



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A01N 63/02 (2013.01); C07K 14/32 (2013.01)

(21)(22) Заявка: 2015144152, 17.03.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 17.03.2014

Дата регистрации:  
 22.05.2019

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
 15.03.2013 US 61/799,262

(43) Дата публикации заявки: 27.04.2017 Бюл. № 12

(45) Опубликовано: 22.05.2019 Бюл. № 15

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
 национальной фазе: 15.10.2015

(86) Заявка РСТ:  
 US 2014/030824 (17.03.2014)

(87) Публикация заявки РСТ:  
 WO 2014/145964 (18.09.2014)

Адрес для переписки:  
 129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр. 3, ООО  
 "Юридическая фирма Городисский и  
 Партнеры"

(72) Автор(ы):

ТОМПСОН Брайан (US),  
 ТОМПСОН Кэти (US)

(73) Патентообладатель(и):

СПОУДЖЕН БАЙОТЕК ИНК. (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
 о поиске: US 6333302 B1, 25.12.2001. WO  
 0200232 A2, 03.01.2002. WO 2006012366 A2,  
 02.02.2006. RU 2458132 C2, 10.08.2012.

(54) ГИБРИДНЫЕ БЕЛКИ И СПОСОБЫ СТИМУЛЯЦИИ РОСТА РАСТЕНИЙ, ЗАЩИТЫ  
 РАСТЕНИЙ И ИММОБИЛИЗАЦИИ СПОР *BACILLUS* НА РАСТЕНИЯХ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биохимии, в частности к способу стимулирования роста растений, включающему введение рекомбинантной бактерии группы *Bacillus cereus*, экспрессирующей гибридный белок в среде для роста растений, или применение рекомбинантной бактерии группы *Bacillus cereus*, экспрессирующей гибридный белок, к растению, семени растения или области, окружающей растение или семя растения, причем гибридный белок включает белок или пептид,

стимулирующий рост растения, а также сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория. Также раскрыты семя растения и рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* для стимулирования роста растения, содержащие гибридный белок, включающий сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория. Изобретение также относится к гибриднему белку для стимуляции роста растения. Изобретение позволяет

R U 2 6 8 8 8 3 2 C 2

R U 2 6 8 8 8 3 2 C 2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*C07K 19/00* (2006.01)  
*C12N 1/21* (2006.01)  
*C12N 15/62* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*A01N 63/02 (2013.01); C07K 14/32 (2013.01)*(21)(22) Application: **2015144152, 17.03.2014**(24) Effective date for property rights:  
**17.03.2014**Registration date:  
**22.05.2019**

Priority:

(30) Convention priority:  
**15.03.2013 US 61/799,262**(43) Application published: **27.04.2017** Bull. № 12(45) Date of publication: **22.05.2019** Bull. № 15(85) Commencement of national phase: **15.10.2015**(86) PCT application:  
**US 2014/030824 (17.03.2014)**(87) PCT publication:  
**WO 2014/145964 (18.09.2014)**

Mail address:

**129090, Moskva, ul. B. Spasskaya, 25, str. 3, OOO  
"Yuridicheskaya firma Gorodisskij i Partnery"**

(72) Inventor(s):

**TOMPSON Brajan (US),  
TOMPSON Ketj (US)**

(73) Proprietor(s):

**SPOUDZHEN BAJOTEK INK. (US)**(54) **HYBRID PROTEINS AND METHODS FOR STIMULATING PLANT GROWTH, PROTECTING PLANTS AND IMMOBILIZING BACILLUS SPORES ON PLANTS**

(57) Abstract:

FIELD: biochemistry.

SUBSTANCE: invention relates to biochemistry, in particular to a method of stimulating plant growth, involving introduction of recombinant bacteria of a group *Bacillus cereus*, expressing a fusion protein in a plant growth medium, or using a recombinant group bacteria *Bacillus cereus*, expressing hybrid protein, to a plant, a plant seed or an area surrounding a plant or plant seed, wherein the fusion protein comprises a protein or peptide stimulating plant growth, as well

signal sequence, an exosporia protein or an exosporia protein fragment. Also disclosed are a plant seed and a recombinant group bacteria *Bacillus cereus* to stimulate growth, plants containing a hybrid protein comprising a signal sequence, an exosporia protein or a protein fragment of exosporia. Invention also relates to a hybrid protein for stimulating plant growth.

EFFECT: invention provides effective growth stimulation of plants.

44 cl, 2 dwg, 31 tbl, 39 ex

RU 2 688 832 C2

RU 2 688 832 C2

## ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка заявляет приоритет по предварительной заявке США с серийным номером 61/799262, поданной 15 марта 2013 года, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

### ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0002] Данное изобретение, в целом, относится к гибридным белкам, содержащим сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория, который транспортирует гибридный белок в экзоспорий представителя семейства *Bacillus cereus*. Данное изобретение также относится к рекомбинантным представителям семейства *Bacillus cereus*, которые экспрессируют такие гибридные белки, и препаратам, содержащим рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующие гибридные белки. Дополнительно, изобретение относится к способам стимуляции роста растений, защиты растений от патогенов, а также повышения устойчивости к стрессу в растениях путем применения рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus* или препаратов к растениям или средам для роста растений. Данное изобретение также относится к способам иммобилизации спор рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих гибридный белок, на растениях или на растительных веществах.

### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] В области, окружающей корни растения, присутствует область, которая называется ризосферой. В ризосфере бактерии, грибы и другие организмы конкурируют за питательные вещества и за связывание с корневыми структурами растения. В ризосфере могут присутствовать как вредные, так и полезные бактерии и грибы. Все, включая бактерии, грибы и корневую систему растения, могут подвергаться влиянию активности пептидов, ферментов и других белков в ризосфере. Внесение в почву или обработка растений теми или иными из этих пептидов, ферментов или других белков оказывали бы положительные эффекты на целые популяции полезных почвенных бактерий и грибов, создали бы более здоровую общую почвенную среду для роста растений, улучшили бы рост растений, и обеспечили бы защиту растений от определенных бактериальных и грибковых патогенов. Однако предыдущие попытки внесения пептидов, ферментов и других белков в почву с целью вызвать такие положительные эффекты у растений были затруднены низкой выживаемостью ферментов, белков и пептидов в почве. Кроме того, широкое распространение протеаз, естественно присутствующих в почве, вызывает деградацию белков в почве. Среда вокруг корней растения (ризосфера) представляет собой уникальную смесь бактерий, грибов, питательных веществ, и корней, свойства которых отличаются от свойств чистой почвы. Симбиотические взаимоотношения между этими организмами представляют собой уникальные и могут быть улучшены с помощью экзогенных белков. Высокая концентрация грибов и бактерий в ризосфере вызывает еще большую деградацию белков в связи с аномально высоким уровнем протеаз и других элементов, вредных для белков, в почве. Кроме того, ферменты и другие белки, внесенные в почву, могут быстро рассеиваться от корней растения.

[0004] Таким образом, существует необходимость в данной области техники в способе эффективной доставки пептидов, ферментов и других белков в растения (например, в корневые системы растений) и продления периода времени, в течение которого такие молекулы остаются активными. Кроме того, существует необходимость в данной области техники в способе селективной транспортировки таких пептидов, ферментов и белков в ризосферу и в листья растений, и в особенности корни растений.

## СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] Данное изобретение относится к гибридным белкам, содержащим по меньшей мере один белок или пептид, стимулирующий рост растения, по меньшей мере один белок или пептид, который повышает устойчивость к стрессу в растении, или по меньшей мере одно растение, связывающее белок или пептид. Белок или пептид, стимулирующий рост растения, включает пептидный гормон, пептид, не являющийся гормоном или фермент, участвующий в образовании или активации соединения, стимулирующего рост растения, гибридный белок также содержит сигнальную последовательность, белок экзоспория, или фрагмент белка экзоспория. Сигнальная последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория может представлять собой: (а) сигнальную последовательность, включающую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 43% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 54%; (б) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 1-35 из SEQ ID №: 1; (в) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 20-35 из SEQ ID №: 1; (г) сигнальную последовательность, включающую SEQ ID №: 1; (д) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 2; (е) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 1-27 из SEQ ID №: 3; (ж) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 12-27 из SEQ ID №: 3; (з) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 3; (и) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 4; (к) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 1-38 из SEQ ID №: 5; (л) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 23-38 из SEQ ID №: 5; (м) сигнальную последовательность, включающую SEQ ID №: 5; (н) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 6; (о) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 1-28 из SEQ ID №: 7; (п) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 13-28 из SEQ ID №: 7; (р) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 7; (с) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 8; (т) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 1-24 из SEQ ID №: 9; (у) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 9-24 из SEQ ID №: 9; (ф) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 9; (х) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 10; (ц) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 1-33 из SEQ ID №: 11; (ч) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 18-33 из SEQ ID №: 11; (ш) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 11; (щ) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 12; (э) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 1-33 из SEQ ID №: 13; (ю) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 18-33 из SEQ ID №: 13; (я) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 13; (аа) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 14; (аб) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 1-43 из SEQ ID №: 15; (ав) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 28-43 из SEQ ID №: 15; (аг) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 15; (ад) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности





с SEQ ID №: 74; (гз) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 75; (ги) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 76; (гк) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 77; (гл) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 78; (гм) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 79; (гн) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 80; (го) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 81; (гп) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 82; (гр) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 83; (гс) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 84; (гт) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 22-31 из SEQ ID №: 1; (гу) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 22-33 из SEQ ID №: 1; (гф) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 20-31 из SEQ ID №: 1; (гх) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 14-23 из SEQ ID №: 3; (гц) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 14-25 из SEQ ID №: 3; или (гч) сигнальную последовательность, включающую аминокислоты 12-23 из SEQ ID №: 3.

[0006] Данное изобретение также относится к гибридным белкам, содержащим сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория и по меньшей мере один белок или пептид, защищающий растение от патогена. Сигнальная последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория может представлять собой: (а) сигнальную последовательность, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющую по меньшей мере около 43% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 54%; (б) сигнальную последовательность, состоящую из аминокислот 1-35 из SEQ ID №: 1; (в) сигнальную последовательность, состоящую из аминокислот 20-35 в SEQ ID №: 1; (г) сигнальную последовательность, состоящую из SEQ ID №: 1; (д) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 60; (е) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 1-27 из SEQ ID №: 3; (ж) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 12-27 из SEQ ID №: 3; (з) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 3; (и) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 4; (к) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 1-38 из SEQ ID №: 5; (л) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 23-38 из SEQ ID №: 5; (м) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 5; (н) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 6; (о) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 1-28 из SEQ ID №: 7; (п) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 13-28 из SEQ ID №: 7; (р) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 7; (с) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по







аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 58; (вф) фрагмент белка экзоспория, состоящий из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 59; (вх) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 61; (вц) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 62; (вч) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 63; (вш) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 64; (вщ) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 65; (вэ) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 66; (вю) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 67; (вя) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 68; (га) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 69; (гб) сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID №: 70; (гв) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 71; (ге) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 72; (гж) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 73; (гз) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 74; (ги) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 75; (гк) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 76; (гл) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 77; (гм) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 78; (гн) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 79; (го) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 80; (гп) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 81; (гр) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 82; (гс) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 83; (гт) белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 84; (гу) сигнальную последовательность, состоящую из аминокислот 22-31 в SEQ ID №: 1; (гф) сигнальную последовательность, состоящую из аминокислот 22-33 в SEQ ID №: 1; (гх) сигнальную последовательность, состоящую из аминокислот 20-31 в SEQ ID №: 1; (гц) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 14-23 из SEQ ID №: 3; (гч) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 14-25 из SEQ ID №: 3; или (гш) сигнальную последовательность, содержащую аминокислоты 12-23 из SEQ ID №: 3.

[0007] Данное изобретение дополнительно относится к гибридным белкам, содержащим сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория и по меньшей мере один белок или пептид, защищающий растение от патогена. Белок или пептид, защищающий растение от патогена, может включать гарпин,  $\alpha$ -эластин,  $\beta$ -эластин, системин, фенилаланин аммиак-лиазу, элиситин, дефензин, криптогеин, белок флагеллин, пептид флагеллина, бактериоцин, лизоцим, пептид лизоцима, сидерофор, нерибосомальный активный пептид, кональбумин, альбумин,

лактоферрин, пептид лактоферрина или TasA. В альтернативном варианте белок или пептид, защищающий растение от патогена, обладает инсектицидной активностью, антигельминтной активностью, подавляет хищничество насекомых или червей, или их комбинацию. В альтернативном варианте белок, защищающий растение от патогена, включает фермент. Сигнальная последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория может представлять собой любую из сигнальных последовательностей, белков экзоспория или фрагментов белка экзоспория, перечисленных ранее в параграфе [0005].

[0008] Данное изобретение также относится к гибридным белкам, содержащим по меньшей мере один целевой белок или пептид и белок экзоспория. Белок экзоспория может представлять собой белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с любой из SEQ ID №: 71,75, 80,81,82, 83 и 84.

[0009] Данное изобретение дополнительно относится к рекомбинантному представителю семейства *Bacillus cereus*, который экспрессирует любой из гибридных белков.

[0010] Данное изобретение также относится к препаратам, включающим любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus* и сельскохозяйственно приемлемый носитель.

[0011] Данное изобретение также относится к способу стимуляции роста растений. Данный способ включает введение в среду для роста растений любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих гибридный белок, содержащий по меньшей мере один белок или пептид, стимулирующий рост растения, или любого препарата, содержащего рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих гибридный белок, содержащий по меньшей мере один белок или пептид, стимулирующий рост растения. В альтернативном варианте данный способ включает применение к растению, семени растения или области, окружающей растение или семя растения, любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих гибридный белок, содержащий по меньшей мере один белок или пептид, стимулирующий рост растения, или любого препарата, содержащего рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих гибридный белок, содержащий по меньшей мере один белок или пептид, стимулирующий рост растения. Белок или пептид, стимулирующий рост растения, физически прикреплен к экзоспорию рекомбинантного представителя семейства *Bacillus*.

[0012] Данное изобретение также относится к способу стимуляции роста растений. Этот способ включает введение рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующего гибридный белок, в среду для роста растений или применение рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующего гибридный белок, к растению, семени растений или области, окружающей растение или семя растения. Гибридный белок содержит по меньшей мере один белок или пептид, стимулирующий рост растения, сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория. Сигнальная последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория может представлять собой любой из перечисленных ранее в параграфе [0005]. Белок или пептид, стимулирующий рост растения, физически прикреплен к экзоспорию рекомбинантного представителя семейства *Bacillus*.

[0013] Данное изобретение дополнительно относится к способу защиты растений от патогена или усиления устойчивости к стрессу в растении. Данный способ включает

введение в среду для роста растений любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих гибридный белок, содержащий по меньшей мере один белок или пептид, защищающий растение от патогена, или по меньшей мере один белок или пептид, усиливающий устойчивость к стрессу в растении, или любой из

5 препаратов, содержащих любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих гибридный белок, содержащий по меньшей мере один белок или пептид, защищающий растение от патогена, или по меньшей мере один белок или пептид, усиливающий устойчивость к стрессу в растении. В альтернативном варианте

10 данный способ включает применение к растению, семени растения или области, окружающей растение, любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих гибридный белок, содержащий по меньшей мере один белок или пептид, защищающий растение от патогена, или по меньшей мере один белок или пептид, который повышает устойчивость к стрессу в растении, или любого препарата, содержащего любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*,

15 экспрессирующих гибридный белок, содержащий по меньшей мере один белок или пептид, защищающий растение от патогена, или по меньшей мере один белок или пептид, усиливающий устойчивость к стрессам в растении. Белок или пептид, защищающий растения из патогена, или белок или пептид, усиливающий устойчивость к стрессу в растении, физически прикреплен к экзоспорию рекомбинантного представителя

20 семейства *Bacillus cereus*.

[0014] Данное изобретение также относится к способу иммобилизации спор рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus* на растении. Данный способ включает введение в среду для роста растений любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих по меньшей мере один белок

25 или пептид, связывающийся с растением, или любого препарата, содержащего любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих по меньшей мере один белок или пептид, связывающийся с растением. В альтернативном варианте данный способ включает применение к растению, семени растения или области, окружающей растение или семя растений, любого из рекомбинантных представителей

30 семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих по меньшей мере один белок или пептид, связывающийся с растением, или любого из препаратов, содержащих любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих по меньшей мере один белок или пептид, связывающийся с растением. Белок или пептид, связывающийся с растением, физически прикреплен к экзоспорию рекомбинантного

35 представителя семейства *Bacillus cereus*.

[0015] Другие объекты и признаки будут отчасти очевидны и отчасти указаны в дальнейшем.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0016] ФИГ. 1 иллюстрирует выравнивание аминокислотной последовательности

40 амино-концевого участка штамма BclA *Bacillus anthracis* Sterne с соответствующей областью различных белков экзоспория представителей семейства *Bacillus cereus*.

[0017] ФИГ. 2 иллюстрирует типичные результаты флуоресцентной микроскопии экспрессии гибридных белков, содержащих различные белки экзоспория, связанные с репортером mCherry, на экзоспории.

#### ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0018] В данном документе единственное число, «один», «данный» и «указанный» означает «по меньшей мере один» или «один или более», если не указано иное.

[0019] Термины «содержащий», «включающий» и «имеющий» подразумевают

включение и означают, что могут быть дополнительные элементы, отличающиеся от перечисленных.

[0020] Термин «биологически активный пептид» означает любой пептид, который проявляет биологическую активность. «Биологически активные пептиды» могут быть  
5 получены, например, с помощью расщепления белка, пептида, пробелка или препробелка протеазой или пептидазой.

[0021] «Фермент, участвующий в образовании или активации соединения, стимулирующего рост растения» включает любой фермент, который катализирует  
любой этап пути биосинтеза соединения, которое стимулирует рост растения или  
10 изменяет структуру растения, или любой фермент, который катализирует переход неактивного или менее активного производного соединения, которое стимулирует рост растения или изменяет структуру растения, в активную или более активную форму соединения. Такие соединения, например, включают, но не ограничиваются ими, низкомолекулярные растительные гормоны, такие как ауксины и цитокинины,  
15 биологически активные пептиды и низкомолекулярные стимуляторы роста растения, которые синтезируются бактериями или грибами в ризосфере (например, 2,3-бутандиол).

[0022] В данном документе термин «гибридный белок» означает белок, имеющей полипептидную последовательность, которая содержит последовательности, полученные из двух или более отдельных белков. Гибридный белок может быть получен путем  
20 соединения молекулы нуклеиновой кислоты, которая кодирует весь первый полипептид, или его часть, с молекулой нуклеиновой кислоты, которая кодирует весь второй полипептид, или его часть, с целью создать последовательность нуклеиновой кислоты, при экспрессии которой образуется один полипептид, имеющий функциональные свойства, полученные от каждого из исходных белков.

[0023] Термин «иммобилизация споры рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus* на растении» означает связывание споры представителя семейства *Bacillus cereus* с растением, например, с корнем растения или с надземной частью растения, такой как лист, стебель, цветок или плод, таким образом, что спора остается на корневой  
25 структуре растения или на его надземной части и не проникает в среду роста растения или в среду, окружающую надземные части растения.

[0024] «Среда для роста растений» включает любой материал, который способен поддерживать рост растения.

[0025] В данном документе «белок или пептид, усиливающий иммунную систему растения» включает любой белок или пептид, который оказывает благоприятное  
35 воздействие на иммунную систему растения.

[0026] В данном документе термин «белок или пептид, стимулирующий рост растения», включает любой белок или пептид, который увеличивает рост растения, подверженного воздействию этого белка или пептида.

[0027] В данном документе термин «белок или пептид, защищающий растение от патогена», включает любой белок или пептид, который делает растение, подверженное  
40 действию этого белка или пептида, менее восприимчивым к инфицированию патогеном.

[0028] В данном документе термин «белок или пептид, который повышает устойчивость к стрессу в растении», включает любой белок или пептид, который делает растение, подверженное действию этого белка или пептида, более устойчивым к стрессу.

[0029] Термин «белок или пептид, связывающийся с растением» означает любой пептид или белок, способный специфически или неспецифически связываться с любой  
45 частью растения (например, с корнем или с надземными частями растения, такими как листья, стебли, цветки или плоды) или с растительным материалом.

[0030] В данном документе термин «сигнальная последовательность» означает полипептидную последовательность, которая, являясь частью более длинного полипептида или белка, приводит к локализации более длинного полипептида или белка в определенном месте внутри клетки. Сигнальные последовательности, описанные в  
5 данном документе, приводят к расположению белков в экзоспории представителя семейства *Bacillus cereus*.

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0031] Данное изобретение относится к гибридным белкам, содержащим сигнальную последовательность, белок экзоспория, или фрагмент белка экзоспория, который  
10 транспортирует гибридный белок в экзоспорий представителя семейства *Bacillus cereus* и: (а) по меньшей мере один белок или пептид, стимулирующий рост растения; (б) по меньшей мере один белок или пептид, защищающий растение от патогена; (в) по меньшей мере один белок или пептид, который повышает устойчивость растения к стрессу; или (г) по меньшей мере один белок или пептид, связывающийся с растением.  
15 При экспрессии в бактериях - представителях семейства *Bacillus cereus*, эти гибридные белки транспортируются в слой экзоспория в споре и физически ориентируются таким образом, что данный белок или пептид выводится на внешнюю сторону споры.

[0032] Эта система выведения на экзоспорий *Bacillus* (ВЭВ) может быть использована для внесения пептидов, ферментов и других белков в растения (например, в листья,  
20 фрукты, цветки, стебли или корни, или в среду для роста растений, такую как почва. Пептиды, ферменты, белки и внесенные таким способом в почву или другую среду для роста растений, сохраняют и проявляют активность в почве в течение длительных периодов времени. Внесение в почву или ризосферу растения бактерий - рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих гибридные белки, описанные  
25 в данном документе, приводит к повышению полезного роста растения во многих различных почвенных условиях. Использование ВЭВ с целью создания этих ферментов позволяет им продолжать проявление положительных результатов на растение и ризосферу в течение первых месяцев жизни растения.

Сигнальные последовательности, белки экзоспория и фрагменты белков экзоспория  
30 [0033] Для простоты ссылки SEQ ID №№ для пептидных и белковых последовательностей, указанных в данном документе, приведены ниже в таблице 1.

35

40

45





5	BclB (SEQ ID №: 8)	GATGITGVTGATGITGVTGATGITGVTGATGITGVTGPTGITGATGPTGITGATGP AGITGVTGPTGITGATGPTGTTGVTGPTGDTGLAGATGPTGATGLAGATGPTGDT GATGPTGATGLAGATGPTGATGLTGAATGATGATGGGAIIPFASGTPALLVNAV ANTGTLGFGFSQPGIAPGVGGTLTILPGVVGDYAFVAPRDGIITSLAGFFSATAAL APLTPVQIQMQIFIAPAASNTFTPVAPLLLPALPAIAIGTTATGIQAYNVPVVAG DKILVYVSLTGASPIAAVAGFVSAGLNIV
10	AK 1-30 из BAS1882 ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 9)	MDEFLSSAALNPGSVGPTLPPMQPFQFRTG
10	Полноразмерный BAS1882 (SEQ ID №: 10)	MDEFLSSAALNPGSVGPTLPPMQPFQFRTGPTGSTGAKGAIGNTEPYWHTGPPGIV LLTYDFKSLIISFAFRILPIS
15	AK 1-39 гена 2280 ( <i>B. weihenstephensis</i> KBAB4) (SEQ ID №: 11)	MFDKNEIQKINGILQANALNPNLIGPTLPPIPPFTLPTG
15	Полноразмерный ген KBAB4 2280 (SEQ ID №: 12)	MFDKNEIQKINGILQANALNPNLIGPTLPPIPPFTLPTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGP TGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPT GVTGPTGVTGPTGETGPTGGTEGCLDCCVLMQSVLQQLIGETVILGTIADTPNT PPLFFLTITSVNDFLVTVDGTTTFVFNISDVTVGVFLPPGPPITLLPPTDVGCECE CRERPIRQLLDAFIGSTVSLASNGSIAADFVEQTGLGIVLGTLPINPTTTVRFIAIST CKITAVNITPITM
20	AK 1-39 гена 3572 ( <i>B. weihenstephensis</i> KBAB4) (SEQ ID №: 13)	MFDKNEMKKTNEVLQANALDPNIIGPTLPPIPPFTLPTG
25	Полноразмерный ген KBAB4 3572 (SEQ ID №: 14)	MFDKNEMKKTNEVLQANALDPNIIGPTLPPIPPFTLPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTG PTGPTGPTGPTGPTGPTGLTGPTGPTGLTGPTGLTGPTGLTGPTGLTGPTGLTGPT ATEGCLDCCVFPMEVLRQLVQTVILATIADAPNVAPRFFLNITSVNDLFTVTV TDPVSNNTTFVFNISDVTVGVFLTVPLTLLPPADLGCEDCRERPIRELLDTLIGST VNLLVSNISATGFNVEQTALGIVIGTLPINPPPPTLFRFAISTCKITAVDITPTPTA T
30	AK 1-49 из лидерного пептида экзоспория ( <i>B. cereus</i> VD200) (SEQ ID №: 15)	MSRKDKFNRSRMSRKDRFNPKIKSEISISPDLVGPTFPPIPSFTLPTG
30	Полноразмерный лидерный пептид экзоспория (SEQ ID №: 16)	MSRKDKFNRSRMSRKDRFNPKIKSEISISPDLVGPTFPPIPSFTLPTGITGPTFNIN RAEKNVAQSFTPPADIQVSYGNIIFNNGGGYSSVTNTFTAPINGIYLFSAISIGNPTL GTTSTLRITIRKNLVSVASQTGTTGGTPQLEITTIIDLLASQTIDIQFSAAESGLT VGSSNFFSGALLP
35	AK 1-33 лидерного пептида экзоспория ( <i>B. cereus</i> VD166) (SEQ ID №: 17)	MNEEYSILHGPALEPNLIGPTLPSIPPFTFPTG
35	Полноразмерный лидерный пептид экзоспория (SEQ ID №: 18)	MNEEYSILHGPALEPNLIGPTLPSIPPFTFPTGPTGITGPTGATGFTGIGITGPTGVTG PTGIGITGPTGATGPTGIGITGPTG
40	AK 1-39 гипотетического белка IKG_04663 ( <i>B. cereus</i> VD200) (SEQ ID №: 19)	MKNRDNNRKQNSLSSNFRIPPELIGTFFPPVPTGFTGIG
45	Полноразмерный гипотетический белок IKG_04663, фрагмент (SEQ ID №: 20)	MKNRDNNRKQNSLSSNFRIPPELIGTFFPPVPTGFTGIGITGPTGPTGPTGPTGPTG LQGPMPGEMGPTGPQGVQGIQGSVGPIGATGPEGQOQPGQLRGPQGETGATGPGG VQGLQGPPIGPTGATGAQGIQGIQGLQGPIGATGPEGSQGIQGVQGLPGATGPTGQ GAQGIQGTGPGSNTGATGATGATGQGITGPTGITGPTGITGPTGPTGPTGPTGPTG TGPGGGPSGSTGATGATGNTGATGSTGVTGATGSTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTG

5

10

15

20

25

30

35

40

45

	IGPTGPEGSQGIQGIQIPGPTGVTGEQGIQGVQGIQGATGATGDQGPQGIQGVIGPQG VTGATGDQGPQGIQGVPGPSETGPQGVQGIQGPMDIGPTGPEGPEGLQGPQGI QGVPGPVGATGPEGPQGIQGIQGPVVGATGPQGPQGIQGIQGVQGITGATGVQGAT GIQGIQGEIGATGPEGPQGVQGAQGAIGPTGPMGPQGVQGVQGIQGATGAQGVQ GPQGIQGIQGTGATGDMGATGATGEGTTGPTGVTGPTGVTGTPSGGPAAGPTGPTG PSGPAGVTGPPSGGPPPTGATGATGVTGDTGATGSGTGTGATGETGATGVTGLQ GPQGIQGVQGEIGPTGPQGVQGPQGIQGVGTGATGDQGPQGIQGPQGDIGPTGPQGI QGPQGSQGIQGATGGTGAQGPQGIQGPQGDIGLTSQGPPTGIQGIQGEIGPTGPEG PEGLQGPQGIQGIQGPVVGATGPEGPQGIQGIQGVQGATGPQGPQGIQGIQGVQGIT GATGAQGATGIQGIQGEIGATGPEGPQGVQGIQGAIGPTGPMGAQGVQGIQGIQ ATGAQGVQGPQGIQGVQGPPTGATGETGATGATGEGTTGPTGVTGPTGVTGTPSGG PAGPTGPTGSPGAVGTGSPSGGPPGPTGATGATGVTGDTGATGSGTGTGATGATG ATGVTGLQGPQGIQGVQGEIGPTGPQGIQGPQGIQGVGTGATGAQGPQGIQGPQGD IGPTGSQGIQGPQGPQGIQGATGATGAQGPQGIQGPQGEIGPTGPQGPQGIQGPQGI QGPTG
AK 1-39 β- пропеллерного белка YVTN ( <i>B. weihenstephensis</i> KBAB4) (SEQ ID №: 21)	MSDKHQMKKISEVLQAHALDPNLIGPPLPPTPFPTG
Полноразмерный β- пропеллерный белок YVTN KBAB4 (SEQ ID №: 22)	PMSDKHQMKKISEVLQAHALDPNLIGPPLPPTPFPTGSTGPTGSGTSTGPTGST GNTGPTGPTGPPVGTNLDIYVTNDISNNVSAIDGNTNTVLTIPVGTNPVGVGVN SSTNLIYVNNNGSDNISVINGSTNTVVATIPVGTQPFVGVNPNSTNLIYVANRTSN NVSVIKGGTNTVLTIPVGTNPVGVGVNSSTNLIYVTNEIPNSVSVIKGGTNTVVA TIPVGLFPFVGVNSLTNLIYVNNNSPHNVSVIDGNTNTVLTISVGTSPVGVGVN LSTNLIYVANEVNNISVINGNTNTVLTIPVGTTPFEVGVNSSTNLIYVSNLNSNN VSVINGSANTVIATVPVGSVPRGIGVKP
AK 1-30 гипотетического белка bcerkbab4_2363 ( <i>B. weihenstephensis</i> KBAB4) (SEQ ID №: 23)	MDEFLSFAALNPGSIGPTLPPVPPFQFPTG
Полноразмерный гипотетический белок bcerkbab4_2363 KBAB4 (SEQ ID №: 24)	MDEFLSFAALNPGSIGPTLPPVPPFQFPTGPTGSGTSTGPTGSGTSTGPTGFNLPAAG ASITLTSNETTACVSTQGNNTLFFSGQVLVNGSPTPGVVVFSFSNPSLAFMVPLA VITNASGNFTAFLAANGPGTVTASLLDSPGTMASVTITIVNCP
AK 1-30 гипотетического белка bcerkbab4_2131 ( <i>B. weihenstephensis</i> KBAB4) (SEQ ID №: 25)	MDEFLSSTALNPCSIGPTLPPMQPFQFPTG
Полноразмерный гипотетический белок bcerkbab4_2131 (SEQ ID №: 26)	MDEFLSSTALNPCSIGPTLPPMQPFQFPTGPTGSGTGTGPTGSIGPTGNTGLTGNTG PTGITGPTGDTG
AK 1-36 тройной коллагеновой спирали ( <i>B. weihenstephensis</i> KBAB4) (SEQ ID №: 27)	MKERDRQNSLNSNFRISPNLIGPTFPPVPTGFTGIG
Полноразмерная тройная коллагеновая спираль KBAB4 (SEQ ID №: 28)	MKERDRQNSLNSNFRISPNLIGPTFPPVPTGFTGIGITGPTGPQGPPTGPQGPGRGFQGP MGEMGPTGPQGVQGIQGPAGQMGATGPEGQGPQGLRGPQGETGATGPQGVQ LQGPIGPTGATGAQGIQGIQGLQGPATGPEGPQGIQGVQGVPGATGSQGIQGAQ GIQGPQGPSNTGATGVTGQGISGPTGITGPTGITGSPGGPPGPTGATGATGPGGG PSGSTGATGATGNTGVTGSAGVTGNTGSGTSTGETGAQGLQGIQGVQGPPIGPTGP EGPQGIQGPPTGVTGEQGIQGVQGIQGITGATGDQGPQGIQGAIGPQGITGATG DQGPQGIQGVPGPTGDTGSQGVQGIQGPMDIGPTGPEGPEGLQGPQGIQGVPGP



5

10

15

20

25

30

35

40

45

гипотетический белок WP_69652 (SEQ ID №: 44)	GPTGATGATGSTGATGPTGATGTFSSANASIVTPAPQTVNNLAPIQFTAPVLISKNVTFNGIDTFTIQIPGNVFFIGAVMTSNNQAGPVA VGVGFNGIPVPSLDGANYGTPTGQEVVCFGFGSQIPAGTTINLYNISDKTISIGGATAAGSSIVAARLSFFRIS
AK 1-41 лидера экзоспория WP016117717 ( <i>B. cereus</i> ) (SEQ ID №: 45)	MFSEKKRDKLIPDNFLSAPALDPNLIGPTFPPIPSFTLPTG
Полноразмерный лидер экзоспория WP016117717 (SEQ ID №: 46)	MFSEKKRDKLIPDNFLSAPALDPNLIGPTFPPIPSFTLPTGSTGPTGPTGDTGPTGPTATICIRTPDNGCSVAEGSGTVASGFASHAEACNTQAIGDCSHAEGQFATASGTA SHAEGFQTTASGFASHTEGSGTTADANFSHTEGINTIVDVLHPGSHIMGKNGTTRS SFSWHLANGLAVGPSLNSAVIEGVTGNLYLDGVVISPNAAADYAEMFETIDGNLID VGYFVTLYGEEKIRKANANDDYILGVVSATPAMIADASDLRWHNLFVRDEWGRTYHEVVVPEKKMAMEE
AK 1-49 пептида экзоспория WP002105192 ( <i>B. cereus</i> ) (SEQ ID №: 47)	MTRKDKFNRSRISRDRFNPKIKSEILISPDLVGPTFPPIPSFTLPTG
Полноразмерный пептид экзоспория WP002105192 (SEQ ID №: 48)	MTRKDKFNRSRISRDRFNPKIKSEILISPDLVGPTFPPIPSFTLPTGVTGPTGNTGPTGITGPTGDTGPTGDTGPTGITGP
AK 1-38 гипотетического белка WP87353 ( <i>B. cereus</i> ) (SEQ ID №: 49)	MSRKDRFNPKIKSEISISPDLVGPTFPPIPSFTLPTG
Полноразмерный гипотетический белок WP87353 (SEQ ID №: 50)	MSRKDRFNPKIKSEISISPDLVGPTFPPIPSFTLPTGITGPTGNTGPTGDTGPTGPTFNINFRAEKNGAQSFPPADIQVSYGNIIFNNGGGYSSVTNTFTA PINGIYLFSANIGFNPTLGTSTLRITIRKNLVSVASQTIDIQFSAAESGTLTVGSSNFF
AK 1-39 пептида экзоспория 02112369 ( <i>B. cereus</i> ) (SEQ ID №: 51)	MKERDNKGKQHSLNSNFRIPPELIGPTFPPVPTGFTGIG
Полноразмерный пептид экзоспория 02112369 (SEQ ID №: 52)	MKERDNKGKQHSLNSNFRIPPELIGPTFPPVPTGFTGIGITGPTGPQGPTGPQGPRGFQGPMEGMPGTGPQGVQGIQGPAGQMGATGPEGQQGPEGLRGPVGATGATGLQGVQGIQGPSTGATGAQGIQGIQGLQGPAGTGPPEGPQGIQGVQGLPGATGPQGVQGVQGVIGPQGPSGSTGGTGTATGQGVGTGPTGITGSTGVTGPSGGPPGPTGPTGATGPGGGPSGSTGVTGSTGNTGATGSPGVTGATGPTGSTGATGIQGSQGIQGIQGIQGPLGPTGPEGPQGIQGIQGPPTGITGEQGIQGVQGIQGITGATGDQGT
AK 1-39 белка экзоспория WP016099770 ( <i>B. cereus</i> ) (SEQ ID №: 53)	MRERDNKRQQHSLNPNFRISPELIGPTFPPVPTGFTGIG
Полноразмерный белок экзоспория WP016099770 (SEQ ID №: 54)	MRERDNKRQQHSLNPNFRISPELIGPTFPPVPTGFTGIGITGPTGPQGPTGPQGPRGFQGPMEGMPGTGPQGVQGIQGPVGPAGTGPPEGQQGPEGLRGPQGETGATGPGGVQGLQGPIGPTGATGAQGVQGIQGLQGPAGTGPPEGPQGIQGVQGLPGATGSQGIQGVQGIQGPQGPSGNTGATGATGQGITGPTGITGPTGITGPSGGPPGPTGPTGATGPGGGPSGSTGATGATGNTGATGNTGITGATGSTGPTGSTGAQGLQGIQGIQGPPTGPEGPQGIQGIQGPPTGVTGEQGIQGVQGIQGITGATGDQGPQGIQGVVIGAQGVGTGATGDQGPQGIQGVPGPSGATGPQGVQGIQGPMDIGPTGPEGPEGLQGPQGIQGVGPVGATGPEGPQGIQGIQGVQVQATGPQGPQGIQGIQGVQGITGATG
AK 1-36 гипотетического белка YP006612525 ( <i>B. thuringiensis</i> ) (SEQ ID №: 55)	MKNRDNKGKQSNFRIPPELIGPTFPPVPTGFTGIG
Полноразмерный	MKNRDNKGKQSNFRIPPELIGPTFPPVPTGFTGIGITGPTGPQGPTGPQGPRGFQGG

5

10

15

20

25

30

35

40

45

гипотетический белок YP006612525 (SEQ ID №: 56)	PMGEMGPTGPQGVQGIQGPVGPIGATGPEGQQGAQGLRGPQGETGATGPQGVQGLQGP LQGPPIGPTGATGAQGIQGIQGLQGPIGATGPEGPQGIQGVQGLPGATGPQGIQGAQ GIQGTQGPSGNTGATGATGQGLTGPTGITGPTGITGPSGGPPGPTGPTGATGPGGG PSGSTGATGATGDTGATGSGTGVGTGATGAQGPQGVQGIQGPVQGLPGATGATGATG IQGPQGIQGPVQGLQGPVQGLQGPVQGLQGPVQGLQGPVQGLQGPVQGLQGPVQGLQGP GVSTTATYAFANNTSGSIISVLLGGTNIPLPNNQNIQGPVQGLQGPVQGLQGPVQGLQGP YYIAYTINLTAGLLVSSRITVNGSPLAGTINSPAVAAGSFSATHIANLPAGAAVSLQ LFGVIALATLSTATPGATLTIIRLS
AK 1-136 гипотетического белка TIGR03720 ( <i>B. mycooides</i> ) (SEQ ID №: 57) **	MKFSKKSTVDSSIVGKRVVSKVNILRFYDARSCQDKDVGDFVDVVGELFTIFRKLN MEGSVQFKAHNSIGKTYIITINEVYVFTVLLQYSTLIGGSYVFDKNEIQKINGILQ ANALNPNLIGPTLPPPPFTLPTG
Полноразмерный гипотетический белок TIGR03720 (SEQ ID №: 58) **	MKFSKKSTVDSSIVGKRVVSKVNILRFYDARSCQDKDVGDFVDVVGELFTIFRKLN MEGSVQFKAHNSIGKTYIITINEVYVFTVLLQYSTLIGGSYVFDKNEIQKINGILQ ANALNPNLIGPTLPPPPFTLPTGPTGGTGTGPTGTGPTGTGPTGTGPTGTGPTGTGPTG VTGPTGTGPTGTGPTGTGPTGTGPTGTGPTGTGPTGTGPTGTGPTGTGPTGGTEGCLC DCCVLPMQSVLQQLIGETVILGTIADTPNTPLFFLTITSVNDFLVTVTDGTTTFV VNISDVTGVGFLPPGPPIITLLPPTDVGCECECRERPIRQLLDAFIGSTVSLASNGSI AADFSVEQTGLGIVLGLTPINPTTVRF AISTCKITAVNITPITM
AK 1-196 из BclA ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 59)*	MSNNNYSNGLNPDESLSASAFDPNLVGPTLPPIPPFTLPTGPTGPFTTGPTGPTGPT GPTGPTGPTGPTGPTGDTGTTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTG PTGPTGDTGTTGPTGPTGPTGPTGPTGDTGTTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPT TGPTGPTGATGLTGPTGPTGPSGLG
Met + AK 20-35 из BclA ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 60)	MAFDPNLVGPTLPPIPP
Met + AK 12-27 из BetA/BAS3290 ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 61)	MALEPNLIGPTLPPIPP
Met + AK 18-33 гена 2280 ( <i>B. weihenstephensis</i> KBAB4) (SEQ ID №: 62)	MALNPNLIGPTLPPIPP
Met + AK 18-33 гена 3572 ( <i>B. weihenstephensis</i> KBAB4) (SEQ ID №: 63)	MALDPNIIGPTLPPIPP
Met + AK 12-27 лидерного пептида экзоспория ( <i>B. cereus</i> VD166) (SEQ ID №: 64)	MALEPNLIGPTLPSIPP
Met + AK 18-33 β- пропеллерного белка YVTN ( <i>B. weihenstephensis</i> KBAB4) (SEQ ID №: 65)	MALDPNLIGPPLPPITP
Met + AK 9-24 гипотетического белка bcerkbab4_2363 ( <i>B. weihenstephensis</i> KBAB4) (SEQ ID №: 66)	MALNPGSIGPTLPPVPP
Met + AK 9-24 гипотетического	MALNPCSIGPTLPPMQP

	белка bcerkbab4_2131 ( <i>B. weihenstephensis</i> KBAB4) (SEQ ID №: 67)	
5	Met + АК 9-24 гипотетического белка bmyc0001_22540 ( <i>B. mycoides</i> 2048) (SEQ ID №: 68)	MALNPGSIGPTLPPVQP
10	Met + АК 9-24 из BAS1882 ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 69)	MALNPGSVGPTLPPMQP
15	Met + АК 20-35 лидера экзоспория WP016117717 ( <i>B. cereus</i> ) (SEQ ID №: 70)	M ALDPNLIGPTFPPIPS
20	Полноразмерный InhA ( <i>B. mycoides</i> ) (SEQ ID №: 71)	MKRKTPFKVFSSLAITTMLGCTFALGTSVA YAETTSQSKGSISTTPIDNNLIQEERL AEALKERGIDQSASKEETQKAVEQYIEKKGQDPNKEILPDDPAKEASDFVKKV KEKKMEEKEKVKKSVENASSEQTPSQNKQLNGKVPTSPAKQAPYNGAVRTDK VLVLLVEFSDYKHNNIEQSPGYMYANDFSREHYQKMLFGNEPFTLFDGSKVKT KQYEEQSGGSYTTDGYVTEWLVTPGKAADYGADGKTGHDNKGPKGARDLVK EALKAAAEKGLDLSQFDQFDRYDTNGDGNQNEPDGVIDHLMVIHAGVQGEAGG GKLGDDAIWSHRSKLAQDPVAIEGTSKSVSYWDGKVA AHDYTIEPEDGAVGVFA HEFGHDLGLPDEYDTNYTGAGSPVEAWSLMSGGSWTGRIAGTEPTSFSPQNKDFL QKNMDGNWAKIVEVDYDKIKRGGVGFPTYIDQSVTKSNRPLVVRVNLPEKSVETI KTGFGKHA YYSTRGDDMHTTLETPLFDLTKAANAKFDYKANYELEAECD FIEVH AVTEDGKTLIDKLGDKVVKGDQDTTEGKWIDKSYDLSQFKGKKVKLQFDYITD PALTYKGFAMDNVNVTVDGKVVFSDDAEGQAKMKNLNGFVVS DGTEKKPHYYY LEWRNYAGSDEGLKVRGPVYNTGLVVWYADDSFKDNVWGRHPGEGFLGVVD SHPEAVVGNLNGKPVYGTGLQIADA AFSLDQTPA WNVNSFTRGQFNYPGLPGV ATFDDSKVYSNTQIPDAGRKVPQLGLKFQVVQGADDKSAGAIWIRR
25	Полноразмерный BAS1141 (ExsY) ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 72)	MSCNENKHHGSSHCVVVDVKFINELQDCSTTTCGSGCEIPFLGAHNTASVANTRP FILYTKAGAPFEAFAPSANLTSCRSPIFRVESVDDDDSCAVLRVLSVVLGDSSVPPT DDPICTFLAVPNARLVSTSTCITVDLSCFCAIQCLRDVTI
30	Полноразмерный BAS1144 (VxpB/ExsFA) ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 73)	MFSSDCEFTKIDCEAKPASTLPAFGAFNASAPQFASLFTPLLLPSVSPNPNTVPVI NDTVSVGDGIRILRAGIYQISYTLTISLDNSPVAPEAGRFFLSLGT PANIIPGSGTAV RSNVIGTGEVDVSSGVILINLNPGLDIRIVPVELIGTVDIRAAALTVAQIS
35	Полноразмерный BAS1145 (CotY) ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 74)	MSCNEDHHHDCDFNCVSNVVRFIHELQECATTTTCGSGCEVPFLGAHNSASV ANTRPFILYTKAGAPFEAFAPSANLTSCRSPIFRVESIDDDDCAVLRVLSVVLGDTS PVPPTDDPICTFLAVPNARLVSTSTCITVDLSCFCAIQCLRDVTI
40	Полноразмерный BAS1140 ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 75)	MEVGGTSVKNKNKSSTVKGPLL YIAQVSLELAAPKTRIIILTNFENEDRKEESNRN ENVVSSAVEEVIEQEEQQEQEQEQEQVEEKTEEEEQVQEQEQEPVRTVPYKNSF KDMNNEEKIHFLNRPHYIPKVRCRIKTATISYVGSII SYRNGIVAIMPPNSMRDIRL SIEEIKSIDMAGF
45	Полноразмерный ExsFB ( <i>B. anthracis</i> H9401) (SEQ ID №: 76)	MKERSENMRSSSRKLTNFCRAQAPSTLPALGF AFNATSPQFATLFTPLLLPSTGP NPNTVPVINDTISTGTGIRIQVAGIYQISYTLTISLDNVPVTPEAARFFLTLNSSTNII AGSGTAVRSNIIGTGEVDVSSGVILINLNPGLDIQIVPVEVIGTVDIRSAALTVAQIR
	Полноразмерный InhA1 ( <i>B. thuringiensis</i> HD74) (SEQ ID №: 77)	MSKKPFKVLSSIALTAVLGLSFGAGTQSA YAETPVNKTATSPVDDHLIPEERLADA LKKRGVIDSKASETETKKA VEKYVENKKGENPGKEAANGDQLTKDASDFLKKV KDAKADTKEKLNQPATGTPAATGPVKGGLNGKVPTSPAKQKDYNGEVRKDKVL VLLVEYADFKHNNIDKEPGYMYSNDFNKEHYEKMLFGNEPFTLDDGSKIETFKQ YYEEQSGGSYTV DGTVTKWLVTPGKAADYGADAPGGGHDKGPKGPRDLVKD ALKAAVDSGIDLSEFDQFDQYDVNGDGNKNQPDGLIDHLMIIHAGVQGEAGGGK

5

10

15

20

25

30

35

40

45

	LGDDAIWSHRWTVGPKPFPIEGTQAKVPYWGKMAAFDYTIEPEDGAVGVFAHE YGHDLGLPDEYDTQYSGQGEPIEAWSIMSGGSWAGKIAGTTPTSFSFQNEFFQK TIGGNWANIVEVDYEKLNKIGLATYLDQSVTKSARPGMIRVNLDPKDVKTIEPA FGKQYYSTKGDDLHTKMETPLFDLTNATSAKFDKSLYEIEAGYDFLEVHAVTE DGKQTLIERLGEKANSNADSTNGKWIDKSYDLSQFKGKKVCLTFDYITDGGLA LNGFALDNASLTVDGKVVFSDDAEGTPQLKLDGFVVSNGTEKKKHNYVVEWRN YAGADNALKFARGPVFNTGMVVWYADSAYTDNWVGVHPGHGFLGVVDSHPEA IVGTLNGKPTVKSSTRFQIADAASFDPKTPAWKVVSPTRGFTFYDGLAGVPKFFD SKTYINQQIPDAGRILPKLGLKFEVVGQADDNSAGAVRLYR
Полноразмерный ExsJ ( <i>B. cereus</i> ATCC 10876) (SEQ ID №: 78)	MKHNDCFDHNNCNPVFSADCKNPQSVPTREQLSQLITLLNSLVSASIAFFANPS NANRLVLLDLFNQFLIFLNSLLPSPEVNFLLKQLTQSIIVLLQSPAPNLGQLSTLLQQF YSALAQFFALDLIPISCSNSVDSATLQLLNFLLIQLINATPGATGPTGPTGPTGPTG PAGTGAGPTGATGATGATGPTGATGPAGTGGATGATGATGVTGATGATGATG TGPTGATGPTGATGATGATGPTGATGPTGATGLTGATGAAGGGAIPIFASGTTPS ALVNALVANTGTLGFGFSQPGVALTGGTSITLALGVGDYAFVAPRAGTITSLAG FFSATAALAPISPVQVQIQILTAPAASNTFTVQGAPLLLTPAFAAIAIGSTASGIIAEA IPVAAGDKILLYVSLTAASPIAAVAGFVSAGINIV
Полноразмерный ExsH ( <i>B. cereus</i> ) (SEQ ID №: 79)	MKHNDCFGHNNCNPVFTPDCCNNPQTVPTSEQLGRLITLLNSLIAAIAAFFANP SDANRLALLNFTQLLNLLNELAPSEGNFLKQLIQSIINLLQSPNPNLGQLLSLLQ QFYALAPFFSLILDPAASLQLLNLLAQLIGVTPGGGATGPTGPTGPGGGATGPTG PTGPGGGATGPTGATGPTGDTGLAGATGATGPTGDTGVAGPAGPTGPTGDTGLA GATGPTGPTGDTGLAGATGPTGATGLAGATGPTGATGLTGATGATGAAGGGAI PFASGTTPAALVNALIANGTLLGFGFSQPGIGLAGGTSITLALGVGDYAFVAPR GVITSLAGFFSATAALSPLSPVQVQIQILTAPAASNTFTVQGAPLLLTPAFAAIAIGS TASGIIPEAIPVAVAGDKILLYVSLTAASPIAAVAGFVSAGINIV
Полноразмерный YjcA ( <i>B. anthracis</i> Ames) (SEQ ID №: 80)	MLFTSWLLFFIFALAAFRLTRLIVYDKITGFLRRPFIDELEITEPDGSVSTFTKVKGK GLRWIGELLSCYWCTGVVWSAFLVLVYNWIPVIAEPLLALLAIAAGAAAIHETITG YFMGE
Полноразмерный YjcB ( <i>B. anthracis</i> ) (SEQ ID №: 81)	MFAVSNNPRQNSYDLQQWYHMQQQHQAQQQAYQEQLQQQGFVKKKGCNCGK KKSTIKHYEE
Полноразмерный BclC ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 82)	MSRYDDSQNKFSKPCFPSSAGRIPNTPSIPVTKAQLRTFRAIIDLTKIIPKLFANPSP QNIEDLIDTLNLLSKFICSLDAASSLKAQGLAIKLNILITLKNPTFVAVFIELQNL NYLLSITKLFRIIDPCTLQELLKLIALQALVNSASFIQGPPTGPTGPTGPTGATG GATGPGQVQGPAGATGATGPGQVQGPAGATGATGPGQAQGPAGATGATGPGQ AQGPAGATGATGPGQIQGPAGATGATGPGQVQGPPTGATGIGVTGPTGPGSGG ATGPGQPGNTGATGPGQIQGPAGATGATGPGQAQGPAGATGATGPGQVQGP GATGIGVTGPTGPGSPFPVATIVVTNIIQQTVLQFNFIINTAINVNIIFNGTDTV TVINAGIYVISVSISTTAPGCAPLGVGISINGAVATDNFSSNLIGDSLSTFTIETL ANISVQSTLNEITPATGNTNIRLTVFRIA
Полноразмерная кислая фосфатаза ( <i>Bacillus thuringiensis</i> serovar konkukian str. 97-27) (SEQ ID №: 83)	MKMKRGITLLSVAVLSTSLVACSGITEKTVAKEEKVKLTDQQLMADLWYQTAG EMKALYYQGYNIGQLKLDVLAKEGTEKPAIVLDDLDETVLDNSPHQAMSVKTG KGYPKWDDWINKAEAEALPGAIDFLKYTESKGVDIYYISNRKTNQLDATIKNLE RVGAPQATKEHILLQDPKEKGEKRELVSQTHDIVLFFGDNLSDFTGFDGKSVK DRNQA VADSKAQFGEKFIIFPNPMYGDWEGALYDYDFKKSDAEKDKIRRDNLKS FDTK
Полноразмерный InhA2 ( <i>B. thuringiensis</i> HD74) (SEQ ID №: 84)	MKMKKKLPLAVLTTAAVLSSTFAFGGHAAYAETPTSSLPIDEHLIPEERLAEALK QRGVIDQSASQAETSKA VEKYVEKKKGENPGKEILTGDLSLQEASDFMKKVKDA KMRENEQAQPEVGPVAGQGAALNPGKLNKGVPTTSKQEEYNGAVRDKV VLLVEFSDFKHNNIDQEPGYMSKDFNREHYQKMLFGDEPFTLFDGSKINTFKQY YEEQSGGSYTVDGTVTEWLVTPGKASDYGADAGTGHDKGPLGPKDLVKEALK AAVAKGINLADFQYDQYDQNGNGNKNEPDGIIDHLMVVHAGVQGEAGGGK KDDAIWSHRSLKLGSKPYAIDGKSSVSNWGGKMAAYDYTIEPEDGAVGVFAHEY GHDLGLPDEYDTKYSGQGEVSWSIMSGGSWAGKIAGTEPTSFSFQNEFFQKN MKGWVANILEVDYDKLSKIGVATYVDQSTTKSKRPGIVRVNLDPKDIKNIESAF GKKFYSTKGNDIHTTLETPVFDLTNAKDAKFDYKAFYELEAKYDFLDVYAI DGTKTRIDRMGEKDIKGGADTTDGKVVWVWYADQSFDTDNWVGVHPGHGFLGVVDSHP RNYAGSDTALQYARGPVFNTGMVVWYADQSFDTDNWVGVHPGHGFLGVVDSHP EAIVGTLNGQPTVKSSTRYQIADAASFDPKTPAWKVVNSPTRGIFDYKGLPVDAKF

DDSKQYINSVIPDAGRKLPKLGKFEVVGQAEDKSAGAVWLHR
--

АК = аминокислоты

\* Штамм BclA *B. anthracis* Sterne имеет 100%-ную идентичность последовательности с *B. thuringiensis* BclA. Таким образом, SEQ ID №№: 1, 2 и 59 также представляют аминокислоты 1-41 из *B. thuringiensis* BclA, полноразмерного *B. thuringiensis* BclA, и аминокислоты 1-196 из *B. thuringiensis* BclA, соответственно. Аналогично, SEQ ID №: 60, также представляет метиониновый остаток плюс аминокислоты 20-35 из *B. thuringiensis* BclA.

\*\* Гипотетический белок TIGR03720 из *B. mycooides* имеет 100%-ную идентичность последовательности с гипотетическим белком WP003189234 из *B. mycooides*. Таким образом, SEQ ID №№: 57 и 58 также представляют аминокислоты 1-136 гипотетического белка WP003189234 из *B. mycooides* и полноразмерный гипотетический белок WP003189234 из *B. mycooides*, соответственно.

[0034] *Bacillus* представляет собой род палочковидных бактерий. Семейство бактерий *Bacillus cereus* включает виды *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycooides*, *Bacillus pseudomycooides*, *Bacillus samanii*, *Bacillus gaemokensis* и *Bacillus weihenstephensis*. В стрессовых условиях окружающей среды бактерии семейства *Bacillus cereus* претерпевают споруляцию и образуют овальные эндоспоры, которые могут оставаться в состоянии покоя в течение длительных периодов времени. Наружный слой эндоспор известен как экзоспорий и содержит базальный слой, покрытый внешним ворсом из волоскоподобных выростов. Нити этого волоскоподобного ворса образованы преимущественно коллагеноподобным гликопротеином BclA, в то время как базальный слой состоит из нескольких различных белков. В экзоспорий также присутствует другой коллагеноподобный белок, BclB, который располагается на эндоспорах представителей семейства *Bacillus cereus*. Было показано, что BclA, основной компонент поверхностного ворса, прикреплен к экзоспорию с помощью amino-конца (N-конца), расположенного в базальном слое, и углеродного конца (C-конца), выходящего из споры наружу.

[0035] Ранее было обнаружено, что некоторые последовательности из N-концевых участков BclA и BclB могут быть использованы для транспортировки пептида или белка в экзоспорий эндоспор *Bacillus cereus* (см заявки на патент США №№2010/0233124 и 2011/0281316, и Thompson et al., Targeting of the BclA and BclB proteins to the *Bacillus anthracis* spore surface, *Molecular Microbiology* 70(2):421-34 (2008), каждая из которых включена в данное описание посредством ссылки). Было также установлено, что белок BetA/BAS3290 *Bacillus anthracis* локализуется в экзоспории.

[0036] В частности, было обнаружено, что аминокислот 20-35 BclA из штамма *Bacillus anthracis* Sterne достаточно для транспортировки в экзоспорий. На Фигуре 1 проиллюстрировано выравнивание последовательности аминокислот 1-41 из BclA (SEQ ID №: 1) с соответствующими N-концевыми участками нескольких других белков экзоспория из семейства *Bacillus cereus* и белков из семейства *Bacillus cereus*, имеющих сходные последовательности. Как видно из Фигуры 1, есть область высокой гомологии между всеми белками в области, соответствующей аминокислотам 20-41 из BclA. Тем не менее, в этих последовательностях аминокислоты, соответствующие аминокислотам 36-41 из BclA, содержит вторичную структуру и не представляют собой необходимыми для транспортировки гибридного белка в экзоспорий. Область консервативной сигнальной последовательности в BclA (аминокислоты 20-35 из SEQ ID №: 1) выделена жирным на Фигуре 1 и соответствует минимальной сигнальной последовательности, необходимой для транспортировки в экзоспорий. Более высоко консервативная область, охватывающая аминокислоты 25-35 из BclA в пределах сигнальной последовательности, подчеркнута в последовательностях на Фигуре 1 и представляет собой



последовательность распознавания для ExsFA/VxpV/ExsFB и гомологов, которые направляют и прикрепляют описанные белки на поверхности экзоспория.

Аминокислотные последовательности SEQ ID №№. 3, 5 и 7 на Фигуре 1 представляют собой аминокислоты 1-33 из штамма BetA/BAS3290 *Bacillus anihracis* Sterne, за метионином следуют аминокислоты 2-43 из штамма BAS4623 *Bacillus anihracis* Sterne, и аминокислоты 1-34 из штамма VclB *Bacillus anihracis* Sterne, соответственно. (Для BAS4623 было обнаружено, что замена присутствующего валина в положении 1 в нативном белке на метионин приводит к лучшей экспрессии.) Как можно увидеть из Фигуры 1, каждая из этих последовательностей содержит консервативную область, соответствующую аминокислотам 20-35 из VclA (SEQ ID №: 1; выделена жирным) и более высоко консервативную область, соответствующую аминокислотам 20-35 из VclA (подчеркнуто).

[0037] Дополнительные белки из представителей семейства *Bacillus cereus* также содержат консервативную сигнальную область. В частности, на Фигуре 1 SEQ ID №: 9 представляет собой аминокислоты 1-30 штамма BAS1882 *Bacillus anihracis* Sterne, SEQ ID №: 11 представляет собой аминокислоты 1-39 генетического продукта 2280 *Bacillus weihenstephensis* КВАВ4, SEQ ID №: 13 представляет собой аминокислоты 1-39 из генетического продукта 3572 *Bacillus weihenstephensis* КВАВ4, SEQ ID №: 15 представляет собой аминокислоты 1-49 из лидерного пептида экзоспория *Bacillus cereus* VD200, SEQ ID №: 17 представляет собой аминокислоты 1-33 из лидерного пептида экзоспория *Bacillus cereus* VD166, SEQ ID №: 19 представляет собой аминокислоты 1-39 из гипотетического белка IKG 04663 *Bacillus cereus* VD200, SEQ ID №: 21 представляет собой аминокислоты 1-39 из  $\beta$ -пропеллерного белка *Bacillus weihenstephensis* КВАВ4 YVTN, SEQ ID №: 23 представляет собой аминокислоты 1-30 из гипотетического белка bcerkbab4\_2363 *Bacillus weihenstephensis* КВАВ4, SEQ ID №: 25 представляет собой аминокислоты 1-30 из гипотетического белка bcerkbab4\_2131 *Bacillus weihenstephensis* КВАВ4, SEQ ID №: 27 представляет собой аминокислоты 1-36 из тройной коллагеновой спирали *Bacillus weihenstephensis* КВАВ4, SEQ ID №: 29 представляет собой аминокислоты 1-39 из гипотетического белка bmyc0001\_21660 *Bacillus mycoides* 2048, SEQ ID №: 31 представляет собой аминокислоты 1-30 из гипотетического белка bmyc0001\_22540 *Bacillus mycoides* 2048, SEQ ID №: 33 представляет собой аминокислоты 1-21 из гипотетического белка bmyc0001\_21510 *Bacillus mycoides* 2048, SEQ ID №: 35 представляет собой аминокислоты 1-22 из белка тройной коллагеновой спирали *Bacillus Thuringiensis* 35646, SEQ ID №: 43 представляет собой аминокислоты 1-35 из гипотетического белка WP\_69652 *Bacillus cereus*, SEQ ID №: 45 представляет собой аминокислоты 1-41 из лидера экзоспория WP016117717 *Bacillus cereus*, SEQ ID №: 47 представляет собой аминокислоты 1-49 из пептида WP002105192 экзоспория *Bacillus cereus*, SEQ ID №: 49 представляет собой аминокислоты 1-38 из гипотетического белка WP87353 *Bacillus cereus*, SEQ ID №: 51 представляет собой аминокислоты 1-39 из пептида 02112369 экзоспория *Bacillus cereus*, SEQ ID №: 53 представляет собой аминокислоты 1-39 из белка WP016099770 экзоспория *Bacillus cereus*, SEQ ID №: 55 представляет собой аминокислоты 1-36 из гипотетического белка YP006612525 *Bacillus Thuringiensis* и SEQ ID №: 57 представляет собой аминокислоты 1-136 из гипотетического белка TIGR03720 *Bacillus mycoides*. Как проиллюстрировано на Фигуре 1, каждый из N-концевых областей этих белков содержит область, которая является консервативной с аминокислотами 20-35 из VclA (SEQ ID №: 1), и более высоко консервативную область, соответствующую аминокислотам 25-35 из VclA.

[0038] В гибридных белках по данному изобретению любая часть VclA которая

включает аминокислоты 20-35, может быть использована в качестве сигнальной последовательности в данном изобретении. Кроме того, полноразмерные белки экзоспория или фрагменты белка экзоспория могут быть использованы для транспортировки гибридных белков в экзоспорий. Таким образом, полноразмерный VclA или фрагмент VclA, включающий аминокислоты 20-35, может быть использован для транспортировки в экзоспорий. Например, полноразмерный VclA (SEQ ID №: 2), или фрагмент VclA среднего размера, в котором отсутствует углеродный конец, такой как SEQ ID №: 59 (аминокислоты 1-196 из VclA), может быть использован для транспортировки гибридных белков в экзоспорий. Фрагменты среднего размера, такие как фрагмент SEQ ID №: 59, имеют меньшую вторичную структуру, чем полноразмерный VclA, и было установлено, что они пригодны для использования в качестве сигнальной последовательности. Сигнальная последовательность может также содержать намного более короткие части VclA, включающие аминокислоты 20-35, такие как SEQ ID №: 1 (аминокислоты 1-41 из VclA), аминокислоты 1-35 из SEQ ID №: 1, аминокислоты 20-35 из SEQ ID №: 1 или SEQ ID №: 60 (метиониновый остаток связан с аминокислотами 20-35 из VclA). Даже более короткие фрагменты VclA, включающие лишь некоторые из аминокислот 20-35, также обладают способностью направлять гибридные белки в экзоспорий. Например, целевая последовательность может включать аминокислоты 22-31 из SEQ ID №: 1, аминокислоты 22-33 из SEQ ID №: 1 или аминокислоты 20-31 из SEQ ID №: 1.

