN370 (图4C)、GN428 (图4D)和环丙沙星(图4E)。

[0028] 详述

定义

除非上下文另外明确指明，否则本文使用的以下术语及其同源词应具有以下含义：

“载体”是指与活性化合物一起施用的溶剂、添加剂、赋形剂、分散介质、增溶剂、包衣剂、防腐剂、等渗和吸收延迟剂、表面活性剂、推进剂、稀释剂、媒介物等。此类载体可以是无菌液体，诸如水、盐水溶液、右旋糖水溶液、甘油水溶液和油类，包括石油、动物、植物或合成来源的那些，诸如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。

[0029] “药学上可接受的载体”是指生理上相容的任何和所有溶剂、添加剂、赋形剂、分散介质、增溶剂、包衣剂、防腐剂、等渗和吸收延迟剂、表面活性剂、推进剂、稀释剂、媒介物等。载体必须是在通常用于药物中的量下不对待治疗的受试者有害的意义上是“可接受的”。药学上可接受的载体与组合物的其他成分相容，而不使组合物不适合于其预期目的。此外，药学上可接受的载体适用于本文所提供的受试者，而没有不适当的不良副作用(诸如毒性、刺激和过敏反应)。当其风险超过组合物所提供的益处时，副作用是“不适当的”。药学上可接受的载体或赋形剂的非限制性实例包括任何标准药物载体，诸如磷酸盐缓冲盐水溶液、水和乳剂、诸如油/水乳剂和微乳剂。合适的药物载体描述于例如E.W. Martin的Remington’s Pharmaceutical Sciences，第18版。所述药学上可接受的载体可以是自然界中不存在的载体。

[0030] “杀细菌的”或“杀细菌活性”是指在18-24小时时段内在初始细菌种群中至少减少3-log10 (99.9%)或更好的减少的程度上具有细菌死亡或能够杀死细菌的特性。

[0031] “抑细菌的”或“抑细菌活性”是指抑制细菌生长(包括抑制细菌细胞的生长)，因此在18-24小时时间段内在初始细菌种群中引起2-log10 (99%)或更好且最多达仅略低于3-log减少的特性。

[0032] “抗细菌剂”是指抑细菌剂和杀细菌剂两者。

[0033] “抗生素”是指具有对细菌具有负面影响的特性(诸如致死性或生长减少)的化合物。抗生素可以对革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌或两者具有负面影响。通过实例的方式，抗生素可以影响细菌中的细胞壁肽聚糖生物合成、细胞膜完整性或DNA或蛋白合成。针对革兰氏阴性细菌有活性的抗生素的非限制性实例包括头孢菌素类，诸如头孢曲松-头孢噻肟、头孢他啶、头孢吡肟、头孢哌酮和头孢吡普；氟喹诺酮类，诸如环丙沙星和左氧氟沙星；氨基糖苷类，诸如庆大霉素、妥布霉素和阿米卡星；哌拉西林、替卡西林、亚胺培南、美罗

培南、多利培南、有或没有β-内酰胺酶抑制剂的广谱青霉素、利福平、多粘菌素B和粘菌素。

[0034] “药物抗性的”通常是指对药物的抗细菌活性具有抗性的细菌。当以某些方式使用时，药物抗性可以具体地是指抗生素抗性。在一些情况下，通常对特定抗生素敏感的细菌可对抗生素发展抗性，由此成为药物抗性的微生物或菌株。“多药抗性的”（“MDR”）病原体是已经对各自用作单一疗法的至少两类抗微生物药物发展抗性的病原体。例如，已经发现金黄色葡萄球菌的某些菌株对几种抗生素（包括甲氧西林和/或万古霉素）具有抗性（Antibiotic Resistant Threats in the United States, 2013, U.S. Department of Health and Services, Centers for Disease Control and Prevention）。本领域技术人员可使用确定细菌对药物或抗生素的敏感性或抗性的常规实验室技术，容易地确定细菌是否是药物抗性的。

[0035] “有效量”是指当以适当的频率或给药方案应用或施用时足以预防、减少、抑制或消除细菌生长或细菌负荷或预防、减少或改善被治疗的病症（例如，革兰氏阴性细菌病原体生长或感染）的发作、严重程度、持续时间或进展，预防所治疗的病症的发展，引起所治疗的病症的消退、或者增强或改善另外的疗法（诸如抗生素或抑细菌疗法）的预防或治疗效果的量。

[0036] “共同施用”是指以依次的方式施用两种药剂、诸如溶素或溶素-AMP多肽和抗生素或任何其他抗细菌剂，以及以基本上同时的方式施用这些药剂，诸如在单一混合物/组合物中或以分开给予的剂量，但仍基本上同时施用于受试者，例如在同一天或24小时时段中的不同时间。两种药剂、诸如溶素或溶素-AMP多肽与一种或多种额外的抗细菌剂的这种共同施用可作为持续最多达数天、数周或数月的持续治疗而提供。另外，取决于用途，共同施用不需要是连续的或共同延伸的（coextensive）。例如，如果用途是作为局部抗细菌剂以治疗例如细菌性溃疡或感染的糖尿病性溃疡，则可以仅在额外抗生素的24小时内开始施用溶素或溶素-AMP多肽，且然后额外抗生素使用可以继续而不进一步施用溶素或溶素-AMP多肽。

[0037] “受试者”是指哺乳动物、植物、低等动物、单细胞生物或细胞培养物。例如，术语“受试者”意欲包括易感或患有细菌感染、例如革兰氏阳性或革兰氏阴性细菌感染的生物体，例如原核生物和真核生物。受试者的实例包括哺乳动物，例如人、狗、牛、马、猪、绵羊、山羊、猫、小鼠、兔、大鼠和转基因非人动物。在某些实施方案中，受试者是人，例如患有革兰氏阴性细菌感染、处于患有革兰氏阴性细菌的风险中、或易于被革兰氏阴性细菌感染的人，无论这种感染是全身性的、局部的还是以其他方式集中或局限于特定的器官或组织。

[0038] “多肽”在本文中与术语“肽”或“蛋白”可互换使用，并且是指由氨基酸残基构成且通常具有至少约30个氨基酸残基的聚合物。该术语不仅包括分离形式的多肽，而且还包括其活性片段和衍生物。术语“多肽”还涵盖包含如本文所述的溶素或AMP并维持例如裂解功能的融合蛋白或融合多肽。取决于背景，多肽可以是天然存在的多肽或者重组、工程改造或合成产生的多肽。特定的溶素多肽例如可以例如通过酶促或化学切割从天然蛋白衍生或移取，或者可以使用常规肽合成技术（例如固相合成）或分子生物学技术（诸如Sambrook, J.等人, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)中公开的那些）制备，或者可策略性地将其截短或分段，产生维持例如针对相同或至少一种常见靶标细菌的裂解活性的活性片段。

[0039] “融合多肽”是指由两个或更多个核酸区段的融合产生的表达产物，导致通常具有

两个或更多个通常具有不同特性或功能的结构域或区段的融合表达产物。在更具体的意义上，术语“融合多肽”还可以指包含直接或经由氨基酸或肽接头共价连接的两个或更多个异源多肽或肽的多肽或肽。形成融合多肽的多肽通常被C-末端至N-末端连接，尽管它们也可以被C-末端至C-末端、N-末端至N-末端或N-末端至C-末端连接。术语“融合多肽”与术语“融合蛋白”可互换使用。开放式表述“包含”某种结构的“多肽”包括比所记载的结构、诸如融合多肽更大的分子。

[0040] “异源的”是指非天然连续的核苷酸、肽或多肽序列。例如，在本公开的上下文中，术语“异源的”可以用于描述两个或更多个肽和/或多肽的组合或融合，其中该融合肽或多肽通常在自然界中未发现，诸如例如溶素或其活性片段和抗微生物肽，包括阳离子和/或聚阳离子肽、两亲性肽、寿司肽(sushi peptide)(Ding等人，Cell Mol Life Sci.，65(7-8)：1202-19(2008))、防卫素肽(Ganz，T. Nature Reviews Immunology 3，710-720(2003))、疏水性肽，其可具有增强的裂解活性。

[0041] “活性片段”是指多肽的一部分，其保留从其中获取片段的分离多肽的一种或多种功能或生物活性，例如针对一种或多种革兰氏阴性细菌的杀细菌活性。

[0042] “两亲性肽”是指具有亲水和疏水性官能团两者的肽。在某些实施方案中，二级结构可以将疏水和亲水性氨基酸残基置于两亲性肽的对侧(例如，当所述肽在溶剂、诸如水中时，内侧相对于外侧)。在某些实施方案中，这些肽可以采用螺旋二级结构，诸如α-螺旋二级结构。

[0043] “阳离子肽”是指具有高百分比的带正电荷的氨基酸残基的肽。在某些实施方案中，阳离子肽具有8.0或更高的pKa-值。在本公开的上下文中，术语“阳离子肽”还涵盖聚阳离子肽，其为由主要带正电荷的氨基酸残基(诸如赖氨酸(Lys)和/或精氨酸(Arg)残基)构成的合成产生的肽。不带正电荷的氨基酸残基可以是带中性电荷的氨基酸残基、带负电荷的氨基酸残基和/或疏水性氨基酸残基。

[0044] “疏水性基团”是指对水分子具有低亲和力或不具有亲和力、但对油分子具有更高亲和力的化学基团，诸如氨基酸侧链。疏水性物质倾向于在水或水相中具有低溶解度或不具有溶解度，并且通常是非极性的，但倾向于在油相中具有更高的溶解度。疏水性氨基酸的实例包括甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)、脯氨酸(Pro)、苯丙氨酸(Phe)、甲硫氨酸(Met)和色氨酸(Trp)。

[0045] “加强”是指药剂的活性、诸如抗微生物活性的程度高于除此以外的情况。“加强”涵盖加性以及协同(超加性)作用。

[0046] “协同”或“超加性”是指由两种物质组合产生的有益作用，其超过两种药剂独立起作用的作用的总和。在某些实施方案中，协同或超加性作用显著、即统计学显著超过两种药剂独立起作用的作用的总和。一种活性成分或活性成分两者可以在亚阈值水平(即，如果活性物质单独使用则不产生或产生非常有限的效果的水平)下使用。可通过测定、诸如此处所述的棋盘测定来测量效果。

[0047] “治疗”是指任何过程、作用、应用、疗法等，其中使受试者(诸如人类)经受医疗救助，目的是直接或间接地治愈病症、根除病原体、或改善受试者的状况。治疗还指降低发病率、减轻症状、消除复发、预防复发、预防发病、降低发病的风险、改善症状、改善预后或其组合。“治疗”可以进一步涵盖减少受试者中细菌的种群、生长速率或毒力，且由此控制或减少

受试者中的细菌感染或者器官、组织或环境的细菌污染。因此，降低发病率的“治疗”可以例如有效抑制至少一种革兰氏阴性细菌在特定环境(无论它是受试者还是环境)中的生长。另一方面，已经确定的感染的“治疗”是指抑制造成感染或污染的革兰氏阴性细菌的生长，减少造成感染或污染的革兰氏阴性细菌的种群，杀死造成感染或污染的革兰氏阴性细菌，包括根除造成感染或污染的革兰氏阴性细菌。

[0048] 术语“预防”是指预防病症、诸如细菌感染的发生、复发、扩散、发作或确立。无意于将本公开限制为感染的完全预防或感染的确立的预防。在一些实施方案中，发作被延迟，或者随后感染的疾病的严重程度或感染疾病的机会被降低，并且这样构成了预防的实例。

[0049] “感染的疾病”是指表现出临床或亚临床症状的疾病，诸如发烧、败血症或菌血症的检测，以及当尚未表现出与这种病理学相关的症状时，可以通过细菌病原体(例如培养物中)的生长检测的疾病。

[0050] 肽或多肽或其活性片段的上下文中的术语“衍生物”意欲涵盖例如经修饰以含有除氨基酸以外的基本上不会不利地影响或破坏多肽的活性(例如，裂解活性)的一个或多个化学部分的多肽。化学部分可以与肽共价连接，例如经由氨基末端氨基酸残基、羧基末端氨基酸残基，或在内部氨基酸残基处。此类修饰可以是天然或非天然的。在某些实施方案中，非天然修饰可以包括在反应性部分上添加保护或加帽基团、添加可检测标记物、诸如抗体和/或荧光标记物、添加或改变糖基化、或添加大体积基团(bulking group)、诸如PEG(聚乙二醇化)和本领域技术人员已知的其他变化。在某些实施方案中，非天然修饰可以是加帽修饰，诸如N-末端乙酰化和C-末端酰胺化。可以添加至溶素多肽或AMP的示例性保护基团包括但不限于t-Boc和Fmoc。常用的荧光标记物蛋白诸如但不限于绿色荧光蛋白(GFP)、红色荧光蛋白(RFP)、青色荧光蛋白(CFP)、黄色荧光蛋白(YFP)和mCherry，是可以共价或非共价结合至多肽或融合至多肽而不干扰细胞蛋白的正常功能的紧凑蛋白。在某些实施方案中，编码荧光蛋白的多核苷酸可以被插入溶素或AMP多核苷酸序列的上游或下游。这将产生不干扰与其附接的多肽的细胞功能或功能的融合蛋白(例如，溶素多肽:: GFP)。聚乙二醇(PEG)与蛋白的缀合已被用作延长许多药物蛋白的循环半衰期的方法。因此，在多肽衍生物、诸如溶素多肽衍生物的上下文中，术语“衍生物”涵盖通过共价附接一个或多个PEG分子而化学修饰的多肽、诸如溶素多肽。预期溶素多肽、诸如聚乙二醇化溶素与未聚乙二醇化多肽相比将表现出延长的循环半衰期，同时保留生物学和治疗活性。

[0051] “百分比氨基酸序列同一性”是指在比对序列和(如果必要的话)引入缺口以获得最大百分比序列同一性，并且不考虑任何保守取代作为序列同一性的一部分后，候选序列中与参考多肽序列、诸如溶素多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于确定百分比氨基酸序列同一性的目的的比对可以以本领域技术范围内的各种方式实现，例如，使用可公开获得的软件、诸如BLAST或可例如自DNASTAR商业获得的软件。两个或更多个多肽序列可以是0-100%同一性的任何一处，或其之间的任何整数值。在本公开的上下文中，当至少80%的氨基酸残基(诸如至少约85%、至少约90%、至少约92.5%、至少约95%、至少约98%或至少约99%)相同时，两个多肽是“基本上相同的”。如本文所述的术语“百分比(%)氨基酸序列同一性”也适用于肽。因此，术语“基本上相同的”将涵盖本文所述的分离的溶素多肽和肽和AMP的突变、截短、融合或在其他方面的序列修饰的变体及其活性片段，以及相比于参考(野生型或其他完整)多肽具有基本上的序列同一性(例如至少80%、至少85%、至少90%、至

少92.5%、至少95%同、至少98%或至少99%同一性，如通过例如上文提到的一种或多种方法所测量)的多肽。

[0052] 如本文所用，当至少约80%的氨基酸残基(诸如至少约85%、至少约90%、至少约92.5%、至少约95%、至少约98%或至少约99%)相同或代表保守取代时，两个氨基酸序列是“基本上同源的”。当多肽、诸如本文所述的溶素、AMP和/或融合多肽的一个或多个、诸如最多达10%、最多达15%或最多达20%的氨基酸被相似或保守的氨基酸取代进行取代时，并且其中所得肽具有参考多肽、诸如本文所述的溶素、AMP和/或融合多肽的至少一种活性(例如，抗细菌作用)和/或细菌特异性，本公开的多肽的序列是基本上同源的。

[0053] 如本文所用，“保守氨基酸取代”是其中氨基酸残基被具有带有相似电荷的侧链的氨基酸残基替代的取代。具有带有相似电荷的侧链的氨基酸残基的家族已经在本领域中定义。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如，赖氨酸、精氨酸、组氨酸)，具有酸性侧链的氨基酸(例如，天冬氨酸、谷氨酸)，具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如，甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)，具有非极性侧链的氨基酸(例如，丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)，具有β-支链侧链的氨基酸(例如，苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和具有芳族侧链的氨基酸(例如，酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。

[0054] “可吸入组合物”是指被配制用于在常规或辅助呼吸期间或与常规或辅助呼吸相结合而直接递送至呼吸道(例如通过气管内支气管、肺、和/或鼻腔施用)的本公开的药物组合物，包括但不限于雾化、喷洒、干粉和/或气雾化制剂。

[0055] “生物膜”是指附着至表面并聚集在水合聚合物基质中的细菌，该基质可以由细菌和/或宿主来源的组分构成。生物膜为微生物的聚集体，其中细胞在生物或非生物表面上彼此粘附。这些粘附细胞通常被嵌入包含(但不限于)胞外聚合物质(EPS)的基质内。生物膜EPS也称为粘液(尽管并非所有描述为粘液的东西均为生物膜)或菌斑，为一种通常由胞外DNA、蛋白和多糖构成的聚合物团聚物。

[0056] “预防生物膜形成”是指预防生物膜的发生、复发、扩散、开始或建立。并不意欲将本公开限于完全预防或防止生物膜的建立。在一些实施方案中，延迟生物膜的开始，或减少生物膜的建立被或减少新生物膜的形成的机会，并且这构成预防生物膜的实例。进一步，生物膜的预防可能是由于任何机制，包括：1)有效地杀死浮游细菌；2)杀死悬浮液中的“持久(persister)”细菌细胞，即在代谢上无活性、对抗生素耐受并且与生物膜形成高度相关的细菌；和/或3)预防“聚集”，即细菌经由蛋白或多糖彼此附着的能力。

[0057] 关于生物膜的“根除”包括1)有效地杀死生物膜中的细菌，包括生物膜中的持久细菌细胞，和，任选地2)有效地破坏和/或损坏生物膜基质。

[0058] 关于生物膜的“破坏”是指落在预防和根除之间的机制。被破坏的生物膜可以被“打开”，或以其他方式被损坏，因此允许例如抗生素更容易渗透生物膜并杀死细菌。

[0059] 在适合于针对某些细菌的抗生素使用的上下文中，“适合”是指被发现针对那些细菌有效的抗生素，即使随后发展出抗性。

[0060] “外膜”或“OM”是指革兰氏阴性细菌的特征。外膜由脂质双层构成，所述脂质双层具有内部的磷脂小叶和外部的主要由脂多糖(LPS)组成的两亲小叶。LPS具有三个主要部分：称为脂质A的六酰化的基于葡萄糖胺的磷脂，多糖核和称为O-抗原的延伸的外部多糖

链。所述OM呈现通过三种主要相互作用稳定的非流体连续体，所述三种主要相互作用包括：i) LPS分子与彼此的亲合(avid)结合，特别是如果存在阳离子以中和磷酸酯基团；ii)大大饱和的酰基链的紧密堆积；iii)脂质A部分的疏水堆叠。所得结构是疏水和亲水分子两者的屏障。在OM下，肽聚糖形成薄层，其对水解裂解非常敏感 - 不同于革兰氏阴性细菌的肽聚糖，其厚30-100纳米(nm)，且由最多达40层组成，革兰氏阴性细菌的肽聚糖仅为2-3 nm厚，且仅由1-3层组成。

[0061] 多肽

溶素、变体溶素、其活性片段或衍生物

本公开涉及分离的多肽，其包含溶素、变体溶素、其活性片段或衍生物。在一些实施方案中，将包含溶素、变体溶素、其活性片段或衍生物的分离的多肽与抗微生物肽(“AMP”)组合以形成溶素-AMP多肽构建体，其中所述溶素-AMP多肽构建体具有溶素活性。如本文所用，“溶素活性”涵盖溶素杀死细菌(例如，铜绿假单胞菌)、减少细菌的种群或抑制细菌生长(例如，通过渗透革兰氏阴性细菌的外膜)(任选地在人血清或肺表面活性剂存在的情况下)的能力。溶素活性还涵盖除去或减少生物膜的能力和/或减少抗生素的最小抑制浓度(MIC)(任选地在人血清或肺表面活性剂存在的情况下)的能力。

[0062] 在一些实施方案中，本发明的包含溶素、变体溶素、其活性片段或其衍生物的分离的多肽能够穿透革兰氏阴性细菌的外膜。不受理论的限制，在穿透外膜之后，本发明的包含溶素、变体溶素、其活性片段或其衍生物的分离的多肽可以降解肽聚糖，细菌细胞壁的主要结构组分，导致例如细胞裂解或抑制细菌生长的非致命性损伤。在一些实施方案中，本发明的包含本文公开的溶素、变体溶素、其活性片段或衍生物的分离的多肽含有带正电荷的(和两亲性的)N-和/或C-末端α-螺旋结构域，其促进与革兰氏阴性细菌的阴离子外膜的结合，以实现向次相邻肽聚糖的易位。

[0063] 可以通过本领域中已知的任何方法，诸如WO 2017/049233(其通过引用以其整体并入本文)中描述，来评价溶素穿透革兰氏阴性细菌的外膜的能力。例如，可以将所述溶素与革兰氏阴性细菌和疏水性化合物一起孵育。由于存在外膜，大多数革兰氏阴性细菌对疏水性化合物强烈抵抗，且因此不允许摄取疏水剂、诸如1-N-苯基萘胺(NPN)、结晶紫或8-苯胺基-1-萘磺酸(ANS)。NPN，例如，在疏水条件下强烈发荧光，且在水性条件下微弱发荧光。因此，NPN荧光可以用作外膜渗透性的测量值。

[0064] 更具体地，可以通过在待测试活性的溶素存在的情况下，将例如NPN与革兰氏阴性细菌、例如铜绿假单胞菌菌株PAO1一起孵育来评价溶素穿透外壁的能力。与在溶素不存在的情况下(阴性对照)发出的荧光相比，较高的荧光诱导表明外膜渗透。此外，可以将荧光诱导与建立的透化剂、诸如EDTA(乙二胺四乙酸酯)或抗生素、诸如用于治疗铜绿假单胞菌的最后使用的抗生素、即多粘菌素B(PMB))进行比较，以评价外膜渗透性的水平。

[0065] 在一些实施方案中，本发明的包含溶素、变体溶素、其活性片段或衍生物的分离的多肽在人血清存在和/或不存在的情况下表现出溶素活性。用于评价人血清中的溶素的活性的合适方法是本领域中已知的，并且描述于实施例中。简而言之，可以测定溶素的MIC值(即，与对照相比足以抑制至少80%的细菌生长的肽的最小浓度)，并且与例如亲本溶素或人血清中无活性的化合物、例如T4噬菌体溶菌酶或artilysin GN126进行比较。T4噬菌体溶菌酶是商业可得的，例如来自Sigma-Aldrich, Inc。GN126对应于Art-175，其描述于文献中，

并通过将AMP SMAP-29与GN溶素KZ144融合而获得。参见Briers等人2014, *Antimicrob, Agents Chemother*. 58:3774-3784,其通过引用以其整体并入本文。

[0066] 更具体地,可以针对例如实验室铜绿假单胞菌菌株PAO1,在例如Mueller-Hinton培养液,补充有人血清的Mueller-Hinton培养液、如本文所述的CAA (其包括生理盐浓度)和补充有人血清的CAA中,测定溶素的MIC值。PAO1的使用使得能够在升高血清浓度存在的情况下进行测试,因为不同于大多数临床分离株,PAO1对人血液基质的抗细菌活性不敏感。

[0067] 在一些实施方案中,本发明的包含溶素、变体溶素、其活性片段或衍生物的分离的多肽能够减少生物膜。用于评价溶素或AMP的最小生物膜根除浓度(MBEC)的方法可以使用具有修改的培养液微量稀释MIC方法的变式来测定(参见Ceri等人 1999. *J. Clin Microbial*. 37:1771-1776,其通过引用以其整体并入本文,和Schuch等人, 2017, *Antimicrob. Agents Chemother*. 61,第1-18页,其通过引用以其整体并入本文)。在该方法中,将例如铜绿假单胞菌菌株、诸如ATCC 17647的新鲜菌落悬浮于培养基、例如以例如1:100在TSBg (补充有0.2%葡萄糖的胰蛋白酶大豆培养液)中稀释的磷酸盐缓冲溶液(PBS)中,作为例如0.15 ml等分试样添加至Calgary生物膜装置(具有携带96个聚碳酸酯塞的盖的96孔板;lnnovotech Inc.)中,并在37℃下孵育例如24小时。然后洗涤生物膜,并用例如溶素在TSBg中的2倍稀释系列在例如37℃下处理24小时。处理后,将孔洗涤,在例如37℃下风干,并用例如0.05%结晶紫染色10分钟。染色后,将生物膜在例如33%乙酸中脱色,并测定例如提取的结晶紫的OD600。每份样品的MBEC是通过结晶紫定量评价的除去>95%的生物膜生物量所需的最小溶素浓度。

[0068] 在一些实施方案中,本发明的包含溶素、变体溶素、其活性片段或衍生物的分离的多肽降低抗生素在人血清存在和/或不存在或在肺表面活性剂存在的情况下抑制细菌所需的最小抑制浓度(MIC)。可以使用任何已知的评价MIC的方法。在一些实施方案中,棋盘测定法用于测定溶素对抗生素浓度的作用。棋盘测定法基于通过培养液微量稀释测定MIC的CLSI方法的修改(参见临床和实验室标准协会(CLSI), CLSI. 2015. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-第10版. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 其通过引用以其整体并入本文,以及Ceri等人1999. *J. Clin. Microbiol*. 37: 1771-1776,其也通过引用以其整体并入本文)。

[0069] 通过首先准备例如96-孔聚丙烯微量滴定板的列来构建棋盘,其中每个孔具有相同量的沿水平轴稀释2倍的抗生素。在分开的板中,准备可比较的行,其中每个孔具有相同量的沿垂直轴稀释例如2倍的溶素。然后将溶素和抗生素稀释液合并,使得每列具有恒定量的抗生素和溶素的两倍稀释液,而每行具有恒定量的溶素和抗生素的两倍稀释液。因此,每个孔具有溶素和抗生素的独特组合。将细菌以CAA中1 x 10^5 CFU/ml的浓度,例如在有或没有人血清或肺表面活性剂(诸如Survanta®)的情况下添加至药物组合中。然后,例如在37℃在环境空气中16小时后,记录单独和组合的每种药物的MIC。计算每种药物的分数抑制浓度总和(ΣFICs),并使用最小ΣFIC值(ΣFICmin)来测定溶素/抗生素组合的作用。

[0070] 在一些实施方案中,本发明的溶素和溶素-AMP多肽构建体能够与抗生素、诸如亚胺培南和美罗培南协同作用,并且驱动革兰氏阴性细菌(包括MDR生物体,诸如碳青霉烯抗性的铜绿假单胞菌)的重新敏化。可以通过在如本文所述的棋盘测定中,将本发明的溶素或

溶素-AMP多肽构建体与抗生素组合来确定这种重新敏化。将抗生素抗性的细菌、诸如碳青霉烯抗性的铜绿假单胞菌，添加至溶素或溶素-AMP多肽构建体组合中。通常，重新敏化在协同组合中发生，其中抗生素MIC值降至低于确立的断点，例如，对于抗生素敏感的细菌的≤2的MIC值，对于中度敏感的细菌的4的MIC值，和对于抗生素抗性细菌(例如碳青霉烯抗性的分离株)的≥8的MIC值。参见Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), CLSI. 2019. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 29th Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA,通过引用以其整体并入本文。

[0071] 在一些实施方案中，本发明的包含溶素、变体溶素、其活性片段或衍生物的分离的多肽显示针对红细胞的低毒性。可以使用本领域中已知的任何方法来评价本发明的包含溶素、变体溶素、其活性片段或衍生物的分离的多肽的溶血活性的潜力。

[0072] 本公开的合适的溶素的实例，特别是与本文所述的溶素-AMP多肽构建体一起使用，包括获得自克雷伯氏菌噬菌体0507-KN2-1的GN316溶素(NCBI参考序列：YP_008531963.1, SEQ ID NO:22)，获得自假单胞菌噬菌体的溶素PaP2_gp17(NCBI参考序列：YP_024745.1, SEQ ID NO:96)，获得自代尔夫特菌属物种的GN333 (NCBI参考序列：WP_016064791.1, SEQ ID NO:28)，获得自假多噬伯克霍尔德氏菌的GN424 (NCBI参考序列：WP_060250996.1, SEQ ID NO:56)，获得自柔韧假单胞菌的GN425溶素(NCBI参考序列：WP_039605935.1, SEQ ID NO:58)，获得自埃希氏杆菌属病毒CBA120的GN428 (NCBI参考序列：YP_004957781.1, SEQ ID NO:60)，获得自*Dickeya*噬菌体phiD3的GN431 (NCBI参考序列：AIM51349.1, SEQ ID NO:64)，获得自欧文氏菌属物种Leaf5的GN485 (NCBI参考序列：WP_056233282.1, SEQ ID NO:68)和获得自假单胞菌噬菌体PhiPA3的GN123 (NCBI参考序列：YP_009217242.1, SEQ ID NO:173)。

[0073] 通过生物信息学技术鉴定了上述溶素。尽管鉴定的序列中的一些已被注释为推定的肽聚糖结合蛋白，但先前没有功能被确定地归因于具有这些序列的多肽。发明人已经令人惊讶地认识到，上面鉴定的序列适合用作抗细菌剂，特别是针对如实施例中所述的革兰氏阴性细菌的抗细菌剂。

[0074] 本公开的合适的溶素的额外实例，特别是与本发明的溶素-AMP多肽构建体一起使用的那些溶素，包括获得自不动杆菌噬菌体vB_AbaP_CEB1的NC76溶素(NCBI参考序列ALC76575.1, SEQ ID NO:203 GenBank: ALC76575.1)，获得自假单胞菌噬菌体PAJU2的GN4溶素(NCBI参考序列YP 002284361.1, SEQ ID NO:74)，获得自假单胞菌噬菌体Lull的GN14溶素(NCBI参考序列YP 006382555.1, SEQ ID NO:124)和获得自*Micavibrio aeruginosavorus* 的GN37溶素(NCBI参考序列WP _014102102.1, SEQ ID NO:84)。前述溶素各自还公开于WO 2017/049233,其通过引用以其整体并入本文。

[0075] 在一些实施方案中，本发明的分离的多肽包含溶素变体，例如与参考溶素多肽例如天然存在的溶素或亲本溶素(其本身是变体溶素)相比，含有一个或多个插入、缺失和/或氨基酸取代的溶素。在一些实施方案中，包含变体溶素、其活性片段或衍生物的分离的多肽序列与本文所述的参考溶素和/或其活性片段具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性。

[0076] 本公开的溶素变体通常保留参考溶素的一种或多种功能或生物学活性。在一些实

施方案中,所述修饰提高溶素的抗细菌活性。通常,与参考溶素相比,所述溶素变体具有提高的体外抗细菌活性(例如,在缓冲液和/或培养基中)。在其他实施方案中,所述溶素变体具有提高的体内抗细菌活性(例如,在动物感染模型中)。在一些实施方案中,所述修饰提高所述溶素在人血清不存在和/或存在的情况下的抗细菌活性。在一些实施方案中,所述修饰提高所述溶素在肺表面活性剂存在的情况下的抗细菌活性。

[0077] 合适的变体溶素,特别是用于本发明的溶素-AMP多肽构建体中的那些,包括GN146溶素(SEQ ID NO:78)、GN156溶素(SEQ ID NO:126)、GN202溶素(SEQ ID NO:118)和GN121溶素(SEQ ID NO:175)。前述溶素各自也公开于2017年12月12日提交的美国临时申请号62,597,577和2018年8月23日提交的美国临时申请号62/721,969,其通过引用以其整体并入本文。通常,将美国临时申请号62/721,969中描述的溶素参考其天然存在的对应物进行修饰,以增强所述溶素在血清中的活性,例如,通过引入氨基酸取代和/或引入来自较大抗微生物肽的氨基酸片段。例如,将Daniels和Scepartz, 2007, *J. Am. Chem. Soc*. 129:14578-14579 (其通过引用以其整体并入本文)描述的氨基酸序列GPRRPRRPGRRAPV(SEQ ID NO:126的残基1-14)引入到例如GN4(SEQ ID NO:74)的N末端,以生成GN156 (SEQ ID NO:126),非天然存在的溶素-AMP多肽构建体。

[0078] 在一些实施方案中,所述变体溶素通过如下获得:通过例如将单个提高pI的突变(诸如单个点突变)并入参考溶素来修饰参考溶素以包括导致溶素的总体等电点(pI)(即具有净中性电荷的pH)的改变的修饰。合适的参考溶素多肽包括选自以下的溶素:GN76 (SEQ ID NO:203)、GN4 (SEQ ID NO:74)、GN146 (SEQ ID NO:78)、GN14 (SEQ ID NO:124)、GN37 (SEQ ID NO:84) GN316 (SEQ ID NO:22) 溶素Pap2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN202 (SEQ ID NO:118)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN333 (SEQ ID NO:28) GN485 (SEQ ID NO:68) GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175)。在某些实施方案中,所述溶素变体与具有选自SEQ ID NO:203、74、78、124、84、22、96、26、56、118、58、60、64、66、28、68、173和175的氨基酸序列的参考溶素多肽具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性。

[0079] 例如,可以通过引入氨基酸取代R79H来修饰GN37溶素(SEQ ID NO:84)以提高pI,以生成GN217溶素(SEQ ID NO:8)。在该实施方案中,在人血清存在和不存在的情况下,与参考溶素GN37(SEQ ID NO:84)的功效相比,GN217溶素(SEQ ID NO:8)的功效均增加,如实施例中所述。

[0080] 合适的改变pI突变的其他实例包括将氨基酸取代、诸如K218D、K228D、R85H和/或K22D引入参考溶素、诸如GN316(SEQ ID NO:22),以分别生成例如GN394溶素(SEQ ID NO:48)、GN396溶素(SEQ ID NO:50)、GN408溶素(SEQ ID NO:52)和GN418溶素(SEQ ID NO:54)。在一些实施方案中,前述改变pI的突变提高所述溶素在人血清不存在和/或存在的情况下的抗细菌活性,如本文中所例示。

[0081] 在一些实施方案中,通常设计本公开的溶素变体以保留α-螺旋结构域,所述α-螺旋结构域的存在或不存在可以使用各种软件程序、诸如Jpred4 (compio.dundee.ac.uk/jpred)、Helical Wheel (hael.net/helical.htm)、HeliQuest (zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/)和PEP-FOLD 3 (bioserv.rpbs.univ-paris-

diderot.fr/services/PEP-FOLD3)容易地确定。

[0082] 在一些实施方案中,所述α-螺旋结构域位于溶素的C末端。在其他实施方案中,α-螺旋结构域位于溶素的N-末端。更通常,α-螺旋结构域位于C末端。本公开的溶素的α-螺旋结构域的大小在约20和40个氨基酸残基之间,更通常在约15和33个氨基酸残基之间变化。例如,位于N末端的GN14 α-螺旋结构域含有15个氨基酸(SEQ ID NO:124的残基66至80)。位于C末端的GN37 α-螺旋结构域含有14个氨基酸(SEQ ID NO:84的残基113至126)。也位于C末端的GN4 α-螺旋结构域含有25个氨基酸(SEQ ID NO:74的残基116至140)。

[0083] 在一些实施方案中,本文公开的变体溶素、其活性片段或其衍生物被修饰以包括纯化标签,例如,GSHHHHHHG (SEQ ID NO:100)。所述纯化标签可以插入溶素内的任何位置,通常在第一和第二氨基酸之间。例如,所述纯化标签可以插入GN316溶素(SEQ ID NO:22)的N末端的第一甲硫氨酸和第一丙氨酸之间,以获得变体GN316溶素(SEQ ID NO:24),而没有不利地影响活性。在其他实施方案中,所述纯化标签可以插入GN156溶素(SEQ ID NO:126)的N末端的第一甲硫氨酸和第一甘氨酸之间,以获得变体GN486 (SEQ ID NO:66)。

[0084] 溶素变体可以通过本领域中已知的和如WO WO 2017/049233(其通过引用以其整体并入本文)中所述的任何方法形成,例如,通过经由定点诱变或经由在产生保留如本文所述的一种或多种生物学功能的本发明的溶素的宿主中的突变,修饰本文所述的溶素、其活性片段和衍生物中的任一种。本发明的溶素变体可以是截短的,嵌合的,改组的或“天然的”,并且可以组合,如例如在美国专利号5,604,109(其通过引用以其整体并入本文)中所述。

[0085] 例如,本领域技术人员可以合理地进行和测试对例如α-螺旋结构域或α-螺旋结构域之外的区域的取代或替换。可以用例如如本文所述的完整氨基酸序列进行与Genbank数据库的序列比较,例如以鉴定用于取代的氨基酸。

[0086] 可以在氨基酸序列中或在编码多肽和溶素、活性片段或衍生物的核酸序列中进行突变,使得特定密码子被改变为编码不同氨基酸的密码子,即氨基酸取代为另一氨基酸,或缺失一个或多个氨基酸。

[0087] 这种突变通常通过进行尽可能最少的核苷酸改变来实现。可以进行这种取代突变,以便以非保守的方式(例如,通过将密码子从属于特定大小或特征的氨基酸分组的氨基酸改变为属于另一分组的氨基酸)或以保守的方式(例如,将密码子从属于具有特定大小或特征的氨基酸分组的氨基酸改变为属于同一分组的氨基酸)改变所得蛋白中的氨基酸。这种保守的改变通常导致所得蛋白的结构和功能的改变较少。非保守的改变更可能改变所得蛋白的结构、活性或功能。应认为本公开包括含有保守的改变的序列,所述保守的改变不显著改变所得蛋白的活性或结合特征。因此,基于对本文提供的溶素的序列的综述以及其知识和可用于其他溶素多肽的公共信息,本领域技术人员可以在溶素多肽序列中进行氨基酸改变或取代。可以进行氨基酸改变以替换或取代本文提供的溶素的序列中的一个或多个、一个或几个、一个或若干个、一个至五个、一个至十个或此类其他数目的氨基酸,以生成其突变体或变体。此类其突变体或变体可以针对功能进行预测,或针对如本文所述的针对例如铜绿假单胞菌的抗细菌活性的功能或能力和/或针对具有与所述和本文特别提供的溶素相当的活性进行测试。因此,可以使用本领域中已知和本文描述的测定和方法来测试对本文所述的溶素和突变体或变体的序列进行的改变。基于其溶素的结构域结构,本领域技术

人员可以预测适合于取代或替换的一个或多个、一个或几个氨基酸和/或不适合于取代或替换(包括合理的保守或非保守取代)的一个或多个氨基酸。

[0088] 在一些实施方案中,本发明的分离的多肽包含溶素或衍生物的活性片段。术语"活性片段"是指全长溶素的一部分,其保留参考溶素的一种或多种生物学活性。因此,如本文所用,在人血清不存在或存在或不存在和存在的情况下,或在肺表面活性剂存在的情况下,溶素或变体溶素的活性片段抑制如本文所述的铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种物种的生长,或减少如本文所述的铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种物种的种群,或杀死如本文所述的铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种物种。溶素的合适的活性片段包括但不限于WO2017/049233(其通过引用以其整体并入本文)中描述的那些。所述活性溶素片段通常保留α-螺旋结构域。活性溶素片段的实例包括SEQ ID NO:127-129中所示的GN4溶素(SEQ ID NO:74)的那些。

[0089] 在一些实施方案中,本发明的分离的多肽中包括的溶素、溶素变体、其活性片段或衍生物选自GN217 (SEQ ID NO:8)、GN316变体(SEQ ID NO:24) GN316 (SEQ ID NO:22)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN394 (SEQ ID NO:48)、GN396 (SEQ ID NO:50)、GN408 (SEQ ID NO:52)、(SEQ ID NO:54)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN485 (SEQ ID NO:68)、溶素PaP2_gp17 (SEQ ID NO:96) GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175)或其活性片段,其中所述溶素或其活性片段在人血清不存在或存在或不存在和存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下,抑制铜绿假单胞菌和任选地如本文所述的革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的生长,或减少铜绿假单胞菌和任选地如本文所述的革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的种群,或杀死铜绿假单胞菌和任选地如本文所述的革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种。在一些实施方案中,相对于SEQ ID NO:8、24、22、26、28、48、50、52、54、56、58、60、64、66、68、96、173或175中的至少一个,所述溶素或其活性片段含有至少一个氨基酸取代、缺失或插入。在某些实施方案中,所述至少一个氨基酸取代是保守氨基酸取代。

[0090] 在一些实施方案中,本公开的溶素选自GN329 (SEQ ID NO:26)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN485 (SEQ ID NO:68)和溶素PaP2_gp17 (SEQ ID NO:96)或其活性片段,其中所述溶素或其活性片段在人血清不存在或存在或不存在和存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下,抑制铜绿假单胞菌和任选地如本文所述的革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的生长,或减少铜绿假单胞菌和任选地如本文所述的革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的种群,或杀死铜绿假单胞菌和任选地如本文所述的革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种。在一些实施方案中,相对于SEQ ID NO:26、28、56、58、60、64、68或96,所述溶素、其衍生物或活性片段含有至少一个取代、缺失或插入修饰。在某些实施方案中,所述至少一个氨基酸取代是保守氨基酸取代。

[0091] 在一些实施方案中,所述分离的多肽序列包含选自GN217溶素(SEQ ID NO:8)、GN394溶素(SEQ ID NO:48)、GN396溶素(SEQ ID NO:50)、GN408溶素(SEQ ID NO:52)、GN418溶素(SEQ ID NO:54)和GN486 (SEQ ID NO:66)的溶素或其活性片段,其中所述溶素或其活性片段在人血清不存在或存在或不存在和存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下,

抑制铜绿假单胞菌和任选地如本文所述的革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的生长，或减少铜绿假单胞菌和任选地如本文所述的革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的种群，或杀死铜绿假单胞菌和任选地如本文所述的革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种。在一些实施方案中，相对于SEQ ID NO:8、48、50、52、54或66，所述溶素或其活性片段含有至少一个取代、缺失或插入修饰。在某些实施方案中，所述至少一个氨基酸取代是保守氨基酸取代。

[0092] *抗微生物肽*

在一些实施方案中，本公开的多肽包含溶素-抗微生物肽(AMP)多肽构建体。所述溶素-AMP多肽构建体含有如本文所述的包含溶素、变体溶素、其活性片段或衍生物的分离的多肽以及抗微生物肽或其片段。如本文所用的术语“抗微生物肽”(AMP)是指可以在事实上每种生物体中找到的广泛范围的短的(通常长度为3至50个氨基酸残基)基因编码的肽的成员，通常是抗生素。该术语涵盖螺旋肽、β-折叠肽以及展示很大程度无序的随机螺旋结构的那些。AMP包括防御素、cathelicidins、寿司肽(sushi peptide)、阳离子肽、聚阳离子肽、两亲性肽、疏水性肽和/或AMP-样肽，例如如本文所述的amurin肽。该术语还涵盖AMP的片段、AMP变体和AMP的衍生物。

[0093] 如本文所用的术语“AMP活性”涵盖AMP或其片段在人血清存在和/或不存在的情况下例如通过穿透革兰氏阴性细菌的外膜杀死细菌、减少细菌的种群或抑制细菌生长的能力。通常，AMP的易位由如下驱动：与外膜的脂多糖部分的主要静电相互作用，随后为阳离子置换，膜解体和瞬时打开，以及在一些情况下AMP的内化。

[0094] AMP活性还涵盖AMP或其片段在人血清存在和/或不存在的情况下降低抗生素的最小抑制浓度(MIC)的能力。用于评价本发明的AMP及其片段穿透革兰氏阴性细菌的外膜的能力和确定在血清存在和不存在的情况下抗生素的MIC的降低的合适方法是本领域中已知的，并且包括上面针对本发明的溶素、其衍生物和活性片段描述的那些方法。

[0095] 在一些实施方案中，本发明的AMP是与本文所述的任何AMP具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的变体AMP，其中其变体AMP保留AMP活性。

[0096] 在一些实施方案中，本发明的AMP包含螺旋结构域，诸如α-螺旋结构域。在一些实施方案中，所述α-螺旋结构域跨越分子的大部分。参见，例如，图1的Chp1和Chp4。在其他实施方案中，所述α-螺旋结构域被中断(例如，Chp2)或被截短(例如，Chp6和Osp1)。本文所述的本发明的AMP、诸如Chps的α-螺旋结构域大小在约3至32个氨基酸残基之间，更通常在约10和25个氨基酸残基之间变化。通常，所述螺旋结构域是活性所需的，并且通常当与溶素的C-或N-末端融合时必须保留。

[0097] 通常，螺旋肽展示两亲性特征并且含有显著部分(例如50%)的疏水性残基，经常以重复的模式出现。在形成α-螺旋结构后，所述亲水性残基通常终止于螺旋的同一侧，由此导致构象依赖性的两亲性。通常，这些肽在水性环境中是非结构化的，但在遇到脂质膜后采用螺旋构象。属于该组的肽通常展示范围为+2至+11的总体正电荷，并且通常通过产生膜缺陷，导致电解质梯度、信号物质和其他因子的损失，而杀死微生物、诸如革兰氏阴性细菌。

[0098] 在一些实施方案中，本发明的AMP是“AMP样”肽，包括噬菌体裂解剂，在本文中被称为衣原体噬菌体(Chp)肽或amurin肽。本公开的amurin肽与amurin是可区分的。如本领域中已知，获得自ssDNA或ssRNA噬菌体(分别为微小噬菌体科和光滑噬菌体科)的amurin是具有

推定的结构域结构的整合膜蛋白,所述结构域结构包括内部LS二肽,前面紧接10-17个疏水性残基的延伸段。amurin的实例包括来自噬菌体<pX174 (微小噬菌体科,*Microvints*属)的蛋白E amurin,其为91个氨基酸的膜蛋白,其通过抑制细菌的转位酶Mra Y (一种催化胞壁质前体脂质I的形成的重要的膜嵌入酶)引起裂解;噬菌体Q~(光滑噬菌体科,异光滑噬菌体属)的A2衣壳蛋白,其为420个氨基酸的结构蛋白,其通过干扰MurA活性并使肽聚糖生物合成的过程失调而引起裂解;噬菌体MS2(光滑噬菌体科,光滑噬菌体属)的蛋白L amurin,其为75个氨基酸的整合膜蛋白,其通过使用需要宿主伴侣蛋白DnaJ的活性的机制引起裂解。通常,amurin不能被纯化并且不适合用作抗细菌治疗剂。

[0099] 与amurin相反,本公开的amurin肽是具有与获得自各种脊椎动物的先天免疫系统的AMP的α-螺旋结构相似的预测α-螺旋结构的小阳离子肽(但氨基酸序列与AMP不相似)。Amurin肽主要在衣原体微小噬菌体中发现,并且在较小程度上在蘑菇状噬菌体(Gokushovirinae)亚科的其他相关成员中发现。来自各种微小噬菌体科噬菌体的amurin肽表现出与彼此的30-100%同一性,并且与其他肽没有同源性。不同于微小噬菌体科的amurin(其具有在细胞壁生物合成装置中的细胞质靶标且因此可能不容易被外部应用的蛋白接近),本发明的amurin肽可以以纯化形式使用以“从无到有(from without)”发挥杀细菌活性。

