(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) **1-0031469**

(51)[7] **C07K 19/00**; C12N 15/62; C12N 1/21

(13) **B**

(21) 1-2015-03898
(22) 17/03/2014
(86) PCT/US2014/030824 17/03/2014
(87) WO2014/145964 18/09/2014
(30) 61/799,262 15/03/2013 US
(45) 25/04/2022 409
(43) 25/01/2016 334A

(73) SPOGEN BIOTECH INC. (US)
1601 South Providence Road, Suite 120, Columbia, Missouri 65211, United States of America

(72) THOMPSON, Brian (US); THOMPSON, Katie (US).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) THÀNH VIÊN HỌ BACILLUS CEREUS TÁI TỔ HỢP BIỂU HIỆN PROTEIN DUNG HỢP, PHƯƠNG PHÁP KÍCH THÍCH KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG CỦA THỰC VẬT VÀ HẠT GIỐNG THỰC VẬT ĐƯỢC PHỦ BẰNG CHẾ PHẨM PHỦ THỰC VẬT CHỨA THÀNH VIÊN HỌ BACILLUS CEREUS TÁI TỔ HỢP

(57) Sáng chế đề cập đến protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích mà hướng đích protein dung hợp đến lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus*. Sáng chế còn đề cập đến các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp này và các dạng chế phẩm chứa các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp này. Các phương pháp kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh và nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật bằng cách áp dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp hoặc các dạng chế phẩm cho thực vật hoặc môi trường sinh trưởng của thực vật thì cũng được mô tả. Sáng chế còn đề cập đến các phương pháp làm bất động các bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp trên thực vật.

	SEQ ID NO.	Độ đồng nhất tính theo % của các axit amin từ 20 đến 35	Độ đồng nhất tính theo % của các axit amin từ 25 đến 35
MSNNNYSNGLNPDESLSAS**AFDPNLVGPTLPPIPP**FTLPTG	1	100%	100%
MSEKYIILHGT**ALEPNLIGPTLPPIPP**FTFPNG	3	81,3%	90,9%
MVKVVEGNGGKSKIKSPLNSNF**KILSDLVGPTFPPVPT**GMTGIT	5	50,0%	72,7%
MKQNDKLWLDKG**IIGPENIGPTFPVLPP**INIPTG	7	43,8%	54,5%
MDEFLSSA**ALNPGSVGPTLPPMQP**FQFRTG	9	62,5%	72,7%
MFDKNEIQKINGILQAN**ALNPNLIGPTLPPIPP**FTLPTG	11	81,3%	90,9%
MFDKNEMKKINEVLQAN**ALDPNIIGPTLPPIPP**FTLPTG	13	81,3%	81,8%
MSRKDKFNRSRMSRKDRFNSFKIKSEI**SISPDLVGPTFPPIPS**FTLPTG	15	62,5%	81,8%
MNEEYSILHGP**ALEPNLIGPTLPSIPP**FTFPTG	17	75,0%	81,8%
MKNRDNNRKQNSLSSNF**RIPPELIGPTFPPVPT**GFTGIG	19	50,0%	63,6%
MSDKHQMKKISEVLQAN**ALDPNLIGPPLPPITP**FTFPTG	21	75,0%	72,7%
MDEFLSFA**ALNPGSIGPTLPPVPP**FQFPTG	23	62,5%	72,7%
MDEFLSST**ALNPCSIGPTLPPMQP**FQFPTG	25	56,2%	63,6%
MKERDRQNSLNSNF**RISPNLIGPTFPPVPT**GFTGIG	27	56,2%	63,6%
VFDKNEIQKINGILQAN**ALNPNLIGPTLPPIPP**FTLPTG	29	81,3%	90,9%
MDEFLYFA**ALNPGSIGPTLPPVQP**FQFPTG	31	56,2%	63,6%
MDSKNIGPTFPPLPSINFPTG	33	43,8%	54,5%
MIGPENIGPTFPILPPIYIPTG	35	43,8%	54,5%
MSNNNIPSPFFFN**NFNPELIGPTFPPIPP**LTLPTG	43	68,8%	81,8%
MFSEKKRKDLIPDNFLSAP**ALDPNLIGPTFPPIPS**FTLPTG	45	75,0%	72,7%
MTRKDKFNRSRISRRDRFNSFKIKSEI**LISPDLVGPTFPPIPS**FTLPTG	47	62,5%	81,8%
MSRKDRFNSFKIKSEI**SISPDLVGPTFPPIPS**FTLPTG	49	62,5%	81,8%
MKERDNKGKQNSLNSNF**RIPPELIGPTFPPVPT**GFTGIG	51	50,0%	63,6%
MRERDNKRQQNSLNPNF**RISPELIGPTFPPVPT**GFTGIG	53	50,0%	63,6%
MKNRDNKGKQQSNF**RIPPELIGPTFPPVPT**GFTGIG	55	50,0%	63,6%
MKFSKKSTVDSSIVGKKVVSKVNILRFYDARSCQDKDVDGFVDVGELFTIFRKLNMEGSVQFKAHNSI GKTYYITINEVYVFVTVLLQYSTLIGGSYVFDKNEIQKINGILQAN**ALNPNLIGPTLPPIPP**FTLPTG	57	81,3%	90,9%

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Nhìn chung, sáng chế đề cập đến protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử mà hướng đích protein dung hợp đến lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus*. Sáng chế còn đề cập đến các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp này và các dạng chế phẩm chứa các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp này. Sáng chế còn đề cập đến các phương pháp kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh và nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật bằng cách áp dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp hoặc các dạng chế phẩm cho thực vật hoặc môi trường sinh trưởng của thực vật. Sáng chế còn đề cập đến các phương pháp làm bất động các bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp trên thực vật hoặc trên chất thực vật.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Trong phạm vi vùng bao quanh rễ thực vật là vùng được gọi là bầu rễ. Ở bầu rễ, vi khuẩn, nấm, và các sinh vật khác cạnh tranh về dưỡng chất và về khả năng liên kết với các cấu trúc rễ của thực vật. Cả vi khuẩn có lợi và có hại và cả nấm có lợi và có hại đều có thể chiếm chỗ bầu rễ. Tất cả vi khuẩn, nấm và hệ thống rễ của thực vật đều có thể bị ảnh hưởng bởi các tác động của peptit, enzym, và các protein khác ở bầu rễ. Việc tăng cường đất hoặc xử lý thực vật bằng chất nhất định trong số các peptit, enzym, hoặc các protein khác này sẽ có tác dụng có lợi đối với tổng thể các quần thể của nấm và vi khuẩn có lợi trong đất, tạo ra môi trường đất tổng thể khỏe mạnh hơn cho quá trình sinh trưởng của thực vật, cải thiện khả năng sinh

trưởng của thực vật, và đem lại sự bảo vệ cho thực vật trước mầm bệnh vi khuẩn và mầm bệnh nấm nhất định. Tuy nhiên, các nỗ lực trước đó nhằm đưa các peptit, enzym, và các protein khác vào đất để đem lại tác dụng có lợi như vậy đối với thực vật đã gặp trở ngại do mức sống sót thấp của các enzym, protein và peptit trong đất. Ngoài ra, tình trạng phổ biến của các proteaza có mặt một cách tự nhiên trong đất dẫn đến hiện tượng thoái hóa của các protein trong đất. Môi trường xung quanh rễ của thực vật (bầu rễ) là hỗn hợp độc nhất của vi khuẩn, nấm, dưỡng chất, và rễ mà có chất lượng khác nhau so với chất lượng của đất nguyên thể. Mối quan hệ cộng sinh giữa các sinh vật này là độc nhất, và có thể thay đổi cho tốt hơn với việc đưa vào các protein ngoại sinh. Nồng độ cao của nấm và vi khuẩn ở bầu rễ gây ra hiện tượng suy thoái protein thậm chí nặng hơn do các mức cao bất thường của các proteaza và các yếu tố khác có hại cho các protein trong đất. Ngoài ra, các enzym và các protein khác được đưa vào đất có thể tan biến khỏi rễ thực vật một cách nhanh chóng.

Vì vậy, trong lĩnh vực này có nhu cầu về phương pháp dùng để phân phối một cách hữu hiệu các peptit, enzym, và các protein khác cho thực vật (ví dụ, cho hệ thống rễ thực vật) và dùng để kéo dài khoảng thời gian mà trong đó các phân tử này vẫn có hoạt tính. Ngoài ra, trong lĩnh vực này có nhu cầu về phương pháp hướng đích các peptit, enzym và các protein này một cách chọn lọc đến bầu rễ và đến lá thực vật và đặc biệt là rễ thực vật.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật, hoặc ít nhất một peptit hoặc protein liên kết với thực vật. Peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm peptit hocmon, peptit không hocmon, hoặc enzym liên quan đến việc sản xuất hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật. Protein dung hợp cũng chứa trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử. Trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể là: (a) trình tự

hướng đích bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 43% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 54%; (b) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1; (c) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1; (d) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 1; (e) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 2; (f) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 27 của SEQ ID NO: 3; (g) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 12 đến 27 của SEQ ID NO: 3; (h) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 3; (i) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 4; (j) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 38 của SEQ ID NO: 5; (k) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 23 đến 38 của SEQ ID NO: 5; (l) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 5; (m) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 6; (n) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 28 của SEQ ID NO: 7; (o) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 13 đến 28 của SEQ ID NO: 7; (p) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 7; (q) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 8; (r) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 9; (s) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 9; (t) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 9; (u) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 10; (v) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO:11; (w) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 11; (x) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 11; (y) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 12; (z) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 13; (aa) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 13; (ab) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:13; (ac) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:14; (ad) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 43 của SEQ ID NO: 15; (ae) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 28 đến 43 của SEQ ID NO: 15; (af) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:15; (ag) protein lớp

ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:16; (ah) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 27 của SEQ ID NO: 17; (ai) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 12 đến 27 của SEQ ID NO: 17; (aj) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:17; (ak) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:18; (al) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 19; (am) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 19; (an) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:19; (ao) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:20; (ap) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 21; (aq) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 21; (ar) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:21; (as) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:22; (at) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 23; (au) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 23; (av) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:23; (aw) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:24; (ax) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 25; (ay) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 25; (az) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:25; (ba) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:26; (bb) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 30 của SEQ ID NO: 27; (bc) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 15 đến 30 của SEQ ID NO: 27; (bd) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:27; (be) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:28; (bf) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 29; (bg) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 29; (bh) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:29; (bi) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:30; (bj) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 31; (bk) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 31; (bl) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:31; (bm) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ

đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:32; (bn) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 15 của SEQ ID NO: 33; (bo) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:33; (bp) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:34; (bq) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 16 của SEQ ID NO: 35; (br) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:35; (bs) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:36; (bt) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 29 của SEQ ID NO:43; (bu) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 14 đến 29 của SEQ ID NO: 43; (bv) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 43; (bw) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 44; (bx) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 45; (by) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 45; (bz) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 45; (ca) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 46; (cb) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 43 của SEQ ID NO: 47; (cc) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 28 đến 43 của SEQ ID NO: 47; (cd) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 47; (ce) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 48; (cf) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 32 của SEQ ID NO: 49; (cg) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 17 đến 32 của SEQ ID NO: 49; (ch) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 49; (ci) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 50; (cj) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 51; (ck) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 51; (cl) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 51; (cm) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 52; (cn) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 53; (co) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 53; (cp) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 53; (cq) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 54; (cr) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 30 của SEQ ID NO: 55; (cs) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 15 đến 30 của SEQ ID NO: 55;

(ct) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 55; (cu) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 56; (cv) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 130 của SEQ ID NO: 57; (cw) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 115 đến 130 của SEQ ID NO: 57; (cx) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 57; (cy) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 58; (cz) đoạn protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 59; (da) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 60; (db) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 61; (dc) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 62; (dd) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 63; (de) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 64; (df) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 65; (dg) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 66; (dh) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 67; (di) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 68; (dj) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 69; (dk) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 70; (dl) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 71; (dm) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 72; (dn) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 73; (do) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 74; (dp) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 75; (dq) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 76; (dr) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 77; (ds) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 78; (dt) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 79; (du) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 80; (dv) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 81; (dw) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 82; (dx) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 83; (dy) protein lớp ngoại bào

tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 84; (dz) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 22 đến 31 của SEQ ID NO: 1; (ea) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 22 đến 33 của SEQ ID NO: 1; (eb) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 20 đến 31 của SEQ ID NO: 1; (ec) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 14 đến 23 của SEQ ID NO: 3; (ed) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 14 đến 25 của SEQ ID NO: 3; hoặc (ef) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 12 đến 23 của SEQ ID NO: 3.

Sáng chế còn đề xuất protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử và ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh. Trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể là: (a) trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 43% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 54%; (b) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1; (c) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1; (d) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 1; (e) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 60; (f) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 27 của SEQ ID NO: 3; (g) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 12 đến 27 của SEQ ID NO: 3; (h) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 3; (i) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 4; (j) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 38 của SEQ ID NO: 5; (k) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 23 đến 38 của SEQ ID NO: 5; (l) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 5; (m) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 6; (n) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 28 của SEQ ID NO: 7; (o) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 13 đến 28 của SEQ ID NO: 7; (p) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 7; (q) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 8; (r) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 9; (s) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 9; (t) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 9; (u) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85%

với SEQ ID NO: 10; (v) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO:11; (w) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 11; (x) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 11; (y) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 12; (z) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 13; (aa) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 13; (ab) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:13; (ac) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:14; (ad) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 43 của SEQ ID NO: 15; (ae) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 28 đến 43 của SEQ ID NO: 15; (af) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:15; (ag) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:16; (ah) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 27 của SEQ ID NO: 17; (ai) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 12 đến 27 của SEQ ID NO: 17; (aj) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:17; (ak) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:18; (al) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 19; (am) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 19; (an) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:19; (ao) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:20; (ap) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 21; (aq) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 21; (ar) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:21; (as) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:22; (at) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 23; (au) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 23; (av) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:23; (aw) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:24; (ax) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 25; (ay) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 25; (az) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:25; (ba) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:26; (bb) trình tự hướng đích

bao gồm các axit amin 1 đến 30 của SEQ ID NO: 27; (bc) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 15 đến 30 của SEQ ID NO: 27; (bd) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:27; (be) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:28; (bf) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 29; (bg) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 29; (bh) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:29; (bi) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:30; (bj) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 31; (bk) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 31; (bl) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:31; (bm) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:32;(bn) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 15 của SEQ ID NO: 33; (bo) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:33; (bp) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:34; (bq) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 16 của SEQ ID NO: 35; (br) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:35; (bs) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO:36; (bt) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 29 của SEQ ID NO:43; (bu) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 14 đến 29 của SEQ ID NO: 43; (bv) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 43; (bw) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 44; (bx) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 45; (by) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 45; (bz) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 45; (ca) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 46; (cb) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 43 của SEQ ID NO: 47; (cc) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 28 đến 43 của SEQ ID NO: 47; (cd) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 47; (ce) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 48; (cf) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 32 của SEQ ID NO: 49; (cg) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 17 đến 32 của SEQ ID NO: 49; (ch) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 49; (ci) protein lớp

ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 50; (cj) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 51; (ck) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 51; (cl) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 51; (cm) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 52; (cn) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 53; (co) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 53; (cp) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 53; (cq) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 54; (cr) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 30 của SEQ ID NO: 55; (cs) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 15 đến 30 của SEQ ID NO: 55; (ct) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 55; (cu) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 56; (cv) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 130 của SEQ ID NO: 57; (cw) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 115 đến 130 của SEQ ID NO: 57; (cx) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 57; (cy) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 58; (cz) đoạn protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 59; (da) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 61; (db) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 62; (dc) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 63; (dd) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 64; (de) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 65; (df) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 66; (dg) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 67; (dh) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 68; (di) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 69; (dj) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 70; (dk) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 71; (dl) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 72; (dm) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 73; (dn) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 74; (do) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 75; (dp) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit

amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 76; (dq) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 77; (dr) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 78; (ds) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 79; (dt) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 80; (du) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 81; (dv) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 82; (dw) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 83; (dx) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 84; (dy) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 22 đến 31 của SEQ ID NO: 1; (dz) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 22 đến 33 của SEQ ID NO: 1; (ea) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 20 đến 31 của SEQ ID NO: 1; (eb) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 14 đến 23 của SEQ ID NO: 3; (ec) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 14 đến 25 của SEQ ID NO: 3; hoặc (ed) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 12 đến 23 của SEQ ID NO: 3.

Sáng chế còn đề xuất protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử và ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh. Peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh có thể bao gồm harpin, α-elastin, β-elastin, systemin, phenylalanin amoniac lyaza, elicitin, defensin, cryptogein, protein flagellin, peptit flagellin, bacteriocin, lysozym, peptit lysozym, siderophore (chất mang sắt), peptit không ribosom có hoạt tính, conalbumin, albumin, lactoferrin, peptit lactoferrin, hoặc TasA. Theo cách khác, peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh có hoạt tính diệt côn trùng, hoạt tính diệt sâu, ức chế hoạt động phá hoại của côn trùng hoặc sâu, hoặc tổ hợp của chúng. Theo cách khác, protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh bao gồm enzym. Trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể là loại bất kỳ trong số các trình tự hướng đích, các protein lớp ngoại bào tử, hoặc các đoạn protein lớp ngoại bào tử được liệt kê trên đây ở đoạn 0.

Sáng chế còn đề xuất protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein đang được quan tâm và protein lớp ngoại bào tử. Protein lớp ngoại bào tử có thể là protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 71, 75, 80, 81, 82, 83 và 84.

Sáng chế còn đề cập đến thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp mà biểu hiện loại bất kỳ trong số các protein dung hợp.

Sáng chế còn đề xuất các dạng chế phẩm chứa loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp và chất mang nông dụng.

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật. Phương pháp này bao gồm việc đưa vào môi trường sinh trưởng của thực vật loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm chứa các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật. Theo cách khác, phương pháp này bao gồm việc áp dụng cho thực vật, hạt giống thực vật, hoặc diện tích bao quanh thực vật hoặc hạt giống thực vật loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm chứa các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật. Peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật được gắn kết bằng cách vật lý vào lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus* tái tổ hợp.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật. Phương pháp này bao gồm việc đưa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp vào môi trường sinh trưởng của thực vật hoặc áp dụng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp cho thực vật, hạt giống thực vật, hoặc diện tích bao quanh thực vật hoặc hạt giống thực vật. Protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh

trưởng của thực vật và trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử. Trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể là loại bất kỳ trong số các loại được liệt kê trên đây ở đoạn 0. Peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật được gắn kết bằng cách vật lý vào lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus* tái tổ hợp.

Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến phương pháp bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh hoặc nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật. Phương pháp này bao gồm việc đưa vào môi trường sinh trưởng của thực vật loại bất kỳ trong số thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh hoặc ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật, hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm chứa loại bất kỳ trong số thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh hoặc ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật. Theo cách khác, phương pháp này bao gồm việc áp dụng cho thực vật, hạt giống thực vật, hoặc diện tích bao quanh thực vật loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh hoặc ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật, hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm chứa loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh hoặc ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật. Peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh hoặc peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật được gắn kết bằng cách vật lý vào lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp làm bất động bào tử thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp trên thực vật. Phương pháp này bao gồm việc đưa vào môi trường sinh trưởng của thực vật loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus*

cereus tái tổ hợp biểu hiện ít nhất một peptit hoặc protein liên kết với thực vật, hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm chứa loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện ít nhất một peptit hoặc protein liên kết với thực vật. Theo cách khác, phương pháp này bao gồm việc áp dụng cho thực vật, hạt giống thực vật, hoặc diện tích bao quanh thực vật hoặc hạt giống thực vật loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện ít nhất một peptit hoặc protein liên kết với thực vật, hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm chứa loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện ít nhất một peptit hoặc protein liên kết với thực vật. Peptit hoặc protein liên kết với thực vật được gắn kết bằng cách vật lý vào lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp.

Các mục tiêu và đặc tính khác sẽ trở nên rõ ràng phần nào và sẽ được chỉ rõ phần nào dưới đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 biểu bị dạng sắp xếp thẳng hàng của trình tự axit amin của phần đầu tận cùng amin của chủng Sterne *Bacillus anthracis* BclA và với vùng tương ứng từ các protein lớp ngoại bào tử khác nhau từ các thành viên họ *Bacillus cereus*.

Hình 2 biểu thị các kết quả soi kính hiển vi huỳnh quang tiêu biểu của quá trình biểu hiện protein dung hợp chứa các protein lớp ngoại bào tử khác nhau được liên kết với chất chỉ thị mCherry trên lớp ngoại bào tử.

Mô tả chi tiết sáng chế

Khi các mạo từ "một" và "đã nêu" được sử dụng trong tài liệu này, thì có nghĩa là "ít nhất một" hoặc "một hoặc nhiều" trừ khi có quy định khác.

Các thuật ngữ "chứa", "bao gồm", và "có" là có ý bao gồm và có nghĩa là có thể có các phần tử bổ sung không phải là các phần tử được liệt kê.

Thuật ngữ "peptit có hoạt tính sinh học" được dùng để chỉ peptit bất kỳ mà sử dụng hoạt tính sinh học. Có thể tạo ra "các peptit có hoạt tính sinh học", ví dụ, thông qua quá trình phân cắt protein, peptit, proprotein, hoặc preproprotein bằng proteaza hoặc peptiđaza.

"Enzym liên quan đến việc sản xuất hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật" bao gồm enzym bất kỳ có chức năng xúc tác bước bất kỳ trong chu trình tổng hợp sinh học đối với hợp chất có tác dụng kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật hoặc thay đổi cấu trúc thực vật, hoặc enzym bất kỳ có chức năng xúc tác quá trình chuyển hóa dẫn xuất không có hoạt tính hoặc có hoạt tính kém hơn của hợp chất có tác dụng kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật hoặc thay đổi cấu trúc thực vật thành dạng có hoạt tính hoặc có hoạt tính tốt hơn của hợp chất này. Các hợp chất này bao gồm, ví dụ, nhưng không chỉ giới hạn ở, các hocmon thực vật phân tử nhỏ như auxin và cytokinin, peptit có hoạt tính sinh học, và phân tử nhỏ kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật do vi khuẩn hoặc nấm tổng hợp ở bầu rễ (ví dụ, 2,3-butanđiol).

Thuật ngữ "protein dung hợp" như được sử dụng trong tài liệu này được dùng để chỉ protein có trình tự polypeptit mà bao gồm các trình tự được tạo ra từ hai protein tách biệt trở lên. Protein dung hợp có thể được tạo ra bằng cách nối liền phân tử axit nucleic mà mã hóa tất cả hoặc một phần của polypeptit thứ nhất với phân tử axit nucleic mà mã hóa tất cả hoặc một phần của polypeptit thứ hai để tạo ra trình tự axit nucleic mà, khi được biểu hiện, thu được một polypeptit đơn lẻ có các thuộc tính chức năng được tạo ra từ mỗi protein trong số các protein gốc.

Thuật ngữ "làm bất động bào tử thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp trên thực vật" được dùng để chỉ sự liên kết của bào tử thành viên họ *Bacillus cereus* với thực vật, ví dụ, với rễ của thực vật hoặc với phần thực vật trong không khí như lá, thân, hoa, hoặc quả, sao cho bào tử được duy trì ở cấu trúc rễ của thực vật hoặc phần trong không khí thay vì tan biến vào môi trường sinh trưởng của thực vật hoặc vào môi trường bao quanh các phần thực vật trong không khí.

"Môi trường sinh trưởng của thực vật" bao gồm chất liệu bất kỳ mà có khả năng hỗ trợ quá trình sinh trưởng của thực vật.

"Peptit hoặc protein nâng cao hệ miễn dịch của thực vật" như được sử dụng trong tài liệu này bao gồm peptit hoặc protein bất kỳ mà có tác dụng có lợi đối với hệ miễn dịch của thực vật.

Thuật ngữ "peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật" như được sử dụng trong tài liệu này bao gồm peptit hoặc protein bất kỳ mà làm tăng mức sinh trưởng của thực vật ở thực vật tiếp xúc với peptit hoặc protein.

"Peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh" như được sử dụng trong tài liệu này bao gồm peptit hoặc protein bất kỳ mà làm cho thực vật tiếp xúc với peptit hoặc protein ít bị nhiễm mầm bệnh hơn.

"Peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật" như được sử dụng trong tài liệu này bao gồm peptit hoặc protein bất kỳ mà làm cho thực vật tiếp xúc với peptit hoặc protein có tính chống chịu tốt hơn với điều kiện khắc nghiệt.

Thuật ngữ "peptit hoặc protein liên kết với thực vật" được dùng để chỉ peptit hoặc protein bất kỳ có khả năng liên kết đặc hiệu hoặc không đặc hiệu với phần bất kỳ của thực vật (ví dụ, rễ hoặc các phần thực vật trong không khí như tán lá, thân, hoa, hoặc quả) hoặc với chất thực vật.

Thuật ngữ "trình tự hướng đích" như được sử dụng trong tài liệu này được dùng để chỉ trình tự polypeptit mà, khi có mặt như là một phần của protein hoặc polypeptit dài hơn, đem lại kết quả là định vị protein hoặc polypeptit dài hơn vào vị trí dưới mức tế bào cụ thể. Các trình tự hướng đích được mô tả trong tài liệu này đem lại kết quả là định vị các protein vào lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus*.

Sáng chế đề cập đến protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử mà hướng đích protein dung hợp đến lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* và: (a) ít nhất một peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật; (b) ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh; (c) ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt của thực vật; hoặc (d) ít nhất một peptit hoặc protein liên kết với thực vật. Khi được biểu hiện ở thành viên họ vi khuẩn *Bacillus cereus*, các protein dung hợp này được hướng đích đến lớp ngoại bào tử của bào tử và được định hướng về mặt vật lý sao cho peptit hoặc protein được thể hiện ở phía ngoài của bào tử.

Hệ thống thể hiện lớp ngoại bào tử *Bacillus* (*Bacillus* exosporium display-BEMD) này có thể được sử dụng để phân phối các peptit, enzym, và các protein khác cho thực vật (ví dụ, cho tán thực vật, quả, hoa, thân, hoặc rễ) hoặc cho môi trường sinh trưởng của thực vật như đất. Các peptit, các enzym, và các protein được phân phối cho đất hoặc một môi trường sinh trưởng của thực vật khác theo phương thức này tồn lưu và thể hiện hoạt tính trong đất trong khoảng thời gian kéo dài. Việc đưa thành viên họ vi khuẩn *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp được mô tả trong tài liệu này vào đất hoặc bầu rễ của thực vật dẫn đến hiện tượng nâng cao mức sinh trưởng của thực vật có lợi trong nhiều điều kiện về đất khác nhau. Việc sử dụng BEMD để tạo ra các enzym này cho phép chúng tiếp tục sử dụng các kết quả có lợi của chúng cho thực vật và bầu rễ trong những tháng đầu tiên của quãng đời thực vật.

Trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, và đoạn protein lớp ngoại bào tử

Để dễ dàng tham chiếu, các SEQ ID NO. của các trình tự peptit và protein được đề cập đến trong tài liệu này được liệt kê trong bảng 1 dưới đây.

Bảng 1. Các trình tự peptit và protein

Protein, đoạn protein, hoặc trình tự hướng đích (SEQ ID. NO)	Trình tự
AA 1 đến 41 của BclA (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 1)*	MSNNNYSNGLNPDESLSASAFDPNLVGPTLPPIPPFTLPTG
BclA có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 2)*	MSNNNYSNGLNPDESLSASAFDPNLVGPTLPPIPPFTLPTG PTGPFTTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGDTGTTGPT GPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGFTPTGPTGPTGPTGDT GTTGPTGPTGPTGPTGPTGDTGTTGPTGPTGPTGPTGPTG PTGPTFTGPTGPTGPTGATGLTGPTGPTGPSGLGLPAGLY AFNSGGISLDLGINDPVPFNTVGSQFFTGTAISQLDADTFV ISETGFYKITVIANTATASVLGGLTIQVNGVPVPGTGSSLI SLGAPFTIVIQAITQITTTPSLVEVIVTGLGLSLALGTSASIII EKVA
AA 1 đến 33 của BetA/BAS3290 (Sterne *B.*	MSEKYIILHGTALEPNLIGPTLPPIPPFTFPNG

anthracis) (SEQ ID NO:3)	
BetA/BAS3290 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:4)	MSEKYIILHGTALEPNLIGPTLPPIPPFTFPNGPTGITGPTG ATGFTGIGITGPTGVTGPTGIGITGPTGATGLGILPVFGTIT TDVGIGFSVIVNTNINFTLPGPVSGTTLNPVDNSIIINTTGV YSVSFSIVFVIQAISSSILNLTINDSIQFAIESRIGGGPGVRA TSARTDLLSLNQGDVLRVRIREATGDIIYSNASLVVSKVD
Met + AA 2 đến 43 của BAS4623 (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 5)	MVKVVEGNGGKSKIKSPLNSNFKILSDLVGPTFPPVPTG MTGIT
BAS4623 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 6)	VVKVVEGNGGKSKIKSPLNSNFKILSDLVGPTFPPVPTGM TGITGSTGATGNTGPTGETGATGSAGITGSTGPTGNTGGT GSTGPTGNTGATGSTGVTGSTGVTGSTGVTGSTGVTGST GPTGETGGTGSTGVTGSTGATGSTGVTGNTGPTGSTGAT GNTGSIGETGGTGSMGPTGETGVTGSTGGTGSTGVTGNT GPTGSTGVTGSTGVTGSTGPTGSTGVTGSTGPTGSTGVT GSTGVTGNMGPTGSTGVTGNTGSTGTTGATGETGPMGS TGATGTTGPTGETGETGETGGTGSTGPTGNTGATGSTGV TGSTGVTGSTGVTGETGPTGSTGATGNTGPTGETGGTGS TGATGSTGVTGNTGPTGSTGVTGNTGATGETGPTGNTG ATGNTGPTGETGVTGSTGPTGETGVTGSTGPTGNTGATG ETGATGSTGVTGNTGSTGETGPTGSTGPTGSTGATGVTG NTGPTGSTGATGATGSTGPTGSTGTTGNTGVTGDTGPTG ATGVSTTATYAFANNTSGSVISVLLGGTNIPLPNNQNIGP GITVSGGNTVFTVANAGNYYIAYTINLTAGLLVSSRITVN GSPLAGTINSPTVATGSFSATIIASLPAGAAVSLQLFGVVA LATLSTATPGATLTIIRLS
AA 1 đến 34 của BclB (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 7)	MKQNDKLWLDKGIIGPENIGPTFPVLPPIHIPTG
BclB có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 8)	MKQNDKLWLDKGIIGPENIGPTFPVLPPIHIPTGITGATGA TGITGATGPTGTTGATGATGITGVTGATGITGVTGATGIT GVTGATGITGVTGPTGITGATGPTGITGATGPAGITGVTG PTGITGATGPTGTTGVTGPTGDTGLAGATGPTGATGLAG ATGPTGDTGATGPTGATGLAGATGPTGATGLTGATGAT GATGGGAIIPFASGTTPALLVNAVLANTGTLLGFGFSQPG IAPGVGGTLTILPGVVGDYAFVAPRDGIITSLAGFFSATAA LAPLTPVQIQMQIFIAPAASNTFTPVAPPLLLTPALPAIAIG TTATGIQAYNVPVVAGDKILVYVSLTGASPIAAVAGFVS AGLNIV
AA 1 đến 30 của BAS1882	MDEFLSSAALNPGSVGPTLPPMQPFQFRTG

(Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 9)	
BAS1882 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 10)	MDEFLSSAALNPGSVGPTLPPMQPFQFRTGPTGSTGAKG AIGNTEPYWHTGPPGIVLLTYDFKSLIISFAFRILPIS
AA 1 đến 39 của gen 2280 (*B. weihenstephensis* KBAB4) (SEQ ID NO: 11)	MFDKNEIQKINGILQANALNPNLIGPTLPPIPPFTLPTG
Gen 2280 của KBAB4 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 12)	MFDKNEIQKINGILQANALNPNLIGPTLPPIPPFTLPTGPTG VTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTG PTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTG VTGPTGETGPTGGTEGCLCDCCVLPMQSVLQQLIGETVIL GTIADTPNTPPLFFLFTITSVNDFLVTVTDGTTTFVVNISD VTGVGFLPPGPPITLLPPTDVGCECECRERPIRQLLDAFIG STVSLLASNGSIAADFSVEQTGLGIVLGTLPINPTTTVRFAI STCKITAVNITPITM
AA 1 đến 39 của gen 3572 (*B. weihenstephensis* KBAB4) (SEQ ID NO: 13)	MFDKNEMKKTNEVLQANALDPNIIGPTLPPIPPFTLPTG
Gen 3572 của KBAB4 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 14)	MFDKNEMKKTNEVLQANALDPNIIGPTLPPIPPFTLPTGPT GPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGLTGP TGPTGLTGPTGLTGPTGPTGLTGQTGSTGPTGATEGCLCD CCVFPMQEVLRQLVGQTVILATIADAPNVAPRFFLFNITS VNDFLVTVTDPVSNTTFVVNISDVIGVGFSLTVPPLTLLPP ADLGCECDCRERPIRELLDTLIGSTVNLLVSNGSIATGFN VEQTALGIVIGTLPIPINPPPPTLFRFAISTCKITAVDITPTPT AT
AA 1 đến 49 của peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử (*B. cereus* VD200) (SEQ ID NO: 15)	MSRKDKFNRSRMSRKDRFNSPKIKSEISISPDLVGPTFPPIP SFTLPTG
Peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 16)	MSRKDKFNRSRMSRKDRFNSPKIKSEISISPDLVGPTFPPIP SFTLPTGITGPTFNINFRAEKNVAQSFTPPADIQVSYGNIIF NNGGGYSSVTNTFTAPINGIYLFSASIGFNPTLGTTSTLRIT IRKNLVSVASQTGTITTGGTPQLEITTIIDLLASQTIDIQFSA AESGTLTVGSSNFFSGALLP
AA 1 đến 33 của peptit dẫn đầu lớp	MNEEYSILHGPALEPNLIGPTLPSIPPFTFPTG

ngoại bào tử (*B. cereus* VD166) (SEQ ID NO: 17)	
Peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 18)	MNEEYSILHGPALEPNLIGPTLPSIPPFTFPTGPTGITGPTG ATGFTGIGITGPTGVTGPTGIGITGPTGATGPTGIGITGPTG
AA 1 đến 39 của protein giả thuyết IKG_04663 (*B. cereus* VD200) (SEQ ID NO: 19)	MKNRDNNRKQNSLSSNFRIPPELIGPTFPPVPTGFTGIG
Protein giả thuyết IKG_04663 có chiều dài đầy đủ, một phần (SEQ ID NO: 20)	MKNRDNNRKQNSLSSNFRIPPELIGPTFPPVPTGFTGIGIT GPTGPQGPTGPQGPRGLQGPMGEMGPTGPQGVQGIQGS VGPIGATGPEGQQGPQGLRGPQGETGATGPGGVQGLQG PIGPTGATGAQGIQGIQGLQGPIGATGPEGSQGIQGVQGL PGATGPQGIQGAQGIQGTPGPSGNTGATGATGATGQGIT GPTGITGPTGITGPSGGPPGPTGPTGATGPGGGPSGSTGAT GATGNTGATGSTGVTGATGSTGPTGSTGAQGLQGIQGIQ GPIGPTGPEGSQGIQGIPGPTGVTGEQGIQGVQGIQGATG ATGDQGPQGIQGVIGPQGVTGATGDQGPQGIQGVPGPSG ETGPQGVQGIQGPMGDIGPTGPEGPEGLQGPQGIQGVPGP VGATGPEGPQGIQGIQGPVGATGPQGPQGIQGIQGVQGIT GATGVQGATGIQGIQGEIGATGPEGPQGVQGAQGAIGPT GPMGPQGVQGVQGIQGATGAQGVQGPQGIQGIQGPTGA TGDMGATGATGEGTTGPTGVTGPTGVTGPSGGPAGPTG PTGPSGPAGVTGPSGGPPGPTGATGATGVTGDTGATGST GVTGATGETGATGVTGLQGPQGIQGVQGEIGPTGPQGVQ GPQGIQGVTGATGDQGPQGIQGPQGDIGPTGPQGIQGPQ GSQGIQGATGGTGAQGPQGIQGPQGDIGLTGSQGPTGIQ GIQGEIGPTGPEGPEGLQGPQGIQGIQGPVGATGPEGPQGI QGIQGVQGATGPQGPQGIQGIQGVQGITGATGAQGATGI QGIQGEIGATGPEGPQGVQGIQGAIGPTGPMGAQGVQGI QGIQGATGAQGVQGPQGIQGVQGPTGATGETGATGATG EGTTGPTGVTGPTGVTGPSGGPAGPTGPTGPSGPAGVTG PSGGPPGPTGATGATGVTGDTGATGSTGVTGATGATGA TGVTGLQGPQGIQGVQGEIGPTGPQGIQGPQGIQGVTGAT GAQGPQGIQGPQGDIGPTGSQGIQGPQGPQGIQGATGAT GAQGPQGIQGPQGEIGPTGPQGPQGIQGPQGIQGPTG
AA 1 đến 39 của protein hình cánh quạt β YVTN (*B. weihenstephensis* KBAB4) (SEQ ID NO: 21)	MSDKHQMKKISEVLQAHALDPNLIGPPLPPITPFTFPTG

Protein hình cánh quạt β YVTN có chiều dài đầy đủ của KBAB4 (SEQ ID NO: 22)	MSDKHQMKKISEVLQAHALDPNLIGPPLPPITPFTFPTGST GPTGSTGSTGPTGSTGNTGPTGPTGPPVGTNLDTIYVTND ISNNVSAIDGNTNTVLTTIPVGTNPVGVGVNSSTNLIYVV NNGSDNISVINGSTNTVVATIPVGTQPFGVGVNPSTNLIY VANRTSNNVSVIKGGTNTVLTTIPVGTNPVGVGVNSSTN LIYVTNEIPNSVSVIKGGTNTVVATIPVGLFPFGVGVNSLT NLIYVVNNSPHNVSVIDGNTNTVLTTISVGTSPVGVGVNL STNLIYVANEVPNNISVINGNTNTVLTTIPVGTTPFEVGVN SSTNLIYVSNLNSNNVSVINGSANTVIATVPVGSVPRGIG VKP
AA 1 đến 30 của protein giả thuyết bcerkbab4_2363 (*B. weihenstephensis* KBAB4) (SEQ ID NO: 23)	MDEFLSFAALNPGSIGPTLPPVPPFQFPTG
Protein giả thuyết bcerkbab4_2363 có chiều dài đầy đủ của KBAB4 (SEQ ID NO: 24)	MDEFLSFAALNPGSIGPTLPPVPPFQFPTGPTGSTGSTGPT GSTGSTGPTGFNLPAGPASITLTSNETTACVSTQGNNTLFF SGQVLVNGSPTPGVVVSFSFSNPSLAFMVPLAVITNASGN FTAVFLAANGPGTVTVTASLLDSPGTMASVTITIVNCP
AA 1 đến 30 của protein giả thuyết bcerkbab4_2131 (*B. weihenstephensis* KBAB4) (SEQ ID NO: 25)	MDEFLSSTALNPCSIGPTLPPMQPFQFPTG
Protein giả thuyết bcerkbab4_2131 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 26)	MDEFLSSTALNPCSIGPTLPPMQPFQFPTGPTGSTGTTGPT GSIGPTGNTGLTGNTGPTGITGPTGDTG
AA 1 đến 36 của colagen chứa đơn vị lặp lại xoắn ba (*B. weihenstephensis* KBAB4) (SEQ ID NO: 27)	MKERDRQNSLNSNFRISPNLIGPTFPPVPTGFTGIG
Colagen chứa đơn vị lặp lại xoắn ba có chiều dài đầy đủ của KBAB4 (SEQ ID NO: 28)	MKERDRQNSLNSNFRISPNLIGPTFPPVPTGFTGIGITGPTG PQGPTGPQGPRGFQGPMGEMGPTGPQGVQGIQGPAGQM GATGPEGQQGPQGLRGPQGETGATGPQGVQGLQGPIGPT GATGAQGIQGIQGLQGPIGATGPEGPQGIQGVQGVPGAT GSQGIQGAQGIQGPQGPSGNTGATGVTGQGISGPTGITGP TGITGPSGGPPGPTGATGATGPGGGPSGSTGATGATGNT

	GVTGSAGVTGNTGSTGSTGETGAQGLQGIQGVQGPIGPT GPEGPQGIQGIPGPTGVTGEQGIQGVQGIQGITGATGDQG PQGIQGAIGPQGITGATGDQGPQGIQGVPGPTGDTGSQGV QGIQGPMGDIGPTGPEGPEGLQGPQGIQGVPGPAGATGPE GPQGIQGIQGPIGVTGPEGPQGIQGIQGIQGITGATGAQGA TGVQGVQGNIGATGPEGPQGVQGTQGDIGPTGPMGPQG VQGIQGIQGPTGAQGVQGPQGIQGIQGPTGVTGDTGTTG ATGEGTTGATGVTGPSGVTGPSGGPAGPTGPTGPSGPTG LTGPSGGPPGPTGATGVTGGVGDTGATGSTGVTGATGV TGATGATGLQGPQGIQGVQGDIGPTGPQGVQGPQGIQGI TGATGDQGPQGIQGPQGIQGPTGPQGIQGGQGPQGIQGA TGATGAQGPQGIQGIQGVQGPTGPQGPTGIQGVQGEIGPT GPQGVQGLQGPQGPTGDTGPTGPQGPQGIQGPTGATGAT GSQGIQGPTGATGATGSQGIQGPTGATGATGATGATGAT GATGATGVTGVSTTATYSFANNTSGSAISVLLGGTNIPLP NNQNIGPGITVSGGNTVFTVTNAGNYYIAYTINITAALLV SSRITVNGSPLAGTINSPAVATGSFNATIISNLAAGSAISLQ LFGLLAVATLSTTTPGATLTIIRLS
AA 1 đến 39 của protein giả thuyết bmyco0001_21660 (*B. mycoides* 2048) (SEQ ID NO: 29)	VFDKNEIQKINGILQANALNPNLIGPTLPPIPPFTLPTG
Protein giả thuyết bmyco0001_21660 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 30)	VFDKNEIQKINGILQANALNPNLIGPTLPPIPPFTLPTGPTG GTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTG PTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTG GTEGCLCDCCVLPMQSVLQQLIGETVILGTIADTPNTPPL FFLFTITSVNDFLVTVTDGTTTFVVNISDVTGVGFLPPGPP ITLLPPTDVGCECECRERPIRQLLDAFIGSTVSLLASNGSIA ADFSVEQTGLGIVLGTLPINPTTTVRFAISTCKITAVNITPI TM
AA 1 đến 30 của protein giả thuyết bmyc0001_22540 (*B. mycoides* 2048) (SEQ ID NO: 31)	MDEFLYFAALNPGSIGPTLPPVQPFQFPTG
Protein giả thuyết bmyc0001_22540 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 32)	MDEFLYFAALNPGSIGPTLPPVQPFQFPTGPTGSTGATGS TGSTGSTGPTGSTGSTGSTGSTGPTGPTGPTGSTGPTGPTG FNLPAGPASITLTSNETTACVSTQGNNTLFFSGQVLVNGS PTPGVVVSFSFSNPSLAFMVPLAVITNASGNFTAVFLAAN GPGTVTVTASLLDSPGTMASVTITIVNCP
AA 1 đến 21 của protein giả thuyết bmyc0001_21510 (*B. mycoides* 2048) (SEQ ID NO: 33)	MDSKNIGPTFPPLPSINFPTG

Protein giả thuyết bmyc0001_21510 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 34)	MDSKNIGPTFPPLPSINFPTGVTGETGATGETGATGATGE TGATGETGETGATGATGATGATGETGATGATGATGAAG ATGETGATGETGATGETGATGETGATGVTGETGATGET GAAGETGITGVTGPTGETGATGETGATGATGITGATGITG VAGATGETGAAGETGPTGATGAIGAIGATGATGITGVTG ATGETGAAGATGITGVTGATGETGAAGATGITGATGITG VAGATGITGPTGIPGTIPTTNLLYFTFSDGEKLIYTNADGI AQYGTTQILSPSEVSYINLFINGILQPQPFYEVTAGQLTLL DDEPPSQGSSIILQFIIIN
AA 1 đến 22 của protein đơn vị lặp lại xoắn ba của colagen (*B. Thuringiensis* 35646) (SEQ ID NO: 35)	MIGPENIGPTFPILPPIYIPTG
Protein đơn vị lặp lại xoắn ba của colagen có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 36)	MIGPENIGPTFPILPPIYIPTGETGPTGITGATGETGPTGITG PTGITGATGETGSTGITGATGETGSTGITGPIGITGATGET GPIGITGATGETGPTGITGSTGITGLTGVTGLTGETGPIGIT GPTGITGPTGVTGATGPTGGIGPITTTNLLYYTFADGEKLI YTDTDGIPQYGTTNILSPSEVSYINLFVNGILQPQPLYEVS TGKLTLLDTQPPSQGSSIILQFIIIN
AA 1 đến 35 của protein giả thuyết WP_69652 (*B. cereus*) (SEQ ID NO: 43)	MSNNNIPSPFFFNNFNPELIGPTFPPIPPLTLPTG
Protein giả thuyết WP_69652 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 44)	MSNNNIPSPFFFNNFNPELIGPTFPPIPPLTLPTGPTGSTGA TGATGPTGATGPTGATGPTGATGATGSTGATGPTGATGT FSSANASIVTPAPQTVNNLAPIQFTAPVLISKNVTFNGIDT FTIQIPGNYFFIGAVMTSNNQAGPVAVGVGFNGIPVPSLD GANYGTPTGQEVVCFGFSGQIPAGTTINLYNISDKTISIGG ATAAGSSIVAARLSFFRIS
AA 1 đến 41 của peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử WP016117717 (*B. cereus*) (SEQ ID NO: 45)	MFSEKKRKDLIPDNFLSAPALDPNLIGPTFPPIPSFTLPTG
Peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử WP016117717 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 46)	MFSEKKRKDLIPDNFLSAPALDPNLIGPTFPPIPSFTLPTGS TGPTGPTGDTGPTGPTATICIRTDPDNGCSVAEGSGTVAS GFASHAEACNTQAIGDCSHAEGQFATASGTASHAEGFQT TASGFASHTEGSGTTADANFSHTEGINTIVDVLHPGSHIM GKNGTTRSSFSWHLANGLAVGPSLNSAVIEGVTGNLYLD

	GVVISPNAADYAEMFETIDGNLIDVGYFVTLYGEKIRKA NANDDYILGVVSATPAMIADASDLRWHNLFVRDEWGRT QYHEVVVPEKKMAMEE
AA 1 đến 49 của peptit lớp ngoại bào tử WP002105192 (*B. cereus*) (SEQ ID NO: 47)	MTRKDKFNRSRISRRDRFNSPKIKSEILISPDLVGPTFPPIPS FTLPTG
Peptit lớp ngoại bào tử WP002105192 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 48)	MTRKDKFNRSRISRRDRFNSPKIKSEILISPDLVGPTFPPIPS FTLPTGVTGPTGNTGPTGITGPTGDTGPTGDTGPTGITGP
AA 1 đến 38 của protein giả thuyết WP87353 (*B. cereus*) (SEQ ID NO: 49)	MSRKDRFNSPKIKSEISISPDLVGPTFPPIPSFTLPTG
Protein giả thuyết WP87353 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 50)	MSRKDRFNSPKIKSEISISPDLVGPTFPPIPSFTLPTGITGPT GNTGPTGDTGPTGPTFNINFRAEKNGAQSFTPPADIQVSY GNIIFNNGGGYSSVTNTFTAPINGIYLFSANIGFNPTLGTTS TLRITIRKNLVSVASQTIDIQFSAAESGTLTVGSSNFF
AA 1 đến 39 của peptit lớp ngoại bào tử 02112369 (*B. cereus*) (SEQ ID NO: 51)	MKERDNKGKQHSLNSNFRIPPELIGPTFPPVPTGFTGIG
Peptit lớp ngoại bào tử 02112369 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 52)	MKERDNKGKQHSLNSNFRIPPELIGPTFPPVPTGFTGIGIT GPTGPQGPTGPQGPRGFQGPMGEMGPTGPQGVQGIQGP AGQMGATGPEGQQGPEGLRGPVGATGATGLQGVQGIQG PIGSTGATGAQGIQGIQGLQGPIGATGPEGPQGIQGVQGL PGATGPQGVQGVQGVIGPQGPSGSTGGTGATGQGVTGP TGITGSTGVTGPSGGPPGPTGPTGATGPGGGPSGSTGVTG STGNTGATGSPGVTGATGPTGSTGATGIQGSQGIQGIQGI QGPLGPTGPEGPQGIQGIPGPTGITGEQGIQGVQGIQGITG ATGDQGT
AA 1 đến 39 của protein lớp ngoại bào tử WP016099770 (*B. cereus*) (SEQ ID NO: 53)	MRERDNKRQQHSLNPNFRISPELIGPTFPPVPTGFTGIG
Protein lớp ngoại bào tử WP016099770 có	MRERDNKRQQHSLNPNFRISPELIGPTFPPVPTGFTGIGIT GPTGPQGPTGPQGPRGFQGPMGEMGPTGPQGVQGIQGP VGPIGATGPEGQQGPQGLRGPQGETGATGPGGVQGLQG

chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 54)	PIGPTGATGAQGVQGIQGLQGPIGATGPEGPQGIQGVQGL PGATGSQGIQGVQGIQGPQGPSGNTGATGATGQGITGPT GITGPTGITGPSGGPPGPTGPTGATGPGGGPSGSTGATGA TGNTGATGNTGITGATGSTGPTGSTGAQGLQGIQGIQGPI GPTGPEGPQGIQGIPGPTGVTGEQGIQGVQGIQGITGATG DQGPQGIQGVIGAQGVTGATGDQGPQGIQGVPGPSGATG PQGVQGIQGPMGDIGPTGPEGPEGLQGPQGIQGVPGPVG ATGPEGPQGIQGIQGVQGATGPQGPQGIQGIQGVQGITGA TG
AA 1 đến 36 của protein giả thuyết YP006612525 (*B. Thuringiensis*) (SEQ ID NO: 55)	MKNRDNKGKQQSNFRIPPELIGPTFPPVPTGFTGIG
Protein giả thuyết YP006612525 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 56)	MKNRDNKGKQQSNFRIPPELIGPTFPPVPTGFTGIGITGPT GPQGPTGPQGPRGFQGPMGEMGPTGPQGVQGIQGPVGPI GATGPEGQQGAQGLRGPQGETGATGPQGVQGLQGPIGP TGATGAQGIQGIQGLQGPIGATGPEGPQGIQGVQGLPGAT GPQGIQGAQGIQGTQGPSGNTGATGATGQGLTGPTGITG PTGITGPSGGPPGPTGPTGATGPGGGPSGSTGATGATGDT GATGSTGVTGATGAQGPQGVQGIQGPTGATGATGATGP QGIQGPQGIQGPTGATGATGSQGPTGNTGPTGSQGIQGPT GPTGAGATGATGATGATGVSTTATYAFANNTSGSIISVLL GGTNIPLPNNQNIGPGITVSGGNTVFTVANAGNYYIAYTI NLTAGLLVSSRITVNGSPLAGTINSPAVAAGSFSATIIANL PAGAAVSLQLFGVIALATLSTATPGATLTIIRLS
AA 1 đến 136 của protein giả thuyết TIGR03720 (*B. mycoides*) (SEQ ID NO: 57)**	MKFSKKSTVDSSIVGKRVVSKVNILRFYDARSCQDKDVD GFVDVGELFTIFRKLNMEGSVQFKAHNSIGKTYYITINEV YVFVTVLLQYSTLIGGSYVFDKNEIQKINGILQANALNPN LIGPTLPPIPPFTLPTG
Protein giả thuyết TIGR03720 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 58)**	MKFSKKSTVDSSIVGKRVVSKVNILRFYDARSCQDKDVD GFVDVGELFTIFRKLNMEGSVQFKAHNSIGKTYYITINEV YVFVTVLLQYSTLIGGSYVFDKNEIQKINGILQANALNPN LIGPTLPPIPPFTLPTGPTGGTGPTGVTGPTGVTGPTGVTG PTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTGVTGPTG VTGPTGVTGPTGVTGPTGGTEGCLCDCCVLPMQSVLQQ LIGETVILGTIADTPNTPPLFFLFTITSVNDFLVTVTDGTTT FVVNISDVTGVGFLPPGPPITLLPPTDVGCECECRERPIRQ LLDAFIGSTVSLLASNGSIAADFSVEQTGLGIVLGTLPINP TTTVRFAISTCKITAVNITPITM
AA 1 đến 196 của BclA	MSNNNYSNGLNPDESLSASAFDPNLVGPTLPPIPPFTLPTG PTGPFTTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGDTGTTGPT

(Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 59)*	GPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGFTPTGPTGPTGPTGDTGTTGPTGPTGPTGPTGPTGDTGTTGPTGPTGPTGPTGPTGPTGPTFTGPTGPTGPTGATGLTGPTGPTGPSGLG
Met + AA 20 đến 35 của BclA (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 60)	MAFDPNLVGPTLPPIPP
Met + AA 12 đến 27 của BetA/BAS3290 (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 61)	MALEPNLIGPTLPPIPP
Met + AA 18 đến 33 của gen 2280 (*B. weihenstephensis* KBAB4) (SEQ ID NO: 62)	MALNPNLIGPTLPPIPP
Met + AA 18 đến 33 của gen 3572 (*B. weihenstephensis* KBAB4) (SEQ ID NO: 63)	MALDPNIIGPTLPPIPP
Met + AA 12 đến 27 của peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử (*B. cereus* VD166) (SEQ ID NO: 64)	MALEPNLIGPTLPSIPP
Met + AA 18 đến 33 của protein hình cánh quạt β YVTN (*B. weihenstephensis* KBAB4) (SEQ ID NO: 65)	MALDPNLIGPPLPPITP
Met + AA 9 đến 24 của protein giả thuyết bcerkbab4_2363 (*B.*	MALNPGSIGPTLPPVPP

weihenstephensis KBAB4) (SEQ ID NO: 66)	
Met + AA 9 đến 24 của protein giả thuyết bcerkbab4_2131 (*B. weihenstephensis* KBAB4) (SEQ ID NO: 67)	MALNPCSIGPTLPPMQP
Met + AA 9 đến 24 của protein giả thuyết bmyc0001_22540 (*B. mycoides* 2048) (SEQ ID NO: 68)	MALNPGSIGPTLPPVQP
Met + AA 9 đến 24 của BAS1882 (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 69)	MALNPGSVGPTLPPMQP
Met + AA 20 đến 35 của peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử WP016117717 (*B. cereus*) (SEQ ID NO: 70)	MALDPNLIGPTFPPIPS
InhA có chiều dài đầy đủ (*B. mycoides*) (SEQ ID NO: 71)	MKRKTPFKVFSSLAITTMLGCTFALGTSVAYAETTSQSK GSISTTPIDNNLIQEERLAEALKERGTIDQSASKEETQKAV EQYIEKKKGDQPNKEILPDDPAKEASDFVKKVKEKKMEE KEKVKKSVENASSEQTPSQNKKQLNGKVPTSPAKQAPY NGAVRTDKVLVLLVEFSDYKHNNIEQSPGYMYANDFSR EHYQKMLFGNEPFTLFDGSKVKTFKQYYEEQSGGSYTTD GYVTEWLTVPGKAADYGADGKTGHDNKGPKGARDLVK EALKAAAEKGLDLSQFDQFDRYDTNGDGNQNEPDGVID HLMVIHAGVGQEAGGGKLGDDAIWSHRSKLAQDPVAIE GTKSKVSYWDGKVAAHDYTIEPEDGAVGVFAHEFGHDL GLPDEYDTNYTGAGSPVEAWSLMSGGSWTGRIAGTEPTS FSPQNKDFLQKNMDGNWAKIVEVDYDKIKRGVGFPTYI DQSVTKSNRPGLVRVNLPEKSVETIKTGFGKHAYYSTRG DDMHTTLETPLFDLTKAANAKFDYKANYELEAECDFIEV HAVTEDGTKTLIDKLGDKVVKGDQDTTEGKWIDKSYDL SQFKGKKVKLQFDYITDPALTYKGFAMDNVNVTVDGKV VFSDDAEGQAKMKLNGFVVSDGTEKKPHYYYLEWRNY AGSDEGLKVGRGPVYNTGLVVWYADDSFKDNWVGRHP

	GEGFLGVVDSHPEAVVGNLNGKPVYGNTGLQIADAAFS LDQTPAWNVNSFTRGQFNYPGLPGVATFDDSKVYSNTQI PDAGRKVPQLGLKFQVVGQADDKSAGAIWIRR
BAS1141 có chiều dài đầy đủ (ExsY) (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 72)	MSCNENKHHGSSHCVVDVVKFINELQDCSTTTCGSGCEI PFLGAHNTASVANTRPFILYTKAGAPFEAFAPSANLTSCR SPIFRVESVDDDSCAVLRVLSVVLGDSSPVPPTDDPICTFL AVPNARLVSTSTCITVDLSCFCAIQCLRDVTI
BAS1144 có chiều dài đầy đủ (BxpB/ExsFA) (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 73)	MFSSDCEFTKIDCEAKPASTLPAFGFAFNASAPQFASLFTP LLLPSVSPNPNITVPVINDTVSVGDGIRILRAGIYQISYTLTI SLDNSPVAPEAGRFFLSLGTPANIIPGSGTAVRSNVIGTGE VDVSSGVILINLNPGDLIRIVPVELIGTVDIRAAALTVAQIS
BAS1145 có chiều dài đầy đủ (CotY) (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 74)	MSCNCNEDHHHHDCDFNCVSNVVRFIHELQECATTTCG SGCEVPFLGAHNSASVANTRPFILYTKAGAPFEAFAPSAN LTSCRSPIFRVESIDDDDCAVLRVLSVVLGDTSPVPPTDDP ICTFLAVPNARLISTNTCLTVDLSCFCAIQCLRDVTI
BAS1140 có chiều dài đầy đủ (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 75)	MEVGGTSVKNKNKSSTVGKPLLYIAQVSLELAAPKTKRII LTNFENEDRKEESNRNENVVSSAVEEVIEQEEQQQEQEQ EQEEQVEEKTEEEEQVQEQQEPVRTVPYNKSFKDMNNE EKIHFLLNRPHYIPKVRCRIKTATISYVGSIISYRNGIVAIM PPNSMRDIRLSIEEIKSIDMAGF
ExsFB có chiều dài đầy đủ (*B. anthracis* H9401) (SEQ ID NO: 76)	MKERSENMRSSSRKLTNFNCRAQAPSTLPALGFAFNATS PQFATLFTPLLLPSTGPNPNITVPVINDTISTGTGIRIQVAGI YQISYTLTISLDNVPVTPEAARFFLTLNSSTNIIAGSGTAV RSNIIGTGEVDVSSGVILINLNPGDLIQIVPVEVIGTVDIRS AALTVAQIR
InhA1 có chiều dài đầy đủ (*B. Thuringiensis* HD74) (SEQ ID NO: 77)	MSKKPFKVLSSIALTAVLGLSFGAGTQSAYAETPVNKTA TSPVDDHLIPEERLADALKKRGVIDSKASETETKKAVEK YVENKKGENPGKEAANGDQLTKDASDFLKKVKDAKAD TKEKLNQPATGTPAATGPVKGGLNGKVPTSPAKQKDYN GEVRKDKVLVLLVEYADFKHNNIDKEPGYMYSNDFNKE HYEKMLFGNEPFTLDDGSKIETFKQYYEEQSGGSYTVDG TVTKWLTVPGKAADYGADAPGGGHDNKGPKGPRDLVK DALKAAVDSGIDLSEFDQFDQYDVNGDGNKNQPDGLID HLMIIHAGVGQEAGGGKLGDDAIWSHRWTVGPKPFPIEG TQAKVPYWGGKMAAFDYTIEPEDGAVGVFAHEYGHDL GLPDEYDTQYSGQGEPIEAWSIMSGGSWAGKIAGTTPTS FSPQNKEFFQKTIGGNWANIVEVDYEKLNKGIGLATYLD QSVTKSARPGMIRVNLPDKDVKTIEPAFGKQYYYSTKGD DLHTKMETPLFDLTNATSAKFDFKSLYEIEAGYDFLEVH

	AVTEDGKQTLIERLGEKANSGNADSTNGKWIDKSYDLSQ FKGKKVKLTFDYITDGGLALNGFALDNASLTVDGKVVFS DDAEGTPQLKLDGFVVSNGTEKKKHNYYVEWRNYAGA DNALKFARGPVFNTGMVVWYADSAYTDNWVGVHPGH GFLGVVDSHPEAIVGTLNGKPTVKSSTRFQIADAAFSFDK TPAWKVVSPTRGTFTYDGLAGVPKFDDSKTYINQQIPDA GRILPKLGLKFEVVGQADDNSAGAVRLYR
ExsJ có chiều dài đầy đủ (*B. cereus* ATCC 10876) (SEQ ID NO: 78)	MKHNDCFDHNNCNPIVFSADCCKNPQSVPITREQLSQLIT LLNSLVSAISAFFANPSNANRLVLLDLFNQFLIFLNSLLPS PEVNFLKQLTQSIIVLLQSPAPNLGQLSTLLQQFYSALAQF FFALDLIPISCNSNVDSATLQLLFNLLIQLINATPGATGPTG PTGPTGPTGPAGTGAGPTGATGATGATGPTGATGPAGTG GATGATGATGVTGATGATGATGPTGPTGATGPTGATGA TGATGPTGATGPTGATGLTGATGAAGGGAIIPFASGTTPS ALVNALVANTGTLLGFGFSQPGVALTGGTSITLALGVGD YAFVAPRAGTITSLAGFFSATAALAPISPVQVQIQILTAPA ASNTFTVQGAPLLLTPAFAAIAIGSTASGIIAEAIPVAAGD KILLYVSLTAASPIAAVAGFVSAGINIV
ExsH có chiều dài đầy đủ (*B. cereus*) (SEQ ID NO: 79)	MKHNDCFGHNNCNNPIVFTPDCCNNPQTVPITSEQLGRLI TLLNSLIAAIAAFFANPSDANRLALLNLFTQLLNLLNELA PSPEGNFLKQLIQSIINLLQSPNPNLGQLLSLLQQFYSALA PFFFSLILDPASLQLLLNLLAQLIGVTPGGGATGPTGPTGP GGGATGPTGPTGPGGGATGPTGATGPTGDTGLAGATGA TGPTGDTGVAGPAGPTGPTGDTGLAGATGPTGPTGDTGL AGATGPTGATGLAGATGPTGATGLTGATGATGAAGGGA IIPFASGTTPAALVNALIANTGTLLGFGFSQPGIGLAGGTSI TLALGVGDYAFVAPRDGVITSLAGFFSATAALSPLSPVQV QIQILTAPAASNTFTVQGAPLLLTPAFAAIAIGSTASGIIPE AIPVVAGDKILLYVSLTAASPIAAVAGFVSAGINIV
YjcA có chiều dài đầy đủ (*B. anthracis* Ames) (SEQ ID NO: 80)	MLFTSWLLFFIFALAAFRLTRLIVYDKITGFLRRPFIDELEI TEPDGSVSTFTKVKGKGLRKWIGELLSCYWCTGVWVSA FLLVLYNWIPIVAEPLLALLAIAGAAAIIETITGYFMGE
YjcB có chiều dài đầy đủ (*B. anthracis*) (SEQ ID NO: 81)	MFAVSNNPRQNSYDLQQWYHMQQQHQAQQQAYQEQL QQQGFVKKKGCNCGKKKSTIKHYEE
BclC có chiều dài đầy đủ (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 82)	MSRYDDSQNKFSKPCFPSSAGRIPNTPSIPVTKAQLRTFR AIIIDLTKIIPKLFANPSPQNIEDLIDTLNLLSKFICSLDAASS LKAQGLAIIKNLITILKNPTFVASAVFIELQNLINYLLSITK LFRIDPCTLQELLKLIAALQTALVNSASFIQGPTGPTGPTG PTGPAGATGATGPQGVQGPAGATGATGPQGVQGPAGAT GATGPQGAQGPAGATGATGPQGAQGPAGATGATGPQGI

	QGPAGATGATGPQGVQGPTGATGIGVTGPTGPSGGPAG ATGPQGPQGNTGATGPQGIQGPAGATGATGPQGAQGPA GATGATGPQGVQGPTGATGIGVTGPTGPSGPSFPVATIVV TNNIQQTVLQFNNFIFNTAINVNNIIFNGTDTVTVINAGIY VISVSISTTAPGCAPLGVGISINGAVATDNFSSNLIGDSLSF TTIETLTAGANISVQSTLNEITIPATGNTNIRLTVFRIA
Axit phosphataza có chiều dài đầy đủ (*Bacillus thuringiensis* serovar konkukian str. 97-27) (SEQ ID NO: 83)	MKMKRGITTLLSVAVLSTSLVACSGITEKTVAKEEKVKL TDQQLMADLWYQTAGEMKALYYQGYNIGQLKLDAVLA KGTEKKPAIVLDLDETVLDNSPHQAMSVKTGKGYPYKW DDWINKAEAEALPGAIDFLKYTESKGVDIYYISNRKTNQ LDATIKNLERVGAPQATKEHILLQDPKEKGKEKRRELVS QTHDIVLFFGDNLSDFTGFDGKSVKDRNQAVADSKAQF GEKFIIFPNPMYGDWEGALYDYDFKKSDAEKDKIRRDNL KSFDTK
InhA2 có chiều dài đầy đủ (*B. Thuringiensis* HD74) (SEQ ID NO: 84)	MKKKKKLKPLAVLTTAAVLSSTFAFGGHAAYAETPTSSL PIDEHLIPEERLAEALKQRGVIDQSASQAETSKAVEKYVE KKKGENPGKEILTGDSLTQEASDFMKKVKDAKMRENEQ AQQPEVGPVAGQGAALNPGKLNGKVPTTSAKQEEYNGA VRKDKVLVLLVEFSDFKHNNIDQEPGYMYSKDFNREHY QKMLFGDEPFTLFDGSKINTFKQYYEEQSGGSYTVDGTV TEWLTVPGKASDYGADAGTGHDNKGPLGPKDLVKEAL KAAVAKGINLADFDQYDQYDQNGNGNKNEPDGIIDHLM VVHAGVGQEAGGGKLKDDAIWSHRSKLGSKPYAIDGTK SSVSNWGGKMAAYDYTIEPEDGAVGVFAHEYGHDLGLP DEYDTKYSGQGEPVESWSIMSGGSWAGKIAGTEPTSFSP QNKEFFQKNMKGNWANILEVDYDKLSKGIGVATYVDQS TTKSKRPGIVRVNLPDKDIKNIESAFGKKFYYSTKGNDIH TTLETPVFDLTNAKDAKFDYKAFYELEAKYDFLDVYAIA EDGTKTRIDRMGEKDIKGGADTTDGKWVDKSYDLSQFK GKKVKLQFEYLTDIAVAYKGFALDNAALTVDGKVVFSD DAEGQPAMTLKGFTVSNGFEQKKHNYYVEWRNYAGSD TALQYARGPVFNTGMVVWYADQSFTDNWVGVHPGEGF LGVVDSHPEAIVGTLNGQPTVKSSTRYQIADAAFSFDQTP AWKVNSPTRGIFDYKGLPGVAKFDDSKQYINSVIPDAGR KLPKLGLKFEVVGQAEDKSAGAVWLHR

AA = các axit amin

BclA của chủng Sterne *B. anthracis* có độ đồng nhất trình tự 100% với BclA của *B. Thuringiensis*. Vì vậy, các SEQ ID NO: 1, 2, và 59 cũng lần lượt là các axit amin 1 đến 41 của BclA của *B. Thuringiensis*, BclA có chiều dài đầy đủ của *B. Thuringiensis*, và các axit amin 1 đến 196 của BclA của *B. Thuringiensis*. Cũng

vậy, SEQ ID NO: 60 cũng là gốc metionin cộng với các axit amin 20 đến 35 của BclA của *B. Thuringiensis*.

** Protein giả thuyết TIGR03720 của *B. mycoides* có độ đồng nhất trình tự 100% với protein giả thuyết WP003189234 của *B. mycoides*. Vì vậy, các SEQ ID NO: 57 và 58 cũng lần lượt là các axit amin 1 đến 136 của protein giả thuyết WP003189234 của *B. mycoides* và protein giả thuyết WP003189234 có chiều dài đầy đủ của *B. mycoides*.

Bacillus là một chi của vi khuẩn hình que. Họ vi khuẩn *Bacillus cereus* bao gồm loài *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoides*, *Bacillus samanii, Bacillus gaemokensis*, và *Bacillus weihenstephensis*. Trong các điều kiện môi trường khắc nghiệt, họ vi khuẩn *Bacillus cereus* trải qua quá trình hình thành bào tử và tạo thành các nội bào tử hình trái xoan mà có thể ở trạng thái im lìm trong khoảng thời gian kéo dài. Lớp ngoài cùng của các nội bào tử được gọi là lớp ngoại bào tử và bao gồm lớp đáy bao quanh bởi bề mặt tuyết bên ngoài có các phần nhô ra giống như lông. Các sợi trên bề mặt tuyết giống như lông chủ yếu được tạo ra bằng glycoprotein BclA giống colagen, trong khi lớp đáy bao gồm một số protein khác nhau. Một protein liên quan đến colagen khác, đó là BclB, cũng có mặt trong lớp ngoại bào tử và bộc lộ trên các nội bào tử của các thành viên họ *Bacillus cereus*. BclA, đây là cấu tử chính của lớp tuyết bề mặt, đã được thể hiện là có gắn kết vào lớp ngoại bào tử có đầu tận cùng amin của nó (đầu tận cùng N) nằm ở lớp đáy và đầu tận cùng carboxy của nó (đầu tận cùng C) kéo dài ra ngoài từ bào tử.

Trước đó, đã khám phá ra rằng các trình tự nhất định từ các vùng đầu tận cùng N của BclA và BclB có thể được sử dụng để hướng đích peptit hoặc protein đến lớp ngoại bào tử của nội bào tử của *Bacillus cereus* (xem các đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2010/0233124 và 2011/0281316, và Thompson *et al.*, *Targeting of BclA and BclB proteins to the Bacillus anthracis spore surface,* Molecular Microbiology 70(2):421 đến 34 (2008), toàn bộ nội dung của mỗi tài liệu trong số các tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Cũng đã phát hiện ra rằng protein BetA/BAS3290 của *Bacillus anthracis* được định vị vào lớp ngoại bào tử.

Cụ thể là, đã phát hiện được rằng các axit amin 20 đến 35 của BclA từ chủng Sterne *Bacillus anthracis* là đủ để hướng đích đến lớp ngoại bào tử. Việc xếp thẳng hàng trình tự của các axit amin 1 đến 41 của BclA (SEQ ID NO: 1) với các vùng đầu tận cùng N tương ứng của một vài protein lớp ngoại bào tử họ *Bacillus cereus* khác và các protein họ *Bacillus cereus* có các trình tự liên quan được thể hiện ở hình 1. Như có thể nhìn thấy được từ hình 1, có vùng có độ tương đồng cao trong số tất cả các protein trong vùng tương ứng với các axit amin 20 đến 41 của BclA. Tuy nhiên, trong những trình tự này, các axit amin tương ứng với các axit amin 36–41 của BclA chứa cấu trúc bậc hai và không cần thiết cho việc định vị protein dung hợp vào lớp ngoại bào tử. Vùng trình tự hướng đích được bảo toàn của BclA (các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1) được thể hiện dưới dạng in đậm ở hình 1 và tương ứng với trình tự hướng đích tối thiểu cần thiết cho việc định vị vào lớp ngoại bào tử. Vùng được bảo toàn ở mức cao hơn trải dài qua các axit amin 25 đến 35 của BclA trong trình tự hướng đích được gạch dưới trong các trình tự ở hình 1, và là trình tự nhận biết của ExsFA/BxpB/ExsFB và các chất tương đồng, các chất này dẫn dắt và lắp ráp các protein được mô tả trên bề mặt của lớp ngoại bào tử. Trình tự axit amin của các SEQ ID NO 3, 5, và 7 ở hình 1 lần lượt là các axit amin 1 đến 33 của BetA/BAS3290 của chủng Sterne *Bacillus anthracis*, metionin, sau đó là các axit amin 2 đến 43 của BAS4623 của chủng Sterne *Bacillus anthracis*, và các axit amin 1 đến 34 của BclB của chủng Sterne *Bacillus anthracis*. (Đối với BAS4623, đã phát hiện ra rằng việc thay thế valin có mặt ở vị trí 1 ở protein nguyên thể bằng metionin tạo ra tình trạng biểu hiện tốt hơn). Như có thể nhìn thấy được từ hình 1, mỗi trình tự trong các trình tự này chứa vùng được bảo toàn tương ứng với các axit amin 20 đến 35 của BclA (SEQ ID NO: 1; được thể hiện dưới dạng in đậm), và vùng được bảo toàn ở mức cao hơn tương ứng với các axit amin 20 đến 35 của BclA (được gạch dưới).

Các protein bổ sung từ các thành viên họ *Bacillus cereus* cũng chứa vùng hướng đích được bảo toàn. Cụ thể là, ở hình 1, SEQ ID NO: 9 là các axit amin 1 đến 30 của BAS1882 của chủng Sterne *Bacillus anthracis*, SEQ ID NO: 11 là các axit amin 1 đến 39 của sản phẩm gen KBAB4 2280 của *Bacillus weihenstephensis*, SEQ ID NO: 13 là các axit amin 1 đến 39 của sản phẩm gen 3572 KBAB4 của

Bacillus weihenstephensis, SEQ ID NO: 15 là các axit amin 1 đến 49 của peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử VD200 của *Bacillus cereus*, SEQ ID NO: 17 là các axit amin 1 đến 33 của peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử VD166 của *Bacillus cereus*, SEQ ID NO: 19 là các axit amin 1 đến 39 của protein giả thuyết IKG_04663 của VD200 *Bacillus cereus*, SEQ ID NO: 21 là các axit amin 1 đến 39 của protein hình cánh quạt β YVTN của KBAB4 *Bacillus weihenstephensis*, SEQ ID NO: 23 là các axit amin 1 đến 30 của protein giả thuyết bcerkbab4_2363 của KBAB4 *Bacillus weihenstephensis*, SEQ ID NO: 25 là các axit amin 1 đến 30 của protein giả thuyết bcerkbab4_2131 của KBAB4 *Bacillus weihenstephensis*, SEQ ID NO: 27 là các axit amin 1 đến 36 của colagen chứa đơn vị lặp lại xoắn ba của KBAB4 *Bacillus weihenstephensis*, SEQ ID NO: 29 là các axit amin 1 đến 39 của protein giả thuyết bmyco0001_21660 của chủng 2048 *Bacillus mycoides*, SEQ ID NO: 31 là các axit amin 1 đến 30 của protein giả thuyết bmyc0001_22540 của chủng 2048 *Bacillus mycoides*, SEQ ID NO: 33 là các axit amin 1 đến 21 của protein giả thuyết bmyc0001_21510 của chủng 2048 *Bacillus mycoides*, SEQ ID NO: 35 là các axit amin 1 đến 22 của protein đơn vị lặp lại xoắn ba của colagen của chủng 35646 *Bacillus thuringiensis*, SEQ ID NO: 43 là các axit amin 1 đến 35 của protein giả thuyết WP_69652 của *Bacillus cereus*, SEQ ID NO: 45 là các axit amin 1 đến 41 của peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử WP016117717 của *Bacillus cereus*, SEQ ID NO: 47 là các axit amin 1 đến 49 của peptit lớp ngoại bào tử WP002105192 của *Bacillus cereus*, SEQ ID NO: 49 là các axit amin 1 đến 38 của protein giả thuyết WP87353 của *Bacillus cereus*, SEQ ID NO: 51 là các axit amin 1 đến 39 của peptit lớp ngoại bào tử 02112369 của *Bacillus cereus*, SEQ ID NO: 53 là các axit amin 1 đến 39 của protein lớp ngoại bào tử WP016099770 của *Bacillus cereus*, SEQ ID NO: 55 là các axit amin 1 đến 36 của protein giả thuyết YP006612525 của *Bacillus thuringiensis*, và SEQ ID NO: 57 là các axit amin 1 đến 136 của protein giả thuyết TIGR03720 của *Bacillus mycoides*. Như được thể hiện tại hình 1, mỗi vùng trong số các vùng đầu tận cùng N của các protein này chứa vùng mà được bảo toàn với các axit amin 20 đến 35 của BclA (SEQ ID NO: 1), và vùng được bảo toàn ở mức cao hơn tương ứng với các axit amin 25 đến 35 của BclA.

Trong protein dung hợp theo sáng chế, phần bất kỳ của BclA mà bao gồm các axit amin 20 đến 35 có thể được sử dụng làm trình tự hướng đích theo sáng chế này. Ngoài ra, các protein lớp ngoại bào tử có chiều dài đầy đủ hoặc các đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể được sử dụng để hướng đích protein dung hợp đến lớp ngoại bào tử. Vì vậy, có BclA có chiều dài đầy đủ hoặc đoạn của BclA mà bao gồm các axit amin 20 đến 35 có thể được sử dụng để hướng đích đến lớp ngoại bào tử. Ví dụ, BclA có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 2) hoặc đoạn cỡ vừa của BclA mà thiếu đầu tận cùng carboxy như SEQ ID NO: 59 (các axit amin 1 đến 196 của BclA) có thể được sử dụng để hướng đích protein dung hợp đến lớp ngoại bào tử. Các đoạn cỡ vừa như đoạn của SEQ ID NO: 59 có cấu trúc bậc hai kém hơn BclA có chiều dài đầy đủ và được phát hiện thấy là thích hợp cho mục đích sử dụng làm trình tự hướng đích. Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các phần ngắn hơn nhiều của BclA mà bao gồm các axit amin 20 đến 35, như SEQ ID NO: 1 (các axit amin 1 đến 41 của BclA), các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1, các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, hoặc SEQ ID NO: 60 (gốc metionin được liên kết với các axit amin 20 đến 35 của BclA). Các đoạn thậm chí ngắn hơn của BclA mà bao gồm chỉ một số axit amin trong số các axit amin 20 đến 35 cũng thể hiện khả năng hướng đích protein dung hợp đến lớp ngoại bào tử. Ví dụ, trình tự hướng đích có thể bao gồm các axit amin 22 đến 31 của SEQ ID NO: 1, các axit amin 22 đến 33 của SEQ ID NO: 1, hoặc các axit amin 20 đến 31 của SEQ ID NO: 1.

Theo cách khác, phần bất kỳ của BetA/BAS3290, BAS4623, BclB, BAS1882, sản phẩm gen 2280 KBAB4, sản phẩm gen 3572 KBAB4, peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử VD200 của *B. cereus*, peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử VD166 của *B. cereus*, protein giả thuyết IKG_04663 của VD200 *B. cereus*, protein hình cánh quạt β YVTN của KBAB4 *B. weihenstephensis*, protein giả thuyết bcerkbab4_2363 của KBAB4 *B. weihenstephensis*, protein giả thuyết bcerkbab4_2131 của KBAB4 *B. weihenstephensis*, colagen chứa đơn vị lặp lại xoắn ba của KBAB4 *B. weihenstephensis*, protein giả thuyết bmyco0001_21660 của chủng 2048 *B. mycoides*, protein giả thuyết bmyc0001_22540 của chủng 2048 *B. mycoides*, protein giả thuyết bmyc0001_21510 của chủng 2048 *B. mycoides*, protein đơn vị lặp lại xoắn ba của colagen của chủng 35646 *B. Thuringiensis*, protein giả thuyết

WP_69652 của *B. cereus*, peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử WP016117717 của *B. cereus*, peptit lớp ngoại bào tử WP002105192 của *B. cereus*, protein giả thuyết WP87353 của *B. cereus*, peptit lớp ngoại bào tử 02112369 của *B. cereus*, protein lớp ngoại bào tử WP016099770 của *B. cereus*, protein giả thuyết YP006612525 của *B. Thuringiensis*, hoặc protein giả thuyết TIGR03720 của *B. mycoides* mà bao gồm các axit amin tương ứng với các axit amin 20 đến 35 của BclA có thể làm trình tự hướng đích. Như có thể nhìn thấy được từ hình 1, các axit amin 12 đến 27 của BetA/BAS3290, các axit amin 23 đến 38 của BAS4623, các axit amin 13 đến 28 của BclB, các axit amin 9 đến 24 của BAS1882, các axit amin 18 đến 33 của sản phẩm gen 2280 KBAB4, các axit amin 18 đến 33 của sản phẩm gen 3572 KBAB4, các axit amin 28 đến 43 của peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử VD200 của *B. cereus*, các axit amin 12 đến 27 của peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử VD166 của *B. cereus*, các axit amin 18 đến 33 của protein giả thuyết IKG_04663 của VD200 *B. cereus*, các axit amin 18 đến 33 protein hình cánh quạt β YVTN của KBAB4 *B. weihenstephensis*, các axit amin 9 đến 24 của protein giả thuyết bcerkbab4_2363 của KBAB4 *B. weihenstephensis*, các axit amin 9 đến 24 của protein giả thuyết bcerkbab4_2131 của KBAB4 *B. weihenstephensis*, các axit amin 15 đến 30 của colagen chứa đơn vị lặp lại xoắn ba của KBAB4 *B. weihenstephensis*, các axit amin 18 đến 33 của protein giả thuyết bmyco0001_21660 của chủng 2048 *B. mycoides*, các axit amin 9 đến 24 của protein giả thuyết bmyc0001_22540 của chủng 2048 *B. mycoides*, các axit amin 1 đến 15 của protein giả thuyết bmyc0001_21510 của chủng 2048 *B. mycoides*, các axit amin 1 đến 16 của protein đơn vị lặp lại xoắn ba của colagen của chủng 35646 *B. Thuringiensis*, các axit amin 14 đến 29 của protein giả thuyết WP_69652 của *B. cereus*, các axit amin 20 đến 35 của peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử WP016117717 của *B. cereus*, các axit amin 28 đến 43 của peptit lớp ngoại bào tử WP002105192 của *B. cereus*, các axit amin 17 đến 32 của protein giả thuyết WP87353 của *B. cereus*, các axit amin 18 đến 33 của peptit lớp ngoại bào tử 02112369 của *B. cereus*, các axit amin 18 đến 33 của protein lớp ngoại bào tử WP016099770 của *B. cereus*, các axit amin 15 đến 30 của protein giả thuyết YP006612525 của *B. Thuringiensis*, và các axit amin 115 đến 130 của protein giả thuyết TIGR03720 của *B. mycoides* tương ứng với các axit amin 20 đến 35 của

BclA. Vì vậy, phần bất kỳ của các protein này mà bao gồm các axit amin tương ứng được liệt kê trên đây có thể làm trình tự hướng đích.

Ngoài ra, trình tự axit amin bất kỳ bao gồm các axit amin 20 đến 35 của BclA, hoặc axit amin bất kỳ trong số các axit amin tương ứng được liệt kê trên đây có thể làm trình tự hướng đích.

Vì vậy, trình tự hướng đích có thể bao gồm các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1, các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 60, các axit amin 22 đến 31 của SEQ ID NO: 1, các axit amin 22 đến 33 của SEQ ID NO: 1, hoặc các axit amin 20 đến 31 của SEQ ID NO: 1. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1, các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 1, hoặc SEQ ID NO: 60. Theo cách khác, trình tự hướng đích có thể bao gồm các axit amin 22 đến 31 của SEQ ID NO: 1, các axit amin 22 đến 33 của SEQ ID NO: 1, hoặc các axit amin 20 đến 31 của SEQ ID NO: 1. Theo cách khác, protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm BclA có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 2), hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm đoạn cỡ vừa của BclA mà thiếu đầu tận cùng carboxy, như SEQ ID NO: 59 (các axit amin 1 đến 196 của BclA). Theo cách khác, đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm SEQ ID NO: 59.

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các axit amin 1 đến 27 của SEQ ID NO: 3, các axit amin 12 đến 27 của SEQ ID NO: 3, hoặc SEQ ID NO: 3, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm BetA/BAS3290 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 4). Cũng đã phát hiện được rằng gốc metionin được liên kết với các axit amin 12 đến 27 của BetA/BAS3290 có thể được sử dụng làm trình tự hướng đích. Vì vậy, trình tự hướng đích có thể bao gồm SEQ ID NO: 61. Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các axit amin 14 đến 23 của SEQ ID NO: 3, các axit amin 14 đến 25 của SEQ ID NO: 3, hoặc các axit amin 12 đến 23 của SEQ ID NO: 3.

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các axit amin 1 đến 38 của SEQ ID NO: 5, các axit amin 23 đến 38 của SEQ ID NO: 5, hoặc SEQ ID NO: 5, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm BAS4623 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 6).

Theo cách khác, trình tự hướng đích có thể bao gồm các axit amin 1 đến 28 của SEQ ID NO: 7, các axit amin 13 đến 28 của SEQ ID NO: 7, hoặc SEQ ID NO: 7, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm BclB có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:8).

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 9, các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 9, hoặc SEQ ID NO: 9, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm BAS1882 có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 10). Gốc metionin được liên kết với các axit amin 9 đến 24 của BAS1882 cũng có thể được sử dụng làm trình tự hướng đích. Vì vậy, trình tự hướng đích có thể bao gồm SEQ ID NO: 69.

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO:11, các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 11, hoặc SEQ ID NO: 11, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm sản phẩm gen 2280 KBAB4 của *B. weihenstephensis* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 12). Gốc metionin được liên kết với các axit amin 18 đến 33 của sản phẩm gen 2280 KBAB4 của *B. weihenstephensis* cũng có thể được sử dụng làm trình tự hướng đích. Vì vậy, trình tự hướng đích có thể bao gồm SEQ ID NO: 62.

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 13, các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 13, hoặc SEQ ID NO:13, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm sản phẩm gen 3572 KBAB4 của *B. weihenstephensis* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:14). Gốc metionin được liên kết với các axit amin 18 đến 33 của sản phẩm gen 3572 KBAB4 của *B. weihenstephensis* cũng có thể được sử dụng làm trình tự hướng đích. Vì vậy, trình tự hướng đích có thể bao gồm SEQ ID NO: 63.

Theo cách khác, trình tự hướng đích có thể bao gồm các axit amin 1 đến 43 của SEQ ID NO: 15, các axit amin 28 đến 43 của SEQ ID NO: 15, hoặc SEQ ID NO:15, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử VD200 của *B. cereus* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:16).

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các axit amin 1 đến 27 của SEQ ID NO: 17, các axit amin 12 đến 27 của SEQ ID NO: 17, hoặc SEQ ID NO:17, hoặc

protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử VD166 của *B. cereus* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:18). Gốc metionin được liên kết với các axit amin 12 đến 27 của peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử VD166 của *B. cereus* cũng có thể được sử dụng làm trình tự hướng đích. Vì vậy, trình tự hướng đích có thể bao gồm SEQ ID NO: 64.

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 19, các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 19, hoặc SEQ ID NO:19, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm protein giả thuyết IKG_04663 của VD200 *B. cereus* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:20).

Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 21, các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 21, hoặc SEQ ID NO:21, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm protein hình cánh quạt β YVTN của KBAB4 *B. weihenstephensis* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:22). Gốc metionin được liên kết với các axit amin 18 đến 33 của protein hình cánh quạt β YVTN của KBAB4 *B. weihenstephensis* cũng có thể được sử dụng làm trình tự hướng đích. Vì vậy, trình tự hướng đích có thể bao gồm SEQ ID NO: 65.

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 23, các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 23, hoặc SEQ ID NO:23, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm protein giả thuyết bcerkbab4_2363 của KBAB4 *B. weihenstephensis* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:24). Gốc metionin được liên kết với các axit amin 9 đến 24 của protein giả thuyết bcerkbab4_2363 của KBAB4 *B. weihenstephensis* cũng có thể được sử dụng làm trình tự hướng đích. Vì vậy, trình tự hướng đích có thể bao gồm SEQ ID NO: 66.

Trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 25, các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 25, hoặc SEQ ID NO:25, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm protein giả thuyết bcerkbab4_2131 của KBAB4 *B. weihenstephensis* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:26). Gốc metionin được liên kết với các axit amin 9 đến 24 của protein giả thuyết bcerkbab4_2131 của KBAB4 *B. weihenstephensis* cũng có thể được sử dụng làm trình tự hướng đích. Vì vậy, trình tự hướng đích có thể bao gồm SEQ ID NO: 67.

Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 30 của SEQ ID NO: 27, các axit amin 15 đến 30 của SEQ ID NO: 27, hoặc SEQ ID NO:27, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm colagen chứa đơn vị lặp lại xoắn ba của KBAB4 *B. weihenstephensis* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:28).

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 29, các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 29, hoặc SEQ ID NO:29, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm protein giả thuyết bmyco0001_21660 của chủng 2048 *B. mycoides* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:30).

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 31, các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 31, hoặc SEQ ID NO:31, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm protein giả thuyết bmyc0001_22540 của chủng 2048 *B. mycoides* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:32). Gốc metionin được liên kết với các axit amin 9 đến 24 của protein giả thuyết bmyc0001_22540 của chủng 2048 *B. mycoides* cũng có thể được sử dụng làm trình tự hướng đích. Vì vậy, trình tự hướng đích có thể bao gồm SEQ ID NO: 68.

Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 15 của SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO:33, hoặc protein lớp ngoại bào tử bao gồm protein giả thuyết bmyc0001_21510 của chủng 2048 *B. mycoides* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:34).

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các axit amin 1 đến 16 của SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO:35, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm protein đơn vị lặp lại xoắn ba của colagen của chủng 35646 *B. Thuringiensis* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:36).

Trình tự hướng đích có thể bao gồm các axit amin 1 đến 29 của SEQ ID NO:43, các axit amin 14 đến 29 của SEQ ID NO: 43, hoặc SEQ ID NO: 43, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm protein giả thuyết WP_69652 của *B. cereus* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 44).

Theo cách khác, trình tự hướng đích có thể bao gồm các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 45, các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 45, hoặc SEQ ID

NO: 45, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử WP016117717 của *B. cereus* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 46). Gốc metionin được liên kết với các axit amin 20 đến 35 của peptit dẫn đầu lớp ngoại bào tử WP016117717 của *B. cereus* cũng có thể được sử dụng làm trình tự hướng đích. Vì vậy, trình tự hướng đích có thể bao gồm SEQ ID NO: 70.

Trình tự hướng đích có thể bao gồm các axit amin 1 đến 43 của SEQ ID NO: 47, các axit amin 28 đến 43 của SEQ ID NO: 47, hoặc SEQ ID NO: 47, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm peptit lớp ngoại bào tử WP002105192 của *B. cereus* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 48).

Trình tự hướng đích có thể bao gồm các axit amin 1 đến 32 của SEQ ID NO: 49, các axit amin 17 đến 32 của SEQ ID NO: 49, hoặc SEQ ID NO: 49, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm protein giả thuyết WP87353 của *B. cereus* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 50).

Theo cách khác, trình tự hướng đích có thể bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 51, các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 51, hoặc SEQ ID NO: 51, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm peptit lớp ngoại bào tử 02112369 của *B. cereus* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 52).

Trình tự hướng đích có thể bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 53, các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 53, hoặc SEQ ID NO: 53, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm protein lớp ngoại bào tử WP016099770 của *B. cereus* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 54).

Theo cách khác, trình tự hướng đích có thể bao gồm các axit 1 đến 30 của SEQ ID NO: 55, các axit amin 15 đến 30 của SEQ ID NO: 55, hoặc SEQ ID NO: 55, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm protein giả thuyết YP006612525 của *B. Thuringiensis* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 56).

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm các axit amin 1 đến 130 của SEQ ID NO: 57, các axit amin 115 đến 130 của SEQ ID NO: 57, hoặc SEQ ID NO: 57, hoặc protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm protein giả thuyết TIGR03720 của *B. mycoides* có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 58).

Ngoài ra, cũng có thể dễ dàng thấy được từ dạng xếp thẳng hàng trình tự ở hình 1 rằng trong khi các axit amin 20 đến 35 của BclA được bảo toàn, và các axit amin 25 đến 35 được bảo toàn hơn, thì một số mức độ biến thiên có thể xảy ra trong vùng này mà không làm ảnh hưởng đến khả năng của trình tự hướng đích trong việc hướng đích protein đến lớp ngoại bào tử. Hình 1 liệt kê độ đồng nhất tính theo phần trăm của mỗi axit amin trong số các axit amin tương ứng của mỗi trình tự với các axit amin 20 đến 35 của BclA ("độ đồng nhất tính theo % của các axit amin từ 20 đến 35") và với các axit amin 25 đến 35 của BclA ("độ đồng nhất tính theo % của các axit amin từ 25 đến 35"). Vì vậy, ví dụ, so với các axit amin 20 đến 35 của BclA, các axit amin tương ứng của BetA/BAS3290 đồng nhất là 81,3%, các axit amin tương ứng của BAS4623 đồng nhất là 50,0%, các axit amin tương ứng của BclB đồng nhất là 43,8%, các axit amin tương ứng của BAS1882 đồng nhất là 62,5%, các axit amin tương ứng của sản phẩm gen 2280 KBAB4 đồng nhất là 81,3%, và các axit amin tương ứng của sản phẩm gen 3572 KBAB4 đồng nhất là 81,3%. Các mức độ đồng nhất trình tự về vùng này của các trình tự còn lại được liệt kê ở hình 1.

Liên quan đến các axit amin 25 đến 35 của BclA, các axit amin tương ứng của BetA/BAS3290 đồng nhất là 90,9%, các axit amin tương ứng của BAS4623 đồng nhất là 72,7%, các axit amin tương ứng của BclB đồng nhất là 54,5%, các axit amin tương ứng của BAS1882 đồng nhất là 72,7%, các axit amin tương ứng của sản phẩm gen 2280 KBAB4 đồng nhất là 90,9%, và các axit amin tương ứng của sản phẩm gen 3572 KBAB4 đồng nhất là 81,8%. Các mức độ đồng nhất trình tự về vùng này của các trình tự còn lại được liệt kê ở hình 1.

Vì vậy, trình tự hướng đích có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 43% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 54%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 43% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 54%.

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 50% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 63%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 50% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 63%.

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 50% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 72%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 50% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 72%.

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 56% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 63%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 56% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 63%.

Theo cách khác, trình tự hướng đích có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 62% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 72%. Trình tự hướng đích có thể còn bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 62% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 của SEQ ID NO:1 là ít nhất 72%.

Trình tự hướng đích có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 68% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 81%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 68% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 81%.

Trình tự hướng đích có thể còn bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 75% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 72%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 75% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 của SEQ ID NO:1 là ít nhất 72%.

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 75% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 81%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 75% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 của SEQ ID NO:1 là ít nhất 81%.

Trình tự hướng đích còn có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 81% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO:1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 81%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 81% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO:1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 81%.

Trình tự hướng đích có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 81% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 90%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 81% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 90%.

Chuyên gia sẽ nhìn nhận rằng cũng có thể sử dụng các biến thể của các trình tự trên đây làm trình tự hướng đích, miễn là trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 20 đến 35 của BclA, các axit amin tương ứng của BetA/BAS3290, BAS4263, BclB, BAS1882, sản phẩm gen 2280 KBAB4, hoặc sản phẩm gen 3572 KBAB, hoặc trình tự có mức độ bất kỳ trong số các mức độ đồng nhất trình tự được nêu trên đây với các axit amin 20 đến 35 và 25 đến 35 của BclA có mặt.

Còn phát hiện ra rằng cũng có thể sử dụng các protein lớp ngoại bào tử họ *Bacillus cereus* nhất định mà thiếu các vùng có độ tương đồng với các axit amin 25 đến 35 của BclA để hướng đích peptit hoặc protein đến lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus*. Cụ thể là, protein dung hợp có thể bao gồm protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 71 (InhA của *B. mycoides*), protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 72 (BAS1141 (ExsY) của Sterne *B. anthracis*), protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 73 (BAS1144 (BxpB/ExsFA) của Sterne *B. anthracis*), protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 74 (BAS1145 (CotY) của Sterne *B. anthracis*), protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 75 (BAS1140 của Sterne *B. anthracis*), protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 76 (ExsFB của H9401 *B. anthracis*), protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 77 (InhA của HD74 *B. Thuringiensis*), protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 78 (ExsJ của ATCC 10876 *B. cereus*), protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 79 (ExsH của *B. cereus*), protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 80 (YjcA của Ames *B. anthracis*), protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 81 (YjcB của *B. anthracis*), protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 82 (BclC của Sterne *B. anthracis*), protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 83 (axit phosphataza của serovar konkukian str. 97-27 *Bacillus thuringiensis*), hoặc protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 84 (InhA của HD74 *B. Thuringiensis*). Việc đưa protein lớp ngoại bào tử bao gồm SEQ ID NO: 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, hoặc 84 vào protein dung hợp được mô tả trong tài liệu này sẽ đem lại tác dụng hướng đích đến lớp ngoại bào tử của thành viên họ *B. cereus*.

Hơn nữa, các protein lớp ngoại bào tử có mức độ đồng nhất trình tự cao với loại bất kỳ trong số các protein lớp ngoại bào tử có chiều dài đầy đủ hoặc các đoạn protein lớp ngoại bào tử được mô tả trên đây cũng có thể được sử dụng để hướng đích peptit hoặc protein đến lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus*. Vì vậy, protein dung hợp có thể bao gồm protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 59, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83 và 84. Theo cách khác, protein dung hợp có thể bao gồm protein lớp ngoại bào tử có độ đồng nhất ít nhất

90%, ít nhất 95%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, hoặc 100% với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 59, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83 và 84.

Theo cách khác, protein dung hợp có thể bao gồm đoạn protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với SEQ ID NO: 59. Theo cách khác, protein dung hợp có thể bao gồm đoạn protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, hoặc 100% với SEQ ID NO: 59.

Trong loại bất kỳ trong số các trình tự hướng đích, các protein lớp ngoại bào tử, hoặc các đoạn protein lớp ngoại bào tử được mô tả trong tài liệu này, trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử này có thể bao gồm trình tự axit amin GXT ở đầu tận cùng carboxy của nó, trong đó X là axit amin bất kỳ.

Trong loại bất kỳ trong số các trình tự hướng đích, các protein lớp ngoại bào tử, và các đoạn protein lớp ngoại bào tử được mô tả trong tài liệu này, trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử này có thể bao gồm gốc alanin ở vị trí của trình tự hướng đích mà tương ứng với axit amin 20 của SEQ ID NO: 1.

Protein dung hợp

Sáng chế đề cập đến protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử, và ít nhất một peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, trong đó peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm peptit hocmon, peptit không hocmon, hoặc enzym liên quan đến việc sản xuất hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật. Trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể là loại bất kỳ trong số các trình tự hướng đích, các protein lớp ngoại bào tử, hoặc các đoạn protein lớp ngoại bào tử được mô tả trên đây ở đoạn 0.

Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử, và ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật. Trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể là loại bất kỳ trong số các trình tự hướng đích, các protein lớp ngoại bào tử, hoặc các đoạn protein lớp ngoại bào tử được mô tả trên đây ở đoạn 0.

Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử, và ít nhất một peptit hoặc protein liên kết với thực vật. Trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể là loại bất kỳ trong số các trình tự hướng đích, các protein lớp ngoại bào tử, hoặc các đoạn protein lớp ngoại bào tử được mô tả trên đây ở đoạn 0.

Sáng chế còn đề cập đến protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử, và ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh. Trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể là loại bất kỳ trong số các trình tự hướng đích, các protein lớp ngoại bào tử, hoặc các đoạn protein lớp ngoại bào tử được mô tả trên đây ở đoạn 0.

Sáng chế còn đề cập đến protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử, và ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh. Peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh bao gồm harpin, α-elastin, β-elastin, systemin, phenylalanin amoniac lyaza, elicitin, defensin, cryptogein, protein flagellin, peptit flagellin, bacteriocin, lysozym, peptit lysozym, siderophore, peptit không ribosom có hoạt tính, conalbumin, albumin, lactoferrin, peptit lactoferrin, TasA. Theo cách khác, peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh có hoạt tính diệt côn trùng, hoạt tính diệt sâu, ức chế hoạt động phá hoại của côn trùng hoặc sâu, hoặc tổ hợp của chúng. Theo cách khác, protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh bao gồm enzym. Trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể là loại bất kỳ trong số các trình tự hướng đích,

các protein lớp ngoại bào tử, hoặc các đoạn protein lớp ngoại bào tử được mô tả trên đây ở đoạn 0.

Có thể tạo ra protein dung hợp bằng cách sử dụng phương pháp tạo dòng thuần và phương pháp sinh học phân tử tiêu chuẩn đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, gen mã hóa peptit hoặc protein (ví dụ, gen mã hóa peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật) có thể được khuếch đại bằng phản ứng chuỗi polymeraza (polymerase chain reaction-PCR) và được buộc vào ADN ghi mã cho trình tự bất kỳ trong số các trình tự hướng đích được mô tả trên đây để tạo phân tử ADN mà mã hóa protein dung hợp. Phân tử ADN mã hóa protein dung hợp có thể được tạo dòng thuần vào vectơ thích hợp bất kỳ, ví dụ, vectơ plasmit. Vectơ thích hợp bao gồm vị trí đa tạo dòng mà phân tử ADN mã hóa protein dung hợp có thể được dễ dàng chèn vào đó. Vectơ thích hợp còn chứa gen đánh dấu có thể lựa chọn được, như gen chống chịu chất kháng sinh, sao cho vi khuẩn được biến nạp, được chuyển nhiễm, hoặc được kết hợp với vectơ này có thể dễ dàng được nhận diện và phân lập. Trường hợp vectơ là plasmit, thì plasmit thích hợp còn bao gồm điểm khởi đầu sao chép. ADN mã hóa protein dung hợp thích hợp là nằm dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử mà sẽ gây ra hiện tượng biểu hiện protein dung hợp trên lớp ngoại bào tử của nội bào tử thành viên họ *B. cereus* (ví dụ, gen khởi đầu BclA nguyên thể từ thành viên họ *B. cereus*). Theo cách khác, ADN ghi mã cho protein dung hợp có thể được tích hợp vào ADN nhiễm sắc thể của vật chủ thành viên họ *B. cereus*.

Protein dung hợp còn có thể bao gồm các trình tự polypeptit bổ sung mà không phải là một phần của trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, đoạn protein lớp ngoại bào tử, hoặc peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh, peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật, hoặc peptit hoặc protein liên kết với thực vật. Ví dụ, protein dung hợp có thể bao gồm các thẻ hoặc gen đánh dấu để tạo thuận lợi cho việc tinh chế hoặc hiển thị của protein dung hợp (ví dụ, thẻ polyhistiđin hoặc protein huỳnh quang như GFP hoặc YFP) hoặc việc hiển thị của các bào tử thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp.

Mức biểu hiện protein dung hợp trên lớp ngoại bào tử bằng cách sử dụng trình tự hướng đích, các protein lớp ngoại bào tử, và các đoạn protein lớp ngoại bào tử được mô tả trong tài liệu này được nâng cao do thiếu cấu trúc bậc hai ở các đầu tận cùng amin của những trình tự này, điều này cho phép có hiện tượng gấp cuộn nguyên thể của các protein được dung hợp và hiện tượng giữ lại hoạt tính. Có thể nâng cao mức gấp cuộn đúng đắn bằng cách đưa vào liên kết axit amin ngắn giữa trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, đoạn protein lớp ngoại bào tử, và protein thành viên dung hợp.

Vì vậy, protein bất kỳ trong số các protein dung hợp được mô tả trong tài liệu này có thể bao gồm liên kết axit amin giữa trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử và peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh, peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật, hoặc peptit hoặc protein liên kết với thực vật.

Liên kết này có thể bao gồm liên kết polyalanin hoặc liên kết polyglyxin. Cũng có thể sử dụng liên kết bao gồm hỗn hợp của cả gốc alanin và gốc glyxin. Ví dụ, trường hợp trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 1, thì protein dung hợp có thể có một trong các cấu trúc dưới đây:

Không có liên kết: SEQ ID NO: 1 – Protein thành viên dung hợp

Liên kết alanin: SEQ ID NO: 1–A_n–Protein thành viên dung hợp

Liên kết glyxin: SEQ ID NO: 1–G_n–Protein thành viên dung hợp

Liên kết alanin và liên kết glyxin hỗn hợp: SEQ ID NO: 1 – $(A/G)_n$ – Protein thành viên dung hợp

trong đó A_n, G_n, và $(A/G)_n$ lần lượt là con số bất kỳ của alanin, con số bất kỳ của glyxin, hoặc con số bất kỳ của hỗn hợp của alanin và glyxin. Ví dụ, n có thể là 1 đến 25, và tốt hơn, nếu là 6 đến 10. Trường hợp liên kết này bao gồm hỗn hợp của gốc alanin và gốc glyxin, thì có thể sử dụng dạng kết hợp bất kỳ của gốc glyxin và gốc alanin. Trong các cấu trúc trên đây, "protein thành viên dung hợp" là peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, peptit hoặc protein có tác

dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh, peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật, hoặc peptit hoặc protein liên kết với thực vật.

Theo cách khác hoặc ngoài ra, liên kết này có thể bao gồm vị trí nhận biết proteaza. Việc đưa vào vị trí nhận biết proteaza cho phép loại bỏ có hướng đích peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh, peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật, hoặc peptit hoặc protein liên kết với thực vật sau khi tiếp xúc với proteaza có chức năng nhận biết vị trí nhận biết proteaza.