[0039] В альтернативном варианте любая часть BetA/BAS3290, BAS4623, VclB, BAS1882, генетического продукта KBAВ4 2280, генетического продукта KBAВ4 3572, лидерного пептида экзоспория *V. cereus* VD200, лидерного пептида экзоспория *V. cereus* VD166, гипотетического белка IKG\_04663 *V. cereus* VD200, β-пропеллерного белка YVTN *V. weihenstephensis* KBAВ4, гипотетического белка bcerkbab4\_2363 *V. weihenstephensis* KBAВ4, гипотетического белка bcerkbab4\_2131 *V. weihenstephensis* KBAВ4, тройной коллагеновой спирали *V. weihenstephensis* KBAВ4, гипотетического белка bmyco0001\_21660 *V. mycooides* 2048, гипотетического белка bmyco0001\_22540 *V. mycooides* 2048, гипотетического белка bmyco0001\_21510 *V. mycooides* 2048, белка тройной коллагеновой спирали *V. thuringiensis* 35646, гипотетического белка WP\_69652 *V. cereus*, лидера WP016117717 экзоспория *V. cereus*, пептида WP002105192 экзоспория *V. cereus*, гипотетического белка WP87353 *V. cereus*, пептида 02112369 экзоспория *V. cereus*, белка WP016099770 экзоспория *V. cereus*, гипотетического белка YP006612525 *V. thuringiensis* или гипотетического белка TIGR03720 *V. mycooides*, который включает аминокислоты, соответствующие аминокислотам 20-35 из VclA, может служить сигнальной последовательностью. Как видно из рисунка 1, аминокислоты 12-27 из BetA/BAS3290, аминокислоты 23-38 из BAS4623, аминокислоты 13-28 из VclB, аминокислоты 9-24 из BAS1882, аминокислоты 18-33 генетического продукта KBAВ4 2280, аминокислоты 18-33 генетического продукта KBAВ4 3572, аминокислоты 28-43 лидерного пептида экзоспория *V. cereus* VD200, аминокислоты 12-27 лидерного пептида экзоспория *V. cereus* VD166, аминокислоты 18-33 гипотетического белка IKG\_04663 *V. cereus* VD200, аминокислоты 18-33 β-пропеллерного белка *V. weihenstephensis* KBAВ4 YVTN, аминокислоты 9-24 гипотетического белка bcerkbab4\_2363 *V. weihenstephensis* KBAВ4, аминокислоты 9-24 гипотетического белка bcerkbab4\_2131 *V. weihenstephensis* KBAВ4, аминокислоты 15-30 тройной коллагеновой спирали *V. weihenstephensis* KBAВ4, аминокислоты 18-33 гипотетического белка bmyco0001\_21660 *V. mycooides* 2048, аминокислоты 9-24 гипотетического белка bmyco0001\_22540 *V. mycooides* 2048, аминокислоты 1-15 гипотетического белка bmyco0001\_21510 *V. mycooides* 2048,

аминокислоты 1-16 белка тройной коллагеновой спирали *B. thuringiensis* 35646, аминокислоты 14-29 гипотетического белка WP\_69652 *B. cereus*, аминокислоты 20-35 лидера WP016117717 экзоспория *B. cereus*, аминокислоты 28-43 пептида WP002105192 экзоспория *B. cereus*, аминокислоты 17-32 гипотетического белка WP87353 *B. cereus*, аминокислоты 18-33 пептида 02112369 экзоспория *B. cereus*, аминокислоты 18-33 белка WP016099770 экзоспория *B. cereus*, аминокислоты 15-30 гипотетического белка YP006612525 *B. thuringiensis* и аминокислоты 115-130 гипотетического белка TIGR03720 *B. mycoides* соответствуют аминокислотам 20-35 из BclA. Таким образом, любая часть этих белков, которые включают вышеперечисленные соответствующие аминокислоты, может служить сигнальной последовательностью.

[0040] Кроме того, любая аминокислотная последовательность, содержащая аминокислоты 20-35 из BclA или любые из вышеперечисленных соответствующих аминокислот, может служить сигнальной последовательностью.

[0041] Таким образом, сигнальная последовательность может включать аминокислоты 1-35 из SEQ ID №: 1, аминокислоты 20-35 из SEQ ID №: 1, SEQ ID №: 1, SEQ ID №: 60, аминокислоты 22-31 из SEQ ID №: 1, аминокислоты 22-33 из SEQ ID №: 1, или аминокислоты 20-31 из SEQ ID №: 1. В альтернативном варианте сигнальная последовательность состоит из аминокислот 1-35 из SEQ ID №: 1, аминокислот 20-35 из SEQ ID №: 1, SEQ ID №: 1, или SEQ ID №: 60. В альтернативном варианте сигнальная последовательность может состоять из аминокислот 22-31 в SEQ ID №: 1, аминокислот 22-33 из SEQ ID №: 1, или аминокислот 20-31 из SEQ ID №: 1. В альтернативном варианте белок экзоспория может включать полноразмерный BclA (SEQ ID №: 2), или фрагмент белка экзоспория может включать фрагмент BclA среднего размера, в котором отсутствует углеродный конец, например, SEQ ID №: 59 (аминокислоты 1-196 из BclA). В альтернативном варианте фрагмент белка экзоспория может состоять из SEQ ID №: 59.

[0042] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислоты 1-27 из SEQ ID №: 3, аминокислоты 12-27 из SEQ ID №: 3, или SEQ ID №: 3, или белок экзоспория может включать полноразмерный BetA/BAS3290 (SEQ ID №: 4). Кроме того, было обнаружено, что остаток метиониновый остаток, связанный с аминокислотами 12-27 из BetA/BAS3290, может быть использован в качестве сигнальной последовательности. Таким образом, сигнальная последовательность может включать SEQ ID №: 61. Сигнальная последовательность может также содержать аминокислоты 14-23 из SEQ ID №: 3, аминокислоты 14-25 из SEQ ID №: 3, или аминокислоты 12-23 из SEQ ID №: 3.

[0043] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислоты 1-38 из SEQ ID №: 5, аминокислоты 23-38 из SEQ ID №: 5, или SEQ ID №: 5, или белок экзоспория может включать полноразмерный BAS4623 (SEQ ID №: 6).

[0044] В альтернативном варианте сигнальная последовательность может включать аминокислоты 1-28 из SEQ ID №: 7, аминокислоты 13-28 из SEQ ID №: 7 или SEQ ID №: 7, или белок экзоспория может включать полноразмерный BclB (SEQ ID №: 8).

[0045] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислоты 1-24 из SEQ ID №: 9, аминокислоты 9-24 из SEQ ID №: 9 или SEQ ID №: 9 или белок экзоспория может включать полноразмерный BAS1882 (SEQ ID №: 10). Метиониновый остаток, связанный с аминокислотами 9-24 из BAS1882, также может быть использован в качестве сигнальной последовательности. Таким образом, сигнальная последовательность может включать SEQ ID №: 69.

[0046] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислоты 1-33

из SEQ ID №: 11, аминокислоты 18-33 из SEQ ID №: 11, или SEQ ID №: 11, или белок экзоспория может включать полноразмерный генетический продукт *V. weihenstephensis* КВАВ4 2280 (SEQ ID №: 12). Метиониновый остаток, связанный с аминокислотами 18-33 генетического продукта *V. weihenstephensis* КВАВ4 2280, также может быть  
5 использован в качестве сигнальной последовательности. Таким образом, сигнальная последовательность может включать последовательность SEQ ID №: 62.

[0047] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислоты 1-33 из SEQ ID №: 13, аминокислоты 18-33 из SEQ ID №: 13, или SEQ ID №: 13, или белок экзоспория может включать полноразмерный генетический продукт *V. weihenstephensis*  
10 КВАВ4 3572 (SEQ ID №: 14). Метиониновый остаток, связанный с аминокислотами 18-33 генетического продукта *V. weihenstephensis* КВАВ4 3572, также может быть использован в качестве сигнальной последовательности. Таким образом, сигнальная последовательность может включать SEQ ID №: 63.

[0048] В альтернативном варианте сигнальная последовательность может включать  
15 аминокислоты 1-43 из SEQ ID №: 15, аминокислоты 28-43 из SEQ ID №: 15, или SEQ ID №: 15, или белок экзоспория может включать полноразмерный лидерный пептид экзоспория *V. cereus* VD200 (SEQ ID №: 16).

[0049] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислоты 1-27 из SEQ ID №: 17, аминокислоты 12-27 из SEQ ID №: 17, или SEQ ID №: 17, или белок экзоспория может включать полноразмерный лидерный пептид экзоспория *V. cereus*  
20 VD166 (SEQ ID №: 18). Метиониновый остаток, связанный с аминокислотами 12-27 лидерного пептида экзоспория *V. cereus* VD166, может быть также использован в качестве сигнальной последовательности. Таким образом, сигнальная последовательность может включать SEQ ID №: 64.

[0050] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислоты 1-33 из SEQ ID №: 19, аминокислоты 18-33 из SEQ ID №: 19, или SEQ ID №: 19, или белок экзоспория может включать полноразмерный гипотетический белок IKG\_04663 из *V. cereus* VD200 (SEQ ID №: 20).

[0051] В альтернативном варианте сигнальная последовательность содержит  
30 аминокислоты 1-33 из SEQ ID №: 21, аминокислоты 18-33 из SEQ ID №: 21, или SEQ ID №: 21, или белок экзоспория может включать полноразмерный  $\beta$ -пропеллерный белок из *V. weihenstephensis* КВАВ4 YVTN (SEQ ID №: 22). Метиониновый остаток, связанный с аминокислотами 18-33  $\beta$ -пропеллерного белка из *V. weihenstephensis* КВАВ4 YVTN, также может быть использован в качестве сигнальной последовательности. Таким  
35 образом, сигнальная последовательность может включать SEQ ID №: 65.

[0052] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислоты 1-24 из SEQ ID №: 23, аминокислоты 9-24 из SEQ ID №: 23, или SEQ ID №: 23, или белок экзоспория может включать полноразмерный гипотетический белок bcerkbab4\_2363 из  
40 *V. weihenstephensis* КВАВ4 (SEQ ID №: 24). Метиониновый остаток, связанный с аминокислотами 9-24 гипотетического белка bcerkbab4\_236 из *V. weihenstephensis* КВАВ4, также может быть использован в качестве сигнальной последовательности. Таким образом, сигнальная последовательность может включать SEQ ID №: 66.

[0053] Сигнальная последовательность содержит аминокислоты 1-24 из SEQ ID №: 25, аминокислоты 9-24 из SEQ ID №: 25, или SEQ ID №: 25, или белок экзоспория может  
45 включать полноразмерный гипотетический белок bcerkbab4\_2131 из *V. weihenstephensis* КВАВ4 (SEQ ID №: 26). Метиониновый остаток, связанный с аминокислотами 9-24 гипотетического белка bcerkbab4\_2131 из *V. weihenstephensis* КВАВ4, также может быть использован в качестве сигнальной последовательности. Таким образом, сигнальная

последовательность может включать SEQ ID №: 67.

[0054] В альтернативном варианте сигнальная последовательность содержит аминокислоты 1-30 из SEQ ID №: 27, аминокислоты 15-30 из SEQ ID №: 27, или SEQ ID №: 27, или белок экзоспория может включать полноразмерную тройную коллагеновую спираль из *B. weihenstephensis* KBAB4 (SEQ ID №: 28).

[0055] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислоты 1-33 из SEQ ID №: 29, аминокислоты 18-33 из SEQ ID №: 29, или SEQ ID №: 29, или белок экзоспория может включать полноразмерный гипотетический белок *bmyco0001\_21660* из *B. mycoides* 2048 (SEQ ID №: 30).

[0056] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислоты 1-24 из SEQ ID №: 31, аминокислоты 9-24 из SEQ ID №: 31, или SEQ ID №: 31, или белок экзоспория может включать полноразмерный гипотетический белок *bmyc0001\_22540* из *B. mycoides* 2048 (SEQ ID №: 32). Метиониновый остаток, связанный с аминокислотами 9-24 гипотетического белка *bmyc0001\_22540* из *B. mycoides* 2048, также может быть использован в качестве сигнальной последовательности. Таким образом, сигнальная последовательность может включать SEQ ID №: 68.

[0057] В альтернативном варианте сигнальная последовательность содержит аминокислоты 1-15 из SEQ ID №: 33, SEQ ID №: 33, или белок экзоспория содержит полноразмерный гипотетический белок *bmyc0001\_21510* из *B. mycoides* 2048 (SEQ ID №: 34).

[0058] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислоты 1-16 из SEQ ID №: 35, SEQ ID №: 35, или белок экзоспория может включать полноразмерный белок тройной коллагеновой спирали из *B. thuringiensis* 35646 (SEQ ID №: 36).

[0059] Сигнальная последовательность может включать аминокислоты 1-29 из SEQ ID №: 43, аминокислоты 14-29 из SEQ ID №: 43, или SEQ ID №: 43, или белок экзоспория может включать полноразмерный гипотетический белок *WP\_69652* из *B. cereus* (SEQ ID №: 44).

[0060] В альтернативном варианте сигнальная последовательность может включать аминокислоты 1-35 из SEQ ID №: 45, аминокислоты 20-35 из SEQ ID №: 45, или SEQ ID №: 45, или белок экзоспория может включать полноразмерный лидер *WP016117717* из *B. cereus* (SEQ ID №: 46). Метиониновый остаток, связанный с аминокислотами 20-35 лидера *WP016117717* из экзоспория *B. cereus*, также может быть использован в качестве сигнальной последовательности. Таким образом, сигнальная последовательность может включать SEQ ID №: 70.

[0061] Сигнальная последовательность может включать аминокислоты 1-43 из SEQ ID №: 47, аминокислоты 28-43 из SEQ ID №: 47, или SEQ ID №: 47, или белок экзоспория может включать полноразмерный пептид *WP002105192* из экзоспория *B. cereus* (SEQ ID №: 48).

[0062] Сигнальная последовательность может включать аминокислоты 1-32 из SEQ ID №: 49, аминокислоты 17-32 из SEQ ID №: 49, или SEQ ID №: 49, или белок экзоспория может включать полноразмерный гипотетический белок *WP87353* из *B. cereus* (SEQ ID №: 50).

[0063] В альтернативном варианте сигнальная последовательность может включать аминокислоты 1-33 из SEQ ID №: 51, аминокислоты 18-33 из SEQ ID №: 51, или SEQ ID №: 51, или белок экзоспория может включать полноразмерный пептид *02112369* из экзоспория *B. cereus* (SEQ ID №: 52).

[0064] Сигнальная последовательность может включать аминокислоты 1-33 из SEQ ID №: 53, аминокислоты 18-33 из SEQ ID №: 53, или SEQ ID №: 53, или белок экзоспория

может включать полноразмерный белок WP016099770 из экзоспория *B. cereus* (SEQ ID №: 54).

[0065] В альтернативном варианте сигнальная последовательность может включать аминокислоты 1-30 из SEQ ID №: 55, аминокислоты 15-30 из SEQ ID №: 55, или SEQ ID №: 55, или белок экзоспория может включать полноразмерный гипотетический белок YP006612525 из *B. thuringiensis* (SEQ ID №: 56).

[0066] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислоты 1-130 из SEQ ID №: 57, аминокислоты 115-130 из SEQ ID №: 57, или SEQ ID №: 57, или белок экзоспория может включать полноразмерный гипотетический белок TIGR03720 из *B. mycoides* (SEQ ID №: 58).

[0067] Кроме того, как легко можно понять из выравнивания последовательностей на Фигуре 1, в то время как аминокислоты 20-35 из Vc1A являются консервативными, и аминокислоты 25-35 являются более консервативными, в этой области может возникать некоторый уровень вариации, не влияя на способность сигнальной последовательности транспортировать белок в экзоспорий. В Фигуре 1 перечислены проценты идентичности каждой из соответствующих аминокислот каждой последовательности с аминокислотами 20-35 из Vc1A («20-35% идентичности») и с аминокислотами 25-35 на Vc1A («25-35% идентичности»). Так, например, по сравнению с аминокислотами 20-35 из Vc1A, соответствующие аминокислоты из BetA/BAS3290 идентичны на около 81,3%, соответствующие аминокислоты из BAS4623 идентичны на около 50,0%, соответствующие аминокислоты из Vc1B идентичны на около 43,8%, соответствующие аминокислоты из BAS1882 идентичны на около 62,5%, соответствующие аминокислоты генетического продукта KBAВ4 2280 идентичны на около 81,3% и соответствующие аминокислоты генетического продукта KBAВ4 3572 идентичны на около 81,3%. Идентичности для остальных последовательностей этой области перечислены на Фигуре 1.

[0068] В отношении аминокислот 25-35 из Vc1A, соответствующие аминокислоты из BetA/BAS3290 идентичны на около 90,9%, соответствующие аминокислоты из BAS4623 идентичны на около 72,7%, соответствующие аминокислоты из Vc1B идентичны на около 54,5%, соответствующие аминокислоты из BAS1882 идентичны на около 72,7%, соответствующие аминокислоты генетического продукта KBAВ4 2280 идентичны на около 90,9% и соответствующие аминокислоты генетического продукта KBAВ4 3572 идентичны на около 81,8%. Идентичности для остальных последовательностей этой области перечислены на Фигуре 1.

[0069] Таким образом, сигнальная последовательность может включать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 43% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 54%. В альтернативном варианте сигнальная последовательность состоит из аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющей по меньшей мере около 43% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 54%.

[0070] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 50% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 63%. В альтернативном варианте сигнальная последовательность состоит из аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющей по меньшей мере около 50% идентичности с аминокислотами

20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 63%.

5 [0071] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 50% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 72%. В альтернативном варианте сигнальная последовательность состоит из аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющей по меньшей мере около 50% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по

10 меньшей мере около 72%. [0072] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 56% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 63%. В альтернативном варианте сигнальная

15 последовательность состоит из аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющей по меньшей мере около 56% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 63%. [0073] В альтернативном варианте сигнальная последовательность может включать

20 аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 62% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 72%. Сигнальная последовательность может также состоять из аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющей по меньшей мере около 62% идентичности с

25 аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 из SEQ ID №: 1 составляет по меньшей мере около 72%. [0074] Сигнальная последовательность может включать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 68% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по

30 меньшей мере около 81%. В альтернативном варианте сигнальная последовательность состоит из аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющей по меньшей мере 68% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 81%. [0075] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислотную

35 последовательность, имеющую по меньшей мере около 75% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 72%. В альтернативном варианте сигнальная последовательность состоит из аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющей по меньшей мере около 75% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 из SEQ ID №: 1

составляет по меньшей мере около 81%.

[0077] Сигнальная последовательность может также содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 81% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 81%. В альтернативном варианте сигнальная последовательность состоит из аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющей по меньшей мере около 81% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 81%.

[0078] Сигнальная последовательность может включать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 81% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 90%. В альтернативном варианте сигнальная последовательность состоит из аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющей по меньшей мере около 81% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 90%.

[0079] Специалисту в данной области техники будет понятно, что варианты указанных последовательностей могут быть также использованы в качестве сигнальных последовательностей при условии, что данная сигнальная последовательность содержит аминокислоты 20-35 из BclA, соответствующие аминокислоты из BetA/BAS3290, BAS4263, BclB, BAS1882, генетического продукта KBAВ4 2280 или генетического продукта KBAВ 3572, или имеется последовательность, содержащая любую из вышеуказанных идентичностей с аминокислотами 20-35 и 25-35 из BclA.

[0080] Дополнительно было обнаружено, что некоторые белки представителей семейства *Bacillus cereus*, которые не имеют области, гомологичной к аминокислотам 25-35 из BclA, также могут быть использованы для транспортировки пептида или белка в экзоспорий представителя семейства *Bacillus cereus*. В частности, гибридные белки могут содержать белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 71 (*B. mycoides* InhA), белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 72 (*B. anthracis* Sterne BAS1141 (ExsY)), белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 73 (*B. anthracis* Sterne BAS1144 (BxpB/ExsFA)), белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 74 (*B. anthracis* Sterne BAS1145 (Coty)), белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 75 (*B. anthracis* Sterne BAS1140), белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 76 (*B. anthracis* H9401 ExsFB), белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 77 (*B. thuringiensis* HD74 InhA1), белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 78 (*B. cereus* ATCC 10876 ExsJ), белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 79 (*B. cereus* ExsH), белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 80 (*B. anthracis* Ames YjcA), белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 81 (*B. anthracis* YjcB), белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 82 (*B. anthracis* Sterne BclC), белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 83 (*Bacillus thuringiensis* к. т.п.97-27 кислой фосфатазы) или белок экзоспория, содержащий SEQ ID №: 84. (*B. thuringiensis* HD74 InhA2). Включение белка экзоспория, содержащего SEQ ID №: 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83 или 84, в гибридные белки, описанные в данном документе, приведет к направлению в экзоспорий представителя семейства *B. cereus*.

[0081] Кроме того, белки экзоспория, имеющие высокую степень идентичности последовательности с любым из полноразмерных белков экзоспория, или фрагментов белка экзоспория, описанных выше, также могут быть использованы для транспортировки пептида или белка в экзоспорий представителя семейства *Bacillus*



sereus. Таким образом, гибридный белок может включать белок экзоспория, включающий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности с любой из SEQ ID №: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 59, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83 и 84. В альтернативном варианте гибридный белок может включать белок экзоспория, имеющий по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из SEQ ID №: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 59, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83 и 84.

10 [0082] В альтернативном варианте гибридный белок может включать фрагмент белка экзоспория, состоящий из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 85% идентичности с SEQ ID №: 59. В альтернативном варианте гибридный белок может включать фрагмент белка экзоспория, состоящий из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с SEQ ID №: 59.

15 [0083] В любой из сигнальных последовательностей, белках экзоспория или фрагментах белка экзоспория, описанных в данном документе, сигнальная последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория может включать аминокислотную последовательность GXT на его углеродном конце, причем X представляет собой любую аминокислоту.

20 [0084] В любой из сигнальных последовательностей, белках экзоспория или фрагментах белка экзоспория, описанных в данном документе, сигнальная последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория может содержать аланиновый остаток в положении сигнальной последовательности, соответствующем аминокислоте 20 из SEQ ID №: 1.

#### Гибридные белки

[0085] Данное изобретение относится к гибридным белкам, содержащим сигнальную последовательность, белок экзоспория, или фрагмент белка экзоспория, и по меньшей мере один белок или пептид, стимулирующий рост растения, причем белок или пептид, стимулирующий рост растения, включает пептидный гормон, негормональный пептид или фермент, участвующий в продуцировании или активации соединения, стимулирующего рост растения. Сигнальная последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория может представлять собой любую из сигнальных последовательностей, белков экзоспория или фрагментов белка экзоспория, описанных ранее в параграфе [0005].

35 [0086] Данное изобретение дополнительно относится к гибридным белкам, содержащим сигнальную последовательность, белок экзоспория, или фрагмент белка экзоспория и по меньшей мере один белок или пептид, который повышает устойчивость к стрессу в растении. Сигнальная последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория может представлять собой любую из сигнальных последовательностей, белков экзоспория или фрагментов белка экзоспория, описанных ранее в параграфе [0005].

40 [0087] Кроме того, данное изобретение относится к гибридным белкам, содержащим сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория и по меньшей мере один белок или пептид, связывающийся с растением. Сигнальная последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория может представлять собой любую из сигнальных последовательностей, белков экзоспория или фрагментов белка экзоспория, описанных ранее в параграфе [0005].

[0088] Данное изобретение также относится к гибридным белкам, содержащим сигнальную последовательность, белок экзоспория, или фрагмент белка экзоспория и по меньшей мере один белок или пептид, защищающий растение от патогена. Сигнальная последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория может представлять собой любую из сигнальных последовательностей, белков экзоспория или фрагментов белка экзоспория, описанных ранее в параграфе [0006].

[0089] Данное изобретение дополнительно относится к гибридным белкам, содержащим сигнальную последовательность, белок экзоспория, или фрагмент белка экзоспория и по меньшей мере один белок или пептид, защищающий растение от патогена. Белок или пептид, защищающий растение от патогена, включает гарпин,  $\alpha$ -эластин,  $\beta$ -эластин, системин, фенилаланин аммиак-лиазу, элиситин, дефензин, криптогеин, белок флагеллин, пептид флагеллина, бактериоцин, лизоцим, пептид лизоцима, сидерофор, нерибосомальный активный пептид, кональбумин, альбумин, лактоферрин, пептид лактоферрина или TasA. В альтернативном варианте белок или пептид, защищающий растение от патогена, обладает инсектицидной активностью, антигельминтной активностью, подавляет хищничество насекомых или червей, или их комбинацию. В альтернативном варианте белок, защищающий растение от патогена, включает фермент. Сигнальная последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория может представлять собой любую из сигнальных последовательностей, белков экзоспория или фрагментов белка экзоспория, описанных ранее в параграфе [0005].

[0090] Гибридный белок может быть получен с использованием стандартных способов клонирования и молекулярной биологии, известных в данной области техники. Например, ген, кодирующий белок или пептид (например, ген, кодирующий белок или пептид, стимулирующий рост растения) может быть амплифицирован с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и лигирован с кодирующей ДНК для любой из сигнальных последовательностей, описанных выше, с целью сформировать молекулу ДНК, которая кодирует гибридный белок. Молекула ДНК кодирующая гибридный белок, может быть клонирована в виде любого подходящего вектора, например, плазмидного вектора. В подходящем варианте вектор содержит сайт множественного клонирования, в который может быть легко вставлена молекула ДНК, кодирующая гибридный белок. В подходящем варианте вектор также содержит селективный маркер, например, ген резистентности к антибиотику, таким образом, что трансформированные, трансфицированные или соединенные с вектором бактерии могут быть легко идентифицированы и выделены. В случае, когда вектор представляет собой плазмиду, в подходящем варианте плазмиды также содержит точку начала репликации. В подходящем варианте ДНК, кодирующая гибридный белок, находится под контролем промотора споруляции, который будет вызывать экспрессию гибридного белка на экзоспории эндоспоры представителя семейства *B. cereus* (например, нативный промотор *VcIA* представителя семейства *B. cereus*). В альтернативном варианте ДНК, кодирующая гибридный белок, может быть интегрирована в хромосомную ДНК представителя семейства *B. cereus*.

[0091] Гибридный белок может также содержать дополнительные последовательности полипептидов, которые не являются частью сигнальной последовательности, белка экзоспория, фрагмента белка экзоспория или белка или пептида, стимулирующего рост растений, белка или пептида, защищающего растение от патогенов, белка или пептида который повышает устойчивость к стрессу в растении, или белка или пептида, который связывается с растением. Например, гибридный белок может включать метки или

маркеры с целью облегчить очистку или визуализацию гибридного белка (например, полигистидиновую метку или флуоресцентный белок, такой как GFP или YFP) или визуализации спор рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующих гибридный белок.

5 [0092] Экспрессия гибридных белков на экзоспориях с использованием сигнальных последовательностей, белков экзоспория и фрагментов белка экзоспория, описанных в данном документе, усиливается из-за отсутствия вторичной структуры в amino-конце этих последовательностей, что позволяет сохранить нативную структуру и активность гибридных белков. Правильность формы может быть дополнительно усилена  
10 включением короткого аминокислотного линкера между сигнальной последовательностью, белком экзоспория, фрагментом белка экзоспория и белком-партнером слияния.

[0093] Таким образом, любой из гибридных белков, описанных в данном документе, может включать аминокислотный линкер между сигнальной последовательностью,  
15 белком экзоспория или фрагментом белка экзоспория и белком или пептидом, стимулирующим рост растения, белком или пептидом, защищающим растение от патогена, белком или пептидом, повышающим устойчивость к стрессу в растении, или белком или пептидом, связывающимся с растением.

[0094] Линкер может включать полиаланиновый линкер или полиглициновый линкер.  
20 Также может быть использован линкер, содержащий смесь обоих - аланинового и глицинового остатков. Например, если сигнальная последовательность содержит SEQ ID №: 1, гибридный белок может иметь одну из следующих структур:

Линкер отсутствует: SEQ ID №: 1 - белок-партнер слияния

Аланиновый линкер: SEQ ID №: 1-A<sub>n</sub>-белок-партнер слияния

25 Глициновый линкер: SEQ ID №: 1-G<sub>n</sub>-белок-партнер слияния

Смесь аланинового и глицинового линкеров: SEQ ID №: 1-(A/G)<sub>n</sub>-белок-партнер слияния

где A<sub>n</sub>, G<sub>n</sub>, и (A/G) представляют собой аланины в любом количестве, глицины в  
30 любом количестве или смесь аланинов и глицинов в любом количестве, соответственно. Например, n может составлять от 1 до 25, и предпочтительно от 6 до 10. Если линкер содержит смесь аланиновых и глициновых остатков, может быть использована любая комбинация глицина и аланина. В приведенных выше структурах «белок-партнер слияния» представляет собой белок или пептид, стимулирующий рост растения, белок  
35 или пептид, защищающий растение от патогена, белок или пептид, повышающий устойчивость к стрессу в растении, или белок или пептид, связывающийся с растением.

[0095] В альтернативном варианте или в дополнение, линкер может включать сайт распознавания протеазой. Включение сайта распознавания протеазой позволяет целевое удаление под воздействием протеазы, которая распознает сайт распознавания протеазой,  
40 в белке или пептиде, стимулирующем рост растения, белке или пептиде, защищающем растение от патогена, белке или пептиде, повышающем устойчивость к стрессу в растении, или белке или пептиде, связывающемся с растением.

Белки и пептиды, стимулирующие рост растения

[0096] Как отмечено выше, данное изобретение относится к гибридным белкам,  
45 содержащим сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория и по меньшей мере один белок или пептид, стимулирующий рост растения, причем белок или пептид, стимулирующий рост растения, включает пептидный гормон, негормональный пептид или фермент, участвующий в продуцировании или активации

соединения, стимулирующего рост растения.

[0097] Например, если белок или пептид, стимулирующий рост растения, содержит пептидный гормон, этот пептидный гормон может включать фитосульфокин (например, фитосульфокин- $\alpha$ ), *clavata 3 (CLV3)*, системин, *ZmlGF* или *SCR/SP11*.

5 [0098] Если белок или пептид, стимулирующий рост растения, содержит негормональный пептид, этот негормональный пептид может включать *RKN 16D10*, *Hg-Syv46*, *eNOD40* пептид, мелиттин, мастопаран, *Mas7*, *RHPP*, *POLARIS* или ингибитор трипсина Кунитца (ИТК).

[0099] Белок или пептид, стимулирующий рост растения, может включать фермент, 10 участвующий в образовании или активации соединения, стимулирующего рост растения. Фермент, участвующий в образовании или активации соединения, стимулирующего рост растения, может представлять собой любой фермент, который катализирует любой этап пути биосинтеза соединения, которое стимулирует рост растения или изменяет структуру растения, или любой фермент, который катализирует переход неактивного 15 или менее активного производного соединения, которое стимулирует рост растения или изменяет структуру растения, в активную или более активную форму соединения.

[00100] Соединение, которое стимулирует рост растения, может включать соединение, производимое бактериями или грибами в ризосфере, например, 2,3-бутандиол.

[00101] В альтернативном варианте соединения, которое стимулирует рост растения, 20 может включать гормон роста растений, например, цитокинин или производное цитокинина, этилен, ауксин или производное ауксина, гибберелловую кислоту или ее производное гибберелловой кислоты, абсцизовую кислоту или производное абсцизовой кислоты, жасминовую кислоту или производное жасминовой кислоты.

[00102] Если соединение, стимулирующее рост растений, включает цитокинин или 25 производную цитокинина, цитокинин или производное цитокинина может включать кинетин, цис-зеатин, транс-зеатин, 6-бензиламинопурин, дигидроксизеатин, N6-(D2-изопентенил) аденин, рибозилзеатин, N6-(D2-изопентенил) аденозин, 2-метилтио-цис-рибозилзеатин, цис-рибозилзеатин, транс-рибозилзеатин, 2-метилтио-транс-рибозилзеатин, рибозилзеатин-5-монофосфат, N6-метиламинопурин, N6- 30 диметиламинопурин, 2'-дезоксизеатин рибозид, 4-гидрокси-3-метил-транс-2-бутениламинопурин, орто-тополин, мета-тополин, бензиладенин, орто-метилтополин, мета-метилтополин или их комбинацию.

[00103] Если соединение, стимулирующие рост растения, содержит ауксин или производное ауксина, ауксин или производное ауксина может включать активный 35 ауксин, неактивный ауксин, конъюгированный ауксин, природный ауксин, синтетический ауксин или их комбинацию. Например, ауксин или производное ауксина может включать индол-3-ацетальдоксим, индол-3-ацетамид, индол-3-ацетонитрил, индол-3-этанол, индол-3-пируват, индол-3-ацетальдоксим, индол-3-масляную кислоту, фенилуксусную кислоту, 4-хлориндол-3-уксусную кислоту, ауксин, конъюгированный с глюкозой, или 40 их комбинацию.

[00104] Фермент, участвующий в образовании или активации соединения, которое стимулирует рост растения, может включать ацетоинредуктазу, индол-3-ацетамидгидролазу, триптофанмонооксигеназу, ацетолактатсинтетазу,  $\alpha$ -ацетолактатдекарбоксилазу, пируватдекарбоксилазу, диацетилредуктазу, 45 бутандиолдегидрогеназу, аминотрансферазу, триптофандекарбоксилазу, аминоксидазу, индол-3-пируватдекарбоксилазу, индол-3-ацетальдегид-дегидрогеназу, триптофан боковой цепи-оксидазу, нитрилгидролазу, нитрилазу, пептидазу, протеазу, аденозинфосфат-изопентилтрансферазу, фосфатазу, аденозинкиназу, аденин-

фосфорибозилтрансферазу, СУР735А, 5'-рибонуклеотид-фосфогидролазу, аденозин-нуклеозидазу, зеатин-цис-транс-изомеразу, зеатин-О-глюкозилтрансферазу, β-глюкозидазу, цис-гидроксилазу, ЦК-цис-гидроксилазу, ЦК-N-глюкозилтрансферазу, 2,5-рибонуклеотид-фосфогидролазу, аденозин-нуклеозидазу, пурин-нуклеозидфосфорилазу, зеатинредуктазу, гидроксиламинредуктазу, 2-оксоглутаратдиоксигеназу, гибберелловую-2В/3В-гидролазу, гиббереллин-3-оксидазу, гиббереллин-20-оксидазу, хитозиназу, хитиназу, β-1,3-глюканазу, β-1,4-глюканазу, β-1,6-глюканазу, аминоклопропан-1-карбоновой кислоты-деаминазу или фермент, участвующий в продуцировании nod-факторов (например, NodA, nodB или NodI).

10 [00105] Если фермент включает протеазу или пептидазу, эта протеаза или пептидаза может представлять собой протеазу или пептидазу, которая расщепляет белки, пептиды, пробелки или препробелки для получения биологически активного пептида.

Биологически активный пептид может представлять собой любой пептид, который проявляет биологическую активность.

15 [00106] Примеры биологически активных пептидов включают RKN 16D10 и RHPP.

[00107] Протеаза или пептидаза, которая расщепляет белки, пептиды, пробелки или препробелки для получения биологически активного пептида, может включать субтилизин, кислую протеазу, щелочную протеазу, протеиназу, эндопептидазу, экзопептидазу, термолизин, папаин, пепсин, трипсин, проназу, карбоксилазу, сериновую протеазу, глутаминовую протеазу, аспартатную протеазу, цистеиновую протеазу, треониновую протеазу или металлопротеазу.

[00108] Протеазы или пептидазы могут расщеплять белки в пище, богатой белком (например, соевый шрот или дрожжевой экстракт).

Белки и пептиды, которые защищают растения от патогенов

25 [00109] Данное изобретение относится к гибридным белкам, содержащим сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория и по меньшей мере один белок или пептид, защищающий растение от патогена.

[00110] Белок или пептид, защищающий растение от патогена, может включать белок или пептид, который стимулирует иммунный ответ растения. Например, белок или пептид, который стимулирует иммунную реакцию растения, может включать белок или пептид, усиливающий иммунную систему растения. Белок или пептид, который усиливает иммунную систему растения, может представлять собой любой белок или пептид, который оказывает благоприятное воздействие на иммунную систему растения. Подходящие белки или пептиды, которые усиливают иммунную систему растения, 35 включают гарпины, α-эластины, β-эластины, системины, фенилаланин аммиак-лиазу, элиситины, дефензины, криптогеины, белки флагеллины и пептиды флагеллина (например, flg22).

[00111] В альтернативном варианте белок или пептид, защищающий растение от патогена, может представлять собой белок или пептид, который обладает 40 антибактериальной активностью, противогрибковой активностью, или обеими - антибактериальной и противогрибковой активностью. Примеры таких белков и пептидов включают бактериоцины, лизоцимы, пептиды лизоцима (например, LysM), сидерофоры, нерибосомальные активные пептиды, кональбумины, альбумины, лактоферрины, пептиды лактоферрина (например, LfcinB) и TasA.

45 [00112] Белок или пептид, защищающий растение от патогена, может также представлять собой белок или пептид, который обладает инсектицидной активностью, антигельминтной активностью, подавляет хищничество насекомых или червей, или обладает их комбинацией. Например, белок или пептид, защищающий растение от

патогена, может включать инсектицидный бактериальный токсин (например, инсектицидный белок VIP), эндотоксин, Cry токсин (например, Cry токсин из *Bacillus thuringiensis*), белок или пептид ингибитор протеазы (например, ингибитор трипсина или стреловидный ингибитор протеазы), цистеиновую протеазу или хитиназу. Если Cry токсин представляет собой Cry токсин из *Bacillus thuringiensis*, Cry токсин может представлять собой белок Cry5B или белок Cry21A. Оба Cry5B и Cry21A обладают инсектицидной и нематоцидной активностью.

[00113] Белок, защищающий растение от патогена, может включать фермент. Подходящие ферменты включают протеазы и лактоназы. В протеазы и лактоназы могут быть специфичным для бактериальной сигнальной молекулы (например, бактериальную сигнальную молекулу гомосеринового лактона).

[00114] Если фермент представляет собой лактоназу, такая лактоназа может включать 1,4-лактоназу, 2-пирон-4,6-дикарбоксилат-лактоназу, 3-оксоадипат-енол-лактоназу, актиномицин-лактоназу, дезоксилимонат-А-кольцевую-лактоназу, глюконолактоназу, L-рамноно-1,4-лактоназу, лимонин-D-кольцевую-лактоназу, стероид-лактоназу, триацетат-лактоназу или ксилоно- 1,4-лактоназу.

[00115] Фермент также может представлять собой фермент, который является специфичным для клеточного компонента бактерий или грибов. Например, фермент может включать  $\beta$ -1,3-глюканазу,  $\beta$ -1,4-глюканазу,  $\beta$ -1,6-глюканазу, хитозиназу, хитиназу, хитозиназоподобный фермент, литиказу, пептидазу, протеиназу, протеазу (например, щелочную протеазу, кислую протеазу или нейтральную протеазу), мутанолизин, стафолизин или лизоцим.

[00116] Для любого из вышеуказанных гибридных белков, содержащих белок или пептид, защищающий растение от патогена, патоген может представлять собой бактериальный патоген или грибковый патоген. Например, патоген может включать протеобактерию  $\alpha$ -класса, протеобактерию  $\beta$ -класса, протеобактерию  $\gamma$ -класса или их комбинацию. Конкретные бактериальные патогены включают *Agrobacterium tumefaciens*, *Pantoea stewartii*, *Erwinia carotovora*, *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Xanthomonas campestris* и их комбинации.

[00117] Другие бактериальные и грибковые патогены включают *Acarosporina microspora*, *Aceria guerreronis*, *Achlya conspicua*, *Achlya klebsiana*, *Achlysiella williamsi*, *Acholeplasmataceae*, *Acidovorax avenae*, *Acremonium strictum*, *Acroclymna medicaginis*, *Acrodontium simplex*, *Acrophialophora fuispora*, *Acrosporium tingitaninum*, *Aecidium*, *Aecidium aechmantherae*, *Aecidium amaryllidis*, *Aecidium breyniae*, *Aecidium campanulastris*, *Aecidium cannabidis*, *Aecidium cantensis*, *Aecidium caspicum*, *Aecidium foeniculi*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Albonectria rigidiuscula*, *Albugo bliti*, *Albugo candida*, *Albugo ipomoeae-panduratae*, *Albugo laibachii*, *Albugo occidentalis*, *Albugo tragopogonis*, *Alternaria*, *Alternaria alternata*, *Alternaria brassicae*, *Alternaria brassicicola*, *Alternaria carthami*, *Alternaria cinerariae*, *Alternaria citri*, *Alternaria dauci*, *Alternaria dianthi*, *Alternaria dianthicola*, *Alternaria euphorbiicola*, *Alternaria helianthi*, *Alternaria helianthicola*, *Alternaria japonica*, *Alternaria leucanthemi*, *Alternaria limicola*, *Alternaria linicola*, *Alternaria mali*, *Alternaria padwickii*, *Alternaria panax*, *Alternaria radicina*, *Alternaria raphani*, *Alternaria saponariae*, *Alternaria senecionis*, *Alternaria solani*, *Alternaria tenuissima*, *Alternaria triticina*, *Alternaria zinniae*, *Amazonia*, *Amphobotrys ricini*, *Anguillosporella vermiformis*, *Anguina* (род), *Anguina agrostis*, *Anguina amsinckiae*, *Anguina australis*, *Anguina balsamophila*, *Anguina funesta*, *Anguina graminis*, *Anguina spermophaga*, *Anguina tritici*, *Anisogramma anomala*, *Anthostomella pullulans*, *Antrodia albida*, *Antrodia serialiformis*, *Antrodia serialis*, *Aphanomyces cladogamus*, *Aphanomyces cochlioides*, *Aphanomyces euteiches*, *Aphanomyces euteiches* f. sp.pisi, *Aphanomyces raphani*, *Aphelenchoides*, *Aphelenchoides*

arachidis, *Aphelenchoides besseyi*, *Aphelenchoides fragariae*, *Aphelenchoides parietinus*,  
*Aphelenchoides ritzemabosi*, *Aphelenchus avenae*, *Apiognomonia errabunda*, *Apiognomonia*  
*veneta*, *Apiospora montagnei*, *Appendiculella*, *Armillaria*, *Armillaria affinis*, *Armillaria apalosclera*,  
*Armillaria camerunensis*, *Armillaria duplicate*, *Armillaria fellea*, *Armillaria fumosa*, *Armillaria*  
 5 *fuscipes*, *Armillaria griseomellea*, *Armillaria heimii*, *Armillaria mellea*, *Armillaria melleorubens*,  
*Armillaria montagnei*, *Armillaria omnituens*, *Armillaria pallidula*, *Armillaria paulensis*, *Armillaria*  
*pelliculata*, *Armillaria procera*, *Armillaria puiggarii*, *Armillaria singular*, *Armillaria socialis*,  
*Armillaria solidipes*, *Armillaria tabescens*, *Armillaria tigrensis*, *Armillaria umbrinobrunnea*,  
*Armillaria viridiflava*, *Armillaria yungensis*, *Arthrocladiella*, *Arthuriomyces peckianus*, *Ascochyta*  
 10 *asparagine*, *Ascochyta bohemica*, *Ascochyta caricae*, *Ascochyta doronici*, *Ascochyta fabae* f.  
*sp.lentis*, *Ascochyta graminea*, *Ascochyta hordei*, *Ascochyta humuli*, *Ascochyta pisi*, *Ascochyta*  
*prasadii*, *Ascochyta sorghi*, *Ascochyta spinaciae*, *Ascochyta tarda*, *Ascochyta tritici*, *Ascospora*  
*ruborum*, *Ashbya gossypii*, *Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus fischerianus*, *Aspergillus niger*,  
*Asperisporium caricae*, *Asperisporium minutulum*, *Asteridiella*, *Asteridiella perseae*, *Asteroma*  
 15 *caryae*, *Asteroma coryli*, *Asteroma inconspicuum*, *Athelia arachnoidea*, *Athelia rolfsii*, *Aurantiporus*  
*fissilis*, *Belonolaimus*, *Belonolaimus gracilis*, *Belonolaimus longicaudatus*, *Beniowskia sphaeroidea*,  
*Bionectria ochroleuca*, *Bipolaris*, *Bipolaris cactivora*, *Bipolaris cookie*, *Bipolaris incurvata*,  
*Bipolaris sacchari*, *Biscogniauxia capnodes* var. *capnodes*, *Biscogniauxia marginata*, *Biscogniauxia*  
*nummularia*, *Bjerkandera adusta*, *Blakeslea trispora*, *Blumeria graminis*, *Botryodiplodia oncidii*,  
 20 *Botryodiplodia ulmicola*, *Botryosphaeria cocogena*, *Botryosphaeria corticola*, *Botryosphaeria*  
*disrupta*, *Botryosphaeria dothidea*, *Botryosphaeria marconii*, *Botryosphaeria obtuse*, *Botryosphaeria*  
*quercuum*, *Botryosphaeria rhodina*, *Botryosphaeria ribis*, *Botryosphaeria stevensii*, *Botryosporium*  
*pulchrum*, *Botryotinia*, *Botryotinia fuckeliana*, *Botrytis anthophila*, *Botrytis cinerea*, *Botrytis*  
*fabae*, *Bremia lactucae*, *Brenneria salicis*, *Briosia ampelophaga*, *Bulbomicrosphaera*, *Burkholderia*  
 25 *andropogonis*, *Burkholderia caryophylli*, *Burkholderia glumae*, *Cadophora malorum*, *Caesporium*  
*Calonectria indusiata*, *Calonectria kyotensis*, *Calonectria quinqueseptata*, *Calvatia versispora*,  
*Camarosporium pistaciae*, *Camarotella acrocomiae*, *Camarotella costaricensis*, *Candidatus*  
*Liberibacter*, *Capitorostrum cocoes*, *Capnodium footii*, *Capnodium mangiferum*, *Capnodium*  
*ramosum*, *Capnodium theae*, *Caulimoviridae*, *Cephaleuros virescens*, *Cephalosporium gramineum*,  
 30 *Ceratobasidium cereal*, *Ceratobasidium cornigerum*, *Ceratobasidium noxium*, *Ceratobasidium*  
*ramicola*, *Ceratobasidium setariae*, *Ceratobasidium stevensii*, *Ceratocystis adiposa*, *Ceratocystis*  
*coerulescens*, *Ceratocystis fimbriata*, *Ceratocystis moniliformis*, *Ceratocystis paradoxa*, *Ceratocystis*  
*pilifera*, *Ceratocystis pluriannulata*, *Ceratorhiza hydrophila*, *Ceratospermopsis*, *Cercoseptoria*  
 35 *ocellata*, *Cercospora*, *Cercospora angreci*, *Cercospora apii*, *Cercospora apii* f. *sp. clerodendri*,  
*Cercospora apiicola*, *Cercospora arachidicola*, *Cercospora asparagi*, *Cercospora atrofiliiformis*,  
*Cercospora beticola*, *Cercospora brachypus*, *Cercospora brassicicola*, *Cercospora brunckii*,  
*Cercospora cannabis*, *Cercospora cantuariensis*, *Cercospora capsici*, *Cercospora carotae*, *Cercospora*  
*corylina*, *Cercospora fragariae*, *Cercospora fuchsiae*, *Cercospora fusca*, *Cercospora fusimaculans*,  
*Cercospora gerberae*, *Cercospora halstedii*, *Cercospora handelii*, *Cercospora hayi*, *Cercospora*  
 40 *hydrangea*, *Cercospora kikuchii*, *Cercospora lentis*, *Cercospora liquidambaris*, *Cercospora longipes*,  
*Cercospora longissima*, *Cercospora mamaonis*, *Cercospora mangiferae*, *Cercospora medicaginis*,  
*Cercospora melongenae*, *Cercospora minima*, *Cercospora minuta*, *Cercospora nicotianae*,  
*Cercospora odontoglossi*, *Cercospora papaya*, *Cercospora penniseti*, *Cercospora pisa-sativae*,  
*Cercospora platanicola*, *Cercospora puderii*, *Cercospora pulcherrima*, *Cercospora rhapidicola*,  
 45 *Cercospora rosicola*, *Cercospora rubrotincta*, *Cercospora sojina*, *Cercospora solani*, *Cercospora*  
*solani-tuberosi*, *Cercospora sorghi*, *Cercospora theae*, *Cercospora tuberculans*, *Cercospora vexans*,  
*Cercospora vicosae*, *Cercospora zae-maydis*, *Cercospora zebrina*, *Cercospora zonata*, *Cercosporella*  
*rubi*, *Cereal cyst nematode*, *Ceriporia spissa*, *Ceriporia xylostromatoides*, *Cerrena unicolor*,

Ceuthospora lauri, Choanephora, Choanephora cucurbitarum, Choanephora infundibulifera,  
 Chondrostereum purpureum, Chrysomyxa ledi var. rhododendri, Chrysomyxa ledicola, Chrysomyxa  
 piperiana, Chrysomyxa roanensis, Cladosporium, Cladosporium arthropodii, Cladosporium  
 caryigenum, Cladosporium cladosporioides, Cladosporium cladosporioides f. sp.pisicola,  
 5 Cladosporium cucumerinum, Cladosporium herbarum, Cladosporium musae, Cladosporium  
 oncobae, Clavibacter michiganensis, Claviceps fusiformis, Claviceps purpurea, Claviceps sorghi,  
 Claviceps zizaniae, Climacodon pulcherrimus, Climacodon septentrionalis, Clitocybe parasitica,  
 Clonostachys rosea f. rosea, Clypeoporthe iliaui, Cochliobolus, Cochliobolus carbonum,  
 Cochliobolus cymbopogonis, Cochliobolus hawaiiensis, Cochliobolus heterostrophus, Cochliobolus  
 10 lunatus, Cochliobolus miyabeanus, Cochliobolus ravenelii, Cochliobolus sativus, Cochliobolus  
 setariae, Cochliobolus spicifer, Cochliobolus stenospilus, Cochliobolus tuberculatus, Cochliobolus  
 victoriae, Coleosporium helianthi, Coleosporium ipomoeae, Coleosporium madaiae, Coleosporium  
 pacificum, Coleosporium tussilaginis, Colletotrichum acutatum, Colletotrichum arachidis,  
 Colletotrichum capsici, Colletotrichum cereale, Colletotrichum crassipes, Colletotrichum dematium,  
 15 Colletotrichum dematium f. spinaciae, Colletotrichum derridis, Colletotrichum destructivum,  
 Colletotrichum fragariae, Colletotrichum gossypii, Colletotrichum higginsianum, Colletotrichum  
 kahawae, Colletotrichum lindemuthianum, Colletotrichum lini, Colletotrichum mangelotii,  
 Colletotrichum musae, Colletotrichum nigrum, Colletotrichum orbiculare, Colletotrichum pisi,  
 Colletotrichum sublineolum, Colletotrichum trichellum, Colletotrichum trifolii, Colletotrichum  
 20 truncatum, Coniella castaneicola, Coniella diplodiella, Coniella fragariae, Coniothecium  
 chomatosporum, Coniothyrium celtidis-australis, Coniothyrium henriquesii, Coniothyrium rosarum,  
 Coniothyrium wernsdorffiae, Coprinopsis psychromorbida, Cordana johnstonii, Cordana musae,  
 Corioloopsis floccose, Corioloopsis gallica, Corticium invisum, Corticium penicillatum, Corticium  
 theae, Coryneopsis rubi, Corynespora cassiicola, Coryneum rhododendri, Crinipellis sarmentosa,  
 25 Cronartium ribicola, Cryphonectriaceae, Cryptocline cyclaminis, Cryptomeliola, Cryptoporus  
 volvatus, Cryptosporella umbrina, Cryptosporiopsis tarraconensis, Cryptosporium minimum,  
 Curvularia caricae-papayae, Curvularia penniseti, Curvularia senegalensis, Curvularia trifolii,  
 Cylindrocarpon candidum, Cylindrocarpon ianthothele var. ianthothele, Cylindrocarpon  
 magnusianum, Cylindrocarpon musae, Cylindrocladiella camelliae, Cylindrocladiella parva,  
 30 Cylindrocladium clavatum, Cylindrocladium lanceolatum, Cylindrocladium peruvianum,  
 Cylindrocladium pteridis, Cylindrosporium cannabinum, Cylindrosporium juglandis,  
 Cylindrosporium rubi, Cymadothea trifolii, Cytospora, Cytospora palmarum, Cytospora personata,  
 Cytospora platani, Cytospora sacchari, Cytospora sacculus, Cytospora terebinthi, Cytosporina  
 ludibunda, Dactuliophora elongata, Daedaleopsis confragosa, Dasineura urticae, Datronia scutellata,  
 35 Davidiella carinthiaca, Davidiella dianthi, Davidiella tassiana, Deightoniella papuana, Deightoniella  
 torulosa, Dendrophoma marconii, Dendrophoma erumpens, Denticularia mangiferae, Dermea  
 pseudotsugae, Diaporthaceae, Diaporthe, Diaporthe arctii, Diaporthe citri, Diaporthe dulcamarae,  
 Diaporthe eres, Diaporthe helianthi, Diaporthe lagunensis, Diaporthe lokoyae, Diaporthe melonis,  
 Diaporthe orthoceras, Diaporthe pernicioza, Diaporthe phaseolorum, Diaporthe phaseolorum var.  
 40 caulivora, Diaporthe phaseolorum var. phaseolorum, Diaporthe phaseolorum var. sojiae, Diaporthe  
 rudis, Diaporthe tanakae, Diaporthe toxica, Dibotryon morbosum, Dicarpea dryina, Didymella  
 bryoniae, Didymella fabae, Didymella lycopersici, Didymosphaeria arachidicola, Didymosphaeria  
 taiwanensis, Dilophospora alopecuri, Dimeriella sacchari, Diplocarpon earlianum, Diplocarpon  
 mali, Diplocarpon mespili, Diplocarpon rosae, Diplodia laelio-cattleyae, Diplodia manihoti,  
 45 Diplodia paraphysaria, Diplodia theae-sinensis, Discosia artocreas, Guignardia fulvida, Discostroma  
 corticola, Distocercospora, Distocercospora livistonae, Ditylenchus, Ditylenchus africanus,  
 Ditylenchus angustus, Ditylenchus destructor, Ditylenchus dipsaci, Dolichodorus heterocephalus,  
 Dothideomycetes, Dothiorella aromatic, Dothiorella dominicana, Dothiorella gregaria, Dothiorella



ulmi, Drechslera avenacea, Drechslera campanulata, Drechslera dematioidea, Drechslera gigantea, Drechslera glycines, Drechslera musae-sapientium, Drechslera teres f. maculate, Drechslera wirreganensis, Durandiella pseudotsugae, Eballistra lineata, Eballistra oryzae, Eballistraceae,

5 Echinodontium tinctorium, Ectendomeliola, **Elsinoë** ampelina,

10 **Elsinoë** australis, **Elsinoë** batatas, **Elsinoë**

brasilienis, **Elsinoë** fawcettii, **Elsinoë** leucospila,

15

**Elsinoë** mangiferae, **Elsinoë** piri, **Elsinoë**

20

randii, **Elsinoë** rosarum, **Elsinoë** sacchari,

25

**Elsinoë** theae, **Elsinoë** veneta, Endomeliola, Endothia radicalis,

Endothiella gyrosa, Entoleuca mammata, Entorrhizomycetes, Entyloma ageratinae, Entyloma dahlia, Entyloma ellisii, Epicoccum nigrum, Ergot, Erwinia, Erwinia chrysanthemi, Erwinia psidii, Erysiphaceae, Erysiphales, Erysiphe, Erysiphe alphitoides, Erysiphe betae, Erysiphe brunneopunctata, Erysiphe cichoracearum, Erysiphe cruciferarum, Erysiphe flexuosa, Erysiphe graminis f. sp. avenae, Erysiphe graminis f. sp. tritici, Erysiphe heraclei, Erysiphe pisi, Eutypella parasitica, Eutypella scoparia, Exobasidium burtii, Exobasidium reticulatum, Exobasidium vaccina var. japonicum, Exobasidium vaccinii-uliginosi, Exobasidium vexans, Exophiala, Flavescence

35

**dorée**, Fomes fasciatus, Fomes **lamaënsis**, Fomes meliae,

40 Fomitopsis cajanderi, Fomitopsis palustris, Fomitopsis rosea, Fomitopsis spraguei, Fomitopsis supina, Forma specialis, Frommeella tormentillae, Fusarium, Fusarium affine, Fusarium arthrosporioides, Fusarium circinatum, Fusarium crookwellense, Fusarium culmorum, Fusarium graminearum, Fusarium incarnatum, Fusarium solani, Fusarium merismoides, Fusarium oxysporum f. sp. albedinis, Fusarium oxysporum f. sp. asparagi, Fusarium oxysporum f. sp. batatas, Fusarium oxysporum f. sp. betae, Fusarium oxysporum f. sp. cannabis, Fusarium oxysporum f. sp. citri, 45 Fusarium oxysporum f. sp. coffea, Fusarium oxysporum f. sp. cubense, Fusarium oxysporum f. sp. cyclaminis, Fusarium oxysporum f. sp. dianthi, Fusarium oxysporum f. sp. lentis, Fusarium oxysporum f. sp. lini, Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici, Fusarium oxysporum f. sp. medicaginis, Fusarium oxysporum f. sp. pisi, Fusarium oxysporum f. sp. radices-lycopersici, Fusarium

pallidroseum, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium redolens*, *Fusarium sacchari*, *Fusarium solani* f. sp. *pisi*, *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium subglutinans*, *Fusarium sulphureum*, *Fuscoporia torulosa*, *Fusicladium pisicola*, *Fusicoccum aesculi*, *Fusicoccum amygdali*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Gaeumannomyces graminis* var. *avenae*, *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, *Galactomyces candidum*, *Ganoderma brownii*, *Ganoderma lobatum*, *Ganoderma orbiforme*, *Ganoderma philippii*, *Ganoderma tornatum*, *Ganoderma zonatum*, *Geastrum polystigmatis*, *Geogefischeriaceae*, *Geogefischeriales*, *Geosmithia morbida*, *Geotrichum*, *Geotrichum candidum*, *Geotrichum candidum* var. *citri-aurantii*, *Geotrichum klebahnii*, *Gibberella*, *Gibberella acuminata*, *Gibberella avenacea*, *Gibberella baccata*, *Gibberella cyanogena*, *Gibberella fujikuroi*, *Gibberella fujikuroi* var. *subglutinans*, *Gibberella intricans*, *Gibberella pulicaris*, *Gibberella stilboides*, *Gibberella xylarioides*, *Gibberella zae*, *Gibellina cerealis*, *Gilbertella persicaria*, *Gjaerumiaceae*, *Gliocladium vermoeseni*, *Globodera pallida*, *Globodera rostochiensis*, *Globodera tabacum*, *Gloeocercospora sorghi*, *Gloeocystidiellum porosum*, *Gloeophyllum mexicanum*, *Gloeophyllum trabeum*, *Gloeoporus dichrous*, *Gloeosporium cattleiae*, *Gloeosporium theae-sinensis*, *Glomerella cingulate*, *Glomerella glycines*, *Glomerella graminicola*, *Glomerella tucumanensis*, *Gnomonia caryae*, *Gnomonia comari*, *Gnomonia dispersa*, *Gnomonia iliau*, *Gnomonia leptostyla*, *Gnomonia nerviseda*, *Gnomonia rubi*, *Golovinomyces cichoracearum* var. *latisporus*, *Granulobasidium vellereum*, *Graphiola phoenicis*, *Graphium rigidum*, *Graphium rubrum*, *Graphyllum pentamerum*, *Grovesinia pyramidalis*, *Guignardia bidwellii* f. *muscadinii*, *Guignardia camelliae*, *Guignardia citricarpa*, *Guignardia mangiferae*, *Guignardia musae*, *Guignardia philoprina*, *Gummosis*, *Gymnoconia nitens*, *Gymnopus dryophilus*, *Gymnosporangium clavipes*, *Gymnosporangium sabiniae*, *Gymnosporangium globosum*, *Gymnosporangium juniperi-virginianae*, *Gymnosporangium kernianum*, *Gymnosporangium nelsonii*, *Gymnosporangium yamadae*, *Haematonectria haematococca*, *Hansenula subpelliculosa*, *Hapalosphaeria deformans*, *Haplobasidium musae*, *Haustorium*, *Helicobasidium compactum*, *Helicobasidium longisporum*, *Helicobasidium purpureum*, *Helicoma muelleri*, *Helicotylenchus*, *Helicotylenchus dihystra*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Helminthosporium cookei*, *Helminthosporium papulosum*, *Helminthosporium solani*, *Helotiales*, *Hemicriconeoides kanayaensis*, *Hemicriconeoides mangiferae*, *Hemicycliophora arenaria*, *Hemlock woolly adelgid*, *Hendersonia creberrima*, *Hendersonia theicola*, *Heridium coralloides*, *Heterobasidium annosum*, *Heterodera*, *Heterodera amygdali*, *Heterodera arenaria*, *Heterodera aucklandica*, *Heterodera avenae*, *Heterodera bergeniae*, *Heterodera bifenestra*, *Heterodera cacti*, *Heterodera cajani*, *Heterodera canadensis*, *Heterodera cardiolata*, *Heterodera carotae*, *Heterodera ciceri*, *Heterodera cruciferae*, *Heterodera delvii*, *Heterodera elachista*, *Heterodera filipjevi*, *Heterodera gambiensis*, *Heterodera goettingiana*, *Heterodera hordecalis*, *Heterodera humuli*, *Heterodera latipons*, *Heterodera medicaginis*, *Heterodera oryzae*, *Heterodera oryzicola*, *Heterodera rosii*, *Heterodera sacchari*, *Heterodera schachtii*, *Heterodera tabacum*, *Heterodera trifolii*, *Heteroderidae*, *Hexagonia hydnoidea*, *Hirschmanniella oryzae*, *Hoplalaimus galeatus*, *Hoplolaimidae*, *Hoplolaimus columbus*, *Hoplolaimus indicus*, *Hoplolaimus magnistylus*, *Hoplolaimus pararobustus*, *Hoplolaimus seinhorsti*, *Hoplolaimus uniformis*, *Huanglongbing*, *Hyaloperonospora*, *Hyaloperonospora arabidopsidis*, *Hyaloperonospora brassicae*, *Hyaloperonospora parasitica*, *Hymenula affinis*, *Hyphodermella corrugata*, *Hyphodontia aspera*, *Hyphodontia sambuci*, *Hypochnus*, *Hypoxylon tinctor*, *Idriella lunata*, *Inonotus arizonicus*, *Inonotus cuticularis*, *Inonotus dryophilus*, *Inonotus hispidus*, *Inonotus ludovicianus*, *Inonotus munzii*, *Inonotus tamaricis*, *Irenopsis*, *Irpex destruens*, *Irpex lacteus*, *Isariopsis clavispora*, *Johncouchia mangiferae*, *Kabatiella caulivora*, *Kabatiella lini*, *Karnal bunt*, *Khuskia oryzae*, *Kretzschmaria deusta*, *Kretzschmaria zonata*, *Kuehneola uredinis*, *Kutilakesa pironii*, *Labrella coryli*, *Laeticorticium roseum*, *Laetiporus baudonii*, *Lagenocystis radicola*, *Laricifomes officinalis*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Leandria momordicae*, *Leifsonia xyli xyli*, *Lentinus tigrinus*, *Lenzites*

betulina, Lenzites elegans, Lepteutypa cupressi, Leptodontidium elatius var. elatius, Leptographium  
 microsporum, Leptosphaeria acuta, Leptosphaeria cannabina, Leptosphaeria coniothyrium,  
 Leptosphaeria libanotis, Leptosphaeria lindquistii, Leptosphaeria maculans, Leptosphaeria musarum,  
 Leptosphaeria pratensis, Leptosphaeria sacchari, Leptosphaeria woroninii, Leptosphaerulina  
 5 crassiasca, Leptosphaerulina trifolii, Leptothyrium nervisedum, Leptotrochila medicaginis,  
 Leucocytospora leucostoma, Leucostoma auerswaldii, Leucostoma kunzei, Leucostoma persoonii,  
 Leveillula compositarum f. helianthi, Leveillula leguminosarum f. lentis, Leveillula taurica,  
 Ligniera pilorum, Limacinula tenuis, Linochora graminis, Longidorus africanus, Longidorus  
 maximus, Longidorus sylphus, Lopharia crassa, Lophodermium, Lophodermium aucupariae,  
 10 Lophodermium schweinitzii, Lophodermium seditiosum, Macrophoma mangiferae, Macrophoma  
 theicola, Macrophomina phaseolina, Macrosporium cocos, Magnaporthe, Magnaporthe grisea,  
 Magnaporthe salvinii, Mamianiella coryli, Marasmiellus cocophilus, Marasmiellus inoderma,  
 Marasmiellus scandens, Marasmiellus stenophyllus, Marasmius crinisequi, Marasmius sacchari,  
 Marasmius semiustus, Marasmius stenophyllus, Marasmius tenuissimus, Massarina walkeri,  
 15 Mauginiella scaettae, Melampsora, Melampsora lini var. lini, Melampsora medusae, Melampsora  
 occidentalis, Melanconis carthusiana, Melanconium juglandinum, Meliola, Meliola mangiferae,  
 Meliolaceae, Meloidogyne acronea, Meloidogyne arenaria, Meloidogyne artiellia, Meloidogyne  
 brevicauda, Meloidogyne chitwoodi, Meloidogyne enterolobii, Meloidogyne fruglia, Meloidogyne  
 gajuscus, Meloidogyne incognita, Meloidogyne javanica, Meloidogyne naasi, Meloidogyne  
 20 partityla, Meloidogyne thamesi, Meripilus giganteus, Merlinius brevidens, Meruliopsis ambigua,  
 Mesocriconema xenoplax, Microascus brevicaulis, Microbotryum violaceum, Microdochium  
 bolleyi, Microdochium dimerum, Microdochium panattonianum, Microdochium phragmitis,  
 Microsphaera, Microsphaera coryli, Microsphaera diffusa, Microsphaera ellisii, Microsphaera  
 euphorbiae, Microsphaera hommae, Microsphaera penicillata, Microsphaera penicillata var.  
 25 vaccinii, Microsphaera vaccinii, Microsphaera verruculosa, Microstroma juglandis, Moesziomyces  
 bullatus, Monilinia azaleae, Monilinia fructicola, Monilinia fructigena, Monilinia laxa, Monilinia  
 mali, Moniliophthora perniciosa, Moniliophthora roreri, Monilochaetes infuscans, Monochaetia  
 coryli, Monochaetia mali, Monographella albescens, Monographella cucumerina, Monographella  
 nivalis var. neglecta, Monographella nivalis var. nivalis, Mononegavirales, Monosporascus  
 30 cannonballus, Monosporascus eutypoides, Monostichella coryli, Mucor circinelloides, Mucor  
 hiemalis, Mucor hiemalis f. silvaticus, Mucor mucedo, Mucor paronychius, Mucor piriformis,  
 Mucor racemosus, Mycena citricolor, Mycena maculate, Mycoentrospora acerina, Mycoleptodiscus  
 terrestris, Mycosphaerella angulata, Mycosphaerella arachidis, Mycosphaerella areola,  
 Mycosphaerella berkeleyi, Mycosphaerella bolleana, Mycosphaerella brassicicola, Mycosphaerella  
 35 caricae, Mycosphaerella caryigena, Mycosphaerella cerasella, Mycosphaerella citri, Mycosphaerella  
 coffeicola, Mycosphaerella confusa, Mycosphaerella cruenta, Mycosphaerella dendroides,  
 Mycosphaerella eumusae, Mycosphaerella fragariae, Mycosphaerella gossypina, Mycosphaerella  
 graminicola, Mycosphaerella henningsii, Mycosphaerella horii, Mycosphaerella juglandis,  
 Mycosphaerella lageniformis, Mycosphaerella linicola, Mycosphaerella louisianae, Mycosphaerella  
 40 musae, Mycosphaerella musicola, Mycosphaerella palmicola, Mycosphaerella pinodes,  
 Mycosphaerella pistaciarum, Mycosphaerella pistacina, Mycosphaerella platanifolia,  
 Mycosphaerella polymorpha, Mycosphaerella pomi, Mycosphaerella punctiformis, Mycosphaerella  
 pyri, Didymella rabiei, Mycosphaerella recutita, Mycosphaerella rosicola, Mycosphaerella rubi,  
 Mycosphaerella stigmata-platani, Mycosphaerella striatiformans, Mycovellosiella concors,  
 45 Mycovellosiella fulva, Mycovellosiella koepkei, Mycovellosiella vaginae, Myriogenospora  
 aciculisporea, Myrothecium roridum, Myrothecium verrucaria, Nacobbus aberrans, Nacobbus  
 dorsalis, Naevala perexigua, Naohidemycetes vaccinii, Nectria, Nectria cinnabarina, Nectria coccinea,  
 Nectria ditissima, Nectria foliicola, Nectria mammoidea var. rubi, Nectria mauritiicola, Nectria

