



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **120642** (13) **C2**

(51) МПК (2019.01)

**C12N 1/20** (2006.01)

**A01N 63/00**

**C07K 7/06** (2006.01)

**C07K 7/50** (2006.01)

**C12N 9/90** (2006.01)

**C12R 1/01** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

<p>(21) Номер заявки: <b>а 2017 10266</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>23.03.2016</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>10.01.2020</b></p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>62/138,765, 62/232,205</b></p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>26.03.2015, 24.09.2015</b></p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>US, US</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: <b>26.12.2017, Бюл.№ 24</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.01.2020, Бюл.№ 1</b></p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>PCT/US2016/023760, 23.03.2016</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Бо Джеремі (US), Джу Деніел М. (US), Швінтек Патрік (US), Тейлор Коллін С. (US), Траг Бйорн А. (US)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>БАЙЕР КРОПСАЙЕНС ЛП,</b> 2 T.W. Alexander Drive, Research Triangle Park, NC 27709, United States of America (US)</p> <p>(74) Представник: <b>Петров Андрій Володимирович,</b> <b>реєстр. №139</b></p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2007086645 A1, 02.08.2007 HAN J.W. et al. Site-directed modification of the adenylation domain of the fusaricidin nonribosomal peptide synthetase for enhanced production of fusaricidin analogs. Biotechnology letters, Springer netherlands, Dordrecht, 2012, Vol. 34, no. 7, P. 1327 – 1334 LEE S.H. et al. An antibiotic fusaricidin: a cyclic depsipeptide from <i>Paenibacillus polymyxa</i> E681 induces systemic resistance against <i>Phytophthora</i> blight of red-pepper. Phytoparasitica, NL, 2012, Vol. 41, no. 1, P. 49 – 58 DATABASE EMBL [online] 3 June 2010 (2010-06-03), Industrial Biotechnology &amp; Bioenergy Research Center, Korea Research, "Paenibacillus polymyxa strain E681 Spo0A (spo0A) gene, complete cds.", retrieved from EBI, Database accession no. HM191685</p>
---	---

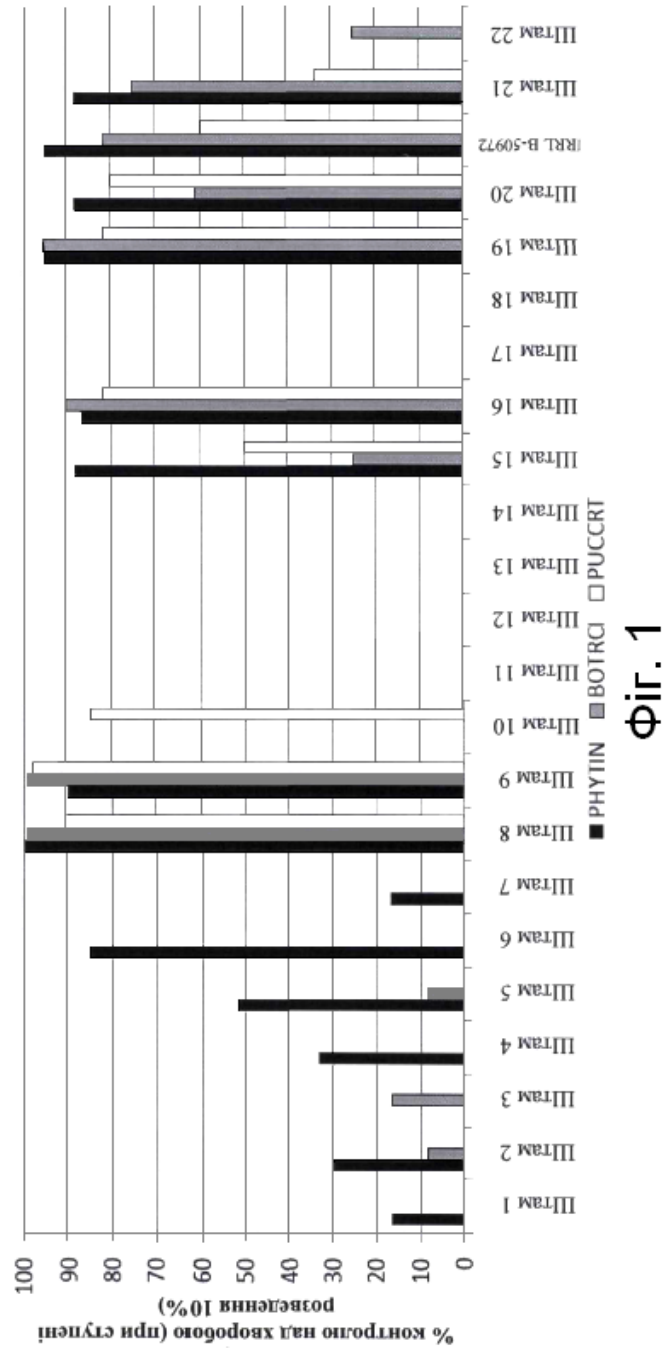
## (54) НОВИЙ ШТАМ PAENIBACILLUS, ПРОТИГРИБКОВІ СПОЛУКИ ТА СПОСОБИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

### (57) Реферат:

Винахід стосується композиції, яка включає біологічно чисту культуру фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus*, який включає варіант фусарицидинсинтетази без функціонального домену аденілування у третьому модулі (FusA-A3), причому брак функціональної FusA-A3 інгібує синтез

UA 120642 C2

фусарицидинів з тирозином або фенілаланіном в амінокислотному залишку (3) порівняно з синтезом фусарицидинів штамом виду *Paenibacillus*, який включає фусарицидинсинтетазу дикого типу і причому варіантна фусарицидинсинтетаза включає амінокислотну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 10.



Перехресне посилання на споріднені заявки

Дана заявка заявляє пріоритет для Попередньої патентної заявки США № 62/138,765, поданої 26 березня 2015 р., та Попередньої патентної заявки США № 62/232,205, поданої 24 вересня 2015 р., і зміст обох заявок включено до цього опису шляхом посилання у повному обсязі.

Посилання на перелік послідовностей, представлений в електронному форматі

Офіційну копію переліку послідовностей представлено в електронному форматі через EFS-Web як ASCII-форматований перелік послідовностей з файлом під назвою "BCS159002WO\_ST25.txt", який було створено 21 березня 2016 р., і який має розмір 68 кілобайт і є поданим одночасно з цим описом. Перелік послідовностей, який міститься в цьому ASCII-форматованому документі, є частиною опису і, таким чином, включається до нього у повному обсязі.

Галузь винаходу

Даний винахід стосується галузі бактеріальних штамів та їх здатності до контролю над хворобами рослин. Зокрема, даний винахід є спрямованим проти штаму *Paenibacillus* sp. з відносно високим рівнем протигрибкової дії широкого спектра.

Рівень техніки

Фунгіциди мають безліч призначень, включаючи застосування як засобів захисту культур; як консервантів для продуктів харчування та кормів і косметичних засобів; як терапевтичних засобів для лікування людей та тварин. Зниження врожайності культур, наявність хвороб харчового походження та грибкових інфекцій у людей та тварин є проблемою як у розвинутих країнах, так і у країнах, що розвиваються.

Синтетичні інсектициди або фунгіциди часто є неспецифічними, а отже, можуть діяти на організми, відмінні від цільових, включаючи інші природні сприятливі організми. За хімічним характером вони також можуть бути токсичними й такими, що не піддаються біодеградації. Споживачі в усьому світі дедалі більше усвідомлюють потенційні проблеми для навколишнього середовища та здоров'я, пов'язані з залишками хімікатів, зокрема, у харчових продуктах. В результаті споживачі стають більш вимогливими щодо зниження використання або принаймні зменшення кількості хімічних (тобто, синтетичних) пестицидів. Таким чином, існує потреба у контролі над вимогами до харчового ланцюга при збереженні можливостей ефективної боротьби зі шкідниками.

Ще однією проблемою, яка виникає у зв'язку з застосуванням синтетичних інсектицидів або фунгіцидів, є те, що багаторазове й виключне застосування інсектициду або фунгіцидів часто призводить до відбору резистентних патогенних мікроорганізмів. Зазвичай такі штами також є перехресно резистентними до інших активних інгредієнтів, які мають такий самий спосіб дії. Ефективний контроль над патогенами при зазначених активних сполуках у такому разі стає неможливим. Однак розробка активних інгредієнтів, які мають нові механізми дії, вимагають чималих зусиль та витрат.

Ризик вироблення резистентності у популяціях патогенів, а також проблеми, пов'язані з екологією та людським здоров'ям, сприяли зацікавленості у пошуку альтернатив синтетичним інсектицидам та фунгіцидам для боротьби з хворобами рослин. Застосування засобів біологічного контролю є однією з альтернатив.

Нерибосомні пептиди, такі, як фусарицидини, є широко відомими завдяки їхнім антимікробним властивостям і застосовуються у галузі захисту культур. Їхній спосіб дії також дозволяє застосовувати їх у біофармацевтиці та інших галузях біотехнологій. Фусарицидини можуть бути виділені з виду *Paenibacillus* і мають кільцеву структуру, яка складається з 6 амінокислотних залишків, додатково до 15-гуанідино-3-гідроксипентадеканової кислоти. До фусарицидинів, виділених з *Paenibacillus polymyxa*, належать LI-F03, LI-F04, LI-F05, LI-F07 та LI-F08 [Kurusu K, Ohba K, Arai T and Fukushima K., J. Antibiotics, 40: 1506-1514, 1987], а також повідомляється про додаткові фусарицидини A, B, C та D [Kajimura Y and Kaneda M., J. Antibiotics, 49: 129-135, 1996; Kajimura Y and Kaneda M., J. Antibiotics, 50: 220-228, 1997].

Відомо, що деякі фусарицидини мають герміцидну активність проти патогенних для рослин грибів, таких, як *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* та *Penicillium thomii*. Деякі фусарицидини також мають герміцидну активність проти грампозитивних бактерій, включаючи *Staphylococcus aureus* [Kajimura Y and Kaneda M., J. Antibiotics, 49: 129-135, 1996; Kajimura Y and Kaneda M., J. Antibiotics, 50: 220-228, 1997]. Крім того, було виявлено, що специфічні фусарицидини мають протигрибкову активність проти *Leptosphaeria maculans*, що викликає чорну кореневу гниль каноли [Beatty PH and Jensen SE., Can. J. Microbiol., 48: 159-169, 2002]. Існує потреба у подальшій характеристиці сполук фусарицидину та розпізнаванні штамів виду *Paenibacillus*, які виробляють фусарицидини, що забезпечують широкий спектр

протигрибкової активності при відносно низьких нормах внесення.

Фусарицидини та інші протигрибкові метаболіти одержують шляхом ферментації виду *Paenibacillus*. Однак багато штамів виду *Paenibacillus* також виробляють антибіотики, відомі як поліміксини. Поліміксини є вибірково токсичними для грамнегативних бактерій і можуть мати нейротоксичний або нефротоксичний вплив при введенні людині. Глобальна проблема розвитку резистентності до антимікробних засобів та відносно токсичності поліміксинів вимагає обережного застосування та внесення цих антибіотиків. З цієї причини дуже бажано, щоб штам виду *Paenibacillus*, розроблений для застосування у сільському господарстві, експресував відносно високий рівень фусарицидинів без поліміксинів, які піддаються виявленню. Такий штам не створює або майже не створює ризику для працівників та споживачів. Крім того, існує потреба у визначенні штамів виду *Paenibacillus*, які б демонстрували широкий спектр активності. Існує велика потреба у поліпшенні ефективності існуючих фунгіцидів, зокрема, тих, які не є сприйнятливими до вироблення грибової резистентності.

Короткий опис винаходу

Даний винахід стосується композиції, яка включає біологічно чисту культуру фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus*, який включає варіант фусарицидинсинтетази без функціонального домену аденілування у третьому модулі (*FusA-A3*), причому брак функціональної *FusA-A3* інгібує синтез фусарицидинів з тирозином або фенілаланіном в амінокислотному залишку (3) порівняно з синтезом фусарицидинів штамом виду *Paenibacillus*, який включає фусарицидинсинтетазу дикого типу. У деяких аспектах варіантна фусарицидинсинтетаза включає делецію у *FusA-A3* принаймні одного, принаймні двох, принаймні трьох, принаймні чотирьох, принаймні п'яти, принаймні шести, принаймні семи, принаймні восьми, принаймні дев'яти або десяти амінокислотних залишків, які визначають субстратну специфічність. В одному аспекті амінокислотні залишки вибирають з групи, до якої належать Asp235, Ala236, Ser239, Thr278, Leu299, Ala301, Ala/Gly322, Val330, Cys331, Lys517 та їх комбінації.

В одному варіанті втілення амінокислотні залишки розташовуються у позиціях 3203, 3204, 3207, 3246, 3267, 3269, 3290, 3298, 3299 та/або 3486 послідовності SEQ ID NO: 11. В іншому варіанті втілення варіантна фусарицидинсинтетаза включає делецію у *FusA-A3* позицій Asp235, Ala236, Ser239, Thr278, Leu299, Ala301, Ala/Gly322, Val330 та Cys331. У деяких варіантах втілення варіантна фусарицидинсинтетаза включає SEQ ID NO: 10.

Даний винахід також забезпечує композицію, яка включає біологічно чисту культуру фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus*, або його безклітинний екстракт, який включає принаймні один *Paeniserine* та принаймні один *Paeniprolixin*.

У деяких аспектах принаймні один *Paeniserine* вибирають з групи, до якої належать *Paeniserine A1*, *Paeniserine A2*, *Paeniserine A3*, *Paeniserine A4*, *Paeniserine B1*, *Paeniserine B2*, *Paeniserine B3*, *Paeniserine B4*, *Paeniserine C1*, *Paeniserine C2* та *Paeniserine C3*.

В інших аспектах принаймні один *Paeniprolixin* вибирають з групи, до якої належать *Paeniprolixin A1*, *Paeniprolixin A2*, *Paeniprolixin B1*, *Paeniprolixin B2*, *Paeniprolixin C1*, *Paeniprolixin D1*, *Paeniprolixin E1*, *Paeniprolixin E2*, *Paeniprolixin F1*, *Paeniprolixin F2*, *Paeniprolixin G1* та *Paeniprolixin G2*.

У деяких варіантах втілення композиція включає фусарицидин A, LiF08a, *Paeniserine A1*, *Paeniserine B1*, *Paeniprolixin A2* та *Paeniprolixin B2*.

У деяких варіантах втілення композиція не включає LiF03a, LiF03b, LiF03c, LiF03d, LiF07a, LiF07b, LiF07c та/або LiF07d. В інших варіантах втілення композиція включає *Paeniserine A1*, *Paeniserine B1*, *Paeniprolixin A2* та *Paeniprolixin B2* у синергетично ефективній кількості.

У деяких аспектах даний винахід стосується композиції, в якій штам виду *Paenibacillus* являє собою штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, штам виду *Paenibacillus* NRRL B-67129 або його фунгіцидний мутантний штам. Композиція може включати продукт ферментації штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-67129 або його фунгіцидного мутантного штаму.

У деяких варіантах втілення фунгіцидний мутантний штам має геномну послідовність, яка має більше, ніж приблизно 90 % ідентичності послідовності з штамом виду *Paenibacillus* NRRL B-50972. В інших варіантах втілення фунгіцидний мутантний штам має фунгіцидну активність та/або рівень фусарицидину, *Paeniserine* та/або *Paeniprolixin*, який є порівнянним або кращим за рівень штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972. В інших варіантах втілення продукт ферментації не включає поліміксин.

У деяких аспектах продукт ферментації являє собою рідку композицію. Рідка композиція може бути концентратом суспензії або олійною дисперсією. В одному варіанті втілення композиція включає принаймні приблизно  $1 \times 10^4$  КУО штаму/мл рідкої композиції. В іншому варіанті втілення композиція включає від приблизно 1 % до приблизно 25 % твердих продуктів

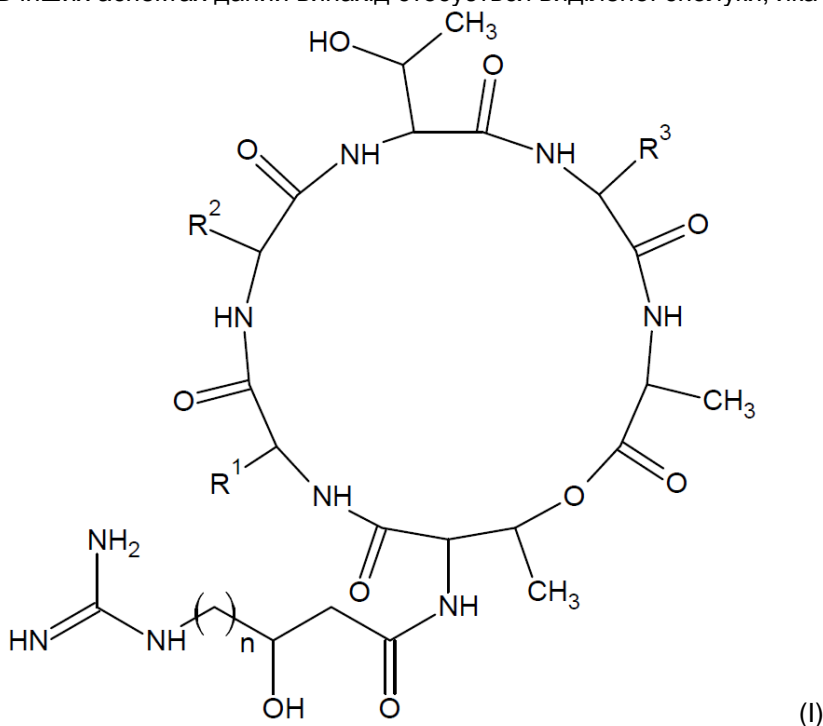


ферментації.

В інших аспектах даний винахід стосується композиції, яка включає: а) принаймні один фусарицидин; та б) принаймні один Paeniserine або принаймні один Paeniprolixin у синергетично ефективній кількості. В одному варіанті втілення Paeniserine є принаймні одним з-поміж Paeniserine A1, Paeniserine A2, Paeniserine A3, Paeniserine A4, Paeniserine B1, Paeniserine B2, Paeniserine B3, Paeniserine B4, Paeniserine C1, Paeniserine C2 та Paeniserine C3. В іншому варіанті втілення Paeniprolixin є принаймні одним з-поміж Paeniprolixin A1, Paeniprolixin A2, Paeniprolixin B1, Paeniprolixin B2, Paeniprolixin C1, Paeniprolixin D1, Paeniprolixin E1, Paeniprolixin E2, Paeniprolixin F1, Paeniprolixin F2, Paeniprolixin G1 та Paeniprolixin G2.

Зокрема, в одному варіанті втілення синергетичне співвідношення принаймні одного фусарицидину та принаймні одного Paeniserine або принаймні одного Paeniprolixin становить від 1:1000 до 1000:1, в оптимальному варіанті – у межах від 1:500 до 500:1, у ще кращому варіанті – у межах від 1:250 до 250:1. В іншому варіанті втілення синергетичне масове співвідношення принаймні одного фусарицидину та принаймні одного Paeniserine або принаймні одного Paeniprolixin становить від 1:100 до 100:1, в оптимальному варіанті – у межах від 1:100 до 10:1 або навіть у межах від 1:50 до 25:1. В одному аспекті фусарицидин являє собою Фусарицидин А. В іншому аспекті Paeniserine являє собою Paeniserine A1. У ще одному аспекті Paeniprolixin являє собою Paeniprolixin C1.

В інших аспектах даний винахід стосується виділеної сполуки, яка має структуру (I):



де

$R^1$  та  $R^2$  кожен незалежно є  $-CH(CH_3)_2$  або  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ ;

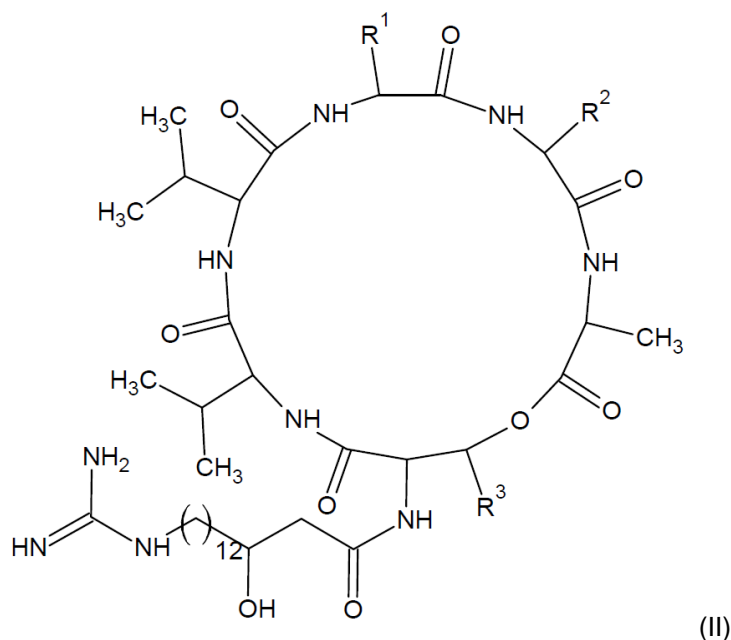
$R^3$  є  $-CH_2C(O)NH_2$  або  $-(CH_2)_2C(O)NH_2$ ; і

$n$  є цілим числом від 13 до 20;

включаючи їх солі, гідрати, сольвати, поліморфи, оптичні ізомери, геометричні ізомери, енантіомери, діастереомери, ациклічні аналоги та суміші.

У деяких варіантах втілення  $R^3$  є  $-CH_2C(O)NH_2$ . В інших варіантах втілення  $R^3$  є  $-(CH_2)_2C(O)NH_2$ . В одному аспекті  $R^1$  є  $-CH(CH_3)_2$ . В іншому аспекті  $R^1$  є  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ . В одному аспекті  $R^2$  є  $-CH(CH_3)_2$ . У ще одному аспекті  $R^2$  є  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ .

В інших аспектах даний винахід стосується виділеної сполуки, яка має структуру (II):



де

$R^1$  є  $-\text{CH}_2\text{OH}$  або  $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ ;

$R^2$  є  $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$  або  $-(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ; і

$R^3$  є H або  $\text{CH}_3$ ;

за умови, що якщо  $R^1$  є  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , і  $R^2$  є  $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ , то  $R^3$  є H;

включаючи їх солі, гідрати, сольвати, поліморфи, оптичні ізомери, геометричні ізомери, енантіомери, діастереомери, ациклічні аналоги та суміші.

У деяких варіантах втілення  $R^3$  є  $\text{CH}_3$ . В інших варіантах втілення  $R^3$  є H. В одному аспекті  $R^1$  є  $-\text{CH}_2\text{OH}$ . В іншому аспекті  $R^1$  є  $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ . В одному аспекті  $R^2$  є  $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ . У ще одному аспекті  $R^2$  є  $-(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ .

В одному варіанті втілення даний винахід стосується композиції, яка включає описану авторами виділену сполуку та прийнятний для застосування у сільському господарстві носій.

У деяких варіантах втілення даний винахід стосується розчину, який включає сполуку структури (I), причому концентрація сполуки становить принаймні 0,001 мг/мл, принаймні 0,01 мг/мл або принаймні 0,1 мг/мл. В іншому варіанті втілення даний винахід стосується розчину, який включає сполуку структури (II), причому концентрація сполуки становить принаймні 0,001 мг/мл, принаймні 0,01 мг/мл або принаймні 0,1 мг/мл. У деяких аспектах описані розчини також включають прийнятний для застосування у сільському господарстві носій.

У ще одному варіанті втілення даний винахід стосується способу обробки рослини для боротьби з хворобою, причому спосіб включає нанесення ефективної кількості описаної авторами композиції на рослину, частину рослини та/або місце вирощування рослини. У деяких аспектах композиція являє собою продукт ферментації штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-67129 або його фунгіцидного мутантного штаму. В інших аспектах спосіб включає нанесення композиції на частини листяних рослин. В інших аспектах композицію застосовують у кількості від приблизно  $1 \times 10^{10}$  до приблизно  $1 \times 10^{12}$  колонієутворюючих одиниць (КУО) штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-67129 або його фунгіцидного мутантного штаму на гектар. В одному варіанті втілення композицію застосовують у кількості від приблизно 0,5 кг до приблизно 5 кг твердих продуктів ферментації на гектар.

У деяких аспектах хвороба рослин викликається грибом. В інших аспектах хворобою рослин є борошниста роса або іржа. В одному варіанті втілення борошниста роса є справжньою борошнистою росою або псевдоборошнистою росою. В іншому варіанті втілення іржа є вибраною з групи, до якої належать листовка іржа пшениці, листовка іржа ячменю, листовка іржа жита, бура листовка іржа, корончаста іржа та стеблова іржа.

У деяких варіантах втілення грибок є вибраним з групи, до якої належать *Alternaria alternata*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum lagenarium*, *Fusarium culmorum*, *Phaeosphaeria nodorum*, *Zymoseptoria tritici*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora infestans*, *Pythium ultimum*, *Magnaporthe oryzae*, *Thanatephorus cucumeris*, *Ustilago segetum* var. *avenae*, *Uromyces appendiculatus* та *Puccinia tritica*.

В інших варіантах втілення хвороба рослин викликається бактеріями. В одному аспекті

бактерії є вибраними з групи, до якої належать *Xanthomonas campestris*, *Pseudomonas syringae* та *Erwinia carotovora*.

Даний винахід також стосується застосування описаних композицій для боротьби з фітопатогенними організмами у корисних рослинах. У деяких аспектах фітопатогенний організм є вибраним з групи, до якої належать *Alternaria alternata*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum lagenarium*, *Fusarium culmorum*, *Phaeosphaeria nodorum*, *Zymoseptoria tritici*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora infestans*, *Pythium ultimum*, *Magnaporthe oryzae*, *Thanatephorus cucumeris*, *Ustilago segetum* var. *avenae*, *Uromyces appendiculatus* та *Puccinia tritici*. В інших аспектах фітопатогенний організм є вибраним з групи, до якої належать *Xanthomonas campestris*, *Pseudomonas syringae* та *Erwinia carotovora*.

В інших аспектах корисні рослини є вибраними з групи, до якої належать яблуна, банани, цитрусові, ківі, дині, персики, груші, ананаси, зерняткові плоди, гранати, капуста, цвітна капуста, огірки, гарбузи, томати, картопля, пшениця, рис та соя.

Короткий опис Фігур

Фіг. 1 показує *in planta* фунгіцидну активність суцільних бульйонів штаму виду *Paenibacillus* проти фітофторозу томатів (PHYTIN), сірої гнилі (BOTRCI) та листової іржі пшениці (PUCCRT).

Фіг. 2 показує *in vitro* протигрибкову активність екстрактів фусарицидину з суцільних бульйонів штаму виду *Paenibacillus* проти *Alternaria alternata* (ALTEAL), *Botrytis cinerea* (BOTRCI), *Fusarium culmorum* (FUSACU), *Phaeosphaeria nodorum* (LEPTNO), *Zymoseptoria tritici* (SEPPT), *Phytophthora cryptogea* (PHYTCR), *Phytophthora infestans* (PHYTIN), *Pythium ultimum* (PYTHUL), *Magnaporthe oryzae* (PYRIOR), *Thanatephorus cucumeris* (RHIZSO), *Ustilago segetum* var. *avenae* (USTIAV) та *Uromyces appendiculatus* (UROMAP).

Фіг. 3 показує розкриття кільцевої структури у LiF04a (також відомої як фусарицидин А) для утворення ациклічного аналога, LiF04c. Подібним чином трапляються ациклічні аналоги кожного з фусарицидинів та подібних до фусарицидину сполук.

Фіг. 4А представляє діаграму, на якій показано структуру відомих фусарицидинів з консервативними амінокислотами у розпізнаних позиціях (1), (4) та (6) та амінокислотами, що змінюються, які позначаються як AA (амінокислота). Хвіст 15-гуанідино-3-гідроксипентадеканової кислоти (GHPD) утворює амідний зв'язок з N-кінцем L-треоніну у позиції (1). С-кінець D-аланіну у позиції (6) утворює естерний зв'язок з гідроксигрупою L-треоніну у позиції (1), позначений стрілками, які вказують на "О". Фіг. 4В показує ВЕРХ/MS TOF-хроматограму з екстракту клітин виду *Paenibacillus*, на якій розпізнано відомі фусарицидини. Фіг. 4С показує відомі фусарицидини, які можуть бути розпізнані в екстракті клітин зі штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та/або похідних від нього штамів.

Фіг. 5А представляє діаграму, на якій показано структуру *Paeniserine*. Цей клас сполук є подібним до фусарицидинів, за винятком того, що один або обидва консервативні треоніни у позиціях (1) та (4) є заміщеними серином. Фіг. 5В показує ВЕРХ/MS TOF-хроматограму екстракту клітин зі штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та/або похідних від нього штамів, на якій розпізнаються *Paeniserine*. Фіг. 5С показує *Paeniserine*, які можуть бути виявлені в екстракті клітин зі штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та/або похідних від нього штамів. Значення *m/z* та час утримання (RT) показано для всіх виявлених сполук.

Фіг. 6А показує хімічну структуру *Paeniserine* A1, визначену на основі UPLC/MS Triple TOF-спектра, показаного на Фіг. 6В.

Фіг. 7А показує хімічну структуру *Paeniserine* B1, визначену на основі UPLC/MS Triple TOF-спектра, показаного на Фіг. 7В.

Фіг. 8А представляє діаграму, на якій показано структуру *Paeniprolixin*. Цей клас сполук є подібним до фусарицидинів, за винятком того, що довжина хвоста GHPD є збільшеною з  $-(CH_2)_{12}-$  до  $-(CH_2)_{14}-$  або  $-(CH_2)_{16}-$ . Фіг. 8В показує ВЕРХ/MS TOF-хроматограму екстракту клітин зі штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та/або похідних від нього штамів, на якій розпізнано *Paeniprolixin*. Фіг. 8С показує *Paeniprolixin*, які можуть бути виявлені в екстракті клітин зі штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та/або похідних від нього штамів. Значення *m/z* та час утримання (RT) показано для всіх виявлених сполук.

Фіг. 9А показує хімічну структуру *Paeniprolixin* C1, визначену на основі UPLC/MS Triple TOF-спектра, показаного на Фіг. 9В.

Фіг. 10А показує хімічну структуру *Paeniprolixin* D1, визначену на основі UPLC/MS Triple TOF-спектра, показаного на Фіг. 10В.

Фіг. 11 показує дискодифузійний аналіз Кірбі-Бауера на чутливість до антибіотиків для фусарицидинів А та В ("AB"), *Paeniserine* A1 та B1 ("868"), *Paeniprolixin* A2 та B2 ("938") або комбінації 868 та 938, які наносили на культуру спор *Colletotrichum lagenarium* (COLLA) на планшеті з агаром. Діаметр кожного диска з його зоною інгібування росту грибків вказано у

міліметрах.

Фіг. 12A показує хімічну структуру фусарицидину А спрощене зображення цієї структури. ФІГУРИ 12B-12E показують спрощені зображення комбінацій фусарицидинів, Paeniserine та/або Paeniprolixin, які дає штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та похідні від нього штамми. Комбінації на зразок цих можуть створювати синергетичний протигрибковий ефект і відповідають за відносно високу ефективність та широкий спектр протигрибкової активності, які спостерігаються для штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та похідних від нього штамів.

Фіг. 13 представляє множинне вирівнювання послідовностей сегмента фусарицидинсинтетази *FusA*, яка експресується такими штамми *Paenibacillus*: *Paenibacillus peoriae* A (SEQ ID NO: 1); *Paenibacillus polymyxa* A (SEQ ID NO: 2); *Paenibacillus polymyxa* PKB1 (GenBank ABQ96384.2; SEQ ID NO: 3); *Paenibacillus polymyxa* E681 (GenBank ADM67985.1; SEQ ID NO: 4); *Paenibacillus polymyxa* B (SEQ ID NO: 5); *Paenibacillus polymyxa* SQR (GenBank AHM63812.1; SEQ ID NO: 6); *Paenibacillus polymyxa* C (SEQ ID NO: 7); *Paenibacillus polymyxa* M1 (GenBank CCC83015.1; SEQ ID NO: 8); *Paenibacillus polymyxa* SC2 (GenBank ACA09733.2; SEQ ID NO: 9); штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 (SEQ ID NO: 10); та штамом виду *Paenibacillus* A (SEQ ID NO: 11). Амінокислотні залишки, які визначають субстратну специфічність, виділено чорним контуром (див. також Таблицю 1). Ці амінокислотні залишки розташовуються у позиціях 3203, 3204, 3207, 3246, 3267, 3269, 3290, 3298, 3299 та 3486 послідовностей SEQ ID NO: 1-5 та 11 і у позиціях 3204, 3205, 3208, 3247, 3268, 3270, 3291, 3299, 3300 та 3487 послідовностей SEQ ID NO: 6-9.

Фіг. 14 показує кластер генів фусарицидину у штамі виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та штам виду *Paenibacillus* A ("Штам А"). Стрілки представляють окремі гени у кластері (тобто, *fusG* представлено стрілкою "G", *fusF* представлено стрілкою "F", і т. д.). Найбільша стрілка представляє ген фусарицидинсинтетази *fusA* з такими скороченнями та символами: A = домен аденілування (розпізнавання та активація субстрату); C = домен конденсації (утворення пептидного зв'язку); E = домен епімеризації (рацемізація субстрату); TE = домен тіоестерази (вивільнення продукту); овал без літери = домен тіолування (Т) (білок-носіє пептиду). Ген *fusA* має шість модулів, які відповідають за включення амінокислот, вказаних прямокутниках вище або нижче кожного кластера генів. Штам А має типовий кластер генів фусарицидину, тоді як кластер генів фусарицидину штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 не має функціонального домену А у модулі 3. В результаті фусарицидину, які виробляються штамом виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, не містять тирозину та фенілаланіні в позиції (3) і включають лише валін або ізолейцин.

Фіг. 15 показує вирівнювання послідовностей гена *spo0A* у штамі виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 (SEQ ID NO: 12) та штамі виду *Paenibacillus* NRRL B-67129 (SEQ ID NO: 13).

Фіг. 16 показує вирівнювання послідовностей ортологів *Spo0A* з утворюючих ендоспори бактерій, яке вказує на те, що зміна нуклеотидів у кодуючій послідовності штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-67129 в результаті веде до єдиної амінокислотної заміни у консервативній ділянці. Вирівняними ортологічними послідовностями *Spo0A* є: *Spo0A* *Paenibacillus terrae* (SEQ ID NO: 14), *Spo0A* штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 (SEQ ID NO: 15), *Spo0A* штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-67129 (SEQ ID NO: 16), *Spo0A* *Paenibacillus polymyxa* (SEQ ID NO: 17), *Spo0A* *Bacillus subtilis* (SEQ ID NO: 18), *Spo0A* *Bacillus cereus* (SEQ ID NO: 19) та *Spo0A* *Clostridium pasteurianum* (SEQ ID NO: 20).

Фіг. 17 показує значення мінімальної інгібуючої концентрації для 80 % (MIC<sub>80</sub>) показників кількох фусарицидинів, Paeniserine та Paeniprolixin з грибовими патогенами *Alternaria solani* (ALTESO) та *Colletotrichum lagenarium* (COLLLA).

Детальний опис винаходу

Даний винахід забезпечує штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 або фунгіцидний мутант (штам), який від нього походить. Було виявлено, що штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 має широкий спектр активності пороти фітопатогенів.

Усі мікроорганізми, зокрема, описані авторами штамми, якщо конкретно не зазначено іншого, беруть у природі й вирощують у штучних умовах, наприклад, у колбах для культивування зі струшуванням, або з застосуванням виробничих процесів у збільшених масштабах, наприклад, у біореакторах, для забезпечення максимального вироблення біологічно активного метаболіту. Вирощування за таких умов веде до "одомашнювання" штаму. Зазвичай такий "одомашнений" штам відрізняється від своїх природних відповідників тим, що його культивують як однорідну популяцію, яка не зазнає тиску відбору, який відбувається у природному середовищі, але піддається тисковій штучного відбору.

У контексті цього опису термін "виділений" стосується сполуки, яку було збагачено або концентровано у суцільному бульйоні або продукті ферментації, або яка є частково або суттєво

очищеною від суцільного бульйону або продукту ферментації.

В одному варіанті втілення забезпечується мутантний штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972. Термін "мутант" означає генетичний варіант, який походить від штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972. В одному варіанті втілення мутант має одну або кілька або всі відмітні (функціональні) характеристики штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972. У конкретному випадку мутант або продукт його ферментації контролює ріст (що є його відмінною функціональною характеристикою) грибів, ооміцетів та/або бактерій принаймні так само, як і батьківський штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972. Такі мутанти можуть бути генетичними варіантами, які мають геномну послідовність, яка має більше, ніж приблизно 85 %, більше, ніж приблизно 90 %, більше, ніж приблизно 95 %, більше, ніж приблизно 98 %, або більше, ніж приблизно 99 % ідентичності послідовності з штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972. Мутанти одержують шляхом обробки клітин штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 хімікатами або опромінення, або шляхом відбору спонтанних мутантів з популяції клітин штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 (таких, як фагостійкі або стійкі до антибіотиків мутанти) або іншими способами, добре відомими спеціалістам у даній галузі.

Штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та його мутанти мають активність проти широкого спектра рослинних патогенів. В одному аспекті штам має активність проти грибів, таких, як антракноз огірків, справжня борошниста роса огірків, листовка іржа пшениці, справжня борошниста роса ячменю та ботритіоз; Ооміцети, такі, як фітофтороз томатів, псевдоборошниста роса огірків та псевдоборошниста роса капусти; та/або бактерії, такі, як *Pseudomonas*, *Xanthomonas* та *Erwinia*.

У деяких аспектах штам виду *Paenibacillus* включає послідовність ДНК, яка має принаймні 75 % ідентичності послідовності, принаймні 80 % ідентичності послідовності, принаймні 90 % ідентичності послідовності, принаймні 95 % ідентичності послідовності, принаймні 96 % ідентичності послідовності, принаймні 97 % ідентичності послідовності, принаймні 98 % ідентичності послідовності або принаймні 99 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 10.

У деяких аспектах даний винахід стосується продукту ферментації, який включає штам виду *Paenibacillus*, причому штам виду *Paenibacillus* виробляє фусарицидини, *Paeniserine* та/або *Paeniprolixin*. Фусарицидини являють собою родину депсипептидів з хвостом 15-гуанідино-3-гідроксипентадеканової кислоти (GHPD), а також їх лінійні відповідники. Конкретними консервативними характеристиками фусарицидинів є цей хвіст GHPD, а також три з шести амінокислот у такій послідовності: (1) треонін, (4) треонін та (6) аланін.

Первісно виявлені, але не охарактеризовані у публікації Nakajima et al. [J. Antibiot. 1972, 25, 243 – 247] у середині 70-х років, фусарицидини було описано у публікації Kurusu et al. [J. Antibiot., 1987, 40, 1506 – 1514] наприкінці 1980-х. Вони були додатково досліджені авторами Kajimura et al. [J. Antibiot., 1996, 49, 129 – 135; J. Antibiot., 1997 50, 220 – 228], Kuroda et al. [Heterocycles, 2000, 53, 1533 – 1549; J. Mass Spectrom., 2001, 36, 30 – 37] та Beatty et al. [Can. J. Microbiol., 2002, 48, 159 – 169] протягом періоду з середини 1990-х до початку 2000-х. Протягом цього періоду активних досліджень ці сполуки кілька разів перейменовувалися, залежно від автора (Фусарицидин А також є відомим як LiF04a, Gatavalin або навіть KT-6291A). Хоча існує багато публікацій з цієї теми, щоразу описується відбір сполук з однієї групи з 24-х відомих фусарицидинів.

Після дещо спокійнішого періоду стосовно цієї теми у публікації Vater et al. [J. Am. Soc. Mass Spectrom., 2015, 26, 1130-1141] було описано з'ясування структури фусарицидинів шляхом мас-спектрометрії з описом кількох аналогів з цієї родини. Vater et al. Розпізнали новий клас подібних до фусарицидину сполук з сімома амінокислотами (тобто, додатковим аланіном, з'єднаним з (4) треоніновим залишком у пептидній послідовності). У контексті цього опису термін "ациклічний аналог" стосується сполуки, яка відповідає фусарицидинові або подібній до фусарицидину сполуці (наприклад, *Paeniserine* або *Paeniprolixin*), але не має естерного зв'язку, результатом чого є лінійна структура.

Амінокислотні ланцюги фусарицидинів з'єднуються й модифікуються нерибосомною пептидсинтетазою (NRPS). Багатодоменна NRPS включає до 15000 амінокислот, а отже, вважається одним з найдовших білків у природі [Schwarzer et al., (2003) Nonribosomal Peptides: From Genes to Products. Nat. Prod. Rep. 20, 275 – 287]. Включення NRPS не обмежується 21 стандартними амінокислотами, які транскрибуються рибосомою, і ця невпорядкованість сприяє великому структурному різноманіттю та біологічній активності нерибосомних пептидів [Li and Jensen, (2008). Nonribosomal biosynthesis of fusaricidins by *Paenibacillus polymyxa* PKB1 involves direct activation of a d-amino acid. Chem. Biol. 15, 118 – 127].

У *P. polymyxa* E68 було охарактеризовано біосинтетичний кластер генів фусарицидину (fusGFEDCBA), і, за спостереженнями, кодує послідовність NRPS, найбільша кодує

послідовність ДНК (CDS) у кластері, кодує шестимодульний пептид [Choi et al., Identification and Functional Analysis of the Fusaricidin Biosynthetic Gene of *Paenibacillus polymyxa* E681. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 365, 89 – 95; Li and Jensen, Identification and Functional Analysis of the Fusaricidin Biosynthetic Gene of *Paenibacillus polymyxa* E681. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 365, 89 – 95; Li et al., (2013). Promoter Analysis and Transcription Regulation of *fus* Gene Cluster Responsible for Fusaricidin Synthesis of *Paenibacillus polymyxa* SQR-21. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 9479 – 9489]. Біосинтетичний кластер включає іншу CDS, яка відповідає за біосинтез ліпідного компонента, але не містить генів-репортерів [Li and Jensen, (2008). Nonribosomal Biosynthesis of Fusaricidins by *Paenibacillus polymyxa* PKB1 Involves Direct Activation of a d-amino acid. *Chem. Biol.* 15, 118 – 127]. У *P. polymyxa* було розпізнано промотор для оперона *fus* і виявлено, що він зв'язується транскрипційним репресором (AbrB), який у попередніх дослідженнях розглядався як регулятор споруляції; інтерес до нього зумовлено тим, що фусарицидин за спостереженнями синтезується під час споруляції, таким чином, координуючи вторинний метаболізм мікроба в його життєвому циклі [Li et al., (2013). Promoter Analysis and Transcription Regulation of *fus* Gene Cluster Responsible for Fusaricidin Synthesis of *Paenibacillus polymyxa* SQR-21. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 9479 – 9489].

Зазвичай вважається, що алельне різноманіття зумовлює наявність хімічного різноманіття. Однак цікавою особливістю кластера *fus* є те, що різноманіття фусарицидинів, які відрізняються включеними амінокислотами (Tyr, Val, Ile, ало-Ile, Phe), може бути створене єдиним алелем *fusA*; механізм, який лежить в основі цього процесу, полягає в тому, що А-домен NRPS, який відповідає за розпізнавання амінокислот, має ослаблену субстратну специфічність [Han et al., (2012). Site-Directed Modification of the Adenylation Domain of the Fusaricidin Nonribosomal Peptide Synthetase for Enhanced Production of Fusaricidin Analogs. *Biotechnol. Lett.* 34, 1327 – 1334; Mousa et al., (2015) Biodiversity of Genes Encoding Anti-Microbial Traits within Plant Associated Microbes, *Front Plant Sci.* 2015; 6: 231].