[0100] 用于本发明的溶素-AMP多肽构建体中的合适的amurin肽包括在2018年3月29日提交且通过引用以其整体并入本文的美国临时申请号62/650,235中描述的肽。在一些实施方案中,可以使用amurin肽,诸如衣原体噬菌体(Chp)-来源的裂解剂。此类Chp-来源的裂解剂包括Chp1 (NCBI参考序列:NP_044319.1, SEQ ID NO:133),Chp2 (NCBI参考序列:NP_0546521.1, SEQ ID NO:70),CPAR39 (NCBI参考序列:NP_063898.1, SEQ ID NO:135),Chp3 (NCBI参考序列:YP_022484.1, SEQ ID NO:137),Chp4 (NCBI参考序列:YP_338243.1, SEQ ID NO:102),Chp6 (NCBI参考序列:NP_510878.1, SEQ ID NO:106),Chp7 (NCBI参考序列:CRH73061.1, SEQ ID NO:139),Chp8 (NCBI参考序列:CRH64983.1, SEQ ID NO:141),Chp9 (NCBI参考序列:CRH84960.1, SEQ ID NO:143),Chp10 (NCBI参考序列:CRH73061.1, SEQ ID NO:145),Chp11 (NCBI参考序列:CRH59954.1, SEQ ID NO:147)和Chp12 (NCBI参考序列:CRH59965.1, SEQ ID NO:149)。

[0101] 额外的合适的Chp家族成员包括Gkh1 (NCBI参考序列:YP_008798245.1, SEQ ID NO:151),Gkh2 (NCBI参考序列:YP_009160382.1, SEQ ID NO:90),Unp1 (NCBI参考序列:CDL66944.1, SEQ ID NO:153),Ecp1 (NCBI参考序列:WP_100756432.1, SEQ ID NO:155),Ecp2 (NCBI参考序列:OAC1404.1, SEQ ID NO:104),Tma1 (NCBI参考序列:SHG47122.1, SEQ ID NO:157),Osp1 (NCBI参考序列:SFP13761.1, SEQ ID NO:108),Unp2 (NCBI参考序列:CDL65918.1, SEQ ID NO:159),Unp3 (NCBI参考序列:CDL65808.1, SEQ ID NO:161),Gkh3 (NCBI参考序列:AGT39941.1, SEQ ID NO:163),Unp5 (NCBI参考序列:AGT39924.1, SEQ ID NO:165),Unp6 (NCBI参考序列:AGT39915.1, SEQ ID NO:167),Spi1 (NCBI参考序列:NP_598337.1, SEQ ID NO:169)和Spi2 (NCBI参考序列:NP_598336.1, SEQ ID NO:171),Ecp3 (NCBI参考序列:WP_105269219.1, SEQ ID NO:177),Ecp4 (NCBI参考序列:WP_105466506.1, SEQ ID NO:179),ALCES1 (NCBI参考序列:AXB22573.1, SEQ ID NO:181),AVQ206 (NCBI参考序列:AVQ10236.1, SEQ ID NO:183),AVQ244 (NCBI参考序列:

AVQ10244.1, SEQ ID NO:185),CDL907 (NCBI参考序列:CDL65907.1, SEQ ID NO:187),AGT915 (NCBI参考序列:AGT39915.1, SEQ ID NO:189),HH3930 (NCBI参考序列:CCH66548.1, SEQ ID NO:191),Fen7875 (NCBI参考序列:YP_009160399.1, SEQ ID NO:193),SBR77 (NCBI参考序列:AOT25441, SEQ ID NO:195),Bdp1 NCBI参考序列:NP_073546.1, SEQ ID NO:197),LVP1 (NCBI参考序列:NP_042306.1, SEQ ID NO:199)和Lvp2 (NCBI参考序列:NP_085469.1, SEQ ID NO:201)。

[0102] 更通常,所述AMP选自以下amurin肽中的一种或多种:Chp2 (SEQ ID NO:70)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Chp6 (SEQ ID NO:106)和Osp1 (SEQ ID NO:108)。

[0103] 在一些实施方案中,修饰所述amurin肽以产生变体amurin肽。如本文所述,amurin肽通常包含螺旋结构域,诸如α-螺旋结构域。通常,变体amurin肽保留α-螺旋结构域。通常使用各种软件程序,诸如Jpred4 (compio.dundee.ac.uk/jpred)、Helical Wheel (hael.net/helical.htm)、HeliQuest (zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/)和PEP-FOLD 3 (bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/services/PEP-FOLD3),准确地鉴定α-螺旋结构域在任何变体amurin肽中的保留。在一些实施方案中,通过将amurin肽内的(=)带电荷残基、诸如精氨酸和赖氨酸转化为“D”氨基酸形式来修饰amurin肽变体。转化为D形式的效用描述于文献中,例如,Manabe等人, *Sci. Rep.*, 2017, 第1-10页,其通过引用以其整体并入本文。变体AMP可以根据本领域中已知的任何方法来制备,包括如上文针对溶素、其变体、活性片段和衍生物所述。

[0104] 在一些实施方案中,用于本公开的溶素-AMP多肽构建体中的AMP包括保留抗细菌活性的较大AMP的片段。例如,在某些实施方案中,所述溶素-AMP多肽构建体的AMP部分可以包括保留抗细菌活性的猪髓样抗微生物肽-36(“PMAP-36”,SEQ ID NO:204)的片段。PMAP-36是由在N-末端具有两亲性α-螺旋构象的从猪髓样cDNA推导的cathelicidin相关的AMP。因此,通常从N-末端选择合适的PMAP-36片段以获得保留抗细菌活性的片段。在一些实施方案中,本公开的PMAP-36片段在位置23处包含疏水性氨基酸(Trp)。在其他实施方案中,从PMAP-36片段省略无规卷曲的C-末端以减少或消除可能由PMAP-36引起的溶血。PMAP-36片段的进一步特征描述于例如Lyu等人, *Scientific Reports*, 2016, 6, 第1-12页,其通过引用以其整体并入本文。

[0105] 特别期望的PMAP-36片段包括RI12 (SEQ ID NO:88)、RI18 (SEQ ID NO:92)和TI15 (SEQ ID NO:94)。其他合适的AMP片段包括来自Esculentin (NCBI参考序列:P40843.1)的那些,诸如SEQ ID NO:80中所示的片段和抗脂多糖因子同种型2 (NCBI参考序列:AFU61125.1),诸如SEQ ID NO:76中所示的片段。

[0106] 在一些实施方案中,本公开的AMP包括合成肽。在一些实施方案中,所述合成肽降低抗生素的最小抑制浓度(MIC),其阻止细菌的可见生长,但自身不表现出抗细菌活性。用于与本公开的溶素-AMP多肽构建体一起使用的特别期望的合成肽包括FIRL肽模拟物(SEQ ID NO:114)。不受理论的限制,与参与外膜蛋白生物发生的蛋白BamD的序列相关的FIRL (SEQ ID NO:114)似乎增加外膜对抗生素的渗透性。关于提出的机制的进一步信息见于例如Mori等人, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2012, 67: 2173-2181,其通过引用以其整体并入本文。

[0107] 可用于使革兰氏阴性细菌对抗生素敏感的其他合成肽(其可以并入本公开的溶素-AMP多肽构建体中)包括在Vaara和Porro, *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 1996, 1801-1805 (其通过引用以其整体并入本文)中描述的阳离子肽KFFKFFKFFK (SEQ ID NO:120)。

[0108] 在一些实施方案中,所述合成肽对盐和血清失活是抗性的,如例如在Monhanram等人, *Biopolymers*, 2016, 106: 345-346(其通过引用以其整体并入本文)中所述。特别期望的盐和血清抗性合成肽包括RR12Whydro (SEQ ID NO:110)和RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)。

[0109] 结构稳定组分

在一些实施方案中,本公开的溶素-AMP多肽构建体进一步包括至少一种结构稳定组分,以维持所述构建体中的所述第一和/或第二组分(例如,溶素和/或AMP)的结构的至少一部分与未缀合的溶素和/或AMP中实质上相同。在一些实施方案中,所述稳定组分是接头。通常,所述至少一种结构稳定成分,诸如接头,使得所述溶素和AMP能够实质上保留第一和/或第二蛋白部分的三维结构,使得所述溶素和/或AMP的至少一种生物活性被保留。

[0110] 用于连接两个多肽的合适的接头是本领域中已知的。在某些实施方案中,所述接头是肽,诸如包含甘氨酸和丝氨酸残基的肽。特定的合适的接头包括但不限于TAGGTAGG接头(SEQ ID NO:72)、IGEM接头GGSGSGSGSGSP (BBa_K1485002) (SEQ ID NO:82)、GGGSGGGGSGGGS (BBA_K1486037, (SEQ ID NO:86)或如Briers等人, *mBio*, 2014, 5: e01379-14(其通过引用以其整体并入本文)中所述的接头,即AGAGAGAGAGAGAGAGAS (SEQ ID NO:122)。

[0111] 在一些实施方案中,所述结构稳定组分是肽部分,例如RPP或PP部分。此类肽部分可以包括在本发明的溶素-AMP多肽构建体中,以帮助维持所述溶素和/或AMP蛋白部分的结构。例如,可以将RPP或PP氨基酸插入接头的C末端或N末端,例如在BBA_K1486037接头的N末端(RPPGGGSGGGGSGGGS,SEQ ID NO:12的残基126至141),在BBA_K1486037接头的N末端(PPGGGSGGGGSGGGS,SEQ ID NO:16的残基144-158),在TAGGTAGG接头(SEQ ID NO:72)的N末端(诸如SEQ ID NO:18的残基137-144中所描绘),或在BBA_K1486037接头的C末端(GGGSGGGGSGGGSPP,SEQ ID NO:20的残基135-149)。

[0112] 在其他实施方案中,肽MIDR (SEQ ID NO:112)和/或NPTH (SEQ ID NO:116)被包括在构建体中,以帮助维持所述溶素和/或AMP蛋白部分的结构。例如,在一些实施方案中,通过添加MIDR (SEQ ID NO:112)和/或NPTH (SEQ ID NO:116)、诸如在SEQ ID NO:46的残基1-12 (MIDRFIRLNPTH)和SEQ ID NO:44的残基1-26所描绘,来维持AMP结构,诸如FIRL(SEQ ID NO:114)。

[0113] 溶素-AMP多肽构建体的实例

在一些实施方案中,所述溶素-AMP构建体包含:(a)第一组分,其包含:(i)至少一种选自以下的溶素:GN76 (SEQ ID NO:203)、GN4 (SEQ ID NO:74)、GN146 (SEQ ID NO:78)、GN14 (SEQ ID NO:124)、任选地具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)、任选地具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)、溶素Pap2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN202 (SEQ ID NO:118)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN333 (SEQ ID NO:

28)、GN485 (SEQ ID NO:68)、GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175)或(ii)具有溶素活性且与SEQ ID NO:203、74、78、124、84、22、96、26、56、118、58、60、64、66、28、68、173或175中的任一个的多肽序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽;或(iii)所述溶素的活性片段,所述片段包括单个点突变和/或单个提高pI的突变(如果有的话);(b)第二组分,其包含:(i)至少一种选自以下的抗微生物肽(AMP):Chp1 (SEQ ID NO:133)、Chp2 (SEQ ID NO:70)、CPAR39 (SEQ ID NO:135)、Chp3 (SEQ ID NO:137)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Chp6 (SEQ ID NO:106)、Chp7 (SEQ ID NO:139)、Chp8 (SEQ ID NO:141)、Chp9 (SEQ ID NO:143)、Chp10 (SEQ ID NO:145)、Chp11 (SEQ ID NO:147)、Chp12 (SEQ ID NO:149)、Gkh1 (SEQ ID NO:151)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Unp1 (SEQ ID NO:153)、Ecp1 (SEQ ID NO:155)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Tma1 (SEQ ID NO:157)、Osp1 (SEQ ID NO:108)、Unp2 (SEQ ID NO:159)、Unp3 (SEQ ID NO:161)、Gkh3 (SEQ ID NO:163)、Unp5 (SEQ ID NO:165)、Unp6 (SEQ ID NO:167)、Spi1 (SEQ ID NO:169)、Spi2 (SEQ ID NO:171)、Ecp3 (SEQ ID NO:177)、Ecp4 (SEQ ID NO:179)、ALCES1 (SEQ ID NO:181)、AVQ206 (SEQ ID NO:183)、AVQ244 (SEQ ID NO:185)、CDL907 (SEQ ID NO:187)、AGT915 (SEQ ID NO:189)、HH3930 (SEQ ID NO:191)、Fen7875 (SEQ ID NO:193)、SBR77 (SEQ ID NO:195)、Bdp1 (SEQ ID NO:197)、LVP1 (SEQ ID NO:199)、Lvp2 (SEQ ID NO:201)、七叶内酯片段(SEQ ID NO:80)、RI12 (SEQ ID NO:88)、TI15 (SEQ ID NO:94)、RI18 (SEQ ID NO:92)、FIRL (SEQ ID NO:114)、LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)、RR12whydro (SEQ ID NO:110)、RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)和阳离子肽(SEQ ID NO:120),或(ii)具有AMP活性的多肽,其中所述多肽与SEQ ID NO:133、70、135、137、102、106、139、141、143、145、147、149、151、90、153、155、104、157、108、159、161、163、165、167、169、171、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、80、88、94、92、114、76、110、131和120中的至少一个具有至少80%同一性。

[0114] 通常,与公开的AMP或其片段共有至少80%或更多同一性的任何AMP变体保留其α-螺旋结构和与活性相关的任何残基。例如,如上所示,PMAP-36 (SEQ ID NO:204)的片段通常保留位置23处的疏水性氨基酸(Trp)。

[0115] 在一些实施方案中,GN37 (SEQ ID NO:84)包含单个提高pI的突变,其中具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)是GN217 (SEQ ID NO:8)。在一些实施方案中,GN316 (SEQ ID NO:22)包含单个点突变,其中具有单个点突变的GN37 (SEQ ID NO:84)是GN396 (SEQ ID NO:50)、GN408 (SEQ ID NO:52)、GN418 (SEQ ID NO:54)和/或GN394 (SEQ ID NO:48)。

[0116] 在一些实施方案中,所述构建体进一步包含至少一种结构稳定组分。在一些实施方案中,所述至少一种结构稳定组分是肽接头,诸如包含甘氨酸和丝氨酸残基的肽。在某些实施方案中,所述肽接头选自TAGGTAGG (SEQ ID NO:72)、IGEM (BBa_K1485002) (SEQ ID NO:82)、PPTAGGTAGG (SEQ ID NO:98)、IGEM +PP (SEQ ID NO:16的残基44-58)和AGAGAGAGAGAGAGAGAS (SEQ ID NO:122)。

[0117] 在一些实施方案中,所述溶素-AMP多肽构建体选自以下中的至少一种:GN168溶素(SEQ ID NO:2)、GN176溶素(SEQ ID NO:4)、GN178溶素(SEQ ID NO:6)、GN218溶素(SEQ ID NO:10)、GN223溶素(SEQ ID NO:12)、GN239溶素(SEQ ID NO:14)、GN243溶素(SEQ ID NO:

16)、GN280溶素(SEQ ID NO:18)、GN281溶素(SEQ ID NO:20)、GN349溶素(SEQ ID NO:30)、GN351溶素(SEQ ID NO:32)、GN352溶素(SEQ ID NO:34)、GN353溶素(SEQ ID NO:36)、GN357溶素(SEQ ID NO:38)、GN359溶素(SEQ ID NO:40)、GN369溶素(SEQ ID NO:42)、GN370溶素(SEQ ID NO:44)、GN371溶素(SEQ ID NO:46)或GN 93溶素(SEQ ID NO:62)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:2、4、6、10、12、14、16、18、20、30、32、34、36、38、40、42、44、46或62中的至少一个的多肽序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0118] 更具体地,在一些实施方案中,所述溶素-AMP多肽构建体包含Chp2 amurin多肽(SEQ ID NO:70)和TAGGTAGG接头(SEQ ID NO:72),其被N-末端引入至GN4溶素(SEQ ID NO:72)以生成GN168溶素(SEQ ID NO:2)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:2具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0119] 在一些实施方案中,编码的溶素-AMP多肽构建体包含LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)和TAGGTAGG接头(SEQ ID NO:72),其被N-末端引入至GN146溶素(SEQ ID NO:78)以生成GN176溶素(SEQ ID NO:4)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:4具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0120] 在一些实施方案中,所述溶素-AMP多肽构建体包含七叶内酯片段(SEQ ID NO:80)和IGEM接头(SEQ ID NO:82),其被N-末端引入至GN146溶素(SEQ ID NO:78)以生成GN178溶素(SEQ ID NO:6)或与SEQ ID NO:6具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0121] 在一些实施方案中,编码的溶素-AMP多肽构建体包含IGEM接头(SEQ ID NO:86)和RI12抗微生物肽(SEQ ID NO:88),其被C-末端引入至GN37溶素(SEQ ID NO:84)以生成GN218溶素(SEQ ID NO:10)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:10具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0122] 在一些实施方案中,所述溶素-AMP多肽构建体包含RPP部分、IGEM接头(SEQ ID NO:86)和抗微生物amurin肽Gkh2 (SEQ ID NO:90),其被C-末端引入至GN37溶素(SEQ ID NO:84)以生成GN223溶素(SEQ ID NO:12)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:12具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0123] 在一些实施方案中,所述溶素-AMP多肽构建体包含IGEM接头(SEQ ID NO:86)和RI18肽(SEQ ID NO:92),其被C-末端引入至GN37溶素(SEQ ID NO:84)以生成GN239溶素(SEQ ID NO:14)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:14具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0124] 在一些实施方案中,所述溶素-AMP多肽构建体包含PP氨基酸部分、IGEM接头(SEQ ID NO:86)和TI15肽(SEQ ID NO:94),其被C-末端引入至GN37溶素(SEQ ID NO:84)以生成GN243溶素(SEQ ID NO:16)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:16具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0125] 在一些实施方案中,所述溶素-AMP多肽构建体包含RI18抗微生物肽(SEQ ID NO:92)、具有氨基酸序列PPTAGGTAGG (SEQ ID NO:98)的接头和TI15抗微生物肽(SEQ ID NO:94),其被C末端引入至溶素PaP2_gp17 (SEQ ID NO:96)以生成GN280溶素(SEQ ID NO:18)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:18具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少

95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0126] 在一些实施方案中，所述溶素-AMP多肽构建体包含RI18肽(SEQ ID NO:92)、IGEM接头(SEQ ID NO:86)、PP氨基酸部分(经添加以维持所述溶素和/或所述AMP的结构)和TI15肽(SEQ ID NO:94)，其被C末端引入至溶素PaP2_gp17 (SEQ ID NO:96)以生成GN281溶素(SEQ ID NO:20)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:20具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0127] 在一些实施方案中，所述溶素-AMP多肽构建体包含具有氨基酸序列TAGGTAGG(SEQ ID NO:72)的接头和amurin肽Chp4 (SEQ ID NO:102)，其被C-末端引入至GN316溶素(SEQ ID NO:22)以生成GN349溶素(SEQ ID NO:30)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:30具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0128] 在一些实施方案中，所述溶素-AMP多肽构建体包含具有氨基酸序列TAGGTAGG(SEQ ID NO:72)的接头和amurin肽Ecp2 (SEQ ID NO:104)，其被C-末端引入至GN316溶素(SEQ ID NO:22)以生成GN351溶素(SEQ ID NO:32)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:32具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0129] 在一些实施方案中，所述溶素-AMP多肽构建体包含具有氨基酸序列TAGGTAGG(SEQ ID NO:72)的接头和amurin肽Chp7 (SEQ ID NO:139)，其被C-末端引入至GN316溶素(SEQ ID NO:22)以生成GN352溶素(SEQ ID NO:34)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:34具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0130] 在一些实施方案中，所述溶素-AMP多肽构建体包含具有氨基酸序列TAGGTAGG(SEQ ID NO:72)的接头和amurin肽Osp1 (SEQ ID NO:108)，其被C-末端引入至GN316溶素(SEQ ID NO:22)以生成GN353溶素(SEQ ID NO:36)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:36具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0131] 在一些实施方案中，所述溶素-AMP多肽构建体包含具有氨基酸序列TAGGTAGG(SEQ ID NO:72)的接头和RR12Whydro(SEQ ID NO:110)，其被C-末端引入至GN316溶素(SEQ ID NO:22)以生成GN357溶素(SEQ ID NO:38)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:38具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0132] 在一些实施方案中，所述溶素-AMP多肽构建体包含具有氨基酸序列TAGGTAGG(SEQ ID NO:72)的接头和PMAP-36的TI15肽衍生物(SEQ ID NO:94)，其被C-末端引入至GN316溶素(SEQ ID NO:22)以生成GN359溶素(SEQ ID NO:40)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:40具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0133] 在一些实施方案中，所述溶素-AMP多肽构建体包含RR18 (SEQ ID NO:92)，其被C-末端引入至GN316溶素(SEQ ID NO:22)以生成GN369溶素(SEQ ID NO:42)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:42具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或

诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0134] 在一些实施方案中，所述溶素-AMP多肽构建体包含MIDR部分(SEQ ID NO:112)、FIRL部分(SEQ ID NO:114)和NPTH部分(SEQ ID NO:116)，其被N-末端引入至GN202溶素(SEQ ID NO:118)以生成GN370溶素(SEQ ID NO:44)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:44具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0135] 在一些实施方案中，所述溶素-AMP多肽构建体包含MIDR部分(SEQ ID NO:112)、FIRL (SEQ ID NO:114)和NPTH部分(SEQ ID NO:116)，其被C-末端引入至GN146溶素(SEQ ID NO:78)以生成GN371溶素(SEQ ID NO:46)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:46具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0136] 在一些实施方案中，所述溶素-AMP多肽构建体包含阳离子肽(SEQ ID NO:120)和接头结构域(SEQ ID NO:122)，其被N-末端引入至GN14溶素(SEQ ID NO:124)以生成GN93溶素(SEQ ID NO:62)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:62具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0137] 下表1描绘了本文所述的溶素和溶素-AMP构建体的具体实例。对于GN168 (SEQ ID NO:2)、GN176 (SEQ ID NO:4)、GN178 (SEQ ID NO:6)、GN370 (SEQ ID NO:44)、GN371 (SEQ ID NO:46)和GN93 (SEQ ID NO:62)，构建体的AMP部分加双下划线。对于所有其他构建体，双下划线对应于溶素。结构稳定组分、诸如接头为斜体。GN486 (SEQ ID NO:66)的纯化标签为斜体并加粗。单个点突变加粗。

表1

GN #	多肽序列
GN168	MRLKMARRRYRLPRRRSRRLFSRTALRMHPRNRLRRIMRGGIRF*TAGGTAGG*RTSQRGIDLIKSFEGLRLSAYQDSVGVWTIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPELDRLAKVPLNQNQWDALMSFVYNLGAANLASSTLLDLLNKGDYQGAADQFPHWVNAGGKRLDGLVKRRAAERALFLEPLS **(SEQ ID NO: 2)**
GN176	MSFNVTPKFKRWQLYFRGRMW*TAGGTAGG*RTSQRGIDLIKSFEGLRLSAYQDSVGVWTIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPELDRLAKVPLNQNQWDALMSFVYNLGAANLASSTLLDLLNKGDYQGAADQFPHWVNAGGKRLDGLVKRRAAERALFLEPLS **(SEQ ID NO: 4)**

GN #	多肽序列
GN178	MPPIFSKLAGKKIKNLLISGLK*GGSGSGSGSGSP*RTSQRGIDLIKSFEGLRLS AYQDSVGVWTIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPELDRLA KVPLNQNQWDALMSFVYNLGAANLASSTLLDLLNKGDYQGAADQFPH WVNAGGKRLDGLVKRRAAERALFLEPLS (**SEQ ID NO: 6**)
GN217	MTYTLSKRSLDNLKGVHPDLVAVVHRAIQLTPVDFAVIEGLRSVSRQKEL VAAGASKTMNSRHLTGHAVDLAAYVNGI**H**WDWPLYDAIAVAVKAAAK ELGVAIVWGGDWTTFKDGPHFELDRSKYR (**SEQ ID NO: 8**)
GN218	MTYTLSKRSLDNLKGVHPDLVAVVHRAIQLTPVDFAVIEGLRSVSRQKEL VAAGASKTMNSRHLTGHAVDLAAYVNGIRWDWPLYDAIAVAVKAAAK ELGVAIVWGGDWTTFKDGPHFELDRSKY*GGGSGGGGSGGGS*RLKKIGKV LKWI (**SEQ ID NO: 10**)
GN223	MTYTLSKRSLDNLKGVHPDLVAVVHRAIQLTPVDFAVIEGLRSVSRQKEL VAAGASKTMNSRHLTGHAVDLAAYVNGIRWDWPLYDAIAVAVKAAAK ELGVAIVWGGDWTTFKDGPHFELDRSKY**RPP***GGGSGGGGSGGGS*SKKAS RKSFTKGAVKVHKKNVPTRVPMRGGIRL (**SEQ ID NO: 12**)
GN239	MTYTLSKRSLDNLKGVHPDLVAVVHRAIQLTPVDFAVIEGLRSVSRQKEL VAAGASKTMNSRHLTGHAVDLAAYVNGIRWDWPLYDAIAVAVKAAAK ELGVAIVWGGDWTTFKDGPHFELDRSKY*GGGSGGGGSGGGS*RKKTRKRL KKIGKVLKWI (**SEQ ID NO: 14**)
GN243	MTYTLSKRSLDNLKGVHPDLVAVVHRAIQLTPVDFAVIEGLRSVSRQKEL VAAGASKTMNSRHLTGHAVDLAAYVNGIRWDWPLYDAIAVAVKAAAK ELGVAIVWGGDWTTFKDGPHFELDRSKYRKKTRKRLKKIGKVLKWI**PP***G GGSGGGGSGGGS*TRKRLKKIGKVLKWI (**SEQ ID NO: 16**)
GN280	MKLSEKRALFTQLLAQLILWAGTQDRVSVALDQVKRTQAEADANAKSG AGIRNSLHLLGLAGDLILYKDGKYMDKSEDYKFLGDYWKSLHPLCRWG GDFKSRPDGNHFSLEHEGVQ*RKKTRKRLKKIGKVLKWI***PPTAGGTAGG**TR KRLKKIGKVLKWI (**SEQ ID NO: 18**)
GN281	MKLSEKRALFTQLLAQLILWAGTQDRVSVALDQVKRTQAEADANAKSG AGIRNSLHLLGLAGDLILYKDGKYMDKSEDYKFLGDYWKSLHPLCRWG GDFKSRPDGNHFSLEHEGVQ*RKKTRKRLKKIGKVLKWI***GGGSGGGGSGG GS**PPTRKRLKKIGKVLKWI (**SEQ ID NO: 20**)
GN316	MAILKIGSKGLEVKNLQTSLNKIGFNLVADGIFGKATDNAVRAVQAGAGL VVDGIAGPKTMYAIRNAGESHQDHLTEADLIDAARELSVDLASIKAVNQV ESRGTGFTKSGKIKTLFERHIMYKKLNAKFGQAKANALAQLYPTLVNAK AGGYTGGDAELERLHGAIAIDKDCAYESASYGLFQIMGFNCVICGYDNAE EMFNDFLTGERAQLMAFVKFIKADANLWKALKDKNWAEFARRYNGPAY AQNQYDTKLAAAYKSFS (**SEQ ID NO: 22**)
GN329	MITDREYQQAAEMLGVDVPAIKAVTKVEAPVGGFQPTGEPTILYERHQM YRQLQAKGLPTEGHPPDLVNKVAGGYGKYSEQHAKLARAVKIDRDSALE SCSWGMFQIMGYHWKLMGYPTLQAFVNAMYASEGAQMDAFCRFIKAQP TTHAALKAHDWAKFARLYNGPGYAKNKYDVKLEKAYAEASG (**SEQ ID NO: 26**)

GN #	多肽序列
GN333	MALTEQDFQSAADDLGVDVASVKAVTKVESRGSGFLLSGVPKILFERHW MFKLLKRKLGRDPEINDVCNPKAGGYLGGQAEHERLDKAVKMDRDCAL QSASWGLFQIMGFHWEALGYASVQAFVNAQYASEGSQLNTFVRFIKTNP AIHKALKSKDWAEFARRYNGPDYKKNNYDVKLAEAYQSFK (**SEQ ID NO: 28**)
GN349	MAILKIGSKGLEVKNLQTSLNKIGFNLVADGIFGKATDNAVRAVQAGAGL VVDGIAGPKTMYAIRNAGESHQDHLTEADLIDAARELSVDLASIKAVNQV ESRGTGFTKSGKIKTLFERHIMYKKLNAKFGQAKANALAQLYPTLVNAK AGGYTGGDAELERLHGAIAIDKDCAYESASYGLFQIMGFNCVICGYDNAE EMFNDFLTGERAQLMAFVKFIKADANLWKALKDKNWAEFARRYNGPAY AQNQYDTKLAAAYKSFS*TAGGTAGG*ARRYRLSRRRSRRLFSRTALRMHR RNRLRRIMRGGIRF (**SEQ ID NO: 30**)
GN351	MAILKIGSKGLEVKNLQTSLNKIGFNLVADGIFGKATDNAVRAVQAGAGL VVDGIAGPKTMYAIRNAGESHQDHLTEADLIDAARELSVDLASIKAVNQV ESRGTGFTKSGKIKTLFERHIMYKKLNAKFGQAKANALAQLYPTLVNAK AGGYTGGDAELERLHGAIAIDKDCAYESASYGLFQIMGFNCVICGYDNAE EMFNDFLTGERAQLMAFVKFIKADANLWKALKDKNWAEFARRYNGPAY AQNQYDTKLAAAYKSFS*TAGGTAGG*ARSRRRMSKRSSRRSFRKYAKSHK KNFKARSMRGGIRL (**SEQ ID NO: 32**)
GN352	MAILKIGSKGLEVKNLQTSLNKIGFNLVADGIFGKATDNAVRAVQAGAGL VVDGIAGPKTMYAIRNAGESHQDHLTEADLIDAARELSVDLASIKAVNQV ESRGTGFTKSGKIKTLFERHIMYKKLNAKFGQAKANALAQLYPTLVNAK AGGYTGGDAELERLHGAIAIDKDCAYESASYGLFQIMGFNCVICGYDNAE EMFNDFLTGERAQLMAFVKFIKADANLWKALKDKNWAEFARRYNGPAY AQNQYDTKLAAAYKSFS*TAGGTAGG*KRRKMTRKGSKRLFTATADKTKSI NTAPPPMRGGIRL (**SEQ ID NO: 34**)
GN353	MAILKIGSKGLEVKNLQTSLNKIGFNLVADGIFGKATDNAVRAVQAGAGL VVDGIAGPKTMYAIRNAGESHQDHLTEADLIDAARELSVDLASIKAVNQV ESRGTGFTKSGKIKTLFERHIMYKKLNAKFGQAKANALAQLYPTLVNAK AGGYTGGDAELERLHGAIAIDKDCAYESASYGLFQIMGFNCVICGYDNAE EMFNDFLTGERAQLMAFVKFIKADANLWKALKDKNWAEFARRYNGPAY AQNQYDTKLAAAYKSFS*TAGGTAGG*RKRMSKRVDKKVFRRTAASAKKIN IDPKIYRGGIRL (**SEQ ID NO: 36**)
GN357	MAILKIGSKGLEVKNLQTSLNKIGFNLVADGIFGKATDNAVRAVQAGAGL VVDGIAGPKTMYAIRNAGESHQDHLTEADLIDAARELSVDLASIKAVNQV ESRGTGFTKSGKIKTLFERHIMYKKLNAKFGQAKANALAQLYPTLVNAK AGGYTGGDAELERLHGAIAIDKDCAYESASYGLFQIMGFNCVICGYDNAE EMFNDFLTGERAQLMAFVKFIKADANLWKALKDKNWAEFARRYNGPAY AQNQYDTKLAAAYKSFS*TAGGTAGG*RRLIRLWLRLLR (**SEQ ID NO: 38**)

GN #	多肽序列
GN359	MAILKIGSKGLEVKNLQTSLNKIGFNLVADGIFGKATDNAVRAVQAGAGL VVDGIAGPKTMYAIRNAGESHQDHLTEADLIDAARELSVDLASIKAVNQV ESRGTGFTKSGKIKTLFERHIMYKKLNAKFGQAKANALAQLYPTLVNAK AGGYTGGDAELERLHGAIAIDKDCAYESASYGLFQIMGFNCVICGYDNAE EMFNDFLTGERAQLMAFVKFIKADANLWKALKDKNWAEFARRYNGPAY AQNQYDTKLAAAYKSFS*TAGGTAGG*TRKRLKKIGKVLKWI (**SEQ ID NO: 40**)
GN369	MAILKIGSKGLEVKNLQTSLNKIGFNLVADGIFGKATDNAVRAVQAGAGL VVDGIAGPKTMYAIRNAGESHQDHLTEADLIDAARELSVDLASIKAVNQV ESRGTGFTKSGKIKTLFERHIMYKKLNAKFGQAKANALAQLYPTLVNAK AGGYTGGDAELERLHGAIAIDKDCAYESASYGLFQIMGFNCVICGYDNAE EMFNDFLTGERAQLMAFVKFIKADANLWKALKDKNWAEFARRYNGPAY AQNQYDTKLAAAYKSFSRKKTRKRLKKIGKVLKWI (**SEQ ID NO: 42**)
GN370	*MIDR*FIRL*NPTH*GPRRPRRPGRRAPVRTSQRGIDLIKSFEGLRLSAYQDSVG VWTIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPELDRLAKVPLNQNQ WDALMSFVYNLGAANLASSTLLDLLNKGDYQGAADQFPHWVNAGGKR LDGLVKRRAAERALFLEPLS (**SEQ ID NO: 44**)
GN371	*MIDR*FIRL*NPTH*RTSQRGIDLIKSFEGLRLSAYQDSVGVWTIGYGTTRGVTR YMTITVEQAERMLSNDIQRFEPELDRLAKVPLNQNQWDALMSFVYNLGA ANLASSTLLDLLNKGDYQGAADQFPHWVNAGGKRLDGLVKRRAAERAL FLEPLS (**SEQ ID NO: 46**)
GN394	MAILKIGSKGLEVKNLQTSLNKIGFNLVADGIFGKATDNAVRAVQAGAGL VVDGIAGPKTMYAIRNAGESHQDHLTEADLIDAARELSVDLASIKAVNQV ESRGTGFTKSGKIKTLFERHIMYKKLNAKFGQAKANALAQLYPTLVNAK AGGYTGGDAELERLHGAIAIDKDCAYESASYGLFQIMGFNCVICGYDNAE EMFNDFLTGERAQLMAFV**D**FIKADANLWKALKDKNWAEFARRYNGPAY AQNQYDTKLAAAYKSFS (**SEQ ID NO: 48**)
GN396	MAILKIGSKGLEVKNLQTSLNKIGFNLVADGIFGKATDNAVRAVQAGAGL VVDGIAGPKTMYAIRNAGESHQDHLTEADLIDAARELSVDLASIKAVNQV ESRGTGFTKSGKIKTLFERHIMYKKLNAKFGQAKANALAQLYPTLVNAK AGGYTGGDAELERLHGAIAIDKDCAYESASYGLFQIMGFNCVICGYDNAE EMFNDFLTGERAQLMAFVKFIKADANLW**D**ALKDKNWAEFARRYNGPAY AQNQYDTKLAAAYKSFS (**SEQ ID NO: 50**)
GN408	MAILKIGSKGLEVKNLQTSLNKIGFNLVADGIFGKATDNAVRAVQAGAGL VVDGIAGPKTMYAIRNAGESHQDHLTEADLIDAA**H**ELSVDLASIKAVNQV ESRGTGFTKSGKIKTLFERHIMYKKLNAKFGQAKANALAQLYPTLVNAK AGGYTGGDAELERLHGAIAIDKDCAYESASYGLFQIMGFNCVICGYDNAE EMFNDFLTGERAQLMAFVKFIKADANLWKALKDKNWAEFARRYNGPAY AQNQYDTKLAAAYKSFS(**SEQ ID NO: 52**)

GN #	多肽序列
GN418	MAILKIGSKGLEVKNLQTSLNDIGFNLVADGIFGKATDNAVRAVQAGAGL VVDGIAGPKTMYAIRNAGESHQDHLTEADLIDAARELSVDLASIKAVNQV ESRGTGFTKSGKIKTLFERHIMYKKLNAKFGQAKANALAQLYPTLVNAK AGGYTGGDAELERLHGAIAIDKDCAYESASYGLFQIMGFNCVICGYDNAE EMFNDFLTGERAQLMAFVKFIKADANLWKALKDKNWAEFARRYNGPAY AQNQYDTKLAAAYKSFS (**SEQ ID NO: 54**)
GN424	MNTLRFNSRGAEVGVLQQRLVRAGYPIDVTHLYDEATEQAVKALQAAA GIVVDGIAGPNTYAVLSAGQRDRKHLTEADIARAADKLGVSPACVRAVN EVESRGSGFLADGRPVILFERHVMYNRLVAAKRAVDAASAAQRFPNVVS AKPGGYQGGAAEYVRLDTAARIDAAIAYESASWGAFQVMGYHWERLGY SSIDEFVARMETSEGEQLDAFVRFVAADSSLRTALKNRKWAAFAKGYNG PDYARNLYDAKLAQAYERYAGTKAAA (**SEQ ID NO: 56**)
GN425	MTLRLDDVGLDVLHLQKRLNELGANPRLLPDGQFGEVTERAVRAFQQRA GLVVDGVAGPKTMAALSGHSTSRLLGQRDLQRAADRLGVPLASVMALN AVESRGEGFAANGRPVILFERHVMHERLQVNGLSEAEADALAARHPGLV SRRPGGYVGDTAEHQRLANARLLHDTAALESASWGLFQVMGYHWQAL GYDTTQDFTERMARHEAEHLEAFVRFIEADPALHKALKGRKWAEFARRY NGPAYARNLYDVKLARAFEQFSDALQAAA (**SEQ ID NO: 58**)
GN428	MAILKLGNRGSEVKALQQSLNKIGFSLTADGIFGKATENAVKSVQAGAGL VIDGIAGPKTFYAIRNAGDAHQEHLTEADLVDAARELGVELASMKAVNQ VESRGTGFTKTGKIKTLFERHIMYKKVTAKFGQARANALYQLYPTLVNPN SGGYIGGDAELERLQGAIALDEDCAYESASYGLFQIMGFNCQICGYSNAK EMFTDFLTGERAHLLAFVKFIKADANMWKALKNKNWAEFARRYNGPAY AKNQYDTKLAAAYKSFC (**SEQ ID NO: 60**)
GN93	MKFFKFFKFFK*AGAGAGAGAGAGAGAGAS*NNELPWVAEARKYIGLREDTS KTSHNPKLLAMLDRMGEFSNESRAWWHDDETPWCGLFVGYCLGVAGR YVVREWYRARAWEAPQLTKLDRPAYGALVTFTRSGGGHVGFIVGKDAR GNLMVLGGNQSNAVSIAPFAVSRVTGYFWPSFWRNKTAVKSVPFEERYS LPLLKSNGELSTNEA (**SEQ ID NO: 62**)
GN431	MAILKLGNRGTEVKALQDSLNKIGFTLVADGIFGKATENAVKTVQAGAG LVIDGIVGPKTSYAIRNAGEAHQDHLTEADLIEAANQLGVDLASVKAVNQ VESRGTGFTKSGKIKTLFERHIMYKKLMAKFGQARANAMGQMYPTLVSP VAGGYTGGDAELDRLHAAINIDEDCAYESASYGLFQIMGFNCQVCGYAN AKEMFNDFLTGERAHLMAFVKFIKADAKLWQALKDKNWAEFARRYNGP AYTKNQYDTKLAAAYNSFN (**SEQ ID NO: 64**)
GN486	M***GSHHHHHH***GPRRPRRPGRRAPVRTSQRGIDLIKSFEGLRLSAYQDSV GVWTIGYGTTRGVTRYMTITVEQAERMLSNDIQRFEPELDRLAKVPLNQN QWDALMSFVYNLGAANLASSTLLKLLNKGDYQGAADQFPRWVNAGGK RLDGLVKRRAAERALFLEPLS (**SEQ ID NO:66**)
GN485	MPGLSGFIRNADTPVTSLGSAGHVHVPEGPLIRINPDCLLGTPFKFFKFFKF FKFFKFFKFFKFFKNECVLL (**SEQ ID NO: 68**)

[0138] 在一些实施方案中，本公开的溶素和/或溶素-AMP多肽构建体被化学修饰。化学修饰包括但不限于添加化学部分，产生新键，和除去化学部分。化学修饰可以发生在和/或溶素-AMP多肽构建体中的任何位置，包括氨基酸侧链以及氨基或羧基末端。例如，在某些实施方案中，所述溶素或溶素-AMP多肽构建体包含N-末端乙酰化修饰。在某些实施方案中，所述溶素或溶素-AMP多肽构建体包含C-末端酰胺化修饰。这种修饰可以存在于溶素和/或溶素-AMP多肽构建体中的多于一个位点处。

[0139] 此外，溶素和/或溶素-AMP多肽构建体的一个或多个侧基或末端基团可以被本领域普通技术人员已知的保护基团保护。

[0140] 在一些实施方案中，将所述溶素和/或溶素-AMP多肽构建体缀合至持续时间增强部分。在一些实施方案中，所述持续时间增强部分是聚乙二醇。聚乙二醇(“PEG”)已用于获

得持续时间增强的治疗性多肽(Zalipsky, S., *Bioconjugate Chemistry,* 6:150-165 (1995); Mehvar, R., *J.Pharm. Pharmaceut. Sci.,* 3:125-136 (2000), 其通过引用以其整体并入本文)。PEG主链(CH2CH2-O-)n(其中n是重复单体的数目)是柔性且两亲性的。当附接至另一化学实体,诸如溶素和/或溶素-AMP多肽构建体时,PEG聚合物链可以保护此类多肽免于免疫反应和其他清除机制。作为结果,聚乙二醇化可以通过优化药代动力学、增加生物利用度和降低免疫原性和给药量和/或频率来导致效力和安全性提高。

[0141] 多核苷酸

在一个方面,本公开涉及分离的多核苷酸,其包含编码如本文所述的溶素、变体溶素、其活性片段或衍生物的核酸分子。在一些实施方案中,所述分离的多核苷酸序列是DNA序列。在其他实施方案中,所述分离的多核苷酸是cDNA序列。

[0142] 在一些实施方案中,所述分离的多核苷酸包含编码与如本文所述的溶素、变体溶素、其活性片段或衍生物具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子,其中在人血清不存在或存在或不存在和存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下,编码的多肽抑制铜绿假单胞菌和任选地如本文所述的革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的生长,或减少铜绿假单胞菌和任选地如本文所述的革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的种群,或杀死铜绿假单胞菌和任选地如本文所述的革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种。

[0143] 在一些实施方案中,所述分离的多核苷酸包含编码选自GN217 (SEQ ID NO:8)、GN316变体(SEQ ID NO:24)、GN316 (SEQ ID NO:22)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN394 (SEQ ID NO:48)、GN396 (SEQ ID NO:50)、GN408 (SEQ ID NO:52)、GN418 (SEQ ID NO:54)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN485 (SEQ ID NO:68)、溶素PaP2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN123 (SEQ ID NO:173)或GN121 (SEQ ID NO:175)的溶素或其变体或活性片段或衍生物的核酸分子,其中由所述分离的多核苷酸编码的溶素变体或其活性片段或衍生物在人血清不存在或存在或不存在和存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下,抑制铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的生长,或减少铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的种群,或杀死铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种。在某些实施方案中,所述分离的多核苷酸包含核酸分子,所述核酸分子编码溶素、其变体或活性片段或衍生物,其含有相对于SEQ ID NO:8、24、22、26、28、48、50、52、54、56、58、60、64、66、68、96、173和175中的至少一个的至少一个修饰,诸如至少一个氨基酸取代、插入或缺失。在某些实施方案中,所述分离的多核苷酸包含分别选自SEQ ID NO:7、23、21、25、27、47、49、51、53、55、57、59、63、65、67 95、172和174的核酸序列、其互补序列或与SEQ ID NO:7、23、21、25、27、47、49、51、53、55、57、59、63、65、67 95、172和174之一或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列,其中编码的多肽在人血清不存在或存在或不存在和存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下,抑制铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的生长,或减少铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的种群,或杀死铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种。

[0144] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码选自GN217溶素(SEQ ID NO:8)、GN394溶素(SEQ ID NO:48)、GN396溶素(SEQ ID NO:50)、GN408溶素(SEQ ID NO:52)、GN418溶素(SEQ ID NO:54)和GN486 (SEQ ID NO:66)中的至少一种的溶素或其变体或活性片段或衍生物的核酸分子。在某些实施方案中，所述多核苷酸包含选自SEQ ID NO:7、47、49、51、53和65的核酸序列、其互补序列或与SEQ ID NO:77、47、49、51、53或65之一或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列，其中编码的多肽在人血清不存在或存在或不存在和存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下，抑制铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的生长，或减少铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的种群，或杀死铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种。

[0145] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码选自GN316 (SEQ ID NO:22)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN333 (SEQ ID NO:28)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN485 (SEQ ID NO:68)中的至少一种的溶素或其变体或活性片段或衍生物的核酸分子，其中编码的多肽在人血清不存在或存在或不存在和存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下，抑制铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的生长，或减少铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的种群，或杀死铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种。在某些实施方案中，所述其变体、活性片段或衍生物含有相对于SEQ ID NO:22、26、28、56、58、60、64或68中的至少一个的至少一个修饰，诸如至少一个取代、插入或缺失。在某些实施方案中，所述多核苷酸包含选自SEQ ID NO:21、25、27、55、57、59、63和67的核酸序列、其互补序列或与SEQ ID NO:21、25、27、55、57、59、63或67之一或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列，其中编码的多肽在人血清不存在或存在或不存在和存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下，抑制铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的生长，或减少铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的种群，或杀死铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种。

[0146] 在另一个方面，本公开涉及分离的多核苷酸，其包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，所述核酸分子包含：

(a)编码第一组分的第一核酸分子，所述第一组分包含：(i)选自以下的溶素：GN76 (SEQ ID NO:203)、GN4 (SEQ ID NO:74)、GN146 (SEQ ID NO:78)、GN14 (SEQ ID NO:124)、任选地具有单个提高pI的突变的GN37 (SEQ ID NO:84)、任选地具有单个点突变的GN316 (SEQ ID NO:22)、溶素Pap2_gp17 (SEQ ID NO:96)、GN329 (SEQ ID NO:26)、GN424 (SEQ ID NO:56)、GN202 (SEQ ID NO:118)、GN425 (SEQ ID NO:58)、GN428 (SEQ ID NO:60)、GN431 (SEQ ID NO:64)、GN486 (SEQ ID NO:66)、GN333 (SEQ ID NO:28)和GN485 (SEQ ID NO:68)、GN123 (SEQ ID NO:173)和GN121 (SEQ ID NO:175)；或(ii)具有溶素活性的多肽，其中所述多肽与SEQ ID NO:203、74、78、124、84、22、96、26、56、118、58、60、64、66、28、68、173或175中的至少一个具有至少80%同一性；或(iii)所述溶素的活性片段；

(b)编码第二组分的第二核酸分子，所述第二组分包含：(i)至少一种选自以下的抗微生物肽(AMP)：Chp1 (SEQ ID NO:133)、Chp2 (SEQ ID NO:70)、CPAR39 (SEQ ID NO:135)、