peziza, *Nectria pseudotrichia*, *Nectria radicolica*, *Nectria ramulariae*, *Nectriella pironii*, *Nemania diffusa*, *Nemania serpens* var. *serpens*, *Nematospora coryli*, *Neocosmospora vasinfecta*, *Neodeightonia phoenicum*, *Neoerysiphe*, *Neofabraea malicorticis*, *Neofabraea perennans*, *Neofusicoccum mangiferae*, *Neonectria galligena*, *Oidiopsis gossypii*, *Oidium* (род), *Oidium* 5 *arachidis*, *Oidium caricae-papayae*, *Oidium indicum*, *Oidium mangiferae*, *Oidium manihotis*, *Oidium tingitaninum*, *Olpidium brassicae*, *Omphalia tralucida*, *Oncobasidium theobromae*, *Onnia tomentosa*, *Ophiobolus anguillides*, *Ophiobolus cannabinus*, *Ophioirenina*, *Ophiostoma ulmi*, *Ophiostoma wagneri*, *Ovulariopsis papayae*, *Ovulinia azaleae*, *Ovulitis azaleae*, *Oxyporus corticola*, *Oxyporus latemarginatus*, *Oxyporus populinus*, *Oxyporus similis*, *Ozonium texanum* 10 var. *parasiticum*, *Paecilomyces fulvus*, *Paralongidorus maximus*, *Paratrichodorus christiei*, *Paratrichodorus minor*, *Paratylenchus curvatus*, *Paratylenchus elachistus*, *Paratylenchus hamatus*, *Paratylenchus macrophallus*, *Paratylenchus microdorus*, *Paratylenchus projectus*, *Paratylenchus tenuicaudatus*, *Pathovar*, *Pauahia*, *Peach latent mosaic viroid*, *Pectobacterium carotovorum*, *Peltaster fructicola*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum*, 15 *Penicillium funiculosum*, *Penicillium glabrum*, *Penicillium italicum*, *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium ulaiense*, *Peniophora*, *Peniophora albobadia*, *Peniophora cinerea*, *Peniophora quercina*, *Peniophora sacrata*, *Perenniporia fraxinea*, *Perenniporia fraxinophila*, *Perenniporia medulla-panis*, *Perenniporia subacida*, *Periconia circinata*, *Periconiella cocoes*, *Peridermium californicum*, *Peronosclerospora miscanthi*, *Peronosclerospora sacchari*, *Peronosclerospora sorghi*, *Peronospora*, 20 *Peronospora anemones*, *Peronospora antirrhini*, *Peronospora arborescens*, *Peronospora conglomerata*, *Peronospora destructor*, *Peronospora dianthi*, *Peronospora dianthicola*, *Peronospora farinosa*, *Peronospora farinosa* f. sp. *betae*, *Peronospora hyoscyami* f. sp. *tabacina*, *Peronospora manshurica*, *Peronospora potentillae*, *Peronospora sparsa*, *Peronospora trifoliorum*, *Peronospora valerianellae*, *Peronospora viciae*, *Pestalospaeria concentrica*, *Pestalotia longiseta*, *Pestalotia* 25 *longisetula*, *Pestalotia rhododendri*, *Pestalotiopsis*, *Pestalotiopsis adusta*, *Pestalotiopsis arachidis*, *Pestalotiopsis disseminata*, *Pestalotiopsis guepini*, *Pestalotiopsis leprogena*, *Pestalotiopsis longiseta*, *Pestalotiopsis mangiferae*, *Pestalotiopsis palmarum*, *Pestalotiopsis sydowiana*, *Pestalotiopsis theae*, *Pestalotiopsis versicolor*, *Phacidiopycnis padwickii*, *Phacidium infestans*, *Phaeochoropsis mucosa*, *Phaeocytostroma iliaui*, *Phaeocytostroma sacchari*, *Phaeoisariopsis bataticola*, *Phaeolus schweinitzii*, *Phaeoramularia angolensis*, *Phaeoramularia dissiliens*, *Phaeoramularia heterospora*, 30 *Phaeoramularia manihotis*, *Phaeoseptoria musae*, *Phaeosphaerella mangiferae*, *Phaeosphaerella theae*, *Phaeosphaeria avenaria* f. sp. *avenaria*, *Phaeosphaeria avenaria* f. sp. *triticae*, *Phaeosphaeria herpotrichoides*, *Phaeosphaeria microscopica*, *Phaeosphaeria nodorum*, *Phaeosphaeriopsis obtusispora*, *Phaeotrichoconis crotalariae*, *Phakopsora gossypii*, *Phakopsora pachyrhizi*, 35 *Phanerochaete allantospora*, *Phanerochaete arizonica*, *Phanerochaete avellanea*, *Phanerochaete burtii*, *Phanerochaete carnosae*, *Phanerochaete chrysorhizon*, *Phanerochaete radicata*, *Phanerochaete salmonicolor*, *Phanerochaete tuberculata*, *Phanerochaete velutina*, *Phellinus ferreus*, *Phellinus gilvus*, *Phellinus igniarius*, *Phellinus pini*, *Phellinus pomaceus*, *Phellinus weirii*, *Phialophora asteris*, *Phialophora cinerescens*, *Phialophora gregata*, *Phialophora tracheiphila*, *Phloeospora* 40 *multimaculans*, *Pholiota variicystis*, *Phoma*, *Phoma caricae-papayae*, *Phoma clematidina*, *Phoma costaricensis*, *Phoma cucurbitacearum*, *Phoma destructiva*, *Phoma draconis*, *Phoma eupyrena*, *Phoma exigua*, *Phoma exigua* var. *exigua*, *Phoma exigua* var. *foveata*, *Phoma exigua* var. *linicola*, *Phoma glomerata*, *Phoma glycinicola*, *Phoma herbarum*, *Phoma insidiosa*, *Phoma medicaginis*, *Phoma microspora*, *Phoma nebulosa*, *Phoma oncidii-sphacelati*, *Phoma pinodella*, *Phoma scabra*, 45 *Phoma sclerotioides*, *Phoma strasseri*, *Phoma tracheiphila*, *Phomopsis arnoldiae*, *Phomopsis asparagi*, *Phomopsis asparagicola*, *Phomopsis azadirachtae*, *Phomopsis cannabina*, *Phomopsis caricae-papayae*, *Phomopsis coffeae*, *Phomopsis elaeagni*, *Phomopsis ganjae*, *Phomopsis javanica*, *Phomopsis lokoyae*, *Phomopsis mangiferae*, *Phomopsis obscurans*, *Phomopsis perseae*, *Phomopsis*

prunorum, *Phomopsis scabra*, *Phomopsis sclerotioides*, *Phomopsis tanakae*, *Phomopsis theae*,  
*Photoassimilate*, *Phragmidium*, *Phragmidium mucronatum*, *Phragmidium rosae-pimpinellifoliae*,  
*Phragmidium rubi-idaei*, *Phragmidium violaceum*, *Phyllachora cannabis*, *Phyllachora graminis*  
 var. *graminis*, *Phyllachora gratissima*, *Phyllachora musicola*, *Phyllachora pomigena*, *Phyllachora*  
 5 *sacchari*, *Phyllactinia*, *Phyllactinia angulata*, *Phyllactinia guttata*, *Phyllody*, *Phyllosticta*, *Phyllosticta*  
*alliariaefoliae*, *Phyllosticta anacardiacearum*, *Phyllosticta arachidis-hypogaeae*, *Phyllosticta batatas*,  
*Phyllosticta capitalensis*, *Phyllosticta caricae-papayae*, *Phyllosticta carpogena*, *Phyllosticta*  
*circumscissa*, *Phyllosticta coffeicola*, *Phyllosticta concentrica*, *Phyllosticta coryli*, *Phyllosticta*  
 10 *cucurbitacearum*, *Phyllosticta cyclaminella*, *Phyllosticta erratica*, *Phyllosticta hawaiiensis*,  
*Phyllosticta lentisci*, *Phyllosticta manihotis*, *Phyllosticta micropuncta*, *Phyllosticta mortonii*,  
*Phyllosticta nicotianae*, *Phyllosticta palmetto*, *Phyllosticta penicillariae*, *Phyllosticta perseae*,  
*Phyllosticta platani*, *Phyllosticta pseudocapsici*, *Phyllosticta sojaecola*, *Phyllosticta solitaria*,  
*Phyllosticta theae*, *Phyllosticta theicola*, *Phymatotrichopsis omnivora*, *Physalospora abdita*,  
*Physalospora disrupta*, *Physalospora perseae*, *Physarum cinereum*, *Physoderma alfalfae*,  
 15 *Physoderma leproides*, *Physoderma trifolii*, *Physopella ampelopsidis*, *Phytophthora*, *Phytophthora*  
*alni*, *Phytophthora boehmeriae*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora cajani*, *Phytophthora*  
*cambivora*, *Phytophthora capsici*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora*  
*citrophthora*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora erythroseptica*,  
*Phytophthora fragariae*, *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, *Phytophthora gallica*, *Phytophthora*  
 20 *hibernalis*, *Phytophthora infestans*, *Phytophthora inflata*, *Phytophthora iranica*, *Phytophthora*  
*katsurae*, *Phytophthora kernoviae*, *Phytophthora lateralis*, *Phytophthora medicaginis*, *Phytophthora*  
*megakarya*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora palmivora*,  
*Phytophthora phaseoli*, *Phytophthora plurivora*, *Phytophthora ramorum*, *Phytophthora sojae*,  
*Phytophthora syringae*, *Phytophthora tentaculata*, *Phytoplasma*, *Pichia membranifaciens*, *Pichia*  
 25 *subpelliculosa*, *Pileolaria terebinthi*, *Pilidiella quercicola*, *Plasmodiophora brassicae*, *Plasmopara*,  
*Plasmopara halstedii*, *Plasmopara helianthi* f. *helianthi*, *Plasmopara lactucae-radicis*, *Plasmopara*  
*nivea*, *Plasmopara obducens*, *Plasmopara penniseti*, *Plasmopara pygmaea*, *Plasmopara viticola*,  
*Platychora ulmi*, *Plenodomus destruens*, *Plenodomus meliloti*, *Pleochaeta*, *Pleosphaerulina sojicola*,  
*Pleospora alfalfae*, *Pleospora betae*, *Pleospora herbarum*, *Pleospora lycopersici*, *Pleospora tarda*,  
 30 *Pleospora theae*, *Pleurotus dryinus*, *Podosphaera*, *Podosphaera clandestina* var. *clandestine*,  
*Podosphaera fusca*, *Podosphaera leucotricha*, *Podosphaera macularis*, *Podosphaera pannosa*,  
*Podosphaera tridactyla*, *Podosphaera tridactyla* var. *tridactyla*, *Podosphaera xanthii*, *Polymyxa*  
*graminis*, *Polyscytalum pustulans*, *Polystigma fulvum*, *Poria hypobrunnea*, *Postia tephroleuca*,  
*Potato cyst nematode*, *Pratylenchus alleni*, *Pratylenchus brachyurus*, *Pratylenchus coffeae*,  
 35 *Pratylenchus crenatus*, *Pratylenchus dulscus*, *Pratylenchus fallax*, *Pratylenchus flakkensis*,  
*Pratylenchus goodeyi*, *Pratylenchus hexincisus*, *Pratylenchus loosi*, *Pratylenchus minutus*,  
*Pratylenchus mulchandi*, *Pratylenchus musicola*, *Pratylenchus neglectus*, *Pratylenchus penetrans*,  
*Pratylenchus pratensis*, *Pratylenchus reniformia*, *Pratylenchus scribneri*, *Pratylenchus thornei*,  
*Pratylenchus vulnus*, *Pratylenchus zaeae*, *Pseudocercospora*, *Pseudocercospora areacearum*,  
 40 *Pseudocercospora cannabina*, *Pseudocercospora fuligena*, *Pseudocercospora gunnerae*,  
*Pseudocercospora kaki*, *Pseudocercospora mali*, *Pseudocercospora pandoreae*, *Pseudocercospora*  
*puderi*, *Pseudocercospora purpurea*, *Pseudocercospora rhapsicola*, *Pseudocercospora sessilis*,  
*Pseudocercospora theae*, *Pseudocercospora vitis*, *Pseudocercospora capsellae*, *Pseudocochliobolus*  
*eragrostidis*, *Pseudoepicoccum cocos*, *Pseudomonas amygdali*, *Pseudomonas asplenii*, *Pseudomonas*  
 45 *avellanae*, *Pseudomonas caricapapayae*, *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas coronafaciens*,  
*Pseudomonas corrugate*, *Pseudomonas ficuserectae*, *Pseudomonas flavescens*, *Pseudomonas*  
*fuscovaginae*, *Pseudomonas helianthi*, *Pseudomonas marginalis*, *Pseudomonas meliae*, *Pseudomonas*  
*oryzihabitans*, *Pseudomonas palleroniana*, *Pseudomonas papaveris*, *Pseudomonas salomonii*,

*Pseudomonas savastanoi*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas tomato*, *Pseudomonas tremae*,  
*Pseudomonas turbinellae*, *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudoperonospora cannabina*,  
*Pseudoperonospora cubensis*, *Pseudoperonospora humuli*, *Pseudopezizula tetraspora*,  
*Pseudopezizula tracheiphila*, *Pseudopeziza jonesii*, *Pseudopeziza medicaginis*, *Pseudopeziza*  
5 *trifolii*, *Pseudoseptoria donacis*, *Puccinia*, *Puccinia angustata*, *Puccinia arachidis*, *Puccinia aristidae*,  
*Puccinia asparagi*, *Puccinia cacabata*, *Puccinia campanulae*, *Puccinia carthami*, *Puccinia coronate*,  
*Puccinia coronata* var. *hordei*, *Puccinia dioicae*, *Puccinia erianthi*, *Puccinia extensicola* var.  
*hieraciata*, *Puccinia helianthi*, *Puccinia hordei*, *Puccinia jaceae* var. *solstitialis*, *Puccinia kuehnii*,  
*Puccinia mariae-wilsoniae*, *Puccinia melanocephala*, *Puccinia menthae*, *Puccinia pelargonii-zonalis*,  
10 *Puccinia pittieriana*, *Puccinia poarum*, *Puccinia psidii*, *Puccinia purpurea*, *Puccinia recondita*,  
*Puccinia schedonnardii*, *Puccinia sessilis*, *Puccinia striiformis* f. sp. *hordei*, *Puccinia striiformis*  
var. *striiformis*, *Puccinia subnitens*, *Puccinia substriata* var. *indica*, *Puccinia verruca*, *Puccinia*  
*xanthii*, *Pucciniaceae*, *Pucciniastrum*, *Pucciniastrum americanum*, *Pucciniastrum arcticum*,  
*Pucciniastrum coryli*, *Pucciniastrum epilobii*, *Pucciniastrum hydrangeae*, *Punctodera chalconensis*,  
15 *Pycnopus cinnabarinus*, *Pycnopus sanguineus*, *Pycnostysanus azaleae*, *Pyrenochaeta lycopersici*,  
*Pyrenochaeta terrestris*, *Pyrenopeziza brassicae*, *Pyrenophora*, *Pyrenophora avenae*, *Pyrenophora*  
*chaetomioides*, *Pyrenophora graminea*, *Pyrenophora seminiperda*, *Pyrenophora teres*, *Pyrenophora*  
*teres* f. *maculata*, *Pyrenophora teres* f. *teres*, *Pyrenophora tritici-repentis*, *Pythiaceae*, *Pythiales*,  
*Pythium*, *Pythium acanthicum*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium aristosporum*, *Pythium*  
20 *arrhenomanes*, *Pythium buismaniae*, *Pythium debaryanum*, *Pythium deliense*, *Pythium dissotocum*,  
*Pythium graminicola*, *Pythium heterothallicum*, *Pythium hypogynum*, *Pythium irregulare*, *Pythium*  
*iwayamae*, *Pythium mastophorum*, *Pythium middletonii*, *Pythium myriotylum*, *Pythium*  
*okanoganense*, *Pythium paddicum*, *Pythium paroecandrum*, *Pythium perniciosum*, *Pythium*  
*rostratum*, *Pythium scleroteichum*, *Pythium spinosum*, *Pythium splendens*, *Pythium sulcatum*,  
25 *Pythium sylvaticum*, *Pythium tardicrescens*, *Pythium tracheiphilum*, *Pythium ultimum*, *Pythium*  
*ultimum* var. *ultimum*, *Pythium vexans*, *Pythium violae*, *Pythium volutum*, *Quinisulcius acutus*,  
*Quinisulcius capitatus*, *Radopholous similis*, *Radopholus similis*, *Ralstonia solanacearum*,  
*Ramichloridium musae*, *Ramularia*, *Ramularia beticola*, *Ramularia brunnea*, *Ramularia coryli*,  
*Ramularia cyclaminicola*, *Ramularia macrospora*, *Ramularia menthicola*, *Ramularia necator*,  
30 *Ramularia primulae*, *Ramularia spinaciae*, *Ramularia subtilis*, *Ramularia tenella*, *Ramulispora*  
*sorghii*, *Ramulispora sorghicola*, *Resinicium bicolor*, *Rhabdocline pseudotsugae*, *Rhabdocline*  
*weirii* *Rhabdoviridae*, *Rhinocladium corticola*, *Rhizoctonia*, *Rhizoctonia leguminicola*, *Rhizoctonia*  
*rubi*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizomorpha subcorticalis*, *Rhizophyidium graminis*, *Rhizopus arrhizus*,  
*Rhizopus circinans*, *Rhizopus microsporus* var. *microspores*, *Rhizopus oryzae*, *Rhodococcus*  
35 *fascians*, *Rhynchosporium*, *Rhynchosporium secalis*, *Rhytidhysterium rufulum*, *Rhytisma acerinum*,  
*Rhytisma vitis*, *Rigidoporus lineatus*, *Rigidoporus microporus*, *Rigidoporus ulmarius*, *Rigidoporus*  
*vinctus*, *Rosellinia arcuata*, *Rosellinia bunodes*, *Rosellinia necatrix*, *Rosellinia pepo*, *Rosellinia*  
*subiculata*, *Rotylenchulus*, *Rotylenchulus parvus*, *Rotylenchulus reniformis*, *Rotylenchus*  
*brachyurus*, *Rotylenchus robustus*, *Saccharicola taiwanensis*, *Saccharomyces florentinus*,  
40 *Saccharomyces kluyveri*, *Sarocladium oryzae*, *Sawadaea*, *Sawadaea tulasnei*, *Schiffnerula cannabis*,  
*Schizoparme straminea*, *Schizophyllum commune*, *Schizopora flavipora*, *Schizothyrium pomi*,  
*Scleroderris canker*, *Sclerophthora macrospora*, *Sclerophthora rayssiae*, *Sclerospora graminicola*,  
*Sclerospora mischanthi*, *Sclerotinia borealis*, *Sclerotinia minor*, *Sclerotinia ricini*, *Sclerotinia*  
*sclerotiorum*, *Sclerotinia spermophila*, *Sclerotinia trifoliorum*, *Sclerotium*, *Sclerotium cinnamomi*,  
45 *Sclerotium delphinii*, *Scutellonema brachyurum*, *Scutellonema cavenessi*, *Scytinostroma*  
*galactinum*, *Seimatosporium mariae*, *Seimatosporium rhododendri*, *Selenophoma linicola*,  
*Septobasidium*, *Septobasidium bogoriense*, *Septobasidium pilosum*, *Septobasidium*  
*pseudopedicellatum*, *Septobasidium theae*, *Septocyta ruborum*, *Septogloeum potentillae*, *Septoria*,

Septoria aciculosa, Septoria ampelina, Septoria azalea, Septoria bataticola, Septoria campanulae,  
 Septoria cannabis, Septoria caryae, Septoria citri, Septoria cucurbitacearum, Septoria darrowii,  
 Septoria dianthi, Septoria eumusae, Septoria fragariae, Septoria fragariaecola, Septoria glycines,  
 Septoria helianthi, Septoria humuli, Septoria hydrangeae, Septoria lactucae, Septoria liquidambaris,  
 5 Septoria lycopersici, Septoria lycopersici var. malagutii, Septoria menthae, Septoria ostryae,  
 Septoria passerinii, Septoria pisi, Septoria pistaciae, Septoria platanifolia, Septoria rhododendri,  
 Septoria secalis, Septoria selenophomoides, Setosphaeria rostrata, Setosphaeria turcica, Sirosporium  
 diffusum, Sparassis, Sphaceloma, Sphaceloma arachidis, Sphaceloma coryli, Sphaceloma menthae,  
 Sphaceloma perseae, Sphaceloma poinsettiae, Sphaceloma pyrinum, Sphaceloma randii,  
 10 Sphaceloma sacchari, Sphaceloma theae, Sphacelotheca reiliana, Sphaerella platanifolia,  
 Sphaeropsis tumefaciens, Sphaerotheca, Sphaerotheca castagnei, Sphaerotheca fuliginea,  
 Sphaerulina oryzina, Sphaerulina rehmana, Sphaerulina rubi, Sphenospora kevorkianii, Spiniger  
 meineckellus, Spiroplasma, Spongipellis unicolor, Sporisorium cruentum, Sporisorium ehrenbergi,  
 Sporisorium scitamineum, Sporisorium sorghi, Sporonema phacidioides, Stagonospora avenae f.  
 15 sp.triticae, Stagonospora meliloti, Stagonospora recedens, Stagonospora sacchari, Stagonospora  
 tainanensis, Steccherinum ochraceum, Stegocintractia junci, Stegophora ulmea, Stemphylium  
 alfalfa, Stemphylium bolickii, Stemphylium cannabinum, Stemphylium globuliferum, Stemphylium  
 lycopersici, Stemphylium sarciniforme, Stemphylium solani, Stemphylium vesicarium, Stenella  
 anthuriicola, Stereum, Stereum hirsutum, Stereum rameale, Stereum sanguinolentum,  
 20 Stigmatomycosis, Stigmella platani-racemosae, Stigmia carpophila, Stigmia liquidambaris,  
 Stigmia palmivora, Stigmia platani, Stigmia platani-racemosae, Subanguina radicularis,  
 Subanguina wevelli, Sydowia polyspora, Sydowiella depressula, Sydowiellaceae, Synchytrium  
 endobioticum, Synchytrium fragariae, Synchytrium liquidambaris, Taiwanofungus camphoratus,  
 Tapesia acuformis, Tapesia yallundae, Taphrina aurea, Taphrina bullata, Taphrina caerulescens,  
 25 Taphrina coryli, Taphrina deformans, Taphrina entomospora, Taphrina johansonii, Taphrina  
 potentillae, Taphrina ulmi, Taphrina wiesneri, Thanatephorus cucumeris, Thielaviopsis,  
 Thielaviopsis basicola, Thyrostroma compactum, Tilletia barclayana, Tilletia caries, Tilletia  
 controversa, Tilletia laevis, Tilletia tritici, Tilletia walkeri, Tilletiariaceae, Tobacco necrosis virus,  
 Togniniaceae, Trachysphaera fructigena, Trametes gibbosa, Trametes hirsute, Trametes nivosa,  
 30 Trametes pubescens, Tranzschelia discolor f. sp.persica, Tranzschelia pruni-spinosae var. discolor,  
 Trichaptum bifforme, Trichoderma harzianum, Trichoderma koningii, Trichoderma viride,  
 Trichothecium roseum, Tripospermum acerinum, Truncatella, Truncatella laurocerasi, Tubercularia  
 lateritia, Tubercularia ulmea, Tubeufia pezizula, Tunstallia aculeata, Tylenchorhynchus,  
 Tylenchorhynchus brevilineatus, Tylenchorhynchus claytoni, Tylenchorhynchus dubius,  
 35 Tylenchorhynchus maximus, Tylenchorhynchus nudus, Tylenchorhynchus phaseoli,  
 Tylenchorhynchus vulgaris, Tylenchorhynchus zae, Tylenchulus semipenetrans, Typhula  
 idahoensis, Typhula incarnate, Typhula ishikariensis, Typhula ishikariensis var. canadensis,  
 Typhula variabilis, Typhulochaeta, Tyromyces calkinsii, Tyromyces chioneus, Tyromyces  
 galactinus, Ulocladium atrum, Ulocladium consortiale, Uncinula, Uncinula macrospora, Uncinula  
 40 necator, Uredo behnickiana, Uredo kriegeana, Uredo musae, Uredo nigropuncta, Uredo rangellii,  
 Urocystis, Urocystis agropyri, Urocystis brassicae, Urocystis occulta, Uromyces, Uromyces  
 apiosporus, Uromyces beticola, Uromyces ciceris-arietini, Uromyces dianthi, Uromyces euphorbiae,  
 Uromyces graminis, Uromyces inconspicuus, Uromyces lineolatus subsp.nearcticus, Uromyces  
 medicaginis, Uromyces musae, Uromyces oblongus, Uromyces pisi-sativi, Uromyces proeminens  
 45 var. poinsettiae, Uromyces trifolii-repentis var. fallens, Uromyces viciae-fabae var. viciae-fabae,  
 Urophlyctis leproides, Urophlyctis trifolii, Urophora cardui, Ustilaginales, Ustilaginoidea virens,  
 Ustilaginomycetes, Ustilago, Ustilago avenae, Ustilago hordei, Ustilago maydis, Ustilago nigra,  
 Ustilago nuda, Ustilago scitaminea, Ustilago tritici, Valsa abietis, Valsa ambiens, Valsa auerswaldii,

Valsa ceratosperma, Valsa kunzei, Valsa nivea, Valsa sordida, Valsaria insitiva, Venturia carpophila, Venturia inaequalis, Venturia pirina, Venturia pyrina, Veronaea musae, Verticillium, Verticillium albo-atrum, Verticillium albo-atrum var. menthae, Verticillium dahliae, Verticillium longisporum, Verticillium theobromae, Villosiclava virens, Virescence, Waitea circinata,  
 5 Wuestneiopsis Georgiana, Xanthomonas ampelina, Xanthomonas axonopodis, Xanthomonas campestris, Xanthomonas campestris pv. campestris, Xanthomonas oryzae, Xeromphalina fraxinophila, Xiphinema americanum, Xiphinema bakeri, Xiphinema brevicolle, Xiphinema diversicaudatum, Xiphinema insigne, Xiphinema rivesi, Xiphinema vuittenezi, Xylaria mali, Xylaria polymorpha, Xylella fastidiosa, Xylophilus, Xylophilus ampelinus, Zopfia rhizophila,  
 10 Zygosaccharomyces bailii и Zygosaccharomyces florentinus.

[00118] Патогенные насекомые и черви включают Acalymma, Acyrthosiphon pisum, Spodoptera exempta, африканизированную пчелу, Agromyzidae, Agrotis munda, Agrotis porphyricollis, Aleurocanthus woglumi, Aleyrodes proletella, Alphitobius diaperinus, Altica chalybea, Anasa tristis, Anguina tritici, Anisoplia austriaca, Anthonomus pomorum, Anthonomus  
 15 signatus, Aonidiella aurantii, Aramea apamiformis, Aramea niveivenosa, Aphelenchoides spp., тлю, Aphis gossypii, яблонную пестрокрылку, аргентинского муравья, Euxoa auxiliaris, Arotrophora arcuatalis, Asterolecanium coffeae, Athous haemorrhoidalis, Aulacophora, Chortoicetes terminifera Bactericera cockerelli, Bactrocera, Bactrocera correcta, Bagrada hilaris, Knulliana cincta, карадрину, Belonolaimus spp., свекловичную тлю, Blepharidopterus chlorionis, Agrotis  
 20 infusa, хлопкового долгоносика, Bradysia similigibbosa, стручкового капустного комарика, Brevicoryne brassicae, коричневую саранчу, клопа мраморного щитника, бурую рисовую цикадку, Bursaphelenchus spp., капустную совку, капустную гусеницу, Callosobruchus maculatus, Dermolepida albobirtum, морковную муху, овсяную нематоду, Cecidomyiidae, Ceratitis capitata, Ceratitis rosa, пьявицу красногрудую, Chlorops pumilionis, Anoplophora  
 25 chinensis, Coccus viridis, яблонную плодоядку, кофейного жука, коллорадского жука, хрущака малого мучного, Crambus, полосатого огуречного жука, Curculio писит, Curculio occidentis, личинок моли, Cyclocephala borealis, совку-ипсилон, пальмового кородея, Delia spp., Delia antiqua, Delia floralis, Delia radicum, пустынную саранчу, Diabrotica, Diabrotica balteata, Diabrotica speciosa, капустную моль, Diaphania indica, Diaphania nitidalis,  
 30 Diaphorina citri, Diaprepes abbreviatus, Diatraea saccharalis, Melanoplus differentialis, Ditylenchus spp., Dociostaurus maroccanus, Drosophila suzukii, Dryocosmus kuriphilus, Earias perhuegeli, Epicauta vittata, Epilachna varivestis, Erionota thrax, Eriosomatinae, Euleia heraclei, Eumetopina flavipes, Eupoecilia ambiguella, огневку кукурузную, Eurydema oleracea, Eurygaster integriceps, щитника красноногого, Frankliniella tritici, Galleria mellonella, Euxoa nigricans, Homalodisca  
 35 vitripennis, тепличную белокрылку, Gryllotalpa orientalis, Gryllus pennsylvanicus, непарного шелкопряда, Helicoverpa armigera, Helicoverpa gelotopoeon, Helicoverpa punctigera, Helicoverpa zea, Heliothis virescens, Henosepilachna vigintioctopunctata, гессенскую муху, Heterodera spp., Jacobiasca formosana, хруща японского, кожееда зернового, Lampides boeticus, листового минера, Lepidiota consobrina, Lepidosaphes beckii, Lepidosaphes ulmi,  
 40 Leptoglossus zonatus, Leptopterna dolabrata, малую восковую моль, Leucoptera (моль), Leucoptera coffeina, бурую плодовую моль, Lissorhoptrus oryzophilus, длиннохвостого шкипера, Lygus, Lygus hesperus, Maconellicoccus hirsutus, Macroductylus subspinosus, Macrosiphum euphorbiae, долгоносика амбарного кукурузного, Manduca sexta, Mayetiola hordei, Mealybug, Meloidogyne spp., Megacopta cribraria, Metcalfa pruinosa, молей, луковую  
 45 моль, Myzus persicae, Naccobus spp., Nezara viridula, походного шелкопряда дубового, маслинную муху, Ophiomyia simplex, Opisina arenosella, Opomyza, Opomyza florum, Opomyzidae, Oscinella frit, Ostrinia furnacalis, Oхусаренус hyalinipennis, Paracoccus marginatus, Papilio demodocus, Paratachardina pseudolobata, Pentatomoidea, Phthorimaea operculella,



Phyllophaga, Phylloxera, Phylloxeridae, Phylloxeroidea, Pieris brassicae, хлопковую моль, Planococcus citri, Platynota idaeusalis, Plum curculio, Pratylenchus spp., Prionus californicus, Pseudococcus viburni, Pyralis farinalis, красного огненного муравья, красную саранчу, корневых нематод Pratylenchus, корневых галлообразующих фитонематод, Radopholus spp., Rotylenchulus spp., Rhagoletis cerasi, Rhagoletis indifferens, Rhagoletis mendax, Rhopalosiphum maidis, Rhyacionia frustrana, Rhynchophorus ferrugineus, Rhynchophorus palmarum, Rhyzopertha, рисовую моль, рисового клопа щитника, ячменную тлю, калифорнийскую щитовку, щитовок, Schistocerca americana, Sciaridae, Scirtothrips dorsalis, Scutelleridae, Scutiphora pedicellata, пшеничную нематоду, змеевидного листового минера, табачную белокрылку, Siphia flava, малого ульевого жука, огневку кукурузную юго-западную, соевую тлю, Spodoptera ciliium, Spodoptera litura, пятнистого огуречного жука, Melittia cucurbitae, стеблевых нематод, Stenotus binotatus, Strauzia longipennis, блошку полосатую, клопа вредную черепашку, Physomerus grossipes, клопа-слепняка, трипсы, Thrips angusticeps, Thrips palmi, Тохoptera citricida, Trichodorus spp., Trioza erytrae, совку озимую, Tuta absoluta, Tylenchulus spp., кожада домового, Virachola isocrates, личинок восковых молей, западного кукурузного жука, западного цветочного трипса, пшеничного комарика, долгоносика амбарного обыкновенного, белокрылок, зимнюю пяденицу и Xiphenema spp.

[00119] Например, патогенное насекомое или червь может представлять собой совку, совку-ипсилон, кукурузного мотылька, совку травяную, гусеницу озимой совки, хрущика японского, огневку Elasmopalpus lignosellus, долгоносика кукурузного, личинку мухи ростковой, лугового мотылька, огневку кукурузную стеблевую, жука-блошку одиннадцатиточечную, южного картофельного проволочника, совку Parairema nebris, жука-носорога сахарного тростника, личинку хруща, совку ни, хлопкового долгоносика, совку Spodoptera ornithogalli, пьявицу красногрудую, клопа-черепашку пшеничную североамериканскую, тлю, совку малую, коровку Epilachna varivestis, совку Chrysodeixis includens, Dectes texanus или их комбинацию.

Белки и пептиды, которые повышают устойчивость к стрессу в растениях

[00120] Данное изобретение также относится к гибридным белкам, содержащим сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория и по меньшей мере один белок или пептид, усиливающий устойчивость к стрессу в растении.

[00121] Например, белок или пептид, который повышает устойчивость к стрессу в растении, включает фермент, вызывающий деградацию соединений, связанных со стрессом. Соединения, связанные со стрессом, включают, но не ограничиваются этим, аминоклопропан-1-карбоновую кислоту (АЦК), активные формы кислорода, оксид азота, оксипирины, и фенольные соединения. Конкретные активные формы кислорода включают гидроксил, перекись водорода, кислород и супероксид. Фермент, вызывающий деградацию соединений, связанных со стрессом, может включать супероксиддисмутазы, оксидазу, каталазу, в деаминазу аминоклопропан-1-карбоновой кислоты, пероксидазу, антиоксидантный фермент, или антиоксидантный пептид.

[00122] Белок или пептид, который повышает устойчивость к стрессу в растении, может также содержать белок или пептид, защищающий растение от воздействия окружающей среды. Экологический стресс может включать, например, засуху, наводнение, высокие температуры, заморозки, засаливание, тяжелые металлы, низкое значение рН, высокое значение рН или их комбинацию. Например, белок или пептид, защищающий растение от воздействия окружающей среды, могут содержать белок, индуцирующий формирование микрокристаллов льда, пролиназу, фенилаланин-аммиак-

лиазу, изохоризмат-синтазу, изохоризмат-пируват-лиазу или холиндегидрогеназу.

Белки и пептиды, связывающиеся с растением

[00123] Изобретение также относится к гибридным белкам, содержащим сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория и по меньшей мере один белок или пептид, связывающийся с растением. Белок или пептид, связывающийся с растением, может представлять собой любой белок или пептид, способный специфически или неспецифически связываться с любой частью растения (например, с корнем или с надземной частью растения, такой как лист, стебель, цветок или плод) или с растительным материалом. Так, например, белок или пептид, связывающийся с растением, может представлять собой белок или пептид, связывающийся с корнем, или белок, или пептид, связывающийся с листом.

[00124] Подходящие белки или пептиды, связывающиеся с растением, включают адгезины, флагеллины (например, рикфлагелин), омптины, лектины, экспансины, структурные белки биопленки (например, TasA или YuaB), белки пилуса, белки Curlus, интимины, инвазины, агглютинины и нефимбриальные белки.

Другие гибридные белки

[00125] Данное изобретение дополнительно относится к гибридным белкам, содержащим по меньшей мере один целевой белок или пептид, и белок экзоспория, содержащий белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере 85% идентичности с любой из SEQ ID №№: 71, 75, 80, 81, 82, 83, и 84. В альтернативном варианте белок экзоспория может включать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 100% идентичности с любой из SEQ ID №№: 71, 75, 80, 81, 82, 83, и 84.

[00126] Целевой белок или пептид, может включать любой белок или пептид. Например, целевой белок или пептид может включать любой из белков или пептидов, описанных в данном документе. Например, целевой белок или пептид может включать любой из описанных в данном документе белков или пептидов, стимулирующих рост растения, любой из описанных в данном документе белков или пептидов, которые защищают растение от патогена, любой из описанных в данном документе белков или пептидов, которые повышает устойчивость к стрессу в растении, или любой из описанных в данном документе белков или пептидов, связывающихся с растением.

[00127] Таким образом, когда целевой белок или пептид включает белок или пептид, стимулирующий рост растения, белок или пептид, стимулирующий рост растения, может включать пептидный гормон, негормональный пептид или фермент, участвующий в образовании или активации соединения, стимулирующего рост растения. В альтернативном варианте белок или пептид, стимулирующий рост растения, может включать любой из ферментов, разрушающих или модифицирующих бактериальный, грибковый или растительный источник питательных веществ, которые описаны ниже.

40 Рекомбинантные представители семейства *Bacillus cereus*, которые экспрессируют гибридные белки

[00128] Данное изобретение также относится к рекомбинантному представителю семейства *Bacillus cereus*, который экспрессирует гибридный белок. Гибридный белок может представлять собой любой из гибридных белков, описанных выше.

45 [00129] Рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* может дополнительно экспрессировать два или более любых из гибридных белков, описанных выше. Например, рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* может дополнительно экспрессировать по меньшей мере один гибридный белок, который содержит белок

или пептид, связывающийся с растением, вместе с по меньшей мере одним гибридным белком, содержащим белок или пептид, стимулирующий рост растения, по меньшей мере одним гибридным белком, содержащим белок или пептид, защищающий растение от патогена, или по меньшей мере одним белком или пептидом, повышающим

5 устойчивость к стрессу в растении.

[00130] Рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* может включать *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoides*, *Bacillus samanii*, *Bacillus gaemokensis*, *Bacillus weihenstephensis* или их комбинацию. Например, рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* может

10 включать *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus pseudomycoides* или *Bacillus mycoides*. В частности, рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* может включать *Bacillus thuringiensis* или *Bacillus mycoides*.

[00131] С целью создать рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующего гибридный белок, любой представитель семейства *Bacillus cereus*

15 может быть конъюгирован, трансдуцирован или трансформирован вектором, кодирующим гибридный белок, с использованием стандартных способов, известных в данной области техники (например, путем электропорации). После этого бактерии могут быть подвергнуты скринингу для идентификации трансформантов любым способом, известным в данной области техники. Например, если вектор включает ген

20 устойчивости к антибиотику, бактерии могут быть подвергнуты скринингу на устойчивость к антибиотикам. В альтернативном варианте ДНК, кодирующая гибридный белок, может быть интегрирована в хромосомную ДНК хозяина представителя семейства *B. cereus*. Рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* может быть подвержен условиям, которые вызывают споруляцию. Подходящие

25 условия для индуцирования споруляции известны в данной области техники. Например, рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* может быть высеян на чашки с агаром и инкубирован при температуре около 30°C в течение нескольких дней (например, 3 суток).

[00132] Также соответствующим образом могут быть использованы

30 инактивированные штаммы, нетоксичные штаммы, или генетически модифицированные штаммы любого из вышеперечисленных видов. Например, может быть использован *Bacillus thuringiensis*, в котором отсутствует токсин Cry. В альтернативном варианте или в дополнение, после получения спор рекомбинантного представителя *B. cereus*, экспрессирующих гибридный белок, они могут быть инактивированы, чтобы

35 предотвратить дальнейшее прорастание во время использования. Может быть использован любой способ инактивации бактериальных спор, который известен в данной области техники. Подходящие способы включают, без ограничения, термообработку, гамма-облучение, рентгеновское облучение, УФ-А облучение, УФ-Б облучение, химическая обработка (например, обработка глутаровым альдегидом,

40 формальдегидом, перекисью водорода, уксусной кислотой, отбеливателем или их комбинацией) или их комбинацией. В альтернативном варианте могут быть использованы споры, полученные из штаммов нетоксичных штаммов или генетически или физически инактивированных штаммов.

Рекомбинантные представители семейства *Bacillus cereus*, обладающие эффектом

45 стимуляции роста растений и/или другими полезными свойствами.

[00133] Многие штаммы представителей семейства *Bacillus cereus* обладают полезными свойствами. Например, некоторые штаммы обладают эффектом стимуляции роста растений. В таких штаммах может быть экспрессирован любой из гибридных белков,

описанных в данном документе.

[00134] Например, рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* может включать штамм бактерий, стимулирующий рост растения.

5 [00135] Штамм бактерий, стимулирующий рост растения, может включать штамм бактерий, который продуцирует инсектицидный токсин (например, токсин Cry), продуцирует фунгицидное соединение (например,  $\beta$ -1,3-глюканазу, хитозиназу, лутиказу, или их комбинацию), продуцирует нематоцидное соединение (например, токсин Cry), продуцирует бактерицидное соединение, является устойчивым к одному или более антибиотикам, содержит одну или более самостоятельно реплицирующихся плазмид, 10 прикрепляется к корням растений, колонизирует корни растений, формирует биопленки, растворяет питательные вещества, секретирует органические кислоты, или их комбинацию.

[00136] Например, если рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* включает штамм бактерий, стимулирующий рост растения, такой штамм бактерий, 15 стимулирующий рост растения, может включать *Bacillus mycoides* BT 155 (NRRL №B-50921), *Bacillus mycoides* EE118 (NRRL № B-50918), *Bacillus mycoides* EE141 (NRRL № B-50916), *Bacillus mycoides* BT46-3 (NRRL № B-50922), представителя семейства *Bacillus cereus* EE 128 (NRRL № B-50917), *Bacillus thuringiensis* BT013A (NRRL № B-50924) или представителя семейства *Bacillus cereus* EE349 (NRRL № B-50928). Каждый из этих 20 штаммов был помещен на хранение Службой сельскохозяйственных исследований (ССИ) Министерства сельского хозяйства США (МСХСША) по адресу 1815 North University Street, Peoria, Illinois 61604 U.S.A., 10 марта 2014 года, и идентифицируются по номеру NRRL (Northern Regional Research Laboratory), указанному в скобках.

[00137] Эти штаммы, стимулирующие рост растения, были выделены из ризосфер 25 различных активно растущих растений и были идентифицированы по их последовательности 16S рРНК (указанной в данном документе как SEQ ID №№: 104-110) и с помощью биохимических анализов. Данные штаммы были идентифицированы по меньшей мере до рода с помощью общих биохимических методов и морфологических 30 показателей. Биохимические тесты для подтверждения грам-положительных штаммов, таких как *Bacillus*, включали выращивание на среде РЕА и питательном агаре, микроскопические исследования, выращивание на среде, содержащей 5% и 7,5% NaCl, выращивание при pH 5 и pH 9, выращивание при 42°C и 50°C, способность 35 продуцировать кислоту при ферментации с целлобиозой, лактозой, глицерином, глюкозой, сахарозой, d-маннитом и крахмалом; продуцирование флуоресцентных пигментов; гидролиз желатина; восстановление нитратов; продуцирование каталазы, гидролиз крахмала; оксидативная реакция, продуцирование уреазы и подвижность. Идентификация этих штаммов и демонстрация их стимулирующих эффектов на рост 40 растений описаны далее в примерах, приведенных ниже.

[00138] Например, рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus*, 40 включающий штамм бактерий, стимулирующий рост растения, может включать *Bacillus mycoides* BT155, *Bacillus mycoides* EE141 или *Bacillus thuringiensis* BT013A.

Рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* может экспрессировать любой из гибридных белков, описанных в данном документе, например, гибридный белок, содержащий сигнальную последовательность из SEQ ID №: 60 и негормональный 45 пептидный (например, ингибитор трипсина Кунитца (ИКТ)), фермент участвующий в образовании или активации соединения, индуцирующего рост растений (например, хитозиназа), белок или пептид, связывающийся с растением (например, TasA); белок или пептид, защищающий растение от патогенов (например, TasA), или фермент,

который разрушает или изменяет бактериальные, грибковые или растительные источники питательных веществ (например, фосфатазы, такие как PhoA или фитазы, или эндоглюканазы).

#### Промоторы

5 [00139] В любом из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, описанных в данном документе, гибридный белок может экспрессироваться под контролем промотора, который является родным для сигнальной последовательности белка экзоспория или фрагмента белка экзоспория гибридного белка. Например, если гибридный белок содержит сигнальную последовательность, полученную из *B. anthracis* Sterne BclA (например, аминокислот 20-35 из SEQ ID №: 1, аминокислот 1-35 из SEQ ID №: 1, SEQ ID №: 1 или SEQ ID №: 60) или если гибридный белок содержит

10 полноразмерный BclA (SEQ ID №: 2) или фрагмент полноразмерного BclA (например, SEQ ID №: 59), гибридный белок может экспрессироваться под контролем промотора, который, как правило, связан с геном BclA в геноме *B. anthracis* Sterne (например,

15 промотор SEQ ID №: 85).

[00140] В альтернативном варианте гибридный белок может экспрессироваться под контролем сильного промотора споруляции. В некоторых случаях промотор, который является нативным для сигнальной последовательности, белок экзоспория или фрагмент

20 белка экзоспория будет представлять собой сильный промотор споруляции. В других случаях промотор, который является нативным для сигнальной последовательности, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория не будет представлять собой сильный промотор споруляции. В последнем случае может быть предпочтительным заменить нативный промотор на сильный промотор споруляции. Экспрессия гибридного белка под контролем сильного промотора споруляции обеспечивает повышенную экспрессию

25 гибридного белка на экзоспорий представителя семейства *Bacillus cereus*.

[00141] Сильный промотор споруляции может включать одну или более промоторную последовательность сигма-К, специфическую для полимеразы споруляции.

[00142] Подходящие сильные промоторы споруляции для применения в экспрессировании гибридных белков в представителе семейства *Bacillus cereus*, включают

30 следующие, перечисленные в таблице 2 ниже:

Таблица 2. Промоторные последовательности

35

40

45

Промотор (SEQ ID №)	Последовательность
5 Промотор BclA ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 85)	TAATCACCCCTCTTCCAAATCAATCATATGTTATACATATACTAAAC TTTCCATTTTTTTAAATTGTTCAAGTAGTTTAAGATTCTTTTCAATA ATTCAAATGTCGGTGTCAATTTCTTTTCGGTTTTGCATCTACTATATA ATGAACGCTTTATGGAGGTGAATTTATG
10 Промотор BetA ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 86)	ATTTATTTCAATTCATTTTTTCTATTTAGTACCTACCGCACTCACAAA AAGCACCTCTCATTAATTTATATTATAGTCATTGAAATCTAATTTAAT GAAATCATCATACTATATGTTTTATAAGAAGTAAAGGTACCATACT TAAATTAATACATATCTATACACTTCAATATCACAGCATGCAGTTGAA TTATATCCAACCTTTCATTTCAAATTAATAAGTGCCTCCGCTATTGTG AATGTCATTTACTCTCCCTACTACATTTAATAATTATGACAAGCAAT CATAGGAGGTTACTACATG
15 BAS1882 промотор ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 87)	AATTACATAACAAGAACTACATTAGGGAGCAAGCAGTCTAGCGAAA GCTAACTGCTTTTTTATTAATAACTATTTTATTAATTTTCATATATA CAATCGCTTGTCCATTTCAATTTGGCTCTACCCACGCATTTACTATTAG TAATATGAATTTTTTCAGAGGTGGATTTTATT
20 Промотор гена 3572 ( <i>B. weihenstephensis</i> KBAB 4) (SEQ ID №: 88)	STATGATTTAAGATACACAATAGCAAAAGAGAAAATATTTATATAA CGATAAATGAAACTTATGTATATGTATGGTAACTGTATATATTACTA CAATACAGTATACTCATAGGAGGTAGGTATG
25 Промотор β- пропеллерного белка YVTN ( <i>B. weihenstephensis</i> KBAB 4) (SEQ ID №: 89)	GGTAGGTAGATTTGAAATATGATGAAGAAAAGGAATAACTAAAAGG AGTCGATATCCGACTCCTTTTAGTTATAAATAATGTGGAATTAGAGT ATAATTTTATATAGGTATATTGTATTAGATGAACGCTTTATCCTTTAA TTGTGATTAATGATGGATTGTAAGAGAAGGGGCTTACAGTCCTTTTTT TATGGTGTCTATAAGCCTTTTTAAAAGGGGTACCACCCACACCCA AAAACAGGGGGGGTTATAACTACATATTGGATGTTTTGTAACGTACA AGAATCGGTATTAATTACCCTGTAAATAAGTTATGTGTATATAAGGT AACTTTATATATTTCTCCTACAATAAAAATAAAGGAGGTAATAAAGTG
30 Промотор Cry1A ( <i>B. thuringiensis</i> HD- 73) (SEQ ID №: 90)	AACCCTTAATGCATTGGTTAAACATTGTAAAGTCTAAAGCATGGATA ATGGGCGAGAAGTAAGTAGATTGTTAACACCCTGGGTCAAAAATTG ATATTTAGTAAATAGTTGCACCTTTGTGCATTTTTTTCATAAGATGA GTCATATGTTTTAAATTGTAGTAATGAAAAACAGTATTATATCATA ATGAAATTGGTATCTTAATAAAAAGAGATGGAGGTAACTTA
35 Промотор ExsY ( <i>B. thuringiensis</i> serovar konkukian str.)	TAATCCACCTTCCCTTATCCTCTTTTCGCCTATTTAAAAAAGGTCTT GAGATTGTGACCAAATCTCCTCAACTCCAAATATCTTATTAATGTAAA TACAAACAAGAAGATAAGGAGTGACATTAA

97-27) (SEQ ID №: 91)	
Промотор CotY ( <i>B. thuringiensis</i> Al Hakam) (SEQ ID №: 92)	AGGATGTCTTTTTTATATTGTATTATGTACATCCCTACTATATAAAT TCCCTGCTTTTATCGTAAGAATTAACGTAATATCAACCATATCCCGTT <u>CATATTGTAGTAGTGTATGTCAGAACTCACGAGAAGGAGTGAACAT</u> AA
Промотор YjcA ( <i>B. thuringiensis</i> serovar kurstaki str. HD 73) (SEQ ID №: 93)	TTAATGTCACCTCCTTATCTTCTTGTGTTGATTTACATTA <u>AATAAGATAT</u> TGGAGTTGAGGAGATTTGGTCACAATCTCAAGACCTTTTTTTAAATA GGCGAAAGAGGATAAGGGAAGGTGGAATTA
Промотор YjcB ( <i>B. thuringiensis</i> serovar kurstaki str. HD73) (SEQ ID №: 94)	ATATATTTTCATAATACGAGAAAAAGCGGAGTTAAAAGAATGAGG GAACGGAAATAAAGAGTTGTT <u>CATATAGTAAATAGACAGAATTGAC</u> AGTAGAGGAGA
Промотор BxpB ( <i>B. thuringiensis</i> Al Hakam) (SEQ ID №: 95)	AAACTAAATAATGAGCTAAGCATGGATTGGGTGGCAGAATTATCTGC CACCCAATCC <u>CATGCTTAA</u> CGAGTATTATTATGTAAATTTCTTAAAT TGGGAACTTGTCTAGAACATAGAACCTGTCCTTTT <u>CATTA</u> ACTGAAA GTAGAAACAGATAAAGGAGTGAAAAACA
Промотор рамнозы ( <i>B. thuringiensis</i> Al Hakam) (SEQ ID №: 96)	ATCACTACAACGGGATGAGTTTGATGCGGATA <u>CATATGAGAAGT</u> ACCGGAAAGTGTTTGTAGAA <u>CATTACAA</u> AGATATATTATCTCCATCA TAAAGGAGAGATGCAAAG
Промотор CotY/CotZ ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 97)	CGCGCACCCTTCGTCGTACAACAACGCAAGAAGAAGTTGGGGATA CAGCAGTATTCTTATTAGTGATTTAGCACGCGGCGTAACAGGAGAA AACATTACGTTGATTCAGGGTAT <u>CATATCTT</u> AGGATAAATATAATA TTAATTTTAAAGGACAATCTCTACATGTTGAGATTGTCCTTTTTATT GTTCTTAGAAAGAACGATTTTTAACGAAAGTTCTTACCACGTTATGA ATATAAGTATAATAGTACACGATTTATTTCAGCTACGTA
Промотор BclC ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 98)	TGAAGTATCTAGAGCTAATTTACGCAAAGGAATCTCAGGACAACACT TTCGCAACACCTATATTTAAATTTAATAAAAAAAGAGACTCCGGAG TCAGAAATTATAAAGCTAGCTGGGTTCAAATCAAAAATTTCACTAAA ACGATATTATCAATACGCAGAAAATGGAAAAACGCCTTATCATAA GGCGTTTTTTCCATTTTTTCTTCAAACAACGATTTTACTATGACCAT TTAACTAATTTTGC <u>CATCTACTA</u> TGATGAGTTTCATTCACATTCTCAT

	TAGAAAGGAGAGATTTAATG
5 Промотор Сигма К ( <i>B. anthracis</i> Sterne) (SEQ ID №: 99)	TATATCATATGTA AAAATTAGTTCTTATTCCCA <u>CATATCATAT</u> TAGAAT CGCC <u>CATATTATA</u> CATGCAGAAA ACTAAGTATGGTATTATTCTTAAAT TGTTTAGCACCTTCTAATATTACAGATAGAATCCGTCATTTTCAACAG TGAACATGGATTTCTTCTGAACACA ACTCTTTTTCTTTCCTTATTTCCA AAAAGAAAAGCAGCCCATTTTAAAATACGGCTGCTTGTAATGTACAT TA
10 Промотор InhA ( <i>B. thuringiensis</i> Al Hakam) (SEQ ID №: 100)	TATCACATAACTCTTTATTTTAAATATTTTCGAC <u>CATAAAGTG</u> AAACTTT AATCAGTGGGGGCTTIGTTCATCCCCCACTGATTATTAATTGAACCA AGGGATAAAAAGATAGAGGGTCTGACCAGAAA ACTGGAGGGCATGA TTCTATAACAAAAAGCTTAATGTTTATAGAATTATGTCTTTTATATA GGGAGGGTAGTAAACAGAGATTTGGACAAAATGCACCGATTATC TGAATTTTAAAGTTTATAAAGGGGAGAAATG
15 Оперон 1 кластера BclA гликозилтрансферазы ( <i>B. thuringiensis</i> serovar konkukian str. 97-27) (SEQ ID №: 101)	ATTTTTACTTAGCAGTAAA ACTGATATCAGTTTTACTGCTTTTTCATT TTTAAATTCATTCATTAATCTTCCTTTTCTACATAGT <u>CATAATGTTG</u> TATGACATTCGTTAGGAGGCATTATA
20 Оперон 2 кластера BclA гликозилтрансферазы ( <i>B. thuringiensis</i> serovar kurstaki str. HD73) (SEQ ID №: 102)	ACATAAATTCACCTCCATAAAGCGTTCATTATATAGTAGATGCAAAA CCGAAAGAAAATGACACGGACATTTGAATTATTGAAAAGAAATCTT AAACTACTTGAACAATTTAAAAAAATGGAAAGTTTAGTATATGTATA <u>ACATATGATTG</u> ATTGGAAGAGGGTGATTA
25 Промотор гликозилтрансферазы ( <i>B. thuringiensis</i> Al Hakam) (SEQ ID №: 103)	TTCTATTTTCCA <u>CATAACATG</u> CTACGATTAATGGTTTTTGCAAA GCCTTCTTGGGAAGAAGGATTAGAGCGTTTTTTTATAGAAACCAAAA GTCATTAACAATTTAAGTTAATGACTTTTTTGTTCCTTTAAGAGG TTTTATGTTACTATAATTATAGTATCAGGTA CTAATAACAAGTATAAG TATTTCTGGGAGGATATATCA

[00143] В промоторных последовательностях, перечисленных в Таблице 2 выше, положения промоторных последовательностей сигма-К, специфических для полимеразы споруляции, обозначаются жирным шрифтом и подчеркнутым текстом. Промотор CryIA (*B. thuringiensis* HD-73; SEQ ID №: 90) имеет в общей сложности четыре последовательности сигма-К, две из которых перекрываются друг другом, как показано двойным подчеркиванием в таблице 2.

[00144] Предпочтительные сильные промоторы споруляции для использования в экспрессии гибридных белков в представителях семейства *Bacillus cereus* включают



промотор BetA (*B. anthracis* Sterne; SEQ ID №: 86), промотор BclA (*B. anthracis* Sterne; SEQ ID №: 85), промоторы оперонов 1 и 2 кластера BclA гликозилтрансферазы (*B. anthracis* Sterne; SEQ ID №№: 101 и 102), и промотор  $\beta$ -пропеллерного белка YVTN (*B. weihenstephensis* KBAВ 4; SEQ ID №: 89).

5 [00145] В любом из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, описанных в данном документе, гибридный белок может экспрессироваться под контролем промотора споруляции, содержащего последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с  
10 последовательностью нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID №: 85-103.

[00146] Если промотор споруляции содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID №№: 85-103, промоторная последовательность  
15 или последовательности сигма-К, специфические для полимеразы споруляции, предпочтительно имеют 100% идентичности с соответствующими нуклеотидами из SEQ ID №: 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102 или 103. Например, как показано в Таблице 2 выше, промотор BclA *B. anthracis* Sterne (SEQ ID №: 85) содержит промоторные последовательности сигма-К, специфические для полимеразы  
20 споруляции, на нуклеотидах 24-32, 35-43 и 129-137. Таким образом, если промотор споруляции включает последовательность, имеющую по меньшей мере 90% идентичности с последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID №: 85, предпочтительно, чтобы нуклеотиды промотора споруляции, соответствующие нуклеотидам 24-32, 35-43 и 129-137 из SEQ ID №: 85 имели 100% идентичности с нуклеотидами 24-32, 35-43 и 129-137 в  
25 SEQ ID №: 85.

#### Препараты

[00147] Данное изобретение также относится к препаратам, содержащим любой из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, описанных в предыдущем разделе, и сельскохозяйственно приемлемый носитель.

30 [00148] Сельскохозяйственно приемлемый носитель может представлять собой любой носитель, приемлемый для использования в сельском хозяйстве. Например, подходящие сельскохозяйственно приемлемые носители включают, но не ограничиваются этим, диспергирующие вещества, сурфактанты, примеси, воду, загустители, противослеживающиеся агенты, противоосадочные вещества, компостирующие  
35 препараты, гранулированные подкормки, диатомиты, масла, красители, стабилизаторы, консерванты, полимеры, пленки или их комбинации.

[00149] Добавка может представлять собой масло, камедь, смолу, глину, полиоксиэтиленгликоль, терпен, вязкую органику, сложный эфир жирной кислоты, сульфатированный спирт, алкилсульфонат, нефтяной сульфонат, сульфат спирта, алкил  
40 бутан diamate натрия, полиэфир тиобутандиоата натрия, производное бензол-ацетонитрила, белковый материал (молочный продукт, пшеничную муку, соевую муку, кровь, альбумин, желатин или их комбинацию) или их комбинацию.

[00150] Загуститель может включать длинную цепь алкилсульфоната полиэтиленгликоля, полиоксиэтиленолеат или их комбинацию.

45 [00151] Сурфактант может включать тяжелое нефтяное масло, тяжелый нефтяной дистиллят, сложный эфир полиола жирной кислоты, полиэтоксифированный эфир жирной кислоты, арилалкил полиоксиэтиленгликоля, алкиламин ацетат, алкиларилсульфонат, многоатомный спирт, алкилфосфат или их комбинацию.

[00152] Противодействующее слипанию вещество включает соль натрия, карбонат кальция, диатомит или их комбинацию. Например, соль натрия может включать монометил-нафталинсульфонат натриевую соль, диметил- нафталинсульфонат натриевую соль, сульфит натрия, сульфат натрия или их комбинацию.

5 [00153] Подходящие сельскохозяйственно приемлемые носители включают вермикулит, древесный уголь, отходы сатурационного пресса сахарного завода, рисовую шелуху, карбоксиметилцеллюлозу, торф, перлит, мелкий песок, карбонат кальция, муку, квасцы, крахмал, тальк, поливинилпирролидон или их комбинацию.

[00154] Препарат может включать препарат для покрытия семян, жидкий препарат, 10 применяемый для растений или для растительных ростовых сред, или твердый препарат, применяемый для растений или для растительных ростовых сред.

[00155] Например, композиция для покрытия семян может включать раствор на водной или масляной основе, применяемый для семян, или порошок или 15 гранулированный препарат, применяемый для семян. В альтернативном варианте композиция для покрытия семян может включать порошок или гранулированный препарат, применяемый для семян.

[00156] Жидкий препарат, применяемый для растений или для растительных ростовых сред, может включать концентрированный препарат или препарат, готовый для 20 использования.

[00157] Твердый препарат, применяемый для растений или для растительных ростовых сред, может включать гранулированный препарат или порошковое вещество.

[00158] Любой из указанных выше препаратов также может включать агрохимикат, например, удобрение, материал микроэлементов удобрения, инсектицид, гербицид, 25 фунгицид, моллюскоцид, альгицид, вещество, улучшающее рост растений, бактериальный инокулянт, грибковый инокулянт или их комбинацию.

[00159] Удобрение может включать жидкое удобрение.

[00160] Удобрение может включать сульфат аммония, нитрат аммония, сульфат- 30 нитрат аммония, хлорид аммония, бисульфат аммония, полисульфид аммония, тиосульфат аммония, водный раствор аммиака, безводный аммиак, полифосфат аммония, сульфат алюминия, нитрат кальция, известково-аммиачную селитру, сульфат кальция, обожженный магнезит, кальцитовый известняк, оксид кальция, нитрат кальция, доломитовый известняк, гашеную известь, карбонат кальция, диаммонийфосфат, моноаммонийфосфат, нитрат магния, сульфат магния, нитрат калия, хлорид калия, сульфат калия-магния, сульфат калия, нитраты натрия, магнезиальный известняк, оксид 35 магния, мочевины, карбамидоформальдегидные смолы, мочевино-аммониевый нитрат, покрытую серой мочевины, мочевины с полимерным покрытием, изобутилиден димочевину,  $K_2SO_4 \cdot 2MgSO_4$ , каинит, сильвинит, кизерит, эпсомскую соль, элементарную серу, мергель, измельченные устричные раковины, рыбную муку, жмыхи, рыбный тук, кровяную муку, фосфорит, суперфосфат, шлак, костную муку, древесную золу, навоз, 40 гуано летучих мышей, торф, компост, зеленый песок, муку из семян хлопчатника, муку из перьев, муку из крабов, рыбную эмульсию, гуминовую кислоту или их комбинацию.

[00161] Материал микроэлементного удобрения может включать борную кислоту, борат, борную фритту, сульфат меди, медную фритту, хелат меди, декагидрат тетрабората натрия, сульфат железа, оксид железа, сульфат железа-аммония, железную 45 фритту, хелат железа, сульфат марганца, оксид марганца, хелат марганца, хлорид марганца, марганцевую фритту, молибдат натрия, молибденовую кислоту, сульфат цинка, оксид цинка, карбонат цинка, цинковую фритту, фосфат цинка, хелат цинка или их комбинацию.

[00162] Инсектицид может включать органофосфат, карбамат, пиретроид, акарицид, алкил-фталат, борную кислоту, борат, фторид, серу, мочевины, замещенную ароматическим галоидом, углеводород сложного эфира, инсектицид на биологической основе или их комбинацию.

5 [00163] Гербицид может включать соединение хлорфенокси, нитрофенольное соединение, соединение нитрокрезола, соединение дипиридила, ацетамид, алифатическую кислоту, анилид, бензамид, бензойную кислоту, производное бензойной кислоты, анисовую кислоту, производное анисовой кислоты, бензонитрил, бензотиадиазинона диоксид, тиокарбамат, карбамат, карбанилат, хлорпиридинил, производное  
10 циклогексенона, производное динитроаминобензола, соединение фтор-динитротолуидин, изоксазолидинон, никотиновую кислоту, изопропиламин, производные изопропиламина, оксадиазолинон, фосфат, фталат, соединение пиколиновой кислоты, триазин, триазол, урацил, производное мочевины, эндотал, хлорат натрия или их комбинацию.

15 [00164] Фунгицид может включать замещенный бензол, тиокарбамат, этилен-бис-дитиокарбамат, тиофталид амид, соединение меди, ртутьорганическое соединение, оловоорганическое соединение, соединение кадмия, анилазин, беномил, циклогексамид, додин, этридиазол, ипродион, металаксил, тиамимефон, трифорин или их комбинацию.

[00165] Грибковый инокулянт может включать грибковый инокулянт из семейства  
20 *Glomeraceae*, грибковый инокулянт из семейства *Claroidoglomeraceae*, грибковый инокулянт из семейства *Gigasporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Acaulosporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Sacculosporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Entrophosporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Pacidsporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Diversisporaceae*, грибковый инокулянт из семейства  
25 *Paraglomeraceae*, грибковый инокулянт из семейства *Archaeosporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Geosiphonaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Ambisporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Scutellosporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Dentiscultataceae*, грибковый инокулянт из семейства *Racocetraceae*, грибковый инокулянт из типа *Basidiomycota*, грибковый инокулянт из типа *Ascomycota*, грибковый инокулянт  
30 из типа *Zygomycota* или их комбинацию.