Структуру А-домену, який відповідає за розпізнавання та активацію субстрату у гені *fusA*, було визначено за GrsA з застосуванням Рентгенівської кристалографії, і було розпізнано 10 амінокислотних залишків, які визначають субстратну специфічність (Asp235, Ala236, Trp239, Thr278, Ile299, Ala301, Ala322, Ile330, Cys331 та Lys517) [Challis et al., (2000) Predictive, Structure-Based Model of Amino Acid Recognition by Nonribosomal Peptide Synthetase Adenylation Domains. *Chem Biol* 7: 211 – 224; Stachelhaus et al., (1999) The Specificity Conferring Code of Adenylation Domains in Nonribosomal Peptide Synthetases. *Chem Biol* 6: 493 – 505]. Ці 10 сигнатурних залишків можуть бути розділені на три підгрупи залежно від їхньої функції у межах сайту зв'язування з субстратом. Asp235 та Lys517 взаємодіють з карбоксильним та аміним кінцями субстрату, відповідно, і аналіз послідовності виявив, що їхня позиція в А-домени NRPS є інваріантною. Ala236, Ala301 та Ile330 є помірно варіабельними у межах А-доменів, специфічних до амінокислотних субстратів, які мають аліфатичний боковий ланцюг. Trp239, Thr278, Ile299, Ala322 та Cys331 є високоваріабельними позиціями і вважаються важливими для розрізнення та відбору різних субстратів [Challis et al., (2000) Predictive, Structure-Based Model of Amino Acid Recognition by Nonribosomal Peptide Synthetase Adenylation Domains. *Chem Biol* 7: 211 – 224; Stachelhaus et al., (1999) The Specificity Conferring Code of Adenylation Domains in Nonribosomal Peptide Synthetases. *Chem Biol* 6: 493 – 505]. Ile299 був найбільш варіабельною позицією серед усіх у межах послідовності, яка надає субстратної специфічності (Stachelhaus et al., (1999) The Specificity Conferring Code of Adenylation Domains in Nonribosomal Peptide Synthetases. *Chem Biol* 6: 493 – 505).

10 амінокислотних залишків, які визначають субстратну специфічність у фусарицидинсинтетазі, показано у Таблиці 1. Домени аденілування (А-домени) для кожного з шести модулів у синтетазі є відомими як FusA-A1 для першого модуля, FusA-A2 для другого модуля, FusA-A3 для третього модуля і т. д. Ці 10 амінокислотних залишків також розпізнаються у множинному вирівнюванні послідовностей FusA з різних штамів виду *Paenibacillus*, представлених на Fig. 13.

Таблиця 1

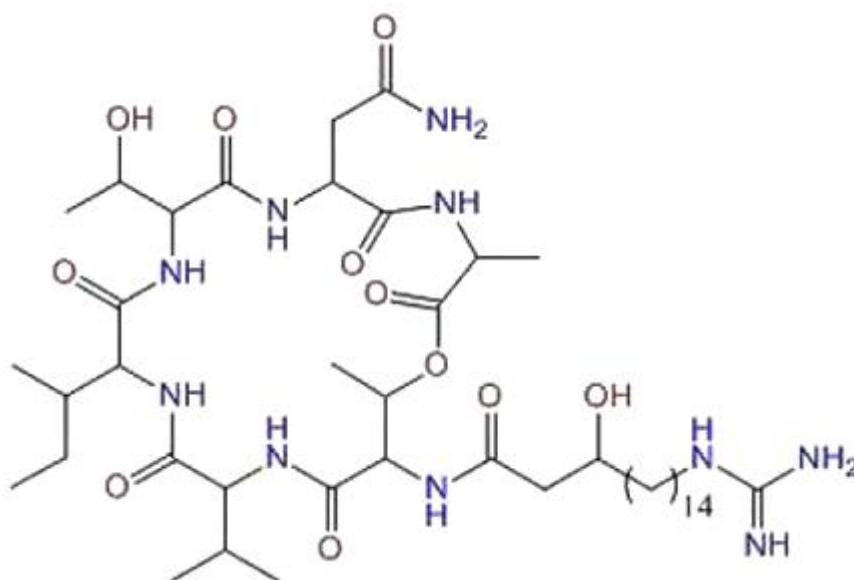
	Позиції залишків, задіяних у розпізнаванні субстрату										
A-домен	235	236	239	278	299	301	322	330	331	517	Відповідний залишок у фусарицидині
FusA-A1	D	F	W	N	I	G	M	V	H	K	L-Thr
FusA-A2	D	A	F	W	L	G	C	T	F	K	D-Val, D-allo-Ile, або D-Ile
FusA-A3	D	A	S	T	L	A	G	V	C	K	L-Tyr, L-Phe, L-Val, L-Ile, або L-allo-Ile
FusA-A4	D	F	W	N	I	G	M	V	H	K	D-allo-Thr
FusA-A5	D	L	T	K	I	G	E	V	G	K	D-Asn або D-Gln
FusA-A6	D	F	P	N	F	C	I	V	Y	K	D-Ala

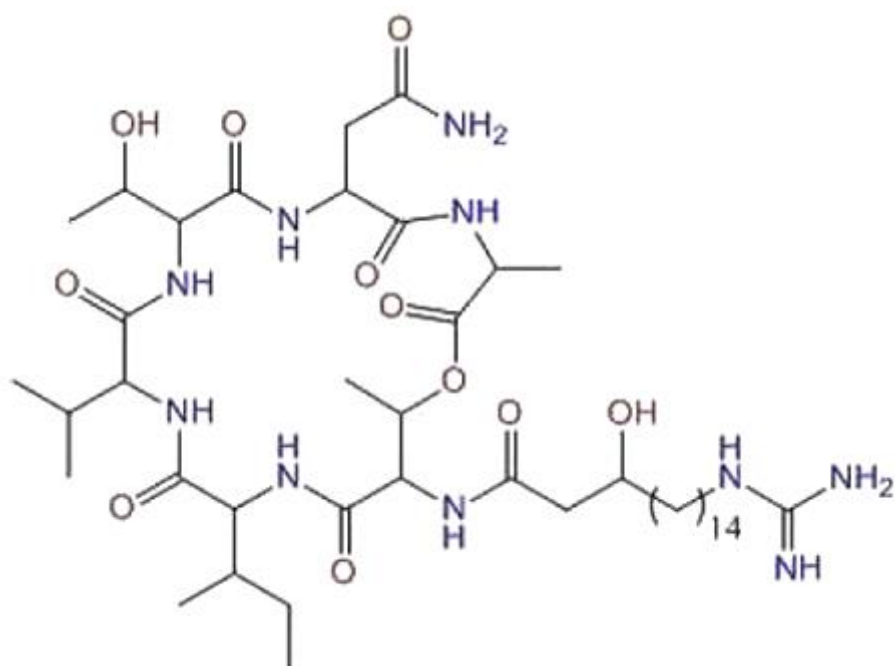
У деяких аспектах фунгіцидний штам виду *Paenibacillus* експресує варіантну фусарицидинсинтетазу, яка включає делецію принаймні одного, принаймні двох, принаймні трьох, принаймні чотирьох, принаймні п'яти, принаймні шести, принаймні семи, принаймні восьми, принаймні дев'яти або всіх десяти амінокислотних залишків, які визначають субстратну специфічність у FusA-A3. В інших аспектах фунгіцидний штам виду *Paenibacillus* експресує фусарицидинсинтетазу з делецією у FusA-A3 принаймні одного амінокислотного залишку, вибраного з групи, до якої належать Asp235, Ala236, Ser239, Thr278, Leu299, Ala301, Ala/Gly322, Val330, Cys331, Lys517 та їх комбінації.

Делеції у FusA-A3, описані авторами, впливають на здатність фусарицидинсинтетази до включення конкретних амінокислот в амінокислотній позиції (3) пептидного кільця у фусарицидині або подібній до фусарицидину сполуці. Наприклад, штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 включає делеції у FusA-A3 і не може утворювати сполуки фусарицидину з амінокислотами тирозином або фенілаланіном в амінокислотній позиції (3). Без прив'язування до будь-якої теорії може статися так, що делеції у FusA-A3 віддаляють метаболізм від біосинтезу класичних фусарицидинів і наближають до біосинтезу подібних до фусарицидину сполук, таких, як *Paeniserine* та *Paeniprolixin*.

У деяких варіантах втілення даний винахід стосується композиції, яка включає біологічно чисту культуру фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus*, яка включає варіантну фусарицидинсинтетазу без функціонального домену аденілування у третьому модулі (FusA-A3), а також включає принаймні один *Paeniserine* та принаймні один *Paeniprolixin*. У деяких аспектах принаймні один *Paeniserine* та принаймні один *Paeniprolixin* є виділеними або збагаченими у композиції.

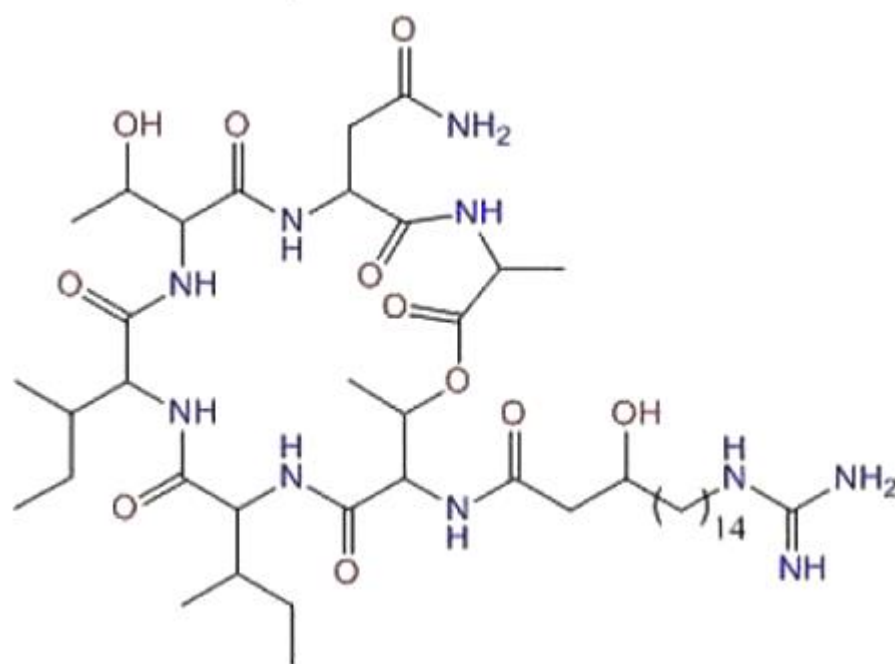
У деяких варіантах втілення виділена сполука або *Paeniprolixin* являє собою





(Ib)

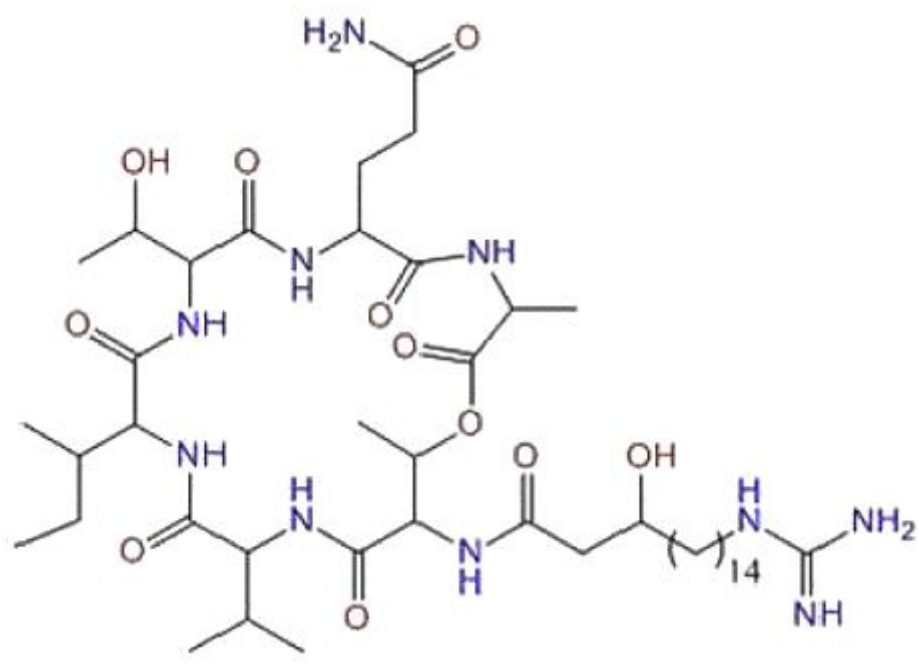
;



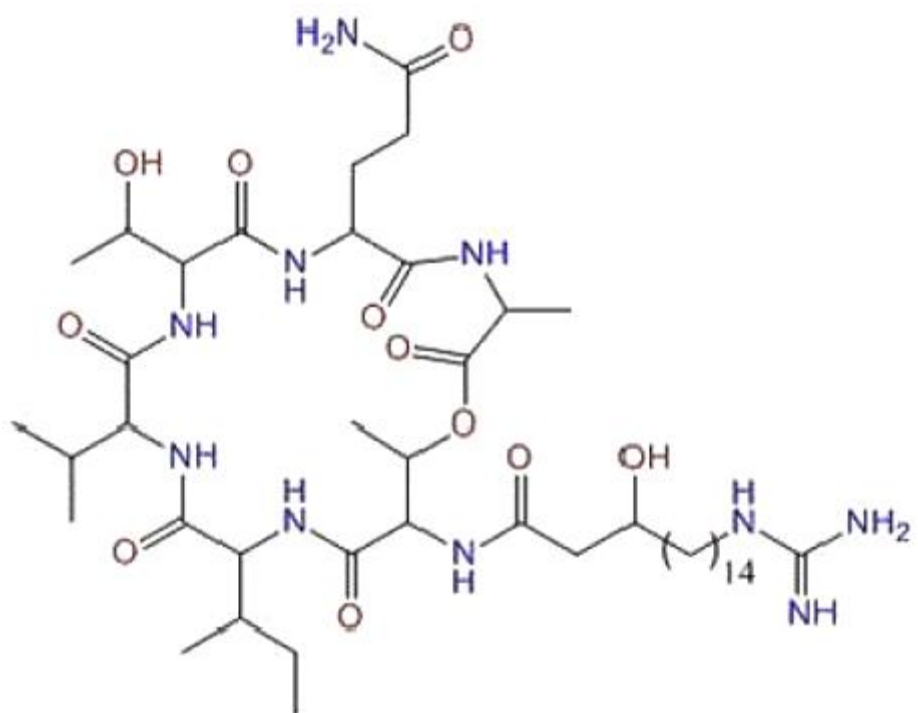
(Ic)

;

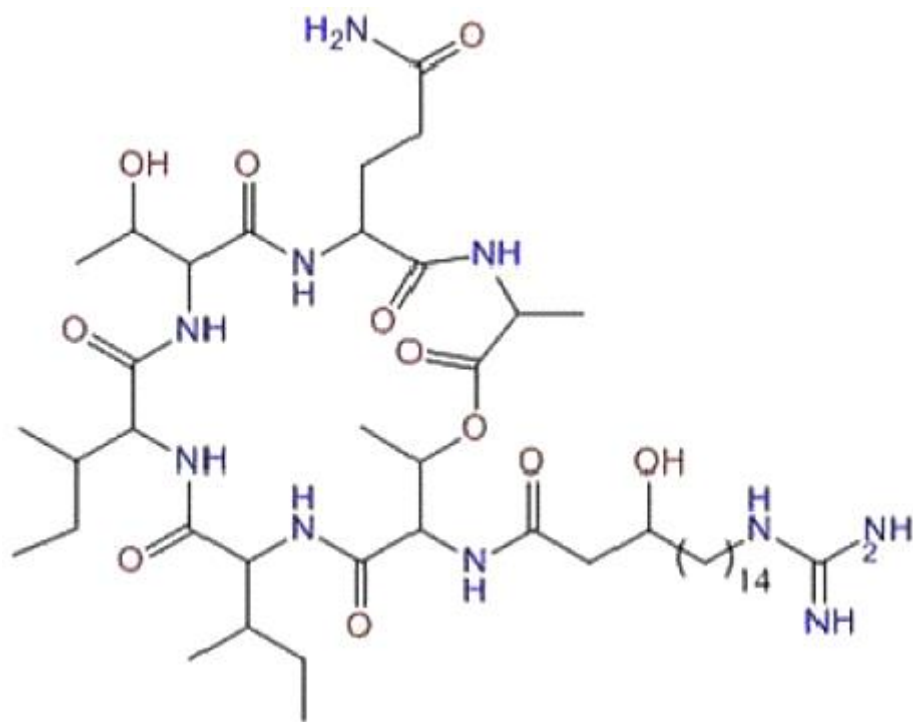




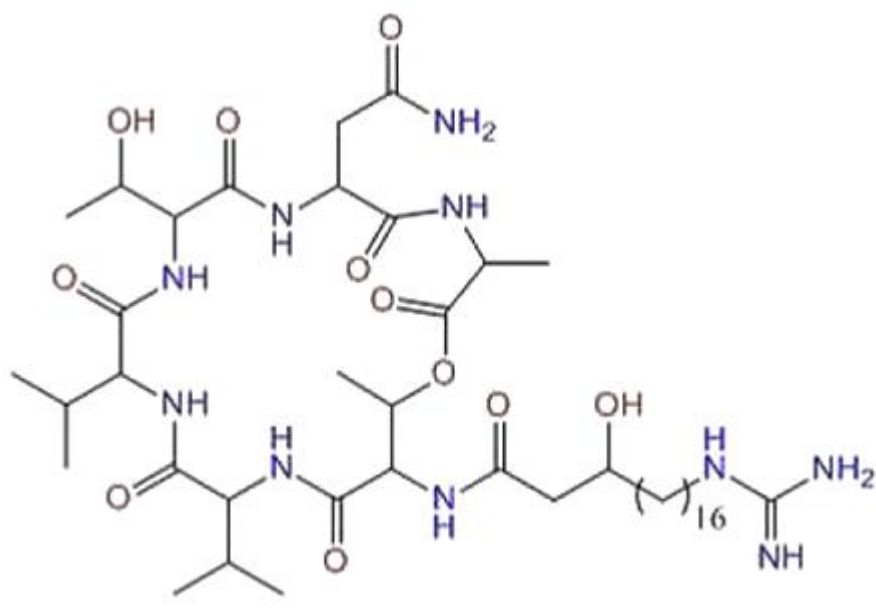
(Id)



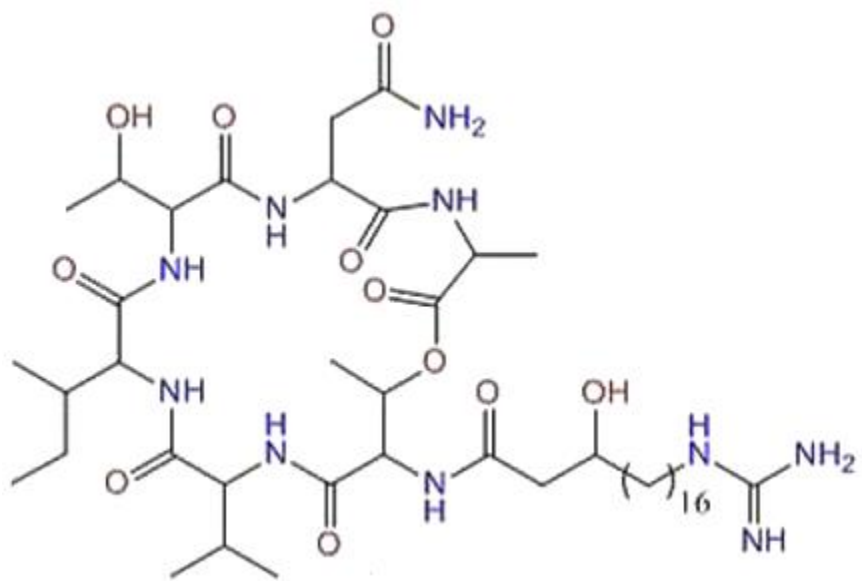
(Ie)



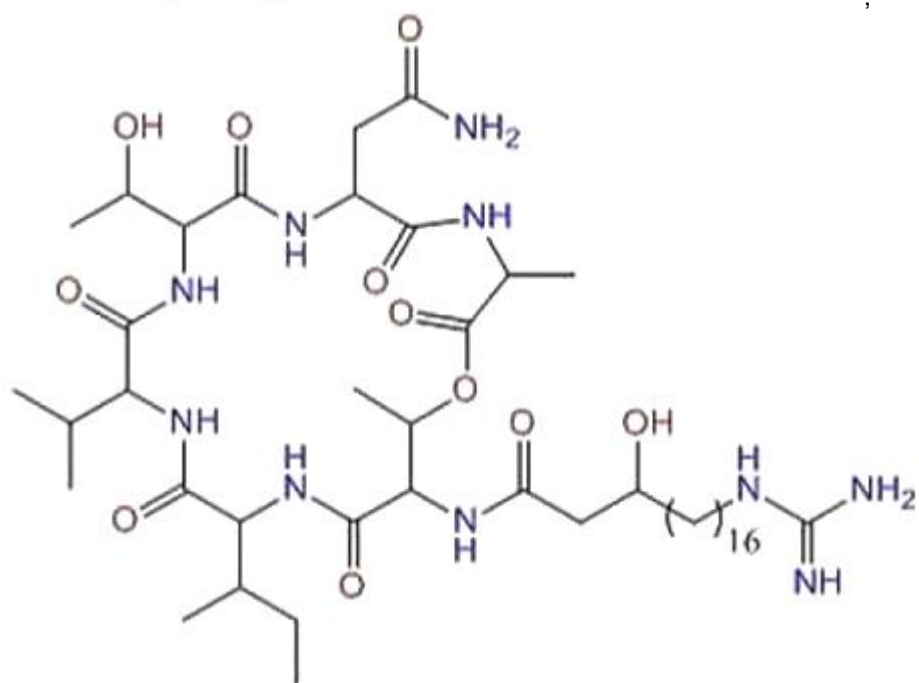
(If)



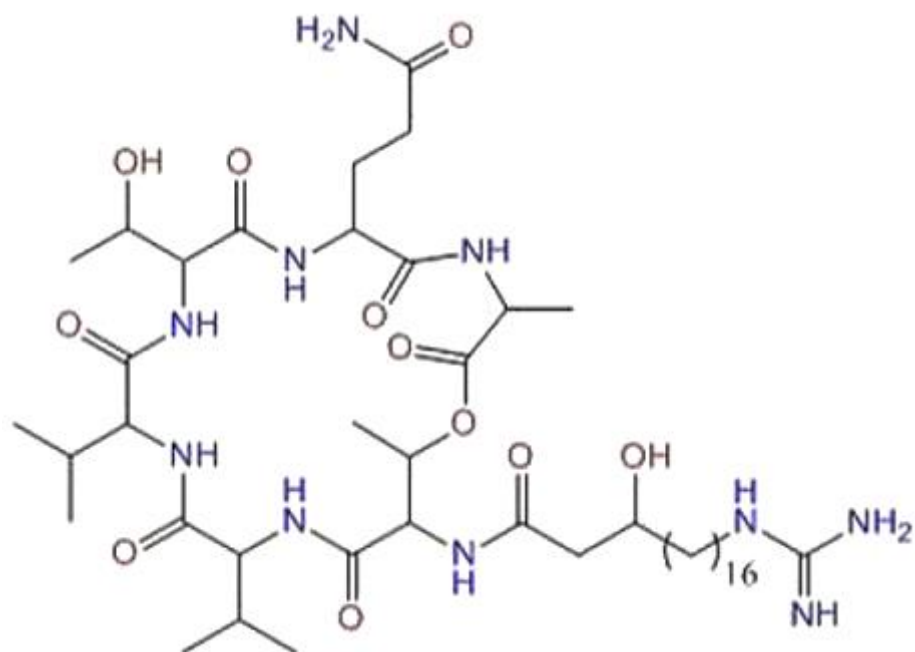
(Ig)



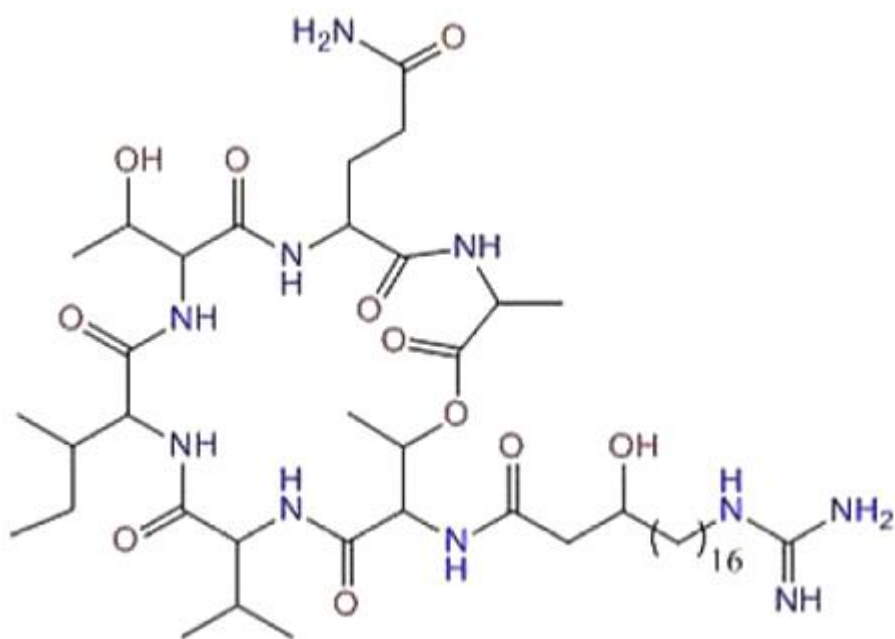
(Ih)



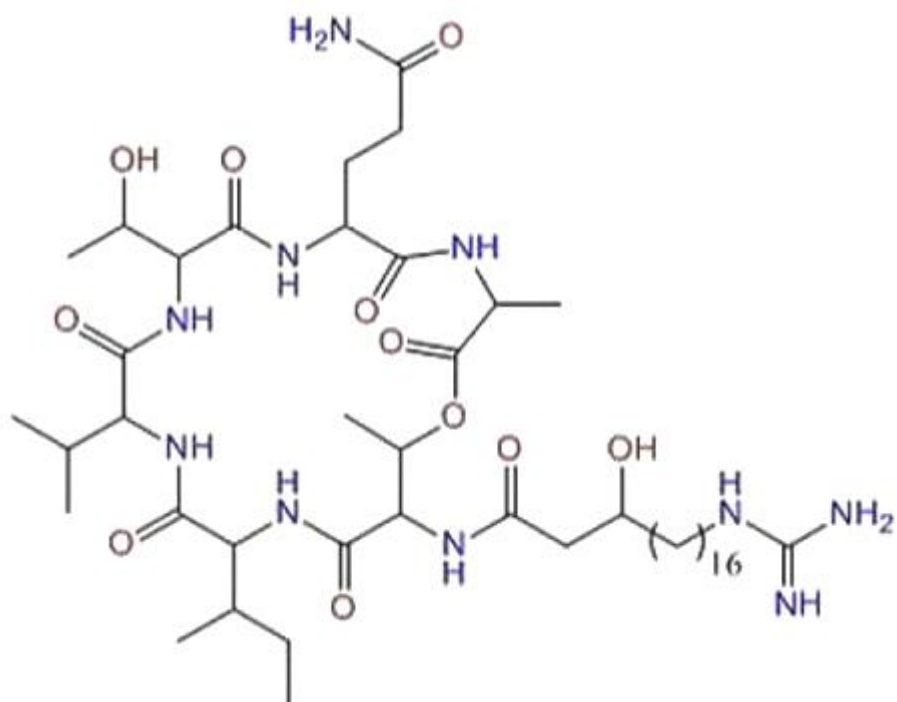
(Ii)



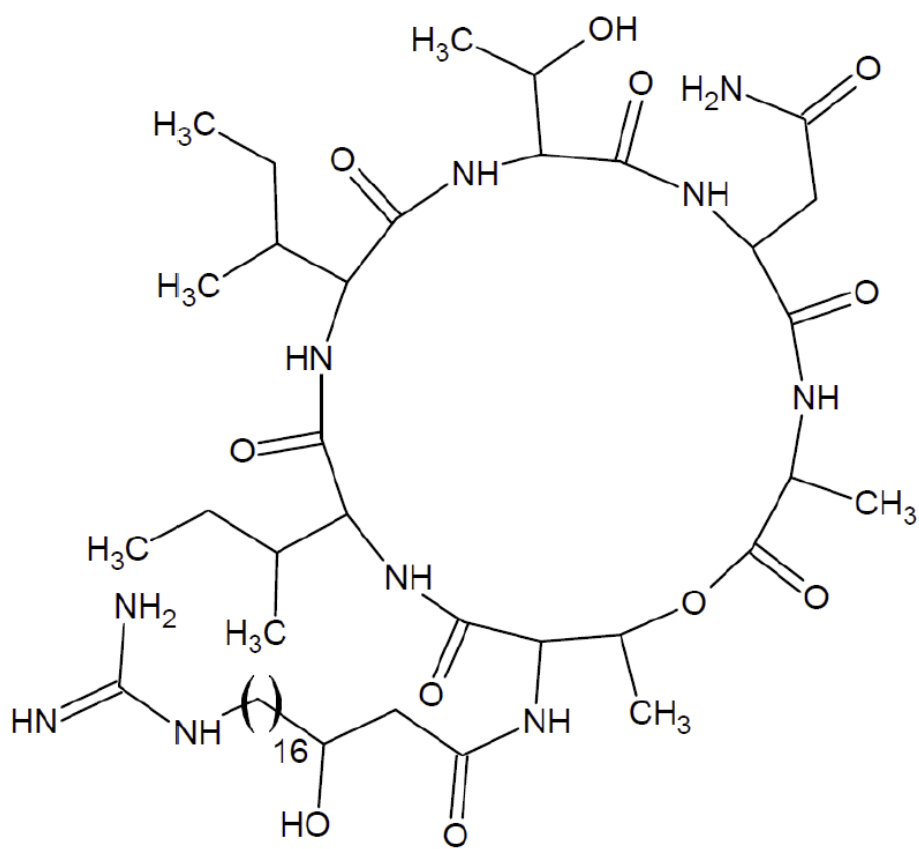
(Ij)



(Ik)

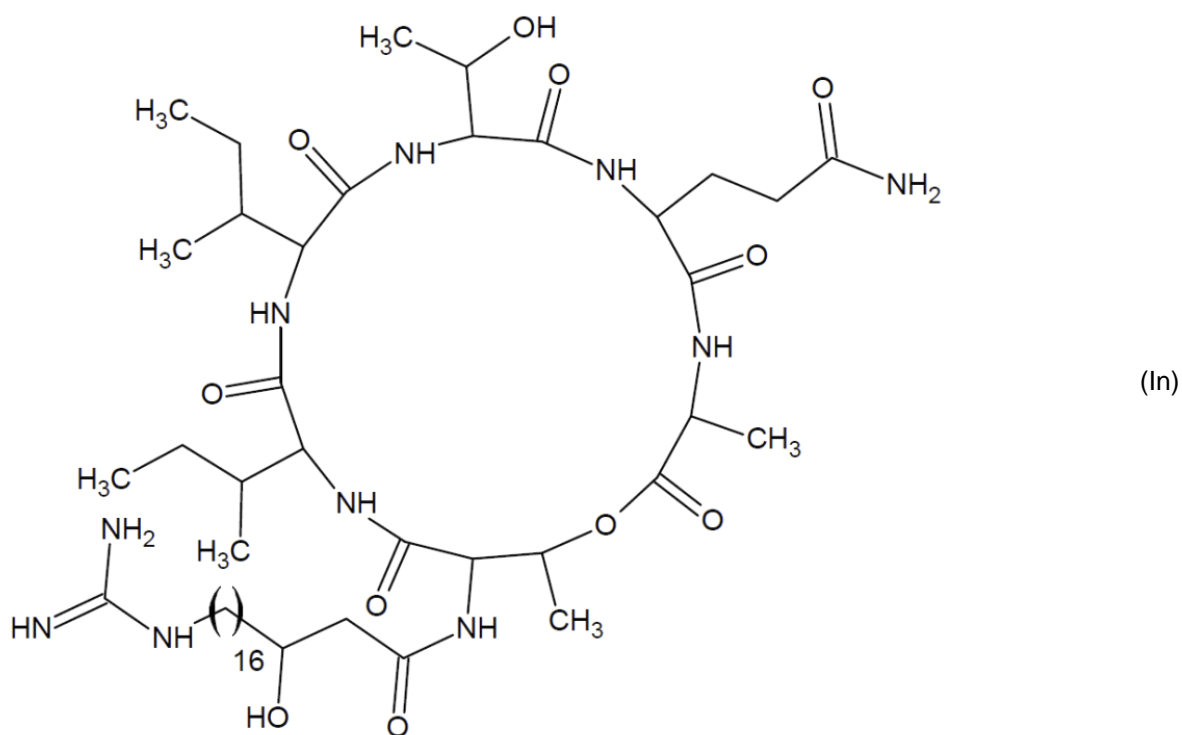


(II)

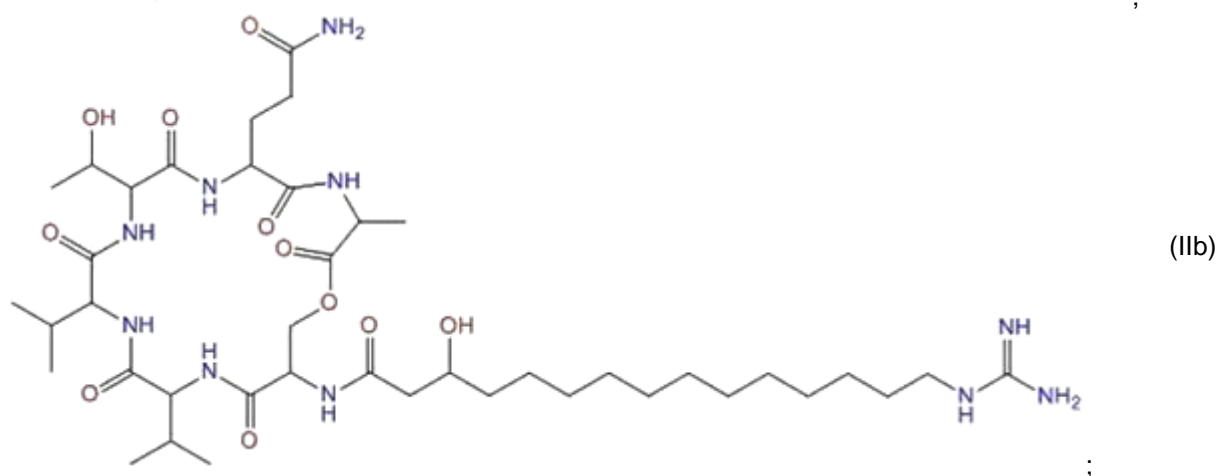
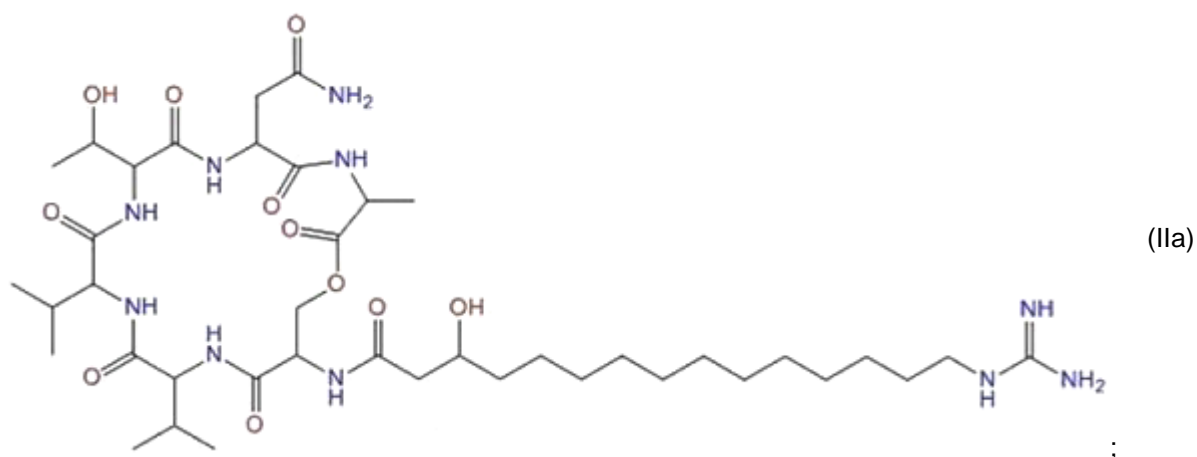


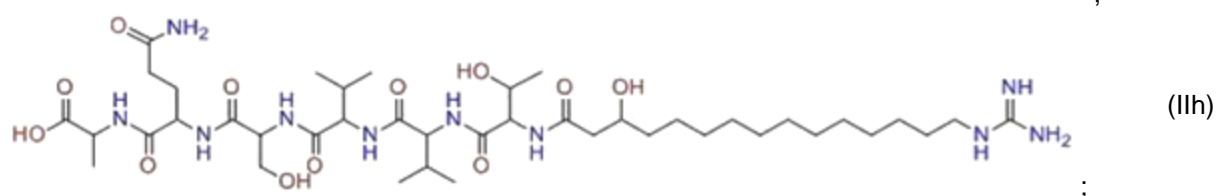
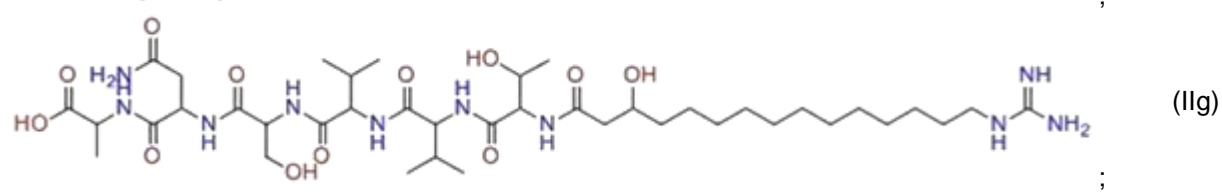
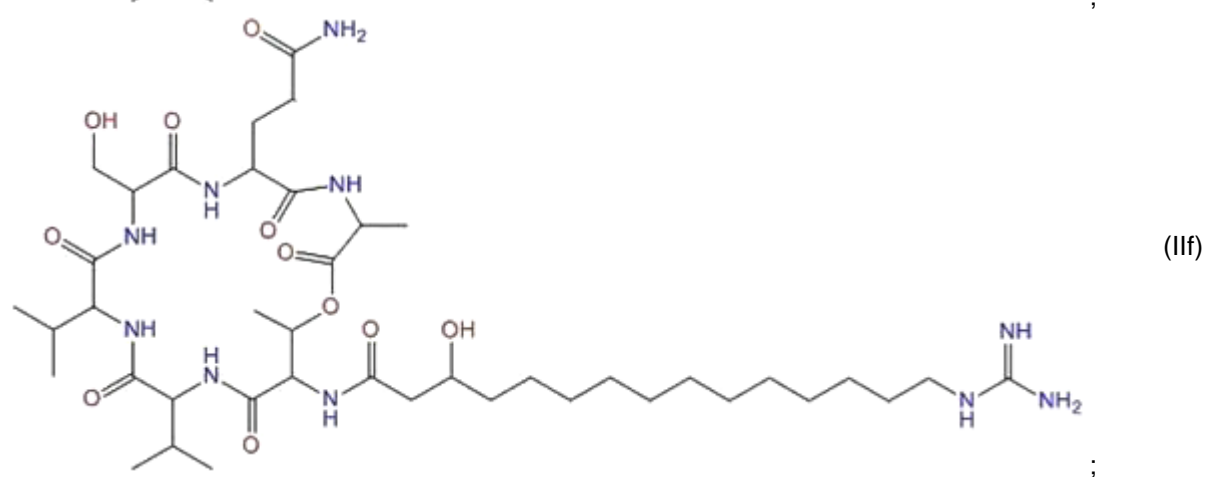
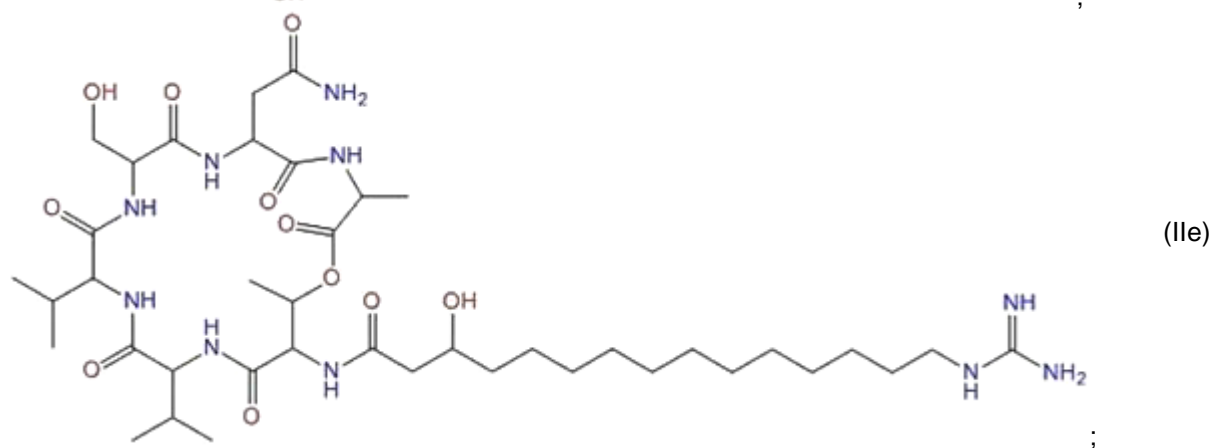
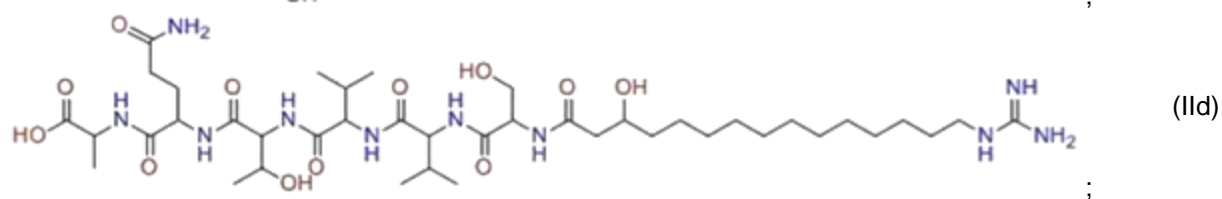
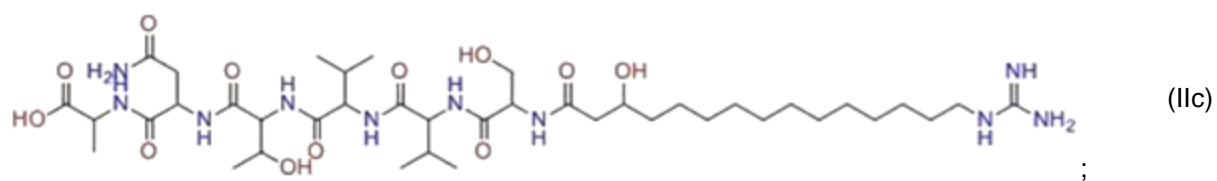
(Im)

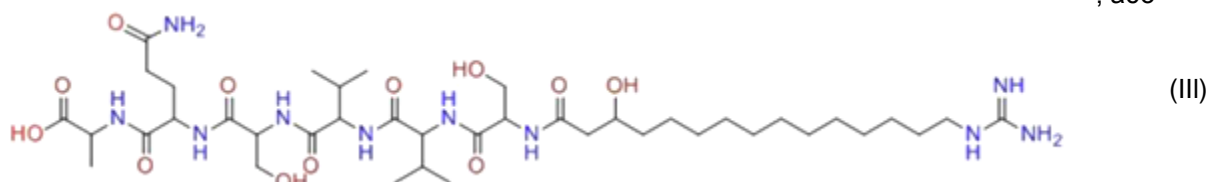
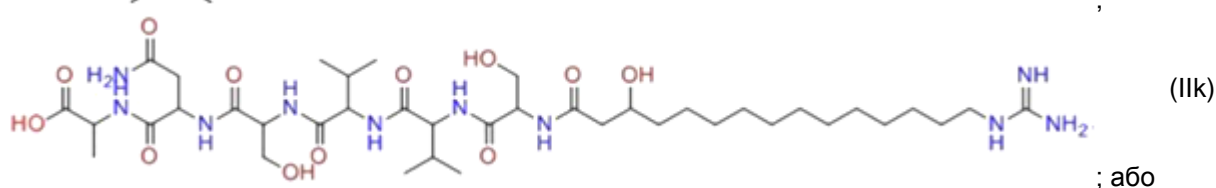
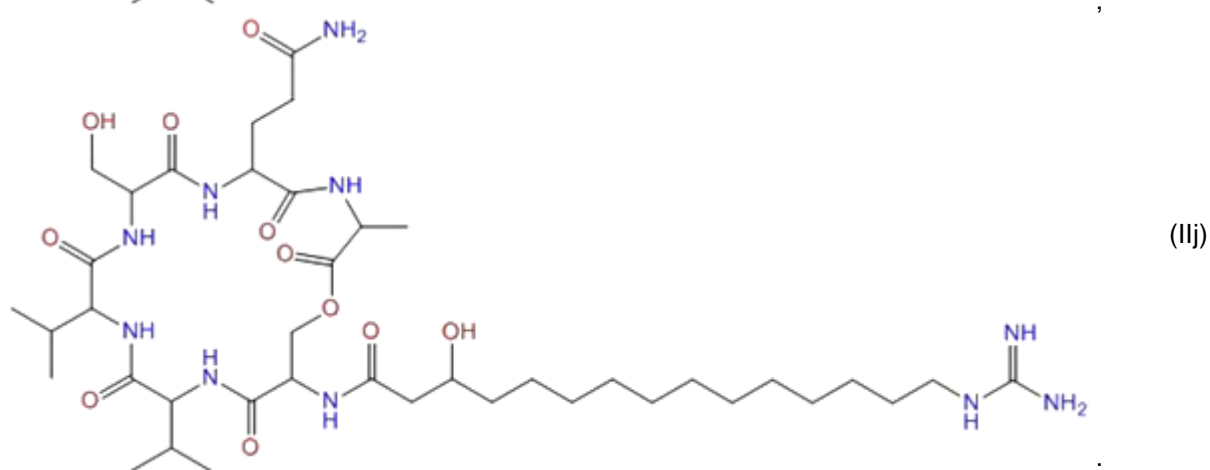
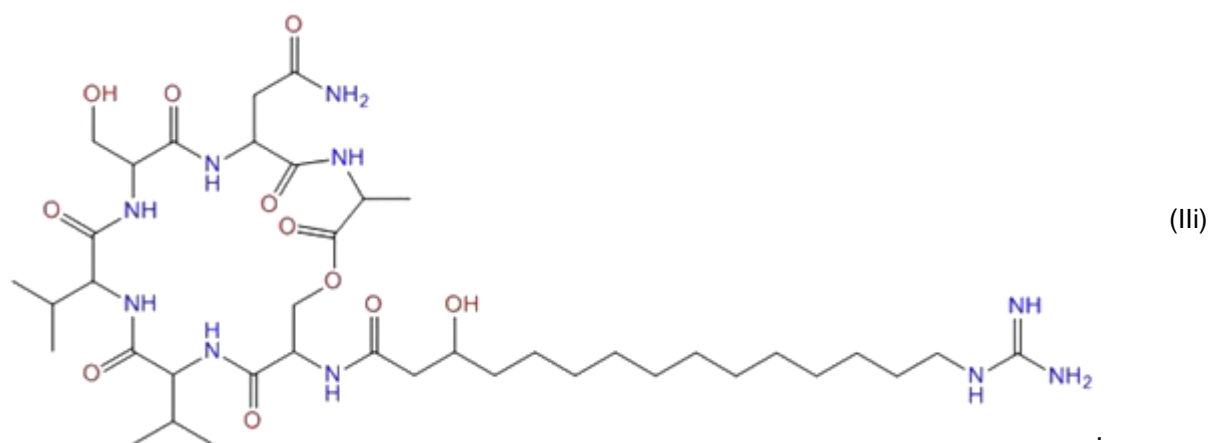
; або



У деяких варіантах втілення виділена сполука або Paeniserine являє собою







В інших аспектах даний винахід стосується способу розпізнавання фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus* та/або створення відповідного продукту ферментації. Спосіб включає секвенування *FusA-A3* у штамі виду *Paenibacillus* для характеристики варіантної фусарицидинсинтетази та аналізу фунгіцидної активності штаму виду *Paenibacillus*. У деяких аспектах *FusA-A3* секвенують з застосуванням праймерів на основі однієї або кількох послідовностей, показаних на Фіг. 13 (тобто, SEQ ID NO: 1-11). У деяких варіантах втілення перед скринінгом здійснюють вирощування клітин та відбір клітин з однією або кількома такими характеристиками: рівнем фусарицидинів з тирозином або фенілаланіном в амінокислотному залишку (3) (наприклад, LiF03a, LiF03b, LiF03c, LiF03d, LiF07a, LiF07b, LiF07c та/або LiF07d), який не піддається виявленню або є зниженим порівняно з фусарицидинами, підрахованими у контрольному штамі виду *Paenibacillus*, який містить фусарицидинсинтетазу дикого типу (тобто, експресує функціональну *FusA-A3*); та/або підвищеним рівнем *Paeniserine* (наприклад, *Paeniserine A1* та/або *Paeniserine B1*) та/або *Paeniprolixin* порівняно з підрахованими у контрольному штамі виду *Paenibacillus*, який включає фусарицидинсинтетазу дикого типу (тобто, експресує функціональну *FusA-A3*).