Chp3 (SEQ ID NO:137)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Chp6 (SEQ ID NO:106)、Chp7 (SEQ ID NO:139)、Chp8 (SEQ ID NO:141)、Chp9 (SEQ ID NO:143)、Chp10 (SEQ ID NO:145)、Chp11 (SEQ ID NO:147)、Chp12 (SEQ ID NO:149)、Gkh1 (SEQ ID NO:151)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Unp1 (SEQ ID NO:153)、Ecp1 (SEQ ID NO:155)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Tma1 (SEQ ID NO:157)、Osp1 (SEQ ID NO:108)、Unp2 (SEQ ID NO:159)、Unp3 (SEQ ID NO:161)、Gkh3 (SEQ ID NO:163)、Unp5 (SEQ ID NO:165)、Unp6 (SEQ ID NO:167)、Spi1 (SEQ ID NO:169)、Spi2 (SEQ ID NO:171)、Ecp3 (SEQ ID NO:177)、Ecp4 (SEQ ID NO:179)、ALCES1 (SEQ ID NO:181)、AVQ206 (SEQ ID NO:183)、AVQ244 (SEQ ID NO:185)、CDL907 (SEQ ID NO:187)、AGT915 (SEQ ID NO:189)、HH3930 (SEQ ID NO:191)、Fen7875 (SEQ ID NO:193)、SBR77 (SEQ ID NO:195)、Bdp1 (SEQ ID NO:197)、LVP1 (SEQ ID NO:199)、Lvp2 (SEQ ID NO:201)、七叶内酯片段(SEQ ID NO:80)、RI12 (SEQ ID NO:88)、TI15 (SEQ ID NO:94)、RI18 (SEQ ID NO:92)、FIRL (SEQ ID NO:114)、LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)、RR12whydro (SEQ ID NO:110)、RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)和阳离子肽(SEQ ID NO:120)，或(ii)具有AMP活性的多肽，其中所述多肽与SEQ ID NO:133、70、135、137、102、106、139、141、143、145、147、149、151、90、153、155、104、157、108、159、161、163、165、167、169、171、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、80、88、94、92、114、76、110、131和120中的至少一个具有至少80%同一性。

[0147] 在一些实施方案中，本公开的分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP构建体的第一组分的核酸分子，其中所述第一组分选自GN394 (SEQ ID NO:48)、GN396 (SEQ ID NO:50)、GN408 (SEQ ID NO:52)和GN418 (SEQ ID NO:54)。

[0148] 在一些实施方案中，本公开的分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP构建体的第二组分的核酸分子，其中所述第二组分选自Chp1 (SEQ ID NO:133)、Chp2 (SEQ ID NO:70)、CPAR39 (SEQ ID NO:135)、Chp3 (SEQ ID NO:137)、Chp4 (SEQ ID NO:102)、Chp6 (SEQ ID NO:106)、Chp7 (SEQ ID NO:139)、Chp8 (SEQ ID NO:141)、Chp9 (SEQ ID NO:143)、Chp10 (SEQ ID NO:145)、Chp11 (SEQ ID NO:147)、Chp12 (SEQ ID NO:149)、Gkh1 (SEQ ID NO:151)、Gkh2 (SEQ ID NO:90)、Unp1 (SEQ ID NO:153)、Ecp1 (SEQ ID NO:155)、Ecp2 (SEQ ID NO:104)、Tma1 (SEQ ID NO:157)、Osp1 (SEQ ID NO:108)、Unp2 (SEQ ID NO:159)、Unp3 (SEQ ID NO:161)、Gkh3 (SEQ ID NO:163)、Unp5 (SEQ ID NO:165)、Unp6 (SEQ ID NO:167)、Spi1 (SEQ ID NO:169)、Spi2 (SEQ ID NO:171)、Ecp3 (SEQ ID NO:177)、Ecp4 (SEQ ID NO:179)、ALCES1 (SEQ ID NO:181)、AVQ206 (SEQ ID NO:183)、AVQ244 (SEQ ID NO:185)、CDL907 (SEQ ID NO:187)、AGT915 (SEQ ID NO:189)、HH3930 (SEQ ID NO:191)、Fen7875 (SEQ ID NO:193)、SBR77 (SEQ ID NO:195)、Bdp1 (SEQ ID NO:197)、LVP1 (SEQ ID NO:199)、Lvp2 (SEQ ID NO:201)、七叶内酯片段(SEQ ID NO:80)、RI12 (SEQ ID NO:88)、TI15 (SEQ ID NO:94)、RI18 (SEQ ID NO:92)、FIRL (SEQ ID NO:114)、LPS结合蛋白的片段(SEQ ID NO:76)、RR12whydro (SEQ ID NO:110)、RI18肽衍生物(SEQ ID NO:131)和阳离子肽(SEQ ID NO:120)，或(ii)具有AMP活性的多肽，其中所述多肽与SEQ ID NO:133、70、135、137、102、106、139、141、143、145、147、149、151、90、153、155、104、157、108、159、161、163、165、167、169、171、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、80、88、94、92、114、76、110、131和120中的至少一个具有至少80%同一性。

[0149] 在一些实施方案中，本公开的分离的多核苷酸进一步包含编码溶素-AMP多肽构建体的至少一种结构稳定组分的核酸分子，以维持所述构建体中的第一和/或第二组分的结构的至少一部分与未缀合的溶素和/或AMP实质上相同。在一些实施方案中，本发明的分离的多核苷酸包含编码至少一种结构稳定组分的核酸分子，其中所述至少一种结构稳定组分是肽，诸如包含甘氨酸和/或丝氨酸残基的肽。在一个实施方案中，所述肽选自TAGGTAGG (SEQ ID NO:72)、IGEM (BBa_K1485002) (SEQ ID NO:82)、PPTAGGTAGG (SEQ ID NO:98)、IGEM +PP (SEQ ID NO:16的残基44-58)和AGAGAGAGAGAGAGAGAS (SEQ ID NO:122)。

[0150] 更具体地，在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN168溶素(SEQ ID NO:2)或具有溶素活性且与SEQ ID NO:2具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽。

[0151] 在一些实施方案中，编码GN168溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:1的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:1或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0152] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN176溶素(SEQ ID NO:4)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:4具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0153] 在一些实施方案中，编码GN176溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:3的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:3或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0154] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN178溶素(SEQ ID NO:6)或编码与SEQ ID NO:6具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0155] 在一些实施方案中，编码GN178溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:5的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:5或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0156] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN218溶素(SEQ ID NO:10)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:10具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0157] 在一些实施方案中，编码GN218溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:9的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:9或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0158] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN223溶素(SEQ ID NO:12)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:12具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0159] 在一些实施方案中，编码GN223溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:11的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:11或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0160] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN239溶素(SEQ ID NO:14)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:14具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0161] 在一些实施方案中，编码GN239溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:13的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:13或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0162] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN243溶素(SEQ ID NO:16)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:16具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0163] 在一些实施方案中，编码GN243溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:15的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:15或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0164] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN280溶素(SEQ ID NO:18)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:18具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0165] 在一些实施方案中，编码GN280溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:17的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:17或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0166] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN281溶素(SEQ ID NO:20)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:20具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0167] 在一些实施方案中，编码GN281溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:19的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:19或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0168] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN349溶素(SEQ ID NO:30)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:30具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0169] 在一些实施方案中，编码GN349溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:29的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:29或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0170] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分

子,其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN351溶素(SEQ ID NO:32)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:32具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0171] 在一些实施方案中,编码GN351溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:31的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:31或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0172] 在一些实施方案中,所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子,其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN352溶素(SEQ ID NO:34)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:34具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0173] 在一些实施方案中,编码GN352溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:33的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:33或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0174] 在一些实施方案中,所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子,其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN353溶素(SEQ ID NO:36)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:36具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0175] 在一些实施方案中,编码GN353溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:35的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:35或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0176] 在一些实施方案中,所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子,其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN357溶素(SEQ ID NO:38)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:38具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0177] 在一些实施方案中,编码GN357溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:37的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:37或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0178] 在一些实施方案中,所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子,其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN359溶素(SEQ ID NO:40)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:40具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0179] 在一些实施方案中,编码GN359溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:39的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:39或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0180] 在一些实施方案中,所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子,其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN369溶素(SEQ ID NO:42)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:42具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0181] 在一些实施方案中,编码GN369溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:41的核酸序列、其

互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:41或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0182] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN370溶素(SEQ ID NO:44)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:44具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0183] 在一些实施方案中，编码GN370溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:43的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:43或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0184] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN371溶素(SEQ ID NO:46)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:46具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0185] 在一些实施方案中，编码GN371溶素的核酸分子包含SEQ ID NO:45的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:45或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0186] 在一些实施方案中，所述分离的多核苷酸包含编码溶素-AMP多肽构建体的核酸分子，其中所述溶素-AMP多肽构建体是GN93溶素(SEQ ID NO:62)或编码具有溶素活性且与SEQ ID NO:62具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的多肽的核酸分子。

[0187] 在一些实施方案中，编码GN93的核酸分子包含SEQ ID NO:61的核酸序列、其互补序列或编码具有溶素活性的多肽且与SEQ ID NO:61或其互补序列具有至少80%、诸如至少85%、诸如至少90%、诸如至少95%、诸如至少98%或诸如至少99%序列同一性的核酸序列。

[0188] 载体和宿主细胞

在另一个方面，本公开涉及载体，所述载体包含含有编码本文公开的任何溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物的核酸分子的分离的多核苷酸或本发明的分离的多核苷酸的互补序列。在一些实施方案中，所述载体是质粒或粘粒。在其他实施方案中，所述载体是病毒载体，其中可以将额外的DNA区段连接至病毒载体中。在一些实施方案中，所述载体可以在其引入的宿主细胞中自主复制。在一些实施方案中，所述载体可以在引入宿主细胞后整合至宿主细胞的基因组中，且由此与宿主基因组一起复制。

[0189] 在一些实施方案中，特定载体，在本文中称为“重组表达载体”或“表达载体”，可以指导与其可操作连接的基因的表达。当多核苷酸序列被置于与另一核苷酸序列的功能关系中时，其被“可操作连接”。例如，如果启动子或调节DNA序列和编码RNA和/或蛋白的DNA序列可操作连接或定位成使得所述启动子或调节DNA序列影响编码或结构DNA序列的表达水平，则所述启动子或调节DNA序列被称为“可操作连接”至编码RNA和/或蛋白的DNA序列。可操作连接的DNA序列通常但不一定是连续的。

[0190] 通常，适合于在宿主中维持、繁殖或表达多肽的任何系统或载体都可用于表达本发明的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物。可以通过任何各种众所周知和常规的技术、诸如例如Sambrook等人，编，*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*

(第3版), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory (2001)中所述的那些,将适当的DNA/多核苷酸序列插入表达系统中。另外,也可以将标签添加至本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物以提供方便的分离方法,例如c-myc、生物素、多-His等。用于此类表达系统的试剂盒是商业可得的。

[0191] 各种各样的宿主/表达载体组合可用于表达编码本发明的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物的多核苷酸序列。大量的合适载体是本领域技术人员已知的,并且是商业可得的。例如在Sambrook等编辑,*Molecular Cloning:A Laboratory Manual*(第3版),1-3卷,Cold Spring Harbor Laboratory(2001)中提供了合适的载体的实例。此类载体尤其包括,染色体、附加体和病毒衍生的载体,例如,衍生自以下的载体:细菌质粒、细菌噬菌体、转座子、酵母附加体、插入元件、酵母染色体元件、病毒、诸如杆状病毒、乳多空病毒(papova virus)、诸如SV40、牛痘病毒、腺病毒、禽痘病毒、伪狂犬病病毒和逆转录病毒,以及衍生自其组合的载体,诸如衍生自质粒和细菌噬菌体遗传元件、诸如粘粒和噬菌粒的载体。

[0192] 此外,所述载体可以提供本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物的组成型或诱导型表达。合适的载体包括但不限于SV40和已知的细菌质粒的衍生物,例如大肠杆菌质粒colE1、pCR1、pBR322、pMB9和它们的衍生物,质粒、诸如RP4、pBAD24和pBAD-TOPO;噬菌体DNAS,例如噬菌体A的许多衍生物,例如NM989和其他噬菌体DNA,例如M13和丝状单链噬菌体DNA;酵母质粒、诸如2D质粒或其衍生物;可用于真核细胞中的载体,诸如可用于昆虫或哺乳动物细胞中的载体;衍生自质粒和噬菌体DNA的组合的载体,诸如已经修饰为使用噬菌体DNA或其他表达控制序列的质粒;等等。上述载体中的许多可从供应商、诸如New England Biolabs Inc.、Addgene, Takara Bio Inc.、ThermoFisher Scientific Inc.等商业可得。

[0193] 另外,载体可以包含各种调节元件(包括启动子、核糖体结合位点、终止子、增强子、用于控制表达水平的各种顺式元件),其中载体根据宿主细胞而构建。各种各样的表达控制序列(控制与其可操作地连接的多核苷酸序列的表达的序列)中的任何一种可用于这些载体中以表达编码本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物的多核苷酸序列。有用的控制序列包括但不限于:SV40、CMV、牛痘、多瘤或腺病毒的早期或晚期启动子、lac系统、trp系统、TAC系统、TRC系统、LTR系统、噬菌体A的主要操作子和启动子区域、fd包衣蛋白的控制区域、3-磷酸甘油酯激酶或其他糖分解酶的启动子、酸性磷酸酶(例如Pho5)的启动子、酵母交配因子的启动子、用于在细菌中表达的大肠杆菌启动子、和已知控制原核或真核细胞或其病毒的基因表达的其他启动子序列,及其各种组合。通常,编码溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物的多核苷酸序列可操作地连接至异源启动子或调节元件。

[0194] 在另一个方面,本公开涉及宿主细胞,其包含本文公开的任何载体,包括包含编码本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物的多核苷酸序列的表达载体。各种各样的宿主细胞可用于表达本发明的多肽。适用于表达本发明的多肽的宿主细胞的非限制性实例包括众所周知的真核和原核宿主,诸如大肠杆菌、假单胞菌属、芽孢杆菌属、链霉菌属的菌株,真菌,诸如酵母,和动物细胞,诸如CHO、R1.1、B-W和L-M细胞、非洲绿猴肾细胞(例如COS1、COS7、BSC1、BSC40和BMT10)、昆虫细胞(例如Sf9)以及组织培养物中的人

细胞和植物细胞。尽管表达宿主可以是任何已知的表达宿主细胞，但在一个典型的实施方案中，表达宿主是大肠杆菌菌株之一。这些包括但不限于商业可得的大肠杆菌菌株、诸如Top10 (ThermoFisher Scientific, Inc.)、DH5a (Thermo Fisher Scientific, Inc.)、XLI-Blue (Agilent Technologies, Inc.)、SCS110 (Agilent Technologies, Inc.)、JM109 (Promega, Inc.)、LMG194 (ATCC)和BL21 (Thermo Fisher Scientific, Inc.)。

[0195] 使用大肠杆菌作为宿主系统存在几个优点，包括：快速生长动力学，其中在最佳环境条件下，其倍增时间为约20分钟(Sezonov等人，*J. Bacterial.* 189 8746-8749 (2007))，容易实现高密度培养，用外源DNA容易且快速转化等。关于大肠杆菌中蛋白表达的详细信息，包括质粒选择以及菌株选择，由Rosano, G.和Ceccarelli, E.，*Front Microbial.*, 5: 172 (2014)详细讨论。

[0196] 本发明的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物的有效表达取决于各种因素，诸如最佳表达信号(在转录和翻译水平二者)、正确的蛋白折叠和细胞生长特征。关于用于构建载体的方法和用于将构建的重组载体转导入宿主细胞的方法，可以使用本领域中已知的常规方法。尽管理解并非所有载体、表达控制序列和宿主将同样良好地发挥功能以表达编码本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物的多核苷酸序列，但在不脱离本公开的范围的情况下，本领域技术人员将能够选择合适的载体、表达控制序列和宿主，而无需过多实验以完成期望的表达。

[0197] 在一些实施方案中，本发明人已经发现表达水平和表达的多肽的活性之间的相关性；特别是在大肠杆菌表达系统中，中等水平的表达(例如，约1和10 mg/升之间)已经产生溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物，其活性水平高于在大肠杆菌中以较高水平表达的那些(例如，约20和约100mg/升之间)，后者有时产生完全无活性的多肽。

[0198] 通过众所周知的方法，包括硫酸铵或乙醇沉淀、酸提取、阴离子或阳离子交换色谱、磷酸纤维素色谱、疏水相互作用色谱、亲和色谱、羟基磷灰石色谱和凝集素色谱，可以从重组细胞培养物回收和纯化本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物。高效液相色谱也可用于溶素多肽纯化。

[0199] 或者，用于产生本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物的载体系统可以是无细胞表达系统。各种无细胞表达系统是商业可得的，包括但不限于可得自Promega、LifeTechnologies、Clonetech等的那些。

[0200] 如上所示，当提到蛋白生产和纯化时，存在许多选择。在蛋白生产和纯化中待考虑的合适方法和策略的实例提供于WO 2017/049233，其通过引用以其整体并入本文，并且进一步提供于Structural Genomics Consortium等人，*Nat. Methods.*, 5(2): 135-146 (2008)。

[0201] 药物组合物

在另一个方面，本公开涉及药物组合物，其包含有效量的如本文所述的溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物以及药学上可接受的载体。在一些实施方案中，本发明的药物组合物包括至少一种选自以下的活性：在人血清不存在和/或存在的情况下或在肺表面活性剂存在的情况下，抑制铜绿假单胞菌细菌生长，减少铜绿假单胞菌细菌种群和/或杀死铜绿假单胞菌。

[0202] 在一些实施方案中，本发明的药物组合物进一步包含一种或多种适合于治疗革兰

氏阴性细菌的抗生素。典型的抗生素包括头孢他啶、头孢吡肟、头孢哌酮、头孢吡普、环丙沙星、左氧氟沙星、氨基糖苷类、亚胺培南、美罗培南、多利培南、庆大霉素、妥布霉素、阿米卡星、哌拉西林、替卡西林、青霉素、利福平、多粘菌素B和粘菌素中的一种或多种。额外的合适的抗生素描述于表3中。

[0203] 在一些实施方案中，所述药物组合物是溶液剂、悬浮剂、乳剂、可吸入粉末、气溶胶或喷雾剂。本公开的药物组合物可以采取溶液剂、悬浮剂、乳剂、片剂、丸剂、丸粒、胶囊剂、含有液体的胶囊剂、粉剂、缓释制剂、栓剂、棉条应用乳剂、气溶胶、喷雾剂、悬浮剂、锭剂、含片、糖果、注射剂、口香糖、软膏、涂布剂、定时释放的贴剂、吸收液体的湿巾及其组合的形式。

[0204] 本公开的药物组合物的施用可以是局部的，即，在期望其作用之处直接应用所述药物组合物(例如直接应用至伤口)。本公开的局部组合物可以进一步包含药学上或生理学上可接受的载体，诸如皮肤病学或耳可接受的载体。在皮肤病学可接受的载体的情况下，此类载体优选地与皮肤、指甲、粘膜、组织和/或毛发相容，并且可以包括满足这些要求的任何常规使用的皮肤病学载体。在耳可接受的载体的情况下，所述载体优选地与耳朵的所有部分相容。本领域普通技术人员可以容易地选择此类载体。

[0205] 用于局部施用本文公开的溶素、其活性片段和/或溶素-AMP多肽构建体的载体包括但不限于矿物油、液体石油、白色石油、丙二醇、聚氧乙烯和/或聚氧丙烯化合物、乳化蜡、山梨糖醇酐单硬脂酸酯、聚山梨酯60、鲸蜡酯蜡、鲸蜡硬脂醇、2-辛基十二烷醇、苯甲醇和水。在配制皮肤软膏剂时，本公开的活性组分可以配制在油质烃基质、无水吸收基质、油包水吸收基质、水包油水可移除基质和/或水溶性基质中。在配制耳用组合物时，本公开的活性组分可以配制在包括载体的水性聚合悬浮液中，所述载体诸如葡聚糖、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、多糖凝胶、Gelrite®、纤维素聚合物、诸如羟丙基甲基纤维素和含羧基聚合物、诸如丙烯酸的聚合物或共聚物，以及其他聚合缓和剂。

[0206] 根据公开的局部组合物可以呈适合于局部应用的任何形式，包括水性、水性-醇性、或油性溶液，洗剂或精华液分散体，水性、无水或油性凝胶，通过将脂肪相分散于水相(OAV或水包油)或相反(W/O或油包水)中获得的乳液、微乳液或者可替代地微囊、微粒或者离子型和/或非离子型的脂质囊泡分散体，乳膏，洗剂，凝胶剂，泡沫剂(其将通常需要加压罐、合适的涂抹器、乳化剂和惰性推进剂)，香精，奶类产品，悬浮剂或贴剂。本公开的局部组合物还可以含有助剂，诸如亲水或亲脂胶凝剂、亲水或亲脂活性剂、防腐剂、抗氧化剂、溶剂、香味剂、填料、防晒剂、气味吸收剂和染料。在一个进一步方面，所述局部组合物可以与能够粘附至受试者的皮肤或其他组织或以其他方式与受试者的皮肤或其他组织缔合的装置、诸如经皮贴片、敷料、垫、包裹物、基质和绷带结合施用，其能够递送治疗有效量的根据公开的一种或多种抗细菌多肽。

[0207] 在一些实施方案中，本公开的局部组合物另外包含用于治疗局部烧伤的一种或多种组分。此类组分通常包括但不限于丙二醇水凝胶；二醇、纤维素衍生物和水溶性铝盐的组合；防腐剂；抗生素；和皮质类固醇。还可添加湿润剂(诸如固体或液体蜡酯)、吸收促进剂(诸如亲水性粘土、或淀粉)、粘性增加剂(viscocity building agent)和皮肤保护剂。局部制剂可以呈冲洗剂、诸如漱口水的形式。参见例如WO2004/004650。

[0208] 在一些实施方案中，本公开的药物组合物的施用可以是全身的。全身施用可以是

肠内或口服的(即,物质经由消化道给予),肠胃外(即,物质通过除了消化道以外的其他途径、诸如通过注射或吸入给予)。因此,可以将本公开的多肽(包括溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物)口服、肠胃外、通过吸入、局部、直肠、经鼻、经颊或经由植入的储库或通过任何其他已知方法施用于受试者。本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物也可以通过持续释放剂型的方式施用。

[0209] 对于口服施用,可以将本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物配制成固体或液体制剂,例如片剂、胶囊剂、粉末、溶液剂、混悬剂和分散剂。所述溶素、其活性片段和/或溶素-AMP多肽构建体可以与赋形剂、诸如例如乳糖、蔗糖、玉米淀粉、明胶、马铃薯淀粉、海藻酸和/或硬脂酸镁一起配制。

[0210] 为了制备固体组合物、诸如片剂和丸剂,将本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物与药物赋形剂混合以形成固体预配制组合物。如果期望,片剂可以通过标准技术被糖包衣或肠溶包衣。片剂或丸剂可以被包衣或以其他方式复合以提供赋予延长作用的优点的剂型。例如,片剂或丸剂可以包括内部剂量和外部剂量组分,后者呈前者上的包膜的形式。两种剂量组分可以通过肠溶层分开,所述肠溶层用于抵抗胃中的崩解并允许内部组分完整地进入十二指肠或延迟释放。各种材料可用于此类肠溶层或包衣,此类材料包括许多聚合酸和聚合酸与诸如虫胶、鲸蜡醇和醋酸纤维素的材料的混合物。

[0211] 本公开的药物组合物也可以通过注射施用。例如,可以肌内、鞘内、真皮下、皮下或静脉内施用所述药物组合物,以治疗革兰氏阴性细菌的感染,更具体地由铜绿假单胞菌引起的感染。所述药学上可接受的载体可以由蒸馏水、盐水溶液、白蛋白、血清或其任何组合构成。另外,肠胃外注射剂的药物组合物可以包含pH缓冲溶液、助剂(例如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂)、脂质体制剂、纳米颗粒、分散体、悬浮液或乳液,以及用于在临使用前重构为无菌可注射溶液或分散体的无菌粉末。

[0212] 在肠胃外注射是所选择的施用模式的情况下,使用等渗制剂。通常,用于等渗性的添加剂可以包括氯化钠、右旋糖、甘露糖醇、山梨糖醇和乳糖。在一些情况下,优选等渗溶液、诸如磷酸盐缓冲盐水。稳定剂可以包括明胶和白蛋白。可以将血管收缩剂添加至所述制剂中。提供根据该类型应用的药物制剂,其为无菌且无热原的。

[0213] 在另一个实施方案中,本公开的药物组合物是可吸入组合物。在一些实施方案中,本发明的药物组合物被有利地配制为干燥的可吸入粉末。在具体实施方案中,本发明的药物组合物可以进一步与用于气溶胶递送的推进剂一起配制。合适的推进剂的实例包括但不限于:二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯-四氟乙烷和二氧化碳。在某些实施方案中,可以将制剂雾化。

[0214] 可以将表面活性剂添加至本公开的可吸入药物组合物中以降低药物和推进剂之间的表面和界面张力。所述表面活性剂可以是与本发明的多肽不反应的任何合适的无毒化合物。

[0215] 合适的表面活性剂的实例包括但不限于:油酸;脱水山梨糖醇三油酸酯;氯化鲸蜡基吡啶;大豆卵磷脂;聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单月桂酸酯;聚氧乙烯(10)硬脂基醚;聚氧乙烯(2)油基醚;聚氧丙烯-聚氧乙烯乙二胺嵌段共聚物;聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单硬脂酸酯;聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单油酸酯;聚氧丙烯-聚氧乙烯嵌段共聚物;蓖麻油乙氧基化物;及其组合。

[0216] 在一些实施方案中，所述可吸入药物组合物包括赋形剂。合适的赋形剂的实例包括但不限于：乳糖、淀粉、中链脂肪酸的丙二醇二酯；中链、短链或长链脂肪酸的甘油三酯，或其任何组合；全氟二甲基环丁烷；全氟环丁烷；聚乙二醇；薄荷醇；丙二醇单月桂酸甘油酯(lauroglycol)；二甘醇单乙基醚；中链脂肪酸的聚乙二醇化甘油酯；醇；桉树油；短链脂肪酸；及其组合。

[0217] 在一些实施方案中，本公开的药物组合物包括鼻用制剂。鼻用制剂包括例如鼻用喷雾剂、滴鼻剂、鼻用软膏剂、洗鼻液、鼻用注射液、鼻用填充物、支气管喷雾剂和吸入剂、或间接通过使用咽喉锭剂、漱口水或漱口剂、或通过使用涂敷至鼻孔或面部的软膏，或这些和类似应用方法的任何组合。

[0218] 在另一个实施方案中，本公开的药物组合物包含补充剂，包括一种或多种抗微生物剂和/或一种或多种常规抗生素。为了加速感染的治疗或加强抗细菌效果，含有本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物的治疗剂可以进一步包括至少一种补充剂，所述补充剂也可以加强该肽的杀细菌活性。所述补充剂可以是一种或多种用于治疗革兰氏阴性细菌的抗生素。在一个实施方案中，所述补充剂是用于治疗由铜绿假单胞菌引起的感染的抗生素或抗微生物剂。

[0219] 本公开的药物组合物可以以单位剂型呈现并且可以通过本领域中众所周知的任何方法来制备。可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将根据所治疗的宿主、接受者暴露于感染性细菌的持续时间、受试者的体型和重量，和具体施用模式而不同。可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将通常是产生治疗效果的每种化合物的量。通常，在百分之一百中，活性成分的总量将范围为约百分之一至约百分之九十九，优选地约百分之五至约百分之七十，最优选地约百分之十至约百分之三十。

[0220] 剂量和施用

施用的剂量取决于许多因素，包括所治疗的感染的活性，待治疗的受试者的年龄、健康和一般身体状况，特定的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物的活性；根据本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物与其配对的抗生素(如果有的话)的性质和活性，以及这种配对的组合效果。通常，预期待施用的本发明的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物的有效量可以落入1-50 mg/kg (或1至50毫克/ml)的范围内，其每天1-4次施用，持续最长达14天的时段。如果还使用抗生素，则将以标准给药方案或鉴于协同作用以较低量施用抗生素。然而，所有此类剂量和方案(不论是所述溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物还是与其结合施用的任何抗生素)都进行优化。可以通过进行体外和体内试验性效力实验确定最佳剂量，如在本领域的技能之内，但将本公开纳入考虑。

[0221] 考虑本发明的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物提供杀细菌作用，并且当以较小量使用时，提供抑细菌作用，并且针对一定范围的抗生素抗性细菌有活性，并且与抗性进化无关。基于本公开，在临床环境中，本发明的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物是用于单独或与抗生素(甚至是已对其发展抗性的抗生素)一起治疗由药物抗性和多药抗性细菌引起的感染的组合物的有效替代物(或添加剂或组分)。革兰氏阴性细菌的现有抗性机制不应影响对本发明的多肽的裂解活性的敏感性。

[0222] 在一些实施方案中，暴露于本发明的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段

或衍生物的时间可以影响每ml的活性多肽单位的期望浓度。被分类为“长”或“慢”释放载体(诸如例如某些鼻用喷雾剂或锭剂)的载体可以具有或提供每ml的更低浓度的多肽单位,但经历更长时间段,而“短”或“快”释放载体(诸如例如漱口液)可以具有或提供每ml的高浓度多肽单位(微克),但经历更短时间段。存在这样的情况,其中具有高得多的单位/ml剂量或更低的单位/ml剂量可以是期望的。

[0223] 对于本公开的任何多肽,可以在细胞培养测定中或在动物模型(通常是小鼠、兔、狗或猪)中初始地估计治疗有效剂量。动物模型也可用于获得期望的浓度范围和施用途径。获得的信息然后可用于确定在人中的有效剂量以及施用途径。可以进一步调整剂量和施用以提供足够水平的活性成分或维持期望效果。可以纳入考虑的额外的因素包括疾病状态的严重程度,患者的年龄、重量和性别;饮食,期望的治疗持续时间,施用方法,施用的时间和频率,药物组合,反应灵敏度,和对疗法的耐受性/应答,以及治疗医师的判断。

[0224] 治疗方案可以使得有必要每日(例如,每天一次、两次、三次等),每隔一天(例如每隔一天一次、两次、三次等)、每半周、每周、每两周一次、一个月一次等施用。在一个实施方案中,治疗可以作为连续输注给予。单位剂量可以在多个时机施用。如通过监测临床症状所示,间隔也可以是不规则的。或者,单位剂量可以作为缓释制剂施用,在这种情况下需要较少频率的施用。剂量和频率可以根据患者变化。本领域技术人员将理解,此类指南将根据局部施用,例如鼻内、吸入、直肠等,或全身施用,例如口服、直肠(例如经由灌肠)、i.m.(肌内)、i.p.(腹膜内)、i.v.(静脉内)、s.c.(皮下),经尿道等而调整。

[0225] 方法

在另一个方面,本公开涉及治疗由如本文所述的铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的一种或多种额外物种引起的细菌感染的方法,其包括向诊断为具有细菌感染、处于细菌感染的风险中或表现出细菌感染的症状的受试者施用如本文所述的药物组合物。在一个方面,所述细菌感染是其中存在肺表面活性剂的器官或组织的感染。

[0226] 术语“感染”和“细菌感染”意在包括呼吸道感染(RTI),诸如患者中的呼吸道感染,所述患者具有囊性纤维化(CF),下呼吸道感染,诸如慢性支气管炎的急性恶化(ACEB),急性鼻窦炎,社区获得性肺炎(CAP),医院获得性肺炎(HAP)和医院呼吸道感染;性传播疾病,诸如淋球菌性宫颈炎和淋球菌性尿道炎;尿道感染;急性中耳炎;败血症,包括新生儿败血症和导管相关的败血症;和骨髓炎。还考虑由药物抗性细菌和多药抗性细菌引起的感染。

[0227] 由铜绿假单胞菌引起的感染的非限制性实例可以包括:A)医院感染:1.呼吸道感染,特别是在囊性纤维化患者和机械通气患者中;2.菌血症和败血症;3.伤口感染,尤其是烧伤受害者的那些;4.泌尿道感染;5.侵入性装置上的手术后感染;6.静脉内施用受污染的药物溶液引起的心内膜炎;7.具有获得性免疫缺陷综合征、癌症化疗、类固醇疗法、血液恶性肿瘤、器官移植、肾脏替换疗法和具有严重中性粒细胞减少症的其他病况的患者中的感染。B)社区获得性感染:1.社区获得性呼吸道感染;2.脑膜炎;3.由受污染的水引起的毛囊炎和耳道感染;4.老年人和糖尿病患者中的恶性外耳炎;5.儿童中跟骨的骨髓炎;6.通常与被污染的隐形眼镜相关的眼部感染;7.皮肤感染,诸如手经常暴露于水的人中的指甲感染;8.胃肠道感染;和9.肌肉骨骼系统感染。

[0228] 本发明的方法的革兰氏阴性细菌的一种或多种额外物种可以包括如本文所述的革兰氏阴性细菌的任何额外物种。通常,革兰氏阴性细菌的额外物种选自以下中的一种或

多种:鲍氏不动杆菌,溶血不动杆菌,放线共生放线杆菌,嗜水气单胞菌,拟杆菌属物种,诸如,脆弱拟杆菌,多形拟杆菌(*Bacteroides theataioatamicron*),吉氏拟杆菌,椭圆形拟杆菌,普通拟杆菌,五日热巴尔通体,百日咳博德特氏菌,布鲁氏菌属物种,诸如,马尔他布鲁氏菌,伯克霍尔德菌属物种,诸如,洋葱伯克霍尔德菌,假鼻疽伯克霍尔德菌,和鼻疽伯克霍尔德菌,梭杆菌属,人体普雷沃氏菌,中间普雷沃氏菌,*Prevotella endodontalis*,不解糖卟啉单胞菌,空肠弯曲杆菌,胎儿弯曲杆菌,大肠弯曲杆菌,衣原体属物种,诸如肺炎衣原体和沙眼衣原体,弗氏柠檬酸杆菌,克氏柠檬酸杆菌,伯纳特氏立克次氏体,爱德华氏菌属物种,诸如,迟缓爱德华菌,侵蚀艾肯菌,肠杆菌属物种,诸如,阴沟肠杆菌,产气肠杆菌和聚团肠杆菌,大肠杆菌,土拉热弗朗西斯氏菌,流感嗜血杆菌,杜氏雷嗜血杆菌,幽门螺杆菌,金氏金氏菌,克雷伯氏菌属物种,诸如,肺炎克雷伯氏菌,产酸克雷伯氏菌,鼻硬结克雷伯氏菌和臭鼻克雷伯氏菌,嗜肺军团菌,莫拉克斯氏菌属物种,诸如,卡他莫拉菌,摩根氏菌属物种,诸如,摩氏摩根氏菌,淋病奈瑟氏菌,脑膜炎奈瑟氏菌,铜绿假单胞菌,多杀巴斯德氏菌,类志贺邻单胞菌,奇异变形菌,普通变形菌,彭氏变形菌,产粘变形菌,普罗维登斯菌属物种,诸如,斯氏普罗威登斯菌,雷氏普罗威登斯菌,产碱普罗威登斯菌,荧光假单胞菌,伤寒沙门氏菌,鼠伤寒沙门氏菌,副伤寒沙门氏菌,沙雷氏菌属物种,诸如,粘质沙雷氏菌,志贺氏菌属物种,诸如,福氏志贺氏菌,鲍氏志贺氏菌,宋内志贺氏菌和痢疾志贺氏菌,嗜麦芽寡养单胞菌,念珠状链杆菌,霍乱弧菌,副溶血性弧菌,创伤弧菌,溶藻弧菌,小肠结肠炎耶尔森氏菌,鼠疫耶尔森氏菌,假结核耶尔森氏菌,肺炎衣原体,沙眼衣原体,普氏立克次氏体,伯纳特氏立克次氏体,恰菲埃里希氏体和/或汉氏巴尔通氏体。

[0229] 更通常地,革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种选自以下中的一种或多种:鲍氏不动杆菌、百日咳博德特氏菌、洋葱伯克霍尔德菌、假鼻疽伯克霍尔德菌、鼻疽伯克霍尔德菌、空肠弯曲杆菌、大肠弯曲杆菌、阴沟肠杆菌、产气肠杆菌、大肠杆菌、土拉热弗朗西斯氏菌、流感嗜血杆菌、杜氏雷嗜血杆菌、幽门螺杆菌、肺炎克雷伯氏菌、嗜肺军团菌、卡他莫拉菌、摩氏摩根氏菌、淋病奈瑟氏菌、脑膜炎奈瑟氏菌、多杀巴斯德氏菌、奇异变形杆菌、普通变形杆菌、伤寒沙门氏菌、粘质沙雷氏菌、福氏志贺氏菌、鲍氏志贺氏菌、宋内志贺氏菌、痢疾志贺氏菌、嗜麦芽寡养单胞菌、霍乱弧菌和/或肺炎衣原体。

[0230] 甚至更通常地,革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种选自以下中的一种或多种:鼠伤寒沙门氏菌、伤寒沙门氏菌、志贺氏菌属物种、大肠杆菌、鲍氏不动杆菌、肺炎克雷伯氏菌、淋病奈瑟氏菌、脑膜炎奈瑟氏菌、沙雷氏菌属物种,奇异变形杆菌、摩氏摩根氏菌、普罗维登斯菌属物种、爱德华菌属物种、耶尔森氏菌属物种、流感嗜血杆菌、五日热巴尔通体、布鲁氏菌属物种、百日咳博德特氏菌、伯克霍尔德菌属物种、莫拉克斯氏菌属物种、土拉热弗朗西斯氏菌、嗜肺军团菌、伯纳特氏立克次氏体、拟杆菌属物种、肠杆菌属物种和/或衣原体属物种。

[0231] 又甚至更通常地,革兰氏阴性细菌的一种或多种额外物种是克雷伯氏菌属物种、肠杆菌属物种、大肠杆菌、弗氏柠檬酸杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、鼠疫耶尔森氏菌和/或土拉热弗朗西斯氏菌。

[0232] 在一些实施方案中,革兰氏阴性细菌的感染导致局部感染,诸如局部细菌感染,例如皮肤伤口。在其他实施方案中,所述细菌感染是全身性病原性细菌感染。常见的革兰氏阴性病原体和相关的感染列于本公开的表2中。这些意欲充当可以用本发明的溶素、其活性片

段和溶素-AMP多肽构建体治疗、减轻或预防的细菌感染的实例，并且无意进行限制。

[0233] 表2．医学相关的革兰氏阴性细菌和相关疾病。

鼠伤寒沙门氏菌	胃肠道(GI)感染-沙门氏菌病
志贺氏菌属物种	志贺氏菌病
大肠杆菌	尿道感染(UTis)
鲍氏不动杆菌	伤口感染
铜绿假单胞菌	血流感染和肺炎
肺炎克雷伯氏菌	UTis和血流感染
淋病奈瑟氏菌	性传播疾病(STD)-淋病
脑膜炎奈瑟氏菌	脑膜炎
沙雷氏菌属物种	导管污染、UTIs和肺炎
奇异变形杆菌	UTIs
摩根氏菌属物种	UTIs
普罗维登斯菌属物种	UTIs
爱德华菌属物种	UTIs
伤寒沙门氏菌	GI感染 - 伤寒热
鼠疫耶尔森氏菌	淋巴腺鼠疫和肺炎性鼠疫
小肠结肠炎耶尔森氏菌	GI感染
假结核耶尔森氏菌	GI感染
流感嗜血杆菌	脑膜炎
五日热巴尔通体	战壕热
布鲁氏菌属物种	布鲁氏菌病
百日咳博德特氏菌	呼吸道-百日咳
伯克霍尔德菌属物种	呼吸道
莫拉克斯氏菌属物种	呼吸道
土拉热弗朗西斯氏菌	土拉菌病
嗜肺军团菌	呼吸道-军团菌病
伯纳特氏立克次氏体	Q热
拟杆菌属物种	腹部感染
肠杆菌属物种	UTis和呼吸道
衣原体属物种	STDs、呼吸道和眼科
大肠杆菌、肺炎克雷伯氏菌、不动杆菌属物种、奇异变形杆菌和/或铜绿假单胞菌	植入物、导管、假体关节和其他医疗装置的感染

[0234] 。

[0235] 在一些实施方案中，本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物用于治疗处于由于铜绿假单胞菌和/或另一种革兰氏阴性细菌而获得感染的风险中的受试者。处于获得铜绿假单胞菌或其他革兰氏阴性细菌感染的风险中的受试者包括，例如，囊性纤维化患者、中性粒细胞减少症患者、具有坏死性小肠结肠炎的患者、烧伤受害者、具有伤口感染的患者，以及更通常，医院环境中的患者，尤其是手术患者和在使用可植入医疗装置(诸如导管，例如中心静脉导管、Hickman装置或电生理心脏装置(例如起搏器和可植入除颤器)进行治疗的患者。处于被革兰氏阴性细菌(包括铜绿假单胞菌)感染的风险中的其他患者群体包括但不限于具有植入的假体、诸如全关节置换术(例如全膝或髋关节置换术)的患者。

[0236] 在另一个方面，本公开涉及预防或治疗细菌感染的方法，其包括向诊断为具有细菌感染、处于细菌感染的风险中或表现出细菌感染的症状的受试者共同施用第一有效量的含有有效量的如本文所述的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物的组合物和第二有效量的适合于治疗革兰氏阴性细菌感染的抗生素的组合。

[0237] 如在本领域的技术之内，本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或

衍生物可以与标准护理抗生素或与最后手段的抗生素单独或以各种组合共同施用。针对铜绿假单胞菌使用的传统抗生素描述于表3中。用于其他革兰氏阴性细菌、诸如克雷伯氏菌属物种、肠杆菌属物种、大肠杆菌、弗氏柠檬酸杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、鼠疫耶尔森氏菌和土拉热弗朗西斯氏菌的抗生素与表3中对于铜绿假单胞菌提供的抗生素是类似的。

[0238] 表3．用于治疗铜绿假单胞菌的抗生素

类别	药剂
青霉素类	替卡西林-克拉维酸盐 哌拉西林-他唑巴坦
头孢菌素类	头孢他啶 头孢吡肟 头孢哌酮
单环内酰胺类	氨曲南
氟喹诺酮类	环丙沙星 左氧氟沙星
碳青霉烯类	亚胺培南 美罗培南 多利培南
氨基糖苷类	庆大霉素 妥布霉素 阿米卡星
多粘菌素类	粘菌素 多粘菌素B
大环内酯类	阿奇霉素
利福霉素	利福平
磷霉素	磷霉素

。

[0239] 在更具体实施方案中，所述抗生素选自头孢他啶、头孢吡肟、头孢哌酮、头孢吡普、环丙沙星、左氧氟沙星、氨基糖苷类、亚胺培南、美罗培南、多利培南、庆大霉素、妥布霉素、阿米卡星、哌拉西林、替卡西林、青霉素、利福平、多粘菌素B和粘菌素中的一种或多种。在某些实施方案中，所述抗生素是美罗培南。

[0240] 组合本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物与抗生素提供了有效的抗细菌方案。在一些实施方案中，本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物与一种或多种抗生素的共同施用可以在溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物或抗生素中的任一或两者的降低的剂量和量、和/或降低的频率和/或治疗持续时间下实施，具有加强的杀细菌和抑细菌活性、降低的抗生素抗性风险，并具有降低的有害的神经或肾脏副作用(诸如与粘菌素或多粘菌素B使用有关的那些)的风险。先前的研究已经显示，粘菌素的总累积剂量与肾脏损害有关，表明使用与溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物的组合疗法的剂量的减少或治疗持续时间的缩短可以降低肾毒

性的发生率(Spapen等人,*Ann IntensiveCare*. 1: 14 (2011),其通过引用以其整体并入本文)。如本文所用,术语"减少的剂量"是指与用相同活性成分的单一疗法相比的组合中的一种活性成分的剂量。在一些实施方案中,组合中溶素、其活性片段和溶素-AMP多肽构建体或抗生素的剂量相比于各自的单一疗法可以是次优的或甚至亚阈值的。

[0241] 在一些实施方案中,本公开提供了通过向受试者施用本文公开的一种或多种溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物连同目标抗生素,与单独使用的一种或多种抗生素的活性相比,加强所述抗生素针对革兰氏阴性细菌的抗生素活性的方法。该组合针对细菌是有效的并允许克服针对该抗生素的抗性和/或以较低剂量使用该抗生素,减少不期望的副作用,诸如多粘菌素B的肾毒性和神经毒性作用。

[0242] 任选地与本公开的抗生素组合的溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物可以进一步与革兰氏阴性细菌的外膜的额外透化剂组合,所述透化剂包括但不限于金属螯合剂,诸如例如EDTA、TRIS、乳酸、乳铁蛋白、多粘菌素、柠檬酸(Vaara M. *Microbial Rev*. 56(3):395-441 (1992),其通过引用以其整体并入本文)。

[0243] 在又另一个方面,本公开涉及抑制革兰氏阴性细菌的至少一种物种的生长,或减少革兰氏阴性细菌的至少一种物种的种群或杀死革兰氏阴性细菌的至少一种物种的方法,所述方法包括使所述细菌与含有有效量的如本文所述的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物的组合物接触,其中所述溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物抑制铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的生长,或减少铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种的种群,或杀死铜绿假单胞菌和任选地革兰氏阴性细菌的至少一种其他物种。

[0244] 在一些实施方案中,抑制革兰氏阴性细菌的至少一种物种的生长,或减少革兰氏阴性细菌的至少一种物种的种群,或杀死革兰氏阴性细菌的至少一种物种包括使细菌与如本文所述的溶素、其活性片段和/或溶素-AMP多肽构建体接触,其中所述细菌存在于例如医疗装置、医院和其他健康相关或公共使用建筑中的地板、楼梯、墙壁和工作台面的表面以及手术室、急诊室、病房、诊所和浴室等中的设备的表面上。

[0245] 可使用本文所述的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物保护的医疗装置的实例包括但不限于管道和其他表面医疗装置,诸如导尿管、粘液提取导管、抽吸导管、脐带插管、隐形眼镜、子宫内装置、阴道内和肠内装置、气管内管、支气管镜、牙齿假体和牙齿矫正装置、手术器械、牙科器械、管道、牙科用水线、织物、纸张、指示条(例如纸指示条或塑料指示条)、粘合剂(例如水凝胶粘合剂、热融粘合剂或基于溶剂的粘合剂)、绷带、组织敷料或愈合装置和闭塞贴片,以及医疗领域中使用的任何其他表面装置。装置可以包括各种类型的电极、外部假体、固定带、压迫绷带和监视器。医疗装置还可以包括可以放置在插入或植入部位处的任何装置,所述部位诸如插入或植入部位附近的皮肤,并且其可以包括易感于革兰氏阴性细菌的定殖的至少一个表面。

[0246] 可以如本文所述在体内或体外使用的本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物也可用于治疗由于革兰氏阴性细菌、诸如铜绿假单胞菌导致的与生物膜形成相关的细菌感染。

[0247] 例如,在一些实施方案中,本发明的溶素-AMP多肽、溶素多肽、变体、其活性片段或衍生物可用于预防、控制、破坏和/或根除由革兰氏阴性细菌、诸如铜绿假单胞菌形成的细

菌生物膜。当微生物细胞彼此粘附并嵌入表面上的细胞外聚合物质(EPS)的基质中时,生物膜形成发生。微生物在富含生物大分子(例如多糖、核酸和蛋白)和营养素的这种受保护环境中的生长允许增强的微生物串扰(cross-talk)和增加的毒力。生物膜可以在任何支持环境(包括活体和非生命体表面、诸如CF肺的粘液栓、污染的导管、隐形眼镜等)中发展(Sharma等人. *Biologicals*, 42(1):1-7 (2014),其通过引用以其整体并入本文)。因此,在一个实施方案中,当细菌被细菌生物膜保护时,本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物可用于预防、控制、破坏、根除和治疗由于革兰氏阴性细菌、诸如铜绿假单胞菌导致的细菌感染。