[00166] Бактериальный инокулянт может включать бактериальный инокулянт из рода *Rhizobium*, бактериальный инокулянт из рода *Bradyrhizobium*, бактериальный инокулянт из рода *Mesorhizobium*, бактериальный инокулянт из рода *Azorhizobium*, бактериальный инокулянт из рода *Allorhizobium*, бактериальный инокулянт из рода  
35 *Sinorhizobium*, бактериальный инокулянт из рода *Kluyvera*, бактериальный инокулянт из рода *Azotobacter*, бактериальный инокулянт из рода *Pseudomonas*, бактериальный инокулянт из рода *Azospirillum*, бактериальный инокулянт из рода *Bacillus*, бактериальный инокулянт из рода *Streptomyces*, бактериальный инокулянт из рода *PaeniBacillus*, бактериальный инокулянт из рода *Paracoccus*, бактериальный инокулянт  
40 из рода *Enterobacter*, бактериальный инокулянт из рода *Alcaligenes*, бактериальный инокулянт из рода *Mycobacterium*, бактериальный инокулянт из рода *Trichoderma*, бактериальный инокулянт из рода *Gliocladium*, бактериальный инокулянт из рода *Glomus*, бактериальный инокулянт из рода *Klebsiella* или их комбинацию.

[00167] Бактериальный инокулянт может включать штамм бактерий, стимулирующий  
45 рост растения. Штамм бактерий, стимулирующий рост растений, может включать штамм бактерий, который продуцирует инсектицидный токсин (например, токсин Cry), продуцирует фунгицидное соединение (например,  $\beta$ -1,3-глюканаза, хитозиназа, литиказа или их комбинация), продуцирует нематоцидное соединение (например, токсин Cry),

продуцирует бактерицидное соединение, является устойчивым к одному или более антибиотикам, содержит одну или более самостоятельно реплицирующихся плазмид, прикрепляется к корням растений, колонизирует корни растений, формирует биопленки, растворяет питательные вещества, секретирует органические кислоты, или их

5 комбинации.

[00168] Например, бактериальный инокулянт может включать *Bacillus aryabhatai* CAP53 (NRRL № B-50819), *Bacillus aryabhatai* CAP56 (NRRL № B-50817), *Bacillus flexus* BT054 (NRRL № B-50816), *Paracoccus kondratievae* NC35 (NRRL № B-50820), *Bacillus mycoides* BT155 (NRRL № B-50921), *Enterobacter* клоаки CAP12 (NRRL № B-50822), *Bacillus nealsonii* BOBA57 (NRRL № NRRL B-50821), *Bacillus mycoides* EE118 (NRRL № B-50918), *Bacillus subtilis* EE148 (NRRL № B-50927), *Alcaligenes faecalis* EE107 (NRRL № B-50920), *Bacillus mycoides* EE141 (NRRL № B-50916), *Bacillus mycoides* BT46-3 (NRRL № B-50922), представителя семейства *Bacillus cereus* EE128 (NRRL № B-50917), *Bacillus Thuringiensis* BT013A (NRRL № B-50924), *PaeniBacillus massiliensis* BT23 (NRRL № B-50923),

10 представителя семейства *Bacillus cereus* EE349 (NRRL № B-50928), *Bacillus subtilis* EE218 (NRRL № B-50926), *Bacillus megaterium* EE281 (NRRL № B-50925), или их комбинации. Каждый из этих штаммов был помещен на хранение Центром сельскохозяйственных исследований (ЦСИ) Министерства сельского хозяйства США (МСХСША) по адресу: 1815 North University Street, Peoria, Illinois 61604 U.S.A., 11 марта 2013 года (*Bacillus*

20 *aryabhatai* CAP53, *Bacillus aryabhatai* CAP56, *Bacillus flexus* BT054, *Paracoccus kondratievae* NC35, *Enterobacter cloacae* CAP12, и *Bacillus nealsonii* BOBA57) или 10 марта 2014 года (*Bacillus mycoides* BT155, *Bacillus mycoides* EE118, *Bacillus subtilis* EE148, *Alcaligenes faecalis* EE107, *Bacillus mycoides* EE141, *Bacillus mycoides* BT46-3, представитель семейства *Bacillus cereus* EE128, *Bacillus thuringiensis* BT013A, *PaeniBacillus massiliensis* BT23, представитель

25 семейства *Bacillus cereus* EE349, *Bacillus subtilis* EE218, и *Bacillus megaterium* EE281), и идентифицируется по номерам NRRL, указанным в скобках.

[00169] Эти штаммы, стимулирующие рост растения, были выделены из ризосфер различных активно растущих растений и были идентифицированы по их последовательности 16S рРНК (указанной в данном документе как SEQ ID №№: 104-

30 121) и с помощью биохимических анализов. Данные штаммы были идентифицированы по меньшей мере до рода с помощью общих биохимических методов и морфологических показателей. Биохимические тесты для подтверждения грам-отрицательных штаммов, таких как *Paracoccus kondratievae*, *Alcaligenes faecalis* и *Enterobacter cloacae*, включали выращивание на среде MacConkey и питательном агаре, микроскопические исследования,

35 выращивание на среде, содержащей 5% и 7,5% NaCl, выращивание при pH 5 и pH 9, выращивание при 42°C и 50°C, способность продуцировать кислоту при ферментации с целлобиозой, лактозой, глицерином, глюкозой, сахарозой, d-маннитом и крахмалом; продуцирование флуоресцентных пигментов; гидролиз желатина; восстановление нитратов; продуцирование каталазы, гидролиз крахмала; оксидативная реакция,

40 продуцирование уреазы и подвижность. Аналогичным образом биохимические тесты для подтверждения грам-положительных штаммов, таких как *Bacillus* и *Paenibacillus*, включали выращивание на среде PEА и питательном агаре, микроскопические исследования, выращивание на среде, содержащей 5% и 7,5% NaCl, выращивание при pH 5 и pH 9, выращивание при 42°C и 50°C, способность продуцировать кислоту при

45 ферментации с целлобиозой, лактозой, глицерином, глюкозой, сахарозой, d-маннитом и крахмалом; продуцирование флуоресцентных пигментов; гидролиз желатина; восстановление нитратов; продуцирование каталазы, гидролиз крахмала; оксидативная реакция, продуцирование уреазы и подвижность. Идентификация этих штаммов и

демонстрация их стимулирующих эффектов на рост растений описаны далее в примерах, приведенных ниже.

[00170] Например, препарат может включать штамм бактерий, стимулирующий рост растения, включающий *Paracoccus kondratievae* NC35, *Bacillus aryabhatai* CAP53 или *Bacillus megaterium* EE281, причем данный препарат дополнительно содержит любой из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, описанных в данном документе, в том числе любой из описанных в данном документе штаммов рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, стимулирующих рост растений (например, рекомбинантный *Bacillus mycoides* BT155, *Bacillus mycoides* EE141 или *Bacillus thuringiensis* BT013A). Штамм рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, стимулирующий рост растения, может экспрессировать любой из гибридных белков, описанных в данном документе, например, гибридный белок, содержащий сигнальную последовательность SEQ ID №: 60 и негормональный пептид (например, ингибитор трипсина Кунитца (ИТК)), фермент, участвующий в продуцировании или активации соединения, стимулирующего рост растений (например, хитозиназы), белок или пептид, связывающийся с растением (например, TasA); белок или пептид, защищающий растение от патогенов (например, TasA), или фермент, который разрушает или изменяет бактериальные, грибковые или растительные источники питательных веществ (например, фосфатазы, такие как PhoA или фитазы, или эндоглюканазы).

20 Способы стимуляции роста растений

[00171] Данное изобретение также относится к способам стимуляции роста растений. Способ стимуляции роста растений включает введение в среду для роста растений любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, которые обсуждались выше, или любого из препаратов, которые обсуждались выше. В альтернативном варианте любой из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, которые обсуждались выше, или любой из препаратов, которые обсуждались выше, могут быть применены к растению, семени растения или области, окружающей растение или семя растений. В таких способах белок или пептид, стимулирующий рост растения, физически прикреплен к экзоспорию рекомбинантного представителя семейства *Bacillus*.

[00172] В альтернативном варианте способ стимуляции роста растений включает введение рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующего гибридный белок, в среду для роста растений, или применение рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующего гибридный белок, к растению, семени растения или области, окружающей растение или семя растения. Гибридный белок содержит по меньшей мере один белок или пептид, стимулирующий рост растения, и сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория. Белок или пептид, стимулирующий рост растения, физически прикреплен к экзоспорию рекомбинантного представителя семейства *Bacillus*. Сигнальная последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория может представлять собой любую из сигнальных последовательностей, белков экзоспория или фрагментов белка экзоспория, перечисленных ранее в параграфе [0005].

[00173] Сигнальная последовательность может дополнительно состоять из 16 аминокислот и иметь по меньшей мере около 43% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 54%. В альтернативном варианте сигнальная последовательность может состоять из аминокислот 1-35 из SEQ ID №: 1, аминокислот 20-35 из SEQ ID №: 1; SEQ ID №: 1 или SEQ ID №: 60.



[00180] Сигнальная последовательность может включать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 75% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 81%. В альтернативном варианте сигнальная последовательность состоит из аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющей по меньшей мере около 75% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 из SEQ ID №: 1 составляет по меньшей мере около 81%.

[00181] Сигнальная последовательность может включать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 81% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 81%. В альтернативном варианте сигнальная последовательность состоит из аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющей по меньшей мере около 81% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 81%.

[00182] Сигнальная последовательность может включать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 81% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 90%. В альтернативном варианте сигнальная последовательность состоит из аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющей по меньшей мере около 81% идентичности с аминокислотами 20-35 из SEQ ID №: 1, причем идентичность с аминокислотами 25-35 составляет по меньшей мере около 90%.

[00183] В альтернативном варианте белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория может включать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с любой из SEQ ID №№: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 59, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83 и 84.

[00184] Белок, стимулирующий рост растения, может включать фермент. Например, фермент может включать фермент, который разрушает или изменяет бактериальный, грибковый или растительный источник питательных веществ. Такие ферменты включают целлюлазы, липазы, оксидазы, лигнин протеазы, гликозид гидролазы, фосфатазы, нитрогеназы, нуклеазы, амидазы, нитрат редуктазы, нитрит редуктазы, амилазы, аммиак оксидазы, лигниназы, глюкозидазы, фосфолипазы, фитазы, пектиназы, глюканазы, сульфатазы, уреазы, ксиланазы и сидерофоры. При введении в среду для роста растений или применении на растение, семенах или области, окружающей растение или семя растений, гибридные белки, содержащие ферменты, которые разрушают или изменяют бактериальный, грибковый или растительный источник питательных веществ, могут помочь в обработке питательных веществ в непосредственной близости от растения и привести к повышенному поглощению питательных веществ растением или полезных бактериями или грибами в непосредственной близости от растения.

[00185] Подходящие целлюлазы включают эндоцеллюлазы (например, эндоглюканазу, такую как эндоглюканаза *Bacillus subtilis*, эндоглюканаза *Bacillus thuringiensis*, эндоглюканаза *Bacillus cereus* или эндоглюканаза *Bacillus clausii*), экзоглюканазы (например, экзоглюканазу *Trichoderma reesei*), и  $\beta$ -глюкозидазы (например,  $\beta$ -глюкозидазу *Bacillus subtilis*,  $\beta$ -глюкозидазу *Bacillus thuringiensis*,  $\beta$ -глюкозидазу *Bacillus cereus* или  $\beta$ -глюкозидазу *Bacillus clausii*).

[00186] Липаза может включать липазу *Bacillus subtilis*, липазу *Bacillus thuringiensis*, липазу *Bacillus cereus* или липазу *Bacillus clausii*.

[00187] Подходящие лигнин оксидазы включают лигнин пероксидазы, лакказы, глиоксал оксидазы, лигниназы и марганец пероксидазы.

5 [00188] Протеаза может включать субтилизин, кислую протеазу, щелочную протеазу, протеиназу, пептидазу, эндопептидазу, экзопептидазу, термолизин, папаин, пепсин, трипсин, проназу, карбоксилазу, сериновую протеазу, глутаминовую протеазу, аспартатную протеазу, цистеиновую протеазу, треониновую протеазу или металлопротеазу.

10 [00189] Фосфатаза может включать фосфорную моноэфир-гидролазу, фосфомоноэстеразу, (например, PhoA4), фосфорную диэфир-гидролазу, фосфодиэстеразу, трифосфорную моноэфир-гидролазу, фосфорил ангидрид-гидролазу, пирофосфатазу, фитазу, (например, фитазу *Bacillus subtilis* EE148 или фитазу *Bacillus thuringiensis* BT013A), триметафосфатазу или трифосфатазу.

15 [00190] Нитрогеназа может включать нитрогеназу из Nif семейства (например, NifBDEHKNXV Paeni *Bacillus massiliensis*).

[00191] В любом из описанных выше способов стимуляции роста растений растения, выращиваемые в среде для роста растений, содержащей рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, проявляют усиленный рост по сравнению с ростом растений  
20 в идентичной среде для роста растений, не содержащей рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*.

[00192] В любом из описанных выше способов стимуляции роста растений рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* может включать любой из описанных выше рекомбинантных штаммов бактерий, стимулирующих рост растений.

25 [00193] В любом из описанных выше способов стимуляции роста растений гибридный белок может экспрессироваться под контролем любого из промоторов, описанных ранее.

Способы защиты растения от патогена

[00194] Данное изобретение также относится к способам защиты растения от  
30 патогена. Такие способы включают введение любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, описанных выше, или любого из препаратов, описанных выше, в среду для роста растений. В альтернативном варианте такие способы включают применение любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*,  
35 описанных выше, или любого из препаратов, описанных выше, к растению, к семени растения или к области, окружающей растение или семя растения. В этих способах белок или пептид, защищающий растение от патогена, физически прикреплен к экзоспорию рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*.

[00195] Растения, выращиваемые в среде для роста растений, содержащей рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, менее восприимчивы к  
40 инфицированию патогеном по сравнению с растениями, выращиваемыми в идентичной среде для роста растений, не содержащей рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*. Снижение чувствительности к патогену может являться результатом стимуляции иммунной системы растения белком или пептидом, защищающим растение от патогена, или может являться результатом прямого или косвенного воздействия  
45 белка или пептида, защищающего растение от патогена, на патоген.

Способы повышения устойчивости к стрессу в растении

[00196] Данное изобретение также относится к способам повышения устойчивости к стрессу в растении. Такие способы включают введение любого из рекомбинантных



представителей семейства *Bacillus cereus*, описанных выше, или любого из препаратов, описанных выше в среде для роста растений. В альтернативном варианте такие способы включают применение любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, описанных выше, или любого из препаратов, описанных выше, к растению, к семени растения или к области, окружающей растение или семя растения. В этих способах белок или пептид, который повышает устойчивость к стрессу в растении, физически прикреплен к экзоспорию рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*.

[00197] Растения, выращиваемые в среде для роста растений, содержащей рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, менее восприимчивы к стрессу по сравнению с растениями, выращиваемыми в идентичной среде для роста растений, не содержащей рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*.

Способы иммобилизации спор рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus* на растении

[00198] Данное изобретение также относится к способам иммобилизации споры рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus* на растении. Эти способы включают введение любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, описанных выше, или любого из препаратов, описанных выше, в среду для роста растений. В альтернативном варианте такие способы включают применение любого из рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, описанных выше, или любого из препаратов, описанных выше, к растению, к семени растения или к области, окружающей растение или семя растения. Белок или пептид, связывающийся с растением, физически прикреплен к экзоспорию рекомбинантного представителя семейства *Bacillus*.

[00199] Эти способы позволяют споре представителя семейства *Bacillus cereus* связываться с растением таким образом, что спора остается на растении. Например, эти способы позволяют споре представителя семейства *Bacillus cereus* связываться с корнем растения или с надземной частью растения (например, листья, стебли, плоды или цветы) таким образом, что спора остается на корневой структуре растения или на его надземной части и не проникает в среду роста растения или в среду, окружающую надземные части растения.

[00200] В любом из способов иммобилизации спор рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus* на растении белок или пептид, связывающийся с растением, может избирательно воздействовать и удерживать представителя семейства *Bacillus cereus* на растительной структуре или субструктуре (например, на корнях растения или субструктуре корней растения или на воздушной части растения или субструктуре воздушной части растения).

Среда роста растений

[00201] В любом из описанных выше способов среда для роста растений представляет собой материал, который способен поддерживать рост растений. Среда роста растений может включать почву, воду, водную среду, песок, гравий, полисахарид, мульчу, компост, торф, солому, древесину, глину, соевую муку, дрожжевой экстракт или их комбинацию. Например, среда для роста растений включает почву, компост, торф или их комбинацию.

[00202] Среда роста растений необязательно может быть с добавлением субстрата для фермента. Например, субстрат может включать триптофан, аденозинмонофосфат, аденозиндифосфат, аденозинтрифосфат (например, аденозин-3-трифосфат), индол, триметафосфат, ферродоксин, ацетоин, диацетил, пируват, ацетолактат, пектин, целлюлозу, метилцеллюлозу, крахмал, хитин, пектин, белковую муку, производное целлюлозы, фосфат, ацетоин, хитозан, неактивное производное индол-3-уксусной

кислоты, неактивное производное гибберелловой кислоты, ксилан, холин, производное холина, пролин, полипролин, пролин-содержащую муку, пролинсодержащий белок, фенилаланин, хоризмат, арабиноксилан, жир, воск, масло, фитиновую кислоту, лигнин, гуминовую кислоту, холин, производное холина или их комбинацию.

5 Способы применения

[00203] В любом из описанных выше способов рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* или препарат может быть введен в среду роста растения или применен к растению, семенам растения или области, окружающей растение или семя растения.

10 [00204] Например, способ может включать покрытие семян рекомбинантным представителем семейства *Bacillus cereus* или препаратом, содержащим рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, до посадки.

[00205] В альтернативном варианте способ может включать применение рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus* или препарата к воздушной части растения, например, к листьям, стеблям, плодам или цветам. Например, рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* или препарат может быть распылен, нанесен щеткой, инфильтрирован или иным способом применен к листьям или другим воздушным частям растения.

15 [00206] Способ может включать введение рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus* в среду для роста растений путем применения жидкого или твердого препарата, содержащего рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus* к среде (например, почве, компосту, торфу или их комбинации).

[00207] Препарат может быть применен к среде для роста растений до, одновременно с или после посадки семян, саженцев, черенков, луковиц или растений в среду для роста растений.

25 Дополнительное применение агрохимикатов

[00208] Любой из описанных выше способов может дополнительно включать введение по меньшей мере одного агрохимиката в среду для роста растений или применения по меньшей мере одного агрохимиката на растения или семена. Агрохимикат может представлять собой любой из перечисленных выше, предназначенных для включения в препараты, или любую их комбинацию.

30 Растения

[00209] Вышеуказанные способы могут быть осуществлены на различных растениях. Например, растения могут относиться к двудольным, однодольным или голосеменным.

35 [00210] Например, если растение относится к двудольным, двудольные могут быть выбраны из группы, состоящей из фасоли, гороха, томатов, перца, кабачков, люцерны, миндаля, аниса, яблока, абрикоса, артишока, арракачи, авокадо, земляных бобов, свеклы, бергамота, черного перца, акации черной, ежевики, черники, апельсина горького, бок чой, бразильского ореха, хлебного дерева, брокколи, бобов, брюссельской капусты, гречки, капусты, рыжика, китайской капусты, какао, дыни, тмина, артишока испанского, рожкового дерева, моркови, ореха кешью, маниоки, клещевины обыкновенной, цветной капусты, сельдерея корневого, сельдерея салатного, вишни, каштана, нута, цикория, перца чили, хризантемы, корицы, цитрона, клементина, гвоздики, клевера, кофе, гуру, рапса, кукурузы, хлопка, хлопчатника, коровьего гороха, крамбе, клюквы, кресс-салата, 40 огурца, смородины, кремовой яблони, кассии пучковатой, чины клубненосной, баклажана, цикория-эндивия, укропа, пажитника, риса, фундука, льна, герань, крыжовника, тыквы, винограда, грейпфрута, гуавы, конопли, хны, хмеля, конских бобов, хрена, индиго, жасмина, топинамбура, джута, капусты кормовой, капка, кенафа,

кольраби, кумквата, лаванды, лимона, чечевицы, леспедецы, салата-латука, лайма  
 настоящего, солодки, личи, мушмула, люпин, ореха макадами, булава, мандарин,  
 кормовой, манго, мушмулы японской, дыни, мяты, шелковицы, горчицы, нектарина,  
 5 масличного нуга, мускатного ореха, бамии, маслины, опиумного мака, апельсина,  
 папайи, пастернака, гороха, персика, арахиса, груши, ореха пекана, хурмы, голубино  
 гороха, фисташкового ореха, подорожника, сливы, граната, грейпфрута, мака,  
 картофеля, сладкого картофеля, чернослива, тыквы, квебрахо, айвы, деревьев из рода  
 Cinchona, лебеды, редиса, рами, рапса, малины, нанду, ревня, розы, фикуса  
 10 каучуконосного, брюквы, сафлора, эспарцета, козлотородника, саподиллы, мандарина  
 уншиу, козлеца испанского, кунжута, масляного дерева, сои, шпината, кабачка,  
 клубники, сахарной свеклы, сахарного тростника, подсолнечника, сладкого перца,  
 танжерина, чая, теффа, табака, помидора, трилистника, тунга, репы, растения рода  
 Urena, вики, грецкого ореха, арбуза, мате, сурепки, пастушей сумки, кресс-салата, ярутки,  
 иллициума настоящего, лавра, лавра благородного, кассии, джамболана, укропа,  
 15 тамаринда, мяты перечной, орегана, розмарина, шалфея, сметанного яблока,  
 щитолистника, калофилла, момордики харантской, лумбанга, инокарпуса съедобного,  
 базилика, черники облиствленной, гибискуса, пассифлоры, златолиста каймито,  
 сассафрасы, кактуса, зверобоя, вербейника, боярышника, кориандра, карри, киви,  
 тимьяна, цуккини, улюки, джикамы, гидрофиллума, стрихноса колючего, момбина  
 20 желтого, карамболя, амаранта, васоби, японского перца, желтой сливы, настурции  
 клубненоносной, *Toona sinensis*, новозеландского шпината, тетрагонии, угу, пажмы,  
 песчанка, момбина пурпурного, малайского яблока, акмеллы осота огородного,  
 китайского картофеля, смирнии европейской, гулявника лекарственного, смолевки,  
 агата, дерева кассия, чертополоха, кровохлебки, антильской крыжовника, солянки,  
 25 солероса, щавля, птеридиса мечевидного, капусты листовой, примулы, первоцвет,  
 портулака, спорыша, терпентинного дерева, пизонии белой, дикого бетеля,  
 западноафриканского перца, эриодиктиона клейкого, эстрагона, петрушки, кервеля,  
 сурепки весенней, бедренца камнеломкового, липшии сладкой, белокопытника, сисо,  
 водяного перца, периллы, паркии красивой, оки, кампонга, китайской сельеры, лимонного  
 30 базилика, тайского базилика, водяной мимозы, кокорыша, кордилины южной, моринги,  
 мирабилиса, страусника обыкновенного, лимнофилы ароматной, лимнохариса желтого,  
 любистка, клоповника, маки, бутылочной тыквы, лобия, водяного шпината, пазника  
 стержнекорневого, хаттунии сердцевидной, окинавского шпината, глинуса  
 лядвенцевидного, галинсоги мелкоцветковой, синеголовника пахучего, рукколы,  
 35 артишока испанского, циклантеры съедобной, петрушки японской, чипиля, критму  
 морского, кратоксилума красивого, иван-чая, кокцинии индийской, бодяка огородного,  
 крамбе приморской, чхайи, кионы, горчицы эфиопской, мари гигантской, мари  
 цельнолистной, еразоле, мари белой, центеллы перьевидной, петушиного гребня,  
 каперсника, брокколи рапини, пекинской капусты, курчаволистной горчицы, савойской  
 40 капусты, кай-лан, листовой горчицы, базеллы белой, мангольда, алтея лекарственного,  
 вьющейся акации, канатника Теофраста, паприки, биксы аннатовой, мяты курчавой,  
 чабера, майорана, тмина, ромашки, мелиссы, душистого перца, черника, черимойи,  
 морошки, терносливы, питайи, дуриана, бузины, фейхоа, джекфрута, ююбы, физалиса,  
 мангостана, рамбутана, красной смородины, черной смородины, гаультерии шаллон,  
 45 фрукта угли фрукты, фасоли адзуки, черной фасоли, коровьего гороха, вьющейся  
 фасоли, фасоли обыкновенной, фасоли зеленой, фасоли лимской, фасоли золотистой,  
 фасоли многоцветковой, фасоли пинто, фасоли огненно-красной, стручкового гороха,  
 спаржевой капусты, крапивы, радикью, редьки японской, редьки белой, поручейника

сахарного, японского горчичного шпината, брокколини, редьки черной, лопуха, конских бобов, итальянской брокколи, боба индийского, люпина, стеркулии, боба бархатного, боба крылатого, боба бататового, акации безжилковой, вероники, акации песчаной, акации Муррея, акации колючей, акации иволистой, акации жилистой, чиа, бука, свечного  
 5 дерева, арбуза кормового, меликокки, ореха Майя, монгонго, ирвингию, райского ореха и чемпедака.

[00211] В альтернативном варианте двудольные могут относиться к семействам, выбранным из группы, состоящей из Acanthaceae (акант), Aceraceae (клен), Achariaceae, Achatocarpaceae (ачатокарпус), Actinidiaceae (киви), Adoxaceae (адокса), Aextoxicaceae,  
 10 Aizoaceae (фи́га готтентотская), Akaniaceae, Alangiaceae, Alseuosmiaceae, Alzateaceae, Amaranthaceae (амарант), Amborellaceae, Anacardiaceae (сумах), Ancistrocladaceae, Anisophylleaceae, Annonaceae (аннона сетчатая), Apiaceae (морковь), Aprocynaceae (кутра), Aquifoliaceae (паду́б), Araliaceae (женьшень), Aristolochiaceae (кирказон), Asclepiadaceae (ваточник), Asteraceae (а́стра), Austrobaileyaaceae, Balanopaceae, Balanophoraceae  
 15 (баланофора), Balsaminaceae (мимоза стыдливая), Barbeyaceae, Barclayaceae, Basellaceae (базелла), Bataceae (солерос), Begoniaceae (бегония), Berberidaceae (барбарис), Betulaceae (береза), Bignoniaceae (камписис укореняющийся), Bixaceae (аннато), Bombacaceae (хлопковое дерево), Boraginaceae (огуречная трава), Brassicaceae (горчица, также Cruciferae), Bretschneideraceae, Brunelliaceae (брунеллия), Bruniaceae, Brunoniaceae,  
 20 Buddlejaceae (буддлея Давида), Burseraceae (босвеллия), Buxaceae (самшит), Byblidaceae, Cabombaceae (бразения), Cactaceae (кактус), Caesalpiniaceae, Callitrichaceae (болотник), Calycanthaceae (ластовень Шорта), Calyceraceae (калицера), Campanulaceae (колокольчик), Canellaceae (корица), Cannabaceae (конопля), Capparaceae (каперсы колючие), Carifoliaceae (жимолость), Cardiopteridaceae, Caricaceae (папайя), Caryocaraceae (кариокар ореховый),  
 25 Caryophyllaceae (гвоздика), Casuarinaceae (казуарина), Cecropiaceae (цекропия), Celastraceae (паслен сладко-горький), Cephalotaceae, Ceratophyllaceae (роголистник), Cercidiphyllaceae (церцидифиллум), Chenopodioidae (лебеда), Chloranthaceae (хлорант), Chrysobalanaceae (икако), Circaeasteraceae, Cistaceae (ладанник), Clethraceae (клетра), Clusiaceae (мангостан, также Clusiaceae), Sneyaceae, Columelliaceae, Combretaceae (индийский миндаль),  
 30 Compositae (а́стра), Connaraceae (коннарус), Convolvulaceae (ипомея), Coriariaceae, Cornaceae (кизил), Согупосарпасае (коринокарпус), Crassulaceae (очиток), Crossosomataceae (кроссосома), Crypteroniaceae, Cucurbitaceae (огурец), Cunoniaceae (кунония), Cuscutaceae (повилика), Cyrillaceae (цирилла), Daphniphyllaceae, Datisceae (датиска), Davidsoniaceae, Degeneriaceae, Dialypetalanthaceae, Diapensiaceae (диапенсия), Dichapetalaceae, Didiereaceae,  
 35 Didymelaceae, Dilleniaceae (дилления), Dioncophyllaceae, Dipentodontaceae, Dipsacaceae (ворсянка), Dipterocarpaceae (шорея), Donatiaceae, Droseraceae (росянка), Duckeodendraceae, Ebenaceae (черное дерево), Elaeagnaceae (лох), Elaeocarpaceae (элеокарпус), Elatinaceae (повойничек), Empetraceae (водяника), Ericaceae (эрика), Erythroxylaceae (кока), Eucommiaceae, Eucryphiaceae,  
 40 Euphorbiaceae (молочай), Eupomatiaceae, Eupteleaceae, Fabaceae (горох или бобы), Fagaceae (бук), Flacourtiaceae (флакуртия), Fouquieriaceae (фукьерия блестящая), Frankeniaceae (франкения), Fumariaceae (дымянка), Garryaceae (гаррия), Geissolomataceae, Gentianaceae (горечавка), Geraniaceae (герань), Gesneriaceae (геснера), Globulariaceae, Gomortegaceae, Goodeniaceae (гудения), Greyiaceae, Grossulariaceae (смородина), Grubbiaceae, Gunneraceae  
 45 (гуннера), Gyrostemonaceae, Haloragaceae (уруть), Hamamelidaceae (гамамелиса), Hernandiaceae (эрнадия), Himantandraceae, Hippocastanaceae (конский каштан), Hippocrateaceae (Hippocratea), Hippuridaceae (водяная сосенка), Hoplestigmataceae, Huaceae, Hugoniaceae, Humiriaceae, Hydnoaceae, Hydrangeaceae (гортензия), Hydrophyllaceae

(водолюб), Hydrostachyaceae, Icacinaceae (икацина), Idiospermaceae, Illiciaceae (анис звездчатый), Ixonanthaceae, Juglandaceae (грецкий орех), Julianiaceae, Krameriaceae (ратания), Lacistemataceae, Lamiaceae (мята, также Labiatae), Lardizabalaceae (лардизабала), Lauraceae (лавр), Lecythidaceae (бразильский орех), Leeaceae, Leitneriaceae (пробковое дерево),  
 5 Lennoaceae (ленноа), Lentibulariaceae (пузырчатка), Limnanthaceae (пенник луговой), Linaceae (лен), Lissocarpaceae, Loasaceae (лоаза), Loganiaceae (логания), Loranthaceae (ремнецветник), Lythraceae (вербейник), Magnoliaceae (магнолия), Malesherbiaceae, Malpighiaceae (мальпигия), Malvaceae (мальва), Marcgraviaceae (маркгавия), Medusagynaceae, Medusandraceae, Melastomataceae (меластома), Meliaceae (красное дерево),  
 10 Melianthaceae, Mendonciaceae, Menispermaceae (луносемянник), Menyanthaceae (вахта трилистная), Mimosaceae, Misodendraceae, Mitrastemonaceae, Molluginaceae (моллюго мутовчатая), Monimiaceae (монимия), Monotropaceae (вертляница одноцветковая), Moraceae (шелковица), Moringaceae (моринга), Myoporaceae (миопорум), Muriaceae (восковница), Murrillaceae (мускатный орех), Myrothamnaceae, Myrsinaceae (мурсин),  
 15 Миртовые (мирт), Nelumbonaceae (лотос), Nephenthaceae (непентес кхаси), Neuradaceae, Nolanaceae, Nothofagaceae, Nuytaginaceae (ночная красавица), Nymphaeaceae (кувшинка), Nyssaceae (нисса лесная), Ochnaceae (охна), Olacaceae (олак), Oleaceae (оливка), Oliniaceae, Onagraceae (энотера), Oncothecaceae, Opiliaceae, Orobanchaceae (заразиха), Oxalidaceae (кислица обыкновенная), Paeoniaceae (пион), Pandaceae, Paraveraceae (мак), Papilionaceae,  
 20 Parascyphiaceae, Passifloraceae (пассифлора), Pedaliaceae (кунжут), Pellicieraceae, Penaeaceae, Pentaphragmataceae, Pentaphylacaceae, Peridiscaceae, Physenaceae, Phytolaccaceae (лаконоса), Piperaceae (перец), Pittosporaceae (питтоспорум), Plantaginaceae (подорожник), Platanaceae (платан), Plumbaginaceae (свинчатка), Podostemaceae (подостемовые), Polemoniaceae (флокс), Polygalaceae (молочай), Polygonaceae (гречка), Portulacaceae (портулак),  
 25 Primulaceae (примула), Proteaceae (протей), Punicaceae (гранат), Pyrolaceae (грушанка), Quinaceae, Rafflesiaceae (раффлезия), Ranunculaceae (лютик), Resedaceae (резеда), Retziaceae, Rhabdodendraceae, Rhamnaceae (крушина), Rhizophoraceae (красное мангровое дерево), Rhoipteleaceae, Rhynchosalycaceae, Rosaceae (роза), Rubiaceae (марена), Rutaceae (рута), Sabiaceae (сабия), Saccifoliaceae, Salicaceae (ива), Salvadoraceae, Santalaceae  
 30 (сандаловое дерево), Sapindaceae (сапиндус), Sapotaceae (саподилла), Sarcolaenaceae, Sargentodoxaceae, Sarracenaceae (саррацения), Sauguraceae (заурурус поникший), Saxifragaceae (камнеломка), Schisandraceae (лимонник), Scrophulariaceae (норичник), Scyphostegiaceae, Scyropetalaceae, Simaroubaceae (кассия), Simmondsiaceae (жожоба), Solanaceae (картофель), Sonneratiaceae (соннератия), Sphaerosepalaceae, Sphenocleaceae  
 35 (спенокля), Stackhousiaceae (стакхузия), Stachyuraceae, Staphyleaceae (клетчатка), Sterculiaceae (какао), Stylidiaceae, Stygaceae (стиракс), Surianaceae (суриана), Symplocaceae (симплокос красильный), Tamaricaceae (тамарикс), Ternstroemiaceae, Tetracentraceae, Tetrameristaceae, Theaceae (чай), Theligonaceae, Theophrastaceae (теофраст), Thymelaeaceae (волчье лыко), Ticodendraceae, Tiliaceae (липа), Tovariaceae, Trapaeeaceae (водяной орех),  
 40 Tremandraceae, Trigoniaceae, Trimeniaceae, Trochodendraceae, Tropaeolaceae (настурция), Turneraceae (турнера), Ulmaceae (вяз), Urticaceae (крапива), Valerianaceae (валериан), Verbenaceae (вербена), Violaceae (фиалка), Viscaceae (омела), Vitaceae (виноград), Vochysiaceae, Winteraceae (винтера), Xanthophyllaceae и Zygophyllaceae (креозотовый куст).

45 [00212] Если растения относятся к однодольным, однодольные могут быть выбраны из группы, состоящей из кукурузы, пшеницы, овса, риса, ячменя, проса, банана, лука, чеснока, спаржи, плевела, фонио, райшана, нипы, куркумы, шафраны, калганы, чеснока, кардамона, финика, ананаса, лука-шалота, лука-порей, водяного каштана, дикого лука,

бусенника, бамбука, дагусса, вольфии бескорневой, маланги, ксантосомы, абаки, ареки, африканского проса, бетеля, сорго технического, цитронеллы, кокоса, колоказии съедобной, кукурузы, сорго, твердой пшеницы, эдо, фуркреа, формо, имбиря, ежы сборной, эспарто, суданской травы, сорго гвинейского, мексиканской пеньки, гибридной кукурузы, джовара, сорго лимонного, агавы, проса тростникового, проса пальчатого, проса итальянского, проса японского, проса обыкновенного, льна новозеландского, овса, масличной пальмы, пальмировой пальмы, саговой пальмы, полевицы белой, сизаля, пшеницы спельты, сахарной кукурузы, сорго сахарного, таро, теффа, тимофеевки луговой, тритикале, ванили, пшеницы и батата.

[00213] В альтернативном варианте однодольные могут относиться к семействам, выбранным из группы, состоящей из *Asoraceae* (aira), *Agavaceae* (агава американская), *Alismataceae* (частуха подорожниковая), *Aloeaceae* (алоэ), *Aponogetonaceae* (апоногетон двуколосый), *Araceae* (арум), *Arecaceae* (пальма), *Bromeliaceae* (бромелия), *Burmanniaceae* (бурманния), *Vutomaceae* (сусак зонтичный), *Cannaceae* (пушница), *Centrolepidaceae*, *Commelinaceae* (традесканция), *Corsiaceae*, *Costaceae* (костус), *Cyanastraceae*, *Cyclanthaceae* (панамская пальма), *Cymodoceaceae* (сирингодидум), *Cyperaceae* (осока), *Dioscoreaceae* (батат), *Eriocaulaceae* (шерстестебельник), *Flagellariaceae*, *Geosiridaceae*, *Haemodoraceae* (тысячелистник), *Hanguanaceae* (гангуана), *Heliconiaceae* (хеликония), *Hydatellaceae*, *Hydrocharitaceae* (валлиснерия), *Iridaceae* (ирис), *Joinvilleaceae* (жуанвилея), *Juncaceae* (тростник), *Juncaginaceae* (триостренник), *Lemnaceae* (ряска), *Liliaceae* (лилия), *Limncharitaceae* (гидроклеис кувшинковидный), *Lowiaceae*, *Marantaceae* (маранта беложилчатая), *Maуасеae* (маяка), *Musaceae* (банан), *Najadaceae* (кувшинка пахучая), *Orchidaceae* (орхидея), *Pandanaceae* (панданус), *Petrosaviaceae*, *Philydraceae* (филидровые), *Poaceae* (травы), *Pontederiaceae* (водяной гиацинт), *Posidoniaceae* (посидония), *Potamogetonaceae* (рдест), *Rapateaceae*, *Restionaceae*, *Ruppiaceae* (паспалум двухрядный), *Scheuchzeriaceae* (шейхцерия), *Smilacaceae* (смилакс), *Sparganiaceae* (ежеголовник малый), *Stemonaceae* (стемона), *Strelitziaceae*, *Taccaceae* (така), *Thurniaceae*, *Triuridaceae*, *Typhaceae* (рогоз), *Velloziaceae*, *Xanthorrhoeaceae*, *Xyridaceae* (сисиринхиум полосатый), *Zannichelliaceae* (цаникеллия болотная), *Zingiberaceae* (имбирь) и *Zosteraceae* (зостера).

[00214] Если растения относятся к голосеменным, голосеменные могут относиться к семействам, выбранным из группы, состоящей из *Araucariaceae*, *Boweniaceae*, *Cephalotaxaceae*, *Cupressaceae*, *Cycadaceae*, *Ephedraceae*, *Ginkgoaceae*, *Gnetaceae*, *Pinaceae*, *Podocarpaceae*, *Taxaceae*, *Taxodiaceae*, *Welwitschiaceae* и *Zamiaceae*.

#### ПРИМЕРЫ

[00215] Следующие не ограничивающие примеры предназначены для дополнительной иллюстрации настоящего изобретения.

Пример 1. Использование рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, выводящего липазы или эндоглюканазы для стимуляции роста растений сои.

[00216] Гены липазы и эндоглюканазы *Bacillus subtilis* были амплифицированы с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием следующих праймеров, приведенных ниже в таблице 3:

**Таблица 3**

	липаза	эндоглюканаза
5 прямой	ggatccatggctgaacacaatcc (SEQ ID №: 37)	ggatccatgaaacgggtcaatc (SEQ ID №: 39)
обратный	ggatccttaattcgtattctggcc (SEQ ID №: 38)	ggatccttactaatttgggtctgt (SEQ ID №: 40)

10 [00217] Для создания гибридных конструкций гены сливали с нативным промотором BclA ДНК *Bacillus thuringiensis*, которая кодирует первые 35 аминокислот BclA (аминокислоты 1-35 из SEQ ID №: 1) с использованием техники сплайсинга путем перекрывающихся участков (SOE). Правильные ампликоны были клонированы в челночный вектор *E. coli/Bacillus* рHP13 и правильные клоны были скринированы ДНК секвенированием последовательности ДНК. Правильные клоны были

15 электропорированы в *Bacillus Thuringiensis* (Cry-, плаزمид-) и скринированы на устойчивость к хлорамфениколу. Правильные трансформанты выращивали в сердечно-мозговом бульоне в течении ночи при 30°C, высевали на чашки с питательным агаром и инкубировали при 30°C в течение 3 дней. Споры, экспрессирующие гибридную

20 конструкцию (BEMD споры), были собраны с чашек путем промывки в фосфатном буферном солевом растворе (PBS) и очищали центрифугированием и дополнительными промывками в натрий-фосфатном буфере. Нетрансформированные контрольные споры *Bacillus thuringiensis* (Bt.) получали идентичным образом.

25 [00218] Соевые бобы (штамм Jake 011-28-04) были посажены на 2,54 см в глубину в горшки глубиной 10 см со стандартным верхним суглинистым слоем. Споры разбавляли до концентрации  $1 \times 10^4$ /мл в 50 мл воды и применяли к каждому семени при посадке. Растения выращивали при идеальном освещении, используя лампы T5, 54 Вт, и 11-часовой световой экспозиции в день, при контролируемых температурных условиях в пределах 15,5-25,5°C. Растения поливали до насыщения каждые три дня в течение

30 двухнедельного обследования. В конце двух недель измеряли высоту каждого растения, и измерения были нормализованы к контрольным спорам *Bacillus thuringiensis*. Было проведено два независимых исследования.

[00219] Результаты показаны в таблице 4 вместе со стандартной ошибкой среднего. В обоих испытаниях растения сои, выращенные в присутствии спор ВЭВ, выводящих

35 липазу или эндоглюканазу, выросли значительно выше, чем контрольные растения сои, обработанные спорами Bt. (статистический анализ проводили с помощью t-теста).

**Таблица 4**

	Обработка	Соя	Сравнение с контролем	Стандартная ошибка среднего
40		Средняя высота, см		

45

				<b>значения (СОС)</b>
Испытание № 1	контроль <i>Bt</i>	14,034	100,0%	0,521
	липаза, ВЭВ	17,93	127,8%	0,395
	эндоцеллюлаза, ВЭВ	16,31	116,2%	0,411
Испытание № 2	контроль <i>Bt</i>	15,39	100,0%	0,749
	липаза, ВЭВ	19,15	124,4%	0,428
	эндоцеллюлаза, ВЭВ	17,65	114,7%	0,313

Пример 2. Использование рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, выводящего эндоглюканазу, для стимуляции роста растений кукурузы.

[00220] ВЭВ споры, экспрессирующие эндоглюканазу были созданы идентичным образом, как описано выше в примере 1. Кукуруза была посажена на 3,8 см в глубину 3 см в горшки глубиной 10 см со стандартным верхним суглинистым слоем. Споры, контрольные и ВЭВ, экспрессирующие эндоглюканазу, разводили до концентрации  $1 \times 10^4$ /мл в 50 мл воды и применяли к каждому растению при посадке. Также был включен контроль с одной водой. Растения были выращены при идеальном свете, используя лампы Т5, 54 Вт, и 11-часовой световой экспозиции в день, при контролируемых температурных условиях в пределах 15,5-25,5°C. Растения поливали до насыщения каждые три дня в течение одной недели испытаний. В конце двух недель измеряли высоту каждого растения, и измерения были нормализованы к контрольным спорам *Bacillus thuringiensis*.

[00221] Результаты приведены в таблице 5, вместе со стандартной ошибкой среднего. Кукуруза, выращенная в присутствии ВЭВ спор, выводящих эндоглюканазу, выросла значительно выше, чем контрольные растения сои, обработанные спорами *Bt.*, и контрольные растения, обработанные только водой (статистический анализ проводили с помощью t-теста).

**Таблица 5.**

	<b>Высота, см</b>	<b>Сравнение</b>	<b>СОС</b>
H <sub>2</sub> O	15,44	100%	0,318
<i>Bt</i>	18,92	122. 50%	0,645
ВЭВ Эндо	22,71	143. 40%	0,616

Пример 3. Использование рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, выводящего эндоглюканазы или протеазы для стимуляции роста растений пшеницы.

[00222] Споры ВЭВ, экспрессирующие эндоглюканазу, были созданы идентичным образом, как описано выше в примере 1. Споры ВЭВ, эспрессирующие протеазу PtrB *E. coli*, были созданы с использованием аналогичных способов, которые описаны выше



в примере 1, и следующих праймеров: ggatccatgctaccsaaaagcc (прямой, SEQ ID №: 41) и ggatcccttagtcccgaggcgtagc (обратный, SEQ ID №: 42).

[00223] Твердая озимая пшеница была посажена на 2,54 см в глубину в горшки глубиной 10 см со стандартным верхним суглинистым слоем. Споры, контроль и ВЭВ, экспрессирующие эндоглюканазу или протеазу, разводили до концентрации  $1 \times 10^4$ /мл в 50 мл воды и применяли к каждому растению при посадке. Также был включен контроль только с водой. Растения выращивали при идеальном освещении, используя лампы Т5, 54 Вт, и 11-часовой световой экспозиции в день, при контролируемых температурных условиях в пределах 15,5-25,5°C. Растения поливали до насыщения каждые три дня в течение одной недели испытаний. В конце одной недели измеряли высоту каждого растения, и измерения были нормализованы по контрольным растениям.

[00224] Результаты приведены в таблице 6, вместе со стандартной ошибкой среднего. Пшеница, росшая в присутствии спор ВЭВ, выводящих эндоглюканазу или протеазу, выросла значительно выше, чем контрольные растения сои, обработанные спорами *V.t.*, и контрольные растения, обработанные только водой (статистический анализ проводили с помощью t-теста).

**Таблица 6.**

	<b>Высота, см</b>	<b>Сравнение</b>	<b>СОС</b>
H <sub>2</sub> O	18,11	100%	0,721

<b>контроль <i>Vt</i></b>	<b>19,96</b>	<b>110,33%</b>	<b>0,752</b>
<b>ВЭВ эндо</b>	<b>24,76</b>	<b>136,80%</b>	<b>0,21</b>
<b>ВЭВ протеаза</b>	<b>22,35</b>	<b>123,40%</b>	<b>0,354</b>

Пример 4. Использование рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus*, выводящего эндоглюканазу для стимуляции роста растений плевела.

[00225] Споры ВЭВ, экспрессирующие эндоглюканазу, были созданы идентичным образом, как описано выше в примере 1. Пастбищный плевел был посажен на 6,4 мм в глубину в горшки глубиной 10 см со стандартным верхним суглинистым слоем. Споры, контроль и ВЭВ, экспрессирующие эндоглюканазу, разводили до концентрации  $1 \times 10^4$ /мл в 50 мл воды и применяли к каждому растению при посадке. Также был включен контроль только с водой. Растения выращивали при идеальном освещении, используя лампы Т5, 54 Вт, и 11-часовой световой экспозиции в день, при контролируемых температурных условиях в пределах 15,5-25,5°C. Растения поливали до насыщения каждые три дня в течение двухнедельного обследования. В конце двух недель измеряли высоту каждого растения, и измерения были нормализованы по контрольным растениям, обработанным только водой.

[00226] Результаты приведены в таблице 7, вместе со стандартной ошибкой среднего. Плевел, выращенный в присутствии спор ВЭВ, выводящих эндоцеллюлазу, вырос значительно выше, чем контрольный, обработанный спорами *V.t.* или водой плевел (статистический анализ проводили с помощью t-теста).

Таблица 7.

	<b>Высота,</b> <b>см</b>	<b>Сравнение</b>	<b>СОС</b>
H <sub>2</sub> O	11,43	100,0%	0,137
Контроль <i>Vt</i>	12,29	107,7%	0,128
ВЭВ Эндо	12,78	111,9%	0,137

Пример 5. Использование рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, выводящих ферменты, участвующие в синтезе или активации растительных гормонов для стимуляции роста растений.

[00227] Система ВЭВ также может быть использована для выведения ферментов, участвующих в синтезе гормонов растений. Например, растительный гормон индол-3-уксусная кислота является мощным стимулятором роста растений. Индол-3-уксусная кислота синтезируется *in vivo* из триптофана ферментами триптофан монооксигеназной и индол-3-ацетамид гидролазой. Индол-3-уксусная кислота и другие ауксиновые гормоны могут также быть синтезированы *in vivo* из триптофана и/или из индола ферментами нитрилазой, триптофан аминотрансферазой, индол-3-ацетальдегид дегидрогеназой, индол-3-пируват-декарбоксилазой, амин оксидазой, триптофан-декарбоксилазой и триптофан-оксидазой боковой цепи.

[00228] Система ВЭВ также может быть использована для выведения ферментов, участвующих в модификации гормонов роста растений в биологически активные или неактивные формы. Например, нитрилаза может экспрессироваться в системе ВЭВ для катализа превращения индол-3-ацетонитрила в биологически активную форму индол-3-уксусная кислота. Кроме того, неактивные формы гормонов растений, такие как индол-3-ацетонитрил, могут вводиться в среды роста растений с нитрилазой, экспрессированной в ВЭВ, чтобы обеспечить постепенное высвобождение активного гормона в среду роста растений. Многие другие неактивные или менее активные формы растительных гормонов могут быть изменены с помощью соответствующих им ферментов.

[00229] Подобные гормоны роста растений (ауксины) включают индол-3-пировиноградную кислоту, индол-3-ацетальдоксим, индол-3-ацетамид, индол-3-ацетонитрил, индол-3-этанол, индол-3-пируват, индол-3-масляную кислоту, фенилуксусную кислоту, 4-хлориндол-3-уксусную кислоту и индол-3-ацетальдоксим. Эти гормоны синтезируются из триптофана и/или индола в естественных условиях с помощью ферментов триптофан монооксигеназы, индол-3-ацетамид гидролазы, нитрилазы, нитрил гидролазы, ацетолактат синтетазы, альфа-ацетолактат декарбоксилазы, триптофан аминотрансферазы, индол-3-ацетальдегид дегидрогеназы, индол 3-пируватдекарбоксилазы, амин оксидазы, триптофан-декарбоксилазы и триптофан-оксидазы боковой цепи.

[00230] Гормоны роста цитокининового семейства можно также синтезировать с помощью ферментов, экспрессированных в системе ВЭВ. Примеры цитокининов включают кинетин, зеатин (цис и транс), 6-бензиламинопурин, дигидроксизеатин, N6-(D2-изопентенил) аденин, рибозилзеатин, N6-(D2-изопентенил) аденозин, 2-метилтио-цис-рибозилзеатин, цис-рибозилзеатин, рибозилзеатин-5-монофосфат, N6-метиламинопурин, N6-диметиламинопурин, 2'-дезоксизеатина рибозид, 4-гидрокси-3-

метил-транс-2-бутенил аминопурин, орто-тополин, мета-тополин, бензиладенин, орто-метилтополин и мета-метилтополин. Эти соединения, стимулирующие рост растения, синтезируются *in vivo* из мевалоната или аденозин моно/ди/трифосфата ферментами, включающими аденозинфосфат изопентенилтрансферазы, фосфатазы, аденозин-киназы, аденин фосфорибозилтрансферазу, СУР735А, 5'-рибонуклеотид фосфогидролазу, аденозин нуклеозидазы, зеатин цис-транс-изомеразу, зеатин О-глюкозилтрансферазы, β-глюкозидазы, цис-гидроксилазы, СК цис-гидроксилазы, СК N-глюкозилтрансферазы, 2,5-рибонуклеотид фосфогидролазы, аденозин нуклеозидазы, пурин нуклеозидфосфорилазы и зеатин редуктазы.

[00231] Используя способы, подобные описанным выше в примере 1, любой из этих ферментов может быть включен в систему ВЭВ для выведения на ВЭВ споры путем создания слитой конструкции, содержащей фермент и сигнальную последовательность, которая направляет экспрессированный фермент в экзоспорий, когда гибридная конструкция экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*. Рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующий такую конструкцию, может быть добавлен в почву, или другую среду для роста растений, или нанесен непосредственно на листву растений с помощью способов, аналогичных тем, которые описаны выше в примере 1 для стимуляции роста растений.

[00232] Среда роста растений может быть дополнена предшественниками или субстратами для ферментов. Например, среда для роста растений может быть дополнена триптофаном, аденозинмонофосфатом, аденозиндифосфатом, аденозинтрифосфатом или индолем. Подходящие концентрации этих субстратов находятся между 100 нМ и 100 мкМ.

Пример 6. Использование рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, выводящих протеазы или пептидазы, расщепляющие белки, пептиды, пробелки или препробелки в биологически активные пептиды для стимуляции роста растений.

[00233] Протеазы и пептидазы могут быть экспрессированы в системе ВЭВ, что может ферментативно расщеплять доступные белки в среде для роста растений в биологически активных пептидов, которые могут действовать на растение непосредственно или косвенно. Примеры включают ферментативное расщепление соевого шрота, дрожжевого экстракта или другой богатой белком пищи, добавляющейся к среде для роста растений, в активные пептиды, которые могут непосредственно стимулировать рост растений. Биологически активные пептиды, полученные путем ферментативного расщепления белковых питательных добавок, включают RHPP и RKN 16D10, мощные стимуляторы развития корневой системы растений. Кроме того, пробелки или препробелки могут разрезаться в активные формы с помощью протеаз и пептидаз, экспрессированных в ВЭВ. Неактивные пробелки или препробелки могут быть добавлены в среду роста растений чтобы облегчить их постепенное расщепление ВЭВ протеазами и замедлить высвобождение биологически активных белков.

[00234] Используя способы, подобные описанным выше в примере 1, любая из этих протеаз и пептидаз может быть включена в систему ВЭВ для выведения на ВЭВ споры путем создания слитой конструкции, содержащей протеазу или пептидазу и сигнальную последовательность, которая направляет экспрессированный фермент в экзоспорий, когда гибридная конструкция экспрессирована в представителе семейства *Bacillus cereus*. Рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующий такую конструкцию, может потом быть добавлен к почве или другой среде для роста растений с добавлением соевой муки, дрожжевого экстракта или другой богатой белком питательной добавки для стимуляции роста растений. Соевый шрот, дрожжевой

экстракт, или другая богатая белком питательная добавка предпочтительно добавляется к среде для роста растений в виде жидкой композиции, содержащей от около 10 мкг/л до около 100 мг/л в белковой муки, дрожжевого экстракта или другой богатой белком питательной добавки.

5 Пример 7. Использование спор ВЭВ, экспрессирующих протеазы PtrV, для стимуляции роста растений.

[00235] Споры ВЭВ, экспрессирующие протеазы PtrV *E. coli*, были получены, как описано выше в примере 3. Семена сои были посажены на глубину 2,54 см в горшки глубиной 10 см со стандартным суглинистым верхним слоем почвы. Споры, контрольные  
10 и ВЭВ, экспрессирующие протеазу, разводили до концентрации  $1 \times 10^4$ /мл в 50 мл воды и применяли к каждому растению при посадке. Также был включен контроль с одной водой. Соевая мука в дозе 25 мг/горшок была добавлена в воду при посадке. Растения выращивали при идеальном освещении, используя лампы T5, 54 Вт, и 13-часовой  
15 световой экспозиции в день, при контролируемых температурных условиях в пределах 15,5-25,5°C. Растения поливали до насыщения каждые три дня в течение одной недели испытаний. По окончании двух недель измеряли высоту каждого растения, и измерения были нормированы по контрольным растениям, обработанным только водой.

[00236] Результаты показаны в таблице 8, вместе со стандартной ошибкой среднего, в процентах от контроля с водой. Соя, росшая в присутствии спор ВЭВ, выводящих  
20 протеазу, выросла значительно выше чем контрольные растения сои, обработанные спорами *Vt.* и контрольные растения, обработанные только водой (статистический анализ проводили с помощью t-теста). Добавление соевой муки к контролю с водой или контролю *V. thuringiensis* не производило большого эффекта. В отличие от этого, в присутствии соевой муки и системы протеаз ВЭВ, растения сои существенно отвечали  
25 на все другие виды обработки.

**Таблица 8.**

Обработка	Соевая мука	Высота (см)	Нормированные на воде	СОС как процент воды
Только вода	отсутствует	12,10	100%	3,1%
Только вода	25 мг/горшок	12,43	102,7%	7,4%
<i>V. thuringiensis</i>	отсутствует	12,52	103,5%	5,2%
<i>V. thuringiensis</i>	25 мг/горшок	11,99	99,1%	5,0%
ВЭВ протеаза	отсутствует	12,97	107,2%	6,1%
ВЭВ протеаза	25 мг/горшок	14,44	119,3%	4,8%

40 Пример 8. Использование рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, выводящих белки или пептиды, участвующие в стимулировании роста растений.

[00237] Система ВЭВ также может быть использована для выведения белков или пептидов, которые непосредственно вовлечены в стимулировании роста растений. Например, пептидные гормоны растений или не гормональные пептиды, которые  
45 стимулируют рост растений, могут экспрессироваться в системе ВЭВ. Например, негормональные пептиды, которые непосредственно связываются и активируют рецепторы растений, могут экспрессироваться в системе ВЭВ для непосредственного воздействия на рецепторы в растениях и корнях целевых растений. Такие пептидные

гормоны и негормональные пептиды включают фитосульфокин, calcalva 3 (CLV3), системны, PKH 16D10, Hg-Syv46, eNOD40, NOD белков семейства, ZmlGF, белки семейства SCR/SP11 и пептиды, RHPP, POLARIS и ИТК. Эти пептиды и родственные пептиды могут быть выражены в системе ВЭВ и доставлены в среде для роста растений или непосредственно применены на листву для стимуляции роста растений.

[00238] Используя способы, подобные описанным выше в примере 1, любой из этих белков или пептидов может быть включен в систему ВЭВ для выведения на ВЭВ спорах путем создания слитой конструкции, содержащей фермент и сигнальную последовательность, которая направляет экспрессированный фермент в экзоспорий, когда гибридная конструкция экспрессирован в представителе семейства *Bacillus cereus*. Рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus*, экспрессирующий такую конструкцию, может быть добавлен в почву, или другую среду для роста растений, или нанесен непосредственно на листву растений с помощью способов, аналогичных тем, которые описаны выше в примере 1, для стимуляции роста растений.

Пример 9. Использование спор ВЭВ, экспрессирующих POLARIS или ИТК для стимуляции роста растений.

[00239] Споры ВЭВ растений, экспрессирующие пептид POLARIS и соевый пептид ИТК, были созданы путем синтеза генов, кодирующих пептиды POLARIS или ИТК, связанных с сигнальной последовательностью SEQ ID №: 60. Гены затем были введены в *Bacillus thuringiensis* и были получены споры, как описано в примере 1. Семена сои были посажены на 2,54 см в глубину в горшки глубиной 10 см со стандартным верхним суглинистым слоем. Споры ВЭВ, экспрессирующие POLARIS или ИТК, разводили до концентрации  $1 \times 10^4$ /мл в 50 мл воды и применяли к каждому растению при посадке. Также включали контроль только с водой. Чистые пептиды POLARIS и ИТК также были протестированы на их воздействие на сою в количестве 0,05 мг/горшок. Растения выращивали при идеальном освещении, используя лампы T5, 54 Вт, и 13-часовой световой экспозиции в день, при контролируемых температурных условиях в пределах 15,5-25,5°C. Растения поливали до насыщения каждые три дня в течение двух недельного испытания. По окончании двух недель измеряли высоту каждого растения, и измерения были нормированы по контрольным растениям, обрабатываемых только водой.

[00240] Результаты приведены в таблице 9, вместе со стандартной ошибкой среднего в процентах от контроля только с водой. Соя, росшая в присутствии спор ВЭВ, выводящих POLARIS, выросла выше и имела некоторое повышение в развитии корней при сравнении с контрольной соей. Присутствие свободного пептида ИТК приводило к значительной низкорослости растений, терявших 6-8% их высоты, но прибавлявших 15% в длине корней. Экспрессия ИТК в системе ВЭВ приводила к повышению в росте корней, но не вызывала задержки в росте растений в высоту. Важно отметить, что присутствие контрольных спор *Bacillus thuringiensis* со свободным пептидом ИТК не предотвращало эффект задержки в росте, вызванный ИТК, в то время как ВЭВ с ИТК не проявляла такой задержки роста.

Таблица 9.

Обработка	Пептид	Корни, нормированные к воде	СОС	Высота, нормированная к воде	СОС
Вода	отсутствует	100%	6,8%	100%	4,3%
Вода	ИТК, 0,05 мг/горшок	115%	8,4%	91,8%	3,1%
ВЭВ POLARIS	отсутствует	106,3%	7,9%	107,3%	1,7%
ВЭВ ИТК	отсутствует	113,3%	5,8%	99,4%	3,4%
<i>B.</i> <i>thuringiensis</i>	ИТК, 0,05 мг/горшок	115%	7,7%	93,4%	4,2%

Пример 10. Использование рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, выводящих ферменты, разрушающие или модифицирующие бактериальный, грибковый или растительный источник питательных веществ, для стимуляции роста растений и/или получения питательных веществ.

[00241] Система ВЭВ также может быть использована для выведения ферментов, разрушающих или благотворно модифицирующих бактериальный, грибковый или растительный источник питательных веществ, присутствующий в почве или другой среде для роста растений. Такие ферменты разлагают продукты, присутствующие в почве или другой среде для роста растений в формы, которые могут быть легко поглощены растениями и/или полезными бактериями и/или грибами ризосферы. Такие ферменты включают, например, глюкозид-гидролазы для расщепления сложных углеводов, целлюлазы для расщепления целлюлозы; липазы для расщепления липидов, в том числе масла, жиров и восков; лигнин оксидазы для расщепления лигнина и гуминовых кислот; протеазы для расщепления полипептидов; фосфолипазы для расщепления мембран; амидазы и нитрогеназы для восстановления азота; амилазы для обработки крахмалов; нуклеазы для восстановления нуклеотидов, пектиназы для расщепления пектина, сульфатазы для восстановления серы и ксиланазы для расщепления ксиланов и арабиноксиланов. Полученные продукты, в том числе простые сахара, аминокислоты, жирные кислоты и другие питательных вещества, будут легко доступна для прямого поглощения растениями и/или для стимуляции роста и разрастания полезных бактерий и/или грибов в ризосфере растений.

[00242] Кроме того, ферменты и другие биологические молекулы могут быть использованы для высвобождения или изолирования фосфата, азота и других ключевых элементарных питательных веществ для поглощения растениями из их различных органических и неорганических форм в почве. Например, фосфатазы могут быть использованы для разложения фосфатов в среде в неорганические фосфаты, пригодные для использования растениями. Фосфатами могут быть природные фосфаты, присутствующие в среде для роста растений. В альтернативном варианте или в дополнение, среда для роста растений может быть дополнена фосфатами, такими как триметафосфат, обычной сельскохозяйственной добавки. Примеры полезных фосфатаз включают фосфорный моноэфир гидролазы, фосфомоноэстеразы, фосфорный диэфир гидролазы, фосфодиэстеразы, трифосфорный моноэфир гидролазы, фосфорный

ангидрид гидролазы, пирофосфатазы, фитазу, триметафосфатазы и трифосфатазы. Например, ферменты триметафосфатазы, трифосфатазы и пирофосфатазы последовательно расщепляют триметафосфат в доступный неорганический фосфат.

5 [00243] Семейство ферментов нитрогеназ преобразует атмосферный азот (N<sub>2</sub>) в аммиак, таким образом превращая азот, по-другому не доступный для растений, в доступную форму. Подходящие ферменты относятся к семейству нитрогеназ Nif.

10 [00244] Химическая энергия может быть непосредственно добавлена в среду для роста растений в виде аденозинтрифосфата, ферродоксина или дополнительных ферментов, которые производят такую энергию в системе ВЭВ. Они являются кофакторами для нитрогеназ и ограничено присутствуют в почве. Таким образом, такие кофакторы могут быть добавлены в почву, чтобы ускорить реакции, описанные ранее.

15 [00245] Другие добавки, которые могут быть добавлены в среду для роста растений, включают крахмалы, целлюлозу и производные целлюлозы, пектины, ксиланы и арабиноксиланы, жиры, воски, масла, фитиновые кислоты, лигнины, гуминовые кислоты и других источники питательных веществ, к которым выше приведенные классы ферментов проявляют активность.

20 [00246] Используя способы, подобные описанным выше в примере 1, любой из этих ферментов может быть включен в систему ВЭВ для выведения на ВЭВ споры путем создания слитой конструкции, содержащей фермент и сигнальную последовательность, которая направляет экспрессированный фермент в экзоспорий, когда гибридная конструкция экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*. Гибридная конструкция затем может экспрессироваться в представителе семейства *Bacillus cereus*, и этот рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* может быть добавлен к почве или другой среде для роста растений с помощью способов, аналогичных тем, 25 которые описаны выше в примере 1 для стимуляции роста растений.

Пример 11. Использование ВЭВ спор, экспрессирующих фосфатазы для стимуляции роста растений.

30 [00247] ВЭВ споры *Bacillus subtilis*, экспрессирующие фосфатазу A4 (PhoA4) были созданы путем синтеза гена, кодирующего PhoA4, связанного с сигнальной последовательностью SEQ ID №: 60. Этот ген затем был введен в *Bacillus thuringiensis*, и споры были получены, как в примере 1. Кукуруза была посажена на глубину 2,54 см в горшки глубиной 10 см со стандартным верхним суглинистым слоем. ВЭВ споры, 35 экспрессирующие PhoA4, разводили до концентрации  $1 \times 10^4$ /мл в 50 мл воды и применяли к каждому растению при посадке. Также включали контроль только с водой. Полифосфат был добавлен в горшки в жидком виде в расчете 0,5 мг/горшок. Растения выращивали при идеальном освещении, используя лампы T5, 54 Вт, и 13-часовой световой экспозиции в день, при контролируемых температурных условиях в пределах 15,5-25,5°C. Растения поливали до насыщения каждые три дня в течение двухнедельного 40 испытания. В конце двух недель измеряли высоту каждого растения, и измерения были нормализованы по контрольным растениям, обработанным только водой.

[00248] Результаты приведены в таблице 10. Кукуруза, росшая в присутствии спор ВЭВ, выводящих PhoA4, показывает повышенный рост, в особенности в присутствии 45 добавленного полифосфата. Этот эффект был выше, чем эффект только от полифосфата.

Таблица 10.

Обработка	Добавка	Рост, сравнение с водой
Вода	Отсутствует	100%
Вода	Полифосфат	110,8%
ВЭВ PhoA4	Нет	108,3%
ВЭВ PhoA4	Полифосфат	114,8%

Пример 12. Использование рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, выводящих ферменты, участвующие в синтезе 2,3-бутандиола или активации гибберелловой кислоты для стимуляции роста растений.