В одному аспекті даний винахід включає спосіб одержання продукту ферментації з широким спектром протигрибкової активності, причому спосіб включає культивування штаму виду *Paenibacillus* з варіантною фусарицидинсинтетазою до споруляції.



В іншому варіанті втілення даний винахід стосується способу розпізнавання фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus* з широким спектром протигрибкової активності, причому спосіб включає: а) секвенування *FusA-A3* у штамі виду *Paenibacillus* для характеристики варіантної фусарицидинсинтетази; б) аналіз фунгіцидної активності штаму виду *Paenibacillus* з варіантною фусарицидинсинтетазою; та в) вибір фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus* як такого, що має широкий спектр протигрибкової активності, якщо штам виду *Paenibacillus* включає варіантну фусарицидинсинтетазу і демонструє підвищену фунгіцидну активність порівняно з контрольним штамом виду *Paenibacillus*, який включає фусарицидинсинтетазу дикого типу. Спосіб також може включати кількісне визначення *Paeniserine* та/або *Paeniprolixin*, які продукуються штамом виду *Paenibacillus*, та вибір штаму виду *Paenibacillus* як такого, що має широкий спектр протигрибкової активності, якщо штам виду *Paenibacillus* продукує підвищений рівень *Paeniserine* та/або *Paeniprolixin* порівняно з контрольним штамом виду *Paenibacillus*, який включає фусарицидинсинтетазу дикого типу. В іншому аспекті спосіб також включає культивування фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus* для одержання фунгіцидного продукту ферментації.

В одному варіанті втілення даний винахід стосується способу одержання протигрибкового продукту ферментації, який включає фунгіцидний штам виду *Paenibacillus* з широким спектром протигрибкової активності, причому спосіб включає: а) секвенування *FusA-A3* у штамі виду *Paenibacillus* для характеристики варіантної фусарицидинсинтетази; б) аналіз фунгіцидної активності штаму виду *Paenibacillus* з варіантною фусарицидинсинтетазою; в) вибір фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus* як такого, що має широкий спектр протигрибкової активності, якщо штам виду *Paenibacillus* включає варіантну фусарицидинсинтетазу і демонструє підвищену фунгіцидну активність порівняно з контрольним штамом виду *Paenibacillus*, який включає фусарицидинсинтетазу дикого типу; та г) культивування фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus* для одержання фунгіцидного продукту ферментації.

У деяких варіантах втілення варіантна фусарицидинсинтетаза включає делецію принаймні одного, принаймні двох, принаймні трьох, принаймні чотирьох, принаймні п'яти, принаймні шести, принаймні семи, принаймні восьми, принаймні дев'яти або всіх десяти амінокислотних залишків, які визначають субстратну специфічність у *FusA-A3*. В інших аспектах варіантна фусарицидинсинтетаза включає делецію у *FusA-A3* принаймні одного амінокислотного залишку, вибраного з групи, до якої належать *Asp235*, *Ala236*, *Ser239*, *Thr278*, *Leu299*, *Ala301*, *Ala/Gly322*, *Val330*, *Cys331*, *Lys517* та їх комбінації.

Даний винахід також включає способи обробки рослин для боротьби з хворобами рослин шляхом застосування до рослини або частини рослини, такої, як листя, стебла, квітки плоди, коріння або насіння, або внесення у місце росту рослини або частини рослини, наприклад, у ґрунт, штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 або його мутантів або їх безклітинних препаратів або їх метаболітів.

При здійсненні способу згідно з винаходом композиція, що містить штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 або його фунгіцидний мутант, може бути застосована до будь-якої рослини або будь-якої частини будь-якої рослини, яку вирощують у будь-якому типі середовищ, яке застосовують для вирощування рослин (наприклад, у ґрунті, вермикуліті, нарізаному картоні та воді), або наносять на рослини або частини рослин, які вирощують у повітрі, наприклад, орхідеї або платицеріум. Композицію наносять, наприклад, шляхом розбризкування, розпилення, випарювання, розсіювання, опудрювання, поливання, упорскування, окроплення, заливання або окурювання. Як уже було зазначено вище, застосування може здійснюватись у будь-якому потрібному місці, в якому перебуває дана рослина, наприклад, у полі, саду, лісі, на плантації, у розсаднику, на ділянці для органічного вирощування, на газоні та у міському середовищі.

Композиції згідно з даним винаходом можуть бути одержані шляхом культивування штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 або фунгіцидного мутанта (штаму), який від нього походить, згідно зі способами, добре відомими спеціалістам у даній галузі, включаючи застосування середовищ та інших способів, описаних нижче у прикладах. До традиційних великомасштабних процесів культивування мікробів належать глибинна ферментація, твердофазна ферментація або рідиннофазне культивування. Ближче до кінця ферментації, з вичерпанням поживних речовин, клітини починають переходити від фази росту до фази споруляції, таким чином, що кінцевий продукт ферментації здебільшого складають спори, метаболіти та залишкове ферментаційне середовище. Споруляція є частиною природного життєвого циклу *Paenibacillus* і зазвичай започатковується клітинами у відповідь на обмеження поживних речовин. Ферментацію конфігурують таким чином, щоб досягався високий рівень колонієутворюючих одиниць та забезпечувалося сприяння споруляції. Бактеріальні клітини, спори та метаболіти у культуральному середовищі, яке утворюється в результаті ферментації, можуть бути

використані безпосередньо або концентровані традиційними промисловими способами, такими, як центрифугування, тангенціальна потокова фільтрація, глибинна фільтрація та випарювання.

Композиції згідно з даним винаходом включають продукти ферментації. У деяких варіантах втілення концентрований ферментаційний бульйон промивають, наприклад, з застосуванням процесу діалізації, для видалення залишкового ферментаційного бульйону та метаболітів. У контексті цього опису термін "концентрат бульйону" стосується суцільного бульйону (ферментаційного бульйону), який було концентровано традиційними промисловими способами, як описано вище, але він залишається у рідкій формі. Термін "ферментаційна тверда речовина" у контексті цього опису означає твердий матеріал, який залишається після висушування ферментаційного бульйону. Термін "продукт ферментації" у контексті цього опису стосується суцільного бульйону, концентрату бульйону та/або твердих продуктів ферментації. Композиції згідно з даним винаходом включають продукти ферментації.

Ферментаційний бульйон або концентрат бульйону висушують з додаванням або без додавання носіїв з застосуванням традиційних процесів висушування або таких способів, як висушування розпиленням, висушування заморожуванням, висушування на лотках, висушування у псевдорозрідженому шарі, висушування у барабанній сушарці або випарювання.

Утворені в результаті сухі продукти можуть піддаватися подальшій обробці, такій, як перемелювання або грануляція, для досягнення конкретного розміру частинок або фізичного формату. Після висушування також можуть додаватись описані нижче носії.

Безклітинні препарати ферментаційного бульйону штамів згідно з даним винаходом можуть бути одержані у будь-який спосіб, відомий спеціалістам у даній галузі, такий, як екстракція, центрифугування та/або фільтрація ферментаційного бульйону. Спеціалістам у даній галузі стане зрозуміло, що так звані безклітинні композиції можуть не бути позбавлені клітин, а бути здебільшого безклітинними або практично безклітинними, залежно від технології (наприклад, швидкості центрифугування), застосовуваної для видалення клітин. Утворений в результаті безклітинний препарат може бути підданий висушуванню та/або рецептуванню з компонентами, які сприяють його застосуванню до рослин або середовищ росту рослин. Способи концентрування та висушування, описані вище для ферментаційного бульйону також можуть бути застосовані для безклітинних препаратів.

В одному варіанті втілення продукт ферментації включає принаймні приблизно  $1 \times 10^4$  колонієутворюючих одиниць (КУО) мікроорганізму (наприклад, штаму виду *Raenibacillus* NRRL B-50972 або його фунгіцидного мутантного штаму)/мл бульйону. В іншому варіанті втілення продукт ферментації включає принаймні приблизно  $1 \times 10^5$  колонієутворюючих одиниць (КУО) мікроорганізму (наприклад, штаму виду *Raenibacillus* NRRL B-50972 або його фунгіцидного мутантного штаму)/мл бульйону. В іншому варіанті втілення продукт ферментації включає принаймні приблизно  $1 \times 10^6$  КУО мікроорганізму (наприклад, штаму виду *Raenibacillus* NRRL B-50972 або його фунгіцидного мутантного штаму)/мл бульйону. У ще одному варіанті втілення продукт ферментації включає принаймні приблизно  $1 \times 10^7$  КУО мікроорганізму (наприклад, штаму виду *Raenibacillus* NRRL B-50972 або його фунгіцидного мутантного штаму)/мл бульйону. В іншому варіанті втілення продукт ферментації включає принаймні приблизно  $1 \times 10^8$  КУО мікроорганізму (наприклад, штаму виду *Raenibacillus* NRRL B-50972 або його фунгіцидного мутантного штаму)/мл бульйону. В іншому варіанті втілення продукт ферментації включає принаймні приблизно  $1 \times 10^9$  КУО мікроорганізму (наприклад, штаму виду *Raenibacillus* NRRL B-50972 або його фунгіцидного мутантного штаму)/мл бульйону. В іншому варіанті втілення продукт ферментації включає принаймні приблизно  $1 \times 10^{10}$  КУО мікроорганізму (наприклад, штаму виду *Raenibacillus* NRRL B-50972 або його фунгіцидного мутантного штаму)/мл бульйону. В іншому варіанті втілення продукт ферментації включає принаймні приблизно  $1 \times 10^{11}$  КУО мікроорганізму (наприклад, штаму виду *Raenibacillus* NRRL B-50972 або його фунгіцидного мутантного штаму)/мл бульйону.

Композиції згідно з винаходом можуть застосовуватись як такі або, залежно від їх конкретних фізичних та/або хімічних властивостей, у формі їх рецептур або приготовлених з них форм для застосування, таких, як аерозолі, суспензії для капсул, концентрати для холодного розпилення, концентрати для теплого розпилення, гранули у капсулах, тонкодисперсні гранули, текучі концентрати для обробки насіння, готові для застосування розчини, розпилювані порошки, емульговані концентрати, емульсії "олія у воді", емульсії "вода в олії", макрогранули, мікрогранули, дисперговані в олії порошки, змішувані з олією текучі концентрати, змішувані з олією рідини, газ (під тиском), газогенеруючий продукт, піни, пасти, вкриті пестицидами насіння, концентрати суспензій, олійна дисперсія, суспоемульсійні концентрати, розчинні концентрати, суспензії, змочувані порошки, розчинні порошки, дисти та гранули, водорозчинні та дисперговані у воді гранули або таблетки, водорозчинні та дисперговані у воді порошки для обробки насіння,

змочувані порошки, природні продукти та синтетичні речовини, просочені активним інгредієнтом, а також мікроінкапсуляції у полімерних речовинах та у матеріалах покриття для насіння, а також УЛВ-композиції холодного розпилення та теплового розпилення.

У деяких варіантах втілення композиції згідно з винаходом є рідкими композиціями. Необмежувальними прикладами рідких композицій є концентровані суспензії та олійні дисперсії. В інших варіантах втілення композиції згідно з винаходом є твердими композиціями. Необмежувальними прикладами рідких композицій можуть бути висушені заморожуванням порошки та висушені розпиленням порошки.

Композиції згідно з даним винаходом можуть включати інертні компоненти для рецептування, які додають до композицій, що включають клітини, безклітинних препаратів або метаболітів для поліпшення ефективності, стійкості та придатності до використання і/або для полегшення обробки, пакування та кінцевого застосування. До таких інертних компонентів та інгредієнтів для рецептування можуть належати носії, стабілізатори, поживні речовини або модифікатори фізичних властивостей, які можуть додаватись окремо або у комбінації. У деяких варіантах втілення носії можуть включати рідкі матеріали, такі, як вода, олія та інші органічні або неорганічні розчинники, та тверді матеріали, такі, як мінерали, полімери або полімерні комплекси, одержані біологічно або шляхом хімічного синтезу. У деяких варіантах втілення носієм є зв'язувальна речовина або адгезив, що сприяє прилипанню композиції до частини рослини, такої, як насіння або коріння. Див., наприклад, [Taylor, A.G., et al., "Concepts and Technologies of Selected Seed Treatments", Annu. Rev. Phytopathol. 28: 321-339 (1990)]. До стабілізаторів можуть належати засоби проти грудкування, антиоксиданти, сикативи, протравлювачі або консерванти. До поживних речовин можуть належати джерела вуглецю, азоту та фосфору, такі, як цукри, полісахариди, олія, білки, амінокислоти, жирні кислоти та фосфати. До модифікаторів фізичних властивостей можуть належати об'ємоутворювальні агенти, змочувальні агенти, загусники, модифікатори pH, модифікатори реологічних властивостей, диспергатори, ад'юванти, поверхнево-активні речовини, антифризи або барвники. У деяких варіантах втілення композиція, яка включає клітини, безклітинний препарат або метаболіти, одержані шляхом ферментації, можуть застосовуватись безпосередньо з водою як розріджувачем або без неї і без подальшого приготування композиції. У деяких варіантах втілення інертні компоненти для рецептування додають після концентрування ферментаційного бульйону й під час та/або після висушування.

Усі рослини та частини рослин можуть піддаватись обробці згідно з винаходом. У даному контексті під рослинами слід розуміти всі рослини та популяції рослин, такі, як бажані та небажані дикі рослини або культурні рослини (включаючи природні культурні рослини). Культурними рослинами можуть бути рослини, які можуть бути одержані з застосуванням традиційних способів селекції та оптимізації або біотехнологічних та рекомбінантних способів або комбінацій цих способів, включаючи трансгенні рослини та сорти рослин, які можуть або не можуть бути захищені Правами рослинників-селекціонерів. Під частинами рослин слід розуміти всі надземні та підземні частини та органи рослин, такі, як пагони, листя, квітки та коріння, прикладами яких можуть бути листя, хвоя, ніжки, стебла, квітки, плодові тіла, плоди та насіння, а також коріння, бульбоплоди та кореневища. До частин рослин також належить вирощений матеріал і матеріал вегетативного та генеративного розмноження, наприклад, живці, бульбоплоди, кореневища, пагони та насіння.

Як уже було згадано вище, усі рослини та їхні частини можуть піддаватись обробці згідно з винаходом. В оптимальному варіанті втілення обробці піддають види та сорти рослин та їхні частини, які ростуть у диких умовах, або які одержують традиційними способами біологічної селекції, такими, як гібридизація або злиття протопластів. В іншому оптимальному варіанті втілення обробці піддають трансгенні рослини та сорти рослин, які було одержано рекомбінантними способами, у разі доцільності – у комбінації з традиційними способами (генетично модифіковані організми) та їхні частини. Термін "частини" або "частини рослин" пояснювався вище. Згідно з винаходом, особливу перевагу віддають рослинам сортів, які у кожному разі є доступними через торгову мережу або перебувають у використанні. Під сортами рослин слід розуміти рослини з новими властивостями, які було виведено шляхом традиційної селекції, шляхом мутагенезу або з застосуванням технологій рекомбінантних ДНК. Вони можуть набувати форми сортів, різновидів, біотипів та генотипів.

Обробку рослин та частин рослин композиціями згідно з винаходом здійснюють безпосередньо або шляхом впливу на середовище, ареал або місце зберігання з застосуванням традиційних способів обробки, наприклад, шляхом занурення, розбризкування, розпилення, напилання, випарювання, опудрювання, дрібнокрапельного обприскування, розсіювання, спінювання, нанесення пензлем, розкидання, упорскування, просочування,

струменевого зрошення та, у разі матеріалу для розмноження, зокрема, у разі насіння, а саме при здійсненні способів сухого протруювання насіння, мокрого протруювання насіння, напівсухого протруювання спосіб, інкрустації, вкривання одним або кількома шарами покриття і т. ін. Крім того, існує можливість нанесення активних речовин з застосуванням способу  
5 ультрамалооб'ємного обприскування або упорскування композиції активної речовини або самої активної речовини у ґрунт.

Оптимальним способом безпосередньої обробки рослин є нанесення на листя, тобто, композиції згідно з винаходом наносять прямо на листя, причому існує можливість регулювання частоти обробки та норми внесення відповідно до ступеня інфікування даним патогеном.

10 У разі системно активних сполук композиції згідно з винаходом досягають рослини через кореневу систему. У цьому разі обробку рослин здійснюють, дозволяючи композиціям згідно з винаходом діяти на середовище рослини. Це може здійснюватися, наприклад, шляхом просочування, включення у ґрунт або розчин поживних речовин, тобто, місце росту рослини (наприклад, ґрунт або гідропонічні системи) просочують рідкою формою композицій згідно з  
15 винаходом, або внесення у ґрунт, тобто, композиції згідно з винаходом включають у місце росту рослин у твердій формі (наприклад, у формі гранул). У разі рисових культур це також може здійснюватися шляхом внесення відміряної кількості композицій згідно з винаходом у залитий рисовий чек у твердій формі (наприклад, у формі гранул).

Оптимальними рослинами є рослини з групи корисних рослин, декоративних рослин, дернових рослин, звичайних дерев, які використовують як декоративні рослини у громадському та побутовому секторах, та лісових дерев. До лісових дерев належать дерева для виробництва лісоматеріалу, целюлози, паперу та продуктів, які виробляють з частин дерев.

Термін "корисні рослини" у контексті цього опису стосується культурних рослин, які застосовують для одержання продуктів харчування, кормів, палива або для промислових цілей.

25 До корисних рослин, які можуть бути піддані обробці та/або поліпшенню з застосуванням композицій та способів згідно з даним винаходом, належать, наприклад, такі типи рослин: дернові рослини, виноград, злаки, наприклад, пшениця, ячмінь, жито, овес, рис, кукурудза та просо / сорго; буряк, наприклад, цукровий буряк та кормовий буряк; плодові рослини, наприклад, зерняткові плоди, кісточкові плоди та соковиті плоди, наприклад, яблуні, груші, сливи, персики, мигдаль, вишні та ягоди, наприклад, полуниця, малина, ожина; бобові, наприклад, квасоля, сочевиця, горох та соя; олійні культури, наприклад, олійний рапс, гірчиця, мак, оливки, соняшник, кокос, рицина, какао та арахіс; гарбузи або кабачки, огірки та дині; волокнисті рослини, наприклад, бавовна, льон, коноплі та джут; цитрусові плоди, наприклад, апельсини, лимони, грейпфрути та мандарини; овочеві культури, наприклад, шпинат, салат, спаржа, види капусти, морква, цибуля, томати, картопля та болгарський перець; лаврові, наприклад, авокадо, кориця, камфора або інші рослини, такі, як тютюн, горіхи, кава, баклажан, цукрова тростина, чай, перець, виноград, хміль, банани, каучуконосні рослини та декоративні рослини, наприклад, квіткові рослини, чагарники, листопадні дерева та хвойні дерева. Цей перелік є необмеженим.

40 Зазначені нижче рослини вважаються особливо придатними як цільові культури для застосування композицій та способів згідно з даним винаходом: бавовна, баклажан, дернові рослини, зерняткові плоди, кісточкові плоди, соковиті плоди, кукурудза, пшениця, ячмінь, огірки, тютюн, виноград, рис, злаки, горох, квасоля, соя, олійний рапс, томати, болгарський перець, дині, капуста, картопля та яблуня.

45 Прикладами дерев, які можуть бути поліпшені з застосуванням способу згідно з винаходом, можуть бути: *Abies* sp., *Eucalyptus* sp., *Picea* sp., *Pinus* sp., *Aesculus* sp., *Platanus* sp., *Tilia* sp., *Acer* sp., *Tsuga* sp., *Fraxinus* sp., *Sorbus* sp., *Betula* sp., *Crataegus* sp., *Ulmus* sp., *Quercus* sp., *Fagus* sp., *Salix* sp., *Populus* sp.

Оптимальними деревами, які можуть бути поліпшені з застосуванням способу згідно з винаходом, є представники видів дерев *Aesculus*: *A. hippocastanum*, *A. pariflora*, *A. carnea*; представники видів дерев *Platanus*: *P. aceriflora*, *P. occidentalis*, *P. racemosa*; представники видів дерев *Picea*: *P. abies*; представники видів дерев *Pinus*: *P. radiata*, *P. ponderosa*, *P. contorta*, *P. sylvestre*, *P. elliotii*, *P. monticola*, *P. albicaulis*, *P. resinosa*, *P. palustris*, *P. taeda*, *P. flexilis*, *P. jeffregii*, *P. baksiana*, *P. strobus*; представники видів дерев *Eucalyptus*: *E. grandis*, *E. globulus*, *E. camadentis*, *E. nitens*, *E. obliqua*, *E. regnans*, *E. pilularis*.

Особливу перевагу серед дерев, які можуть бути поліпшені з застосуванням способу згідно з винаходом, віддають таким представникам видів дерев, як *Pinus*: *P. radiata*, *P. ponderosa*, *P. contorta*, *P. sylvestre*, *P. strobus*; представникам видів дерев *Eucalyptus*: *E. grandis*, *E. globulus*, *E. camadentis*.

60 Найбільшу перевагу серед дерев, які можуть бути поліпшені з застосуванням способу згідно

з винаходом, віддають таким видам, як кінський каштан, платан, липа, клен.

Даний винахід також може застосовуватися для будь-яких дернових трав, включаючи холодостійкі дернові трави та теплолюбні дернові трави. Прикладами холодостійких дернових трав можуть бути тонконіг (*Poa* spp.), такий, як тонконіг луговий (*Poa pratensis* L.), тонконіг звичайний (*Poa trivialis* L.), тонконіг сплюснений (*Poa compressa* L.), тонконіг однорічний (*Poa annua* L.), тонконіг гайовий (*Poa glaucantha* Gaudin), тонконіг лісовий (*Poa nemoralis* L.) та тонконіг бульбистий (*Poa bulbosa* L.); мітлиця (*Agrostis* spp.), такі, як мітлиця болотна (*Agrostis palustris* Huds.), мітлиця тонка (*Agrostis tenuis* Sibth.), мітлиця собача (*Agrostis canina* L.), південнонімецька змішана мітлиця (види *Agrostis*, включаючи *Agrostis tenuis* Sibth., *Agrostis canina* L. та *Agrostis palustris* Huds.) та польовиця (*Agrostis alba* L.);

Костриці (*Festuca* spp.), такі, як костриця червона (*Festuca rubra* L., види *rubra*), костриця повзуча (*Festuca rubra* L.), костриця червона мінлива (*Festuca rubra commutata* Gaud.), костриця овеча (*Festuca ovina* L.), костриця жорсткувата (*Festuca longifolia* Thuill.), костриця аметистова (*Festuca capillata* Lam.), костриця очеретяна (*Festuca arundinacea* Schreb.) та костриця лугова (*Festuca elanor* L.);

пажитниці (*Lolium* spp.), такі, як пажитниця багатоквіткова (*Lolium multiflorum* Lam.), пажитниця багаторічна (*Lolium perenne* L.) та пажитниця італійська (*Lolium multiflorum* Lam.);

та житняки (*Agropyron* spp.), такий, як житняк гребінчастий (*Agropyron cristatum* (L.) Gaertn.), житняк пустельний (*Agropyron desertorum* (Fisch.) Schult.) та житняк Сміта (*Agropyron smithii* Rydb.)

Прикладами інших холодостійких дернових трав є амофіли (*Ammophila breviligulata* Fern.), стоколос безостий (*Bromus inermis* Leyss.), рогозові, такі, як тимофіївка (*Phleum pratense* L.), типофіївка тіщана (*Phleum subulatum* L.), грястиця збірна (*Dactylis glomerata* L.), покісниця розставлена (*Puccinellia distans* (L.) Parl.) та гребінник звичайний (*Cynosurus cristatus* L.)

Прикладами теплолюбних дернових трав є бермудська трава (*Cynodon* spp. L. C. Rich), цойсія (*Zoysia* spp. Willd.), августинова трава (*Stenotaphrum secundatum* Walt Kuntze), епемохля змієхвоста (*Eremochloa ophiuroides* Munro Hack.), аксонопс афінський (*Axonopus affinis* Chase), гречка помітна (*Paspalum notatum* Flugge), кікуйя (*Pennisetum clandestinum* Hochst. ex Chiov.), бізонова трава (*Buchloe dactyloids* (Nutt.) Engelm.), грамова трава (*Bouteloua gracilis* (H.B.K.) Lag. ex Griffiths), паспалум піхвовий (*Paspalum vaginatum* Swartz) та бутелоуа коротконизхідна (*Bouteloua curtipendula* (Michx. Torr.). Зазвичай холодостійким дерновим травам віддають перевагу згідно з винаходом. Особливу перевагу віддають таким рослинам, як тонконіг, мітлиця та польовиця, костриці та пажитниці. Особливу перевагу віддають мітлиці.

Композиції згідно з винаходом мають потужну мікробіцидну активність і можуть застосовуватися для боротьби з небажаними мікроорганізмами, такими, як грибки та бактерії, для захисту культур та захисту матеріалів.

Винахід також стосується способу боротьби з небажаними мікроорганізмами, який характеризується тим, що композиції згідно з винаходом застосовують до фітопатогенних грибів, фітопатогенних бактерій та/або їхнього середовища.

Фунгіциди застосовують для захисту культур у боротьбі з фітопатогенними грибами. Вони характеризуються чудовою ефективністю проти широкого спектра фітопатогенних грибів, включаючи ґрунтові патогени, які є конкретними представниками класів *Plasmodiophoromycetes*, *Peronosporomycetes* (Syn. Ооміцети), *Chytridiomycetes*, *Zygomycetes*, *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* та *Deuteromycetes* (синонім *Fungi imperfecti*). Деякі фунгіциди є системно активними і можуть застосовуватися для захисту рослин як фунгіцид для обробки листя, протруювання насіння або внесення у ґрунт. Крім того, вони є прийнятними для боротьби з грибами, які, крім іншого, уражують деревину або коріння рослин.

Бактерициди застосовують для захисту культур у боротьбі з *Pseudomonadaceae*, *Rhizobiaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Corynebacteriaceae* та *Streptomycetaceae*.

Необмежувальними прикладами патогенів грибкових захворювань, які піддаються лікуванню згідно з винаходом, можуть бути:

хвороби, викликані патогенами справжньої борошнистої роси, наприклад, видів *Blumeria*, наприклад, *Blumeria graminis*; видів *Podosphaera*, наприклад, *Podosphaera leucotricha*; видів *Sphaerotheca*, наприклад, *Sphaerotheca fuliginea*; видів *Uncinula*, наприклад, *Uncinula necator*;

хвороби, викликані патогенами захворювання інші, наприклад, видів *Gymnosporangium*, наприклад, *Gymnosporangium sabinae*; видів *Hemileia*, наприклад, *Hemileia vastatrix*; видів *Phakopsora*, наприклад, *Phakopsora pachyrhizi* та *Phakopsora meibomia*; видів *Puccinia*, наприклад, *Puccinia recondite*, *P. trititica*, *P. graminis* або *P. striiformis*; видів *Uromyces*, наприклад, *Uromyces appendiculatus*;

хвороби, викликані патогенами з групи, до якої належать ооміцети, наприклад, видів *Albugo*,

наприклад, *Albugo candida*; видів *Bremia*, наприклад, *Bremia lactucae*; видів *Peronospora*, наприклад, *Peronospora pisi* або *P. brassicae*; видів фітофтор, наприклад, *Phytophthora infestans*; видів *Plasmopara*, наприклад, *Plasmopara viticola*; видів *Pseudoperonospora*, наприклад, *Pseudoperonospora humuli* або *Pseudoperonospora cubensis*; видів пітиозної кореневої гнилі, наприклад, *Pythium ultimum*;

хвороби плямистості листя та хвороби вілту листя, викликані, наприклад, видами *Alternaria*, наприклад, *Alternaria solani*; видами *Cercospora*, наприклад, *Cercospora beticola*; видами *Cladosporium*, наприклад, *Cladosporium cucumerinum*; видами *Cochliobolus*, наприклад, *Cochliobolus sativus* (форма конідій: *Drechslera*, синонім: *Helminthosporium*), *Cochliobolus miyabeanus*; видами *Colletotrichum*, наприклад, *Colletotrichum lindemuthianum*; видами *Cycloconium*, наприклад, *Cycloconium oleaginum*; видами *Diaporthe*, наприклад, *Diaporthe citri*; видами *Elsinoe*, наприклад, *Elsinoe fawcettii*; видами *Gloeosporium*, наприклад, *Gloeosporium laeticolor*; видами *Glomerella*, наприклад, *Glomerella cingulata*; видами *Guignardia*, наприклад, *Guignardia bidwellii*; видами *Leptosphaeria*, наприклад, *Leptosphaeria maculans*, *Leptosphaeria nodorum*; видами *Magnaporthe*, наприклад, *Magnaporthe grisea*; видами *Marssonina*, наприклад, *Marssonina coronaria*; видами *Microdochium*, наприклад, *Microdochium nivale*; видами *Mycosphaerella*, наприклад, *Mycosphaerella graminicola*, *M. arachidicola* та *M. fijiensis*; видами *Phaeosphaeria*, наприклад, *Phaeosphaeria nodorum*; видами *Pyrenophora*, наприклад, *Pyrenophora teres*, *Pyrenophora tritici repentis*; видами *Ramularia*, наприклад, *Ramularia collo-cygni*, *Ramularia areola*; видами *Rhynchosporium*, наприклад, *Rhynchosporium secalis*; видами *Septoria*, наприклад, *Septoria apii*, *Septoria lycopersii*; видами *Typhula*, наприклад, *Typhula incarnata*; видами *Venturia*, наприклад, *Venturia inaequalis*;

хвороби коріння та стебел, викликані, наприклад, видами *Corticium*, наприклад, *Corticium graminearum*; видами *Fusarium*, наприклад, *Fusarium oxysporum*; видами *Gaeumannomyces*, наприклад, *Gaeumannomyces graminis*; видами *Rhizoctonia*, такими, як, наприклад, *Rhizoctonia solani*; хвороби *Sarocladium*, викликані, наприклад, *Sarocladium oryzae*; хвороби *Sclerotium*, викликані, наприклад, *Sclerotium oryzae*; видами *Tapesia*, наприклад, *Tapesia acuformis*; видами *Thielaviopsis*, наприклад, *Thielaviopsis basicola*;

хвороби колосся та волоті (включаючи качани кукурудзи), викликані, наприклад, видами *Alternaria*, наприклад, *Alternaria spp.*; видами *Aspergillus*, наприклад, *Aspergillus flavus*; видами *Cladosporium*, наприклад, *Cladosporium cladosporioides*; видами *Claviceps*, наприклад, *Claviceps purpurea*; видами *Fusarium*, наприклад, *Fusarium culmorum*; видами *Gibberella*, наприклад, *Gibberella zeae*; видами *Monographella*, наприклад, *Monographella nivalis*; видами *Septoria*, наприклад, *Septoria nodorum*;

хвороби, викликані сажковими грибами, наприклад, видів *Sphacelotheca*, наприклад, *Sphacelotheca reiliana*; видів *Tilletia*, наприклад, *Tilletia caries*, *T. controversa*; видів *Urocystis*, наприклад, *Urocystis occulta*; видів *Ustilago*, наприклад, *Ustilago nuda*, *U. nuda tritici*;

плодова гниль, викликана, наприклад, видами *Aspergillus*, наприклад, *Aspergillus flavus*; видами *Botrytis*, наприклад, *Botrytis cinerea*; видами *Penicillium*, наприклад, *Penicillium expansum* та *P. purpurogenum*; видами *Sclerotinia*, наприклад, *Sclerotinia sclerotiorum*; видами *Verticillium*, наприклад, *Verticillium albo-atrum*;

Пов'язані з цвілью, вілтом, гниллю та виляганням хвороби, які передаються через насіння та ґрунт і викликаються, наприклад, видами *Alternaria*, викликаються, наприклад, *Alternaria brassicicola*; видами *Aphanomyces*, викликаються, наприклад, *Aphanomyces euteiches*; видами *Ascochyta*, викликаються, наприклад, *Ascochyta lentis*; видами *Aspergillus*, викликаються, наприклад, *Aspergillus flavus*; видами *Cladosporium*, викликаються, наприклад, *Cladosporium herbarum*; видами *Cochliobolus*, викликаються, наприклад, *Cochliobolus sativus*; (форма конідії: *Drechslera*, *Bipolaris*, синонім: *Helminthosporium*); видами *Colletotrichum*, викликаються, наприклад, *Colletotrichum coccodes*; видами *Fusarium*, викликаються, наприклад, *Fusarium culmorum*; видами *Gibberella*, викликаються, наприклад, *Gibberella zeae*; видами *Macrophomina*, викликаються, наприклад, *Macrophomina phaseolina*; видами *Monographella*, викликаються, наприклад, *Monographella nivalis*; видами *Penicillium*, викликаються, наприклад, *Penicillium expansum*; видами *Phoma*, викликаються, наприклад, *Phoma lingam*; видами *Phomopsis*, викликаються, наприклад, *Phomopsis sojae*; видами *Phytophthora*, викликаються, наприклад, *Phytophthora cactorum*; видами *Pyrenophora*, викликаються, наприклад, *Pyrenophora graminea*; видами *Pyricularia*, викликаються, наприклад, *Pyricularia oryzae*; видами *Pythium*, викликаються, наприклад, *Pythium ultimum*; видами *Rhizoctonia*, викликаються, наприклад, *Rhizoctonia solani*; видами *Rhizopus*, викликаються, наприклад, *Rhizopus oryzae*; видами *Sclerotium*, викликаються, наприклад, *Sclerotium rolfsii*; видами *Septoria*, викликаються, наприклад, *Septoria nodorum*; видами *Typhula*, викликаються, наприклад, *Typhula incarnata*; видами *Verticillium*, викликаються,

наприклад, *Verticillium dahliae*;

пухлини, гали та відьмині мітли, викликані, наприклад, видами *Nectria*, наприклад, *Nectria galligena*;

хвороби вілту, викликані, наприклад, видами *Monilinia*, наприклад, *Monilinia laxa*;

5 хвороби пухирчастості листя або курчавості листя, викликані, наприклад, видами *Exobasidium*, наприклад, *Exobasidium vexans*;

видами *Taphrina*, наприклад, *Taphrina deformans*;

пов'язані з ослабленням деревних рослин хвороби, викликані, наприклад, хворобою еска, викликані, наприклад, *Phaemoniella clamydospora*, *Phaeoacremonium aleophilum* та *Fomitiporia mediterranea*; еutipоз, викликаний, наприклад, *Eutypa lata*; хвороби генодерма, викликані, наприклад, *Ganoderma boninense*; хвороби *Rigidoporus*, викликані, наприклад, *Rigidoporus lignosus*;

хвороби квіток та насіння, викликані, наприклад, видами *Botrytis*, наприклад, *Botrytis cinerea*;

15 хвороби бульбоплідів рослин, викликані, наприклад, видами *Rhizoctonia*, наприклад, *Rhizoctonia solani*; видами *Helminthosporium*, наприклад, *Helminthosporium solani*;

Кіла хрестоцвітних, викликана, наприклад, видами *Plasmodiophora*, наприклад, *Plasmodiophora brassicae*;

хвороби, викликані бактеріальними патогенами, наприклад, видами *Xanthomonas*, наприклад, *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*; видами *Pseudomonas*, наприклад, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*; видами *Erwinia*, наприклад, *Erwinia amylovora*.

Переважно контролюють нижчезазначені хвороби сої:

Грибкові захворювання листя, стебел, стручків та насіння, викликані, наприклад, плямистістю листя *Alternaria* (*Alternaria spec. atrans tenuissima*), *Anthraco* (*Colletotrichum gloeosporoides dematium* var. *truncatum*), бурю плямистістю (*Septoria glycines*), церкоспороною плямистістю та пошкодженням листя (*Cercospora kikuchii*), викликану хоанефорою плямистістю листя (*Choanephora infundibulifera trispora* (Syn.)), викликану дактуліофорою плямистістю листя (*Dactulophora glycines*), псевдоборошнистою росю (*Peronospora manshurica*), плямистістю Дрехслера (*Drechslera glycini*), селеноморфозною плямистістю листя (*Cercospora sojae*), викликану лептосферуліною плямистістю листя (*Leptosphaerulina trifolii*), філостиктозною плямистістю листя (*Phyllosticta sojaecola*), гниллю бобів та стебел (*Phomopsis sojae*), справжньою борошнистою росю (*Microsphaera diffusa*), викликану піренохетою плямистістю листя (*Pyrenochaeta glycines*), ризоктоніозом надземних частин та листя (*Rhizoctonia solani*), іржею (*Phakopsora pachyrhizi*, *Phakopsora meibomia*), паршею (*Sphaceloma glycines*), стемфіліозом (*Stemphylium botryosum*), мішенеподібною плямистістю листя (*Corynespora cassiicola*).

Грибкові захворювання коріння та основ стебел, викликані, наприклад, чорною кореневою гниллю (*Calonectria rotalariae*), вугільною гниллю (*Macrophoma phaseolina*), фузаріозною гниллю або в'яненням, кореневою гниллю та гниллю бобів та гілок (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium orthoceras*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium equiseti*), викликану міколетподискусом кореневою гниллю (*Mycolopodiscus terrestris*), неокосмоспорою (*Neocosmospora vasinfecta*), гниллю бобів та стебел (*Diaporthe phaseolorum*), стебловим раком (*Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*), фітофторозом (*Phytophthora megasperma*), бурю гниллю стебел (*Phialophora gregata*), грибною гниллю (*Pythium aphanidermatum*, *Pythium irregulare*, *Pythium debaryanum*, *Pythium myriotylum*, *Pythium ultimum*), ризоктоніозною кореневою гниллю, гниллю стебел та виляганням (*Rhizoctonia solani*), склероціальною гниллю стебел (*Sclerotinia sclerotiorum*), південною склероціальною гниллю (*Sclerotinia rolfsii*), викликану тіславіопсисом кореневою гниллю (*Thielaviopsis basicola*).

Фунгіцидні композиції згідно з винаходом застосовують для лікувального або захисного / профілактичного контролю над фітопатогенними грибами. Отже, винахід також стосується лікувальних та захисних способів для боротьби з фітопатогенними грибами шляхом застосування композицій згідно з винаходом, які застосовують до насіння, рослини або частин рослини, плодів або ґрунту, в якому вирощують рослину.

Той факт, що композиції добре переносяться рослинами у концентрації, що вимагається для контролю над хворобами рослин, дозволяє обробляти надземні частини рослин, матеріал для розмноження та насіння, а також ґрунт.

Згідно з винаходом, обробці піддаються всі рослини та частини рослин, включаючи різновиди та сорти рослин (незалежно від того, чи захищені вони законами про охорону сортів або захист прав селекціонерів). Різновиди та сорти рослин можуть бути рослинами, одержаними традиційними способами розмноження та селекції, яким можуть сприяти або які можуть супроводжувати один або кілька біотехнологічних способів, таких, як застосування

подвійних гаплоїдів, злиття протопластів, випадковий та спрямований мутагенез, молекулярні або генетичні маркери, або способами біоінженерії та генної інженерії способи.

У деяких аспектах композиції згідно з даним винаходом застосовують у кількості від приблизно  $1 \times 10^8$  до приблизно  $1 \times 10^{14}$  колонієутворюючих одиниць (КУО) фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 або його фунгіцидного мутантного штаму на гектар. В інших аспектах композиції згідно з даним винаходом застосовують у кількості від приблизно  $1 \times 10^9$  до приблизно  $1 \times 10^{13}$  колонієутворюючих одиниць (КУО) фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 або його фунгіцидного мутантного штаму на гектар. В інших аспектах композиції згідно з даним винаходом застосовують у кількості від приблизно  $1 \times 10^{10}$  до приблизно  $1 \times 10^{12}$  колонієутворюючих одиниць (КУО) фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 або його фунгіцидного мутантного штаму на гектар.

У деяких варіантах втілення композиції згідно з даним винаходом застосовують у кількості від приблизно 0,1 кг до приблизно 10 кг твердих продуктів ферментації на гектар. В інших варіантах втілення композиції згідно з даним винаходом застосовують у кількості від приблизно 0,25 кг до приблизно 7,5 кг твердих продуктів ферментації на гектар. В інших варіантах втілення композиції згідно з даним винаходом застосовують у кількості від приблизно 0,5 кг до приблизно 5 кг твердих продуктів ферментації на гектар. Композиції згідно з даним винаходом також можуть застосовуватись у кількості приблизно 1 кг або приблизно 2 кг твердих продуктів ферментації на гектар.

Композиції згідно з винаходом, якщо вони добре переносяться рослинами, мають сприятливу гомеотермну токсичність і добре переносяться середовищем, є придатними для захисту рослин та органів рослин, для підвищення врожайності, для поліпшення якості зібраного матеріалу. В оптимальному варіанті вони можуть застосовуватись як композиції для захисту культур. Вони є активними проти нормально чутливих та резистентних видів і проти всіх або деяких стадій розвитку.