Các peptit và protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật

Như đã lưu ý trên đây, sáng chế đề cập đến protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử và ít nhất một peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, trong đó peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm peptit hocmon, peptit không hocmon, hoặc enzym liên quan đến việc sản xuất hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật.

Ví dụ, trường hợp peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm peptit hocmon, thì peptit hocmon này có thể bao gồm phytosulfokin (ví dụ, phytosulfokin-α), clavata 3 (CLV3), systemin, ZmlGF, hoặc SCR/SP11.

Trường hợp peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm peptit không hocmon, thì peptit không hocmon này có thể bao gồm RKN 16D10, Hg-Syv46, peptit eNOD40, melittin, mastoparan, Mas7, RHPP, POLARIS, hoặc chất ức chế kunitz trypsin (kunitz trypsin inhibitor-KTI).

Peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật có thể bao gồm enzym liên quan đến việc sản xuất hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật. Enzym liên quan đến việc sản xuất hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật có thể là enzym bất kỳ có chức năng

xúc tác bước bất kỳ trong chu trình tổng hợp sinh học đối với hợp chất có tác dụng kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật hoặc thay đổi cấu trúc thực vật, hoặc enzym bất kỳ có chức năng xúc tác quá trình chuyển hóa dẫn xuất không có hoạt tính hoặc có hoạt tính kém hơn của hợp chất có tác dụng kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật hoặc thay đổi cấu trúc thực vật thành dạng có hoạt tính hoặc có hoạt tính tốt hơn của hợp chất này.

Hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật có thể bao gồm hợp chất do vi khuẩn hoặc nấm sản sinh ở bầu rễ, ví dụ, 2,3-butanđiol.

Theo cách khác, hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật có thể bao gồm hocmon sinh trưởng của thực vật, ví dụ, cytokinin hoặc dẫn xuất cytokinin, etylen, auxin hoặc dẫn xuất auxin, axit gibberellic hoặc dẫn xuất axit gibberellic, axit abscisic hoặc dẫn xuất axit abscisic, hoặc axit jasmonic hoặc dẫn xuất axit jasmonic.

Trường hợp hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm cytokinin hoặc dẫn xuất cytokinin, thì cytokinin hoặc dẫn xuất cytokinin này có thể bao gồm kinetin, cis-zeatin, trans-zeatin, 6-benzylaminopurin, đihyđroxyzeatin, N6-(D2-isopentenyl) ađenin, ribosylzeatin, N6-(D2-isopentenyl) ađenosin, 2-metylthio-cis-ribosylzeatin, cis-ribosylzeatin, trans-ribosylzeatin, 2-metylthio-trans-ribosylzeatin, ribosylzeatin-5-monosphosphat, N6-metylaminopurin, N6-đimetylaminopurin, 2'-đeoxyzeatin ribosit, 4-hyđroxy-3-metyl-trans-2-butenylaminopurin, ortho-topolin, meta-topolin, benzylađenin, ortho-metyltopolin, meta-metyltopolin, hoặc tổ hợp của chúng.

Trường hợp hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm auxin hoặc dẫn xuất auxin, thì auxin hoặc dẫn xuất auxin này có thể bao gồm auxin có hoạt tính, auxin không có hoạt tính, auxin được tiếp hợp, auxin có trong tự nhiên, hoặc auxin tổng hợp, hoặc tổ hợp của chúng. Ví dụ, auxin hoặc dẫn xuất auxin này có thể bao gồm axit inđol-3-axetic, axit inđol-3-pyruvic, inđol-3-axetalđoxim, inđol-3-axetamit, inđol-3-axetonitril, inđol-3-etanol, inđol-3-pyruvat, inđol-3-axetalđoxim, axit inđol-3-butyric, axit phenylaxetic, axit 4-cloinđol-3-axetic, auxin được tiếp hợp glucoza, hoặc tổ hợp của chúng.

Enzym liên quan đến việc sản xuất hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật có thể bao gồm axetoin ređuctaza, inđol-3-axetamit hyđrolaza, tryptophan monooxygenaza, axetolactat syntetaza, α-axetolactat đecacboxylaza, pyruvat đecacboxylaza, điaxetyl ređuctaza, butanđiol đehyđrogenaza, aminotransferaza (ví dụ, tryptophan aminotransferaza), tryptophan đecacboxylaza, amin oxiđaza, inđol-3-pyruvat đecacboxylaza, inđol-3-axetalđehyt đehyđrogenaza, tryptophan oxiđaza mạch bên, nitril hyđrolaza, nitrilaza, peptiđaza, proteaza, ađenosin phosphat isopentenyltransferaza, phosphataza, ađenosin kinaza, ađenin phosphoribosyltransferaza, CYP735A, 5'ribonucleotit phosphohyđrolaza, ađenosin nucleosiđaza, zeatin cis-trans isomeraza, zeatin O-glucosyltransferaza, β-glucosiđaza, cis-hyđroxylaza, CK cis-hyđroxylaza, CK N-glucosyltransferaza, 2,5-ribonucleotit phosphohyđrolaza, ađenosin nucleosiđaza, purin nucleosit phosphorylaza, zeatin ređuctaza, hyđroxylamin ređuctaza, 2-oxoglutarat điioxygenaza, axit gibberellic 2B/3B hyđrolaza, gibberellin 3-oxiđaza, gibberellin 20-oxiđaza, chitosinaza, chitinaza, β-1,3-glucanaza, β-1,4-glucanaza, β-1,6-glucanaza, axit aminoxyclopropan-1-carboxylic đeaminaza, hoặc enzym liên quan đến việc sản xuất yếu tố nod (ví dụ, nodA, nodB, hoặc nodI).

Trường hợp enzym bao gồm proteaza hoặc peptiđaza, thì proteaza hoặc peptiđaza này có thể là proteaza hoặc peptiđaza mà phân cắt protein, peptit, proprotein, hoặc preproprotein để tạo ra peptit có hoạt tính sinh học. Peptit có hoạt tính sinh học có thể là peptit bất kỳ mà sử dụng hoạt tính sinh học.

Các ví dụ về peptit có hoạt tính sinh học bao gồm RKN 16D10 và RHPP.

Proteaza hoặc peptiđaza mà phân cắt protein, peptit, proprotein, hoặc preproprotein để tạo ra peptit có hoạt tính sinh học có thể bao gồm subtilisin, proteaza axit, proteaza kiềm, proteinaza, enđopeptiđaza, exopeptiđaza, thermolysin, papain, pepsin, trypsin, pronaza, carboxylaza, serin proteaza, glutamic proteaza, aspartat proteaza, xystein proteaza, threonin proteaza, hoặc metalloproteaza.

Proteaza hoặc peptiđaza có thể phân cắt các protein trong bột giàu protein (ví dụ, bột đậu nành hoặc chất chiết nấm men).

Các protein và các peptit có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh

Sáng chế đề cập đến protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử, và ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh.

Peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh có thể bao gồm peptit hoặc protein có tác dụng kích thích khả năng đáp ứng miễn dịch của thực vật. Ví dụ, peptit hoặc protein có tác dụng kích thích khả năng đáp ứng miễn dịch của thực vật có thể bao gồm peptit hoặc protein nâng cao hệ miễn dịch của thực vật. Peptit hoặc protein nâng cao hệ miễn dịch của thực vật có thể là peptit hoặc protein bất kỳ mà có tác dụng có lợi đối với hệ miễn dịch của thực vật. Các peptit hoặc protein nâng cao hệ miễn dịch của thực vật thích hợp bao gồm harpin, α-elastin, β-elastin, systemin, phenylalanin amoniac lyaza, elicitin, defensin, cryptogein, protein flagellin, và peptit flagellin (ví dụ, flg22).

Theo cách khác, peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh có thể là peptit hoặc protein mà có hoạt tính kháng khuẩn, hoạt tính chống nấm, hoặc cả hoạt tính kháng khuẩn và hoạt tính chống nấm. Các ví dụ về các protein và peptit này bao gồm bacteriocin, lysozym, các peptit lysozym (ví dụ, LysM), siderophore, peptit không ribosom có hoạt tính, conalbumin, albumin, lactoferrin, các peptit lactoferrin (ví dụ, LfcinB), và TasA.

Peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh còn có thể là peptit hoặc protein mà có hoạt tính diệt côn trùng, hoạt tính diệt sâu, ức chế hoạt động phá hoại của côn trùng hoặc sâu, hoặc tổ hợp của chúng. Ví dụ, peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh có thể bao gồm độc tố vi khuẩn diệt côn trùng (ví dụ, protein diệt côn trùng VIP), nội độc tố, độc tố Cry (ví dụ, độc tố Cry từ *Bacillus thuringiensis*), peptit hoặc protein ức chế proteaza (ví dụ, chất ức chế trypsin hoặc chất ức chế proteaza đầu mũi tên), xystein proteaza, hoặc chitinaza. Trường hợp độc tố Cry là độc tố Cry từ *Bacillus thuringiensis*, thì độc tố Cry này có thể là protein Cry5B hoặc protein Cry21A. Cry5B và Cry21A có cả hoạt tính diệt côn trùng và hoạt tính diệt tuyến trùng.

Protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh có thể bao gồm enzym. Các enzym thích hợp bao gồm proteaza và lactonaza. Các proteaza và lactonaza có

thể đặc hiệu với phân tử mang tín hiệu của vi khuẩn (ví dụ, phân tử mang tín hiệu lacton homoserin của vi khuẩn).

Trường hợp enzym là lactonaza, thì lactonaza này có thể bao gồm 1,4-lactonaza, 2-pyron-4,6-đicarboxylat lactonaza, 3-oxoađipat enol-lactonaza, actinomycin lactonaza, đeoxylimonat lactonaza-vòng-A, gluconolactonaza L-rhamnono-1,4-lactonaza, limonin-lactonaza-vòng-D, steroit-lactonaza, triaxetat-lactonaza, hoặc xylono-1,4-lactonaza.

Enzym này còn có thể là enzym mà đặc hiệu với thành phần tế bào của vi khuẩn hoặc nấm. Ví dụ, enzym có thể bao gồm β-1,3-glucanaza, β-1,4-glucanaza, β-1,6-glucanaza, chitosinaza, chitinaza, enzym giống chitosinaza, lyticaza, peptiđaza, proteinaza, proteaza (ví dụ, proteaza kiềm, proteaza axit, hoặc proteaza trung tính), mutanolysin, stapholysin hoặc lysozym.

Đối với protein bất kỳ trong số các protein dung hợp bao gồm peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh, thì mầm bệnh này có thể là mầm bệnh vi khuẩn hoặc mầm bệnh nấm. Ví dụ, mầm bệnh có thể bao gồm Proteobacterium nhóm α, Proteobacterium nhóm β, Proteobacterium nhóm γ, hoặc tổ hợp của chúng. Mầm bệnh vi khuẩn cụ thể bao gồm *Agrobacterium tumefaciens*, *Pantoea stewartii*, *Erwinia carotovora*, *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Xanthomonas campestris*, và các tổ hợp của chúng.

Các mầm bệnh vi khuẩn và mầm bệnh nấm khác bao gồm *Acarosporina microspora, Aceria guerreronis, Achlya conspicua, Achlya klebsiana, Achlysiella williamsi, Acholeplasmataceae, Acidovorax avenae, Acremonium strictum, Acrocalymma medicaginis, Acrodontium simplex, Acrophialophora fusispora, Acrosporium tingitaninum, Aecidium, Aecidium aechmantherae, Aecidium amaryllidis, Aecidium breyniae, Aecidium campanulastri, Aecidium cannabis, Aecidium cantensis, Aecidium caspicum, Aecidium foeniculi, Agrobacterium tumefaciens, Albonectria rigidiuscula, Albugo bliti, Albugo candida, Albugo ipomoeae-panduratae, Albugo laibachii, Albugo occidentalis, Albugo tragopogonis, Alternaria, Alternaria alternata, Alternaria brassicae, Alternaria brassicicola,*

*Alternaria carthami, Alternaria cinerariae, Alternaria citri, Alternaria dauci, Alternaria dianthi, Alternaria dianthicola, Alternaria euphorbiicola, Alternaria helianthi, Alternaria helianthicola, Alternaria japonica, Alternaria leucanthemi, Alternaria limicola, Alternaria linicola, Alternaria mali, Alternaria padwickii, Alternaria panax, Alternaria radicina, Alternaria raphani, Alternaria saponariae, Alternaria senecionis, Alternaria solani, Alternaria tenuissima, Alternaria triticina, Alternaria zinniae, Amazonia, Amphobotrys ricini, Anguillo*bào tử*lla vermiformis, Anguina (genus), Anguina agrostis, Anguina amsinckiae, Anguina australis, Anguina balsamophila, Anguina funesta, Anguina graminis, Anguina spermophaga, Anguina tritici, Anisogramma anomala, Anthostomella pullulans, Antrodia albida, Antrodia serialiformis, Antrodia serialis, Aphanomyces cladogamus, Aphanomyces cochlioides, Aphanomyces euteiches, Aphanomyces euteiches f.sp. pisi, Aphanomyces raphani, Aphelenchoides, Aphelenchoides arachidis, Aphelenchoides besseyi, Aphelenchoides fragariae, Aphelenchoides parietinus, Aphelenchoides ritzemabosi, Aphelenchus avenae, Apiognomonia errabunda, Apiognomonia veneta, Apiospora montagnei, Appendiculella, Armillaria, Armillaria affinis, Armillaria apalosclera, Armillaria camerunensis, Armillaria duplicate, Armillaria fellea, Armillaria fumosa, Armillaria fuscipes, Armillaria griseomellea, Armillaria heimii, Armillaria mellea, Armillaria melleorubens, Armillaria montagnei, Armillaria omnituens, Armillaria pallidula, Armillaria paulensis, Armillaria pelliculata, Armillaria procera, Armillaria puiggarii, Armillaria singular, Armillaria socialis, Armillaria solidipes, Armillaria tabescens, Armillaria tigrensis, Armillaria umbrinobrunnea, Armillaria viridiflava, Armillaria yungensis, Arthrocladiella, Arthuriomyces peckianus, Ascochyta asparagin, Ascochyta bohemica, Ascochyta caricae, Ascochyta doronici, Ascochyta fabae f.sp. Lentis, Ascochyta graminea, Ascochyta hordei, Ascochyta humuli, Ascochyta pisi, Ascochyta prasadii, Ascochyta sorghi, Ascochyta spinaciae, Ascochyta tarda, Ascochyta tritici, Ascospora ruborum, Ashbya gossypii, Aspergillus aculeatus, Aspergillus fischerianus, Aspergillus niger, Asperisporium caricae, Asperisporium minutulum, Asteridiella, Asteridiella perseae, Asteroma caryae, Asteroma coryli, Asteroma inconspicuum, Athelia arachnoidea, Athelia rolfsii, Aurantiporus fissilis, Belonolaimus,*

Belonolaimus gracilis, Belonolaimus longicaudatus, Beniowskia sphaeroidea, Bionectria ochroleuca, Bipolaris, Bipolaris cactivora, Bipolaris cookie, Bipolaris incurvata, Bipolaris sacchari, Biscogniauxia capnodes var. capnodes, Biscogniauxia marginata, Biscogniauxia nummularia, Bjerkandera adusta, Blakeslea trispora, Blumeria graminis, Botryodiplodia oncidii, Botryodiplodia ulmicola, Botryosphaeria cocogena, Botryosphaeria corticola, Botryosphaeria disrupta, Botryosphaeria dothidea, Botryosphaeria marconii, Botryosphaeria obtuse, Botryosphaeria quercuum, Botryosphaeria rhodina, Botryosphaeria ribis, Botryosphaeria stevensii, Botryosporium pulchrum, Botryotinia, Botryotinia fuckeliana, Botrytis anthophila, Botrytis cinerea, Botrytis fabae, Bremia lactucae, Brenneria salicis, Briosia ampelophaga, Bulbomicrosphaera, Burkholderia và ropogonis, Burkholderia caryophylli, Burkholderia glumae, Cadophora malorum, Caespitotheca, Calonectria indusiata, Calonectria kyotensis, Calonectria quinqueseptata, Calvatia versispora, Camarosporium pistaciae, Camarotella acrocomiae, Camarotella costaricensis, Candidatus Liberibacter, Capitorostrum cocoes, Capnodium footii, Capnodium mangiferum, Capnodium ramosum, Capnodium theae, Caulimoviridae, Cephaleuros virescens, Cephalosporium gramineum, Ceratobasidium cereal, Ceratobasidium cornigerum, Ceratobasidium noxium, Ceratobasidium ramicola, Ceratobasidium setariae, Ceratobasidium stevensii, Ceratocystis adiposa, Ceratocystis coerulescens, Ceratocystis fimbriata, Ceratocystis moniliformis, Ceratocystis paradoxa, Ceratocystis pilifera, Ceratocystis pluriannulata, Ceratorhiza hydrophila, Ceratospermopsis, Cercoseptoria ocellata, Cercospora, Cercospora angreci, Cercospora apii, Cercospora apii f.sp. clerodendri, Cercospora apiicola, Cercospora arachidicola, Cercospora asparagi, Cercospora atrofiliformis, Cercospora beticola, Cercospora brachypus, Cercospora brassicicola, Cercospora brunkii, Cercospora cannabis, Cercospora cantuariensis, Cercospora capsici, Cercospora carotae, Cercospora corylina, Cercospora fragariae, Cercospora fuchsiae, Cercospora fusca, Cercospora fusimaculans, Cercospora gerberae, Cercospora halstedii, Cercospora handelii, Cercospora hayi, Cercospora hydrangea, Cercospora kikuchii, Cercospora lentis, Cercospora liquidambaris, Cercospora longipes, Cercospora

longissima, Cercospora mamaonis, Cercospora mangiferae, Cercospora medicaginis, Cercospora melongenae, Cercospora minima, Cercospora minuta, Cercospora nicotianae, Cercospora odontoglossi, Cercospora papaya, Cercospora penniseti, Cercospora pisa-sativae, Cercospora platanicola, Cercospora puderii, Cercospora pulcherrima, Cercospora rhapidicola, Cercospora rosicola, Cercospora rubrotincta, Cercospora sojina, Cercospora solani, Cercospora solani-tuberosi, Cercospora sorghi, Cercospora theae, Cercospora tuberculans, Cercospora vexans, Cercospora vicosae, Cercospora zeae-maydis, Cercospora zebrina, Cercospora zonata, Cercosporella rubi, Cereal cyst nematode, Ceriporia spissa, Ceriporia xylostromatoides, Cerrena unicolor, Ceuthospora lauri, Choanephora, Choanephora cucurbitarum, Choanephora infundibulifera, Chondrostereum purpureum, Chrysomyxa ledi var. rhododendri, Chrysomyxa ledicola, Chrysomyxa piperiana, Chrysomyxa roanensis, Cladosporium, Cladosporium arthropodii, Cladosporium caryigenum, Cladosporium cladosporioides, Cladosporium cladosporioides f.sp. pisicola, Cladosporium cucumerinum, Cladosporium herbarum, Cladosporium musae, Cladosporium oncobae, Clavibacter michiganensis, Claviceps fusiformis, Claviceps purpurea, Claviceps sorghi, Claviceps zizaniae, Climacodon pulcherrimus, Climacodon septentrionalis, Clitocybe parasitica, Clonostachys rosea f. rosea, Clypeoporthe iliau, Cochliobolus, Cochliobolus carbonum, Cochliobolus cymbopogonis, Cochliobolus hawaiiensis, Cochliobolus heterostrophus, Cochliobolus lunatus, Cochliobolus miyabeanus, Cochliobolus ravenelii, Cochliobolus sativus, Cochliobolus setariae, Cochliobolus spicifer, Cochliobolus stenospilus, Cochliobolus tuberculatus, Cochliobolus victoriae, Coleosporium helianthi, Coleosporium ipomoeae, Coleosporium madiae, Coleosporium pacificum, Coleosporium tussilaginis, Colletotrichum acutatum, Colletotrichum arachidis, Colletotrichum capsici, Colletotrichum cereale, Colletotrichum crassipes, Colletotrichum dematium, Colletotrichum dematium f. spinaciae, Colletotrichum derridis, Colletotrichum destructivum, Colletotrichum fragariae, Colletotrichum gossypii, Colletotrichum higginsianum, Colletotrichum kahawae, Colletotrichum lindemuthianum, Colletotrichum lini, Colletotrichum mangenotii, Colletotrichum

musae, Colletotrichum nigrum, Colletotrichum orbiculare, Colletotrichum pisi, Colletotrichum sublineolum, Colletotrichum trichellum, Colletotrichum trifolii, Colletotrichum truncatum, Coniella castaneicola, Coniella diplodiella, Coniella fragariae, Coniothecium chomatosporum, Coniothyrium celtidis-australis, Coniothyrium henriquesii, Coniothyrium rosarum, Coniothyrium wernsdorffiae, Coprinopsis psychromorbida, Cordana johnstonii, Cordana musae, Coriolopsis floccose, Coriolopsis gallica, Corticium invisum, Corticium penicillatum, Corticium theae, Coryneopsis rubi, Corynespora cassiicola, Coryneum rhododendri, Crinipellis sarmentosa, Cronartium ribicola, Cryphonectriaceae, Cryptocline cyclaminis, Cryptomeliola, Cryptoporus volvatus, Cryptosporella umbrina, Cryptosporiopsis tarraconensis, Cryptosporium minimum, Curvularia caricae-papayae, Curvularia penniseti, Curvularia senegalensis, Curvularia trifolii, Cylindrocarpon candidum, Cylindrocarpon ianthothele var. ianthothele, Cylindrocarpon magnusianum, Cylindrocarpon musae, Cylindrocladiella camelliae, Cylindrocladiella parva, Cylindrocladium clavatum, Cylindrocladium lanceolatum, Cylindrocladium peruvianum, Cylindrocladium pteridis, Cylindrosporium cannabinum, Cylindrosporium juglandis, Cylindrosporium rubi, Cymadothea trifolii, Cytospora, Cytospora palmarum, Cytospora personata, Cytospora platani, Cytospora sacchari, Cytospora sacculus, Cytospora terebinthi, Cytosporina ludibunda, Dactuliophora elongata, Daedaleopsis confragosa, Dasineura urticae, Datronia scutellata, Davidiella carinthiaca, Davidiella dianthi, Davidiella tassiana, Deightoniella papuana, Deightoniella torulosa, Dendrophoma marconii, Dendrophora erumpens, Denticularia mangiferae, Dermea pseudotsugae, Diaporthaceae, Diaporthe, Diaporthe arctii, Diaporthe citri, Diaporthe dulcamarae, Diaporthe eres, Diaporthe helianthi, Diaporthe lagunensis, Diaporthe lokoyae, Diaporthe melonis, Diaporthe orthoceras, Diaporthe perniciosa, Diaporthe phaseolorum, Diaporthe phaseolorum var. caulivora, Diaporthe phaseolorum var. phaseolorum, Diaporthe phaseolorum var. sojae, Diaporthe rudis, Diaporthe tanakae, Diaporthe toxica, Dibotryon morbosum, Dicarpella dryina, Didymella bryoniae, Didymella fabae, Didymella lycopersici, Didymosphaeria arachidicola, Didymosphaeria taiwanensis, Dilophospora

alopecuri, Dimeriella sacchari, Diplocarpon earlianum, Diplocarpon mali, Diplocarpon mespili, Diplocarpon rosae, Diplodia laelio-cattleyae, Diplodia manihoti, Diplodia paraphysaria, Diplodia theae-sinensis, Discosia artocreas, Guignardia fulvida, Discostroma corticola, Distocercospora, Distocercospora livistonae, Ditylenchus, Ditylenchus africanus, Ditylenchus angustus, Ditylenchus destructor, Ditylenchus dipsaci, Dolichodorus heterocephalus, Dothideomycetes, Dothiorella aromatic, Dothiorella dominicana, Dothiorella gregaria, Dothiorella ulmi, Drechslera avenacea, Drechslera campanulata, Drechslera dematioidea, Drechslera gigantea, Drechslera glyxin, Drechslera musae-sapientium, Drechslera teres f. maculate, Drechslera wirreganensis, Durandiella pseudotsugae, Eballistra lineata, Eballistra oryzae, Eballistraceae, Echinodontium tinctorium, Ectendomeliola, Elsinoë ampelina, Elsinoë australis, Elsinoë batatas, Elsinoë brasiliensis, Elsinoë fawcettii, Elsinoë leucospila, Elsinoë mangiferae, Elsinoë piri, Elsinoë randii, Elsinoë rosarum, Elsinoë sacchari, Elsinoë theae, Elsinoë veneta, Endomeliola, Endothia radicalis, Endothiella gyrosa, Entoleuca mammata, Entorrhizomycetes, Entyloma ageratinae, Entyloma dahlia, Entyloma ellisii, Epicoccum nigrum, Ergot, Erwinia, Erwinia chrysanthemi, Erwinia psidii, Erysiphaceae, Erysiphales, Erysiphe, Erysiphe alphitoides, Erysiphe betae, Erysiphe brunneopunctata, Erysiphe cichoracearum, Erysiphe cruciferarum, Erysiphe flexuosa, Erysiphe graminis f. sp. avenae, Erysiphe graminis f.sp. Tritici, Erysiphe heraclei, Erysiphe pisi, Eutypella parasitica, Eutypella scoparia, Exobasidium burtii, Exobasidium reticulatum, Exobasidium vaccinii var. japonicum, Exobasidium vaccinii-uliginosi, Exobasidium vexans, Exophiala,Flavescence dorée, Fomes fasciatus, Fomes lamaënsis, Fomes meliae, Fomitopsis cajanderi, Fomitopsis palustris, Fomitopsis rosea, Fomitopsis spraguei, Fomitopsis supina, Forma specialis, Frommeella tormentillae, Fusarium, Fusarium affine, Fusarium arthrosporioides, Fusarium circinatum, Fusarium crookwellense, Fusarium culmorum, Fusarium graminearum, Fusarium incarnatum, Fusarium solani, Fusarium merismoides, Fusarium oxysporum f.sp. albedinis, Fusarium oxysporum f.sp. asparagi, Fusarium oxysporum f.sp. batatas, Fusarium oxysporum f.sp. betae, Fusarium oxysporum f.sp. cannabis, Fusarium oxysporum f.sp. citri,

Fusarium oxysporum f.sp. coffea, Fusarium oxysporum f.sp. cubense, Fusarium oxysporum f.sp. cyclaminis, Fusarium oxysporum f.sp. dianthi, Fusarium oxysporum f.sp. Lentis, Fusarium oxysporum f.sp. Lini, Fusarium oxysporum f.sp. Lycopersici, Fusarium oxysporum f.sp. medicaginis, Fusarium oxysporum f.sp. pisi, Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici, Fusarium pallidoroseum, Fusarium proliferatum, Fusarium redolens, Fusarium sacchari, Fusarium solani f.sp. pisi, Fusarium sporotrichioides, Fusarium subglutinans, Fusarium sulphureum, Fuscoporia torulosa, Fusicladium pisicola, Fusicoccum aesculi, Fusicoccum amygdali, Gaeumannomyces graminis var tritici, Gaeumannomyces graminis var. avenae, Gaeumannomyces graminis var. graminis, Galactomyces candidum, Ganoderma brownii, Ganoderma lobatum, Ganoderma orbiforme, Ganoderma philippii, Ganoderma tornatum, Ganoderma zonatum, Geastrumia polystigmatis, Georgefischeriaceae, Georgefischeriales, Geosmithia morbida, Geotrichum, Geotrichum candidum, Geotrichum candidum var. citri-aurantii, Geotrichum klebahnii, Gibberella, Gibberella acuminata, Gibberella avenacea, Gibberella baccata, Gibberella cyanogena, Gibberella fujikuroi, Gibberella fujikuroi var. subglutinans, Gibberella intricans, Gibberella pulicaris, Gibberella stilboides, Gibberella xylarioides, Gibberella zeae, Gibellina cerealis, Gilbertella persicaria, Gjaerumiaceae, Gliocladium vermoeseni, Globodera pallida, Globodera rostochiensis, Globodera tabacum, Gloeocercospora sorghi, Gloeocystidiellum porosum, Gloeophyllum mexicanum, Gloeophyllum trabeum, Gloeoporus dichrous, Gloeosporium cattleyae, Gloeosporium theae-sinensis, Glomerella cingulate, Glomerella glyxin, Glomerella graminicola, Glomerella tucumanensis, Gnomonia caryae, Gnomonia comari, Gnomonia dispora, Gnomonia iliau, Gnomonia leptostyla, Gnomonia nerviseda, Gnomonia rubi, Golovinomyces cichoracearum var. Latisporus, Granulobasidium vellereum, Graphiola phoenicis, Graphium rigidum, Graphium rubrum, Graphyllium pentamerum, Grovesinia pyramidalis, Guignardia bidwellii f. muscadinii, Guignardia camelliae, Guignardia citricarpa, Guignardia mangiferae, Guignardia musae, Guignardia philoprina, Gummosis, Gymnoconia nitens, Gymnopus dryophilus, Gymnosporangium clavipes, Gymnosporangium sabinae, Gymnosporangium globosum, Gymnosporangium

juniperi-virginianae, Gymnosporangium kernianum, Gymnosporangium nelsonii, Gymnosporangium yamadae, Haematonectria haematococca, Hansenula subpelliculosa, Hapalosphaeria deformans, Haplobasidion musae, Haustorium, Helicobasidium compactum, Helicobasidium longisporum, Helicobasidium purpureum, Helicoma muelleri, Helicotylenchus, Helicotylenchus dihystera, Helicotylenchus multicinctus, Helminthosporium cookei, Helminthosporium papulosum, Helminthosporium solani, Helotiales, Hemicriconemoides kanayaensis, Hemicriconemoides mangiferae, Hemicycliophora arenaria, Hemlock woolly adelgid, Hendersonia creberrima, Hendersonia theicola, Hericium coralloides, Heterobasidion annosum, Heterodera, Heterodera amygdali, Heterodera arenaria, Heterodera aucklandica, Heterodera avenae, Heterodera bergeniae, Heterodera bifenestra, Heterodera cacti, Heterodera cajani, Heterodera canadensis, Heterodera cardiolata, Heterodera carotae, Heterodera ciceri, Heterodera cruciferae, Heterodera delvii, Heterodera elachista, Heterodera filipjevi, Heterodera gambiensis, Heterodera goettingiana, Heterodera hordecalis, Heterodera humuli, Heterodera latipons, Heterodera medicaginis, Heterodera oryzae, Heterodera oryzicola, Heterodera rosii, Heterodera sacchari, Heterodera schachtii, Heterodera tabacum, Heterodera trifolii, Heteroderidae, Hexagonia hydnoides, Hirschmanniella oryzae, Hoplalaimus galeatus, Hoplolaimidae, Hoplolaimus columbus, Hoplolaimus indicus, Hoplolaimus magnistylus, Hoplolaimus pararobustus, Hoplolaimus seinhorsti, Hoplolaimus uniformis, Huanglongbing, Hyaloperonospora, Hyaloperonospora arabidopsidis, Hyaloperonospora brassicae, Hyaloperonospora parasitica, Hymenula affinis, Hyphodermella corrugata, Hyphodontia aspera, Hyphodontia sambuci, Hypochnus, Hypoxylon tinctor, Idriella lunata, Inonotus arizonicus, Inonotus cuticularis, Inonotus dryophilus, Inonotus hispidus, Inonotus ludovicianus, Inonotus munzii, Inonotus tamaricis, Irenopsis, Irpex destruens, Irpex lacteus, Isariopsis clavispora, Johncouchia mangiferae, Kabatiella caulivora, Kabatiella lini, Karnal bunt, Khuskia oryzae, Kretzschmaria deusta, Kretzschmaria zonata, Kuehneola uredinis, Kutilakesa pironii, Labrella coryli, Laeticorticium roseum, Laetiporus baudonii, Lagenocystis radicicola, Laricifomes officinalis, Lasiodiplodia theobromae,

Leandria momordicae, Leifsonia xyli xyli, Lentinus tigrinus, Lenzites betulina, Lenzites elegans, Lepteutypa cupressi, Leptodontidium elatius var. elatius, Leptographium microsporum, Leptosphaeria acuta, Leptosphaeria cannabina, Leptosphaeria coniothyrium, Leptosphaeria libanotis, Leptosphaeria lindquistii, Leptosphaeria maculans, Leptosphaeria musarum, Leptosphaeria pratensis, Leptosphaeria sacchari, Leptosphaeria woroninii, Leptosphaerulina crassiasca, Leptosphaerulina trifolii, Leptothyrium nervisedum, Leptotrochila medicaginis, Leucocytospora leucostoma, Leucostoma auerswaldii, Leucostoma kunzei, Leucostoma persoonii, Leveillula compositarum f. helianthi, Leveillula leguminosarum f. Lentis, Leveillula taurica, Ligniera pilorum, Limacinula tenuis, Linochora graminis, Longidorus africanus, Longidorus maximus, Longidorus sylphus, Lopharia crassa, Lophodermium, Lophodermium aucupariae, Lophodermium schweinitzii, Lophodermium seditiosum, Macrophoma mangiferae, Macrophoma theicola, Macrophomina phaseolina, Macrosporium cocos, Magnaporthe, Magnaporthe grisea, Magnaporthe salvinii, Mamianiella coryli, Marasmiellus cocophilus, Marasmiellus inoderma, Marasmiellus scandens, Marasmiellus stenophyllus, Marasmius crinis-equi, Marasmius sacchari, Marasmius semiustus, Marasmius stenophyllus, Marasmius tenuissimus, Massarina walkeri, Mauginiella scaettae, Melampsora, Melampsora lini var. Lini, Melampsora medusae, Melampsora occidentalis, Melanconis carthusiana, Melanconium juglandinum, Meliola, Meliola mangiferae, Meliolaceae, Meloidogyne acronea, Meloidogyne arenaria, Meloidogyne artiellia, Meloidogyne brevicauda, Meloidogyne chitwoodi, Meloidogyne enterolobii, Meloidogyne fruglia, Meloidogyne gajuscus, Meloidogyne incognita, Meloidogyne javanica, Meloidogyne naasi, Meloidogyne partityla, Meloidogyne thamesi, Meripilus giganteus, Merlinius brevidens, Meruliopsis ambigua, Mesocriconema xenoplax, Microascus brevicaulis, Microbotryum violaceum, Microdochium bolleyi, Microdochium dimerum, Microdochium panattonianum, Microdochium phragmitis, Microsphaera, Microsphaera coryli, Microsphaera diffusa, Microsphaera ellisii, Microsphaera euphorbiae, Microsphaera hommae, Microsphaera penicillata, Microsphaera penicillata var. Vaccinii, Microsphaera vaccinii, Microsphaera

verruculosa, Microstroma juglandis, Moesziomyces bullatus, Monilinia azaleae, Monilinia fructicola, Monilinia fructigena, Monilinia laxa, Monilinia mali, Moniliophthora perniciosa, Moniliophthora roreri, Monilochaetes infuscans, Monochaetia coryli, Monochaetia mali, Monographella albescens, Monographella cucumerina, Monographella nivalis var. neglecta, Monographella nivalis var. nivalis, Mononegavirales, Monosporascus cannonballus, Monosporascus eutypoides, Monostichella coryli, Mucor circinelloides, Mucor hiemalis, Mucor hiemalis f. silvaticus, Mucor mucedo, Mucor paronychius, Mucor piriformis, Mucor racemosus, Mycena citricolor, Mycena maculate, Mycocentrospora acerina, Mycoleptodiscus terrestris, Mycosphaerella angulata, Mycosphaerella arachidis, Mycosphaerella areola, Mycosphaerella berkeleyi, Mycosphaerella bolleana, Mycosphaerella brassicicola, Mycosphaerella caricae, Mycosphaerella caryigena, Mycosphaerella cerasella, Mycosphaerella citri, Mycosphaerella coffeicola, Mycosphaerella confusa, Mycosphaerella cruenta, Mycosphaerella dendroides, Mycosphaerella eumusae, Mycosphaerella fragariae, Mycosphaerella gossypina, Mycosphaerella graminicola, Mycosphaerella henningsii, Mycosphaerella horii, Mycosphaerella juglandis, Mycosphaerella lageniformis, Mycosphaerella linicola, Mycosphaerella louisianae, Mycosphaerella musae, Mycosphaerella musicola, Mycosphaerella palmicola, Mycosphaerella pinodes, Mycosphaerella pistaciarum, Mycosphaerella pistacina, Mycosphaerella platanifolia, Mycosphaerella polymorpha, Mycosphaerella pomi, Mycosphaerella punctiformis, Mycosphaerella pyri, Didymella rabiei, Mycosphaerella recutita, Mycosphaerella rosicola, Mycosphaerella rubi, Mycosphaerella stigmina-platani, Mycosphaerella striatiformans, Mycovellosiella concors, Mycovellosiella fulva, Mycovellosiella koepkei, Mycovellosiella vaginae, Myriogenospora aciculispora, Myrothecium roridum, Myrothecium verrucaria, Nacobbus aberrans, Nacobbus dorsalis, Naevala perexigua, Naohidemyces vaccinii, Nectria, Nectria cinnabarina, Nectria coccinea, Nectria ditissima, ectria foliicola, Nectria mammoidea var. rubi, Nectria mauritiicola, Nectria peziza, Nectria pseudotrichia, Nectria radicicola, Nectria ramulariae, Nectriella pironii, Nemania diffusa, Nemania serpens var. serpens, Nematospora coryli, Neocosmospora vasinfecta, Neodeightonia phoenicum,

Neoerysiphe, Neofabraea malicorticis, Neofabraea perennans, Neofusicoccum mangiferae, Neonectria galligena, Oidiopsis gossypii, Oidium (genus), Oidium arachidis, Oidium caricae-papayae, Oidium indicum, Oidium mangiferae, Oidium manihotis, Oidium tingitaninum, Olpidium brassicae, Omphalia tralucida, Oncobasidium theobromae, Onnia tomentosa, Ophiobolus anguillides, Ophiobolus cannabinus, Ophioirenina, Ophiostoma ulmi, Ophiostoma wageneri, Ovulariopsis papayae, Ovulinia azaleae, Ovulitis azaleae, Oxyporus corticola, Oxyporus latemarginatus, Oxyporus populinus, Oxyporus similis, Ozonium texanum var. parasiticum, Paecilomyces fulvus, Paralongidorus maximus, Paratrichodorus christiei, Paratrichodorus minor, Paratylenchus curvitatus, Paratylenchus elachistus, Paratylenchus hamatus, Paratylenchus macrophallus, Paratylenchus microdorus, Paratylenchus projectus, Paratylenchus tenuicaudatus, Pathovar, Pauahia, Peach latent mosaic viroid, Pectobacterium carotovorum, Peltaster fructicola, Penicillium aurantiogriseum, Penicillium digitatum, Penicillium expansum, Penicillium funiculosum, Penicillium glabrum, Penicillium italicum, Penicillium purpurogenum, Penicillium ulaiense, Peniophora, Peniophora albobadia, Peniophora cinerea, Peniophora quercina, Peniophora sacrata, Perenniporia fraxinea, Perenniporia fraxinophila, Perenniporia medulla-panis, Perenniporia subacida, Periconia circinata, Periconiella cocoes, Peridermium californicum, Peronosclerospora miscanthi, Peronosclerospora sacchari, Peronosclerospora sorghi, Peronospora, Peronospora anemones, Peronospora antirrhini, Peronospora arborescens, Peronospora conglomerata, Peronospora destructor, Peronospora dianthi, Peronospora dianthicola, Peronospora farinosa, Peronospora farinosa f.sp. betae, Peronospora hyoscyami f.sp. Tabacina, Peronospora manshurica, Peronospora potentillae, Peronospora sparsa, Peronospora trifoliorum, Peronospora valerianellae, Peronospora viciae, Pestalosphaeria concentrica, Pestalotia longiseta, Pestalotia longisetula, Pestalotia rhododendri, Pestalotiopsis, Pestalotiopsis adusta, Pestalotiopsis arachidis, Pestalotiopsis disseminata, Pestalotiopsis guepini, Pestalotiopsis leprogena, Pestalotiopsis longiseta, Pestalotiopsis mangiferae, Pestalotiopsis palmarum, Pestalotiopsis sydowiana, Pestalotiopsis theae, Pestalotiopsis versicolor,

Phacidiopycnis padwickii, Phacidium infestans, Phaeochoropsis mucosa, Phaeocytostroma iliau, Phaeocytostroma sacchari, Phaeoisariopsis bataticola, Phaeolus schweinitzii, Phaeoramularia angolensis, Phaeoramularia dissiliens, Phaeoramularia heterospora, Phaeoramularia manihotis, Phaeoseptoria musae, Phaeosphaerella mangiferae, Phaeosphaerella theae, Phaeosphaeria avenaria f.sp. avenaria, Phaeosphaeria avenaria f.sp. Triticae, Phaeosphaeria herpotrichoides, Phaeosphaeria microscopica, Phaeosphaeria nodorum, Phaeosphaeriopsis obtusispora, Phaeotrichoconis crotalariae, Phakopsora gossypii, Phakopsora pachyrhizi, Phanerochaete allantospora, Phanerochaete arizonica, Phanerochaete avellanea, Phanerochaete burtii, Phanerochaete carnosa, Phanerochaete chrysorhizon, Phanerochaete radicata, Phanerochaete salmonicolor, Phanerochaete tuberculata, Phanerochaete velutina, Phellinus ferreus, Phellinus gilvus, Phellinus igniarius, Phellinus pini, Phellinus pomaceus, Phellinus weirii, Phialophora asteris, Phialophora cinerescens, Phialophora gregata, Phialophora tracheiphila, Phloeospora multimaculans, Pholiota variicystis, Phoma, Phoma caricae-papayae, Phoma clematidina, Phoma costaricensis, Phoma cucurbitacearum, Phoma destructiva, Phoma draconis, Phoma eupyrena, Phoma exigua, Phoma exigua var. exigua, Phoma exigua var. foveata, Phoma exigua var. Linicola, Phoma glomerata, Phoma glycinicola, Phoma herbarum, Phoma insidiosa, Phoma medicaginis, Phoma microspora, Phoma nebulosa, Phoma oncidii-sphacelati, Phoma pinodella, Phoma scabra, Phoma sclerotioides, Phoma strasseri, Phoma tracheiphila, Phomopsis arnoldiae, Phomopsis asparagi, Phomopsis asparagicola, Phomopsis azadirachtae, Phomopsis cannabina, Phomopsis caricae-papayae, Phomopsis coffeae, Phomopsis elaeagni, Phomopsis ganjae, Phomopsis javanica, Phomopsis lokoyae, Phomopsis mangiferae, Phomopsis obscurans, Phomopsis perseae, Phomopsis prunorum, Phomopsis scabra, Phomopsis sclerotioides, Phomopsis tanakae, Phomopsis theae, Photoassimilate, Phragmidium, Phragmidium mucronatum, Phragmidium rosae-pimpinellifoliae, Phragmidium rubi-idaei, Phragmidium violaceum, Phyllachora cannabis, Phyllachora graminis var. graminis, Phyllachora gratissima, Phyllachora musicola, Phyllachora pomigena, Phyllachora sacchari, Phyllactinia,

Phyllactinia angulata, Phyllactinia guttata, Phyllody, Phyllosticta, Phyllosticta alliariaefoliae, Phyllosticta anacardiacearum, Phyllosticta arachidis-hypogaeae, Phyllosticta batatas, Phyllosticta capitalensis, Phyllosticta caricae-papayae, Phyllosticta carpogena, Phyllosticta circumscissa, Phyllosticta coffeicola, Phyllosticta concentrica, Phyllosticta coryli, Phyllosticta cucurbitacearum, Phyllosticta cyclaminella, Phyllosticta erratica, Phyllosticta hawaiiensis, Phyllosticta lentisci, Phyllosticta manihotis, Phyllosticta micropuncta, Phyllosticta mortonii, Phyllosticta nicotianae, Phyllosticta palmetto, Phyllosticta penicillariae, Phyllosticta perseae, Phyllosticta platani, Phyllosticta pseudocapsici, Phyllosticta sojaecola, Phyllosticta solitaria, Phyllosticta theae, Phyllosticta theicola, Phymatotrichopsis omnivora, Physalospora abdita, Physalospora disrupta, Physalospora perseae, Physarum cinereum, Physoderma alfalfae, Physoderma leproides, Physoderma trifolii, Physopella ampelopsidis, Phytophthora, Phytophthora alni, Phytophthora boehmeriae, Phytophthora cactorum, Phytophthora cajani, Phytophthora cambivora, Phytophthora capsici, Phytophthora cinnamomi, Phytophthora citricola, Phytophthora citrophthora, Phytophthora cryptogea, Phytophthora drechsleri, Phytophthora erythroseptica, Phytophthora fragariae, Phytophthora fragariae var. rubi, Phytophthora gallica, Phytophthora hibernalis, Phytophthora infestans, Phytophthora inflata, Phytophthora iranica, Phytophthora katsurae, Phytophthora kernoviae, Phytophthora lateralis, Phytophthora medicaginis, Phytophthora megakarya, Phytophthora megasperma, Phytophthora nicotianae, Phytophthora palmivora, Phytophthora phaseoli, Phytophthora plurivora, Phytophthora ramorum, Phytophthora sojae, Phytophthora syringae, Phytophthora tentaculata, Phytoplasma, Pichia membranifaciens, Pichia subpelliculosa, Pileolaria terebinthi, Pilidiella quercicola, Plasmodiophora brassicae, Plasmopara, Plasmopara halstedii, Plasmopara helianthi f. helianthi, Plasmopara lactucae-radicis, Plasmopara nivea, Plasmopara obducens, Plasmopara penniseti, Plasmopara pygmaea, Plasmopara viticola, Platychora ulmi, Plenodomus destruens, Plenodomus meliloti, Pleochaeta, Pleosphaerulina sojicola, Pleospora cỏ linh lăng, Pleospora betae, Pleospora herbarum, Pleospora lycopersici, Pleospora

tarda, Pleospora theae, Pleurotus dryinus, Podosphaera, Podosphaera clandestina var. clandestine, Podosphaera fusca, Podosphaera leucotricha, Podosphaera macularis, Podosphaera pannosa, Podosphaera tridactyla, Podosphaera tridactyla var. Tridactyla, Podosphaera xanthii, Polymyxa graminis, Polyscytalum pustulans, Polystigma fulvum, Poria hypobrunnea, Postia tephroleuca, Potato cyst nematode, Pratylenchus alleni, Pratylenchus brachyurus, Pratylenchus coffeae, Pratylenchus crenatus, Pratylenchus dulscus, Pratylenchus fallax, Pratylenchus flakkensis, Pratylenchus goodeyi, Pratylenchus hexincisus, Pratylenchus loosi, Pratylenchus minutus, Pratylenchus mulchandi, Pratylenchus musicola, Pratylenchus neglectus, Pratylenchus penetrans, Pratylenchus pratensis, Pratylenchus reniformia, Pratylenchus scribneri, Pratylenchus thornei, Pratylenchus vulnus, Pratylenchus zeae, Pseudocercospora, Pseudocercospora arecacearum, Pseudocercospora cannabina, Pseudocercospora fuligena, Pseudocercospora gunnerae, Pseudocercospora kaki, Pseudocercospora mali, Pseudocercospora pandoreae, Pseudocercospora puderi, Pseudocercospora purpurea, Pseudocercospora rhapisicola, Pseudocercospora subsessilis, Pseudocercospora theae, Pseudocercospora vitis, Pseudocercosporella capsellae, Pseudocochliobolus eragrostidis, Pseudoepicoccum cocos, Pseudomonas amygdali, Pseudomonas asplenii, Pseudomonas avellanae, Pseudomonas caricapapayae, Pseudomonas cichorii, Pseudomonas coronafaciens, Pseudomonas corrugate, Pseudomonas ficuserectae, Pseudomonas flavescens, Pseudomonas fuscovaginae, Pseudomonas helianthi, Pseudomonas marginalis, Pseudomonas meliae, Pseudomonas oryzihabitans, Pseudomonas palleroniana, Pseudomonas papaveris, Pseudomonas salomonii, Pseudomonas savastanoi, Pseudomonas syringae, Pseudomonas cà chua, Pseudomonas tremae, Pseudomonas turbinellae, Pseudomonas viridiflava, Pseudoperonospora cannabina, Pseudoperonospora cubensis, Pseudoperonospora humuli, Pseudopezicula tetraspora, Pseudopezicula tracheiphila, Pseudopeziza jonesii, Pseudopeziza medicaginis, Pseudopeziza trifolii, Pseudoseptoria donacis, Puccinia, Puccinia angustata, Puccinia arachidis, Puccinia aristidae, Puccinia asparagi, Puccinia cacabata, Puccinia campanulae, Puccinia carthami, Puccinia coronate, Puccinia coronata var. hordei, Puccinia dioicae, Puccinia erianthi,

Puccinia extensicola var. hieraciata, Puccinia helianthi, Puccinia hordei, Puccinia jaceae var. solstitialis, Puccinia kuehnii, Puccinia mariae-wilsoniae, Puccinia melanocephala, Puccinia menthae, Puccinia pelargonii-zonalis, Puccinia pittieriana, Puccinia poarum, Puccinia psidii, Puccinia purpurea, Puccinia recondita, Puccinia schedonnardii, Puccinia sessilis, Puccinia striiformis f. sp. hordei, Puccinia striiformis var. striiformis, Puccinia subnitens, Puccinia substriata var. indica, Puccinia verruca, Puccinia xanthii, Pucciniaceae, Pucciniastrum, Pucciniastrum americanum, Pucciniastrum arcticum, Pucciniastrum coryli, Pucciniastrum epilobii, Pucciniastrum hydrangeae, Punctodera chalcoensis, Pycnoporus cinnabarinus, Pycnoporus sanguineus, Pycnostysanus azaleae, Pyrenochaeta lycopersici, Pyrenochaeta terrestris, Pyrenopeziza brassicae, Pyrenophora, Pyrenophora avenae, Pyrenophora chaetomioides, Pyrenophora graminea, Pyrenophora seminiperda, Pyrenophora teres, Pyrenophora teres f. maculata, Pyrenophora teres f. Teres, Pyrenophora tritici-repentis, Pythiaceae, Pythiales, Pythium, Pythium acanthicum, Pythium aphanidermatum, Pythium aristosporum, Pythium arrhenomanes, Pythium buismaniae, Pythium debaryanum, Pythium deliense, Pythium dissotocum, Pythium graminicola, Pythium heterothallicum, Pythium hypogynum, Pythium irregulare, Pythium iwayamae, Pythium mastophorum, Pythium middletonii, Pythium myriotylum, Pythium okanoganense, Pythium paddicum, Pythium paroecandrum, Pythium perniciosum, Pythium rostratum, Pythium scleroteichum, Pythium spinosum, Pythium splendens, Pythium sulcatum, Pythium sylvaticum, Pythium tardicrescens, Pythium tracheiphilum, Pythium ultimum, Pythium ultimum var. ultimum, Pythium vexans, Pythium violae, Pythium volutum, Quinisulcius acutus, Quinisulcius capitatus, Radopholous similis, Radopholus similis, Ralstonia solanacearum, Ramichloridium musae, Ramularia, Ramularia beticola, Ramularia brunnea, Ramularia coryli, Ramularia cyclaminicola, Ramularia macrospora, Ramularia menthicola, Ramularia necator, Ramularia primulae, Ramularia spinaciae, Ramularia subtilis, Ramularia tenella, Ramulispora sorghi, Ramulispora sorghicola, Resinicium bicolor, Rhabdocline pseudotsugae, Rhabdocline weirii Rhabdoviridae, Rhinocladium corticola, Rhizoctonia, Rhizoctonia leguminicola, Rhizoctonia rubi,

Rhizoctonia solani, Rhizomorpha subcorticalis, Rhizophydium graminis, Rhizopus arrhizus, Rhizopus circinans, Rhizopus microsporus var. microspores, Rhizopus oryzae, Rhodococcus fascians, Rhynchosporium, Rhynchosporium secalis, Rhytidhysteron rufulum, Rhytisma acerinum, Rhytisma vitis, Rigidoporus lineatus, Rigidoporus microporus, Rigidoporus ulmarius, Rigidoporus vinctus, Rosellinia arcuata, Rosellinia bunodes, Rosellinia necatrix, Rosellinia pepo, Rosellinia subiculata, Rotylenchulus, Rotylenchulus parvus, Rotylenchulus reniformis, Rotylenchus brachyurus, Rotylenchus robustus, Saccharicola taiwanensis, Saccharomyces florentinus, Saccharomyces kluyveri, Sarocladium oryzae, Sawadaea, Sawadaea tulasnei, Schiffnerula cannabis, Schizoparme straminea, Schizophyllum commune, Schizopora flavipora, Schizothyrium pomi, Scleroderris canker, Sclerophthora macrospora, Sclerophthora rayssiae, Sclerospora graminicola, Sclerospora mischanthi, Sclerotinia borealis, Sclerotinia minor, Sclerotinia ricini, Sclerotinia sclerotiorum, Sclerotinia spermophila, Sclerotinia trifoliorum, Sclerotium, Sclerotium cinnamomi, Sclerotium delphinii, Scutellonema brachyurum, Scutellonema cavenessi, Scytinostroma galactinum, Seimatosporium mariae, Seimatosporium rhododendri, Selenophoma linicola, Septobasidium, Septobasidium bogoriense, Septobasidium pilosum, Septobasidium pseudopedicellatum, Septobasidium theae, Septocyta ruborum, Septogloeum potentillae, Septoria, Septoria aciculosa, Septoria ampelina, Septoria azalea, Septoria bataticola, Septoria campanulae, Septoria cannabis, Septoria caryae, Septoria citri, Septoria cucurbitacearum, Septoria darrowii, Septoria dianthi, Septoria eumusae, Septoria fragariae, Septoria fragariaecola, Septoria glyxin, Septoria helianthi, Septoria humuli, Septoria hydrangeae, Septoria lactucae, Septoria liquidambaris, Septoria lycopersici, Septoria lycopersici var. malagutii, Septoria menthae, Septoria ostryae, Septoria passerinii, Septoria pisi, Septoria pistaciae, Septoria platanifolia, Septoria rhododendri, Septoria secalis, Septoria selenophomoides, Setosphaeria rostrata, Setosphaeria turcica, Sirosporium diffusum, Sparassis, Sphaceloma, Sphaceloma arachidis, Sphaceloma coryli, Sphaceloma menthae, Sphaceloma perseae, Sphaceloma poinsettiae, Sphaceloma pyrinum, Sphaceloma randii, Sphaceloma sacchari, Sphaceloma theae,

Sphacelotheca reiliana, Sphaerella platanifolia, Sphaeropsis tumefaciens, Sphaerotheca, Sphaerotheca castagnei, Sphaerotheca fuliginea, Sphaerulina oryzina, Sphaerulina rehmiana, Sphaerulina rubi, Sphenospora kevorkianii, Spiniger meineckellus, Spiroplasma, Spongipellis unicolor, Sporisorium cruentum, Sporisorium ehrenbergi, Sporisorium scitamineum, Sporisorium sorghi, Sporonema phacidioides, Stagonospora avenae f.sp. Triticae, Stagonospora meliloti, Stagonospora recedens, Stagonospora sacchari, Stagonospora tainanensis, Steccherinum ochraceum, Stegocintractia junci, Stegophora ulmea, Stemphylium cỏ linh lăng, Stemphylium bolickii, Stemphylium cannabinum, Stemphylium globuliferum, Stemphylium lycopersici, Stemphylium sarciniforme, Stemphylium solani, Stemphylium vesicarium, Stenella anthuriicola, Stereum, Stereum hirsutum, Stereum rameale, Stereum sanguinolentum, Stigmatomycosis, Stigmella platani-racemosae, Stigmina carpophila, Stigmina liquidambaris, Stigmina palmivora, Stigmina platani, Stigmina platani-racemosae, Subanguina radicicola, Subanguina wevelli, Sydowia polyspora, Sydowiella depressula, Sydowiellaceae, Synchytrium endobioticum, Synchytrium fragariae, Synchytrium liquidambaris, Taiwanonấm camphoratus, Tapesia acuformis, Tapesia yallundae, Taphrina aurea, Taphrina bullata, Taphrina caerulescens, Taphrina coryli, Taphrina deformans, Taphrina entomospora, Taphrina johansonii, Taphrina potentillae, Taphrina ulmi, Taphrina wiesneri, Thanatephorus cucumeris, Thielaviopsis, Thielaviopsis basicola, Thyrostroma compactum, Tilletia barclayana, Tilletia caries, Tilletia controversa, Tilletia laevis, Tilletia tritici, Tilletia walkeri, Tilletiariaceae, Tobacco necrosis virus, Togniniaceae, Trachysphaera fructigena, Trametes gibbosa, Trametes hirsute, Trametes nivosa, Trametes pubescens, Tranzschelia discolor f.sp. persica, Tranzschelia pruni-spinosae var. discolor, Trichaptum biforme, Trichoderma harzianum, Trichoderma koningii, Trichoderma viride, Trichothecium roseum, Tripospermum acerinum, Truncatella, Truncatella laurocerasi, Tubercularia lateritia, Tubercularia ulmea, Tubeufia pezizula, Tunstallia aculeata, Tylenchorhynchus, Tylenchorhynchus brevilineatus, Tylenchorhynchus claytoni, Tylenchorhynchus dubius, Tylenchorhynchus maximus, Tylenchorhynchus nudus, Tylenchorhynchus phaseoli, Tylenchorhynchus vulgaris, Tylenchorhynchus zeae,

Tylenchulus semipenetrans, Typhula idahoensis, Typhula incarnate, Typhula ishikariensis, Typhula ishikariensis var. canadensis, Typhula variabilis, Typhulochaeta, Tyromyces calkinsii, Tyromyces chioneus, Tyromyces galactinus, Ulocladium atrum, Ulocladium consortiale, Uncinula, Uncinula macrospora, Uncinula necator, Uredo behnickiana, Uredo kriegeriana, Uredo musae, Uredo nigropuncta, Uredo rangelii, Urocystis, Urocystis agropyri, Urocystis brassicae, Urocystis occulta, Uromyces, Uromyces apiosporus, Uromyces beticola, Uromyces ciceris-arietini, Uromyces dianthi, Uromyces euphorbiae, Uromyces graminis, Uromyces inconspicuus, Uromyces lineolatus subsp. nearcticus, Uromyces medicaginis, Uromyces musae, Uromyces oblongus, Uromyces pisi-sativi, Uromyces proëminens var. poinsettiae, Uromyces trifolii-repentis var. fallens, Uromyces viciae-fabae var. Viciae-fabae, Urophlyctis leproides, Urophlyctis trifolii, Urophora cardui, Ustilaginales, Ustilaginoidea virens, Ustilaginomycetes, Ustilago, Ustilago avenae, Ustilago hordei, Ustilago maydis, Ustilago nigra, Ustilago nuda, Ustilago scitaminea, Ustilago tritici, Valsa abietis, Valsa ambiens, Valsa auerswaldii, Valsa ceratosperma, Valsa kunzei, Valsa nivea, Valsa sordida, Valsaria insitiva, Venturia carpophila, Venturia inaequalis, Venturia pirina, Venturia pyrina, Veronaea musae, Verticillium, Verticillium albo-atrum, Verticillium albo-atrum var. menthae, Verticillium dahliae, Verticillium longisporum, Verticillium theobromae, Villosiclava virens, Virescence, Waitea circinata, Wuestneiopsis Georgiana, Xanthomonas ampelina, Xanthomonas axonopodis, Xanthomonas campestris, Xanthomonas campestris pv. campestris, Xanthomonas oryzae, Xeromphalina fraxinophila, Xiphinema americanum, Xiphinema bakeri, Xiphinema brevicolle, Xiphinema diversicaudatum, Xiphinema insigne, Xiphinema rivesi, Xiphinema vuittenezi, Xylaria mali, Xylaria polymorpha, Xylella fastidiosa, Xylophilus, Xylophilus ampelinus, Zopfia rhizophila, ZygoSaccharomyces bailii, và *ZygoSaccharomyces florentinus*.