[00249] Система ВЭВ также может быть использована для выведения ферментов, участвующие в синтезе 2,3-бутандиола, соединения, способствующего росту растений, *in vivo* 2,3-бутандиол синтезируется полезными бактериями и грибами в ризосфере из ацетоина, диацетила, ацетолактата или пирувата ферментами ацетолактат синтетазой,  $\alpha$ -ацетолактат декарбоксилазой, пируватдекарбоксилазой, диацетил редуктазой, бутандиол дегидрогеназой и ацетоин редуктазой.

[00250] Система ВЭВ также может быть использована для выведения ферментов, участвующих в синтезе или активации соединения, способствующего росту растения, гибберелловой кислоты. Гибберелловая кислота может быть образована путем действия ферментов, включая, но не ограничиваясь, гидроксилламин редуктазы, 2-оксоглутарат диоксигеназы, гиббереллин 2В/3В гидролазы, гиббереллина-3 оксидазы и гиббереллина-20 оксидазы.

[00251] Любой из этих ферментов может быть включен в систему ВЭВ для выведения на ВЭВ споры с помощью способов, аналогичных тем, которые описаны выше в примере 1. Может быть получена гибридная конструкция, содержащая фермент и сигнальную последовательность, которая направляет фермент в экзоспорий, если гибридная конструкция экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*. Гибридная конструкция затем экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus* и представитель семейства *Bacillus cereus* вносится в почву или другую среду роста растений для стимуляции роста растений.

[00252] Чтобы увеличить эффект отображаемых на ВЭВ ферментов, почва может быть дополнена субстратами для ферментов. Например, почва или другая среда для роста растений может быть дополнена ацетоином, который является субстратом для ацетоин редуктазы; пируватом, который является субстратом для пируватдекарбоксилазы; диацетилом, который является субстратом для диацетил редуктазы; и/или ацетолактатом, который является субстратом для ацетолактат декарбоксилазы. В альтернативном варианте или в дополнение, почва или другая среда для роста растений может быть дополнена более слабыми или неактивными формами гибберелловой кислоты, которые будут преобразованы в более активные формы в почве или другой среде роста растений под действием ферментов, описанных ранее.

Пример 13. Использование рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, выводящих протеазы для защиты растений от патогенов.

[00253] Система ВЭВ также может быть использована для выведения ферментов, которые защищают растения от одного или нескольких патогенов. Например, некоторые бактериальные патогены могут взаимодействовать между отдельными особями с



помощью секреции бактериальных гомосеринлактонов или похожих сигнальных молекул. Таким образом, протеазы, специфичные к бактериальным сигнальным молекулам гомосеринлактонам, могут защитить растения от таких бактериальных патогенов, разрушая коммуникацию между бактериями - шаг, необходимый бактериям для выработки токсинов и активирования факторов вирулентности. Подходящие протеазы, специфичные к бактериальным сигнальным молекулам гомосеринлактонам, включают эндопептидазы и экзопептидазы.

[00254] Протеазы, специфичные к бактериальным сигнальным молекулам гомосеринлактонам, могут быть включены в систему ВЭВ, используя способы, аналогичные описанным выше в примере 1. Может быть получена гибридная конструкция, включающая протеазу и сигнальную последовательность, которая направляет фермент в экзоспорий, если гибридная конструкция экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*. Гибридная конструкция затем экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*, и представитель семейства *Bacillus cereus* вносится в почву или другую среду для роста растений для стимуляции роста растений. Протеаза затем может расщепить бактериальные сигнальные молекулы гомосеринов, блокируя ключевой шаг в вирулентности этих микроорганизмов и, таким образом, помогает защитить растение от этих патогенов. Другие протеазы и пептидазы эффективно работают в этом применении в системе ВЭВ, как было показано выше в примере 6 и 7.

Пример 14. Использование рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, выводящих антимикробные белки и пептиды для защиты растений от патогенов.

[00255] Система ВЭВ также может быть использована для выведения ферментов, которые имеют антибактериальные и/или антигрибковые активности, что может защитить растения от одного или более патогенов. Например, антимикробные белки и пептиды, такие как бактериоцины, лизоцимы (например, LysM), сидерофоры, кональбумин, альбумин, лактоферрины (например, LfcinB) или TasA могут быть экспрессированы в системе ВЭВ для оказания своего воздействия на бактериальные и грибковые патогены растений. Бактериоцины, альбумин, кональбумин, лизоцимы и лактоферрин оказывают прямое антимикробное действие на свои цели, в то время как сидерофоры связывают важные питательные вещества, требуемые патогенами для вирулентности. Например, пептид лактоферрина LfcinB, при экспрессии на поверхности системы ВЭВ, будет лизировать клетки бактерий, которые чувствительны к пептидам лактоферрина в среде для роста растений. Эти белки и пептиды имеют специфическое действие на некоторых микробов и могут быть селективно направлены против целевой группы патогенов, не влияя на все микробы в среде для роста растений.

[00256] Любой из этих белков или пептидов может быть включен в систему ВЭВ для выведения на спорах ВЭВ с помощью способов, аналогичных тем, которые описаны ранее в примере 1. Может быть получена гибридная конструкция, содержащая фермент и сигнальную последовательность, которая направляет фермент в экзоспорий, если гибридная конструкция экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*. Гибридная конструкция затем экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*, и представитель семейства *Bacillus cereus* вносится в почву или другую среду для роста растений для защиты растений от одного или более патогенов.

Пример 15. Использование спор ВЭВ, экспрессирующих антимикробные пептиды для защиты растений от бактерий.

[00257] Гены были синтезированы таким образом, что они кодировали любой из двух антимикробных пептидов, LfcinB (получен из бычьего лактоферрина) и LysM

(получен из куриного лизоцима), связанных с сигнальной последовательностью BclA (SEQ ID №: 60), находящейся под контролем промотора BclA (SEQ ID №: 85). Гены были введены в *Bacillus thuringiensis* BT013A и споры были получены путем выращивания ночной культуры трансформированных *Bacillus* на бульоне с сердечно-мозговой вытяжкой, высевание на чашки с питательным агаром при 30°C и последующим выращиванием в течение 3 дней. Споры смывали с чашек и промывали 3 раза в натрий-фосфатном буфере. Культуры *Staphylococcus epidermidis* выращивали в течение ночи на трипсиновом соевом бульоне при 37°C. После этого ночную культуру затем осаждали, промывали в натрий-фосфатном буфере и ресуспендировали в натрий-фосфатном буфере при Abs595=0,2. ВЭВ в концентрации  $1 \times 10^4$ , экспрессирующий пептиды LysM или LfcinB, инкубировали в натрий-фосфатном буфере с *S. epidermidis* в течение 3 часов при 37°C со встряхиванием. Контрольный образец *S. epidermidis* не обрабатывали (без спор ВЭВ). После 3-часовой инкубации разбавление пластины *S. epidermidis* были сделаны и инкубировали при 37°C в течение ночи. На следующий день культуры *S. epidermidis* подсчитывали и определяли процент погибших. Максимальная активность уничтожения зарегистрирована в таблице 11 ниже. Пептиды, экспрессированные ВЭВ, уничтожили значительное число клеток *S. epidermidis*. Это может непосредственно привести к уничтожению бактерий на ризосфере, семени или другом растительном материале. Выбор пептидов, специфичных для некоторых классов бактерий, также может изменить популяцию микроорганизмов в районе растения в выгодную сторону, или селективно воздействовать на ключевые патогены.

**Таблица 11.**

Обработка	Выжившие	% погибших
отсутствует	100%	0%
ВЭВ LysM	71%	29%
ВЭВ LfcinB	23%	77%

Пример 16. Использование рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, выводящих ферменты для защиты растений от патогенов.

[00258] Система ВЭВ также может быть использована для выведения ферментов, которые защищают растения от одного или более патогенов. Например, поименный клеточные стенки дрожжей и плесневого гриба разрушаются под действием ферментов, таких как  $\beta$ -1,3-глюканазы,  $\beta$ -1,4-глюканазы,  $\beta$ -1,6-глюканазы, хитозиназы, хитиназы, хитозиназа-подобные белки и лутиказы. Клеточные стенки бактерий разрушаются ферментами, выбранными из протеиназ, протеаз, мутанолизина, стафолизина и лизоцимов. Каждый из этих ферментов, разрушающих клеточные стенки, может быть экспрессирован на системе ВЭВ и внесен в среду для роста растений для селективного ингибирования патогенных микробов в ризосфере.

[00259] Система ВЭВ также может быть использована для выведения ферментов или белков, которые защищают растения от патогенных насекомых или червей, например, путем подавления поедания желаемых растений насекомым или червями. Примеры таких целевых белков и ферментов включают эндотоксины, Cry токсины, другие инсектицидные белковые токсины, ингибиторы протеаз, цистеиновые протеазы, белок Cry5B, белок Cry 21A, хитиназа, белки ингибитора протеазы, пептиды ингибитора протеазы, ингибиторы трипсина, и стреловидный ингибитор протеазы.

[00260] Любой из этих белков или пептидов может быть включен в систему ВЭВ для выведения на спорах ВЭВ спор с помощью способов, аналогичных тем, которые описаны выше в примере 1. Также может быть получена гибридная конструкция, включающая фермент и сигнальную последовательность, которая транспортирует фермент в экзоспории, если гибридная конструкция экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*. Данная гибридная конструкция затем экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*, и представитель семейства *Bacillus cereus* вносится в почву или другую среду для роста растений для защиты растений от патогенов.

Пример 17. Использование спор ВЭВ, экспрессирующих противогрибковый фермент, для защиты растений, и демонстрация эффективности против *Saccharomyces*.

[00261] Ген синтезировали таким образом, что он кодировал противогрибковый фермент  $\beta$ -1,3-глюканазу из *Bacillus subtilis*, связанный с сигнальной последовательностью *BclA* (SEQ ID №: 60) под контролем промотора *BclA* (SEQ ID №: 85). Ген вводили в *Bacillus thuringiensis* BT013A, и споры были получены путем выращивания ночной культуры трансформированного *Bacillus* на бульоне в сердечно-мозговой вытяжке, высевания на чашки с питательным агаром при 30°C и последующего выращивания в течение 3 дней. Споры смывали с чашек и промывали 3 раза в натрий-фосфатном буфере. Культуры *Saccharomyces cerevisiae* выращивали в течение ночи в бульоне YZ при 37°C. После этого ночную культуру осаждали, промывали в натрий-фосфатном буфере и ресуспендировали в натрий-фосфатном буфере при  $Abs_{595}=0,2$ . ВЭВ в концентрации  $1 \times 10^4$ , экспрессирующую  $\beta$ -1,3-глюканазу, инкубировали в натрий-фосфатном буфере с *Saccharomyces* в течение 1 часа при 37°C со встряхиванием. Контрольный образец *Saccharomyces* не обрабатывали (без спор ВЭВ). После 3 часов инкубации делали разведение *Saccharomyces* на чашках и инкубировали при 37°C в течение ночи. На следующий день культуры *Saccharomyces* подсчитывали и определяли процент погибших. В таблице 12 ниже показана активность уничтожения спорами ВЭВ, экспрессирующими  $\beta$ -1,3-глюканазу. Фермент, экспрессируемый ВЭВ, уничтожил значительное количество клеток *Saccharomyces*. Это может непосредственно привести к уничтожению грибковых микроорганизмов на ризосфере, семени или другом растительном материале. Выбор белков, специфичных для некоторых классов грибов, также может изменить популяцию микроорганизмов в районе растения в выгодную сторону, или селективно воздействовать на ключевые грибковые патогены.

**Таблица 12.**

Обработка	Выжившие	% погибших
Отсутствует	100%	0%
ВЭВ $\beta$ -1,3-глюканаза	83%	17%

Пример 18. Использование рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, выводящих пептиды или белки, стимулирующие иммунную систему растений, для защиты растений от патогенов.

[00262] Система ВЭВ также может быть использована для выведения пептидов и белков, усиливающих иммунную систему растений. Эти белки могут экспрессироваться на внешней стороне споры ВЭВ доставляться в среду для роста растений, для стимуляции иммунной системы растений, чтобы позволить растению, защищать себя от

фитопатогенов. Белки и пептиды-примеры включают гарпин,  $\alpha$ -эластин,  $\beta$ -эластин, системин, фенилаланин аммиак-лиазу, элиситин, дефензин, криптогеин и белок и пептид флагеллина. Воздействие этих белков и пептидов на растение будет стимулировать устойчивость ко многим растительным патогенам в растениях.

5 [00263] Любой из этих белков или пептидов может быть включен в систему ВЭВ для выведения на спорах ВЭВ с помощью способов, аналогичных тем, которые описаны выше в примере 1. Также может быть получена гибридная конструкция, включающая фермент и сигнальную последовательность, которая транспортирует фермент в экзоспорий, если гибридная конструкция экспрессируется в представителе семейства  
10 *Bacillus cereus*. Данная гибридная конструкция затем экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*, и представитель семейства *Bacillus cereus* вносится в почву или другую среду для роста растений для защиты растений от патогенов.

Пример 19. Использование рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, выводящих белок или пептид, связывающийся с корнем или листом, для иммобилизации  
15 рекомбинантного представителя семейства *Bacillus cereus* на корневой системе растения или листьях растения.

[00264] Белки или пептиды, связывающиеся с корнем или листом, могут также быть включены в систему ВЭВ, чтобы иммобилизовать споры ВЭВ на корневой системе или на листьях растения. Выведение на ВЭВ таких лигандов, связывающихся с корнем  
20 или листом, позволяет транспортировать споры на корневую систему растения или субструктуру корневой системы, или на листья, или на субструктуру листьев для сохранения споры ВЭВ в месте, оптимальном для того, чтобы другие выведенные биологические молекулы и ферменты были эффективными.

[00265] Например, rhicadhesin представляет собой лиганд, связывающийся с корнем, который связывается с корневыми волосками. Таким образом, выведение rhicadhesin на спорах ВЭВ приводит к транспортировке спор на корневые волоски. Дополнительные белки, которые можно использовать для избирательного связывания с корнем или  
25 листьями растений, включают адгезины, флагеллины, омпитины, лектины, нитевидные белки, белки curtus, интимины, инвазины, агглютинин, нефибриальные белки, TasA или YuaB.  
30

[00266] Такие белки или пептиды, связывающиеся с корнем или листом, могут быть включены в систему ВЭВ с использованием способов, аналогичных описанным выше в примере 1. Также может быть получена гибридная конструкция, включающая белок или пептид, связывающиеся с корнем или листом, и сигнальную последовательность,  
35 которая транспортирует белок или пептид в экзоспорий, если гибридная конструкция экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*. После этого гибридная конструкция, содержащая лиганд, связывающийся с корнем или листом, экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*. Такие гибридные конструкции могут экспрессироваться совместно с одной или более дополнительной гибридной  
40 конструкцией, включающей любой из полезных ферментов, описанных в данном документе (например, фермент, участвующий в синтезе растительного гормона, фермент, разрушающий источник питательных веществ, или протеазы, защищающие растение от патогена). Рекомбинантный представитель семейства *Bacillus cereus* вносится в почву или другую среду для роста растений или применяется к листьям растения. Лиганд,  
45 связывающийся с корнем или листом, транспортирует представителя семейства *Bacillus cereus* на корневую систему растения или на листья растения и иммобилизует его там, позволяя таким образом дополнительно экспрессированной гибридной конструкции оказывать воздействие в непосредственной близости к корневой системе или листьям.

Пример 20. Использование рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, выводящих ферменты для повышения устойчивости растений к стрессу.

[00267] Белки, пептиды и ферменты, которые повышают устойчивость к стрессу в растении могут быть включены в систему ВЭВ и доставлены в целевые растения путем введения в корни, листья или среду для роста растений. В периоды стресса, растения выделяют соединения, связанные со стрессом, в том числе аминокicloпропан-1 карбоновую кислоту (АКК), активные формы кислорода и другие, что отрицательно влияет на рост растения. Система ВЭВ может быть использована для выведения ферментов, которые расщепляют такие связанные со стрессом соединения, такие как дезаминаза аминокicloпропан-1-карбоновой кислоты, супероксиддисмутазы, оксидазы, каталазы и другие ферменты, которые действуют на реактивные формы кислорода. Эти ферменты снижают количество этих вызванных стрессом соединений и позволяют растениям расти и даже развиваться при стрессовых условиях.

[00268] Любой из этих белков или пептидов может быть включен в систему ВЭВ для выведения на спорах ВЭВ с помощью способов, аналогичных тем, которые описаны выше в примере 1. Может быть получена гибридная конструкция, содержащая фермент и сигнальную последовательность, которая направляет фермент в экзоспорий, если гибридная конструкция экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*. Затем гибридная конструкция экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*, и представитель семейства *Bacillus cereus* добавляется в почву или другую среду для роста растений или применяется к листьям растения для повышения устойчивости растения к стрессу.

Пример 21. Получение спор ВЭВ, экспрессирующих защитный фермент каталазу.

[00269] Синтезировали ген, который кодировал защитный фермент каталазу из *Bacillus cereus*, связанный с сигнальной последовательностью BetA (SEQ ID NO: 61), под контролем промотора BetA (SEQ ID NO: 86). Этот ген был введен в *Bacillus Thuringiensis* BT013A. Споры были получены путем выращивания культур трансформированного *Bacillus* и штамма дикого типа в сердечно-мозговом бульоне в течение ночи, высаживания на питательные чашки с агаром при 30°C, после чего их оставляли расти в течение 3 дней. Споры смывались с чашек и промывались 3 раза в натрий-фосфатном буфере. Было добавлено 3 капли перекиси водорода в каждую гранулу спор. Фермент каталаза преобразует пероксид водорода на воду и газ O<sub>2</sub>. Контрольные спор не пенились, в то время как ВЭВ споры с каталазой активно это делали, демонстрируя активность фермента на поверхности спор. Другие защитные ферменты могут выводиться аналогичным образом и доставляться в растение для влияния на свободные радикалы, образующиеся во растениями во время стресса.

Пример 22. Использование рекомбинантных представителей семейства *Bacillus cereus*, выводящих белки или ферменты, которые защищают семена или растения от стрессовой среды.

[00270] Белки, пептиды и ферменты, которые защищают растение от воздействия окружающей среды, могут быть включены в систему ВЭВ и доставлены в целевые растения путем введения в корни, листья, плоды или в среду роста растений. В периоды заморзания растения могут быть повреждены действием льда. Система ВЭВ может быть использована для выведения пептидов, белков или ферментов, которые защищают растения от таких эффектов. Например, система ВЭВ может быть использована для выведения холин дегидрогеназ, которые действуют путем создания защитных продуктов, которые защищают растения или семена от мороза. Субстраты для этих ферментов (например, холин и/или производные холина) также могут быть добавлены в среду

роста растений. Добавление таких субстратов может увеличить количество защитного вещества (бетаин и подобные соединения), образованного в растении ферментами, экспрессированными в ВЭВ. Известно, что производные бетаина защищают семена от холодового стресса.

5 [00271] Любой из этих белков или пептидов может быть включен в систему ВЭВ для выведения на ВЭВ спорах, используя способы, аналогичные описанным выше в примере 1. Гибридная конструкция может быть сделана так, чтобы включать фермент и  
10 сигнальную последовательность, которая направляет фермент в экзоспории, при условии, что гибридная конструкция экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*. Затем гибридная конструкция экспрессируется в представителе семейства *Bacillus cereus*, и представитель семейства *Bacillus cereus* добавляется в почву или другую среду для роста растений или применяется к листьям растения для защиты растения от  
15 воздействий и факторов окружающей среды.

Пример 23. Усиленная экспрессия гибридных конструкций в системе ВЭВ с  
15 использованием усиленных или альтернативных элементов промотора.

[00272] Система ВЭВ может выявлять широкий спектр белков, пептидов и ферментов, используя одну или более сигнальных последовательностей, описанных в данном документе. Некоторые из этих сигнальных последовательностей имеют высокое сродство  
20 к экзоспорию, что было бы полезным для экспрессии гибридного белка, но низкий уровень экспрессии гибридного белка ограничивает их использование в системе ВЭВ. Для таких гибридных белков и последовательностей могут быть использованы альтернативные сильные промоторы споруляции вместо нативных промоторов.

[00273] Например, SEQ ID №: 13 (аминокислоты 1-39 из гена 3572 *B. weihenstephensis* КВАВ4) обеспечивает очень эффективную N-концевую последовательность для доставки  
25 белков в экзоспории представителей семейства *Bacillus cereus*, как показано ниже в таблице 13. Все гены были синтезированы в полноразмерной форме (включая промоторные области и области, кодирующие гибридные белки), как описано в данном документе. При использовании нативных элементов промотора гена 3572 *B. weihenstephensis* КВАВ4 (SEQ ID №: 88) для экспрессии гибридного белка, содержащего  
30 сигнальную последовательность из SEQ ID №: 13 слитую с ферментом  $\beta$ -галактозидазой (из *E. coli*), наблюдали низкий уровень экспрессии гибридного белка, что приводило к снижению ферментативной активности на поверхности спор. Активность фермента измеряли по превращению 0,5 М о-нитрофенилгалактозида в растворе в течение 10 минут. Ферментативное превращение измеряли с помощью спектрофотометра при  
35 ABS<sub>540</sub>. Замена нативных элементов промотора гена 3572 *B. weihenstephensis* КВАВ4 на сильные промоторы SEQ ID №: 86 (*B. anthracis* BetA/BAS3290) или SEQ ID №: 89 (YVTN  $\beta$ -пропеллер белок *B. weihenstephensis* КВАВ4) привела к значительному увеличению ферментативной активности спор. С другой стороны, замена нативных элементов промотора гена 3572 *B. weihenstephensis* КВАВ4 на нативный промотор Sterne  
40 BAS1882 *B. anthracis* (SEQ ID №: 87) привела к снижению ферментативной активности спор. Уровень экспрессии сигнальной последовательности SEQ ID №: 13, слитой с  $\beta$ -галактозидазой, был значительно ниже (0,38x), когда контролировался промотором BAS1882 (SEQ ID №: 87), и был значительно улучшен, когда контролировался промотором BetA (SEQ ID №: 86) или промотором белка YVTN (SEQ ID №: 89).

45

Таблица 13.

Промотор	Гибридный белок	Активность $\beta$ -галактозидазы в системе ВЭВ, нормированная	Кратность изменения
SEQ ID №: 88	SEQ ID №: 13 – $\beta$ -галактозидаза	100%	
SEQ ID №: 86	SEQ ID №: 13 – $\beta$ -галактозидаза	213,4%	2,13x
SEQ ID №: 89	SEQ ID №: 13 – $\beta$ -галактозидаза	220,7%	2,21x
SEQ ID №: 87	SEQ ID №: 13 – $\beta$ -галактозидаза	38,1%	0,38x

Пример 24. Изолирование и идентификация бактериальных штаммов, усиливающих рост растений.

[00274] Были отобраны образцы грунта из ризосфер наиболее здоровых и наиболее устойчивых растений картофеля (*Solanum tuberosum*), тыквы обыкновенной (*Cucurbita pepo*), томата (*Solanum lycopersicum*) и фасоли огненно-красной (*Phaseolus coccineus*), разведены в стерильной воде и нанесены на чашки с агаризированной питательной средой. Бактериальные изоляты, показавшие высокие темпы роста и которые можно было пассировать и размножить, были отобраны для дальнейшего изучения. Выбранные штаммы выращивали на минимальной среде ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 г,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6 г,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1 г,  $\text{NaCl}$  0,50 г,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,15 г,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,013 г и глюкоза 1 г на л сухого веса). Ночные культуры ( $30^\circ\text{C}$ ) выбранных штаммов осаждали, удаляли среду и ресуспендировали в равном количестве дистиллированной воды. Для одной обработки десять семян салата латука были посажены на глубину 1 см в суглинистый верхний слой почвы (Колумбия, МО), который просеивали для удаления крупных частиц. При посадке в 4 см горшки семена инокулировали 0,5 мкл бактерий, ресуспендированных в воде, смешанными с 10 мл  $\text{H}_2\text{O}$ . Десять мл  $\text{H}_2\text{O}$  было достаточно для разнесения бактерий в 3 дюймах<sup>3</sup> (7,62 см<sup>3</sup>) почвы, а также для насыщения почвы для надлежащего прорастания семян. Растения выращивали при температуре 65-75°F (18-24°C) при 11-часовом световом дне и с поливом по 5 мл каждые 3 дня. Через неделю данные по высоте растений и диаметру листьев, а также по общему физиологическому состоянию растений были собраны. Предварительный скрининг ризосферных изолятов привел в результате к получению более чем 200 различных видов бактерий и грибов из ризосферы четырех растений. Некоторые из видов бактерий описаны в таблице 14. Идентифицированные штаммы указаны под своими присущими бактериальными названиями. Другие штаммы указаны под неизвестным идентификационным номером. Инокулянты, давшие результаты вблизи контроля ( $\pm 2\%$ ), не были включены в таблицу.

Таблица 14

	Бостонский салат латук		
Бактериальный инокулянт	Средняя высота (см)	Сравнение	Стандартная ошибка среднего значения (СОС)
Неинокулированный	1,8	контроль	0,07
<i>Paracoccus kondratiaevae</i>	2	111,1%	0,05

NC35			
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	3,65	202,8%	0,45
<i>B. flexus</i> BT054	2,45	136,1%	0,11
<i>Bacillus mycoides</i> штамм BT155	2,17	120,4%	0,21
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	2,1	116,7%	0,20
<i>B. nealsonii</i> BOBA57	2,8	155,6%	0,03
<i>E. cloacae</i> CAP12	2,4	133,3%	0,41
Неизвестный 8	1,77	77,8%	0,65
Неизвестный 122	1,9	105,6%	0,11
Неизвестный 15	1,4	77,8%	0,41
Неизвестный 39	1,8	100,0%	0,20
Неизвестный 401	2	111,1%	0,21
Неизвестный 402	1,53	85,2%	0,27
Неизвестный 41	1,45	80,6%	0,31
Неизвестный 42	1,4	77,8%	0,15
Неизвестный 44	2,2	133,3%	0,08
Неизвестный 51	1,83	102,9%	0,21

[00275] Бактериальные штаммы, произведшие наибольшее влияние на общее физиологическое состояние растения и высоту растения в предварительном испытании на салате латук, в дальнейшем идентифицировались. Бактериальные штаммы выращивали в течение ночи в бульоне Лурии-Бертани при 37°C, и ночные культуры осаждали в центрифуге. Среду удаляли, а из оставшегося бактериального осадка выделяли хромосомную ДНК с помощью набора Qiagen Bacterial Chromosomal DNA Isolation. Хромосомную ДНК подвергали ПЦР-амплификации 16S рРНК кодирующих областей с использованием праймеров E338F 5'- ACT CCT ACG GGA GGC AGC AGT -3' (SEQ ID №: 122), E1099R A 5'- GGG TTG CGC TCG TTG C -3' (SEQ ID №: 123) и E1099R B 5'-GGG TTG CGC TCG TTA C-3' (SEQ ID №: 124). ПЦР ампликоны очищали, используя набор Promega PCR purification, и полученные ампликоны разводили и отправляли в университет Миссури (DNA Core) для секвенирования ДНК. Последовательности ДНК сравнивали с базой данных NCBI BLAST бактериальных изолятов, и род и вид идентифицировали путем непосредственного сравнения с известными штаммами. Наиболее хорошо идентифицированные виды приведены в таблице 14. Во многих случаях по последовательностям ДНК 16S рРНК можно было лишь определить род выбранного бактериального штамма. В тех случаях, когда прямая идентификация не удалась, проводили дополнительные биохимические анализы с использованием стандартных в данной области техники способов для дифференцирования штаммов на



виновом и штаммовом уровнях, и они приведены в таблице 15.

Таблица 15

Тест	<i>E. cloacae</i> CAP12	<i>P. kordraffiae</i> NC35	<i>B. aryabhatai</i> CAP53	<i>B. flexus</i> BT054	<i>B. mycooides</i> BT155	<i>B. aryabhatai</i> CAP56	<i>B. neilsonii</i> BOBA57
Уреаза	-	-	-	-	-	-	+
Каталаза	+	+	+	+	+	+	+
Оксидаза	-	+	+	+	-	-	-
Нитрат	+	+	-	+	+	-	+
Рост, 5% NaCl	+	-	+	+	-	+	+
Рост, 7,5 %NaCl	-	-	+	+	-	+	-
Рост, 42°C	+	+	+	+	+	+	+
Рост, 50°C	-	-	+	+	-	+	-
Рост, pH 5	+	-	+	+	-	+	-
Рост, pH 9	+	+	+	+	+	+	+
Кислота, целлюбиоза	+	-	+	+	+	+	-
Кислота, лактоза	+	-	+	+	+	-	+
Кислота, крахмал	-	-	-	+	-	+	-

Пример 25. Изолирование и идентификация дополнительных бактериальных штаммов, усиливающих рост растений.

[00276] Были отобраны образцы грунта из сельскохозяйственных полей вблизи г. Газа, штат Канзас, разбавлены в стерильной воде и нанесены на чашки с агаризированной питательной средой. Бактериальные изоляты, продемонстрировавшие высокие темпы роста и которые можно было пассировать и размножать, были отобраны для дальнейшего изучения. Выбранные штаммы выращивали на минимальной среде (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3 г, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 6 г, NH<sub>4</sub>Cl 1 г, NaCl 0,50 г, MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O 0,15 г, CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O 0,013 г и глюкоза 1 г на л сухого веса). Ночные культуры (30°C) выбранных штаммов осаждали, удаляли среду и ресуспендировали в равном количестве дистиллированной воды. Семена кукурузы покрывали коммерческим полимером для семян, смешанным только с водой (1,6 мкл на все семена), или коммерческим полимером для семян, содержащим выбранные бактериальные штаммы (1,6 мкл на все семена). Покрытые семена сажали в 3-дюймовые (7,62 см в диаметре) горшки на глубину 1 дюйм (2,54 см) в суглинистый верхний слой почвы (Колумбия, МО), который просеивали для удаления крупных частиц. Растения выращивали при температуре 18-24°C (65-75°F) при 11-часовом световом дне и с поливом по 50 мл каждые 3 дня. Через две недели данные по высоте растений и диаметру листьев, а также по общему физиологическому состоянию растений были собраны. Для анализа прорастания и определения длины 3-дневного корня, семена покрывали так, как указано ранее, и равномерно распределяли по 10 семян на бумажное полотенце. Бумажные полотенца смачивали 10 мл воды, скручивали, помещали в небольшой пластиковый пакет и инкубировали при 30°C или помещали на подогреваемый коврик для прорастания при 27-30°C (80-85°F). Измерения корней регистрировали после 3 дней. Предварительный скрининг ризосферных изолятов привел в результате к получению более чем 100 различных видов бактерий и грибов из

ризосферы. Некоторые из бактериальных видов описаны в таблице 16. Идентифицированные штаммы указаны под своими присущими бактериальными названиями.

Таблица 16

	Обработки семян кукурузы	
<b>Бактериальный инокулянт</b>	<b>Средняя высота (2-недельная), нормированная к полимерному контролю (%)</b>	<b>Средняя длина корня (3- дневного), нормированная к полимерному контролю (%)</b>
Полимерный контроль	100	100
<i>B. mycoides</i> EE118	111,1	189,1
<i>B. subtilis</i> EE148	99,4	172,8
<i>Alcaligenes faecalis</i> EE107	111,5	129,2
<i>B. mycoides</i> EE141	109,2	143,5
<i>B. mycoides</i> BT46-3	105,6	141,3
Член семейства <i>B. cereus</i> EE128	105,6	–
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	101,8	103,8
<i>Paenibacillus massiliensis</i> BT23	104,2	139,4
Член семейства <i>B. cereus</i> EE349	105,2	–
<i>B. subtilis</i> EE218	106,6	–
<i>B. megaterium</i> EE281	107,8	–

[00277] Бактериальные штаммы, произведшие наибольшее влияние на общее физиологическое состояние растения, описаны в таблице 16. Бактериальные штаммы выращивали в течение ночи в бульоне Лурии-Бертани при 37°C, и ночные культуры осаждали в центрифуге. Среду удаляли, а из оставшегося бактериального осадка выделяли хромосомную ДНК с помощью набора Qiagen Bacterial Chromosomal DNA Isolation. Хромосомную ДНК подвергали ПЦР-амплификации 16S рРНК кодирующих областей с использованием праймеров E338F 5'-ACT CCT ACG GGA GGC AGC AGT-3' (SEQ ID №: 122), E1099R A 5'-GGG TTG CGC TCG TTG C-3' (SEQ ID №: 123) и E1099R B 5'-GGG TTG CGC TCG TTA C-3' (SEQ ID №: 124). ПЦР ампликоны очищали, используя набор Promega PCR purification, и полученные ампликоны разводили и отправляли в университет Миссури (DNA Core) для секвенирования ДНК. Последовательности ДНК сравнивали с базой данных NCBI BLAST бактериальных изолятов, и род и вид идентифицировали путем непосредственного сравнения с известными штаммами. Наиболее хорошо идентифицированные виды приведены в таблице 16. Во многих случаях по последовательностям ДНК 16S рРНК можно было лишь определить род выбранного бактериального штамма. В тех случаях, когда прямая идентификация не удалась, проводили дополнительные биохимические анализы с использованием стандартных в данной области техники способов для дифференцирования штаммов на видовом и штаммовом уровнях, и дифференцированные штаммы приведены в таблице 17.

Таблица 17

Тест	<i>B. thuringiensis</i> BT013A	Член семейства <i>B. cereus</i> EE349	<i>B. subtilis</i> EE148	<i>B. subtilis</i> EE218	<i>B. megaterium</i> EE281	<i>Paenibacillus</i> <i>massiliensis</i> BT23	<i>B. mycoides</i> BT46-3	<i>Alcaligenes faecalis</i> EE107	<i>B. mycoides</i> EE118	Член семейства <i>B. cereus</i> EE128	<i>B. mycoides</i> EE141
Подвижность	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Ризоидные колонии	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+
Каталаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Оксидаза	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Нитрат	+	+	СЛ	-	-	-	+	+	+	+	+
Рост, 5% NaCl	+	СЛ	-	+	+	-	+	+	-	+	-
Рост, 7,5% NaCl	СЛ	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Рост, 42°C	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Рост, 50°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Рост, pH 5	СЛ	-	+	+	+	-	СЛ	+	-	+	-
Рост, pH 9	+	+	-	+	+	-	СЛ	+	+	+	-
Кислота, целлобиоза	-	-	СЛ	+	-	+	+	СЛ	+	-	СЛ
Кислота, лактоза	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	СЛ
Кислота, крахмал	-	+	-	+	+	-	+	СЛ	+	+	-

СЛ = слабый рост или медленный рост

Пример 26. Тестирование бактериальных штаммов, усиливающих рост растений, на люцерне.

[00278] Выбранные штаммы выращивали на минимальной среде ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 г,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6 г,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1 г,  $\text{NaCl}$  0,50 г,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,15 г,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,013 г и глюкоза 1 г на л сухого веса). Ночные культуры (30°C) выбранных штаммов осаждали, удаляли среду и ресуспендировали в равном количестве дистиллированной воды. Для каждой обработки десять семян люцерны, покрытые Zeba полимером, были посажены на глубину 0,6 см в суглинистый верхний слой почвы (Колумбия, МО), который просеивали для удаления крупных частиц. При посадке семена инокулировали 0,5 мкл бактерий, ресуспендированных в воде, смешанными с 10 мл  $\text{H}_2\text{O}$ . Десять мл  $\text{H}_2\text{O}$  было достаточно для разнесения бактерий в 3 дюйма<sup>3</sup> (7,62 см<sup>3</sup>) почвы, а также для насыщения почвы для надлежащего прорастания семян. Растения выращивали при температуре 65-75°F (18-24°C) при 11-часовом световом дне и с поливом по 5 мл каждые 3 дня. Люцерну растили в течение 1 недели для анализирования появления и начального прироста растений в описанных условиях. Идентифицированные штаммы, указанные под своими присущими бактериальными названиями, и конечные данные о высоте приведены в таблице 18.

Таблица 18

	Люцерна		
Бактериальный инокулянт	Средняя высота (см)	Сравнение	СОС
Неинокулированный	4,82	–	0,008
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	4,85	101,20%	0,016
<i>B. nealsonii</i> BOBA57	4,86	101,70%	0,021
<i>E. cloacae</i> CAP12	5,6	116,23%	0,020

Пример 27. Тестирование бактериальных штаммов, усиливающих рост растений, на огурцах.

[00279] Выбранные штаммы выращивали на минимальной среде ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 г,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6 г,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1 г,  $\text{NaCl}$  0,50 г,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,15 г,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,013 г и глюкоза 1 г на л сухого веса). Ночные культуры ( $30^\circ\text{C}$ ) выбранных штаммов осаждали, удаляли среду и ресуспендировали в равном количестве дистиллированной воды. Для каждой обработки десять семян огурцов были посажены на глубину 1 см в суглинистый верхний слой почвы (Колумбия, МО), который просеивали для удаления крупных частиц. При посадке семена инокулировали 0,5 мкл бактерий, ресуспендированных в воде, смешанными с 10 мл  $\text{H}_2\text{O}$ . Десять мл  $\text{H}_2\text{O}$  было достаточно для разнесения бактерий в 3 дюймах<sup>3</sup> ( $7,62 \text{ см}^3$ ) почвы, а также для насыщения почвы для надлежащего прорастания семян. Растения выращивали при температуре  $65\text{--}75^\circ\text{F}$  ( $18\text{--}24^\circ\text{C}$ ) при 11-часовом световом дне и с поливом по 5 мл каждые 3 дня. Огурцы растили в течение 2 недель для анализа появления и начального прироста растений в описанных условиях. Идентифицированные штаммы, указанные под своими присущими бактериальными названиями, и конечные данные о высоте приведены в таблице 19.

Таблица 19

	Огурцы		
Бактериальный инокулянт	Средняя высота (см)	Сравнение	СОС
Неинокулированный	11,23	–	0,067
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	11,5	102,00%	0,023
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	11,35	101,20%	0,035
<i>B. nealsonii</i> BOBA57	11,33	101,10%	0,014

Пример 28. Тестирование бактериальных штаммов, усиливающих рост растений, на тыкве.

[00280] Выбранные штаммы выращивали на минимальной среде ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 г,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6 г,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1 г,  $\text{NaCl}$  0,50 г,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,15 г,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,013 г и глюкоза 1 г на л сухого веса). Ночные культуры ( $30^\circ\text{C}$ ) выбранных штаммов осаждали, удаляли среду и ресуспендировали в равном количестве дистиллированной воды. Для каждой обработки десять семян тыквы были посажены на глубину 1 см в суглинистый верхний слой почвы (Колумбия, МО), который просеивали для удаления крупных частиц. При посадке семена инокулировали 0,5 мкл бактерий, ресуспендированных в воде, смешанными с 10 мл  $\text{H}_2\text{O}$ . Десять мл  $\text{H}_2\text{O}$  было достаточно для разнесения бактерий в 3 дюймах<sup>3</sup> ( $7,62 \text{ см}^3$ ) почвы, а также для насыщения почвы для надлежащего

прорастания семян. Растения выращивали при температуре 65-75°F (18-24°C) при 11- часовом световом дне и с поливом по 5 мл каждые 3 дня. Тыкву растили в течение 2 недель для анализирования появления и начального прироста растений в описанных условиях. Идентифицированные штаммы, указанные под своими присущими бактериальными названиями, и конечные данные о высоте и конечном диаметре листа (по ширине двух листьев) приведены в таблице 20.

Таблица 20

Бактериальный инокулянт	Средняя высота (см)	Тыква			
		Сравнение	СОС	Диаметр листа (см)	Сравнение
Неинокулированный	10,16	–	0,028	5,08	–
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	11,75	115,60%	0,055	7,25	142,60%
<i>B. flexus</i> BT054	11,88	116,90%	0,017	6,36	125,20%
<i>Bacillus mycoides</i> BT155	11,92	117,20%	0,051	6,33	124,60%
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	11,95	117,60%	0,027	6,33	124,60%
<i>B. nealsonii</i> BOBA57	11,89	117,00%	0,118	6,42	126,40%
<i>E. cloacae</i> CAP12	11,42	112,30%	0,039	6,83	134,40%

Пример 29. Тестирование бактериальных штаммов, усиливающих рост растений, на плевеле.

[00281] Выбранные штаммы выращивали на минимальной среде (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3 г, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 6 г, NH<sub>4</sub>Cl 1 г, NaCl 0,50 г, MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O 0,15 г, CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O 0,013 г и глюкоза 1 г на л сухого веса). Ночные культуры (30°C) выбранных штаммов осаждали, удаляли среду и ресуспендировали в равном количестве дистиллированной воды. Для каждой обработки тридцать семян плевела были посажены на глубину 0,3 см в суглинистый верхний слой почвы (Колумбия, МО), который просеивали для удаления крупных частиц. При посадке семена инокулировали 0,5 мкл бактерий, ресуспендированных в воде, смешанными с 10 мл H<sub>2</sub>O. Десять мл H<sub>2</sub>O было достаточно для разнесения бактерий в 3 дюймах<sup>3</sup> (7,62 см<sup>3</sup>) почвы, а также для насыщения почвы для надлежащего прорастания семян. Растения выращивали при температуре 65-75°F (18-24°C) при 11- часовом световом дне и с поливом по 5 мл каждые 3 дня. Плевел растили в течение 1,5 недели для анализирования появления и начального прироста растений в описанных условиях. Идентифицированные штаммы, указанные под своими присущими бактериальными названиями, и конечные данные о высоте приведены в таблице 21.

Таблица 21

Бактериальный инокулянт	Плевел		
	Средняя высота (см)	Сравнение	СОС
Неинокулированный	1,61	–	0,023
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	2,01	124,70%	0,012
<i>B. flexus</i> BT054	2,21	137,30%	0,034
<i>Bacillus mycoides</i> BT155	2,29	142,20%	0,049
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	2,19	136,00%	0,009
<i>B. nealsonii</i> BOBA57	2,29	142,40%	0,045
<i>E. cloacae</i> CAP12	1,98	122,50%	0,015

Пример 30. Тестирование бактериальных штаммов, усиливающих рост растений, на

кукурузе.

[00282] Выбранные штаммы выращивали на минимальной среде ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 г,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6 г,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1 г,  $\text{NaCl}$  0,50 г,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,15 г,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,013 г и глюкоза 1 г на л сухого веса). Ночные культуры ( $30^\circ\text{C}$ ) выбранных штаммов осаждали, удаляли среду и ресуспендировали в равном количестве дистиллированной воды. Для каждой обработки десять семян кукурузы были посажены на глубину 2,5 см в суглинистый верхний слой почвы (Колумбия, МО), который просеивали для удаления крупных частиц. При посадке семена инокулировали 0,5 мкл бактерий, ресуспендированными в воде, смешанными с 10 мл  $\text{H}_2\text{O}$ . Десять мл  $\text{H}_2\text{O}$  было достаточно для разнесения бактерий в 3 дюйма<sup>3</sup> ( $7,62 \text{ см}^3$ ) почвы, а также для насыщения почвы для надлежащего прорастания семян. Растения выращивали при температуре  $65\text{-}75^\circ\text{F}$  ( $18\text{-}24^\circ\text{C}$ ) при 11-часовом световом дне и с поливом по 5 мл каждые 3 дня. Кукурузу растили в течение 2 недель для анализа появления и начального прироста растений в описанных условиях. Идентифицированные штаммы, указанные под своими присущими бактериальными названиями, и конечные данные о высоте приведены в таблице 22.

**Таблица 22**

	Кукуруза		
Бактериальный инокулянт	Средняя высота (см)	Сравнение	СОС
Неинокулированный	8,9	—	0,039
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	11,01	123,60%	0,081
<i>B. flexus</i> BT054	9,96	112,00%	0,095
<i>Bacillus mycoides</i> штамм BT155	9,6	107,90%	0,041
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	9,54	107,10%	0,088
<i>B. nealsonii</i> BOBA57	9,23	103,70%	0,077

Пример 31. Тестирование бактериальных штаммов, усиливающих рост растений, на сое.

[00283] Выбранные штаммы выращивали на минимальной среде ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 г,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6 г,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1 г,  $\text{NaCl}$  0,50 г,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,15 г,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,013 г и глюкоза 1 г на л сухого веса или для *Bradyrhizobium* или *Rhizobium* на дрожжевой среде с маннитолом). Ночные культуры ( $30^\circ\text{C}$ ) выбранных штаммов осаждали, удаляли среду и ресуспендировали в равном количестве дистиллированной воды. Для каждой обработки десять семян сои были посажены на глубину 2,5 см в суглинистый верхний слой почвы (Колумбия, МО), который просеивали для удаления крупных частиц. При посадке семена инокулировали 0,5 мкл бактерий, ресуспендированных в воде, смешанными с 10 мл  $\text{H}_2\text{O}$ . При тестировании двух бактериальных штаммов 0,5 мкл каждой суспензии бактерий смешивали с 10 мл  $\text{H}_2\text{O}$ . Десять мл  $\text{H}_2\text{O}$  было достаточно для разнесения бактерий в 3 дюйма<sup>3</sup> ( $7,62 \text{ см}^3$ ) почвы, а также для насыщения почвы для надлежащего прорастания семян. Растения выращивали при температуре  $65\text{-}75^\circ\text{F}$  ( $18\text{-}24^\circ\text{C}$ ) при 11-часовом световом дне и с поливом по 5 мл каждые 3 дня. Сою растили в течение 2 недель для анализа появления и начального прироста растений в описанных условиях. Идентифицированные штаммы указаны под своими присущими бактериальными названиями и конечные данные о высоте приведены в таблице 23. Ко-инокуляция бактериальных штаммов по данному изобретению с представителями *Bradyrhizobium* sp. или *Rhizobium* sp. привела к увеличению роста растений по сравнению

с любым единичным инокулянтом.

**Таблица 23**

	Соя		
Бактериальный инокулянт	Средняя высота (см)	Сравнение	СОС
Неинокулированный	13,94	–	0,089
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	16,32	117,1%	0,146
<i>B. flexus</i> BT054	17,85	128,0%	0,177
<i>Bacillus mycoides</i> штамм BT155	18,93	135,8%	0,117
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	17,23	123,6%	0,133
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	16,32	117,1%	0,077
<i>B. aryabhatai</i> CAP53 и <i>Bradyrhizobium</i> sp.	16,72	119,9%	0,182
<i>B. aryabhatai</i> CAP53 и <i>Rhizobium</i> sp.	17,32	124,2%	0,086
<i>Bradyrhizobium</i> sp.	14,25	102,2%	
<i>Rhizobium</i> sp.	14,75	105,8%	

Пример 32. Члены семейства *Bacillus cereus*, обладающие свойствами усиления роста растений.

[00284] *Bacillus mycoides* штамм BT155, *Bacillus mycoides* штамм EE118, *Bacillus mycoides* штамм EE141, *Bacillus mycoides* штамм BT46-3, член семейства *Bacillus cereus* штамм EE349, *Bacillus thuringiensis* штамм BT013A и *Bacillus megaterium* штамм EE281 выращивали в бульоне Лурии-Бертани при 37°C, и ночные культуры осаждали, удаляли среду и ресуспендировали в равном количестве дистиллированной воды. Для каждой обработки 20 семян кукурузы были посажены на глубину 2,5 см в суглинистый верхний слой почвы (Колумбия, МО), который просеивали для удаления крупных частиц. При посадке семена инокулировали 0,5 мкл бактерий, ресуспендированных в воде, смешанными с 50 мл H<sub>2</sub>O. Пятьдесят мл H<sub>2</sub>O было достаточно для разнесения бактерий в 29 дюймах<sup>3</sup> (442,5 см<sup>3</sup>) почвы, а также для насыщения почвы для надлежащего прорастания семян. Растения выращивали при температуре 65-72°F при 13-часовом световом дне и с поливом по 5 мл каждые 3 дня. Саженьцы росли в течение 2 недель для анализа появления и начального прироста растений в описанных условиях. Идентифицированные штаммы указаны под своими присущими бактериальными названиями и конечные данные о высоте приведены в таблице 24.

**Таблица 24**

Бактериальный инокулянт	Средняя высота, см, кукуруза	Процент	СОС
Контроль H <sub>2</sub> O	11,41	100%	0,123
<i>B. mycoides</i> EE118	12,43	108,9%	0,207
<i>B. mycoides</i> EE141	12,84	112,5%	0,231

<i>B. mycoides</i> BT46–3	11,81	103,5%	0,089
<i>Bacillus thuringiensis</i> BT013A	12,05	105,6%	0,148
Член семейства <i>Bacillus cereus</i> EE128	13,12	114,9%	0,159
<i>Bacillus mycoides</i> BT155	12,85	112,6%	0,163
<i>Bacillus megaterium</i> EE281	11,99	105,1%	0,098

Все протестированные бактерии, усиливающие рост растений, оказали благоприятное влияние на высоту кукурузы на вторую неделю в описанных условиях. Член семейства *Bacillus cereus* штамм EE128 имел наибольший эффект в этом испытании, давая более чем 14% прироста высоты кукурузы.

Пример 33. Повышенный отбор членов семейства *Bacillus cereus* для скрининга на усиленный рост растений и другие полезные изменения, как хозяина для ВЭВ экспрессии.

[00285] Система ВЭВ может быть использована для выявления широкого спектра белков, пептидов и ферментов с использованием любой из сигнальных последовательностей, описанных в данном документе, для обеспечения полезных сельскохозяйственных эффектов. Дополнительные полезные эффекты могут быть получены путем отбора хозяина для экспрессии (члена семейства *Bacillus cereus*), имеющего присущие полезные свойства. Многие штаммы членов семейства *Bacillus cereus* имеют преимущества по улучшению роста растений. Кроме того, многие штаммы членов семейства *Bacillus cereus* обеспечивают наличие защитных эффектов, посредством прямых фунгицидных, инсектицидных, нематоцидных или других защитных действий. При использовании таких штаммов в качестве хозяина для экспрессии в системе ВЭВ, конечный спорный продукт будет иметь комбинацию положительных преимуществ для сельского хозяйства.

[00286] Таблица 25 предоставляет результаты экспериментов, в которых гибридный белок экспрессировался в различных штаммах членов семейства *Bacillus cereus*. Все штаммы экспрессировали гибридный белок, содержащий аминокислоты 1-35 из SEQ ID №: 1, и фосфатазу PhoA4 из *Bacillus subtilis*, фермент, полезный для интенсивного поглощения фосфата, в кукурузе. Ген был синтезирован, клонирован в вектор pMK4 и введен в каждый из *Bacillus* spp., указанный ниже в таблице 25. Штаммы вводили в спорующую путем инкубации при 30°C на чашках с питательной агаризированной средой, содержащей 10 мкг/мл хлорамфеникола, в течение трех дней. Споры собирали, промывали и применяли к кукурузе при посадке с показателем  $1 \times 10^5$  КОЕ/мл в 50 мл воды на горшок с диаметром 7,62 см с 5 мг полифосфата на горшок. Кукурузу выращивали в иловой суглинистой почве в течение двух недель. Растения выращивали при идеальном освещении, используя лампы T5, 54 Вт, и 13-часовой световой экспозиции в день, при контролируемых температурных условиях в пределах 15,5-25,5°C. Растения поливали до насыщения каждые три дня в течение двухнедельного испытания. По окончании двух недель измеряли высоту каждого растения, и измерения были нормированы по контролю спор *Bacillus thuringiensis*. Экспрессия гибридного белка SEQ ID №: 1-фосфатаза привела к увеличению высоты кукурузы на 2-ю неделю, независимо от выбранного для экспрессии штамма хозяина. Как показано в таблице 25, использование члена семейства *Bacillus cereus*, усиливающего рост растений, дополнительно увеличивало высоту кукурузы.



Таблица 25.

Виды <i>Bacillus</i>	Штамм	Гибридный белок	Высота на 2 неделю, нормированная
<i>B. thuringiensis</i>	штамм ВТ013А	отсутствует	100%
<i>B. thuringiensis</i>	штамм ВТ013А	SEQ ID №: 1-фосфатаза	117,4%
<i>B. mycooides</i>	штамм ЕЕ141	отсутствует	107,3%
<i>B. mycooides</i>	штамм ЕЕ141	SEQ ID №: 1-фосфатаза	123,3%
Член семейства <i>B. cereus</i>	штамм ЕЕ128	отсутствует	124,1%
Член семейства <i>B. cereus</i>	штамм ЕЕ128	SEQ ID №: 1-фосфатаза	131,7%
<i>B. mycooides</i>	штамм ВТ155	отсутствует	104,8%
<i>B. mycooides</i>	штамм ВТ155	SEQ ID №: 1-фосфатаза	121,9%

Пример 34. Использование различных сигнальных последовательностей для экспрессии  $\beta$ -галактозидазы на поверхности *Bacillus thuringiensis*.

[00287] Широкое разнообразие сигнальных последовательностей, имеющих высокую степень гомологии с аминокислотами 20-35 из Вс1А (аминокислоты 20-35 из SEQ ID №: 1), может быть использовано для выявления ферментов, белков и пептидов на поверхности членов семейства *Bacillus cereus*. Несколько сигнальных последовательностей сравнивали путем создания гибридных белков, содержащих сигнальные последовательности, связанные с липазой *Bacillus subtilis*. Гибридные конструкции синтезировали, используя нативные для сигнальных последовательностей промоторы, клонировали в репликативную плазмиду рМК4 и вводили в *Bacillus thuringiensis* ВТ013А. Штаммы вводили в спорулящую путем инкубации при 30°C на чашках с питательной агаризированной средой, содержащей 10 мкг/мл хлорамфеникола, в течение трех дней. Споры собирали, промывали и ресуспендировали в натрий-фосфатном буфере до показателя  $1 \times 10^8$ /мл. Использовали  $1 \times 10^5$  спор для каждой гибридной конструкции, споры суспендировали в 400 мкл дистиллированной H<sub>2</sub>O.

Реакционные смеси нагревались реакционными компонентами до желаемой температуры реакции (40°C). Добавляли 200 мкл рабочего буфера (9:1 раствор А: раствор Б). Раствор А содержал 50 мМ Трис рН 10 и 13,6 мМ деоксихолевую кислоту, а раствор Б содержал 3 мг/мл р-нитрофенил пальмитат в изопропанол. Реакционную смесь инкубировали при 40°C в течение 10 минут и помещали в лед, центрифугировали для удаления спор, и регистрировали оптическую плотность при 420 нм. Результаты показаны ниже в таблице 26. Активность была нормирована по контрольному гибриднему белку, содержащему аминокислоты 1-35 из SEQ ID №: 1, слитые с липазой *Bacillus subtilis*.

Таблица 26.

Штамм	Сигнальная последовательность	Фермент	Относительная активность
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	аминокислоты 1–35 из SEQ ID №: 1	липаза	100%
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	аминокислоты 1–27 из SEQ ID №: 3	липаза	92,5%
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	аминокислоты 1–28 из SEQ ID №: 7	липаза	13,5%
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	аминокислоты 1–24 из SEQ ID №: 9	липаза	24,8%
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	аминокислоты 1–33 из SEQ ID №: 13	липаза	98,5%
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	аминокислоты 1–33 SEQ ID №: 21	липаза	107,8%
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	SEQ ID №: 60	липаза	137,1%

<i>B. thuringiensis</i> BT013A	SEQ ID №: 64	липаза	115,7%
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	SEQ ID №: 68	липаза	81,5%

<i>B. thuringiensis</i> BT013A	SEQ ID №: 62	липаза	146,3%
-----------------------------------	--------------	--------	--------

[00288] Связывание нескольких сигнальных последовательностей с липазой приводит к более высоким уровням экспрессии и активности фермента на поверхности спор. В частности, SEQ ID №№60, 62 и 64, каждый из которых содержит более короткую сигнальную последовательность, приводило в результате к усиленной гибридной экспрессии на поверхности ВЭВ спор. Все гибридные белки, содержащие тестируемые сигнальные последовательности, приводили к выявлению на поверхности липазы.

Пример 35. Использование различных последовательностей экзоспория для экспрессии липазы на поверхности *Bacillus thuringiensis* и демонстрация локализации гибридного белка на поверхности экзоспория.

[00289] Широкое разнообразие белков экзоспория может быть использовано для выявления ферментов, белков и пептидов на поверхности членов семейства *Bacillus cereus*. Несколько различных белков экзоспория сравнивали путем создания гибридных белков, содержащих белки экзоспория, связанные с липазой *Bacillus subtilis*, как описано в примере 34. Гибридные конструкции синтезировали, используя нативный для белка экзоспория промотор, указанный ниже в таблице 27, клонировали в репликативную плазмиду рМК4 и вводили в *Bacillus thuringiensis* BT013A. Споры, выявляющие различные гибриды белка экзоспория-липазы *Bacillus subtilis* 168, были получены путем выращивания трансформированных бактерий в бульоне с сердечно-мозговой вытяжкой при селективном давлении 10 мкг/мл хлорамфеникола, высеванием на чашки с питательной агаризированной средой и инкубированием при 30°C в течение 3 дней. После 3 дней споры смывали с чашек, очищали центрифугированием и ресуспендировали в натрий-фосфатном буфере до  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл.

[00290]  $1 \times 10^5$  спор для каждой гибридной конструкции суспендировали в 400 мкл дистиллированной  $H_2O$ . Реакционные смеси нагревались реакционными компонентами до желаемой температуры реакции ( $40^\circ C$ ). Добавляли 200 мкл рабочего буфера (9:1 раствор А: раствор Б). Раствор А содержал 50 мМ Трис рН 10 и 13,6 мМ деоксихолевую кислоту, а раствор Б содержал 3 мг/мл р-нитрофенил пальмитат в изопропанол.  
 Реакционную смесь инкубировали при  $40^\circ C$  в течение 10 минут и помещали в лед, центрифугировали для удаления спор, и регистрировали оптическую плотность при 420 нм. Результаты показаны ниже в таблице 27. Активность была нормирована по SEQ ID №: 72, связанному с липазой.

Таблица 27.

Штамм	Белок экзоспория	Фермент	Относительная
			<b>активность</b>
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	SEQ ID №: 72	липаза	100%
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	SEQ ID №: 73	липаза	134,5%
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	SEQ ID №: 76	липаза	17,8%
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	SEQ ID №: 80	липаза	19,8%
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	SEQ ID №: 81	липаза	8,2%

[00291] Использование белков экзоспория из SEQ ID №№72 и 73 привело в результате к самой высокой активности фермента на споре. Все гибридные белки, содержащие белки экзоспория, в результате выявляли на поверхности активную липазу *Bacillus subtilis* 168, хотя на различных уровнях.

[00292] С использованием флуоресцентного репортера mCherry было показано, что дополнительные белки экзоспория в результате направляли гибридные белки в экзоспорий. Были созданы гибридные конструкции, включающие белки экзоспория из SEQ ID №№74, 83 и 73, присоединенные к репортеру mCherry. Споры выращивали в течение 1,5 дня, собирали и ресуспендировали, как описано ранее. 7 мкл флуоресцентных спор клали под микроскоп Nikon E1000 и делали изображения во время поздней споруляции. Круговая локализация в кольце указывает на локализацию внешнего слоя споры, а проявление соответствует белку экзоспория. Результаты флуоресцентной микроскопии проиллюстрированы на фигуре 2. Фиг. 2А, 2Б и 2В представляют собой изображения флуоресцентной микроскопии спор, экспрессирующих гибридные белки, содержащие белки экзоспория из SEQ ID №№74, 83 и 73, соответственно, и репортер mCherry. Все три гибрида продемонстрировали высокий уровень флуоресценции и локализации на экзоспорий, демонстрируя свою потенциальную полезность для экспрессии чужеродных белков на поверхности экзоспория.

Пример 36. Использование различных сигнальных последовательностей и белков экзоспория для экспрессии фосфатазы в спорах *Bacillus subtilis*, и воздействия спор, содержащих фосфатазу, в сое.

[00293] ВЭВ споры, экспрессирующие фосфатазу A4 (PhoA4) *Bacillus subtilis* EE148, были созданы путем генного синтеза генов, кодирующих различные сигнальные последовательности и белки экзоспория под контролем нативных промоторов,

связанных с PhoA4. Синтезированные гены были клонированы в рМК4 и введены в *Bacillus thuringiensis* BT013A. Споры, выявляющие различные гибриды белка экзоспория-PhoA4 *Bacillus subtilis* EE148, были получены путем выращивания трансформированных бактерий в бульоне с сердечно-мозговой вытяжкой при селективном давлении 10 мкг/мл хлорамфеникола, высеванием на чашки с питательной агаризированной средой и инкубированием при 30°C в течение 3 дней. После 3 дней споры смывали с чашек, очищали центрифугированием и ресуспендировали в натрий-фосфатном буфере до  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл.

[00294] Сою сажали на глубину 2,54 см в горшки глубиной 10 см, наполненные стандартным суглинистым верхним слоем почвы. ВЭВ споры, экспрессирующие PhoA4, разводили до концентрации  $1 \times 10^4$ /мл в 50 мл воды и применяли к каждому растению при посадке. Также включали контроль только с водой. Полифосфат добавляли в горшки в форме жидкости в расчете 0,5 мг/горшок. Растения выращивали при идеальном освещении, используя лампы T5, 54 Вт, и 13-часовой световой экспозиции в день, при контролируемых температурных условиях в пределах 15,5-25,5°C. Растения поливали до насыщения каждые три дня в течение двухнедельного испытания. По окончании двух недель измеряли высоту каждого растения, и измерения были нормированы по контролю растения только с водой.

[00295] Результаты приведены в таблице 28. Сою выращивали в присутствии ВЭВ спор, экспрессирующих гибридные белки, содержащие PhoA4, связанную с различными сигнальными последовательностями, и белки экзоспория с различными партнерами слияния, с PhoA4 все демонстрировали усиленный рост, но продолжительность влияния варьировала в зависимости от используемой сигнальной последовательности или белка экзоспория.

Таблица 28.

Виды <i>Bacillus</i>	Сигнальная последовательность или белок экзоспория, связанный с PhoA4	Высота на 2-ю неделю, нормированная
H <sub>2</sub> O (без бактерий)	отсутствует	100%
<i>Bacillus thuringiensis</i> штамм BT013A	аминокислоты 1–35 из SEQ ID №: 1	100%
<i>Bacillus thuringiensis</i> штамм BT013A	аминокислоты 1–28 из SEQ ID №: 3	117,4%
<i>Bacillus thuringiensis</i> штамм BT013A	аминокислоты 1–33 из SEQ ID №: 21	107,3%
<i>Bacillus thuringiensis</i> штамм BT013A	SEQ ID №: 60	123,3%
<i>Bacillus thuringiensis</i> штамм BT013A	SEQ ID №: 62	124,1%
<i>Bacillus thuringiensis</i> штамм BT013A	SEQ ID №: 72	131,7%
<i>Bacillus thuringiensis</i> штамм BT013A	SEQ ID №: 73	104,8%

Пример 37. Совместное применение ВЭВ спор с обработками семян, жидкими

удобрениями и другими добавками.

5 [00296] ВЭВ споры, экспрессирующие гибридные белки, тестировали на совместимость с различными обработками семян. ВЭВ споры экспрессировали гибридные белки, содержащие сигнальную последовательность аминокислот 1-35 SEQ ID №: 1, связанную с фосфатазой (PhoA4) из *Bacillus subtilis* EE148 или пептидом POLARIS. Синтезированные гены клонировали в рМК4 и вводили в *Bacillus thuringiensis* BT013A. Споры, выявляющие различные гибриды белка экзоспория-PhoA4 *Bacillus subtilis* EE148 или POLARIS, были получены путем выращивания трансформированных бактерий в бульоне с сердечно-мозговой вытяжкой при селективном давлении от 10 мкг/мл хлорамфеникола, 10 высеванием на чашки с питательной агаризированной средой и инкубированием при 30°C в течение 3 дней. После 3 дней споры смывали с чашек, очищали центрифугированием и ресуспендировали в натрий-фосфатном буфере до  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл.

15 [00297] Растения выращивали при идеальном освещении, используя лампы T5, 54 Вт, и 13-часовой световой экспозиции в день, при контролируемых температурных условиях в пределах 15,5-25,5°C. Растения поливали до насыщения каждые три дня в течение двухнедельного испытания. По окончании двух недель измеряли высоту каждого растения, и измерения были нормированы по контролю растений только с водой. Результаты показаны ниже в таблице 29. Смачивание = применялось к почве по 20 50 мл на горшок. Полимер = только полимер ACCELERON для покрытия семян. ВЭВ споры в количестве  $1 \times 10^4$  клеток/50 мл добавляли для смачивания. ВЭВ споры в количестве  $1,3 \times 10^4$ /клетки/семя добавляли для покрытия семян. 10-34-0 и 6-24-6 представляют собой стандартные коммерческие стартовые композиции удобрений. 10-34-0 представляет собой жидкий фосфат аммония. 6-24-6 представляет собой 25 слабосолевое жидкое фосфатное удобрение с орто/поли композицией. Краситель = Becker Underwood, красный, краситель для покрытия семян. MACHO, APRON и CRUISER представляют собой коммерческие фунгициды, используемые для семян. MACHO содержит активный ингредиент имидаклоприд, APRON содержит активный ингредиент 30 мефеноксам, и CRUISER содержит смесь активных ингредиентов тиаметоксама, мефеноксама и флудиоксонала. Было обнаружено, что споры совместимы со многими обработками семян и сохраняли способность стимулировать рост растений кукурузы.

35

40

45

Таблица 29.