До рослин, які можуть піддаватись обробці згідно з винаходом, належать такі основні культурні рослини: кукурудза, соя, люцерна, бавовна, соняшник, олійні культури *Brassica*, такі, як *Brassica napus* (наприклад, канола, рапс), *Brassica rapa*, *B. juncea* (наприклад, гірчиця(польова)) та види *Brassica carinata*, *Arecaceae* (наприклад, олійна пальма, кокос), рис, пшениця, цукровий буряк, цукрова тростина, овес, жито, ячмінь, просо та сорго, тритикале, льон, горіхи, різні сорти винограду і різні фруктові та овочеві культури з різних ботанічних таксонів, наприклад, видів *Rosaceae* (наприклад, зерняткові плодові культури, такі, як яблуні та груші, а також кісточкові плодові культури, такі, як абрикоси, вишня, мигдаль, сливи та персики, та ягідні культури, такі, як полуниця, малина, порічка та чорна смородина та *arbutus*), *Ribesioideae* sp., *Juglandaceae* sp., *Betulaceae* sp., *Anacardiaceae* sp., *Fagaceae* sp., *Moraceae* sp., *Oleaceae* sp. (наприклад, оливкове дерево), *Actinidaceae* sp., *Lauraceae* sp. (наприклад, авокадо, кориця, камфора), *Musaceae* sp. (наприклад, бананові дерева та плантації), *Rubiaceae* sp. (наприклад, кавове дерево), *Theaceae* sp. (наприклад, чай), *Sterculiaceae* sp., *Rutaceae* sp. (наприклад, лимони, апельсини, мандарини та грейпфрути); *Solanaceae* sp. (наприклад, томати, картопля, перець, червоний перець, баклажани, тютюн), *Liliaceae* sp., *Compositae* sp. (наприклад, салат, артишоки та цикорій, включаючи цикорій кореневий, ендивій або цикорій звичайний), *Umbelliferae* sp. (наприклад, морква, петрушка, селера), *Cucurbitaceae* sp. (наприклад, огірки, включаючи корнішони, а також гарбузи, кавуни, горлянки та дині), *Alliaceae* sp. (наприклад, порей та цибуля), *Cruciferae* sp. (наприклад, капуста білокачанна, капуста червонокачанна, броколі, цвітна капуста, брюссельська капуста, пекінська капуста, кольрабі, редис, хрін, крес-салат та петсай), *Leguminosae* sp. (наприклад, арахіс, горох, сочевиця та квасоля, наприклад, квасоля звичайна та кормові боби), *Chenopodiaceae* sp. (наприклад, листовий буряк, кормовий буряк, шпинат, червоний буряк), *Linaceae* sp. (наприклад, коноплі), *Cannabaceae* sp. (наприклад, коноплі посівні), *Malvaceae* sp. (наприклад, окра, какао), *Paraveraceae* (наприклад, мак), *Asparagaceae* (наприклад, спаржа); корисні рослини та декоративні рослини у садах та лісах, включаючи дернові та газонні трави та *Stevia rebaudiana*; і, у будь-якому разі, генетично модифіковані типи цих рослин.

У деяких аспектах продукт ферментації також включає інгредієнт для рецептування. Інгредієнтом для рецептування може бути зволожувальний агент, наповнювач, розчинник, засіб, який сприяє текучості, емульгатор, диспергатор, антифриз, загусник та/або ад'ювант. В одному варіанті втілення інгредієнтом для рецептування є зволожувальний агент. В інших аспектах продуктом ферментації є висушений заморожуванням порошок або висушений розпиленням порошок.

Композиції згідно з даним винаходом можуть включати інгредієнти для рецептування, які додають до композицій згідно з даним винаходом для поліпшення відновлення, ефективності



або фізичних властивостей та/або для сприяння обробці, пакуванню та введенню. Такі інгредієнти для рецептування можуть додаватись окремо або у комбінації.

Інгредієнти для рецептування додають до композицій, які включають клітини, безклітинні препарати, виділені сполуки та/або метаболіти, для поліпшення ефективності, стійкості та фізичних властивостей, придатності до використання та/або для сприяння обробці, пакуванню та кінцевому застосуванню. До таких інгредієнтів для рецептування можуть належати прийнятні для застосування у сільському господарстві носії, інертні компоненти, стабілізатори, консерванти, поживні речовини або модифікатори фізичних властивостей, які можуть додаватись окремо або у комбінації. У деяких варіантах втілення носії можуть включати рідкі матеріали, такі, як вода, олія та інші органічні або неорганічні розчинники, та тверді матеріали, такі, як мінерали, полімери або полімерні комплекси, одержані біологічно або шляхом хімічного синтезу. У деяких варіантах втілення інгредієнтом для рецептування є зв'язувальна речовина, ад'ювант або адгезив, який сприяє прилипанню композиції до частини рослини, такої, як листя, насіння або коріння. Див., наприклад, [Taylor, A.G., et al., "Concepts and Technologies of Selected Seed Treatments," Annu. Rev. Phytopathol., 28: 321-339 (1990)]. Стабілізатори можуть включати засоби проти грудкування, антиоксиданти, протиосаджувальні засоби, протистіпювачі, сикативи, протравлювачі або консерванти. Поживні речовини можуть включати джерела вуглецю, азоту та фосфору, такі як цукри, полісахариди, олія, білки, амінокислоти, жирні кислоти та фосфати. Модифікатори фізичних властивостей можуть включати об'ємоутворювальні агенти, змочувальні агенти, загусники, модифікатори pH, модифікатори реологічних властивостей, диспергатори, ад'юванти, поверхнево-активні речовини, плівкоутворювачі, гідротропи, наповнювачі, антифризи або барвники. У деяких варіантах втілення композиція, яка включає клітини, безклітинний препарат та/або метаболіти, утворені шляхом ферментації, може бути застосована безпосередньо з водою як розріджувачем або без неї і без подальшого приготування композиції. У конкретному варіанті втілення зволожувальний агент або диспергатор додають до ферментаційної твердої речовини, такої, як висушений заморожуванням або висушений розпиленням порошок. Зволожувальний агент поліпшує властивості розтікання та проникнення, а диспергатор підвищує диспергованість та розчинність активного інгредієнта (вже розведеного), коли його наносять на поверхні. Типові змочувальні агенти є відомими спеціалістам у даній галузі, і до них належать сульфосукцинати та похідні, такі, як MULTIWET™ MO-70R (Croda Inc., Edison, NJ); силосани, такі, як BREAK-THRU® (Evonik, Germany); неіонні сполуки, такі, як ATLOX™ 4894 (Croda Inc., Edison, NJ); алкілполіглюкозиди, такі, як TERWET® 3001 (Huntsman International LLC, The Woodlands, Texas); C12-C14 етоксилати спиртів, такі, як TERGITOL® 15-S-15 (The Dow Chemical Company, Midland, Michigan); естери фосфорної кислоти, такі, як RHODAFAC® BG-510 (Rhodia, Inc.); та карбоксилати алкілових етерів, такі, як EMULSOGEN™ LS (Clariant Corporation, North Carolina).

Інформація про депонування

Зразок штаму виду *Paenibacillus* згідно з винаходом було депоновано у Колекції культур Служби сільськогосподарських досліджень, яка розташовується у Національному центрі досліджень використання сільськогосподарської продукції Служби сільськогосподарських досліджень Міністерства сільського господарства США (NRRL), 1815 North University Street, Peoria, IL 61604, U.S.A., згідно з Будапештською угодою 28 серпня 2014 р., і йому було присвоєно такий номер доступу: NRRL B-50972.

Зразок штаму виду *Paenibacillus*, який походить від штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, що демонструє стійку структуру колоній, було депоновано у Колекції культур Служби сільськогосподарських досліджень, яка розташовується у Національному центрі досліджень використання сільськогосподарської продукції Служби сільськогосподарських досліджень Міністерства сільського господарства США (NRRL), 1815 North University Street, Peoria, IL 61604, U.S.A., згідно з Будапештською угодою 1 вересня 2015 р. і йому було присвоєно такий номер доступу: NRRL B-67129.

Штам виду *Paenibacillus* було депоновано на умовах, які гарантують доступ до культури протягом періоду розгляду цієї патентної заявки особою, визначеній Комісаром з патентів та товарних знаків як така, що має на це право згідно з Кодексом федеральних правил США 37 C.F.R. § 1.14 та Кодексу законів США 35 U.S.C. §122. Однак слід розуміти, що доступність депонованого зразка не передбачає ліцензії на практичне здійснення даного винаходу у порядку відступу від патентних прав, які надаються урядовими органами.

Представлені нижче приклади є лише пояснювальними і не обмежують обсягу даного винаходу.

Приклади

Приклад 1. Вибір *Paenibacillus* sp. NRRL B-50972

Геноми кількох штамів виду *Paenibacillus* піддавали секвенуванню. Геномні дані аналізували для розпізнавання штамів з кластером генів біосинтезу фусарицидину, але без кластера генів поліміксинсинтетази. Кластер генів, який відповідає за біосинтез фусарицидину (*fusA*), було розпізнано й охарактеризовано раніше, так само, як і кластер генів поліміксинсинтетази. Див.,  
 5 наприклад, [Li et al., "Nonribosomal Biosynthesis of Fusaricidins by *Paenibacillus polymyxa* PKB1 Involves Direct Activation of a D-Amino Acid, " *Chemistry & Biology*, 15: 118-127 (2008); Li et al., "Promoter Analysis and Transcription Regulation of *fus* Gene Cluster Responsible for Fusaricidin Synthesis of *Paenibacillus polymyxa* SQR-21," *Applied Microbiol Biotechnol*, 97: 9479-9489 (2013); та Choi et al., "Identification of a Polymyxin Synthetase Gene Cluster of *Paenibacillus polymyxa* and Heterologous Expression of the Gene in *Bacillus subtilis*, " *Journal of Bacteriology*, 191(10): 3350-3358 (2009)].

Штами, розпізнані шляхом цього аналізу, піддавали подальшій оцінці для підтвердження вироблення фусарицидину. У загальних рисах, кожен штам культивували у середовищі на основі сої і ліпофільну фракцію суцільного бульйону екстрагували. Екстракт суцільного  
 15 бульйону аналізували шляхом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) і присутність фусарицидину А визначали на основі профілю ВЕРХ, отриманого зі стандартним зразком, який містив фусарицидин А.

Приклад 2. In planta протигрибкова активність суцільних бульйонів штамів виду *Paenibacillus*  
 Вибрані штами виду *Paenibacillus*, які включали штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972,  
 20 вирощували у середовищі на основі сої для продукування культур у суцільних бульйонах. Дистильовану воду додавали до кожного з суцільних бульйонів для одержання 10 % кінцевого розведення.

Розведені суцільні бульйони наносили на листя молодих рослин, які потім піддавали дії грибового інокулуму фітофторозу томатів (PHYTIN), сірої гнилі (BOTRCI) або листової іржі пшениці (PUCCRT). Необроблений контрольний зразок включали до кожного аналізу з метою порівняння. Через кілька днів після піддавання дії грибових інокулумів визначали показники  
 25 кожної рослини для відсоткового контролю патогенів відносно необроблених контрольних рослин. Кожну обробку оцінювали у трьох примірниках, і середній відсотковий контроль для суцільного бульйону кожного штаму виду *Paenibacillus* показано на ФІГ. 1.

З 23 штамів, випробуваних на протигрибкову активність проти PHYTIN, BOTRCI та PUCCRT штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 був одним з небагатьох штамів, який мав відносно високий рівень активності проти всіх трьох грибових патогенів.

Приклад 3. In vitro біологічна ефективність фусарицидинового екстракту штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972

Культури у суцільних бульйонах кількох штамів виду *Paenibacillus*, включаючи *Paenibacillus* sp. NRRL B-50972, приготували, використовуючи середовище на основі сої. Ліпофільні фракції, які містили фусарицидини, екстрагували з суцільних бульйонів. Три окремі фракції, які містили різні фусарицидини та протигрибкові метаболіти, одержували з екстракту суцільного бульйону з  
 35 першого штаму виду *Paenibacillus* (тобто, Фракцію 1, Фракцію 2 та Фракцію 3). Екстракт зі штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 не піддавали подальшому відокремленню.

Фракції, що містили фусарицидин, з кожного штаму випробували на таких дванадцяти грибових патогенах: *Alternaria alternata* (ALTEAL), *Botrytis cinerea* (BOTRCI), *Fusarium culmorum* (FUSACU), *Phaeosphaeria nodorum* (LEPTNO), *Zymoseptoria tritici* (SEPTR), *Phytophthora cryptogea* (PHYTCR), *Phytophthora infestans* (PHYTIN), *Pythium ultimum* (PYTHUL), *Magnaporthe oryzae* (PYRIOR), *Thanatephorus cucumeris* (RHIZSO), *Ustilago segetum* var. *avenae* (USTIAV) та *Uromyces appendiculatus* (UROMAP). Інгібування росту грибових клітин різними фракціями визначали у середовищі на основі сої і порівнювали з ростом необроблених контрольних зразків. Випробували вісім доз кожної фракції від 0,005 ppm до 100 ppm. Ефективні дози, які забезпечують 50 % інгібування (ED<sub>50</sub>) та 80 % інгібування (ED<sub>80</sub>), вказано у таблиці на Фіг. 2.

Фракція, що містила фусарицидин, штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, демонструвала широкий спектр протигрибкової активності у дванадцяти аналізах, що не спостерігалось для фракцій з іншого штаму виду *Paenibacillus*. Фракція штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 також демонструвала значно більшу активність в аналізах порівняно з тією, яка спостерігалася для фракцій з іншого штаму виду *Paenibacillus* (див. Фіг. 2).

Приклад 4. In vivo профілактичне випробування на помідорах, інфікованих фітофторою  
 У цьому здійснюваному в оранжереї випробуванні рослинного патогену продукт ферментації штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 випробували у порівнянні з трьома іншими штамми виду *Paenibacillus*, які продемонстрували відносно високу протигрибкову активність у попередніх відбірних аналізах. Для приготування придатної композиції сполук 1 частину за масою висушеного розпиленням порошку суцільного бульйону з кожного штаму, культивованого  
 60

у середовищі на основі сої, змішували з водою та 0,1 частини за масою емульгатора (полігліколевого етеру аралкілу), а потім розводили водою до потрібної концентрації.

Для випробування профілактичної активності молоді рослини обприскували композицією сполуки при зазначеній нормі застосування. Після висихання нанесеного обприскуванням покриття, рослини інокулювали водною суспензією спор *Phytophthora infestans*. Після цього рослини поміщали до інкубаційної камери при приблизно 20 °C та відносній вологості атмосфери 100 %.

Результати випробування оцінювали через 3 дні після інокуляції. 0 % означає ефективність, яка відповідає показникові необробленого контрольного зразка, тоді як ефективність 100 % означає, що хвороба не спостерігалася.

Таблиця 2

In vivo профілактичне випробування на *Phytophthora* (томати)

Сполука	Норма застосування суцільного бульйону у ppm	Ефективність у %
<i>Paenibacillus</i> sp. NRRL B-50972	10 000	70
штам виду <i>Paenibacillus</i> X	10 000	63
штам виду <i>Paenibacillus</i> Y	10 000	70
штам виду <i>Paenibacillus</i> Z	10 000	68

Приклад 5. In vivo профілактичне випробування на винограді, інфікованому *Plasmopara*

У цьому здійснюваному в оранжереї випробуванні рослинного патогену продукт ферментації штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 випробували у порівнянні з трьома іншими штамми виду *Paenibacillus*, які продемонстрували відносно високу протигрибкову активність у попередніх відбірних аналізах. Для приготування придатної композиції сполук 1 частину за масою висушеного розпиленням порошку, приготовленого, як у Прикладі 5, змішували з водою та 0,1 частини за масою емульгатора (полігліколевого етеру аралкілу), а потім розводили водою до потрібної концентрації.

Для випробування профілактичної активності молоді рослини обприскували композицією сполуки при зазначеній нормі застосування. Після висихання нанесеного обприскуванням покриття, рослини інокулювали водною суспензією спор *Plasmopara viticola*, а потім залишали на 1 день в інкубаційній камері при приблизно 20 °C та відносній вологості атмосфери 100 %. Після цього рослини поміщали на 4 дні до оранжереї при приблизно 21 °C та відносній вологості атмосфери приблизно 90 %. Після цього рослини обприскували і поміщали на 1 день до інкубаційної камери.

Результати випробування оцінювали через 6 днів після інокуляції. 0 % означає ефективність, яка відповідає показникові необробленого контрольного зразка, тоді як ефективність 100 % означає, що хвороба не спостерігалася.

Таблиця 3

In vivo профілактичне випробування *Plasmopara* (виноград)

Сполука	Норма застосування суцільного бульйону in ppm	Ефективність у %
<i>Paenibacillus</i> sp. NRRL B-50972	10 000	93
штам виду <i>Paenibacillus</i> X	10 000	46
штам виду <i>Paenibacillus</i> Y	10 000	62
штам виду <i>Paenibacillus</i> Z	10 000	78

Приклад 6. In vivo профілактичне випробування квасолі, інфікованої *Uromyces*

У цьому здійснюваному в оранжереї випробуванні рослинного патогену продукт ферментації штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 випробували у порівнянні з трьома іншими штамми виду *Paenibacillus*, які продемонстрували відносно високу протигрибкову активність у попередніх відбірних аналізах. Для приготування придатної композиції сполук 1 частину за масою висушеного розпиленням порошку, приготовленого, як у Прикладі 5 змішували з водою та 0,1 частини за масою емульгатора (полігліколевого етеру аралкілу), а потім розводили водою до потрібної концентрації.

Для випробування профілактичної активності молоді рослини обприскували композицією сполуки при зазначеній нормі застосування. Після висихання нанесеного обприскуванням покриття, рослини інокулювали водною суспензією спор збудника іржі бобових (*Uromyces appendiculatus*), а потім залишали на 1 день в інкубаційній камері при приблизно 20 °C та відносній вологості атмосфери 100 %.

Після цього рослини поміщали до оранжереї при приблизно 21 °C та відносній вологості атмосфери приблизно 90 %.

Результати випробування оцінювали через 10 днів після інокуляції. 0 % означає ефективність, яка відповідає показникові необробленого контрольного зразка, тоді як ефективність 100 % означає, що хвороба не спостерігалася.

Таблиця 4

In vivo профілактичне випробування *Uromyces* (квасоля)

Сполука	Норма застосування суцільного бульйону in ppm	Ефективність у %
Paenibacillus sp. NRRL B-50972	10 000	85
штам виду Paenibacillus X	10 000	50
штам виду Paenibacillus Y	10 000	40
штам виду Paenibacillus Z	10 000	40

Приклад 7. Порівняння штамів Paenibacillus у польовому випробуванні цукіні, інфікованого справжньою борошнистою росою (*Sphaerotheca fuliginea*)

Здійснювали два польові випробування на цукіні, штучно інокульованого *Sphaerotheca fuliginea*. П'ять зразків для обробки з висушеним розпиленням порошком суцільного бульйону з кожного штаму виду Paenibacillus, який культивували у середовищі на основі сої, повторно суспендували у воді в об'ємі для застосування 1000 л/га і наносили на рослини з 15 липня по 8 серпня на стадії росту з BBSH59 по BBSH72 з 4-8-денними інтервалами, як зазначено у Таблиці 6. Відсоток контролю над хворобою, показаний у Таблиці 5, є результатом останньої оцінки, здійсненої через 10 днів після кінцевого застосування, яку здійснювали шляхом візуального спостереження за симптомами хвороби. 0 % означає ефективність, яка відповідає показникові необробленого контрольного зразка, тоді як ефективність 100 % означає, що хвороба не спостерігалася.

Таблиця 5

Продукт	Доза кг/га	Прикладний код	Контроль над хворобою у % Середній показник 2 випробувань
Необроблений контрольний зразок			0
Paenibacillus sp. NRRL B-50972	4	ABCDE	100
Paenibacillus sp. NRRL B-50972	2	ABCDE	92
штам виду Paenibacillus X	4	ABCDE	59
штам виду Paenibacillus X	2	ABCDE	29
штам виду Paenibacillus Y	4	ABCDE	66
штам виду Paenibacillus Y	2	ABCDE	46
штам виду Paenibacillus Z	4	ABCDE	29
штам виду Paenibacillus Z	2	ABCDE	18

Таблиця 6

Прикладний код	Дата застосування	Стадія росту
A	15 липня	59
B	23 липня	65
C	30 липня	71
D	4 серпня	72
E	8 серпня	72

Результати у Таблиці 4 чітко демонструють, що активність штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, яка спостерігається, переважає показники інших штамів, які випробували в цьому польовому випробуванні, які продемонстрували відносно високу протигрибкову активність у попередніх відбірних аналізах.

5      Приклад 8. Порівняння штамів *Paenibacillus* у польовому випробуванні на винограді, інфікованому справжньою борошнистою росою (*Uncinula Necator*)

Здійснювали два польові випробування на винограді, природно інфікованому *Uncinula necator*. Шість зразків для обробки з висушеними розпиленням порошками, які описано у Прикладі 8, повторно суспендували у воді в об'ємі для застосування 1000 л/га і наносили на рослини з 3 червня по 1 липня на стадії росту з BVCH57 по BVCH75 з 5-7-денними інтервалами, як зазначено у Таблиці 8. Відсоток контролю над хворобою, показаний у Таблиці 7, є результатом останньої оцінки, здійсненої 15 днів після кінцевого застосування, яку здійснювали шляхом візуального спостереження за симптомами хвороби. 0 % означає ефективність, яка відповідає показникові необробленого контрольного зразка, тоді як ефективність 100 % означає, що хвороба не спостерігалася.

Таблиця 7

Продукт	Доза кг/га	Прикладний код	Контроль над хворобою у % Середній показник 2 випробувань
Необроблений контрольний зразок			0
<i>Paenibacillus</i> sp. NRRL B-50972	4	ABCDEF	100
<i>Paenibacillus</i> sp. NRRL B-50972	2	ABCDEF	100
штам виду <i>Paenibacillus</i> X	4	ABCDEF	45
штам виду <i>Paenibacillus</i> X	2	ABCDEF	28
штам виду <i>Paenibacillus</i> Y	4	ABCDEF	66
штам виду <i>Paenibacillus</i> Y	2	ABCDEF	60
штам виду <i>Paenibacillus</i> Z	4	ABCDEF	36
штам виду <i>Paenibacillus</i> Z	2	ABCDEF	25

Таблиця 8

Прикладний код	Дата застосування	Стадія росту
A	3 червня	57
B	10 червня	60
C	16 червня	64
D	21 червня	71
E	26 червня	73
F	1 липня	75

20      Результати у Таблиці 7 чітко демонструють, що активність штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, яка спостерігається, переважає показники інших штамів, які випробували в цьому польовому випробуванні, які продемонстрували відносно високу протигрибкову активність у попередніх відбірних аналізах.

25      Приклад 9. Порівняння штамів *Paenibacillus* у польових випробуваннях на томатах, інфікованих альтернаріозом (*Alternaria solani*)

Здійснювали два польові випробування на рослинах томатів, штучно інокульованих *Alternaria solani*. Три зразки для обробки з висушеними розпиленням порошками, які описано у Прикладі 8, повторно суспендували у воді в об'ємі для застосування 1000 л/га і наносили на рослини з 26 червня по 10 липня на стадії росту з BVCH51 по BVCH59 з 6-8-денними інтервалами, як зазначено у Таблиці 10. Відсоток контролю над хворобою, показаний у Таблиці 9, є результатом останньої оцінки, здійсненої 8 днів після кінцевого застосування, яку здійснювали шляхом візуального спостереження за симптомами хвороби. 0 % означає ефективність, яка відповідає показникові необробленого контрольного зразка, тоді як ефективність 100 % означає, що хвороба не спостерігалася.

Таблиця 9

Продукт	Доза кг/га	Прикладний код	Контроль над хворобою у % Середній показник 2 випробувань
Необроблений контрольний зразок			0
Paenibacillus sp. NRRL B-50972	4	ABC	84
Paenibacillus sp. NRRL B-50972	2	ABC	68
штам виду Paenibacillus X	4	ABC	36
штам виду Paenibacillus X	2	ABC	20
штам виду Paenibacillus Y	4	ABC	44
штам виду Paenibacillus Y	2	ABC	19
штам виду Paenibacillus Z	4	ABC	40
штам виду Paenibacillus Z	2	ABC	11

Таблиця 10

Прикладний код	Дата застосування	Стадія росту
A	26 червня	51
B	2 липня	53
C	10 липня	59

Результати у Таблиці 9 чітко демонструють, що активність штаму виду Paenibacillus NRRL B-50972, яка спостерігається, переважає показники інших штамів, які випробували в цьому польовому випробуванні, які продемонстрували відносно високу протигрибкову активність у попередніх відбірних аналізах.

Приклад 10. Порівняння штамів Paenibacillus у польових випробуваннях на картоплі, інфікованій альтернаріозом (Alternaria solani)

Здійснювали польове випробування на рослинах картоплі, штучно інокульованих Alternaria solani. П'ять зразків для обробки з висушеними розпиленням порошками, які описано у Прикладі 8, повторно суспендували у воді в об'ємі для застосування 500 л/га і наносили на рослини з 25 червня по 19 липня на стадії росту з BVCH37 по BVCH55 з 4-8-денними інтервалами, як зазначено у Таблиці 12. Відсоток контролю над хворобою, показаний у Таблиці 11, є результатом останньої оцінки, здійсненої 6 днів після кінцевого застосування, яку здійснювали шляхом візуального спостереження за симптомами хвороби. 0 % означає ефективність, яка відповідає показникові необробленого контрольного зразка, тоді як ефективність 100 % означає, що хвороба не спостерігалася.

Таблиця 11

Продукт	Доза кг/га	Прикладний код	Контроль над хворобою у %
Необроблений контрольний зразок			0
Paenibacillus sp. NRRL B-50972	4	ABCDE	80
Paenibacillus sp. NRRL B-50972	2	ABCDE	71
штам виду Paenibacillus X	4	ABCDE	71
штам виду Paenibacillus X	2	ABCDE	41
штам виду Paenibacillus Y	4	ABCDE	61
штам виду Paenibacillus Y	2	ABCDE	41
штам виду Paenibacillus Z	4	ABCDE	41
штам виду Paenibacillus Z	2	ABCDE	32

Таблиця 12

Прикладний код	Дата застосування	Стадія росту
A	Червня 26	37
B	Липня 2	47
C	Липня 10	51
D	Липня 15	55
E	Липня 19	55

Результати у Таблиці 11 чітко демонструють, що активність штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, яка спостерігається, переважає показники інших штамів, які випробували в цьому польовому випробуванні, які продемонстрували відносно високу протигрибкову активність у попередніх відбірних аналізах.

Приклад 11. Порівняння штамів *Paenibacillus* у польових випробуваннях на картоплі, інфікованій альтернаріозом (*Alternaria solani*)

Здійснювали польове випробування на рослинах картоплі, штучно інокульованих *Alternaria solani*. Три зразки для обробки з висушеними розпиленням порошками, які описано у Прикладі 8, повторно суспендували у воді в об'ємі для застосування 500 л/га і наносили на рослини з 24 липня по 5 серпня на стадії росту з BVCH37 по BVCH51 з 6-денними інтервалами, як зазначено у Таблиці 14. Відсоток контролю над хворобою, показаний у Таблиці 13, є результатом останньої оцінки, здійсненої 6 днів після кінцевого застосування, яку здійснювали шляхом візуального спостереження за симптомами хвороби. 0 % означає ефективність, яка відповідає показникові необробленого контрольного зразка, тоді як ефективність 100 % означає, що хвороба не спостерігалася.

Таблиця 13

Продукт	Доза кг/га	Прикладний код	Контроль над хворобою у %
Необроблений контрольний зразок			0
<i>Paenibacillus</i> sp. NRRL B-50972	4	ABC	100
<i>Paenibacillus</i> sp. NRRL B-50972	2	ABC	100
штам виду <i>Paenibacillus</i> X	4	ABC	74
штам виду <i>Paenibacillus</i> X	2	ABC	48
штам виду <i>Paenibacillus</i> Y	4	ABC	74
штам виду <i>Paenibacillus</i> Y	2	ABC	61
штам виду <i>Paenibacillus</i> Z	4	ABC	74
штам виду <i>Paenibacillus</i> Z	2	ABC	61

Таблиця 14

Прикладний код	Дата застосування	Стадія росту
A	24 липня	37
B	30 липня	40
C	5 серпня	51

Результати у Таблиці 13 чітко демонструють, що активність штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, яка спостерігається, переважає показники інших штамів, які випробували в цьому польовому випробуванні, які продемонстрували відносно високу протигрибкову активність у попередніх відбірних аналізах.

Приклад 12. Розпізнавання варіації *fusA* у штамі виду *Paenibacillus* NRRL B-50972

Для додаткової характеристики штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 геномну послідовність гена *fusA*, який кодує FusA фусарицидинсинтетази, визначали стандартними способами секвенування і розпізнавали відповідну амінокислотну послідовність. Амінокислотну послідовність з FusA, що експресується штамом виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, порівнювали з послідовністю кількох інших штамів *Paenibacillus*, включаючи ті, які описуються у таких публікаціях:

[Li S., et al., (2014). "Complete Genome Sequence of *Paenibacillus polymyxa* SQR-21, a Plant

Growth-Promoting Rhizobacterium with Antifungal Activity and Rhizosphere Colonization Ability, " Genome Announc, 2(2):HASH(0 × 743db288);

Niu B., et al., (2011). "The Genome of the Plant Growth-Promoting Rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* M-1 Contains Nine Sites Dedicated to Nonribosomal Synthesis of Lipopeptides and Polyketides," J. Bacteriol. 193(20): 5862-3;

Ma M., et al., (2011) "Complete Genome Sequence of *Paenibacillus polymyxa* SC2, A Strain of Plant Growth-Promoting Rhizobacterium with Broad-Spectrum Antimicrobial Activity," J. Bacteriol. 193(1): 311-2; та

Li and Jensen, (2008). Nonribosomal Biosynthesis of Fusaricidins by *Paenibacillus polymyxa* PKB1 Involves Direct Activation of a d-amino Acid. Chem. Biol. 15, 118 – 127.]

Вирівнювання, показане на Фіг. 13, виявило значні делеції у варіантній *FusA* фусарицидинсинтетазі, яка експресується *Paenibacillus* sp. NRRL B-50972. Перша делеція простягається від позиції 3009 до позиції 3037 відповідної послідовності у штамі виду *Paenibacillus* A (SEQ ID NO: 11). Друга делеція простягається від позиції 3047 до позиції 3317 відповідної послідовності у штамі виду *Paenibacillus* A (SEQ ID NO: 11). Обидві делеції обмежуються А доменом третього модуля фусарицидинсинтетази *FusA* (тобто, *FusA*-A3).

Як пояснювалося вище, кожен з А доменів містить десять консервативних амінокислотних залишків, які відповідають за розпізнавання та активацію субстрату (див. Таблицю 1). Ці консервативні амінокислотні залишки є обведеними у вирівнюванні, показаному на Фіг. 13. Делеції, розпізнані у варіантній *FusA* фусарицидинсинтетазі, яка експресується штамом виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, видаляють усі консервативні амінокислотні залишки, крім останнього (тобто, Lys517, розташованого у позиції 3486 послідовності SEQ ID NO: 11).

Ці дві делеції у варіантній *FusA* фусарицидинсинтетазі є присутніми у штаммах, які походять від штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, включаючи варіантний штам зі стійкою структурою колоній, позначений авторами як штам виду *Paenibacillus* NRRL B-67129. Випадкові мутантні штамми, які походять від штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, зазвичай зберігають делеції у варіанті *FusA*-A3, оскільки зворотна мутація до дикого типу *FusA*-A3 є дуже мало ймовірною через широкий характер делецій.

Приклад 13. Порівняння вироблення фусарицидину у штамі виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та штамі А виду *Paenibacillus*

Для визначення впливу варіанта *FusA*-A3 кількісно визначали панель фусарицидинів та *Paeniserine* у штамі виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 (який експресує варіант *FusA*-A3) та штамі виду *Paenibacillus* A (який експресує *FusA*-A3 дикого типу) з застосуванням способу, описаного у Прикладі 14. Справжність кожної сполуки визначали за її унікальними часом утримання та масою. Відносну інтенсивність сигналу кожного піка у спектрах представлено у Таблиці 15. Абсолютне кількісне визначення було неможливе за відсутності очищених стандартів. Щоправда, кожен екстракт клітин вводили майже в однаковій кількості, і відносна кількість сполук може бути визначена за отриманою інтенсивністю сигналу.

Таблиця 15

Сполука	RT	Маса	NRRL B-50972	Штам А
Фусарицидин С	10,35	946,6	0	226457229
Фусарицидин D	10,43	960,6	0	116424723
<i>Paeniserine</i> A1	11,00	868,5	208029	0
<i>Paeniserine</i> B1	11,22	868,5	871001	317056
Фусарицидин В	13,23	896,6	9840703	461022017
Фусарицидин А	13,27	882,6	28024006	794055383
LiF05b	16,56	910,6	9978253	145941253
LiF05a	16,64	896,6	33071793	280586192
LiF06a	17,96	896,6	6594451	11862306
LiF06b	17,99	910,6	1600867	7441646
LiF07b	18,10	944,6	0	263137626
LiF07a	18,12	930,6	0	522229025
LiF08b	19,68	924,6	3546312	47167630
LiF08a	19,71	910,6	20378028	75820378

У *FusA* фусарицидинсинтетазі дикого типу *FusA*-A3 відповідає за включення L-Tyr, L-Phe, L-Val, L-Ile або L-allo-Ile до сполуки фусарицидину в амінокислотній позиції (3) (див. Таблицю 1). Варіант *FusA*-A3 у штамі виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 дає екстракт без будь-якого



помітного фусарицидину C, фусарицидину D, LiF07a або LiF07b. Фусарицидин C та фусарицидин D мають тирозин в амінокислотній позиції (3), тоді як LiF07a та LiF07b мають фенілаланін в амінокислотній позиції (3). Ці експериментальні дані демонструють, що генетична варіація у FusA-A3, що експресується штамом виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, інгібує біосинтез фусарицидинів з тирозином або фенілаланіном в амінокислотній позиції (3) (див. ФІГ. 14).

Таким чином, штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та мутантні штами, які походять від штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, не є здатними продукувати помітну кількість фусарицидинів або подібних до фусарицидину сполук з тирозином або фенілаланіном в амінокислотній позиції (3) (наприклад, Фусарицидинів C та D або LiF07a та LiF07b). Аналіз варіанта FusA-A3 у штамі виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 вказує, що цей штам та його мутанти генетично не здатні продукувати фусарицидини або аналоги фусарицидину з пептидними кільцями, які включають амінокислоту тирозин або амінокислоту фенілаланін в амінокислотній позиції (3).

З двох проаналізованих *Paeniserine* лише один виявлявся у штамі виду *Paenibacillus* A, і інтенсивність його сигналу була меншою за половину відповідної інтенсивності сигналу, яку спостерігали в екстракті штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972. Без прив'язування до будь-якої теорії виявляється, що одна або кілька з перших дев'яти консервативних амінокислот у FusA-A3 (тобто, Asp235, Ala236, Ser239, Thr278, Leu299, Ala301, Ala/Gly322, Val330 та Cys331) відповідають за розпізнавання та активацію тирозину та фенілаланіну в позиції (3) у сполуках фусарицидину. Крім того, варіант FusA-A3, який експресується штамом виду *Paenibacillus* NRRL B-50972, може зсувати проміжні продукти обміну речовин від продукування деяких фусарицидинів у напрямку біосинтезу ширшого кола подібних до фусарицидину сполук (наприклад, *Paeniserine*).

Приклад 14. Порівняння біоактивності штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та штам виду *Paenibacillus* A

Штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 (який експресує варіант FusA-A3) та штам виду *Paenibacillus* A (який експресує дикого типу FusA-A3) культивували у середовищі на основі сої для одержання суцільних бульйонів. Суцільні бульйони розводили у суміші води та органічного розчинника до концентрації 10 %, 5 %, 2,5 % та 1,25 %. Розведені суцільні бульйони застосовували до молодих рослин, які потім піддавали дії інокумуму *Puccinia triticina* (PUCRT), *Botrytis cinerea* (BOTRCI) або *Phytophthora infestans* (PHYTIN). Через кілька днів після піддавання дії інокумуму рослинного патогена, визначали показники кожної рослини для відсоткового контролю патогенів відносно необроблених контрольних рослин. Кожну обробку оцінювали у трьох примірниках і вказували середній відсоток контролю (див. Таблиці 16-18).

У кожному з аналізів штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 демонстрував кращий контроль порівняно зі штамом виду *Paenibacillus* A. Ці експериментальні дані свідчать, що варіантна фусарицидинсинтетаза та викликані в результаті зміни у біосинтезі фусарицидинів та подібних до фусарицидину сполук забезпечують кращий контроль над рослинними патогенами зі штамом виду *Paenibacillus* NRRL B-50972.

Таблиця 16

Контроль над *Puccinia triticina* (PUCRT), який досягається з застосуванням штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та штаму виду *Paenibacillus* A при ступенях розведення 10 %, 5 %, 2,5 % та 1,25 %.

Обробка	Норма внесення	Середній відсоток контролю
Штам виду <i>Paenibacillus</i> NRRL B-50972	10 %	98
	5 %	88
	2,5 %	58
	1,25 %	0
Штам виду <i>Paenibacillus</i> A	10 %	82
	5 %	33
	2,5 %	0
	1,25 %	0

Таблиця 17

Контроль над *Botrytis cinerea* (BOTRCI), який досягається з застосуванням штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та штаму виду *Paenibacillus* A при ступенях розведення 10 %, 5 %, 2,5 % та 1,25 %.

Обробка	Норма внесення	Середній відсоток контролю
Штам виду <i>Paenibacillus</i> NRRL B-50972	10 %	100
	5 %	100
	2,5 %	98
	1,25 %	42
Штам виду <i>Paenibacillus</i> A	10 %	97
	5 %	83
	2,5 %	17
	1,25 %	0

Таблиця 18

Контроль над *Phytophthora infestans* (PHYTIN), який досягається з застосуванням штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та штаму виду *Paenibacillus* A при ступенях розведення 10 %, 5 %, 2,5 % та 1,25 %.

Обробка	Норма внесення	Середній відсоток контролю
Штам виду <i>Paenibacillus</i> NRRL B-50972	10 %	100
	5 %	99
	2,5 %	99
	1,25 %	90
Штам виду <i>Paenibacillus</i> A	10 %	97
	5 %	87
	2,5 %	67
	1,25 %	33

Приклад 15. Розпізнавання фусарицидинів в екстракті клітин виду *Paenibacillus*

5 Штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та/або похідні від нього штами вирощували у середовищі на основі сої доти, доки вони не досягали стаціонарної фази, після чого культуру суцільного бульйону збирали й екстрагували органічним розчинником для одержання екстракту клітин.

10 Хроматографічний спосіб з застосуванням високоефективної рідинної хроматографії / часопротітної мас-спектрометрії (ВЕРХ/MS TOF) було розроблено для відокремлення багатьох подібних до фусарицидину молекул від екстракту клітин: колонка: YMC™ Basic 4,6 × 250 мм, 5 мкм; вода (0,1 % FA) та ацетонітрил (0,1 % мурашиної кислоти (FA)); градієнт (%B): 0-9 хв 28-30 %; 9-14 хв 30-33 %; 14-34 хв 33-50 %; промивання.

15 Хроматограму екстракту клітин, у якому розпізнано відомі фусарицидини, показано на Фіг. 4В. Загальну структуру фусарицидинів представлено на ФІГ. 4А. Кожен циклічний фусарицидин має відповідний ациклічний аналог.

20 Усі фусарицидини в екстракті клітин, які піддаються виявленню, розпізнавали на основі їхнього час утримання та значень m/z (див. ФІГ. 4С). Цікавим є те, що фусарицидини С та D та інші фусарицидини, в яких амінокислотою у позиції (3) є тирозин або фенілаланін, в екстракті клітин не виявлялися.

Приклад 16. Характеризація *Paeniserine* в екстракті клітин виду *Paenibacillus*

25 Для розпізнавання інших сполук в екстракті клітин штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та/або похідних від нього штамів було розроблено хроматографічний спосіб з застосуванням надефективної рідинної хроматографії / мас-спектрометрії з потрійним часом прольоту (UPLC/MS Triple TOF) для фрагментації багатьох подібних до фусарицидину молекул: колонка: ZORBAX™ Eclipse Plus, 2,1 × 100 мм, 1,8 мкм; вода (0,1 % FA) та ацетонітрил (0,1 % FA); градієнт (%B): 0-5 хв 10-95 %; промивання.

30 У такий спосіб заявником було охарактеризовано нову родину *Paeniserine*, що належить до фусарицидинів, шляхом дослідження мас-спектрів фрагментації, одержаних за допомогою мас-спектрометра AB SCIEX TRIPLE TOF®, а також шляхом порівняння спектрів з даними,

опублікованими у літературі. Заявник назвав цю нову родину Paeniserine. Типові мас-спектри фрагментації з застосуванням UPLC/MS Triple TOF та відповідні хімічні структури для Paeniserine A1 та Paeniserine B1 показано на ФІГУРАХ 5 та 6, відповідно. Подібний аналіз виконували для кожного Paeniserine, виявленого в екстракті клітин.

Paeniserine було так названо через значне відхилення від фусарицидинового скелета з одним або кількома сериновими заміщеннями (див. Фіг. 5A). Традиційно для того, щоб вважатися фусарицидином, пептидна послідовність містила три консервативні амінокислоти: (1) треонін, (4) треонін та (6) аланін. Однак Paeniserine демонструють нові заміщення одного або обох треонінових залишків (1) та (4), замінені на серин. Амінокислоти у позиціях (2) та (3) обидві є валіном у Paeniserine, охарактеризованих Заявником. Хроматограму, на якій розпізнано піки, які відповідають Paeniserine, показано на Фіг. 5B.

Заявник також охарактеризував цю родину серин-заміщених подібних до фусарицидину сполук в екстракті клітин на основі їхнього часу утримання та значень  $m/z$  (див. ФІГ. 5C). Хоча Paeniserine C4 не виявлявся, логічно було б очікувати його продукування, ґрунтуючись на структурах охарактеризованих раніше фусарицидинів. Так само, як фусарицидини, кожен циклічний Paeniserine має відповідний ациклічний аналог.

Важливо зазначити, що хоча Paeniserine, охарактеризовані Заявником, мають амінокислоту валін у залишках (2) та (3), очевидно, існують сполуки з варіаціями у цих позиціях. Ці можливі варіації мають бути подібними до аналогів фусарицидину / LiF з такими амінокислотами, як ізолейцин, фенілаланін та тирозин як залишками (2) та (3). Крім того, хоча хвіст GHPD було описано вище, є ймовірність існування сполук з варіаціями у довжині хвоста, які є подібними до родини Paeniprolixin (див. Приклад 17).

Приклад 17. Характеризація Paeniprolixin в екстракті клітин виду Paenibacillus

Екстракт клітин штаму виду Paenibacillus NRRL B-50972 та/або похідних від нього штамів додатково аналізували, застосовуючи хроматографічний спосіб, описаний у Прикладі 14. Нову родину фусарицидинів характеризували шляхом дослідження мас-спектра фрагментації, отриманого за допомогою мас-спектрометра AB SCIEX TRIPLE TOF®, а також шляхом порівняння спектрів з опублікованими у літературі. Заявник назвав цю нову родину Paeniprolixin. Типові мас-спектри фрагментації UPLC/MS Triple TOF та відповідні хімічні структури для Paeniprolixin C1 та Paeniprolixin D1 показано на Фігурах 8 та 9, відповідно. Подібний аналіз виконували для кожного з Paeniprolixin, виявлених в екстракті клітин.

Paeniprolixin було названо за латинським словом "prolix" ("довгий") через ще одне значне відхилення від скелета фусарицидину в аліфатичному хвості, тобто, Paeniprolixin мають довший хвіст, ніж у фусарицидинів. Раніше спостерігалися лише фусарицидини, які мають конкретний хвіст GHPD. Це було відображено навіть у найпізнішій публікації з даної теми [тобто, Vater et al., J. Am. Soc. Mass Spectrom., 2015, 26, 1130-1141], у якій автори заявляють, що "це відкриття [чітко консервативний хвіст GHPD] контрастує з багатьма іншими ліпопептидами, про які повідомляється в літературі, у яких жирнокислотна частина є головним об'єктом структурної варіації, наприклад, як у сурфактинах, ітуринах та фенгіцинах". Заявник розпізнав родину подібних до фусарицидину сполук з довшим хвостом (тобто, 17-гуанідино-3-гідроксигептадеканова кислота або GHPD+2CH<sub>2</sub> та 19-гуанідино-3-гідроксинадеканова кислота або GHPD+4CH<sub>2</sub>) (див. ФІГ. 8A) в екстракті клітин виду Paenibacillus NRRL B-50972. На відміну від Paeniserine, Paeniprolixin зберігають консервативні амінокислотні залишки L-треоніну у позиції (1) та D-allo-треоніну у позиції (4).