[0248] 更具体地,在一些方面,本公开涉及用于预防、破坏或根除革兰氏阴性细菌生物膜的方法,其包括使表面(包括生物或非生物表面)与包含有效杀死革兰氏阴性细菌的本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物的组合物接触,其中有效地预防、破坏或根除生物膜。

[0249] 在一些方面,本公开涉及用于预防、破坏或根除革兰氏阴性细菌生物膜的方法,其包括向有此需要的受试者施用组合物,其中所述组合物包含有效杀死表面上的革兰氏阴性细菌的本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物,其中有效地预防、破坏或根除生物膜。

[0250] 在一些实施方案中,所述表面是生物表面,诸如固体生物表面,例如皮肤。在其他实施方案中,所述表面是非生物表面。在一些实施方案中,所述表面是以下的表面:医疗装置,诸如隐形眼镜;药物泵,植入物,包括牙科植入物,心脏植入物,诸如起搏器,假体心脏瓣膜,心室辅助装置,合成血管移植物和支架;导管,包括腹膜透析导管,用于血液透析和用于长期施用化学治疗剂的留置导管(Hickman导管),导尿管和假体装置,包括尿道假体,假关节;整形外科材料以及气管和呼吸机管路。

[0251] 在一些实施方案中,所述受试者患有与生物膜相关的革兰氏阴性细菌感染。此类细菌感染包括如本文所述的扁桃体炎、骨髓炎、细菌性心内膜炎、鼻窦炎、角膜的感染、尿道感染、胆道的感染、感染性肾结石、尿道炎、前列腺炎、中耳感染、牙菌斑的形成、牙龈炎、牙周炎、囊性纤维化、伤口感染(尤其是与糖尿病相关的伤口)和医疗装置的感染,包括导管感染和关节假体和心脏瓣膜的感染。

[0252] 在一些实施方案中,用于治疗生物膜感染的组合物包含一种或多种如本文所述的抗生素。在其他实施方案中,将如本文所述的本发明的溶素或其活性片段或其变体或衍生物与一种或多种如本文所述的抗生素同时施用于受试者和/或与表面接触。在其他实施方案中,将本公开的溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物以及一种或多种如本文所述的抗生素以任何顺序依次施用于受试者和/或与表面接触。在一些实施方案中,本公开的本发明的溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物以及一种或多种如本文所述的抗生素可以单一或组合地,在单个剂量或多个剂量中施用于受试者和/或与表面接触。

[0253] 在一些实施方案中,本发明的组合物用于预防生物膜形成。在这些实施方案中,接触的表面可以含有生物膜,可以不含生物膜,或者仅含有最少量的建立的生物膜。在一些实施方案中,根据本文所述的任何机理预防在表面上从头形成生物膜。

[0254] 在一些实施方案中,接触的表面包含生物膜,且所述生物膜被破坏或根除。在一些

实施方案中，根除包括杀死生物膜中的细菌，包括持久细菌。在其他实施方案中，本公开的本发明的溶素-AMP多肽、溶素多肽、其变体、活性片段或衍生物不仅杀死生物膜内的细菌，因此根除生物膜，而且破坏或毁坏生物膜基质。该能力是有利的，因为甚至在活细菌不存在的情况下，基质也经常变得被快速重新感染。

实施例

[0255] 实施例1. 溶素和溶素-AMP多肽构建体在补充有人血清的培养基中的活性。

[0256] 材料和方法

将革兰氏阴性细菌，例如铜绿假单胞菌，在酪蛋白氨基酸(CAA)培养基(5 g/L酪蛋白氨基酸, Ameresco/VWR; 5.2 mM K2HPO4, Sigma-Aldrich; 1 mM MgSO4, Sigma-Aldrich)、补充有150 mM NaCl的CAA、补充有2.5%人血清(AB型，男性，合并的;Sigma-Aldrich)的CAA、补充有12.5%人血清的CAA和补充有6.25% Survanta®的CAA中进行培养和测试。对于补充有12.%人血清和6.25% Survanta®的CAA两者，评估一系列的铜绿假单胞菌分离株。6.25% Survanta®对应于1.5 mg/mL磷脂。

[0257] *最小抑制浓度(MIC)的测定*

使用由Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), CLSI. 2015. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-10th Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA定义的标准培养液微量稀释参考方法的修改版测定MIC值。所述修改版基于用CAA培养基(有或没有NaCl)、补充有2.5%人血清的CAA(表4)、补充有12.5%人血清的CAA(表A)或补充有6.25% Survanta®的CAA(表B)替换Mueller Hinton培养液。MIC是与对照相比足以抑制至少80%的细菌生长的肽的最小浓度。

[0258] 结果

这些实验的结果概述于下表4、A和B中。表4还提供了本发明的多肽的分子量和等电点。通过比较各种多肽的序列和组分，可以确定特定结构修饰对等电点(较高的pI有利于外膜穿透)和活性(如通过MIC所评价)的影响。

[0259] 例如，可以看到单个点突变对GN316 (SEQ ID NO:22)的影响。GN394 (SEQ ID NO:48)在CAA中具有较低的pI和较高的活性，但在具有人血清的CAA中具有较低的活性。对于GN396 (SEQ ID NO:50)，人血清中的活性降低较少，而在人血清存在和不存在的情况下，GN408 (SEQ ID NO:52)都显著更有效。另一方面，GN418 (SEQ ID NO:54)在未补充的CAA培养基中丧失活性，但在人血清存在的情况下获得功效。

[0260] 在人血清不存在和存在的情况下，GN217 (SEQ ID NO:8)中的单个点突变使其功效提高超过GN37。对GN37 (SEQ ID NO:84)的修饰(产生GN218 (SEQ ID NO:10)、GN223 (SEQ ID NO:12)、GN239 (SEQ ID NO:14)和GN243 (SEQ ID NO:16))在人血清存在的情况下导致非常强的活性。基于其他多肽的序列和组分的比较，可以得出类似的观察。

[0261] 实施例2. 抗生素和溶素或溶素-AMP多肽构建体之间的协同作用。

[0262] 在棋盘测定中，使用补充有如本文所述的人血清的CAA培养基，使用碳青霉烯抗性的临床菌株WC-452检测GN76 (SEQ ID NO:203)、GN121 (SEQ ID NO:175)、GN123 (SEQ ID NO:173)、GN351 (SEQ ID NO:32)、GN370 (SEQ ID NO:44)和GN428 (SEQ ID NO:60)和12种

不同的抗生素之间的协同作用。对于所有组合测定分数抑制剂浓度指数(FICI)值;<0.5的值指示协同作用。

[0263] 如下表5中所示,前述溶素和溶素-AMP构建体在广泛范围的抗生素间是协同作用的。对于亚胺培南,协同作用与对碳青霉烯抗生素的重新敏化一致。

[0264] 实施例3. 使用抗生素与溶素的组合使对碳青霉烯抗性的临床菌株重新敏化。

[0265] 通过将前述溶素各自与两种碳青霉烯(即亚胺培南(IPM)或美罗培南(MEM))组合来评价GN121 (SEQ ID NO:175)或GN123 (SEQ ID NO:173)对碳青霉烯抗性的铜绿假单胞菌菌株重新敏化的能力。评价最多达七种碳青霉烯抗性的分离株。重新敏化发生在协同组合中,其中碳青霉烯MIC值低于确立的断点,例如对于碳青霉烯敏感的分离株的≤2的MIC值,对于中等敏感的碳青霉烯分离株的4的MIC值,和对于碳青霉烯抗性的分离株的≥8的MIC值。参见Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), CLSI. 2019. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 29th Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA。

[0266] 如表6-9中所示,与GN123 (SEQ ID NO:173)或GN121(SEQ ID NO:175)的协同组合表明,对于所检查的七种碳青霉烯中的每一种,IPM和MEM MICS降低至低于断点值。这些观察与重新敏化一致。

[0267] 实施例4. 使用抗生素与其他的溶素或溶素-AMP构建体的组合,碳青霉烯抗性的临床分离株的重新敏化。

[0268] 通过将下述溶素或溶素-AMP多肽构建体各自与IPM或MEM组合来评价GN351 (SEQ ID NO:32)、GN370 (SEQ ID NO:44)或GN428 (SEQ ID NO:60)使碳青霉烯抗性的临床菌株对碳青霉烯重新敏化的能力。评价碳青霉烯抗性的分离株WC-452。如以上实施例3中所示,重新敏化发生在协同组合中,其中碳青霉烯MIC值降至低于前述断点。

[0269] 如表10中所示,与GN351 (SEQ ID NO:32)、GN370 (SEQ ID NO:44)或GN428 (SEQ ID NO:60)的协同组合表明对于WC-452,IPM和MEM MICS降低至低于断点值。这些观察结果与重新敏化一致。

[0270] 实施例3和4中的发现表明,本文所述的溶素和溶素-AMP多肽构建体可以使铜绿假单胞菌对碳青霉烯抗生素重新敏化,在体外使MIC低于断点值。溶素和溶素-AMP多肽构建体使抗生素抗性的菌株对常规抗生素重新敏化的这种新型能力表明这些生物制剂作为抗击和逆转抗微生物抗性的治疗剂的益处。

[0271] 表A -溶素或溶素-AMP多肽构建体在人血清中的活性

铜绿假单胞菌菌株	美罗培南MIC (μg/mL)	CAA + 12.5%人血清MIC (μg/mL)			
		GN121	GN351	GN370	GN428
CFS 1292	32	1	1	2	2
CFS 1557 (PA19)	32	2	4	4	4
CFS 1558 (PA20)	16	0.5	1	0.5	2
CFS 1559 (PA21)	>32	1	2	2	2
CFS 1560 (PA22)	16	1	2	2	2
CFS 1561 (PA23)	16	1	2	2	2
CFS 1562 (PA24)	>32	1	2	2	2
CFS 1766 (ATCC 27853)	1	2	2	4	4
CFS1539 (PA1)	16	0.5	0.5	1	1
CFS 1540 (PA2)	16	0.5	0.5	1	1
CFS 1541 (PA3)	8	0.5	0.5	1	1
CFS 1596 (PA26)	0.5	0.5	1	1	1
CFS 1597 (PA27)	1	0.5	0.5	0.5	0.5
CFS 1669 (PA41)	<0.25	1	1	2	2
CFS 1674 (PA46)	4	0.5	1	2	2
CFS 1675 (PA47)	4	0.5	0.5	1	1
CFS 1109 (ATCC 17646)	0.5	0.5	1	1	1

。

[0272] 表B -肺表面活性剂(Survanta®)中的活性

铜绿假单胞菌菌株	对于CAA + 6.25%人血清的MIC的倍数变化			
	GN121	GN351	GN370	GN428
CFS 1292	1	2	1	1
CFS 1557 (PA19)	2	1	0.5	0.5
CFS 1558 (PA20)	2	2	1	1
CFS 1559 (PA21)	2	2	1	1
CFS 1560 (PA22)	2	2	1	1
CFS 1561 (PA23)	1	1	1	1
CFS 1562 (PA24)	2	1	0.5	1
CFS 1766 (ATCC 27853)	1	1	1	2
CFS1539 (PA1)	1	1	0.5	0.5
CFS 1540 (PA2)	1	1	1	1
CFS 1541 (PA3)	2	2	1	1
CFS 1596 (PA26)	2	2	1	1
CFS 1597 (PA27)	2	1	0.5	0.5
CFS 1669 (PA41)	2	0.5	0.5	0.5
CFS 1674 (PA46)	2	2	0.5	1
CFS 1675 (PA47)	1	0.5	0.5	0.5
CFS 1109 (ATCC 17646)	2	1	1	1

。

[0273] 表4．溶素或溶素-AMP多肽构建体在人血清中的敏感性

MIC (mg/mL)				
GN #	**MW**	**pI**	**CAA MIC (mg/mL)**	**CAA/HuS MIC (mg/mL)**
GN168 (SEQ ID NO: 2)	22299.78	11.6	8	N.D.
GN176 (SEQ ID NO: 4)	19370	9.8	8	N.D.
GN178 (SEQ ID NO: 6)	19290.04	9.7	8	4
GN217 (SEQ ID NO: 8)	13879.91	9.4	4	0.125
GN218 (SEQ ID NO: 10)	16038.43	9.8	8	1
GN223 (SEQ ID NO: 12)	18570.35	10.3	32	2
GN239 (SEQ ID NO: 14)	16836.42	10.2	4	0.25
GN243 (SEQ ID NO; 16)	18880.02	10.5	32	0.5
GN280 (SEQ ID NO: 18)	17928.9	10.2	4	0.5
GN281 (SEQ ID NO: 20)	18188.07	10.2	2	0.5
GN316 (SEQ ID NO: 22)	28672.72	8.7	16	0.125
GN329 (SEQ ID NO: 26)	20810.83	8.9	4	0.25
GN333 (SEQ ID NO: 28)	20918.79	8.9	8	0.06
GN349 (SEQ ID NO: 30)	34169.19	9.5	16	1
GN351 (SEQ ID NO: 32)	33866.76	9.9	8	0.125
GN352 (SEQ ID NO: 34)	33398.27	8.9	4	0.5
GN353 (SEQ ID NO: 36)	33485.42	8.9	4	0.25
GN357 (SEQ ID NO: 38)	30891.39	9.3	16	0.25
GN359 (SEQ ID NO: 40)	31094.67	8.7	8	0.25
GN369 (SEQ ID	30934.63	8.8	8	0.0625

NO: 42)				
GN370 (SEQ ID NO: 44)	19140.86	10.7	16	4
GN371 (SEQ ID NO: 46)	17530.95	8.7	>32	0.5
GN394 (SEQ ID NO: 48)	28659.62	7.5	8	0.5
GN396 (SEQ ID NO: 50)	28659.62	7.5	8	0.25
GN408 (SEQ ID NO: 52)	28653.66	7.8	2	0.125
GN418 (SEQ ID NO: 54)	28659.62	7.5	32	0.06
GN424 (SEQ ID NO: 56)	29118.75	8.4	ND	ND
GN425 (SEQ ID NO: 58)	29895.81	7.5	2	0.25
GN428 (SEQ ID NO: 60)	28814.89	8.9	8	0.125
GN93 (SEQ ID NO: 62)	22959.07	9.6	128	8
GN431 (SEQ ID NO: 64)	28715.73	8.5	8	0.0625
GN486 (SEQ ID NO: 66)	17.8	10.6	2	0.125
GN485 (SEQ ID NO: 68)	8.312	9.8	n.d.	n.d.

。

[0274] 表5. 抗生素和溶素或溶素-AMP多肽构建体之间的协同作用

抗生素	GN76 (SEQ ID NO: 203) (MIC)	GN121(SEQ ID NO: 175) (MIC)	GN123(SEQ ID NO: 173) (MIC)	GN351 (SEQ ID NO: 32) (MIC)	GN370 (SEQ ID NO: 44) (MIC)	GN428 (SEQ ID NO: 60) (MIC)
阿米卡星	0.281	0.375	0.250	0.250	0.125	0.281
阿奇霉素	0.156	0.188	0.125	0.125	0.188	0.250
氨曲南	0.281	0.625	0.375	0.125	0.188	0.156
环丙沙星	0.281	0.313	0.375	0.375	0.281	0.125
粘菌素	0.250	0.046	0.188	0.046	0.046	0.094
磷霉素	0.125	0.375	0.250	0.500	0.375	0.313
庆大霉素	0.313	0.375	0.375	0.125	0.250	0.250
亚胺培南	0.254	0.375	0.188	0.156	0.094	0.188
美罗培南	0.375	0.313	0.125	0.188	0.125	0.188
哌拉西林	0.375	0.375	0.500	0.281	0.125	0.375
利福平	0.281	0.313	0.156	0.250	0.250	0.500
妥布霉素	0.281	0.188	0.188	0.153	0.188	0.188

。

[0275] 表6. 使用IMIPENEM和GN123 (SEQ ID NO:173)的组合的革兰氏阴性细菌重新敏化

	亚胺培南 MIC (μg/mL)		GN123 (μg/mL)		
分离株	单独	组合	单独	组合	FICI
PA19	32 (R)	0.5 (S)	8	0.125	0.03
额外的碳青霉烯R分离株的分析：					
PA20	16 (R)	1(S)	16	2	0.188
PA21	32 (R)	0.5(S)	8	1	0.141
PA22	16 (R)	2(S)	16	1	0.188
PA23	8 (R)	0.25(S)	8	2	0.281
PA24	32 (R)	2(S)	16	2	0.188
WC-452	16 (R)	1(S)	16	2	0.188

。

(R) = 抗性的 (S)= 敏感的

[0276] 表7．使用美罗培南和GN123 (SEQ ID NO:173)的组合的革兰氏阴性细菌重新敏化

	美罗培南 MIC (μg/mL)		GN123 (μg/mL)		
分离株	单独	组合	单独	组合	FICI
PA19	32 (R)	0.5 (S)	8	0.25	0.046
PA20	16 (R)	0.5 (S)	16	1	0.094
PA21	32 (R)	1 (S)	8	1	0.156
PA22	16 (R)	1(S)	16	1	0.125
PA23	16 (R)	0.5 (S)	8	1	0.156
PA24	32 (R)	2 (S)	16	0.5	0.094
WC-452	16 (R)	1 (S)	16	1	0.125

(R) = 抗性的；(S)= 敏感的。

[0277] 表8．使用亚胺培南和GN121 (SEQ ID NO:175)的组合的革兰氏阴性细菌重新敏化

	亚胺培南 MIC (μg/mL)		GN121 (μg/mL)		
分离株	单独	组合	单独	组合	FICI
PA19	32 (R)	1 (S)	1	0.125	0.155
PA20	16 (R)	0.5 (S)	1	0.25	0.265
PA21	32 (R)	1 (S)	1	0.125	0.155
PA22	32 (R)	2 (S)	2	0.25	0.188
PA23	16 (R)	0.125 (S)	1	0.25	0.257
PA24	32 (R)	1(S)	1	0.125	0.155

(R) = 抗性的 (S)= 敏感的

[0278] 表9．使用美罗培南和GN121 (SEQ ID NO:175)的组合的革兰氏阴性细菌重新敏化

	美罗培南 MIC (μg/mL)		GN121 (μg/mL)		
分离株	单独	组合	单独	组合	FICI
PA19	32 (R)	1	2	0.5	0.281
PA20	16 (R)	1	2	0.5	0.313
PA21	32 (R)	2	1	0.125	0.188
PA22	16 (R)	1	1	0.25	0.313
PA23	16 (R)	2	2	0.5	0.375
PA24	32 (R)	1	1	0.125	0.156
WC-452	16 (R)	1	1	0.06	0.123

。

(R) = 抗性的 (S)= 敏感的

[0279] 表10. 使用MEM或IPM和GN351 (SEQ ID NO:32)、GN370 (SEQ ID NO:44)或GN428 (SEQ ID NO:60)的组合的革兰氏阴性细菌重新敏化

组合 vs. WC-452	抗生素MIC		溶素MIC		
	单独	组合	单独	组合	FICI
IPM+GN351	16 (R)	0.5 (S)	1	0.125	0.156
IPM+GN370	16 (R)	0.5 (S)	2	0.125	0.094
IPM+GN428	16 (R)	1(S)	2	0.25	0.188
MEM+GN351	16 (R)	1(S)	1	0.125	0.188
MEM+GN370	16 (R)	0.5(S)	2	0.125	0.125
MEM+GN428	16 (R)	1(S)	2	0.25	0.188

。

[0280] 实施例5. 人血清和肺表面活性剂中针对铜绿假单胞菌的革兰氏阴性溶素杀细菌活性

使用并入人血清或肺表面活性剂的标准体外敏感性测试形式，评估本文所述的四种抗假单胞菌溶素GN121、GN351、GN370和GN428的细菌裂解活性的进一步表征。通过荧光和透射电子显微镜(TEM)进一步评估革兰氏阴性溶素作用的机制，如实施例6和7中所讨论。

[0281] *材料和方法*：通过在补充有人血清和肺表面活性剂(Survanta®; Myoderm Clinical Supplies)的培养基中，通过培养液微量稀释测定MIC。在棋盘测定中检查与抗生素的协同作用，并且使用标准方法测定最小生物膜根除浓度(MBEC)。使用补充有12.5%人血清的CAA测量MBEC。在进行LIVE/DEAD染色(ThermoFisher)和TEM之后进行荧光显微镜检查。

[0282] *结果*：观察到革兰氏阴性溶素在人血清和肺表面活性剂(Survanta®)中的活性。在单独的标准AST形式培养基(25%酪蛋白氨基酸培养基，具有0.25 mM $MgSO_4$)中且在12.5%人血清和0.78% Survanta®存在的情况下，测定溶素MIC值。0.78%的Survanta®浓度代表肺表面活性剂的生理水平。铜绿假单胞菌菌株CFS-1292(美罗培南抗性的)用作报告菌株。如下表11中所示，得出结论：革兰氏阴性溶素GN121、GN351、GN428和GN370在人血清和肺表面活性剂中是活性的。同样，如下表C中所示，使用12.5%人血清，所述溶素和AMP-溶素多肽构建体表现出有效的抗生物膜作用，其中MBEC值≤1μg/mL，与对于MIC观察到的那些相似。

[0283] 表11 -溶素在单独和补充有人血清或肺表面活性剂的培养基(25% CAA)中的MIC值

克隆	革兰氏阴性溶素	25% CAA MIC	CAA中的人血清(12.5%)中的MIC (μg/mL)	0.78% Survanta® 中的MIC (μg/mL)
1525	GN121	1	0.5	2
1799	GN351	1	0.0625	4
1876	GN428	4	0.125	4
1818	GN370	4	2	2

[0284] 表C -溶素和溶素-AMP多肽构建体的MBEC值

溶素或溶素-AMP多肽构建体	补充有12.5%人血清的CAA中的MBEC (μg/mL)
GN121	0.25
GN351	0.5
GN428	1
GN370	1

[0285] 以MIC测定形式在一定范围浓度的Survanta®下测量革兰氏阴性溶素在肺表面活性剂(Survanta®)存在的情况下的活性。在补充至AST-形式(25% SAA)中的各种浓度的Survanta® (25%、12.5%、6.25%、3.12%、1.56%、0.78%和0.39%)存在的情况下MIC的倍数变

化显示于表12中。倍数变化基于MIC值与单独的25% CAA中测定的MIC值的比较。肺表面活性剂的生理浓度范围为0.78%和0.39%之间。铜绿假单胞菌菌株CFS-1292(美罗培南抗性的)用作报告菌株。得出结论:在生理水平的肺表面活性剂(Survanta®)存在的情况下,测试的革兰氏阴性溶素是活性的。

[0286] 表12 -在Survanta®存在的情况下的倍数增加(MIC)

革兰氏阴性溶素	CAA MIC (μg/mL)	% Survanta®						
		25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39
GN121	2	4	2	2	2	1	1	1
GN351	2	2	2	2	1	1	1	1
GN428	4	4	2	1	1	1	1	1
GN370	4	4	2	2	1	1	1	1

。

[0287] 评估在二价阳离子存在的情况下革兰氏阴性溶素的活性,并以MIC测定形式检查生理浓度的二价阳离子的影响。在补充至AST培养基(25% CAA)中的各种浓度的阳离子(1.25 mM $CaCl_2$,0.78 mM $MgCl_2$,1.25 mM $CaCl_2$和0.78 mM $MgCl_2$的组合)存在的情况下,测量MIC的倍数变化。结果显示于下表13中。注意,25% CAA通常具有0.25 nM $MgSO_4$。铜绿假单胞菌菌株CFS-1292(美罗培南抗性的)用作报告菌株。得出结论:在生理水平的钙和镁存在的情况下,测试的革兰氏阴性溶素是活性的。

[0288] 表13 -在阳离子存在的情况下的倍数增加(MIC)

		25% CAA,其补充有:		
革兰氏阴性溶素	25% CAA	1.25 mM $CaCl_2$	0.78 mM $MgCl_2$	1.25 mM $CaCl_2$ 和 0.78 mM $MgCl_2$
GN121	1	2	2	2
GN351	1	2	1	2
GN428	4	2	4	4
GN370	4	4	2	4

。

[0289] 实施例6. 革兰氏阴性溶素使细菌外膜去稳定的能力

通过使用N-苯基-1-萘胺(NPN)摄取测定法,评估革兰氏阴性溶素使铜绿假单胞菌的外膜去稳定的能力。参见Dassanayake, R.P. 等人, Antimicrobial activity of bovine NK-lysin-derived peptides on *Mycoplasma bovis*, PLOS One 2018; 9(1):e86364。收获指数期铜绿假单胞菌(CFS 1292),洗涤,且重悬浮于pH 7.4的5 mM 4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸(HEPES)缓冲液和5 mM葡萄糖中。添加NPN至10 mM的最终浓度。以100 μg/孔的最终浓度添加革兰氏阴性溶素,包括GN121、GN351、GN428和GN370。经两小时,记录荧光的变化(激发l = 350 nm;发射l = 420 nm)。并入膜中的NPN导致荧光的增强。如图2A和2B中所示,革兰氏阴性溶素介导细菌细胞壁的外膜的破坏。每种革兰氏阴性溶素的数据显示于下表14中。

[0290] 表14 -暴露于NPN和革兰氏阴性溶素的铜绿假单胞菌随时间的荧光

以分钟计的时间	%RFU				
	缓冲液	GN121	GN351	GN428	GN370
5	100	370	381	194	205
10	100	500	406	242	217
20	100	528	407	271	213
40	100	530	386	250	198
60	100	565	383	183	193
100	100	557	338	137	184

。

[0291] 实施例7. 显微镜检查显示血清中的革兰氏阴性溶素的杀细菌性

将铜绿假单胞菌1292菌株用GN121 (10μg/mL)或缓冲液对照在100%人血清中处理15分钟。将样品使用活/死细胞活力试剂盒(ThermoFisher)染色,并通过微分干涉反差(DIC)和荧光显微镜检查。如图3(其显示一系列显微照片,所述显微照片显示显微镜分析(2000倍放大))中所描绘,在未处理的行中不存在死细菌,且在经处理的行中存在活细菌的减少。

[0292] 实施例8. 人血清中的革兰氏阴性溶素和美罗培南的协同作用

进行标准的棋盘测定以评价在人血清存在的情况下革兰氏阴性溶素与美罗培南的协同作用。将铜绿假单胞菌菌株CFS 1292、1557 (PA19)、1558 (PA20) CFS 1559 (PA21)、CFS 1560 (PA22)、CFS 1561 (PA23)、CFS 1562 (PA24)和CFS 1766 (ATCC 27853)悬浮于25% CAA和12.5%人血清的溶液中,并通过测量分数抑制浓度指数(FICI)值来评估协同作用。小于或等于0.5的FICI值与有效的协同作用一致。如下表15中所示,对于评估的三种铜绿假单胞菌菌株中的每一种,GN121、GN351、GN370和GN428全部都表现出与美罗培南的协同作用。

[0293] 表15 -在人血清中的美罗培南和革兰氏阴性溶素之间的协同作用

菌株	革兰氏阴性溶素	FICI值 (轮次#1)	FICI值 (轮次#2)
CFS 1292	GN121	0.25	0.292
	GN351	0.1875	0.219
	GN370	0.1875	0.219
	GN428	0.1875	0.219
CFS 1557 (PA19)	GN121	0.375	0.427
	GN351	0.25	0.292
	GN370	0.1875	0.240
	GN428	0.15625	0.198
CFS 1558 (PA20)	GN121	0.125	0.156
	GN351	0.15625	0.177
	GN370	0.09375	0.109
	GN428	0.09375	0.135
CFS 1559 (PA21)	GN121	--	0.229
	GN351	--	0.177
	GN370	--	0.438
	GN428	--	0.396

菌株	革兰氏阴性溶素	FICI值 (轮次#1)	FICI值 (轮次#2)
CFS 1560 (PA22)	GN121	--	0.313
	GN351	--	0.323
	GN370	--	0.198
	GN428	--	0.229
CFS 1561 (PA23)	GN121	--	0.198
	GN351	--	0.240
	GN370	--	0.240
	GN428	--	0.323
CFS 1562 (PA24	GN121	--	0.214
	GN351	--	0.177
	GN370	--	0.240
	GN428	--	0.198
CFS 1766 (ATCC 27853)	GN121	--	0.229
	GN351	--	0.109
	GN370	--	0.156
	GN428	--	0.156

。

[0294] 实施例9. 对GN溶素的抗性的低倾向性

在另一项实验中，在21天的连续传代抗性测定中，确定革兰氏阴性细菌没有发展对GN121、GN351、GN370和GN428的抗性。在连续21天的连续传代中，在GN-溶素稀释系列存在的情况下(一式两份)，使用铜绿假单胞菌(菌株WC-452)进行细菌抗性的分析。简而言之，使用培养液微量稀释MIC形式，其中将2倍稀释范围的GN溶素与细菌(5x10e6 CFU/ml起始浓度)在CAA培养液中在37℃下培养18小时。然后将具有其中看到细菌生长的最高浓度的GN溶素的孔用作用于第二天的传代的接种物，并且在21天时段内重复该过程。记录每个每天时间点的MIC，并且测量作为逐步增加的MIC的抗性。

[0295] 在该测定中，GN121、GN351、GN370和GN428溶素MIC在18天内增加最多达1-$\log_2$稀释度(2倍)，这与传代对照(未处理)相当。图4A-4D。相比之下，环丙沙星对照在18天内增加4-$\log_2$稀释度(16倍)(图4E)。D'Lima等人还发现环丙沙星MIC在连续传代期间增加。参见D'Lima *et al.*, 2012, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56: 2753-2755，其报告环丙沙星MIC在21天连续传代内增加最多达32倍。我们的结果与GN溶素抗性的低倾向性一致，这与用革兰氏阳性溶素观察到的相似。参见，例如，PCT/US19/19638，其在2019年2月26日提交，并且通过引用以其整体并入本文。

序列表

<110> CONTRAFECT CORPORATION

<120> 溶素-抗微生物肽(AMP)多肽构建体、溶素、其分离的编码多核苷酸及其用途

<130> 0341.0021-00-304

<150> PCT/US19/024916
<151> 2019-03-29

<150> 62/722,793
<151> 2018-08-24

<150> 62/721,969
<151> 2018-08-23

<150> 62/650,235
<151> 2018-03-29

<150> 62860836
<151> 2019-06-13

<150> 62849320
<151> 2019-05-17

<160> 204

[0001]

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 636
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(162)
<223> GN168溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(612)

<400> 1

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg agg tta aaa atg gca cga aga aga       54
                               Met Arg Leu Lys Met Ala Arg Arg Arg
                               1               5

tac aga ctt ccg cga cgt aga agt cga aga ctt ttt tca aga act gca       102
Tyr Arg Leu Pro Arg Arg Arg Ser Arg Arg Leu Phe Ser Arg Thr Ala
10                  15                  20                  25
```

```
ttg agg atg cat cca aga aat agg ctt cga aga att atg cgt ggc ggc          150
Leu Arg Met His Pro Arg Asn Arg Leu Arg Arg Ile Met Arg Gly Gly
                30                  35                  40

att agg ttc acc gcg ggc ggc acc gcg ggc ggc cgt aca tcc caa cga          198
Ile Arg Phe Thr Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly Arg Thr Ser Gln Arg
            45                  50                  55

ggc atc gac ctc atc aaa tcc ttc gag ggc ctg cgc ctg tcc gct tac          246
Gly Ile Asp Leu Ile Lys Ser Phe Glu Gly Leu Arg Leu Ser Ala Tyr
        60                  65                  70

cag gac tcg gtg ggt gtc tgg acc ata ggt tac ggc acc act cgg ggc          294
Gln Asp Ser Val Gly Val Trp Thr Ile Gly Tyr Gly Thr Thr Arg Gly
    75                  80                  85

gtc acc cgc tac atg acg atc acc gtc gag cag gcc gag cgg atg ctg          342
Val Thr Arg Tyr Met Thr Ile Thr Val Glu Gln Ala Glu Arg Met Leu
90                  95                  100                 105

tcg aac gac att cag cgc ttc gag cca gag cta gac agg ctg gcg aag          390
Ser Asn Asp Ile Gln Arg Phe Glu Pro Glu Leu Asp Arg Leu Ala Lys
                110                 115                 120

gtg cca ctg aac cag aac cag tgg gat gcc ctg atg agc ttc gtg tac          438
Val Pro Leu Asn Gln Asn Gln Trp Asp Ala Leu Met Ser Phe Val Tyr
            125                 130                 135
```

[0002]

```
aac ctg ggc gcg gcc aat ctg gcg tcg tcc acg ctg ctc gac ctg ctg          486
Asn Leu Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser Ser Thr Leu Leu Asp Leu Leu
        140                 145                 150

aac aag ggt gac tac cag gga gca gcg gac cag ttc ccg cat tgg gtg          534
Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp Gln Phe Pro His Trp Val
    155                 160                 165

aat gcg ggc ggt aag cgc ttg gat ggt ctg gtt aag cgt cga gca gcc          582
Asn Ala Gly Gly Lys Arg Leu Asp Gly Leu Val Lys Arg Arg Ala Ala
170                 175                 180                 185

gag cgt gcg ctg ttc ctg gag cca cta tcg tgataaaagc ttggctgttt          632
Glu Arg Ala Leu Phe Leu Glu Pro Leu Ser
                190                 195

tggc                                                                   636
```

<210> 2
<211> 195
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 2

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

Ser Arg Arg Leu Phe Ser Arg Thr Ala Leu Arg Met His Pro Arg Asn
20 25 30

Arg Leu Arg Arg Ile Met Arg Gly Gly Ile Arg Phe Thr Ala Gly Gly
35 40 45

Thr Ala Gly Gly Arg Thr Ser Gln Arg Gly Ile Asp Leu Ile Lys Ser
50 55 60

Phe Glu Gly Leu Arg Leu Ser Ala Tyr Gln Asp Ser Val Gly Val Trp
65 70 75 80

Thr Ile Gly Tyr Gly Thr Thr Arg Gly Val Thr Arg Tyr Met Thr Ile
85 90 95

Thr Val Glu Gln Ala Glu Arg Met Leu Ser Asn Asp Ile Gln Arg Phe
100 105 110

[0003]

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

Trp Asp Ala Leu Met Ser Phe Val Tyr Asn Leu Gly Ala Ala Asn Leu
130 135 140

Ala Ser Ser Thr Leu Leu Asp Leu Leu Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly
145 150 155 160

Ala Ala Asp Gln Phe Pro His Trp Val Asn Ala Gly Gly Lys Arg Leu
165 170 175

Asp Gly Leu Val Lys Arg Arg Ala Ala Glu Arg Ala Leu Phe Leu Glu
180 185 190

Pro Leu Ser
195

<210> 3
<211> 567
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(543)

<220>
<221> misc_feature
<222> (29)..(543)
<223> GN 176溶素

<400> 3

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg agc ttt aac gtg acc ccg aaa ttt       54
                               Met Ser Phe Asn Val Thr Pro Lys Phe
                               1               5

aaa cgc tgg cag ctg tat ttt cgc ggc cgc atg tgg acc gcg ggc ggc       102
Lys Arg Trp Gln Leu Tyr Phe Arg Gly Arg Met Trp Thr Ala Gly Gly
10                  15                  20                  25

acc gcg ggc ggc cgt aca tcc caa cga ggc atc gac ctc atc aaa tcc       150
Thr Ala Gly Gly Arg Thr Ser Gln Arg Gly Ile Asp Leu Ile Lys Ser
                30                  35                  40

ttc gag ggc ctg cgc ctg tcc gct tac cag gac tcg gtg ggt gtc tgg       198
Phe Glu Gly Leu Arg Leu Ser Ala Tyr Gln Asp Ser Val Gly Val Trp
            45                  50                  55

acc ata ggt tac ggc acc act cgg ggc gtc acc cgc tac atg acg atc       246
Thr Ile Gly Tyr Gly Thr Thr Arg Gly Val Thr Arg Tyr Met Thr Ile
        60                  65                  70

acc gtc gag cag gcc gag cgg atg ctg tcg aac gac att cag cgc ttc       294
Thr Val Glu Gln Ala Glu Arg Met Leu Ser Asn Asp Ile Gln Arg Phe
    75                  80                  85

gag cca gag cta gac agg ctg gcg aag gtg cca ctg aac cag aac cag       342
Glu Pro Glu Leu Asp Arg Leu Ala Lys Val Pro Leu Asn Gln Asn Gln
90                  95                  100                 105

tgg gat gcc ctg atg agc ttc gtg tac aac ctg ggc gcg gcc aat ctg       390
Trp Asp Ala Leu Met Ser Phe Val Tyr Asn Leu Gly Ala Ala Asn Leu
                110                 115                 120

gcg tcg tcc acg ctg ctc gac ctg ctg aac aag ggt gac tac cag gga       438
Ala Ser Ser Thr Leu Leu Asp Leu Leu Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly
            125                 130                 135

gca gcg gac cag ttc ccg cat tgg gtg aat gcg ggc ggt aag cgc ttg       486
Ala Ala Asp Gln Phe Pro His Trp Val Asn Ala Gly Gly Lys Arg Leu
        140                 145                 150

gat ggt ctg gtt aag cgt cga gca gcc gag cgt gcg ctg ttc ctg gag       534
Asp Gly Leu Val Lys Arg Arg Ala Ala Glu Arg Ala Leu Phe Leu Glu
    155                 160                 165
```

[0004]

cca cta tcg tgataaaagc ttggctgttt tggc 567
Pro Leu Ser
170

<210> 4
<211> 172
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 4

Met Ser Phe Asn Val Thr Pro Lys Phe Lys Arg Trp Gln Leu Tyr Phe
1 5 10 15

Arg Gly Arg Met Trp Thr Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly Arg Thr Ser
20 25 30

Gln Arg Gly Ile Asp Leu Ile Lys Ser Phe Glu Gly Leu Arg Leu Ser
35 40 45

[0005] Ala Tyr Gln Asp Ser Val Gly Val Trp Thr Ile Gly Tyr Gly Thr Thr
50 55 60

Arg Gly Val Thr Arg Tyr Met Thr Ile Thr Val Glu Gln Ala Glu Arg
65 70 75 80

Met Leu Ser Asn Asp Ile Gln Arg Phe Glu Pro Glu Leu Asp Arg Leu
85 90 95

Ala Lys Val Pro Leu Asn Gln Asn Gln Trp Asp Ala Leu Met Ser Phe
100 105 110

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

Leu Leu Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp Gln Phe Pro His
130 135 140

Trp Val Asn Ala Gly Gly Lys Arg Leu Asp Gly Leu Val Lys Arg Arg
145 150 155 160

Ala Ala Glu Arg Ala Leu Phe Leu Glu Pro Leu Ser

165 170

<210> 5
<211> 582
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(558)
<223> GN178溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(558)

<400> 5

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg cca cca att ttt agc aaa ctg gcg       54
                               Met Pro Pro Ile Phe Ser Lys Leu Ala
                               1               5

ggc aaa aaa att aaa aac ctg ctg att agc ggc ctg aaa ggc ggt agc       102
Gly Lys Lys Ile Lys Asn Leu Leu Ile Ser Gly Leu Lys Gly Gly Ser
10                  15                  20                  25

ggc agc ggt agc ggt agc ggc agc ccg cgt aca tcc caa cga ggc atc       150
Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Pro Arg Thr Ser Gln Arg Gly Ile
                30                  35                  40

gac ctc atc aaa tcc ttc gag ggc ctg cgc ctg tcc gct tac cag gac       198
Asp Leu Ile Lys Ser Phe Glu Gly Leu Arg Leu Ser Ala Tyr Gln Asp
            45                  50                  55

tcg gtg ggt gtc tgg acc ata ggt tac ggc acc act cgg ggc gtc acc       246
Ser Val Gly Val Trp Thr Ile Gly Tyr Gly Thr Thr Arg Gly Val Thr
        60                  65                  70

cgc tac atg acg atc acc gtc gag cag gcc gag cgg atg ctg tcg aac       294
Arg Tyr Met Thr Ile Thr Val Glu Gln Ala Glu Arg Met Leu Ser Asn
    75                  80                  85

gac att cag cgc ttc gag cca gag cta gac agg ctg gcg aag gtg cca       342
Asp Ile Gln Arg Phe Glu Pro Glu Leu Asp Arg Leu Ala Lys Val Pro
90                  95                  100                 105

ctg aac cag aac cag tgg gat gcc ctg atg agc ttc gtg tac aac ctg       390
Leu Asn Gln Asn Gln Trp Asp Ala Leu Met Ser Phe Val Tyr Asn Leu
                110                 115                 120

ggc gcg gcc aat ctg gcg tcg tcc acg ctg ctc gac ctg ctg aac aag       438
Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser Ser Thr Leu Leu Asp Leu Leu Asn Lys
            125                 130                 135
```

[0006]

```
ggt gac tac cag gga gca gcg gac cag ttc ccg cat tgg gtg aat gcg        486
Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp Gln Phe Pro His Trp Val Asn Ala
        140                 145                 150

ggc ggt aag cgc ttg gat ggt ctg gtt aag cgt cga gca gcc gag cgt        534
Gly Gly Lys Arg Leu Asp Gly Leu Val Lys Arg Arg Ala Ala Glu Arg
    155                 160                 165

gcg ctg ttc ctg gag cca cta tcg tgataaaagc ttggctgttt tggc            582
Ala Leu Phe Leu Glu Pro Leu Ser
170                 175
```

<210> 6
<211> 177
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 6

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

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

Ser Pro Arg Thr Ser Gln Arg Gly Ile Asp Leu Ile Lys Ser Phe Glu
        35                  40                  45

Gly Leu Arg Leu Ser Ala Tyr Gln Asp Ser Val Gly Val Trp Thr Ile
    50                  55                  60

Gly Tyr Gly Thr Thr Arg Gly Val Thr Arg Tyr Met Thr Ile Thr Val
65                  70                  75                  80

Glu Gln Ala Glu Arg Met Leu Ser Asn Asp Ile Gln Arg Phe Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Leu Asp Arg Leu Ala Lys Val Pro Leu Asn Gln Asn Gln Trp Asp
            100                 105                 110

Ala Leu Met Ser Phe Val Tyr Asn Leu Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser
        115                 120                 125

Ser Thr Leu Leu Asp Leu Leu Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala
```

[0007]

130 135 140

Asp Gln Phe Pro His Trp Val Asn Ala Gly Gly Lys Arg Leu Asp Gly
145 150 155 160

Leu Val Lys Arg Arg Ala Ala Glu Arg Ala Leu Phe Leu Glu Pro Leu
165 170 175

Ser

<210> 7
<211> 429
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(405)
<223> GN217溶素

[0008]

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(405)

<400> 7
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg acc tac acc ctg tct aaa cgt tct 54
Met Thr Tyr Thr Leu Ser Lys Arg Ser
1 5

ctg gac aac ctg aaa ggt gtt cac ccg gac ctg gtt gct gtt gtt cac 102
Leu Asp Asn Leu Lys Gly Val His Pro Asp Leu Val Ala Val Val His
10 15 20 25

cgt gct atc cag ctg acc ccg gtt gac ttc gct gtt atc gaa ggt ctg 150
Arg Ala Ile Gln Leu Thr Pro Val Asp Phe Ala Val Ile Glu Gly Leu
30 35 40

cgt tct gtt tct cgt cag aaa gaa ctg gtt gct gct ggt gct tct aaa 198
Arg Ser Val Ser Arg Gln Lys Glu Leu Val Ala Ala Gly Ala Ser Lys
45 50 55

acc atg aac tct cgt cac ctg acc ggt cac gct gtt gac ctg gct gct 246
Thr Met Asn Ser Arg His Leu Thr Gly His Ala Val Asp Leu Ala Ala
60 65 70

tac gtt aac ggt atc cat tgg gac tgg ccg ctg tac gac gct atc gct 294
Tyr Val Asn Gly Ile His Trp Asp Trp Pro Leu Tyr Asp Ala Ile Ala
75 80 85

```
gtt gct gtt aaa gct gct gct aaa gaa ctg ggt gtt gct atc gtt tgg        342
Val Ala Val Lys Ala Ala Ala Lys Glu Leu Gly Val Ala Ile Val Trp
90                  95                  100                 105

ggt ggt gac tgg acc acc ttc aaa gac ggt ccg cac ttc gaa ctg gac        390
Gly Gly Asp Trp Thr Thr Phe Lys Asp Gly Pro His Phe Glu Leu Asp
                110                 115                 120

cgt tct aaa tac cgt taataaaagc ttggctgttt tggc                        429
Arg Ser Lys Tyr Arg
            125
```

<210> 8
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 8

```
Met Thr Tyr Thr Leu Ser Lys Arg Ser Leu Asp Asn Leu Lys Gly Val
1               5                   10                  15

His Pro Asp Leu Val Ala Val Val His Arg Ala Ile Gln Leu Thr Pro
            20                  25                  30

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

Glu Leu Val Ala Ala Gly Ala Ser Lys Thr Met Asn Ser Arg His Leu
    50                  55                  60

Thr Gly His Ala Val Asp Leu Ala Ala Tyr Val Asn Gly Ile His Trp
65                  70                  75                  80

Asp Trp Pro Leu Tyr Asp Ala Ile Ala Val Ala Val Lys Ala Ala Ala
                85                  90                  95

Lys Glu Leu Gly Val Ala Ile Val Trp Gly Gly Asp Trp Thr Thr Phe
            100                 105                 110

Lys Asp Gly Pro His Phe Glu Leu Asp Arg Ser Lys Tyr Arg
        115                 120                 125
```

[0009]

<210> 9

<211> 501
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<223> GN218溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(477)

<400> 9

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg acc tac acc ctg tct aaa cgt tct       54
                               Met Thr Tyr Thr Leu Ser Lys Arg Ser
                               1               5

ctg gac aac ctg aaa ggt gtt cac ccg gac ctg gtt gct gtt gtt cac       102
Leu Asp Asn Leu Lys Gly Val His Pro Asp Leu Val Ala Val Val His
10                  15                  20                  25

cgt gct atc cag ctg acc ccg gtt gac ttc gct gtt atc gaa ggt ctg       150
Arg Ala Ile Gln Leu Thr Pro Val Asp Phe Ala Val Ile Glu Gly Leu
                30                  35                  40
```

[0010]