Обработка ВЭВ	Химический реагент	Высота кукуруза на 2-ю неделю, нормированная
отсутствует	отсутствует (смачивание водой)	100%
отсутствует	только полимер	101,3%
ВЭВ PhoA4	отсутствует (смачивание)	111,3%
ВЭВ POLARIS	отсутствует (смачивание)	106,7%
ВЭВ PhoA4	полимер	109,3%
ВЭВ POLARIS	полимер	107,3%
ВЭВ PhoA4	полимер + краситель	102,3%
ВЭВ PhoA4	полимер + MACHO	107,9%
ВЭВ PhoA4	полимер + APRON	112,3%
ВЭВ PhoA4	полимер + CRUISER	116,8%
ВЭВ PhoA4	полимер + краситель + MACHO + APRON + CRUISER	113,7%
отсутствует	10-34-0 стартовый (смачивание)	108,5%
ВЭВ PhoA4	10-34-0 стартовое удобрение (смачивание)	114,7%
отсутствует	6-24-6 стартовое удобрение (смачивание)	102,6%
ВЭВ PhoA4	6-24-6 стартовое удобрение (смачивание)	112,9%

[00298] Было обнаружено, что ВЭВ споры совместимы со всеми тестируемыми веществами для покрытия семян. Показано незначительное снижение активности, когда ВЭВ PhoA4 споры сочетались только с красителем и полимером, но споры восстанавливали полноценную активность с красителем в комбинации с другими фунгицидами. ВЭВ споры также хорошо работали с жидкими удобрениями. Наиболее вероятно, что стартовые удобрения способствовали росту растений через непосредственное дополнение питательных веществ. ВЭВ споры работали с обоими стартовыми удобрениями, предполагая, что активность фосфатазы все еще может приводить к увеличению роста растений в присутствии избытка питательных веществ. Комбинации ВЭВ спор с фунгицидами представляли большее увеличение роста растений, чем только ВЭВ споры, что, похоже, связано с защитой, обеспечиваемой молодым растениям кукурузы на ранних этапах роста.

Пример 38. Использование ВЭВ спор, как добавку для листьев для уменьшения ингибирования роста во время стресса, на кукурузе.

[00299] Система выявления ВЭВ спор может быть использована для доставки

ферментов, способных облегчать воздействие некоторых стрессовых факторов на растущие в поле или теплице растения. Для достижения этого выбирали ферменты, избирательно действующие на активные формы кислорода в почве. Активные формы кислорода являются основными маркерами стресса у растений.

5 [00300] Были получены ВЭВ споры, экспрессирующие гибридные белки, содержащие сигнальную последовательность аминокислот 1-35 из SEQ ID №: 1, связанную с хитозиназой, супероксиддисмутазой, каталазой или  $\beta$ -1,3-глюканазой из *Bacillus thuringiensis* BT013A. Синтезированные гены клонировали в рМК4 и вводили в *Bacillus thuringiensis* BT013A. Споры, выявляющие различные гибридные белки, были получены  
10 путем выращивания трансформированных бактерий в бульоне с сердечно-мозговой вытяжкой при селективном давлении 10 мкг/мл хлорамфеникола, высеванием на чашки с питательной агаризированной средой и инкубированием при 30°C в течение 3 дней. После 3 дней споры смывали с чашек, очищали центрифугированием и ресуспендировали в натрий-фосфатном буфере до  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл.

15 [00301] Трехнедельные растения кукурузы на стадии V5 выращивали при идеальном освещении, используя лампы T5, 54 Вт, и 13-часовой световой экспозиции в день, при контролируемых температурных условиях в пределах 15,5-25,5°C. Растения поливали до насыщения каждые три дня в течение всего испытания. Когда растения достигали  
20 стадии V5, ВЭВ споры или положительные контрольные химикаты распыляли на листья либо  $1 \times 10^5$  ВЭВ спор/мл, либо в рекомендуемых дозах для химических реагентов. Для каждого индивидуального растения применяли 1 мл распылителя. Высоту растений измеряли непосредственно перед нанесением листовых распылителей. Затем растения кукурузы подвергали тепловому стрессу при 32,2°C и уменьшали полив до одного раза  
25 в неделю. Растения содержали в стрессовых условиях в течение двух недель. По окончании двух недель снова измеряли высоту растений и регистрировали внешние проявления. В этих стрессовых условиях рост растений при контрольных обработках был минимальным. Способность расти в стрессовых условиях оценивали по увеличению высоты растения в течение двухнедельного промежутка по сравнению с контролем,  
30 обработанным только водой. Результаты показаны ниже в таблице 30.

35

40

45

Таблица 30.

Обработка	Доза	Изменение высоты растения после 2-недельного стресса
отсутствует	отсутствует	0%
Споры <i>Bacillus thuringiensis</i> BT013A	1 мл/растение	-1,6%
ВЭВ хитозиназа	1 мл/растение	0,3%
ВЭВ хитозиназа и хитозан	1 мл/растение и 5 мМ	4,7%
ВЭВ супероксиддисмутаза	1 мл/растение	8,3%
ВЭВ $\beta$ 1,3-глюканаза	1 мл/растение	4,9%
Салициловая кислота	1 мл/растение	5,8%
Бензотиадиазол (БТД)	1 мл/растение	7,3%
ВЭВ каталаза	1 мл/растение	-0,5%

[00302] Несколько противострессовых ферментов применяли для кукурузы, используя систему ВЭВ, как показано ранее в таблице 30. Контрольные споры не оказали существенного влияния (снижение высоты растений -1,6%). ВЭВ фермент хитозиназа оказал положительное влияние в сочетании со своим субстратом хитозаном. Двумя наиболее показательными ферментами были ВЭВ  $\beta$ -1,3-глюканаза и ВЭВ супероксиддисмутаза. ВЭВ  $\beta$ -1,3-глюканаза обладает, в первую очередь, противогрибковой активностью, но также может непосредственно влиять на растения. Салициловая кислота и БТД служили положительными контролями анализа листьев и положительные ответы были отмечены для обоих. Этот способ переноса на листья может быть использован для доставки противострессовых ферментов растениям в разное сезонное время.

Пример 39. Уровни экспрессии гибридных белков с использованием различных промоторов, содержащих сигма-К.

[00303] Как показано ранее в примере 23, замена нативного промотора сигнальной последовательности, белка экзоспория или фрагмента белка экзоспория может существенно повлиять на уровень гибридного белка, экспрессируемого на экзоспории споры семейства *Bacillus cereus*. Например, замена нативного промотора *BclA* на промотор *BclB* значительно снижает уровень гибридного белка на поверхности спор члена семейства *Bacillus cereus*. В альтернативном варианте замена нативного промотора *BclB* на промотор *BclA* существенно повышает уровни гибридного белка на экзоспории.

[00304] Относительные уровни экспрессионной активности промотора для различных белков экзоспория под контролем нативных промоторов споруляции были получены по данным микрочипов из Bergman et al., 2008. Относительные уровни экспрессии определяли во время поздней стадии споруляции (300 минут после начала эксперимента), когда сигма К промоторы наиболее активны. Сигма К промоторы являются основными промоторами при экспрессии генов локализации в экзоспории и ассоциированных белков. Относительная экспрессия представляет собой увеличение уровня экспрессии гена по сравнению со средним показателем всех других генов хромосомы на всех заданных временных точках. Таблица 31 ниже показывает относительные уровни



экспрессии различных генов под контролем сигма К у членов семейства *Bacillus cereus*.

**Таблица 31.**

Белок (промотор SEQ ID №.)	Относительная экспрессия (кратность увеличения мРНК)
CotY (SEQ ID №: 97)	79,21
Промоторы рамнозы (SEQ ID №: 96)	75,69
BclC (SEQ ID №: 98)	14,44
Сигма К (SEQ ID №: 99)	64
BclA, примыкающий к промотору 1 гликозилтрансферазы, выше него (SEQ ID №: 101)	72,25
BclA, примыкающий к промотору 2 гликозилтрансферазы, ниже него (SEQ ID №: 102)	73,96
BclA (SEQ ID №: 85)	77,44
ExsY (SEQ ID №: 91)	32,49
YjcA (SEQ ID №: 93)	64
YjcB (SEQ ID №: 94)	70,56
BxpB / ExsFA (SEQ ID №: 95)	30,25
InhA (SEQ ID №: 100)	34,25

[00305] В свете вышеизложенного, будет видно, что достигнуто несколько объектов изобретения и достигнуты другие полезные результаты.

[00306] Поскольку различные изменения могут быть произведены в указанных ранее гибридных белках, членах семейства *Bacillus cereus*, препаратах и способах, без отклонения от объема изобретения, поразумеется, что весь материал, содержащийся в приведенном ранее описании и проиллюстрированный в прилагаемых графических материалах, должен быть интерпретирован в иллюстративном, а не в ограничивающем смысле.

(57) Формула изобретения

1. Способ стимулирования роста растений, включающий введение рекомбинантной бактерии группы *Bacillus cereus*, экспрессирующей гибридный белок в среде для роста растений, или применение рекомбинантной бактерии группы *Bacillus cereus*, экспрессирующей гибридный белок, к растению, семени растения или области, окружающей растение или семя растения, причем гибридный белок включает:

белок или пептид, стимулирующий рост растения, где белок или пептид, стимулирующий рост растения, включает:

пептидный гормон, включающий фитосульфокин, clavata 3 (CLV3), системин, ZmlGF или SCR/SP11;

негормональный пептид, включающий RKN 16D10, Hg-Syv46, eNOD40 пептид, мелиттин, мастопаран, Mas7, RHPP, POLARIS или ингибитор трипсина Кунитца (ИТК);

фермент, участвующий в продуцировании или активации соединения, стимулирующего рост растения, где фермент включает ацетоинредуктазу, индол-3-ацетамидгидролазу, триптофанмонооксигеназу, ацетолактатсинтазу,  $\alpha$ -ацетолактатдекарбоксилазу, пируватдекарбоксилазу, диацетилредуктазу, бутандиолдегидрогеназу, аминотрансферазу, триптофандекарбоксилазу, аминоксидазу, индол-3-пируватдекарбоксилазу, индол-3-ацетальдегид-дегидрогеназу, триптофан боковой цепи-оксидазу, нитрилгидролазу, нитрилазу, пептидазу, протеазу, аденозинфосфат-

- изопентилтрансферазу, фосфатазу, аденозинкиназу, аденин-фосфорибозилтрансферазу, СУР735А, 5'-рибонуклеотид-фосфогидролазу, аденозин-нуклеозидазу, зеатин-цис-транс-изомеразу, зеатин-О-глюкозилтрансферазу,  $\beta$ -глюкозидазу, цис-гидроксилазу, ЦК-цис-гидроксилазу, ЦК-N-глюкозилтрансферазу, 2,5-рибонуклеотид-фосфогидролазу,
- 5 аденозин-нуклеозидазу, пурин-нуклеозидфосфорилазу, зеатинредуктазу, гидроксиламинредуктазу, 2-оксоглутаратдиоксигеназу, гибберелловую-2В/3В-гидролазу, гиббереллин-3-оксидазу, гиббереллин-20-оксидазу, хитозаназу, хитиназу,  $\beta$ -1,3-глюканазу,  $\beta$ -1,4-глюканазу,  $\beta$ -1,6-глюканазу или аминокциклопропан-1-карбоновой кислоты-деаминазу;
- 10 фермент, разрушающий или модифицирующий бактериальный, грибковый или растительный источник питательных веществ, включающий целлюлазу, липазу, лигниноксидазу, протеазу, гликозидгидролазу, фосфатазу, нитрогеназу, нуклеазу, амидазу, нитратредуктазу, нитритредуктазу, амилазу, аммоний-оксидазу, лигниназу, глюкозидазу, фосфолипазу, фитазу, пектиназу, глюканазу, сульфатазу, уреазу или
- 15 ксиланазу; или  
 белок флагеллин или пептид флагеллина; и  
 сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория, где сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория выбирают из группы, состоящей из:
- 20 (а) сигнальной последовательности, содержащей аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 43% идентичность аминокислотам 20–35 последовательности SEQ ID NO: 1, где идентичность аминокислотам 25–35 составляет по меньшей мере примерно 54%;
- (b) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–35
- 25 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (с) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 20–35 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (d) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 1;
- (е) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 30 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 2;
- (f) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–27 последовательности SEQ ID NO: 3;
- (g) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–27 последовательности SEQ ID NO: 3;
- 35 (h) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 3;
- (i) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 4;
- (j) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–38 последовательности SEQ ID NO: 5;
- 40 (k) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 23–38 последовательности SEQ ID NO: 5;
- (l) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 5;
- (m) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 6;
- 45 (n) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–28 последовательности SEQ ID NO: 7;
- (o) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 13–28 последовательности SEQ ID NO: 7;

- (p) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 7;
- (q) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 8;
- (r) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–24
- 5 последовательности SEQ ID NO: 9;
- (s) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 9–24 последовательности SEQ ID NO: 9;
- (t) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 9;
- (u) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 10 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 10;
- (v) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 11;
- (w) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 11;
- 15 (x) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 11;
- (y) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 12;
- (z) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 13;
- 20 (aa) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 13;
- (ab) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 13;
- (ac) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 14;
- 25 (ad) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–43 последовательности SEQ ID NO: 15;
- (ae) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 28–43 последовательности SEQ ID NO: 15;
- (af) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 15;
- 30 (ag) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 16;
- (ah) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–27 последовательности SEQ ID NO: 17;
- (ai) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–27
- 35 последовательности SEQ ID NO: 17;
- (aj) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 17;
- (ak) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 18;
- (al) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33
- 40 последовательности SEQ ID NO: 19;
- (am) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 19;
- (an) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 19;
- (ao) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 45 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 20;
- (ар) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 21;
- (aq) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33



- по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 36;  
(bt) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–29 последовательности SEQ ID NO: 43;  
(bu) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 14–29 последовательности SEQ ID NO: 43;  
5 (bv) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 43;  
(bw) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 44;  
(bx) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–35 последовательности SEQ ID NO: 45;  
10 (by) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 20–35 последовательности SEQ ID NO: 45;  
(bz) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 45;  
(ca) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 46;  
15 (cb) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–43 последовательности SEQ ID NO: 47;  
(cc) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 28–43 последовательности SEQ ID NO: 47;  
20 (cd) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 47;  
(ce) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 48;  
(cf) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–32 последовательности SEQ ID NO: 49;  
25 (cg) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 17–32 последовательности SEQ ID NO: 49;  
(ch) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 49;  
(ci) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 50;  
30 (cj) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 51;  
(ck) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 51;  
(cl) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 51;  
35 (cm) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 52;  
(cn) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 53;  
(co) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 53;  
40 (cp) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 53;  
(cq) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 54;  
(cr) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–30 последовательности SEQ ID NO: 55;  
45 (cs) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 15–30 последовательности SEQ ID NO: 55;  
(ct) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 55;



(dy) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 14–23 последовательности SEQ ID NO: 3;

(dz) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 14–25 последовательности SEQ ID NO: 3; или

5 (ea) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–23 последовательности SEQ ID NO: 3.

2. Семя растения, покрытое препаратом для покрытия семян, содержащим рекомбинантную бактерию группы *Bacillus cereus* и сельскохозяйственно-приемлемый носитель, где указанное семя применяют для получения растения, имеющего

10 повышенный рост по сравнению с ростом растения, выращенного из семени, не покрытого препаратом для покрытия семян, где рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* содержит вектор или модифицированную хромосомную ДНК, кодирующую гибридный белок, где рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* экспрессирует гибридный белок, и гибридный белок включает:

15 белок или пептид, стимулирующий рост растения, где белок или пептид, стимулирующий рост растения, включает:

пептидный гормон, включающий фитосульфокин, *clavata 3 (CLV3)*, системин, *ZmlGF* или *SCR/SP11*;

20 негормональный пептид, включающий *RKN 16D10*, *Hg-Syv46*, *eNOD40* пептид, мелиттин, мастопаран, *Mas7*, *RHPP*, *POLARIS* или ингибитор трипсина Кунитца (ИТК);

фермент, участвующий в продуцировании или активации соединения, стимулирующего рост растения, где фермент включает ацетоинредуктазу, индол-3-ацетамидгидролазу, триптофанмонооксигеназу, ацетолактатсинтетазу,  $\alpha$ -ацетолактатдекарбоксилазу, пируватдекарбоксилазу, диацетилредуктазу, бутандиолдегидрогеназу,

25 аминотрансферазу, триптофандекарбоксилазу, аминоксидазу, индол-3-пируватдекарбоксилазу, индол-3-ацетальдегид-дегидрогеназу, триптофан боковой цепи-оксидазу, нитрилгидролазу, нитрилазу, пептидазу, протеазу, аденозинфосфат-изопентилтрансферазу, фосфатазу, аденозинкиназу, аденин-фосфорибозилтрансферазу, *CYP735A*, 5'-рибонуклеотид-фосфогидролазу, аденозин-нуклеозидазу, зеатин-цис-транс-изомеразу, зеатин-О-глюкозилтрансферазу,  $\beta$ -глюкозидазу, цис-гидроксилазу, ЦК-цис-гидроксилазу, ЦК-N-глюкозилтрансферазу, 2,5-рибонуклеотид-фосфогидролазу, аденозин-нуклеозидазу, пурин-нуклеозидфосфорилазу, зеатинредуктазу, гидроксилминредуктазу, 2-оксоглутаратдиоксигеназу, гибберелловую-2В/3В-гидролазу, гиббереллин-3-оксидазу, гиббереллин-20-оксидазу, хитозаназу, хитиназу,  $\beta$ -1,3-

30 глюкоканазу,  $\beta$ -1,4-глюкоканазу,  $\beta$ -1,6-глюкоканазу или аминокциклопропан-1-карбоновой кислоты-деаминазу;

фермент, разрушающий или модифицирующий бактериальный, грибковый или растительный источник питательных веществ, включающий целлюлазу, липазу, лигниноксидазу, протеазу, гликозидгидролазу, фосфатазу, нитрогеназу, нуклеазу,

40 амидазу, нитратредуктазу, нитритредуктазу, амилазу, аммоний-оксидазу, лигниназу, глюкозидазу, фосфолипазу, фитазу, пектиназу, глюкоканазу, сульфатазу, уреазу или ксиланазу;

белок флагеллин или пептид флагеллина; и

сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория, где сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория выбирают из группы, состоящей из:

(а) сигнальной последовательности, содержащей аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 43% идентичность

аминокислотам 20–35 последовательности SEQ ID NO: 1, где идентичность аминокислотам 25–35 составляет по меньшей мере примерно 54%;

(b) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–35 последовательности SEQ ID NO: 1;

5 (c) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 20–35 последовательности SEQ ID NO: 1;

(d) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 1;

(e) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 2;

10 (f) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–27 последовательности SEQ ID NO: 3;

(g) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–27 последовательности SEQ ID NO: 3;

(h) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 3;

15 (i) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 4;

(j) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–38 последовательности SEQ ID NO: 5;

20 (k) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 23–38 последовательности SEQ ID NO: 5;

(l) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 5;

(m) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 6;

25 (n) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–28 последовательности SEQ ID NO: 7;

(o) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 13–28 последовательности SEQ ID NO: 7;

(p) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 7;

30 (q) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 8;

(r) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–24 последовательности SEQ ID NO: 9;

(s) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 9–24 последовательности SEQ ID NO: 9;

35 (t) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 9;

(u) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 10;

(v) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 11;

40 (w) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 11;

(x) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 11;

(y) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 12;

45 (z) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 13;

(aa) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 13;



- (ab) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 13;
- (ac) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 14;
- (ad) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–43
- 5 последовательности SEQ ID NO: 15;
- (ae) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 28–43 последовательности SEQ ID NO: 15;
- (af) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 15;
- (ag) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 10 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 16;
- (ah) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–27 последовательности SEQ ID NO: 17;
- (ai) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–27 последовательности SEQ ID NO: 17;
- 15 (aj) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 17;
- (ak) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 18;
- (al) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 19;
- 20 (am) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 19;
- (an) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 19;
- (ao) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 20;
- 25 (ар) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 21;
- (aq) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 21;
- (ar) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 21;
- 30 (as) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 22;
- (at) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–24 последовательности SEQ ID NO: 23;
- (au) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 9–24
- 35 последовательности SEQ ID NO: 23;
- (av) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 23;
- (aw) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 24;
- (ax) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–24
- 40 последовательности SEQ ID NO: 25;
- (ay) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 9–24 последовательности SEQ ID NO: 25;
- (az) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 25;
- (ba) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 45 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 26;
- (bb) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–30 последовательности SEQ ID NO: 27;
- (bc) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 15–30



- по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 48;  
(cf) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–32 последовательности SEQ ID NO: 49;  
(cg) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 17–32 последовательности SEQ ID NO: 49;
- 5 (ch) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 49;  
(ci) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 50;  
(cj) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 51;
- 10 (ck) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 51;  
(cl) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 51;  
(cm) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 52;
- 15 (cn) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 53;  
(co) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 53;
- 20 (cp) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 53;  
(cq) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 54;  
(cr) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–30 последовательности SEQ ID NO: 55;
- 25 (cs) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 15–30 последовательности SEQ ID NO: 55;  
(ct) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 55;  
(cu) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 56;
- 30 (cv) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–130 последовательности SEQ ID NO: 57;  
(cw) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 115–130 последовательности SEQ ID NO: 57;  
(cx) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 57;
- 35 (cy) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 58;  
(cz) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 59;
- 40 (da) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 60;  
(db) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 61;  
(dc) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 62;  
(dd) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 63;  
(de) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 64;  
(df) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 65;
- 45 (dg) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 66;  
(dh) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 67;  
(di) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 68;  
(dj) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 69;

- (dk) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 70;
- (dl) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 71;
- (dm) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 72;
- (dn) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 73;
- (do) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 74;
- (dp) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 76;
- (dq) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 77;
- (dr) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 80;
- (ds) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 81;
- (dt) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 83;
- (du) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 84;
- (dv) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 22–31 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (dw) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 22–33 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (dx) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 20–31 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (dy) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 14–23 последовательности SEQ ID NO: 3;
- (dz) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 14–25 последовательности SEQ ID NO: 3; или
- (ea) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–23 последовательности SEQ ID NO: 3.

3. Рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* для стимулирования роста растения, где рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus*, содержащая вектор или модифицированную хромосомную ДНК, кодирующую гибридный белок, где рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* экспрессирует гибридный белок и где гибридный белок включает:

эндоглюканазу, фосфолипазу, хитозаназу, протеазу, гликозидгидролазу, фосфатазу, нитрогеназу, нуклеазу, амидазу, нитратредуктазу, нитритредуктазу, аммоний-оксидазу, глюкозидазу, фитазу, пектиназу, глюканазу, сульфатазу, уреазу или ксиланазу и сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория, где сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория выбирают из группы, состоящей из:

- (a) сигнальной последовательности, содержащей аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 43% идентичность аминокислотам 20–35 последовательности SEQ ID NO: 1, где идентичность аминокислотам 25–35 составляет по меньшей мере примерно 54%;

- (b) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–35 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (c) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 20–35 последовательности SEQ ID NO: 1;
- 5 (d) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 1;
- (e) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 2;
- (f) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–27 последовательности SEQ ID NO: 3;
- 10 (g) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–27 последовательности SEQ ID NO: 3;
- (h) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 3;
- (i) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 4;
- 15 (j) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–38 последовательности SEQ ID NO: 5;
- (k) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 23–38 последовательности SEQ ID NO: 5;
- (l) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 5;
- 20 (m) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 6;
- (n) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–28 последовательности SEQ ID NO: 7;
- (o) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 13–28
- 25 последовательности SEQ ID NO: 7;
- (p) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 7;
- (q) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 8;
- (r) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–24
- 30 последовательности SEQ ID NO: 9;
- (s) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 9–24 последовательности SEQ ID NO: 9;
- (t) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 9;
- (u) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 35 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 10;
- (v) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 11;
- (w) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 11;
- 40 (x) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 11;
- (y) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 12;
- (z) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 13;
- 45 (aa) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 13;
- (ab) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 13;
- (ac) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую

- по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 14;  
(ad) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–43 последовательности SEQ ID NO: 15;  
(ae) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 28–43 последовательности SEQ ID NO: 15;
- 5 (af) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 15;  
(ag) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 16;  
(ah) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–27 последовательности SEQ ID NO: 17;
- 10 (ai) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–27 последовательности SEQ ID NO: 17;  
(aj) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 17;  
(ak) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 18;
- 15 (al) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 19;  
(am) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 19;
- 20 (an) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 19;  
(ao) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 20;  
(ap) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 21;
- 25 (aq) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 21;  
(ar) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 21;  
(as) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 22;
- 30 (at) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–24 последовательности SEQ ID NO: 23;  
(au) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 9–24 последовательности SEQ ID NO: 23;  
(av) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 23;
- 35 (aw) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 24;  
(ax) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–24 последовательности SEQ ID NO: 25;  
(ay) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 9–24 последовательности SEQ ID NO: 25;
- 40 (az) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 25;  
(ba) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 26;  
(bb) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–30 последовательности SEQ ID NO: 27;
- 45 (bc) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 15–30 последовательности SEQ ID NO: 27;  
(bd) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 27;



- последовательности SEQ ID NO: 49;  
(cg) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 17–32  
последовательности SEQ ID NO: 49;  
(ch) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 49;
- 5 (ci) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 50;  
(cj) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33  
последовательности SEQ ID NO: 51;  
(ck) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33
- 10 последовательности SEQ ID NO: 51;  
(cl) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 51;  
(cm) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 52;  
(cn) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33
- 15 последовательности SEQ ID NO: 53;  
(co) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33  
последовательности SEQ ID NO: 53;  
(cp) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 53;  
(cq) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 20 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 54;  
(cr) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–30  
последовательности SEQ ID NO: 55;  
(cs) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 15–30  
последовательности SEQ ID NO: 55;
- 25 (ct) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 55;  
(cu) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 56;  
(cv) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–130  
последовательности SEQ ID NO: 57;
- 30 (cw) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 115–130  
последовательности SEQ ID NO: 57;  
(cx) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 57;  
(cy) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 58;
- 35 (cz) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 59;  
(da) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 60;  
(db) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 61;  
(dc) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 62;
- 40 (dd) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 63;  
(de) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 64;  
(df) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 65;  
(dg) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 66;  
(dh) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 67;
- 45 (di) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 68;  
(dj) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 69;  
(dk) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 70;  
(dl) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую



- по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 71;  
 (dm) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 72;  
 (dn) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 73;  
 5 (do) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 74;  
 (dp) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 76;  
 10 (dq) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 77;  
 (dr) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 80;  
 (ds) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 81;  
 15 (dt) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 83;  
 (du) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 84;  
 20 (dv) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 22–31 последовательности SEQ ID NO: 1;  
 (dw) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 22–33 последовательности SEQ ID NO: 1;  
 (dx) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 20–31 последовательности SEQ ID NO: 1;  
 25 (dy) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 14–23 последовательности SEQ ID NO: 3;  
 (dz) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 14–25 последовательности SEQ ID NO: 3; или  
 30 (ea) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–23 последовательности SEQ ID NO: 3.

4. Гибридный белок для стимуляции роста растения, где гибридный белок включает белок или пептид, стимулирующий рост растения, где белок или пептид, стимулирующий рост растения, включает:

- 35 пептидный гормон, включающий фитосульфокин, clavata 3 (CLV3), системин, ZmlGF или SCR/SP11;  
 негормональный пептид, включающий RKN 16D10, Hg-Syv46, eNOD40 пептид, мелиттин, мастопаран, Mas7, RHPP, POLARIS или ингибитор трипсина Кунитца (ИТК);  
 фермент, участвующий в продуцировании или активации соединения, стимулирующего  
 40 рост растения, где фермент включает ацетоинредуктазу, индол-3-ацетамидгидролазу, триптофанмонооксигеназу, ацетолактатсинтазу,  $\alpha$ -ацетолактатдекарбоксилазу, пируватдекарбоксилазу, диацетилредуктазу, бутандиолдегидрогеназу, аминотрансферазу, триптофандекарбоксилазу, аминоксидазу, индол-3-пируватдекарбоксилазу, индол-3-ацетальдегид-дегидрогеназу, триптофан боковой  
 45 цепи-оксидазу, нитрилгидролазу, нитрилазу, пептидазу, протеазу, аденозинфосфат-изопентилтрансферазу, фосфатазу, аденозинкиназу, аденин-фосфорибозилтрансферазу, CYP735A, 5'-рибонуклеотид-фосфогидролазу, аденозин-нуклеозидазу, зеатин-цис-транс-изомеразу, зеатин-О-глюкозилтрансферазу,  $\beta$ -глюкозидазу, цис-гидроксилазу, ЦК-цис-

- гидроксилазу, ЦК-N-глюкозилтрансферазу, 2,5-рибонуклеотид-фосфогидролазу, аденозин-нуклеозидазу, пурин-нуклеозидфосфорилазу, зеатинредуктазу, гидроксиламинредуктазу, 2-оксоглутаратдиоксигеназу, гибберелловую-2В/3В-гидролазу, гиббереллин-3-оксидазу, гиббереллин-20-оксидазу, хитозаназу, хитиназу,  $\beta$ -1,3-глюканазу,  $\beta$ -1,4-глюканазу,  $\beta$ -1,6-глюканазу или аминокicloпропан-1-карбоновой кислоты-деаминазу; или
- белок флагеллин или пептид флагеллина; и
- сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория, где сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория
- выбирают из группы, состоящей из:
- (а) сигнальной последовательности, содержащей аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 43% идентичность аминокислотам 20–35 последовательности SEQ ID NO: 1, где идентичность аминокислотам 25–35 составляет по меньшей мере примерно 54%;
- (b) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–35 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (c) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 20–35 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (d) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 1;
- (e) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 2;
- (f) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–27 последовательности SEQ ID NO: 3;
- (g) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–27 последовательности SEQ ID NO: 3;
- (h) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 3;
- (i) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 4;
- (j) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–38 последовательности SEQ ID NO: 5;
- (k) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 23–38 последовательности SEQ ID NO: 5;
- (l) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 5;
- (m) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 6;
- (n) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–28 последовательности SEQ ID NO: 7;
- (o) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 13–28 последовательности SEQ ID NO: 7;
- (p) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 7;
- (q) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 8;
- (r) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–24 последовательности SEQ ID NO: 9;
- (s) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 9–24 последовательности SEQ ID NO: 9;
- (t) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 9;
- (u) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую

- по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 10;  
(v) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 11;  
(w) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 11;
- 5 (x) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 11;  
(y) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 12;  
(z) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 13;
- 10 (aa) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 13;  
(ab) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 13;  
(ac) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 14;
- 15 (ad) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–43 последовательности SEQ ID NO: 15;  
(ae) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 28–43 последовательности SEQ ID NO: 15;
- 20 (af) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 15;  
(ag) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 16;  
(ah) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–27 последовательности SEQ ID NO: 17;
- 25 (ai) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–27 последовательности SEQ ID NO: 17;  
(aj) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 17;  
(ak) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 18;
- 30 (al) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 19;  
(am) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 19;  
(an) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 19;
- 35 (ao) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 20;  
(ар) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 21;  
(aq) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 21;
- 40 (ar) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 21;  
(as) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 22;  
(at) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–24 последовательности SEQ ID NO: 23;
- 45 (au) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 9–24 последовательности SEQ ID NO: 23;  
(av) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 23;





- (cz) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 59;
- (da) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 60;
- (db) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 61;
- 5 (dc) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 62;
- (dd) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 63;
- (de) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 64;
- (df) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 65;
- (dg) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 66;
- 10 (dh) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 67;
- (di) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 68;
- (dj) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 69;
- (dk) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 70;
- (dl) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 15 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 71;
- (dm) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 72;
- (dn) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 73;
- 20 (do) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 74;
- (dp) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 76;
- (dq) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 25 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 77;
- (dr) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 80;
- (ds) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 81;
- 30 (dt) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 83;
- (du) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 84;
- (dv) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 22–31
- 35 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (dw) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 22–33 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (dx) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 20–31 последовательности SEQ ID NO: 1;
- 40 (dy) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 14–23 последовательности SEQ ID NO: 3;
- (dz) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 14–25 последовательности SEQ ID NO: 3; или
- (ea) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–23
- 45 последовательности SEQ ID NO: 3.

5. Способ по п. 1, семя растения по п. 2, рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 3 или гибридный белок по п. 4, где сигнальная последовательность содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 62%

идентичность аминокислотам 20–35 последовательности SEQ ID NO: 1, где идентичность аминокислотам 25–35 составляет по меньшей мере примерно 72%.

6. Способ по п. 1, семя растения по п. 2, рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 3 или гибридный белок по п. 4, где сигнальная последовательность содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 81% идентичность аминокислотам 20–35 последовательности SEQ ID NO: 1, где идентичность аминокислотам 25–35 составляет по меньшей мере примерно 90%.

7. Способ по п. 1, семя растения по п. 2, рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 3 или гибридный белок по п. 4, отличающиеся тем, что сигнальная последовательность состоит из:

- a) аминокислот 1–35 из SEQ ID №: 1;
- b) аминокислот 20–35 из SEQ ID №: 1;
- c) SEQ ID №: 1;
- d) SEQ ID №: 60; или

(e) аминокислотной последовательности, состоящей из 16 аминокислот и имеющей по меньшей мере примерно 43% идентичность аминокислотам 20–35 последовательности SEQ ID NO: 1, где идентичность аминокислотам 25–35 составляет по меньшей мере примерно 54%.

8. Способ по п. 1, семя растения по п. 2, рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 3 или гибридный белок по п. 4, отличающиеся тем, что гибридный белок включает белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория, который включает аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с SEQ ID №: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 59.

9. Гибридный белок для стимуляции роста растения, включающий белок или пептид, стимулирующий рост растения, где белок или пептид, стимулирующий рост растения, включает:

пептидный гормон, включающий фитосульфокин, *clavata 3 (CLV3)*, системин, *ZmlGF* или *SCR/SP11*;

негормональный пептид, включающий *RKN 16D10*, *Hg-Syv46*, *eNOD40* пептид, мелиттин, мастопаран, *Mas7*, *RHPP*, *POLARIS* или ингибитор трипсина Кунитца (ИТК);

фермент, участвующий в продуцировании или активации соединения, стимулирующего рост растения, где фермент включает ацетоинредуктазу, индол-3-ацетамидгидролазу, триптофанмонооксигеназу, ацетолактатсинтетазу,  $\alpha$ -ацетолактатдекарбоксилазу, пируватдекарбоксилазу, диацетилредуктазу, бутандиолдегидрогеназу, аминотрансферазу, триптофандекарбоксилазу, аминоксидазу, индол-3-пируватдекарбоксилазу, индол-3-ацетальдегид-дегидрогеназу, триптофан боковой цепи-оксидазу, нитрилгидролазу, нитрилазу, пептидазу, протеазу, аденозинфосфат-изопентилтрансферазу, фосфатазу, аденозинкиназу, аденин-фосфорибозилтрансферазу, *CYP735A*, 5'-рибонуклеотид-фосфогидролазу, аденозин-нуклеозидазу, зеатин-цис-транс-изомераза, зеатин-О-глюкозилтрансферазу,  $\beta$ -глюкозидазу, цис-гидроксилазу, ЦК-цис-гидроксилазу, ЦК-N-глюкозилтрансферазу, 2,5-рибонуклеотид-фосфогидролазу, аденозин-нуклеозидазу, пурин-нуклеозидфосфорилазу, зеатинредуктазу, гидроксилминредуктазу, 2-оксоглутаратдиоксигеназу, гибберелловую-2В/3В-гидролазу, гиббереллин-3-оксидазу, гиббереллин-20-оксидазу, хитозаназу, хитиназу,  $\beta$ -1,3-глюканазу,  $\beta$ -1,4-глюканазу,  $\beta$ -1,6-глюканазу или аминокциклопропан-1-карбоновой кислоты-деаминазу;

фермент, разрушающий или модифицирующий бактериальный, грибковый или растительный источник питательных веществ, включающий целлюлазу, липазу, лигниноксидазу, протеазу, гликозидгидролазу, фосфатазу, нитрогеназу, нуклеазу, амидазу, нитратредуктазу, нитритредуктазу, амилазу, аммоний-оксидазу, лигниназу, глюкозидазу, фосфолипазу, фитазу, пектиназу, глюканазу, сульфатазу, уреазу или ксиланазу; или

белок флагеллин или пептид флагеллина; и

белок экзоспория, где белок экзоспория содержит:

- a) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID №: 71;
- b) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID №: 72;
- c) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID №: 73;
- d) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID №: 74;
- e) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID №: 76;
- f) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID №: 77;
- g) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID №: 80;
- h) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID №: 81;
- i) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID №: 83; или
- j) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID №: 84.

10. Гибридный белок по п. 9, включающий белок экзоспория, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с SEQ ID №: 71, 72, 73, 74, 76, 77, 80, 81, 83 или 84.

11. Способ по п. 1, семя растения по п. 2, рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 3 или гибридный белок по любому из пп. 4, 9 и 10, отличающиеся тем, что гибридный белок включает аминокислотный линкер между сигнальной последовательностью, белком экзоспория или фрагментом белка экзоспория и белком или пептидом, стимулирующим рост растения, причем данный линкер необязательно включает:

полиаланиновый линкер, полиглициновый линкер или линкер, содержащий смесь как аланиновых, так и глициновых остатков; и/или

сайт узнавания протеазы.

12. Способ по п. 1, семя растения по п. 2 или гибридный белок по любому из пп. 4, 9 и 10, отличающиеся тем, что фермент, участвующий в продуцировании или активации соединения, стимулирующего рост растения, включает протеазу или пептидазу, расщепляющую белки, пептиды, пробелки или препробелки для получения биологически активного пептида, причем:

протеаза или пептидаза необязательно включает субтилизин, кислую протеазу, щелочную протеазу, протеиназу, эндопептидазу, экзопептидазу, термолизин, папаин, пепсин, трипсин, проназу, карбоксилазу, сериновую протеазу, глутаминовую протеазу,



аспаргатную протеазу, цистеиновую протеазу, треониновую протеазу или металлопротеазу;

биоактивный пептид необязательно включает RKN 16D10 или RHPP; и/или протеаза или пептидаза необязательно расщепляет белки в пище, богатой белком.

5 13. Способ по п. 1, семя растения по п. 2 или слитый белок по п. 9 или 10, отличающиеся тем, что:

целлюлаза включает эндоцеллюлазу, экзоцеллюлазу или  $\beta$ -глюкозидазу;

липаза включает липазу *Bacillus subtilis*, липазу *Bacillus thuringiensis*, липазу *Bacillus cereus* или липазу *Bacillus clausii*; или

10 лигниноксидаза включает лигнинпероксидазу, лакказу, глиоксальоксидазу, лигниназу или марганецпероксидазу.

14. Способ по п. 1, семя растения по п. 2, рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 3 или гибридный белок по п. 9 или 10, где

15 протеаза включает субтилизин, кислую протеазу, щелочную протеазу, протеиназу, пептидазу, эндопептидазу, экзопептидазу, термолизин, папаин, пепсин, трипсин, проназу, карбоксилазу, сериновую протеазу, глутаминовую протеазу, аспаргатную протеазу, цистеиновую протеазу, треониновую протеазу или металлопротеазу;

20 фосфатаза включает фосфорный моноэфир-гидролазу, фосфомоноэстеразу, фосфорный диэфир-гидролазу, фосфодиэстеразу, трифосфорный моноэфир-гидролазу, фосфорил ангидрид-гидролазу, пиррофосфатазу, фитазу, триметафосфатазу или трифосфатазу; или

нитрогеназа включает нитрогеназу из Nif семейства.

15. Способ, семя растения или гибридный белок по п. 13, отличающиеся тем, что:

целлюлаза включает эндоцеллюлазу и эндоцеллюлаза включает эндоглюканазу;

25 целлюлаза включает экзоцеллюлазу и экзоцеллюлаза включает экзоцеллюлазу *Trichoderma reesei*;

целлюлаза включает  $\beta$ -глюкозидазу и  $\beta$ -глюкозидаза включает  $\beta$ -глюкозидазу *Bacillus subtilis*,  $\beta$ -глюкозидазу *Bacillus thuringiensis*,  $\beta$ -глюкозидазу *Bacillus cereus* или  $\beta$ -глюкозидазу *Bacillus clausii*;

30 фосфатаза включает фосфомоноэстеразу и фосфомоноэстераза включает PhoA4;

фосфатаза включает фитазу и фитаза включает фитазу *Bacillus subtilis* EE148 или фитазу *Bacillus thuringiensis* VT013A.

16. Рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 3, где:

35 **фосфатаза включает фосфомоноэстеразу и фосфомоноэстераза включает PhoA4; или**

фосфатаза включает фитазу и фитаза включает фитазу *Bacillus subtilis* EE148 или фитазу *Bacillus thuringiensis* VT013A.

17. Способ, семя растения или гибридный белок по п. 15, где эндоцеллюлаза включает эндоглюканазу и эндоглюканаза включает эндоглюканазу *Bacillus subtilis*, эндоглюканазу *Bacillus thuringiensis*, эндоглюканазу *Bacillus cereus* или эндоглюканазу *Bacillus clausii*.

40 18. Рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 3, где эндоглюканаза включает эндоглюканазу *Bacillus subtilis*, эндоглюканазу *Bacillus thuringiensis*, эндоглюканазу *Bacillus cereus* или эндоглюканазу *Bacillus clausii*.

19. Способ по п. 1, семя растения по п. 2 или гибридный белок по любому из пп. 4, 9 и 10, где пептид флагеллина включает flg22.

45 20. Рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus*, экспрессирующая гибридный белок по любому из пп. 4, 9 и 10.

21. Рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus*, коэкспрессирующая по меньшей мере один гибридный белок, содержащий белок или пептид, стимулирующий рост

растения, по любому из пп. 4, 9 и 10 и по меньшей мере один гибридный белок, содержащий

белок или пептид, связывающийся с растением, где белок или пептид, связывающийся с растением, включает адгезин, флагеллин, омпитин, лектин, экспансин, структурный белок биопленки, белок пилуса, белок curlus, интимин, инвазин, агглютинин, нефимбриальный белок; и

сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория, где сигнальную последовательность, белок экзоспория или фрагмент белка экзоспория выбирают из группы, состоящей из:

- 10 (a) сигнальной последовательности, содержащей аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере примерно 43% идентичность аминокислотам 20–35 последовательности SEQ ID NO: 1, где идентичность аминокислотам 25–35 составляет по меньшей мере примерно 54%;
- (b) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–35
- 15 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (c) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 20–35 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (d) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 1;
- (e) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 20 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 2;
- (f) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–27 последовательности SEQ ID NO: 3;
- (g) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–27 последовательности SEQ ID NO: 3;
- 25 (h) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 3;
- (i) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 4;
- (j) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–38 последовательности SEQ ID NO: 5;
- 30 (k) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 23–38 последовательности SEQ ID NO: 5;
- (l) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 5;
- (m) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 6;
- 35 (n) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–28 последовательности SEQ ID NO: 7;
- (o) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 13–28 последовательности SEQ ID NO: 7;
- (p) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 7;
- 40 (q) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 8;
- (r) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–24 последовательности SEQ ID NO: 9;
- (s) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 9–24
- 45 последовательности SEQ ID NO: 9;
- (t) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 9;
- (u) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 10;

- (v) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 11;
- (w) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 11;
- 5 (x) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 11;
- (y) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 12;
- (z) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 13;
- 10 (aa) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 13;
- (ab) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 13;
- (ac) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 14;
- 15 (ad) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–43 последовательности SEQ ID NO: 15;
- (ae) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 28–43 последовательности SEQ ID NO: 15;
- (af) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 15;
- 20 (ag) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 16;
- (ah) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–27 последовательности SEQ ID NO: 17;
- (ai) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–27 последовательности SEQ ID NO: 17;
- 25 (aj) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 17;
- (ak) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 18;
- (al) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 19;
- 30 (am) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 19;
- (an) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 19;
- (ao) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 20;
- 35 (ap) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 21;
- (aq) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 21;
- 40 (ar) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 21;
- (as) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 22;
- (at) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–24 последовательности SEQ ID NO: 23;
- 45 (au) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 9–24 последовательности SEQ ID NO: 23;
- (av) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 23;
- (aw) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую

- по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 24;  
(ax) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–24 последовательности SEQ ID NO: 25;  
(ay) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 9–24 последовательности SEQ ID NO: 25;
- 5 (az) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 25;  
(ba) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 26;  
(bb) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–30 последовательности SEQ ID NO: 27;
- 10 (bc) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 15–30 последовательности SEQ ID NO: 27;  
(bd) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 27;  
(be) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 15 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 28;  
(bf) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 29;  
(bg) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 29;
- 20 (bh) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 29;  
(bi) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 30;  
(bj) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–24 последовательности SEQ ID NO: 31;
- 25 (bk) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 9–24 последовательности SEQ ID NO: 31;  
(bl) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 31;  
(bm) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 30 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 32;  
(bn) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–15 последовательности SEQ ID NO: 33;  
(bo) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 33;  
(bp) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 35 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 34;  
(bq) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–16 последовательности SEQ ID NO: 35;  
(br) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 35;  
(bs) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую
- 40 по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 36;  
(bt) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–29 последовательности SEQ ID NO: 43;  
(bu) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 14–29 последовательности SEQ ID NO: 43;  
(bv) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 43;
- 45 (bw) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 44;  
(bx) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–35 последовательности SEQ ID NO: 45;

- (by) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 20–35 последовательности SEQ ID NO: 45;
- (bz) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 45;
- (ca) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 46;
- 5 (cb) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–43 последовательности SEQ ID NO: 47;
- (cc) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 28–43 последовательности SEQ ID NO: 47;
- 10 (cd) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 47;
- (ce) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 48;
- (cf) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–32 последовательности SEQ ID NO: 49;
- 15 (cg) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 17–32 последовательности SEQ ID NO: 49;
- (ch) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 49;
- (ci) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 50;
- 20 (cj) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 51;
- (ck) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 51;
- (cl) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 51;
- 25 (cm) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 52;
- (cn) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–33 последовательности SEQ ID NO: 53;
- (co) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 18–33 последовательности SEQ ID NO: 53;
- 30 (cp) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 53;
- (cq) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 54;
- (cr) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–30 последовательности SEQ ID NO: 55;
- 35 (cs) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 15–30 последовательности SEQ ID NO: 55;
- (ct) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 55;
- (cu) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 56;
- 40 (cv) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 1–130 последовательности SEQ ID NO: 57;
- (cw) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 115–130 последовательности SEQ ID NO: 57;
- 45 (cx) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 57;
- (cy) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 58;
- (cz) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую

- по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 59;
- (da) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 60;
- (db) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 61;
- (dc) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 62;
- 5 (dd) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 63;
- (de) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 64;
- (df) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 65;
- (dg) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 66;
- (dh) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 67;
- 10 (di) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 68;
- (dj) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 69;
- (dk) сигнальной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 70;
- (dl) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 71;
- 15 (dm) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 72;
- (dn) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 73;
- (do) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 74;
- 20 (dp) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 76;
- (dq) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 77;
- 25 (dr) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 80;
- (ds) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 81;
- (dt) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 83;
- 30 (du) белка экзоспория, содержащего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность последовательности SEQ ID NO: 84;
- (dv) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 22–31 последовательности SEQ ID NO: 1;
- 35 (dw) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 22–33 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (dx) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 20–31 последовательности SEQ ID NO: 1;
- (dy) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 14–23 последовательности SEQ ID NO: 3;
- 40 (dz) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 14–25 последовательности SEQ ID NO: 3; или
- (ea) сигнальной последовательности, содержащей аминокислоты 12–23 последовательности SEQ ID NO: 3.
- 45 22. Рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 21, где адгезин включает рикадгезин; или структурный белок биопленки включает TasA или YuaB.
23. Способ по п. 1, семя растения по п. 2 или рекомбинантная бактерия группы

*Bacillus cereus* по п. 3, отличающиеся тем, что рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* включает *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycooides*, *Bacillus pseudomycooides*, *Bacillus samanii*, *Bacillus gaemokensis*, *Bacillus weihenstephensis* или их комбинацию.

5 24. Способ по п. 1, семя растения по п. 2 или рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 3, отличающиеся тем, что рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* включает штамм бактерий, стимулирующий рост растения, причем штамм бактерий, стимулирующий рост растения, необязательно: продуцирует инсектицидный токсин, продуцирует фунгицидное соединение, продуцирует нематоцидное соединение,  
10 продуцирует бактерицидное соединение, является устойчивым к одному или более антибиотикам, содержит одну или более самостоятельно реплицирующихся плазмид, прикрепляется к корням растений, колонизирует корни растений, формирует биопленки, растворяет питательные вещества, секретирует органические кислоты или их комбинации.

15 25. Способ, семя растения или рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 24, где

инсектицидный токсин включает Сгу токсин;

фунгицидное соединение включает  $\beta$ -1,3-глюканазу, хитозаназу, литиказу или их комбинацию; и/или

20 нематоцидное соединение включает Сгу токсин.

26. Способ по п. 1, семя растения по п. 2 или 3 или рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 4, отличающиеся тем, что рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* включает *Bacillus mycooides* BT155, имеющий номер доступа NRRL No. B-50921; *Bacillus mycooides* EE118, имеющий номер доступа NRRL No. B-50918; *Bacillus mycooides*  
25 EE141, имеющий номер доступа NRRL No. B-50916; *Bacillus mycooides* BT46-3, имеющий номер доступа NRRL No. B-50922; член группы *Bacillus cereus* EE128, имеющий номер доступа NRRL No. B-50917; *Bacillus thuringiensis* BT013A, имеющий номер доступа NRRL No. B-50924, или член группы *Bacillus cereus* EE349, имеющий номер доступа NRRL No. B-50928.

30 27. Способ, семя растения или рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 26, отличающиеся тем, что гибридный белок включает сигнальную последовательность из SEQ ID №: 60.

28. Способ, семя растения или рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 27, отличающиеся тем, что белок или пептид, стимулирующий рост растения, включает  
35 негормональный пептид, негормональный пептид, включающий ингибитор трипсина Кунитца (ИТК); или где белок или пептид, стимулирующий рост растения, включает фермент, участвующий в продуцировании или активации соединения, стимулирующего рост растения, где фермент включает хитозаназу.

29. Способ по п. 1, семя растения по п. 2 или рекомбинантная бактерия группы  
40 *Bacillus cereus* по п. 3, где гибридный белок включает сигнальную последовательность, содержащую SEQ ID NO: 60, и эндоглюканазу или фосфатазу, где фосфатаза необязательно включает PhoA4 или фитазу.

30. Способ по п. 1, семя растения по п. 2 или рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* по п. 3, отличающиеся тем, что гибридный белок экспрессируется под  
45 контролем споруляционного промотора, нативного по отношению к сигнальной последовательности, белку экзоспория или фрагменту белка экзоспория в гибридном белке, и/или отличающиеся тем, что гибридный белок экспрессируется под контролем сильного споруляционного промотора; причем:

сильный споруляционный промотор необязательно включает промоторную последовательность сигма-К, специфическую для полимеразы споруляции, промоторную последовательность или последовательности сигма-К, специфические для полимеразы споруляции, необязательно имеющие 100% идентичности с соответствующими нуклеотидами из SEQ ID №: 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102 или 103; и/или

промотор споруляции необязательно включает нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с нуклеотидной последовательностью любой из SEQ ID №№: 85–103.

31. Препарат для стимуляции роста растения, где препарат содержит рекомбинантную бактерию группы *Bacillus cereus* по п. 3 или рекомбинантную бактерию группы *Bacillus cereus*, которая экспрессирует гибридный белок по любому из пп. 4, 9, и 10 и сельскохозяйственно-приемлемый носитель, причем:

сельскохозяйственно-приемлемый носитель необязательно включает диспергирующее вещество, сурфактант, добавку, воду, загуститель, противослеживающий агент, противоосадочное вещество, компостирующий препарат, гранулированную подкормку, диатомит, масло, краситель, стабилизатор, консервант, полимер, пленку или их комбинацию;

указанный препарат необязательно включает препарат для покрытия семян, жидкий препарат, применяемый для растений или растительных ростовых сред, или твердый препарат, применяемый для растений или растительных ростовых сред;

указанный препарат необязательно дополнительно включает удобрение, материал микроэлементов удобрения, инсектицид, гербицид, вещество, улучшающее рост растений, фунгицид, инсектицид, моллюскоцид, альгицид, бактериальный инокулянт, грибковый инокулянт или их комбинацию; и/или

сельскохозяйственно-приемлемый носитель включает вермикулит, древесный уголь, отходы сатурационного пресса сахарного завода, рисовую шелуху, карбоксиметилцеллюлозу, торф, перлит, мелкий песок, карбонат кальция, муку, квасцы, крахмал, тальк, поливинилпирролидон или их комбинацию.

32. Препарат по п. 31, где:

сурфактант включает тяжелое нефтяное масло, тяжелый нефтяной дистиллят, сложный эфир полиола жирной кислоты, полиэтиоксилированный эфир жирной кислоты, арилалкил полиоксиэтиленгликоля, алкиламин ацетат, алкиларилсульфонат, многоатомный спирт, алкилфосфат или их комбинацию;

добавка включает масло, камедь, смолу, глину, полиоксиэтиленгликоль, терпен, вязкую органику, сложный эфир жирной кислоты, сульфатированный спирт, алкилсульфонат, нефтяной сульфонат, сульфат спирта, алкилбутандиамат натрия, полиэфир тиобутандиоата натрия, производное бензол-ацетонитрила, белковый материал или их комбинацию;

загуститель включает алкилсульфонат полиэтиленгликоля с длинной цепью, полиоксиэтиленолеат или их комбинацию;

противослеживающий агент включает соль натрия, карбонат кальция, диатомит или их комбинацию;

препарат для покрытия семян включает раствор на водной или масляной основе, применяемый для семян, или порошок или гранулированный препарат, применяемый для семян;

жидкий препарат, применяемый для растений или растительных ростовых сред, включает концентрированный препарат или препарат, готовый для использования; и/



или

твердый препарат, применяемый для растений или растительных ростовых сред, включает гранулированный препарат или порошковое вещество.

33. Препарат по п. 31, отличающийся тем, что бактериальный инокулянт включает  
 5 штамм бактерий, стимулирующий рост растения, причем штамм бактерий, стимулирующий рост растения, необязательно: продуцирует инсектицидный токсин, продуцирует фунгицидное соединение, продуцирует нематоцидное соединение, продуцирует бактерицидное соединение, является устойчивым к одному или более антибиотикам, содержит одну или более самостоятельно реплицирующихся плазмид,  
 10 прикрепляется к корням растений, колонизирует корни растений, формирует биопленки, растворяет питательные вещества, секретирует органические кислоты или их комбинации.

34. Препарат по п. 33, где  
 инсектицидный токсин включает Сгу токсин;  
 15 фунгицидное соединение включает  $\beta$ -1,3-глюканазу, хитозаназу, литиказу или их комбинацию; и/или нематоцидное соединение включает Сгу токсин.

35. Препарат по п. 33, отличающийся тем, что бактериальный инокулянт включает  
 20 *Bacillus aryabhatai* CAP53, имеющий номер доступа NRRL No. B-50819; *Bacillus aryabhatai* CAP56, имеющий номер доступа NRRL No. B-50817; *Bacillus flexus* BT054, имеющий номер доступа NRRL No. B-50816; *Paracoccus kondratievae* NC35, имеющий номер доступа NRRL No. B-50820; *Bacillus mycooides* BT155, имеющий номер доступа NRRL No. B-50921; *Enterobacter cloacae* CAP12, имеющий номер доступа NRRL No. B-50822; *Bacillus nealsonii* BOBA57, имеющий номер доступа NRRL No. B-50821; *Bacillus mycooides* EE118, имеющий  
 25 номер доступа NRRL No. B-50918; *Bacillus subtilis* EE148, имеющий номер доступа NRRL No. B-50927; *Alcaligenes faecalis* EE107, имеющий номер доступа NRRL No. B-50920; *Bacillus mycooides* EE141, имеющий номер доступа NRRL No. B-50916; *Bacillus mycooides* BT46-3, имеющий номер доступа NRRL No. B-50922; член группы *Bacillus cereus* EE128, имеющий номер доступа NRRL No. B-50917; *Bacillus thuringiensis* BT013A, имеющий  
 30 номер доступа NRRL No. B-50924; *Paenibacillus massiliensis* BT23, имеющий номер доступа NRRL No. B-50923; член группы *Bacillus cereus* EE349, имеющий номер доступа NRRL No. B-50928; *Bacillus subtilis* EE218, имеющий номер доступа NRRL No. B-50926; *Bacillus megaterium* EE281, имеющий номер доступа NRRL No. B-50925, или их комбинацию.

36. Способ стимулирования роста растений, включающий следующие этапы:  
 35 введение рекомбинантной бактерии группы *Bacillus cereus* по п. 20 в среду для роста растений; или

применение рекомбинантной бактерии группы *Bacillus cereus* по п. 20 к растению, семени растения или области, окружающей растение или семя растения.

37. Способ для стимулирования роста растений по п. 1, отличающийся тем, что  
 40 растения, выращенные в присутствии рекомбинантной бактерии группы *Bacillus cereus*, демонстрируют усиленный рост по сравнению с растениями, выращенными в отсутствие рекомбинантной бактерии группы *Bacillus cereus* в тех же условиях.

38. Способ по п. 37, где  
 растения, выращенные на среде для роста растений, содержащей рекомбинантную  
 45 бактерию группы *Bacillus cereus*, демонстрируют усиленный рост по сравнению с ростом растений, выращенных в той же среде, которая не содержит рекомбинантную бактерию группы *Bacillus cereus*, в тех же условиях;

растения, на которых нанесли рекомбинантную бактерию группы *Bacillus cereus*,

демонстрируют усиленный рост по сравнению с ростом растений, на которых не наносили рекомбинантную бактерию группы *Bacillus cereus*, в тех же условиях;

растения, выращенные из семян растений, на которые нанесли рекомбинантную бактерию группы *Bacillus cereus*, демонстрируют усиленный рост по сравнению с ростом растений, выращенных из семян растений, на которые не наносили рекомбинантную бактерию группы *Bacillus cereus*, в тех же условиях; или

растения, выращенные в области, на которую нанесли рекомбинантную бактерию группы *Bacillus cereus*, демонстрируют усиленный рост по сравнению с ростом растений, выращенных в области, на которую не наносили рекомбинантную бактерию группы *Bacillus cereus*, в тех же условиях.

39. Способ по п. 1, дополнительно включающий инактивацию рекомбинантной бактерии группы *Bacillus cereus* до введения в среду для роста растений или применения к растению, семени растения или области, окружающей растение или семя растения; причем рекомбинантная бактерия группы *Bacillus cereus* необязательно инактивируется термической обработкой; гамма-облучением; рентгеновским облучением; УФ-А-облучением; УФ-В-облучением; обработкой глутаровым альдегидом, формальдегидом, перекисью водорода, уксусной кислотой, отбеливателем или их комбинацией.

40. Способ по п. 1, отличающийся тем, что:

среда для роста растений включает почву, воду, водный раствор, песок, гравий, полисахарид, мульчу, компост, торф, солому, необработанный лесоматериал, глину, соевый шрот, дрожжевой экстракт или их комбинацию; и/или

среда для роста растений дополнена субстратом для фермента, при этом субстрат необязательно включает триптофан, аденозинмонофосфат, аденозиндифосфат, аденозинтрифосфат, индол, триметафосфат, ферродоксин, ацетоин, диацетил, пируват, ацетолактат, пектин, целлюлозу, метилцеллюлозу, крахмал, хитин, пектин, шрот, производное целлюлозы, фосфат, ацетоин, хитозан, неактивное производное индол-3-уксусной кислоты, неактивное производное гибберелловой кислоты, ксилан, арабиноксилан, жир, воск, масло, фитиновую кислоту, лигнин, гуминовую кислоту, холин, производное холина, пролин, полипролин, белок, богатый пролином, муку, богатую пролином, фенилаланин, хоризмат или их комбинацию.

41. Способ по п. 1, включающий покрытие семян рекомбинантной бактерией группы *Bacillus cereus* или препаратом, содержащим рекомбинантную бактерию группы *Bacillus cereus*, до посадки.

42. Способ по п. 1, включающий применение рекомбинантной бактерии группы *Bacillus cereus* или препарата к надземной части растения.

43. Способ по п. 1, отличающийся тем, что введение рекомбинантной бактерии группы *Bacillus cereus* в среду для роста растений включает применение жидкого или твердого препарата, содержащего рекомбинантную бактерию группы *Bacillus cereus*, для среды.

44. Способ по п. 1, дополнительно включающий введение по меньшей мере одного агрохимиката в среду для роста растений или применение по меньшей мере одного агрохимиката к растениям или семенам, причем агрохимикат включает удобрение, материал микроэлементов удобрения, инсектицид, гербицид, фунгицид, моллюскоцид, альгицид, вещество, улучшающее рост растений, бактериальный инокулянт, грибковый инокулянт или их комбинацию, причем:

удобрение включает жидкое удобрение;

материал микроэлементов удобрения включает борную кислоту, борат, борную фритту, сульфат меди, медную фритту, хелат меди, декагидрат тетрабората натрия,

сульфат железа, оксид железа, сульфат железа-аммония, железную фритту, хелат железа, сульфат марганца, оксид марганца, хелат марганца, хлорид марганца, марганцевую фритту, молибдат натрия, молибденовую кислоту, сульфат цинка, оксид цинка, карбонат цинка, цинковую фритту, фосфат цинка, хелат цинка или их комбинацию;

5 инсектицид включает органофосфат, карбамат, пиретроид, акарицид, алкил-фталат, борную кислоту, борат, фторид, серу, мочевины, замещенную ароматическим галоидом, эфир насыщенного спирта, инсектицид на биологической основе или их комбинацию;

гербицид включает хлорфеноксидное соединение, нитрофенольное соединение, соединение нитрокрезола, соединение дипиридила, ацетамид, алифатическую кислоту, анилин, бензамид, бензойную кислоту, производное бензойной кислоты, анисовую кислоту, производное анисовой кислоты, бензонитрил, бензотиадиазинона диоксид, тиокарбамат, карбамат, карбанилат, хлорпиридинил, производное циклогексена, производное динитроаминобензола, соединение фтор-динитро-толуидин, изоксазолидинон, никотиновую кислоту, изопропиламин, производные изопропиламина, оксадиазолинон, фосфат, фталат, соединение пиколиновой кислоты, триазин, триазол, урацил, производное мочевины, эндотал, хлорат натрия или их комбинацию;

фунгицид включает замещенный бензол, тиокарбамат, этилен-бис-дитиокарбамат, тиофталид амид, соединение меди, ртутьорганическое соединение, оловоорганическое соединение, соединение кадмия, анилазин, беномил, циклогексамид, додин, этридазол, ипродион, металаксил, тиамимефон, трифорин или их комбинацию;

грибковый инокулянт включает грибковый инокулянт из семейства *Glomeraceae*, грибковый инокулянт из семейства *Claroidoglomeraceae*, грибковый инокулянт из семейства *Gigasporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Acaulosporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Sacculosporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Entrophosporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Pacidsporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Diversisporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Paraglomeraceae*, грибковый инокулянт из семейства *Archaeosporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Geosiphonaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Ambisporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Scutellosporaceae*, грибковый инокулянт из семейства *Dentiscultataceae*, грибковый инокулянт из семейства *Racocetraceae*, грибковый инокулянт из типа *Basidiomycota*, грибковый инокулянт из типа *Ascomycota*, грибковый инокулянт из типа *Zygomycota* или их комбинацию;

бактериальный инокулянт включает бактериальный инокулянт из рода *Rhizobium*, бактериальный инокулянт из рода *Bradyrhizobium*, бактериальный инокулянт из рода *Mesorhizobium*, бактериальный инокулянт из рода *Azorhizobium*, бактериальный инокулянт из рода *Allorhizobium*, бактериальный инокулянт из рода *Sinorhizobium*, бактериальный инокулянт из рода *Kluyvera*, бактериальный инокулянт из рода *Azotobacter*, бактериальный инокулянт из рода *Pseudomonas*, бактериальный инокулянт из рода *Azospirillum*, бактериальный инокулянт из рода *Bacillus*, бактериальный инокулянт из рода *Streptomyces*, бактериальный инокулянт из рода *Paenibacillus*, бактериальный инокулянт из рода *Paracoccus*, бактериальный инокулянт из рода *Enterobacter*, бактериальный инокулянт из рода *Alcaligenes*, бактериальный инокулянт из рода *Mycobacterium*, бактериальный инокулянт из рода *Trichoderma*, бактериальный инокулянт из рода *Gliocladium*, бактериальный инокулянт из рода *Glomus*, бактериальный инокулянт из рода *Klebsiella* или их комбинацию; и/или

удобрение включает сульфат аммония, нитрат аммония, сульфат-нитрат аммония, хлорид аммония, бисульфат аммония, полисульфид аммония, тиосульфат аммония, водный раствор аммиака, безводный аммиак, полифосфат аммония, сульфат алюминия,

нитрат кальция, известково-аммиачную селитру, сульфат кальция, обожжённый магнезит, кальцитовый известняк, оксид кальция, нитрат кальция, доломитовый известняк, гашеную известь, карбонат кальция, диаммонийфосфат, моноаммонийфосфат, нитрат магния, сульфат магния, нитрат калия, хлорид калия, сульфат калия-магния, сульфат калия, нитраты натрия, магнезиальный известняк, оксид магния, мочевины, карбамидоформальдегидные смолы, мочевино-аммониевый нитрат, покрытую серой мочевины, мочевины с полимерным покрытием, изобутилен димочевину,  $K_2SO_4-2MgSO_4$ , каинит, сильвинит, кизерит, эпсомскую соль, элементарную серу, мергель, измельченные устричные раковины, рыбную муку, жмыхи, рыбный тук, кровяную муку, фосфорит, суперфосфат, шлак, костную муку, древесную золу, навоз, гуано летучих мышей, торф, компост, зеленый песок, муку из семян хлопчатника, муку из перьев, муку из крабов, рыбную эмульсию, гуминовую кислоту или их комбинацию.