Mầm bệnh côn trùng và mầm bệnh sâu bao gồm *Acalymma*, *Acyrthosiphon pisum*, sâu sọc rằn Châu Phi, ong lai Châu Phi, *Agromyzidae*, *Agrotis munda*, *Agrotis porphyricollis*, *Aleurocanthus woglumi*, *Aleyrodes proletella*, *Alphitobius diaperinus*, *Altica chalybea*, *Anasa tristis*, *Anguina tritici*, *Anisoplia austriaca*,

Anthonomus pomorum, Anthonomus signatus, Aonidiella aurantii, Apamea apamiformis, Apamea niveivenosa, Aphelenchoides spp., rệp, *Aphis gossypii*, giòi táo, kiến Argentina, sâu bướm đêm sọc rằn, *Arotrophora arcuatalis, Asterolecanium coffeae, Athous haemorrhoidalis, Aulacophora*, châu chấu Úc, *Bactericera cockerelli, Bactrocera, Bactrocera correcta, Bagrada hilaris*, bọ đục thân hồ đào, sâu xanh da láng, *Belonolaimus spp.*, rệp muội đen, *Blepharidopterus chlorionis*, ngài đêm Bogong, bọ rùa đục quả nang, *Bradysia similigibbosa*, ruồi nhuế đục quả đậu *Brassica*, *Brevicoryne brassicae*, châu chấu nâu, bọ xít màu cẩm thạch nâu, châu chấu nâu, *Bursephelenchus spp.*, bướm đêm cải bắp, sâu cải bắp, *Callosobruchus maculatus*, bọ mía, ruồi cà rốt, tuyến trùng nang ngũ cốc, *Cecidomyiidae, Ceratitis capitata, Ceratitis rosa*, bọ lá ngũ cốc, *Chlorops pumilionis*, bộ sừng dài cam chanh, *Coccus viridis*, sâu đục quả táo, bọ đục quả cà phê, bọ khoai tây Colorado, bọ hại bột mỳ, bướm trắng nhỏ, bọ ăn lá dưa chuột, *Curculio nucum, Curculio occidentis*, sâu bướm đêm, *Cyclocephala borealis*, sâu bướm đêm màu đen, bọ đục hạt chà là, *Delia spp., Delia antiqua, Delia floralis, Delia radicum, Desert locust, Diabrotica, Diabrotica balteata, Diabrotica speciosa*, sâu tơ, *Diaphania indica, Diaphania nitidalis, Diaphorina citri, Diaprepes abbreviatus, Diatraea saccharalis*, châu chấu biệt hóa, *Ditylenchus spp., Dociostaurus maroccanus, Drosophila suzukii, Dryocosmus kuriphilus, Earias perhuegeli, Epicauta vittata, Epilachna varivestis, Erionota thrax, Eriosomatinae, Euleia heraclei, Eumetopina flavipes, Eupoecilia ambiguella*, sâu đục ngô Châu Âu, *Eurydema oleracea, Eurygaster integriceps*, bọ rừng, *Frankliniella tritici, Galleria mellonella*, bướm nâu, bọ chích hút cánh giống thủy tinh, ruồi trắng nhà kính, *Gryllotalpa orientalis, Gryllus pennsylvanicus*, sâu bướm gypsy, *Helicoverpa armigera, Helicoverpa gelotopoeon, Helicoverpa punctigera, Helicoverpa zea, Heliothis virescens, Henosepilachna vigintioctopunctata, Hessian fly, Heterodera spp., Jacobiasca formosana*, bọ dừa Nhật Bản, mọt cứng đốt, *Lampides boeticus*, sâu ăn lá, *Lepidiota consobrina, Lepidosaphes beckii, Lepidosaphes ulmi, Leptoglossus zonatus, Leptopterna dolabrata*, sâu bướm sáp nhỏ, *Leucoptera* (sâu bướm), *Leucoptera caffeina,* sâu bướm táo nâu nhạt, *Lissorhoptrus oryzophilus*, sâu bướm đuôi dài, *Lygus, Lygus hesperus, Maconellicoccus hirsutus, Macrodactylus*

subspinosus, Macrosiphum euphorbiae, mọt ngô, *Manduca sexta, Mayetiola hordei, Mealybug, Meloidogyne spp., Megacopta cribraria, Metcalfa pruinosa*, các loài sâu bướm, sâu bướm tỏi tây, *Myzus persicae, Naccobus spp., Nezara viridula*, sâu bướm di chuyển theo đàn trên cây sồi, ruồi đục quả ôliu, *Ophiomyia simplex, Opisina arenosella, Opomyza, Opomyza florum, Opomyzidae, Oscinella frit, Ostrinia furnacalis, Oxycarenus hyalinipennis*, bọ sáp trắng quả đu đủ, *Papilio demodocus, Paratachardina pseudolobata, Pentatomoidea, Phthorimaea operculella, Phyllophaga, Phylloxera, Phylloxeridae, Phylloxeroidea, Pieris brassicae*, sâu đục quả nang màu hồng, *Planococcus citri, Platynota idaeusalis, Plum curculio, Pratylenchus spp., Prionus californicus, Pseudococcus viburni, Pyralis farinalis*, kiến lửa đỏ, châu chấu đỏ, tuyến trùng gây tổn thương rễ, tuyến trùng sần rễ, *Radopholus spp., Rotylenchulus spp., Rhagoletis cerasi, Rhagoletis indifferens, Rhagoletis mendax, Rhopalosiphum maidis, Rhyacionia frustrana, Rhynchophorus ferrugineus, Rhynchophorus palmarum, Rhyzopertha*, sâu bướm lúa gạo, bọ xít lúa gạo, rệp lúa mì Nga, rệp vảy San Jose, côn trùng vảy, *Schistocerca americana, Sciaridae, Scirtothrips dorsalis, Scutelleridae, Scutiphora pedicellata*, tuyến trùng gây nốt hạt, sâu ăn lá ngoằn ngoèo, ruồi trắng lá bạc, *Sipha flava*, bọ tổ ong nhỏ, sâu đục ngô Southwestern (vùng Tây Nam), rệp đậu nành, *Spodoptera cilium, Spodoptera litura*, bọ ăn lá dưa chuột có đốm, sâu đục thân bầu bí, tuyến trùng đục thân, *Stenotus binotatus, Strauzia longipennis*, bọ nhảy sọc, loài gây hại cây lục lạc, bọ khoai lang, bọ thực vật xỉn màu, bọ trĩ, *Thrips angusticeps, Thrips palmi, Toxoptera citricida, Trichodorus spp., Trioza erytreae*, sâu bướm xám, *Tuta absoluta, Tylenchulus spp.*, bọ gây hại cho thảm đa dạng, *Virachola isocrates*, sâu sáp, sâu rễ ngô Western, bọ trĩ hoa Western, ruồi lúa mì, mọt lúa mì, ruồi trắng, sâu bướm mùa đông, và *Xiphenema spp.*

Ví dụ, mầm bệnh côn trùng hoặc mầm bệnh sâu có thể là sâu sọc rằn, sâu bướm đêm đen, sâu đục ngô Châu Âu, sâu sọc rằn mùa thu, sâu bướm đêm, bọ dừa Nhật Bản, sâu đục thân ngô nhỏ, bọ có mỏ hại ngô, giòi đục hạt giống ngô, sâu mạng tơ, sâu đục thân ngô miền nam, sâu đục rễ ngô miền nam, sâu dây ăn củ khoai tây miền nam, sâu đục thân, bọ mía, sùng trắng, sâu đo trên cải bắp, bọ rùa đục quả

nang, sâu sọc rằn có dải vàng, bọ lá ngũ cốc, bọ rệp, rệp, sâu xanh da láng, bọ đậu Mexico, sâu đo trên đậu nành, sâu đục thân đậu nành, hoặc tổ hợp của chúng.

Các protein và các peptit có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật

Sáng chế còn đề cập đến protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử và ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật.

Ví dụ, peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật bao gồm enzym mà làm suy thoái hợp chất liên quan đến điều kiện khắc nghiệt. Các hợp chất liên quan đến điều kiện khắc nghiệt bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit aminoxyclopropan-1-carboxylic (ACC), loại oxy có tính phản ứng, nitơ monoxit, oxylipin và phenolic. Loại oxy có tính phản ứng cụ thể bao gồm hyđroxyl, hyđro peroxit, oxy và superoxit. Enzym mà làm suy thoái hợp chất liên quan đến điều kiện khắc nghiệt có thể bao gồm superoxit đismutaza, oxiđaza, catalaza, axit aminoxyclopropan-1-carboxylic đeaminaza, peroxiđaza, enzym chống oxy hóa, hoặc peptit chống oxy hóa.

Peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật còn có thể bao gồm peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi điều kiện khắc nghiệt của môi trường. Điều kiện khắc nghiệt của môi trường có thể bao gồm, ví dụ, hạn hán, lụt, nhiệt, băng giá, muối, kim loại nặng, độ pH thấp, độ pH cao, hoặc tổ hợp của chúng. Ví dụ, peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi điều kiện khắc nghiệt của môi trường có thể bao gồm protein tạo nhân tinh thể băng, prolinaza, phenylalanin amoniac lyaza, isochorismat syntaza, isochorismat pyruvat lyaza, hoặc cholin đehyđrogenaza.

Các peptit và protein liên kết với thực vật

Sáng chế còn đề cập đến protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử và ít nhất peptit hoặc protein liên kết với thực vật. Peptit hoặc protein liên kết với thực vật có thể là peptit hoặc protein bất kỳ mà có khả năng liên kết đặc hiệu hoặc không đặc hiệu với phần

bất kỳ của thực vật (ví dụ, rễ thực vật hoặc phần thực vật trong không khí như lá, thân, hoa, hoặc quả) hoặc với chất thực vật. Vì vậy, ví dụ, peptit hoặc protein liên kết với thực vật có thể là peptit hoặc protein liên kết với rễ, hoặc peptit hoặc protein liên kết với lá.

Các peptit và protein liên kết với thực vật thích hợp bao gồm các adhesin (ví dụ, rhicadhesin), flagellin, omptin, lectin, expansin, các protein cấu trúc màng sinh học (ví dụ, TasA hoặc YuaB), protein nhung mao, protein quăn, intimin, invasin, agglutinin, và protein không tua.

Các protein dung hợp khác

Sáng chế còn đề cập đến protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein đang được quan tâm và protein lớp ngoại bào tử chứa protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 85% với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 71, 75, 80, 81, 82, 83 và 84. Theo cách khác, protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm trình tự axit amin có ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, hoặc ít nhất 100% độ đồng nhất với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 71, 75, 80, 81, 82, 83 và 84.

Peptit hoặc protein đang được quan tâm có thể bao gồm peptit hoặc protein bất kỳ. Ví dụ, peptit hoặc protein đang được quan tâm có thể bao gồm loại bất kỳ trong số các protein hoặc các peptit được mô tả trong tài liệu này. Ví dụ, peptit hoặc protein đang được quan tâm có thể bao gồm loại bất kỳ trong số các peptit hoặc các protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật được mô tả trong tài liệu này, loại bất kỳ trong số các protein hoặc các peptit mà bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh được mô tả trong tài liệu này, loại bất kỳ trong số các protein hoặc các peptit mà nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật được mô tả trong tài liệu này, hoặc loại bất kỳ trong số các peptit hoặc protein liên kết với thực vật được mô tả trong tài liệu này.

Vì vậy, trường hợp peptit hoặc protein đang được quan tâm bao gồm peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật này có thể bao gồm peptit hocmon, peptit không hocmon, hoặc enzym liên quan đến việc sản xuất hoặc hoạt hóa hợp chất

kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật. Theo cách khác, peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật có thể bao gồm enzym bất kỳ trong số các enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật được mô tả dưới đây.

Các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp mà biểu hiện protein dung hợp

Sáng chế còn đề cập đến thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp mà biểu hiện protein dung hợp. Protein dung hợp có thể là protein bất kỳ trong số các protein dung hợp được bàn trên đây.

Thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp có thể đồng biểu hiện từ hai protein bất kỳ trở lên trong số các protein dung hợp được bàn trên đây. Ví dụ, thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp có thể đồng biểu hiện ít nhất một protein dung hợp mà bao gồm peptit hoặc protein liên kết với thực vật, cùng với ít nhất một protein dung hợp bao gồm peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, ít nhất một protein dung hợp bao gồm peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh, hoặc ít nhất một peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật.

Thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp có thể bao gồm *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoides*, *Bacillus samanii, Bacillus gaemokensis, Bacillus weihenstephensis*, hoặc tổ hợp của chúng. Ví dụ, thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp có thể bao gồm *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis, Bacillus pseudomycoides*, hoặc *Bacillus mycoides*. Cụ thể là, thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp có thể bao gồm *Bacillus thuringiensis* hoặc *Bacillus mycoides*.

Để tạo thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp, thành viên họ *Bacillus cereus* bất kỳ có thể được tiếp hợp, được tải nạp, hoặc được biến nạp bằng vectơ mã hóa protein dung hợp bằng cách sử dụng các phương pháp tiêu chuẩn đã biết trong lĩnh vực này (ví dụ, bằng phương pháp mở lỗ bằng xung điện). Sau đó, có thể sàng lọc vi khuẩn để nhận diện các thể biến nạp bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, trường hợp vectơ bao gồm gen chống chịu chất kháng sinh, thì vi khuẩn có thể được sàng lọc về khả năng chống chịu chất

kháng sinh. Theo cách khác, ADN mã hóa protein dung hợp có thể được tích hợp vào ADN nhiễm sắc thể của vật chủ thành viên họ *B. cereus*. Sau đó, có thể cho thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp tiếp xúc với các điều kiện mà sẽ kích thích khả năng hình thành bào tử. Các điều kiện thích hợp cho việc kích thích khả năng hình thành bào tử thì đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp có thể được dàn mỏng lên đĩa aga, và được ủ ở nhiệt độ là 30°C trong một vài ngày (ví dụ, 3 ngày).

Các chủng bị bất hoạt, các chủng không độc, hoặc các chủng được thao tác về gen của loài bất kỳ trong số các loài trên đây cũng có thể được sử dụng một cách thích hợp. Ví dụ, có thể sử dụng *Bacillus thuringiensis* mà thiếu độc tố Cry. Theo cách khác hoặc ngoài ra, một khi đã tạo ra được các bào tử họ *B. cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp, thì có thể làm bất hoạt chúng để phòng ngừa hiện tượng nảy mầm thêm một khi đưa vào sử dụng. Có thể sử dụng phương pháp bất kỳ dùng để làm bất hoạt các bào tử vi khuẩn mà đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các phương pháp thích hợp bao gồm, mà không giới hạn ở, xử lý nhiệt, chiếu xạ gamma, chiếu xạ tia X, chiếu xạ UV-A, chiếu xạ UV-B, xử lý bằng hóa chất (ví dụ, xử lý bằng gluteralđehyt, formalđehyt, hyđro peroxit, axit axetic, chất tẩy trắng, hoặc dạng kết hợp bất kỳ của chúng), hoặc tổ hợp của chúng. Theo cách khác, có thể sử dụng các bào tử được tạo ra từ các chủng không sinh độc tố, hoặc các chủng bị bất hoạt bằng cách vật lý hoặc gen.

Các thành viên họ Bacillus cereus tái tổ hợp có các tác dụng thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật và/hoặc các thuộc tính có lợi khác

Nhiều chủng thành viên họ *Bacillus cereus* có các thuộc tính có lợi vốn có. Ví dụ, một số chủng có các tác dụng thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật. Protein bất kỳ trong số các protein dung hợp được mô tả trong tài liệu này có thể được biểu hiện ở các chủng như vậy.

Ví dụ, thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp có thể bao gồm chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật.

Chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật có thể bao gồm chủng vi khuẩn mà sản sinh độc tố diệt côn trùng (ví dụ, độc tố Cry), sản sinh hợp

chất diệt nấm (ví dụ, β-1,3-glucanaza, chitosinaza, lyticaza, hoặc tổ hợp của chúng), sản sinh hợp chất diệt tuyến trùng (ví dụ, độc tố Cry), sản sinh hợp chất diệt vi khuẩn, là kháng lại một hoặc nhiều chất kháng sinh, bao gồm một hoặc nhiều plasmit sao chép tự do, liên kết với rễ thực vật, xâm chiếm rễ thực vật, tạo màng sinh học, làm tan dưỡng chất, tiết các axit hữu cơ, hoặc dạng kết hợp bất kỳ của chúng.

Ví dụ, trường hợp thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp bao gồm chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật, thì chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật này có thể bao gồm *Bacillus mycoides* BT155 (NRRL No. B-50921), *Bacillus mycoides* EE118 (NRRL No. B-50918), *Bacillus mycoides* EE141 (NRRL No. B-50916), *Bacillus mycoides* BT46-3 (NRRL No. B-50922), thành viên họ *Bacillus cereus* EE128 (NRRL No. B-50917), *Bacillus thuringiensis* BT013A (NRRL No. B-50924), hoặc thành viên họ *Bacillus cereus* EE349 (NRRL No. B-50928). Mỗi chủng trong số các chủng này được lưu chiểu tại Trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp (Agricultural Research Service-ARS) của Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ (United States Department of Agriculture-USDA), có địa chỉ là 1815 North University Street, Peoria, Illinois 61604 U.S.A., vào ngày 10 tháng 3 năm 2014, và được nhận diện theo số lưu chiểu NRRL được đặt trong dấu ngoặc đơn.

Các chủng thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật này được phân lập khỏi bầu rễ của các thực vật khỏe mạnh khác nhau và được nhận diện theo các trình tự ARN ribosom 16S của chúng (được đưa ra trong tài liệu này là các SEQ ID NO 104–110), và thông qua các thử nghiệm hóa sinh. Các chủng được nhận diện ít nhất đến tên gọi chi của chúng bằng phương tiện là chỉ báo hóa sinh học và chỉ báo hình thái học thông thường. Các thử nghiệm hóa sinh dùng cho các chủng gram dương được xác nhận như *Bacillus* bao gồm nuôi cấy trên môi trường PEA và aga dinh dưỡng, kiểm tra bằng kính hiển vi, nuôi cấy trên môi trường NaCl 5% và 7,5%, nuôi cấy ở độ pH 5 và độ pH 9, nuôi cấy ở 42°C và 50°C, khả năng sản sinh axit sau khi lên men bằng xenlobioza, lactoza, glyxerol, glucoza, sucroza, đ-manitol, và tinh bột; sản sinh sắc tố huỳnh quang; thủy phân gelatin; khử nitrat; sản sinh catalaza, thủy phân tinh bột; phản ứng oxiđaza, sản sinh ureaza và độ di động. Việc

nhận diện các chủng này và chứng minh các tác dụng thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật của chúng được mô tả thêm trong các ví dụ dưới đây.

Ví dụ, thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp bao gồm chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật có thể bao gồm *Bacillus mycoides* BT155, *Bacillus mycoides* EE141, hoặc *Bacillus thuringiensis* BT013A. Thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp có thể biểu hiện protein bất kỳ trong số các protein dung hợp được mô tả trong tài liệu này, ví dụ, protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích của SEQ ID NO: 60 và peptit không hocmon (ví dụ, chất ức chế kunitz trypsin (KTI)), enzym liên quan đến việc sản xuất hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật (ví dụ, chitosinaza), peptit hoặc protein liên kết với thực vật (ví dụ, TasA); peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh (ví dụ, TasA), hoặc enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật (ví dụ, phosphataza như PhoA hoặc phytaza, hoặc enđoglucanaza).

Các gen khởi đầu

Ở loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp được mô tả trong tài liệu này, thì protein dung hợp này có thể được biểu hiện dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu mà nguyên thể đối với trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử của protein dung hợp. Ví dụ, trường hợp protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích được tạo ra từ BclA của Sterne *B. anthracis* (ví dụ, các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 1, hoặc SEQ ID NO: 60) hoặc trường hợp protein dung hợp bao gồm BclA có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 2) hoặc đoạn của BclA có chiều dài đầy đủ (ví dụ, SEQ ID NO: 59), thì protein dung hợp này có thể được biểu hiện dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu mà bình thường thì gắn liền với gen *BclA* trong hệ gen của Sterne *B. anthracis* (ví dụ, gen khởi đầu của SEQ ID NO: 85).

Theo cách khác, protein dung hợp này có thể được biểu hiện dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử có mức biểu hiện cao. Trong một số trường hợp, gen khởi đầu mà nguyên thể đối với trình tự hướng đích, protein lớp

ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử sẽ là gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử có mức biểu hiện cao. Trong các trường hợp khác, gen khởi đầu mà nguyên thể đối với trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử sẽ không là gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử có mức biểu hiện cao. Trong các trường hợp sau, có thể thuận lợi khi thay thế gen khởi đầu nguyên thể bằng gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử có mức biểu hiện cao. Quá trình biểu hiện protein dung hợp dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử có mức biểu hiện cao đem lại mức biểu hiện tăng của protein dung hợp trên lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus*.

Gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử có mức biểu hiện cao có thể bao gồm một hoặc nhiều trình tự gen khởi đầu polymeraza đặc hiệu với quá trình hình thành bào tử sigma-K.

Các gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử có mức biểu hiện cao thích hợp để sử dụng trong việc biểu hiện protein dung hợp ở thành viên họ *Bacillus cereus* bao gồm những loại được liệt kê trong bảng 2 dưới đây:

Bảng 2. Các trình tự gen khởi đầu

Gen khởi đầu (SEQ ID NO.)	Trình tự
Gen khởi đầu BclA (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 85)	TAATCACCCTCTTCCAAATCAAT**CATATGTTA**TA**CATATACTA**AACTTTCCATTTTTTTAAATTGTTCAAGTAGTTTAAGATTTCTTTTCAATAATTCAAATGTCCGTGTCATTTTCTTTCGGTTTTG**CATCTACTA**TATAATGAACGCTTTATGGAGGTGAATTTATG
Gen khởi đầu BetA (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 86)	ATTTATTTCATTCAATTTTTCCTATTTAGTACCTACCGCACTCACAAAAAGCACCTCTCATTAATTTATATTATAGTCATTGAAATCTAATTTAATGAAATCAT**CATACTATA**TGTTTTATAAGAAGTAAAGGTAC**CATACTTAA**TTAATACATATCTATACACTTCAATATCACAGCATGCAGTTGAATTATATCCAACTTTCATTTCAAATTAAATAAGTGCCTCCGCTATTGTGAATGTCATTTACTCTCCCTACTA**CATTTAATA**ATTATGACAAGCAATCATAGGAGGTTACTACATG
Gen khởi đầu BAS1882 (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 87)	AATTACATAACAAGAACTACATTAGGGAGCAAGCAGTCTAGCGAAAGCTAACTGCTTTTTTATTAAATAACTATTTTATTAAATTTCATATATACAATCGCTTGTCCATTTCATTTGGCTCTACCCACG**CATTTACTA**TTAGTAATATGAATTTTTCAGAGGTGGATTTTATT

Gen khởi đầu Gene 3572 (*B. weihenstephensis* KBAB 4) (SEQ ID NO: 88)	CTATGATTTAAGATACACAATAGCAAAAGAGAAA**CATATTATA**TAACGATAAATGAAACTTATGTATATGTATGGTAACTGTATATATTACTACAATACAGTATACTCATAGGAGGTAGGTATG
Gen khởi đầu protein hình cánh quạt β YVTN (*B. weihenstephensis* KBAB 4) (SEQ ID NO: 89)	GGTAGGTAGATTTGAAATATGATGAAGAAAAGGAATAACTAAAAGGAGTCGATATCCGACTCCTTTTAGTTATAAATAATGTGGAATTAGAGTATAATTTTATATAGGTATATTGTATTAGATGAACGCTTTATCCTTTAATTGTGATTAATGATGGATTGTAAGAGAAGGGGCTTACAGTCCTTTTTTTATGGTGTTCTATAAGCCTTTTTAAAAGGGGTACCACCCCACACCCAAAAACAGGGGGGGTTATAACTACATATTGGATGTTTTGTAACGTACAAGAATCGGTATTAATTACCCTGTAAATAAGTTATGTGTATATAAGGTAACTT**TATATATTC**TCCTACAATAAAATAAAGGAGGTAATAAAGTG
Gen khởi đầu Cry1A (*B. Thuringiensis* HD-73) (SEQ ID NO: 90)	AACCCTTAATGCATTGGTTAAACATTGTAAAGTCTAAAGCATGGATAATGGGCGAGAAGTAAGTAGATTGTTAACACCCTGGGTCAAAAATTGATATTTAGTAAAATTAGTTGCACTTTGTGCATTTTTT**CATAAGATG**AGT**CATATGTTT**TAAATTGTAGTAATGAAAAACAGTAT**TATATCATAATGAA**TTGGTATCTTAATAAAAGAGATGGAGGTAACTTA
Gen khởi đầu ExsY (*B. Thuringiensis* serovar konkukian str. 97-27) (SEQ ID NO: 91)	TAATTCCACCTTCCCTTATCCTCTTTCGCCTATTTAAAAAAGGTCTTGAGATTGTGACCAAATCTCCTCAACTCC**AATATCTTA**TTAATGTAAATACAAACAAGAAGATAAGGAGTGACATTAA
Gen khởi đầu CotY (*B. Thuringiensis* Al Hakam) (SEQ ID NO: 92)	AGGATGTCTTTTTTTATATTGTATTATGTACATCCCTACTATATAAATTCCCTGCTTTTATCGTAAGAATTAACGTAATATCAACCATATCCCGTT**CATATTGTA**GTAGTGTATGTCAGAACTCACGAGAAGGAGTGAACATAA
Gen khởi đầu YjcA (*B. Thuringiensis* serovar kurstaki str. HD73) (SEQ ID NO: 93)	TTAATGTCACTCCTTATCTTCTTGTTTGTATTTACATT**AATAAGATA**TTGGAGTTGAGGAGATTTGGTCACAATCTCAAGACCTTTTTTTTAAATAGGCGAAAGAGGATAAGGGAAGGTGGAATTA
Gen khởi đầu YjcB (*B. Thuringiensis* serovar kurstaki str. HD73) (SEQ ID NO: 94)	ATATATTTTCATAATACGAGAAAAAGCGGAGTTTAAAAGAATGAGGGAACGGAAATAAAGAGTTGTT**CATATAGTA**AATAGACAGAATTGACAGTAGAGGAGA

Gen khởi đầu BxpB (*B. Thuringiensis* Al Hakam) (SEQ ID NO: 95)	AAACTAAATAATGAGCTAAGCATGGATTGGGTGGCAGA ATTATCTGCCACCCAATC**CATGCTTAA**CGAGTATTATTA TGTAAATTTCTTAAAATTGGGAACTTGTCTAGAACATAG AACCTGTCCTTTT**CATTAACTG**AAAGTAGAAACAGATA AAGGAGTGAAAAACA
Gen khởi đầu ramnoza (*B. Thuringiensis* Al Hakam) (SEQ ID NO: 96)	ATTCACTACAACGGGGATGAGTTTGATGCGGATA**CATA TGAGA**AGTACCGGAAAGTGTTTGTAGAA**CATTACAA**A GATATATTATCTCCATCATAAAGGAGAGATGCAAAG
Gen khởi đầu CotY/CotZ (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 97)	CGCGCACCACTTCGTCGTACAACAACGCAAGAAGAAGT TGGGGATACAGCAGTATTCTTATTCAGTGATTTAGCACG CGGCGTAACAGGAGAAAACATTCACGTTGATTCAGGGT AT**CATATCTTA**GGATAAATATAATATTAATTTTAAAGG ACAATCTCTACATGTTGAGATTGTCCTTTTTATTTGTTCT TAGAAAGAACGATTTTTAACGAAAGTTCTTACCACGTTA TGAATATAAGTATAATAGTACACGATTTATTCAGCTACG TA
Gen khởi đầu BclC (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 98)	TGAAGTATCTAGAGCTAATTTACGCAAAGGAATCTCAG GACAACACTTTCGCAACACCTATATTTTAAATTTAATAA AAAAAGAGACTCCGGAGTCAGAAATTATAAAGCTAGCT GGGTTCAAATCAAAAATTTCACTAAAACGATATTATCA ATACGCAGAAAATGGAAAAAACGCCTTATCATAAGGCG TTTTTTCCATTTTTTCTTCAAACAAACGATTTTACTATGA CCATTTAACTAATTTTTG**CATCTACTA**TGATGAGTTTCA TTCACATTCTCATTAGAAAGGAGAGATTTAATG
Gen khởi đầu Sigma K (Sterne *B. anthracis*) (SEQ ID NO: 99)	TATATCATATGTAAAATTAGTTCTTATTCCCA**CATATCA TA**TAGAATCGC**CATATTATA**CATGCAGAAAACTAAGTA TGGTATTATTCTTAAATTGTTTAGCACCTTCTAATATTAC AGATAGAATCCGTCATTTTCAACAGTGAACATGGATTTC TTCTGAACACAACTCTTTTTCTTTCCTTATTTCCAAAAAG AAAAGCAGCCCATTTTAAAATACGGCTGCTTGTAATGT ACATTA
Gen khởi đầu InhA (*B. Thuringiensis* Al Hakam) (SEQ ID NO: 100)	TATCACATAACTCTTTATTTTTAATATTTCGA**CATAAAG TG**AAACTTTAATCAGTGGGGGCTTTGTTCATCCCCCCAC TGATTATTAATTGAACCAAGGGATAAAAAGATAGAGGG TCTGACCAGAAAACTGGAGGGCATGATTCTATAACAAA AAGCTTAATGTTTATAGAATTATGTCTTTTTATATAGGG AGGGTAGTAAACAGAGATTTGGACAAAAATGCACCGAT TTATCTGAATTTTAAGTTTTATAAAGGGGAGAAATG

Operon cụm BclA glycosyl transferaza 1 (*B. Thuringiensis* serovar konkukian str. 97-27) (SEQ ID NO: 101)	ATTTTTTACTTAGCAGTAAAACTGATATCAGTTTTACTG CTTTTTCATTTTTAAATTCAATCATTAAATCTTCCTTTTC TACATAGT**CATAATGTT**GTATGACATTCCGTAGGAGGC ACTTATA
Operon cụm BclA glycosyl transferaza 2 (*B. Thuringiensis* serovar kurstaki str. HD73) (SEQ ID NO: 102)	ACATAAATTCACCTCCATAAAGCGTTCATTATATAGTAG ATGCAAAACCGAAAGAAAATGACACGGACATTTGAATT ATTGAAAAGAAATCTTAAACTACTTGAACAATTTAAAA AAATGGAAAGTTTAGTATATGTATAA**CATATGATT**GAT TTGGAAGAGGGTGATTA
Gen khởi đầu glycosyl transferaza (*B. Thuringiensis* Al Hakam) (SEQ ID NO: 103)	TTCTATTTTCCAA**CATAACATG**CTACGATTAAATGGTTT TTTGCAAATGCCTTCTTGGGAAGAAGGATTAGAGCGTTT TTTTATAGAAACCAAAAGTCATTAACAATTTTAAGTTAA TGACTTTTTTGTTTGCCTTTAAGAGGTTTTATGTTACTAT AATTATAGTATCAGGTACTAATAACAAGTATAAGTATTT CTGGGAGGATATATCA

Trong các trình tự gen khởi đầu được liệt kê trong bảng 2 trên đây, các vị trí của các trình tự gen khởi đầu polymeraza đặc hiệu với quá trình hình thành bào tử sigma-K được biểu thị bằng đoạn văn bản in đậm và gạch dưới. Gen khởi đầu Cry1A (*B. Thuringiensis* HD-73; SEQ ID NO: 90) có tổng số là bốn trình tự sigma-K, hai trong số chúng chồng lên nhau, như được biểu thị bằng gạch dưới đôi trong bảng 2.

Các gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử có mức biểu hiện cao được ưu tiên để sử dụng trong việc biểu hiện protein dung hợp ở thành viên họ *Bacillus cereus* bao gồm gen khởi đầu BetA (Sterne *B. anthracis*; SEQ ID NO: 86), gen khởi đầu BclA (Sterne *B. anthracis*; SEQ ID NO: 85), gen khởi đầu operon cụm BclA glycosyl transferazas 1 và 2 (Sterne *B. anthracis*; các SEQ ID NO: 101 và 102), và gen khởi đầu protein hình cánh quạt β YVTN (*B. weihenstephensis* KBAB 4; SEQ ID NO: 89).

Ở loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp được mô tả trong tài liệu này, thì protein dung hợp này có thể được biểu hiện dưới sự kiểm

soát của gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử bao gồm trình tự axit nucleic có độ đồng nhất ít nhất 80%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, hoặc 100% với trình tự axit nucleic của trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 85 đến 103.

Khi gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử bao gồm trình tự axit nucleic có độ đồng nhất ít nhất 80%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98%, hoặc ít nhất 99% với trình tự axit nucleic của trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 85 đến 103, thì tốt hơn, nếu các trình tự hoặc trình tự gen khởi đầu polymeraza đặc hiệu với quá trình hình thành bào tử sigma-K có độ đồng nhất 100% với các nucleotit tương ứng của SEQ ID NO: 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, hoặc 103. Ví dụ, như được minh họa trong bảng 2 trên đây, gen khởi đầu BclA của Sterne *B. anthracis* (SEQ ID NO: 85) có các trình tự gen khởi đầu polymeraza đặc hiệu với quá trình hình thành bào tử sigma-K ở các nucleotit 24 đến 32, 35 đến 43, và 129 đến 137. Vì vậy, nếu gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử bao gồm trình tự có độ đồng nhất ít nhất 90% với trình tự axit nucleic của SEQ ID NO: 85, được ưu tiên là các nucleotit của gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử tương ứng với các nucleotit 24 đến 32, 35 đến 43, và 129 đến 137 của SEQ ID NO: 85 có độ đồng nhất 100% với các nucleotit 24 đến 32, 35 đến 43, và 129 đến 137 của SEQ ID NO: 85.

Các dạng chế phẩm

Sáng chế còn đề cập đến các dạng chế phẩm chứa loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp được bàn trong phần trên đây và chất mang nông dụng.

Chất mang nông dụng có thể là chất mang bất kỳ thích hợp cho việc sử dụng trong nông nghiệp. Ví dụ, các chất mang nông dụng thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất phân tán, chất hoạt động bề mặt, chất phụ gia, nước, chất làm đặc, chất chống kết khối, chất phân hủy phần dư, dạng chế phẩm phân ủ, dạng phun hạt, bọt biển, dầu, chất tạo màu, chất làm ổn định, chất bảo quản, polyme, màng phủ, và các tổ hợp của chúng.

Chất phụ gia có thể bao gồm dầu, gôm, nhựa, đất sét, polyoxyetylen glycol, terpen, chất hữu cơ dạng sệt, este của axit béo, rượu được sulfat hóa, alkyl sulfonat, sulfonat dầu mỏ, sulfat rượu, natri alkyl butan điamat, polyeste của natri thiobutan đioat, dẫn xuất benzen axetonitril, chất liệu có protein (ví dụ, sản phẩm sữa, bột lúa mì, bột đậu nành, máu, albumin, gelatin, hoặc tổ hợp của chúng), hoặc tổ hợp của chúng.

Chất làm đặc có thể bao gồm alkylsulfonat mạch dài của polyetylen glycol, polyoxyetylen oleat, hoặc tổ hợp của chúng.

Chất hoạt động bề mặt có thể bao gồm dầu mỏ nặng, phần cất dầu mỏ nặng, este của axit béo polyol, este của axit béo được polyetoxy hóa, aryl alkyl polyoxyetylen glycol, alkyl amin axetat, alkyl aryl sulfonat, rượu polyhydric, alkyl phosphat, hoặc tổ hợp của chúng.

Chất chống kết khối bao gồm muối natri, canxi cacbonat, bọt biển, hoặc tổ hợp của chúng. Ví dụ, muối natri có thể bao gồm muối natri của monometyl naphtalen sulfonat, muối natri của đimetyl naphtalen sulfonat, natri sulfit, natri sulfat, hoặc tổ hợp của chúng.

Các chất mang nông dụng thích hợp bao gồm vermiculit, than củi, bùn ép từ quy trình cacbon đioxit hóa của nhà máy đường, vỏ trấu lúa gạo, cacboxymetyl xenluloza, than bùn, perlit, cát mịn, canxi cacbonat, bột mì, phèn, tinh bột, bột talc, polyvinyl pyrolidon, hoặc tổ hợp của chúng.

Dạng chế phẩm có thể bao gồm dạng chế phẩm phủ hạt giống, dạng chế phẩm lỏng dùng để áp dụng cho thực vật hoặc cho môi trường sinh trưởng của thực vật, hoặc dạng chế phẩm rắn dùng để áp dụng cho thực vật hoặc cho môi trường sinh trưởng của thực vật.

Ví dụ, dạng chế phẩm phủ hạt giống có thể bao gồm dung dịch nước hoặc dung dịch trên cơ sở dầu dùng để áp dụng cho hạt giống. Theo cách khác, dạng chế phẩm phủ hạt giống có thể bao gồm dạng chế phẩm bột hoặc dạng chế phẩm hạt dùng để áp dụng cho hạt giống.

Dạng chế phẩm lỏng dùng để áp dụng cho thực vật hoặc cho môi trường sinh trưởng của thực vật có thể bao gồm dạng chế phẩm đậm đặc hoặc dạng chế phẩm sử dụng được ngay.

Dạng chế phẩm rắn dùng để áp dụng cho thực vật hoặc cho môi trường sinh trưởng của thực vật có thể bao gồm dạng chế phẩm hạt hoặc chất bột.

Dạng chế phẩm bất kỳ trong số các dạng chế phẩm trên đây trên đây còn có thể bao gồm hóa chất nông nghiệp, ví dụ, phân bón, chất phân bón có dưỡng chất vi lượng, chất diệt côn trùng, chất diệt cỏ, chất cải thiện khả năng sinh trưởng của thực vật, chất diệt nấm, chất diệt côn trùng, chất diệt loài nhuyễn thể, chất diệt tảo, chủng cấy vi khuẩn, chất chủng ngừa nấm, hoặc tổ hợp của chúng.

Phân bón có thể bao gồm phân bón lỏng.

Phân bón có thể bao gồm amoni sulfat, amoni nitrat, amoni sulfat nitrat, amoni clorua, amoni bisulfat, amoni polysulfua, amoni thiosulfat, amoniac nước, amoniac khan, amoni polyphosphat, nhôm sulfat, canxi nitrat, canxi amoni nitrat, canxi sulfat, magnesit nung, đá vôi canxit, canxi oxit, canxi nitrat, đá vôi đolomit, vôi được hyđrat hóa, canxi cacbonat, điamoni phosphat, monoamoni phosphat, magie nitrat, magie sulfat, kali nitrat, kali clorua, kali magie sulfat, kali sulfat, natri nitrat, đá vôi magie oxit, magie oxit, ure, ure-formalđehyt, ure amoni nitrat, ure được phủ lưu huỳnh, ure được phủ polyme, isobutyliđen điure, K_2SO_4–$2MgSO_4$, kainit, sylvinit, kieserit, muối Epsom, lưu huỳnh nguyên tố, macnơ, vỏ hàu nghiền, bột cá, bánh khô dầu, phân xả cá, bột máu, đá phosphat, super phosphat, xỉ, bột xương, tro củi, phân chuồng, phân dơi, rêu than bùn, phân ủ, cát xanh lục, bột hạt bông, bột lông gia cầm, bột cua, nhũ tương cá, axit humic, hoặc tổ hợp của chúng.

Chất phân bón có dưỡng chất vi lượng có thể bao gồm axit boric, borat, bột sứ chứa bo, đồng sulfat, bột sứ chứa đồng, chất chelat chứa đồng, natri tetraborat đecahyđrat, sắt sulfat, sắt oxit, sắt amoni sulfat, bột sứ chứa sắt, chất chelat chứa sắt, mangan sulfat, mangan oxit, mangan chelat, mangan clorua, bột sứ chứa mangan, natri molypđat, axit molypđic, kẽm sulfat, kẽm oxit, kẽm cacbonat, bột sứ chứa kẽm, kẽm phosphat, kẽm chelat, hoặc tổ hợp của chúng.

Chất diệt côn trùng có thể bao gồm phosphat hữu cơ, carbamat, pyrethroit, chất diệt ve bét, alkyl phtalat, axit boric, borat, florua, lưu huỳnh, ure được thế haloaromatic (halogen của hợp chất thơm), este hyđrocacbon, chất diệt côn trùng trên cơ sở sinh học, hoặc tổ hợp của chúng.

Chất diệt cỏ có thể bao gồm hợp chất clophenoxy, hợp chất nitrophenolic, hợp chất nitrocresolic, hợp chất đipyridyl, axetamit, axit béo, anilit, benzamit, axit benzoic, dẫn xuất axit benzoic, axit anisic, dẫn xuất axit anisic, benzonitril, benzothiađiazinon đioxit, thiocarbamat, carbamat, carbanilat, clopyriđinyl, dẫn xuất xyclohexenon, dẫn xuất đinitroaminobenzen, hợp chất flođinitrotoluiđin, isoxazoliđinon, axit nicotinic, isopropylamin, dẫn xuất isopropylamin, oxađiazolinon, phosphat, phtalat, hợp chất axit picolinic, triazin, triazol, uraxil, dẫn xuất ure, endothall, natri clorat, hoặc tổ hợp của chúng.

Chất diệt nấm có thể bao gồm benzen được thế, thiocarbamat, etylen bis đithiocarbamat, thiophtaliđamit, hợp chất đồng, hợp chất hữu cơ-thủy ngân, hợp chất hữu cơ-thiếc, hợp chất cađimi, anilazin, benomyl, xyclohexamit, dodine, etriđiazol, iprođion, metlaxyl, thiamimefon, triforin, hoặc tổ hợp của chúng.

Chất chủng ngừa nấm có thể bao gồm chủng cấy nấm thuộc họ Glomeraceae, chủng cấy nấm thuộc họ Claroidoglomeraceae, chủng cấy nấm thuộc họ Gigasporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Acaulosporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Sacculosporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Entrophosporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Pacidsporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Diversisporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Paraglomeraceae, chủng cấy nấm thuộc họ Archaeosporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Geosiphonaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Ambisporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Scutellosporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Dentiscultataceae, chủng cấy nấm thuộc họ Racocetraceae, chủng cấy nấm thuộc ngành Basidiomycota, chủng cấy nấm thuộc ngành Ascomycota, chủng cấy nấm thuộc ngành Zygomycota, hoặc tổ hợp của chúng.

Chủng cấy vi khuẩn có thể bao gồm chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Rhizobium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Bradyrhizobium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Mesorhizobium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Azorhizobium*, chủng cấy

vi khuẩn thuộc chi *Allorhizobium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Sinorhizobium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Kluyvera*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Azotobacter*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Pseudomonas*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Azospirillium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Bacillus*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Streptomyces*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *PaeniBacillus*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Paracoccus*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Enterobacter*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Alcaligenes*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Mycobacterium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Trichoderma*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Gliocladium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Glomus*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Klebsiella*, hoặc tổ hợp của chúng.

Chủng cấy vi khuẩn có thể bao gồm chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật. Chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật có thể bao gồm chủng vi khuẩn mà sản sinh độc tố diệt côn trùng (ví dụ, độc tố Cry), sản sinh hợp chất diệt nấm (ví dụ, β-1,3-glucanaza, chitosinaza, lyticaza, hoặc tổ hợp của chúng), sản sinh hợp chất diệt tuyến trùng (ví dụ, độc tố Cry), sản sinh hợp chất diệt vi khuẩn, là kháng lại một hoặc nhiều chất kháng sinh, bao gồm một hoặc nhiều plasmit sao chép tự do, liên kết với rễ thực vật, xâm chiếm rễ thực vật, tạo màng sinh học, làm tan dưỡng chất, tiết các axit hữu cơ, hoặc dạng kết hợp bất kỳ của chúng.

Ví dụ, chủng cấy vi khuẩn có thể bao gồm *Bacillus aryabhattai* CAP53 (NRRL No. B-50819), *Bacillus aryabhattai* CAP56 (NRRL No. B-50817), *Bacillus flexus* BT054 (NRRL No. B-50816), *Paracoccus kondratievae* NC35 (NRRL No. B-50820), *Bacillus mycoides* BT155 (NRRL No. B-50921), *Enterobacter cloacae* CAP12 (NRRL No. B-50822), *Bacillus nealsonii* BOBA57 (NRRL No. NRRL B-50821), *Bacillus mycoides* EE118 (NRRL No. B-50918), *Bacillus subtilis* EE148 (NRRL No. B-50927), *Alcaligenes faecalis* EE107 (NRRL No. B-50920), *Bacillus mycoides* EE141 (NRRL NO. B-50916), *Bacillus mycoides* BT46-3 (NRRL No. B-50922), thành viên họ *Bacillus cereus* EE128 (NRRL No. B-50917), *Bacillus thuringiensis* BT013A (NRRL No. B-50924), *PaeniBacillus massiliensis* BT23 (NRRL No. B-50923), thành viên họ *Bacillus cereus* EE349 (NRRL No. B-50928), *Bacillus subtilis* EE218 (NRRL No. B-50926), *Bacillus megaterium* EE281 (NRRL

No. B-50925), hoặc tổ hợp của chúng. Mỗi chủng trong số các chủng này được lưu chiểu tại Trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp (Agricultural Research Service-ARS) của Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ (USDA), có địa chỉ là 1815 North University Street, Peoria, Illinois 61604 U.S.A., vào ngày 11 tháng 3 năm 2013 (*Bacillus aryabhattai* CAP53, *Bacillus aryabhattai* CAP56, *Bacillus flexus* BT054, *Paracoccus kondratievae* NC35, *Enterobacter cloacae* CAP12, và *Bacillus nealsonii* BOBA57) hoặc vào ngày 10 tháng 3 năm 2014 (*Bacillus mycoides* BT155, *Bacillus mycoides* EE118, *Bacillus subtilis* EE148, *Alcaligenes faecalis* EE107, *Bacillus mycoides* EE141, *Bacillus mycoides* BT46-3, thành viên họ *Bacillus cereus* EE128, *Bacillus thuringiensis* BT013A, *PaeniBacillus massiliensis* BT23, thành viên họ *Bacillus cereus* EE349, *Bacillus subtilis* EE218, và *Bacillus megaterium* EE281), và được nhận diện theo số NRRL được đặt trong dấu ngoặc đơn.