```
cgt tct gtt tct cgt cag aaa gaa ctg gtt gct gct ggt gct tct aaa       198
Arg Ser Val Ser Arg Gln Lys Glu Leu Val Ala Ala Gly Ala Ser Lys
            45                  50                  55

acc atg aac tct cgt cac ctg acc ggt cac gct gtt gac ctg gct gct       246
Thr Met Asn Ser Arg His Leu Thr Gly His Ala Val Asp Leu Ala Ala
        60                  65                  70

tac gtt aac ggt atc cgt tgg gac tgg ccg ctg tac gac gct atc gct       294
Tyr Val Asn Gly Ile Arg Trp Asp Trp Pro Leu Tyr Asp Ala Ile Ala
    75                  80                  85

gtt gct gtt aaa gct gct gct aaa gaa ctg ggt gtt gct atc gtt tgg       342
Val Ala Val Lys Ala Ala Ala Lys Glu Leu Gly Val Ala Ile Val Trp
90                  95                  100                 105

ggt ggt gac tgg acc acc ttc aaa gac ggt ccg cac ttc gaa ctg gac       390
Gly Gly Asp Trp Thr Thr Phe Lys Asp Gly Pro His Phe Glu Leu Asp
                110                 115                 120

cgt tct aaa tac ggc ggt ggc tct gga ggt ggt ggg tcc ggc ggt ggc       438
Arg Ser Lys Tyr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
            125                 130                 135

tct cgc ctg aaa aaa att ggc aaa gtg ctg aaa tgg att taataaaagc       487
Ser Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile
        140                 145                 150
```

ttggctgttt tggc 501

<210> 10
<211> 150
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 10

Met Thr Tyr Thr Leu Ser Lys Arg Ser Leu Asp Asn Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

His Pro Asp Leu Val Ala Val Val His Arg Ala Ile Gln Leu Thr Pro
20 25 30

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

Glu Leu Val Ala Ala Gly Ala Ser Lys Thr Met Asn Ser Arg His Leu
50 55 60

[0011]

Thr Gly His Ala Val Asp Leu Ala Ala Tyr Val Asn Gly Ile Arg Trp
65 70 75 80

Asp Trp Pro Leu Tyr Asp Ala Ile Ala Val Ala Val Lys Ala Ala Ala
85 90 95

Lys Glu Leu Gly Val Ala Ile Val Trp Gly Gly Asp Trp Thr Thr Phe
100 105 110

Lys Asp Gly Pro His Phe Glu Leu Asp Arg Ser Lys Tyr Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Arg Leu Lys Lys Ile Gly
130 135 140

Lys Val Leu Lys Trp Ile
145 150

<210> 11
<211> 573
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(549)
<223> GN223溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(549)

<400> 11

[0012]

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg acc tac acc ctg tct aaa cgt tct       54
                               Met Thr Tyr Thr Leu Ser Lys Arg Ser
                               1               5

ctg gac aac ctg aaa ggt gtt cac ccg gac ctg gtt gct gtt gtt cac       102
Leu Asp Asn Leu Lys Gly Val His Pro Asp Leu Val Ala Val Val His
10                  15                  20                  25

cgt gct atc cag ctg acc ccg gtt gac ttc gct gtt atc gaa ggt ctg       150
Arg Ala Ile Gln Leu Thr Pro Val Asp Phe Ala Val Ile Glu Gly Leu
                30                  35                  40

cgt tct gtt tct cgt cag aaa gaa ctg gtt gct gct ggt gct tct aaa       198
Arg Ser Val Ser Arg Gln Lys Glu Leu Val Ala Ala Gly Ala Ser Lys
            45                  50                  55

acc atg aac tct cgt cac ctg acc ggt cac gct gtt gac ctg gct gct       246
Thr Met Asn Ser Arg His Leu Thr Gly His Ala Val Asp Leu Ala Ala
        60                  65                  70

tac gtt aac ggt atc cgt tgg gac tgg ccg ctg tac gac gct atc gct       294
Tyr Val Asn Gly Ile Arg Trp Asp Trp Pro Leu Tyr Asp Ala Ile Ala
    75                  80                  85

gtt gct gtt aaa gct gct gct aaa gaa ctg ggt gtt gct atc gtt tgg       342
Val Ala Val Lys Ala Ala Ala Lys Glu Leu Gly Val Ala Ile Val Trp
90                  95                  100                 105

ggt ggt gac tgg acc acc ttc aaa gac ggt ccg cac ttc gaa ctg gac       390
Gly Gly Asp Trp Thr Thr Phe Lys Asp Gly Pro His Phe Glu Leu Asp
                110                 115                 120

cgt tct aaa tac cgt cca cca ggc ggt ggc tct gga ggt ggt ggg tcc       438
Arg Ser Lys Tyr Arg Pro Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            125                 130                 135

ggc ggt ggc tct tcg aag aag gcg tcg agg aag agt ttt act aag ggt       486
Gly Gly Gly Ser Ser Lys Lys Ala Ser Arg Lys Ser Phe Thr Lys Gly
        140                 145                 150

gcc gtt aag gtt cat aag aaa aat gtt cct act cgt gtt cct atg cgt       534
Ala Val Lys Val His Lys Lys Asn Val Pro Thr Arg Val Pro Met Arg
```

155 160 165

ggc ggt att agg ctt taataaaagc ttggctgttt tggc 573
Gly Gly Ile Arg Leu
170

<210> 12
<211> 174
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 12

Met Thr Tyr Thr Leu Ser Lys Arg Ser Leu Asp Asn Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

His Pro Asp Leu Val Ala Val Val His Arg Ala Ile Gln Leu Thr Pro
20 25 30

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

[0013]

Glu Leu Val Ala Ala Gly Ala Ser Lys Thr Met Asn Ser Arg His Leu
50 55 60

Thr Gly His Ala Val Asp Leu Ala Ala Tyr Val Asn Gly Ile Arg Trp
65 70 75 80

Asp Trp Pro Leu Tyr Asp Ala Ile Ala Val Ala Val Lys Ala Ala Ala
85 90 95

Lys Glu Leu Gly Val Ala Ile Val Trp Gly Gly Asp Trp Thr Thr Phe
100 105 110

Lys Asp Gly Pro His Phe Glu Leu Asp Arg Ser Lys Tyr Arg Pro Pro
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Lys Lys
130 135 140

Ala Ser Arg Lys Ser Phe Thr Lys Gly Ala Val Lys Val His Lys Lys
145 150 155 160

Asn Val Pro Thr Arg Val Pro Met Arg Gly Gly Ile Arg Leu
165 170

<210> 13
<211> 519
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(495)
<223> GN239溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(495)

<400> 13
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg acc tac acc ctg tct aaa cgt tct 54
Met Thr Tyr Thr Leu Ser Lys Arg Ser
1 5

[0014]
ctg gac aac ctg aaa ggt gtt cac ccg gac ctg gtt gct gtt gtt cac 102
Leu Asp Asn Leu Lys Gly Val His Pro Asp Leu Val Ala Val Val His
10 15 20 25

cgt gct atc cag ctg acc ccg gtt gac ttc gct gtt atc gaa ggt ctg 150
Arg Ala Ile Gln Leu Thr Pro Val Asp Phe Ala Val Ile Glu Gly Leu
30 35 40

cgt tct gtt tct cgt cag aaa gaa ctg gtt gct gct ggt gct tct aaa 198
Arg Ser Val Ser Arg Gln Lys Glu Leu Val Ala Ala Gly Ala Ser Lys
45 50 55

acc atg aac tct cgt cac ctg acc ggt cac gct gtt gac ctg gct gct 246
Thr Met Asn Ser Arg His Leu Thr Gly His Ala Val Asp Leu Ala Ala
60 65 70

tac gtt aac ggt atc cgt tgg gac tgg ccg ctg tac gac gct atc gct 294
Tyr Val Asn Gly Ile Arg Trp Asp Trp Pro Leu Tyr Asp Ala Ile Ala
75 80 85

gtt gct gtt aaa gct gct gct aaa gaa ctg ggt gtt gct atc gtt tgg 342
Val Ala Val Lys Ala Ala Ala Lys Glu Leu Gly Val Ala Ile Val Trp
90 95 100 105

ggt ggt gac tgg acc acc ttc aaa gac ggt ccg cac ttc gaa ctg gac 390
Gly Gly Asp Trp Thr Thr Phe Lys Asp Gly Pro His Phe Glu Leu Asp
110 115 120

cgt tct aaa tac ggc ggt ggc tct gga ggt ggt ggg tcc ggc ggt ggc 438
Arg Ser Lys Tyr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

125 130 135

tct cgt aaa aaa acc cgt aaa cgt ctg aaa aaa atc ggt aaa gtt ctg 486
Ser Arg Lys Lys Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu
140 145 150

aaa tgg atc taataaaagc ttggctgttt tggc 519
Lys Trp Ile
155

<210> 14
<211> 156
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 14

Met Thr Tyr Thr Leu Ser Lys Arg Ser Leu Asp Asn Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

His Pro Asp Leu Val Ala Val Val His Arg Ala Ile Gln Leu Thr Pro
20 25 30

[0015]

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

Glu Leu Val Ala Ala Gly Ala Ser Lys Thr Met Asn Ser Arg His Leu
50 55 60

Thr Gly His Ala Val Asp Leu Ala Ala Tyr Val Asn Gly Ile Arg Trp
65 70 75 80

Asp Trp Pro Leu Tyr Asp Ala Ile Ala Val Ala Val Lys Ala Ala Ala
85 90 95

Lys Glu Leu Gly Val Ala Ile Val Trp Gly Gly Asp Trp Thr Thr Phe
100 105 110

Lys Asp Gly Pro His Phe Glu Leu Asp Arg Ser Lys Tyr Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Arg Lys Lys Thr Arg Lys
130 135 140

```
Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile
145                 150                 155


<210>  15
<211>  570
<212>  DNA
<213>  人工序列

<220>
<223>  人工序列的描述：合成多核苷酸


<220>
<221>  misc_feature
<222>  (28)..(546)
<223>  GN243溶素

<220>
<221>  CDS
<222>  (28)..(546)

<400>  15
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg acc tac acc ctg tct aaa cgt tct      54
                              Met Thr Tyr Thr Leu Ser Lys Arg Ser
                              1               5

ctg gac aac ctg aaa ggt gtt cac ccg gac ctg gtt gct gtt gtt cac      102
Leu Asp Asn Leu Lys Gly Val His Pro Asp Leu Val Ala Val Val His
10                  15                  20                  25

cgt gct atc cag ctg acc ccg gtt gac ttc gct gtt atc gaa ggt ctg      150
Arg Ala Ile Gln Leu Thr Pro Val Asp Phe Ala Val Ile Glu Gly Leu
                30                  35                  40

cgt tct gtt tct cgt cag aaa gaa ctg gtt gct gct ggt gct tct aaa      198
Arg Ser Val Ser Arg Gln Lys Glu Leu Val Ala Ala Gly Ala Ser Lys
            45                  50                  55

acc atg aac tct cgt cac ctg acc ggt cac gct gtt gac ctg gct gct      246
Thr Met Asn Ser Arg His Leu Thr Gly His Ala Val Asp Leu Ala Ala
        60                  65                  70

tac gtt aac ggt atc cgt tgg gac tgg ccg ctg tac gac gct atc gct      294
Tyr Val Asn Gly Ile Arg Trp Asp Trp Pro Leu Tyr Asp Ala Ile Ala
    75                  80                  85

gtt gct gtt aaa gct gct gct aaa gaa ctg ggt gtt gct atc gtt tgg      342
Val Ala Val Lys Ala Ala Ala Lys Glu Leu Gly Val Ala Ile Val Trp
90                  95                  100                 105

ggt ggt gac tgg acc acc ttc aaa gac ggt ccg cac ttc gaa ctg gac      390
Gly Gly Asp Trp Thr Thr Phe Lys Asp Gly Pro His Phe Glu Leu Asp
                110                 115                 120

cgt tct aaa tac cgt aaa aaa acc cgt aaa cgt ctg aaa aaa atc ggt      438
Arg Ser Lys Tyr Arg Lys Lys Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly
```

[0016]

125 130 135

aaa gtt ctg aaa tgg atc cca cca ggc ggt ggc tct gga ggt ggt ggg 486
Lys Val Leu Lys Trp Ile Pro Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
140 145 150

tcc ggc ggt ggc tct acc cgc aaa cgc ctg aaa aaa att ggc aaa gtg 534
Ser Gly Gly Gly Ser Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val
155 160 165

ctg aaa tgg att taataaaagc ttggctgttt tggc 570
Leu Lys Trp Ile
170

<210> 16
<211> 173
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 16

Met Thr Tyr Thr Leu Ser Lys Arg Ser Leu Asp Asn Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

[0017]

His Pro Asp Leu Val Ala Val Val His Arg Ala Ile Gln Leu Thr Pro
20 25 30

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

Glu Leu Val Ala Ala Gly Ala Ser Lys Thr Met Asn Ser Arg His Leu
50 55 60

Thr Gly His Ala Val Asp Leu Ala Ala Tyr Val Asn Gly Ile Arg Trp
65 70 75 80

Asp Trp Pro Leu Tyr Asp Ala Ile Ala Val Ala Val Lys Ala Ala Ala
85 90 95

Lys Glu Leu Gly Val Ala Ile Val Trp Gly Gly Asp Trp Thr Thr Phe
100 105 110

Lys Asp Gly Pro His Phe Glu Leu Asp Arg Ser Lys Tyr Arg Lys Lys
115 120 125

```
Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile Pro
    130                 135                 140

Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Thr Arg
145                 150                 155                 160

Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile
                165                 170
```

<210> 17
<211> 528
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(504)
<223> GN280溶素

<220>
<221> CDS
[0018] <222> (28)..(504)

<400> 17

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg aaa ctc agc gaa aaa cga gca ctg       54
                               Met Lys Leu Ser Glu Lys Arg Ala Leu
                               1               5

ttc acc cag ctg ctt gcc cag tta att ctt tgg gca gga act cag gat       102
Phe Thr Gln Leu Leu Ala Gln Leu Ile Leu Trp Ala Gly Thr Gln Asp
10                  15                  20                  25

cga gtg tca gta gcc ttg gat caa gtg aaa agg aca cag gct gaa gct       150
Arg Val Ser Val Ala Leu Asp Gln Val Lys Arg Thr Gln Ala Glu Ala
                30                  35                  40

gat gcc aat gct aag tct gga gca ggc att agg aac tct ctc cat cta       198
Asp Ala Asn Ala Lys Ser Gly Ala Gly Ile Arg Asn Ser Leu His Leu
            45                  50                  55

ctg gga tta gcc ggt gat ctt atc ctc tac aag gat ggt aaa tac atg       246
Leu Gly Leu Ala Gly Asp Leu Ile Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Tyr Met
        60                  65                  70

gat aag agc gag gat tat aag ttc ctg gga gat tac tgg aag agt ctc       294
Asp Lys Ser Glu Asp Tyr Lys Phe Leu Gly Asp Tyr Trp Lys Ser Leu
    75                  80                  85

cat cct ctt tgt cgg tgg ggc gga gat ttt aaa agc cgt cct gat ggt       342
His Pro Leu Cys Arg Trp Gly Gly Asp Phe Lys Ser Arg Pro Asp Gly
```

90 95 100 105

aat cat ttc tcc ttg gaa cac gaa gga gtg caa cgt aaa aaa acc cgt 390
Asn His Phe Ser Leu Glu His Glu Gly Val Gln Arg Lys Lys Thr Arg
110 115 120

aaa cgt ctg aaa aaa atc ggt aaa gtt ctg aaa tgg atc cca cca acc 438
Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile Pro Pro Thr
125 130 135

gcg ggc ggc acc gcg ggc ggc acc cgc aaa cgc ctg aaa aaa att ggc 486
Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly
140 145 150

aaa gtg ctg aaa tgg att taataaaagc ttggctgttt tggc 528
Lys Val Leu Lys Trp Ile
155

〈210〉 18
〈211〉 159
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成构建体

[0019] 〈400〉 18

Met Lys Leu Ser Glu Lys Arg Ala Leu Phe Thr Gln Leu Leu Ala Gln
1 5 10 15

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

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

Ala Gly Ile Arg Asn Ser Leu His Leu Leu Gly Leu Ala Gly Asp Leu
50 55 60

Ile Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Tyr Met Asp Lys Ser Glu Asp Tyr Lys
65 70 75 80

Phe Leu Gly Asp Tyr Trp Lys Ser Leu His Pro Leu Cys Arg Trp Gly
85 90 95

Gly Asp Phe Lys Ser Arg Pro Asp Gly Asn His Phe Ser Leu Glu His
100 105 110

Glu Gly Val Gln Arg Lys Lys Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly
115 120 125

Lys Val Leu Lys Trp Ile Pro Pro Thr Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly
130 135 140

Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile
145 150 155

<210> 19
<211> 543
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<223> GN281溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(519)

[0020]

<400> 19

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg aaa ctc agc gaa aaa cga gca ctg       54
                               Met Lys Leu Ser Glu Lys Arg Ala Leu
                               1               5

ttc acc cag ctg ctt gcc cag tta att ctt tgg gca gga act cag gat       102
Phe Thr Gln Leu Leu Ala Gln Leu Ile Leu Trp Ala Gly Thr Gln Asp
10                  15                  20                  25

cga gtg tca gta gcc ttg gat caa gtg aaa agg aca cag gct gaa gct       150
Arg Val Ser Val Ala Leu Asp Gln Val Lys Arg Thr Gln Ala Glu Ala
                30                  35                  40

gat gcc aat gct aag tct gga gca ggc att agg aac tct ctc cat cta       198
Asp Ala Asn Ala Lys Ser Gly Ala Gly Ile Arg Asn Ser Leu His Leu
            45                  50                  55

ctg gga tta gcc ggt gat ctt atc ctc tac aag gat ggt aaa tac atg       246
Leu Gly Leu Ala Gly Asp Leu Ile Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Tyr Met
        60                  65                  70

gat aag agc gag gat tat aag ttc ctg gga gat tac tgg aag agt ctc       294
Asp Lys Ser Glu Asp Tyr Lys Phe Leu Gly Asp Tyr Trp Lys Ser Leu
    75                  80                  85

cat cct ctt tgt cgg tgg ggc gga gat ttt aaa agc cgt cct gat ggt       342
His Pro Leu Cys Arg Trp Gly Gly Asp Phe Lys Ser Arg Pro Asp Gly
90                  95                  100                 105
```

aat cat ttc tcc ttg gaa cac gaa gga gtg caa cgt aaa aaa acc cgt 390
Asn His Phe Ser Leu Glu His Glu Gly Val Gln Arg Lys Lys Thr Arg
110 115 120

aaa cgt ctg aaa aaa atc ggt aaa gtt ctg aaa tgg atc ggc ggt ggc 438
Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile Gly Gly Gly
125 130 135

tct gga ggt ggt ggg tcc ggc ggt ggc tct cca cca acc cgc aaa cgc 486
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro Pro Thr Arg Lys Arg
140 145 150

ctg aaa aaa att ggc aaa gtg ctg aaa tgg att taataaaagc ttggctgttt 539
Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile
155 160

tggc 543

<210> 20
<211> 164
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

[0021] <400> 20

Met Lys Leu Ser Glu Lys Arg Ala Leu Phe Thr Gln Leu Leu Ala Gln
1 5 10 15

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

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

Ala Gly Ile Arg Asn Ser Leu His Leu Leu Gly Leu Ala Gly Asp Leu
50 55 60

Ile Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Tyr Met Asp Lys Ser Glu Asp Tyr Lys
65 70 75 80

Phe Leu Gly Asp Tyr Trp Lys Ser Leu His Pro Leu Cys Arg Trp Gly
85 90 95

Gly Asp Phe Lys Ser Arg Pro Asp Gly Asn His Phe Ser Leu Glu His
100 105 110

Glu Gly Val Gln Arg Lys Lys Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly
115 120 125

Lys Val Leu Lys Trp Ile Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Ser Pro Pro Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val
145 150 155 160

Leu Lys Trp Ile

<210> 21
<211> 852
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
[0022] <223> GN316溶素

<400> 21
gaattcacca tgggatccca tcatcaccac catcatggtg ccattttaaa gattggcagc 60

aaaggtctgg aagttaagaa tcttcagacc agtctcaaca aaatcgggtt caatctggtt 120

gccgatggca tatttggtaa agcgactgac aacgccgtca gggcagttca ggcaggtgcc 180

ggactggtcg ttgatggtat tgctggcccc aagaccatgt atgcgattcg caacgcaggg 240

gagtctcatc aggatcatct gactgaggct gacttgattg acgctgctcg tgaattgtct 300

gttgaccttg ctagcatcaa ggcagtcaac caagtagaat cgcgcggtac tggcttcacc 360

aagtctggta agatcaagac attgtttgaa cgccacatca tgtacaaaaa gctgaatgcc 420

aagttcggtc aggcaaaagc caatgctctg gcccagcttt acccgacgtt ggttaacgcc 480

aaagccgggg gatacacagg tggggacgcg gagttggaac gactccatgg tgcaatagcg 540

atcgataaag attgcgccta cgagagcgct tcctacgggt tattccagat catggggttc 600

aactgcgtta tttgtggata tgacaatgcc gaggagatgt tcaacgactt tctcactggt 660

gaacgtgctc agctcatggc atttgtcaag ttcatcaagg ctgacgccaa tctgtggaaa 720

gcattgaagg acaagaattg ggctgagttt gctcggcgtt acaatggccc ggcgtatgca 780

cagaaccagt acgacaccaa gctggctgca gcatacaaat cattcagtta gtaaaagctt 840

ggctgttttg gc 852

<210> 22
<211> 264
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(264)
<223> GN316溶素

<400> 22

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

Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile
20 25 30

[0023]

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

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

Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala
85 90 95

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

Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala
115 120 125

Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr
130 135 140

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

Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu
165 170 175

Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Val Ile
180 185 190

Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly
195 200 205

Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala
210 215 220

Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
245 250 255

[0024]

Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser
260

<210> 23
<211> 879
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(879)
<223> 修饰的GN316溶素

<400> 23
gaattcacca tgggatccca tcatcaccac catcatggtg ccggatccca tcatcaccac 60

catcatggta ttttaaagat tggcagcaaa ggtctggaag ttaagaatct tcagaccagt 120

ctcaacaaaa tcgggttcaa tctggttgcc gatggcatat ttggtaaagc gactgacaac 180

gccgtcaggg cagttcaggc aggtgccgga ctggtcgttg atggtattgc tggccccaag 240

accatgtatg cgattcgcaa cgcaggggag tctcatcagg atcatctgac tgaggctgac 300

ttgattgacg ctgctcgtga attgtctgtt gaccttgcta gcatcaaggc agtcaaccaa 360

gtagaatcgc gcggtactgg cttcaccaag tctggtaaga tcaagacatt gtttgaacgc 420

cacatcatgt acaaaaagct gaatgccaag ttcggtcagg caaaagccaa tgctctggcc 480

cagctttacc cgacgttggt taacgccaaa gccgggggat acacaggtgg ggacgcggag 540

ttggaacgac tccatggtgc aatagcgatc gataaagatt gcgcctacga gagcgcttcc 600

tacgggttat tccagatcat ggggttcaac tgcgttattt gtggatatga caatgccgag 660

gagatgttca acgactttct cactggtgaa cgtgctcagc tcatggcatt tgtcaagttc 720

atcaaggctg acgccaatct gtggaaagca ttgaaggaca agaattgggc tgagtttgct 780

cggcgttaca atggcccggc gtatgcacag aaccagtacg acaccaagct ggctgcagca 840

tacaaatcat tcagttagta aaagcttggc tgttttggc 879

<210> 24
<211> 273
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0025] <223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(273)
<223> 修饰的GN316溶素

<400> 24

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

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

Gly Phe Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Asp Asn
35 40 45

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

Ala Gly Pro Lys Thr Met Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Glu Ser His
65 70 75 80

Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu
85 90 95

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

Gly Thr Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg
115 120 125

His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala
130 135 140

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

Gly Tyr Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu Glu Arg Leu His Gly Ala Ile
165 170 175

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

[0026]

Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Val Ile Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu
195 200 205

Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala
210 215 220

Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys
225 230 235 240

Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr
245 250 255

Ala Gln Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe
260 265 270

Ser

<210> 25
<211> 612
<212> DNA
<213> 假单胞菌噬菌体KPP10

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(588)
<223> GN329

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(588)

<400> 25

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg atc acc gac aga gag tat cag caa      54
                               Met Ile Thr Asp Arg Glu Tyr Gln Gln
                               1               5

gct gct gag atg ttg gga gta gat gtc cca gcg atc aag gca gtg acc      102
Ala Ala Glu Met Leu Gly Val Asp Val Pro Ala Ile Lys Ala Val Thr
10                  15                  20                  25

aag gtg gag gcc ccg gta ggg ggc ttc cag cct aca gga gag cca acg      150
Lys Val Glu Ala Pro Val Gly Gly Phe Gln Pro Thr Gly Glu Pro Thr
                30                  35                  40

atc ctc tac gag cgt cac cag atg tac cga cag ctc cag gcc aaa ggg      198
Ile Leu Tyr Glu Arg His Gln Met Tyr Arg Gln Leu Gln Ala Lys Gly
            45                  50                  55

ctc cca acg gaa ggt cat ccc cca gac ctg gta aat aag gta gct ggt      246
Leu Pro Thr Glu Gly His Pro Pro Asp Leu Val Asn Lys Val Ala Gly
        60                  65                  70

ggg tat gga aaa tac agc gag caa cac gct aaa ctg gcc cgt gcc gta      294
Gly Tyr Gly Lys Tyr Ser Glu Gln His Ala Lys Leu Ala Arg Ala Val
    75                  80                  85

aag atc gac agg gac agc gcc ctg gag tcc tgc tcc tgg ggg atg ttc      342
Lys Ile Asp Arg Asp Ser Ala Leu Glu Ser Cys Ser Trp Gly Met Phe
90                  95                  100                 105

cag atc atg ggc tac cac tgg aag ctg atg ggg tac cct acc ctt caa      390
Gln Ile Met Gly Tyr His Trp Lys Leu Met Gly Tyr Pro Thr Leu Gln
                110                 115                 120

gct ttc gta aac gcc atg tac gcc agc gaa gga gcc cag atg gac gcc      438
Ala Phe Val Asn Ala Met Tyr Ala Ser Glu Gly Ala Gln Met Asp Ala
            125                 130                 135

ttc tgc cgg ttc atc aag gca caa ccc acc acg cat gct gcc ttg aaa      486
Phe Cys Arg Phe Ile Lys Ala Gln Pro Thr Thr His Ala Ala Leu Lys
        140                 145                 150

gcc cat gat tgg gcc aag ttt gcc aga ctg tac aac ggt cca ggc tac      534
Ala His Asp Trp Ala Lys Phe Ala Arg Leu Tyr Asn Gly Pro Gly Tyr
    155                 160                 165

gcc aag aac aag tat gac gtg aaa ttg gag aaa gca tat gct gaa gct      582
Ala Lys Asn Lys Tyr Asp Val Lys Leu Glu Lys Ala Tyr Ala Glu Ala
```

[0027]

170 175 180 185

agt ggc tgataaaagc ttggctgttt tggc 612
Ser Gly

<210> 26
<211> 187
<212> PRT
<213> 假单胞菌噬菌体KPP10

<400> 26

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

Asp Val Pro Ala Ile Lys Ala Val Thr Lys Val Glu Ala Pro Val Gly
20 25 30

Gly Phe Gln Pro Thr Gly Glu Pro Thr Ile Leu Tyr Glu Arg His Gln
35 40 45

Met Tyr Arg Gln Leu Gln Ala Lys Gly Leu Pro Thr Glu Gly His Pro
[0028] 50 55 60

Pro Asp Leu Val Asn Lys Val Ala Gly Gly Tyr Gly Lys Tyr Ser Glu
65 70 75 80

Gln His Ala Lys Leu Ala Arg Ala Val Lys Ile Asp Arg Asp Ser Ala
85 90 95

Leu Glu Ser Cys Ser Trp Gly Met Phe Gln Ile Met Gly Tyr His Trp
100 105 110

Lys Leu Met Gly Tyr Pro Thr Leu Gln Ala Phe Val Asn Ala Met Tyr
115 120 125

Ala Ser Glu Gly Ala Gln Met Asp Ala Phe Cys Arg Phe Ile Lys Ala
130 135 140

Gln Pro Thr Thr His Ala Ala Leu Lys Ala His Asp Trp Ala Lys Phe
145 150 155 160

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

```
Lys Leu Glu Lys Ala Tyr Ala Glu Ala Ser Gly
            180                 185


<210>  27
<211>  609
<212>  DNA
<213>  代尔夫特菌属物种


<220>
<221>  CDS
<222>  (28)..(585)

<220>
<221>  misc_feature
<222>  (28)..(585)
<223>  GN333溶素

<400>  27
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gct cta act gag caa gac ttc caa       54
                               Met Ala Leu Thr Glu Gln Asp Phe Gln
                               1               5

tcg gct gcc gat gat ctc gga gtc gat gtt gcc agt gta aag gcc gtc       102
Ser Ala Ala Asp Asp Leu Gly Val Asp Val Ala Ser Val Lys Ala Val
10                  15                  20                  25
```

[0029]

```
act aaa gta gag agt cgt ggg agc ggc ttt cta ctt tct ggc gtc cct       150
Thr Lys Val Glu Ser Arg Gly Ser Gly Phe Leu Leu Ser Gly Val Pro
                30                  35                  40

aag att cta ttc gaa agg cac tgg atg ttc aag ctt ctc aaa agg aag       198
Lys Ile Leu Phe Glu Arg His Trp Met Phe Lys Leu Leu Lys Arg Lys
            45                  50                  55

cta ggt cgt gac cct gaa ata aac gac gtt tgc aac cct aaa gct gga       246
Leu Gly Arg Asp Pro Glu Ile Asn Asp Val Cys Asn Pro Lys Ala Gly
        60                  65                  70

gga tac ctc ggc gga caa gcg gag cac gaa cgt cta gat aaa gca gtc       294
Gly Tyr Leu Gly Gly Gln Ala Glu His Glu Arg Leu Asp Lys Ala Val
    75                  80                  85

aag atg gat aga gac tgc gca ctt caa agt gcc tct tgg ggc cta ttc       342
Lys Met Asp Arg Asp Cys Ala Leu Gln Ser Ala Ser Trp Gly Leu Phe
90                  95                  100                 105

cag att atg gga ttc cat tgg gag gca cta ggt tat gcg agt gtt cag       390
Gln Ile Met Gly Phe His Trp Glu Ala Leu Gly Tyr Ala Ser Val Gln
                110                 115                 120

gca ttt gtc aat gcc cag tac gct agc gag gga tcg caa cta aac act       438
Ala Phe Val Asn Ala Gln Tyr Ala Ser Glu Gly Ser Gln Leu Asn Thr
            125                 130                 135
```

ttt gtg cgc ttc atc aag acc aac ccg gca att cac aaa gct tta aag 486
Phe Val Arg Phe Ile Lys Thr Asn Pro Ala Ile His Lys Ala Leu Lys
140 145 150

tct aag gac tgg gca gaa ttc gca aga agg tat aac ggg ccg gat tac 534
Ser Lys Asp Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Asp Tyr
155 160 165

aag aaa aac aac tac gat gtt aag cta gca gaa gcc tat caa tcc ttc 582
Lys Lys Asn Asn Tyr Asp Val Lys Leu Ala Glu Ala Tyr Gln Ser Phe
170 175 180 185

aag taataaaagc ttggctgttt tggc 609
Lys

<210> 28
<211> 186
<212> PRT
<213> 代尔夫特菌属物种

<400> 28

Met Ala Leu Thr Glu Gln Asp Phe Gln Ser Ala Ala Asp Asp Leu Gly
1 5 10 15

[0030] Val Asp Val Ala Ser Val Lys Ala Val Thr Lys Val Glu Ser Arg Gly
20 25 30

Ser Gly Phe Leu Leu Ser Gly Val Pro Lys Ile Leu Phe Glu Arg His
35 40 45

Trp Met Phe Lys Leu Leu Lys Arg Lys Leu Gly Arg Asp Pro Glu Ile
50 55 60

Asn Asp Val Cys Asn Pro Lys Ala Gly Gly Tyr Leu Gly Gly Gln Ala
65 70 75 80

Glu His Glu Arg Leu Asp Lys Ala Val Lys Met Asp Arg Asp Cys Ala
85 90 95

Leu Gln Ser Ala Ser Trp Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe His Trp
100 105 110

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

Ala Ser Glu Gly Ser Gln Leu Asn Thr Phe Val Arg Phe Ile Lys Thr

130 135 140

Asn Pro Ala Ile His Lys Ala Leu Lys Ser Lys Asp Trp Ala Glu Phe
145 150 155 160

Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Asp Tyr Lys Lys Asn Asn Tyr Asp Val
165 170 175

Lys Leu Ala Glu Ala Tyr Gln Ser Phe Lys
180 185

<210> 29
<211> 984
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(957)
<223> GN349溶素

[0031]

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(957)

<400> 29
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gcc att tta aag att ggc agc aaa 54
Met Ala Ile Leu Lys Ile Gly Ser Lys
1 5

ggt ctg gaa gtt aag aat ctt cag acc agt ctc aac aaa atc ggg ttc 102
Gly Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe
10 15 20 25

aat ctg gtt gcc gat ggc ata ttt ggt aaa gcg act gac aac gcc gtc 150
Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Asp Asn Ala Val
30 35 40

agg gca gtt cag gca ggt gcc gga ctg gtc gtt gat ggt att gct ggc 198
Arg Ala Val Gln Ala Gly Ala Gly Leu Val Val Asp Gly Ile Ala Gly
45 50 55

ccc aag acc atg tat gcg att cgc aac gca ggg gag tct cat cag gat 246
Pro Lys Thr Met Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp
60 65 70

cat ctg act gag gct gac ttg att gac gct gct cgt gaa ttg tct gtt 294
His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val
75 80 85

```
gac ctt gct agc atc aag gca gtc aac caa gta gaa tcg cgc ggt act      342
Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr
90                  95                  100                 105

ggc ttc acc aag tct ggt aag atc aag aca ttg ttt gaa cgc cac atc      390
Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile
                110                 115                 120

atg tac aaa aag ctg aat gcc aag ttc ggt cag gca aaa gcc aat gct      438
Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala
            125                 130                 135

ctg gcc cag ctt tac ccg acg ttg gtt aac gcc aaa gcc ggg gga tac      486
Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr Leu Val Asn Ala Lys Ala Gly Gly Tyr
        140                 145                 150

aca ggt ggg gac gcg gag ttg gaa cga ctc cat ggt gca ata gcg atc      534
Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile
    155                 160                 165

gat aaa gat tgc gcc tac gag agc gct tcc tac ggg tta ttc cag atc      582
Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile
170                 175                 180                 185

atg ggg ttc aac tgc gtt att tgt gga tat gac aat gcc gag gag atg      630
Met Gly Phe Asn Cys Val Ile Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met
                190                 195                 200
```

[0032]

```
ttc aac gac ttt ctc act ggt gaa cgt gct cag ctc atg gca ttt gtc      678
Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val
            205                 210                 215

aag ttc atc aag gct gac gcc aat ctg tgg aaa gca ttg aag gac aag      726
Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys
        220                 225                 230

aat tgg gct gag ttt gct cgg cgt tac aat ggc ccg gcg tat gca cag      774
Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln
    235                 240                 245

aac cag tac gac acc aag ctg gct gca gca tac aaa tca ttc agt acc      822
Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Thr
250                 255                 260                 265

gcg ggc ggc acc gcg ggc ggc gca cga aga tac aga ctt tcg cga cgc      870
Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly Ala Arg Arg Tyr Arg Leu Ser Arg Arg
                270                 275                 280

aga agt cga cga ctt ttt tca aga act gca tta aga atg cat cga aga      918
Arg Ser Arg Arg Leu Phe Ser Arg Thr Ala Leu Arg Met His Arg Arg
            285                 290                 295

aat aga ctt cga aga att atg cgt ggc ggc att agg ttt tagtaataaa      967
Asn Arg Leu Arg Arg Ile Met Arg Gly Gly Ile Arg Phe
        300                 305                 310
```

agcttggctg ttttggc 984

<210> 30
<211> 310
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 30

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

Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile
20 25 30

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

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

[0033]

Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala
85 90 95

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

Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala
115 120 125

Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr
130 135 140

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

Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu
165 170 175

```
Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Val Ile
            180                 185                 190

Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly
        195                 200                 205

Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala
    210                 215                 220

Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225                 230                 235                 240

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
                245                 250                 255

Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Thr Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly
            260                 265                 270

Ala Arg Arg Tyr Arg Leu Ser Arg Arg Arg Ser Arg Arg Leu Phe Ser
        275                 280                 285
```

[0034]

```
Arg Thr Ala Leu Arg Met His Arg Arg Asn Arg Leu Arg Arg Ile Met
    290                 295                 300

Arg Gly Gly Ile Arg Phe
305                 310
```

<210> 31
<211> 984
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(957)
<223> GN351溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(957)

<400> 31

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gcc att tta aag att ggc agc aaa      54
                               Met Ala Ile Leu Lys Ile Gly Ser Lys
```

1 5

ggt ctg gaa gtt aag aat ctt cag acc agt ctc aac aaa atc ggg ttc 102
Gly Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe
10 15 20 25

aat ctg gtt gcc gat ggc ata ttt ggt aaa gcg act gac aac gcc gtc 150
Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Asp Asn Ala Val
30 35 40

agg gca gtt cag gca ggt gcc gga ctg gtc gtt gat ggt att gct ggc 198
Arg Ala Val Gln Ala Gly Ala Gly Leu Val Val Asp Gly Ile Ala Gly
45 50 55

ccc aag acc atg tat gcg att cgc aac gca ggg gag tct cat cag gat 246
Pro Lys Thr Met Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp
60 65 70

cat ctg act gag gct gac ttg att gac gct gct cgt gaa ttg tct gtt 294
His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val
75 80 85

gac ctt gct agc atc aag gca gtc aac caa gta gaa tcg cgc ggt act 342
Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr
90 95 100 105

ggc ttc acc aag tct ggt aag atc aag aca ttg ttt gaa cgc cac atc 390
Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile
[0035] 110 115 120

atg tac aaa aag ctg aat gcc aag ttc ggt cag gca aaa gcc aat gct 438
Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala
125 130 135

ctg gcc cag ctt tac ccg acg ttg gtt aac gcc aaa gcc ggg gga tac 486
Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr Leu Val Asn Ala Lys Ala Gly Gly Tyr
140 145 150

aca ggt ggg gac gcg gag ttg gaa cga ctc cat ggt gca ata gcg atc 534
Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile
155 160 165

gat aaa gat tgc gcc tac gag agc gct tcc tac ggg tta ttc cag atc 582
Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile
170 175 180 185

atg ggg ttc aac tgc gtt att tgt gga tat gac aat gcc gag gag atg 630
Met Gly Phe Asn Cys Val Ile Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met
190 195 200

ttc aac gac ttt ctc act ggt gaa cgt gct cag ctc atg gca ttt gtc 678
Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val
205 210 215

aag ttc atc aag gct gac gcc aat ctg tgg aaa gca ttg aag gac aag 726
Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys
220 225 230

```
aat tgg gct gag ttt gct cgg cgt tac aat ggc ccg gcg tat gca cag        774
Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln
    235                 240                 245

aac cag tac gac acc aag ctg gct gca gca tac aaa tca ttc agt acc        822
Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Thr
250                 255                 260                 265

gcg ggc ggc acc gcg ggc ggc gct cgt tcc cgt aga cgt atg tct aag        870
Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly Ala Arg Ser Arg Arg Arg Met Ser Lys
                270                 275                 280

cgt tct tcc cgc cgt tcg ttc cgc aag tat gcg aag tcg cat aag aag        918
Arg Ser Ser Arg Arg Ser Phe Arg Lys Tyr Ala Lys Ser His Lys Lys
            285                 290                 295

aac ttt aaa gcc cgc tca atg cgt ggc ggt atc cgt tta tgataataaa        967
Asn Phe Lys Ala Arg Ser Met Arg Gly Gly Ile Arg Leu
        300                 305                 310

agcttggctg ttttggc                                                   984
```

[0036]

<210> 32
<211> 310
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 32

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

Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile
            20                  25                  30

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

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

Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65                  70                  75                  80

Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala
                85                  90                  95
```

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

Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala
115 120 125

Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr
130 135 140

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

Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu
165 170 175

Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Val Ile
180 185 190

Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly
195 200 205

[0037]

Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala
210 215 220

Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
245 250 255

Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Thr Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly
260 265 270

Ala Arg Ser Arg Arg Arg Met Ser Lys Arg Ser Ser Arg Arg Ser Phe
275 280 285

Arg Lys Tyr Ala Lys Ser His Lys Lys Asn Phe Lys Ala Arg Ser Met
290 295 300

Arg Gly Gly Ile Arg Leu
305 310

<210> 33
<211> 981
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<223> GN352溶素28

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(954)

<400> 33

[0038]

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gcc att tta aag att ggc agc aaa       54
                               Met Ala Ile Leu Lys Ile Gly Ser Lys
                               1               5

ggt ctg gaa gtt aag aat ctt cag acc agt ctc aac aaa atc ggg ttc       102
Gly Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe
10                  15                  20                  25

aat ctg gtt gcc gat ggc ata ttt ggt aaa gcg act gac aac gcc gtc       150
Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Asp Asn Ala Val
                30                  35                  40

agg gca gtt cag gca ggt gcc gga ctg gtc gtt gat ggt att gct ggc       198
Arg Ala Val Gln Ala Gly Ala Gly Leu Val Val Asp Gly Ile Ala Gly
            45                  50                  55

ccc aag acc atg tat gcg att cgc aac gca ggg gag tct cat cag gat       246
Pro Lys Thr Met Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp
        60                  65                  70

cat ctg act gag gct gac ttg att gac gct gct cgt gaa ttg tct gtt       294
His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val
    75                  80                  85

gac ctt gct agc atc aag gca gtc aac caa gta gaa tcg cgc ggt act       342
Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr
90                  95                  100                 105

ggc ttc acc aag tct ggt aag atc aag aca ttg ttt gaa cgc cac atc       390
Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile
                110                 115                 120

atg tac aaa aag ctg aat gcc aag ttc ggt cag gca aaa gcc aat gct       438
Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala
            125                 130                 135

ctg gcc cag ctt tac ccg acg ttg gtt aac gcc aaa gcc ggg gga tac       486
Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr Leu Val Asn Ala Lys Ala Gly Gly Tyr
        140                 145                 150
```

```
aca ggt ggg gac gcg gag ttg gaa cga ctc cat ggt gca ata gcg atc        534
Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile
    155                 160                 165

gat aaa gat tgc gcc tac gag agc gct tcc tac ggg tta ttc cag atc        582
Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile
170                 175                 180                 185

atg ggg ttc aac tgc gtt att tgt gga tat gac aat gcc gag gag atg        630
Met Gly Phe Asn Cys Val Ile Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met
                190                 195                 200

ttc aac gac ttt ctc act ggt gaa cgt gct cag ctc atg gca ttt gtc        678
Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val
            205                 210                 215

aag ttc atc aag gct gac gcc aat ctg tgg aaa gca ttg aag gac aag        726
Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys
        220                 225                 230

aat tgg gct gag ttt gct cgg cgt tac aat ggc ccg gcg tat gca cag        774
Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln
    235                 240                 245

aac cag tac gac acc aag ctg gct gca gca tac aaa tca ttc agt acc        822
Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Thr
250                 255                 260                 265
```

[0039]

```
gcg ggc ggc acc gcg ggc ggc aaa cgt aga aaa atg aca aga aaa ggt        870
Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly Lys Arg Arg Lys Met Thr Arg Lys Gly
                270                 275                 280

tct aag cgt ctt ttt act gca act gct gat aaa act aaa tct atc aat        918
Ser Lys Arg Leu Phe Thr Ala Thr Ala Asp Lys Thr Lys Ser Ile Asn
            285                 290                 295

act gcc ccg ccg cca atg cgt ggc ggt atc cgg ttg tagtaataaa             964
Thr Ala Pro Pro Pro Met Arg Gly Gly Ile Arg Leu
        300                 305

agcttggctg ttttggc                                                    981
```

<210> 34
<211> 309
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 34

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

Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile
20 25 30

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

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

Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala
85 90 95

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

Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala
115 120 125

[0040]

Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr
130 135 140

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

Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu
165 170 175

Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Val Ile
180 185 190

Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly
195 200 205

Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala
210 215 220

Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

```
Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
                245                 250                 255

Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Thr Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly
            260                 265                 270

Lys Arg Arg Lys Met Thr Arg Lys Gly Ser Lys Arg Leu Phe Thr Ala
        275                 280                 285

Thr Ala Asp Lys Thr Lys Ser Ile Asn Thr Ala Pro Pro Pro Met Arg
    290                 295                 300

Gly Gly Ile Arg Leu
305
```

<210> 35
<211> 978
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

[0041]

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(951)
<223> GN353溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(951)

<400> 35

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gcc att tta aag att ggc agc aaa       54
                               Met Ala Ile Leu Lys Ile Gly Ser Lys
                               1               5

ggt ctg gaa gtt aag aat ctt cag acc agt ctc aac aaa atc ggg ttc       102
Gly Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe
10                  15                  20                  25

aat ctg gtt gcc gat ggc ata ttt ggt aaa gcg act gac aac gcc gtc       150
Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Asp Asn Ala Val
                30                  35                  40

agg gca gtt cag gca ggt gcc gga ctg gtc gtt gat ggt att gct ggc       198
Arg Ala Val Gln Ala Gly Ala Gly Leu Val Val Asp Gly Ile Ala Gly
            45                  50                  55

ccc aag acc atg tat gcg att cgc aac gca ggg gag tct cat cag gat       246
Pro Lys Thr Met Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp
```

60 65 70

cat ctg act gag gct gac ttg att gac gct gct cgt gaa ttg tct gtt 294
His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val
75 80 85

gac ctt gct agc atc aag gca gtc aac caa gta gaa tcg cgc ggt act 342
Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr
90 95 100 105

ggc ttc acc aag tct ggt aag atc aag aca ttg ttt gaa cgc cac atc 390
Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile
110 115 120

atg tac aaa aag ctg aat gcc aag ttc ggt cag gca aaa gcc aat gct 438
Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala
125 130 135

ctg gcc cag ctt tac ccg acg ttg gtt aac gcc aaa gcc ggg gga tac 486
Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr Leu Val Asn Ala Lys Ala Gly Gly Tyr
140 145 150

aca ggt ggg gac gcg gag ttg gaa cga ctc cat ggt gca ata gcg atc 534
Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile
155 160 165

gat aaa gat tgc gcc tac gag agc gct tcc tac ggg tta ttc cag atc 582
Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile
[0042] 170 175 180 185

atg ggg ttc aac tgc gtt att tgt gga tat gac aat gcc gag gag atg 630
Met Gly Phe Asn Cys Val Ile Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met
190 195 200

ttc aac gac ttt ctc act ggt gaa cgt gct cag ctc atg gca ttt gtc 678
Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val
205 210 215

aag ttc atc aag gct gac gcc aat ctg tgg aaa gca ttg aag gac aag 726
Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys
220 225 230

aat tgg gct gag ttt gct cgg cgt tac aat ggc ccg gcg tat gca cag 774
Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln
235 240 245

aac cag tac gac acc aag ctg gct gca gca tac aaa tca ttc agt acc 822
Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Thr
250 255 260 265

gcg ggc ggc acc gcg ggc ggc aga aag cga atg tct aag cgt gtt gac 870
Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly Arg Lys Arg Met Ser Lys Arg Val Asp
270 275 280

aag aag gtg ttc cgt cgt act gcc gca tct gcc aag aag att aac att 918
Lys Lys Val Phe Arg Arg Thr Ala Ala Ser Ala Lys Lys Ile Asn Ile
285 290 295

gac ccc aag att tac cgt gga ggt att cgc cta tgataataaa agcttggctg 971
Asp Pro Lys Ile Tyr Arg Gly Gly Ile Arg Leu
300 305

ttttggc 978

<210> 36
<211> 308
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 36

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

Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile
20 25 30

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

[0043]

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

Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala
85 90 95

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

Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala
115 120 125

Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr
130 135 140

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

Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu
165 170 175

Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Val Ile
180 185 190

Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly
195 200 205

Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala
210 215 220

Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
245 250 255

Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Thr Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly
260 265 270

[0044]

Arg Lys Arg Met Ser Lys Arg Val Asp Lys Lys Val Phe Arg Arg Thr
275 280 285

Ala Ala Ser Ala Lys Lys Ile Asn Ile Asp Pro Lys Ile Tyr Arg Gly
290 295 300

Gly Ile Arg Leu
305

<210> 37
<211> 903
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(879)

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(879)

<223> GN357溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(879)

<400> 37

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gcc att tta aag att ggc agc aaa      54
                               Met Ala Ile Leu Lys Ile Gly Ser Lys
                               1               5

ggt ctg gaa gtt aag aat ctt cag acc agt ctc aac aaa atc ggg ttc      102
Gly Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe
10                  15                  20                  25

aat ctg gtt gcc gat ggc ata ttt ggt aaa gcg act gac aac gcc gtc      150
Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Asp Asn Ala Val
                30                  35                  40

agg gca gtt cag gca ggt gcc gga ctg gtc gtt gat ggt att gct ggc      198
Arg Ala Val Gln Ala Gly Ala Gly Leu Val Val Asp Gly Ile Ala Gly
            45                  50                  55

ccc aag acc atg tat gcg att cgc aac gca ggg gag tct cat cag gat      246
Pro Lys Thr Met Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp
        60                  65                  70

cat ctg act gag gct gac ttg att gac gct gct cgt gaa ttg tct gtt      294
His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val
    75                  80                  85

gac ctt gct agc atc aag gca gtc aac caa gta gaa tcg cgc ggt act      342
Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr
90                  95                  100                 105

ggc ttc acc aag tct ggt aag atc aag aca ttg ttt gaa cgc cac atc      390
Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile
                110                 115                 120

atg tac aaa aag ctg aat gcc aag ttc ggt cag gca aaa gcc aat gct      438
Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala
            125                 130                 135

ctg gcc cag ctt tac ccg acg ttg gtt aac gcc aaa gcc ggg gga tac      486
Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr Leu Val Asn Ala Lys Ala Gly Gly Tyr
        140                 145                 150

aca ggt ggg gac gcg gag ttg gaa cga ctc cat ggt gca ata gcg atc      534
Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile
    155                 160                 165

gat aaa gat tgc gcc tac gag agc gct tcc tac ggg tta ttc cag atc      582
Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile
170                 175                 180                 185

atg ggg ttc aac tgc gtt att tgt gga tat gac aat gcc gag gag atg      630
Met Gly Phe Asn Cys Val Ile Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met
```