15

20

25

30

35

40

45

## ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Spogen Biotech Inc.

Thompson, Brian

Thompson, Katie

<120> ГИБРИДНЫЕ БЕЛКИ И СПОСОБЫ СТИМУЛЯЦИИ РОСТА РАСТЕНИЙ,

ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ И ИММОБИЛИЗАЦИИ СПОР *BACILLUS* НА РАСТЕНИЯХ

<130> ELEN 3004.WO

<150> США 61/799262

<151> 2013-03-15

<160> 124

<170> PatentIn версия 3.5

<210> 1

<211> 41

<212> PRT

<213> *Bacillus anthracis*

<400> 1

Met Ser Asn Asn Asn Tyr Ser Asn Gly Leu Asn Pro Asp Glu Ser Leu

1

5

10

15

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

Ile Pro Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly  
35 40

<210> 2

<211> 332

<212> PRT

<213> Bacillus anthracis

<400> 2

Met Ser Asn Asn Asn Tyr Ser Asn Gly Leu Asn Pro Asp Glu Ser Leu  
1 5 10 15

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

Ile Pro Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Phe Thr Thr  
35 40 45

Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly  
50 55 60

Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly Thr Thr Gly Pro  
 65 70 75 80

Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr  
 85 90 95

Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Phe Thr Pro Thr Gly Pro  
 100 105 110

Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly Thr Thr Gly Pro Thr  
 115 120 125

Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly  
 130 135 140

Thr Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro  
 145 150 155 160

Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Phe Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly  
 165 170 175

Pro Thr Gly Ala Thr Gly Leu Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro

180 185 190

Ser Gly Leu Gly Leu Pro Ala Gly Leu Tyr Ala Phe Asn Ser Gly Gly  
 195 200 205

Ile Ser Leu Asp Leu Gly Ile Asn Asp Pro Val Pro Phe Asn Thr Val  
 210 215 220

Gly Ser Gln Phe Phe Thr Gly Thr Ala Ile Ser Gln Leu Asp Ala Asp  
 225 230 235 240

Thr Phe Val Ile Ser Glu Thr Gly Phe Tyr Lys Ile Thr Val Ile Ala  
 245 250 255

Asn Thr Ala Thr Ala Ser Val Leu Gly Gly Leu Thr Ile Gln Val Asn  
 260 265 270

Gly Val Pro Val Pro Gly Thr Gly Ser Ser Leu Ile Ser Leu Gly Ala  
 275 280 285

Pro Phe Thr Ile Val Ile Gln Ala Ile Thr Gln Ile Thr Thr Thr Pro  
 290 295 300



Ser Leu Val Glu Val Ile Val Thr Gly Leu Gly Leu Ser Leu Ala Leu  
305 310 315 320

Gly Thr Ser Ala Ser Ile Ile Ile Glu Lys Val Ala  
325 330

- <210> 3
- <211> 33
- <212> PRT
- <213> Bacillus anthracis

<400> 3

Met Ser Glu Lys Tyr Ile Ile Leu His Gly Thr Ala Leu Glu Pro Asn  
1 5 10 15

Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro Pro Phe Thr Phe Pro Asn  
20 25 30

Gly

- <210> 4
- <211> 209

<212> PRT

<213> Bacillus anthracis

<400> 4

Met Ser Glu Lys Tyr Ile Ile Leu His Gly Thr Ala Leu Glu Pro Asn  
 1                    5                    10                    15

Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro Pro Phe Thr Phe Pro Asn  
                   20                    25                    30

Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Phe Thr Gly  
                   35                    40                    45

Ile Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Ile Gly  
                   50                    55                    60

Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Leu Gly Ile Leu Pro Val Phe  
 65                    70                    75                    80

Gly Thr Ile Thr Thr Asp Val Gly Ile Gly Phe Ser Val Ile Val Asn  
                   85                    90                    95

Thr Asn Ile Asn Phe Thr Leu Pro Gly Pro Val Ser Gly Thr Thr Leu

100

105

110

Asn Pro Val Asp Asn Ser Ile Ile Ile Asn Thr Thr Gly Val Tyr Ser

115

120

125

Val Ser Phe Ser Ile Val Phe Val Ile Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile

130

135

140

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

145

150

155

160

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

165

170

175

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

180

185

190

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

195

200

205

Asp

<210> 5  
 <211> 44  
 <212> PRT  
 <213> Bacillus anthracis

<400> 5

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

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

Phe Pro Pro Val Pro Thr Gly Met Thr Gly Ile Thr  
    35                                        40

<210> 6  
 <211> 647  
 <212> PRT  
 <213> Bacillus anthracis

<400> 6

Val Val Lys Val Val Glu Gly Asn Gly Gly Lys Ser Lys Ile Lys Ser  
 1                                        5                                        10                                        15

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

Phe Pro Pro Val Pro Thr Gly Met Thr Gly Ile Thr Gly Ser Thr Gly  
 35 40 45

Ala Thr Gly Asn Thr Gly Pro Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Ser  
 50 55 60

Ala Gly Ile Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Asn Thr Gly Gly Thr  
 65 70 75 80

Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Ser Thr Gly  
 85 90 95

Val Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ser  
 100 105 110

Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Glu Thr Gly Gly Thr  
 115 120 125

Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ser Thr Gly

	130	135	140	
Val Thr Gly Asn Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Asn				
145	150	155	160	
Thr Gly Ser Ile Gly Glu Thr Gly Gly Thr Gly Ser Met Gly Pro Thr				
	165	170	175	
Gly Glu Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly Gly Thr Gly Ser Thr Gly				
	180	185	190	
Val Thr Gly Asn Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ser				
	195	200	205	
Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr				
	210	215	220	
Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly				
225	230	235	240	
Val Thr Gly Asn Met Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Asn				
	245	250	255	

Thr Gly Ser Thr Gly Thr Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Pro Met  
 260 265 270

Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Thr Thr Gly Pro Thr Gly Glu Thr Gly  
 275 280 285

Glu Thr Gly Glu Thr Gly Gly Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Asn  
 290 295 300

Thr Gly Ala Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr  
 305 310 315 320

Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Glu Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly  
 325 330 335

Ala Thr Gly Asn Thr Gly Pro Thr Gly Glu Thr Gly Gly Thr Gly Ser  
 340 345 350

Thr Gly Ala Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Asn Thr Gly Pro Thr  
 355 360 365

Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly

370 375 380

Pro Thr Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Asn Thr Gly Pro Thr Gly Glu  
 385 390 395 400

Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Glu Thr Gly Val Thr  
 405 410 415

Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly  
 420 425 430

Ala Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Asn Thr Gly Ser Thr Gly Glu  
 435 440 445

Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Ala Thr  
 450 455 460

Gly Val Thr Gly Asn Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly  
 465 470 475 480

Ala Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Thr Thr Gly Asn  
 485 490 495



Thr Gly Val Thr Gly Asp Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Val Ser  
 500 505 510

Thr Thr Ala Thr Tyr Ala Phe Ala Asn Asn Thr Ser Gly Ser Val Ile  
 515 520 525

Ser Val Leu Leu Gly Gly Thr Asn Ile Pro Leu Pro Asn Asn Gln Asn  
 530 535 540

Ile Gly Pro Gly Ile Thr Val Ser Gly Gly Asn Thr Val Phe Thr Val  
 545 550 555 560

Ala Asn Ala Gly Asn Tyr Tyr Ile Ala Tyr Thr Ile Asn Leu Thr Ala  
 565 570 575

Gly Leu Leu Val Ser Ser Arg Ile Thr Val Asn Gly Ser Pro Leu Ala  
 580 585 590

Gly Thr Ile Asn Ser Pro Thr Val Ala Thr Gly Ser Phe Ser Ala Thr  
 595 600 605

Ile Ile Ala Ser Leu Pro Ala Gly Ala Ala Val Ser Leu Gln Leu Phe

610

615

620

Gly Val Val Ala Leu Ala Thr Leu Ser Thr Ala Thr Pro Gly Ala Thr

625

630

635

640

Leu Thr Ile Ile Arg Leu Ser

645

<210> 7

<211> 34

<212> PRT

<213> Bacillus anthracis

<400> 7

Met Lys Gln Asn Asp Lys Leu Trp Leu Asp Lys Gly Ile Ile Gly Pro

1

5

10

15

Glu Asn Ile Gly Pro Thr Phe Pro Val Leu Pro Pro Ile His Ile Pro

20

25

30

Thr Gly

<210> 8  
 <211> 366  
 <212> PRT  
 <213> Bacillus anthracis

<400> 8

Met Lys Gln Asn Asp Lys Leu Trp Leu Asp Lys Gly Ile Ile Gly Pro  
 1                    5                    10                    15

Glu Asn Ile Gly Pro Thr Phe Pro Val Leu Pro Pro Ile His Ile Pro  
                   20                    25                    30

Thr Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ile Thr Gly Ala Thr  
                   35                    40                    45

Gly Pro Thr Gly Thr Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ile Thr Gly  
                   50                    55                    60

Val Thr Gly Ala Thr Gly Ile Thr Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Ile  
 65                    70                    75                    80

Thr Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Ile Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr  
                   85                    90                    95

Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly  
 100 105 110

Pro Ala Gly Ile Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Ala  
 115 120 125

Thr Gly Pro Thr Gly Thr Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr  
 130 135 140

Gly Leu Ala Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Leu Ala Gly  
 145 150 155 160

Ala Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala  
 165 170 175

Thr Gly Leu Ala Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Leu Thr  
 180 185 190

Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Gly Gly Ala Ile Ile Pro  
 195 200 205

Phe Ala Ser Gly Thr Thr Pro Ala Leu Leu Val Asn Ala Val Leu Ala

210	215	220	
Asn Thr Gly Thr Leu Leu Gly Phe Gly Phe Ser Gln Pro Gly Ile Ala			
225	230	235	240
Pro Gly Val Gly Gly Thr Leu Thr Ile Leu Pro Gly Val Val Gly Asp			
	245	250	255
Tyr Ala Phe Val Ala Pro Arg Asp Gly Ile Ile Thr Ser Leu Ala Gly			
	260	265	270
Phe Phe Ser Ala Thr Ala Ala Leu Ala Pro Leu Thr Pro Val Gln Ile			
275	280	285	
Gln Met Gln Ile Phe Ile Ala Pro Ala Ala Ser Asn Thr Phe Thr Pro			
290	295	300	
Val Ala Pro Pro Leu Leu Leu Thr Pro Ala Leu Pro Ala Ile Ala Ile			
305	310	315	320
Gly Thr Thr Ala Thr Gly Ile Gln Ala Tyr Asn Val Pro Val Val Ala			
	325	330	335

Gly Asp Lys Ile Leu Val Tyr Val Ser Leu Thr Gly Ala Ser Pro Ile  
 340 345 350

Ala Ala Val Ala Gly Phe Val Ser Ala Gly Leu Asn Ile Val  
 355 360 365

<210> 9  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> *Bacillus anthracis*

<400> 9

Met Asp Glu Phe Leu Ser Ser Ala Ala Leu Asn Pro Gly Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Pro Thr Leu Pro Pro Met Gln Pro Phe Gln Phe Arg Thr Gly  
 20 25 30

<210> 10  
 <211> 77  
 <212> PRT  
 <213> *Bacillus anthracis*

<400> 10

Met Asp Glu Phe Leu Ser Ser Ala Ala Leu Asn Pro Gly Ser Val Gly  
 1                      5                      10                      15

Pro Thr Leu Pro Pro Met Gln Pro Phe Gln Phe Arg Thr Gly Pro Thr  
                     20                      25                      30

Gly Ser Thr Gly Ala Lys Gly Ala Ile Gly Asn Thr Glu Pro Tyr Trp  
                     35                      40                      45

His Thr Gly Pro Pro Gly Ile Val Leu Leu Thr Tyr Asp Phe Lys Ser  
                     50                      55                      60

Leu Ile Ile Ser Phe Ala Phe Arg Ile Leu Pro Ile Ser  
 65                      70                      75

<210> 11

<211> 39

<212> PRT

<213> *Bacillus weihenstephensis*

<400> 11

Met Phe Asp Lys Asn Glu Ile Gln Lys Ile Asn Gly Ile Leu Gln Ala  
 1                      5                      10                      15

Asn Ala Leu Asn Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro  
20 25 30

Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly  
35

<210> 12

<211> 299

<212> PRT

<213> *Bacillus weihenstephensis*

<400> 12

Met Phe Asp Lys Asn Glu Ile Gln Lys Ile Asn Gly Ile Leu Gln Ala  
1 5 10 15

Asn Ala Leu Asn Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro  
20 25 30

Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly  
35 40 45

Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro



50                      55                      60

Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr

65                      70                      75                      80

Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly

85                      90                      95

Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro

100                      105                      110

Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Glu Thr

115                      120                      125

Gly Pro Thr Gly Gly Thr Glu Gly Cys Leu Cys Asp Cys Cys Val Leu

130                      135                      140

Pro Met Gln Ser Val Leu Gln Gln Leu Ile Gly Glu Thr Val Ile Leu

145                      150                      155                      160

Gly Thr Ile Ala Asp Thr Pro Asn Thr Pro Pro Leu Phe Phe Leu Phe

165                      170                      175

Thr Ile Thr Ser Val Asn Asp Phe Leu Val Thr Val Thr Asp Gly Thr  
 180 185 190

Thr Thr Phe Val Val Asn Ile Ser Asp Val Thr Gly Val Gly Phe Leu  
 195 200 205

Pro Pro Gly Pro Pro Ile Thr Leu Leu Pro Pro Thr Asp Val Gly Cys  
 210 215 220

Glu Cys Glu Cys Arg Glu Arg Pro Ile Arg Gln Leu Leu Asp Ala Phe  
 225 230 235 240

Ile Gly Ser Thr Val Ser Leu Leu Ala Ser Asn Gly Ser Ile Ala Ala  
 245 250 255

Asp Phe Ser Val Glu Gln Thr Gly Leu Gly Ile Val Leu Gly Thr Leu  
 260 265 270

Pro Ile Asn Pro Thr Thr Thr Val Arg Phe Ala Ile Ser Thr Cys Lys  
 275 280 285

Ile Thr Ala Val Asn Ile Thr Pro Ile Thr Met

290

295

<210> 13

<211> 39

<212> PRT

<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 13

Met Phe Asp Lys Asn Glu Met Lys Lys Thr Asn Glu Val Leu Gln Ala

1

5

10

15

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

20

25

30

Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly

35

<210> 14

<211> 289

<212> PRT

<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 14

Met Phe Asp Lys Asn Glu Met Lys Lys Thr Asn Glu Val Leu Gln Ala

1 5 10 15

Asn Ala Leu Asp Pro Asn Ile Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro  
 20 25 30

Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly  
 35 40 45

Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro  
 50 55 60

Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Leu Thr  
 65 70 75 80

Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Leu Thr Gly Pro Thr Gly Leu Thr Gly  
 85 90 95

Pro Thr Gly Pro Thr Gly Leu Thr Gly Gln Thr Gly Ser Thr Gly Pro  
 100 105 110

Thr Gly Ala Thr Glu Gly Cys Leu Cys Asp Cys Cys Val Phe Pro Met  
 115 120 125

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

Ile Ala Asp Ala Pro Asn Val Ala Pro Arg Phe Phe Leu Phe Asn Ile  
 145 150 155 160

Thr Ser Val Asn Asp Phe Leu Val Thr Val Thr Asp Pro Val Ser Asn  
 165 170 175

Thr Thr Phe Val Val Asn Ile Ser Asp Val Ile Gly Val Gly Phe Ser  
 180 185 190

Leu Thr Val Pro Pro Leu Thr Leu Leu Pro Pro Ala Asp Leu Gly Cys  
 195 200 205

Glu Cys Asp Cys Arg Glu Arg Pro Ile Arg Glu Leu Leu Asp Thr Leu  
 210 215 220

Ile Gly Ser Thr Val Asn Leu Leu Val Ser Asn Gly Ser Ile Ala Thr  
 225 230 235 240

Gly Phe Asn Val Glu Gln Thr Ala Leu Gly Ile Val Ile Gly Thr Leu

245

250

255

Pro Ile Pro Ile Asn Pro Pro Pro Pro Thr Leu Phe Arg Phe Ala Ile

260

265

270

Ser Thr Cys Lys Ile Thr Ala Val Asp Ile Thr Pro Thr Pro Thr Ala

275

280

285

Thr

<210> 15

<211> 49

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 15

Met Ser Arg Lys Asp Lys Phe Asn Arg Ser Arg Met Ser Arg Lys Asp

1

5

10

15

Arg Phe Asn Ser Pro Lys Ile Lys Ser Glu Ile Ser Ile Ser Pro Asp

20

25

30

Leu Val Gly Pro Thr Phe Pro Pro Ile Pro Ser Phe Thr Leu Pro Thr  
35 40 45

Gly

<210> 16

<211> 189

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 16

Met Ser Arg Lys Asp Lys Phe Asn Arg Ser Arg Met Ser Arg Lys Asp  
1 5 10 15

Arg Phe Asn Ser Pro Lys Ile Lys Ser Glu Ile Ser Ile Ser Pro Asp  
20 25 30

Leu Val Gly Pro Thr Phe Pro Pro Ile Pro Ser Phe Thr Leu Pro Thr  
35 40 45

Gly Ile Thr Gly Pro Thr Phe Asn Ile Asn Phe Arg Ala Glu Lys Asn  
50 55 60

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

Asn Ile Ile Phe Asn Asn Gly Gly Tyr Ser Ser Val Thr Asn Thr  
 85 90 95

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

Phe Asn Pro Thr Leu Gly Thr Thr Ser Thr Leu Arg Ile Thr Ile Arg  
 115 120 125

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

Gly Thr Pro Gln Leu Glu Ile Thr Thr Ile Ile Asp Leu Leu Ala Ser  
 145 150 155 160

Gln Thr Ile Asp Ile Gln Phe Ser Ala Ala Glu Ser Gly Thr Leu Thr  
 165 170 175

Val Gly Ser Ser Asn Phe Phe Ser Gly Ala Leu Leu Pro



180

185

<210> 17

<211> 33

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 17

Met Asn Glu Glu Tyr Ser Ile Leu His Gly Pro Ala Leu Glu Pro Asn

1

5

10

15

Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Ser Ile Pro Pro Phe Thr Phe Pro Thr

20

25

30

Gly

<210> 18

<211> 84

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 18

Met Asn Glu Glu Tyr Ser Ile Leu His Gly Pro Ala Leu Glu Pro Asn

1                      5                      10                      15

Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Ser Ile Pro Pro Phe Thr Phe Pro Thr  
                          20                      25                      30

Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Phe Thr Gly  
                  35                      40                      45

Ile Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Ile Gly  
          50                      55                      60

Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ile Gly Ile Thr  
65                      70                      75                      80

Gly Pro Thr Gly

<210> 19

<211> 39

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 19

Met Lys Asn Arg Asp Asn Asn Arg Lys Gln Asn Ser Leu Ser Ser Asn  
1                    5                    10                    15

Phe Arg Ile Pro Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro  
                         20                    25                    30

Thr Gly Phe Thr Gly Ile Gly  
                         35

<210> 20  
<211> 1056  
<212> PRT  
<213> Bacillus cereus

<400> 20

Met Lys Asn Arg Asp Asn Asn Arg Lys Gln Asn Ser Leu Ser Ser Asn  
1                    5                    10                    15

Phe Arg Ile Pro Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro  
                         20                    25                    30

Thr Gly Phe Thr Gly Ile Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly  
                         35                    40                    45

Pro Thr Gly Pro Gln Gly Pro Arg Gly Leu Gln Gly Pro Met Gly Glu  
 50 55 60

Met Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Ser Val  
 65 70 75 80

Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly Gln Gln Gly Pro Gln Gly  
 85 90 95

Leu Arg Gly Pro Gln Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gly Gly Val  
 100 105 110

Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln  
 115 120 125

Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly  
 130 135 140

Pro Glu Gly Ser Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Leu Pro Gly Ala  
 145 150 155 160

Thr Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ala Gln Gly Ile Gln Gly Thr Pro

165

170

175

Gly Pro Ser Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly

180

185

190

Gln Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr

195

200

205

Gly Pro Ser Gly Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr

210

215

220

Gly Pro Gly Gly Gly Pro Ser Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr

225

230

235

240

Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly

245

250

255

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

260

265

270

Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ile Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Ser Gln

275

280

285

Gly Ile Gln Gly Ile Pro Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Glu Gln Gly  
 290 295 300

Ile Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Asp  
 305 310 315 320

Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Ile Gly Pro Gln Gly Val Thr  
 325 330 335

Gly Ala Thr Gly Asp Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Pro Gly  
 340 345 350

Pro Ser Gly Glu Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro  
 355 360 365

Met Gly Asp Ile Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Pro Glu Gly Leu Gln  
 370 375 380

Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Pro Gly Pro Val Gly Ala Thr Gly  
 385 390 395 400

Pro Glu Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Pro Val Gly Ala

405

410

415

Thr Gly Pro Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln

420

425

430

Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Val Gln Gly Ala Thr Gly Ile Gln Gly

435

440

445

Ile Gln Gly Glu Ile Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln Gly Val

450

455

460

Gln Gly Ala Gln Gly Ala Ile Gly Pro Thr Gly Pro Met Gly Pro Gln

465

470

475

480

Gly Val Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Ala Thr Gly Ala Gln Gly

485

490

495

Val Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Pro Thr Gly Ala

500

505

510

Thr Gly Asp Met Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Glu Gly Thr Thr Gly

515

520

525

Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Ser Gly Gly  
 530 535 540

Pro Ala Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Ser Gly Pro Ala Gly Val  
 545 550 555 560

Thr Gly Pro Ser Gly Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala  
 565 570 575

Thr Gly Val Thr Gly Asp Thr Gly Ala Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr  
 580 585 590

Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Leu Gln Gly  
 595 600 605

Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Glu Ile Gly Pro Thr Gly Pro  
 610 615 620

Gln Gly Val Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Thr Gly Ala Thr  
 625 630 635 640

Gly Asp Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Asp Ile Gly



645

650

655

Pro Thr Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Ser Gln Gly Ile

660

665

670

Gln Gly Ala Thr Gly Gly Thr Gly Ala Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln

675

680

685

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

690

695

700

Ile Gln Gly Ile Gln Gly Glu Ile Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Pro

705

710

715

720

Glu Gly Leu Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Pro Val

725

730

735

Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly

740

745

750

Val Gln Gly Ala Thr Gly Pro Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile

755

760

765

Gln Gly Val Gln Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln Gly Ala Thr  
 770 775 780

Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Glu Ile Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly  
 785 790 795 800

Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Ala Ile Gly Pro Thr Gly Pro  
 805 810 815

Met Gly Ala Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Ala Thr  
 820 825 830

Gly Ala Gln Gly Val Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly  
 835 840 845

Pro Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Glu  
 850 855 860

Gly Thr Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly  
 865 870 875 880

Pro Ser Gly Gly Pro Ala Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Ser Gly

885

890

895

Pro Ala Gly Val Thr Gly Pro Ser Gly Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly

900

905

910

Ala Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Asp Thr Gly Ala Thr Gly Ser

915

920

925

Thr Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr

930

935

940

Gly Leu Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Glu Ile Gly

945

950

955

960

Pro Thr Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val

965

970

975

Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln

980

985

990

Gly Asp Ile Gly Pro Thr Gly Ser Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly

995

1000

1005

Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln Gly  
 1010 1015 1020

Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Glu Ile Gly Pro Thr Gly  
 1025 1030 1035

Pro Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly  
 1040 1045 1050

Pro Thr Gly  
 1055

<210> 21

<211> 39

<212> PRT

<213> *Bacillus weihenstephensis*

<400> 21

Met Ser Asp Lys His Gln Met Lys Lys Ile Ser Glu Val Leu Gln Ala  
 1 5 10 15

His Ala Leu Asp Pro Asn Leu Ile Gly Pro Pro Leu Pro Pro Ile Thr  
 20 25 30

Pro Phe Thr Phe Pro Thr Gly

35

<210> 22

<211> 365

<212> PRT

<213> *Bacillus weihenstephensis*

<400> 22

Met Ser Asp Lys His Gln Met Lys Lys Ile Ser Glu Val Leu Gln Ala

1

5

10

15

His Ala Leu Asp Pro Asn Leu Ile Gly Pro Pro Leu Pro Pro Ile Thr

20

25

30

Pro Phe Thr Phe Pro Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly

35

40

45

Ser Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Asn Thr Gly Pro Thr Gly Pro

50

55

60

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

65                              70                              75                              80

Asp Ile Ser Asn Asn Val Ser Ala Ile Asp Gly Asn Thr Asn Thr Val

85                              90                              95

Leu Thr Thr Ile Pro Val Gly Thr Asn Pro Val Gly Val Gly Val Asn

100                              105                              110

Ser Ser Thr Asn Leu Ile Tyr Val Val Asn Asn Gly Ser Asp Asn Ile

115                              120                              125

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

130                              135                              140

Gly Thr Gln Pro Phe Gly Val Gly Val Asn Pro Ser Thr Asn Leu Ile

145                              150                              155                              160

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

165                              170                              175

Thr Asn Thr Val Leu Thr Thr Ile Pro Val Gly Thr Asn Pro Val Gly

180                              185                              190

Val Gly Val Asn Ser Ser Thr Asn Leu Ile Tyr Val Thr Asn Glu Ile  
 195 200 205

Pro Asn Ser Val Ser Val Ile Lys Gly Gly Thr Asn Thr Val Val Ala  
 210 215 220

Thr Ile Pro Val Gly Leu Phe Pro Phe Gly Val Gly Val Asn Ser Leu  
 225 230 235 240

Thr Asn Leu Ile Tyr Val Val Asn Asn Ser Pro His Asn Val Ser Val  
 245 250 255

Ile Asp Gly Asn Thr Asn Thr Val Leu Thr Thr Ile Ser Val Gly Thr  
 260 265 270

Ser Pro Val Gly Val Gly Val Asn Leu Ser Thr Asn Leu Ile Tyr Val  
 275 280 285

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

Thr Val Leu Thr Thr Ile Pro Val Gly Thr Thr Pro Phe Glu Val Gly

305 310 315 320

Val Asn Ser Ser Thr Asn Leu Ile Tyr Val Ser Asn Leu Asn Ser Asn

325 330 335

Asn Val Ser Val Ile Asn Gly Ser Ala Asn Thr Val Ile Ala Thr Val

340 345 350

Pro Val Gly Ser Val Pro Arg Gly Ile Gly Val Lys Pro

355 360 365

<210> 23

<211> 30

<212> PRT

<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 23

Met Asp Glu Phe Leu Ser Phe Ala Ala Leu Asn Pro Gly Ser Ile Gly

1 5 10 15

Pro Thr Leu Pro Pro Val Pro Pro Phe Gln Phe Pro Thr Gly

20 25 30



<210> 24

<211> 160

<212> PRT

<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 24

Met Asp Glu Phe Leu Ser Phe Ala Ala Leu Asn Pro Gly Ser Ile Gly

1                    5                    10                    15

Pro Thr Leu Pro Pro Val Pro Pro Phe Gln Phe Pro Thr Gly Pro Thr

                  20                    25                    30

Gly Ser Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Ser Thr Gly

                  35                    40                    45

Pro Thr Gly Phe Asn Leu Pro Ala Gly Pro Ala Ser Ile Thr Leu Thr

                  50                    55                    60

Ser Asn Glu Thr Thr Ala Cys Val Ser Thr Gln Gly Asn Asn Thr Leu

65                    70                    75                    80

Phe Phe Ser Gly Gln Val Leu Val Asn Gly Ser Pro Thr Pro Gly Val

                  85                    90                    95

Val Val Ser Phe Ser Phe Ser Asn Pro Ser Leu Ala Phe Met Val Pro  
 100 105 110

Leu Ala Val Ile Thr Asn Ala Ser Gly Asn Phe Thr Ala Val Phe Leu  
 115 120 125

Ala Ala Asn Gly Pro Gly Thr Val Thr Val Thr Ala Ser Leu Leu Asp  
 130 135 140

Ser Pro Gly Thr Met Ala Ser Val Thr Ile Thr Ile Val Asn Cys Pro  
 145 150 155 160

<210> 25

<211> 30

<212> PRT

<213> *Bacillus weihenstephensis*

<400> 25

Met Asp Glu Phe Leu Ser Ser Thr Ala Leu Asn Pro Cys Ser Ile Gly  
 1 5 10 15

Pro Thr Leu Pro Pro Met Gln Pro Phe Gln Phe Pro Thr Gly  
 20 25 30

<210> 26

<211> 69

<212> PRT

<213> *Bacillus weihenstephensis*

<400> 26

Met Asp Glu Phe Leu Ser Ser Thr Ala Leu Asn Pro Cys Ser Ile Gly

1                    5                    10                    15

Pro Thr Leu Pro Pro Met Gln Pro Phe Gln Phe Pro Thr Gly Pro Thr

                  20                    25                    30

Gly Ser Thr Gly Thr Thr Gly Pro Thr Gly Ser Ile Gly Pro Thr Gly

                  35                    40                    45

Asn Thr Gly Leu Thr Gly Asn Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro

                  50                    55                    60

Thr Gly Asp Thr Gly

65

<210> 27

<211> 36

<212> PRT

<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 27

Met Lys Glu Arg Asp Arg Gln Asn Ser Leu Asn Ser Asn Phe Arg Ile

1                    5                    10                    15

Ser Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro Thr Gly Phe

                  20                    25                    30

Thr Gly Ile Gly

                  35

<210> 28

<211> 934

<212> PRT

<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 28

Met Lys Glu Arg Asp Arg Gln Asn Ser Leu Asn Ser Asn Phe Arg Ile

1                    5                    10                    15

Ser Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro Thr Gly Phe

20 25 30

Thr Gly Ile Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Pro Thr Gly  
 35 40 45

Pro Gln Gly Pro Arg Gly Phe Gln Gly Pro Met Gly Glu Met Gly Pro  
 50 55 60

Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ala Gly Gln Met  
 65 70 75 80

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

Pro Gln Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Leu  
 100 105 110

Gln Gly Pro Ile Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln Gly Ile Gln  
 115 120 125

Gly Ile Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly  
 130 135 140

Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Val Pro Gly Ala Thr Gly Ser  
 145 150 155 160

Gln Gly Ile Gln Gly Ala Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Pro Ser  
 165 170 175

Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Gln Gly Ile Ser Gly Pro  
 180 185 190

Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Ser Gly Gly Pro  
 195 200 205

Pro Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gly Gly Gly Pro  
 210 215 220

Ser Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Asn Thr Gly Val Thr  
 225 230 235 240

Gly Ser Ala Gly Val Thr Gly Asn Thr Gly Ser Thr Gly Ser Thr Gly  
 245 250 255

Glu Thr Gly Ala Gln Gly Leu Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Pro

260 265 270

Ile Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Pro  
 275 280 285

Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Glu Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly  
 290 295 300

Ile Gln Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Asp Gln Gly Pro Gln Gly Ile  
 305 310 315 320

Gln Gly Ala Ile Gly Pro Gln Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Asp Gln  
 325 330 335

Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Pro Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly  
 340 345 350

Ser Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Met Gly Asp Ile Gly Pro  
 355 360 365

Thr Gly Pro Glu Gly Pro Glu Gly Leu Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln  
 370 375 380

Gly Val Pro Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln Gly  
 385 390 395 400

Ile Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ile Gly Val Thr Gly Pro Glu Gly Pro  
 405 410 415

Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Ile Thr Gly Ala Thr  
 420 425 430

Gly Ala Gln Gly Ala Thr Gly Val Gln Gly Val Gln Gly Asn Ile Gly  
 435 440 445

Ala Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Thr Gln Gly Asp  
 450 455 460

Ile Gly Pro Thr Gly Pro Met Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln  
 465 470 475 480

Gly Ile Gln Gly Pro Thr Gly Ala Gln Gly Val Gln Gly Pro Gln Gly  
 485 490 495

Ile Gln Gly Ile Gln Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Asp Thr Gly Thr



500 505 510

Thr Gly Ala Thr Gly Glu Gly Thr Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly  
 515 520 525

Pro Ser Gly Val Thr Gly Pro Ser Gly Gly Pro Ala Gly Pro Thr Gly  
 530 535 540

Pro Thr Gly Pro Ser Gly Pro Thr Gly Leu Thr Gly Pro Ser Gly Gly  
 545 550 555 560

Pro Pro Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Gly Val Gly Asp  
 565 570 575

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

Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Leu Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly  
 595 600 605

Val Gln Gly Asp Ile Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Pro  
 610 615 620



740 745 750

Ile Gln Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ser Gln Gly Ile  
 755 760 765

Gln Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr  
 770 775 780

Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Val Ser Thr  
 785 790 795 800

Thr Ala Thr Tyr Ser Phe Ala Asn Asn Thr Ser Gly Ser Ala Ile Ser  
 805 810 815

Val Leu Leu Gly Gly Thr Asn Ile Pro Leu Pro Asn Asn Gln Asn Ile  
 820 825 830

Gly Pro Gly Ile Thr Val Ser Gly Gly Asn Thr Val Phe Thr Val Thr  
 835 840 845

Asn Ala Gly Asn Tyr Tyr Ile Ala Tyr Thr Ile Asn Ile Thr Ala Ala  
 850 855 860



Asn Ala Leu Asn Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro  
20 25 30

Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly  
35

<210> 30

<211> 287

<212> PRT

<213> Bacillus mycoides

<400> 30

Val Phe Asp Lys Asn Glu Ile Gln Lys Ile Asn Gly Ile Leu Gln Ala  
1 5 10 15

Asn Ala Leu Asn Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro  
20 25 30

Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly Pro Thr Gly Gly Thr Gly Pro Thr Gly  
35 40 45

Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro

50

55

60

Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr

65

70

75

80

Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly

85

90

95

Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro

100

105

110

Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Gly Thr Glu Gly Cys Leu Cys Asp

115

120

125

Cys Cys Val Leu Pro Met Gln Ser Val Leu Gln Gln Leu Ile Gly Glu

130

135

140

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

145

150

155

160

Phe Phe Leu Phe Thr Ile Thr Ser Val Asn Asp Phe Leu Val Thr Val

165

170

175

Thr Asp Gly Thr Thr Thr Phe Val Val Asn Ile Ser Asp Val Thr Gly  
 180 185 190

Val Gly Phe Leu Pro Pro Gly Pro Pro Ile Thr Leu Leu Pro Pro Thr  
 195 200 205

Asp Val Gly Cys Glu Cys Glu Cys Arg Glu Arg Pro Ile Arg Gln Leu  
 210 215 220

Leu Asp Ala Phe Ile Gly Ser Thr Val Ser Leu Leu Ala Ser Asn Gly  
 225 230 235 240

Ser Ile Ala Ala Asp Phe Ser Val Glu Gln Thr Gly Leu Gly Ile Val  
 245 250 255

Leu Gly Thr Leu Pro Ile Asn Pro Thr Thr Thr Val Arg Phe Ala Ile  
 260 265 270

Ser Thr Cys Lys Ile Thr Ala Val Asn Ile Thr Pro Ile Thr Met  
 275 280 285

<210> 31

<211> 30  
<212> PRT  
<213> Bacillus mycoides

<400> 31

Met Asp Glu Phe Leu Tyr Phe Ala Ala Leu Asn Pro Gly Ser Ile Gly  
1                    5                    10                    15

Pro Thr Leu Pro Pro Val Gln Pro Phe Gln Phe Pro Thr Gly  
                         20                    25                    30

<210> 32  
<211> 190  
<212> PRT  
<213> Bacillus mycoides

<400> 32

Met Asp Glu Phe Leu Tyr Phe Ala Ala Leu Asn Pro Gly Ser Ile Gly  
1                    5                    10                    15

Pro Thr Leu Pro Pro Val Gln Pro Phe Gln Phe Pro Thr Gly Pro Thr  
                         20                    25                    30

Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ser Thr Gly Ser Thr Gly Ser Thr Gly



	35	40	45	
Pro Thr Gly Ser Thr Gly Ser Thr Gly Ser Thr Gly Ser Thr Gly Pro				
	50	55	60	
Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr				
	65	70	75	80
Gly Phe Asn Leu Pro Ala Gly Pro Ala Ser Ile Thr Leu Thr Ser Asn				
	85	90		95
Glu Thr Thr Ala Cys Val Ser Thr Gln Gly Asn Asn Thr Leu Phe Phe				
	100	105		110
Ser Gly Gln Val Leu Val Asn Gly Ser Pro Thr Pro Gly Val Val Val				
	115	120		125
Ser Phe Ser Phe Ser Asn Pro Ser Leu Ala Phe Met Val Pro Leu Ala				
	130	135		140
Val Ile Thr Asn Ala Ser Gly Asn Phe Thr Ala Val Phe Leu Ala Ala				
	145	150	155	160

Asn Gly Pro Gly Thr Val Thr Val Thr Ala Ser Leu Leu Asp Ser Pro  
165 170 175

Gly Thr Met Ala Ser Val Thr Ile Thr Ile Val Asn Cys Pro  
180 185 190

<210> 33  
<211> 21  
<212> PRT  
<213> Bacillus mycoides

<400> 33

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

Asn Phe Pro Thr Gly  
20

<210> 34  
<211> 335  
<212> PRT  
<213> Bacillus mycoides

<400> 34

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

Asn Phe Pro Thr Gly Val Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr  
 20 25 30

Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly  
 35 40 45

Glu Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Glu  
 50 55 60

Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr  
 65 70 75 80

Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly  
 85 90 95

Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Glu Thr Gly Ala  
 100 105 110

Thr Gly Glu Thr Gly Ala Ala Gly Glu Thr Gly Ile Thr Gly Val Thr

115	120	125	
Gly Pro Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly			
130	135	140	
Ala Thr Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Ile Thr Gly Val Ala Gly Ala			
145	150	155	160
Thr Gly Glu Thr Gly Ala Ala Gly Glu Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr			
	165	170	175
Gly Ala Ile Gly Ala Ile Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ile Thr Gly			
	180	185	190
Val Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Gly Ile			
	195	200	205
Thr Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr			
210	215	220	
Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Ile Thr Gly Val Ala Gly Ala Thr Gly			
225	230	235	240

Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Pro Gly Thr Ile Pro Thr Thr Asn Leu  
 245 250 255

Leu Tyr Phe Thr Phe Ser Asp Gly Glu Lys Leu Ile Tyr Thr Asn Ala  
 260 265 270

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

Val Ser Tyr Ile Asn Leu Phe Ile Asn Gly Ile Leu Gln Pro Gln Pro  
 290 295 300

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

Pro Ser Gln Gly Ser Ser Ile Ile Leu Gln Phe Ile Ile Ile Asn  
 325 330 335

<210> 35

<211> 22

<212> PRT

<213> *Bacillus thuringiensis*

<400> 35

Met Ile Gly Pro Glu Asn Ile Gly Pro Thr Phe Pro Ile Leu Pro Pro

1 5 10 15

Ile Tyr Ile Pro Thr Gly

20

<210> 36

<211> 234

<212> PRT

<213> *Bacillus thuringiensis*

<400> 36

Met Ile Gly Pro Glu Asn Ile Gly Pro Thr Phe Pro Ile Leu Pro Pro

1 5 10 15

Ile Tyr Ile Pro Thr Gly Glu Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Ala

20 25 30

Thr Gly Glu Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr

35 40 45

Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ser Thr Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly

50	55	60	
Glu Thr Gly Ser Thr Gly Ile Thr Gly Pro Ile Gly Ile Thr Gly Ala			
65	70	75	80
Thr Gly Glu Thr Gly Pro Ile Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr			
	85	90	95
Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Ser Thr Gly Ile Thr Gly Leu Thr Gly			
	100	105	110
Val Thr Gly Leu Thr Gly Glu Thr Gly Pro Ile Gly Ile Thr Gly Pro			
	115	120	125
Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr			
130	135	140	
Gly Gly Ile Gly Pro Ile Thr Thr Thr Asn Leu Leu Tyr Tyr Thr Phe			
145	150	155	160
Ala Asp Gly Glu Lys Leu Ile Tyr Thr Asp Thr Asp Gly Ile Pro Gln			
	165	170	175

Tyr Gly Thr Thr Asn Ile Leu Ser Pro Ser Glu Val Ser Tyr Ile Asn  
180 185 190

Leu Phe Val Asn Gly Ile Leu Gln Pro Gln Pro Leu Tyr Glu Val Ser  
195 200 205

Thr Gly Lys Leu Thr Leu Leu Asp Thr Gln Pro Pro Ser Gln Gly Ser  
210 215 220

Ser Ile Ile Leu Gln Phe Ile Ile Ile Asn  
225 230

<210> 37

<211> 23

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Праймер

<400> 37

ggatccatgg ctgaacacaa tcc  
23

<210> 38



<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Праймер

<400> 38

ggatccttaa ttcgtattct ggcc

24

<210> 39

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Праймер

<400> 39

ggatccatga aacggtsaat c

21

<210> 40

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Праймер

<400> 40

ggatccttac taattgggt ctgt

24

<210> 41

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Праймер

<400> 41

ggatccatgc тассаааагс с  
21

<210> 42

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Праймер

<400> 42

ggatccttag тсгсгггсг тагс  
24

<210> 43  
<211> 35  
<212> PRT  
<213> Bacillus cereus

<400> 43

Met Ser Asn Asn Asn Ile Pro Ser Pro Phe Phe Phe Asn Asn Phe Asn  
1                    5                    10                    15

Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Ile Pro Pro Leu Thr Leu  
                  20                    25                    30

Pro Thr Gly  
                  35

<210> 44  
<211> 222  
<212> PRT  
<213> Bacillus cereus

<400> 44

Met Ser Asn Asn Asn Ile Pro Ser Pro Phe Phe Phe Asn Asn Phe Asn  
1                    5                    10                    15

Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Ile Pro Pro Leu Thr Leu  
 20 25 30

Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro  
 35 40 45

Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr  
 50 55 60

Gly Ala Thr Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly  
 65 70 75 80

Thr Phe Ser Ser Ala Asn Ala Ser Ile Val Thr Pro Ala Pro Gln Thr  
 85 90 95

Val Asn Asn Leu Ala Pro Ile Gln Phe Thr Ala Pro Val Leu Ile Ser  
 100 105 110

Lys Asn Val Thr Phe Asn Gly Ile Asp Thr Phe Thr Ile Gln Ile Pro  
 115 120 125

Gly Asn Tyr Phe Phe Ile Gly Ala Val Met Thr Ser Asn Asn Gln Ala  
 130 135 140

Gly Pro Val Ala Val Gly Val Gly Phe Asn Gly Ile Pro Val Pro Ser  
 145 150 155 160

Leu Asp Gly Ala Asn Tyr Gly Thr Pro Thr Gly Gln Glu Val Val Cys  
 165 170 175

Phe Gly Phe Ser Gly Gln Ile Pro Ala Gly Thr Thr Ile Asn Leu Tyr  
 180 185 190

Asn Ile Ser Asp Lys Thr Ile Ser Ile Gly Gly Ala Thr Ala Ala Gly  
 195 200 205

Ser Ser Ile Val Ala Ala Arg Leu Ser Phe Phe Arg Ile Ser  
 210 215 220

<210> 45

<211> 41

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 45

Met Phe Ser Glu Lys Lys Arg Lys Asp Leu Ile Pro Asp Asn Phe Leu

1                    5                    10                    15

Ser Ala Pro Ala Leu Asp Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro

                  20                    25                    30

Ile Pro Ser Phe Thr Leu Pro Thr Gly

                  35                    40

<210> 46

<211> 293

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 46

Met Phe Ser Glu Lys Lys Arg Lys Asp Leu Ile Pro Asp Asn Phe Leu

1                    5                    10                    15

Ser Ala Pro Ala Leu Asp Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro

                  20                    25                    30

Ile Pro Ser Phe Thr Leu Pro Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Pro

                  35                    40                    45

Thr Gly Asp Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Ala Thr Ile Cys Ile Arg

50 55 60

Thr Asp Pro Asp Asn Gly Cys Ser Val Ala Glu Gly Ser Gly Thr Val

65 70 75 80

Ala Ser Gly Phe Ala Ser His Ala Glu Ala Cys Asn Thr Gln Ala Ile

85 90 95

Gly Asp Cys Ser His Ala Glu Gly Gln Phe Ala Thr Ala Ser Gly Thr

100 105 110

Ala Ser His Ala Glu Gly Phe Gln Thr Thr Ala Ser Gly Phe Ala Ser

115 120 125

His Thr Glu Gly Ser Gly Thr Thr Ala Asp Ala Asn Phe Ser His Thr

130 135 140

Glu Gly Ile Asn Thr Ile Val Asp Val Leu His Pro Gly Ser His Ile

145 150 155 160

Met Gly Lys Asn Gly Thr Thr Arg Ser Ser Phe Ser Trp His Leu Ala

165 170 175

Asn Gly Leu Ala Val Gly Pro Ser Leu Asn Ser Ala Val Ile Glu Gly  
 180 185 190

Val Thr Gly Asn Leu Tyr Leu Asp Gly Val Val Ile Ser Pro Asn Ala  
 195 200 205

Ala Asp Tyr Ala Glu Met Phe Glu Thr Ile Asp Gly Asn Leu Ile Asp  
 210 215 220

Val Gly Tyr Phe Val Thr Leu Tyr Gly Glu Lys Ile Arg Lys Ala Asn  
 225 230 235 240

Ala Asn Asp Asp Tyr Ile Leu Gly Val Val Ser Ala Thr Pro Ala Met  
 245 250 255

Ile Ala Asp Ala Ser Asp Leu Arg Trp His Asn Leu Phe Val Arg Asp  
 260 265 270

Glu Trp Gly Arg Thr Gln Tyr His Glu Val Val Val Pro Glu Lys Lys  
 275 280 285



Met Ala Met Glu Glu

290

<210> 47

<211> 49

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 47

Met Thr Arg Lys Asp Lys Phe Asn Arg Ser Arg Ile Ser Arg Arg Asp

1                    5                    10                    15

Arg Phe Asn Ser Pro Lys Ile Lys Ser Glu Ile Leu Ile Ser Pro Asp

20                    25                    30

Leu Val Gly Pro Thr Phe Pro Pro Ile Pro Ser Phe Thr Leu Pro Thr

35                    40                    45

Gly

<210> 48

<211> 83

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 48

Met Thr Arg Lys Asp Lys Phe Asn Arg Ser Arg Ile Ser Arg Arg Asp  
1                    5                    10                    15

Arg Phe Asn Ser Pro Lys Ile Lys Ser Glu Ile Leu Ile Ser Pro Asp  
                  20                    25                    30

Leu Val Gly Pro Thr Phe Pro Pro Ile Pro Ser Phe Thr Leu Pro Thr  
                  35                    40                    45

Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Asn Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly  
                  50                    55                    60

Pro Thr Gly Asp Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly Pro Thr Gly Ile  
65                    70                    75                    80

Thr Gly Pro

<210> 49

<211> 38

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 49

Met Ser Arg Lys Asp Arg Phe Asn Ser Pro Lys Ile Lys Ser Glu Ile

1                    5                    10                    15

Ser Ile Ser Pro Asp Leu Val Gly Pro Thr Phe Pro Pro Ile Pro Ser

                  20                    25                    30

Phe Thr Leu Pro Thr Gly

                  35

<210> 50

<211> 163

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 50

Met Ser Arg Lys Asp Arg Phe Asn Ser Pro Lys Ile Lys Ser Glu Ile

1                    5                    10                    15

Ser Ile Ser Pro Asp Leu Val Gly Pro Thr Phe Pro Pro Ile Pro Ser

                  20                    25                    30

Phe Thr Leu Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Asn Thr Gly Pro  
 35 40 45

Thr Gly Asp Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Phe Asn Ile Asn Phe Arg  
 50 55 60

Ala Glu Lys Asn Gly Ala Gln Ser Phe Thr Pro Pro Ala Asp Ile Gln  
 65 70 75 80

Val Ser Tyr Gly Asn Ile Ile Phe Asn Asn Gly Gly Gly Tyr Ser Ser  
 85 90 95

Val Thr Asn Thr Phe Thr Ala Pro Ile Asn Gly Ile Tyr Leu Phe Ser  
 100 105 110

Ala Asn Ile Gly Phe Asn Pro Thr Leu Gly Thr Thr Ser Thr Leu Arg  
 115 120 125

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

Ile Gln Phe Ser Ala Ala Glu Ser Gly Thr Leu Thr Val Gly Ser Ser  
 145 150 155 160

Asn Phe Phe

<210> 51  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Bacillus cereus  
 <400> 51

Met Lys Glu Arg Asp Asn Lys Gly Lys Gln His Ser Leu Asn Ser Asn  
 1 5 10 15

Phe Arg Ile Pro Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro  
 20 25 30

Thr Gly Phe Thr Gly Ile Gly  
 35

<210> 52  
 <211> 323  
 <212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 52

Met Lys Glu Arg Asp Asn Lys Gly Lys Gln His Ser Leu Asn Ser Asn  
 1                      5                      10                      15

Phe Arg Ile Pro Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro  
                                  20                      25                      30

Thr Gly Phe Thr Gly Ile Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly  
                                  35                      40                      45

Pro Thr Gly Pro Gln Gly Pro Arg Gly Phe Gln Gly Pro Met Gly Glu  
                                  50                      55                      60

Met Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ala  
 65                      70                      75                      80

Gly Gln Met Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly Gln Gln Gly Pro Glu Gly  
                                  85                      90                      95

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

Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ile Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln  
 115 120 125

Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly  
 130 135 140

Pro Glu Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Leu Pro Gly Ala  
 145 150 155 160

Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Val Gln Gly Val Ile Gly Pro Gln  
 165 170 175

Gly Pro Ser Gly Ser Thr Gly Gly Thr Gly Ala Thr Gly Gln Gly Val  
 180 185 190

Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Pro Ser  
 195 200 205

Gly Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gly  
 210 215 220

Gly Gly Pro Ser Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly Asn Thr  
225                      230                      235                      240

Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly  
                                  245                      250                      255

Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ile Gln Gly Ser Gln Gly Ile Gln Gly Ile  
                                  260                      265                      270

Gln Gly Ile Gln Gly Pro Leu Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln  
                                  275                      280                      285

Gly Ile Gln Gly Ile Pro Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Glu Gln Gly  
                                  290                      295                      300

Ile Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Asp  
305                      310                      315                      320

Gln Gly Thr

<210> 53

<211> 39



<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 53

Met Arg Glu Arg Asp Asn Lys Arg Gln Gln His Ser Leu Asn Pro Asn  
1                    5                    10                    15

Phe Arg Ile Ser Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro  
                         20                    25                    30

Thr Gly Phe Thr Gly Ile Gly  
                         35

<210> 54

<211> 436

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 54

Met Arg Glu Arg Asp Asn Lys Arg Gln Gln His Ser Leu Asn Pro Asn  
1                    5                    10                    15

Phe Arg Ile Ser Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro  
                         20                    25                    30

Thr Gly Phe Thr Gly Ile Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly  
 35 40 45

Pro Thr Gly Pro Gln Gly Pro Arg Gly Phe Gln Gly Pro Met Gly Glu  
 50 55 60

Met Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Val  
 65 70 75 80

Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly Gln Gln Gly Pro Gln Gly  
 85 90 95

Leu Arg Gly Pro Gln Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gly Gly Val  
 100 105 110

Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln  
 115 120 125

Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly  
 130 135 140

Pro Glu Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Leu Pro Gly Ala  
 145 150 155 160

Thr Gly Ser Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln  
 165 170 175

Gly Pro Ser Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Gln Gly Ile  
 180 185 190

Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Ser  
 195 200 205

Gly Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gly  
 210 215 220

Gly Gly Pro Ser Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Asn Thr  
 225 230 235 240

Gly Ala Thr Gly Asn Thr Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Ser Thr Gly  
 245 250 255

Pro Thr Gly Ser Thr Gly Ala Gln Gly Leu Gln Gly Ile Gln Gly Ile  
 260 265 270

Gln Gly Pro Ile Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln Gly Ile Gln  
275 280 285

Gly Ile Pro Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Glu Gln Gly Ile Gln Gly  
290 295 300

Val Gln Gly Ile Gln Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Asp Gln Gly Pro  
305 310 315 320

Gln Gly Ile Gln Gly Val Ile Gly Ala Gln Gly Val Thr Gly Ala Thr  
325 330 335

Gly Asp Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Pro Gly Pro Ser Gly  
340 345 350

Ala Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Met Gly Asp  
355 360 365

Ile Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Pro Glu Gly Leu Gln Gly Pro Gln  
370 375 380

Gly Ile Gln Gly Val Pro Gly Pro Val Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly  
 385                                    390                                    395                                    400

Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Ala Thr Gly Pro  
     405                                    410                                    415

Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Ile Thr  
     420                                    425                                    430

Gly Ala Thr Gly  
     435

<210> 55

<211> 36

<212> PRT

<213> Bacillus thuringiensis

<400> 55

Met Lys Asn Arg Asp Asn Lys Gly Lys Gln Gln Ser Asn Phe Arg Ile  
 1                                    5                                    10                                    15

Pro Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro Thr Gly Phe  
     20                                    25                                    30

Thr Gly Ile Gly

35

<210> 56

<211> 470

<212> PRT

<213> Bacillus thuringiensis

<400> 56

Met Lys Asn Arg Asp Asn Lys Gly Lys Gln Gln Ser Asn Phe Arg Ile

1

5

10

15

Pro Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro Thr Gly Phe

20

25

30

Thr Gly Ile Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Pro Thr Gly

35

40

45

Pro Gln Gly Pro Arg Gly Phe Gln Gly Pro Met Gly Glu Met Gly Pro

50

55

60

Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Val Gly Pro Ile

65

70

75

80

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

Pro Gln Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Leu  
 100 105 110

Gln Gly Pro Ile Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln Gly Ile Gln  
 115 120 125

Gly Ile Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly  
 130 135 140

Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Leu Pro Gly Ala Thr Gly Pro  
 145 150 155 160

Gln Gly Ile Gln Gly Ala Gln Gly Ile Gln Gly Thr Gln Gly Pro Ser  
 165 170 175

Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Gln Gly Leu Thr Gly Pro  
 180 185 190

Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Ser Gly Gly Pro  
 195 200 205

Pro Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gly Gly Gly Pro  
 210 215 220

Ser Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Asp Thr Gly Ala Thr  
 225 230 235 240

Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln Gly Pro Gln Gly  
 245 250 255

Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala  
 260 265 270

Thr Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Thr  
 275 280 285

Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ser Gln Gly Pro Thr Gly Asn Thr Gly  
 290 295 300

Pro Thr Gly Ser Gln Gly Ile Gln Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ala  
 305 310 315 320



Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Val Ser Thr

325 330 335

Thr Ala Thr Tyr Ala Phe Ala Asn Asn Thr Ser Gly Ser Ile Ile Ser

340 345 350

Val Leu Leu Gly Gly Thr Asn Ile Pro Leu Pro Asn Asn Gln Asn Ile

355 360 365

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

370 375 380

Asn Ala Gly Asn Tyr Tyr Ile Ala Tyr Thr Ile Asn Leu Thr Ala Gly

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Ile Ala Asn Leu Pro Ala Gly Ala Ala Val Ser Leu Gln Leu Phe Gly  
 435 440 445

Val Ile Ala Leu Ala Thr Leu Ser Thr Ala Thr Pro Gly Ala Thr Leu  
 450 455 460

Thr Ile Ile Arg Leu Ser  
 465 470

- <210> 57
- <211> 136
- <212> PRT
- <213> Bacillus mycooides

<400> 57

Met Lys Phe Ser Lys Lys Ser Thr Val Asp Ser Ser Ile Val Gly Lys  
 1 5 10 15

Arg Val Val Ser Lys Val Asn Ile Leu Arg Phe Tyr Asp Ala Arg Ser  
 20 25 30

Cys Gln Asp Lys Asp Val Asp Gly Phe Val Asp Val Gly Glu Leu Phe  
 35 40 45

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

His Asn Ser Ile Gly Lys Thr Tyr Tyr Ile Thr Ile Asn Glu Val Tyr  
 65 70 75 80

Val Phe Val Thr Val Leu Leu Gln Tyr Ser Thr Leu Ile Gly Gly Ser  
 85 90 95

Tyr Val Phe Asp Lys Asn Glu Ile Gln Lys Ile Asn Gly Ile Leu Gln  
 100 105 110

Ala Asn Ala Leu Asn Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile  
 115 120 125

Pro Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly  
 130 135

- <210> 58
- <211> 384
- <212> PRT
- <213> Bacillus mycoides

<400> 58

Met Lys Phe Ser Lys Lys Ser Thr Val Asp Ser Ser Ile Val Gly Lys  
 1 5 10 15

Arg Val Val Ser Lys Val Asn Ile Leu Arg Phe Tyr Asp Ala Arg Ser  
 20 25 30

Cys Gln Asp Lys Asp Val Asp Gly Phe Val Asp Val Gly Glu Leu Phe  
 35 40 45

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

His Asn Ser Ile Gly Lys Thr Tyr Tyr Ile Thr Ile Asn Glu Val Tyr  
 65 70 75 80

Val Phe Val Thr Val Leu Leu Gln Tyr Ser Thr Leu Ile Gly Gly Ser  
 85 90 95

Tyr Val Phe Asp Lys Asn Glu Ile Gln Lys Ile Asn Gly Ile Leu Gln  
 100 105 110

Ala Asn Ala Leu Asn Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile

115 120 125

Pro Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly Pro Thr Gly Gly Thr Gly Pro Thr

130 135 140

Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly

145 150 155 160

Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val

165 170 175

Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr

180 185 190

Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly

195 200 205

Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Gly Thr Glu Gly Cys Leu Cys

210 215 220

Asp Cys Cys Val Leu Pro Met Gln Ser Val Leu Gln Gln Leu Ile Gly

225 230 235 240

Glu Thr Val Ile Leu Gly Thr Ile Ala Asp Thr Pro Asn Thr Pro Pro  
 245 250 255

Leu Phe Phe Leu Phe Thr Ile Thr Ser Val Asn Asp Phe Leu Val Thr  
 260 265 270

Val Thr Asp Gly Thr Thr Thr Phe Val Val Asn Ile Ser Asp Val Thr  
 275 280 285

Gly Val Gly Phe Leu Pro Pro Gly Pro Pro Ile Thr Leu Leu Pro Pro  
 290 295 300

Thr Asp Val Gly Cys Glu Cys Glu Cys Arg Glu Arg Pro Ile Arg Gln  
 305 310 315 320

Leu Leu Asp Ala Phe Ile Gly Ser Thr Val Ser Leu Leu Ala Ser Asn  
 325 330 335

Gly Ser Ile Ala Ala Asp Phe Ser Val Glu Gln Thr Gly Leu Gly Ile  
 340 345 350

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

Ile Ser Thr Cys Lys Ile Thr Ala Val Asn Ile Thr Pro Ile Thr Met  
370 375 380

<210> 59

<211> 196

<212> PRT

<213> Bacillus anthracis

<400> 59

Met Ser Asn Asn Asn Tyr Ser Asn Gly Leu Asn Pro Asp Glu Ser Leu  
1 5 10 15

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

Ile Pro Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Phe Thr Thr  
35 40 45

Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly  
50 55 60





180

185

190

Ser Gly Leu Gly

195

<210> 60

<211> 17

<212> PRT

<213> Bacillus anthracis

<400> 60

Met Ala Phe Asp Pro Asn Leu Val Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro

1

5

10

15

Pro

<210> 61

<211> 17

<212> PRT

<213> Bacillus anthracis

<400> 61

Met Ala Leu Glu Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro

1                    5                    10                    15

Pro

<210> 62

<211> 17

<212> PRT

<213> *Bacillus weihenstephensis*

<400> 62

Met Ala Leu Asn Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro

1                    5                    10                    15

Pro

<210> 63

<211> 17

<212> PRT

<213> *Bacillus weihenstephensis*

<400> 63

Met Ala Leu Asp Pro Asn Ile Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro

1 5 10 15

Pro

<210> 64

<211> 17

<212> PRT

<213> *Bacillus cereus*

<400> 64

Met Ala Leu Glu Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Ser Ile Pro

1 5 10 15

Pro

<210> 65

<211> 17

<212> PRT

<213> *Bacillus weihenstephensis*

<400> 65

Met Ala Leu Asp Pro Asn Leu Ile Gly Pro Pro Leu Pro Pro Ile Thr

1                    5                    10                    15

Pro

<210> 66

<211> 17

<212> PRT

<213> *Bacillus weihenstephensis*

<400> 66

Met Ala Leu Asn Pro Gly Ser Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Val Pro

1                    5                    10                    15

Pro

<210> 67

<211> 17

<212> PRT

<213> *Bacillus weihenstephensis*

<400> 67

Met Ala Leu Asn Pro Cys Ser Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Met Gln

1                    5                    10                    15

Pro

<210> 68

<211> 17

<212> PRT

<213> Bacillus mycoides

<400> 68

Met Ala Leu Asn Pro Gly Ser Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Val Gln

1                    5                    10                    15

Pro

<210> 69

<211> 17

<212> PRT

<213> Bacillus anthracis

<400> 69

Met Ala Leu Asn Pro Gly Ser Val Gly Pro Thr Leu Pro Pro Met Gln

1                    5                    10                    15

Pro

<210> 70

<211> 17

<212> PRT

<213> *Bacillus cereus*

<400> 70

Met Ala Leu Asp Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Ile Pro

1                    5                    10                    15

Ser

<210> 71

<211> 799

<212> PRT

<213> *Bacillus mycoides*

<400> 71

Met Lys Arg Lys Thr Pro Phe Lys Val Phe Ser Ser Leu Ala Ile Thr

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

Asn Ala Ser Ser Glu Gln Thr Pro Ser Gln Asn Lys Lys Gln Leu Asn  
 130 135 140

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

Val Arg Thr Asp Lys Val Leu Val Leu Leu Val Glu Phe Ser Asp Tyr  
 165 170 175

Lys His Asn Asn Ile Glu Gln Ser Pro Gly Tyr Met Tyr Ala Asn Asp  
 180 185 190

Phe Ser Arg Glu His Tyr Gln Lys Met Leu Phe Gly Asn Glu Pro Phe  
 195 200 205

Thr Leu Phe Asp Gly Ser Lys Val Lys Thr Phe Lys Gln Tyr Tyr Glu  
 210 215 220

Glu Gln Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Thr Asp Gly Tyr Val Thr Glu Trp  
 225 230 235 240

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



245 250 255

Gly His Asp Asn Lys Gly Pro Lys Gly Ala Arg Asp Leu Val Lys Glu

260 265 270

Ala Leu Lys Ala Ala Ala Glu Lys Gly Leu Asp Leu Ser Gln Phe Asp

275 280 285

Gln Phe Asp Arg Tyr Asp Thr Asn Gly Asp Gly Asn Gln Asn Glu Pro

290 295 300

Asp Gly Val Ile Asp His Leu Met Val Ile His Ala Gly Val Gly Gln

305 310 315 320

Glu Ala Gly Gly Gly Lys Leu Gly Asp Asp Ala Ile Trp Ser His Arg

325 330 335

Ser Lys Leu Ala Gln Asp Pro Val Ala Ile Glu Gly Thr Lys Ser Lys

340 345 350

Val Ser Tyr Trp Asp Gly Lys Val Ala Ala His Asp Tyr Thr Ile Glu

355 360 365

Pro Glu Asp Gly Ala Val Gly Val Phe Ala His Glu Phe Gly His Asp  
 370 375 380

Leu Gly Leu Pro Asp Glu Tyr Asp Thr Asn Tyr Thr Gly Ala Gly Ser  
 385 390 395 400

Pro Val Glu Ala Trp Ser Leu Met Ser Gly Gly Ser Trp Thr Gly Arg  
 405 410 415

Ile Ala Gly Thr Glu Pro Thr Ser Phe Ser Pro Gln Asn Lys Asp Phe  
 420 425 430

Leu Gln Lys Asn Met Asp Gly Asn Trp Ala Lys Ile Val Glu Val Asp  
 435 440 445

Tyr Asp Lys Ile Lys Arg Gly Val Gly Phe Pro Thr Tyr Ile Asp Gln  
 450 455 460

Ser Val Thr Lys Ser Asn Arg Pro Gly Leu Val Arg Val Asn Leu Pro  
 465 470 475 480

Glu Lys Ser Val Glu Thr Ile Lys Thr Gly Phe Gly Lys His Ala Tyr

485

490

495

Tyr Ser Thr Arg Gly Asp Asp Met His Thr Thr Leu Glu Thr Pro Leu  
 500 505 510

Phe Asp Leu Thr Lys Ala Ala Asn Ala Lys Phe Asp Tyr Lys Ala Asn  
 515 520 525

Tyr Glu Leu Glu Ala Glu Cys Asp Phe Ile Glu Val His Ala Val Thr  
 530 535 540

Glu Asp Gly Thr Lys Thr Leu Ile Asp Lys Leu Gly Asp Lys Val Val  
 545 550 555 560

Lys Gly Asp Gln Asp Thr Thr Glu Gly Lys Trp Ile Asp Lys Ser Tyr  
 565 570 575

Asp Leu Ser Gln Phe Lys Gly Lys Lys Val Lys Leu Gln Phe Asp Tyr  
 580 585 590

Ile Thr Asp Pro Ala Leu Thr Tyr Lys Gly Phe Ala Met Asp Asn Val  
 595 600 605

Asn Val Thr Val Asp Gly Lys Val Val Phe Ser Asp Asp Ala Glu Gly  
 610 615 620

Gln Ala Lys Met Lys Leu Asn Gly Phe Val Val Ser Asp Gly Thr Glu  
 625 630 635 640

Lys Lys Pro His Tyr Tyr Tyr Leu Glu Trp Arg Asn Tyr Ala Gly Ser  
 645 650 655

Asp Glu Gly Leu Lys Val Gly Arg Gly Pro Val Tyr Asn Thr Gly Leu  
 660 665 670

Val Val Trp Tyr Ala Asp Asp Ser Phe Lys Asp Asn Trp Val Gly Arg  
 675 680 685

His Pro Gly Glu Gly Phe Leu Gly Val Val Asp Ser His Pro Glu Ala  
 690 695 700

Val Val Gly Asn Leu Asn Gly Lys Pro Val Tyr Gly Asn Thr Gly Leu  
 705 710 715 720

Gln Ile Ala Asp Ala Ala Phe Ser Leu Asp Gln Thr Pro Ala Trp Asn

725

730

735

Val Asn Ser Phe Thr Arg Gly Gln Phe Asn Tyr Pro Gly Leu Pro Gly

740

745

750

Val Ala Thr Phe Asp Asp Ser Lys Val Tyr Ser Asn Thr Gln Ile Pro

755

760

765

Asp Ala Gly Arg Lys Val Pro Gln Leu Gly Leu Lys Phe Gln Val Val

770

775

780

Gly Gln Ala Asp Asp Lys Ser Ala Gly Ala Ile Trp Ile Arg Arg

785

790

795

<210> 72

<211> 152

<212> PRT

<213> Bacillus anthracis

<400> 72

Met Ser Cys Asn Glu Asn Lys His His Gly Ser Ser His Cys Val Val

1

5

10

15

Asp Val Val Lys Phe Ile Asn Glu Leu Gln Asp Cys Ser Thr Thr Thr  
 20 25 30

Cys Gly Ser Gly Cys Glu Ile Pro Phe Leu Gly Ala His Asn Thr Ala  
 35 40 45

Ser Val Ala Asn Thr Arg Pro Phe Ile Leu Tyr Thr Lys Ala Gly Ala  
 50 55 60

Pro Phe Glu Ala Phe Ala Pro Ser Ala Asn Leu Thr Ser Cys Arg Ser  
 65 70 75 80

Pro Ile Phe Arg Val Glu Ser Val Asp Asp Asp Ser Cys Ala Val Leu  
 85 90 95

Arg Val Leu Ser Val Val Leu Gly Asp Ser Ser Pro Val Pro Pro Thr  
 100 105 110

Asp Asp Pro Ile Cys Thr Phe Leu Ala Val Pro Asn Ala Arg Leu Val  
 115 120 125

Ser Thr Ser Thr Cys Ile Thr Val Asp Leu Ser Cys Phe Cys Ala Ile  
 130 135 140

Gln Cys Leu Arg Asp Val Thr Ile

145 150

<210> 73

<211> 167

<212> PRT

<213> Bacillus anthracis

<400> 73

Met Phe Ser Ser Asp Cys Glu Phe Thr Lys Ile Asp Cys Glu Ala Lys

1 5 10 15

Pro Ala Ser Thr Leu Pro Ala Phe Gly Phe Ala Phe Asn Ala Ser Ala

20 25 30

Pro Gln Phe Ala Ser Leu Phe Thr Pro Leu Leu Leu Pro Ser Val Ser

35 40 45

Pro Asn Pro Asn Ile Thr Val Pro Val Ile Asn Asp Thr Val Ser Val

50 55 60

Gly Asp Gly Ile Arg Ile Leu Arg Ala Gly Ile Tyr Gln Ile Ser Tyr

65 70 75 80

Thr Leu Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Pro Val Ala Pro Glu Ala Gly