Các chủng thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật này được phân lập khỏi bầu rễ của các thực vật khỏe mạnh khác nhau và được nhận diện theo các trình tự ARN ribosom 16S của chúng (được đưa ra trong tài liệu này là các SEQ ID NO 104–121), và thông qua các thử nghiệm hóa sinh. Các chủng được nhận diện ít nhất đến tên gọi chi của chúng bằng phương tiện là chỉ báo hóa sinh học và chỉ báo hình thái học thông thường. Các thử nghiệm hóa sinh dùng cho các chủng gram âm được xác nhận như *Paracoccus kondratievae, Alcaligenes faecalis,* và *Enterobacter cloacae* bao gồm nuôi cấy trên môi trường MacConkey và aga dinh dưỡng, kiểm tra bằng kính hiển vi, nuôi cấy trên môi trường NaCl 5% và 7,5%, nuôi cấy ở độ pH 5 và độ pH 9, nuôi cấy ở 42°C và 50°C, khả năng sản sinh axit sau khi lên men bằng xenlobioza, lactoza, glyxerol, glucoza, sucroza, đ-manitol, và tinh bột; sản sinh sắc tố huỳnh quang; thủy phân gelatin; khử nitrat; thủy phân tinh bột; phản ứng oxiđaza, sản sinh catalaza, sản sinh ureaza và độ di động. Tương tự, các thử nghiệm hóa sinh dùng cho các chủng gram dương được xác nhận như *Bacillus* và *PaeniBacillus* bao gồm nuôi cấy trên môi trường PEA và aga dinh dưỡng, kiểm tra bằng kính hiển vi, nuôi cấy trên môi trường NaCl 5% và 7,5%, nuôi cấy ở độ pH 5 và độ pH 9, nuôi cấy ở 42°C và 50°C, khả năng sản sinh axit sau khi lên men bằng xenlobioza, lactoza, glyxerol, glucoza, sucroza, đ-manitol, và tinh bột; sản sinh sắc tố huỳnh quang; thủy phân gelatin; khử nitrat; sản sinh catalaza, thủy phân tinh bột;

phản ứng oxiđaza, sản sinh ureaza và độ di động. Việc nhận diện các chủng này và chứng minh các tác dụng thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật của chúng được mô tả thêm trong các ví dụ dưới đây.

Ví dụ, dạng chế phẩm có thể bao gồm chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm *Paracoccus kondratievae* NC35, *Bacillus aryabhattai* CAP53, hoặc *Bacillus megaterium* EE281, trong đó dạng chế phẩm này còn bao gồm loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp được mô tả trong tài liệu này, bao gồm cả chủng bất kỳ trong số các chủng thành viên họ *Bacillus cereus* thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật tái tổ hợp trong tài liệu này (ví dụ, *Bacillus mycoides* BT155, *Bacillus mycoides* EE141, hoặc *Bacillus thuringiensis* BT013A tái tổ hợp). Chủng thành viên họ *Bacillus cereus* thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật tái tổ hợp có thể biểu hiện protein bất kỳ trong số các protein dung hợp được mô tả trong tài liệu này, ví dụ, protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích của SEQ ID NO: 60 và peptit không hocmon (ví dụ, chất ức chế kunitz trypsin (KTI)), enzym liên quan đến việc sản xuất hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật (ví dụ, chitosinaza), peptit hoặc protein liên kết với thực vật (ví dụ, TasA); peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh (ví dụ, TasA), hoặc enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật (ví dụ, phosphataza như PhoA hoặc phytaza, hoặc enđoglucanaza).

Các phương pháp dùng để thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật

Sáng chế còn đề cập đến các phương pháp kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật. Phương pháp kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm việc đưa vào môi trường sinh trưởng của thực vật loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp được bàn trên đây hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm được bàn trên đây. Theo cách khác, loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp được bàn trên đây hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm được bàn trên đây có thể được áp dụng cho thực vật, cho hạt giống thực vật, hoặc cho diện tích bao quanh thực vật hoặc hạt giống thực vật. Theo các phương pháp như vậy, peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực

vật được gắn kết bằng cách vật lý vào lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus* tái tổ hợp.

Theo cách khác, phương pháp kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm việc đưa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp vào môi trường sinh trưởng của thực vật hoặc áp dụng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp cho thực vật, hạt giống thực vật, hoặc diện tích bao quanh thực vật hoặc hạt giống thực vật. Protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật và trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử. Peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật được gắn kết bằng cách vật lý vào lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus* tái tổ hợp. Trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể là loại bất kỳ trong số các trình tự hướng đích, các protein lớp ngoại bào tử, hoặc các đoạn protein lớp ngoại bào tử được liệt kê trên đây ở đoạn 0.

Ngoài ra, trình tự hướng đích có thể bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 43% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 54%. Theo cách khác, trình tự hướng đích có thể bao gồm các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1, các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1; SEQ ID NO: 1, hoặc SEQ ID NO: 60.

Trình tự hướng đích có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 50% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 63%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 50% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 63%.

Trình tự hướng đích có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 50% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 72%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 50% với

các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 72%.

Trình tự hướng đích có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 56% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 63%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 56% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 63%.

Trình tự hướng đích có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 62% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 72%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 62% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 của SEQ ID NO:1 là ít nhất 72%.

Trình tự hướng đích có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 68% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 81%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 68% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 81%.

Trình tự hướng đích có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 75% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 72%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 75% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 của SEQ ID NO:1 là ít nhất 72%.

Trình tự hướng đích có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 75% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 81%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 75% với

các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 của SEQ ID NO:1 là ít nhất 81%.

Trình tự hướng đích có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 81% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO:1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 81%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 81% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO:1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 81%.

Trình tự hướng đích có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 81% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 90%. Theo cách khác, trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 81% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 90%.

Theo cách khác, protein lớp ngoại bào tử hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, hoặc 100% với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 59, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83 và 84.

Protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật có thể bao gồm enzym. Ví dụ, enzym có thể bao gồm enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật. Các enzym này bao gồm xenlulaza, lipaza, lignin oxiđaza, proteaza, glycosit hyđrolaza, phosphataza, nitrogenaza, nucleaza, amiđaza, nitrat ređuctaza, nitrit ređuctaza, amylaza, amoniac oxiđaza, ligninaza, glucosiđaza, phospholipaza, phytaza, pectinaza, glucanaza, sulfataza, ureaza, xylanaza, và siderophore. Khi được đưa vào môi trường sinh trưởng của thực vật hoặc được áp dụng cho thực vật, hạt giống, hoặc diện tích bao quanh thực vật hoặc hạt giống thực vật, protein dung hợp chứa các enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật có thể trợ giúp trong việc chuyển hóa dưỡng chất trong vùng lân cận của thực vật và đem lại kết quả là làm

tăng khả năng hấp thụ dưỡng chất của thực vật hoặc nấm hoặc vi khuẩn có lợi trong vùng lân cận của thực vật.

Các xenlulaza thích hợp bao gồm enđoxenlulaza (ví dụ, enđogluconaza như enđoglucanaza *Bacillus subtilis*, enđoglucanaza *Bacillus thuringiensis*, enđoglucanaza *Bacillus cereus*, hoặc enđoglucanaza *Bacillus clausii*), exoxenlulaza (ví dụ, exoxenlulaza *Trichoderma reesei*), và β-glucosiđaza (ví dụ, β-glucosiđaza *Bacillus subtilis*, β-glucosiđaza *Bacillus thuringiensis*, β-glucosiđaza *Bacillus cereus*, hoặc B-glucosiđaza *Bacillus clausii*).

Lipaza có thể bao gồm lipaza *Bacillus subtilis*, lipaza *Bacillus thuringiensis*, lipaza *Bacillus cereus*, hoặc lipaza *Bacillus clausii*.

Lignin oxiđaza thích hợp bao gồm lignin peroxiđaza, lacaza, glyoxal oxiđaza, ligninaza, và mangan peroxiđaza.

Proteaza có thể bao gồm subtilisin, proteaza axit, proteaza kiềm, proteinaza, peptiđaza, enđopeptiđaza, exopeptiđaza, thermolysin, papain, pepsin, trypsin, pronaza, carboxylaza, serin proteaza, glutamic proteaza, aspartat proteaza, xystein proteaza, threonin proteaza, hoặc metalloproteaza.

Phosphataza có thể bao gồm phosphoric monoeste hyđrolaza, phosphomonoesteraza (ví dụ, PhoA4), phosphoric điieste hyđrolaza, phosphođiesteraza, triphosphoric monoeste hyđrolaza, phosphoryl anhyđrit hyđrolaza, pyrophosphataza, phytaza (ví dụ, phytaza *Bacillus subtilis* EE148 hoặc phytaza *Bacillus thuringiensis* BT013A), trimetaphosphataza, hoặc triphosphataza.

Nitrogenaza có thể bao gồm nitrogenaza họ Nif (ví dụ, *PaeniBacillus massiliensis* NifBDEHKNXV).

Theo phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp trên đây dùng để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, thực vật được nuôi cấy trong môi trường sinh trưởng của thực vật bao gồm thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện mức sinh trưởng tăng so với mức sinh trưởng của thực vật trong môi trường sinh trưởng của thực vật đồng nhất mà không chứa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp.

Theo phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp trên đây dùng để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp có thể bao gồm loại bất kỳ trong số các chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật tái tổ hợp được mô tả trên đây.

Theo phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp trên đây dùng để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, thì protein dung hợp này có thể được biểu hiện dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu bất kỳ trong số các gen khởi đầu được mô tả trên đây.

Các phương pháp bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh

Sáng chế còn đề cập đến các phương pháp bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh. Các phương pháp như vậy bao gồm việc đưa loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp được bàn trên đây hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm được bàn trên đây vào môi trường sinh trưởng của thực vật. Theo cách khác, các phương pháp như vậy bao gồm việc áp dụng loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp được bàn trên đây hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm được bàn trên đây cho thực vật, cho hạt giống thực vật, hoặc cho diện tích bao quanh thực vật hoặc hạt giống thực vật. Trong các phương pháp này, peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh được gắn kết bằng cách vật lý vào lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp.

Thực vật được nuôi cấy trong môi trường sinh trưởng của thực vật bao gồm thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp ít bị ảnh hưởng bởi tình trạng lây nhiễm mầm bệnh hơn so với thực vật được nuôi cấy trong môi trường sinh trưởng của thực vật đồng nhất mà không chứa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp. Khả năng bị ảnh hưởng bởi mầm bệnh giảm có thể là kết quả của quá trình kích thích hệ miễn dịch của thực vật bởi peptit hoặc protein có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh, hoặc có thể là kết quả từ tác dụng trực tiếp hoặc gián tiếp của peptit hoặc protein mà bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh đối với mầm bệnh này.

Các phương pháp nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật

Sáng chế còn đề cập đến các phương pháp nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật. Các phương pháp như vậy bao gồm việc đưa loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp được bàn trên đây hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm được bàn trên đây vào môi trường sinh trưởng của thực vật. Theo cách khác, các phương pháp như vậy bao gồm việc áp dụng loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp được bàn trên đây hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm được bàn trên đây cho thực vật, cho hạt giống thực vật, hoặc cho diện tích bao quanh thực vật hoặc hạt giống thực vật. Trong các phương pháp này, peptit hoặc protein có tác dụng nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật được gắn kết bằng cách vật lý vào lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp.

Thực vật được nuôi cấy trong môi trường sinh trưởng của thực vật bao gồm thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp ít bị ảnh hưởng bởi điều kiện khắc nghiệt hơn so với thực vật được nuôi cấy trong môi trường sinh trưởng của thực vật đồng nhất mà không chứa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp.

Các phương pháp làm bất động các bào tử thành viên họ *Bacillus cereus* trên thực vật

Sáng chế còn đề xuất các phương pháp làm bất động bào tử thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp trên thực vật. Các phương pháp này bao gồm việc đưa loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp được bàn trên đây hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm được bàn trên đây vào môi trường sinh trưởng của thực vật. Theo cách khác, các phương pháp như vậy bao gồm việc áp dụng loại bất kỳ trong số các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp được bàn trên đây hoặc loại bất kỳ trong số các dạng chế phẩm được bàn trên đây cho thực vật, cho hạt giống thực vật, hoặc cho diện tích bao quanh thực vật hoặc hạt giống thực vật. Peptit hoặc protein liên kết với thực vật được gắn kết bằng cách vật lý vào lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus* tái tổ hợp.

Các phương pháp này cho phép bào tử thành viên họ *Bacillus cereus* liên kết với thực vật, sao cho bào tử này được duy trì trên thực vật. Ví dụ, các phương pháp này cho phép bào tử thành viên họ *Bacillus cereus* liên kết với rễ của thực vật hoặc

với phần thực vật trong không khí (ví dụ, tán, thân, quả, hoặc hoa), sao cho bào tử này được duy trì ở cấu trúc rễ của thực vật hoặc trên phần thực vật trong không khí thay vì tan biến vào môi trường sinh trưởng của thực vật hoặc vào môi trường bao quanh phần thực vật trong không khí.

Theo phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp làm bất động bào tử thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp trên thực vật, peptit hoặc protein liên kết với thực vật có thể hướng đích một cách chọn lọc đến và duy trì thành viên họ *Bacillus cereus* trên thực vật hoặc trên cấu trúc hoặc cấu trúc phụ của thực vật (ví dụ, ở rễ thực vật và cấu trúc phụ của rễ thực vật hoặc ở phần thực vật trong không khí hoặc cấu trúc phụ của phần thực vật trong không khí).

Môi trường sinh trưởng của thực vật

Theo phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp trên đây, môi trường sinh trưởng của thực vật là chất liệu mà có khả năng hỗ trợ quá trình sinh trưởng của thực vật. Môi trường sinh trưởng của thực vật có thể bao gồm đất, nước, dung dịch nước, cát, sỏi, polysacarit, bổi, phân ủ, rêu than bùn, rơm, khúc gỗ, đất sét, bột đậu nành, chất chiết nấm men, hoặc tổ hợp của chúng. Ví dụ, môi trường sinh trưởng của thực vật bao gồm đất, phân ủ, rêu than bùn, hoặc tổ hợp của chúng.

Tùy ý, môi trường sinh trưởng của thực vật có thể được bổ sung cơ chất dùng cho enzym. Ví dụ, cơ chất có thể bao gồm tryptophan, ađenosin monophosphat, ađenosin điphosphat, ađenosin triphosphat (ví dụ, ađenosin-3-triphosphat), inđol, trimetaphosphat, ferođoxin, axetoin, điaxetyl, pyruvat, axetolactat, pectin, xenluloza, metylxenluloza, tinh bột, chitin, pectin, bột protein, dẫn xuất xenluloza, phosphat, axetoin, chitosan, dẫn xuất không có hoạt tính của axit inđol-3-axetic, dẫn xuất không có hoạt tính của axit gibberellic, xylan, cholin, dẫn xuất cholin, prolin, polyprolin, bột giàu prolin, protein giàu prolin, phenylalanin, chorismat, arabinoxylan, mỡ, sáp, dầu, axit phytic, lignin, axit humic, cholin, dẫn xuất cholin, hoặc tổ hợp của chúng.

Các phương pháp áp dụng

Theo phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp trên đây, thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp hoặc dạng chế phẩm có thể được đưa vào môi trường sinh trưởng của thực vật hoặc được áp dụng cho thực vật, cho hạt giống thực vật, hoặc cho diện tích bao quanh thực vật hoặc hạt giống thực vật.

Ví dụ, phương pháp này có thể bao gồm việc phủ hạt giống bằng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp hoặc dạng chế phẩm chứa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp trước khi trồng.

Theo cách khác, phương pháp này có thể bao gồm việc áp dụng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp hoặc dạng chế phẩm cho phần thực vật trong không khí, ví dụ, cho tán, thân, quả hoặc hoa. Ví dụ, thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp hoặc dạng chế phẩm có thể được phun, quét, nhúng, hoặc theo cách khác, được áp dụng cho lá hoặc các phần trong không khí khác của thực vật.

Phương pháp này có thể bao gồm việc đưa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp vào môi trường sinh trưởng của thực vật bằng cách áp dụng dạng chế phẩm lỏng hoặc rắn chứa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp cho môi trường (ví dụ, đất, phân ủ, rêu than bùn, hoặc tổ hợp của chúng).

Dạng chế phẩm có thể được áp dụng cho môi trường sinh trưởng của thực vật trước khi, đồng thời hoặc sau khi trồng hạt giống, cây mầm, cành giâm, củ, hoặc thực vật trong môi trường sinh trưởng của thực vật.

Áp dụng đồng thời hóa chất nông nghiệp

Phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp trên đây còn có thể bao gồm việc đưa ít nhất một hóa chất nông nghiệp vào môi trường sinh trưởng của thực vật hoặc áp dụng ít nhất một hóa chất nông nghiệp cho thực vật hoặc hạt giống. Hóa chất nông nghiệp có thể là loại bất kỳ trong số các loại được liệt kê trên đây dùng để đưa vào các dạng chế phẩm, hoặc dạng kết hợp bất kỳ của chúng.

Thực vật

Có thể thực hiện các phương pháp trên đây với nhiều loài thực vật. Ví dụ, thực vật có thể là cây hai lá mầm, cây một lá mầm, hoặc cây hạt trần.

Ví dụ, trường hợp thực vật là cây hai lá mầm, thì cây hai lá mầm này có thể được chọn từ nhóm bao gồm cây đậu, đậu Hà Lan, cà chua, tiêu, bí, cỏ linh lăng, hạnh nhân, tiểu hồi cần, táo, mơ, arracha, atisô, bơ, đậu Bambara, củ dền, cam Bergamot, tiêu đen, keo đen, mâm xôi, việt quất, cam đắng, cải bẹ trắng, dẻ Brazil, sa kê, súp lơ xanh, đậu răng ngựa, cải bắp Brussels, kiều mạch, cải bắp, camelina, cải thảo, cacao, dưa lưới, hạt giống cây carum, kế atisô, minh quyết, cà rốt, đào lộn hột (điều), sắn, thầu dầu, súp lơ, củ cần tây, cần tây, anh đào, dẻ, đậu gà, rau diếp xoăn, ớt, cúc, quế, thanh yên, quýt clementine, đinh hương, cỏ ba lá, cà phê, hạt cola, cải dầu, ngô, bông, hạt bông, đậu đũa, crambe, nam việt quất, cải xoong, dưa chuột, lý chua, na, chùm ngây, củ đậu đất, cà tím, rau cúc đắng, thì là, cỏ ca ri, vả, phỉ, lanh, phong lữ, lý gai, bầu, nho, bưởi, ổi, gai dầu, hạt giống gai dầu, cây lá móng, hublông, đậu răng ngựa, củ cải ngựa, chàm, nhài, cúc vu, đay, cải xoăn, bông gạo, dâm bụt Đông Ấn Độ, su hào, kim quất, oải hương, chanh, đậu lăng, hồ chì, rau diếp, chanh Tây, cam thảo, vải, sơn trà Nhật Bản, đậu cánh chim, hạt mắc-ca, nhục đậu khấu, quýt, củ cải to, xoài, sơn trà, dưa Tây, bạc hà, dâu tằm, cải cay, xuân đào, hạt giống cây Niger, hạt nhục đậu khấu, đậu bắp, ôliu, cây thuốc phiện, cam, đu đủ, củ cải vàng, đậu Hà Lan, đào, lạc, lê, hồ đào pecan, hồng, đậu triều, hồ trăn, chuối sáp, mận, lựu, bưởi, hạt giống cây anh túc, khoai tây, khoai lang, mận khô, bí ngô, mẻ rìu, mộc qua, các loài cây của chi *Cinchona*, diêm mạch, củ cải, gai, cải dầu, mâm xôi, hoa xôn xanh, đại hoàng, hoa hồng, cao su, củ cải Thụy Điển, rum, hồng đậu, diếp củ, hồng xiêm, quất, bà la môn, vừng, cây hạt mỡ, đậu nành, cây bina, bí, dâu tây, củ cải đường, mía, hướng dương, củ cải Thụy Điển, ớt chuông, quýt, chè, teff, thuốc lá, cà chua, cỏ ba lá, trẩu trơn, củ cải turnip, ké, đậu tằm, óc chó, dưa hấu, yerba mate, cải xoong mùa đông, cây rau tề, cải xoong vườn, cải xoong cay, cải xoong nước, cải pennycress, đại hồi, nguyệt quế, nguyệt quế thực thụ, muồng, trâm vối, thì là, me, bạc hà cay, oregano, hương thảo, xô thơm, mãng cầu xiêm, rau má, chi cồng, mướp đắng, hạt lai, dẻ Tahiti, húng quế, việt quất, dâm bụt, chanh dây, vú sữa, de vàng, xương rồng, cỏ ban, trân châu, táo gai, rau mùi, cúc trường sinh, kiwi, húng tây, bí ngòi, ulluco, củ đậu, cây lá nước, cam sành, cóc, khế, dền hạt, wasabi, tiêu Nhật Bản, mận vàng, mashua, hương xuân, rau bina New Zealand, rau bina lùm, bí ugu, cúc ngải, cỏ gà, jocote, roi hoa đỏ, cúc áo hoa vàng,

diếp dai, khoai tây Trung Quốc, mùi tây ngựa, cải cay hedge, campion, thùa, cây muồng, kế, burnet, lý gai sao, cỏ lông lợn, cỏ glasswort, chút chít, dương xỉ ren bạc, rau xanh, anh thảo, anh thảo hoa vàng, rau sam, rau răm, nhựa điều, rau diếp cây, lá lốt, tiêu Tây Phi, yerba santa, ngải giấm, mùi tây, rau mùi, cải xoong Mỹ, burnet tai hùm, honeyherb, butterbur, lá vừng, răm nước, tía tô, keo, oca, kampong, cần tây Trung Quốc, húng quế chanh, húng quế Thái Lan, rau rút, cicely, cây ánh dương, chi chùm ngây, mauka, dương xỉ đà điểu, rau ngổ, rau kèo nèo, cần núi, cải xoong cạn, maca, bầu trắng, đậu ván, rau muống, cúc tai mèo, diếp cá, rau tàu bay, lotus sweetjuice, vi cúc, mùi tàu, rau arugula, kế atisô, caigua, mitsuba, chipilin, samphire, mampat, ebolo, bầu nhỏ, kế bắp, cải biển, chaya, huauzontle, cải cay Ethiopia, rau muối tím, cây vua Henry tốt bụng, epazole, rau muối, cây mào gà, cây bạch hoa, rapini, cải thảo, rau mùi Nhật, cải xa-voa Trung Quốc, cải làn, cải cay xanh, mồng tơi, cải cầu vồng, thục quỳ, keo lông chim, đay Trung Quốc, ớt cựa gà, hạt giống điều màu, bạc hà lục, rau mùi, kinh giới, tiểu hồi, cúc La Mã, tía tô đất, tiêu Jamaica, việt quất đen, mãng cầu mễ, dâu cloudberry, mận tía, thanh long, sầu riêng, cây cơm cháy, ổi dứa, mít, trâm mốc, táo tàu, thù lù, măng cụt, chôm chôm, lý chua đỏ, lý chua đen, thạch nam, quất, cam sành, đậu đỏ, đen cây đậu, đậu Hà Lan mày đen, đậu borlotti, đậu que, đậu co ve, đậu lửa, đậu ngự, đậu xanh, đậu hải quân, đậu pinto, đậu son, đậu ăn cả vỏ, đậu Hà Lan ngọt, súp lơ lai, súp lơ xanh, tầm ma, ớt chuông, cải bắp đỏ, củ cải, củ cải trắng, cây cần củ, cải thìa, súp lơ xanh nhỏ, củ cải đen, cây ngưu bàng, đậu răng ngựa, súp lơ xanh raab, đậu ván, đậu cánh chim, trôm, đậu mèo rừng, đậu rồng, chi củ đậu, keo hoa vàng, cỏ sắt, cây bụi hình ô, keo murrayana, keo tetragonophylla, cây bụi witchetty, keo coriacea, chia, hạt sồi, hạt dẻ sáp, dưa đắng, chanh Tây Ban Nha, hạt Maya, mongongo, hạt xoài Châu Phi, dẻ thiên đường và mít tố nữ.

Theo cách khác, cây hai lá mầm có thể là từ họ được chọn từ nhóm bao gồm Acanthaceae (chi ô rô), Aceraceae (chi thích), Achariaceae, Achatocarpaceae (chi achatocarpus), Actinidiaceae (chi dương đào), Adoxaceae (chi moschatel), Aextoxicaceae, Aizoaceae (chi cúc cầu vồng), Akaniaceae, Alangiaceae, Alseuosmiaceae, Alzateaceae, Amaranthaceae (chi dền hạt), Amborellaceae, Anacardiaceae (chi sơn), Ancistrocladaceae, Anisophylleaceae, Annonaceae (chi

na), Apiaceae (chi cà rốt), Apocynaceae (chi la bố ma), Aquifoliaceae (chi bùi), Araliaceae (chi sâm), Aristolochiaceae (chi nam mộc hương), Asclepiadaceae (chi bông tai), Asteraceae (chi cúc), Austrobaileyaceae, Balanopaceae, Balanophoraceae (chi dó đất), Balsaminaceae (chi trinh nữ), Barbeyaceae, Barclayaceae, Basellaceae (chi mồng tơi), Bataceae (chi cỏ lông lợn), Begoniaceae (chi thu hải đường), Berberidaceae (chi hoàng mộc), Betulaceae (chi bạch dương), Bignoniaceae (chi đăng tiêu), Bixaceae (chi son môi), Bombacaceae (chi bông gạo), Boraginaceae (chi mồ hôi), Brassicaceae (chi cải cay, còn gọi là Họ Thập tự), Bretschneideraceae, Brunelliaceae (chi brunellia), Bruniaceae, Brunoniaceae, Buddlejaceae (chi hoa bướm), Burseraceae (chi nhũ hương), Buxaceae (chi hoàng dương), Byblidaceae, Cabombaceae (chi hoa sen), Cactaceae (chi xương rồng), Caesalpiniaceae, Callitrichaceae (chi tẩu nước), Calycanthaceae (chi strawberry shrub), Calyceraceae (chi calycera), Campanulaceae (chi hoa chuông), Canellaceae (chi canella), Cannabaceae (chi gai dầu), Capparaceae (chi bạch hoa), Caprifoliaceae (chi kim ngân), Cardiopteridaceae, Caricaceae (chi đu đủ), Caryocaraceae (chi souari), Caryophyllaceae (chi cẩm chướng), Casuarinaceae (chi phi lao), Cecropiaceae (chi cecropia), Celastraceae (chi cà dược), Cephalotaceae, Ceratophyllaceae (chi rêu sừng), Cercidiphyllaceae (chi liên hương), Chenopodiaceae (chi rau muối), Chloranthaceae (chi chloranthus), Chrysobalanaceae (chi mận cocoa), Circaeasteraceae, Cistaceae (chi hoa hồng đá), Clethraceae (chi clethra), Clusiaceae (chi măng cụt, còn gọi là họ bứa), Cneoraceae, Columelliaceae, Combretaceae (chi bàng), Compositae (chi cúc), Connaraceae (chi cannarus), Convolvulaceae (chi bìm bịp), Coriariaceae, Cornaceae (chi sơn thù du), Corynocarpaceae (chi karaka), Crassulaceae (chi xương rồng đá), Crossosomataceae (chi crossosoma), Crypteroniaceae, Cucurbitaceae (chi dưa chuột), Cunoniaceae (chi cunonia), Cuscutaceae (chi tơ hồng), Cyrillaceae (chi cyrilla), Daphniphyllaceae, Datiscaceae (chi datisca), Davidsoniaceae, Degeneriaceae, Dialypetalanthaceae, Diapensiaceae (chi diapensia), Dichapetalaceae, Didiereaceae, Didymelaceae, Dilleniaceae (chi dillenia), Dioncophyllaceae, Dipentodontaceae, Dipsacaceae (chi tục đoạn), Dipterocarpaceae (chi meranti), Donatiaceae, Droseraceae (chi gọng vó), Duckeodendraceae, Ebenaceae (chi mun), Elaeagnaceae (chi nhót đắng),

Elaeocarpaceae (chi côm), Elatinaceae (chi waterwort), Empetraceae (chi crowberry), Epacridaceae (chi epacris), Eremolepidaceae (chi catkin-mistletoe), Ericaceae (chi heath), Erythroxylaceae (chi coca), Eucommiaceae, Eucryphiaceae, Euphorbiaceae (chi đại kích), Eupomatiaceae, Eupteleaceae, Fabaceae (chi đậu Hà Lan hoặc rau đậu), Fagaceae (chi sồi), Flacourtiaceae (chi flacourtia), Fouquieriaceae (chi ocotillo), Frankeniaceae (chi frankenia), Fumariaceae (chi fumitory), Garryaceae (chi hoa tua lụa), Geissolomataceae, Gentianaceae (chi gentian), Geraniaceae (chi phong lữ), Gesneriaceae (chi gesneriad), Globulariaceae, Gomortegaceae, Goodeniaceae (chi goodenia), Greyiaceae, Grossulariaceae (chi lý chua), Grubbiaceae, Gunneraceae (chi gunnera), Gyrostemonaceae, Haloragaceae (chi rong xương cá), Hamamelidaceae (chi phỉ), Hernandiaceae (chi hernandia), Himantandraceae, Hippocastanaceae (chi dẻ ngựa), Hippocrateaceae (chi hippocratea), Hippuridaceae (chi đuôi ngựa), Hoplestigmataceae, Huaceae, Hugoniaceae, Humiriaceae, Hydnoraceae, Hydrangeaceae (chi tú cầu), Hydrophyllaceae (chi lá nước), Hydrostachyaceae, Icacinaceae (chi icacina), Idiospermaceae, Illiciaceae (chi đại hồi), Ixonanthaceae, Juglandaceae (chi óc chó), Julianiaceae, Krameriaceae (chi krameria), Lacistemataceae, Lamiaceae (chi bạc hà, còn được gọi là họ hoa môi), Lardizabalaceae (chi lardizabala), Lauraceae (chi nguyệt quế), Lecythidaceae (chi dẻ Brazil), Leeaceae, Leitneriaceae (chi corkwood), Lennoaceae (chi lennoa), Lentibulariaceae (chi bỏ túi), Limnanthaceae (chi meadow foam), Linaceae (chi lanh), Lissocarpaceae, Loasaceae (chi loasa), Loganiaceae (chi bướm), Loranthaceae (chi tầm gửi), Lythraceae (chi trân châu), Magnoliaceae (chi mộc lan), Malesherbiaceae, Malpighiaceae (chi anh đào Barbados), Malvaceae (chi cẩm quỳ), Marcgraviaceae (chi bám đá cuội), Medusagynaceae, Medusandraceae, Melastomataceae (chi mua), Meliaceae (chi dái ngựa), Melianthaceae, Mendonciaceae, Menispermaceae (chi moonseed), Menyanthaceae (chi trang ba lá), Mimosaceae, Misodendraceae, Mitrastemonaceae, Molluginaceae (chi cỏ thảm), Monimiaceae (chi monimia), Monotropaceae (chi hoa thủy tinh), Moraceae (chi dâu tằm), Moringaceae (chi chùm ngây), Myoporaceae (chi myoporum), Myricaceae (chi thanh mai), Myristicaceae (chi nhục đậu khấu), Myrothamnaceae, Myrsinaceae (chi myrsine), Myrtaceae (chi hương đào), Nelumbonaceae (chi hoa sen),

Nepenthaceae (chi nắp ấm Đông Ấn), Neuradaceae, Nolanaceae, Nothofagaceae, Nyctaginaceae (chi hoa phấn), Nymphaeaceae (chi hoa súng), Nyssaceae (chi bạch đàn đen), Ochnaceae (chi mai vàng), Olacaceae (chi dương đầu), Oleaceae (chi ôliu), Oliniaceae, Onagraceae (chi anh thảo chiều), Oncothecaceae, Opiliaceae, Orobanchaceae (chi cỏ chổi), Oxalidaceae (chi chua me núi), Paeoniaceae (chi mẫu đơn), Pandaceae, Papaveraceae (chi anh túc), Papilionaceae, Paracryphiaceae, Passifloraceae (chi lạc tiên), Pedaliaceae (chi vừng), Pellicieraceae, Penaeaceae, Pentaphragmataceae, Pentaphylacaceae, Peridiscaceae, Physenaceae, Phytolaccaceae (chi thương lục), Piperaceae (chi tiêu), Pittosporaceae (chi pittosporum), Plantaginaceae (chi chuối sáp), Platanaceae (chi tiêu huyền), Plumbaginaceae (chi leadwort), Podostemaceae (chi rêu sông), Polemoniaceae (chi trúc đào), Polygalaceae (chi viễn chí), Polygonaceae (chi kiều mạch), Portulacaceae (chi rau sam), Primulaceae (chi anh thảo), Proteaceae (chi protea), Punicaceae (chi lựu), Pyrolaceae (chi shinleaf), Quiinaceae, Rafflesiaceae (chi rafflesia), Ranunculaceae (chi buttercup orranunculus), Resedaceae (chi mignonette), Retziaceae, Rhabdodendraceae, Rhamnaceae (chi táo), Rhizophoraceae (chi đước), Rhoipteleaceae, Rhynchocalycaceae, Rosaceae (chi hoa hồng), Rubiaceae (chi thiên thảo), Rutaceae (chi vân hương), Sabiaceae (chi thanh phong), Saccifoliaceae, Salicaceae (chi liễu), Salvadoraceae, Santalaceae (chi đàn hương), Sapindaceae (chi bồ hòn), Sapotaceae (chi hồng xiêm), Sarcolaenaceae, Sargentodoxaceae, Sarraceniaceae (chi nắp ấm), Saururaceae (chi giấp cá), Saxifragaceae (chi tai hùm), Schisandraceae (chi ngũ vị tử), Scrophulariaceae (chi huyền sâm), Scyphostegiaceae, Scytopetalaceae, Simaroubaceae (chi bạch mộc), Simmondsiaceae (chi jojoba), Solanaceae (chi khoai tây), Sonneratiaceae (chi bần), Sphaerosepalaceae, Sphenocleaceae (chi cỏ phổng), Stackhousiaceae (chi stackhousia), Stachyuraceae, Staphyleaceae (chi bọng đái), Sterculiaceae (chi cacao), Stylidiaceae, Styracaceae (chi bồ đề), Surianaceae (chi suyên biển), Symplocaceae (chi cỏ ngọt), Tamaricaceae (chi tamarix), Tepuianthaceae, Tetracentraceae, Tetrameristaceae, Theaceae (chi chè), Theligonaceae, Theophrastaceae (chi theophrasta), Thymelaeaceae (chi thụy hương), Ticodendraceae, Tiliaceae (chi đoan), Tovariaceae, Trapaceae (chi năn ngọt),

Tremandraceae, Trigoniaceae, Trimeniaceae, Trochodendraceae, Tropaeolaceae (chi sen cạn), Turneraceae (chi đông hầu), Ulmaceae (chi du), Urticaceae (chi tầm ma), Valerianaceae (chi nữ lang), Verbenaceae (chi cỏ roi ngựa), Violaceae (chi hoa tím), Viscaceae (chi tầm gửi Giáng sinh), Vitaceae (chi nho), Vochysiaceae, Winteraceae (chi wintera), Xanthophyllaceae, và Zygophyllaceae (chi creosote bush).

Trường hợp thực vật là cây một lá mầm, thì cây một lá mầm này có thể được chọn từ nhóm bao gồm ngô, lúa mì, yến mạch, lúa gạo, lúa mạch, kê, chuối, hành, tỏi, măng tây, cỏ mạch đen, kê, kê fonio, kê raishan, cỏ nipa, nghệ, nghệ tây, riềng, hẹ, bạch đậu khấu, chà là, dứa, hẹ tây, tỏi tây, hành lá, năn ngọt, hành tỏi, bo bo, tre, kê chân vịt, bèo cám, khoai mùng, mùng bạc hà, chuối sợi, cau, ngọc kê, hạt cau, kê chổi, lúa miến chổi, sả, dừa, khoai môn, ngô, khoai sọ, lúa miến, lúa mì cứng, edo, thùa sợi, formio, gừng, cỏ nón, cỏ giấy, cỏ Sudan, ngô guinea, gai dầu Manila, thùa tây, ngô lai, chi lúa miến, chi sả, dứa sợi, kê ngọc trai, kê ngón tay, kê đuôi chồn, kê Nhật Bản, kê Proso, lanh New Zealand, yến mạch, cọ dầu, thốt nốt, vạn tuế, cỏ bông lau đỏ, thùa sợi, lúa miến, lúa mì spelt, ngô ngọt, lúa miến ngọt, khoai nước, teff, cỏ timothy, tiểu hắc mạch, vani, lúa mì và khoai mỡ.

Theo cách khác, cây một lá mầm có thể là từ họ được chọn từ nhóm bao gồm Acoraceae (chi thạch xương bồ), Agavaceae (chi thùa), Alismataceae (chi thủy đề), Aloeaceae (chi lô hội), Aponogetonaceae (chi rong cỏ cuộn sóng), Araceae (chi chân bê), Arecaceae (chi cọ), Bromeliaceae (chi dứa gai), Burmanniaceae (chi cỏ cào cào), Butomaceae (chi cỏ lận), Cannaceae (chi dong riềng), Centrolepidaceae, Commelinaceae (chi cỏ nhện), Corsiaceae, Costaceae (chi mía dò), Cyanastraceae, Cyclanthaceae (chi cọ mũ Panama), Cymodoceaceae (chi cỏ lợn biển), Cyperaceae (chi cói), Dioscoreaceae (chi khoai mỡ), Eriocaulaceae (chi cỏ dùi trống), Flagellariaceae, Geosiridaceae, Haemodoraceae (chi cỏ rễ máu), Hanguanaceae (chi hanguana), Heliconiaceae (chi chuối pháo), Hydatellaceae, Hydrocharitaceae (chi cỏ hẹ nước), Iridaceae (chi diên vĩ), Joinvilleaceae (chi joinvillea), Juncaceae (chi cỏ bấc), Juncaginaceae (chi cỏ mũi tên), Lemnaceae (chi bèo tấm), Liliaceae (chi hoa loa kèn), Limnocharitaceae (chi anh túc nước), Lowiaceae, Marantaceae (chi dong), Mayacaceae (chi rong đuôi chồn), Musaceae (chi chuối), Najadaceae (chi

hoa súng), Orchidaceae (chi phong lan), Pandanaceae (chi dứa dại), Petrosaviaceae, Philydraceae (chi cỏ đuôi lươn), Poaceae (chi cỏ), Pontederiaceae (chi bèo tây), Posidoniaceae (chi cỏ biển), Potamogetonaceae (chi rong hồ), Rapateaceae, Restionaceae, Ruppiaceae (chi cỏ chỉ), Scheuchzeriaceae (chi cỏ băng chiều), Smilacaceae (chi khúc khắc), Sparganiaceae (chi sậy cầu gai), Stemonaceae (chi bách bộ), Strelitziaceae, Taccaceae (chi râu hùm), Thurniaceae, Triuridaceae, Typhaceae (chi hương bồ), Velloziaceae, Xanthorrhoeaceae, Xyridaceae (chi cỏ mắt vàng), Zannichelliaceae (chi rong hồ có sừng), Zingiberaceae (chi gừng), và Zosteraceae (chi cỏ lươn).

Trường hợp thực vật là cây hạt trần, thì cây hạt trần này có thể là từ họ được chọn từ nhóm bao gồm Araucariaceae, Boweniaceae, Cephalotaxaceae, Cupressaceae, Cycadaceae, Ephedraceae, Ginkgoaceae, Gnetaceae, Pinaceae, Podocarpaceae, Taxaceae, Taxodiaceae, Welwitschiaceae, và Zamiaceae.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ không hạn chế dưới đây được đưa ra để minh họa thêm sáng chế này.

Ví dụ 1. Sử dụng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện lipaza hoặc enđoglucanaza để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật ở đậu nành.

Các gen lipaza và enđoglucanaza của *Bacillus subtilis* được khuếch đại thông qua phản ứng chuỗi polymeraza (polymerase chain reaction-PCR) bằng cách sử dụng các đoạn mồi dưới đây được thể hiện trong bảng 3 dưới đây:

Bảng 3

	lipaza	enđoglucanaza
xuôi	ggatccatggctgaacacaatcc (SEQ ID NO: 37)	ggatccatgaaacggtcaatc (SEQ ID NO: 39)
ngược	ggatccttaattcgtattctggcc (SEQ ID NO: 38)	ggatccttactaatttggttctgt (SEQ ID NO: 40)

Để tạo ra các cấu trúc dung hợp, các gen được dung hợp với gen khởi đầu BclA nguyên thể của ADN của *Bacillus thuringiensis* mã hóa 35 axit amin đầu tiên của BclA (các axit amin từ 1 đến 35 của SEQ ID NO:1) bằng cách sử dụng kỹ thuật

tách ghép gen bằng cách kéo dài đoạn chồng lấn (splicing by overlapping extension-SOE). Các sản phẩm khuếch đại chính xác được tạo dòng thuần vào vectơ con thoi *E. coli/Bacillus* pHP13, và các dòng thuần chính xác được sàng lọc bằng phương pháp giải trình tự ADN. Các dòng thuần chính xác được mở lỗ bằng điện vào *Bacillus thuringiensis* (Cry của *Bacillus thuringiensis*, plasmit của *Bacillus thuringiensis*) và được sàng lọc về khả năng kháng cloramphenicol. Các thể biến nạp chính xác được nuôi cấy trong nước dùng não tim dùng để tiêm truyền qua đêm ở 30°C, được dàn mỏng lên đĩa aga dinh dưỡng, và được ủ ở 30°C trong 3 ngày. Các bào tử biểu hiện cấu trúc dung hợp (bào tử BEMD) được gom khỏi các đĩa bằng cách rửa trong dung dịch muối được đệm phosphat (phosphate buffered saline-PBS) và được tinh chế bằng cách quay ly tâm và rửa thêm trong PBS. Các bào tử *Bacillus thuringiensis* (*B.t.*) đối chứng không được biến nạp được tạo ra theo cách đồng nhất.

Đậu nành (chủng Jake 011-28-04) được trồng sâu 2,54cm trong chậu sâu 10cm được đổ đầy lớp đất mặt mùn tiêu chuẩn. Các bào tử được pha loãng đến nồng độ là $1x10^4$/ml trong 50ml nước và được áp dụng cho mỗi hạt giống vào lúc trồng. Thực vật được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng lý tưởng bằng cách sử dụng đèn T5, 54 oát, và được cho tiếp xúc với ánh sáng 11 giờ mỗi ngày trong các điều kiện nhiệt độ được kiểm soát từ 15,5°C đến 25,5°C. Thực vật được tưới nước đủ ướt ba ngày một lần trong thử nghiệm hai tuần. Vào thời điểm cuối của hai tuần, chiều cao của mỗi cá thể thực vật được đo và các số đo được chuẩn tắc hóa theo các bào tử *Bacillus thuringiensis* đối chứng. Hai thử nghiệm độc lập được thực hiện.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 4, cùng với sai số chuẩn trung bình. Ở cả hai thử nghiệm, các cây đậu nành được trồng khi có mặt các bào tử BEMD thể hiện lipaza hoặc enđoglucanaza phát triển cao hơn một cách đáng kể so với các cây đậu nành được xử lý bằng bào tử *B.t.* đối chứng (phép phân tích thống kê được thử nghiệm thông qua thử nghiệm t).

Bảng 4

		Các cây đậu nành		
	Xử lý	Chiều cao trung bình, cm	So với đối chứng	SEM

Thử nghiệm số 1	*Bt* đối chứng	14,034	100,0%	0,521
	Lipaza, BEMD	17,93	127,8%	0,395
	Enđoxenlulaza, BEMD	16,31	116,2%	0,411
Thử nghiệm số 2	*Bt* đối chứng	15,39	100,0%	0,749
	Lipaza, BEMD	19,15	124,4%	0,428
	Enđoxenlulaza, BEMD	17,65	114,7%	0,313

Ví dụ 2. Sử dụng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện enđoglucanaza để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật ở ngô.

Các bào tử BEMD biểu hiện enđoglucanaza được tạo ra theo cách đồng nhất như được mô tả trên đây trong ví dụ 1. Ngô tẻ được trồng sâu 3,8cm trong chậu sâu 10cm được đổ đầy lớp đất mặt mùn tiêu chuẩn. Các bào tử, đối chứng và BEMD biểu hiện enđoglucanaza, được pha loãng đến nồng độ là $1x10^4$/ml trong 50ml nước và được áp dụng cho mỗi cá thể thực vật vào lúc trồng. Đối chứng chỉ có nước cũng được lấy vào thử nghiệm. Thực vật được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng lý tưởng bằng cách sử dụng đèn T5, 54 oát, và được cho tiếp xúc với ánh sáng 11 giờ mỗi ngày trong các điều kiện nhiệt độ được kiểm soát từ 15,5°C đến 25,5°C. Thực vật được tưới nước đủ ướt ba ngày một lần trong thử nghiệm một tuần. Vào thời điểm cuối của một tuần, chiều cao của mỗi cá thể thực vật được đo, và các số đo được chuẩn tắc hóa theo các bào tử *Bacillus thuringiensis* đối chứng.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 5, cùng với sai số chuẩn trung bình. Ngô được trồng khi có mặt các bào tử BEMD thể hiện enđoglucanaza phát triển cao hơn một cách đáng kể so với cả các cây đậu nành được xử lý bằng bào tử *B.t.* đối chứng và thực vật đối chứng chỉ có nước (phép phân tích thống kê được thử nghiệm thông qua thử nghiệm t).

Bảng 5.

	Chiều cao, cm	Sự so sánh	SEM
H_2O	15,44	100%	0,318
Bt	18,92	122,50%	0,645

BEMD enđoglucanaza	22,71	143,40%	0,616

Ví dụ 3. Sử dụng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện enđoglucanaza hoặc proteaza để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật ở lúa mì.

Các bào tử BEMD biểu hiện enđoglucanaza được tạo ra theo cách đồng nhất như được mô tả trên đây trong ví dụ 1. Các bào tử BEMD biểu hiện proteaza PtrB *E. coli* được tạo ra bằng cách sử dụng các phương pháp tương đồng với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1 và các đoạn mồi dưới đây: ggatccatgctaccaaaagcc (xuôi, SEQ ID NO: 41) và ggatccttagtccgcaggcgtagc (ngược, SEQ ID NO: 42).

Lúa mì cứng mùa đông được trồng sâu 2,54cm trong chậu sâu 10cm được đổ đầy lớp đất mặt mùn tiêu chuẩn. Các bào tử, đối chứng và BEMD biểu hiện enđoglucanaza hoặc proteaza, được pha loãng đến nồng độ là $1x10^4$/ml trong 50ml nước và được áp dụng cho mỗi cá thể thực vật vào lúc trồng. Đối chứng chỉ có nước cũng được lấy vào thử nghiệm. Thực vật được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng lý tưởng bằng cách sử dụng đèn T5, 54 oát, và được cho tiếp xúc với ánh sáng 11 giờ mỗi ngày trong các điều kiện nhiệt độ được kiểm soát từ 15,5°C đến 25,5°C. Thực vật được tưới nước đủ ướt ba ngày một lần trong thử nghiệm một tuần. Vào thời điểm cuối của một tuần, chiều cao của mỗi cá thể thực vật được đo, và các số đo được chuẩn tắc hóa theo thực vật đối chứng chỉ có nước.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 6, cùng với sai số chuẩn trung bình. Lúa mì được trồng khi có mặt các bào tử BEMD thể hiện enđoglucanaza hoặc proteaza phát triển cao hơn một cách đáng kể so với cây đậu nành được xử lý bằng bào tử *B.t.* đối chứng hoặc cây đậu nành đối chứng dùng nước (phép phân tích thống kê được thử nghiệm thông qua thử nghiệm t).

Bảng 6.

	Chiều cao, cm	Sự so sánh	SEM
H_2O	18,11	100%	0,721
Đối chứng *Bt*	19,96	110,33%	0,752

BEMD enđoglucanaza	24,76	136,80%	0,21
BEMD Proteaza	22,35	123,40%	0,354

Ví dụ 4. Sử dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện enđoglucanaza để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật ở cỏ mạch đen.

Các bào tử BEMD biểu hiện enđoglucanaza được tạo ra theo cách đồng nhất như được mô tả trên đây trong ví dụ 1. Cỏ mạch đen lưu niên được trồng sâu 6,4mm trong chậu sâu 10cm được đổ đầy lớp đất mặt mùn tiêu chuẩn. Các bào tử, cả đối chứng và BEMD biểu hiện enđoglucanaza, được pha loãng đến nồng độ là $1x10^4$/ml trong 50ml nước và được áp dụng cho mỗi cá thể thực vật vào lúc trồng. Đối chứng chỉ có nước cũng được lấy vào thử nghiệm. Thực vật được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng lý tưởng bằng cách sử dụng đèn T5, 54 oát, và được cho tiếp xúc với ánh sáng 11 giờ mỗi ngày trong các điều kiện nhiệt độ được kiểm soát từ 15,5°C đến 25,5°C. Thực vật được tưới nước đủ ướt ba ngày một lần trong thử nghiệm hai tuần. Vào thời điểm cuối của hai tuần, chiều cao của mỗi cá thể thực vật được đo, và các số đo được chuẩn tắc hóa theo thực vật đối chứng chỉ có nước.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 7, cùng với sai số chuẩn trung bình. Cỏ mạch đen được trồng khi có mặt các bào tử BEMD thể hiện enđoxenlulaza phát triển cao hơn một cách đáng kể so với cỏ mạch đen được xử lý bằng bào tử *B.t.* đối chứng hoặc cỏ mạch đen đối chứng dùng nước (phép phân tích thống kê được thử nghiệm thông qua thử nghiệm t).

Bảng 7.

	Chiều cao, cm	Sự so sánh	SEM
H_2O	11,43	100,0%	0,137
Đối chứng *Bt*	12,29	107,7%	0,128
BEMD enđoxenlulaza	12,78	111,9%	0,137

Ví dụ 5. Sử dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện các enzym liên quan đến quá trình tổng hợp hoặc hoạt hóa các hocmon thực vật để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật.

Cũng có thể sử dụng hệ thống BEMD để thể hiện các enzym liên quan đến quá trình tổng hợp các hocmon thực vật. Ví dụ, hocmon thực vật axit inđol-3-axetic

là chất kích thích sinh trưởng công hiệu ở thực vật. Axit inđol-3-axetic được tổng hợp *in vivo* từ tryptophan bằng các enzym tryptophan monooxygenaza và inđol-3-axetamit hyđrolaza. Axit inđol-3-axetic và các hocmon auxin khác cũng có thể được tổng hợp *in vivo* từ tryptophan và/hoặc inđol bằng các enzym nitrilaza, tryptophan aminotransferaza, inđol-3-axetalđehyt đehyđrogenaza, inđol-3-pyruvat đecacboxylaza, amin oxiđaza, tryptophan đecacboxylaza, và tryptophan oxiđaza mạch bên.

Cũng có thể sử dụng hệ thống BEMD để thể hiện các enzym liên quan đến quá trình cải biến hocmon sinh trưởng của thực vật thành dạng có hoạt tính sinh học hoặc dạng không có hoạt tính. Ví dụ, nitrilaza có thể được biểu hiện trên hệ thống BEMD để xúc tác quá trình chuyển hóa inđol-3-axetonitril thành axit inđol-3-axetic có hoạt tính sinh học. Ngoài ra, các dạng không có hoạt tính của các hocmon thực vật, như inđol-3-axetonitril có thể được bổ sung vào môi trường sinh trưởng của thực vật có nitrilaza được biểu hiện bởi BEMD để đem lại hiện tượng giải phóng dần dần hocmon có hoạt tính vào môi trường sinh trưởng của thực vật. Nhiều dạng có hoạt tính kém hơn hoặc dạng không có hoạt tính khác của các hocmon thực vật có thể được cải biến bằng cách sử dụng các enzym tương ứng của chúng.

Các hocmon sinh trưởng của thực vật có liên quan (auxin) bao gồm axit inđol-3-pyruvic, inđol-3-axetalđoxim, inđol-3-axetamit, inđol-3-axetonitril, inđol-3-etanol, inđol-3-pyruvat, axit inđol-3-butyric, axit phenylaxetic, axit 4-cloinđol-3-axetic, và inđol-3-axetalđoxim. Các hocmon này được tổng hợp từ tryptophan và/hoặc inđol *in vivo* thông qua các enzym tryptophan monooxygenaza, inđol-3-axetamit hyđrolaza, nitrilaza, nitril hyđrolaza, axetolactat syntetaza, alpha axetolactat đecacboxylaza, tryptophan aminotransferaza, inđol-3- axetalđehyt đehyđrogenaza, inđol-3-pyruvat đecacboxylaza, amin oxiđaza, tryptophan đecacboxylaza, và tryptophan oxiđaza mạch bên.