[0045]

```
                    190                 195                 200

ttc aac gac ttt ctc act ggt gaa cgt gct cag ctc atg gca ttt gtc        678
Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val
            205                 210                 215

aag ttc atc aag gct gac gcc aat ctg tgg aaa gca ttg aag gac aag        726
Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys
        220                 225                 230

aat tgg gct gag ttt gct cgg cgt tac aat ggc ccg gcg tat gca cag        774
Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln
    235                 240                 245

aac cag tac gac acc aag ctg gct gca gca tac aaa tca ttc agt acc        822
Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Thr
250                 255                 260                 265

gcg ggc ggc acc gcg ggc ggc cgc cgc ctg att cgc ctg tgg ctg cgc        870
Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly Arg Arg Leu Ile Arg Leu Trp Leu Arg
                270                 275                 280

ctg ctg cgc taataaaagc ttggctgttt tggc                                903
Leu Leu Arg
```

[0046]

```
<210>  38
<211>  284
<212>  PRT
<213>  人工序列

<220>
<223>  合成构建体

<400>  38

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

Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile
            20                  25                  30

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

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

Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65                  70                  75                  80
```

Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala
85 90 95

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

Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala
115 120 125

Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr
130 135 140

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

Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu
165 170 175

Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Val Ile
180 185 190

[0047]

Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly
195 200 205

Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala
210 215 220

Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
245 250 255

Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Thr Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly
260 265 270

Arg Arg Leu Ile Arg Leu Trp Leu Arg Leu Leu Arg
275 280

<210> 39
<211> 912
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(888)
<223> GN359溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(888)

<400> 39

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gcc att tta aag att ggc agc aaa       54
                               Met Ala Ile Leu Lys Ile Gly Ser Lys
                               1               5

ggt ctg gaa gtt aag aat ctt cag acc agt ctc aac aaa atc ggg ttc       102
Gly Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe
10                  15                  20                  25

aat ctg gtt gcc gat ggc ata ttt ggt aaa gcg act gac aac gcc gtc       150
Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Asp Asn Ala Val
                30                  35                  40

agg gca gtt cag gca ggt gcc gga ctg gtc gtt gat ggt att gct ggc       198
Arg Ala Val Gln Ala Gly Ala Gly Leu Val Val Asp Gly Ile Ala Gly
            45                  50                  55

ccc aag acc atg tat gcg att cgc aac gca ggg gag tct cat cag gat       246
Pro Lys Thr Met Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp
        60                  65                  70

cat ctg act gag gct gac ttg att gac gct gct cgt gaa ttg tct gtt       294
His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val
    75                  80                  85

gac ctt gct agc atc aag gca gtc aac caa gta gaa tcg cgc ggt act       342
Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr
90                  95                  100                 105

ggc ttc acc aag tct ggt aag atc aag aca ttg ttt gaa cgc cac atc       390
Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile
                110                 115                 120

atg tac aaa aag ctg aat gcc aag ttc ggt cag gca aaa gcc aat gct       438
Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala
            125                 130                 135

ctg gcc cag ctt tac ccg acg ttg gtt aac gcc aaa gcc ggg gga tac       486
Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr Leu Val Asn Ala Lys Ala Gly Gly Tyr
        140                 145                 150

aca ggt ggg gac gcg gag ttg gaa cga ctc cat ggt gca ata gcg atc       534
Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile
    155                 160                 165
```

[0048]

```
gat aaa gat tgc gcc tac gag agc gct tcc tac ggg tta ttc cag atc        582
Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile
170                 175                 180                 185

atg ggg ttc aac tgc gtt att tgt gga tat gac aat gcc gag gag atg        630
Met Gly Phe Asn Cys Val Ile Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met
                190                 195                 200

ttc aac gac ttt ctc act ggt gaa cgt gct cag ctc atg gca ttt gtc        678
Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val
            205                 210                 215

aag ttc atc aag gct gac gcc aat ctg tgg aaa gca ttg aag gac aag        726
Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys
        220                 225                 230

aat tgg gct gag ttt gct cgg cgt tac aat ggc ccg gcg tat gca cag        774
Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln
    235                 240                 245

aac cag tac gac acc aag ctg gct gca gca tac aaa tca ttc agt acc        822
Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Thr
250                 255                 260                 265

gcg ggc ggc acc gcg ggc ggc acc cgc aaa cgc ctg aaa aaa att ggc        870
Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly
                270                 275                 280
```

[0049]

```
aaa gtg ctg aaa tgg att taataaaagc ttggctgttt tggc                    912
Lys Val Leu Lys Trp Ile
            285
```

<210> 40
<211> 287
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 40

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

Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile
            20                  25                  30

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

Gly Leu Val Val Asp Gly Ile Ala Gly Pro Lys Thr Met Tyr Ala Ile
```

50 55 60

Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala
85 90 95

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

Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala
115 120 125

Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr
130 135 140

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

[0050] Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu
165 170 175

Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Val Ile
180 185 190

Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly
195 200 205

Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala
210 215 220

Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
245 250 255

Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Thr Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly
260 265 270

Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile
275 280 285

<210> 41
<211> 897
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(873)
<223> GN369溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(873)

<400> 41

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gcc att tta aag att ggc agc aaa       54
                               Met Ala Ile Leu Lys Ile Gly Ser Lys
                               1               5

ggt ctg gaa gtt aag aat ctt cag acc agt ctc aac aaa atc ggg ttc       102
Gly Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe
10                  15                  20                  25
```

[0051]

```
aat ctg gtt gcc gat ggc ata ttt ggt aaa gcg act gac aac gcc gtc       150
Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Asp Asn Ala Val
                30                  35                  40

agg gca gtt cag gca ggt gcc gga ctg gtc gtt gat ggt att gct ggc       198
Arg Ala Val Gln Ala Gly Ala Gly Leu Val Val Asp Gly Ile Ala Gly
            45                  50                  55

ccc aag acc atg tat gcg att cgc aac gca ggg gag tct cat cag gat       246
Pro Lys Thr Met Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp
        60                  65                  70

cat ctg act gag gct gac ttg att gac gct gct cgt gaa ttg tct gtt       294
His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val
    75                  80                  85

gac ctt gct agc atc aag gca gtc aac caa gta gaa tcg cgc ggt act       342
Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr
90                  95                  100                 105

ggc ttc acc aag tct ggt aag atc aag aca ttg ttt gaa cgc cac atc       390
Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile
                110                 115                 120

atg tac aaa aag ctg aat gcc aag ttc ggt cag gca aaa gcc aat gct       438
Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala
            125                 130                 135
```

```
ctg gcc cag ctt tac ccg acg ttg gtt aac gcc aaa gcc ggg gga tac        486
Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr Leu Val Asn Ala Lys Ala Gly Gly Tyr
        140                 145                 150

aca ggt ggg gac gcg gag ttg gaa cga ctc cat ggt gca ata gcg atc        534
Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile
    155                 160                 165

gat aaa gat tgc gcc tac gag agc gct tcc tac ggg tta ttc cag atc        582
Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile
170                 175                 180                 185

atg ggg ttc aac tgc gtt att tgt gga tat gac aat gcc gag gag atg        630
Met Gly Phe Asn Cys Val Ile Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met
                190                 195                 200

ttc aac gac ttt ctc act ggt gaa cgt gct cag ctc atg gca ttt gtc        678
Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val
            205                 210                 215

aag ttc atc aag gct gac gcc aat ctg tgg aaa gca ttg aag gac aag        726
Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys
        220                 225                 230

aat tgg gct gag ttt gct cgg cgt tac aat ggc ccg gcg tat gca cag        774
Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln
    235                 240                 245
```

[0052]

```
aac cag tac gac acc aag ctg gct gca gca tac aaa tca ttc agt cgt        822
Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Arg
250                 255                 260                 265

aaa aaa acc cgt aaa cgt ctg aaa aaa atc ggt aaa gtt ctg aaa tgg        870
Lys Lys Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp
                270                 275                 280

atc tagtaaaagc ttggctgttt tggc                                        897
Ile
```

<210> 42
<211> 282
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 42

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

Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile
            20                  25                  30
```

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

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

Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala
85 90 95

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

Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala
115 120 125

Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr
130 135 140

[0053]

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

Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu
165 170 175

Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Val Ile
180 185 190

Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly
195 200 205

Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala
210 215 220

Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
245 250 255

```
Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser Arg Lys Lys Thr Arg Lys Arg Leu
            260                 265                 270

Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile
        275                 280
```

<210> 43
<211> 558
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(534)
<223> GN370溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(534)

<400> 43

[0054]

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg atc gac cgt ttc att cgt ctg aat      54
                               Met Ile Asp Arg Phe Ile Arg Leu Asn
                               1               5

ccg acc cat ggt ccg cgt cgt ccg cgt cgt ccg ggt cgt cgt gct ccg      102
Pro Thr His Gly Pro Arg Arg Pro Arg Arg Pro Gly Arg Arg Ala Pro
10                  15                  20                  25

gtt cgt aca tcc caa cga ggc atc gac ctc atc aaa tcc ttc gag ggc      150
Val Arg Thr Ser Gln Arg Gly Ile Asp Leu Ile Lys Ser Phe Glu Gly
                30                  35                  40

ctg cgc ctg tcc gct tac cag gac tcg gtg ggt gtc tgg acc ata ggt      198
Leu Arg Leu Ser Ala Tyr Gln Asp Ser Val Gly Val Trp Thr Ile Gly
            45                  50                  55

tac ggc acc act cgg ggc gtc acc cgc tac atg acg atc acc gtc gag      246
Tyr Gly Thr Thr Arg Gly Val Thr Arg Tyr Met Thr Ile Thr Val Glu
        60                  65                  70

cag gcc gag cgg atg ctg tcg aac gac att cag cgc ttc gag cca gag      294
Gln Ala Glu Arg Met Leu Ser Asn Asp Ile Gln Arg Phe Glu Pro Glu
    75                  80                  85

cta gac agg ctg gcg aag gtg cca ctg aac cag aac cag tgg gat gcc      342
Leu Asp Arg Leu Ala Lys Val Pro Leu Asn Gln Asn Gln Trp Asp Ala
90                  95                  100                 105

ctg atg agc ttc gtg tac aac ctg ggc gcg gcc aat ctg gcg tcg tcc      390
```

Leu Met Ser Phe Val Tyr Asn Leu Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser Ser
110 115 120

acg ctg ctc gac ctg ctg aac aag ggt gac tac cag gga gca gcg gac 438
Thr Leu Leu Asp Leu Leu Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp
125 130 135

cag ttc ccg cat tgg gtg aat gcg ggc ggt aag cgc ttg gat ggt ctg 486
Gln Phe Pro His Trp Val Asn Ala Gly Gly Lys Arg Leu Asp Gly Leu
140 145 150

gtt aag cgt cga gca gcc gag cgt gcg ctg ttc ctg gag cca cta tcg 534
Val Lys Arg Arg Ala Ala Glu Arg Ala Leu Phe Leu Glu Pro Leu Ser
155 160 165

tgataaaagc ttggctgttt tggc 558

<210> 44
<211> 169
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 44

[0055] Met Ile Asp Arg Phe Ile Arg Leu Asn Pro Thr His Gly Pro Arg Arg
1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Arg Arg Ala Pro Val Arg Thr Ser Gln Arg Gly
20 25 30

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

Asp Ser Val Gly Val Trp Thr Ile Gly Tyr Gly Thr Thr Arg Gly Val
50 55 60

Thr Arg Tyr Met Thr Ile Thr Val Glu Gln Ala Glu Arg Met Leu Ser
65 70 75 80

Asn Asp Ile Gln Arg Phe Glu Pro Glu Leu Asp Arg Leu Ala Lys Val
85 90 95

Pro Leu Asn Gln Asn Gln Trp Asp Ala Leu Met Ser Phe Val Tyr Asn
100 105 110

Leu Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser Ser Thr Leu Leu Asp Leu Leu Asn

```
            115                 120                 125

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

Ala Gly Gly Lys Arg Leu Asp Gly Leu Val Lys Arg Arg Ala Ala Glu
145                 150                 155                 160

Arg Ala Leu Phe Leu Glu Pro Leu Ser
                165
```

<210> 45
<211> 516
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(492)
<223> GN371溶素

[0056]

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(492)

<400> 45

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg atc gac cgt ttc att cgt ctg aat       54
                               Met Ile Asp Arg Phe Ile Arg Leu Asn
                               1               5

ccg acc cat cgt aca tcc caa cga ggc atc gac ctc atc aaa tcc ttc       102
Pro Thr His Arg Thr Ser Gln Arg Gly Ile Asp Leu Ile Lys Ser Phe
10                  15                  20                  25

gag ggc ctg cgc ctg tcc gct tac cag gac tcg gtg ggt gtc tgg acc       150
Glu Gly Leu Arg Leu Ser Ala Tyr Gln Asp Ser Val Gly Val Trp Thr
                30                  35                  40

ata ggt tac ggc acc act cgg ggc gtc acc cgc tac atg acg atc acc       198
Ile Gly Tyr Gly Thr Thr Arg Gly Val Thr Arg Tyr Met Thr Ile Thr
            45                  50                  55

gtc gag cag gcc gag cgg atg ctg tcg aac gac att cag cgc ttc gag       246
Val Glu Gln Ala Glu Arg Met Leu Ser Asn Asp Ile Gln Arg Phe Glu
        60                  65                  70

cca gag cta gac agg ctg gcg aag gtg cca ctg aac cag aac cag tgg       294
Pro Glu Leu Asp Arg Leu Ala Lys Val Pro Leu Asn Gln Asn Gln Trp
    75                  80                  85
```

```
gat gcc ctg atg agc ttc gtg tac aac ctg ggc gcg gcc aat ctg gcg        342
Asp Ala Leu Met Ser Phe Val Tyr Asn Leu Gly Ala Ala Asn Leu Ala
90                  95                  100                 105

tcg tcc acg ctg ctc gac ctg ctg aac aag ggt gac tac cag gga gca        390
Ser Ser Thr Leu Leu Asp Leu Leu Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala
                110                 115                 120

gcg gac cag ttc ccg cat tgg gtg aat gcg ggc ggt aag cgc ttg gat        438
Ala Asp Gln Phe Pro His Trp Val Asn Ala Gly Gly Lys Arg Leu Asp
            125                 130                 135

ggt ctg gtt aag cgt cga gca gcc gag cgt gcg ctg ttc ctg gag cca        486
Gly Leu Val Lys Arg Arg Ala Ala Glu Arg Ala Leu Phe Leu Glu Pro
        140                 145                 150

cta tcg tgataaaagc ttggctgttt tggc                                    516
Leu Ser
    155
```

<210> 46
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

[0057]

<400> 46

```
Met Ile Asp Arg Phe Ile Arg Leu Asn Pro Thr His Arg Thr Ser Gln
1               5                   10                  15

Arg Gly Ile Asp Leu Ile Lys Ser Phe Glu Gly Leu Arg Leu Ser Ala
            20                  25                  30

Tyr Gln Asp Ser Val Gly Val Trp Thr Ile Gly Tyr Gly Thr Thr Arg
        35                  40                  45

Gly Val Thr Arg Tyr Met Thr Ile Thr Val Glu Gln Ala Glu Arg Met
    50                  55                  60

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

Lys Val Pro Leu Asn Gln Asn Gln Trp Asp Ala Leu Met Ser Phe Val
                85                  90                  95

Tyr Asn Leu Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser Ser Thr Leu Leu Asp Leu
```

100 105 110

Leu Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp Gln Phe Pro His Trp
115 120 125

Val Asn Ala Gly Gly Lys Arg Leu Asp Gly Leu Val Lys Arg Arg Ala
130 135 140

Ala Glu Arg Ala Leu Phe Leu Glu Pro Leu Ser
145 150 155

<210> 47
<211> 846
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(819)
<223> GN394溶素

[0058]

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(819)

<400> 47
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gcc att tta aag att ggc agc aaa 54
Met Ala Ile Leu Lys Ile Gly Ser Lys
1 5

ggt ctg gaa gtt aag aat ctt cag acc agt ctc aac aaa atc ggg ttc 102
Gly Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe
10 15 20 25

aat ctg gtt gcc gat ggc ata ttt ggt aaa gcg act gac aac gcc gtc 150
Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Asp Asn Ala Val
30 35 40

agg gca gtt cag gca ggt gcc gga ctg gtc gtt gat ggt att gct ggc 198
Arg Ala Val Gln Ala Gly Ala Gly Leu Val Val Asp Gly Ile Ala Gly
45 50 55

ccc aag acc atg tat gcg att cgc aac gca ggg gag tct cat cag gat 246
Pro Lys Thr Met Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp
60 65 70

cat ctg act gag gct gac ttg att gac gct gct cgt gaa ttg tct gtt 294
His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val
75 80 85

```
gac ctt gct agc atc aag gca gtc aac caa gta gaa tcg cgc ggt act      342
Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr
90                  95                  100                 105

ggc ttc acc aag tct ggt aag atc aag aca ttg ttt gaa cgc cac atc      390
Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile
                110                 115                 120

atg tac aaa aag ctg aat gcc aag ttc ggt cag gca aaa gcc aat gct      438
Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala
            125                 130                 135

ctg gcc cag ctt tac ccg acg ttg gtt aac gcc aaa gcc ggg gga tac      486
Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr Leu Val Asn Ala Lys Ala Gly Gly Tyr
        140                 145                 150

aca ggt ggg gac gcg gag ttg gaa cga ctc cat ggt gca ata gcg atc      534
Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile
    155                 160                 165

gat aaa gat tgc gcc tac gag agc gct tcc tac ggg tta ttc cag atc      582
Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile
170                 175                 180                 185

atg ggg ttc aac tgc gtt att tgt gga tat gac aat gcc gag gag atg      630
Met Gly Phe Asn Cys Val Ile Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met
                190                 195                 200
```

[0059]

```
ttc aac gac ttt ctc act ggt gaa cgt gct cag ctc atg gca ttt gtc      678
Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val
            205                 210                 215

gac ttc atc aag gct gac gcc aat ctg tgg aaa gca ttg aag gac aag      726
Asp Phe Ile Lys Ala Asp Ala Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys
        220                 225                 230

aat tgg gct gag ttt gct cgg cgt tac aat ggc ccg gcg tat gca cag      774
Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln
    235                 240                 245

aac cag tac gac acc aag ctg gct gca gca tac aaa tca ttc agt          819
Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser
250                 255                 260

tagtaataaa agcttggctg ttttggc                                       846
```

〈210〉 48
〈211〉 264
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成构建体

〈400〉 48

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

Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile
            20                  25                  30

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

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

Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65                  70                  75                  80

Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala
                85                  90                  95

Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys
            100                 105                 110
```

[0060]

```
Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala
        115                 120                 125

Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr
    130                 135                 140

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

Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu
                165                 170                 175

Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Val Ile
            180                 185                 190

Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly
        195                 200                 205

Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val Asp Phe Ile Lys Ala Asp Ala
    210                 215                 220
```

Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
245 250 255

Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser
260

<210> 49
<211> 846
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(819)
<223> GN396溶素

<220>
<221> CDS
[0061] <222> (28)..(819)

<400> 49
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gcc att tta aag att ggc agc aaa 54
Met Ala Ile Leu Lys Ile Gly Ser Lys
1 5

ggt ctg gaa gtt aag aat ctt cag acc agt ctc aac aaa atc ggg ttc 102
Gly Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe
10 15 20 25

aat ctg gtt gcc gat ggc ata ttt ggt aaa gcg act gac aac gcc gtc 150
Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Asp Asn Ala Val
30 35 40

agg gca gtt cag gca ggt gcc gga ctg gtc gtt gat ggt att gct ggc 198
Arg Ala Val Gln Ala Gly Ala Gly Leu Val Val Asp Gly Ile Ala Gly
45 50 55

ccc aag acc atg tat gcg att cgc aac gca ggg gag tct cat cag gat 246
Pro Lys Thr Met Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp
60 65 70

cat ctg act gag gct gac ttg att gac gct gct cgt gaa ttg tct gtt 294
His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val
75 80 85

gac ctt gct agc atc aag gca gtc aac caa gta gaa tcg cgc ggt act 342
Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr

90 95 100 105

ggc ttc acc aag tct ggt aag atc aag aca ttg ttt gaa cgc cac atc 390
Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile
110 115 120

atg tac aaa aag ctg aat gcc aag ttc ggt cag gca aaa gcc aat gct 438
Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala
125 130 135

ctg gcc cag ctt tac ccg acg ttg gtt aac gcc aaa gcc ggg gga tac 486
Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr Leu Val Asn Ala Lys Ala Gly Gly Tyr
140 145 150

aca ggt ggg gac gcg gag ttg gaa cga ctc cat ggt gca ata gcg atc 534
Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile
155 160 165

gat aaa gat tgc gcc tac gag agc gct tcc tac ggg tta ttc cag atc 582
Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile
170 175 180 185

atg ggg ttc aac tgc gtt att tgt gga tat gac aat gcc gag gag atg 630
Met Gly Phe Asn Cys Val Ile Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met
190 195 200

ttc aac gac ttt ctc act ggt gaa cgt gct cag ctc atg gca ttt gtc 678
Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val
[0062] 205 210 215

aag ttc atc aag gct gac gcc aat ctg tgg gac gca ttg aag gac aag 726
Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala Asn Leu Trp Asp Ala Leu Lys Asp Lys
220 225 230

aat tgg gct gag ttt gct cgg cgt tac aat ggc ccg gcg tat gca cag 774
Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln
235 240 245

aac cag tac gac acc aag ctg gct gca gca tac aaa tca ttc agt 819
Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser
250 255 260

tagtaataaa agcttggctg ttttggc 846

<210> 50
<211> 264
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 50

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

Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile
20 25 30

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

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

Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala
85 90 95

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

Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala
115 120 125

[0063]

Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr
130 135 140

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

Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu
165 170 175

Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Val Ile
180 185 190

Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly
195 200 205

Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala
210 215 220

Asn Leu Trp Asp Ala Leu Lys Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
245 250 255

Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser
260

<210> 51
<211> 846
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(819)
<223> GN408溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(819)

<400> 51

[0064]

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gcc att tta aag att ggc agc aaa      54
                               Met Ala Ile Leu Lys Ile Gly Ser Lys
                               1               5

ggt ctg gaa gtt aag aat ctt cag acc agt ctc aac aaa atc ggg ttc      102
Gly Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe
10                  15                  20                  25

aat ctg gtt gcc gat ggc ata ttt ggt aaa gcg act gac aac gcc gtc      150
Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Asp Asn Ala Val
                30                  35                  40

agg gca gtt cag gca ggt gcc gga ctg gtc gtt gat ggt att gct ggc      198
Arg Ala Val Gln Ala Gly Ala Gly Leu Val Val Asp Gly Ile Ala Gly
            45                  50                  55

ccc aag acc atg tat gcg att cgc aac gca ggg gag tct cat cag gat      246
Pro Lys Thr Met Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp
        60                  65                  70

cat ctg act gag gct gac ttg att gac gct gct cat gaa ttg tct gtt      294
His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ile Asp Ala Ala His Glu Leu Ser Val
    75                  80                  85

gac ctt gct agc atc aag gca gtc aac caa gta gaa tcg cgc ggt act      342
Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr
90                  95                  100                 105

ggc ttc acc aag tct ggt aag atc aag aca ttg ttt gaa cgc cac atc      390
```

```
Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile
                110                 115                 120

atg tac aaa aag ctg aat gcc aag ttc ggt cag gca aaa gcc aat gct        438
Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala
            125                 130                 135

ctg gcc cag ctt tac ccg acg ttg gtt aac gcc aaa gcc ggg gga tac        486
Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr Leu Val Asn Ala Lys Ala Gly Gly Tyr
        140                 145                 150

aca ggt ggg gac gcg gag ttg gaa cga ctc cat ggt gca ata gcg atc        534
Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile
    155                 160                 165

gat aaa gat tgc gcc tac gag agc gct tcc tac ggg tta ttc cag atc        582
Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile
170                 175                 180                 185

atg ggg ttc aac tgc gtt att tgt gga tat gac aat gcc gag gag atg        630
Met Gly Phe Asn Cys Val Ile Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met
                190                 195                 200

ttc aac gac ttt ctc act ggt gaa cgt gct cag ctc atg gca ttt gtc        678
Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val
            205                 210                 215

aag ttc atc aag gct gac gcc aat ctg tgg aaa gca ttg aag gac aag        726
Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys
        220                 225                 230

aat tgg gct gag ttt gct cgg cgt tac aat ggc ccg gcg tat gca cag        774
Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln
    235                 240                 245

aac cag tac gac acc aag ctg gct gca gca tac aaa tca ttc agt            819
Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser
250                 255                 260

tagtaataaa agcttggctg ttttggc                                         846
```

[0065]

<210> 52
<211> 264
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 52

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

Gln Thr Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile
```

20 25 30

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

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

Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala His Glu Leu Ser Val Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala
85 90 95

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

Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala
115 120 125

[0066] Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr
130 135 140

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

Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu
165 170 175

Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Val Ile
180 185 190

Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly
195 200 205

Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala
210 215 220

Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
245 250 255

Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser
260

<210> 53
<211> 846
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(819)
<223> GN418溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(819)

<400> 53
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gcc att tta aag att ggc agc aaa 54
Met Ala Ile Leu Lys Ile Gly Ser Lys
1 5

[0067]

ggt ctg gaa gtt aag aat ctt cag acc agt ctc aac gac atc ggg ttc 102
Gly Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Thr Ser Leu Asn Asp Ile Gly Phe
10 15 20 25

aat ctg gtt gcc gat ggc ata ttt ggt aaa gcg act gac aac gcc gtc 150
Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Asp Asn Ala Val
30 35 40

agg gca gtt cag gca ggt gcc gga ctg gtc gtt gat ggt att gct ggc 198
Arg Ala Val Gln Ala Gly Ala Gly Leu Val Val Asp Gly Ile Ala Gly
45 50 55

ccc aag acc atg tat gcg att cgc aac gca ggg gag tct cat cag gat 246
Pro Lys Thr Met Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp
60 65 70

cat ctg act gag gct gac ttg att gac gct gct cgt gaa ttg tct gtt 294
His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val
75 80 85

gac ctt gct agc atc aag gca gtc aac caa gta gaa tcg cgc ggt act 342
Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr
90 95 100 105

ggc ttc acc aag tct ggt aag atc aag aca ttg ttt gaa cgc cac atc 390
Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile
110 115 120

```
atg tac aaa aag ctg aat gcc aag ttc ggt cag gca aaa gcc aat gct        438
Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala
            125                 130                 135

ctg gcc cag ctt tac ccg acg ttg gtt aac gcc aaa gcc ggg gga tac        486
Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr Leu Val Asn Ala Lys Ala Gly Gly Tyr
        140                 145                 150

aca ggt ggg gac gcg gag ttg gaa cga ctc cat ggt gca ata gcg atc        534
Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile
    155                 160                 165

gat aaa gat tgc gcc tac gag agc gct tcc tac ggg tta ttc cag atc        582
Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile
170                 175                 180                 185

atg ggg ttc aac tgc gtt att tgt gga tat gac aat gcc gag gag atg        630
Met Gly Phe Asn Cys Val Ile Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met
                190                 195                 200

ttc aac gac ttt ctc act ggt gaa cgt gct cag ctc atg gca ttt gtc        678
Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val
            205                 210                 215

aag ttc atc aag gct gac gcc aat ctg tgg aaa gca ttg aag gac aag        726
Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys
        220                 225                 230
```

[0068]

```
aat tgg gct gag ttt gct cgg cgt tac aat ggc ccg gcg tat gca cag        774
Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln
    235                 240                 245

aac cag tac gac acc aag ctg gct gca gca tac aaa tca ttc agt             819
Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser
250                 255                 260

tagtaataaa agcttggctg ttttggc                                          846
```

<210> 54
<211> 264
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 54

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

Gln Thr Ser Leu Asn Asp Ile Gly Phe Asn Leu Val Ala Asp Gly Ile
            20                  25                  30
```

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

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

Arg Asn Ala Gly Glu Ser His Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65 70 75 80

Ile Asp Ala Ala Arg Glu Leu Ser Val Asp Leu Ala Ser Ile Lys Ala
85 90 95

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

Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Asn Ala
115 120 125

Lys Phe Gly Gln Ala Lys Ala Asn Ala Leu Ala Gln Leu Tyr Pro Thr
130 135 140

[0069] Leu Val Asn Ala Lys Ala Gly Gly Tyr Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu
145 150 155 160

Glu Arg Leu His Gly Ala Ile Ala Ile Asp Lys Asp Cys Ala Tyr Glu
165 170 175

Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Val Ile
180 185 190

Cys Gly Tyr Asp Asn Ala Glu Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly
195 200 205

Glu Arg Ala Gln Leu Met Ala Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala
210 215 220

Asn Leu Trp Lys Ala Leu Lys Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Gln Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
245 250 255

Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Ser

260

<210> 55
<211> 858
<212> DNA
<213> 假多噬伯克霍尔德氏菌

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(834)
<223> GN424溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(834)

<400> 55
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg aat acc ctt cgt ttc aac agt cgc 54
Met Asn Thr Leu Arg Phe Asn Ser Arg
1 5

ggc gcc gaa gtc ggc gtg ctg cag caa cgg ctc gtg cgc gcc ggc tat 102
Gly Ala Glu Val Gly Val Leu Gln Gln Arg Leu Val Arg Ala Gly Tyr
10 15 20 25

[0070] ccg atc gac gtc acg cat ctc tat gac gaa gcg acg gag cag gcc gtg 150
Pro Ile Asp Val Thr His Leu Tyr Asp Glu Ala Thr Glu Gln Ala Val
30 35 40

aag gcg ttg cag gca gcg gcc gga atc gtc gtc gac gga atc gcc ggc 198
Lys Ala Leu Gln Ala Ala Ala Gly Ile Val Val Asp Gly Ile Ala Gly
45 50 55

ccg aac acc tat gcc gtg ttg tcg gcc ggc cag cgc gac cgc aag cac 246
Pro Asn Thr Tyr Ala Val Leu Ser Ala Gly Gln Arg Asp Arg Lys His
60 65 70

ttg acc gaa gcg gac atc gcc cgc gcc gca gac aag ctc ggt gtc tcg 294
Leu Thr Glu Ala Asp Ile Ala Arg Ala Ala Asp Lys Leu Gly Val Ser
75 80 85

ccg gca tgc gtc cgc gcc gtc aac gaa gtc gag tca cgc ggc tcg ggc 342
Pro Ala Cys Val Arg Ala Val Asn Glu Val Glu Ser Arg Gly Ser Gly
90 95 100 105

ttt ctg gcg gac ggc cgg ccc gtg att ctc ttc gag cgg cac gtg atg 390
Phe Leu Ala Asp Gly Arg Pro Val Ile Leu Phe Glu Arg His Val Met
110 115 120

tac aac cgc ctc gtc gcg gcg aag cgt gcc gtc gac gca gcg agc gca 438
Tyr Asn Arg Leu Val Ala Ala Lys Arg Ala Val Asp Ala Ala Ser Ala
125 130 135

gcg cag cgc ttt ccg aac gtc gtc agc gcg aag ccg ggc gga tac cag 486
Ala Gln Arg Phe Pro Asn Val Val Ser Ala Lys Pro Gly Gly Tyr Gln

```
            140                 145                 150

ggc ggc gca gcc gaa tat gtg cga ctc gac acc gcc gcg cgc atc gat        534
Gly Gly Ala Ala Glu Tyr Val Arg Leu Asp Thr Ala Ala Arg Ile Asp
    155                 160                 165

gcg gca atc gcg tac gaa tcg gcg agc tgg ggc gca ttt cag gtg atg        582
Ala Ala Ile Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Trp Gly Ala Phe Gln Val Met
170                 175                 180                 185

ggc tat cac tgg gaa cgc ctg ggc tac tcg agc atc gac gag ttc gtt        630
Gly Tyr His Trp Glu Arg Leu Gly Tyr Ser Ser Ile Asp Glu Phe Val
                190                 195                 200

gcc cgg atg gag acg agc gaa ggc gaa cag ctc gac gcg ttt gtg cgg        678
Ala Arg Met Glu Thr Ser Glu Gly Glu Gln Leu Asp Ala Phe Val Arg
            205                 210                 215

ttc gtc gcc gcc gac tcg tcg ctg cgc acg gcg ctg aaa aac cgg aag        726
Phe Val Ala Ala Asp Ser Ser Leu Arg Thr Ala Leu Lys Asn Arg Lys
        220                 225                 230

tgg gct gca ttc gcg aag ggc tac aac ggc ccg gac tat gcg cgc aac        774
Trp Ala Ala Phe Ala Lys Gly Tyr Asn Gly Pro Asp Tyr Ala Arg Asn
    235                 240                 245

ctc tac gac gcg aag ctc gcc cag gcg tac gaa cgg tat gcc ggc acg        822
Leu Tyr Asp Ala Lys Leu Ala Gln Ala Tyr Glu Arg Tyr Ala Gly Thr
250                 255                 260                 265

aag gcg gcc gcg tgataaaagc ttggctgttt tggc                            858
Lys Ala Ala Ala
```

[0071]

<210> 56
<211> 269
<212> PRT
<213> 假多噬伯克霍尔德氏菌

<400> 56

```
Met Asn Thr Leu Arg Phe Asn Ser Arg Gly Ala Glu Val Gly Val Leu
1               5                   10                  15

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

Tyr Asp Glu Ala Thr Glu Gln Ala Val Lys Ala Leu Gln Ala Ala Ala
        35                  40                  45

Gly Ile Val Val Asp Gly Ile Ala Gly Pro Asn Thr Tyr Ala Val Leu
    50                  55                  60
```

Ser Ala Gly Gln Arg Asp Arg Lys His Leu Thr Glu Ala Asp Ile Ala
65 70 75 80

Arg Ala Ala Asp Lys Leu Gly Val Ser Pro Ala Cys Val Arg Ala Val
85 90 95

Asn Glu Val Glu Ser Arg Gly Ser Gly Phe Leu Ala Asp Gly Arg Pro
100 105 110

Val Ile Leu Phe Glu Arg His Val Met Tyr Asn Arg Leu Val Ala Ala
115 120 125

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

Val Ser Ala Lys Pro Gly Gly Tyr Gln Gly Gly Ala Ala Glu Tyr Val
145 150 155 160

Arg Leu Asp Thr Ala Ala Arg Ile Asp Ala Ala Ile Ala Tyr Glu Ser
165 170 175

[0072]

Ala Ser Trp Gly Ala Phe Gln Val Met Gly Tyr His Trp Glu Arg Leu
180 185 190

Gly Tyr Ser Ser Ile Asp Glu Phe Val Ala Arg Met Glu Thr Ser Glu
195 200 205

Gly Glu Gln Leu Asp Ala Phe Val Arg Phe Val Ala Ala Asp Ser Ser
210 215 220

Leu Arg Thr Ala Leu Lys Asn Arg Lys Trp Ala Ala Phe Ala Lys Gly
225 230 235 240

Tyr Asn Gly Pro Asp Tyr Ala Arg Asn Leu Tyr Asp Ala Lys Leu Ala
245 250 255

Gln Ala Tyr Glu Arg Tyr Ala Gly Thr Lys Ala Ala Ala
260 265

<210> 57
<211> 864
<212> DNA
<213> 柔韧假单胞菌

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(840)
<223> GN425溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(840)

<400> 57

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg acc ctg cgc ctc gat gac gtc ggc        54
                               Met Thr Leu Arg Leu Asp Asp Val Gly
                               1               5

ctc gac gtg ctc cat ctg cag aag cgc ctc aac gag ctg ggc gcg aat        102
Leu Asp Val Leu His Leu Gln Lys Arg Leu Asn Glu Leu Gly Ala Asn
10                  15                  20                  25

ccg cgg ctg ctg ccc gat ggc cag ttc ggc gag gtc acc gag cgc gcc        150
Pro Arg Leu Leu Pro Asp Gly Gln Phe Gly Glu Val Thr Glu Arg Ala
                30                  35                  40

gtg cgg gcc ttc cag caa cgt gcc ggc ctg gtg gtc gat ggc gtg gcc        198
Val Arg Ala Phe Gln Gln Arg Ala Gly Leu Val Val Asp Gly Val Ala
            45                  50                  55

gga ccc aag acg atg gcc gcc ctg tcc ggc cat tcc acc agc cgc ctg        246
Gly Pro Lys Thr Met Ala Ala Leu Ser Gly His Ser Thr Ser Arg Leu
        60                  65                  70

ctc ggc cag cgc gac ctg caa cgc gcc gcc gac cgc ttg ggc gtg ccg        294
Leu Gly Gln Arg Asp Leu Gln Arg Ala Ala Asp Arg Leu Gly Val Pro
    75                  80                  85

ctg gcc agc gtc atg gcc ctc aat gcc gtg gaa agt cgc ggc gag ggc        342
Leu Ala Ser Val Met Ala Leu Asn Ala Val Glu Ser Arg Gly Glu Gly
90                  95                  100                 105

ttc gcc gcc aat ggc cgg ccg gtg atc ctg ttc gag cgg cac gtg atg        390
Phe Ala Ala Asn Gly Arg Pro Val Ile Leu Phe Glu Arg His Val Met
                110                 115                 120

cac gaa cgc ttg cag gtc aac ggc ctg agc gaa gcc gag gcg gac gcc        438
His Glu Arg Leu Gln Val Asn Gly Leu Ser Glu Ala Glu Ala Asp Ala
            125                 130                 135

ctg gcg gca cgc cac ccc ggc ctg gtg agt cgc cgg cca ggc ggc tac        486
Leu Ala Ala Arg His Pro Gly Leu Val Ser Arg Arg Pro Gly Gly Tyr
        140                 145                 150

gtc ggc gac acc gcc gag cat cag cgc ctg gcc aat gcc cgc ctg ttg        534
Val Gly Asp Thr Ala Glu His Gln Arg Leu Ala Asn Ala Arg Leu Leu
    155                 160                 165

cat gac acc gct gcc ctg gaa tcc gcc agt tgg gga ctg ttc cag gtg        582
```

[0073]

```
His Asp Thr Ala Ala Leu Glu Ser Ala Ser Trp Gly Leu Phe Gln Val
170                 175                 180                 185

atg ggc tac cac tgg cag gcc ctg ggc tac gac acc acc cag gac ttc        630
Met Gly Tyr His Trp Gln Ala Leu Gly Tyr Asp Thr Thr Gln Asp Phe
                190                 195                 200

acc gag cgc atg gcc cgc cac gaa gcc gag cac ctg gaa gcg ttc gtg        678
Thr Glu Arg Met Ala Arg His Glu Ala Glu His Leu Glu Ala Phe Val
            205                 210                 215

cgc ttc atc gaa gcc gat ccg gca ctg cac aag gca ctc aag ggc cgt        726
Arg Phe Ile Glu Ala Asp Pro Ala Leu His Lys Ala Leu Lys Gly Arg
        220                 225                 230

aag tgg gcc gag ttc gcc cgc cgc tac aac ggc ccg gcc tac gcc cgc        774
Lys Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Arg
    235                 240                 245

aat ttg tac gac gtg aag ctg gct cgg gca ttc gag caa ttc agc gac        822
Asn Leu Tyr Asp Val Lys Leu Ala Arg Ala Phe Glu Gln Phe Ser Asp
250                 255                 260                 265

gca ctg cag gcc gcc gca tgataaaagc ttggctgttt tggc                    864
Ala Leu Gln Ala Ala Ala
                270
```

[0074]

```
<210>  58
<211>  271
<212>  PRT
<213>  柔韧假单胞菌

<400>  58

Met Thr Leu Arg Leu Asp Asp Val Gly Leu Asp Val Leu His Leu Gln
1               5                   10                  15

Lys Arg Leu Asn Glu Leu Gly Ala Asn Pro Arg Leu Leu Pro Asp Gly
            20                  25                  30

Gln Phe Gly Glu Val Thr Glu Arg Ala Val Arg Ala Phe Gln Gln Arg
        35                  40                  45

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

Leu Ser Gly His Ser Thr Ser Arg Leu Leu Gly Gln Arg Asp Leu Gln
65                  70                  75                  80

Arg Ala Ala Asp Arg Leu Gly Val Pro Leu Ala Ser Val Met Ala Leu
                85                  90                  95
```

Asn Ala Val Glu Ser Arg Gly Glu Gly Phe Ala Ala Asn Gly Arg Pro
100 105 110

Val Ile Leu Phe Glu Arg His Val Met His Glu Arg Leu Gln Val Asn
115 120 125

Gly Leu Ser Glu Ala Glu Ala Asp Ala Leu Ala Ala Arg His Pro Gly
130 135 140

Leu Val Ser Arg Arg Pro Gly Gly Tyr Val Gly Asp Thr Ala Glu His
145 150 155 160

Gln Arg Leu Ala Asn Ala Arg Leu Leu His Asp Thr Ala Ala Leu Glu
165 170 175

Ser Ala Ser Trp Gly Leu Phe Gln Val Met Gly Tyr His Trp Gln Ala
180 185 190

Leu Gly Tyr Asp Thr Thr Gln Asp Phe Thr Glu Arg Met Ala Arg His
195 200 205

[0075]

Glu Ala Glu His Leu Glu Ala Phe Val Arg Phe Ile Glu Ala Asp Pro
210 215 220

Ala Leu His Lys Ala Leu Lys Gly Arg Lys Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Arg Asn Leu Tyr Asp Val Lys Leu
245 250 255

Ala Arg Ala Phe Glu Gln Phe Ser Asp Ala Leu Gln Ala Ala Ala
260 265 270

<210> 59
<211> 843
<212> DNA
<213> 埃希氏杆菌属病毒

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(819)
<223> GN428溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(819)

<400> 59

```
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gcc att cta aaa ctt ggc aac cga       54
                               Met Ala Ile Leu Lys Leu Gly Asn Arg
                               1               5

ggt tct gaa gtc aaa gca ctt caa caa agc ctc aac aaa atc ggt ttc       102
Gly Ser Glu Val Lys Ala Leu Gln Gln Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe
10                  15                  20                  25

tct ctt aca gcc gat ggc ata ttt ggt aag gca aca gag aat gcc gtc       150
Ser Leu Thr Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Glu Asn Ala Val
                30                  35                  40

aaa tcc gtt cag gca ggt gct gga ttg gtt att gat ggt att gct ggg       198
Lys Ser Val Gln Ala Gly Ala Gly Leu Val Ile Asp Gly Ile Ala Gly
            45                  50                  55

cca aag acc ttc tat gct atc cgc aac gct gga gac gct cac cag gaa       246
Pro Lys Thr Phe Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Asp Ala His Gln Glu
        60                  65                  70

cat ctg acc gaa gcg gac ttg gtt gac gca gca cgt gaa ctt ggt gtt       294
His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Val Asp Ala Ala Arg Glu Leu Gly Val
    75                  80                  85
```

[0076]

```
gag ctg gcc agt atg aaa gcg gtg aac cag gta gaa tcc cgt ggt acg       342
Glu Leu Ala Ser Met Lys Ala Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr
90                  95                  100                 105

ggt ttt acc aaa act ggc aag atc aaa act ctg ttt gag cgc cac atc       390
Gly Phe Thr Lys Thr Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile
                110                 115                 120

atg tac aaa aag gtg acg gcc aaa ttc ggg caa gca aga gcc aat gct       438
Met Tyr Lys Lys Val Thr Ala Lys Phe Gly Gln Ala Arg Ala Asn Ala
            125                 130                 135

ctg tac caa ctc tac cca aca ttg gtt aac ccc aat tct ggc ggg tat       486
Leu Tyr Gln Leu Tyr Pro Thr Leu Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Tyr
        140                 145                 150

atc ggc gga gac gcg gag ttg gaa cgc ctt cag ggt gca atc gcc ctt       534
Ile Gly Gly Asp Ala Glu Leu Glu Arg Leu Gln Gly Ala Ile Ala Leu
    155                 160                 165

gac gag gac tgc gct tac gag agt gct tcc tac ggc cta ttc cag atc       582
Asp Glu Asp Cys Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile
170                 175                 180                 185

atg ggg ttc aac tgc caa atc tgt ggc tat tca aat gcc aaa gag atg       630
Met Gly Phe Asn Cys Gln Ile Cys Gly Tyr Ser Asn Ala Lys Glu Met
                190                 195                 200
```

ttc act gat ttc ctg act ggt gaa cgc gct cat ctt ctg gca ttt gtc 678
Phe Thr Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala His Leu Leu Ala Phe Val
205 210 215

aag ttc atc aag gct gat gcc aat atg tgg aaa gcc ctg aag aac aag 726
Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala Asn Met Trp Lys Ala Leu Lys Asn Lys
220 225 230

aat tgg gcc gag ttt gct cgt cgg tac aat ggt ccg gca tat gcg aaa 774
Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Lys
235 240 245

aac cag tat gat act aaa ctg gcg gca gca tac aag agt ttc tgt 819
Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Cys
250 255 260

taataaaagc ttggctgttt tggc 843

<210> 60
<211> 264
<212> PRT
<213> 埃希氏杆菌属病毒

<400> 60

[0077]

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

Gln Gln Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe Ser Leu Thr Ala Asp Gly Ile
20 25 30

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

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

Arg Asn Ala Gly Asp Ala His Gln Glu His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65 70 75 80

Val Asp Ala Ala Arg Glu Leu Gly Val Glu Leu Ala Ser Met Lys Ala
85 90 95

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

Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Val Thr Ala
115 120 125

Lys Phe Gly Gln Ala Arg Ala Asn Ala Leu Tyr Gln Leu Tyr Pro Thr
130 135 140

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

Glu Arg Leu Gln Gly Ala Ile Ala Leu Asp Glu Asp Cys Ala Tyr Glu
165 170 175

Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Gln Ile
180 185 190

Cys Gly Tyr Ser Asn Ala Lys Glu Met Phe Thr Asp Phe Leu Thr Gly
195 200 205

Glu Arg Ala His Leu Leu Ala Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala
210 215 220

Asn Met Trp Lys Ala Leu Lys Asn Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

[0078]

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Ala Lys Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
245 250 255

Ala Ala Ala Tyr Lys Ser Phe Cys
260

<210> 61
<211> 660
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(639)
<223> GN93溶素

<220>
<221> CDS
<222> (13)..(639)

<400> 61
ggagaattca cc atg aaa ttc ttt aag ttc ttt aag ttt ttt aaa gcc ggc 51