Важливо зазначити, що хоча Paeniprolixin, охарактеризовані Заявником, мали амінокислоти валін або ізолейцин у залишках (2) та (3), існує ймовірність існування сполук з варіаціями в цих позиціях. Ці можливі варіації мають бути подібними до аналогів фусарицидину / LiF, наприклад, з іншими комбінаціями валіну, ізолейцину або інших амінокислот, таких, як фенілаланін та тирозин, як залишків (2) та (3). Крім того, існує ймовірність існування гібридних комбінацій з Paeniserine, описаних вище, які мають більшу довжину хвоста.

Хроматограму, на якій розпізнано піки, які відповідають Paeniprolixin, показано на Фіг. 8B. Ця родина подібних до фусарицидину сполук з довшими хвостами GHPD також було охарактеризовано на основі їхнього часу утримання та значень  $m/z$  (див. Фіг. 8C). Хоча Paeniprolixin C2 та D2 не виявлялися, логічно було б очікувати їх продукування, ґрунтуючись на структурах охарактеризованих раніше фусарицидинів. Так само, як фусарицидини, кожен циклічний Paeniprolixin має відповідний ациклічний аналог.

Приклад 18. Профілі протигрибкової біоактивності Paeniserine, Paeniprolixin та інших фусарицидинів

Зразки, показані у Таблиці 19, виділяли з клітин виду Paenibacillus. Ферментований суцільний бульйон центрифугували для видалення супернатанту. Утворений осад потім

екстрагували у метанолі. Одержаний в результаті екстракт фракціонували, застосовуючи рідинну хроматографію середнього тиску з оберненням фаз. Потім фракції піддавали подальшому очищенню, застосовуючи препаративну хроматографію високого тиску з оберненням фаз.

5

Таблиця 19

Код зразка	Назва	Опис
Зразок 1	Paeniserine	Paeniserine A1, A2, B1 та B2
Зразок 2	Фусарицидин А	Фусарицидин А (LiF04a), 85 + % очищ.
Зразок 3	LiF Asn аналоги	LiF05a та LiF06a
Зразок 4	LiF Asn/Gln Combo	LiF05a, LiF06a, LiF05b та LiF06b
Зразок 5	LiF08s	LiF08a та LiF08b
Зразок 6	Paeniprolixin	Paeniprolixin A1, A2, B1, B2, E1 та F1

Для *in vitro* аналізу на протигрибкову активність у 96-лунковому планшеті застосовують реагент для визначення життєздатності клітин на основі резазурину PRESTOBLUE<sup>®</sup> як індикатор росту грибів. Починаючи з грибкових спор, аналіз дозволяє вимірювати здатність зразка до інгібування проростання грибкових спор та/або росту грибкових клітин. Аналіз здійснювали для трьох пов'язаних з сільським господарством грибкових захворювань: *Alternaria solani* (ALTESO), *Colletotrichum lagenarium* (COLLLA) та *Botrytis cinerea* (BOTRCI).

10

Усі зразки, вказані у Таблиці 19, виявились активними проти пов'язаних з сільським господарством грибкових захворювань (див. мінімальну інгібуючу концентрацію для 80 % (MIC80) значень, представлених в одиницях на мільйон (ppm) для кожного зразка у Таблиці 20). Цікавим є те, що деякі сполуки, очевидно, мають мінливу активність проти певних хвороб. Наприклад, хоча аналоги аспарагіну у Зразку 3, очевидно, є важливими для контролю над ALTESO, глутамінові відповідники такого самого типу сполуки у Зразку 4 були більш задіяними у контролі над COLLLA. Аналоги з довшим хвостом у Зразку 6 були найбільш потужними інгібіторами COLLLA. Це свідчить про те, що, хоча всі вони є активними самі по собі, комбінація цих складових є важливою для кінцевої ефективності готового продукту та спектра його контролю над хворобою.

15

20

Таблиця 20

Код зразка	Назва	MIC80 (у ppm)		
		ALTESO	BOTRCI	COLLLA
Зразок 1	Paeniserine	75	38	49
Зразок 2	Фусарицидин А	1,6	1,5	6,3
Зразок 3	LiF Asn аналоги	6,3	2,5	37
Зразок 4	LiF Asn/Gln Combo	55	19	9,3
Зразок 5	LiF08s	3,0	9,4	9,4
Зразок 6	Paeniprolixin	75	80	5,0

Приклад 19. Профілі антибактеріальної біоактивності Paeniserine, Paeniprolixin та інших фусарицидинів

Для *in vitro* аналізу на антибактеріальну активність у 96-лунковому планшеті використовують поглинальну здатність як індикатор бактеріального росту. Аналіз дозволяє вимірювати ефективність зразка в інгібуванні бактеріального росту шляхом порівняння поглинальної здатності необроблених лунок та лунок зі зразком. Останнє розведення/концентрація, що інгібує ріст бактерій, називається MIC (мінімальною інгібуючою концентрація), і це значення може використовуватися для порівняння ефективності різних зразків. Аналіз оцінювали з трьома пов'язаними з сільським господарством бактеріальними хворобами: *Xanthomonas campestris* (XANTAV), *Pseudomonas syringae* (PSDMTM) та *Erwinia carotovora* (ERWICA).

25

30

35

Зразки, вказані у Таблиці 19, застосовували в антибактеріальних аналізах для визначення значень MIC80 для кожного бактеріального патогена. Результати аналізів представлено у Таблиці 21. Зразки 1-5 виявились активними проти пов'язаних з сільським господарством бактеріальних хвороб. Цікавим є те, що деякі сполуки, очевидно, мають мінливу активність проти певних хвороб. Наприклад, Paeniserine добре доповнюють Фусарицидин А, оскільки вони

- є здатними контролювати PSDMTM, а це є слабкою стороною Фусарицидину А. З іншого боку, Фусарицидин А компенсує недостатній контроль над ERWICA, який спостерігається для Paeniserine. Так само, як в аналізах для грибкових хвороб, виявляється, що, хоча всі вони є активними самі по собі, комбінація цих складових є важливою для кінцевої ефективності готового продукту та спектра його контролю над хворобою.

Таблиця 21

Код зразка	Назва	MIC80 (у ppm)		
		PSDMTM	XANTAV	ERWICA
Зразок 1	Paeniserine	99	44	NDR*
Зразок 2	Фусарицидин А	NDR*	24	75
Зразок 3	LiF Asn аналоги	101	12,4	62,5
Зразок 4	LiF Asn/Gln Combo	88	44	150
Зразок 5	LiF08s	125	23	49
Зразок 6	Paeniprolixin	--**	--**	--**

\*NDR: результат не виявляється (тобто, відсутнє інгібування бактеріального росту при найвищій випробуваній концентрації)

\*\*Зразок був нерозчинним у мікробному середовищі і не піддавався випробуванню.

Приклад 20. Виявлення синергізму через дискодифузійний аналіз Кірбі-Бауера на чутливість до антибіотиків

- Для отримання первісної оцінки синергізму між різними класами подібних до фусарицидину сполук виконували біоаналіз, використовуючи рослинний патоген COLLLA. Біоаналіз являв собою класичний дискодифузійний аналіз Кірбі-Бауера на чутливість до антибіотиків на агарі [Bauer, A. W., et al., 1966 Am. J. Clin. Pathol. 36: 493-496]. У загальних рисах, чисті стерильні диски, завантажені однаковою кількістю різних зразків, поміщали на чашку Петрі, інокульовану культурою спор COLLLA. Чашку Петрі інкубували і активність записували як розмір діаметра зони інгібування, яка виявлялася навколо кожного диска. Результати показано на Фіг. 11.

- Результати цього попереднього аналізу вказують на те, що синергетичний ефект виникає тоді, коли деякі Paeniserine та Paeniprolixin застосовують разом. Paeniserine A1 та B1 ("868") або Paeniprolixin A2 та B2 ("938") при окремому застосуванні в цьому аналізі демонструють відносно малі зони інгібування. Однак їх комбінація ("868/938") показує найбільшу й найчистішу зону інгібування, що перевершує результати, отримані при застосуванні 868, 938 або фусарицидинів А та В ("AB"). Загалом приблизно 0,1 мг матеріалу наносили на кожен стерильний диск для зразків АВ, 868 та 938. Диск, який містив зразки 868 та 938, містив приблизно 0,05 мг кожного зразка, таким чином, щоб загальна кількість матеріалу на диску 868/938 становила приблизно 0,1 мг.

Обмеженням цього аналізу є вимога, згідно з якою сполуки фусарицидину повинні дифундувати крізь агар для інгібування росту грибів. Ця первісна ознака синергетичного ефекту має бути додатково піддана оцінці через застосування in vitro аналізів протигрибкової дії у рідких середовищах.

- Приклад 21. In vitro аналізи протигрибкової дії для демонстрації синергізму комбінацій фусарицидину

- Крім комбінацій фусарицидинів, вказаних у Прикладі 17, in vitro аналізи на протигрибкову дію у рідких середовищах виконують для демонстрації запропонованого синергізму, який є результатом застосування комбінацій фусарицидинів та/або подібних до фусарицидину сполук, як показано на Фіг. 12. Кожну з груп, показаних на Фіг. 12, оцінюють спочатку окремо для того, щоб оцінити структурні характеристики, а потім у комбінаціях для оцінки синергізму. Оцінюють як подвійні, так і потрійні суміші.

Хоча окремі сполуки можуть демонструвати недоліки стосовно фунгіцидної активності, комбінації мають активність, яка перевершує просту суму значень їх активності.

- Синергетичний ефект фунгіцидів завжди є присутнім, коли фунгіцидна активність комбінацій активних сполук перевершує суму показників активності активних сполук при їх окремому застосуванні.

- Очікувана активність для даної комбінації з двох або трьох активних сполук може бути розрахована у представлений нижче спосіб [пор. Colby, S.R., "Calculating Synergistic and Antagonistic Responses of Herbicide Combinations, Weeds 1967, 15, 20-22]:

Якщо

X є ефективністю у разі, коли активну сполуку A застосовують у нормі внесення  $m$  ррм (або г/га),

Y є ефективністю у разі, коли активну сполуку B застосовують у нормі внесення  $n$  ррм (або г/га),

5 Z є ефективністю у разі, коли активну сполуку B застосовують у нормі внесення  $r$  ррм (або г/га),

$E_1$  є ефективністю у разі, коли активні сполуки A та B застосовують у нормі внесення  $m$  та  $n$  ррм (або г/га), відповідно,

10  $E_2$  є ефективністю у разі, коли активні сполуки A, B та C застосовують у нормі внесення  $m$ ,  $n$  та  $r$  ррм (або г/га), відповідно,  
то для подвійної суміші:

$$E_1 = X + Y - \frac{X \cdot Y}{100}$$

і для потрійної суміші:

$$E_2 = X + Y + Z - \left( \frac{X \cdot Y + X \cdot Z + Y \cdot Z}{100} \right) + \frac{X \cdot Y \cdot Z}{10000}$$

15 Вказується ступінь ефективності, виражена у %. 0 % означає ефективність, яка відповідає показникові контролю, тоді як ефективність 100 % означає, що хвороба не спостерігалася.

Якщо фактична фунгіцидна активність перевищує розраховане значення, активність комбінації є суперадитивною, тобто, є наявним синергетичний ефект. У цьому разі ефективність, яка фактично може спостерігатися, повинна бути більшою за значення очікуваної ефективності ( $E$ ), розраховане за вищезазначеною формулою.

20 Ще одним способом демонстрації синергетичного ефекту є спосіб, описаний у публікації [Tammes пор. "Isoboles, A Graphic Representation of Synergism in Pesticides" in Neth. J. Plant Path., 1964, 70, 73-80].

Приклад 22. Вибір варіанта штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972

25 За стандартних лабораторних умов штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 продукує багато структур колонії на твердому агаровому середовищі. Кілька морфологічно відмінних колоній розпізнавали й зберігали у гліцерині при  $-80^\circ\text{C}$ . Культури в рідкому середовищі інокулювали з використанням цих запасів, які походять від різних фенотипів колоній, і після кількох циклів вирощування у рідкому середовищі повторно інокулювали на тверде агарове середовище. З нього розпізнавали один ізолят, який мав стійкий фенотип колонії за випробуваних умов, при цьому зберігаючи здатність до продукування термостійких спор та складових фусарицидину. Ізолят зі стійкою структурою колоній є бажаним для подальшого поліпшення штаму (див. Приклад 23). Цей ізолят було депоновано у NRRL 1 вересня 2015 р., і йому було присвоєно такий номер доступу: NRRL B-67129.

35 Приклад 23. Випадковий мутагенез для одержання поліпшених мутантів виду *Paenibacillus*  
Хімічний мутагенез

Для створення пулу генетично відмінних ізолятів штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-67129, вирощену в рідині культуру штаму осаджували шляхом центрифугування і ресуспендували у буфері, який містив 1-метил-3-нітро-1-нітрогуанідін (NTG) у кінцевій концентрації 400 мкг/мл. Як контроль приготувляли другий зразок без NTG. Зразки інкубували протягом 1 години при  $30^\circ\text{C}$  та 220 об/хв. Через 1 годину зразки осаджували шляхом центрифугування, промивали буфером, який не містив NTG і остаточно ресуспендували в такому самому об'ємі свіжого буфера. Аліквоти нерозведеної культури заморожували у гліцерині при  $-80^\circ\text{C}$ . Зразки розводили й поміщали на чашки з агаром для визначення колонієутворювальних одиниць, і відсоток знищення визначали як еталон для ступеня мутацій на геном. Поліпшені ізоляти, вибрані з першого циклу відбору, піддавали одному або кільком наступним циклам обробки NTG, як описано вище, і відбирали для подальшого поліпшення у продукуванні фусарицидину. Продукування фусарицидину визначали за відносною кількістю кількох сполук, включаючи фусарицидин A (також відомий як LiF04a або "Fus A"); LiF08a; *Paeniserine* A1 та B1 (також відомий як "M868" або "868"); та *Paeniprolixin* A2 та B2 (також відомий як "M938" або "938").

50 Високопродуктивний скринінг та характеристика ізоляту

Оброблені NTG зразки розводили й поміщали на чашки з агаром для одержання окремих колоній. Окремі колонії інокулювали у 96-лункові блоки з глибокими лунками, які містили середовище для посіву, які інкубували зі збовтуванням протягом 2 днів при  $30^\circ\text{C}$ . Після цього нові 96-лункові блоки з глибокими лунками, які містили середовище на основі сої для продукування, інокулювали й інкубували зі збовтуванням протягом 5 днів при  $30^\circ\text{C}$ . Через 5 днів приготувляли зразки у гліцерині з кожного зразка в окремій лунці і зберігали при  $-80^\circ\text{C}$  і

зразок піддавали хімічному аналізу чотирьох біомаркерів фусарицидину, які було розпізнано раніше. У цьому первинному відборі окремі ізоляти розглядали як збіги, якщо їх "загальне значення фусарицидину" (тобто, сума чотирьох аналізованих біомаркерів фусарицидину відносно середнього показника значень дикого типу) було вищим за середній показник значень дикого типу плюс 3х стандартне відхилення від значень дикого типу. 8 примірників кожного ізоляту, вибраних на основі цього критерію, вирощували й аналізували, як описано вище. Зразки, у яких підтверджувалося надпродукування фусарицидину, далі піддавали збільшенню масштабу у 50 мл об'ємі у 250 мл колбах для культивування зі збовтуванням і характеризували стосовно споруляції, продукування фусарицидину та біоактивності. Пріоритетні ізоляти піддавали подальшому збільшенню масштабу з перенесенням до біореакторів і знову характеризували стосовно споруляції, в'язкості, продукування фусарицидину та біоактивності. Кілька мутантних штамів одержували від другого циклу обробки NTG та скринінгу, і було виявлено, що вони мають чудове продукування біомаркерів фусарицидину та біоактивність.

Приклад 24. Характеризація чутливості до антибіотиків штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972

Штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 інокулювали на твердому sLB агаровому середовищі та sLB агаровому середовищі, доповненому антибіотиками у типовій концентрації. Чашки з агаром інкубували при 30° C і ріст оцінювали через 24, 48 та 72 годин. Чутливість штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 до кожного з випробуваних антибіотиків показано у Таблиці 22.

Таблиця 22

Чутливість до антибіотиків штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972.

Антибіотик (кінцева концентрація)	Чутливий / резистентний
Хлорамфенікол (5 мкг/мл)	Резистентний
Еритроміцин (5 мкг/мл)	Чутливий
Канаміцин (10 мкг/мл)	Чутливий
Лінкоміцин (25 мкг/мл)	Резистентний
Налідиксова кислота (25 мкг/мл)	Чутливий
Поліміксин В (10 мкг/мл)	Резистентний
Спектиноміцин (100-250 мкг/мл)	Резистентний (хоча ріст знижувався після 48 та 72 год. інкубації)
Тетрациклін (5 мкг/мл)	Чутливий

Приклад 25. Характеризація *spo0A* у штамі виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та штамі виду *Paenibacillus* NRRL B-67129

Геноми штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-67129 піддавали секвенуванню. Порівняння двох геномних послідовностей виявило характерну різницю у *spo0A* гені у двох штаммах. Як показано у вирівнюванні послідовностей на Фігурі 15, штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та штам виду *Paenibacillus* NRRL B-67129 відрізняються одним нуклеотидом у напрямку 3'-кінця *spo0A* гена. Різницю в один нуклеотид було розпізнано і вказано червоною стрілкою під послідовністю на Фігурі 15. Номери нуклеотидів відносно першого нуклеотиду *spo0A* гена вказано над послідовностями.

Вирівнювання *Spo0A* ортологів від утворюючих ендоспори бактерій вказувало, що зміна нуклеотиду в кодуєчій послідовності штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-67129 в результаті веде до заміщення однієї амінокислоти в консервативній ділянці (див. Фігуру 16). Амінокислотні послідовності *Spo0A* з *Paenibacillus terrae* (еталонна послідовність NCBI: WP\_044647644.1), *Paenibacillus polymyxa* SQR-21 (GenBank: AHM66630.1), підв. *Bacillus subtilis* штаму *subtilis* 168 (еталонна послідовність NCBI: NP\_390302.1), *Bacillus cereus* E33L (GenBank: AJ126924.1) та *Clostridium pasteurianum* DSM 525 (GenBank: AAA18883.1) вирівнювали у співставленні з амінокислотними послідовностями *Spo0A* зі штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 та штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-67129. Стрілка на Фігурі 16 вказує на єдине амінокислотне заміщення у *Spo0A* зі штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-67129.

Приклад 26. Дослідження залежності активності від структури фусарицидинів, *Paeniserine* та *Paeniprolixin*

Залежність активності від структури кількох очищених фусарицидинів, *Paeniserine* та *Paeniprolixin* досліджували з застосуванням *in vitro* аналізу, описаного у Прикладі 16. У першому експерименті порівнювали найбільш поширені пари фусарицидинів. Варіація в цих

фусарицидинах трапляється в амінокислотній позиції (5) кільця/ланцюга з аспарагіном або глутаміном. У цьому дослідженні Фусарицидин А порівнювали з Фусарицидином В, а LiF08a порівнювали з LiF08b відносно рослинного патогена *Alternaria solani* (ALTESO). В обох випадках аналог аспарагіну був більш, ніж удвічі ефективнішим за його глутаміновий відповідник (див. Фіг. 17).

В іншому експерименті порівнювали циклічні форми фусарицидинів з ациклічними. Залишилося нез'ясованим, чи є ациклічні форми фусарицидинів попередниками чи продуктами розпаду кінцевої сполуки; однак вони скрізь трапляються у ферментаційному бульйоні штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 і є поширеним забруднювачем очищених фусарицидинів з цього ферментаційного бульйону. Протигрибкову активність фусарицидину А порівнювали з сумішшю LiF04c та LiF04d (ациклічних аналогів Фусарицидинів А та В) в *in vitro* аналізі з рослинним патогеном ALTESO. Існує значний вплив розкриття пептидного кільця в естерному зв'язку. Ациклічні аналоги були неактивними у найвищій випробуваній концентрації (див. Фіг. 17). Це є важливим з точки зору структурної інформації та для демонстрації того, що ці сполуки, які зазвичай є домішками у в цілому очищених фусарицидинах, очевидно, не беруть участі у протигрибковій активності.

Також досліджували амінокислотні заміщення в амінокислотних позиціях (2) та (3) кільця/ланцюга. Аналоги Фусарицидин А, LiF05a, LiF06a та LiF08a відрізняються в цих позиціях комбінаціями валіну або ізолейцину. Їх випробували в *in vitro* аналізі з рослинним патогеном ALTESO. Двома найбільш ефективними аналогами були Фусарицидин А (валін / валін) та LiF08a (ізолейцин / ізолейцин). Інші два аналоги, які складалися з суміші валіну / ізолейцину, були більш, ніж утричі слабшими (див. ФІГ. 17).

Також досліджували розбіжності у протигрибковій активності з новими *Paeniserine*. У цьому разі також оцінювали дію проти ALTESO та відмінності в амінокислотних позиціях (1) та (4) кільця/ланцюга. Класичні фусарицидини обмежуються треоніном у цих позиціях, тоді як у *Paeniserine* можуть чергуватися треонін та серин. У цьому аналізі *Paeniserine* продемонстрували протигрибкову активність, подібну до дії фусарицидину А (див. Фіг. 17).

Протигрибкову активність *Paeniprolixin* (тобто, аналогів з різною довжиною бокового ланцюга) також досліджували шляхом *in vitro* аналізів на дію проти грибкових патогенів ALTESO та *Colletotrichum lagenarium* (COLLLA). Класичний фусарицидин включає 15-гуанідино-3-гідроксипентадеканову кислоту як боковий ланцюг. Було виявлено, що *Paeniprolixin* мають 2 з 4 додаткових метиленових груп у ланцюгу. Було продемонстровано, що довжина бокового ланцюга має явний вплив на біоактивність, і виявлено розбіжності з конкретними грибковими патогенами. Проти ALTESO незмінна довжина GHPD була найбільш ефективною, зменшуючись з кожною додатковою метиленовою групою. Проти COLLLA найбільш ефективною довжиною була GHPD+2CH<sub>2</sub> (див. Фіг. 17).

Приклад 27. Синергетична протигрибкова активність сумішей Фусарицидину А з *Paeniserine* А1 або *Paeniprolixin* С1

*In vitro* аналіз протигрибкової дії на 96-лунковому планшеті з реагентом для визначення життєздатності клітин на основі резазурину PRESTOBLUE® (див. Приклад 18) застосовували для оцінки протигрибкової активності фусарицидинів, *Paeniserine* та *Paeniprolixin*, окремо та у двох комбінаціях. Протигрибкову активність розраховували відносно показників необробленого контрольного зразка за таким рівнянням:

Ефективність = (100 - відносний ріст необробленого контрольного зразка)

100 % ефективність вказувала на відсутність росту грибів порівняно з необробленим контрольним зразком, а 0 % ефективність вказувала на відсутність інгібування росту грибів порівняно з необробленим контрольним зразком.

У Таблицях 23 та 24 чітко показано, що активність комбінацій активних сполук згідно з винаходом, яка спостерігалася, була більшою за розраховану активність, тобто, був наявний синергетичний ефект.



Таблиця 23

Протигрибкова активність проти *Alternaria solani* Фусарицидину А окремо,  
Paeniserine A1 окремо та Фусарицидину А+Paeniserine A1

Активні сполуки	Норма внесення активної сполуки у мг/мл	Ефективність у %	
		виявл.*	розрах.**
Фусарицидин А	0,25	39,0	
Paeniserine A1	0,0083	0,5	
Фусарицидин А+Paeniserine A1	0,25+0,0083	48,2	39,3

\* виявл. = виявлена активність

\*\* розрах. = активність, розрахована за формулою Колбі

Таблиця 24

Протигрибкова активність проти *Alternaria solani* Фусарицидину А окремо,  
Paeniprolixin окремо та Фусарицидину А+Paeniprolixin C1

Активні сполуки	Норма внесення активної сполуки у мг/мл	Ефективність у %	
		виявл.*	розрах.**
Фусарицидин А	0,25	42,0	
Paeniprolixin C1	0,0083	25,4	
Фусарицидин А+Paeniprolixin C1	0,25+0,0083	68,1	56,7

\* виявл. = виявлена активність

\*\* розрах. = активність, розрахована за формулою Колбі

5 Якщо немає іншого визначення, усі технічні та наукові терміни у тексті мають значення, які є загальноприйнятими серед спеціалістів у галузі, до якої належить даний винахід. Усі наведені публікації, патенти та патентні публікації включено до цього опису шляхом посилання у повному обсязі з будь-якої точки зору.

10 Слід розуміти, що описаний винахід не обмежується описаними способами, протоколами та матеріалами, оскільки вони можуть змінюватися. Також слід розуміти, що застосовану авторами термінологію вжито лише з метою опису конкретних варіантів втілення, але не для обмеження обсягу даного винаходу, який обмежується лише супровідною формулою винаходу.

Спеціалісти у даній галузі на основі звичних експериментів зможуть визнати й пересвідчитися в існуванні багатьох еквівалентів описаних авторами конкретних варіантів втілення винаходу. Такі еквіваленти охоплюються представленою нижче формулою винаходу.

15

## ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

- <110> Bayer CropScience LP
- <120> НОВИЙ ШТАМ PAENIBACILLUS, ПРОТИГРИБКОВІ СПОЛУКИ ТА СПОСОБИ  
ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ
- <130> BCS159002 WO
- <150> US 62/138,765  
<151> 2015-03-26
- <150> US 62/232,205  
<151> 2015-09-24
- <160> 20
- <170> PatentIn версія 3.5
- <210> 1  
<211> 550  
<212> PRT  
<213> Paenibacillus peoriae
- <400> 1

Asn Ala Leu Val Tyr Asp Pro Val Thr Ile Glu Gln Ile Lys Gly His  
1 5 10 15

Leu Val His Leu Met Glu Gln Ile Val Glu Asn Pro Ala Ile Ser Val  
20 25 30

Asp Ala Leu Glu Leu Val Thr Pro Gln Glu Arg Glu Gln Ile Leu Asn  
35 40 45

Val Trp Gly Asn Thr Lys Gly Ile Tyr Glu His Cys Asn Thr Phe His  
50 55 60

Gly Leu Leu Glu Glu Gln Ala Gly Arg Thr Pro Asp Ala Thr Ala Ile  
65 70 75 80

Trp Phe Glu Asp Glu Ser Leu Thr Tyr Ala Glu Leu Asn Ala Lys Ala  
85 90 95

Asn Gly Leu Ala Arg Arg Leu Arg Thr Gln Gly Ile Lys Thr Gly Asp  
100 105 110

Leu Val Gly Leu Ile Ala Glu Arg Ser Leu Glu Met Ile Val Gly Ile

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

340					345					350					
Ile	Trp	Ser	Val	Pro	Asp	Ser	Glu	Glu	Ala	Thr	Asp	Ile	Val	Ser	Ile
		355					360					365			
Gly	Arg	Pro	Ile	Ala	Asn	His	Ser	Val	Tyr	Ile	Leu	Asp	Asp	His	Phe
	370					375					380				
Arg	Leu	Gln	Pro	Val	Gly	Val	Ala	Gly	Glu	Leu	Cys	Ile	Ser	Ser	Ile
385					390					395					400
Gly	Leu	Ala	Arg	Gly	Tyr	His	Asn	Gln	Pro	Glu	Leu	Met	Asp	Glu	Lys
				405					410					415	
Phe	Val	Asp	Asn	Pro	Phe	Ala	Pro	Gly	Glu	Arg	Met	Tyr	Arg	Thr	Gly
			420					425					430		
Asp	Leu	Val	Arg	Trp	Leu	Pro	Asn	Gly	Thr	Ile	Glu	Tyr	Leu	Gly	Arg
		435					440					445			
Ile	Asp	His	Gln	Val	Lys	Ile	Arg	Gly	Tyr	Arg	Ile	Glu	Leu	Gly	Glu
	450					455					460				
Val	Glu	Ala	Gln	Met	Leu	Arg	Val	Pro	Ser	Val	Gln	Glu	Val	Val	Ala
465					470					475					480
Met	Ala	Ala	Glu	Gly	Glu	Asp	Gly	Tyr	Lys	Asp	Leu	Val	Ala	Tyr	Phe
				485					490					495	
Val	Ala	Ala	Gln	Lys	Leu	Glu	Val	Ser	Glu	Leu	Arg	Ala	Val	Leu	Ser
			500					505					510		
Glu	Met	Leu	Pro	Gly	Tyr	Met	Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ile	Gln	Leu	Glu
		515					520					525			
Asp	Met	Pro	Leu	Thr	Ser	Asn	Gly	Lys	Ile	Asp	Arg	Lys	Ala	Leu	Gln
	530					535					540				
Gly	Glu	Arg	Gly	Trp	Ala										
545					550										

<210> 2

```

<211> 550
<212> PRT
<213> Paenibacillus polymyxa

<400> 2
Asn Ala Leu Val Tyr Asp Gln Val Thr Ile Gly Gln Ile Lys Gly His
1 5 10 15
Leu Val His Leu Met Glu Gln Ile Val Glu Asn Pro Ala Ile Ser Val
20 25 30
Asp Ala Leu Glu Leu Val Thr Pro Gln Glu Arg Glu Gln Ile Leu Asn
35 40 45
Val Trp Gly Asn Met Lys Gly Ile Tyr Glu His Cys Asn Thr Phe His
50 55 60
Gly Leu Leu Glu Glu Gln Ala Gly Arg Thr Pro Asp Ala Thr Ala Ile
65 70 75 80
Trp Phe Glu Asp Glu Ser Leu Thr Tyr Ala Glu Leu Asn Ala Lys Ala
85 90 95
Asn Gly Leu Ala Arg Arg Leu Arg Thr Gln Gly Ile Lys Thr Gly Asp
100 105 110
Leu Val Gly Leu Ile Ala Glu Arg Ser Leu Glu Met Ile Val Gly Ile
115 120 125
Tyr Gly Ile Met Lys Ala Gly Gly Ala Tyr Val Pro Ile Asp Pro Glu
130 135 140
Tyr Pro Lys Glu Arg Ile Ser Tyr Met Leu Glu Asp Ser Gly Ala Lys
145 150 155 160
Leu Ile Leu Thr Gln Ala His Leu Leu Glu His Leu Gly Trp Thr Glu
165 170 175
Asn Val Leu Leu Leu Asp Glu Ser Ser Thr Tyr Asp Ala Asp Thr Ser
180 185 190
Asn Leu Glu Asp Thr Ala Gly Pro Asp Asp Leu Ala Tyr Val Ile Tyr
195 200 205

```

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

Asp Leu Val Arg Trp Leu Pro Asn Gly Thr Ile Glu Tyr Leu Gly Arg  
435 440 445

Ile Asp His Gln Val Lys Ile Arg Gly Tyr Arg Ile Glu Leu Gly Glu  
450 455 460

Val Glu Ala Gln Met Leu Arg Val Pro Ser Val Gln Glu Val Val Ala  
465 470 475 480

Met Ala Val Glu Gly Asp Asp Gly Tyr Lys Asp Leu Val Ala Tyr Phe  
485 490 495

Val Ala Ala Gln Lys Leu Glu Val Ser Glu Leu Arg Ala Val Leu Ser  
500 505 510

Glu Ile Leu Pro Gly Tyr Met Ile Pro Ser Arg Phe Ile Gln Leu Glu  
515 520 525

Asp Met Pro Leu Thr Ser Asn Gly Lys Ile Asp Arg Lys Ala Leu Gln  
530 535 540

Gly Glu Arg Gly Trp Ala  
545 550

<210> 3  
<211> 550  
<212> PRT  
<213> Paenibacillus polymyxa

<400> 3

Asn Ala Leu Val Tyr Asp Pro Val Thr Ile Glu Gln Ile Lys Gly His  
1 5 10 15

Leu Val His Leu Met Glu Gln Ile Val Glu Asn Pro Ala Ile Ser Val  
20 25 30

Asp Ala Leu Glu Leu Val Thr Pro Gln Glu Arg Glu Gln Ile Leu Asn  
35 40 45

Val Trp Gly Asn Thr Lys Gly Ile Tyr Glu His Cys Asn Thr Phe His  
50 55 60

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



Asn Asp Lys Gly Ile Thr Val Ala Thr Leu Pro Pro Ala Tyr Ala Ile  
 290 295 300  
 His Leu Asp Pro Glu Arg Leu Pro Thr Leu Arg Cys Leu Leu Thr Ala  
 305 310 315 320  
 Gly Ser Ala Ala Ser Val Glu Leu Ile Glu Glu Trp Arg Lys His Val  
 325 330 335  
 Arg Tyr Ser Asn Gly Tyr Gly Pro Thr Glu Asp Ser Val Cys Thr Thr  
 340 345 350  
 Ile Trp Ser Val Pro Asp Ser Glu Glu Ala Thr Asp Ile Val Ser Ile  
 355 360 365  
 Gly Arg Pro Ile Ala Asn His Ser Val Tyr Ile Leu Asp Asp His Phe  
 370 375 380  
 Arg Leu Gln Pro Val Gly Val Ala Gly Glu Leu Cys Ile Ser Ser Ile  
 385 390 395 400  
 Gly Leu Ala Arg Gly Tyr His Asn Arg Pro Glu Leu Met Asp Glu Lys  
 405 410 415  
 Phe Val Asp Asn Pro Phe Ala Pro Gly Glu Arg Met Tyr Arg Thr Gly  
 420 425 430  
 Asp Leu Val Arg Trp Leu Pro Asn Gly Thr Ile Glu Tyr Leu Gly Arg  
 435 440 445  
 Ile Asp His Gln Val Lys Ile Arg Gly Tyr Arg Ile Glu Leu Gly Glu  
 450 455 460  
 Val Glu Ala Gln Met Leu Arg Val Pro Ser Val Gln Glu Val Val Ala  
 465 470 475 480  
 Met Ala Val Glu Gly Asp Asp Gly Tyr Lys Asp Leu Val Ala Tyr Phe  
 485 490 495  
 Val Ala Ala Gln Lys Leu Glu Val Ser Glu Leu Arg Ala Val Leu Ser  
 500 505 510

Glu Met Leu Pro Gly Tyr Met Ile Pro Ser Arg Phe Ile Gln Leu Glu  
515 520 525

Asp Met Pro Leu Thr Ser Asn Gly Lys Ile Asp Arg Lys Ala Leu Lys  
530 535 540

Gly Glu Arg Gly Trp Ala  
545 550

<210> 4

<211> 550

<212> PRT

<213> Paenibacillus polymyxa

<400> 4

Asn Ala Leu Val Tyr Asp Pro Val Thr Ile Gly Gln Ile Lys Gly His  
1 5 10 15

Leu Val His Leu Met Glu Gln Ile Val Glu Asn Pro Ala Ile Ser Val  
20 25 30

Asp Ala Leu Glu Leu Ile Thr Pro Gln Glu Arg Glu Gln Ile Leu Asn  
35 40 45

Val Trp Gly Asn Thr Lys Ala Ile Tyr Glu His Tyr Asn Thr Phe His  
50 55 60

Gly Leu Leu Glu Glu Gln Ala Gly Arg Thr Pro Asp Ala Ala Ala Ile  
65 70 75 80

Trp Phe Glu Asp Glu Ser Leu Thr Tyr Ala Glu Leu Asn Ala Lys Ala  
85 90 95

Asn Gly Leu Ala Arg Arg Leu Arg Thr Gln Gly Ile Lys Thr Gly Asp  
100 105 110

Leu Val Gly Leu Ile Ala Glu Arg Ser Leu Glu Met Ile Val Gly Ile  
115 120 125

Tyr Gly Ile Met Lys Ala Gly Gly Ala Tyr Val Pro Ile Asp Pro Glu  
130 135 140

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

Gly Arg Pro Ile Ala Asn His Ser Val Tyr Ile Leu Asp Asp His Phe  
370 375 380

Arg Leu Gln Pro Val Gly Val Ala Gly Glu Leu Cys Ile Ser Ser Ile  
385 390 395 400

Gly Leu Ala Arg Gly Tyr His Asn Arg Pro Glu Leu Met Asp Glu Lys  
405 410 415

Phe Val Asp Asn Pro Phe Ala Pro Gly Glu Arg Met Tyr Arg Thr Gly  
420 425 430

Asp Leu Val Arg Trp Leu Pro Asn Gly Asn Ile Glu Tyr Leu Gly Arg  
435 440 445

Ile Asp His Gln Val Lys Ile Arg Gly Tyr Arg Ile Glu Leu Gly Glu  
450 455 460

Val Glu Ala Gln Met Leu Arg Val Pro Ser Val Gln Glu Val Val Ala  
465 470 475 480

Met Ala Val Glu Gly Asp Asp Gly Tyr Lys Asp Leu Val Ala Tyr Phe  
485 490 495

Val Ala Ala Gln Lys Leu Glu Val Ser Glu Leu Arg Ala Val Leu Ser  
500 505 510

Glu Met Leu Pro Gly Tyr Met Ile Pro Ser Arg Phe Ile Gln Leu Glu  
515 520 525

Asp Met Leu Leu Thr Ser Asn Gly Lys Ile Asp Arg Lys Ala Leu Gln  
530 535 540

Gly Glu Arg Gly Trp Ala  
545 550

<210> 5  
<211> 550  
<212> PRT  
<213> Paenibacillus polymyxa

<400> 5

Asn Ala Leu Val Tyr Asp Gln Val Thr Ile Glu Gln Ile Lys Glu His

1		5		10		15	
Leu	Val	His	Leu	Met	Glu	Gln	Ile
			20				25
Asp	Ala	Leu	Glu	Leu	Val	Thr	Pro
		35					40
Val	Trp	Gly	Asn	Thr	Asn	Val	Cys
	50					55	
Gly	Leu	Leu	Glu	Glu	Gln	Ala	Gly
65					70		
Leu	Phe	Gly	Asp	Glu	Met	Leu	Thr
				85			
Asn	Gly	Leu	Ala	Arg	Arg	Leu	Arg
			100				
Leu	Val	Gly	Leu	Ile	Ala	Glu	Arg
		115					120
Tyr	Gly	Ile	Met	Lys	Ala	Gly	Gly
	130					135	
Tyr	Pro	Lys	Glu	Arg	Ile	Ser	Tyr
145					150		
Leu	Ile	Leu	Thr	Gln	Ala	His	Leu
				165			
Ser	Val	Leu	Leu	Leu	Asp	Glu	Ser
			180				
Lys	Leu	Glu	Asp	Thr	Ala	Gly	Pro
		195					200
Thr	Ser	Gly	Thr	Thr	Gly	Gln	Pro
	210					215	
Gly	Leu	Pro	Asn	Leu	Ser	Asp	Val

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

450 455 460

Val Glu Ala Gln Ile Leu Arg Val Pro Ser Val Gln Glu Val Val Ala  
465 470 475 480

Met Ala Val Glu Gly Asp Asp Gly Tyr Lys Asp Leu Val Ala Tyr Phe  
485 490 495

Val Ala Ala Gln Lys Leu Glu Val Ser Glu Leu Arg Ala Val Leu Ser  
500 505 510

Glu Met Leu Pro Gly Tyr Met Ile Pro Ser Arg Phe Ile Gln Leu Asp  
515 520 525

Asp Met Pro Leu Thr Ser Asn Gly Lys Val Asp Arg Lys Ala Leu Gln  
530 535 540

Gly Glu Arg Gly Trp Ala  
545 550

<210> 6  
<211> 550  
<212> PRT  
<213> Paenibacillus polymyxa

<400> 6

Asn Ala Leu Val Tyr Asp Pro Ala Thr Ile Glu Gln Ile Lys Gly His  
1 5 10 15

Leu Phe His Leu Met Glu Gln Ile Val Glu Asn Pro Ala Ile Ser Val  
20 25 30

Asp Ala Leu Glu Leu Val Thr Pro Gln Glu Arg Glu Gln Ile Leu Ser  
35 40 45

Val Trp Gly Glu Thr Glu Ala Ser Ser Lys His Arg Thr Thr Phe His  
50 55 60

Gly Leu Leu Glu Glu Gln Ala Ala Arg Thr Pro Asp Ala Thr Ala Ile  
65 70 75 80

Leu Phe Glu Asn Glu Met Leu Thr Tyr Ala Glu Leu Asn Ala Lys Ala  
85 90 95

Asn Gly Leu Ala Arg Arg Leu Arg Ala Glu Gly Ile Lys Thr Gly Asp  
 100 105 110  
 Leu Val Gly Leu Leu Val Glu Arg Ser Thr Asp Met Ile Val Gly Met  
 115 120 125  
 Tyr Gly Ile Met Lys Ala Gly Gly Ala Tyr Val Pro Ile Asp Pro Glu  
 130 135 140  
 Tyr Pro Lys Glu Arg Ile Asn Tyr Met Leu Glu Asp Ser Gly Thr Lys  
 145 150 155 160  
 Met Ile Leu Thr Gln Ala His Leu Leu Glu His Ile Gly Trp Met Gly  
 165 170 175  
 Asn Val Leu Leu Leu Glu Glu Pro Ser Thr Tyr Asp Ala Asp Glu Ser  
 180 185 190  
 Asn Leu Lys Asp Thr Ala Asp Ser Asp Asp Leu Ala Tyr Val Ile Tyr  
 195 200 205  
 Thr Ser Gly Thr Thr Gly Gln Pro Lys Gly Val Leu Val Glu His Arg  
 210 215 220  
 Gly Leu Arg Asn Leu Ser Asp Val Tyr Arg Gly Leu Phe Glu Val Thr  
 225 230 235 240  
 Pro Gln Asp Arg Ile Val Gln Phe Ala Ser Leu Ser Phe Asp Ala Ser  
 245 250 255  
 Val Ser Glu Ile Ile Thr Ala Leu Ser His Gly Ala Thr Leu Cys Ile  
 260 265 270  
 Pro Ser Thr Gln Asp Ile Leu Asp His Ala Leu Phe Glu Gln Phe Met  
 275 280 285  
 Asn Ser Lys Ala Ile Thr Ile Ala Thr Leu Pro Pro Ala Tyr Ile Ile  
 290 295 300  
 His Leu Glu Pro Glu Arg Leu Pro Ala Leu Arg Cys Leu Leu Thr Ala  
 305 310 315 320



Gly	Ser	Ala	Thr	Ser 325	Val	Glu	Leu	Ile	Glu 330	Lys	Trp	Arg	Lys	His 335	Val
Gln	Tyr	Phe	Asn 340	Gly	Tyr	Gly	Pro	Thr 345	Glu	Asp	Ser	Val	Cys 350	Thr	Thr
Met	Trp	Thr 355	Val	Pro	Asp	Ser	Glu 360	Glu	Thr	Met	Glu	Arg 365	Val	Ser	Ile
Gly	Gln 370	Pro	Ile	Ala	Asn	His 375	Arg	Val	Tyr	Ile	Leu 380	Asp	Asp	His	Phe
Arg 385	Val	Leu	Pro	Val	Gly 390	Val	Ala	Gly	Glu	Leu 395	Cys	Ile	Ser	Gly	Ile 400
Gly	Leu	Ala	Arg	Gly 405	Tyr	His	Asn	Gln	Pro 410	Ala	Leu	Met	Asp	Glu 415	Lys
Phe	Val	Asp	Asn 420	Pro	Phe	Thr	Pro	Gly 425	Glu	Arg	Met	Tyr	Arg 430	Thr	Gly
Asp	Leu	Val 435	Arg	Trp	Leu	Pro	Asp 440	Gly	Thr	Ile	Glu	Tyr 445	Leu	Gly	Arg
Ile	Asp 450	His	Gln	Val	Lys	Ile 455	Arg	Gly	Tyr	Arg	Ile 460	Glu	Leu	Gly	Glu
Val 465	Glu	Ala	His	Met	Leu 470	Arg	Val	Pro	Phe	Val 475	Gln	Glu	Val	Val	Ala 480
Leu	Ala	Val	Glu	Ser 485	Glu	Asp	Gly	Tyr	Lys 490	Asp	Leu	Val	Ala	Tyr 495	Phe
Val	Ala	Ala	Gln 500	Lys	Leu	Glu	Val	Ser 505	Glu	Leu	Arg	Ala	Val 510	Leu	Ser
Glu	Met	Leu 515	Pro	Gly	Tyr	Met	Ile 520	Pro	Ser	Arg	Phe	Val 525	Gln	Leu	Glu
Asp	Met 530	Pro	Leu	Thr	Ser	Asn 535	Gly	Lys	Ile	Asp	Arg 540	Lys	Ala	Leu	Gln