Hocmon sinh trưởng thuộc họ cytokinin cũng có thể được tổng hợp bằng các enzym được biểu hiện trong hệ thống BEMD. Các ví dụ về cytokinin bao gồm kinetin, zeatin (cis và trans), 6-benzylaminopurin, đihyđroxyzeatin, N6-(D2-isopentenyl) ađenin, ribosylzeatin, N6-(D2-isopentenyl) ađenosin, 2 metylthio-cis-

ribosylzeatin, cis ribosylzeatin, ribosylzeatin-5-monosphosphat, N6-metylaminopurin, N6-đimetylaminopurin, 2'-đeoxyzeatin ribosit, 4-hyđroxy-3-metyl-trans-2-butenylaminopurin, ortho-topolin, meta-topolin, benzylađenin, ortho-metyltopolin, và meta-metyltopolin. Các hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật này được tổng hợp *in vivo* từ mevalonat hoặc ađenosin mono/đi/triphosphat bằng các enzym bao gồm cả ađenosin phosphat isopentenyltransferazas, phosphataza, ađenosin kinaza, ađenin phosphoribosyltransferaza, CYP735A, 5'ribonucleotit phosphohyđrolaza, ađenosin nucleosiđaza, zeatin cis-trans isomeraza, zeatin O-glucosyltransferaza, β-glucosiđaza, cis-hyđroxylaza, CK cis-hyđroxylaza, CK N-glucosyltransferaza, 2,5-ribonucleotit phosphohyđrolaza, ađenosin nucleosiđaza, purin nucleosit phosphorylaza, và zeatin reductaza.

Bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1, enzym bất kỳ trong số các enzym này có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD để thể hiện trên các bào tử BEMD bằng cách tạo ra cấu trúc dung hợp bao gồm enzym và trình tự hướng đích mà hướng đích enzym được biểu hiện đến lớp ngoại bào tử khi cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*. Sau đó, có thể bổ sung thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện cấu trúc như vậy vào đất hoặc môi trường sinh trưởng của thực vật khác hoặc áp dụng một cách trực tiếp cho tán thực vật bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1 dùng để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật.

Môi trường sinh trưởng của thực vật có thể được bổ sung các tiền chất hoặc cơ chất dùng cho enzym. Ví dụ, môi trường sinh trưởng của thực vật có thể được bổ sung tryptophan, ađenosin monophosphat, ađenosin điphosphat, ađenosin triphosphat, hoặc inđol. Nồng độ thích hợp của các cơ chất này là từ 100nM đến 100μM.

Ví dụ 6. Sử dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện proteaza hoặc peptiđaza mà phân cắt protein, peptit, proprotein, hoặc preproprotein thành các peptit có hoạt tính sinh học dùng để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật.

Các proteaza và peptiđaza có thể được biểu hiện ở hệ thống BEMD mà có thể phân cắt bằng enzym các protein sẵn có trong môi trường sinh trưởng của thực vật thành các peptit có hoạt tính sinh học mà có thể tác động đến thực vật một cách trực tiếp hoặc gián tiếp. Các ví dụ bao gồm sự phân cắt bằng enzym bột đậu nành, chất chiết nấm men, hoặc các loại bột giàu protein khác được bổ sung vào môi trường sinh trưởng của thực vật thành peptit có hoạt tính mà có thể kích thích một cách trực tiếp quá trình sinh trưởng của thực vật. Các peptit có hoạt tính sinh học được tạo ra bằng quá trình phân cắt bằng enzym bột protein bao gồm RHPP và RKN 16D10, các chất kích thích công hiệu của quá trình phát triển rễ thực vật. Ngoài ra, các proprotein hoặc preproprotein có thể được phân cắt thành các dạng có hoạt tính bằng peptiđaza và proteaza được biểu hiện bởi BEMD thành các dạng có hoạt tính sinh học của chúng. Các proprotein hoặc preproprotein không có hoạt tính có thể được bổ sung vào môi trường sinh trưởng của thực vật để tạo thuận lợi cho quá trình phân cắt dần dần của chúng bằng BEMD proteaza và quá trình giải phóng chậm protein có hoạt tính sinh học.

Bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1, enzym bất kỳ trong số các proteaza và các peptiđaza này có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD để thể hiện trên các bào tử BEMD bằng cách tạo ra cấu trúc dung hợp bao gồm proteaza hoặc peptiđaza và trình tự hướng đích mà hướng đích enzym được biểu hiện đến lớp ngoại bào tử khi cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*. Sau đó, thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện cấu trúc như vậy có thể được bổ sung vào đất hoặc môi trường sinh trưởng của thực vật khác được bổ sung bột đậu nành, chất chiết nấm men, hoặc bột giàu protein khác dùng để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật. Bột đậu nành, chất chiết nấm men, hoặc bột giàu protein khác này được bổ sung một cách thích hợp vào môi trường sinh trưởng của thực vật ở dạng chế phẩm lỏng chứa 10μg/l đến 100mg/l bột protein, chất chiết nấm men, hoặc bột giàu protein khác.

Ví dụ 7. Sử dụng các bào tử BEMD biểu hiện proteaza PtrB để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật.

Các bào tử BEMD biểu hiện proteaza PtrB *E. coli* được tạo ra như được mô tả trên đây trong ví dụ 3. Hạt giống đậu nành được trồng sâu 2,54cm trong chậu sâu 10cm được đổ đầy lớp đất mặt mùn tiêu chuẩn. Các bào tử, cả đối chứng và BEMD biểu hiện proteaza, được pha loãng đến nồng độ là $1x10^4$/ml trong 50ml nước và được áp dụng cho mỗi cá thể thực vật vào lúc trồng. Đối chứng chỉ có nước cũng được lấy vào thử nghiệm. Bột đậu nành ở mức 25mg/chậu được bổ sung trong nước vào lúc trồng. Thực vật được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng lý tưởng bằng cách sử dụng đèn T5, 54 oát, và được cho tiếp xúc với ánh sáng 13 giờ mỗi ngày trong các điều kiện nhiệt độ được kiểm soát từ 15,5°C đến 25,5°C. Thực vật được tưới nước đủ ướt ba ngày một lần trong thử nghiệm một tuần. Vào thời điểm cuối của hai tuần, chiều cao của mỗi cá thể thực vật được đo, và các số đo được chuẩn tắc hóa theo thực vật đối chứng chỉ có nước.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 8, cùng với sai số chuẩn trung bình ở dạng tỷ lệ phần trăm của đối chứng nước. Đậu nành được trồng khi có mặt các bào tử BEMD thể hiện proteaza phát triển cao hơn một cách đáng kể so với cây đậu nành được xử lý bằng bào tử *B.t.* đối chứng hoặc cây đậu nành đối chứng dùng nước (phép phân tích thống kê được thử nghiệm thông qua thử nghiệm t). Việc bổ sung bột đậu nành vào đối chứng nước hoặc thực vật có *B. Thuringiensis* đối chứng có ít tác dụng. Trái lại, khi có mặt bột đậu nành và hệ thống BEMD proteaza, cây đậu nành đã đáp ứng một cách đáng kể so với tất cả các phương pháp xử lý khác.

Bảng 8.

Xử lý	Bột đậu nành	Chiều cao (cm)	Được chuẩn tắc hóa theo nước	SEM, dưới dạng tỷ lệ phần trăm của nước
Chỉ có nước	Không	12,10	100%	3,1%
Chỉ có nước	25mg/chậu	12,43	102,7%	7,4%
B.	Không	12,52	103,5%	5,2%

Thuringiensis				
B. Thuringiensis	25mg/chậu	11,99	99,1%	5,0%
BEMD Proteaza	Không	12,97	107,2%	6,1%
BEMD Proteaza	25mg/chậu	14,44	119,3%	4,8%

Ví dụ 8. Sử dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện các protein hoặc các peptit liên quan đến hoạt động kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật.

Cũng có thể sử dụng hệ thống BEMD để thể hiện các protein hoặc peptit mà liên quan trực tiếp đến hoạt động thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật. Ví dụ, các peptit hocmon hoặc peptit không hocmon của thực vật mà kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật có thể được biểu hiện ở hệ thống BEMD. Ví dụ, các peptit không hocmon mà liên kết trực tiếp với và các thụ thể thực vật có hoạt tính có thể được biểu hiện ở hệ thống BEMD để tác động một cách trực tiếp đến các thụ thể ở thực vật và rễ của thực vật đích. Các peptit hocmon và các peptit không hocmon này bao gồm phytosulfokin, calcalva 3 (CLV3), systemin, RKN 16D10, Hg-Syv46, eNOD40, protein họ NOD, ZmlGF, peptit và protein họ SCR/SP11, RHPP, POLARIS, và KTI. Các peptit này và các peptit có liên quan có thể được biểu hiện ở hệ thống BEMD và được phân phối vào môi trường sinh trưởng của thực vật hoặc được áp dụng một cách trực tiếp cho tán để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật.

Bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1, chất bất kỳ trong số các peptit hoặc các protein này có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD để thể hiện trên các bào tử BEMD bằng cách tạo ra cấu trúc dung hợp bao gồm enzym và trình tự hướng đích mà hướng đích enzym được biểu hiện đến lớp ngoại bào tử khi cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*. Sau đó, thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện cấu trúc như vậy có thể được bổ sung vào đất hoặc môi trường sinh trưởng của thực vật khác hoặc áp dụng một cách trực tiếp cho tán thực vật bằng cách sử dụng các

phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1 dùng để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật.

Ví dụ 9. Sử dụng các bào tử BEMD biểu hiện POLARIS hoặc KTI để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật.

Các bào tử BEMD biểu hiện peptit thực vật POLARIS và peptit đậu nành KTI được tạo ra bằng cách tổng hợp các gen ghi mã cho peptit POLARIS hoặc peptit KIT được liên kết với trình tự hướng đích của SEQ ID NO: 60. Sau đó, các gen này được đưa vào các gen *Bacillus thuringiensis* và các bào tử được tạo ra như được mô tả trong ví dụ 1. Hạt giống đậu nành được trồng sâu 2,54cm trong chậu sâu 10cm được đổ đầy lớp đất mặt mùn tiêu chuẩn. Các bào tử BEMD biểu hiện POLARIS hoặc KTI được pha loãng đến nồng độ là $1x10^4$/ml trong 50ml nước và được áp dụng cho mỗi cá thể thực vật vào lúc trồng. Đối chứng chỉ có nước cũng được lấy vào thử nghiệm. Các peptit POLARIS và các peptit KTI tinh khiết cũng được thử nghiệm về tác dụng của chúng đối với các cây đậu nành ở mức 0,05mg/chậu. Thực vật được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng lý tưởng bằng cách sử dụng đèn T5, 54 oát, và được cho tiếp xúc với ánh sáng 13 giờ mỗi ngày trong các điều kiện nhiệt độ được kiểm soát từ 15,5°C đến 25,5°C. Thực vật được tưới nước đủ ướt ba ngày một lần trong thử nghiệm hai tuần. Vào thời điểm cuối của hai tuần, chiều cao của mỗi cá thể thực vật được đo, rễ được đo, và các số đo được chuẩn tắc hóa theo thực vật đối chứng chỉ có nước.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 9, cùng với sai số chuẩn trung bình dưới dạng tỷ lệ phần trăm của đối chứng nước. Đậu nành được trồng khi có mặt các bào tử BEMD thể hiện POLARIS đã phát triển cao hơn và đã có sự tăng nhẹ về mức độ phát triển rễ so với các cây đậu nành đối chứng chỉ có nước. Sự có mặt của peptit KTI tự do đã dẫn đến hiện tượng còi cọc đáng kể của các cá thể thực vật, mất đi 6% đến 8% chiều cao của chúng, nhưng chiều dài rễ lại dài thêm 15%. Quá trình biểu hiện KTI trên hệ thống BEMD đã dẫn đến lợi ích của tình trạng sinh trưởng rễ, nhưng không có tác dụng gây còi cọc nào đối với chiều cao của thực vật. Điều quan trọng là, sự có mặt của các bào tử đối chứng *Bacillus thuringiensis* với peptit KTI tự

do đã không phòng ngừa tác dụng gây còi cọc của KTI, trong khi BEMD có KTI đã không thể hiện hiện tượng còi cọc như vậy nào.

Bảng 9.

Xử lý	Peptit	Rễ được chuẩn tắc hóa theo nước	SEM	Chiều cao, được chuẩn tắc hóa theo nước	SEM
Nước	Không	100%	6,8%	100%	4,3%
Nước	KTI, 0,05mg/chậu	115%	8,4%	91,8%	3,1%
BEMD POLARIS	Không	106,3%	7,9%	107,3%	1,7%
BEMD KTI	Không	113,3%	5,8%	99,4%	3,4%
B. Thuringiensis	KTI, 0,05mg/chậu	115%	7,7%	93,4%	4,2%

Ví dụ 10. Sử dụng các thành viên họ Bacillus cereus tái tổ hợp thể hiện các enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật và/hoặc tiêu hóa dưỡng chất.

Cũng có thể sử dụng hệ thống BEMD để thể hiện các enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến theo cách có lợi nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật có mặt trong đất hoặc một môi trường sinh trưởng của thực vật khác. Các enzym này làm suy thoái các sản phẩm có mặt trong đất hoặc môi trường sinh trưởng của thực vật khác thành các dạng mà có thể hấp thụ được một cách dễ dàng bởi thực vật và/hoặc vi khuẩn có lợi và/hoặc nấm có lợi của bầu rễ. Các enzym này bao gồm, ví dụ, glucosit hyđrolaza để làm suy thoái phức hợp cacbohyđrat, xenlulaza để làm suy thoái xenluloza; lipaza để làm suy thoái lipit, bao gồm cả dầu, mỡ, và sáp; lignin oxiđaza để làm suy thoái lignin và axit humic; các proteaza để làm suy thoái các polypeptit; phospholipaza để làm suy thoái màng; amiđaza và nitrogenaza để thu hồi nitơ; amylaza để tiêu hóa tinh bột; nucleaza để thu hồi nucleotit, pectinaza để phân hủy pectin, sulfataza để thu hồi lưu huỳnh, và xylanaza để phân hủy xylan và arabinoxylan. Các sản phẩm thu được, bao gồm cả đường đơn giản, axit amin, axit béo, và các dưỡng chất khác sẽ dễ dàng hấp thụ trực tiếp bởi thực vật và/hoặc dùng

để kích thích vi khuẩn có lợi và/hoặc nấm có lợi sinh trưởng và phát triển ở bầu rễ của thực vật.

Ngoài ra, các enzym và các phân tử sinh học khác có thể được sử dụng để giải phóng hoặc phân lập phosphat, nitơ, và các dưỡng chất cơ bản chính yếu khác đối với sự hấp thụ của thực vật từ các dạng hữu cơ và vô cơ khác nhau của chúng trong đất. Ví dụ, các phosphataza có thể được sử dụng để làm suy thoái phosphat trong môi trường thành phosphat vô cơ hữu dụng cho thực vật sử dụng. Phosphat này có thể là phosphat có trong tự nhiên có mặt trong môi trường sinh trưởng của thực vật. Theo cách khác hoặc ngoài ra, môi trường sinh trưởng của thực vật có thể được bổ sung phosphat như trimetaphosphat, chất cải thiện nông nghiệp thông thường. Các ví dụ về các phosphataza hữu ích bao gồm phosphoric monoeste hyđrolaza, phosphomonoesteraza, phosphoric đieste hyđrolaza, phosphođiesteraza, triphosphoric monoeste hyđrolaza, phosphoryl anhyđrit hyđrolaza, pyrophosphataza, phytaza, trimetaphosphataza, và triphosphataza. Ví dụ, các enzym trimetaphosphataza, triphosphataza, và pyrophosphataza phân hủy một cách liên tiếp trimetaphosphat thành phosphat vô cơ hữu dụng.

Họ enzym nitrogenaza chuyển hóa nitơ khí quyển (N_2) thành amoniac, nhờ đó chuyển hóa nitơ mà theo cách khác, thường không tiếp cận được đối với thực vật thành dạng hữu dụng. Các enzym thích hợp thuộc về họ Nif của nitrogenaza.

Cũng thể bổ sung năng lượng hóa học một cách trực tiếp vào môi trường sinh trưởng của thực vật dưới dạng ađenosin -3-triphosphat, ferođoxin, hoặc các enzym bổ sung mà tạo ra năng lượng như vậy vào hệ thống BEMD. Các chất này là các đồng yếu tố của nitrogenaza và có hạn trong đất. Vì vậy, các đồng yếu tố này có thể được bổ sung vào đất để nâng cao các phản ứng được mô tả trên đây.

Các chất bổ sung khác mà có thể được bổ sung vào môi trường sinh trưởng của thực vật bao gồm tinh bột, xenluloza và dẫn xuất xenluloza, pectin, xylan và arabinoxylan, mỡ, sáp, dầu, axit phytic, lignin, axit humic, và các nguồn dinh dưỡng khác mà các nhóm enzym trên đây sử dụng hoạt tính tác động vào.

Bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1, enzym bất kỳ trong số các enzym này có thể được sát nhập

vào hệ thống BEMD để thể hiện trên các bào tử BEMD bằng cách tạo ra cấu trúc dung hợp bao gồm enzym và trình tự hướng đích dùng để hướng đích cấu trúc dung hợp đến lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus*. Sau đó, cấu trúc dung hợp có thể được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*, và thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp này có thể được bổ sung vào đất hoặc một môi trường sinh trưởng của thực vật khác bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1 dùng để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật.

Ví dụ 11. Sử dụng các bào tử BEMD biểu hiện phosphataza để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật.

Các bào tử BEMD biểu hiện phosphataza A4 (PhoA4) của *Bacillus subtilis* được tạo ra bằng cách tổng hợp gen ghi mã cho PhoA4 được liên kết với trình tự hướng đích của SEQ ID NO: 60. Sau đó, gen này được đưa vào *Bacillus thuringiensis* và các bào tử được tạo ra như trong ví dụ 1. Ngô được trồng sâu 2,54cm trong chậu sâu 10cm được đổ đầy lớp đất mặt mùn tiêu chuẩn. Các bào tử BEMD biểu hiện PhoA4, được pha loãng đến nồng độ là $1x10^4$/ml trong 50ml nước và được áp dụng cho mỗi cá thể thực vật vào lúc trồng. Đối chứng chỉ có nước cũng được lấy vào thử nghiệm. Polyphosphat được bổ sung vào các chậu dưới dạng lỏng ở tỷ lệ là 0,5mg/chậu. Thực vật được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng lý tưởng bằng cách sử dụng đèn T5, 54 oát, và được cho tiếp xúc với ánh sáng 13 giờ mỗi ngày trong các điều kiện nhiệt độ được kiểm soát từ 15,5°C đến 25,5°C. Thực vật được tưới nước đủ ướt ba ngày một lần trong thử nghiệm hai tuần. Vào thời điểm cuối của hai tuần, chiều cao của mỗi cá thể thực vật được đo, và các số đo được chuẩn tắc hóa theo thực vật đối chứng chỉ có nước.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 10. Ngô được trồng khi có mặt các bào tử BEMD thể hiện PhoA4 thể hiện mức sinh trưởng được nâng cao, đặc biệt là khi có mặt polyphosphat được bổ sung. Tác dụng này thì mạnh hơn tác dụng của một mình polyphosphat.

Bảng 10.

Xử lý	Chất phụ	Mức sinh trưởng, so với

	gia	nước
Nước	Không có	100%
Nước	Polyphosphat	110,8%
BEMD PhoA4	Không có	108,3%
BEMD PhoA4	Polyphosphat	114,8%

Ví dụ 12. Sử dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện các enzym liên quan đến quá trình tổng hợp 2,3-butanđiol hoặc quá trình tổng hợp hoặc hoạt hóa axit gibberellic dùng để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật.

Cũng có thể sử dụng hệ thống BEMD để thể hiện các enzym liên quan đến quá trình tổng hợp hợp chất 2,3-butanđiol thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật. *In vivo*, 2,3-butanđiol được tổng hợp bởi vi khuẩn có lợi và nấm có lợi ở bầu rễ từ axetoin, điaxetyl, axetolactat, hoặc pyruvat bằng các enzym axetolactat syntetaza, α-axetolactat đecacboxylaza, pyruvat đecacboxylaza, điaxetyl ređuctaza, butanđiol đehyđrogenaza và axetoin ređuctaza.

Cũng có thể sử dụng hệ thống BEMD để thể hiện các enzym liên quan đến quá trình tổng hợp hoặc hoạt hóa hợp chất axit gibberellic thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật. Axit gibberellic có thể được sản xuất từ dạng có hoạt tính kém hơn hoặc dạng không có hoạt tính thông qua tác dụng của các enzym, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, hyđroxylamin ređuctaza, 2-oxogluturat đioxygenaza, gibberellin 2B/3B hyđrolaza, gibberellin 3-oxiđaza, và gibberellin 20-oxiđaza.

Enzym bất kỳ trong số các enzym này có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD để thể hiện trên các bào tử BEMD bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1. Có thể điều chế cấu trúc dung hợp mà bao gồm enzym và trình tự hướng đích mà hướng đích enzym đến lớp ngoại bào tử khi cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*. Sau đó, cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*, và thành viên họ *Bacillus cereus* được bổ sung vào đất hoặc một môi trường sinh trưởng của thực vật khác dùng để kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật.

Để làm tăng tác dụng của các enzym được thể hiện trên BEMD, đất có thể được bổ sung các cơ chất dùng cho enzym. Ví dụ, đất hoặc môi trường sinh trưởng của thực vật khác có thể được bổ sung axetoin, chất này là cơ chất dùng cho axetoin ređuctaza; pyruvat, chất này là cơ chất dùng cho pyruvat đecacboxylaza; điaxetyl, chất này là cơ chất dùng cho điaxetyl ređuctaza; và/hoặc axetolactat, chất này là cơ chất dùng cho axetolactat đecacboxylaza. Theo cách khác hoặc ngoài ra, đất hoặc môi trường sinh trưởng của thực vật khác có thể được bổ sung dạng kém công hiệu hơn hoặc dạng không có hoạt tính của axit gibberellic, dạng này sẽ được chuyển hóa thành các dạng có hoạt tính mạnh hơn bằng các enzym được mô tả trên đây trong đất hoặc môi trường sinh trưởng của thực vật khác.

Ví dụ 13. Sử dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện các proteaza để bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh

Cũng có thể sử dụng hệ thống BEMD để thể hiện các proteaza mà bảo vệ thực vật khỏi một hoặc nhiều mầm bệnh. Ví dụ, mầm bệnh vi khuẩn nhất định có thể giao tiếp giữa các thành viên riêng biệt thông qua quá trình tiết lacton homoserin của vi khuẩn hoặc các phân tử mang tín hiệu có liên quan. Vì vậy, các proteaza đặc hiệu với các phân tử mang tín hiệu lacton homoserin của vi khuẩn có thể bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh vi khuẩn này bằng cách phá vỡ sự giao tiếp giữa vi khuẩn, một bước thiết yếu để vi khuẩn tiết các độc tố và điều hòa tăng yếu tố độc tính. Các proteaza thích hợp đặc hiệu với các phân tử mang tín hiệu lacton homoserin của vi khuẩn bao gồm enđopeptiđaza và exopeptiđaza.

Các proteaza đặc hiệu với các phân tử mang tín hiệu lacton homoserin của vi khuẩn có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1. Có thể điều chế cấu trúc dung hợp mà bao gồm proteaza và trình tự hướng đích mà hướng đích proteaza đến lớp ngoại bào tử khi cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*. Sau đó, cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*, và thành viên họ *Bacillus cereus* được bổ sung vào đất hoặc một môi trường sinh trưởng của thực vật khác. Sau đó, proteaza có thể làm suy thoái các phân tử mang tín hiệu lacton homoserin của vi khuẩn, phong bế một bước chính yếu trong độc

tính của các sinh vật này và nhờ đó, giúp bảo vệ thực vật khỏi các mầm bệnh này. Các proteaza và peptiđaza khác tác động một cách hữu hiệu bằng khả năng này lên hệ thống BEMD như được thể hiện trên đây trong ví dụ 6 và 7.

Ví dụ 14. Sử dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện peptit và protein chống vi sinh vật dùng để bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh.

Cũng có thể sử dụng hệ thống BEMD để thể hiện các enzym mà thể hiện hoạt tính kháng khuẩn và/hoặc hoạt tính chống nấm mà có thể giúp bảo vệ thực vật khỏi một hoặc nhiều mầm bệnh. Ví dụ, các peptit và protein chống vi sinh vật như bacteriocin, lysozym (ví dụ, LysM), siderophore, conalbumin, albumin, lactoferrin (ví dụ, LfcinB), hoặc TasA đều có thể được biểu hiện ở hệ thống BEMD để sử dụng tác dụng của chúng trên mầm bệnh vi khuẩn và mầm bệnh nấm của thực vật. Bacteriocin, albumin, conalbumin, lysozym, và lactoferrin sử dụng tác dụng chống vi sinh vật trực tiếp trên các mục tiêu của chúng, trong khi đó siderophore liên kết với dưỡng chất thiết yếu mà mầm bệnh cần để có độc tính. Ví dụ, peptit LfcinB của lactoferrin, khi được biểu hiện trên bề mặt của hệ thống BEMD thường phân giải các tế bào vi khuẩn mà dễ bị ảnh hưởng bởi các peptit lactoferrin trong môi trường sinh trưởng của thực vật. Các protein và peptit này có tác dụng đặc hiệu đối với các vi sinh vật lựa chọn, và có thể hướng đích một cách chọn lọc đến nhóm mầm bệnh mà không gây trở ngại cho tất cả vi sinh vật trong môi trường sinh trưởng của thực vật.

Chất bất kỳ trong số các protein hoặc peptit này có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD để thể hiện trên các bào tử BEMD bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1. Có thể điều chế cấu trúc dung hợp mà bao gồm enzym và trình tự hướng đích mà hướng đích enzym đến lớp ngoại bào tử khi cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*. Sau đó, cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*, và thành viên họ *Bacillus cereus* được bổ sung vào đất hoặc một môi trường sinh trưởng của thực vật khác để bảo vệ thực vật khỏi một hoặc nhiều mầm bệnh.

Ví dụ 15. Sử dụng các bào tử BEMD biểu hiện các peptit chống vi sinh vật để bảo vệ thực vật khỏi vi khuẩn.

Các gen được tổng hợp mà đã ghi mã cho một trong hai peptit chống vi sinh vật, LfcinB (được tạo ra từ lactoferrin bò) và LysM (được tạo ra từ lysozym gà), được liên kết với trình tự hướng đích của BclA (SEQ ID NO: 60), dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu BclA (SEQ ID NO: 85). Các gen được đưa vào *Bacillus thuringiensis* BT013A và các bào tử được tạo ra bằng cách nuôi cấy môi trường nuôi cấy qua đêm gồm *Bacillus* được biến nạp trong nước dùng não tim dùng để tiêm truyền, dàn mỏng lên đĩa aga dinh dưỡng ở 30°C và cho phép nuôi cấy trong 3 ngày. Các bào tử được rửa trôi khỏi các đĩa và được súc rửa 3 lần trong PBS. Các môi trường nuôi cấy *Staphylococcus epidermidis* được nuôi cấy qua đêm trong nước dùng TSB ở 37°C. Sau đó, môi trường nuôi cấy qua đêm được tạo viên, được rửa trong PBS, và được tái tạo huyền phù trong PBS ở mức hấp thụ 595nm = 0,2. $1x10^4$ BEMD biểu hiện peptit LysM hoặc peptit LfcinB được ủ trong PBS có *S. epidermidis* trong 3 giờ ở 37°C, trong khi vẫn lắc. Mẫu đối chứng của *S. epidermidis* không được xử lý (không có bào tử BEMD). Sau 3 giờ ủ, các đĩa pha loãng của *S. epidermidis* được tạo ra và được ủ ở 37°C qua đêm. Ngày tiếp theo, các môi trường nuôi cấy *S. epidermidis* được đếm, và mức tiêu diệt tính theo phần trăm được định lượng. Trong bảng 11 dưới đây, phần ghi chép về hoạt tính tiêu diệt được ghi lại. Các peptit được biểu hiện bởi BEMD đã tiêu diệt số lượng tế bào *S. epidermidis* đáng kể. Mức tiêu diệt này thường được chuyển một cách trực tiếp thành mức tiêu diệt vi khuẩn ở bầu rễ, hạt giống, hoặc chất liệu thực vật khác. Việc lựa chọn các peptit đặc hiệu với các nhóm vi khuẩn nhất định cũng có thể làm lệch quần thể của các vi sinh vật gần cá thể thực vật theo cách có lợi, hoặc có thể hướng đích một cách chọn lọc đến mầm bệnh chính yếu.

Bảng 11.

Xử lý	Mức sống sót	% bị tiêu diệt
Không	100%	0%
BEMD LysM	71%	29%
BEMD LfcinB	23%	77%

Ví dụ 16. Sử dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện các enzym để bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh.

Cũng có thể sử dụng hệ thống BEMD để thể hiện các enzym mà bảo vệ thực vật khỏi một hoặc nhiều mầm bệnh. Ví dụ, thành tế bào nấm men và thành tế bào nấm mốc được làm suy thoái bằng các enzym như β-1,3-glucanaza, β-1,4-glucanaza, β-1,6-glucanaza, chitosinaza, chitinaza, protein giống chitosinaza và lyticaza. Thành tế bào vi khuẩn được làm suy thoái bằng các enzym được chọn từ proteinaza, proteaza, mutanolysin, stapholysin và lysozym. Mỗi enzym trong số các enzym làm suy thoái thành tế bào này có thể được biểu hiện trên hệ thống BEMD và được bổ sung vào môi trường sinh trưởng của thực vật dùng cho việc ức chế chọn lọc vi sinh vật gây bệnh ở bầu rễ.

Cũng có thể sử dụng hệ thống BEMD để thể hiện các enzym hoặc các protein mà bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh côn trùng hoặc sâu, ví dụ, bằng cách ức chế côn trùng và/hoặc sâu tàn phá loài thực vật mong muốn. Các ví dụ về các protein và các enzym đang được quan tâm này bao gồm nội độc tố, độc tố Cry, các độc tố protein diệt côn trùng khác, chất ức chế proteaza, xystein proteaza, protein Cry5B, protein Cry 21A, chitinaza, protein ức chế proteaza, peptit ức chế proteaza, chất ức chế trypsin và chất ức chế proteaza đầu mũi tên.

Chất bất kỳ trong số các protein hoặc peptit này có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD để thể hiện trên các bào tử BEMD bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1. Có thể điều chế cấu trúc dung hợp mà bao gồm enzym và trình tự hướng đích mà hướng đích enzym đến lớp ngoại bào tử khi cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*. Sau đó, cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*, và thành viên họ *Bacillus cereus* được bổ sung vào đất hoặc một môi trường sinh trưởng của thực vật khác để bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh.

Ví dụ 17. Sử dụng các bào tử BEMD biểu hiện enzym chống nấm để bảo vệ các loài thực vật, và chứng minh tính hiệu quả đối với *Sacchromyces*.

Gen được tổng hợp mà đã mã hóa enzym chống nấm, β-1,3-glucanaza từ *Bacillus subtilis*, được liên kết với trình tự hướng đích của BclA (SEQ ID NO: 60) dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu BclA (SEQ ID NO: 85). Gen này được đưa vào *Bacillus thuringiensis* BT013A và các bào tử được tạo ra bằng cách nuôi cấy môi

trường nuôi cấy qua đêm gồm *Bacillus* được biến nạp trong nước dùng não tim dùng để tiêm truyền, dàn mỏng lên đĩa aga dinh dưỡng ở 30°C, và cho phép nuôi cấy trong 3 ngày. Các bào tử được rửa trôi khỏi các đĩa và được súc rửa 3 lần trong PBS. Các môi trường nuôi cấy *Saccharomyces cerevisiae* được nuôi cấy qua đêm trong nước dùng YZ ở 37°C. Sau đó, môi trường nuôi cấy qua đêm được tạo viên, được rửa trong PBS, và được tái tạo huyền phù trong PBS ở mức hấp thụ 595nm = 0,2. $1x10^4$ BEMD biểu hiện β-1,3-glucanaza được ủ trong PBS có *Saccharomyces* trong 1 giờ ở 37°C, trong khi vẫn lắc. Mẫu đối chứng của *Saccharomyces* không được xử lý (không có bào tử BEMD). Sau 3 giờ ủ, các đĩa pha loãng của *Saccharomyces* được tạo ra và được ủ ở 37°C qua đêm. Ngày tiếp theo, các môi trường nuôi cấy *Saccharomyces* được đếm, và mức tiêu diệt tính theo phần trăm được định lượng. Trong bảng 12 dưới đây thể hiện hoạt tính tiêu diệt của các bào tử BEMD biểu hiện β-1,3-glucanaza. Enzym được biểu hiện bởi BEMD đã tiêu diệt số lượng đáng kể các tế bào *Saccharomyces*. Mức tiêu diệt này thường được chuyển một cách trực tiếp thành mức tiêu diệt các vi sinh vật là nấm ở bầu rễ, hạt giống, hoặc chất liệu thực vật khác. Việc lựa chọn các protein đặc hiệu với các nhóm nấm nhất định cũng có thể làm lệch quần thể của các vi sinh vật gần cá thể thực vật theo cách có lợi, hoặc có thể hướng đích một cách chọn lọc đến mầm bệnh nấm chính yếu.

Bảng 12.

Xử lý	Mức sống sót	% bị tiêu diệt
Không	100%	0%
BEMD β-1,3-glucanaza	83%	17%

Ví dụ 18. Sử dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện các peptit hoặc các protein kích thích hệ miễn dịch của thực vật để bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh.

Cũng có thể sử dụng hệ thống BEMD để thể hiện các peptit hoặc các protein nâng cao hệ miễn dịch của thực vật. Các protein này có thể được biểu hiện ở phần

bên ngoài của bào tử BEMD và được phân phối vào môi trường sinh trưởng của thực vật để kích thích hệ miễn dịch của thực vật nhằm cho phép thực vật bảo vệ chính mình khỏi mầm bệnh thực vật. Các protein và các peptit làm ví dụ bao gồm harpin, α-elastin, β-elastin, systemin, phenylalanin amoniac lyaza, elicitin, defensin, cryptogein, và protein flagellin và peptit. Việc cho thực vật tiếp xúc các protein và các peptit này sẽ kích thích khả năng chống chịu nhiều mầm bệnh thực vật ở thực vật.

Chất bất kỳ trong số các protein hoặc peptit này có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD để thể hiện trên các bào tử BEMD bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1. Có thể điều chế cấu trúc dung hợp mà bao gồm enzym và trình tự hướng đích mà hướng đích enzym đến lớp ngoại bào tử khi cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*. Sau đó, cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*, và thành viên họ *Bacillus cereus* được bổ sung vào đất hoặc một môi trường sinh trưởng của thực vật khác để bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh.

Ví dụ 19. Sử dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện peptit hoặc protein liên kết với lá hoặc rễ để làm bất động thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp trên hệ thống rễ của thực vật hoặc trên lá thực vật.

Các protein và peptit liên kết với rễ và lá cũng có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD để cho phép làm bất động được các bào tử BEMD trên hệ thống rễ hoặc trên lá của thực vật. Việc thể hiện các phối tử liên kết với rễ hoặc lá này trên các bào tử BEMD cho phép hướng đích các bào tử đến hệ thống rễ của thực vật hoặc đến cấu trúc phụ của hệ thống rễ hoặc đến lá hoặc đến cấu trúc phụ của lá để duy trì các bào tử BEMD ở vị trí tối ưu để các enzym và các phân tử sinh học được thể hiện khác trở nên hữu hiệu.

Ví dụ, rhicadhesin là phối tử liên kết với rễ mà liên kết với rễ tơ. Vì vậy, việc thể hiện rhicadhesin trên các bào tử BEMD như vậy hướng đích các bào tử đến rễ tơ. Các protein bổ sung mà có thể được sử dụng cho việc liên kết chọn lọc với rễ thực vật hoặc lá thực vật bao gồm adhesin, flagellin, omptin, lectin, protein nhung

mao, protein quăn, intimin, invasin, agglutinin, protein không tua, TasA, hoặc YuaB.

Các protein và peptit liên kết với rễ hoặc lá như vậy có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1. Có thể điều chế cấu trúc dung hợp mà bao gồm peptit hoặc protein liên kết với lá hoặc rễ và trình tự hướng đích mà hướng đích peptit hoặc protein đến lớp ngoại bào tử khi cấu trúc này được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*. Sau đó, cấu trúc dung hợp chứa phối tử liên kết với rễ hoặc lá được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*. Các cấu trúc dung hợp này có thể được đồng biểu hiện với một hoặc nhiều cấu trúc dung hợp bổ sung bao gồm enzym bất kỳ trong số các enzym có lợi được bàn luận trong tài liệu này (ví dụ, enzym liên quan đến quá trình tổng hợp hocmon thực vật, enzym mà làm suy thoái nguồn dinh dưỡng, hoặc proteaza có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi mầm bệnh). Thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp được bổ sung vào đất hoặc một môi trường sinh trưởng của thực vật khác, hoặc được áp dụng cho lá của thực vật. Phối tử liên kết với rễ hoặc lá hướng đích thành viên họ *Bacillus cereus* đến hệ thống rễ của thực vật hoặc đến lá của thực vật và làm bất động nó ở đó, vì thế mà, cho phép cấu trúc dung hợp được đồng biểu hiện để sử dụng các tác dụng của nó sát với hệ thống rễ hoặc hệ thống lá.

Ví dụ 20. Sử dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện các protein hoặc các enzym để nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt của thực vật.

Các protein, peptit và enzym mà nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt ở thực vật có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD và được phân phối vào thực vật đích thông qua việc bổ sung vào rễ, lá, hoặc môi trường sinh trưởng của thực vật. Trong suốt khoảng thời gian có điều kiện khắc nghiệt, thực vật giải phóng các hợp chất liên quan đến điều kiện khắc nghiệt, bao gồm cả axit aminoxyclopropan-1-carboxlic (ACC), loại oxy có tính phản ứng, và các loại khác, gây ra ảnh hưởng tiêu cực đối với quá trình sinh trưởng của thực vật. Hệ thống BEMD có thể được sử dụng để thể hiện các enzym mà làm suy thoái các hợp chất liên quan đến điều kiện khắc nghiệt này, như axit aminoxyclopropan-1-carboxylic

đeaminaza, superoxit đismutaza, oxiđaza, catalaza, và các enzym khác mà tác động đến loại oxy có tính phản ứng. Các enzym như vậy làm giảm lượng của các hợp chất liên quan đến điều kiện khắc nghiệt này và cho phép thực vật tiếp tục sinh trưởng và thậm chí, phát triển trong điều kiện có sự khắc nghiệt.

Chất bất kỳ trong số các protein hoặc peptit này có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD để thể hiện trên các bào tử BEMD bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1. Có thể điều chế cấu trúc dung hợp mà bao gồm enzym và trình tự hướng đích mà hướng đích enzym đến lớp ngoại bào tử khi cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*. Sau đó, cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*, và thành viên họ *Bacillus cereus* được bổ sung vào đất hoặc vào một môi trường sinh trưởng của thực vật khác hoặc được áp dụng cho lá của thực vật dùng để nâng cao sức chống chịu điều kiện khắc nghiệt của thực vật đích.

Ví dụ 21. Điều chế các bào tử BEMD biểu hiện enzym catalaza có tính bảo vệ.

Gen được tổng hợp mà đã mã hóa enzym catalaza có tính bảo vệ khỏi *Bacillus cereus* được liên kết với trình tự hướng đích của BetA (SEQ ID NO: 61) dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu BetA (SEQ ID NO: 86). Gen này được đưa vào *Bacillus thuringiensis* BT013A. Các bào tử được tạo ra bằng cách nuôi cấy môi trường nuôi cấy qua đêm gồm *Bacillus* được biến nạp và chủng loại hoang dại trong nước dùng não tim dùng để tiêm truyền, dàn mỏng lên đĩa aga dinh dưỡng ở 30°C, và cho phép nuôi cấy trong 3 ngày. Các bào tử được rửa trôi khỏi các đĩa và được súc rửa 3 lần trong PBS. 3 giọt hyđro peroxit được bổ sung vào mỗi viên bào tử. Enzym catalaza chuyển hóa hyđro peroxit thành nước và khí O_2. Các bào tử đối chứng đã không sủi bọt, trong khi các bào tử BEMD- catalaza đã dễ dàng sủi bọt, chứng tỏ hoạt tính enzym trên bề mặt của các bào tử. Các enzym có tính bảo vệ khác có thể được thể hiện theo cách tương đồng và được phân phối vào thực vật để tác động đến các gốc tự do được thực vật sản sinh ra trong suốt khoảng thời gian có điều kiện khác nghiệt.

Ví dụ 22. Sử dụng các thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện các protein hoặc các enzym mà bảo vệ hạt giống hoặc thực vật khỏi điều kiện khắc nghiệt của môi trường.

Các protein, các peptit, và các enzym mà bảo vệ thực vật khỏi điều kiện khắc nghiệt của môi trường có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD và được phân phối vào thực vật đích thông qua việc bổ sung vào rễ, lá, quả, hoặc môi trường sinh trưởng của thực vật. Trong suốt khoảng thời gian băng giá, thực vật có thể bị tàn phá bởi tác dụng của băng. Hệ thống BEMD có thể được sử dụng để thể hiện các peptit, các protein, hoặc các enzym mà bảo vệ thực vật khỏi các tác dụng như vậy. Ví dụ, có thể sử dụng hệ thống BEMD để thể hiện cholin đehyđrogenaza, chất này tác động bằng cách sản sinh các sản phẩm có tính bảo vệ mà bảo vệ thực vật hoặc hạt giống khỏi băng giá. Các cơ chất dùng cho các enzym này (ví dụ, cholin và/hoặc dẫn xuất cholin) còn có thể được bổ sung vào môi trường sinh trưởng của thực vật. Việc bổ sung các cơ chất như vậy có thể nâng cao lượng chất bảo vệ (betain và các tác nhân hóa học có liên quan) do enzym được biểu hiện bởi BEMD tạo ra trong môi trường thực vật. Đã biết rằng các dẫn xuất betain có tác dụng bảo vệ hạt giống khỏi điều kiện khắc nghiệt là lạnh.

Chất bất kỳ trong số các protein hoặc peptit này có thể được sát nhập vào hệ thống BEMD để thể hiện trên các bào tử BEMD bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với những loại được mô tả trên đây trong ví dụ 1. Có thể điều chế cấu trúc dung hợp mà bao gồm enzym và trình tự hướng đích mà hướng đích enzym đến lớp ngoại bào tử khi cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*. Sau đó, cấu trúc dung hợp được biểu hiện ở thành viên họ *Bacillus cereus*, và thành viên họ *Bacillus cereus* được bổ sung vào đất hoặc vào một môi trường sinh trưởng của thực vật khác hoặc được áp dụng cho lá của thực vật dùng để bảo vệ thực vật khỏi các yếu tố và điều kiện khắc nghiệt của môi trường.

Ví dụ 23. Nâng cao mức biểu hiện của các cấu trúc dung hợp trên hệ thống BEMD bằng cách sử dụng yếu tố gen khởi đầu được nâng cao hoặc yếu tố gen khởi đầu thay thế khác.

Hệ thống BEMD có thể thể hiện một loạt các protein, các peptit, và các enzym bằng cách sử dụng một hoặc nhiều trình tự hướng đích được mô tả trong tài liệu này. Một số trình tự trong số các trình tự hướng đích này có ái lực cao đối với lớp ngoại bào tử mà thường có lợi đối với quá trình biểu hiện protein dung hợp, nhưng mức biểu hiện protein dung hợp thấp của chúng hạn chế cách sử dụng chúng trên hệ thống BEMD. Đối với các trình tự và protein dung hợp này, các gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử có mức biểu hiện cao thay thế khác có thể được sử dụng thay vì các gen khởi đầu nguyên thể.

Ví dụ, SEQ ID NO: 13 (các axit amin 1 đến 39 của gen 3572 *B. weihenstephensis* KBAB4) đem lại trình tự đầu tận cùng N rất hữu hiệu đối với việc phân phối các protein đến lớp ngoại bào tử của các thành viên họ *Bacillus cereus*, như được thể hiện trong bảng 13 dưới đây. Tất cả các gen được tổng hợp ở dạng hoàn chỉnh của chúng (bao gồm cả các vùng gen khởi đầu và các vùng ghi mã cho protein dung hợp) như được mô tả trong tài liệu này. Khi các yếu tố gen khởi đầu nguyên thể của gen 3572 *B. weihenstephensis* KBAB4 (SEQ ID NO: 88) được sử dụng để biểu hiện protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích của SEQ ID NO: 13 được dung hợp với enzym β-galactosiđaza (từ *E. coli*), mức protein dung hợp thấp được biểu hiện, dẫn đến tình trạng giảm hoạt tính enzym trên bề mặt của bào tử. Hoạt tính enzym là số đo theo mức chuyển hóa 0,5M o-nitrophenylgalactosit trong dung dịch trong 10 phút. Mức chuyển hóa enzym được đo bằng thiết bị đo quang phổ ở ABS_{540} (mức hấp thụ ở 540nm). Việc thay thế các yếu tố gen khởi đầu nguyên thể của gen 3572 *B. weihenstephensis* KBAB4 bằng các gen khởi đầu có mức biểu hiện cao của SEQ ID NO: 86 (*B. anthracis* BetA/BAS3290) hoặc SEQ ID NO: 89 (protein hình cánh quạt β YVTN của *B. weihenstephensis* KBAB4) đã dẫn đến tình trạng tăng mạnh hoạt tính enzym của các bào tử. Mặt khác, việc thay thế các yếu tố gen khởi đầu nguyên thể của gen 3572 *B. weihenstephensis* KBAB4 bằng gen khởi đầu nguyên thể của Sterne *B. anthracis* BAS1882 (SEQ ID NO: 87) đã dẫn đến tình trạng giảm hoạt tính enzym của các bào tử. Mức biểu hiện của trình tự hướng đích của SEQ ID NO: 13 được dung hợp với β-galactosiđaza thì thấp hơn nhiều (0,38 lần) khi được thúc đẩy bởi gen khởi đầu của BAS1882 (SEQ ID NO:

87), và được cải thiện nhiều khi được thúc đẩy từ gen khởi đầu BetA (SEQ ID NO: 86) hoặc gen khởi đầu protein YVTN (SEQ ID NO: 89).

Bảng 13

Gen khởi đầu	Protein dung hợp	Hoạt tính β-galactosiđaza đối với hệ thống BEMD, được chuẩn tắc hóa	Mức thay đổi gấp số lần
SEQ ID NO: 88	SEQ ID NO: 13 – β-galactosiđaza	100%	
SEQ ID NO: 86	SEQ ID NO: 13 – β-galactosiđaza	213,4%	2,13 lần
SEQ ID NO: 89	SEQ ID NO: 13 – β-galactosiđaza	220,7%	2,21 lần
SEQ NO: ID 87	SEQ ID NO: 13 - β-galactosiđaza	38,1%	0,38 lần

Ví dụ 24. Phân lập và nhận diện các chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật.

Các mẫu đất từ bầu rễ của cây khoai tây (*Solanum tuberosum*), bí ngòi vàng (*Cucurbita pepo*), cà chua (*Solanum lycopersicum*), và đậu co ve (*Phaseolus coccineus*) khỏe mạnh nhất và có khả năng chống chịu nhất được thu gom, được pha loãng trong nước tiệt trùng, và trải lên đĩa aga dinh dưỡng. Các sản phẩm phân lập vi khuẩn mà đã thể hiện tỷ lệ sinh trưởng cao và có thể cấy truyền và nhân giống được lựa chọn để nghiên cứu thêm. Các chủng đã được lựa chọn được nuôi cấy trong môi trường tối thiểu (KH_2PO_4: 3g, Na_2HPO_4: 6g, NH_4Cl: 1g, NaCl: 0,50g, $MgSO_4$ $7H_2O$: 0,15g, $CaCl_2$ $2H_2O$: 0,013g, và glucoza: 1g, cho mỗi l trọng lượng khô). Các môi trường nuôi cấy qua đêm (30°C) của các chủng đã được lựa chọn được quay ly tâm xuống, các môi trường được gạn ra, và được tái tạo huyền phù trong lượng nước cất ngang bằng. Mười hạt giống rau diếp cho mỗi phương pháp xử lý được trồng ở độ sâu là 1cm trong lớp đất mặt mùn (Columbia, MO) mà đã được sàng để loại bỏ mảnh vụn lớn. Hạt giống được chủng ngừa vào lúc trồng trong các chậu 4cm bằng 0,5µl vi khuẩn đã được tái tạo huyền phù trong nước được trộn vào 10ml H_2O. Mười ml H_2O là đủ để phân phối vi khuẩn vào $3in^3$ ($7,62cm^3$) đất cũng như làm đất đủ ướt cho sự nảy mầm thích hợp của hạt giống. Thực vật được

nuôi cấy ở nhiệt độ từ 65°F đến 75°F (18°C đến 24°C) với thời gian có ánh sáng là 11 giờ/ngày, và 5ml nước tưới 3 ngày một lần. Sau một tuần, thông tin về chiều cao của thực vật và đường kính lá, cũng như sức khỏe tổng thể của thực vật được thu thập. Việc sàng lọc ban đầu các sản phẩm phân lập bầu rễ đem lại kết quả là thu được nhiều hơn 200 loài riêng biệt gồm vi khuẩn và nấm từ bầu rễ của bốn cá thể thực vật. Một số loài vi khuẩn trong số các loài vi khuẩn này được mô tả trong bảng 14. Các chủng đã được nhận diện được thể hiện bằng yếu tố nhận diện vi khuẩn thích hợp của chúng. Các chủng khác được thể hiện bằng số nhận diện ẩn số của chúng. Các chất chủng ngừa đem lại các kết quả gần với đối chứng (+/– 2%) không được lấy vào bảng này.

Bảng 14

	Xà lách		
Chủng cấy vi khuẩn	Chiều cao trung bình (cm)	Sự so sánh	SEM
Không được chủng ngừa	1,8	Đối chứng	0,07
Paracoccus kondratiavae NC35	2	111,1%	0,05
B. aryabhattai CAP53	3,65	202,8%	0,45
B. flexus BT054	2,45	136,1%	0,11
Bacillus mycoides chủng BT155	2,17	120,4%	0,21
B. aryabhattai CAP56	2,1	116,7%	0,20
B. nealsonii BOBA57	2,8	155,6%	0,03
E. cloacae CAP12	2,4	133,3%	0,41
Ẩn số 8	1,77	77,8%	0,65
Ẩn số 122	1,9	105,6%	0,11

Ẩn số 15	1,4	77,8%	0,41
Ẩn số 39	1,8	100,0%	0,20
Ẩn số 401	2	111,1%	0,21
Ẩn số 402	1,53	85,2%	0,27
Ẩn số 41	1,45	80,6%	0,31
Ẩn số 42	1,4	77,8%	0,15
Ẩn số 44	2,2	133,3%	0,08
Ẩn số 51	1,83	102,9%	0,21

Các chủng vi khuẩn mà đã tạo ra tác dụng mạnh nhất đối với sức khỏe tổng thể của thực vật và chiều cao của thực vật trong thử nghiệm rau diếp ban đầu được đưa vào quy trình nhận diện thêm. Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy qua đêm trong nước dùng Luria Bertani ở 37°C, và các môi trường nuôi cấy qua đêm được quay ly tâm xuống trong máy ly tâm. Các môi trường được gạn ra và viên vi khuẩn còn lại được đưa vào quy trình phân lập ADN nhiễm sắc thể bằng cách sử dụng kit Qiagen Bacterial Chromosomal DNA Isolation. ADN nhiễm sắc thể được đưa vào quy trình khuếch đại bằng PCR các vùng ghi mã ARN ribosom 16S bằng cách sử dụng các đoạn mồi E338F 5'-ACT CCT ACG GGA GGC AGC AGT-3' (SEQ ID NO: 122), E1099R A 5'-GGG TTG CGC TCG TTG C-3' (SEQ ID NO: 123), và E1099R B 5'-GGG TTG CGC TCG TTA C-3' (SEQ ID NO: 124). Các sản phẩm khuếch đại PCR được tinh chế bằng cách sử dụng kit tinh chế PCR Promega, và các sản phẩm khuếch đại thu được được pha loãng và được gửi đến Cơ sở nghiên cứu Cốt lõi ADN (DNA Core) của Đại học Missouri (University of Missouri) để giải trình tự ADN. Các trình tự ADN được so sánh với cơ sở dữ liệu NCBI BLAST về các sản phẩm phân lập vi khuẩn, và chi và loài được nhận diện bằng phương pháp so sánh trực tiếp với các chủng đã biết. Các loài được nhận diện đứng đầu được thể

hiện trong bảng 14. Trong nhiều trường hợp, các trình tự ADN của ARN ribosom 16S chỉ có thể xác định chi của chủng vi khuẩn được lựa chọn. Trong các trường hợp mà phương pháp nhận diện trực tiếp không sẵn có, thì các phân tích hóa sinh học bổ sung, bằng cách sử dụng tiêu chuẩn về các phương pháp trong lĩnh vực này, được thực hiện để biệt hóa các chủng ở cấp độ loài và cấp độ chủng, và được liệt kê trong bảng 15.