```
                Met Lys Phe Phe Lys Phe Phe Lys Phe Phe Lys Ala Gly
                1               5                   10

gca gga gct ggt gca gga gct ggt gca gga gct ggt gca gga gct agc      99
Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Ser
    15                  20                  25

aat aac gaa ctt cct tgg gta gcc gaa gcc cga aag tat atc ggc ctt     147
Asn Asn Glu Leu Pro Trp Val Ala Glu Ala Arg Lys Tyr Ile Gly Leu
30                  35                  40                  45

cgc gaa gac act tcg aag act tcg cat aac ccg aaa ctt ctt gcc atg     195
Arg Glu Asp Thr Ser Lys Thr Ser His Asn Pro Lys Leu Leu Ala Met
                50                  55                  60

ctt gac cgc atg ggc gaa ttt tcc aac gaa tcc cgc gct tgg tgg cac     243
Leu Asp Arg Met Gly Glu Phe Ser Asn Glu Ser Arg Ala Trp Trp His
            65                  70                  75

gac gac gaa acg cct tgg tgc gga ctg ttc gtc ggc tat tgc ttg ggc     291
Asp Asp Glu Thr Pro Trp Cys Gly Leu Phe Val Gly Tyr Cys Leu Gly
        80                  85                  90

gtt gcc ggg cgc tac gtc gtc cgc gaa tgg tac agg gcg cgg gca tgg     339
Val Ala Gly Arg Tyr Val Val Arg Glu Trp Tyr Arg Ala Arg Ala Trp
    95                  100                 105

gaa gcc ccg cag ctt acg aag ctt gac cgg ccc gca tac ggc gcg ctt     387
Glu Ala Pro Gln Leu Thr Lys Leu Asp Arg Pro Ala Tyr Gly Ala Leu
110                 115                 120                 125

gtg acc ttc acg cga agc ggc ggc ggc cac gtc ggt ttt att gtg ggc     435
Val Thr Phe Thr Arg Ser Gly Gly Gly His Val Gly Phe Ile Val Gly
                130                 135                 140

aag gat gcg cgc gga aat ctt atg gtt ctt ggc ggt aat cag tcg aac     483
Lys Asp Ala Arg Gly Asn Leu Met Val Leu Gly Gly Asn Gln Ser Asn
            145                 150                 155

gcc gta agt atc gca ccg ttc gca gta tcc cgc gta acc ggc tat ttc     531
Ala Val Ser Ile Ala Pro Phe Ala Val Ser Arg Val Thr Gly Tyr Phe
        160                 165                 170

tgg ccg tcg ttc tgg cga aac aag acc gca gtt aaa agc gtt ccg ttt     579
Trp Pro Ser Phe Trp Arg Asn Lys Thr Ala Val Lys Ser Val Pro Phe
    175                 180                 185

gaa gaa cgt tat tcg ctg ccg ctg ttg aag tcg aac ggc gaa ctt tcg     627
Glu Glu Arg Tyr Ser Leu Pro Leu Leu Lys Ser Asn Gly Glu Leu Ser
190                 195                 200                 205

acg aat gaa gcg taataagctt ggctgttttg g                            660
Thr Asn Glu Ala
```

[0079]

〈210〉 62

〈211〉 209
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成构建体

〈400〉 62

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

Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Ser Asn Asn Glu
20 25 30

Leu Pro Trp Val Ala Glu Ala Arg Lys Tyr Ile Gly Leu Arg Glu Asp
35 40 45

Thr Ser Lys Thr Ser His Asn Pro Lys Leu Leu Ala Met Leu Asp Arg
50 55 60

Met Gly Glu Phe Ser Asn Glu Ser Arg Ala Trp Trp His Asp Asp Glu
65 70 75 80

[0080]

Thr Pro Trp Cys Gly Leu Phe Val Gly Tyr Cys Leu Gly Val Ala Gly
85 90 95

Arg Tyr Val Val Arg Glu Trp Tyr Arg Ala Arg Ala Trp Glu Ala Pro
100 105 110

Gln Leu Thr Lys Leu Asp Arg Pro Ala Tyr Gly Ala Leu Val Thr Phe
115 120 125

Thr Arg Ser Gly Gly Gly His Val Gly Phe Ile Val Gly Lys Asp Ala
130 135 140

Arg Gly Asn Leu Met Val Leu Gly Gly Asn Gln Ser Asn Ala Val Ser
145 150 155 160

Ile Ala Pro Phe Ala Val Ser Arg Val Thr Gly Tyr Phe Trp Pro Ser
165 170 175

Phe Trp Arg Asn Lys Thr Ala Val Lys Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg
180 185 190

Tyr Ser Leu Pro Leu Leu Lys Ser Asn Gly Glu Leu Ser Thr Asn Glu
195 200 205

Ala

<210> 63
<211> 843
<212> DNA
<213> Dickeya噬菌体phiD3

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(819)
<223> GN431溶素

<220>
<221> CDS
<222> (28)..(819)

<400> 63
gtttaacttt aagaaggaga attcacc atg gcc att cta aaa ctt ggc aac cgt 54
Met Ala Ile Leu Lys Leu Gly Asn Arg
1 5

[0081] ggc act gaa gtg aag gca ctt cag gat agc ctc aac aaa atc ggc ttc 102
Gly Thr Glu Val Lys Ala Leu Gln Asp Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe
10 15 20 25

acc ctc gtc gct gac ggc atc ttt ggt aag gca aca gag aac gct gtc 150
Thr Leu Val Ala Asp Gly Ile Phe Gly Lys Ala Thr Glu Asn Ala Val
30 35 40

aag acc gtt cag gcg ggt gcg ggg ctt gtc att gat ggt atc gtg ggt 198
Lys Thr Val Gln Ala Gly Ala Gly Leu Val Ile Asp Gly Ile Val Gly
45 50 55

cca aag acc tcc tat gct att cgc aac gcc ggg gaa gcg cat cag gat 246
Pro Lys Thr Ser Tyr Ala Ile Arg Asn Ala Gly Glu Ala His Gln Asp
60 65 70

cac ctg act gag gct gac ctt atc gag gcg gcc aat cag ctg ggc gtc 294
His Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ile Glu Ala Ala Asn Gln Leu Gly Val
75 80 85

gac ctc gct tct gtg aag gca gtc aac cag gtt gaa tcc cgt ggc aca 342
Asp Leu Ala Ser Val Lys Ala Val Asn Gln Val Glu Ser Arg Gly Thr
90 95 100 105

ggc ttc acc aag tca ggc aag atc aag aca ttg ttc gag cgt cac atc 390
Gly Phe Thr Lys Ser Gly Lys Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile
110 115 120

atg tat aag aaa ctg atg gca aag ttc gga cag gct cga gcg aat gcc 438

```
Met Tyr Lys Lys Leu Met Ala Lys Phe Gly Gln Ala Arg Ala Asn Ala
            125                 130                 135

atg ggt cag atg tat ccg act ctg gtc agc ccg gtt gca ggc ggg tac      486
Met Gly Gln Met Tyr Pro Thr Leu Val Ser Pro Val Ala Gly Gly Tyr
        140                 145                 150

acg gga ggt gac gca gaa ttg gat cga ctc cac gca gcg atc aac atc      534
Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu Asp Arg Leu His Ala Ala Ile Asn Ile
    155                 160                 165

gac gag gat tgt gcg tac gag agc gct tca tac ggc ctc ttc cag atc      582
Asp Glu Asp Cys Ala Tyr Glu Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile
170                 175                 180                 185

atg ggc ttc aac tgc cag gtc tgc ggg tat gcc aac gcc aag gag atg      630
Met Gly Phe Asn Cys Gln Val Cys Gly Tyr Ala Asn Ala Lys Glu Met
                190                 195                 200

ttc aat gac ttc ctg acg gga gaa cgt gct cac ctg atg gca ttc gtg      678
Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly Glu Arg Ala His Leu Met Ala Phe Val
            205                 210                 215

aag ttc atc aag gct gat gcc aag ctc tgg cag gct ctg aag gac aag      726
Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala Lys Leu Trp Gln Ala Leu Lys Asp Lys
        220                 225                 230

[0082] aat tgg gct gag ttc gcg cgg cgc tat aat ggt ccg gcg tat acc aag      774
Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Thr Lys
    235                 240                 245

aac cag tac gac acg aag ctc gca gca gca tac aac agc ttc aat          819
Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu Ala Ala Ala Tyr Asn Ser Phe Asn
250                 255                 260

taataaaagc ttggctgttt tggc                                          843


<210>  64
<211>  264
<212>  PRT
<213>  Dickeya噬菌体phiD3

<400>  64

Met Ala Ile Leu Lys Leu Gly Asn Arg Gly Thr Glu Val Lys Ala Leu
1               5                   10                  15


Gln Asp Ser Leu Asn Lys Ile Gly Phe Thr Leu Val Ala Asp Gly Ile
            20                  25                  30


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

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

Arg Asn Ala Gly Glu Ala His Gln Asp His Leu Thr Glu Ala Asp Leu
65 70 75 80

Ile Glu Ala Ala Asn Gln Leu Gly Val Asp Leu Ala Ser Val Lys Ala
85 90 95

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

Ile Lys Thr Leu Phe Glu Arg His Ile Met Tyr Lys Lys Leu Met Ala
115 120 125

Lys Phe Gly Gln Ala Arg Ala Asn Ala Met Gly Gln Met Tyr Pro Thr
130 135 140

Leu Val Ser Pro Val Ala Gly Gly Tyr Thr Gly Gly Asp Ala Glu Leu
145 150 155 160

[0083] Asp Arg Leu His Ala Ala Ile Asn Ile Asp Glu Asp Cys Ala Tyr Glu
165 170 175

Ser Ala Ser Tyr Gly Leu Phe Gln Ile Met Gly Phe Asn Cys Gln Val
180 185 190

Cys Gly Tyr Ala Asn Ala Lys Glu Met Phe Asn Asp Phe Leu Thr Gly
195 200 205

Glu Arg Ala His Leu Met Ala Phe Val Lys Phe Ile Lys Ala Asp Ala
210 215 220

Lys Leu Trp Gln Ala Leu Lys Asp Lys Asn Trp Ala Glu Phe Ala Arg
225 230 235 240

Arg Tyr Asn Gly Pro Ala Tyr Thr Lys Asn Gln Tyr Asp Thr Lys Leu
245 250 255

Ala Ala Ala Tyr Asn Ser Phe Asn
260

<210> 65

<211> 510
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(510)
<223> GN486溶素

<220>
<221> CDS
<222> (10)..(510)

<400> 65

```
gaattcacc atg gga tcc cat cat cac cac cat cat ggt ggt ccg cgt cgt        51
          Met Gly Ser His His His His His His Gly Gly Pro Arg Arg
          1               5                   10

ccg cgt cgt ccg ggt cgt cgt gct ccg gtt cgt acc tct cag cgt ggt        99
Pro Arg Arg Pro Gly Arg Arg Ala Pro Val Arg Thr Ser Gln Arg Gly
15                  20                  25                  30

atc gac ctg atc aaa tct ttc gaa ggt ctg cgt ctg tct gct tac cag       147
Ile Asp Leu Ile Lys Ser Phe Glu Gly Leu Arg Leu Ser Ala Tyr Gln
                35                  40                  45

gac tct gtt ggt gtt tgg acc atc ggt tac ggt acc acc cgt ggt gtt       195
Asp Ser Val Gly Val Trp Thr Ile Gly Tyr Gly Thr Thr Arg Gly Val
            50                  55                  60

acc cgt tac atg acc atc acc gtt gaa cag gct gaa cgt atg ctg tct       243
Thr Arg Tyr Met Thr Ile Thr Val Glu Gln Ala Glu Arg Met Leu Ser
        65                  70                  75

aac gac atc cag cgt ttc gaa ccg gaa ctg gac cgt ctg gct aaa gtt       291
Asn Asp Ile Gln Arg Phe Glu Pro Glu Leu Asp Arg Leu Ala Lys Val
    80                  85                  90

ccg ctg aac cag aac cag tgg gac gct ctg atg tct ttc gtt tac aac       339
Pro Leu Asn Gln Asn Gln Trp Asp Ala Leu Met Ser Phe Val Tyr Asn
95                  100                 105                 110

ctg ggt gct gct aac ctg gct tct tct acc ctg ctg aaa ctg ctg aac       387
Leu Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser Ser Thr Leu Leu Lys Leu Leu Asn
                115                 120                 125

aaa ggt gac tac cag ggt gct gct gac cag ttc ccg cgt tgg gtt aac       435
Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp Gln Phe Pro Arg Trp Val Asn
            130                 135                 140

gct ggt ggt aaa cgt ctg gac ggt ctg gtt aaa cgt cgt gct gct gaa       483
Ala Gly Gly Lys Arg Leu Asp Gly Leu Val Lys Arg Arg Ala Ala Glu
        145                 150                 155
```

[0084]

cgt gct ctg ttc ctg gaa ccg ctg tct 510
Arg Ala Leu Phe Leu Glu Pro Leu Ser
160 165

<210> 66
<211> 167
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 66

Met Gly Ser His His His His His His Gly Gly Pro Arg Arg Pro Arg
1 5 10 15

Arg Pro Gly Arg Arg Ala Pro Val Arg Thr Ser Gln Arg Gly Ile Asp
20 25 30

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

[0085] Val Gly Val Trp Thr Ile Gly Tyr Gly Thr Thr Arg Gly Val Thr Arg
50 55 60

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

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

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

Ala Ala Asn Leu Ala Ser Ser Thr Leu Leu Lys Leu Leu Asn Lys Gly
115 120 125

Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp Gln Phe Pro Arg Trp Val Asn Ala Gly
130 135 140

Gly Lys Arg Leu Asp Gly Leu Val Lys Arg Arg Ala Ala Glu Arg Ala
145 150 155 160

Leu Phe Leu Glu Pro Leu Ser

165

<210> 67
<211> 219
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(216)
<223> GN485溶素

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(216)

<400> 67

```
atg ccg ggt ctg tct ggt ttc atc cgt aac gct gac acc ccg gtt acc          48
Met Pro Gly Leu Ser Gly Phe Ile Arg Asn Ala Asp Thr Pro Val Thr
1               5                   10                  15

tct ctg ggt tct gct ggt cac gtt cac gtt ccg gaa ggt ccg ctg atc          96
Ser Leu Gly Ser Ala Gly His Val His Val Pro Glu Gly Pro Leu Ile
            20                  25                  30

cgt atc aac ccg gac tgc ctg ctg ggt acc ccg ttc aaa ttc ttc aag         144
Arg Ile Asn Pro Asp Cys Leu Leu Gly Thr Pro Phe Lys Phe Phe Lys
        35                  40                  45

ttc ttc aag ttc ttc aag ttc ttt aag ttc ttt aag ttt ttc aag ttc         192
Phe Phe Lys Phe Phe Lys Phe Phe Lys Phe Phe Lys Phe Phe Lys Phe
    50                  55                  60

ttc aag aac gaa tgc gtt ctg ctg taa                                    219
Phe Lys Asn Glu Cys Val Leu Leu
65                  70
```

[0086]

<210> 68
<211> 72
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 68

```
Met Pro Gly Leu Ser Gly Phe Ile Arg Asn Ala Asp Thr Pro Val Thr
1               5                   10                  15
```

Ser Leu Gly Ser Ala Gly His Val His Val Pro Glu Gly Pro Leu Ile
20 25 30

Arg Ile Asn Pro Asp Cys Leu Leu Gly Thr Pro Phe Lys Phe Phe Lys
35 40 45

Phe Phe Lys Phe Phe Lys Phe Phe Lys Phe Phe Lys Phe Phe Lys Phe
50 55 60

Phe Lys Asn Glu Cys Val Leu Leu
65 70

<210> 69
<211> 132
<212> DNA
<213> 衣原体噬菌体2

<400> 69
atgaggttaa aaatggcacg aagaagatac agacttccgc gacgtagaag tcgaagactt 60

ttttcaagaa ctgcattgag gatgcatcca agaaataggc ttcgaagaat tatgcgtggc 120

ggcattaggt tc 132

[0087]

<210> 70
<211> 44
<212> PRT
<213> 衣原体噬菌体2

<400> 70

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

Ser Arg Arg Leu Phe Ser Arg Thr Ala Leu Arg Met His Pro Arg Asn
20 25 30

Arg Leu Arg Arg Ile Met Arg Gly Gly Ile Arg Phe
35 40

<210> 71
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(24)
<223> 接头

<400> 71
accgcgggcg gcaccgcggg cggc 24

<210> 72
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(8)
<223> 接头

<400> 72

Thr Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly
1 5

[0088]

<210> 73
<211> 435
<212> DNA
<213> 假单胞菌噬菌体PAJU2

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(435)
<223> GN4

<400> 73
atgcgtacat cccaacgagg catcgacctc atcaaatcct tcgagggcct gcgcctgtcc 60

gcttaccagg actcggtggg tgtctggacc ataggttacg gcaccactcg gggcgtcacc 120

cgctacatga cgatcaccgt cgagcaggcc gagcggatgc tgtcgaacga cattcagcgc 180

ttcgagccag agctagacag gctggcgaag gtgccactga accagaacca gtgggatgcc 240

ctgatgagct tcgtgtacaa cctgggcgcg gccaatctgg cgtcgtccac gctgctcaag 300

ctgctgaaca agggtgacta ccagggagca gcggaccagt tcccgcgctg ggtgaatgcg 360

ggcggtaagc gcttggatgg tctggttaag cgtcgagcag ccgagcgtgc gctgttcctg 420

gagccactat cgtga 435

<210> 74
<211> 144
<212> PRT
<213> 假单胞菌噬菌体PAJU2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(144)
<223> GN4

<400> 74

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

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

Tyr Gly Thr Thr Arg Gly Val Thr Arg Tyr Met Thr Ile Thr Val Glu
35 40 45

Gln Ala Glu Arg Met Leu Ser Asn Asp Ile Gln Arg Phe Glu Pro Glu
50 55 60

[0089]

Leu Asp Arg Leu Ala Lys Val Pro Leu Asn Gln Asn Gln Trp Asp Ala
65 70 75 80

Leu Met Ser Phe Val Tyr Asn Leu Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser Ser
85 90 95

Thr Leu Leu Lys Leu Leu Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp
100 105 110

Gln Phe Pro Arg Trp Val Asn Ala Gly Gly Lys Arg Leu Asp Gly Leu
115 120 125

Val Lys Arg Arg Ala Ala Glu Arg Ala Leu Phe Leu Glu Pro Leu Ser
130 135 140

<210> 75
<211> 63
<212> DNA
<213> 中国对虾

<400> 75
atgagcttta acgtgacccc gaaatttaaa cgctggcagc tgtattttcg cggccgcatg 60

tgg 63

<210> 76
<211> 21
<212> PRT
<213> 中国对虾

<400> 76

Met Ser Phe Asn Val Thr Pro Lys Phe Lys Arg Trp Gln Leu Tyr Phe
1 5 10 15

Arg Gly Arg Met Trp
20

<210> 77
<211> 438
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

[0090]

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(438)
<223> 修饰的GN4溶素，GN146

<400> 77
atgcgtacat cccaacgagg catcgacctc atcaaatcct tcgagggcct gcgcctgtcc 60

gcttaccagg actcggtggg tgtctggacc ataggttacg gcaccactcg gggcgtcacc 120

cgctacatga cgatcaccgt cgagcaggcc gagcggatgc tgtcgaacga cattcagcgc 180

ttcgagccag agctagacag gctggcgaag gtgccactga accagaacca gtgggatgcc 240

ctgatgagct tcgtgtacaa cctgggcgcg gccaatctgg cgtcgtccac gctgctcgac 300

ctgctgaaca agggtgacta ccagggagca gcggaccagt tcccgcattg ggtgaatgcg 360

ggcggtaagc gcttggatgg tctggttaag cgtcgagcag ccgagcgtgc gctgttcctg 420

gagccactat cgtgataa 438

<210> 78
<211> 144
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(144)
<223> 修饰的GN4溶素，GN146

<400> 78

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

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

Tyr Gly Thr Thr Arg Gly Val Thr Arg Tyr Met Thr Ile Thr Val Glu
35 40 45

Gln Ala Glu Arg Met Leu Ser Asn Asp Ile Gln Arg Phe Glu Pro Glu
50 55 60

Leu Asp Arg Leu Ala Lys Val Pro Leu Asn Gln Asn Gln Trp Asp Ala
65 70 75 80

[0091]

Leu Met Ser Phe Val Tyr Asn Leu Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser Ser
85 90 95

Thr Leu Leu Asp Leu Leu Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp
100 105 110

Gln Phe Pro His Trp Val Asn Ala Gly Gly Lys Arg Leu Asp Gly Leu
115 120 125

Val Lys Arg Arg Ala Ala Glu Arg Ala Leu Phe Leu Glu Pro Leu Ser
130 135 140

<210> 79
<211> 57
<212> DNA
<213> Pelophylax esculentus

<400> 79
atttttagca aactggcggg caaaaaaatt aaaaacctgc tgattagcgg cctgaaa 57

<210> 80
<211> 19

<212> PRT
<213> Pelophylax esculentus

<400> 80

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

Gly Leu Lys

<210> 81
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(36)
<223> BBa_K1485002

[0092] <400> 81
ggcggtagcg gcagcggtag cggtagcggc agcccg 36

<210> 82
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(12)
<223> BBa_K1485002

<400> 82

Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Pro
1 5 10

<210> 83
<211> 381
<212> DNA
<213> Micavibrio aeruginosavorus

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(381)
<223> GN37

<400> 83
atgacataca ccctgagcaa aagaagcctg gataacctaa aaggcgttca tcccgatctg 60

gttgccgttg tccatcgcgc catccagctt acaccggttg atttcgcggt gatcgaaggc 120

ctgcgctccg tatcccgcca aaaggaactg gtggccgccg gcgccagcaa gaccatgaac 180

agccgacacc tgacaggcca tgcggttgat ctagccgctt acgtcaatgg catccgctgg 240

gactggcccc tgtatgacgc catcgccgtg gctgtgaaag ccgcagcaaa ggaattgggt 300

gtggccatcg tgtggggcgg tgactggacc acgtttaagg atggcccgca ctttgaactg 360

gatcggagca aatacagatg a 381

<210> 84
<211> 126
<212> PRT
<213> Micavibrio aeruginosavorus

<400> 84

[0093] Met Thr Tyr Thr Leu Ser Lys Arg Ser Leu Asp Asn Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

His Pro Asp Leu Val Ala Val Val His Arg Ala Ile Gln Leu Thr Pro
20 25 30

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

Glu Leu Val Ala Ala Gly Ala Ser Lys Thr Met Asn Ser Arg His Leu
50 55 60

Thr Gly His Ala Val Asp Leu Ala Ala Tyr Val Asn Gly Ile Arg Trp
65 70 75 80

Asp Trp Pro Leu Tyr Asp Ala Ile Ala Val Ala Val Lys Ala Ala Ala
85 90 95

Lys Glu Leu Gly Val Ala Ile Val Trp Gly Gly Asp Trp Thr Thr Phe
100 105 110

Lys Asp Gly Pro His Phe Glu Leu Asp Arg Ser Lys Tyr Arg

115 120 125

<210> 85
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(39)
<223> IGEM 接头 (BBA_K1486037)

<400> 85
ggcggtggct ctggaggtgg tgggtccggc ggtggctct 39

<210> 86
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

[0094]

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(13)
<223> IGEM 接头 (BBA_K1486037)

<400> 86

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 87
<211> 36
<212> DNA
<213> 野猪

<400> 87
cgcctgaaaa aaattggcaa agtgctgaaa tggatt 36

<210> 88
<211> 12
<212> PRT
<213> 野猪

<400> 88

Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile
1 5 10

<210> 89
<211> 102
<212> DNA
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：蘑菇状噬菌体序列

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(102)
<223> gkh2

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(102)
<223> 未知的描述：蘑菇状噬菌体序列

<400> 89
atgtcgaaga aggcgtcgag gaagagtttt actaagggtg ccgttaaggt tcataagaaa 60

aatgttccta ctcgtgttcc tatgcgtggc ggtattaggc tt 102

[0095]

<210> 90
<211> 34
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：蘑菇状噬菌体序列

<400> 90

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

Val His Lys Lys Asn Val Pro Thr Arg Val Pro Met Arg Gly Gly Ile
20 25 30

Arg Leu

<210> 91
<211> 54
<212> DNA
<213> 野猪

<400> 91

cgtaaaaaaa cccgtaaacg tctgaaaaaa atcggtaaag ttctgaaatg gatc 54

<210> 92
<211> 18
<212> PRT
<213> 野猪

<400> 92

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

Trp Ile

<210> 93
<211> 45
<212> DNA
<213> 野猪

<400> 93
acccgcaaac gcctgaaaaa aattggcaaa gtgctgaaat ggatt 45

[0096] <210> 94
<211> 15
<212> PRT
<213> 野猪

<400> 94

Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile
1 5 10 15

<210> 95
<211> 348
<212> DNA
<213> 假单胞菌噬菌体PaP2

<400> 95
atgaaactca gcgaaaaacg agcactgttc acccagctgc ttgcccagtt aattctttgg 60

gcaggaactc aggatcgagt gtcagtagcc ttggatcaag tgaaaaggac acaggctgaa 120

gctgatgcca atgctaagtc tggagcaggc attaggaact ctctccatct actgggatta 180

gccggtgatc ttatcctcta caaggatggt aaatacatgg ataagagcga ggattataag 240

ttcctgggag attactggaa gagtctccat cctctttgtc ggtggggcgg agattttaaa 300

agccgtcctg atggtaatca tttctccttg gaacacgaag gagtgcaa 348

<210> 96
<211> 116
<212> PRT
<213> 假单胞菌噬菌体PaP2

<400> 96

Met Lys Leu Ser Glu Lys Arg Ala Leu Phe Thr Gln Leu Leu Ala Gln
1 5 10 15

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

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

Ala Gly Ile Arg Asn Ser Leu His Leu Leu Gly Leu Ala Gly Asp Leu
50 55 60

Ile Leu Tyr Lys Asp Gly Lys Tyr Met Asp Lys Ser Glu Asp Tyr Lys
65 70 75 80

[0097] Phe Leu Gly Asp Tyr Trp Lys Ser Leu His Pro Leu Cys Arg Trp Gly
85 90 95

Gly Asp Phe Lys Ser Arg Pro Asp Gly Asn His Phe Ser Leu Glu His
100 105 110

Glu Gly Val Gln
115

<210> 97
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(30)
<223> 接头

<400> 97
ccaccaaccg cgggcggcac cgcgggcggc 30

<210> 98
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 98

Pro Pro Thr Ala Gly Gly Thr Ala Gly Gly
1 5 10

<210> 99
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(27)
<223> 纯化标签GSHHHHHHG

[0098]

<400> 99
ggatcccatc atcaccacca tcatggt 27

<210> 100
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 100

Gly Ser His His His His His His Gly
1 5

<210> 101
<211> 120
<212> DNA
<213> 衣原体噬菌体4

<400> 101
atggcacgaa gatacagact ttcgcgacgc agaagtcgac gacttttttc aagaactgca 60

ttaagaatgc atcgaagaaa tagacttcga agaattatgc gtggcggcat taggttttag 120

<210> 102
<211> 39
<212> PRT
<213> 衣原体噬菌体4

<400> 102

Met Ala Arg Arg Tyr Arg Leu Ser Arg Arg Arg Ser Arg Arg Leu Phe
1 5 10 15

Ser Arg Thr Ala Leu Arg Met His Arg Arg Asn Arg Leu Arg Arg Ile
20 25 30

Met Arg Gly Gly Ile Arg Phe
35

<210> 103
<211> 126
<212> DNA
<213> 大肠杆菌

<400> 103
atggctcgtt cccgtagacg tatgtctaag cgttcttccc gccgttcgtt ccgcaagtat 60

gcgaagtcgc ataagaagaa ctttaaagcc cgctcaatgc gtggcggtat ccgtttatga 120

[0099]

taataa 126

<210> 104
<211> 39
<212> PRT
<213> 大肠杆菌

<400> 104

Met Ala Arg Ser Arg Arg Arg Met Ser Lys Arg Ser Ser Arg Arg Ser
1 5 10 15

Phe Arg Lys Tyr Ala Lys Ser His Lys Lys Asn Phe Lys Ala Arg Ser
20 25 30

Met Arg Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 105
<211> 114
<212> DNA
<213> 沙眼衣原体

<400> 105

aaacgtagaa aaatgacaag aaaaggttct aagcgtcttt ttactgcaac tgctgataaa 60

actaaatcta tcaatactgc cccgccgcca atgcgtggcg gtatccggtt gtag 114

<210> 106
<211> 37
<212> PRT
<213> 沙眼衣原体

<400> 106

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

Thr Ala Asp Lys Thr Lys Ser Ile Asn Thr Ala Pro Pro Pro Met Arg
20 25 30

Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 107
<211> 114
<212> DNA
<213> 颤杆菌属物种PC13

[0100]

<400> 107
atgagaaagc gaatgtctaa gcgtgttgac aagaaggtgt tccgtcgtac tgccgcatct 60

gccaagaaga ttaacattga ccccaagatt taccgtggag gtattcgcct atga 114

<210> 108
<211> 37
<212> PRT
<213> 颤杆菌属物种PC13

<400> 108

Met Arg Lys Arg Met Ser Lys Arg Val Asp Lys Lys Val Phe Arg Arg
1 5 10 15

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

Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 109
<211> 36
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(36)
<223> RR12

<400> 109
cgccgcctga ttcgcctgtg gctgcgcctg ctgcgc 36

<210> 110
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 110

Arg Arg Leu Ile Arg Leu Trp Leu Arg Leu Leu Arg
1 5 10

[0101]

<210> 111
<211> 12
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(12)
<223> 结构部分

<400> 111
atgatcgacc gt 12

<210> 112
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 112

Met Ile Asp Arg
1

<210> 113
<211> 12
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(12)
<223> 部分(来自PMID: 22628248的外膜结合肽)

<400> 113
ttcattcgtc tg 12

<210> 114
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
[0102] <223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 114

Phe Ile Arg Leu
1

<210> 115
<211> 12
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(12)
<223> 结构部分

<400> 115
aatccgaccc at 12

<210> 116
<211> 4
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 116

Asn Pro Thr His
1

<210> 117
<211> 477
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(477)
<223> GN202溶素

<400> 117

[0103]

ggtccgcgtc gtccgcgtcg tccgggtcgt cgtgctccgg ttcgtacatc ccaacgaggc 60

atcgacctca tcaaatcctt cgagggcctg cgcctgtccg cttaccagga ctcggtgggt 120

gtctggacca taggttacgg caccactcgg ggcgtcaccc gctacatgac gatcaccgtc 180

gagcaggccg agcggatgct gtcgaacgac attcagcgct tcgagccaga gctagacagg 240

ctggcgaagg tgccactgaa ccagaaccag tgggatgccc tgatgagctt cgtgtacaac 300

ctgggcgcgg ccaatctggc gtcgtccacg ctgctcgacc tgctgaacaa gggtgactac 360

cagggagcag cggaccagtt cccgcattgg gtgaatgcgg gcggtaagcg cttggatggt 420

ctggttaagc gtcgagcagc cgagcgtgcg ctgttcctgg agccactatc gtgataa 477

<210> 118
<211> 158
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 118

Met Gly Pro Arg Arg Pro Arg Arg Pro Gly Arg Arg Ala Pro Val Arg
1 5 10 15

Thr Ser Gln Arg Gly Ile Asp Leu Ile Lys Ser Phe Glu Gly Leu Arg
20 25 30

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

Thr Thr Arg Gly Val Thr Arg Tyr Met Thr Ile Thr Val Glu Gln Ala
50 55 60

Glu Arg Met Leu Ser Asn Asp Ile Gln Arg Phe Glu Pro Glu Leu Asp
65 70 75 80

Arg Leu Ala Lys Val Pro Leu Asn Gln Asn Gln Trp Asp Ala Leu Met
85 90 95

Ser Phe Val Tyr Asn Leu Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser Ser Thr Leu
100 105 110

Leu Asp Leu Leu Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp Gln Phe
115 120 125

[0104] Pro His Trp Val Asn Ala Gly Gly Lys Arg Leu Asp Gly Leu Val Lys
130 135 140

Arg Arg Ala Ala Glu Arg Ala Leu Phe Leu Glu Pro Leu Ser
145 150 155

<210> 119
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(30)
<223> 阳离子肽

<400> 119
aaattcttta agttctttaa gtttttaaa 30

<210> 120
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 120

Lys Phe Phe Lys Phe Phe Lys Phe Phe Lys
1 5 10

<210> 121
<211> 54
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(54)
<223> 接头

<400> 121
gccggcgcag gagctggtgc aggagctggt gcaggagctg gtgcaggagc tagc 54

[0105]

<210> 122
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 122

Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly
1 5 10 15

Ala Ser

<210> 123
<211> 543
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>

<221> misc_feature
<222> (1)..(543)
<223> GN14溶素

<400> 123
aataacgaac ttccttgggt agccgaagcc cgaaagtata tcggccttcg cgaagacact 60

tcgaagactt cgcataaccc gaaacttctt gccatgcttg accgcatggg cgaattttcc 120

aacgaatccc gcgcttggtg gcacgacgac gaaacgcctt ggtgcggact gttcgtcggc 180

tattgcttgg gcgttgccgg gcgctacgtc gtccgcgaat ggtacagggc gcgggcatgg 240

gaagccccgc agcttacgaa gcttgaccgg cccgcatacg gcgcgcttgt gaccttcacg 300

cgaagcggcg gcggccacgt cggttttatt gtgggcaagg atgcgcgcgg aaatcttatg 360

gttcttggcg gtaatcagtc gaacgccgta agtatcgcac cgttcgcagt atcccgcgta 420

accggctatt tctggccgtc gttctggcga aacaagaccg cagttaaaag cgttccgttt 480

gaagaacgtt attcgctgcc gctgttgaag tcgaacggcg aactttcgac gaatgaagcg 540

taa 543

<210> 124
<211> 180
[0106] <212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 124

Asn Asn Glu Leu Pro Trp Val Ala Glu Ala Arg Lys Tyr Ile Gly Leu
1 5 10 15

Arg Glu Asp Thr Ser Lys Thr Ser His Asn Pro Lys Leu Leu Ala Met
20 25 30

Leu Asp Arg Met Gly Glu Phe Ser Asn Glu Ser Arg Ala Trp Trp His
35 40 45

Asp Asp Glu Thr Pro Trp Cys Gly Leu Phe Val Gly Tyr Cys Leu Gly
50 55 60

Val Ala Gly Arg Tyr Val Val Arg Glu Trp Tyr Arg Ala Arg Ala Trp
65 70 75 80

Glu Ala Pro Gln Leu Thr Lys Leu Asp Arg Pro Ala Tyr Gly Ala Leu

85 90 95

Val Thr Phe Thr Arg Ser Gly Gly Gly His Val Gly Phe Ile Val Gly
100 105 110

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

Ala Val Ser Ile Ala Pro Phe Ala Val Ser Arg Val Thr Gly Tyr Phe
130 135 140

Trp Pro Ser Phe Trp Arg Asn Lys Thr Ala Val Lys Ser Val Pro Phe
145 150 155 160

Glu Glu Arg Tyr Ser Leu Pro Leu Leu Lys Ser Asn Gly Glu Leu Ser
165 170 175

Thr Asn Glu Ala
180

[0107]

<210> 125
<211> 471
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(471)
<223> GN156

<400> 125
ggtccgcgtc gtccgcgtcg tccgggtcgt cgtgctccgg ttcgtacctc tcagcgtggt 60

atcgacctga tcaaatcttt cgaaggtctg cgtctgtctg cttaccagga ctctgttggt 120

gtttggacca tcggttacgg taccacccgt ggtgttaccc gttacatgac catcaccgtt 180

gaacaggctg aacgtatgct gtctaacgac atccagcgtt tcgaaccgga actggaccgt 240

ctggctaaag ttccgctgaa ccagaaccag tgggacgctc tgatgtcttt cgtttacaac 300

ctgggtgctg ctaacctggc ttcttctacc ctgctgaaac tgctgaacaa aggtgactac 360

cagggtgctg ctgaccagtt cccgcgttgg gttaacgctg gtggtaaacg tctggacggt 420

ctggttaaac gtcgtgctgc tgaacgtgct ctgttcctgg aaccgctgtc t 471

〈210〉 126
〈211〉 157
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 人工序列的描述：合成多肽

〈400〉 126

Gly Pro Arg Arg Pro Arg Arg Pro Gly Arg Arg Ala Pro Val Arg Thr
1 5 10 15

Ser Gln Arg Gly Ile Asp Leu Ile Lys Ser Phe Glu Gly Leu Arg Leu
20 25 30

Ser Ala Tyr Gln Asp Ser Val Gly Val Trp Thr Ile Gly Tyr Gly Thr
35 40 45

Thr Arg Gly Val Thr Arg Tyr Met Thr Ile Thr Val Glu Gln Ala Glu
50 55 60

[0108] Arg Met Leu Ser Asn Asp Ile Gln Arg Phe Glu Pro Glu Leu Asp Arg
65 70 75 80

Leu Ala Lys Val Pro Leu Asn Gln Asn Gln Trp Asp Ala Leu Met Ser
85 90 95

Phe Val Tyr Asn Leu Gly Ala Ala Asn Leu Ala Ser Ser Thr Leu Leu
100 105 110

Lys Leu Leu Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp Gln Phe Pro
115 120 125

Arg Trp Val Asn Ala Gly Gly Lys Arg Leu Asp Gly Leu Val Lys Arg
130 135 140

Arg Ala Ala Glu Arg Ala Leu Phe Leu Glu Pro Leu Ser
145 150 155

〈210〉 127
〈211〉 39
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(39)
<223> PGN4

<400> 127

Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp Gln Phe Pro Arg Trp Val
1 5 10 15

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

Gln Ser Arg Glu Ser Gln Cys
35

<210> 128
<211> 42
<212> PRT
<213> 人工序列

[0109] <220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(42)
<223> FGN4-1

<400> 128

Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp Gln Phe Pro Arg Trp Val
1 5 10 15

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

Glu Arg Ala Leu Phe Leu Glu Pro Leu Ser
35 40

<210> 129
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(31)
<223> FGN4-2

<400> 129

Asn Lys Gly Asp Tyr Gln Gly Ala Ala Asp Gln Phe Pro Arg Trp Val
1 5 10 15

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

<210> 130
<211> 54
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成寡核苷酸

<220>
[0110] <221> misc_feature
<222> (1)..(54)
<223> RI18

<400> 130
cgtaaaaaaa cccgtaaacg tctgaaaaaa atcggtaaag ttctgaaatg gatc 54

<210> 131
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成肽

<400> 131

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

Trp Ile

<210> 132
<211> 111
<212> DNA

<213> 衣原体病毒Chp1

<400> 132
atggttcgta gaagacgttt gagaagaaga ataagtagaa gaatttttag aagaacagta 60

gctagagttg gtagaaggcg aaggtctttt cgtggtggta ttagatttta a 111

<210> 133
<211> 36
<212> PRT
<213> 衣原体病毒Chp1

<400> 133

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

Arg Arg Thr Val Ala Arg Val Gly Arg Arg Arg Arg Ser Phe Arg Gly
20 25 30

Gly Ile Arg Phe
35

[0111] <210> 134
<211> 108
<212> DNA
<213> 衣原体病毒CPAR39

<400> 134
ttgtgcaaaa aagtgtgcaa aaaatgccca aaaaaagggc caaaaaatgc ccccaaaatc 60

ggagcatttt acgagagaaa aacacctaga cttaaacagt ctacttga 108

<210> 135
<211> 35
<212> PRT
<213> 衣原体病毒CPAR39

<400> 135

Met Cys Lys Lys Val Cys Lys Lys Cys Pro Lys Lys Gly Pro Lys Asn
1 5 10 15

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

Gln Ser Thr
35

<210> 136
<211> 135
<212> DNA
<213> 衣原体噬菌体3

<400> 136
atgaggttaa aaatggcacg aagaagatac agacttccgc gacgtagaag tcgaagactt 60

ttttcaagaa ctgcattaag gatgcatcca agaaataggc ttcgaagaat tatgcgtggc 120

ggcattaggt tctag 135

<210> 137
<211> 44
<212> PRT
<213> 衣原体噬菌体3

<400> 137

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

Ser Arg Arg Leu Phe Ser Arg Thr Ala Leu Arg Met His Pro Arg Asn
20 25 30

[0112]

Arg Leu Arg Arg Ile Met Arg Gly Gly Ile Arg Phe
35 40

<210> 138
<211> 117
<212> DNA
<213> 沙眼衣原体

<400> 138
atgaaacgta gaaaaatgac aagaaaaggt tctaagcgtc tttttactgc aactgctgat 60

aaaactaaat ctatcaatac tgccccgccg ccaatgcgtg gcggtatccg gttgtaa 117

<210> 139
<211> 38
<212> PRT
<213> 沙眼衣原体

<400> 139

Met Lys Arg Arg Lys Met Thr Arg Lys Gly Ser Lys Arg Leu Phe Thr
1 5 10 15

Ala Thr Ala Asp Lys Thr Lys Ser Ile Asn Thr Ala Pro Pro Pro Met
20 25 30

Arg Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 140
<211> 120
<212> DNA
<213> 沙眼衣原体

<400> 140
atgtctaaaa agcgttctcg catgtctcgc cgccgttcta agaagttgtt ctcgaaaacg 60

gctctccgca cgaagagtgt caacacccgt ccgcctatgc gcggagggtt ccggttctga 120

<210> 141
<211> 39
<212> PRT
<213> 沙眼衣原体

<400> 141

Met Ser Lys Lys Arg Ser Arg Met Ser Arg Arg Arg Ser Lys Lys Leu
1 5 10 15

Phe Ser Lys Thr Ala Leu Arg Thr Lys Ser Val Asn Thr Arg Pro Pro
20 25 30

[0113]

Met Arg Gly Gly Phe Arg Phe
35

<210> 142
<211> 123
<212> DNA
<213> 沙眼衣原体

<400> 142
atgtctcttc gtcgtcataa gctttctcgt aaggcgtcta agcgtatttt tcgtaaaggt 60

gcatcacgca cgaagacttt gaatactcgt gctacgccta tgcgcggcgg tttccgtatt 120

taa 123

<210> 143
<211> 40
<212> PRT
<213> 沙眼衣原体

<400> 143

Met Ser Leu Arg Arg His Lys Leu Ser Arg Lys Ala Ser Lys Arg Ile
1 5 10 15

Phe Arg Lys Gly Ala Ser Arg Thr Lys Thr Leu Asn Thr Arg Ala Thr
20 25 30

Pro Met Arg Gly Gly Phe Arg Ile
35 40

<210> 144
<211> 117
<212> DNA
<213> 沙眼衣原体

<400> 144
gtgaaacgtc gtaaactgtc caaaaagaaa tctcgcaaga ttttcactcg cggtgctgta 60

aatgtgaaaa agcgtaacct tcgcgctcgc ccaatgcgcg gcggtttccg gatctaa 117

<210> 145
<211> 38
<212> PRT
<213> 沙眼衣原体

<400> 145

Met Lys Arg Arg Lys Leu Ser Lys Lys Lys Ser Arg Lys Ile Phe Thr
[0114] 1 5 10 15

Arg Gly Ala Val Asn Val Lys Lys Arg Asn Leu Arg Ala Arg Pro Met
20 25 30

Arg Gly Gly Phe Arg Ile
35

<210> 146
<211> 114
<212> DNA
<213> 沙眼衣原体

<400> 146
atggctaaaa aaatgactaa aggcaaggat cgtcaggttt ttcgtaaaac cgctgatcgt 60

actaagaaac tcaatgttag accgttgtta tatcgaggag gtatcagatt atga 114

<210> 147
<211> 37
<212> PRT
<213> 沙眼衣原体

<400> 147

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

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

Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 148
<211> 120
<212> DNA
<213> 沙眼衣原体

<400> 148
atggcaggaa aaaaaatggt atcaaaagga aaagatagac agattttccg aaaaactgct 60

gatcgcacta aaaaaatgaa tgtgcgcccg ctattatatc gtggaggtat tagattatga 120

<210> 149
<211> 39
<212> PRT
<213> 沙眼衣原体

[0115]

<400> 149

Met Ala Gly Lys Lys Met Val Ser Lys Gly Lys Asp Arg Gln Ile Phe
1 5 10 15

Arg Lys Thr Ala Asp Arg Thr Lys Lys Met Asn Val Arg Pro Leu Leu
20 25 30

Tyr Arg Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 150
<211> 126
<212> DNA
<213> Marine gokushovirus

<400> 150
atgagaagac caagaaaaat gaactataaa aaatcaaaaa gaatgttttc acgcacagca 60

gcgagaacac acagaaaaaa ctctctaaga ggtagccgac ctatgagagg cggaatacgt 120

ctttaa 126

<210> 151

<211> 41
<212> PRT
<213> Marine gokushovirus

<400> 151

Met Arg Arg Pro Arg Lys Met Asn Tyr Lys Lys Ser Lys Arg Met Phe
1 5 10 15

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

Arg Pro Met Arg Gly Gly Ile Arg Leu
35 40

<210> 152
<211> 108
<212> DNA
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：细菌；环境样品序列

<400> 152
atgaaaatgc gtaagcggac ggacaagcga gtgtttaccc gcaccgctgc taagtccaag 60

[0116]

aaagtgaaca ttgccccgaa aatttttaga ggaggtatcc gtctgtga 108

<210> 153
<211> 35
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：细菌；环境样品序列

<400> 153

Met Lys Met Arg Lys Arg Thr Asp Lys Arg Val Phe Thr Arg Thr Ala
1 5 10 15

Ala Lys Ser Lys Lys Val Asn Ile Ala Pro Lys Ile Phe Arg Gly Gly
20 25 30

Ile Arg Leu
35

<210> 154
<211> 120
<212> DNA

<213> 埃希氏杆菌属物种

<400> 154
atggctcgtt ctcgccgtcg tatgtccaag cgttcttccc gtcgttcgtt ccgtaagtac 60

gcaaagacgc ataaacgtaa ctttaaagcc cgctctatgc gtggtggaat tcgtctttga 120

<210> 155
<211> 39
<212> PRT
<213> 埃希氏杆菌属物种

<400> 155

Met Ala Arg Ser Arg Arg Arg Met Ser Lys Arg Ser Ser Arg Arg Ser
1 5 10 15

Phe Arg Lys Tyr Ala Lys Thr His Lys Arg Asn Phe Lys Ala Arg Ser
20 25 30

Met Arg Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 156
[0117] <211> 144
<212> DNA
<213> Cognatishimia maritima