Gly Glu Gln Gly Trp Ala  
545 550

<210> 7  
<211> 550  
<212> PRT  
<213> Paenibacillus polymyxa

<400> 7

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

Leu Phe His Leu Met Glu Gln Ile Val Glu Asn Pro Ala Ile Ser Val  
20 25 30

Asp Ala Leu Glu Leu Val Thr Pro Gln Glu Arg Glu Gln Ile Leu Asn  
35 40 45

Val Trp Gly Glu Thr Glu Ala Ser Ser Lys His Arg Thr Thr Phe His  
50 55 60

Gly Leu Leu Glu Glu Gln Ala Ala Arg Thr Pro Asp Ala Thr Ala Ile  
65 70 75 80

Leu Phe Glu Asn Glu Met Leu Thr Tyr Ala Glu Leu Asn Ala Lys Ala  
85 90 95

Asn Gly Leu Ala Arg Arg Leu Arg Ala Glu Gly Ile Lys Thr Gly Asp  
100 105 110

Leu Val Gly Leu Leu Val Glu Arg Ser Thr Asp Met Ile Val Gly Met  
115 120 125

Tyr Gly Ile Met Lys Ala Gly Gly Ala Tyr Val Pro Met Asp Pro Glu  
130 135 140

Tyr Pro Lys Glu Arg Ile Asn Tyr Met Leu Glu Asp Ser Gly Thr Lys  
145 150 155 160

Met Ile Leu Ala Gln Ala His Leu Leu Glu His Ile Asp Trp Met Gly  
165 170 175

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

Gly Leu Ala Arg Gly Tyr His Asn Gln Pro Ala Leu Met Asp Glu Lys  
405 410 415

Phe Val Asp Asn Pro Phe Thr Pro Gly Glu Arg Met Tyr Arg Thr Gly  
420 425 430

Asp Leu Val Arg Trp Leu Pro Asp Gly Thr Ile Glu Tyr Leu Gly Arg  
435 440 445

Ile Asp His Gln Val Lys Ile Arg Gly Tyr Arg Ile Glu Leu Gly Glu  
450 455 460

Val Glu Ala His Met Leu Arg Val Pro Phe Val Gln Glu Val Val Ala  
465 470 475 480

Leu Ala Val Glu Ser Glu Asp Gly Tyr Lys Asp Leu Val Ala Tyr Phe  
485 490 495

Val Ala Ala Gln Lys Leu Glu Val Ser Glu Leu Arg Ala Val Leu Ser  
500 505 510

Glu Met Leu Pro Gly Tyr Met Ile Pro Ser Arg Phe Val Gln Leu Glu  
515 520 525

Asp Met Pro Leu Thr Ser Asn Gly Lys Ile Asp Arg Lys Ala Leu Gln  
530 535 540

Gly Glu Gln Gly Trp Ala  
545 550

<210> 8  
<211> 550  
<212> PRT  
<213> Paenibacillus polymyxa

<400> 8

Asn Ala Leu Val Tyr Asp Pro Ala Thr Ile Glu Gln Ile Lys Gly His  
1 5 10 15

Leu Phe His Leu Met Glu Gln Ile Val Glu Asn Pro Ala Ile Ser Val  
20 25 30

Asp Ala Leu Glu Leu Val Thr Pro Gln Glu Arg Glu Gln Ile Leu Asn  
 35 40 45  
 Val Trp Gly Asp Thr Gly Ala Ser Ser Lys His Arg Thr Thr Phe His  
 50 55 60  
 Gly Leu Leu Glu Glu Gln Ala Gly Arg Thr Pro Asp Ala Thr Ala Ile  
 65 70 75 80  
 Val Phe Glu Asn Glu Val Leu Thr Tyr Ala Glu Leu Asn Ala Lys Ala  
 85 90 95  
 Asn Gly Leu Ala Arg Arg Leu Arg Ala Glu Gly Ile Lys Thr Gly Asp  
 100 105 110  
 Leu Val Gly Leu Ile Val Glu Arg Ser Thr Asp Met Ile Val Gly Met  
 115 120 125  
 Tyr Gly Ile Met Lys Ala Gly Gly Ala Tyr Val Pro Ile Asp Pro Glu  
 130 135 140  
 Tyr Pro Lys Glu Arg Ile Asn Tyr Met Leu Glu Asp Ser Gly Thr Lys  
 145 150 155 160  
 Met Ile Leu Ala Gln Ala His Leu Leu Glu His Arg Gly Trp Thr Gly  
 165 170 175  
 Asn Val Leu Leu Leu Asp Glu Pro Ser Thr Tyr Asp Ala Asp Thr Ser  
 180 185 190  
 Asn Leu Lys Asp Thr Ala Asp Pro Asp Asp Leu Ala Tyr Val Ile Tyr  
 195 200 205  
 Thr Ser Gly Thr Thr Gly Arg Pro Lys Gly Val Leu Val Glu His Arg  
 210 215 220  
 Gly Leu Gln Asn Leu Ser Asp Val Tyr Arg Gly Leu Phe Glu Val Thr  
 225 230 235 240  
 Pro Gln Asp Arg Ile Val Gln Phe Ala Ser Leu Ser Phe Asp Ala Ser  
 245 250 255

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

Leu Ala Val Glu Ser Asp Asp Gly Tyr Lys Asp Leu Val Ala Tyr Phe  
485 490 495

Val Ala Ala Gln Lys Leu Glu Val Ser Glu Leu Arg Ala Asp Leu Ser  
500 505 510

Glu Met Leu Pro Gly Tyr Met Ile Pro Ser Arg Phe Ile Gln Leu Glu  
515 520 525

Asp Met Pro Leu Thr Ser Asn Gly Lys Ile Asp Arg Lys Ala Leu Gln  
530 535 540

Gly Glu Arg Gly Trp Ala  
545 550

<210> 9

<211> 550

<212> PRT

<213> Paenibacillus polymyxa

<400> 9

Asn Ala Leu Val Tyr Asp Pro Ala Thr Ile Glu Gln Ile Lys Gly His  
1 5 10 15

Leu Phe His Leu Met Glu Gln Ile Val Glu Asn Pro Ala Ile Ser Val  
20 25 30

Asp Ala Leu Glu Leu Val Thr Pro Gln Glu Arg Glu Gln Ile Leu Asn  
35 40 45

Val Trp Gly Asp Thr Gly Ala Ser Ser Lys His Arg Thr Thr Phe His  
50 55 60

Gly Leu Leu Glu Glu Gln Ala Gly Arg Thr Pro Asp Ala Thr Ala Ile  
65 70 75 80

Val Phe Glu Asn Glu Val Leu Thr Tyr Ala Glu Leu Asn Ala Lys Ala  
85 90 95

Asn Gly Leu Ala Arg Arg Leu Arg Ala Glu Gly Ile Lys Thr Gly Asp  
100 105 110

Leu Val Gly Leu Ile Val Glu Arg Ser Thr Asp Met Ile Val Gly Met

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



340					345					350					
Ile	Trp	Asn	Ala	Gln	Asn	Ser	Glu	Glu	Thr	Val	Gly	Ile	Val	Ser	Ile
		355					360					365			
Gly	Gln	Pro	Ile	Ala	Asn	His	Arg	Val	Tyr	Ile	Leu	Asp	Glu	His	Phe
	370					375					380				
Arg	Leu	Leu	Pro	Val	Gly	Val	Ala	Gly	Glu	Leu	Cys	Ile	Ser	Gly	Ile
385					390					395					400
Gly	Leu	Ala	Arg	Gly	Tyr	His	Asn	Arg	Pro	Glu	Leu	Met	Asp	Glu	Lys
				405					410					415	
Phe	Val	Asp	Asn	Pro	Tyr	Ala	Pro	Gly	Glu	Arg	Met	Tyr	Arg	Thr	Gly
			420					425					430		
Asp	Leu	Val	Arg	Trp	Leu	Ser	Asn	Gly	Thr	Ile	Glu	Tyr	Leu	Gly	Arg
		435					440					445			
Ile	Asp	His	Gln	Val	Lys	Ile	Arg	Gly	Tyr	Arg	Ile	Glu	Leu	Gly	Glu
	450					455					460				
Val	Glu	Ala	His	Met	Leu	Arg	Val	Pro	Ser	Val	Gln	Glu	Val	Val	Val
465					470					475					480
Leu	Ala	Val	Glu	Ser	Asp	Asp	Gly	Tyr	Lys	Asp	Leu	Val	Ala	Tyr	Phe
				485					490					495	
Val	Ala	Ala	Gln	Lys	Leu	Glu	Val	Ser	Glu	Leu	Arg	Ala	Asp	Leu	Ser
			500					505					510		
Glu	Met	Leu	Pro	Gly	Tyr	Met	Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ile	Gln	Leu	Glu
		515					520					525			
Asp	Met	Pro	Leu	Thr	Ser	Asn	Gly	Lys	Ile	Asp	Arg	Lys	Ala	Leu	Gln
	530					535					540				
Gly	Glu	Arg	Gly	Trp	Ala										
545					550										

<210> 10

<211> 250  
 <212> PRT  
 <213> Paenibacillus sp.

<400> 10

Asn Thr Leu Val Tyr Asp Ser Ser Asn Ile Glu Arg Ile Arg Gly His  
 1 5 10 15

Leu Val His Leu Met Glu Gln Ile Val Lys Asn Pro Gly Ile Ser Val  
 20 25 30

Asp Ala Leu Glu Leu Val Thr Pro Gln Glu Arg Asp His Ile Leu Asn  
 35 40 45

Ile Trp Lys Asp Ile Ala Val Pro Tyr Glu His Tyr Ala Glu Leu His  
 50 55 60

Ala Gln Ala Gln Thr Ala Pro Ile Gly Gln Pro Asn Val Tyr Ile Val  
 65 70 75 80

Asp Asp His Phe Arg Leu Leu Pro Val Gly Val Ala Gly Glu Leu Cys  
 85 90 95

Ile Ala Gly Val Gly Phe Thr Arg Glu His His Asn His Pro Glu Leu  
 100 105 110

Thr Asp Glu Lys Phe Val Asp Asn Pro Phe Ala Pro Gly Glu Arg Met  
 115 120 125

Tyr Arg Thr Gly Asp Leu Ala Arg Trp Leu Pro Asp Gly Thr Ile Gln  
 130 135 140

Tyr Leu Gly Arg Val Asp His Gln Val Lys Ile Arg Gly Tyr Arg Val  
 145 150 155 160

Glu Leu Ser Glu Val Glu Ala Gln Met Leu Lys Val Gln Ser Val Gln  
 165 170 175

Asp Val Val Val Met Ala Val Glu Gly Asp Asp Gly His Lys Asp Leu  
 180 185 190

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

Ala Val Leu Ser Glu Leu Leu Pro Val Tyr Met Ile Pro Ser His Phe  
210 215 220

Val Gln Leu Glu Asn Pro Leu Leu Thr Pro Ser Gly Lys Ile Asp Arg  
225 230 235 240

Lys Ala Leu Gln Gly Glu Arg Gly Trp Ala  
245 250

<210> 11

<211> 550

<212> PRT

<213> Paenibacillus sp.

<400> 11

Asn Ala Leu Val Tyr Asp Gln Val Thr Ile Glu Gln Ile Lys Gly His  
1 5 10 15

Leu Val His Leu Met Glu Gln Ile Val Glu Asn Pro Ala Ile Ser Val  
20 25 30

Asp Ala Leu Glu Leu Val Thr Pro Gln Glu Arg Glu Leu Ile Leu Asp  
35 40 45

Val Trp Gly Asn Thr Lys Val Ser Tyr Glu His Cys Asn Thr Phe His  
50 55 60

Gly Leu Leu Glu Glu Gln Ala Gly Arg Thr Pro Glu Ala Thr Ala Ile  
65 70 75 80

Val Phe Glu Asp Glu Met Leu Thr Tyr Ala Glu Leu Asn Ala Lys Ala  
85 90 95

Asn Gly Leu Ala Arg Lys Leu Arg Asn Gln Gly Ile Gln Thr Gly Asp  
100 105 110

Leu Val Gly Leu Ile Ala Asp Arg Ser Ser Glu Met Ile Val Gly Ile  
115 120 125

Tyr Gly Ile Met Lys Ala Gly Gly Ala Tyr Val Pro Ile Asp Pro Glu  
130 135 140

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

Gly Arg Pro Ile Ala Asn His Ser Val Tyr Val Leu Asp Glu His Leu  
370 375 380

Arg Leu Gln Pro Val Gly Val Val Gly Glu Leu Cys Ile Ser Gly Ile  
385 390 395 400

Gly Leu Ala Arg Gly Tyr His Asn Arg Pro Ala Leu Met Asp Glu Lys  
405 410 415

Phe Val Glu Asn Pro Phe Thr Pro Gly Glu Arg Met Tyr Arg Thr Gly  
420 425 430

Asp Leu Val Arg Trp Leu Pro Asn Gly Thr Ile Glu Tyr Val Gly Arg  
435 440 445

Ile Asp His Gln Val Lys Ile Arg Gly Tyr Arg Ile Glu Leu Gly Glu  
450 455 460

Val Glu Ala Gln Met Leu Arg Val Gln Ser Val Gln Glu Val Val Ala  
465 470 475 480

Met Ala Val Glu Gly Asp Asp Gly Gln Lys Asp Leu Val Ala Tyr Phe  
485 490 495

Val Ala Ala Arg Glu Leu Glu Val Ser Glu Leu Gln Thr Val Leu Ser  
500 505 510

Glu Met Leu Pro Gly Tyr Met Ile Pro Ser Arg Phe Ile Gln Leu Glu  
515 520 525

Asp Met Pro Leu Thr Ser Asn Gly Lys Ile Asn Arg Lys Ala Leu Gln  
530 535 540

Gly Glu Arg Gly Trp Ala  
545 550

<210> 12  
<211> 804  
<212> ДНК  
<213> Paenibacillus sp.

<400> 12  
ttgcaaaaaa ttgaggtatt gttggctgat gacaaccggg aatttacgaa tctgcttgcc

60

gaatatattt ccgatcagga gcatatggaa gttacaggaa tcgcctataa tggatgaagaa  
120

gtgctccaac acatcgaga atcccgcaac gtacctgatg tacttatttt agatattatc  
180

atgcctcatc tggatgggtc cggcgtattg gagcgttga gagaaatgaa cctgtctcca  
240

cagccgaaaa tcattatgct gactgcattc ggtcaagaaa atattacgca aagagccgta  
300

cagctcgggg catcttatta tattttgaag ccgtttgaca tggaagtgtc tccaaccgt  
360

gttcgtcaat tggatgggacc acaattagtc agcagcagtc cggatgacggt ttcttccatg  
420

cggctcaatg tggatgccaat cggcaaaacg aaaaacctgg atgccagtat tacggccatt  
480

atccatgaaa tcggtgtgcc agctcatatt aagggtatc aatatttacg cgaagccatt  
540

actatcgtgt acaataatat cgaaattttg ggtgccatca ccaaaacatt atatcccgca  
600

atcgccgaaa aatttaaaac gacggcatcc cgcgtggaac gcgccattcg tcatgccatc  
660

gaggtagcat ggacacgtgg caacatcgac agcatctctc atctgttcgg ctacaccatt  
720

aatatctcca aatccaagcc gaccaactca gagtttattg cgatggtagc tgacaagctt  
780

cggattgaga ataaggtgtc ctga  
804

<210> 13

<211> 804

<212> ДНК

<213> Paenibacillus sp.

<400> 13

ttgcaaaaaa ttgaggtatt gttggctgat gacaaccggg aatttacgaa tctgcttgcc  
60

gaatatattt ccgatcagga gcatatggaa gttacaggaa tcgcctataa tggatgaagaa  
120

gtgctccaac acatcgaga atcccgcaac gtacctgatg tacttatttt agatattatc  
180

atgcctcatc tggatggtct cggcgtattg gagcgttga gagaaatgaa cctgtctcca  
240  
cagccgaaaa tcattatgct gactgcattc ggtcaagaaa atattacgca aagagccgta  
300  
cagctcgggg catcttatta tattttgaag ccgtttgaca tggaagtgtc tccaaccgt  
360  
gttcgtcaat tggatgggacc acaattagtc agcagcagtc cggtgacggt ttcttccatg  
420  
cggctcaatg tggatgccaat cggcaaaaacg aaaaacctgg atgccagtat tacggccatt  
480  
atccatgaaa tcggtgtgcc agctcatatt aagggtctatc aatattttacg cgaagccatt  
540  
actatcgtgt acaataatat cgaaattttg ggtgccatca ccaaaacatt atatcccgca  
600  
atcgccgaaa aatttaaaac gacggcatcc cgcgtggaac gcgccattcg tcatgccatc  
660  
gaggtagcat ggacacgtgg caacatcgac agcatctctc atctgttcgg ctacaccatt  
720  
aatatctcca aatccaagcc gaccaactca gagtttattg cgatggtagt tgacaagctt  
780  
cggattgaga ataaggtgtc ctga  
804

<210> 14  
<211> 267  
<212> PRT  
<213> Paenibacillus terrae

<400> 14

Met Gln Lys Ile Glu Val Leu Leu Ala Asp Asp Asn Arg Glu Phe Thr  
1 5 10 15

Asn Leu Leu Ala Glu Tyr Ile Ser Asp Gln Glu Asp Met Glu Val Thr  
20 25 30

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

Arg Asn Val Pro Asp Val Leu Ile Leu Asp Ile Ile Met Pro His Leu  
50 55 60



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

Gln Pro Lys Ile Ile Met Leu Thr Ala Phe Gly Gln Glu Asn Ile Thr  
85 90 95

Gln Arg Ala Val Gln Leu Gly Ala Ser Tyr Tyr Ile Leu Lys Pro Phe  
100 105 110

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

Leu Val Ser Ser Ser Pro Leu Thr Val Ser Ser Met Arg Ser Asn Val  
130 135 140

Val Pro Met Gly Lys Thr Lys Asn Leu Asp Ala Ser Ile Thr Ala Ile  
145 150 155 160

Ile His Glu Ile Gly Val Pro Ala His Ile Lys Gly Tyr Gln Tyr Leu  
165 170 175

Arg Glu Ala Ile Thr Met Val Tyr Asn Asn Ile Glu Ile Leu Gly Ala  
180 185 190

Ile Thr Lys Thr Leu Tyr Pro Ala Ile Ala Glu Lys Phe Lys Thr Thr  
195 200 205

Ala Ser Arg Val Glu Arg Ala Ile Arg His Ala Ile Glu Val Ala Trp  
210 215 220

Thr Arg Gly Asn Ile Asp Ser Ile Ser His Leu Phe Gly Tyr Thr Ile  
225 230 235 240

Asn Ile Ser Lys Ser Lys Pro Thr Asn Ser Glu Phe Ile Ala Met Val  
245 250 255

Ala Asp Lys Leu Arg Ile Glu Asn Lys Val Ser  
260 265

<210> 15  
<211> 267



<212> PRT

<213> Paenibacillus sp.

<400> 15

Leu Gln Lys Ile Glu Val Leu Leu Ala Asp Asp Asn Arg Glu Phe Thr  
1 5 10 15

Asn Leu Leu Ala Glu Tyr Ile Ser Asp Gln Glu Asp Met Glu Val Thr  
20 25 30

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

Arg Asn Val Pro Asp Val Leu Ile Leu Asp Ile Ile Met Pro His Leu  
50 55 60

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

Gln Pro Lys Ile Ile Met Leu Thr Ala Phe Gly Gln Glu Asn Ile Thr  
85 90 95

Gln Arg Ala Val Gln Leu Gly Ala Ser Tyr Tyr Ile Leu Lys Pro Phe  
100 105 110

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

Leu Val Ser Ser Ser Pro Val Thr Val Ser Ser Met Arg Ser Asn Val  
130 135 140

Val Pro Met Gly Lys Thr Lys Asn Leu Asp Ala Ser Ile Thr Ala Ile  
145 150 155 160

Ile His Glu Ile Gly Val Pro Ala His Ile Lys Gly Tyr Gln Tyr Leu  
165 170 175

Arg Glu Ala Ile Thr Met Val Tyr Asn Asn Ile Glu Ile Leu Gly Ala  
180 185 190

Ile Thr Lys Thr Leu Tyr Pro Ala Ile Ala Glu Lys Phe Lys Thr Thr  
195 200 205

Ala Ser Arg Val Glu Arg Ala Ile Arg His Ala Ile Glu Val Ala Trp  
210 215 220

Thr Arg Gly Asn Ile Asp Ser Ile Ser His Leu Phe Gly Tyr Thr Ile  
225 230 235 240

Asn Ile Ser Lys Ser Lys Pro Thr Asn Ser Glu Phe Ile Ala Met Val  
245 250 255

Ala Asp Lys Leu Arg Ile Glu Asn Lys Val Ser  
260 265

<210> 16  
<211> 267  
<212> PRT  
<213> Paenibacillus sp.

<400> 16

Leu Gln Lys Ile Glu Val Leu Leu Ala Asp Asp Asn Arg Glu Phe Thr  
1 5 10 15

Asn Leu Leu Ala Glu Tyr Ile Ser Asp Gln Glu Asp Met Glu Val Thr  
20 25 30

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

Arg Asn Val Pro Asp Val Leu Ile Leu Asp Ile Ile Met Pro His Leu  
50 55 60

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

Gln Pro Lys Ile Ile Met Leu Thr Ala Phe Gly Gln Glu Asn Ile Thr  
85 90 95

Gln Arg Ala Val Gln Leu Gly Ala Ser Tyr Tyr Ile Leu Lys Pro Phe  
100 105 110

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

Leu Val Ser Ser Ser Pro Val Thr Val Ser Ser Met Arg Ser Asn Val  
 130 135 140  
 Val Pro Met Gly Lys Thr Lys Asn Leu Asp Ala Ser Ile Thr Ala Ile  
 145 150 155 160  
 Ile His Glu Ile Gly Val Pro Ala His Ile Lys Gly Tyr Gln Tyr Leu  
 165 170 175  
 Arg Glu Ala Ile Thr Met Val Tyr Asn Asn Ile Glu Ile Leu Gly Ala  
 180 185 190  
 Ile Thr Lys Thr Leu Tyr Pro Ala Ile Ala Glu Lys Phe Lys Thr Thr  
 195 200 205  
 Ala Ser Arg Val Glu Arg Ala Ile Arg His Ala Ile Glu Val Ala Trp  
 210 215 220  
 Thr Arg Gly Asn Ile Asp Ser Ile Ser His Leu Phe Gly Tyr Thr Ile  
 225 230 235 240  
 Asn Ile Ser Lys Ser Lys Pro Thr Asn Ser Glu Phe Ile Ala Met Val  
 245 250 255  
 Val Asp Lys Leu Arg Ile Glu Asn Lys Val Ser  
 260 265

<210> 17  
 <211> 267  
 <212> PRT  
 <213> Paenibacillus polymyxa

<400> 17

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

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

<210> 18

<211> 267  
 <212> PRT  
 <213> Bacillus subtilis

<400> 18

```

Met Glu Lys Ile Lys Val Cys Val Ala Asp Asp Asn Arg Glu Leu Val
1          5          10          15

Ser Leu Leu Ser Glu Tyr Ile Glu Gly Gln Glu Asp Met Glu Val Ile
20          25          30

Gly Val Ala Tyr Asn Gly Gln Glu Cys Leu Ser Leu Phe Lys Glu Lys
35          40          45

Asp Pro Asp Val Leu Val Leu Asp Ile Ile Met Pro His Leu Asp Gly
50          55          60

Leu Ala Val Leu Glu Arg Leu Arg Glu Ser Asp Leu Lys Lys Gln Pro
65          70          75          80

Asn Val Ile Met Leu Thr Ala Phe Gly Gln Glu Asp Val Thr Lys Lys
85          90          95

Ala Val Asp Leu Gly Ala Ser Tyr Phe Ile Leu Lys Pro Phe Asp Met
100         105         110

Glu Asn Leu Val Gly His Ile Arg Gln Val Ser Gly Asn Ala Ser Ser
115         120         125

Val Thr His Arg Ala Pro Ser Ser Gln Ser Ser Ile Ile Arg Ser Ser
130         135         140

Gln Pro Glu Pro Lys Lys Lys Asn Leu Asp Ala Ser Ile Thr Ser Ile
145         150         155         160

Ile His Glu Ile Gly Val Pro Ala His Ile Lys Gly Tyr Leu Tyr Leu
165         170         175

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

Ile Thr Lys Val Leu Tyr Pro Asp Ile Ala Lys Lys Phe Asn Thr Thr
195         200         205
    
```

Ala Ser Arg Val Glu Arg Ala Ile Arg His Ala Ile Glu Val Ala Trp  
210 215 220

Ser Arg Gly Asn Ile Asp Ser Ile Ser Ser Leu Phe Gly Tyr Thr Val  
225 230 235 240

Ser Met Thr Lys Ala Lys Pro Thr Asn Ser Glu Phe Ile Ala Met Val  
245 250 255

Ala Asp Lys Leu Arg Leu Glu His Lys Ala Ser  
260 265

<210> 19  
<211> 264  
<212> PRT  
<213> Bacillus cereus

<400> 19

Met Glu Lys Ile Lys Val Cys Leu Val Asp Asp Asn Lys Glu Leu Val  
1 5 10 15

Ser Met Leu Glu Ser Tyr Val Ala Ala Gln Asp Asp Met Glu Val Ile  
20 25 30

Gly Thr Ala Tyr Asn Gly Gln Glu Cys Leu Asn Leu Leu Lys Asp Lys  
35 40 45

Gln Pro Asp Val Leu Val Leu Asp Ile Ile Met Pro His Leu Asp Gly  
50 55 60

Leu Ala Val Leu Glu Lys Met Arg His Ile Glu Arg Leu Arg Gln Pro  
65 70 75 80

Ser Val Ile Met Leu Thr Ala Phe Gly Gln Glu Asp Val Thr Lys Lys  
85 90 95

Ala Val Asp Leu Gly Ala Ser Tyr Phe Ile Leu Lys Pro Phe Asp Met  
100 105 110

Glu Asn Leu Thr Ser His Ile Arg Gln Val Ser Gly Lys Ala Asn Ala  
115 120 125

Thr Ile Lys Arg Pro Leu Pro Ser Phe Arg Ser Ala Thr Thr Val Asp  
130 135 140

Gly Lys Pro Lys Asn Leu Asp Ala Ser Ile Thr Ser Ile Ile His Glu  
145 150 155 160

Ile Gly Val Pro Ala His Ile Lys Gly Tyr Met Tyr Leu Arg Glu Ala  
165 170 175

Ile Ser Met Val Tyr Asn Asp Ile Glu Leu Leu Gly Ser Ile Thr Lys  
180 185 190

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

Val Glu Arg Ala Ile Arg His Ala Ile Glu Val Ala Trp Ser Arg Gly  
210 215 220

Asn Ile Asp Ser Ile Ser Ser Leu Phe Gly Tyr Thr Val Ser Met Ser  
225 230 235 240

Lys Ala Lys Pro Thr Asn Ser Glu Phe Ile Ala Met Val Ala Asp Lys  
245 250 255

Leu Arg Leu Glu His Lys Ala Ser  
260

<210> 20  
<211> 273  
<212> PRT  
<213> Clostridium pasteurianum

<400> 20

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

Phe Cys Asn Ile Leu Asn Asp Tyr Leu Leu Asn Gln Ser Asp Ile Val  
20 25 30

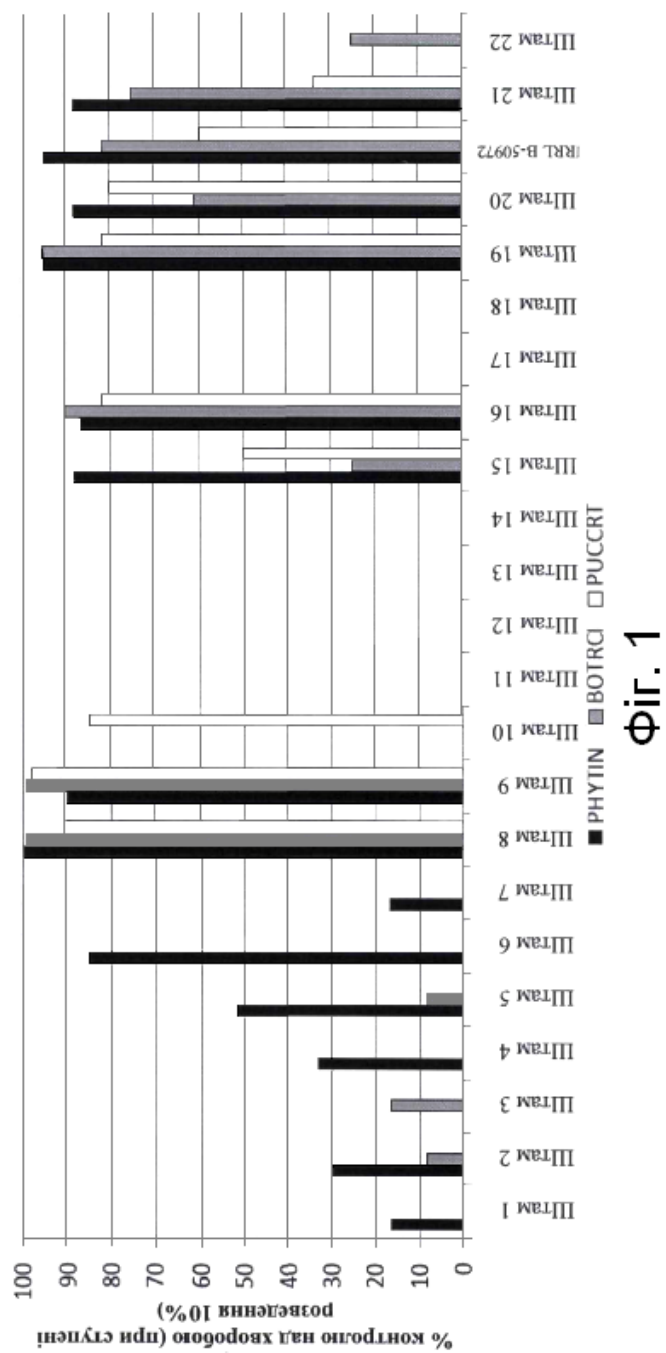
Val Val Gly Ile Ala Lys Asp Gly Ile Glu Ala Leu Lys Leu Ile Glu  
35 40 45

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



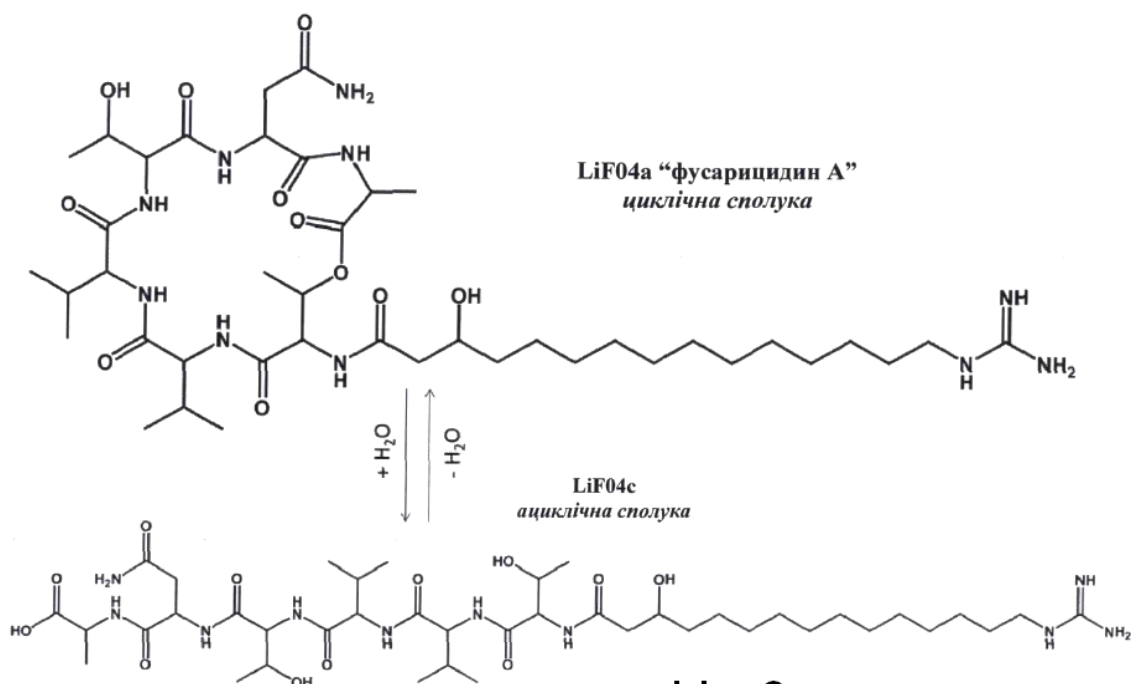
## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Композиція, яка включає біологічно чисту культуру фунгіцидного штаму виду *Paenibacillus*, який включає варіант фусарицидинсинтетази без функціонального домену аденілування у  
 5 третьому модулі (FusA-A3), причому брак функціональної FusA-A3 інгібує синтез фусарицидинів з тирозином або фенілаланіном в амінокислотному залишку (3) порівняно з синтезом фусарицидинів штамом виду *Paenibacillus*, який включає фусарицидинсинтетазу дикого типу, і  
 10 причому варіантна фусарицидинсинтетаза включає амінокислотну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичності послідовності з SEQ ID NO: 10.
2. Композиція за п. 1, у якій варіантна фусарицидинсинтетаза включає SEQ ID NO: 10.
3. Композиція за п. 1, яка додатково включає щонайменше один *Paeniserine* та щонайменше один *Paeniprolixin*.
4. Композиція за п. 3, яка **відрізняється** тим, що щонайменше один *Paeniserine* вибраний з  
 15 групи, до якої належать *Paeniserine* A1, *Paeniserine* A2, *Paeniserine* A3, *Paeniserine* A4, *Paeniserine* B1, *Paeniserine* B2, *Paeniserine* B3, *Paeniserine* B4, *Paeniserine* C1, *Paeniserine* C2 та *Paeniserine* C3, і  
 причому щонайменше один *Paeniprolixin* вибраний з групи, до якої належать *Paeniprolixin* A1, *Paeniprolixin* A2, *Paeniprolixin* B1, *Paeniprolixin* B2, *Paeniprolixin* C1, *Paeniprolixin* D1, *Paeniprolixin* E1,  
 20 *Paeniprolixin* E2, *Paeniprolixin* F1, *Paeniprolixin* F2, *Paeniprolixin* G1 та *Paeniprolixin* G2.
5. Композиція за будь-яким з пп. 3 і 4, яка **відрізняється** тим, що композиція включає фусарицидин A, LiF08a, *Paeniserine* A1, *Paeniserine* B1, *Paeniprolixin* A2 і *Paeniprolixin* B2.
6. Композиція за будь-яким з пп. 3-5, яка **відрізняється** тим, що композиція не включає LiF03a, LiF03b, LiF03c, LiF03d, LiF07a, LiF07b, LiF07c і/або LiF07d.
- 25 7. Композиція за будь-яким з попередніх пунктів, яка **відрізняється** тим, що штам виду *Paenibacillus* являє собою штам виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 або штам виду *Paenibacillus* NRRL B-67129.
8. Композиція за п. 7, яка включає продукт ферментації штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-50972 або штаму виду *Paenibacillus* NRRL B-67129.
- 30 9. Композиція за п. 8, яка **відрізняється** тим, що продукт ферментації не включає поліміксин.
10. Композиція за будь-яким з пп. 8-9, яка **відрізняється** тим, що продукт ферментації являє собою рідку композицію.
11. Спосіб обробки рослини для боротьби з хворобою, який включає нанесення ефективної кількості композиції за будь-яким з пп. 1-10 на рослину, частину рослини та/або місце  
 35 вирощування рослини.
12. Спосіб за п. 11, де спосіб включає нанесення композиції на частини листяних рослин.
13. Спосіб за будь-яким з пп. 11-12, який **відрізняється** тим, що хвороба рослин викликається грибом або бактерією.
14. Спосіб за п. 13, який **відрізняється** тим, що хворобою рослин, яка викликана грибом, є борошниста роса або іржа або бактерію вибирають із групи, до якої належать *Xanthomonas*  
 40 *campestris*, *Pseudomonas syringae* й *Erwinia carotovora*.
15. Застосування композиції за будь-яким з пп. 1-10 для боротьби з фітопатогенним організмом у корисних рослинах.

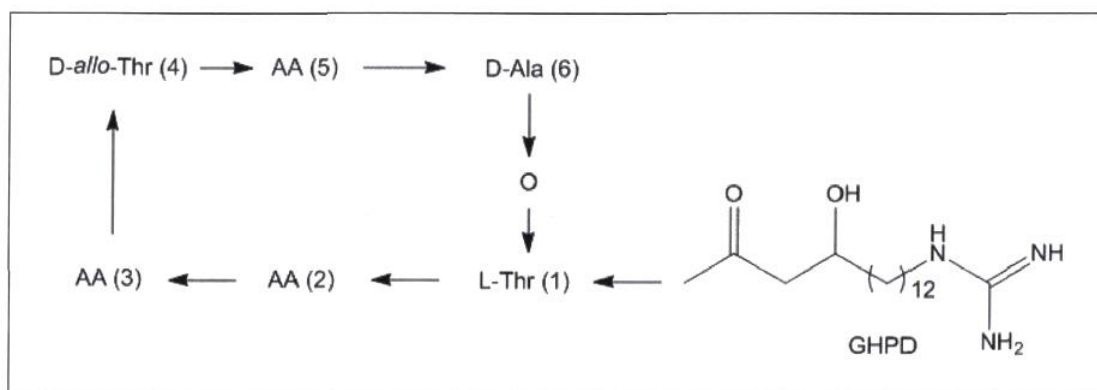


Зразок		ALTEAL	BOTRCI	FUSACU	LEPTNO	SEPPTR	PHYTCR	PHYTIN	PYTHUL	PYRIOR	RHIZSO	USTIAV	UROMAP
Штам X	ED <sub>50</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
Фракція 1	ED <sub>80</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
Штам X	ED <sub>50</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	42	>100	>100	>100
Фракція 2	ED <sub>80</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	54	>100	>100	>100
Штам X	ED <sub>50</sub>	15	32	44	22	4,7	>100	1,1	43	36	7,8	34	>100
Фракція 3	ED <sub>80</sub>	43	98	>100	>100	24	>100	4,8	>100	>100	20	>100	>100
NRRL B-50972	ED <sub>50</sub>	1,2	1,2	3,3	1,6	1,4	1,6	0,1	1,3	3,5	0,7	2,5	0,9
Фракція 1	ED <sub>80</sub>	2,4	1,7	4,2	6,4	1,6	2,1	0,2	1,6	7	1,5	2,8	1,2

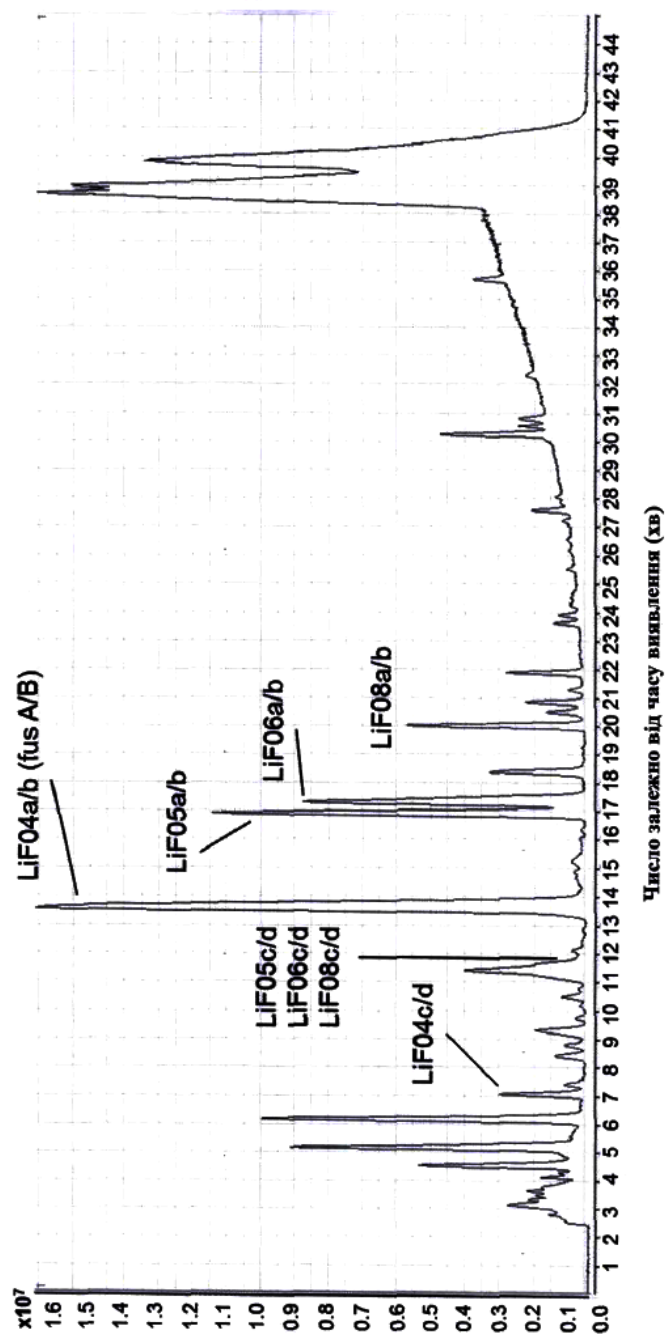
Фіг. 2



Фіг. 3



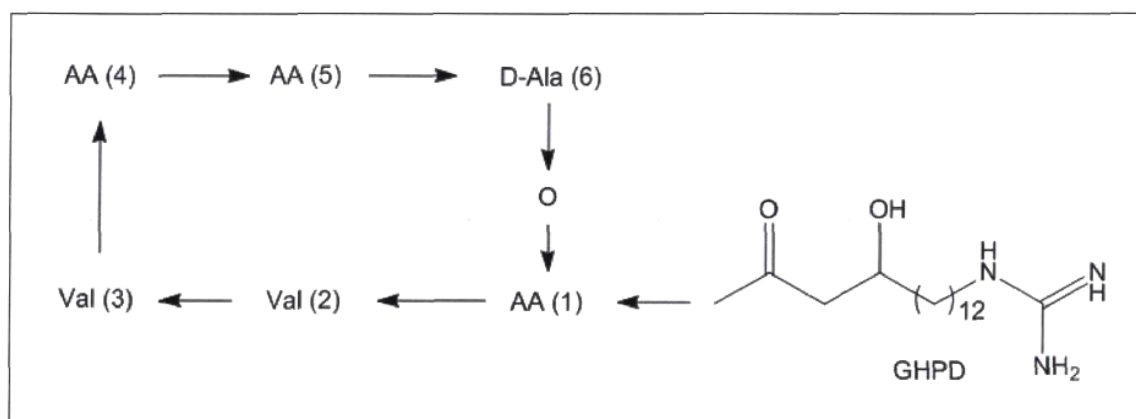
Фіг. 4A



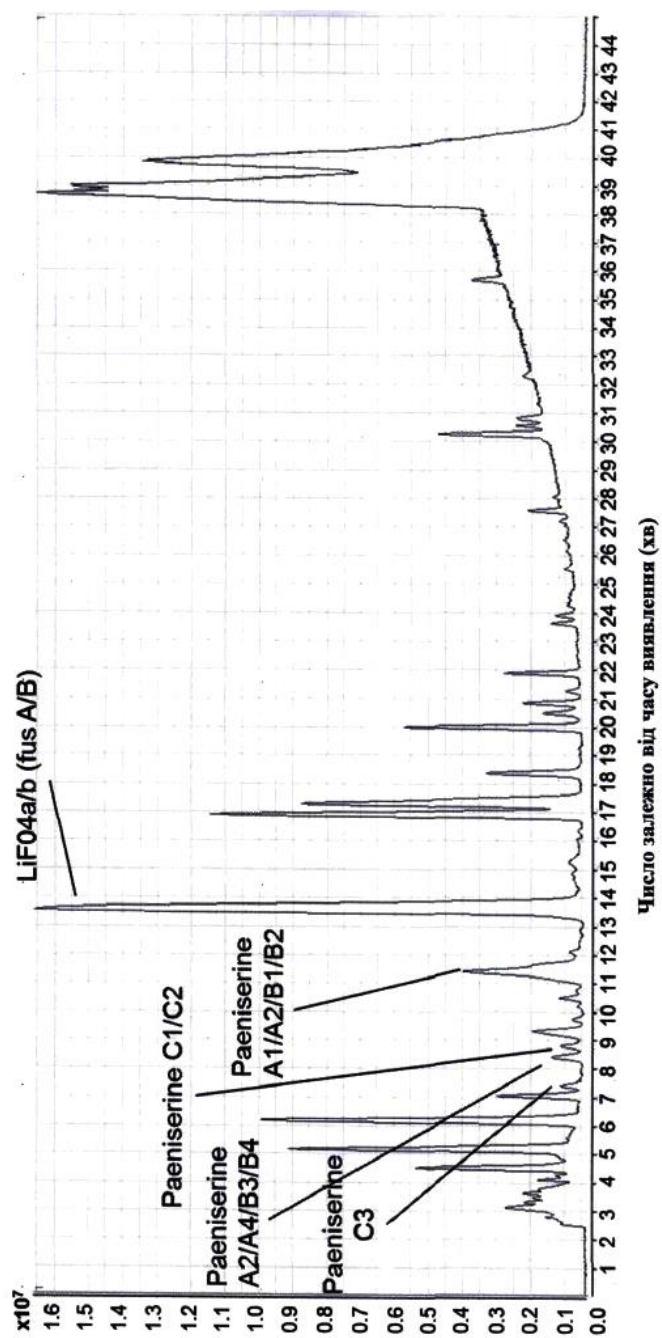
Фіг. 4В

Сполука	Циклічна чи ациклічна	Молекулярна формула	AA (2)	AA (3)	AA (5)	m/z	Час утримання (хв)
“С” - LiF03a	Циклічна	C <sub>45</sub> H <sub>74</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Val	Tyr	Asn	Не виявлено	
“D” - LiF03b	Циклічна	C <sub>46</sub> H <sub>76</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Val	Tyr	Gln	Не виявлено	
LiF03c	Ациклічна	C <sub>45</sub> H <sub>76</sub> N <sub>10</sub> O <sub>13</sub>	Val	Tyr	Asn	Не виявлено	
LiF03d	Ациклічна	C <sub>46</sub> H <sub>78</sub> N <sub>10</sub> O <sub>13</sub>	Val	Tyr	Gln	Не виявлено	
“А” - LiF04a	Циклічна	C <sub>41</sub> H <sub>74</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Val	Val	Asn	883,5	13,64
“В” - LiF04b	Циклічна	C <sub>42</sub> H <sub>76</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Val	Val	Gln	897,6	13,57
LiF04c	Ациклічна	C <sub>41</sub> H <sub>76</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Val	Val	Asn	901,6	9,33
LiF04d	Ациклічна	C <sub>42</sub> H <sub>78</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Val	Val	Gln	915,6	9,35
LiF05a	Циклічна	C <sub>42</sub> H <sub>76</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Val	Ile	Asn	897,6	16,99
LiF05b	Циклічна	C <sub>43</sub> H <sub>78</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Val	Ile	Gln	911,6	16,90
LiF05c	Ациклічна	C <sub>42</sub> H <sub>78</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Val	Ile	Asn	915,6	12,12
LiF05d	Ациклічна	C <sub>43</sub> H <sub>80</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Val	Ile	Gln	929,6	12,11
LiF06a	Циклічна	C <sub>42</sub> H <sub>76</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ile	Val	Asn	897,6	17,30
LiF06b	Циклічна	C <sub>43</sub> H <sub>78</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ile	Val	Gln	911,6	17,35
LiF06c	Ациклічна	C <sub>42</sub> H <sub>78</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Ile	Val	Asn	915,6	12,12
LiF06d	Ациклічна	C <sub>43</sub> H <sub>80</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Ile	Val	Gln	929,6	12,11
LiF07a	Циклічна	C <sub>45</sub> H <sub>74</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Val	Phe	Asn	Не виявлено	
LiF07b	Циклічна	C <sub>46</sub> H <sub>76</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Val	Phe	Gln	Не виявлено	
LiF07c	Ациклічна	C <sub>45</sub> H <sub>76</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Val	Phe	Asn	Не виявлено	
LiF07d	Ациклічна	C <sub>46</sub> H <sub>78</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Val	Phe	Gln	Не виявлено	
LiF08a	Циклічна	C <sub>43</sub> H <sub>78</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ile	Ile	Asn	911,6	19,99
LiF08b	Циклічна	C <sub>44</sub> H <sub>80</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ile	Ile	Gln	925,6	20,02
LiF08c	Ациклічна	C <sub>43</sub> H <sub>80</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Ile	Ile	Asn	929,6	12,11
LiF08d	Ациклічна	C <sub>44</sub> H <sub>82</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Ile	Ile	Gln	943,6	12,11