Bảng 15

Thử nghiệm	*E. cloacae* CAP12	*P. Kondratiavae* NC35	*B. aryabhattai* CAP53	*B. flexus* BT054	*B. mycoides* BT155	*B. aryabhattai* CAP56	*B. nealsoni* BOBA57
Ureaza	-	-	-	-	-	-	+
Catalaza	+	+	+	+	+	+	+
Oxiđaza	-	+	+	+	-	-	-
Nitrat	+	+	-	+	+	-	+
Mức sinh trưởng, 5% NaCl	+	-	+	+	-	+	+
Mức sinh trưởng, 7,5% NaCl	-	-	+	+	-	+	-
Mức sinh trưởng, 42°C	+	+	+	+	+	+	+
Mức sinh trưởng, 50°C	-	-	+	+	-	+	-
Mức sinh trưởng, độ pH 5	+	-	+	+	-	+	-
Mức sinh trưởng, độ pH 9	+	+	+	+	+	+	+
Axit, xenlobioza	+	-	+	+	+	+	-
Axit, lactoza	+	-	+	+	+	-	+
Axit, tinh bột	-	-	-	+	-	+	-

Ví dụ 25. Phân lập và nhận diện các chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật bổ sung.

Các mẫu đất từ các cánh đồng làm nông nghiệp gần Gas, Kansas được thu gom, được pha loãng trong nước tiệt trùng, và trải lên đĩa aga dinh dưỡng. Các sản phẩm phân lập vi khuẩn mà đã thể hiện tỷ lệ sinh trưởng cao và có thể cấy truyền và nhân giống được lựa chọn để nghiên cứu thêm. Các chủng đã được lựa chọn được nuôi cấy trong môi trường tối thiểu (KH_2PO_4: 3g, Na_2HPO_4: 6g, NH_4Cl: 1g, NaCl:

0,50g, $MgSO_4$ $7H_2O$: 0,15g, $CaCl_2$ $2H_2O$: 0,013g, và glucoza: 1g, cho mỗi l trọng lượng khô). Các môi trường nuôi cấy qua đêm (30°C) của các chủng đã được lựa chọn được quay ly tâm xuống, các môi trường được gạn ra, và được tái tạo huyền phù trong lượng nước cất ngang bằng. Hạt giống ngô được phủ bằng polyme hạt giống thương mại được trộn với một mình nước (1,6µl cho mỗi tổng lượng hạt giống) hoặc polyme hạt giống thương mại chứa các chủng vi khuẩn được lựa chọn (1,6µl cho mỗi tổng lượng hạt giống). Hạt giống đã được phủ được trồng trong các chậu có đường kính (3 insơ) 7,62cm ở độ sâu là 1 insơ (2,54cm) trong lớp đất mặt mùn (Columbia, MO) mà đã được sàng để loại bỏ mảnh vụn lớn. Thực vật được nuôi cấy ở nhiệt độ từ 18°C đến 24°C (65°F đến 75°F) với thời gian có ánh sáng là 11 giờ/ngày, và 50ml nước tưới vào lúc trồng và 3 ngày một lần. Sau hai tuần, thông tin về chiều cao của thực vật và đường kính lá, cũng như sức khỏe tổng thể của thực vật được thu thập. Đối với các thử nghiệm về mức độ nảy mầm và xác định độ dài rễ vào thời điểm 3 ngày, hạt giống được phủ như được chỉ ra trên đây và được phân tán đồng đều ở mức 10 hạt giống cho mỗi khăn giấy. Các khăn giấy này được làm ướt bằng 10ml nước, được cuộn lại, được đặt vào túi nhựa nhỏ và được ủ ở 30°C hoặc được đặt trên miếng gia nhiệt ươm mầm ở mức 27°C đến 30°C (80°F đến 85°F). Các số đo rễ được ghi lại sau 3 ngày. Việc sàng lọc ban đầu các sản phẩm phân lập bầu rễ đem lại kết quả là thu được nhiều hơn 100 loài riêng biệt gồm vi khuẩn và nấm từ bầu rễ. Một số loài vi khuẩn trong số các loài vi khuẩn này được mô tả trong bảng 16. Các chủng đã được nhận diện được thể hiện bằng yếu tố nhận diện vi khuẩn thích hợp của chúng.

Bảng 16

	Các phương pháp xử lý hạt giống ngô	
Chủng cấy vi khuẩn	Chiều cao trung bình (2 tuần) được chuẩn tắc hóa theo đối chứng polyme (%)	Độ dài rễ trung bình (3 ngày) được chuẩn tắc hóa theo đối chứng polyme (%)
Đối chứng polyme	100	100
B. mycoides EE118	111,1	189,1
B. subtilis EE148	99,4	172,8

Alcaligenes faecalis EE107	111,5	129,2
B. mycoides EE141	109,2	143,5
B. mycoides BT46-3	105,6	141,3
Thành viên họ *B. cereus* EE128	105,6	-
B. Thuringiensis BT013A	101,8	103,8
PaeniBacillus massiliensis BT23	104,2	139,4
Thành viên họ *B. cereus* EE349	105,2	-
B. subtilis EE218	106,6	-
B. megaterium EE281	107,8	-

Các chủng vi khuẩn mà đã tạo ra tác dụng mạnh nhất đối với sức khỏe của thực vật được mô tả trong bảng 16. Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy qua đêm trong nước dùng Luria Bertani ở 37°C, và các môi trường nuôi cấy qua đêm được quay ly tâm xuống trong máy ly tâm. Các môi trường được gạn ra và viên vi khuẩn còn lại được đưa vào quy trình phân lập ADN nhiễm sắc thể bằng cách sử dụng kit Qiagen Bacterial Chromosomal DNA Isolation. ADN nhiễm sắc thể được đưa vào quy trình khuếch đại bằng PCR các vùng ghi mã ARN ribosom 16S bằng cách sử dụng các đoạn mồi E338F 5'-ACT CCT ACG GGA GGC AGC AGT-3' (SEQ ID NO: 122), E1099R A 5'-GGG TTG CGC TCG TTG C-3' (SEQ ID NO: 123), và E1099R B 5'-GGG TTG CGC TCG TTA C-3' (SEQ ID NO: 124). Các sản phẩm khuếch đại PCR được tinh chế bằng cách sử dụng kit tinh chế PCR Promega, và các sản phẩm khuếch đại thu được được pha loãng và được gửi đến Cơ sở nghiên cứu Cốt lõi ADN của Đại học Missouri để giải trình tự ADN. Các trình tự ADN được so sánh với cơ sở dữ liệu NCBI BLAST về các sản phẩm phân lập vi khuẩn, và chi và loài được nhận diện bằng phương pháp so sánh trực tiếp với các chủng đã biết. Các loài được nhận diện đứng đầu được thể hiện trong bảng 16. Trong nhiều trường hợp, các trình tự ADN của ARN ribosom 16S chỉ có thể xác định chi của chủng vi khuẩn được lựa chọn. Trong các trường hợp mà phương pháp nhận diện trực tiếp không sẵn có, thì các phân tích hóa sinh học bổ sung, bằng cách sử dụng tiêu chuẩn về các phương pháp trong lĩnh vực này, được thực hiện để biệt hóa các chủng ở cấp độ loài và cấp độ chủng, và các chủng đã được biệt hóa được liệt kê trong bảng 17.

Bảng 17

Thử nghiệm	*B. Thuringiensis* BT013A	Thành viên họ *B. cereus* EE349	*B. subtilis* EE148	*B. subtilis* EE218	*B. megaterium* EE281	*PaeniBacillus massiliensis* BT23	*B. mycoides* BT46-3	*Alcaligenes faecalis* EE107	*B. mycoides* EE118	Thành viên họ *B. cereus* EE128	*B. mycoides* EE141
Độ di động	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Khuẩn lạc dạng rễ	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+
Catalaza	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxiđaza	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Nitrat	+	+	wk	-	-	-	+	+	+	+	+
Mức sinh trưởng, 5% NaCl	+	wk	-	+	+	-	+	+	-	+	-
Mức sinh trưởng, 7,5% NaCl	wk	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Mức sinh trưởng, 42◦C	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Mức sinh trưởng, 50◦C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mức sinh trưởng, độ pH 5	wk	-	+	+	+	-	wk	+	-	+	-
Mức sinh trưởng, độ pH 9	+	+	-	+	+	-	wk	+	+	+	-
Axit, Xenlobioza	-	-	wk	+	-	+	+	wk	+	-	wk
Axit, lactoza	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	wk
Axit, tinh bột	-	+	-	+	+	-	+	wk	+	+	-

wk = khả năng sinh trưởng yếu hoặc mức sinh trưởng thấp

Ví dụ 26. Thử nghiệm các chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật trên cỏ linh lăng.

Các chủng đã được lựa chọn được nuôi cấy trong môi trường tối thiểu (KH_2PO_4: 3g, Na_2HPO_4: 6g, NH_4Cl: 1g, NaCl: 0,50g, $MgSO_4$ $7H_2O$: 0,15g, $CaCl_2$ $2H_2O$: 0,013g, và glucoza: 1g, cho mỗi l trọng lượng khô). Các môi trường nuôi cấy qua đêm (30°C) của các chủng đã được lựa chọn được quay ly tâm xuống, các môi

trường được gạn ra, và vi khuẩn được tái tạo huyền phù trong lượng nước cất ngang bằng. Mười hạt giống cỏ linh lăng được phủ Zeba được trồng cho mỗi phương pháp xử lý ở độ sâu là 0,6cm trong lớp đất mặt mùn (Columbia, MO) mà đã được sàng để loại bỏ mảnh vụn lớn. Hạt giống được chủng ngừa vào lúc trồng bằng 0,5µl vi khuẩn đã được tái tạo huyền phù trong nước được trộn vào 10ml H_2O. Mười ml H_2O là đủ để phân phối vi khuẩn vào $3in^3$ ($7,62cm^3$) đất cũng như làm đất đủ ướt cho sự nảy mầm thích hợp của hạt giống. Thực vật được nuôi cấy ở nhiệt độ từ 65°F đến 75°F (18°C đến 24°C) với thời gian có ánh sáng là 11 giờ/ngày, và 5ml nước tưới 3 ngày một lần. Cho phép cỏ linh lăng sinh trưởng trong 1 tuần để phân tích mức độ mọc và mức độ đâm chồi ban đầu của thực vật trong các điều kiện đã được mô tả. Các chủng đã được nhận diện được thể hiện bằng yếu tố nhận diện vi khuẩn thích hợp của chúng và dữ liệu về chiều cao cuối cùng được liệt kê trong bảng 18.

Bảng 18

	Cỏ linh lăng		
Chủng cấy vi khuẩn	Chiều cao trung bình (cm)	Sự so sánh	SEM
Không được chủng ngừa	4,82	-	0,008
B. aryabhattai CAP56	4,85	101,20%	0,016
B. nealsonii BOBA57	4,86	101,70%	0,021
E. cloacae CAP12	5,6	116,23%	0,020

Ví dụ 27. Thử nghiệm các chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật trên dưa chuột.

Các chủng đã được lựa chọn được nuôi cấy trong môi trường tối thiểu (KH_2PO_4: 3g, Na_2HPO_4: 6g, NH_4Cl: 1g, NaCl: 0,50g, $MgSO_4$ $7H_2O$: 0,15g, $CaCl_2$ $2H_2O$: 0,013g, và glucoza: 1g, cho mỗi l trọng lượng khô). Các môi trường nuôi cấy qua đêm (30°C) của các chủng đã được lựa chọn được quay ly tâm xuống, các môi trường được gạn ra, và được tái tạo huyền phù trong lượng nước cất ngang bằng. Mười hạt giống dưa chuột được trồng cho mỗi phương pháp xử lý ở độ sâu là 1cm trong lớp đất mặt mùn (Columbia, MO) mà đã được sàng để loại bỏ mảnh vụn lớn. Hạt giống được chủng ngừa vào lúc trồng bằng 0,5µl vi khuẩn đã được tái tạo huyền phù trong nước được trộn vào 10ml H_2O. Mười ml H_2O là đủ để phân phối vi

khuẩn vào 3in^3 (7,62cm^3) đất cũng như làm đất đủ ướt cho sự nảy mầm thích hợp của hạt giống. Thực vật được nuôi cấy ở nhiệt độ từ 65°F đến 75°F (18°C đến 24°C) với thời gian có ánh sáng là 11 giờ/ngày, và 5ml nước tưới 3 ngày một lần. Cho phép dưa chuột sinh trưởng trong 2 tuần để phân tích mức độ mọc và mức độ đâm chồi ban đầu của thực vật trong các điều kiện đã được mô tả. Các chủng đã được nhận diện được thể hiện bằng yếu tố nhận diện vi khuẩn thích hợp của chúng và dữ liệu về chiều cao cuối cùng được liệt kê trong bảng 19.

Bảng 19

	Dưa chuột		
Chủng cấy vi khuẩn	Chiều cao trung bình (cm)	Sự so sánh	SEM
Không được chủng ngừa	11,23	-	0,067
B. aryabhattai CAP53	11,5	102,00%	0,023
B. aryabhattai CAP56	11,35	101,20%	0,035
B. nealsonii BOBA57	11,33	101,10%	0,014

Ví dụ 28. Thử nghiệm các chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật trên bí ngòi vàng.

Các chủng đã được lựa chọn được nuôi cấy trong môi trường tối thiểu (KH_2PO_4: 3g, Na_2HPO_4: 6g, NH_4Cl: 1g, NaCl: 0,50g, $MgSO_4$ $7H_2O$: 0,15g, $CaCl_2$ $2H_2O$: 0,013g, và glucoza: 1g, cho mỗi l trọng lượng khô). Các môi trường nuôi cấy qua đêm (30°C) của các chủng đã được lựa chọn được quay ly tâm xuống, các môi trường được gạn ra, và được tái tạo huyền phù trong lượng nước cất ngang bằng. Mười hạt giống bí ngòi vàng được trồng cho mỗi phương pháp xử lý ở độ sâu là 1cm trong lớp đất mặt mùn (Columbia, MO) mà đã được sàng để loại bỏ mảnh vụn lớn. Hạt giống được chủng ngừa vào lúc trồng bằng 0,5µl vi khuẩn đã được tái tạo huyền phù trong nước được trộn vào 10ml H_2O. Mười ml H_2O là đủ để phân phối vi khuẩn vào 3in^3 (7,62cm^3) đất cũng như làm đất đủ ướt cho sự nảy mầm thích hợp của hạt giống. Thực vật được nuôi cấy ở nhiệt độ từ 65°F đến 75°F (18°C đến 24°C) với thời gian có ánh sáng là 11 giờ/ngày, và 5ml nước tưới 3 ngày một lần. Cho phép bí sinh trưởng trong 2 tuần để phân tích mức độ mọc và mức độ đâm chồi ban đầu của thực vật trong các điều kiện đã được mô tả. Các chủng đã được nhận

diện được thể hiện bằng yếu tố nhận diện vi khuẩn thích hợp của chúng, dữ liệu về chiều cao cuối cùng, và dữ liệu về đường kính lá cuối cùng (theo khoảng cách từ điểm cuối của hai lá) được liệt kê trong bảng 20.

Bảng 20

		Bí ngòi vàng			
Chủng cấy vi khuẩn	Chiều cao trung bình (cm)	Sự so sánh	SEM	Đường kính lá (cm)	Sự so sánh
Không được chủng ngừa	10,16	-	0,028	5,08	-
B. aryabhattai CAP53	11,75	115,60%	0,055	7,25	142,60%
B. flexus BT054	11,88	116,90%	0,017	6,36	125,20%
Bacillus mycoides BT155	11,92	117,20%	0,051	6,33	124,60%
B. aryabhattai CAP56	11,95	117,60%	0,027	6,33	124,60%
B. nealsonii BOBA57	11,89	117,00%	0,118	6,42	126,40%
E. cloacae CAP12	11,42	112,30%	0,039	6,83	134,40%

Ví dụ 29. Thử nghiệm các chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật trên cỏ mạch đen.

Các chủng đã được lựa chọn được nuôi cấy trong môi trường tối thiểu (KH_2PO_4: 3g, Na_2HPO_4: 6g, NH_4Cl: 1g, NaCl: 0,50g, $MgSO_4$ $7H_2O$: 0,15g, $CaCl_2$ $2H_2O$: 0,013g, và glucoza: 1g, cho mỗi l trọng lượng khô). Các môi trường nuôi cấy qua đêm (30°C) của các chủng đã được lựa chọn được quay ly tâm xuống, các môi trường được gạn ra, và được tái tạo huyền phù trong lượng nước cất ngang bằng. Ba mươi hạt giống cỏ mạch đen được trồng cho mỗi phương pháp xử lý ở độ sâu là 0,3cm trong lớp đất mặt mùn (Columbia, MO) mà đã được sàng để loại bỏ mảnh vụn lớn. Hạt giống được chủng ngừa vào lúc trồng bằng 0,5µl vi khuẩn đã được tái tạo huyền phù trong nước được trộn vào 10ml H_2O. Mười ml H_2O là đủ để phân phối vi khuẩn vào $3in^3$ ($7,62cm^3$) đất cũng như làm đất đủ ướt cho sự nảy mầm thích hợp của hạt giống. Thực vật được nuôi cấy ở nhiệt độ từ 65°F đến 75°F (18°C đến 24°C) với thời gian có ánh sáng là 11 giờ/ngày, và 5ml nước tưới 3 ngày một

lần. Cho phép cỏ mạch đen sinh trưởng trong 1,5 tuần để phân tích mức độ mọc và mức độ đâm chồi ban đầu của thực vật trong các điều kiện đã được mô tả. Các chủng đã được nhận diện được thể hiện bằng yếu tố nhận diện vi khuẩn thích hợp của chúng và dữ liệu về chiều cao được liệt kê trong bảng 21.

Bảng 21

	Cỏ mạch đen		
Chủng cấy vi khuẩn	Chiều cao trung bình (cm)	Sự so sánh	SEM
Không được chủng ngừa	1,61	-	0,023
B. aryabhattai CAP53	2,01	124,70%	0,012
B. flexus BT054	2,21	137,30%	0,034
Bacillus mycoides BT155	2,29	142,20%	0,049
B. aryabhattai CAP56	2,19	136,00%	0,009
B. nealsonii BOBA57	2,29	142,40%	0,045
E. cloacae CAP12	1,98	122,50%	0,015

Ví dụ 30. Thử nghiệm các chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật trên ngô.

Các chủng đã được lựa chọn được nuôi cấy trong môi trường tối thiểu (KH_2PO_4: 3g, Na_2HPO_4: 6g, NH_4Cl: 1g, NaCl: 0,50g, $MgSO_4$ $7H_2O$: 0,15g, $CaCl_2$ $2H_2O$: 0,013g, và glucoza: 1g, cho mỗi l trọng lượng khô). Các môi trường nuôi cấy qua đêm (30°C) của các chủng đã được lựa chọn được quay ly tâm xuống, các môi trường được gạn ra, và được tái tạo huyền phù trong lượng nước cất ngang bằng. Mười hạt giống ngô được trồng cho mỗi phương pháp xử lý ở độ sâu là 2,5cm trong lớp đất mặt mùn (Columbia, MO) mà đã được sàng để loại bỏ mảnh vụn lớn. Hạt giống được chủng ngừa vào lúc trồng bằng 0,5µl vi khuẩn đã được tái tạo huyền phù trong nước được trộn vào 10ml H_2O. Mười ml H_2O là đủ để phân phối vi khuẩn vào $3in^3$ ($7,62cm^3$) đất cũng như làm đất đủ ướt cho sự nảy mầm thích hợp của hạt giống. Thực vật được nuôi cấy ở nhiệt độ từ 65°F đến 75°F (18°C đến 24°C) với thời gian có ánh sáng là 11 giờ/ngày, và 5ml nước tưới 3 ngày một lần. Cho phép ngô sinh trưởng trong 2 tuần để phân tích mức độ mọc và mức độ đâm chồi ban đầu

của thực vật trong các điều kiện đã được mô tả. Các chủng đã được nhận diện được thể hiện bằng yếu tố nhận diện vi khuẩn thích hợp của chúng và dữ liệu về chiều cao cuối cùng được liệt kê trong bảng 22.

Bảng 22

	Ngô		
Chủng cấy vi khuẩn	Chiều cao trung bình (cm)	Sự so sánh	SEM
Không được chủng ngừa	8,9	-	0,039
B. aryabhattai CAP53	11,01	123,60%	0,081
B. flexus BT054	9,96	112,00%	0,095
Bacillus mycoides chủng BT155	9,6	107,90%	0,041
B. aryabhattai CAP56	9,54	107,10%	0,088
B. nealsonii BOBA57	9,23	103,70%	0,077

Ví dụ 31. Thử nghiệm các chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật trên cây đậu nành.

Các chủng đã được lựa chọn được nuôi cấy trong môi trường tối thiểu (KH_2PO_4: 3g, Na_2HPO_4: 6g, NH_4Cl: 1g, NaCl: 0,50g, $MgSO_4$ $7H_2O$: 0,15g, $CaCl_2$ $2H_2O$: 0,013g, và glucoza: 1g, cho mỗi l trọng lượng khô, hoặc dùng cho *Bradyrhizobium* hoặc *Rhizobium* trên môi trường manitol nấm men). Các môi trường nuôi cấy qua đêm (30°C) của các chủng đã được lựa chọn được quay ly tâm xuống, các môi trường được gạn ra, và được tái tạo huyền phù trong lượng nước cất ngang bằng. Mười hạt giống đậu nành được trồng cho mỗi phương pháp xử lý ở độ sâu là 2,5cm trong lớp đất mặt mùn (Columbia, MO) mà đã được sàng để loại bỏ mảnh vụn lớn. Hạt giống được chủng ngừa vào lúc trồng bằng 0,5µl vi khuẩn đã được tái tạo huyền phù trong nước được trộn vào 10ml H_2O. Khi thử nghiệm hai chủng vi khuẩn, 0,5µl mỗi vi khuẩn đã được tái tạo huyền phù được trộn vào 10ml H_2O. Mười ml H_2O là đủ để phân phối vi khuẩn vào $3in^3$ ($7,62cm^3$) đất cũng như làm đất đủ ướt cho sự nảy mầm thích hợp của hạt giống. Thực vật được nuôi cấy ở nhiệt độ từ 65°F đến 75°F (18°C đến 24°C) với thời gian có ánh sáng là 11 giờ/ngày, và 5ml nước tưới 3 ngày một lần. Cho phép các cây đậu nành sinh trưởng trong 2 tuần để phân tích mức độ mọc và mức độ đâm chồi ban đầu của thực vật

trong các điều kiện đã được mô tả. Các chủng đã được nhận diện được thể hiện bằng yếu tố nhận diện vi khuẩn thích hợp của chúng và dữ liệu về chiều cao cuối cùng được liệt kê trong bảng 23. Việc đồng chủng ngừa các chủng vi khuẩn theo sáng chế bằng các thành viên của *Bradyrhizobium* sp. hoặc *Rhizobium* sp. dẫn đến tình trạng tăng mức sinh trưởng của thực vật so với chỉ một mình một trong hai chất chủng ngừa.

Bảng 23

	Các cây đậu nành		
Chủng cấy vi khuẩn	Chiều cao trung bình (cm)	Sự so sánh	SEM
Không được chủng ngừa	13,94	-	0,089
B. aryabhattai CAP53	16,32	117,1%	0,146
B. flexus BT054	17,85	128,0%	0,177
Bacillus mycoides chủng BT155	18,93	135,8%	0,117
B. aryabhattai CAP56	17,23	123,6%	0,133
B. aryabhattai CAP53	16,32	117,1%	0,077
B. aryabhattai CAP53 và *Bradyrhizobium* sp.	16,72	119,9%	0,182
B. aryabhattai CAP53 và *Rhizobium* sp.	17,32	124,2%	0,086
Bradyrhizobium sp.	14,25	102,2%	
Rhizobium sp.	14,75	105,8%	

Ví dụ 32. Các thành viên họ *Bacillus cereus* có thuộc tính thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật

Bacillus mycoides chủng BT155, *Bacillus mycoides* chủng EE118, *Bacillus mycoides* chủng EE141, *Bacillus mycoides* chủng BT46-3, chủng thành viên họ *Bacillus cereus* EE349, *Bacillus thuringiensis* chủng BT013A, và *Bacillus megaterium* chủng EE281 được nuôi cấy trong nước dùng Luria Bertani ở 37°C và các môi trường nuôi cấy qua đêm được quay ly tâm xuống, các môi trường được gạn ra, và được tái tạo huyền phù trong lượng nước cất ngang bằng. 20 hạt giống ngô được trồng cho mỗi phương pháp xử lý ở độ sâu là 2,5cm trong lớp đất mặt

mùn (Columbia, MO) mà đã được sàng để loại bỏ mảnh vụn lớn. Hạt giống được chủng ngừa vào lúc trồng bằng 0,5µl vi khuẩn đã được tái tạo huyền phù trong nước được trộn vào 50ml H_2O. Năm mươi ml H_2O là đủ để phân phối vi khuẩn vào 29in^3 (442,5cm^3) đất cũng như làm đất đủ ướt cho sự nảy mầm thích hợp của hạt giống. Thực vật được nuôi cấy ở nhiệt độ từ 65°F đến 72°F với thời gian có ánh sáng là 13 giờ/ngày, và 5ml nước tưới 3 ngày một lần. Cho phép các cây mầm sinh trưởng trong 2 tuần để phân tích mức độ mọc và mức độ đâm chồi ban đầu của thực vật trong các điều kiện đã được mô tả. Các chủng đã được nhận diện được thể hiện bằng yếu tố nhận diện vi khuẩn thích hợp của chúng và dữ liệu về chiều cao cuối cùng được liệt kê trong bảng 24.

Bảng 24

Chủng cấy vi khuẩn	Chiều cao trung bình, cm, của ngô	Tỷ lệ phần trăm	SEM,
Đối chứng H_2O	11,41	100%	0,123
B. mycoides EE118	12,43	108,9%	0,207
B. mycoides EE141	12,84	112,5%	0,231
B. mycoides BT46-3	11,81	103,5%	0,089
Bacillus thuringiensis BT013A	12,05	105,6%	0,148
Thành viên họ *Bacillus cereus* EE128	13,12	114,9%	0,159
Bacillus mycoides BT155	12,85	112,6%	0,163
Bacillus megaterium EE281	11,99	105,1%	0,098

Tất cả các vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật được kiểm tra đã có tác dụng có lợi đối với chiều cao của ngô ở thời điểm hai tuần trong các điều kiện đã được mô tả. Chủng EE128 thành viên họ *Bacillus cereus* đã có tác dụng mạnh nhất trong thử nghiệm này, đem lại mức tăng cường chiều cao của ngô là lớn hơn 14%.

Ví dụ 33. Lựa chọn nâng cao các thành viên họ *Bacillus cereus* để sàng lọc về hoạt tính thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật và các hoạt tính có lợi khác làm vật chủ biểu hiện BEMD.

Hệ thống BEMD có thể được sử dụng để thể hiện một loạt các protein, các peptit, và các enzym bằng cách sử dụng trình tự bất kỳ trong số các trình tự hướng đích được mô tả trong tài liệu này để đem lại các tác dụng có lợi cho nông nghiệp. Có thể thu được tác dụng có lợi bổ sung bằng cách lựa chọn vật chủ biểu hiện (thành viên họ *Bacillus cereus*) có các thuộc tính có lợi vốn có. Nhiều chủng của các thành viên của họ *Bacillus cereus* có lợi ích thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật. Ngoài ra, nhiều chủng thành viên họ *Bacillus cereus* đem lại tác dụng bảo vệ, thông qua hoạt tính diệt nấm, diệt côn trùng, diệt tuyến trùng trực tiếp hoặc các hoạt tính bảo vệ khác. Bằng cách sử dụng các chủng này làm vật chủ biểu hiện cho hệ thống BEMD, sản phẩm bào tử cuối thường có được sự kết hợp của các lợi ích tích cực trong ngành nông nghiệp.

Bảng 25 trình bày kết quả của các thử nghiệm trong đó protein dung hợp được biểu hiện ở các chủng thành viên họ *Bacillus cereus* khác nhau. Tất cả các chủng được làm cho biểu hiện protein dung hợp chứa các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1 và phosphataza PhoA4 từ *Bacillus subtilis*, một enzym có lợi cho quá trình hấp thụ phosphat được nâng cao ở ngô. Gen được tổng hợp, được tạo dòng thuần vào vectơ pMK4, và được đưa vào mỗi thành viên trong số *Bacillus* spp. được thể hiện trong bảng 25 dưới đây. Các chủng được lấy vào quy trình tạo thành bào tử bằng cách ủ ở 30°C trên đĩa aga dinh dưỡng chứa cloramphenicol 10μg/ml trong ba ngày. Các bào tử được thu gom, rửa, và được áp dụng cho ngô vào lúc trồng ở tỷ lệ là $1x10^5$ CFU/ml trong 50ml nước cho mỗi chậu có đường kính 7,62cm với 5mg polyphosphat cho mỗi chậu. Ngô được nuôi cấy trong đất mùn phù sa trong hai tuần. Thực vật được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng lý tưởng bằng cách sử dụng đèn T5, 54 oát, và được cho tiếp xúc với ánh sáng 13 giờ mỗi ngày trong các điều kiện nhiệt độ được kiểm soát từ 15,5°C đến 25,5°C. Thực vật được tưới nước đủ ướt ba ngày một lần trong thử nghiệm hai tuần. Vào thời điểm cuối của hai tuần, chiều cao của mỗi cá thể thực vật được đo và các số đo được chuẩn tắc hóa theo các bào tử *Bacillus thuringiensis* đối chứng. Quá trình biểu hiện của SEQ ID NO: 1 – protein dung hợp phosphataza đã dẫn đến tình trạng tăng chiều cao của ngô vào thời điểm 2 tuần bất kể chủng vật chủ biểu hiện được lựa chọn. Như được thể hiện trong

bảng 25, việc sử dụng thành viên họ *Bacillus cereus* thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật đã làm tăng thêm chiều cao của ngô

Bảng 25.

Loài *Bacillus*	Chủng	Protein dung hợp	Chiều cao vào thời điểm 2 tuần, được chuẩn tắc hóa
B. Thuringiensis	Chủng BT013A	Không có	100%
B. Thuringiensis	Chủng BT013A	SEQ ID NO: 1-Phosphataza	117,4%
B. mycoides	Chủng EE141	Không có	107,3%
B. mycoides	Chủng EE141	SEQ ID NO: 1-Phosphataza	123,3%
Thành viên họ *B. cereus*	Chủng EE128	Không có	124,1%
Thành viên họ *B. cereus*	Chủng EE128	SEQ ID NO: 1-Phosphataza	131,7%
B. mycoides	Chủng BT155	Không có	104,8%
B. mycoides	Chủng BT155	SEQ ID NO: 1-Phosphataza	121,9%

Ví dụ 34. Sử dụng các trình tự hướng đích khác nhau để biểu hiện β-galactosiđaza trên bề mặt của *Bacillus thuringiensis*.

Một loạt rất nhiều các trình tự hướng đích mà có sự tương đồng ở mức độ cao với các axit amin 20 đến 35 của BclA (các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1) có thể được sử dụng để thể hiện các enzym, protein và peptit trên bề mặt của các thành viên họ *Bacillus cereus*. Một vài trình tự hướng đích được so sánh bằng cách tạo ra protein dung hợp chứa các trình tự hướng đích được liên kết với lipaza *Bacillus subtilis*. Các cấu trúc dung hợp được tổng hợp bằng cách sử dụng các gen khởi đầu nguyên thể đối với trình tự hướng đích này, được tạo dòng thuần vào plasmit pMK4 sao chép, và được đưa vào *Bacillus thuringiensis* BT013A. Các chủng được lấy vào quy trình tạo thành bào tử bằng cách ủ ở 30°C trên đĩa aga dinh dưỡng chứa cloramphenicol 10μg/ml trong 3 ngày. Các bào tử được thu gom, rửa, và được tái tạo huyền phù trong PBS ở tỷ lệ là $1x10^8$/ml. $1x10^5$ bào tử cho mỗi cấu trúc dung hợp được tạo huyền phù trong 400μl nước cất. Các phản ứng được làm

ấm bằng các thành phần phản ứng đến nhiệt độ phản ứng mong muốn (40°C). 200µl dung dịch đệm sử dụng được bổ sung (dung dịch A: dung dịch B với tỷ lệ là 9:1). Dung dịch A là 50mM Tris độ pH 10 và 13,6mM axit đeoxycholic và dung dịch B là 3mg/ml p-nitrophenyl palmitat trong isopropanol. Hỗn hợp phản ứng được ủ ở 40°C trong 10 phút và được đặt trên nước đá, được ly tâm để loại bỏ các bào tử, và mức hấp thụ ở 420nm được ghi lại. Các kết quả được thể hiện trong bảng 26 dưới đây. Hoạt tính được chuẩn tắc hóa theo protein dung hợp đối chứng chứa các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1 được dung hợp với lipaza *Bacillus subtilis*.

Bảng 26.

Chủng	Trình tự hướng đích	Enzym	Hoạt tính tương đối
B. Thuringiensis BT013A	Các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1	Lipaza	100%
B. Thuringiensis BT013A	Các axit amin 1 đến 27 của SEQ ID NO: 3	Lipaza	92,5%
B. Thuringiensis BT013A	Các axit amin 1 đến 28 của SEQ ID NO: 7	Lipaza	13,5%
B. Thuringiensis BT013A	Axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 9	Lipaza	24,8%
B. Thuringiensis BT013A	Axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 13	Lipaza	98,5%
B. Thuringiensis BT013A	Axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 21	Lipaza	107,8%
B. Thuringiensis BT013A	SEQ ID NO: 60	Lipaza	137,1%
B. Thuringiensis BT013A	SEQ ID NO: 62	Lipaza	146,3%
B. Thuringiensis BT013A	SEQ ID NO: 64	Lipaza	115,7%
B. Thuringiensis BT013A	SEQ ID NO: 68	Lipaza	81,5%

Một vài trình tự hướng đích được liên kết với lipaza đem lại mức biểu hiện cao hơn và hoạt tính của enzym cao hơn trên bề mặt của các bào tử. Cụ thể là, các SEQ ID NO 60, 62, và 64, mỗi trình tự chứa một trình tự hướng đích ngắn hơn, đã nâng cao mức biểu hiện của dạng dung hợp trên bề mặt của các bào tử BEMD. Tất cả các protein dung hợp chứa các trình tự hướng đích được thử nghiệm đã thể hiện lipaza trên bề mặt.

Ví dụ 35. Sử dụng các trình tự lớp ngoại bào tử khác nhau để biểu hiện lipaza trên bề mặt của *Bacillus thuringiensis* và chứng minh hiện tượng định vị protein dung hợp vào bề mặt lớp ngoại bào tử.

Có thể sử dụng một loạt rất nhiều các protein lớp ngoại bào tử để thể hiện các enzym, protein và peptit trên bề mặt của các thành viên họ *Bacillus cereus*. Một vài protein lớp ngoại bào tử khác nhau được so sánh bằng cách tạo ra protein dung hợp chứa các protein lớp ngoại bào tử được liên kết với lipaza *Bacillus subtilis* như được mô tả trong ví dụ 34. Các cấu trúc dung hợp được tổng hợp bằng cách sử dụng gen khởi đầu nguyên thể đối với protein lớp ngoại bào tử được thể hiện trong bảng 27 dưới đây, được tạo dòng thuần vào plasmit pMK4 sao chép, và được đưa vào *Bacillus thuringiensis* BT013A. Các bào tử thể hiện các dạng dung hợp protein lớp ngoại bào tử-lipaza *Bacillus subtilis* 168 khác nhau được tạo ra bằng cách nuôi cấy vi khuẩn đã được biến nạp trong nước dùng não tim dùng để tiêm truyền có áp suất chọn lọc từ 10μg/ml cloramphenicol, dàn mỏng lên đĩa aga dinh dưỡng, và ủ ở 30°C trong 3 ngày. Sau 3 ngày, các bào tử được rửa trôi khỏi các đĩa, được tinh chế bằng cách quay ly tâm, và được tái tạo huyền phù trong PBS ở mức $1x10^8$ CFU/ml.

$1x10^5$ bào tử cho mỗi cấu trúc dung hợp được tái tạo huyền phù trong 400μl nước cất. Các phản ứng được làm ấm bằng các thành phần phản ứng đến nhiệt độ phản ứng mong muốn (40°C). 200μl dung dịch đệm sử dụng được bổ sung (dung dịch A: dung dịch B với tỷ lệ là 9:1). Dung dịch A là 50mM Tris độ pH 10 và 13,6mM axit đeoxycholic và dung dịch B là 3mg/ml p-nitrophenyl palmitat trong isopropanol. Hỗn hợp phản ứng được ủ ở 40°C trong 10 phút và được đặt trên nước đá, được ly tâm để loại bỏ các bào tử và mức hấp thụ ở 420nm được ghi lại. Các kết

quả được thể hiện trong bảng 27 dưới đây. Hoạt tính được chuẩn tắc hóa theo SEQ ID NO: 72 được liên kết với lipaza.

Bảng 27.

Chủng	Protein lớp ngoại bào tử	Enzym	Hoạt tính tương đối
B. Thuringiensis BT013A	SEQ ID NO: 72	Lipaza	100%
B. Thuringiensis BT013A	SEQ ID NO: 73	Lipaza	134,5%
B. Thuringiensis BT013A	SEQ ID NO: 76	Lipaza	17,8%
B. Thuringiensis BT013A	SEQ ID NO: 80	Lipaza	19,8%
B. Thuringiensis BT013A	SEQ ID NO: 81	Lipaza	8,2%

Việc sử dụng các protein lớp ngoại bào tử của các SEQ ID NO 72 và 73 đem lại hoạt tính enzym cao nhất trên bào tử. Tất cả các protein dung hợp chứa các protein lớp ngoại bào tử đã thể hiện lipaza *Bacillus subtilis* 168 có hoạt tính trên bề mặt, mặc dù ở các mức khác nhau.

Các protein lớp ngoại bào tử bổ sung được chứng minh là có đem lại tác dụng hướng đích protein dung hợp đến lớp ngoại bào tử bằng cách sử dụng chất chỉ thị huỳnh quang mCherry. Đã tạo ra được các cấu trúc dung hợp mà chứa các protein lớp ngoại bào tử của các SEQ ID NO 74, 83, và 73 được liên kết với chất chỉ thị mCherry. Các bào tử được nuôi cấy trong 1,5 ngày, được thu gom và tái tạo huyền phù như được mô tả trên đây. 7µl bào tử huỳnh quang được đặt dưới kính hiển vi Nikon E1000 và được xử lý hình ảnh trong suốt quá trình hình thành bào tử muộn. Dạng định vị vòng tròn trong vòng là có tính chỉ báo về dạng định vị lớp bào tử ngoài, và vẻ ngoài trùng khớp với vẻ ngoài của protein lớp ngoại bào tử. Các kết quả soi kính hiển vi huỳnh quang được thể hiện ở hình 2. Hình 2A, 2B, và 2C lần lượt là các hình ảnh soi kính hiển vi huỳnh quang của các bào tử biểu hiện protein dung hợp chứa các protein lớp ngoại bào tử của các SEQ ID NO 74, 83, và 73, và chất chỉ thị mCherry. Tất cả ba dạng dung hợp đều thể hiện mức phát huỳnh quang và định vị lớp ngoại bào tử cao, chứng tỏ tính tiện ích tiềm tàng của chúng đối với việc biểu hiện các protein ngoại lai trên bề mặt của lớp ngoại bào tử.

Ví dụ 36. Sử dụng các trình tự hướng đích khác nhau và các protein lớp ngoại bào tử để biểu hiện phosphataza ở các bào tử *Bacillus subtilis* và các tác dụng của các bào tử biểu hiện phosphataza ở đậu nành.

Các bào tử BEMD biểu hiện phosphataza A4 (PhoA4) của *Bacillus subtilis* EE148 được tạo ra bằng phương pháp tổng hợp gen các gen ghi mã cho các trình tự hướng đích khác nhau và các protein lớp ngoại bào tử dưới sự kiểm soát của các gen khởi đầu nguyên thể của chúng được liên kết với PhoA4. Các gen đã được tổng hợp được tạo dòng thuần vào pMK4 và được đưa vào *Bacillus thuringiensis* BT013A. Các bào tử thể hiện các dạng dung hợp protein lớp ngoại bào tử-PhoA4 của *Bacillus subtilis* EE148 khác nhau được tạo ra bằng cách nuôi cấy vi khuẩn đã được biến nạp trong nước dùng não tim dùng để tiêm truyền có áp suất chọn lọc từ 10μg/ml cloramphenicol, dàn mỏng lên đĩa aga dinh dưỡng, và ủ ở 30°C trong ba ngày. Sau ba ngày, các bào tử được rửa trôi khỏi các đĩa, được tinh chế bằng cách quay ly tâm, và được tái tạo huyền phù trong PBS ở mức $1x10^8$ CFU/ml.

Các cây đậu nành được trồng sâu 2,54cm trong chậu sâu 10cm được đổ đầy lớp đất mặt mùn tiêu chuẩn. Các bào tử BEMD biểu hiện PhoA4 được pha loãng đến nồng độ là $1x10^4$/ml trong 50ml nước và được áp dụng cho mỗi cá thể thực vật vào lúc trồng. Đối chứng chỉ có nước cũng được lấy vào thử nghiệm. Polyphosphat được bổ sung vào các chậu dưới dạng lỏng ở tỷ lệ là 0,5mg/chậu. Thực vật được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng lý tưởng bằng cách sử dụng đèn T5, 54 oát, và được cho tiếp xúc với ánh sáng 13 giờ mỗi ngày trong các điều kiện nhiệt độ được kiểm soát từ 15,5°C đến 25,5°C. Thực vật được tưới nước đủ ướt ba ngày một lần trong thử nghiệm hai tuần. Vào thời điểm cuối của hai tuần, chiều cao của mỗi cá thể thực vật được đo, và các số đo được chuẩn tắc hóa theo thực vật chỉ có nước đối chứng.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 28. Đậu nành được trồng khi có mặt các bào tử BEMD biểu hiện protein dung hợp chứa PhoA4 được liên kết với các trình tự hướng đích khác nhau và các protein lớp ngoại bào tử với các thành viên dung hợp khác nhau có PhoA4 đều đã thể hiện mức sinh trưởng được nâng cao,

nhưng mức độ tác dụng thay đổi tùy thuộc vào trình tự hướng đích hoặc protein lớp ngoại bào tử được sử dụng.

Bảng 28.

Loài *Bacillus*	Trình tự hướng đích hoặc protein lớp ngoại bào tử được liên kết với PhoA4	Chiều cao vào thời điểm 2 tuần, được chuẩn tắc hóa
H2O (không có vi khuẩn)	Không áp dụng	100%
Bacillus thuringiensis chủng BT013A	Các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1	100%
Bacillus thuringiensis chủng BT013A	Các axit amin 1 đến 28 của SEQ ID NO: 3	117,4%
Bacillus thuringiensis chủng BT013A	Các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 21	107,3%
Bacillus thuringiensis chủng BT013A	SEQ ID NO: 60	123,3%
Bacillus thuringiensis chủng BT013A	SEQ ID NO: 62	124,1%
Bacillus thuringiensis chủng BT013A	SEQ ID NO: 72	131,7%
Bacillus thuringiensis chủng BT013A	SEQ ID NO: 73	104,8%

Ví dụ 37. Áp dụng đồng thời các bào tử BEMD và các phương pháp xử lý hạt giống, phân bón lỏng và các phụ gia khác.

Các bào tử BEMD biểu hiện protein dung hợp được kiểm tra về tính tương hợp với các phương pháp xử lý hạt giống khác nhau. Các bào tử BEMD đã biểu hiện protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích của các axit amin 1 đến 35 SEQ ID NO: 1 được liên kết với phosphataza (PhoA4) từ *Bacillus subtilis* EE148 hoặc peptit POLARIS. Các gen đã được tổng hợp được tạo dòng thuần vào pMK4 và được đưa vào *Bacillus thuringiensis* BT013A. Các bào tử thể hiện các dạng dung hợp protein lớp ngoại bào tử-PhoA4 của *Bacillus subtilis* EE148 hoặc POLARIS khác nhau được tạo ra bằng cách nuôi cấy vi khuẩn đã được biến nạp trong nước dùng não tim dùng để tiêm truyền có áp suất chọn lọc từ 10μg/ml cloramphenicol, dàn mỏng lên đĩa aga dinh dưỡng, và ủ ở 30°C trong ba ngày. Sau ba ngày, các bào

tử được rửa trôi khỏi các đĩa, được tinh chế bằng cách quay ly tâm, và được tái tạo huyền phù trong PBS ở mức $1x10^8$ CFU/ml.

Thực vật được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng lý tưởng bằng cách sử dụng đèn T5, 54 oát, và được cho tiếp xúc với ánh sáng 13 giờ mỗi ngày trong các điều kiện nhiệt độ được kiểm soát từ 15,5°C đến 25,5°C. Thực vật được tưới nước đủ ướt ba ngày một lần trong thử nghiệm hai tuần. Vào thời điểm cuối của hai tuần, chiều cao của mỗi cá thể thực vật được đo, và các số đo được chuẩn tắc hóa theo thực vật đối chứng chỉ có nước. Các kết quả được thể hiện trong bảng 29 dưới đây. Bón vào đất ở gốc = được áp dụng cho đất ở mức 50ml cho mỗi chậu. Polyme = chỉ hạt giống ACCELERON phủ polyme thôi. Các bào tử BEMD được bổ sung ở mức $1x10^4$ tế bào/50ml đối với các cách bón vào đất ở gốc. Các bào tử BEMD được bổ sung ở mức $1,3x10^4$ tế bào/hạt giống đối với các ứng dụng phủ hạt giống. 10-34-0 và 6-24-6 là các thành phần phân bón khởi đầu thương mại tiêu chuẩn. 10-34-0 là amoni phosphat lỏng. 6-24-6 là phân bón phosphat lỏng có nồng độ muối thấp với dạng chế phẩm ortho/poly. Chất tạo màu = chất tạo màu phủ hạt giống phẩm đỏ của Becker Underwood. MACHO, APRON, và CRUISER là các chất diệt nấm thương mại được sử dụng trên hạt giống. MACHO chứa thành phần hoạt tính imidacloprid, APRON chứa thành phần hoạt tính mefenoxam, và CRUISER chứa hỗn hợp của các thành phần có hoạt tính thiamethoxam, mefenoxam và fludioxonil. Đã phát hiện ra rằng các bào tử tương hợp với nhiều cách áp dụng cho hạt giống và giữ lại khả năng của chúng trong việc kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật ở ngô.

Bảng 29.

Xử lý BEMD	Hóa chất	Chiều cao ngô vào thời điểm 2 tuần, được chuẩn tắc hóa
Không có	Không có (bón vào đất ở gốc chỉ có nước)	100%
Không có	Chỉ có polyme	101,3%
BEMD PhoA4	Không áp dụng (bón vào đất ở gốc)	111,3%
BEMD POLARIS	Không áp dụng (bón vào đất ở gốc)	106,7%

BEMD PhoA4	Polyme	109,3%
BEMD POLARIS	Polyme	107,3%
BEMD PhoA4	Polyme + chất tạo màu	102,3%
BEMD PhoA4	Polyme + MACHO	107,9%
BEMD PhoA4	Polyme + APRON	112,3%
BEMD PhoA4	Polyme + CRUISER	116,8%
BEMD PhoA4	Polyme + chất tạo màu + MACHO + APRON + CRUISER	113,7%
Không có	Phân bón khởi đầu 10-34-0 (bón vào đất ở gốc)	108,5%
BEMD PhoA4	Phân bón khởi đầu 10-34-0 (bón vào đất ở gốc)	114,7%
Không có	Phân bón khởi đầu 6-24-6 (bón vào đất ở gốc)	102,6%
BEMD PhoA4	Phân bón khởi đầu 6-24-6 (bón vào đất ở gốc)	112,9%

Đã phát hiện ra rằng các bào tử BEMD tương hợp với tất cả các chất cải thiện phủ hạt giống được thử nghiệm. Có sự giảm nhẹ hoạt tính khi các bào tử BEMD PhA4 được kết hợp với một mình chất tạo màu và polyme, nhưng các bào tử đã lấy lại hoạt tính đầy đủ với chất tạo màu kết hợp với các chất diệt nấm khác. Các bào tử BEMD cũng phát huy tác dụng tốt với phân bón lỏng. Phân bón khởi đầu góp phần vào quá trình sinh trưởng của thực vật rất có thể thông qua quá trình bổ sung dưỡng chất trực tiếp. Các bào tử BEMD đã phát huy tác dụng với cả hai phân bón khởi đầu, cho thấy rằng hoạt tính phosphataza vẫn có thể dẫn đến mức sinh trưởng của thực vật tăng khi có mặt dưỡng chất dư. Các dạng kết hợp của các bào tử BEMD với các chất diệt nấm đã thể hiện mức sinh trưởng tăng cao hơn của thực vật so với chỉ một mình các bào tử BEMD, chắc chắn do sự bảo vệ dành cho cây ngô non trong suốt giai đoạn sinh trưởng sớm.

Ví dụ 38. Sử dụng các bào tử BEMD làm chất bổ sung vào lá để làm giảm điều kiện khắc nghiệt ức chế khả năng sinh trưởng trên ngô.

Có thể sử dụng hệ thống thể hiện bào tử BEMD để phân phối các enzym mà có thể làm giảm một số điều kiện khắc nghiệt từ việc trồng thực vật ở cánh đồng hoặc nhà kính. Để thực hiện việc này, phải chọn lựa được các enzym mà tác động một cách chọn lọc lên loại oxy có tính phản ứng trong đất. Loại oxy có tính phản ứng là chất đánh dấu chính yếu của điều kiện khắc nghiệt ở thực vật.

Các bào tử BEMD biểu hiện protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích của các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1 được liên kết với chitosinaza, superoxit đismutaza, catalaza, hoặc β1,3 glucanaza từ *Bacillus thuringiensis* BT013A được tạo ra. Các gen đã được tổng hợp được tạo dòng thuần vào pMK4 và được đưa vào *Bacillus thuringiensis* BT013A. Các bào tử thể hiện các dạng dung hợp protein khác nhau được tạo ra bằng cách nuôi cấy vi khuẩn đã được biến nạp trong nước dùng não tim dùng để tiêm truyền có áp suất chọn lọc từ 10μg/ml cloramphenicol, dàn mỏng lên đĩa aga dinh dưỡng, và ủ ở 30°C trong ba ngày. Sau ba ngày, các bào tử được rửa trôi khỏi các đĩa, được tinh chế bằng cách quay ly tâm, và được tái tạo huyền phù trong PBS ở mức $1x10^8$CFU/ml.

Cây ngô ba tuần tuổi ở giai đoạn V5 được nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng lý tưởng bằng cách sử dụng đèn T5, 54 oát, và được cho tiếp xúc với ánh sáng 13 giờ mỗi ngày trong các điều kiện nhiệt độ được kiểm soát từ 15,5°C đến 25,5°C. Thực vật được tưới nước đủ ướt ba ngày một lần trong tiến trình thử nghiệm. Khi thực vật đạt đến V5, các bào tử BEMD hoặc các hóa chất đối chứng dương được phun trên lá ở mức $1x10^5$ bào tử BEMD/ml hoặc ở tỷ lệ được khuyến nghị đối với các hóa chất này. Tổng số 1ml thuốc phun được phun lên mỗi cá thể thực vật một cách riêng biệt. Chiều cao của thực vật được lấy ngay trước khi áp dụng thuốc phun lá. Sau đó, gây điều kiện khắc nghiệt cho cây ngô bằng cách làm ấm đến 32,2°C và giảm hoạt động tưới nước xuống một lần trong mỗi tuần. Thực vật được giữ trong điều kiện có sự khắc nghiệt trong hai tuần. Vào thời điểm cuối của hai tuần, chiều cao của thực vật được đo lần nữa, và vẻ ngoài nhìn thấy được ghi lại. Trong các điều kiện có sự khắc nghiệt này, mức sinh trưởng của thực vật là tối thiểu trong các

phương pháp xử lý đối chứng. Khả năng tiếp tục sinh trưởng trong điều kiện có sự khắc nghiệt được đo theo mức tăng chiều cao của thực vật trong khoảng thời gian hai tuần so với đối chứng chỉ có nước. Các kết quả được thể hiện trong bảng 30 dưới đây.