<400> 156
atggaaagcc cgaacagccg cagccagctg ggcattaccc tgtatctgct gagcaccatt 60

tttccggatg cgtgctttcg ctatcgccgc gaactgccgt atccgctggt gatttggggc 120

gtggcgaccc tgtgcctgca gtaa 144

<210> 157
<211> 47
<212> PRT
<213> Cognatishimia maritima

<400> 157

Met Glu Ser Pro Asn Ser Arg Ser Gln Leu Gly Ile Thr Leu Tyr Leu
1 5 10 15

Leu Ser Thr Ile Phe Pro Asp Ala Cys Phe Arg Tyr Arg Arg Glu Leu
20 25 30

Pro Tyr Pro Leu Val Ile Trp Gly Val Ala Thr Leu Cys Leu Gln
35 40 45

<210> 158
<211> 114
<212> DNA
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：细菌；环境样品序列

<400> 158
atgagacgtc gtcgtctatc ccgcagaact tcccgccgtt ttttccgtaa aggacttaag 60

gttcgccgtc gtaacctccg cgcgagaccc atgagaggcg gattcagaat ttga 114

<210> 159
<211> 37
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：细菌；环境样品序列

<400> 159

Met Arg Arg Arg Arg Leu Ser Arg Arg Thr Ser Arg Arg Phe Phe Arg
1 5 10 15

[0118]

Lys Gly Leu Lys Val Arg Arg Arg Asn Leu Arg Ala Arg Pro Met Arg
20 25 30

Gly Gly Phe Arg Ile
35

<210> 160
<211> 120
<212> DNA
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：细菌；环境样品序列

<400> 160
atggcacgac gcaagaagat gaaaggcaag cgggataaac gggtgtttaa gcagacagcc 60

aacaaaacca aggctatcaa catcagccca aaaaacatga gaggggtac gagactgtga 120

<210> 161
<211> 39
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：细菌；环境样品序列

<400> 161

Met Ala Arg Arg Lys Lys Met Lys Gly Lys Arg Asp Lys Arg Val Phe
1 5 10 15

Lys Gln Thr Ala Asn Lys Thr Lys Ala Ile Asn Ile Ser Pro Lys Asn
20 25 30

Met Arg Gly Gly Thr Arg Leu
35

<210> 162
<211> 162
<212> DNA
<213> Marine gokushovirus

<400> 162
atgttaactg tgtggagtga cacccctacc ataaaaagga gaaaagacat gtatagaaag 60

agaatgtcaa gaaagaaaag taaaaaggtt tttgcaaaaa ccgcaatgaa agtaaataaa 120

agaaaccacg ttaaacctat gcgtggtgga tatagaatat aa 162

[0119]

<210> 163
<211> 53
<212> PRT
<213> Marine gokushovirus

<400> 163

Met Leu Thr Val Trp Ser Asp Thr Pro Thr Ile Lys Arg Arg Lys Asp
1 5 10 15

Met Tyr Arg Lys Arg Met Ser Arg Lys Lys Ser Lys Lys Val Phe Ala
20 25 30

Lys Thr Ala Met Lys Val Asn Lys Arg Asn His Val Lys Pro Met Arg
35 40 45

Gly Gly Tyr Arg Ile
50

<210> 164
<211> 120
<212> DNA
<213> Marine gokushovirus

<400> 164
atgatgaagt acagaaaaaa aatgagcgct aaaagtagcc gaaagcaatt tacaaaaggc 60

gccatgaaag tgaagggtaa aaacttcaca aaaccaatgc gcggaggcat ccgtctatag 120

<210> 165
<211> 39
<212> PRT
<213> Marine gokushovirus

<400> 165

Met Met Lys Tyr Arg Lys Lys Met Ser Ala Lys Ser Ser Arg Lys Gln
1 5 10 15

Phe Thr Lys Gly Ala Met Lys Val Lys Gly Lys Asn Phe Thr Lys Pro
20 25 30

Met Arg Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 166
<211> 117
<212> DNA
[0120] <213> Marine gokushovirus

<400> 166
atgcgacgtt acaatgtaaa taaaggtaaa tctgctaaga agtttcgaaa gcaggtaagt 60

aagacgaagg ttgcaaacct acgttctaat ccaatgcgag gtggttggag actctaa 117

<210> 167
<211> 38
<212> PRT
<213> Marine gokushovirus

<400> 167

Met Arg Arg Tyr Asn Val Asn Lys Gly Lys Ser Ala Lys Lys Phe Arg
1 5 10 15

Lys Gln Val Ser Lys Thr Lys Val Ala Asn Leu Arg Ser Asn Pro Met
20 25 30

Arg Gly Gly Trp Arg Leu
35

<210> 168

<211> 87
<212> DNA
<213> 螺原体病毒SpV4

<400> 168
atggcttatc gtggttttaa aacgagtcgt gttgtaaaac atagagtacg tagaagatgg 60

tttaatcata gaagacgtta tagatag 87

<210> 169
<211> 28
<212> PRT
<213> 螺原体病毒SpV4

<400> 169

Met Ala Tyr Arg Gly Phe Lys Thr Ser Arg Val Val Lys His Arg Val
1 5 10 15

Arg Arg Arg Trp Phe Asn His Arg Arg Arg Tyr Arg
20 25

<210> 170
<211> 117
<212> DNA
[0121] <213> 螺原体病毒SpV4

<400> 170
gtgagacgca aggttaagaa cacaaagcgt catcagtgga ggttgactca ttctgcacgt 60

tcaattaaac gtgctaatat aatgccgtca aatcctcgtg gtggacgtcg tttttag 117

<210> 171
<211> 38
<212> PRT
<213> 螺原体病毒SpV4

<400> 171

Met Arg Arg Lys Val Lys Asn Thr Lys Arg His Gln Trp Arg Leu Thr
1 5 10 15

His Ser Ala Arg Ser Ile Lys Arg Ala Asn Ile Met Pro Ser Asn Pro
20 25 30

Arg Gly Gly Arg Arg Phe
35

<210> 172
<211> 798

<212> DNA
<213> 假单胞菌噬菌体PhiPA3

<400> 172
atgacattac tgaagaaagg cgacaagggt gacgccgtaa aacaactaca gcagaaactc 60

aaagaccttg ggtataccct gggtgtcgat ggcaacttcg gtaatggcac cgatactgtc 120

gttcgttctt tccaaaccaa aatgaagctt agtgttgatg gtgtggttgg taatggtact 180

atgagtacta ttgactctac tctagcaggc attaaagcgt ggaagactag tgtacctttc 240

cctgcgacga acaaatcccg agcaatggca atgccaacgt tgactgaaat aggtcgactg 300

acaaacgttg atcctaaatt gctagcgaca ttctgttcta tcgaaagcgc gtttgattac 360

acagctaaac cctacaagcc cgatggcaca gtgtacagct ccgccgaagg ttggttccag 420

ttcctggatg caacatggga tgacgaagtg cgtaaacacg gtaagcaata tagcttccct 480

gttgatcctg gtcgttcttt gcgtaaagat ccacgggcta atggcttgat gggcgctgag 540

ttcctcaaag ggaatgctgc tattctgcgg ccagtactgg gtcatgaacc gagcgacaca 600

gatctttatc tagcccattt catgggagca ggtggcgcaa aacagttcct tatggccgat 660

caaaataaat tggctgccga attgttccct ggtccagcta aggctaatcc taacatcttc 720

[0122] tataaatccg gaaatattgc ccgcacttta gcagaggtct atgcagtcct cgatgctaag 780

gtagccaagc atagagct 798

<210> 173
<211> 266
<212> PRT
<213> 假单胞菌噬菌体PhiPA3

<400> 173

Met Thr Leu Leu Lys Lys Gly Asp Lys Gly Asp Ala Val Lys Gln Leu
1 5 10 15

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

Phe Gly Asn Gly Thr Asp Thr Val Val Arg Ser Phe Gln Thr Lys Met
35 40 45

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

Asp Ser Thr Leu Ala Gly Ile Lys Ala Trp Lys Thr Ser Val Pro Phe

65 70 75 80

Pro Ala Thr Asn Lys Ser Arg Ala Met Ala Met Pro Thr Leu Thr Glu
85 90 95

Ile Gly Arg Leu Thr Asn Val Asp Pro Lys Leu Leu Ala Thr Phe Cys
100 105 110

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

Gly Thr Val Tyr Ser Ser Ala Glu Gly Trp Phe Gln Phe Leu Asp Ala
130 135 140

Thr Trp Asp Asp Glu Val Arg Lys His Gly Lys Gln Tyr Ser Phe Pro
145 150 155 160

Val Asp Pro Gly Arg Ser Leu Arg Lys Asp Pro Arg Ala Asn Gly Leu
165 170 175

Met Gly Ala Glu Phe Leu Lys Gly Asn Ala Ala Ile Leu Arg Pro Val
[0123] 180 185 190

Leu Gly His Glu Pro Ser Asp Thr Asp Leu Tyr Leu Ala His Phe Met
195 200 205

Gly Ala Gly Gly Ala Lys Gln Phe Leu Met Ala Asp Gln Asn Lys Leu
210 215 220

Ala Ala Glu Leu Phe Pro Gly Pro Ala Lys Ala Asn Pro Asn Ile Phe
225 230 235 240

Tyr Lys Ser Gly Asn Ile Ala Arg Thr Leu Ala Glu Val Tyr Ala Val
245 250 255

Leu Asp Ala Lys Val Ala Lys His Arg Ala
260 265

<210> 174
<211> 435
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：合成多核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(435)
<223> GN37和RI18

<400> 174
atgacataca ccctgagcaa aagaagcctg gataacctaa aaggcgttca tcccgatctg 60

gttgccgttg tccatcgcgc catccagctt acaccggttg atttcgcggt gatcgaaggc 120

ctgcgctccg tatcccgcca aaaggaactg gtggccgccg gcgccagcaa gaccatgaac 180

agccgacacc tgacaggcca tgcggttgat ctagccgctt acgtcaatgg catccgctgg 240

gactggcccc tgtatgacgc catcgccgtg gctgtgaaag ccgcagcaaa ggaattgggt 300

gtggccatcg tgtggggcgg tgactggacc acgtttaagg atggcccgca ctttgaactg 360

gatcggagca aatacagatg acgtaaaaaa acccgtaaac gtctgaaaaa aatcggtaaa 420

gttctgaaat ggatc 435

<210> 175
<211> 144
[0124] <212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成多肽

<400> 175

Met Thr Tyr Thr Leu Ser Lys Arg Ser Leu Asp Asn Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

His Pro Asp Leu Val Ala Val Val His Arg Ala Ile Gln Leu Thr Pro
20 25 30

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

Glu Leu Val Ala Ala Gly Ala Ser Lys Thr Met Asn Ser Arg His Leu
50 55 60

Thr Gly His Ala Val Asp Leu Ala Ala Tyr Val Asn Gly Ile Arg Trp
65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Glu Leu Gly Val Ala Ile Val Trp Gly Gly Asp Trp Thr Thr Phe
100 105 110

Lys Asp Gly Pro His Phe Glu Leu Asp Arg Ser Lys Tyr Arg Arg Lys
115 120 125

Lys Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile
130 135 140

<210> 176
<211> 120
<212> DNA
<213> 埃希氏杆菌属物种

<400> 176
atggctcgtt ctcgtcgtcg tatgtctaaa cgttcttctc gtcgttcttt tcgtaaatat 60

gctaaaactc ataaaaaaaa ttttaaagct cgttctatgc gtggaggaat tcgtttataa 120

<210> 177
<211> 39
[0125] <212> PRT
<213> 埃希氏杆菌属物种

<400> 177

Met Ala Arg Ser Arg Arg Arg Met Ser Lys Arg Ser Ser Arg Arg Ser
1 5 10 15

Phe Arg Lys Tyr Ala Lys Thr His Lys Lys Asn Phe Lys Ala Arg Ser
20 25 30

Met Arg Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 178
<211> 117
<212> DNA
<213> 大肠杆菌

<400> 178
atggcgcgca gccgccgccg catgagcaaa cgcagcagcc gccgcagctt tcgcaaatat 60

gcgaaaagcc ataaaaaaaa ctttaaagcg cgcagcatgc gcggcggcat tcgcctg 117

<210> 179

<211> 39
<212> PRT
<213> 大肠杆菌

<400> 179

Met Ala Arg Ser Arg Arg Arg Met Ser Lys Arg Ser Ser Arg Arg Ser
1 5 10 15

Phe Arg Lys Tyr Ala Lys Ser His Lys Lys Asn Phe Lys Ala Arg Ser
20 25 30

Met Arg Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 180
<211> 117
<212> DNA
<213> 驼鹿粪便相关的微小病毒MP12 5423

<400> 180
atggcaaaga aaattagaaa caaagcacgt gatagacgta tcttcacaag aacagcttca 60

cgcatgcaca aggcaaaccg cacaccaaga tttatgagag gcggtattag gttatga 117

[0126]

<210> 181
<211> 38
<212> PRT
<213> 驼鹿粪便相关的微小病毒MP12 5423

<400> 181

Met Ala Lys Lys Ile Arg Asn Lys Ala Arg Asp Arg Arg Ile Phe Thr
1 5 10 15

Arg Thr Ala Ser Arg Met His Lys Ala Asn Arg Thr Pro Arg Phe Met
20 25 30

Arg Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 182
<211> 117
<212> DNA
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：蘑菇状噬菌体环境样品序列

<400> 182

atgcgtcgta aaaaaatgtc acgcggtaaa tcaaaaaaac tctttcgccg aacagcaaaa 60

cgcgttcatc gaaaaaacct acgagctcgc ccaatgcgtg gcggcatacg catgtag 117

<210> 183
<211> 38
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：蘑菇状噬菌体环境样品序列

<400> 183

Met Arg Arg Lys Lys Met Ser Arg Gly Lys Ser Lys Lys Leu Phe Arg
1 5 10 15

Arg Thr Ala Lys Arg Val His Arg Lys Asn Leu Arg Ala Arg Pro Met
20 25 30

Arg Gly Gly Ile Arg Met
35

<210> 184
[0127] <211> 120
<212> DNA
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：蘑菇状噬菌体环境样品序列

<400> 184
atggcgaagc gacacaaaat cccgcaacgc gcgtcacaac attccttcac gcgccatgcg 60

caaaaggtcc accctaagaa cgttccccgc ctgccaatgc gaggcggtat ccgtctctaa 120

<210> 185
<211> 39
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：蘑菇状噬菌体环境样品序列

<400> 185

Met Ala Lys Arg His Lys Ile Pro Gln Arg Ala Ser Gln His Ser Phe
1 5 10 15

Thr Arg His Ala Gln Lys Val His Pro Lys Asn Val Pro Arg Leu Pro
20 25 30

Met Arg Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 186
<211> 114
<212> DNA
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：未培养的细菌样品

<400> 186
atgcgtaaaa aaatgcacaa atcattagac aagcgagtgt ttaaccgcac tgcaaaaaaa 60

tcaaaaaaaa taaatgttaa tcctgtagtt tatcgtggag gtattagatt atga 114

<210> 187
<211> 37
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<223> 未知的描述：未培养的细菌样品

<400> 187

[0128]

Met Arg Lys Lys Met His Lys Ser Leu Asp Lys Arg Val Phe Asn Arg
1 5 10 15

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

Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 188
<211> 117
<212> DNA
<213> Marine gokushovirus

<400> 188
atgcgacgtt acaatgtaaa taaaggtaaa tctgctaaga agtttcgaaa gcaggtaagt 60

aagacgaagg ttgcaaacct acgttctaat ccaatgcgag gtggttggag actctaa 117

<210> 189
<211> 38
<212> PRT
<213> Marine gokushovirus

<400> 189

Met Arg Arg Tyr Asn Val Asn Lys Gly Lys Ser Ala Lys Lys Phe Arg
1 5 10 15

Lys Gln Val Ser Lys Thr Lys Val Ala Asn Leu Arg Ser Asn Pro Met
20 25 30

Arg Gly Gly Trp Arg Leu
35

<210> 190
<211> 126
<212> DNA
<213> 胞内植生蓝细菌HH01

<400> 190
atgcgtccag ttaaaagatc aagagtaaat aaggcccgat ctgcaggcaa gtttcgtaag 60

caggtcggta aaacaaagat ggcaaatctg cgtagtaatc cgatgcgcgg cggatggcgg 120

ctgtga 126

[0129] <210> 191
<211> 41
<212> PRT
<213> 胞内植生蓝细菌HH01

<400> 191

Met Arg Pro Val Lys Arg Ser Arg Val Asn Lys Ala Arg Ser Ala Gly
1 5 10 15

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

Asn Pro Met Arg Gly Gly Trp Arg Leu
35 40

<210> 192
<211> 126
<212> DNA
<213> 蘑菇状噬菌体Fen7875_21

<400> 192
atgaagccat tgaagcgtaa gccggttcag aaggcgcggt cagcagccaa gttccgtcga 60

aatgtgtcta ccgttaaggc tgccaatatg gcggtgaagc cgatgcgcgg cggttggcgg 120

ttctga 126

<210> 193
<211> 41
<212> PRT
<213> 蘑菇状噬菌体Fen7875_21

<400> 193

Met Lys Pro Leu Lys Arg Lys Pro Val Gln Lys Ala Arg Ser Ala Ala
1 5 10 15

Lys Phe Arg Arg Asn Val Ser Thr Val Lys Ala Ala Asn Met Ala Val
20 25 30

Lys Pro Met Arg Gly Gly Trp Arg Phe
35 40

<210> 194
<211> 135
<212> DNA
<213> 分枝杆菌噬菌体BabyRay

<400> 194
[0130] atgaccaaga gagacatcga gtaccggaaa gctttggggc tcaacccatc tgagccgctc 60

ccgaagattg tgggtgccgt cacccgccac ggggccactc tgaaacgccc acgggtcacc 120

gcactggccc gatag 135

<210> 195
<211> 44
<212> PRT
<213> 分枝杆菌噬菌体BabyRay

<400> 195

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

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

Thr Leu Lys Arg Pro Arg Val Thr Ala Leu Ala Arg
35 40

<210> 196
<211> 117
<212> DNA

<213> 蛭弧菌噬菌体phiMH2K

<400> 196
atgaaaagaa aaccaatgag ccgcaaggcc tctcaaaaaa ccttcaaaaa gaacacaggc 60

gttcaacgca tgaaccatct caacccacgc gccatgcgtg gtggcattag actataa 117

<210> 197
<211> 38
<212> PRT
<213> 蛭弧菌噬菌体phiMH2K

<400> 197

Met Lys Arg Lys Pro Met Ser Arg Lys Ala Ser Gln Lys Thr Phe Lys
1 5 10 15

Lys Asn Thr Gly Val Gln Arg Met Asn His Leu Asn Pro Arg Ala Met
20 25 30

Arg Gly Gly Ile Arg Leu
35

<210> 198
[0131] <211> 168
<212> DNA
<213> 假单胞菌噬菌体PP7

<400> 198
ttgtcgtcaa ccttgtgccg ctgggccgtt aaggccctgc ggtgtacccg tgtgtataag 60

gagtttatat ggaaaccctt agtagcgctc agttacgtga cgttgtatct tctgagctcg 120

gtcttcctgt cccaactcag ctaccccatc gggagctggg cggtgtag 168

<210> 199
<211> 55
<212> PRT
<213> 假单胞菌噬菌体PP7

<400> 199

Met Ser Ser Thr Leu Cys Arg Trp Ala Val Lys Ala Leu Arg Cys Thr
1 5 10 15

Arg Val Tyr Lys Glu Phe Ile Trp Lys Pro Leu Val Ala Leu Ser Tyr
20 25 30

Val Thr Leu Tyr Leu Leu Ser Ser Val Phe Leu Ser Gln Leu Ser Tyr
35 40 45

Pro Ile Gly Ser Trp Ala Val
50 55

<210> 200
<211> 108
<212> DNA
<213> 不动杆菌噬菌体AP205

<400> 200
atgaagaaaa ggacaaaagc cttgcttccc tatgcggttt tcatcatact cagctttcaa 60

ctaacattgt tgactgcctt gtttatgtat taccattata ccttttag 108

<210> 201
<211> 35
<212> PRT
<213> 不动杆菌噬菌体AP205

<400> 201

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

Leu Ser Phe Gln Leu Thr Leu Leu Thr Ala Leu Phe Met Tyr Tyr His
[0132] 20 25 30

Tyr Thr Phe
35

<210> 202
<211> 558
<212> DNA
<213> 不动杆菌噬菌体vB_AbaP_CEB1

<400> 202
atgattctga ctaaagatgg gtttggtatt atccgtaatg aactattcgg aggtaagtta 60

gatcaaactc aagtagatgc aataaacttt attgtagaga aagctactga gtctggttta 120

tcttatccag aggcagccta tttactagct accatctatc atgagactgg tctaccaagc 180

ggttatcgaa ctatgcaacc tattaaagaa gctggttctg ataactacct tcgatctaag 240

aagtactacc cgtacattgg ttatggttat gtacagttaa cttggaagga gaactatgga 300

cggattggta aacttattgg aattgaccta attaagaatc ctgagaaagc gctagaacct 360

ttaattgcta ttcagattgc tatcaaaggc atgttgaatg gttggttcac aggtgttgga 420

ttccgacgta aacgtccagt tagtaaatac aacaaacagc agtacatagc tgcgcgtaat 480

atcattaatg ggaaagataa ggctgagctt atagcgaagt acgctattat ctttgaacgc 540

gctctacgga gcttataa 558

<210> 203
<211> 185
<212> PRT
<213> 不动杆菌噬菌体vB_AbaP_CEB1

<400> 203

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

Gly Gly Lys Leu Asp Gln Thr Gln Val Asp Ala Ile Asn Phe Ile Val
20 25 30

Glu Lys Ala Thr Glu Ser Gly Leu Ser Tyr Pro Glu Ala Ala Tyr Leu
35 40 45

Leu Ala Thr Ile Tyr His Glu Thr Gly Leu Pro Ser Gly Tyr Arg Thr
50 55 60

[0133]

Met Gln Pro Ile Lys Glu Ala Gly Ser Asp Asn Tyr Leu Arg Ser Lys
65 70 75 80

Lys Tyr Tyr Pro Tyr Ile Gly Tyr Gly Tyr Val Gln Leu Thr Trp Lys
85 90 95

Glu Asn Tyr Gly Arg Ile Gly Lys Leu Ile Gly Ile Asp Leu Ile Lys
100 105 110

Asn Pro Glu Lys Ala Leu Glu Pro Leu Ile Ala Ile Gln Ile Ala Ile
115 120 125

Lys Gly Met Leu Asn Gly Trp Phe Thr Gly Val Gly Phe Arg Arg Lys
130 135 140

Arg Pro Val Ser Lys Tyr Asn Lys Gln Gln Tyr Ile Ala Ala Arg Asn
145 150 155 160

Ile Ile Asn Gly Lys Asp Lys Ala Glu Leu Ile Ala Lys Tyr Ala Ile
165 170 175

Ile Phe Glu Arg Ala Leu Arg Ser Leu
180 185

<210> 204
<211> 36
<212> PRT
<213> 野猪

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(36)
[0134] <223> PMAP-36

<400> 204

Gly Arg Phe Arg Arg Leu Arg Lys Lys Thr Arg Lys Arg Leu Lys Lys
1 5 10 15

Ile Gly Lys Val Leu Lys Trp Ile Pro Pro Ile Val Gly Ser Ile Pro
20 25 30

Leu Gly Cys Gly
35

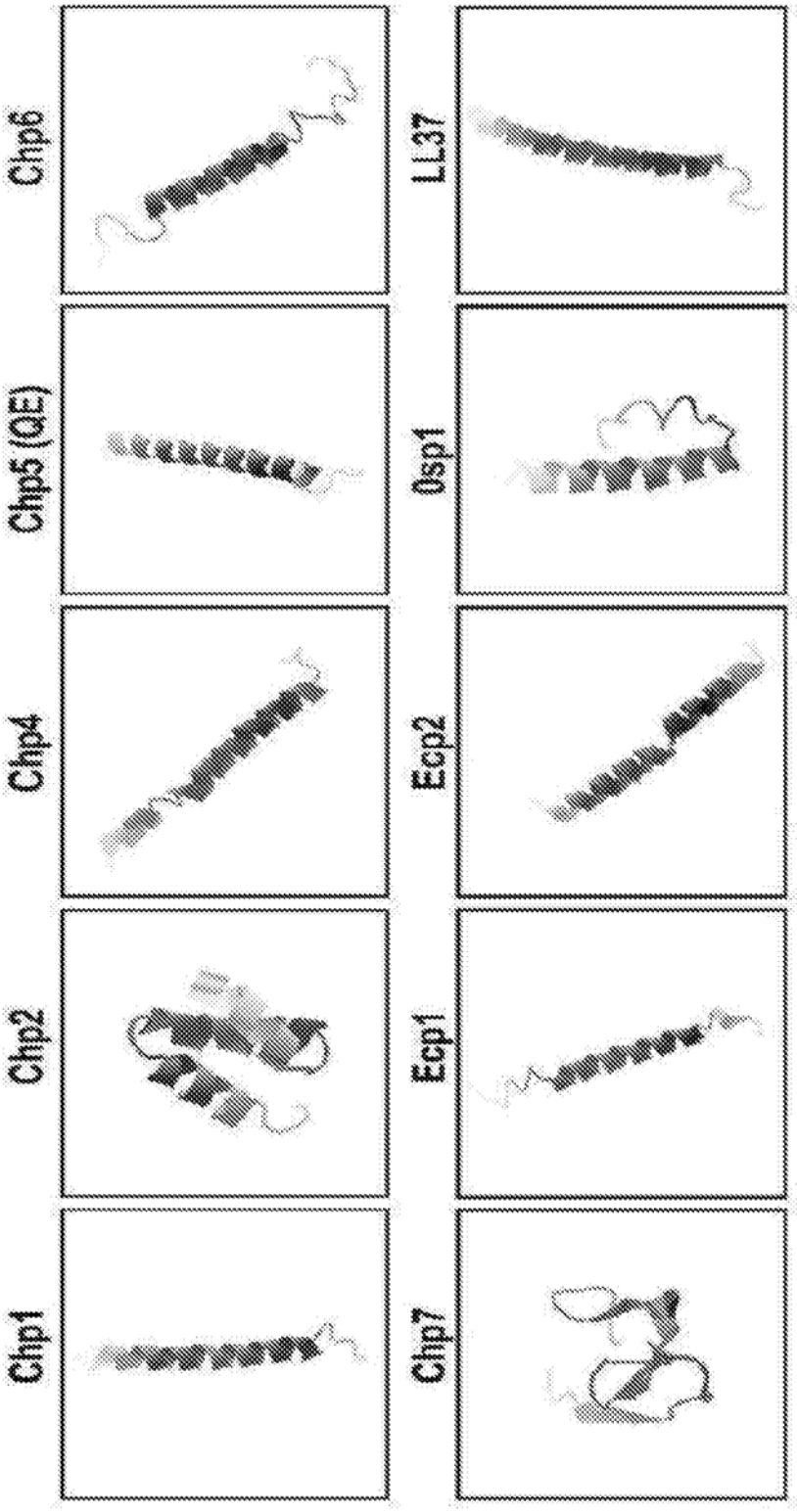


图 1

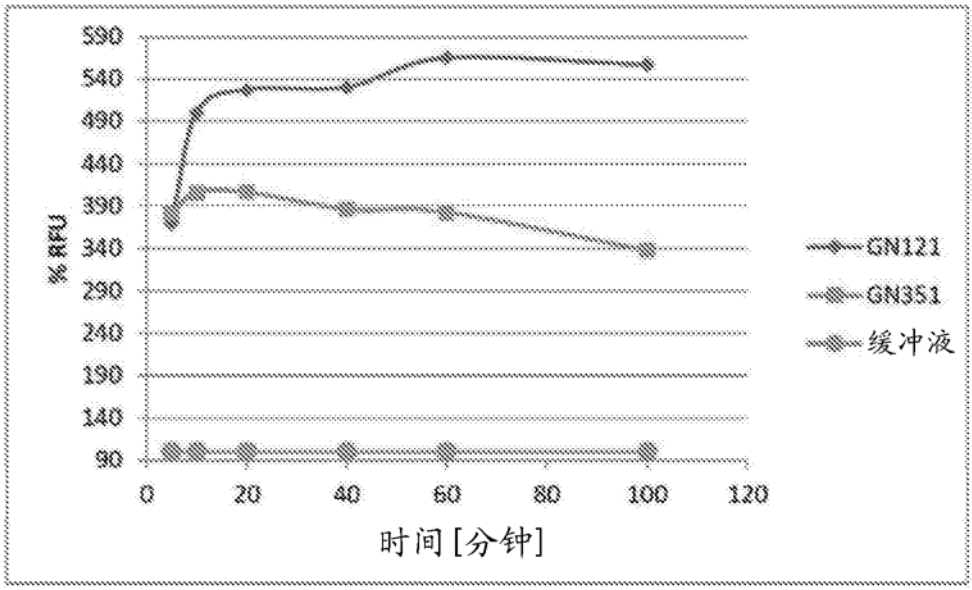

590
540
490
440
390
340
290
240
190
140
90
% RFU
0
20
40
60
80
100
120
时间[分钟]
GN121
GN351
缓冲液

图 2A

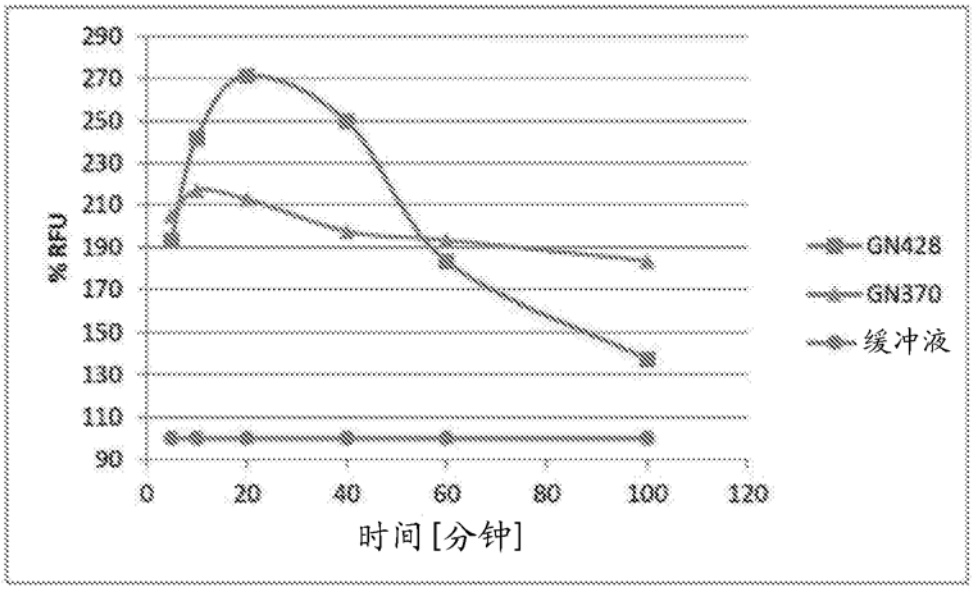

290
270
250
230
210
190
170
150
130
110
90
% RFU
0
20
40
60
80
100
120
时间[分钟]
GN428
GN370
缓冲液

图 2B

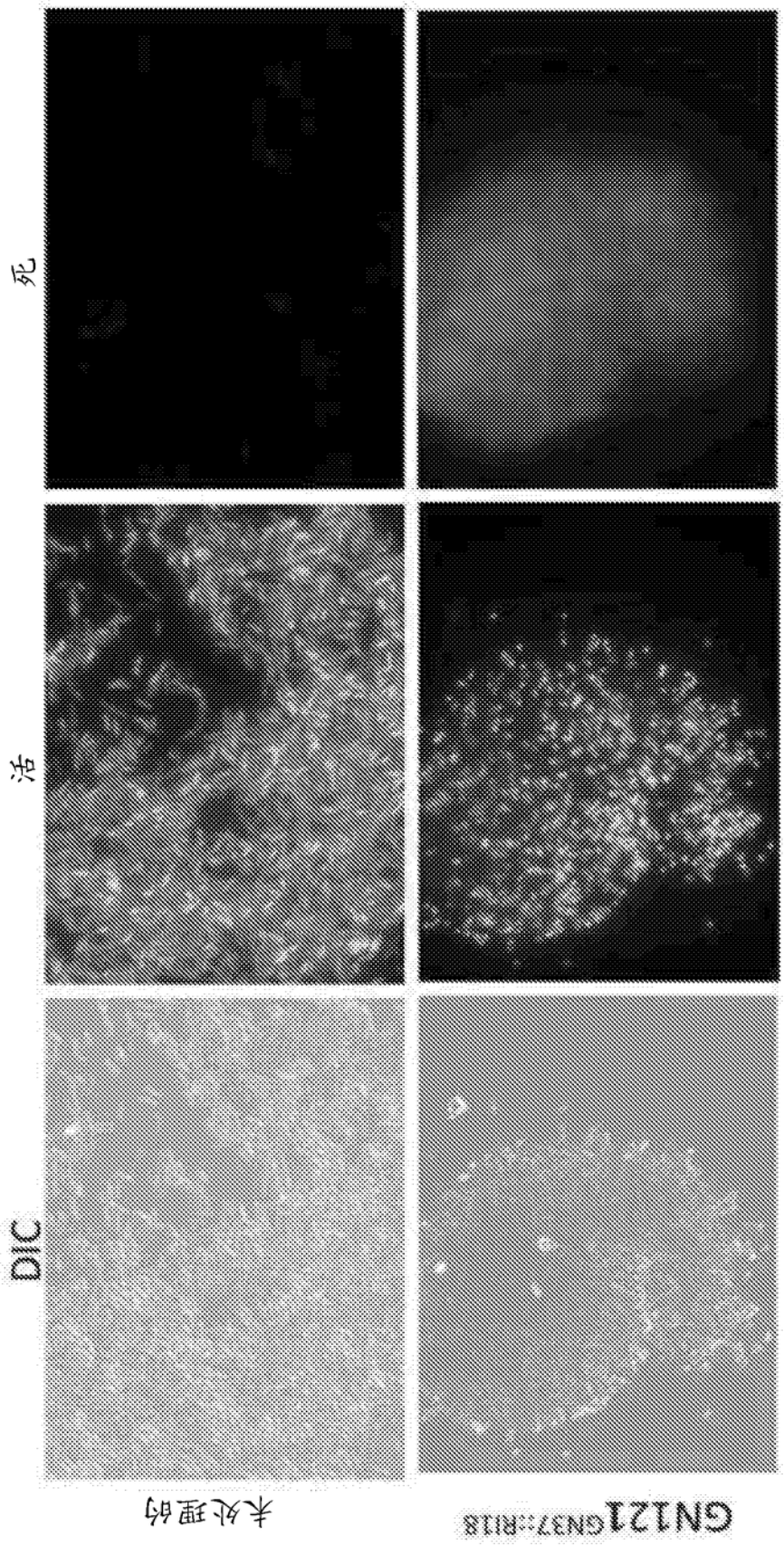


图 3

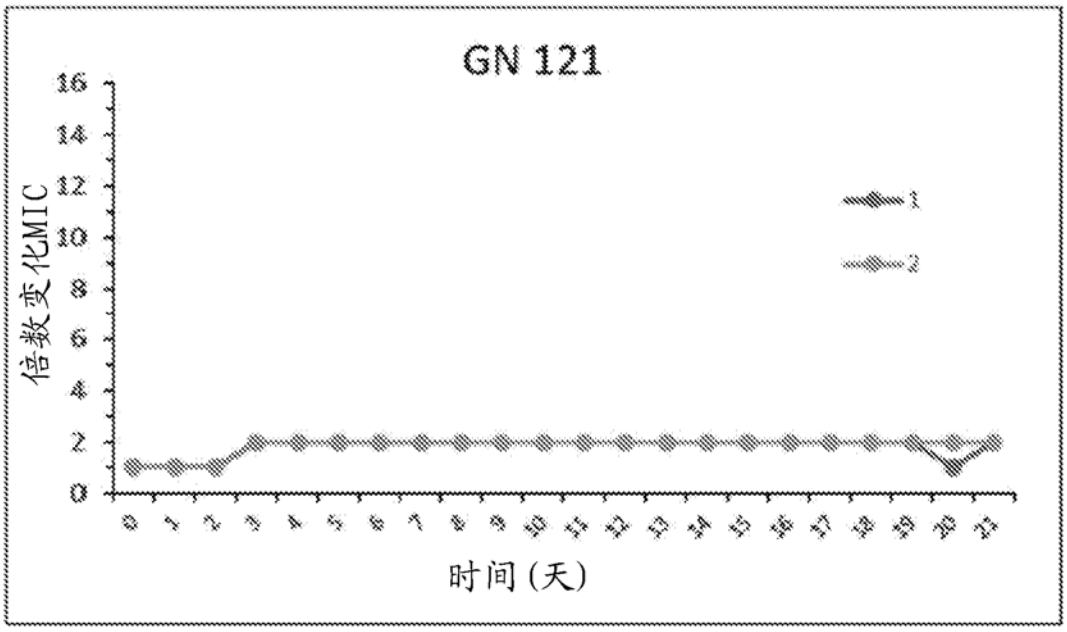


图 4A

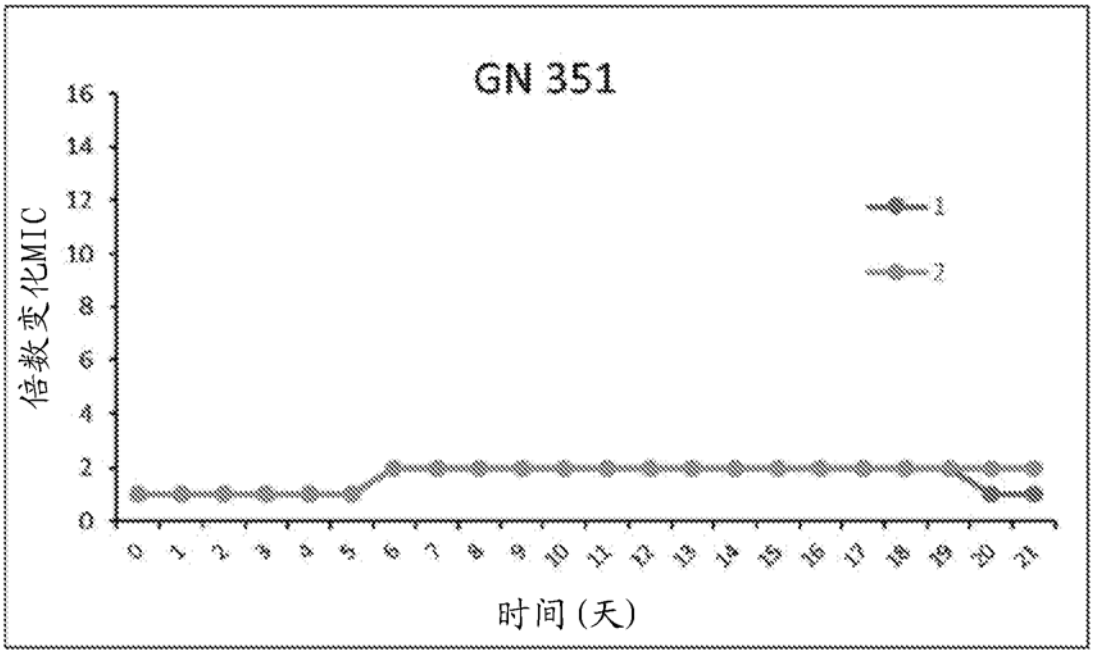


图 4B

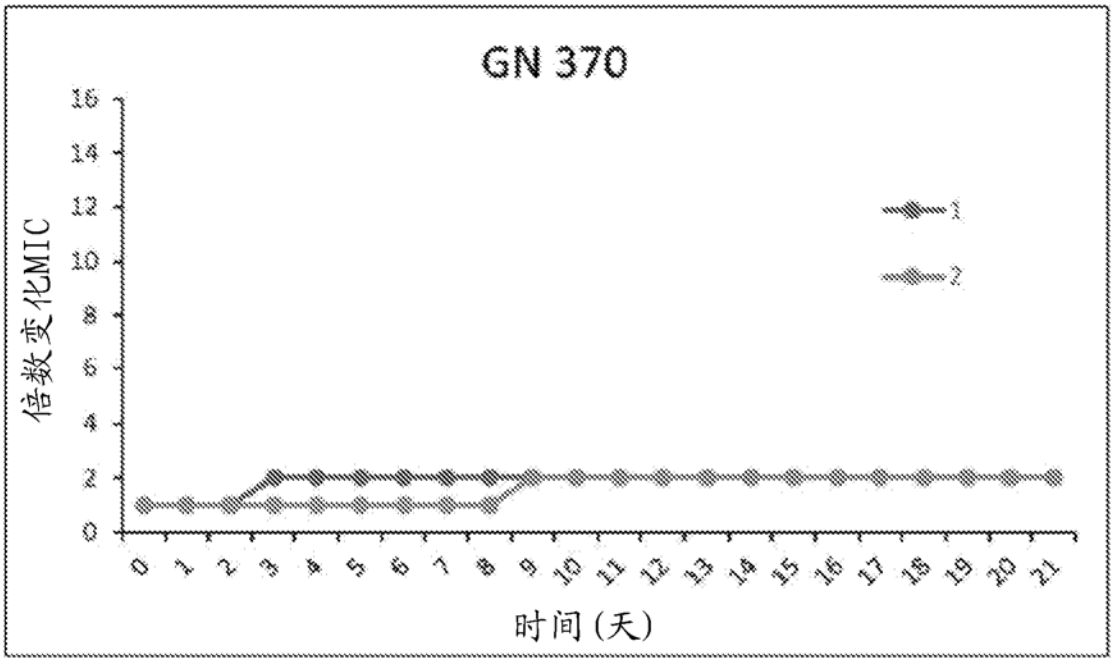

GN 370
倍数变化MIC
0
2
4
6
8
10
12
14
16
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21
时间(天)
1
2

图 4C

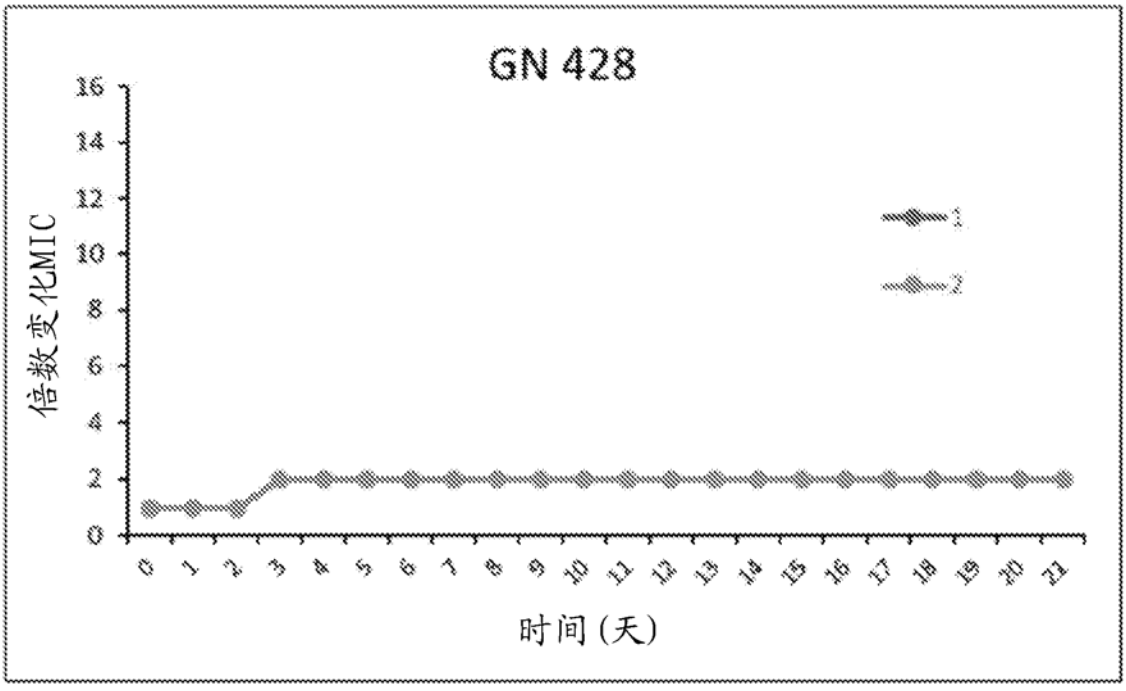

GN 428
倍数变化MIC
0
2
4
6
8
10
12
14
16
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21
时间(天)
1
2

图 4D

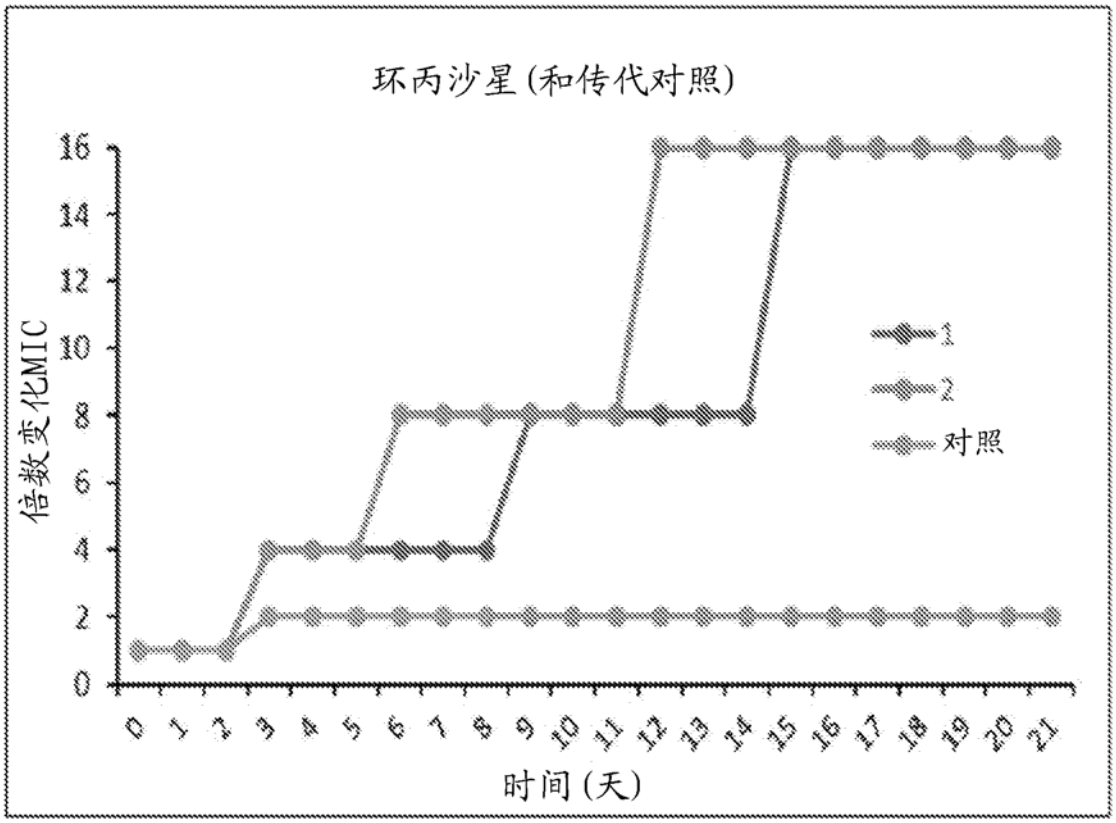

环丙沙星(和传代对照)
倍数变化MIC
0
2
4
6
8
10
12
14
16
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21
时间(天)
1
2
对照

图 4E