Фіг. 4С



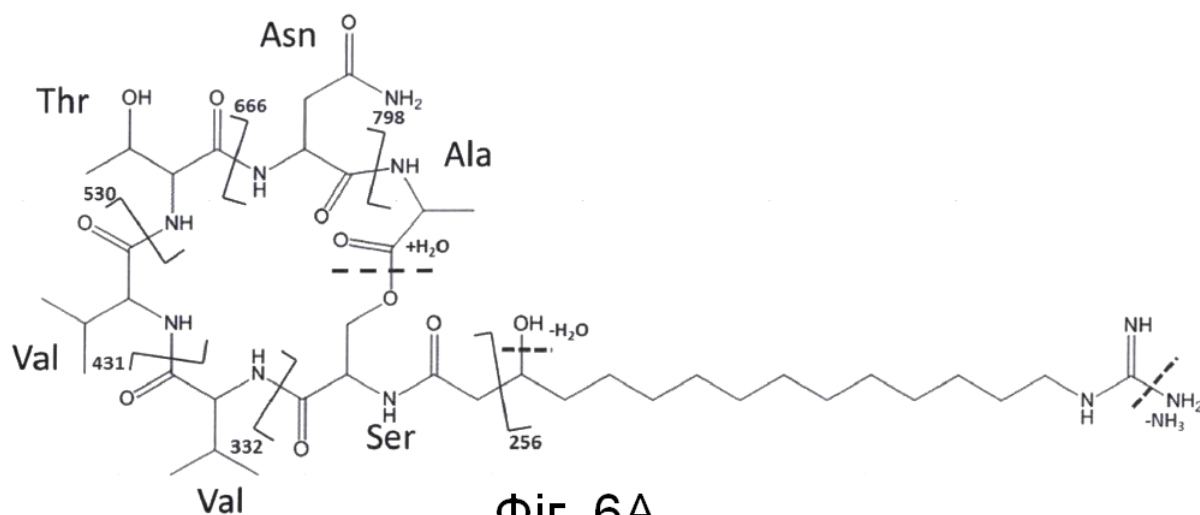
Фіг. 5А



Фіг. 5В

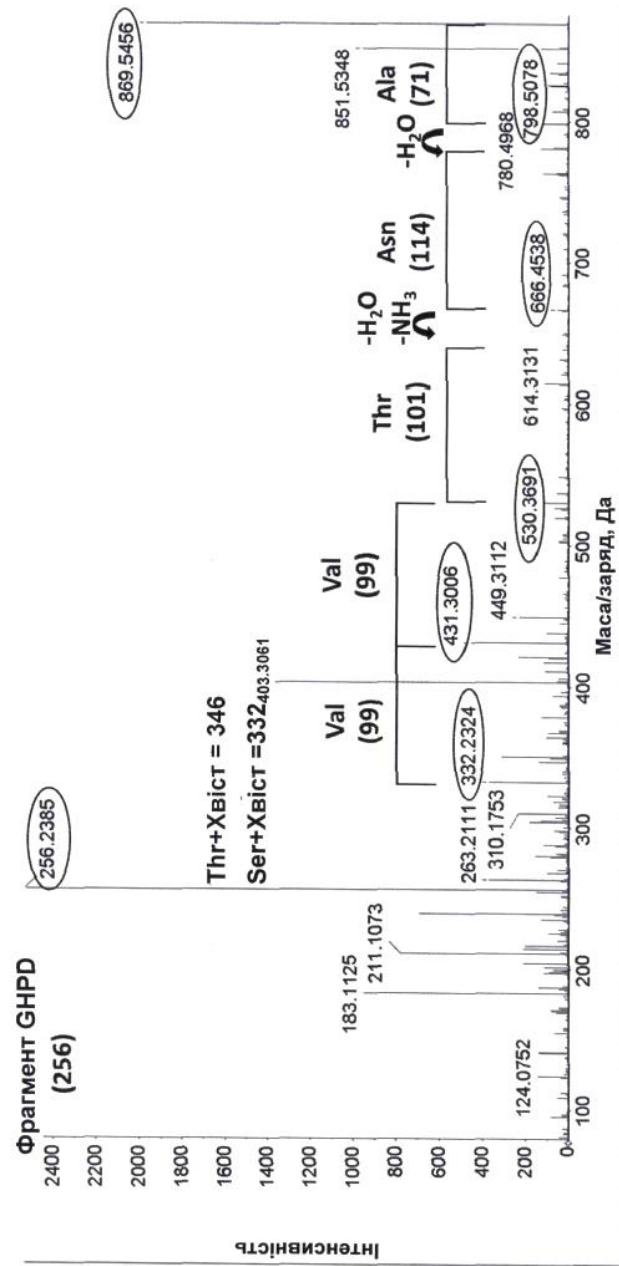
Сполука	Циклічна чи ациклічна	Молекулярна формула	AA (1)	AA (4)	AA (5)	m/z	Час утримання (хв)
Paeniserine A1	Циклічна	C <sub>40</sub> H <sub>72</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ser	Thr	Asn	869,5	11,26
Paeniserine A2	Циклічна	C <sub>41</sub> H <sub>74</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ser	Thr	Gln	883,5	11,12
Paeniserine A3	Ациклічна	C <sub>40</sub> H <sub>74</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Ser	Thr	Asn	887,5	8,38
Paeniserine A4	Ациклічна	C <sub>41</sub> H <sub>76</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Ser	Thr	Gln	901,6	8,41
Paeniserine B1	Циклічна	C <sub>40</sub> H <sub>72</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Thr	Ser	Asn	869,5	11,67
Paeniserine B2	Циклічна	C <sub>41</sub> H <sub>74</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Thr	Ser	Gln	883,5	11,16
Paeniserine B3	Ациклічна	C <sub>40</sub> H <sub>74</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Thr	Ser	Asn	887,5	8,79
Paeniserine B4	Ациклічна	C <sub>41</sub> H <sub>76</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Thr	Ser	Gln	901,6	8,67
Paeniserine C1	Циклічна	C <sub>39</sub> H <sub>70</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ser	Ser	Asn	855,5	8,81
Paeniserine C2	Циклічна	C <sub>40</sub> H <sub>72</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ser	Ser	Gln	869,5	8,62
Paeniserine C3	Ациклічна	C <sub>39</sub> H <sub>72</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Ser	Ser	Asn	873,5	7,22
Paeniserine C4	Ациклічна	C <sub>40</sub> H <sub>74</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub>	Ser	Ser	Gln	Не виявлено	

Фіг. 5С

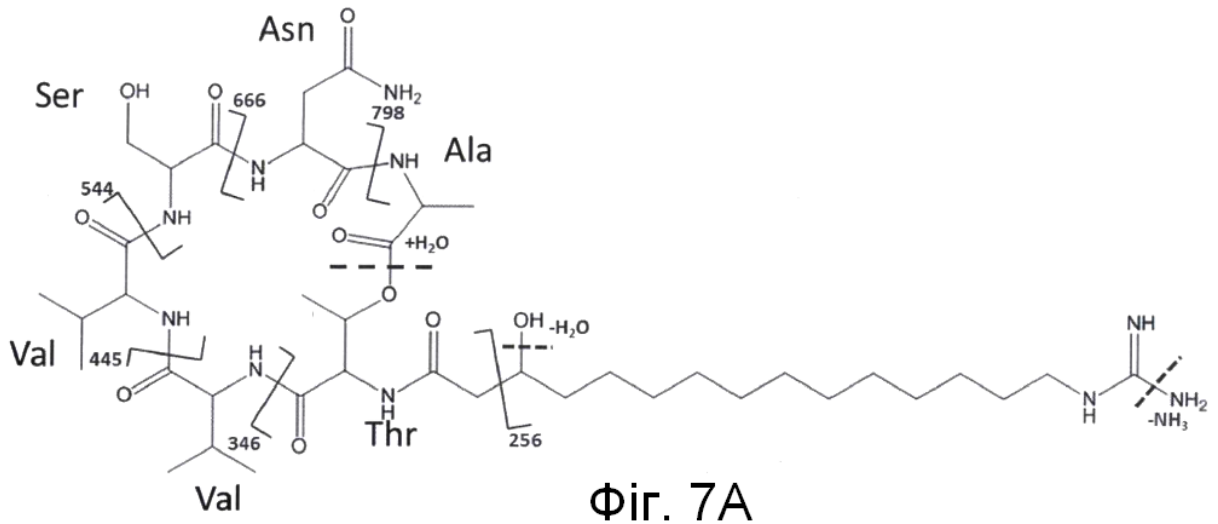


Фіг. 6А

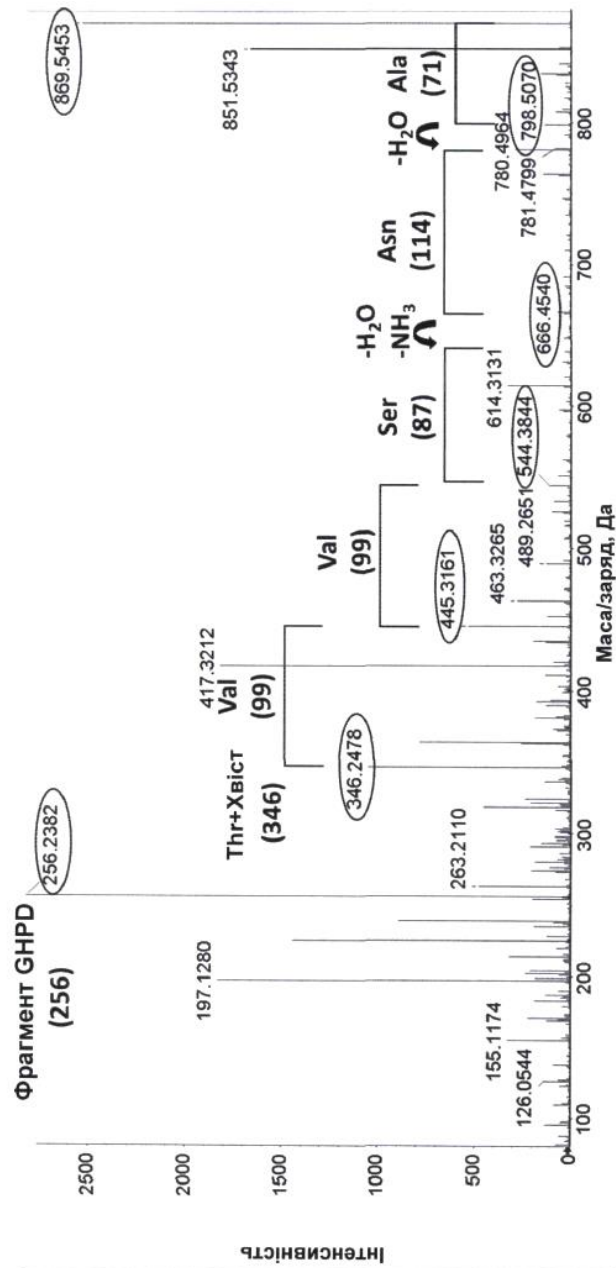




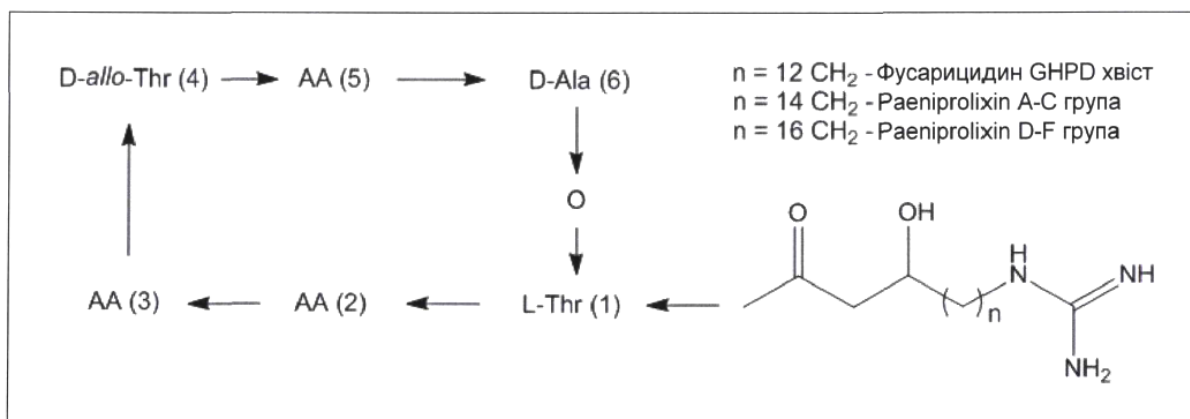
Фіг. 6В



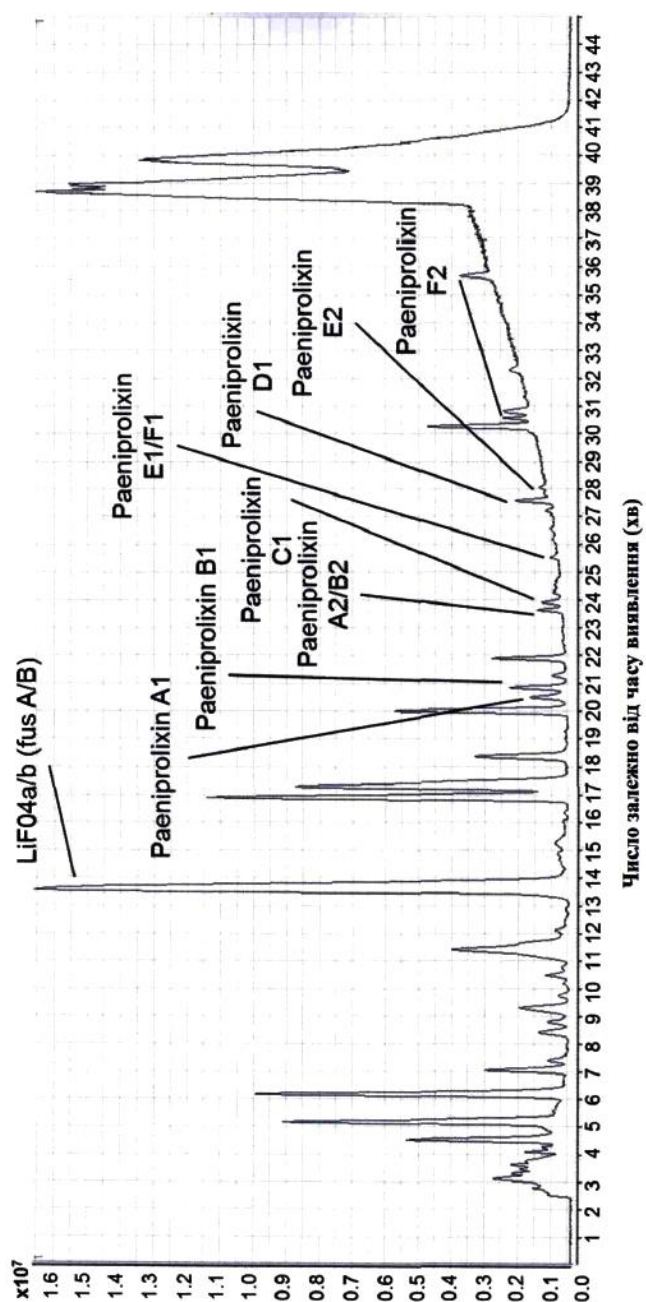
Фіг. 7А



Фіг. 7В



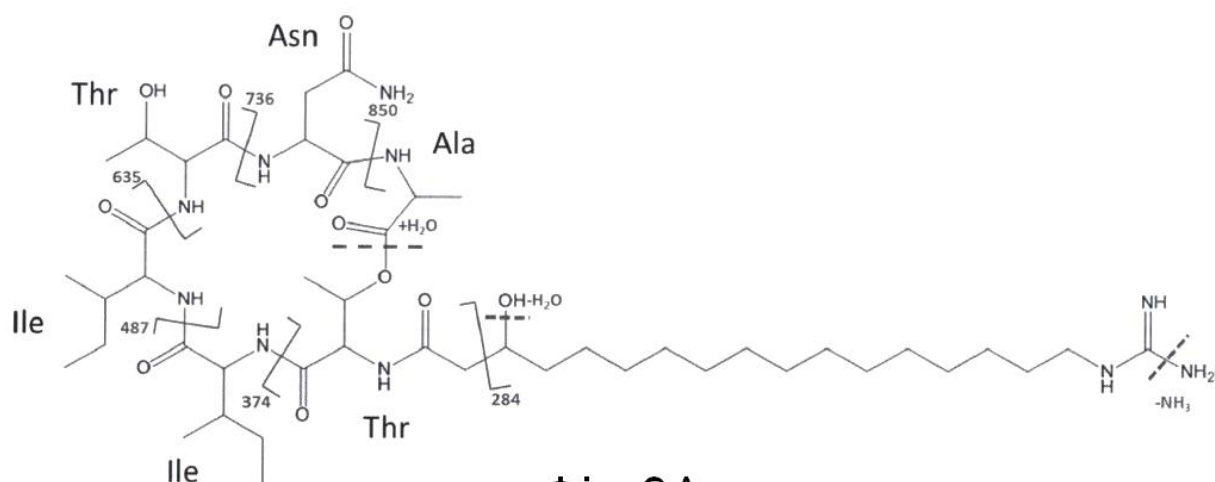
Фіг. 8А



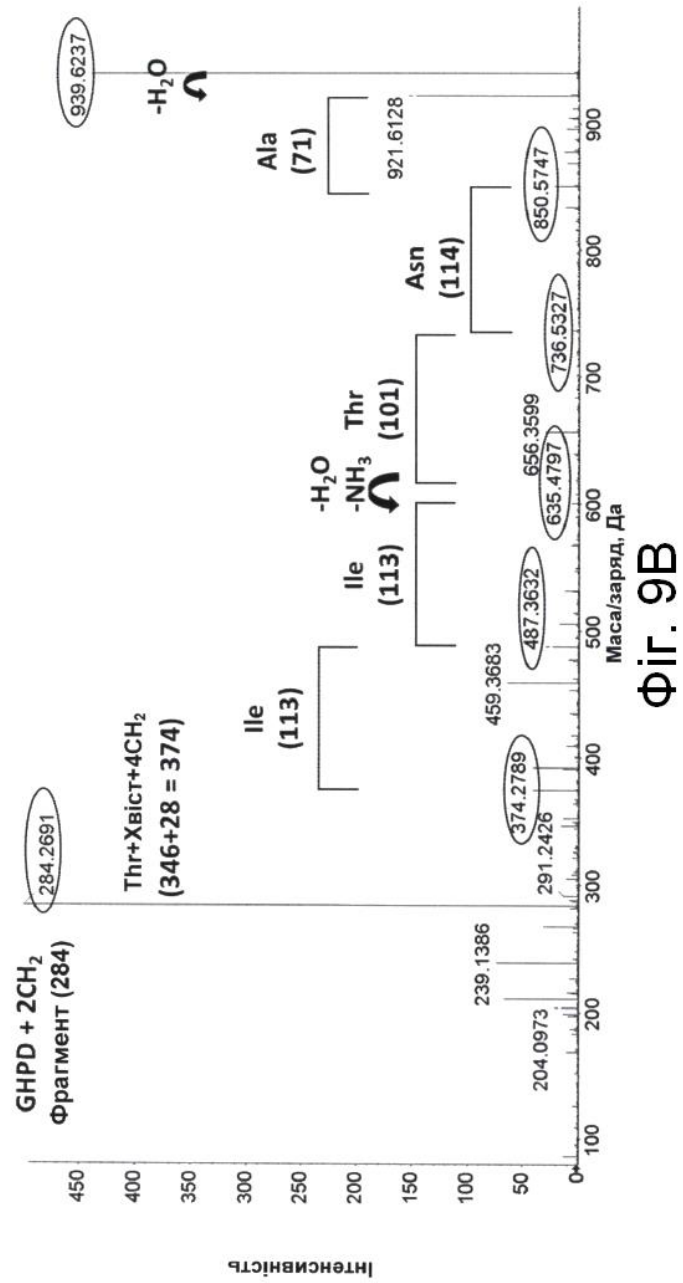
Фіг. 8В

Сполука	Молекулярна формула	АА (2)	АА (3)	АА (5)	Хвіст	m/z	Час утримання (хв)
Paeniprolixin A1	C <sub>44</sub> H <sub>80</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Val	Ile	Asn	GHPD+2CH <sub>2</sub>	925,6	20,87
Paeniprolixin A2	C <sub>45</sub> H <sub>82</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Val	Ile	Gln	GHPD+2CH <sub>2</sub>	939,6	23,63
Paeniprolixin B1	C <sub>44</sub> H <sub>80</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ile	Val	Asn	GHPD+2CH <sub>2</sub>	925,6	21,88
Paeniprolixin B2	C <sub>45</sub> H <sub>82</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ile	Val	Gln	GHPD+2CH <sub>2</sub>	939,6	23,92
Paeniprolixin C1	C <sub>45</sub> H <sub>82</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ile	Ile	Asn	GHPD+2CH <sub>2</sub>	939,6	24,56
Paeniprolixin C2	C <sub>45</sub> H <sub>82</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ile	Ile	Gln	GHPD+2CH <sub>2</sub>	Не виявлено	
Paeniprolixin D1	C <sub>45</sub> H <sub>82</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Val	Val	Asn	GHPD+4CH <sub>2</sub>	939,6	27,22
Paeniprolixin D2	C <sub>45</sub> H <sub>82</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Val	Val	Gln	GHPD+4CH <sub>2</sub>	Не виявлено	
Paeniprolixin E1	C <sub>46</sub> H <sub>84</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Val	Ile	Asn	GHPD+4CH <sub>2</sub>	953,6	25,54
Paeniprolixin E2	C <sub>47</sub> H <sub>86</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Val	Ile	Gln	GHPD+4CH <sub>2</sub>	967,6	28,60
Paeniprolixin F1	C <sub>46</sub> H <sub>84</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ile	Val	Asn	GHPD+4CH <sub>2</sub>	953,6	26,17
Paeniprolixin F2	C <sub>47</sub> H <sub>86</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ile	Val	Gln	GHPD+4CH <sub>2</sub>	967,6	30,26
Paeniprolixin G1	C <sub>47</sub> H <sub>86</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ile	Ile	Asn	GHPD+4CH <sub>2</sub>	966,6	31,02
Paeniprolixin G2	C <sub>48</sub> H <sub>88</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	Ile	Ile	Gln	GHPD+4CH <sub>2</sub>	Не виявлено	

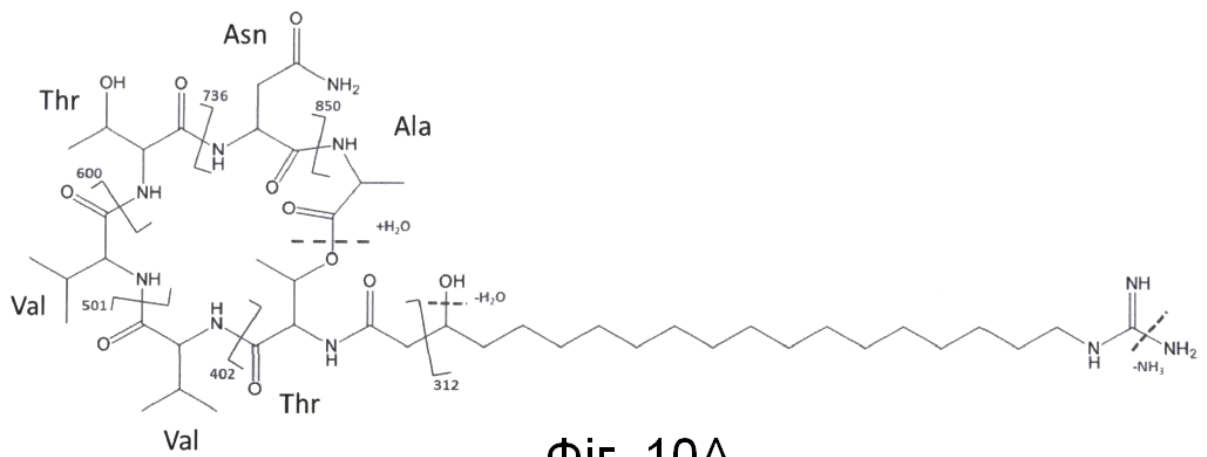
Фіг. 8С



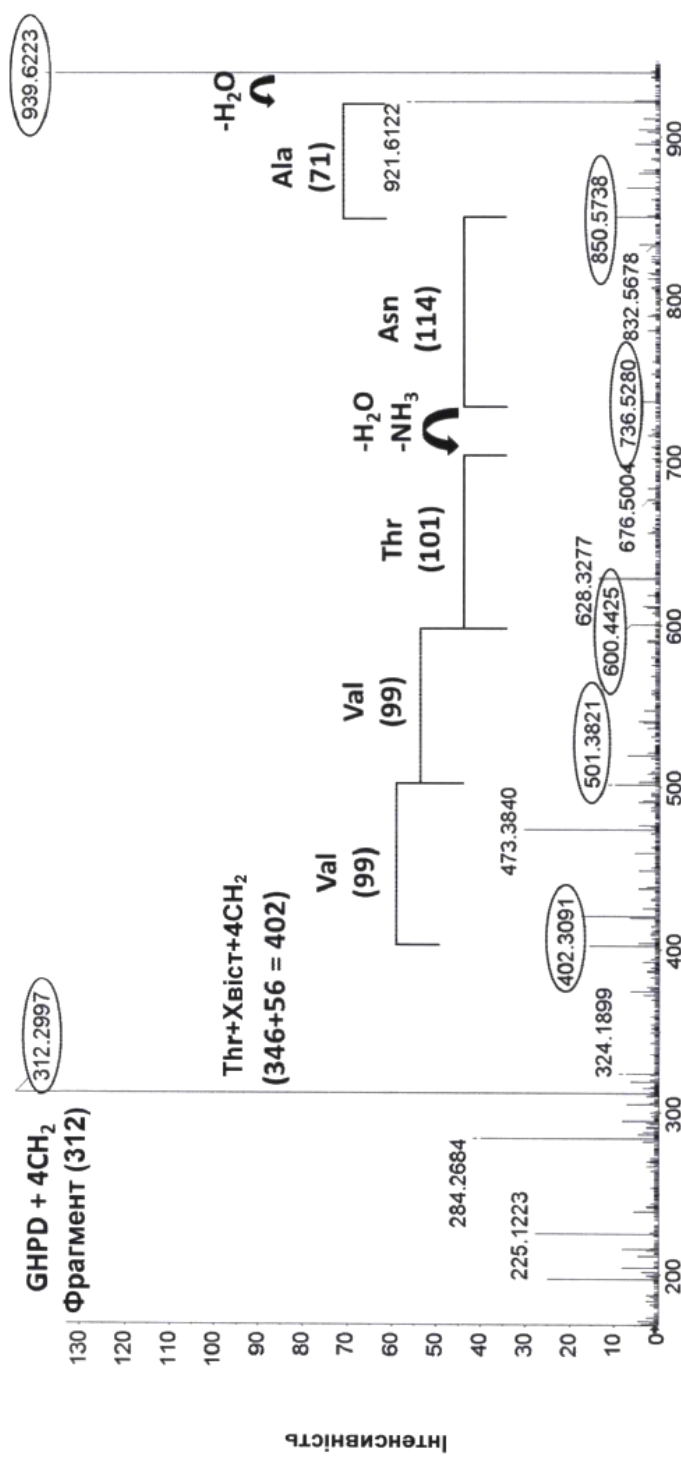
Фіг. 9А



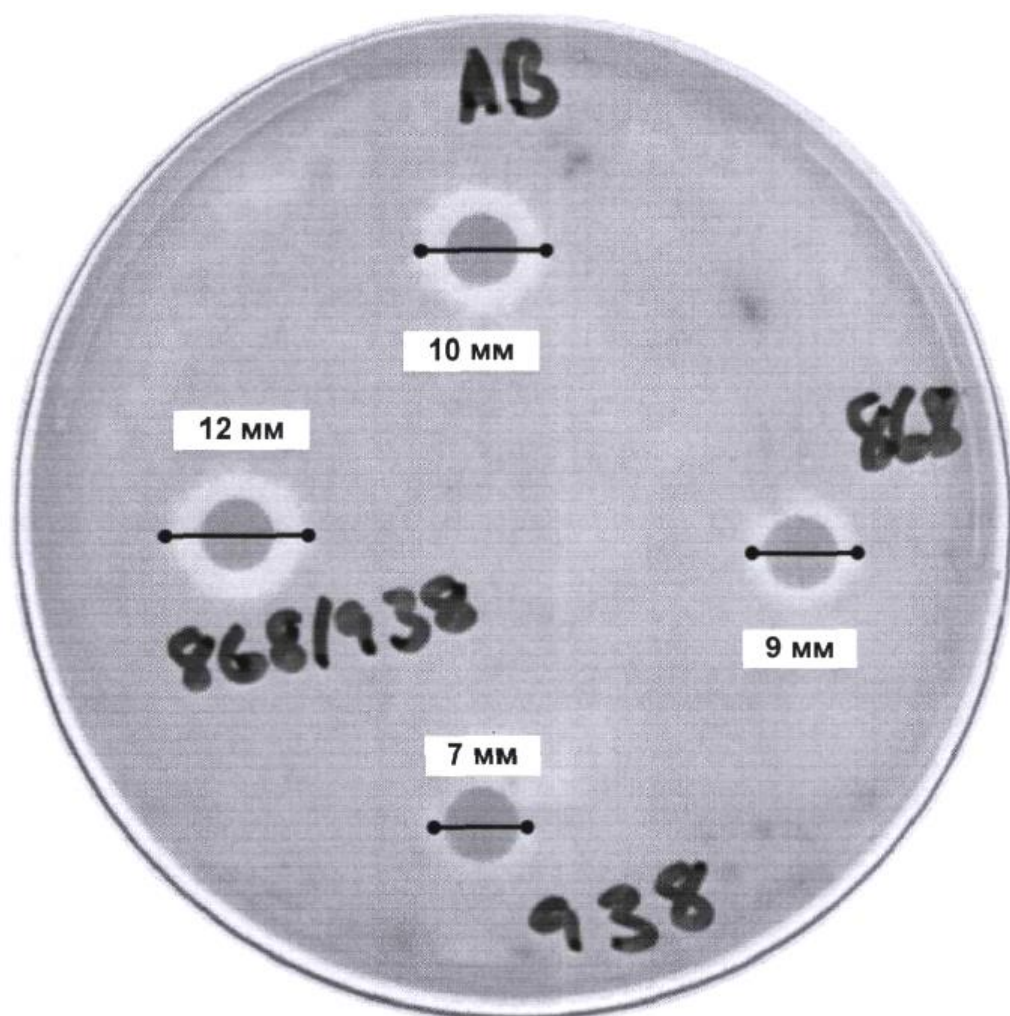
Фіг. 9В



Фіг. 10А

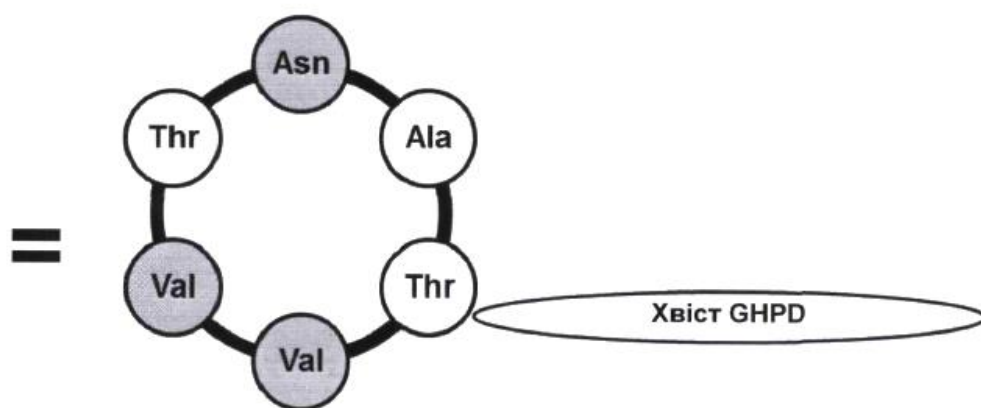
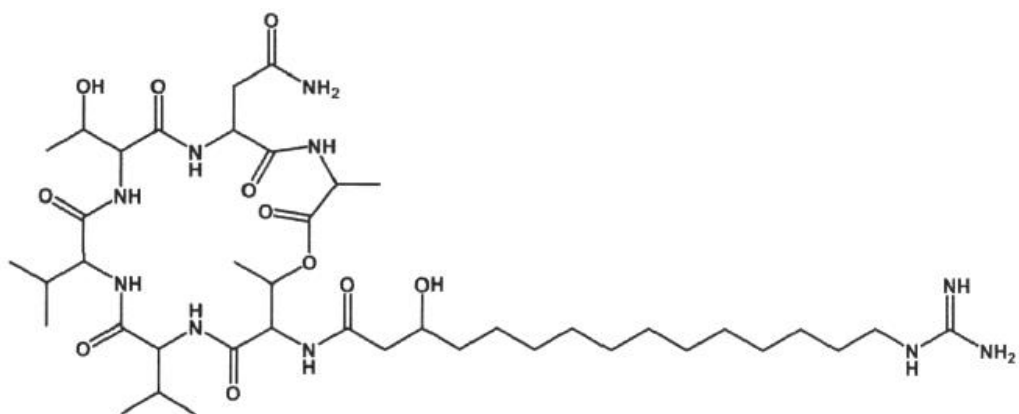


Фіг. 10В



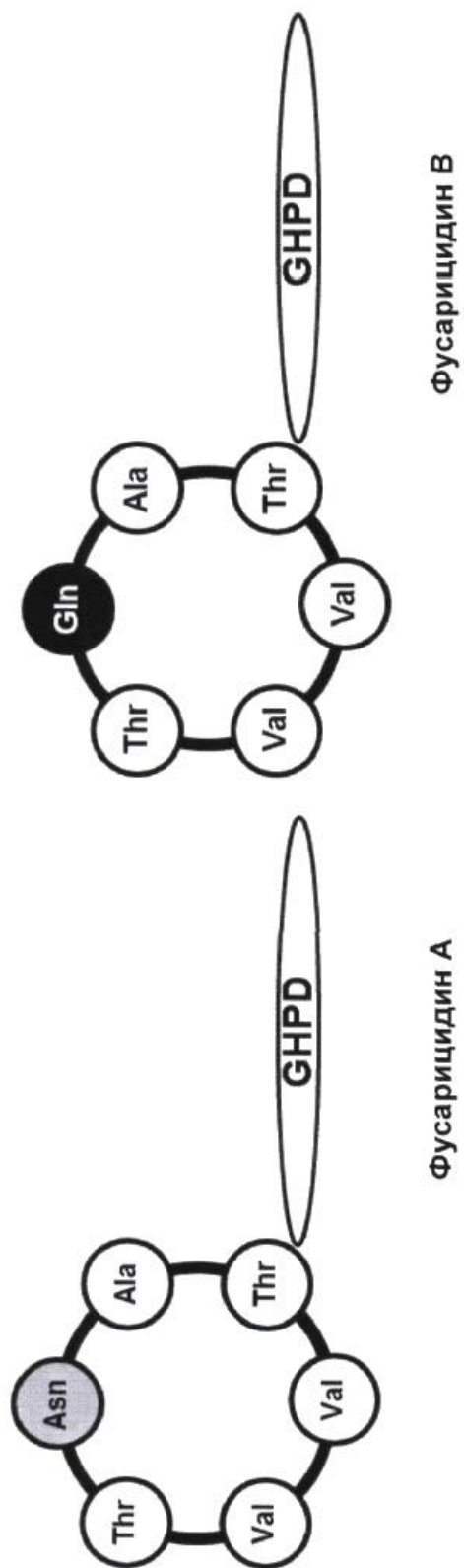
Код зразка	Назва	COLLA
AB	Фусарицидин А та В	10 мм
868	Paeniserines A1 та B1	9 мм
938	Paeniprolixin A2 та B2	7 мм
868/938	Комбінація 868 та 938	12 мм