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Ser Gly Val Ile Leu Ile Asn Leu Asn Pro Gly Asp Leu Ile Arg

130 135 140

Ile Val Pro Val Glu Leu Ile Gly Thr Val Asp Ile Arg Ala Ala Ala

145 150 155 160

Leu Thr Val Ala Gln Ile Ser

165

<210> 74

<211> 156

<212> PRT



<213> Bacillus anthracis

<400> 74

Met Ser Cys Asn Cys Asn Glu Asp His His His His Asp Cys Asp Phe  
 1 5 10 15

Asn Cys Val Ser Asn Val Val Arg Phe Ile His Glu Leu Gln Glu Cys  
 20 25 30

Ala Thr Thr Thr Cys Gly Ser Gly Cys Glu Val Pro Phe Leu Gly Ala  
 35 40 45

His Asn Ser Ala Ser Val Ala Asn Thr Arg Pro Phe Ile Leu Tyr Thr  
 50 55 60

Lys Ala Gly Ala Pro Phe Glu Ala Phe Ala Pro Ser Ala Asn Leu Thr  
 65 70 75 80

Ser Cys Arg Ser Pro Ile Phe Arg Val Glu Ser Ile Asp Asp Asp Asp  
 85 90 95

Cys Ala Val Leu Arg Val Leu Ser Val Val Leu Gly Asp Thr Ser Pro  
 100 105 110

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

115

120

125

Ala Arg Leu Ile Ser Thr Asn Thr Cys Leu Thr Val Asp Leu Ser Cys

130

135

140

Phe Cys Ala Ile Gln Cys Leu Arg Asp Val Thr Ile

145

150

155

<210> 75

<211> 182

<212> PRT

<213> Bacillus anthracis

<400> 75

Met Glu Val Gly Gly Thr Ser Val Lys Asn Lys Asn Lys Ser Ser Thr

1

5

10

15

Val Gly Lys Pro Leu Leu Tyr Ile Ala Gln Val Ser Leu Glu Leu Ala

20

25

30

Ala Pro Lys Thr Lys Arg Ile Ile Leu Thr Asn Phe Glu Asn Glu Asp

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

Pro Asn Ser Met Arg Asp Ile Arg Leu Ser Ile Glu Glu Ile Lys Ser  
165 170 175

Ile Asp Met Ala Gly Phe  
180

<210> 76  
<211> 174  
<212> PRT  
<213> Bacillus anthracis

<400> 76

Met Lys Glu Arg Ser Glu Asn Met Arg Ser Ser Ser Arg Lys Leu Thr  
1 5 10 15

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

Phe Ala Phe Asn Ala Thr Ser Pro Gln Phe Ala Thr Leu Phe Thr Pro  
35 40 45

Leu Leu Leu Pro Ser Thr Gly Pro Asn Pro Asn Ile Thr Val Pro Val  
50 55 60

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

Gly Ile Tyr Gln Ile Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Leu Asp Asn Val  
 85 90 95

Pro Val Thr Pro Glu Ala Ala Arg Phe Phe Leu Thr Leu Asn Ser Ser  
 100 105 110

Thr Asn Ile Ile Ala Gly Ser Gly Thr Ala Val Arg Ser Asn Ile Ile  
 115 120 125

Gly Thr Gly Glu Val Asp Val Ser Ser Gly Val Ile Leu Ile Asn Leu  
 130 135 140

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

Val Asp Ile Arg Ser Ala Ala Leu Thr Val Ala Gln Ile Arg  
 165 170

<210> 77

<211> 796

<212> PRT

<213> Bacillus thuringiensis

<400> 77

Met Ser Lys Lys Pro Phe Lys Val Leu Ser Ser Ile Ala Leu Thr Ala

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

Thr Pro Val Asn Lys Thr Ala Thr Ser Pro Val Asp Asp His Leu Ile

                  35                    40                    45

Pro Glu Glu Arg Leu Ala Asp Ala Leu Lys Lys Arg Gly Val Ile Asp

                  50                    55                    60

Ser Lys Ala Ser Glu Thr Glu Thr Lys Lys Ala Val Glu Lys Tyr Val

65                    70                    75                    80

Glu Asn Lys Lys Gly Glu Asn Pro Gly Lys Glu Ala Ala Asn Gly Asp

                  85                    90                    95

Gln Leu Thr Lys Asp Ala Ser Asp Phe Leu Lys Lys Val Lys Asp Ala  
 100 105 110

Lys Ala Asp Thr Lys Glu Lys Leu Asn Gln Pro Ala Thr Gly Thr Pro  
 115 120 125

Ala Ala Thr Gly Pro Val Lys Gly Gly Leu Asn Gly Lys Val Pro Thr  
 130 135 140

Ser Pro Ala Lys Gln Lys Asp Tyr Asn Gly Glu Val Arg Lys Asp Lys  
 145 150 155 160

Val Leu Val Leu Leu Val Glu Tyr Ala Asp Phe Lys His Asn Asn Ile  
 165 170 175

Asp Lys Glu Pro Gly Tyr Met Tyr Ser Asn Asp Phe Asn Lys Glu His  
 180 185 190

Tyr Glu Lys Met Leu Phe Gly Asn Glu Pro Phe Thr Leu Asp Asp Gly  
 195 200 205

Ser Lys Ile Glu Thr Phe Lys Gln Tyr Tyr Glu Glu Gln Ser Gly Gly

210	215	220	
Ser Tyr Thr Val Asp Gly Thr Val Thr Lys Trp Leu Thr Val Pro Gly			
225	230	235	240
Lys Ala Ala Asp Tyr Gly Ala Asp Ala Pro Gly Gly Gly His Asp Asn			
	245	250	255
Lys Gly Pro Lys Gly Pro Arg Asp Leu Val Lys Asp Ala Leu Lys Ala			
	260	265	270
Ala Val Asp Ser Gly Ile Asp Leu Ser Glu Phe Asp Gln Phe Asp Gln			
	275	280	285
Tyr Asp Val Asn Gly Asp Gly Asn Lys Asn Gln Pro Asp Gly Leu Ile			
	290	295	300
Asp His Leu Met Ile Ile His Ala Gly Val Gly Gln Glu Ala Gly Gly			
305	310	315	320
Gly Lys Leu Gly Asp Asp Ala Ile Trp Ser His Arg Trp Thr Val Gly			
	325	330	335



Pro Lys Pro Phe Pro Ile Glu Gly Thr Gln Ala Lys Val Pro Tyr Trp  
 340 345 350

Gly Gly Lys Met Ala Ala Phe Asp Tyr Thr Ile Glu Pro Glu Asp Gly  
 355 360 365

Ala Val Gly Val Phe Ala His Glu Tyr Gly His Asp Leu Gly Leu Pro  
 370 375 380

Asp Glu Tyr Asp Thr Gln Tyr Ser Gly Gln Gly Glu Pro Ile Glu Ala  
 385 390 395 400

Trp Ser Ile Met Ser Gly Gly Ser Trp Ala Gly Lys Ile Ala Gly Thr  
 405 410 415

Thr Pro Thr Ser Phe Ser Pro Gln Asn Lys Glu Phe Phe Gln Lys Thr  
 420 425 430

Ile Gly Gly Asn Trp Ala Asn Ile Val Glu Val Asp Tyr Glu Lys Leu  
 435 440 445

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

450	455	460	
Ser Ala Arg Pro Gly Met Ile Arg Val Asn Leu Pro Asp Lys Asp Val			
465	470	475	480
Lys Thr Ile Glu Pro Ala Phe Gly Lys Gln Tyr Tyr Tyr Ser Thr Lys			
	485	490	495
Gly Asp Asp Leu His Thr Lys Met Glu Thr Pro Leu Phe Asp Leu Thr			
	500	505	510
Asn Ala Thr Ser Ala Lys Phe Asp Phe Lys Ser Leu Tyr Glu Ile Glu			
	515	520	525
Ala Gly Tyr Asp Phe Leu Glu Val His Ala Val Thr Glu Asp Gly Lys			
	530	535	540
Gln Thr Leu Ile Glu Arg Leu Gly Glu Lys Ala Asn Ser Gly Asn Ala			
545	550	555	560
Asp Ser Thr Asn Gly Lys Trp Ile Asp Lys Ser Tyr Asp Leu Ser Gln			
	565	570	575

Phe Lys Gly Lys Lys Val Lys Leu Thr Phe Asp Tyr Ile Thr Asp Gly  
 580 585 590

Gly Leu Ala Leu Asn Gly Phe Ala Leu Asp Asn Ala Ser Leu Thr Val  
 595 600 605

Asp Gly Lys Val Val Phe Ser Asp Asp Ala Glu Gly Thr Pro Gln Leu  
 610 615 620

Lys Leu Asp Gly Phe Val Val Ser Asn Gly Thr Glu Lys Lys Lys His  
 625 630 635 640

Asn Tyr Tyr Val Glu Trp Arg Asn Tyr Ala Gly Ala Asp Asn Ala Leu  
 645 650 655

Lys Phe Ala Arg Gly Pro Val Phe Asn Thr Gly Met Val Val Trp Tyr  
 660 665 670

Ala Asp Ser Ala Tyr Thr Asp Asn Trp Val Gly Val His Pro Gly His  
 675 680 685

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

690 695 700

Leu Asn Gly Lys Pro Thr Val Lys Ser Ser Thr Arg Phe Gln Ile Ala

705 710 715 720

Asp Ala Ala Phe Ser Phe Asp Lys Thr Pro Ala Trp Lys Val Val Ser

725 730 735

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

740 745 750

Phe Asp Asp Ser Lys Thr Tyr Ile Asn Gln Gln Ile Pro Asp Ala Gly

755 760 765

Arg Ile Leu Pro Lys Leu Gly Leu Lys Phe Glu Val Val Gly Gln Ala

770 775 780

Asp Asp Asn Ser Ala Gly Ala Val Arg Leu Tyr Arg

785 790 795

<210> 78

<211> 430

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 78

Met Lys His Asn Asp Cys Phe Asp His Asn Asn Cys Asn Pro Ile Val

1 5 10 15

Phe Ser Ala Asp Cys Cys Lys Asn Pro Gln Ser Val Pro Ile Thr Arg

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Leu Asp Leu Phe Asn Gln Phe Leu Ile Phe Leu Asn Ser Leu Leu Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Leu Gln Ser Pro Ala Pro Asn Leu Gly Gln Leu Ser Thr Leu Leu

100 105 110

Gln Gln Phe Tyr Ser Ala Leu Ala Gln Phe Phe Phe Ala Leu Asp Leu  
 115 120 125

Ile Pro Ile Ser Cys Asn Ser Asn Val Asp Ser Ala Thr Leu Gln Leu  
 130 135 140

Leu Phe Asn Leu Leu Ile Gln Leu Ile Asn Ala Thr Pro Gly Ala Thr  
 145 150 155 160

Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Ala Gly  
 165 170 175

Thr Gly Ala Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly  
 180 185 190

Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Gly Ala  
 195 200 205

Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr  
 210 215 220

Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly

225                      230                      235                      240

Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala

245                      250                      255

Thr Gly Leu Thr Gly Ala Thr Gly Ala Ala Gly Gly Gly Ala Ile Ile

260                      265                      270

Pro Phe Ala Ser Gly Thr Thr Pro Ser Ala Leu Val Asn Ala Leu Val

275                      280                      285

Ala Asn Thr Gly Thr Leu Leu Gly Phe Gly Phe Ser Gln Pro Gly Val

290                      295                      300

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

305                      310                      315                      320

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

325                      330                      335

Phe Phe Ser Ala Thr Ala Ala Leu Ala Pro Ile Ser Pro Val Gln Val

340                      345                      350

Gln Ile Gln Ile Leu Thr Ala Pro Ala Ala Ser Asn Thr Phe Thr Val  
 355 360 365

Gln Gly Ala Pro Leu Leu Leu Thr Pro Ala Phe Ala Ala Ile Ala Ile  
 370 375 380

Gly Ser Thr Ala Ser Gly Ile Ile Ala Glu Ala Ile Pro Val Ala Ala  
 385 390 395 400

Gly Asp Lys Ile Leu Leu Tyr Val Ser Leu Thr Ala Ala Ser Pro Ile  
 405 410 415

Ala Ala Val Ala Gly Phe Val Ser Ala Gly Ile Asn Ile Val  
 420 425 430

<210> 79

<211> 437

<212> PRT

<213> Bacillus cereus

<400> 79

Met Lys His Asn Asp Cys Phe Gly His Asn Asn Cys Asn Asn Pro Ile



1                    5                    10                    15

Val Phe Thr Pro Asp Cys Cys Asn Asn Pro Gln Thr Val Pro Ile Thr  
 20                    25                    30

Ser Glu Gln Leu Gly Arg Leu Ile Thr Leu Leu Asn Ser Leu Ile Ala  
 35                    40                    45

Ala Ile Ala Ala Phe Phe Ala Asn Pro Ser Asp Ala Asn Arg Leu Ala  
 50                    55                    60

Leu Leu Asn Leu Phe Thr Gln Leu Leu Asn Leu Leu Asn Glu Leu Ala  
 65                    70                    75                    80

Pro Ser Pro Glu Gly Asn Phe Leu Lys Gln Leu Ile Gln Ser Ile Ile  
 85                    90                    95

Asn Leu Leu Gln Ser Pro Asn Pro Asn Leu Gly Gln Leu Leu Ser Leu  
 100                    105                    110

Leu Gln Gln Phe Tyr Ser Ala Leu Ala Pro Phe Phe Phe Ser Leu Ile  
 115                    120                    125

Leu Asp Pro Ala Ser Leu Gln Leu Leu Leu Asn Leu Leu Ala Gln Leu

130 135 140

Ile Gly Val Thr Pro Gly Gly Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr

145 150 155 160

Gly Pro Gly Gly Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Gly

165 170 175

Gly Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr

180 185 190

Gly Leu Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly

195 200 205

Val Ala Gly Pro Ala Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly Leu

210 215 220

Ala Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly Leu Ala

225 230 235 240

Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Leu Ala Gly Ala Thr Gly

245 250 255

Pro Thr Gly Ala Thr Gly Leu Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala

260 265 270

Ala Gly Gly Gly Ala Ile Ile Pro Phe Ala Ser Gly Thr Thr Pro Ala

275 280 285

Ala Leu Val Asn Ala Leu Ile Ala Asn Thr Gly Thr Leu Leu Gly Phe

290 295 300

Gly Phe Ser Gln Pro Gly Ile Gly Leu Ala Gly Gly Thr Ser Ile Thr

305 310 315 320

Leu Ala Leu Gly Val Gly Asp Tyr Ala Phe Val Ala Pro Arg Asp Gly

325 330 335

Val Ile Thr Ser Leu Ala Gly Phe Phe Ser Ala Thr Ala Ala Leu Ser

340 345 350

Pro Leu Ser Pro Val Gln Val Gln Ile Gln Ile Leu Thr Ala Pro Ala

355 360 365

Ala Ser Asn Thr Phe Thr Val Gln Gly Ala Pro Leu Leu Leu Thr Pro  
370 375 380

Ala Phe Ala Ala Ile Ala Ile Gly Ser Thr Ala Ser Gly Ile Ile Pro  
385 390 395 400

Glu Ala Ile Pro Val Val Ala Gly Asp Lys Ile Leu Leu Tyr Val Ser  
405 410 415

Leu Thr Ala Ala Ser Pro Ile Ala Ala Val Ala Gly Phe Val Ser Ala  
420 425 430

Gly Ile Asn Ile Val  
435

- <210> 80
- <211> 119
- <212> PRT
- <213> Bacillus anthracis

<400> 80

Met Leu Phe Thr Ser Trp Leu Leu Phe Phe Ile Phe Ala Leu Ala Ala  
1 5 10 15

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

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

Val Ser Thr Phe Thr Lys Val Lys Gly Lys Gly Leu Arg Lys Trp Ile  
 50 55 60

Gly Glu Leu Leu Ser Cys Tyr Trp Cys Thr Gly Val Trp Val Ser Ala  
 65 70 75 80

Phe Leu Leu Val Leu Tyr Asn Trp Ile Pro Ile Val Ala Glu Pro Leu  
 85 90 95

Leu Ala Leu Leu Ala Ile Ala Gly Ala Ala Ala Ile Ile Glu Thr Ile  
 100 105 110

Thr Gly Tyr Phe Met Gly Glu  
 115

<210> 81

<211> 61

<212> PRT

<213> Bacillus anthracis

<400> 81

Met Phe Ala Val Ser Asn Asn Pro Arg Gln Asn Ser Tyr Asp Leu Gln

1                    5                    10                    15

Gln Trp Tyr His Met Gln Gln Gln His Gln Ala Gln Gln Gln Ala Tyr

                  20                    25                    30

Gln Glu Gln Leu Gln Gln Gln Gly Phe Val Lys Lys Lys Gly Cys Asn

                  35                    40                    45

Cys Gly Lys Lys Lys Ser Thr Ile Lys His Tyr Glu Glu

                  50                    55                    60

<210> 82

<211> 481

<212> PRT

<213> Bacillus anthracis

<400> 82

Met Ser Arg Tyr Asp Asp Ser Gln Asn Lys Phe Ser Lys Pro Cys Phe  
 1 5 10 15

Pro Ser Ser Ala Gly Arg Ile Pro Asn Thr Pro Ser Ile Pro Val Thr  
 20 25 30

Lys Ala Gln Leu Arg Thr Phe Arg Ala Ile Ile Ile Asp Leu Thr Lys  
 35 40 45

Ile Ile Pro Lys Leu Phe Ala Asn Pro Ser Pro Gln Asn Ile Glu Asp  
 50 55 60

Leu Ile Asp Thr Leu Asn Leu Leu Ser Lys Phe Ile Cys Ser Leu Asp  
 65 70 75 80

Ala Ala Ser Ser Leu Lys Ala Gln Gly Leu Ala Ile Ile Lys Asn Leu  
 85 90 95

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

Glu Leu Gln Asn Leu Ile Asn Tyr Leu Leu Ser Ile Thr Lys Leu Phe  
 115 120 125

Arg Ile Asp Pro Cys Thr Leu Gln Glu Leu Leu Lys Leu Ile Ala Ala

130 135 140

Leu Gln Thr Ala Leu Val Asn Ser Ala Ser Phe Ile Gln Gly Pro Thr

145 150 155 160

Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly

165 170 175

Ala Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly Ala

180 185 190

Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr

195 200 205

Gly Pro Gln Gly Ala Gln Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly

210 215 220

Pro Gln Gly Ala Gln Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro

225 230 235 240



Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gln  
 245 250 255

Gly Val Gln Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ile Gly Val Thr Gly Pro  
 260 265 270

Thr Gly Pro Ser Gly Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly Pro Gln Gly Pro  
 275 280 285

Gln Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ala  
 290 295 300

Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gln Gly Ala Gln Gly Pro Ala Gly  
 305 310 315 320

Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Pro Thr Gly Ala  
 325 330 335

Thr Gly Ile Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Pro Ser Gly Pro Ser Phe  
 340 345 350

Pro Val Ala Thr Ile Val Val Thr Asn Asn Ile Gln Gln Thr Val Leu  
 355 360 365

Gln Phe Asn Asn Phe Ile Phe Asn Thr Ala Ile Asn Val Asn Asn Ile

370 375 380

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

385 390 395 400

Val Ile Ser Val Ser Ile Ser Thr Thr Ala Pro Gly Cys Ala Pro Leu

405 410 415

Gly Val Gly Ile Ser Ile Asn Gly Ala Val Ala Thr Asp Asn Phe Ser

420 425 430

Ser Asn Leu Ile Gly Asp Ser Leu Ser Phe Thr Thr Ile Glu Thr Leu

435 440 445

Thr Ala Gly Ala Asn Ile Ser Val Gln Ser Thr Leu Asn Glu Ile Thr

450 455 460

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

465 470 475 480

Ala

&lt;210&gt; 83

&lt;211&gt; 275

&lt;212&gt; PRT

<213> *Bacillus thuringiensis*

&lt;400&gt; 83

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Leu Val Ala Cys Ser Gly Ile Thr Glu Lys Thr Val Ala

20 25 30

Lys Glu Glu Lys Val Lys Leu Thr Asp Gln Gln Leu Met Ala Asp Leu

35 40 45

Trp Tyr Gln Thr Ala Gly Glu Met Lys Ala Leu Tyr Tyr Gln Gly Tyr

50 55 60

Asn Ile Gly Gln Leu Lys Leu Asp Ala Val Leu Ala Lys Gly Thr Glu

65 70 75 80

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

Ser Pro His Gln Ala Met Ser Val Lys Thr Gly Lys Gly Tyr Pro Tyr  
 100 105 110

Lys Trp Asp Asp Trp Ile Asn Lys Ala Glu Ala Glu Ala Leu Pro Gly  
 115 120 125

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

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

Leu Glu Arg Val Gly Ala Pro Gln Ala Thr Lys Glu His Ile Leu Leu  
 165 170 175

Gln Asp Pro Lys Glu Lys Gly Lys Glu Lys Arg Arg Glu Leu Val Ser  
 180 185 190

Gln Thr His Asp Ile Val Leu Phe Phe Gly Asp Asn Leu Ser Asp Phe

195 200 205

Thr Gly Phe Asp Gly Lys Ser Val Lys Asp Arg Asn Gln Ala Val Ala  
 210 215 220

Asp Ser Lys Ala Gln Phe Gly Glu Lys Phe Ile Ile Phe Pro Asn Pro  
 225 230 235 240

Met Tyr Gly Asp Trp Glu Gly Ala Leu Tyr Asp Tyr Asp Phe Lys Lys  
 245 250 255

Ser Asp Ala Glu Lys Asp Lys Ile Arg Arg Asp Asn Leu Lys Ser Phe  
 260 265 270

Asp Thr Lys  
 275

- <210> 84
- <211> 795
- <212> PRT
- <213> *Bacillus thuringiensis*

<400> 84

Met Lys Lys Lys Lys Lys Leu Lys Pro Leu Ala Val Leu Thr Thr Ala  
 1                                    5                                    10                                    15

Ala Val Leu Ser Ser Thr Phe Ala Phe Gly Gly His Ala Ala Tyr Ala  
     20                                    25                                    30

Glu Thr Pro Thr Ser Ser Leu Pro Ile Asp Glu His Leu Ile Pro Glu  
     35                                    40                                    45

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

Ala Ser Gln Ala Glu Thr Ser Lys Ala Val Glu Lys Tyr Val Glu Lys  
 65                                    70                                    75                                    80

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

Thr Gln Glu Ala Ser Asp Phe Met Lys Lys Val Lys Asp Ala Lys Met  
     100                                    105                                    110

Arg Glu Asn Glu Gln Ala Gln Gln Pro Glu Val Gly Pro Val Ala Gly  
     115                                    120                                    125

Gln Gly Ala Ala Leu Asn Pro Gly Lys Leu Asn Gly Lys Val Pro Thr

130 135 140

Thr Ser Ala Lys Gln Glu Glu Tyr Asn Gly Ala Val Arg Lys Asp Lys

145 150 155 160

Val Leu Val Leu Leu Val Glu Phe Ser Asp Phe Lys His Asn Asn Ile

165 170 175

Asp Gln Glu Pro Gly Tyr Met Tyr Ser Lys Asp Phe Asn Arg Glu His

180 185 190

Tyr Gln Lys Met Leu Phe Gly Asp Glu Pro Phe Thr Leu Phe Asp Gly

195 200 205

Ser Lys Ile Asn Thr Phe Lys Gln Tyr Tyr Glu Glu Gln Ser Gly Gly

210 215 220

Ser Tyr Thr Val Asp Gly Thr Val Thr Glu Trp Leu Thr Val Pro Gly

225 230 235 240

Lys Ala Ser Asp Tyr Gly Ala Asp Ala Gly Thr Gly His Asp Asn Lys  
 245 250 255

Gly Pro Leu Gly Pro Lys Asp Leu Val Lys Glu Ala Leu Lys Ala Ala  
 260 265 270

Val Ala Lys Gly Ile Asn Leu Ala Asp Phe Asp Gln Tyr Asp Gln Tyr  
 275 280 285

Asp Gln Asn Gly Asn Gly Asn Lys Asn Glu Pro Asp Gly Ile Ile Asp  
 290 295 300

His Leu Met Val Val His Ala Gly Val Gly Gln Glu Ala Gly Gly Gly  
 305 310 315 320

Lys Leu Lys Asp Asp Ala Ile Trp Ser His Arg Ser Lys Leu Gly Ser  
 325 330 335

Lys Pro Tyr Ala Ile Asp Gly Thr Lys Ser Ser Val Ser Asn Trp Gly  
 340 345 350

Gly Lys Met Ala Ala Tyr Asp Tyr Thr Ile Glu Pro Glu Asp Gly Ala  
 355 360 365



Val Gly Val Phe Ala His Glu Tyr Gly His Asp Leu Gly Leu Pro Asp  
 370 375 380

Glu Tyr Asp Thr Lys Tyr Ser Gly Gln Gly Glu Pro Val Glu Ser Trp  
 385 390 395 400

Ser Ile Met Ser Gly Gly Ser Trp Ala Gly Lys Ile Ala Gly Thr Glu  
 405 410 415

Pro Thr Ser Phe Ser Pro Gln Asn Lys Glu Phe Phe Gln Lys Asn Met  
 420 425 430

Lys Gly Asn Trp Ala Asn Ile Leu Glu Val Asp Tyr Asp Lys Leu Ser  
 435 440 445

Lys Gly Ile Gly Val Ala Thr Tyr Val Asp Gln Ser Thr Thr Lys Ser  
 450 455 460

Lys Arg Pro Gly Ile Val Arg Val Asn Leu Pro Asp Lys Asp Ile Lys  
 465 470 475 480

Asn Ile Glu Ser Ala Phe Gly Lys Lys Phe Tyr Tyr Ser Thr Lys Gly  
 485 490 495

Asn Asp Ile His Thr Thr Leu Glu Thr Pro Val Phe Asp Leu Thr Asn  
 500 505 510

Ala Lys Asp Ala Lys Phe Asp Tyr Lys Ala Phe Tyr Glu Leu Glu Ala  
 515 520 525

Lys Tyr Asp Phe Leu Asp Val Tyr Ala Ile Ala Glu Asp Gly Thr Lys  
 530 535 540

Thr Arg Ile Asp Arg Met Gly Glu Lys Asp Ile Lys Gly Gly Ala Asp  
 545 550 555 560

Thr Thr Asp Gly Lys Trp Val Asp Lys Ser Tyr Asp Leu Ser Gln Phe  
 565 570 575

Lys Gly Lys Lys Val Lys Leu Gln Phe Glu Tyr Leu Thr Asp Ile Ala  
 580 585 590

Val Ala Tyr Lys Gly Phe Ala Leu Asp Asn Ala Ala Leu Thr Val Asp  
 595 600 605

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

610 615 620

Leu Lys Gly Phe Thr Val Ser Asn Gly Phe Glu Gln Lys Lys His Asn

625 630 635 640

Tyr Tyr Val Glu Trp Arg Asn Tyr Ala Gly Ser Asp Thr Ala Leu Gln

645 650 655

Tyr Ala Arg Gly Pro Val Phe Asn Thr Gly Met Val Val Trp Tyr Ala

660 665 670

Asp Gln Ser Phe Thr Asp Asn Trp Val Gly Val His Pro Gly Glu Gly

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715 720

Ala Ala Phe Ser Phe Asp Gln Thr Pro Ala Trp Lys Val Asn Ser Pro  
 725 730 735

Thr Arg Gly Ile Phe Asp Tyr Lys Gly Leu Pro Gly Val Ala Lys Phe  
 740 745 750

Asp Asp Ser Lys Gln Tyr Ile Asn Ser Val Ile Pro Asp Ala Gly Arg  
 755 760 765

Lys Leu Pro Lys Leu Gly Leu Lys Phe Glu Val Val Gly Gln Ala Glu  
 770 775 780

Asp Lys Ser Ala Gly Ala Val Trp Leu His Arg  
 785 790 795

<210> 85

<211> 169

<212> ДНК

<213> Bacillus anthracis

<400> 85

taatcacct ctccaatc aatcatatgt tatacatata ctaaacttc catttttta 60

aattgtcaa gtagttaag attctttc aataattcaa atgtccgtgt cattttctt 120

cggttttgca tctactatat aatgaacgct ttatggaggt gaatttatg 169

<210> 86

<211> 303

<212> ДНК

<213> Bacillus anthracis

<400> 86

attatttca ttcaatttt cctatttagt acctaccgca ctcaaaaa gcaccttca 60

ttaattata ttatagtcac tgaatctaa ttaataaaa tcatcactac atatgtttta 120

taagaagtaa aggtaccata ctttaataat acatatctat acacttcaat atcacagcat 180

gcagttgaat tatatccaac ttcatctca aattaaataa gtcctccgc tattgtgaat 240

gtcatttact ctccctacta catttaataa ttatgacaag caatcatagg aggttactac 300

atg  
303

<210> 87

<211> 173

<212> ДНК

<213> Bacillus anthracis

<400> 87

aattacataa caagaactac attagggagc aagcagtcta gcgaaagcta actgcttttt 60

tattaaataa ctattttatt aaatttcata tatacaatcg cttgtccatt tcatttgct 120

ctaccacgc atttactatt agtaatatga attttcaga ggtggatttt att 173

<210> 88

<211> 124

<212> ДНК

<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 88

ctatgatta agatacaca tagcaaaaga gaaacatatt atataacgat aatgaaact 60

tatgtatag tatgtaact gtatatatta ctacaataca gtatactcat aggagtagg 120

tatg  
124

<210> 89

<211> 376

<212> ДНК

<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 89

ggtagttaga ttgaaatat gatgaagaaa aggaataact aaaaggagtc gatatccgac 60

tccttttagt taaaataat gtggaattag agtataattt tatatagga tattgtatta 120

gatgaacgct ttaccttta attgtgatta atgatggatt gtaagagaag gggcttacag 180

tccttttt atggtgttct ataagcctt ttaaagggg taccaccca cacccaataa	240
caggggggt tataactaca tattgatgt ttgtaactg acaagaatcg gtattaatta	300
ccctgtaaat aagttatgt tatataaggt aactttat atctctctac aataaataa	360
aggagtaat aaagtg	
376	
<210> 90	
<211> 225	
<212> ДНК	
<213> Bacillus thuringiensis	
<400> 90	
aaccctaat gcattggtta aacattgtaa agtctaaagc atggataatg ggcgagaagt	60
aagtagattg ttaacaccct gggcaaaaa ttgatatta gtaaaattag ttgcacttg	120
tgcatTTTT cataagatga gtcatatgt ttaaattgta gtaatgaaaa acagtattat	180
atcataatga atggtatct taataaaga gatggagta actta	225
<210> 91	
<211> 125	
<212> ДНК	
<213> Bacillus thuringiensis	
<400> 91	

taattccacc ttccttatc ctcttcgcc tatttaaaaa aaggtcttga gatttgacc 60

aaatcctc aactccaata tcttattaat gtaaatacaa acaagaagat aaggagtgc 120

attaa  
125

<210> 92

<211> 144

<212> ДНК

<213> Bacillus thuringiensis

<400> 92

aggatgtctt ttttatatt gtattatgta catcctact atataaattc cctgcttta 60

tcgtaagaat taacgtaata tcaaccatat cccgttcata ttgtagtagt gtatgacaga 120

actcacgaga aggagtgaac ataa  
144

<210> 93

<211> 126

<212> ДНК

<213> Bacillus thuringiensis

<400> 93

ttaatgtcac tccttatctt ctgttttga ttacattaa taagatattg gagttgagga 60

gatttggtca caatctcaag acctttttt taaataggcg aaagaggata agggaaggtg 120



gaatta  
126

<210> 94

<211> 103

<212> ДНК

<213> Bacillus thuringiensis

<400> 94

atatatttc ataatacgag aaaaagcgga gttaaaaga atgagggaac ggaaataaag 60

agttgtcat atagtaaata gacagaattg acagtagagg aga 103

<210> 95

<211> 169

<212> ДНК

<213> Bacillus thuringiensis

<400> 95

aaactaaata atgagctaag catggattgg gtggcagaat tatctgccac ccaatccatg 60

cttaacgagt attattatgt aaatttcta aaattgggaa cttgtctaga acatagaacc 120

tgccctttc attaactgaa agtagaaaca gataaaggag tgaaaaaca 169

<210> 96

<211> 111

<212> ДНК

<213> Bacillus thuringiensis

<400> 96

attcactaca acggggatga gtttgatgcg gatacatatg agaagtaccg gaaagtgtt 60

gtagaacatt acaaagatat attatctcca tcataaagga gagatgcaaa g 111

<210> 97

<211> 273

<212> ДНК

<213> Bacillus anthracis

<400> 97

cgcgaccac ttcgctgtac aacaacgcaa gaagaagtg gggatacagc agtattctta 60

ttcagtgatt tagcacgcgg cgtaacagga gaaaacattc acgttgattc agggatcat 120

atcttaggat aaatataata ttaatttaa aggacaatct ctacatgttg agattgcct 180

ttttattgt tctagaaag aacgatttt aacgaaagt cttaccacgt tatgaatata 240

agtataatag tacacgattt attcagctac gta 273

<210> 98

<211> 303

<212> ДНК

<213> Bacillus anthracis

<400> 98

tgaagtatct agagctaatt tacgcaaagg aatctcagga caacacttc gcaaaccta 60

tattttaat ttaataaaa aagagactcc ggagtcagaa attataaagc tagctgggtt 120

caaatcaaaa atttactaa aacgatatta tcaatacga gaaaatggaa aaaacgcctt 180

atcataaggc gtttttcca tttttcttc aaacaaacga ttttactatg accattaac 240

taattttgc atctactatg atgagttca ttcacattct cattagaaag gagagattta 300

atg  
303

<210> 99

<211> 240

<212> ДНК

<213> Bacillus anthracis

<400> 99

tatatcatat gtaaaatag ttctattcc cacatatcat atagaatcgc catattatac 60

atgcagaaaa ctaagtatgg tattattctt aaattgtta gcaccttcta atattacaga 120

tagaatccgt catttcaac agtgaacatg gatttctct gaacacaact cttttcttt 180

ccattattcc aaaaagaaaa gcagcccatt taaaatagc gctgcttgta atgtacatta 240

<210> 100  
 <211> 267  
 <212> ДНК  
 <213> Bacillus thuringiensis  
  
 <400> 100  
 tatcacataa ctctttattt ttaatattc gacataaagt gaaacttaa tcagtggggg 60  
  
 cttgttcat cccccactg attattaatt gaaccaaggg ataaaaagat agagggtctg 120  
  
 accagaaaac tggaggcat gattctataa caaaaagctt aatgtttata gaattatgc 180  
  
 ttttatata gggaggtag taaacagaga ttggacaaa aatgcaccga tttatctgaa 240  
  
 ttttaagttt tataaagggg agaaatg 267  
  
 <210> 101  
 <211> 124  
 <212> ДНК  
 <213> Bacillus thuringiensis  
  
 <400> 101  
 atttttact tagcagtaaa actgatatca gttttactgc ttttcattt ttaaattcaa 60  
  
 tcattaaatc ttcttttct acatagtcac aatgttgtat gacattccgt aggaggcact 120  
  
 tata  
 124

<210>	102	
<211>	170	
<212>	ДНК	
<213>	Bacillus thuringiensis	
<400>	102	
	acataaattc acctccataa agcggtcatt ataatgtaga tgcaaaaccg aaagaaaatg	60
	acacggacat ttgaattatt gaaaagaaat cttaaacctac ttgaacaatt taaaaaatg	120
	gaaagtttag tatatgtata acatatgatt gatttgggaag aggggtgatta	170
<210>	103	
<211>	212	
<212>	ДНК	
<213>	Bacillus thuringiensis	
<400>	103	
	ttctatttc caacataaca tgctacgatt aatgggttt ttgcaaatgc ctcttggga	60
	agaaggatta gagcgtttt ttatagaac caaaagtcac taacaattt aagtaatga	120
	ctttttgtt tgccttaag aggtttatg ttactataat tatagtatca ggtactaata	180
	acaagtataa gtatttctgg gaggatatat ca	212
<210>	104	
<211>	717	

<212> ДНК

<213> Bacillus mycoides

<220>

<221> misc\_feature

<222> (7)..(7)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (11)..(11)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<400> 104

gtctgangga ncacgccg tgagtgatga aggccttcgg gtcgtaaac tctgttgta	60
gggaagaaca agtgctagtt gaataagctg gcacctgac ggtacctaac cagaaagcca	120
cggctaacta cgtgccagca gccgcggtaa tacgtaggtg gcaagcgta tccggaatta	180
ttgggcgtaa agcgcgcgca ggtggttct taagtctgat gtgaaagccc acggctcaac	240
cgtggagggt cattggaaac tgggagactt gtagtcagaa gaggaagtg gaattccatg	300
tgtagcggtg aatgcgtag agatatggag gaacaccagt ggcaaggcg acttctggt	360
ctgtaactga cactgaggcg cgaagcgtg gggagcaaac aggattagat accctggtag	420
tccacccgt aaacgatgag tgctaagtgt tagagggtt cgcacctta gtgctgaagt	480

taacgcatta agcactccgc ctggggagta cggccgcaag gctgaaactc aaaggaattg 540

acggggggccc gcacaagcgg tggagcatgt ggttaattc gaagcaacgc gaagaacctt 600

accaggtctt gacatcctct gacaacccta gagatagggc tccccttcg ggggcagagt 660

gacaggtggt gcatggtgt cgtcagctcg tctcgtgaga tgtgggta agtccccg 717

<210> 105

<211> 711

<212> ДНК

<213> *Bacillus mycoides*

<220>

<221> misc\_feature

<222> (20)..(21)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<400> 105

ggagcacgcc gcgtgagtgn ngaaggcttt cgggtcgtaa aactctgtg ttaggaaga 60

acaagtgcta gttgaataag ctggcacctt gacgtacct aaccagaaag ccacggctaa 120

ctacgtgcca gcagccgagg taatacgtag gtggcaagcg ttatccgaa ttattggcgg 180

taaagcgcgc gcaggtggtt tcttaagtct gatgtgaaag cccacggctc aaccgtggag 240

ggtcattgga aactgggaga cttgagtca gaagaggaaa gtggaattcc atgtgtagcg 300  
 tgaaatcgc tagagatatg gaggaacacc agtggcgaag gcgacttct ggtctgtaac 360  
 tgacctgag gcgcgaaagc gtggggagca aacaggatta gataacctgg tagtccacgc 420  
 cgtaaacgat gagtgctaag tgtagaggg ttccgccct ttagtgctga agttaacga 480  
 ttaagcactc gcctgggga gtacggccgc aaggctgaaa ctcaaaggaa ttgacggggg 540  
 cccgcacaag cggaggagca tgtggttaa ttcgaagcaa cgcgaagaac cttaccaggt 600  
 cttgacatcc tctgaaaact ctagagatag agcttctct tcgggagcag agtgacaggt 660  
 ggtgcatggt tgtcgtcagc tcgtcgtg agatgtggg ttaagtcccg c 711

- <210> 106
- <211> 719
- <212> ДНК
- <213> Bacillus mycoides

- <220>
- <221> misc\_feature
- <222> (630)..(630)
- <223> n представляет собой а, с, г, или t

- <220>
- <221> misc\_feature



<222> (640)..(642)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<400> 106

aaagtctgac ggagcacgcc gcgtgagtga tgaaggcttt cgggtcgtaa aactctgtg	60
ttagggaaga acaagtgcta gttgaataag ctggcacctt gacggtacct aaccagaag	120
ccacggctaa ctactgccca gcagccgagg taatacgtag gtggcaagcg ttatccggaa	180
ttattggcgc taaagcgcgc gcaggtgggt tcttaagtct gatgtgaaag cccacggctc	240
aaccgtggag ggtcattgga aactgggaga ctgagtgca gaagagaaa gtggaattcc	300
atgtgtagcg gtgaaatcg tagagatg gaggaacacc agtggcgaag gcgacttct	360
ggctgtaac tgacctgag gcgcgaaagc gtggggagca aacaggatta gataccctgg	420
tagtccacgc cgtaaacgat gagtgctaag tgtagaggg ttccgccct ttagtgctga	480
agttaacgca ttaagcactc gcctgggga gtacggccgc aaggctgaaa ctcaaaggaa	540
ttgacggggg cccgcacaag cggtgagca tgtggttaa ttcgaagca cgcgaagaac	600
cttaccaggt cttgacatcc tctgaaaacn ctagagatan ncttctct tcgggagcag	660
agtgacaggt ggtgcatggt tctcgtcagc tcgtgctg agatgtggg ttaagtccc	719

<210> 107

<211>	709	
<212>	ДНК	
<213>	Bacillus mycoides	
<400>	107	
ggagcagccc gcgtgagtga tgaaggcttt cgggtcgtaa aactctgttg ttagggaaga		60
acaagtgcta gttgaataag ctggcacctt gacgtacct aaccagaaag ccacggctaa		120
ctacgtgcca gcagccgagg taatacgtag gtggcaagcg ttatccgaa ttattggcg		180
taaagcgcgc gcagggtgtt tcttaagtct gatgtgaaag cccacggctc aaccgtggag		240
ggtcattgga aactgggaga cttgagtca gaagaggaaa gtggaattcc atgtgtagcg		300
gtgaaatcg tagagatag gaggaacacc agtggcgaag gcgactttct ggtctgtaac		360
tgacactgag gcgcgaaagc gtggggagca aacaggatta gataccctgg tagtccacgc		420
cgtaaacgat gagtgctaag tgttagaggg ttccgccct ttagtctga agttaacgca		480
ttaagcactc gcctgggga gtacggccc aaggctgaaa ctcaaaggaa ttgacggggg		540
ccgcacaag cggaggagca tgggttaa ttcgaagcaa cgcaagaac ctaccaggt		600
ctgacatcc tctgacaacc cttagatag ggcttccct tcggggcag agtgacaggt		660
ggtgcatggt tctctcagc tcgtctctg agatgttggg ttaagtccc		709



ggtcattgg aaactgggag acttgagtgc agaagaggaa agtggaaatc catgtgtagc 300  
 ggtgaaatgc gtagagatat ggaggaacac cagtggcgaa ggcgacttc tggctgtaa 360  
 ctgacactga ggcgcgaaag cgtggggagc aaacaggatt agatacctg gtagtccacg 420  
 ccgtaacga tgagtgctaa gtgtagagg gttccgcc ttagtgctg aagtaacgc 480  
 attaagcact ccgctgggg agtacggccg caaggctgaa actcaaagga atgacgggg 540  
 gcccgcacaa gcggtggagc atgtggtta atcgaagca acgcaagaa ccttaccagg 600  
 tctgacatc ctctgaaaac tctagagata gagcttctc ttcgggagca gagtgacagg 660  
 tggtgcatgg ttgtctcag ctctgtcgt gagatgntgg gtaagtccc gca 713

<210> 109

<211> 876

<212> ДНК

<213> *Bacillus thuringiensis*

<400> 109

tctgacggag caaccccgcg tgagtgatga aggcttccg gtcgtaaac tctgtgta 60  
 gggagaaca agtgctagtt gaataagctg gcacctgac ggtacctaac cagaaagcca 120  
 cggctaacta cgtgccagca gccgcggtaa tacgtagtg gcaagcgta tccggaatta 180  
 ttggcgtaa agcgcgcga ggtggttct taagtctgat gtgaaagccc acggtcaac 240

cgtggagggt cattggaac tgggagactt gagtgcagaa gaggaaagt gaattccatg	300
tgtagcgggt aaatgcgtag agatatggag gaacaccagt ggcgaaggcg actttctggt	360
ctgtaactga cactgaggcg cgaagcgtg gggagcaaac aggattagat accctggtag	420
tccacgccgt aaacgatgag tgctaagtgt tagagggttt ccgccctta gtgctgaagt	480
taaccatta agcactccgc ctggggagta cggccgcaag gctgaaactc aaaggaattg	540
acgggggccc gcacaagcgg tggagcatgt ggtttaatic gaagcaacgc gaagaacctt	600
accaggtctt gacatcctct gaaaacccta gagatagggc ttctcctcgg ggagcagagt	660
gacagtggtg gcattggtgt cgtcagctcg tctcgtgaga tgttgggta agtcccgcaa	720
cgagcgcgaac ccttgatctt agttgccatc attaagtgg gcactctaag gtgactgccg	780
gtgacaaacc ggaggaaggt ggggatgacg tcaaatcatc atgccctta tgacctgggc	840
tacacacgtg ctacaatgga cgtacaaag agctgc	876

<210> 110

<211> 686

<212> ДНК

<213> Представитель семейства *Bacillus cereus*

<400> 110

aaggcttctg gctcgtaaaa ctctgttgtt agggaagaac aagtgctagt tgaataagct	60
ggcaccttga cggtagctaa ccagaaagcc acggctaact acgtgccagc agccgcggta	120
atacgtaggt ggcaagcgtt atccggaatt attgggcgta aagcgcgcgc aggtggttct	180
ttaagtctga tgtgaaagcc cacggctcaa ccgtggaggg tcattgaaa ctgggagact	240
tgagtgcaga agaggaaagt ggaattccat gtgtagcggg gaaatgcgta gagatatgga	300
ggaacaccag tggcgaaggc gactttctgg tctgtaactg aactgaggc gcgaaagcgt	360
ggggagcaaa caggattaga taccttgta gtccacgccg taaacgatga gtgctaagtg	420
ttagagggtt tccgcccttt agtgctgaag ttaacgcatt aagcactccg cctggggagt	480
acggccgcaa ggctgaaact caaaggaatt gacgggggcc cgcacaagcg gtggagcatg	540
tggttaatt cgaagcaacg cgaagaacct taccaggtct tgacatcctc tgaaaacct	600
agagataggc cttctcctc gggagcagag tgacaggtgg tgcattggtg tcgtcagctc	660
gtgtcgtgag atgtgggtt aagtc	686

<210> 111

<211> 717

<212> ДНК

<213> Bacillus aryabhatai

<220>

<221> misc\_feature

<222> (3)..(4)

<223> n представляет собой а, с, г, или т

<400> 111

ggnncaacgc cgcgtgagtg atgaaggctt tcgggtcgtg aaactctgtt gttaggaag	60
aacaagtacg agagtaactg ctcgtacctt gacggacctt aaccagaaag ccacggctaa	120
ctacgtgccg gcagccgagg taatacgtag gtggcaagcg ttatccggaa ttattggcgc	180
taaagcgcgc gcaggcgggt tcttaagtct gatgtgaaag cccacggctc aaccgtggag	240
ggtcattgga aactggggaa cttgagtcca gaagagaaaa gcggaattcc acgtgtagcg	300
gtgaaatcgc tagagatgtg gaggaacacc agtggcgaag gcggctttt ggtctgtaac	360
tgacgtgag gcgcgaaagc gtggggagca aacaggatta gataccctgg tagtccacgc	420
cgtaaacgat gagtgctaag tgtagaggg ttccgccct ttagtctgc agtaacgca	480
ttaagcatic gcctgggga gtacggcgc aagactgaaa ctcaaaggaa ttgacggggg	540
ccgcacaag cggcggagca tgggtttaa ttcgaagcaa gcggaagaac cttaccaggt	600
ctgacatcc tctgacaact cttagatag agcgtcccc ttcgggggac agagtacag	660
gtggtgcatg gttgtcgtca gctcgtctcg tgagatgttg ggtaagtcc cgcaacg	717

<210> 112  
 <211> 718  
 <212> ДНК  
 <213> Bacillus aryabhatai

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)..(6)  
 <223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (9)..(10)  
 <223> n представляет собой а, с, г, или t

<400> 112  
 tctganggnn cacgcccgct gagtgatgaa ggcttctggg tcgtaaaact ctgttgtag 60  
 ggaagaacaa gtacgagagt aactgctcgt acctgacgg tacctaacca gaaagccacg 120  
 gctaactacg tgccagcagc cgcggttaata cgtaggtggc aagcgtatc cggaattatt 180  
 gggcgtaaag cgcgcgagg cggtttctta agtctgatgt gaaagccac ggctcaaccg 240  
 tggagggtca ttgaaactg gggaactga gtcagaaga gaaagcgga attccacgtg 300  
 tagcgggtaa atgcgtagag atgtgagga acaccagtgg cgaagcggc ttttggtct 360



gtaactgacg ctgaggcgcg aaagcgtggg gagcaaacag gattagatac cctggtagtc 420

cacgccgtaa acgatgagtg ctaagtgtta gagggttcc gcccttagt gctgcagcta 480

acgcattaag cactccgct ggggagtagc gtcgcaagac tgaactcaa aggaattgac 540

ggggcccgca acaagcggg gagcatgtgg ttaattcga agcaacgca agaacctac 600

caggcttga catccttga caactctaga gatagagcgt tcccctcgg gggacagagt 660

gacaggtgtg gcatggtgt cgtcagctcg tgctgtgaga tgttgggta agtcccgc 718

<210> 113  
 <211> 716  
 <212> ДНК  
 <213> Bacillus flexus

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (4)..(4)  
 <223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (22)..(22)  
 <223> n представляет собой а, с, g, или t

&lt;400&gt; 113

ggancaacgc cgcgtgagtg angaaggctt tcgggtcgtg aaactctgtt gttagggaag 60  
 aacaagtaca agagtaactg cttgtacctt gacgttacct aaccagaaaag ccacggctaa 120  
 ctacgtgcca gcagccgcgg taatacgtag gtggcaagcg ttatccggaattattgggcg 180  
 taaagcgcgc gcaggcgggt tcttaagtct gatgtgaaag cccacggctc aaccgtggag 240  
 ggtcattgga aactggggaa cttgagtcca gaagagaaaa gcggaattcc acgtgtagcg 300  
 gtgaaatcg tagagatg gaggaacacc agtggcgaag gcggctttt ggtctgtaac 360  
 tgacgtgag gcgcgaaaag gtggggagca aacaggatta gataccctgg tagtccacgc 420  
 cgtaaacgat gagtgctaag tgttagaggg ttccgccct ttagtctgc agctaacgca 480  
 ttaagcactc gcctgggga gtacggctgc aagactgaaa ctcaaaggaa tgcagggggg 540  
 cccgcacaag cgggtggagca tgggttaa ttcgaagcaa gcggaagaac cttaccaggt 600  
 cttgacatcc tctgacaact cttagatag agcgtcccc ttcgggggac agagtgacag 660  
 gtggtgatg gttgtcgtca gctcgtctg tgagatgtg ggtaagtcc cgcaac 716

&lt;210&gt; 114

&lt;211&gt; 676

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Paracoccus kondratievae

<220>

<221> misc\_feature

<222> (13)..(15)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (19)..(19)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (44)..(44)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<400> 114

gccgcgtgag tgnnaagnc cctagggttg taaagctctt tcanctggga agataatgac 60

tgtaccagca gaagaagccc cggctaactc cgtgccagca gccgcggtaa tacggagggg 120

gctagcgttg ttcggaatta ctggcgtaa agcgcacgta ggcggaccgg aaagtgggg 180

gtgaaatccc ggggctcaac cccggaactg cctcaaac tatcgtctg gagttcgaga 240

gagtgagtg gaattccgag ttagaggtg aaattcgtag atattcgag gaacaccagt 300

ggcgaaggcg gctcactggc tcgatactga cgctgaggtg cgaagcgtg gggagcaaac 360

aggattagat acctgtag tccacgccgt aaacgatgaa tgccagtcgt cgggcagcat 420

gctgttcggt gacacaccta acggattaag cattccgcct ggggagtagc gtcgcaagat 480

taaaactcaa aggaattgac gggggcccgc acaagcggtg gagcatgtgg tftaattcga 540

agcaacgcgc agaaccttac caaccctga catcccagga cagcccgaga gatcgggtct 600

ccacttcggt ggctggaga cagggtctgc atggctgtcg tcagctcgtg tcgtgagatg 660

ttcggtaag tccggc  
676

<210> 115  
<211> 728  
<212> ДНК  
<213> Enterobacter cloacae

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (4)..(5)  
<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (12)..(12)  
<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature  
 <222> (33)..(33)  
 <223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (719)..(719)  
 <223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (721)..(722)  
 <223> n представляет собой а, с, г, или t

<400> 115

ctgnngcagc cntgcccgct gtatgaagaa ggncttcggg ttgtaaagta ctttcagcgg	60
ggaggaaggt gttgtggtta ataaccacag caattgacgt taccgcaga agaagcaccg	120
gctaactccg tgccagcagc cgcggttaata cggagggtgc aagcgtaat cggaattact	180
ggcgtaaag cgcacgcagg cggctgtca agtcggatgt gaaatccccg ggctcaacct	240
gggaactgca ttcgaaactg gcaggctaga gtctttaga gggggtaga attccaggtg	300
tagcggtaa atgcgtagag atctggagga ataccggtgg cgaaggcggc cccctggaca	360
aagactgacg ctcaggtcgc aaagcgtggg gagcaaacag gattagatac cctgtagtc	420
cacgccgtaa acgatgcga ttggagggtt gtcacctga ggcgtggctt cggagctaa	480

cgcgftaaat cgaccgcctg gggagtagcg ccgcaaggtt aaaactcaaa tgaattgacg 540

ggggcccga caagcggtag agcatgtgtt ttaattcgat gcaacgcgaa gaacctacc 600

tggtcttgac atccacagaa cttccagag atggattggt gccttcggga actgtgagac 660

aggtgctgca tggctgtcgt cagctcgtgt tgtgaaatgt tgggtaagt cccgcaacna 720

nncgcaac  
728

<210> 116

<211> 717

<212> ДНК

<213> Bacillus nealsonii

<220>

<221> misc\_feature

<222> (3)..(4)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (8)..(8)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<400> 116

tgngganca acgccgctg agtgatgaag gtttcggat cgtaaaactc tgtgttagg 60

gaagaacaag tacgagagta actgctcgta cctgacggg acctaaccag aaagccacgg	120
ctaactacgt gccagcagcc gcggaatac gtaggtggca agcgtgtcc ggaattattg	180
ggcgtaaagc gcgcgcagcc ggcctttaa gtctgatgtg aaagcccacg gctcaaccgt	240
ggagggtcat tggaaactgg gggactgag tgcagaagag aagagtggaa ttccacgtgt	300
agcgggtaaa tgcgtagaga tgtggaggaa caccagtggc gaaggcgact ctttggctg	360
taactgacgc tgaggcgcga aagcgtgggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc	420
acgccgtaaa cgatgagtgc taagtgttag agggttccg cccttagtg ctgcagcaaa	480
cgcattaagc actccgcctg gggagtacgg ccgcaaggct gaaactcaaa ggaattgacg	540
ggggcccgca caagcgtgg agcatgtgtg ttaattcgaa gcaacgcgaa gaacctfacc	600
aggtcttgac atctctgac aatcctagag ataggacgtt cccctcggg ggacaggatg	660
acagtggtg catggtgtc gtcagctctg gtcgtgagat gttgggttaa gtccccg	717

- <210> 117
- <211> 702
- <212> ДНК
- <213> Bacillus subtilis
  
- <400> 117

cgccgcgtga gtagatgaagg tttcggatc gtaaagctct gttgttaggg aagaacaagt	60
gccgttcaaa tagggcggca ccttgacgg acctaaccag aaagccacgg ctaactacgt	120
gccagcagcc gcggtatac gtaggtggca agcgtgtcc ggaattattg ggcgtaaagg	180
gctcgcaggc ggtttcttaa gtctgatgtg aaagcccccg gctcaaccgg ggagggtcat	240
tgaaactgg ggaactgag tgcagaagag gagagtggaa tccacgtgt agcggtgaaa	300
tgcgtagaga tgtggaggaa caccagtggc gaagcgact ctctgtctg taactgacgc	360
tgaggagcga aagcgtgggg agcgaacagg attagatacc ctggtagtcc acgccgtaa	420
cgatgagtc taagtgttag ggggttccg ccccttagtg ctgcagctaa cgcattaagc	480
actccgctg gggagtacgg tcgaagact gaaactcaaa ggaattgacg ggggcccgca	540
caagcgtgg agcatgtgtg ttaattcgaa gcaacgcgaa gaacctacc aggtcttgac	600
atctctgac aatcctagag ataggacgtc ccctcgggg gcagagtgac aggtggtgca	660
tggtgtcgt cagctcgtg cgtgagatgt tgggtaagt cc	702

<210> 118

<211> 680

<212> ДНК

<213> *Alcaligenes faecalis*



<220>

<221> misc\_feature

<222> (103)..(103)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (262)..(264)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (272)..(273)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<400> 118

cttcgggttg taaagtactt ttggcagaga agaaaaggta tctcctaata cgagatactg 60

ctgacgggat ctgcagaata agcaccggct aactacgtgc cancagccgc ggtaatactg 120

agggtgcaag cgttaatcgg aattactggg cgtaaagcgt gtgtaggcgg ttcggaaaga 180

aagatgtgaa atcccagggc tcaaccttgg aactgcattt ttaactgccg agctagagta 240

tgtagaggg gggtagaatt cnnnttagc anngaatgc gtagatatgt ggaggaatac 300

cgatggcgaa ggcagccccc tgggataata ctgacgtca gacacgaaag cgtggggagc 360

aaacaggatt agataccctg gtagtccacg ccctaacga tgtcaactag ctgttggggc 420

cgtaggcct tagtagcgca gctaaccgt gaagtgacc gcctggggag tacggtcgca 480

agattaaaac tcaaggaat tgacggggac ccgcacaagc ggtggatgat gtgattaat 540

tcgatgcaac gcgaaaaacc ttacctacc ttgacatgtc tggaaagccg aagagattg 600

gccgtgctcg caagagaacc ggaacacagg tgctgcatgg ctgctgcag ctgctgctg 660

gagatgttgg gttaagccc  
680

<210> 119

<211> 640

<212> ДНК

<213> *Paenibacillus massiliensis*

<220>

<221> misc\_feature

<222> (5)..(6)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (8)..(9)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (13)..(17)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (22)..(23)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (26)..(26)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (45)..(45)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (51)..(51)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (54)..(54)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (67)..(67)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (70)..(70)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (73)..(73)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (121)..(121)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (162)..(162)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (164)..(164)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (185)..(185)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (189)..(190)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (193)..(193)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (210)..(211)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (217)..(217)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (229)..(229)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (232)..(232)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (234)..(234)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (240)..(240)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (242)..(242)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (251)..(251)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (256)..(256)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (259)..(259)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (262)..(262)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (284)..(284)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (289)..(289)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (292)..(292)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (314)..(314)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (320)..(320)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (332)..(332)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (341)..(341)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (344)..(344)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (347)..(347)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (350)..(350)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature



<222> (352)..(352)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (364)..(365)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (373)..(373)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (383)..(383)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (388)..(388)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (391)..(391)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (404)..(404)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (417)..(418)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (420)..(420)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (424)..(424)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (428)..(428)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (432)..(432)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (434)..(434)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (443)..(444)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (446)..(446)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (450)..(450)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (455)..(455)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (471)..(472)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (475)..(475)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (477)..(477)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (490)..(490)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (492)..(496)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (501)..(501)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (503)..(503)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (506)..(506)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (509)..(509)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (516)..(517)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (519)..(519)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (530)..(530)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (538)..(538)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (540)..(540)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (544)..(544)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (546)..(546)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (551)..(551)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (562)..(562)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (564)..(564)

<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (571)..(572)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (589)..(589)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (594)..(594)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (597)..(598)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (602)..(602)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (607)..(608)

<223> n представляет собой а, с, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (610)..(610)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (624)..(624)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (633)..(633)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (635)..(635)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (637)..(640)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<400> 119

cttannngnt gannnnnctt gnnaanaaag ccccggttaa ctacntgcca ncanccgagg 60

taatactan ggngcaagcg ttgtccgga ttattgggcg taaagcgcgc gcagcggtc 120

ntttaagtct ggtgttaag cccggggctc aaccccgat cncncgggaa actggtgac 180



ttgantgcnn aanaagagag tgaattccn nggtancgg tgaatgcnt ananatgtgn	240
angaacacca ntggcnaang cnaactctcg ggctgtaact gacnctgang cncgaaagcg	300
tggggagcaa acangattan ataccttgt antccacgcc ntaacnatin antgctaggt	360
gttnngggtt tcnatacct tgntgccnaa ntaacacat taanactcc gcctggnnan	420
tacngtcnca anantgaaac tcnngaana tgacngggac ccgcacaagc nntgnantat	480
gtggttaan tnnnncaac ncaanaanc ttaccnngc ttgacatctn aatgaccngn	540
gcananatgt ncccttcctt cngnacattc nngacaggtg gtgcatggnt gtcntcnct	600
cntgtcnngn gatgtgggt taantccccg cancnannnn	640

- <210> 120
- <211> 678
- <212> ДНК
- <213> Bacillus subtilis

- <220>
- <221> misc\_feature
- <222> (425)..(425)
- <223> n представляет собой а, с, г, или t

- <220>
- <221> misc\_feature

<222> (548)..(548)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (640)..(640)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (661)..(661)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<400> 120

aagctctgt gtagggaag аасааgtacc gttcgaatag ggcggtacct tgacgtacc 60

таасагааа gccacggcta actacgtgcc agcagccgcg gтааtасgта ggtggcaagc 120

ggtgccgga attattgggc gтааaggct cgcagcggt ttcttaagtc tgatgтааа 180

gccccggct caaccgggga ggtcattgg ааactgggga acttgagtgc агааaggag 240

agtgaaatc cacgttagc ggtgaaatc gtagagatgt ggaggaacac cagtggcгаа 300

ggcgacttc tggctgтаа ctgacgtga ggagcгаааg cgtggggagc гааcaggatt 360

agataccctg gtagtcacg ccgтааacga tgagtgтаа gtgtagggg gttccgccc 420

cttantgctg cagctaacgc атааgcact ccgctgggg агтаcggctg caagactгаа 480

actcaaagga attgacgggg gcccgacaaa gcggtggagc atgtggtta attcgaagca 540

acgcgaanaa ccttaccagg tcttgacatc ctctgacaat cctagagata ggacgtcccc 600

ttcgggggca gagtgacagg tggatcatgg ttgtcgtcan ctctgtcgt gagatgttg 660

nttaagtccc gcaacgag  
678

<210> 121

<211> 743

<212> ДНК

<213> Bacillus megaterium

<220>

<221> misc\_feature

<222> (4)..(4)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (12)..(13)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (689)..(691)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (693)..(708)  
<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (712)..(712)  
<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (716)..(717)  
<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (720)..(720)  
<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (727)..(727)  
<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (729)..(730)  
<223> n представляет собой a, c, g, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (734)..(734)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<220>

<221> misc\_feature

<222> (740)..(741)

<223> n представляет собой а, с, г, или t

<400> 121

aagnccttcg gncgtaaaa ctctgttgtt agggaagaac aagtacgaga gtaactgctc 60

gtaccttgac ggtacctaac cagaaagcca cggctaacta cgtgccagca gccgcggtaa 120

tacgtaggtg gcaagcgta tccggaatta ttgggcgtaa agcgcgcgca ggcggttct 180

taagtctgat gtgaaagccc acggctcaac cgtggagggt cattgaaaac tggggaactt 240

gagtgcagaa gagaaaagcg gaattccacg ttagcgggtg aaatgcgtag agatgtggag 300

gaacaccagt ggcgaaggcg gcttttggc ctgtaactga cgtgaggcg cgaaagcgtg 360

gggagcaaac aggattagat accctgtag tccacgccgt aaacgatgag tgctaagtgt 420

tagagggttt ccgccctta gtgctgacg taacgcatta agcactccgc ctggggagta 480

cggtcgcaag actgaaactc aaaggaattg acgggggccc gcacaagcgg tggagcatgt 540

ggtttaattc gaagcaacgc gaagaacctt accaggtctt gacatcctct gacaactcta 600

gagatagagc gttccccttc gggggacaga gtgacagggtg gtgcatgggt gtcgtcagct 660

cgtgtcgtga gatgttgggt taagtcccn ncnnnnnnnn nnnnnnnntc tnaganncgn 720

gctgacnann ccangcaccn ngg  
743

<210> 122

<211> 21

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Праймер

<400> 122

actcctacgg gaggcagcag t  
21

<210> 123

<211> 16

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Праймер

<400> 123

gggttgcgct cgttgc  
16

<210> 124

<211> 16

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Праймер

<400> 124

gggttgcgct cgttac  
16

ФИГУРА 1

1/2

SEQ ID №	20-35% идентичности	25-35% идентичности
1	100%	100%
3	81.3%	90.9%
5	50.0%	72.7%
7	43.8%	54.5%
9	62.5%	72.7%
11	81.3%	90.9%
13	81.3%	81.8%
15	62.5%	81.8%
17	75.0%	81.8%
19	50.0%	63.6%
21	75.0%	72.7%
23	62.5%	72.7%
25	56.2%	63.6%
27	56.2%	63.6%
29	81.3%	90.9%
31	56.2%	63.6%
33	43.8%	54.5%
35	43.8%	54.5%
43	68.8%	81.8%
45	75.0%	72.7%
47	62.5%	81.8%
49	62.5%	81.8%
51	50.0%	63.6%
53	50.0%	63.6%
55	50.0%	63.6%
57	81.3%	90.9%



2/2

ФИГУРА 2