Фіг. 11

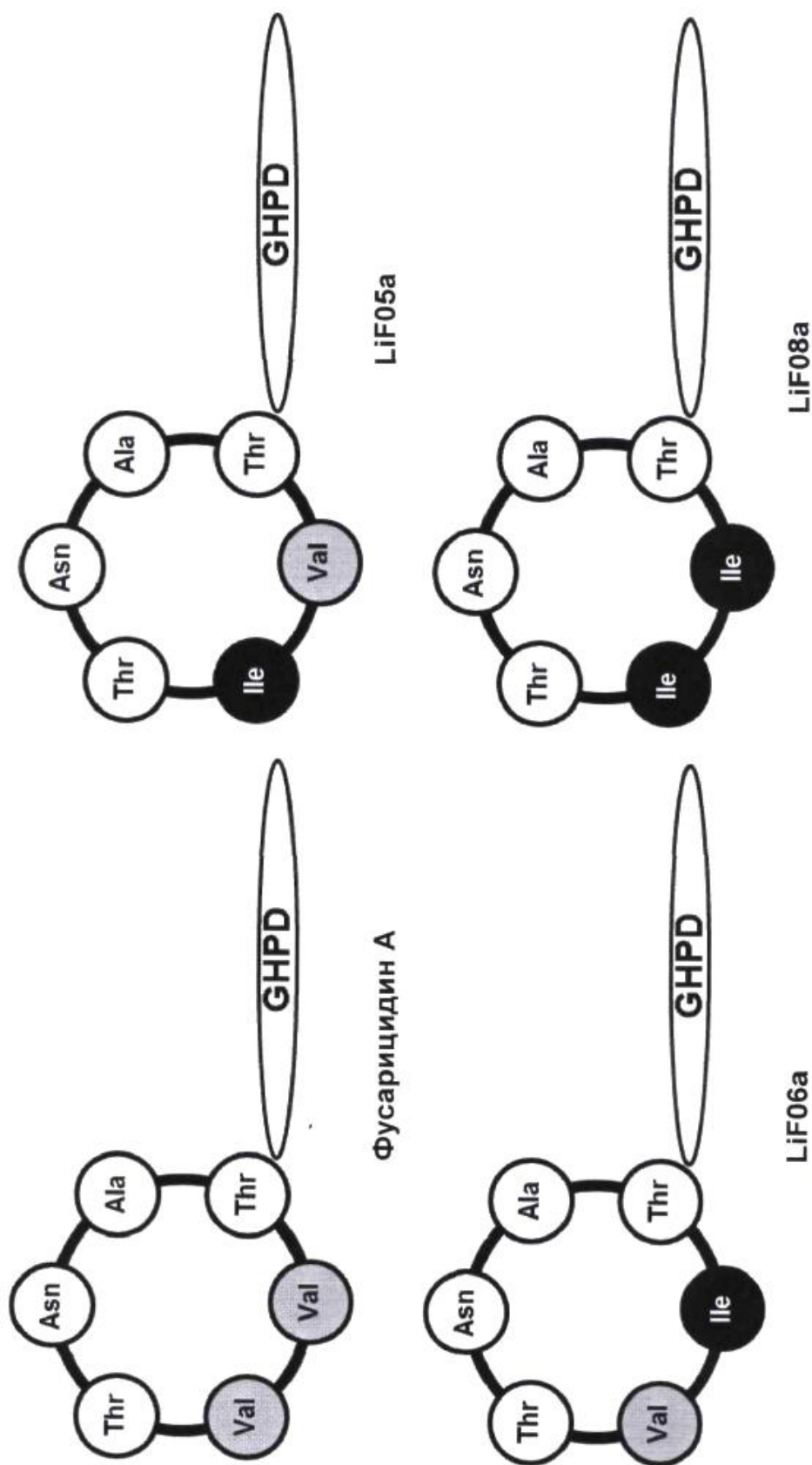


Фиг. 12А

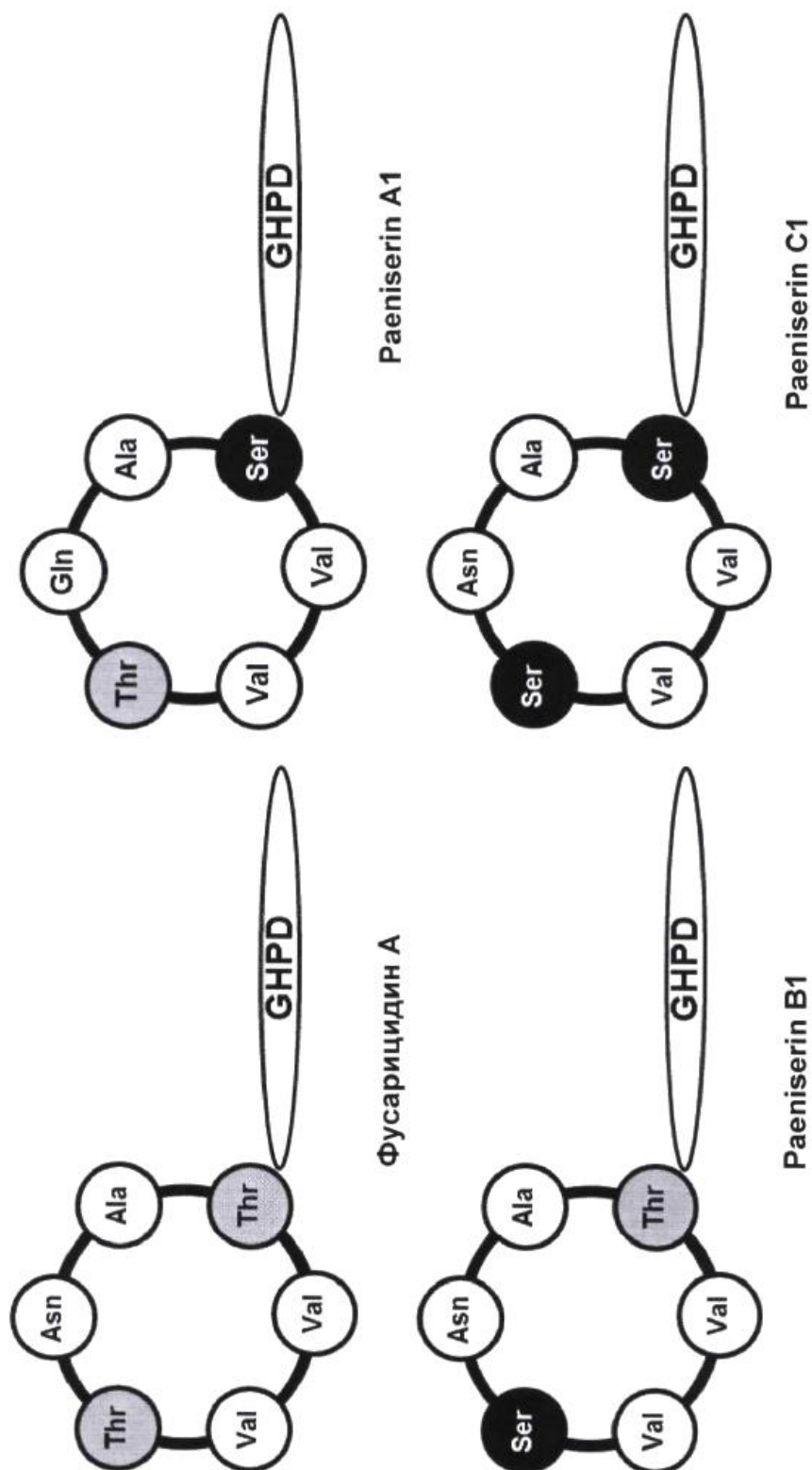




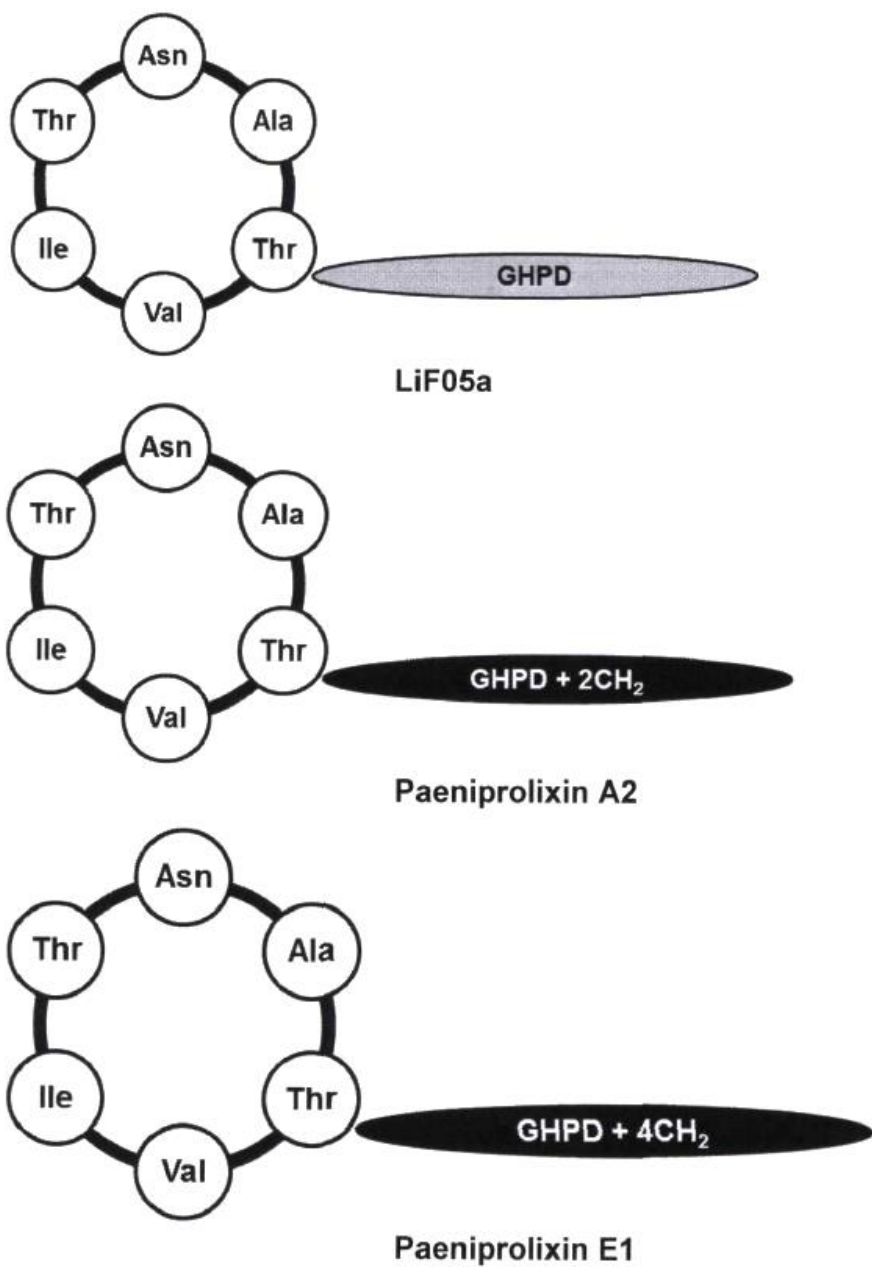
Фіг. 12В



Фіг. 12С



Фіг. 12D



Paeniprolixin E1  
Fig. 12E

Paenibacillus_peoriae_A	NALVYDPVTIEQIKGHLVHLMQIIVENPAISVDALVLVTPQEREQILNVW	2999
Paenibacillus_polymyxa_A	NALVYDQVTIGQIKGHLVHLMQIIVENPAISVDALVLVTPQEREQILNVW	2999
Paenibacillus_polymyxa_PKB1	NALVYDPVTIEQIKGHLVHLMQIIVENPAISVDALVLVTPQEREQILNVW	2999
Paenibacillus_polymyxa_E681	NALVYDPVTIGQIKGHLVHLMQIIVENPAISVDALVLVTPQEREQILNVW	2999
Paenibacillus_polymyxa_B	NALVYDQVTIEQIKGHLVHLMQI IENPATSVDALELVTPQEREQILNVW	2999
Paenibacillus_polymyxa_SQR	NALVYDPATIEQIKGHLFHLMEQIIVENPAISVDALVLVTPQEREQILSVW	3000
Paenibacillus_polymyxa_C	NALVYDPSTIEQIKGHLFHLMEQIIVENPAISVDALVLVTPQEREQILNVW	3000
Paenibacillus_polymyxa_M1	NALVYDPATIEQIKGHLFHLMEQIIVENPAISVDALVLVTPQEREQILNVW	3000
Paenibacillus_polymyxa_SC2	NALVYDPATIEQIKGHLFHLMEQIIVENPAISVDALVLVTPQEREQILNVW	3000
Paenibacillus_sp_NRR1 B-50972	NTLVYDSSNIERIRGHVHLMQIVKNPGISVDALVLVTPQERDHLINIW	2999
Paenibacillus_sp_A	NALVYDQVTIEQIKGHLVHLMQIIVENPAISVDALVLVTPQERELILDVW	2999
	*:***** . * :*: ** *****:***. *****:*****: **.:*	
Paenibacillus_peoriae_A	GNTKGIYEHCNTFFHGLLEEQAAGRTPDATAIWFEDESLTYAELNAKANGLA	3049
Paenibacillus_polymyxa_A	GNMKGIIYEHNCNTFFHGLLEEQAAGRTPDATAIWFEDESLTYAELNAKANGLA	3049
Paenibacillus_polymyxa_PKB1	GNTKGIYEHCNTFFHGLLEEQAAGRTPDATAIWFEDESLTYAELNAKANGLA	3049
Paenibacillus_polymyxa_E681	GNTKAIYEHYNTFFHGLLEEQAAGRTPDAAAIFFEDESLTYAELNAKANGLA	3049
Paenibacillus_polymyxa_B	GNTNVCYEHNSTFFHGLLEEQAAGRTPDATALLFGDEMLTYAELNAKANGLA	3049
Paenibacillus_polymyxa_SQR	GETEASSKHRRTTFHGLLEEQAARTPDATAILFENEMLTAYAELNAKANGLA	3050
Paenibacillus_polymyxa_C	GETEASSKHRRTTFHGLLEEQAARTPDATAILFENEMLTAYAELNAKANGLA	3050
Paenibacillus_polymyxa_M1	GDTGASSKHRRTTFHGLLEEQAAGRTPDATAI VFENEVLTYAELNAKANGLA	3050
Paenibacillus_polymyxa_SC2	GDTGASSKHRRTTFHGLLEEQAAGRTPDATAI VFENEVLTYAELNAKANGLA	3050
Paenibacillus_sp_NRR1 B-50972	KDIAVPYEH-----YAEHHAQAQ---	3017
Paenibacillus_sp_A	GNTKVSYEHCNTFFHGLLEEQAAGRTPEATAI VFEMEMLTYAELNAKANGLA	3049
	: :*: *****:***:	

Фір. 13

Paenibacillus_peoriae_A	RRLRTQGIKTGDLVGLIAERSLEMI	VGIMKAGGAYVPIDPEYPKERI	3099	
Paenibacillus_polymyxa_A	RRLRTQGIKTGDLVGLIAERSLEMI	VGIMKAGGAYVPIDPEYPKERI	3099	
Paenibacillus_polymyxa_PKB1	RRLRTQGIKTGDLVGLIAERSLEMI	VGIMKAGGAYVPIDPEYPKERI	3099	
Paenibacillus_polymyxa_E681	RRLRTQGIKTGDLVGLIAERSLEMI	VGIMKAGGAYVPIDPEYPQERI	3099	
Paenibacillus_polymyxa_B	RRLRTQGIKTGDLVGLIAERSLEMI	VGIMKAGGAYVPIDPEYPKERI	3099	
Paenibacillus_polymyxa_SQR	RRLRAEGIKTGDLVGLLVERSTD	MIVGMYGIMKAGGAYVPIDPEYPKERI	3100	
Paenibacillus_polymyxa_C	RRLRAEGIKTGDLVGLLVERSTD	MIVGMYGIMKAGGAYVPMDEYPKERI	3100	
Paenibacillus_polymyxa_M1	RRLRAEGIKTGDLVGLIVERSTD	MIVGMYGIMKAGGAYVPIDPEYPKERI	3100	
Paenibacillus_polymyxa_SC2	RRLRAEGIKTGDLVGLIVERSTD	MIVGMYGIMKAGGAYVPIDPEYPKERI	3100	
Paenibacillus_sp_NRR1 B-50972	-----	-----	-----	
Paenibacillus_sp_A	RKLNRQGIQTGDLVGLIADR	SSEMI	VGIMKAGGAYVPIDPEYPKERI 3099	
Paenibacillus_peoriae_A	SYMLED	SGAKLILTQAHFLEHLGWTENV	VLLDESSTYDADTSNLED	TAGP 3149
Paenibacillus_polymyxa_A	SYMLED	SGAKLILTQAHFLEHLGWTENV	VLLDESSTYDADTSNLED	TAGP 3149
Paenibacillus_polymyxa_PKB1	SYMLED	SGAKLILTQAHFLEHLGWTENV	VLLDESSTYDADTSNLED	TAGP 3149
Paenibacillus_polymyxa_E681	SYMLED	SGAKLILTQAHFLEHLGWTENV	VLLDESSTYDADTSNLED	TAGP 3149
Paenibacillus_polymyxa_B	SYMLED	SGAKLILTQAHFLEHLGWTENV	VLLDESSTYDADTSKLED	TAGP 3149
Paenibacillus_polymyxa_SQR	NYMLED	SGTKMILTQAHFLEHIGWMGN	VLLLEEPS	TYDADESNLKDTADS 3150
Paenibacillus_polymyxa_C	NYMLED	SGTKMILAQAHFLEHIDWMGN	VLLLEEPS	TYDADESNLKDTANS 3150
Paenibacillus_polymyxa_M1	NYMLED	SGTKMILAQAHFLEHGRGTGN	VLLLEP	STYDADTSNLKDTADP 3150
Paenibacillus_polymyxa_SC2	NYMLED	SGTKMILAQAHFLEHGRGTGN	VLLLEP	STYDADTSNLKDTADP 3150
Paenibacillus_sp_NRR1 B-50972	-----	-----	-----	-----
Paenibacillus_sp_A	SYMLED	SGAKLVLTQARLLEHLGWTENV	VLLLEP	STYDADTSNLKDTVGP 3149

Фіг. 13 (продовження)



Paenibacillus_peoriae_A	DDLAYVIYTSGTTGQPKGVLVEHTRGLPNLSDVYGAHFEVTPQDRIVQFAS	3199
Paenibacillus_polymyx_A	DDLAYVIYTSGTTGQPKGVLVEHTRGLPNLSNVYGAHFEVTPQDRIVQFAS	3199
Paenibacillus_polymyx_PKB1	DDLAYVIYTSGTTGQPKGVLVEHTRGLPNLSDVYGFHFEVTPQDRIVQFAS	3199
Paenibacillus_polymyx_E681	DDLAYVIYTSGTTGQPKGVLVEHTRGLPNLSDVYGAHFEVTPQDRIVQFAS	3199
Paenibacillus_polymyx_B	DDLAYVIYTSGTTGQPKGVLVEHTRGLPNLSDVYGAHFEVTPQDRIVQFAS	3199
Paenibacillus_polymyx_SQR	DDLAYVIYTSGTTGQPKGVLVEHTRGLRNLSDVYRGLFEVTPQDRIVQFAS	3200
Paenibacillus_polymyx_C	DDLAYVIYTSGTTGQPKGVLVEHTRGLRNLSDVYRGLFEVTPQDRIVQFAS	3200
Paenibacillus_polymyx_M1	DDLAYVIYTSGTTGRPKGVLVEHTRGLQNLSDVYRGLFEVTPQDRIVQFAS	3200
Paenibacillus_polymyx_SC2	DDLAYVIYTSGTTGRPKGVLVEHTRGLQNLSDVYRGLFEVTPQDRIVQFAS	3200
Paenibacillus_sp_NRRL B-50972	-----	
Paenibacillus_sp_A	DNLAYVIYTSGTTGQPKGVLVEHTRGLQNLSDVYGYFEVTPQDRIVQFAS	3199
Paenibacillus_peoriae_A	LSEFASVSEILTALSHGGVLCIPSTEDILDHALFEQFMNDKGVTVATLPP	3249
Paenibacillus_polymyx_A	LSEFASVSEILTALSHGGVLCIPSTEDILDHALFEQFMNDKGITVATLPP	3249
Paenibacillus_polymyx_PKB1	LSEFASVSEILTALSHGGVLCIPSTQDILDHALFEQFMNDKGITVATLPP	3249
Paenibacillus_polymyx_E681	LSEFASVSEILTALSHGGVLCIPSAQDILDHALFEQFMNDKGITVATLPP	3249
Paenibacillus_polymyx_B	LSEFASVSEILTALSHGGVLCIPSTQDILDHVLFEQFMNDKGITVATLPP	3249
Paenibacillus_polymyx_SQR	LSEFASVSEIITALSHGATLCIPSTQDILDHALFEQFMNSKAITIATLPP	3250
Paenibacillus_polymyx_C	LSEFASVSEIITALSHGATLCIPSTQDILDHALFEQFMNSKAITIATLPP	3250
Paenibacillus_polymyx_M1	LSEFASVSEILTTLSHGATLCIPSTQEILDHALFEQFMNDKGITVATLPP	3250
Paenibacillus_polymyx_SC2	LSEFASVSEILTTLSHGATLCIPSTQEILDHALFEQFMNDKGITVATLPP	3250
Paenibacillus_sp_NRRL B-50972	-----	
Paenibacillus_sp_A	LSEFASVSEVLTALSHGAALCIPSTQDILDYALFEQFINDKGITIATLPP	3249

Фіг. 13 (продовження)

Paenibacillus_peoriae_A	AYAIHLDPERLPTLRCLITAGSSAASVELIEEWRKHKVRYSG/GPTEDSVC	3299
Paenibacillus_polymyx_A	AYAIHLDPERLPTLRCLITAGSSAASVELIEEWRKHKVRYSG/GPTEDSVC	3299
Paenibacillus_polymyx_PKB1	AYAIHLDPERLPTLRCLITAGSSAASVELIEEWRKHKVRYSG/GPTEDSVC	3299
Paenibacillus_polymyx_E681	AYAIHLDPERLPTLRCLITAGSTASIELIEEWRKHKVRYSG/GPTEDSVC	3299
Paenibacillus_polymyx_B	AYAIHLDPERLPTLRCLITAGSSAASVELIEEWRKHKVRYSG/GPTEDSVC	3299
Paenibacillus_polymyx_SQR	AYIIHLEPERLPALRCILITAGSATSVELIEKWRKHVQYFNG/GPTEDSVC	3300
Paenibacillus_polymyx_C	AYIIHLEPERLPALRCILITAGSATSVELIEKWRKHVQYFNG/GPTEDSVC	3300
Paenibacillus_polymyx_M1	AYAIHLEPERLPTLRCLITAGSATSVELIEKWRKHVQYFNA/GPTEDSVC	3300
Paenibacillus_polymyx_SC2	AYAIHLEPERLPTLRCLITAGSATSVELIEKWRKHVQYFNA/GPTEDSVC	3300
Paenibacillus_sp_NRR1 B-50972	-----	
Paenibacillus_sp_A	AYAIHLEPERLPALRCILITAGSSAASVELIEKWRKHKVRYSG/GPTEDSVC	3299
Paenibacillus_peoriae_A	TTIWSVPDSEETDIVSIGRPIANHVSYYILDDHFRLQPVGVAGELCISII	3349
Paenibacillus_polymyx_A	TTIWSVPDSEETDIVSIGRPIANHVSYYILDDHFRLQPVGVAGELCISII	3349
Paenibacillus_polymyx_PKB1	TTIWSVPDSEETDIVSIGRPIANHVSYYILDDHFRLQPVGVAGELCISII	3349
Paenibacillus_polymyx_E681	TTIWSVPDSEETNIVSIGRPIANHVSYYILDDHFRLQPVGVAGELCISII	3349
Paenibacillus_polymyx_B	TTIWSVPDSEETDIVSIGRPIANHVSYYILDDHFRLQPVGVAGELCISII	3349
Paenibacillus_polymyx_SQR	TTMWTVPDSEETMERVSIGQPIANHVRVYILDDHFRLQPVGVAGELCISII	3350
Paenibacillus_polymyx_C	TTMWTVPDSEETMERVSIGQPIANHVRVYILDDHFRLQPVGVAGELCISII	3350
Paenibacillus_polymyx_M1	TTIWNQNSEETVGVISIGQPIANHVRVYILDEHFRLQPVGVAGELCISII	3350
Paenibacillus_polymyx_SC2	TTIWNQNSEETVGVISIGQPIANHVRVYILDEHFRLQPVGVAGELCISII	3350
Paenibacillus_sp_NRR1 B-50972	-----TAPIQPNVYIVDDHFRLQPVGVAGELCIAGV	3049
Paenibacillus_sp_A	TTIWSVPDSEETLETVTSIGRPIANHVSYYVLDHRLQPVGVAGELCISII	3349
	***: **::***::***: ****.*****:..	

Фіг. 13 (продовження)

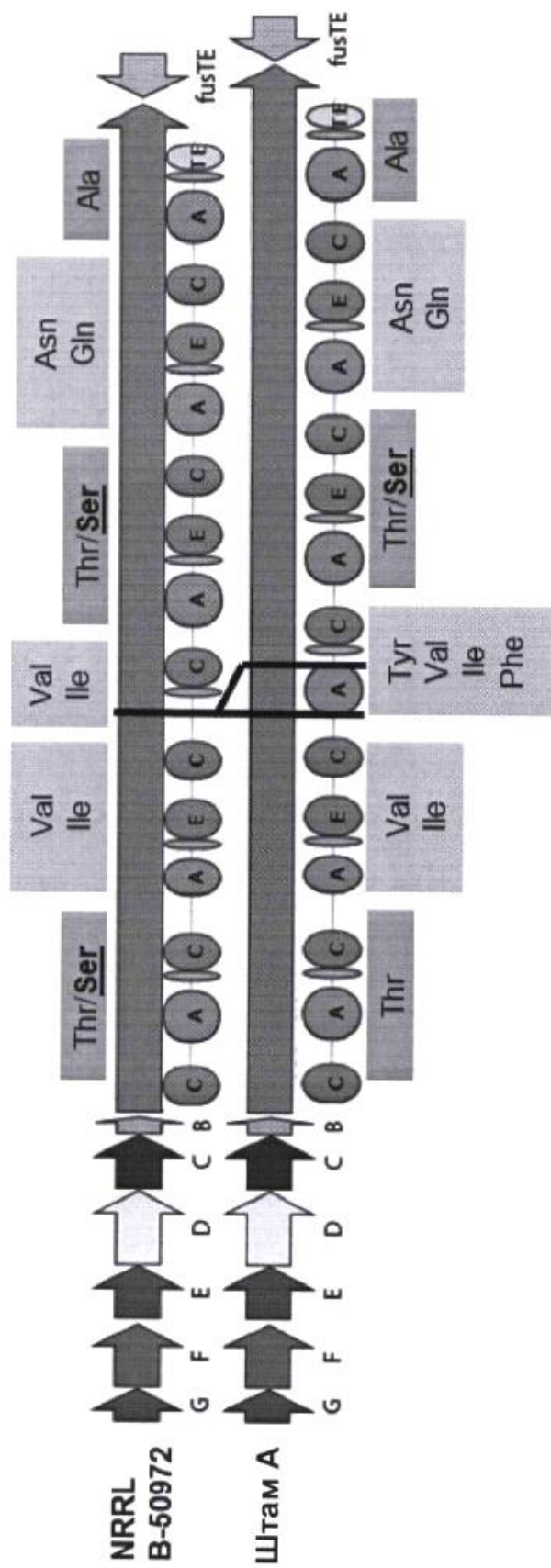


Paenibacillus_peoriae_A	GLARGYHNQPELMDEKFVDNPFAPGERMYRTGDLVRWLPNGTIEYLGRID	3399
Paenibacillus_polymyx_A	GLARGYHNRPPELMDEKFVDNPFAPGERMYRTGDLVRWLPNGTIEYLGRID	3399
Paenibacillus_polymyx_PKB1	GLARGYHNRPPELMDEKFVDNPFAPGERMYRTGDLVRWLPNGTIEYLGRID	3399
Paenibacillus_polymyx_E681	GLARGYHNRPPELMDEKFVDNPFAPGERMYRTGDLVRWLPNGTIEYLGRID	3399
Paenibacillus_polymyx_B	GLARGYHNQPELMDEKFVDNPFAPGERMYRTGDLVRWLPNGTIEYLGRID	3399
Paenibacillus_polymyx_SQR	GLARGYHNQPELMDEKFVDNPFAPGERMYRTGDLVRWLPNGTIEYLGRID	3400
Paenibacillus_polymyx_C	GLARGYHNQPELMDEKFVDNPFAPGERMYRTGDLVRWLPNGTIEYLGRID	3400
Paenibacillus_polymyx_M1	GLARGYHNRPPELMDEKFVDNPFAPGERMYRTGDLVRWLPNGTIEYLGRID	3400
Paenibacillus_polymyx_SC2	GLARGYHNRPPELMDEKFVDNPFAPGERMYRTGDLVRWLPNGTIEYLGRID	3400
Paenibacillus_sp_NRR1 B-50972	GFTREHNNHPELTDEKFVDNPFAPGERMYRTGDLVRWLPNGTIEYLGRVD	3099
Paenibacillus_sp_A	GLARGYHNRPALMDEKFVDNPFAPGERMYRTGDLVRWLPNGTIEYLGRID	3399
	*::: * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * :	
Paenibacillus_peoriae_A	HQVKIRGYRIELGEVEAQMLRVPSVQEVVAMAAEGEDGYKDLVAYFVAAQ	3449
Paenibacillus_polymyx_A	HQVKIRGYRIELGEVEAQMLRVPSVQEVVAMAVEGDDGYKDLVAYFVAAQ	3449
Paenibacillus_polymyx_PKB1	HQVKIRGYRIELGEVEAQMLRVPSVQEVVAMAVEGDDGYKDLVAYFVAAQ	3449
Paenibacillus_polymyx_E681	HQVKIRGYRIELGEVEAQMLRVPSVQEVVAMAVEGDDGYKDLVAYFVAAQ	3449
Paenibacillus_polymyx_B	HQVKIRGYRIELGEVEAQMLRVPSVQEVVAMAVEGDDGYKDLVAYFVAAQ	3449
Paenibacillus_polymyx_SQR	HQVKIRGYRIELGEVEAHMLRVFVQEVVALAVESEDGYKDLVAYFVAAQ	3450
Paenibacillus_polymyx_C	HQVKIRGYRIELGEVEAHMLRVFVQEVVALAVESEDGYKDLVAYFVAAQ	3450
Paenibacillus_polymyx_M1	HQVKIRGYRIELGEVEAHMLRVPSVQEVVVLAVESDDGYKDLVAYFVAAQ	3450
Paenibacillus_polymyx_SC2	HQVKIRGYRIELGEVEAHMLRVPSVQEVVVLAVESDDGYKDLVAYFVAAQ	3450
Paenibacillus_sp_NRR1 B-50972	HQVKIRGYRVELSEVEAQMLKVQSVQDVVMAVEGDDGHKDLFAYFVADQ	3149
Paenibacillus_sp_A	HQVKIRGYRIELGEVEAQMLRVQSVQEVVAMAVEGDDGQKDLVAYFVAAR	3449
	*****: * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * :	

Фіг. 13 (продовження)

Paenibacillus\_peoriae\_A  
Paenibacillus\_polymyx\_A  
Paenibacillus\_polymyx\_PKB1  
Paenibacillus\_polymyx\_E681  
Paenibacillus\_polymyx\_B  
Paenibacillus\_polymyx\_SQR  
Paenibacillus\_polymyx\_C  
Paenibacillus\_polymyx\_M1  
Paenibacillus\_polymyx\_SC2  
Paenibacillus\_sp\_NRRL\_B-50972  
Paenibacillus\_sp\_A

Фіг. 13 (продовження)



Фір. 14

NRRL B-50972	TTGCAAAAAA	TTGAGGTATT	20	GTGGCTGAT	GACAACCGGG	40	AATTTACGAA	TCTGCTTGCC	60
NRRL B-67129	TTGCAAAAAA	TTGAGGTATT		GTGGCTGAT	GACAACCGGG		AATTTACGAA	TCTGCTTGCC	60
			80			100			120
NRRL B-50972	GAATATATTT	CCGATCAGGA		GGATATGGAA	GTTACAGGAA		TCGCCTATAA	TGGTGAAGAA	120
NRRL B-67129	GAATATATTT	CCGATCAGGA		GGATATGGAA	GTTACAGGAA		TCGCCTATAA	TGGTGAAGAA	120
			140			160			180
NRRL B-50972	GTGCTCCAAC	ACATCGCAGA		ATCCCGCAAC	GTACCTGATG		TACTTATTTT	AGATATTATC	180
NRRL B-67129	GTGCTCCAAC	ACATCGCAGA		ATCCCGCAAC	GTACCTGATG		TACTTATTTT	AGATATTATC	180
			200			220			240
NRRL B-50972	ATGCCTCATC	TGGATGGTCT		CGGCGTATTG	GAGCGCTTGA		GAGAAATGAA	CCTGTCTCCA	240
NRRL B-67129	ATGCCTCATC	TGGATGGTCT		CGGCGTATTG	GAGCGCTTGA		GAGAAATGAA	CCTGTCTCCA	240
			260			280			300
NRRL B-50972	CAGCCGAAAA	TCATTATGCT		GACTGCATTTC	GGTCAAGAAA		ATATTACGCA	AAGAGCCGTA	300
NRRL B-67129	CAGCCGAAAA	TCATTATGCT		GACTGCATTTC	GGTCAAGAAA		ATATTACGCA	AAGAGCCGTA	300
			320			340			360
NRRL B-50972	CAGCTCGGGG	CATCTTATTA		TATTTTGAAG	CCGTTTGACA		TGGAAGTGCT	TGCCAACCGT	360
NRRL B-67129	CAGCTCGGGG	CATCTTATTA		TATTTTGAAG	CCGTTTGACA		TGGAAGTGCT	TGCCAACCGT	360
			380			400			420
NRRL B-50972	GTTTCGTCAAT	TGGTGGGACC		ACAATTAGTC	AGCAGCAGTC		CGGTGACGGT	TTCTTCCATG	420
NRRL B-67129	GTTTCGTCAAT	TGGTGGGACC		ACAATTAGTC	AGCAGCAGTC		CGGTGACGGT	TTCTTCCATG	420

Fig. 15

NRRL B-50972	CGGTCTAATG	TGGTGCCAAT	GGC AAAACG	AAAACCTGG	ATGCCAGTAT	TACGGCCATT	480
NRRL B-67129	CGGTCTAATG	TGGTGCCAAT	GGC AAAACG	AAAACCTGG	ATGCCAGTAT	TACGGCCATT	480
NRRL B-50972	ATCCATGAAA	TCGGTGTGCC	AGCTCATATT	AAGGCTATC	AATATTTACG	CGAAGCCATT	540
NRRL B-67129	ATCCATGAAA	TCGGTGTGCC	AGCTCATATT	AAGGCTATC	AATATTTACG	CGAAGCCATT	540
NRRL B-50972	ACTATGGTGT	ACAATAATAT	CGAAATTTTG	GGTGCCATCA	CCAAAACATT	ATATCCCGCA	600
NRRL B-67129	ACTATGGTGT	ACAATAATAT	CGAAATTTTG	GGTGCCATCA	CCAAAACATT	ATATCCCGCA	600
NRRL B-50972	ATCGCCGAAA	AATTTAAAC	GACGGCATCC	CGCGTGGAAC	GCGCCATTTCG	TCATGCCATC	660
NRRL B-67129	ATCGCCGAAA	AATTTAAAC	GACGGCATCC	CGCGTGGAAC	GCGCCATTTCG	TCATGCCATC	660
NRRL B-50972	GAGGTAGCAT	GGACACGTGG	CAACATCGAC	AGCATCTCTC	ATCTGTTCGG	CTACACCAT	720
NRRL B-67129	GAGGTAGCAT	GGACACGTGG	CAACATCGAC	AGCATCTCTC	ATCTGTTCGG	CTACACCAT	720
NRRL B-50972	AATATCTCCA	AATCCAAGCC	GACCAACTCA	GAGTTTATTG	CGATGGTAGC	TGACAAAGCT	780
NRRL B-67129	AATATCTCCA	AATCCAAGCC	GACCAACTCA	GAGTTTATTG	CGATGGTAGC	TGACAAAGCT	780
NRRL B-50972	CGGATTGAGA	ATAAGGTGTC	CTGA	804			
NRRL B-67129	CGGATTGAGA	ATAAGGTGTC	CTGA	804			

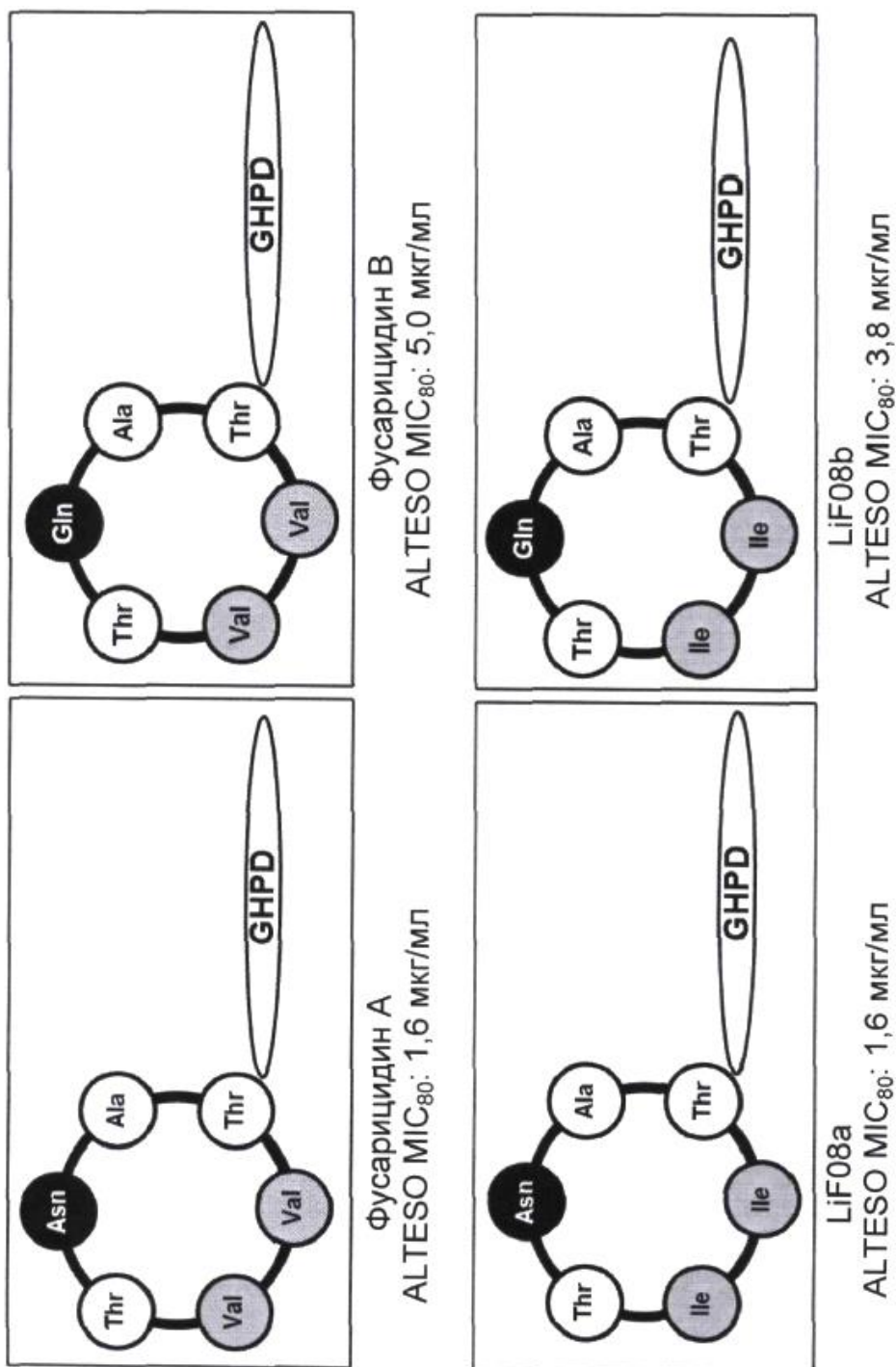


Фіг. 15 (продовження)

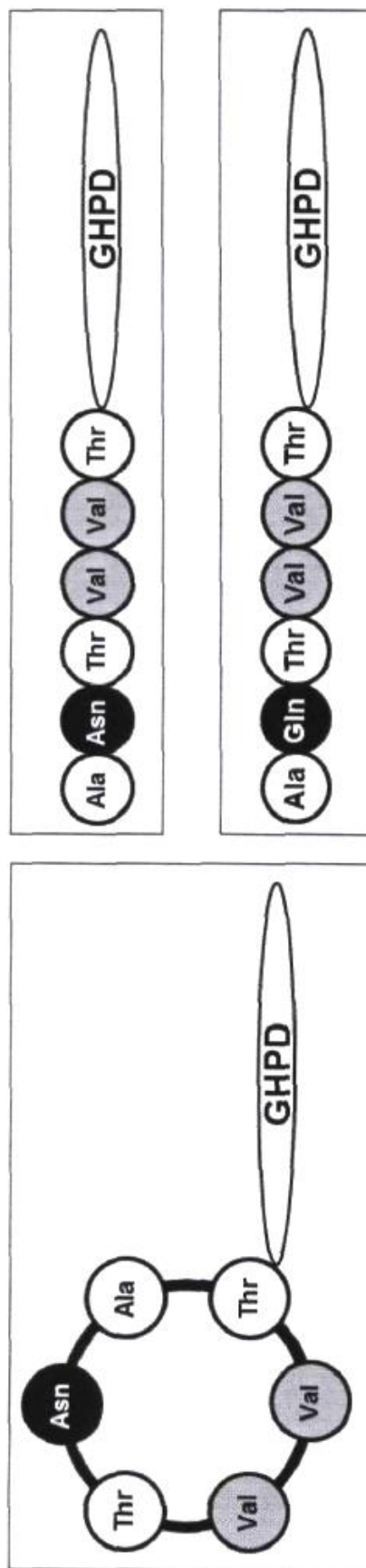


[illegible]

Phil. 16



Фіг. 17

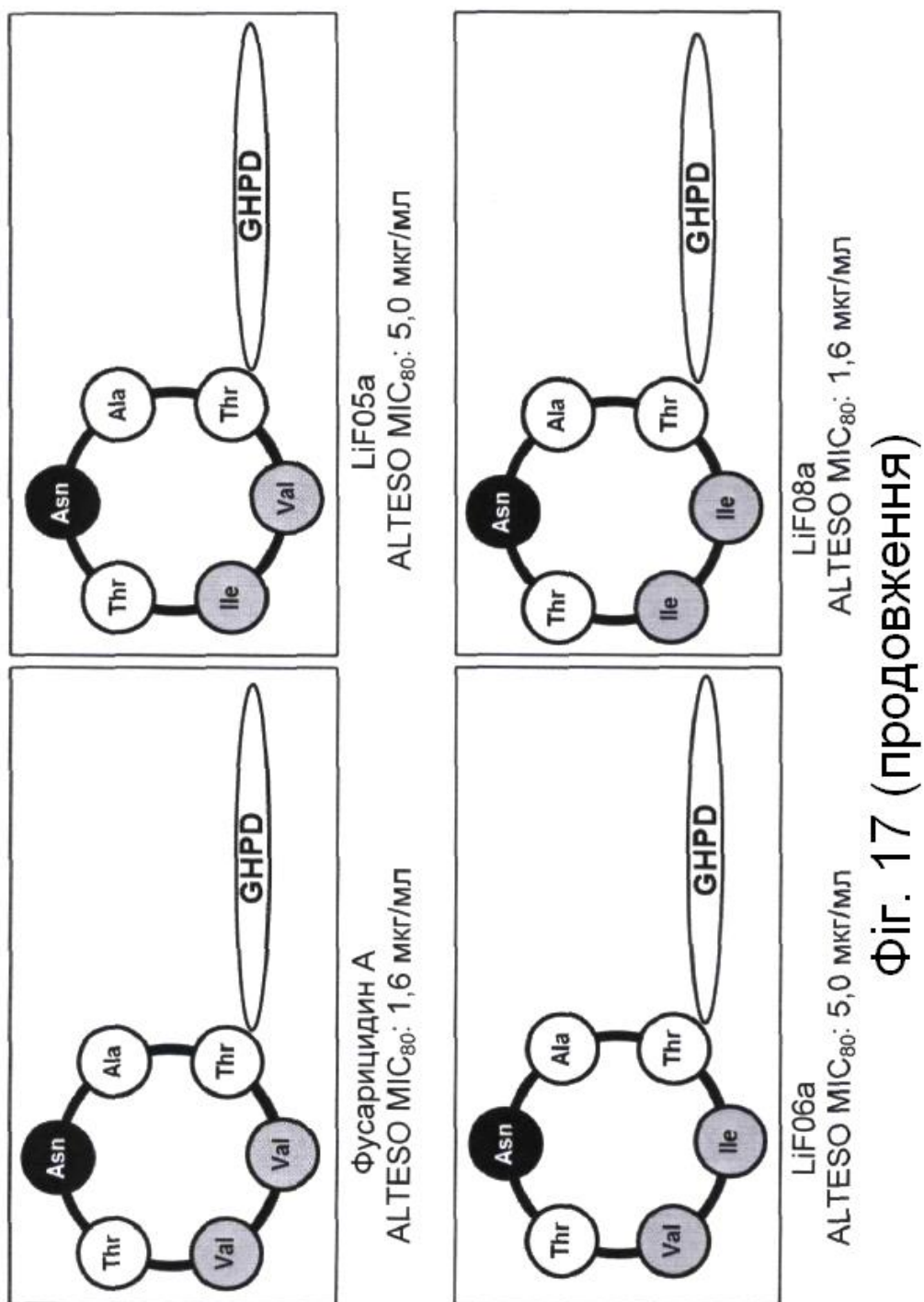


Фусарицидин А  
ALTESO MIC<sub>80</sub>: 1,6 мкг/мл

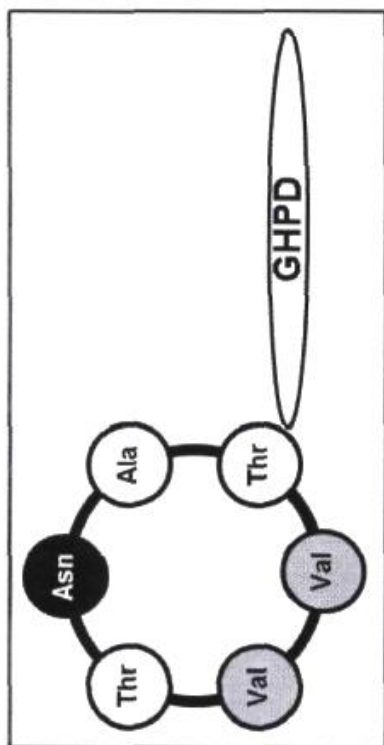
LiF04c & LiF04d (суміш 2:1)  
ALTESO MIC<sub>80</sub>: >50 мкг/мл

Фіг. 17 (продовження)

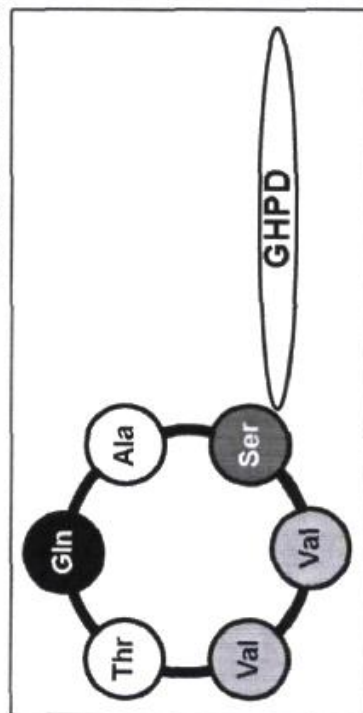




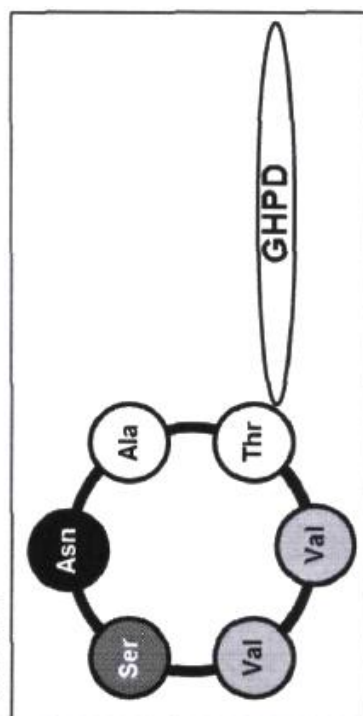
Фіг. 17 (продовження)



Фусарицидин А  
ALTESO MIC<sub>80</sub>: 1,6 мкг/мл



Paeniserine A1  
ALTESO MIC<sub>80</sub>: 1,8 мкг/мл



Paeniserine B1  
ALTESO MIC<sub>80</sub>: 1,8 мкг/мл

Фіг. 17 (продовження)