Bảng 30.

Phương pháp xử lý	Tỷ lệ	Mức thay đổi chiều cao của thực vật trong điều kiện khắc nghiệt 2 tuần
Không có	Không có	0%
Các bào tử *Bacillus thuringiensis* BT013A	1ml/cá thể thực vật	–1,6%
BEMD chitosinaza	1ml/cá thể thực vật	0,3%
BEMD chitosinaza và chitosan	1ml/cá thể thực vật và 5mM	4,7%
BEMD superoxit đismutaza	1ml/cá thể thực vật	8,3%
BEMD B1,3 Glucanaza	1ml/cá thể thực vật	4,9%
Axit salixylic	1ml/cá thể thực vật	5,8%
Benzothiađiazol (BTH)	1ml/cá thể thực vật	7,3%
BEMD catalaza	1ml/cá thể thực vật	-0,5%

Một vài enzym làm dịu điều kiện khắc nghiệt được áp dụng cho ngô bằng cách sử dụng hệ thống BEMD, như được thể hiện trong bảng 30 trên đây. Các bào tử đối chứng không có tác dụng đáng kể nào (giảm chiều cao của thực vật là –1,6%. Enzym BEMD chitosinaza đã có tác dụng tích cực khi được kết hợp với cơ chất của nó, đó là chitosan. Hai enzym thể hiện tốt nhất là BEMD β-1,3-glucanaza và BEMD superoxit đismutaza. BEMD β-1,3-glucanaza chủ yếu có hoạt tính chống nấm, nhưng có thể còn có các tác dụng trực tiếp trên thực vật. Axit salixylic và BTH là các đối chứng dương cho thử nghiệm đối với lá, và đã nhìn thấy các đáp ứng dương đối với cả hai. Có thể sử dụng phương pháp phân phối ở lá này để phân phối các enzym làm dịu điều kiện khắc nghiệt cho thực vật ở các thời điểm khác nhau của mùa.

Ví dụ 39. Thay đổi mức biểu hiện của protein dung hợp bằng cách sử dụng các gen khởi đầu chứa Sigma-K khác nhau.

Như được trình bày trong ví dụ 23 trên đây, việc thay thế gen khởi đầu nguyên thể của trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử có thể tác động mạnh đến mức protein dung hợp được biểu hiện trên lớp ngoại bào tử của bào tử họ *Bacillus cereus*. Ví dụ, việc thay thế gen khởi đầu BclA nguyên thể bằng gen khởi đầu BclB làm giảm mạnh mức protein dung hợp trên bề mặt của các bào tử thành viên họ *Bacillus cereus*. Theo cách khác, việc thay thế gen khởi đầu BclB nguyên thể bằng gen khởi đầu BclA làm tăng mạnh mức protein dung hợp trên lớp ngoại bào tử.

Mức biểu hiện tương đối của gen khởi đầu của các protein lớp ngoại bào tử khác nhau dưới sự kiểm soát của các gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử nguyên thể của chúng là thu được từ dữ liệu vi dãy phản ứng từ Bergman *et al.*, 2008. Mức biểu hiện tương đối được xác định trong suốt thời điểm hình thành bào tử muộn (300 phút sau khi bắt đầu thử nghiệm), khi các gen khởi đầu sigma K có hoạt tính mạnh nhất. Các gen khởi đầu sigma K là các gen khởi đầu chính yếu dùng để biểu hiện các gen được định vị vào lớp ngoại bào tử và các protein đi kèm. Mức biểu hiện tương đối là sự tăng mức biểu hiện của gen khi so với giá trị trung bình của tất cả các gen khác của nhiễm sắc thể ở tất cả các thời điểm đã cho. Bảng 31 dưới đây thể hiện mức biểu hiện tương đối của một loạt gen được thúc đẩy bởi sigma K ở các thành viên họ *Bacillus cereus*.

Bảng 31.

Protein (gen khởi đầu SEQ ID NO.)	Mức biểu hiện tương đối (mức tăng gấp số lần ở ARN thông tin)
CotY (SEQ ID NO: 97)	79,21
Các gen khởi đầu ramnoza (SEQ ID NO: 96)	75,69
BclC (SEQ ID NO: 98)	14,44
Sigma K (SEQ ID NO: 99)	64
Gen khởi đầu US glycosyl transferaza liền kề BclA 1 (SEQ ID NO: 101)	72,25
Gen khởi đầu DS glycosyl transferaza liền kề BclA 2 (SEQ ID NO: 102)	73,96

BclA (SEQ ID NO: 85)	77,44
ExsY (SEQ ID NO: 91)	32,49
YjcA (SEQ ID NO: 93)	64
YjcB (SEQ ID NO: 94)	70,56
BxpB/ExsFA (SEQ ID NO: 95)	30,25
InhA (SEQ ID NO: 100)	34,25

Xem xét những điều trên đây, sẽ nhận thấy rằng có thể đạt được một vài mục tiêu của sáng chế và có thể thu được các kết quả thuận lợi khác.

Vì có thể thực hiện các thay đổi khác nhau cho các protein dung hợp, các thành viên họ *Bacillus cereus*, các dạng chế phẩm, và các phương pháp trên đây mà không đi trệch khỏi phạm vi của sáng chế, nên dự định rằng tất cả các vấn đề nằm trong phần mô tả trên đây và được thể hiện trong hình vẽ kèm theo sẽ được hiểu là để minh họa và không có mục đích giới hạn sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm bước đưa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp vào môi trường sinh trưởng của thực vật hoặc đưa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp vào thực vật, hạt giống thực vật, hoặc diện tích bao quanh thực vật hoặc hạt giống thực vật, trong đó protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật và trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử mà có khả năng hướng đích protein dung hợp đến lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp; và trong đó peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật được được gắn kết bằng cách vật lý vào lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp và bao gồm enzym.

2. Hạt giống thực vật được phủ bằng chế phẩm phủ hạt giống chứa (i) thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp, trong đó thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp này biểu hiện protein dung hợp và protein dung hợp này bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật và trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử mà có khả năng hướng đích protein dung hợp đến lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp; và trong đó peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật được được gắn kết bằng cách vật lý vào lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp và bao gồm enzyme và (ii) chất mang nông dụng.

3. Thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp biểu hiện protein dung hợp, trong đó protein dung hợp bao gồm ít nhất một peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật và trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử mà có khả năng hướng đích protein dung hợp đến lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp; trong đó

thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp bao gồm chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật, trong đó chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm *Bacillus mycoides* BT155 (NRRL No. B-50921), *Bacillus mycoides* EE118 (NRRL No. B-50918), *Bacillus mycoides* EE141 (NRRL

No. B-50916), *Bacillus mycoides* BT46-3 (NRRL No. B-50922), thành viên họ *Bacillus cereus* EE128 (NRRL No. B-50917), *Bacillus thuringiensis* BT013A (NRRL No. B-50924), hoặc thành viên họ *Bacillus cereus* EE349 (NRRL No. B-50928);

peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật được gắn kết bằng cách vật lý vào lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp và bao gồm enzyme.

4. Phương pháp theo điểm 1, trong đó protein dung hợp bao gồm:

(a) trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 81% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 90%;

(b) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1;

(c) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1;

(d) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 1;

(e) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 2;

(f) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 27 của SEQ ID NO: 3;

(g) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 12 đến 27 của SEQ ID NO: 3;

(h) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 3;

(i) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 4;

(j) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 38 của SEQ ID NO: 5;

(k) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 23 đến 38 của SEQ ID NO: 5;

(l) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 5;

(m) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 6;

(n) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 28 của SEQ ID NO: 7;

(o) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 13 đến 28 của SEQ ID NO: 7;

(p) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 7;

(q) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 8;

(r) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 9;

(s) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 9;

(t) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 9;

(u) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 10;

(v) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO:11;

(w) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 11;

(x) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 11;

(y) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 12;

(z) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 13;

(aa) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 13;

(ab) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:13;

(ac) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:14;

(ad) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 43 của SEQ ID NO: 15;

(ae) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 28 đến 43 của SEQ ID NO: 15;

(af) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:15;

(ag) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:16;

(ah) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 27 của SEQ ID NO: 17;

(ai) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 12 đến 27 của SEQ ID NO: 17;

(aj) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:17;

(ak) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:18;

(al) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 19;

(am) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 19;

(an) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:19;

(ao) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:20;

(ap) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 21;

(aq) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 21;

(ar) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:21;

(as) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:22;

(at) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 23;

(au) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 23;

(av) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:23;

(aw) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:24;

(ax) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 25;

(ay) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 25;

(az) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:25;

(ba) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:26;

(bb) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 30 của SEQ ID NO: 27;

(bc) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 15 đến 30 của SEQ ID NO: 27;

(bd) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:27;

(be) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:28;

(bf) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 29;

(bg) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 29;

(bh) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:29;

(bi) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:30;

(bj) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 31;

(bk) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 31;

(bl) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:31;

(bm) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:32;

(bn) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 15 của SEQ ID NO: 33;

(bo) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:33;

(bp) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:34;

(bq) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 16 của SEQ ID NO: 35;

(br) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:35;

(bs) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:36;

(bt) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 29 của SEQ ID NO:43;

(bu) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 14 đến 29 của SEQ ID NO: 43;

(bv) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 43;

(bw) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 44;

(bx) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 45;

(by) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 45;

(bz) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 45;

(ca) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 46;

(cb) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 43 của SEQ ID NO: 47;

(cc) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 28 đến 43 của SEQ ID NO: 47;

(cd) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 47;

(ce) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 48;

(cf) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 32 của SEQ ID NO: 49;

(cg) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 17 đến 32 của SEQ ID NO: 49;

(ch) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 49;

(ci) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 50;

(cj) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 51;

(ck) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 51;

(cl) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 51;

(cm) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 52;

(cn) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 53;

(co) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 53;

(cp) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 53;

(cq) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 54;

(cr) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 30 của SEQ ID NO: 55;

(cs) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 15 đến 30 của SEQ ID NO: 55;

(ct) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 55;

(cu) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 56;

(cv) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 130 của SEQ ID NO: 57;

(cw) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 115 đến 130 của SEQ ID NO: 57;

(cx) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 57;

(cy) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 58;

(cz) đoạn protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 59;

(da) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 60;

(db) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 61;

(dc) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 62;

(dd) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 63;

(de) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 64;

(df) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 65;

(dg) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 66;

(dh) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 67;

(di) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 68;

(dj) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 69;

(dk) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 70;

(dl) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 71;

(dm) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 72;

(dn) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 73;

(do) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 74;

(dp) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 75;

(dq) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 76;

(dr) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 77;

(ds) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 78;

(dt) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 79;

(du) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 80;

(dv) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 81;

(dw) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 82;

(dx) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 83;

(dy) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 84;

(dz) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 22 đến 31 của SEQ ID NO: 1;

(ea) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 22 đến 33 của SEQ ID NO: 1;

(eb) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 20 đến 31 của SEQ ID NO: 1;

(ec) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 14 đến 23 của SEQ ID NO: 3;

(ed) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 14 đến 25 của SEQ ID NO: 3; hoặc

(ee) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 12 đến 23 của SEQ ID NO: 3.

5. Hạt giống thực vật theo điểm 2, trong đó protein dung hợp bao gồm:

(a) trình tự hướng đích bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 81% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 90%;

(b) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1;

(c) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1;

(d) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 1;

(e) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 2;

(f) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 27 của SEQ ID NO: 3;

(g) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 12 đến 27 của SEQ ID NO: 3;

(h) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 3;

(i) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 4;

(j) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 38 của SEQ ID NO: 5;

(k) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 23 đến 38 của SEQ ID NO: 5;

(l) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 5;

(m) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 6;

(n) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 28 của SEQ ID NO: 7;

(o) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 13 đến 28 của SEQ ID NO: 7;

(p) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 7;

(q) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 8;

(r) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 9;

(s) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 9;

(t) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 9;

(u) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 10;

(v) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO:11;

(w) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 11;

(x) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 11;

(y) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 12;

(z) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 13;

(aa) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 13;

(ab) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:13;

(ac) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:14;

(ad) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 43 của SEQ ID NO: 15;

(ae) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 28 đến 43 của SEQ ID NO: 15;

(af) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:15;

(ag) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:16;

(ah) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 27 của SEQ ID NO: 17;

(ai) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 12 đến 27 của SEQ ID NO: 17;

(aj) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:17;

(ak) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:18;

(al) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 19;

(am) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 19;

(an) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:19;

(ao) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:20;

(ap) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 21;

(aq) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 21;

(ar) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:21;

(as) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:22;

(at) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 23;

(au) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 23;

(av) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:23;

(aw) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:24;

(ax) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 25;

(ay) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 25;

(az) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:25;

(ba) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:26;

(bb) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 30 của SEQ ID NO: 27;

(bc) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 15 đến 30 của SEQ ID NO: 27;

(bd) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:27;

(be) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:28;

(bf) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 29;

(bg) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 29;

(bh) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:29;

(bi) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:30;

(bj) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 24 của SEQ ID NO: 31;

(bk) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 9 đến 24 của SEQ ID NO: 31;

(bl) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:31;

(bm) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:32;

(bn) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 15 của SEQ ID NO: 33;

(bo) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:33;

(bp) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:34;

(bq) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 16 của SEQ ID NO: 35;

(br) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO:35;

(bs) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO:36;

(bt) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 29 của SEQ ID NO:43;

(bu) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 14 đến 29 của SEQ ID NO: 43;

(bv) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 43;

(bw) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 44;

(bx) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 45;

(by) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 45;

(bz) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 45;

(ca) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 46;

(cb) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 43 của SEQ ID NO: 47;

(cc) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 28 đến 43 của SEQ ID NO: 47;

(cd) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 47;

(ce) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 48;

(cf) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 32 của SEQ ID NO: 49;

(cg) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 17 đến 32 của SEQ ID NO: 49;

(ch) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 49;

(ci) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 50;

(cj) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 51;

(ck) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 51;

(cl) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 51;

(cm) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 52;

(cn) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 33 của SEQ ID NO: 53;

(co) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 18 đến 33 của SEQ ID NO: 53;

(cp) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 53;

(cq) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 54;

(cr) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 30 của SEQ ID NO: 55;

(cs) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 15 đến 30 của SEQ ID NO: 55;

(ct) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 55;

(cu) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 56;

(cv) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 1 đến 130 của SEQ ID NO: 57;

(cw) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 115 đến 130 của SEQ ID NO: 57;

(cx) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 57;

(cy) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 58;

(cz) đoạn protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 59;

(da) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 60;

(db) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 61;

(dc) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 62;

(dd) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 63;

(de) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 64;

(df) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 65;

(dg) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 66;

(dh) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 67;

(di) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 68;

(dj) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 69;

(dk) trình tự hướng đích bao gồm SEQ ID NO: 70;

(dl) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 71;

(dm) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 72;

(dn) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 73;

(do) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 74;

(dp) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 75;

(dq) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 76;

(dr) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 77;

(ds) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 78;

(dt) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 79;

(du) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 80;

(dv) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 81;

(dw) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 82;

(dx) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 83;

(dy) protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 84;

(dz) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 22 đến 31 của SEQ ID NO: 1;

(ea) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 22 đến 33 của SEQ ID NO: 1;

(eb) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 20 đến 31 của SEQ ID NO: 1;

(ec) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 14 đến 23 của SEQ ID NO: 3;

(ed) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 14 đến 25 của SEQ ID NO: 3; hoặc

(ee) trình tự hướng đích bao gồm các axit amin 12 đến 23 của SEQ ID NO: 3.

6. Phương pháp theo điểm 4, trong đó trình tự hướng đích bao gồm:

(a) trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 81% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 90%;

(b) các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1;

(c) các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1;

(d) SEQ ID NO: 1; hoặc

(e) SEQ ID NO: 60.

7. Hạt giống thực vật theo điểm 5, trong đó trình tự hướng đích bao gồm:

(a) trình tự axit amin bao gồm 16 axit amin và có độ đồng nhất ít nhất 81% với các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1, trong đó độ đồng nhất với các axit amin 25 đến 35 là ít nhất 90%;

(b) các axit amin 1 đến 35 của SEQ ID NO: 1;

(c) các axit amin 20 đến 35 của SEQ ID NO: 1;

(d) SEQ ID NO: 1; hoặc

(e) SEQ ID NO: 60.

8. Phương pháp theo điểm 4, trong đó protein dung hợp bao gồm protein lớp ngoại bào tử hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất là 98%, ít nhất là 99% hoặc 100% với SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 59, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, hoặc 84.

9. Hạt giống thực vật theo điểm 5, trong đó protein dung hợp bao gồm protein lớp ngoại bào tử hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất là 98%, ít nhất là 99% hoặc 100% với SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 59, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, hoặc 84.

10. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 4, 6 và 8, trong đó peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm enzym liên quan đến việc sản sinh hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật hoặc enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật.

11. Hạt giống thực vật theo điểm bất kỳ trong số các điểm 2, 5, 7 và 9, trong đó peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm enzym liên quan đến việc sản sinh hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật hoặc enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật.

12. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 4, 6, 8 và 10, trong đó protein dung hợp còn bao gồm liên kết axit amin giữa trình tự hướng đích, protein

lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử và peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật; trong đó liên kết này tùy ý bao gồm:

liên kết polyalanin, liên kết polyglyxin, hoặc liên kết bao gồm hỗn hợp của cả gốc alanin và gốc glyxin; và/hoặc

vị trí nhận biết proteaza.

13. Hạt giống thực vật theo điểm bất kỳ trong số các điểm 2, 5, 7, 9 và 11, trong đó protein dung hợp còn bao gồm liên kết axit amin giữa trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử và peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật; trong đó liên kết này tùy ý bao gồm:

liên kết polyalanin, liên kết polyglyxin, hoặc liên kết bao gồm hỗn hợp của cả gốc alanin và gốc glyxin; và/hoặc

vị trí nhận biết proteaza.

14. Hạt giống thực vật theo điểm 11 hoặc 13, trong đó:

peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm enzym liên quan đến việc sản sinh hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật này bao gồm hợp chất được sản sinh bởi vi khuẩn hoặc nấm ở vùng rễ hoặc hormon sinh trưởng thực vật.

15. Hạt giống thực vật theo điểm 14, trong đó peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm enzym liên quan đến việc sản sinh hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, và enzym liên quan đến việc sản xuất hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật này bao gồm axetoin ređuctaza, inđol-3-axetamit hyđrolaza, tryptophan monooxygenaza, axetolactat syntetaza, α-axetolactat đecacboxylaza, pyruvat đecacboxylaza, điaxetyl ređuctaza, butanđiol đehyđrogenaza, aminotransferaza (tùy ý bao gồm tryptophan aminotransferaza), tryptophan đecacboxylaza, amin oxiđaza, inđol-3-pyruvat đecacboxylaza, inđol-3-axetalđehyt đehyđrogenaza, tryptophan oxiđaza mạch bên, nitril hyđrolaza, nitrilaza, peptiđaza, proteaza, ađenosin phosphat isopentenyltransferaza, phosphataza, ađenosin kinaza, ađenin

phosphoribosyltransferaza, CYP735A, 5'ribonucleotit phosphohyđrolaza, ađenosin nucleosiđaza, zeatin cis-trans isomeraza, zeatin O-glucosyltransferaza, β-glucosiđaza, cis-hyđroxylaza, CK cis-hyđroxylaza, CK N-glucosyltransferaza, 2,5-ribonucleotit phosphohyđrolaza, ađenosin nucleosiđaza, purin nucleosit phosphorylaza, zeatin ređuctaza, hyđroxylamin ređuctaza, 2-oxoglutarat đioxygenaza, axit gibberellic 2B/3B hyđrolaza, gibberellin 3-oxiđaza, gibberellin 20-oxiđaza, chitosinaza, chitinaza, β-1,3-glucanaza, β-1,4-glucanaza, β-1,6-glucanaza, axit aminoxyclopropan-1-carboxylic đeaminaza, hoặc enzym liên quan đến việc sản sinh yếu tố nod (tùy ý bao gồm nodA, nodB, hoặc nodI).

16. Hạt giống thực vật theo điểm 15, trong đó enzym liên quan đến việc sản sinh hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm proteaza hoặc peptidaza mà phân cắt protein, peptit, proprotein, hoặc preproprotein để tạo ra peptit có hoạt tính sinh học; trong đó:

proteaza hoặc peptiđaza tùy ý bao gồm subtilisin, proteaza axit, proteaza kiềm, proteinaza, enđopeptiđaza, exopeptiđaza, thermolysin, papain, pepsin, trypsin, pronaza, carboxylaza, serin proteaza, glutamic proteaza, aspartat proteaza, xystein proteaza, threonin proteaza, hoặc metalloproteaza;

peptit có hoạt tính sinh học tùy ý bao gồm RKN 16D10 hoặc RHPP; và/hoặc

proteaza hoặc peptiđaza tùy ý phân cắt các protein trong bột giàu protein (tùy ý bột đậu nành hoặc chất chiết nấm men).

17. Phương pháp theo điểm 10, trong đó enzyme bao gồm enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật.

18. Hạt giống thực vật theo điểm 11, trong đó enzyme bao gồm enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật.

19. Phương pháp theo điểm 17, trong đó enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật bao gồm xenlulaza, lipaza, lignin oxiđaza, proteaza, glycosit hyđrolaza, phosphataza, nitrogenaza, nucleaza, amiđaza, nitrat ređuctaza, nitrit ređuctaza, amylaza, amoniac oxiđaza, ligninaza,

glucosiđaza, phospholipaza, phytaza, pectinaza, glucanaza, sulfataza, ureaza hoặc xylanaza.

20. Hạt giống thực vật theo điểm 18, trong đó enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật bao gồm xenlulaza, lipaza, lignin oxiđaza, proteaza, glycosit hyđrolaza, phosphataza, nitrogenaza, nucleaza, amiđaza, nitrat ređuctaza, nitrit ređuctaza, amylaza, amoniac oxiđaza, ligninaza, glucosiđaza, phospholipaza, phytaza, pectinaza, glucanaza, sulfataza, ureaza hoặc xylanaza.

21. Phương pháp theo điểm 19, trong đó:

enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật bao gồm xenlulaza, và xenlulaza này bao gồm endoxenlulaza, exoxenlulaza, hoặc β-glucosiđaza;

enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật bao gồm lipaza, và lipaza này bao gồm lipaza *Bacillus subtilis*, lipaza *Bacillus thuringiensis*, lipaza *Bacillus cereus*, hoặc lipaza *Bacillus clausii*;

enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật bao gồm lignin oxiđaza, và lignin oxiđaza này bao gồm lignin peroxiđaza, laccaza, glyoxal oxiđaza, ligninaza, hoặc mangan peroxiđaza;

enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật bao gồm proteaza, và proteaza này bao gồm subtilisin, proteaza axit, proteaza kiềm, proteinaza, peptiđaza, enđopeptiđaza, exopeptiđaza, thermolysin, papain, pepsin, trypsin, pronaza, carboxylaza, serin proteaza, glutamic proteaza, aspartat proteaza, xystein proteaza, threonin proteaza, hoặc metalloproteaza;

enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật bao gồm phosphataza, và phosphataza này bao gồm phosphoric monoeste hyđrolaza, phosphomonoesteraza, phosphoric đieste hyđrolaza, phosphođiesteraza, triphosphoric monoeste hyđrolaza, phosphoryl anhyđrit hyđrolaza, pyrophosphataza, phytaza, trimetaphosphataza, hoặc triphosphataza; hoặc

enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật bao gồm nitrogenaza, và nitrogenaza này bao gồm nitrogenaza họ Nif.

22. Hạt giống thực vật theo điểm 20, trong đó:

enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật bao gồm xenlulaza, và xenlulaza này bao gồm endoxenlulaza, exoxenlulaza, hoặc β-glucosiđaza;

enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật bao gồm lipaza, và lipaza này bao gồm lipaza *Bacillus subtilis*, lipaza *Bacillus thuringiensis*, lipaza *Bacillus cereus*, hoặc lipaza *Bacillus clausii*; hoặc

enzym mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật bao gồm lignin oxiđaza, và lignin oxiđaza này bao gồm lignin peroxiđaza, laccaza, glyoxal oxiđaza, ligninaza, hoặc mangan peroxiđaza.

23. Hạt giống thực vật theo điểm 20, trong đó:

proteaza bao gồm subtilisin, proteaza axit, proteaza kiềm, proteinaza, peptiđaza, enđopeptiđaza, exopeptiđaza, thermolysin, papain, pepsin, trypsin, pronaza, carboxylaza, serin proteaza, glutamic proteaza, aspartat proteaza, xystein proteaza, threonin proteaza, hoặc metalloproteaza;

phosphataza bao gồm phosphoric monoeste hyđrolaza, phosphomonoesteraza, phosphoric đieste hyđrolaza, phosphođiesteraza, triphosphoric monoeste hyđrolaza, phosphoryl anhyđrit hyđrolaza, pyrophosphataza, phytaza, trimetaphosphataza, hoặc triphosphataza;

nitrogenaza bao gồm nitrogenaza họ Nif; hoặc

glucosidaza bao gồm β-glucosiđaza.

24. Phương pháp theo điểm 21, trong đó:

xenlulaza bao gồm enđoxenlulaza, và enđoxenlulaza này bao gồm enđoglucanaza (tùy ý enđoglucanaza *Bacillus subtilis*, enđoglucanaza *Bacillus thuringiensis*, enđoglucanaza *Bacillus cereus*, hoặc enđoglucanaza *Bacillus clausii*);

xenlulaza bao gồm exoxenlulaza, và exoxenlulaza này bao gồm exoxenlulaza *Trichoderma reesei*;

xenlulaza bao gồm β-glucosiđaza, và β-glucosiđaza này bao gồm β-glucosiđaza *Bacillus subtilis*, β-glucosiđaza *Bacillus thuringiensis*, β-glucosiđaza *Bacillus cereus*, hoặc β-glucosiđaza *Bacillus clausii*;

phosphataza bao gồm phosphomonoesteraza, và phosphomonoesteraza bao gồm PhoA4; hoặc

phosphataza bao gồm phytaza, và phytaza này bao gồm phytaza *Bacillus subtilis* EE148 hoặc phytaza *Bacillus thuringiensis* BT013A.

25. Hạt giống thực vật theo điểm 22, trong đó:

xenlulaza bao gồm enđoxenlulaza, và enđoxenlulaza này bao gồm enđoglucanaza (tùy ý enđoglucanaza *Bacillus subtilis*, enđoglucanaza *Bacillus thuringiensis*, enđoglucanaza *Bacillus cereus*, hoặc enđoglucanaza *Bacillus clausii*);

xenlulaza bao gồm exoxenlulaza, và exoxenlulaza này bao gồm exoxenlulaza *Trichoderma reesei*;

xenlulaza bao gồm β-glucosiđaza, và β-glucosiđaza này bao gồm β-glucosiđaza *Bacillus subtilis*, β-glucosiđaza *Bacillus thuringiensis*, β-glucosiđaza *Bacillus cereus*, hoặc β-glucosiđaza *Bacillus clausii*;

phosphataza bao gồm phosphomonoesteraza, và phosphomonoesteraza bao gồm PhoA4; hoặc

phosphataza bao gồm phytaza, và phytaza này bao gồm phytaza *Bacillus subtilis* EE148 hoặc phytaza *Bacillus thuringiensis* BT013A.

26. Thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp theo điểm 3, trong đó thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp này đồng biểu hiện ít nhất một protein dung hợp bao gồm peptit hoặc protein liên kết với thực vật và trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử mà có khả năng hướng đích protein dung hợp đến lớp ngoại bào tử của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp, và trong đó peptit hoặc protein liên kết với thực vật tùy ý bao gồm các adhesin (tùy ý

rhicadhesin), flagellin, omptin, lectin, expansin, các protein cấu trúc màng sinh học (tùy ý TasA hoặc YuaB), protein nhung mao, protein quăn, intimin, invasin, agglutinin, hoặc protein không tua.

27. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 19, 21 và 24, trong đó thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp bao gồm *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoides*, *Bacillus samanii, Bacillus gaemokensis, Bacillus weihenstephensis*, hoặc tổ hợp của chúng.

28. Hạt giống thực vật theo điểm bất kỳ trong số các điểm 2, 5, 7, 9, 11, 13-16, 18, 20, 22, 23 và 25, trong đó thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp bao gồm *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoides*, *Bacillus samanii, Bacillus gaemokensis, Bacillus weihenstephensis*, hoặc tổ hợp của chúng.

29. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 19, 21 và 24, trong đó thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp bao gồm chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật, trong đó chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật tùy ý sản sinh độc tố diệt côn trùng (tùy ý độc tố Cry), sản sinh hợp chất diệt nấm (tùy ý β-1,3-glucanaza, chitosanaza, lyticaza, hoặc tổ hợp của chúng), sản sinh hợp chất diệt tuyến trùng (tùy ý độc tố Cry), sản sinh hợp chất diệt vi khuẩn, kháng lại một hoặc nhiều chất kháng sinh, bao gồm một hoặc nhiều plasmit sao chép tự do, liên kết với rễ thực vật, xâm chiếm rễ thực vật, tạo màng sinh học, làm tan dưỡng chất, tiết các axit hữu cơ, hoặc tổ hợp của chúng.

30. Hạt giống thực vật theo điểm bất kỳ trong số các điểm 2, 5, 7, 9, 11, 13-16, 18, 20, 22, 23, 25 và 28, trong đó thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp bao gồm chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật, trong đó chủng vi khuẩn thúc đẩy khả năng sinh trưởng của thực vật tùy ý sản sinh độc tố diệt côn trùng (tùy ý độc tố Cry), sản sinh hợp chất diệt nấm (tùy ý β-1,3-glucanaza, chitosanaza, lyticaza, hoặc tổ hợp của chúng), sản sinh hợp chất diệt tuyến trùng (tùy ý độc tố Cry), sản sinh hợp chất diệt vi khuẩn, kháng lại một hoặc nhiều chất kháng sinh, bao gồm một hoặc nhiều plasmit sao chép tự do, liên kết với rễ thực vật,

xâm chiếm rễ thực vật, tạo màng sinh học, làm tan dưỡng chất, tiết các axit hữu cơ, hoặc tổ hợp của chúng.

31. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 19, 21 và 24, trong đó thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp bao gồm *Bacillus mycoides* BT155 (NRRL No. B-50921), *Bacillus mycoides* EE118 (NRRL No. B-50918), *Bacillus mycoides* EE141 (NRRL No. B-50916), *Bacillus mycoides* BT46-3 (NRRL No. B-50922), thành viên họ *Bacillus cereus* EE128 (NRRL No. B-50917), *Bacillus thuringiensis* BT013A (NRRL No. B-50924), hoặc thành viên họ *Bacillus cereus* EE349 (NRRL No. B-50928).

32. Hạt giống thực vật theo điểm bất kỳ trong số các điểm 2, 5, 7, 9, 11, 13-16, 18, 20, 22, 23, hoặc 25, trong đó thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp bao gồm *Bacillus mycoides* BT155 (NRRL No. B-50921), *Bacillus mycoides* EE118 (NRRL No. B-50918), *Bacillus mycoides* EE141 (NRRL No. B-50916), *Bacillus mycoides* BT46-3 (NRRL No. B-50922), thành viên họ *Bacillus cereus* EE128 (NRRL No. B-50917), *Bacillus thuringiensis* BT013A (NRRL No. B-50924), hoặc thành viên họ *Bacillus cereus* EE349 (NRRL No. B-50928).

33. Hạt giống thực vật theo điểm 32, trong đó protein dung hợp bao gồm trình tự hướng đích của SEQ ID NO: 60.

34. Hạt giống thực vật theo điểm 33, trong đó peptit hoặc protein kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật bao gồm enzym liên quan đến việc sản sinh hoặc hoạt hóa hợp chất kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật, enzyme này bao gồm chitosinaza; hoặc trong đó peptit hoặc protein kích thích sự sinh trưởng của thực vật bao gồm enzyme mà làm suy thoái hoặc cải biến nguồn dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm, hoặc thực vật, enzyme này bao gồm phosphataza (tùy ý PhoA hoặc phytaza) hoặc enđoglucanaza.

35. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 19, 21, 24, 27, 29 và 31, trong đó protein dung hợp được biểu hiện dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử nguyên thể đối với trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử của protein dung hợp

và/hoặc trong đó protein dung hợp này được biểu hiện dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử có mức biểu hiện cao; trong đó:

gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử có mức biểu hiện cao tùy ý bao gồm trình tự gen khởi đầu polymeraza đặc hiệu với quá trình hình thành bào tử sigma-K, trình tự hoặc các trình tự gen khởi đầu polymeraza đặc hiệu với quá trình hình thành bào tử sigma-K này tùy ý có độ đồng nhất 100% với các nucleotit tương ứng của SEQ ID NO: 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, hoặc 103; và/hoặc

gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử tùy ý bao gồm trình tự axit nucleic có độ đồng nhất ít nhất 95%, ít nhất 98%, ít nhất 99% hoặc 100% với trình tự axit nucleic của trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 85 đến 103.

36. Hạt giống thực vật theo điểm bất kỳ trong số các điểm 2, 5, 7, 9, 11, 13-16, 18, 20, 22, 23, 25, 28, 30 và 32-34, trong đó protein dung hợp được biểu hiện dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử nguyên thể đối với trình tự hướng đích, protein lớp ngoại bào tử, hoặc đoạn protein lớp ngoại bào tử của protein dung hợp và/hoặc trong đó protein dung hợp này được biểu hiện dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử có mức biểu hiện cao; trong đó:

gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử có mức biểu hiện cao tùy ý bao gồm trình tự gen khởi đầu polymeraza đặc hiệu với quá trình hình thành bào tử sigma-K, trình tự hoặc các trình tự gen khởi đầu polymeraza đặc hiệu với quá trình hình thành bào tử sigma-K này tùy ý có độ đồng nhất 100% với các nucleotit tương ứng của SEQ ID NO: 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, hoặc 103; và/hoặc

gen khởi đầu quá trình hình thành bào tử tùy ý bao gồm trình tự axit nucleic có độ đồng nhất ít nhất 95%, ít nhất 98%, ít nhất 99% hoặc 100% với trình tự axit nucleic của trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 85 đến 103.

37. Phương pháp kích thích khả năng sinh trưởng của thực vật theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 19, 21, 24, 27, 29, 31 và 35, trong đó thực

vật được sinh trưởng với sự có mặt của thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện mức sinh trưởng tăng so với mức sinh trưởng của thực vật được sinh trưởng không có mặt thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp, trong cùng điều kiện.

38. Phương pháp theo điểm 37, trong đó:

thực vật sinh trưởng trong môi trường sinh trưởng của thực vật chứa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện sự sinh trưởng tăng so với sự sinh trưởng của thực vật trong môi trường sinh trưởng tương tự mà không bao gồm thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp;

thực vật mà được áp dụng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện sự sinh trưởng tăng so với sự sinh trưởng của thực vật mà không được áp dụng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp, trong cùng điều kiện;

thực vật sinh trưởng từ các hạt giống thực vật mà đã được áp dụng *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện sự sinh trưởng tăng so với sự sinh trưởng của thực vật sinh trưởng từ các hạt giống thực vật không được áp dụng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp, trong cùng điều kiện; hoặc

thực vật sinh trưởng trong vùng được áp dụng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp thể hiện sự sinh trưởng tăng so với sự sinh trưởng của thực vật sinh trưởng trong vùng không được áp dụng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp, trong cùng điều kiện.

39. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 19, 21, 24, 27, 29, 31, 35 và 37-38, còn bao gồm bước làm bất hoạt thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp trước khi đưa vào môi trường sinh trưởng của thực vật hoặc trước khi áp dụng cho thực vật, hạt giống thực vật, hoặc diện tích bao quanh thực vật hoặc hạt giống thực vật; trong đó thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp tùy ý được bất hoạt bằng cách xử lý nhiệt; chiếu xạ gamma; chiếu xạ tia X; chiếu xạ UV-A; chiếu xạ UV-B; xử lý bằng gluteralđehyt, formalđehyt, hyđro peroxit, axit axetic, chất tẩy trắng, hoặc tổ hợp của chúng; hoặc tổ hợp của các phương pháp này.

40. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 19, 21, 24, 27, 29, 31, 35 và 37-39, trong đó:

môi trường sinh trưởng của thực vật bao gồm đất, nước, dung dịch nước, cát, sỏi, polysacarit, bổi, phân ủ, rêu than bùn, rơm, khúc gỗ, đất sét, bột đậu nành, chất chiết nấm men, hoặc tổ hợp của chúng; và/hoặc

môi trường sinh trưởng của thực vật được bổ sung cơ chất dùng cho enzyme, cơ chất này tùy ý bao gồm tryptophan, ađenosin monophosphat, ađenosin điphosphat, ađenosin triphosphate (tùy ý adenosine-3-triphosphat), inđol, trimetaphosphat, ferođoxin, axetoin, điaxetyl, pyruvat, axetolactat, pectin, xenluloza, metylxenluloza, tinh bột, chitin, pectin, bột protein, dẫn xuất xenluloza, phosphat, axetoin, chitosan, dẫn xuất không có hoạt tính của axit inđol-3-axetic, dẫn xuất không có hoạt tính của axit gibberellic, xylan, arabinoxylan, mỡ, sáp, dầu, axit phytic, lignin, axit humic, cholin, dẫn xuất cholin, prolin, polyprolin, protein giàu prolin, bột giàu prolin, phenylalanin, hoặc chorismat hoặc tổ hợp của chúng.

41. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 19, 21, 24, 27, 29, 31, 35 và 37-40, bao gồm việc phủ hạt giống bằng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp hoặc chế phẩm chứa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp trước khi trồng.

42. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 19, 21, 24, 27, 29, 31, 35 và 37-41, bao gồm việc áp dụng thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp hoặc chế phẩm chứa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp cho phần thực vật trong không khí.

43. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 19, 21, 24, 27, 29, 31, 35 và 37-42, trong đó việc đưa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp vào môi trường sinh trưởng của thực vật bao gồm việc áp dụng chế phẩm lỏng hoặc rắn chứa thành viên họ *Bacillus cereus* tái tổ hợp cho môi trường này.

44. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 4, 6, 8, 10, 12, 17, 19, 21, 24, 27, 29, 31, 35 và 37-43, còn bao gồm bước đưa ít nhất một chế phẩm hóa nông vào môi trường sinh trưởng của thực vật hoặc áp dụng ít nhất một chế phẩm hóa nông cho thực vật hoặc hạt giống, trong đó chế phẩm hóa nông này bao gồm phân bón, vật liệu phân bón có dưỡng chất vi lượng, thuốc trừ sâu, thuốc diệt cỏ, thuốc diệt nấm, thuốc diệt loài nhuyễn thể, thuốc diệt tảo, chất thay đổi khả năng sinh

trưởng thực vật, chủng cấy vi khuẩn, chủng cấy nấm, hoặc tổ hợp của chúng; trong đó:

phân bón này bao gồm phân bón lỏng;

vật liệu phân bón có dưỡng chất vi lượng bao gồm axit boric, borat, bột sứ chứa bo, đồng sulfat, bột sứ chứa đồng, chất chelat chứa đồng, natri tetraborat đecahyđrat, sắt sulfat, sắt oxit, sắt amoni sulfat, bột sứ chứa sắt, chất chelat chứa sắt, mangan sulfat, mangan oxit, mangan chelat, mangan clorua, bột sứ chứa mangan, natri molypđat, axit molypđic, kẽm sulfat, kẽm oxit, kẽm cacbonat, bột sứ chứa kẽm, kẽm phosphat, kẽm chelat, hoặc tổ hợp của chúng;

thuốc trừ sâu bao gồm phosphat hữu cơ, carbamat, pyrethroit, thuốc diệt ve bét, alkyl phtalat, axit boric, borat, florua, lưu huỳnh, ure được thế haloaromatic, este hyđrocacbon, thuốc trừ sâu trên cơ sở sinh học, hoặc tổ hợp của chúng;

thuốc diệt cỏ bao gồm hợp chất clophenoxy, hợp chất nitrophenolic, hợp chất nitrocresolic, hợp chất đipyridyl, axetamit, axit béo, anilit, benzamit, axit benzoic, dẫn xuất axit benzoic, axit anisic, dẫn xuất axit anisic, benzonitril, benzothiađiazinon đioxit, thiocarbamat, carbamat, carbanilat, clopyriđinyl, dẫn xuất xyclohexenon, dẫn xuất đinitroaminobenzen, hợp chất flođinitrotoluiđin, isoxazoliđinon, axit nicotinic, isopropylamin, dẫn xuất isopropylamin, oxađiazolinon, phosphat, phtalat, hợp chất axit picolinic, triazin, triazol, uraxil, dẫn xuất ure, endothall, natri clorat, hoặc tổ hợp của chúng;

thuốc diệt nấm bao gồm benzen được thế, thiocarbamat, etylen bis đithiocarbamat, thiophtaliđamit, hợp chất đồng, hợp chất hữu cơ-thủy ngân, hợp chất hữu cơ-thiếc, hợp chất cađimi, anilazin, benomyl, xyclohexamit, dodine, etriđiazol, iprođion, metlaxyl, thiamimefon, triforin, hoặc tổ hợp của chúng;

chủng cấy nấm bao gồm chủng cấy nấm thuộc họ Glomeraceae, chủng cấy nấm thuộc họ Claroidoglomeraceae, chủng cấy nấm thuộc họ Gigasporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Acaulosporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Sacculosporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Entrophosporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Pacidsporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Diversisporaceae, chủng cấy nấm thuộc

họ Paraglomeraceae, chủng cấy nấm thuộc họ Archaeosporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Geosiphonaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Ambisporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Scutellosporaceae, chủng cấy nấm thuộc họ Dentiscultataceae, chủng cấy nấm thuộc họ Racocetraceae, chủng cấy nấm thuộc ngành Basidiomycota, chủng cấy nấm thuộc ngành Ascomycota, chủng cấy nấm thuộc ngành Zygomycota, hoặc tổ hợp của chúng;

chủng cấy vi khuẩn bao gồm chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Rhizobium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Bradyrhizobium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Mesorhizobium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Azorhizobium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Allorhizobium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Sinorhizobium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Kluyvera*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Azotobacter*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Pseudomonas*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Azospirillium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Bacillus*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Streptomyces*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *PaeniBacillus*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Paracoccus*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Enterobacter*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Alcaligenes*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Mycobacterium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Trichoderma*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Gliocladium*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Glomus*, chủng cấy vi khuẩn thuộc chi *Klebsiella*, hoặc tổ hợp của chúng;

phân bón bao gồm amoni sulfat, amoni nitrat, amoni sulfat nitrat, amoni clorua, amoni bisulfat, amoni polysulfua, amoni thiosulfat, dung dịch nước amoniac, amoniac khan, amoni polyphosphat, nhôm sulfat, canxi nitrat, canxi amoni nitrat, canxi sulfat, magnesit nung, đá vôi canxit, canxi oxit, canxi nitrat, đá vôi đolomit, vôi được hyđrat hóa, canxi cacbonat, điamoni phosphat, monoamoni phosphat, magie nitrat, magie sulfat, kali nitrat, kali clorua, kali magie sulfat, kali sulfat, natri nitrat, đá vôi magie oxit, magie oxit, ure, ure-formalđehyt, ure amoni nitrat, ure được phủ lưu huỳnh, ure được phủ polyme, isobutyliđen điure, K_2SO_4–$2MgSO_4$, kainit, sylvinit, kieserit, muối Epsom, lưu huỳnh nguyên tố, macnơ, vỏ hàu nghiền, bột cá, bánh khô dầu, phân xả cá, bột máu, đá phosphat, super phosphat, xỉ, bột xương, tro củi, phân chuồng, phân dơi, rêu than bùn, phân ủ, cát

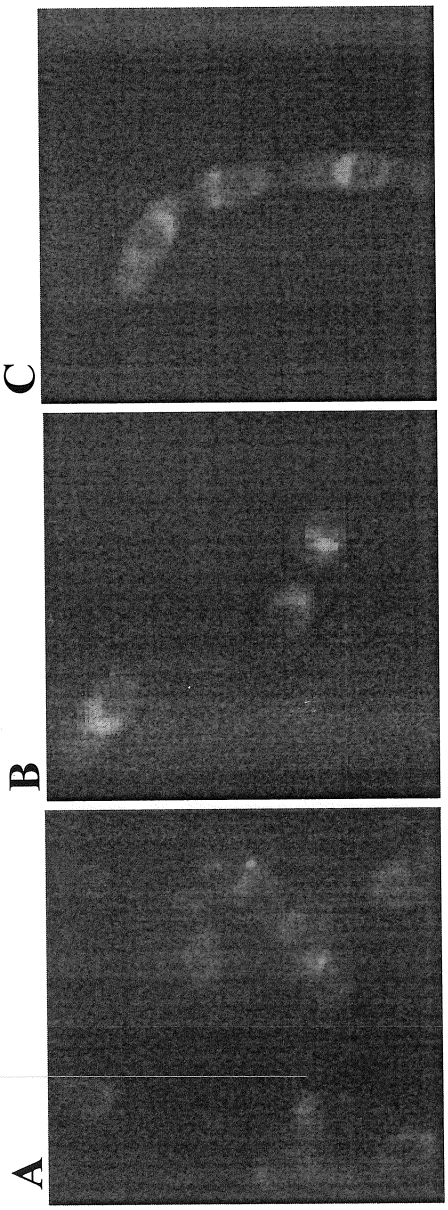
xanh lục, bột hạt bông, bột lông gia cầm, bột cua, nhũ tương cá, axit humic, hoặc tổ hợp của chúng.

Hình 1

	SEQ ID NO,	Độ đồng nhất tính theo % của các axit amin từ 20 đến 35	Độ đồng nhất tính theo % của các axit amin từ 25 đến 35
MSNNNYSNGLNPDESLSAS**AFDPNLVGPTLPPIPP**FTLPTG	1	100%	100%
MSEKYIILHGT**ALEPNLIGPTLPPIPP**FTFPNG	3	81,3%	90,9%
MVKVVEGNGGKSKIKSPLNSNF**KILSDLVGPTFPPVPT**GMTGIT	5	50,0%	72,7%
MKQNDKLWLDKG**IIGPENIGPTFPVLPP**IHIPTG	7	43,8%	54,5%
MDEFLSSA**ALNPGSVGPTLPPMQP**FQFRTG	9	62,5%	72,7%
MFDKNEIQKINGILQAN**ALNPNLIGPTLPPIPP**FTLPTG	11	81,3%	90,9%
MFDKNEMKKTNEVLQAN**ALDPNIIGPTLPPIPP**FTLPTG	13	81,3%	81,8%
MSRKDKFNRSRMSRKDRFNSPKIKSEI**SISPDLVGPTFPPIPS**FTLPTG	15	62,5%	81,8%
MNEEYSILHGP**ALEPNLIGPTLPSIPP**FTFPTG	17	75,0%	81,8%
MKNRDNNRKQNSLSSNF**RIPPELIGPTFPPVPT**GFTGIG	19	50,0%	63,6%
MSDKHQMKKISEVLQAH**ALDPNLIGPPLPPITP**FTFPTG	21	75,0%	72,7%
MDEFLSFA**ALNPGSIGPTLPPVPP**FQFPTG	23	62,5%	72,7%
MDEFLSST**ALNPCSIGPTLPPMQP**FQFPTG	25	56,2%	63,6%
MKERDRQNSLNSNF**RISPNLIGPTFPPVPT**GFTGIG	27	56,2%	63,6%
VFDKNEIQKINGILQAN**ALNPNLIGPTLPPIPP**FTLPTG	29	81,3%	90,9%
MDEFLYFA**ALNPGSIGPTLPPVQP**FQFPTG	31	56,2%	63,6%
MDSKNIGPTFPPLPSINFPTG	33	43,8%	54,5%
MIGPENIGPTFPILPPIYIPTG	35	43,8%	54,5%
MSNNNIPSPFFFN**NFNPELIGPTFPPIPP**LTLPTG	43	68,8%	81,8%
MFSEKKRKDLIPDNFLSAP**ALDPNLIGPTFPPIPS**FTLPTG	45	75,0%	72,7%
MTRKDKFNRSRISRRDRFNSPKIKSEI**LISPDLVGPTFPPIPS**FTLPTG	47	62,5%	81,8%
MSRKDRFNSPKIKSEI**SISPDLVGPTFPPIPS**FTLPTG	49	62,5%	81,8%
MKERDNKGKQHSLNSNF**RIPPELIGPTFPPVPT**GFTGIG	51	50,0%	63,6%
MRERDNKRQQHSLNPNF**RISPELIGPTFPPVPT**GFTGIG	53	50,0%	63,6%
MKNRDNKGKQQSNF**RIPPELIGPTFPPVPT**GFTGIG	55	50,0%	63,6%
MKFSKKSTVDSSIVGKRVVSKVNILRFYDARSCQDKDVDGFVDVGELFTIFRKLNMEGSVQFKAHNSI GKTYYITINEVYVFVTVLLQYSTLIGGSYVFDKNEIQKINGILQAN**ALNPNLIGPTLPPIPP**FTLPTG	57	81,3%	90,9%

2/2

Hình 2



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Spogen Biotech Inc.
Thompson, Brian
Thompson, Katie

<120> THÀNH VIÊN HỌ BACILLUS CEREUS TÁI TỔ HỢP BIỂU HIỆN PROTEIN DUNG HỢP, PHƯƠNG PHÁP KÍCH THÍCH KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG CỦA THỰC VẬT VÀ HẠT GIỐNG THỰC VẬT ĐƯỢC PHỦ BẰNG CHẾ PHẨM PHỦ THỰC VẬT CHỨA THÀNH VIÊN HỌ BACILLUS CEREUS TÁI TỔ HỢP

<130> ELEN 3004.WO

<150> US 61/799,262
<151> 15-03-2013

<160> 124

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1
<211> 41
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 1

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

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

Ile Pro Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly

35 40

<210> 2
<211> 332
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 2

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<400> 3

Met Ser Glu Lys Tyr Ile Ile Leu His Gly Thr Ala Leu Glu Pro Asn

1 5 10 15

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

Gly

<210> 4
<211> 209
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 4

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

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

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

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

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

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

Thr Asn Ile Asn Phe Thr Leu Pro Gly Pro Val Ser Gly Thr Thr Leu
100 105 110

Asn Pro Val Asp Asn Ser Ile Ile Ile Asn Thr Thr Gly Val Tyr Ser
115 120 125

Val Ser Phe Ser Ile Val Phe Val Ile Gln Ala Ile Ser Ser Ser Ile
130 135 140

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

Ile Gly Gly Gly Pro Gly Val Arg Ala Thr Ser Ala Arg Thr Asp Leu
165 170 175

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

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

Asp

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

<400> 5

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

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

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

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

<400> 6

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ser Thr Gly
130 135 140

Val Thr Gly Asn Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Asn
145 150 155 160

Thr Gly Ser Ile Gly Glu Thr Gly Gly Thr Gly Ser Met Gly Pro Thr
165 170 175

Gly Glu Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly Gly Thr Gly Ser Thr Gly
180 185 190

Val Thr Gly Asn Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ser
195 200 205

Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr
210 215 220

Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly
225 230 235 240

Val Thr Gly Asn Met Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Asn
245 250 255

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

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

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

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

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

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

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

Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly
370 375 380

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ile Ala Ser Leu Pro Ala Gly Ala Ala Val Ser Leu Gln Leu Phe
610 615 620

Gly Val Val Ala Leu Ala Thr Leu Ser Thr Ala Thr Pro Gly Ala Thr
625 630 635 640

Leu Thr Ile Ile Arg Leu Ser
645

<210> 7
<211> 34
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 7

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

1 5 10 15

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

Thr Gly

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

<400> 8

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Val Gly Gly Thr Leu Thr Ile Leu Pro Gly Val Val Gly Asp
245 250 255

Tyr Ala Phe Val Ala Pro Arg Asp Gly Ile Ile Thr Ser Leu Ala Gly
260 265 270

Phe Phe Ser Ala Thr Ala Ala Leu Ala Pro Leu Thr Pro Val Gln Ile
275 280 285

Gln Met Gln Ile Phe Ile Ala Pro Ala Ala Ser Asn Thr Phe Thr Pro
290 295 300

Val Ala Pro Pro Leu Leu Leu Thr Pro Ala Leu Pro Ala Ile Ala Ile
305 310 315 320

Gly Thr Thr Ala Thr Gly Ile Gln Ala Tyr Asn Val Pro Val Val Ala
325 330 335

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

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

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

<400> 9

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

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

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

<400> 10

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

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

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

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

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

<210> 11
<211> 39
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 11

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

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

Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly
35

<210> 12
<211> 299
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 12

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

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

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

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

Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr
65 70 75 80

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

Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro
100 105 110

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

Gly Pro Thr Gly Gly Thr Glu Gly Cys Leu Cys Asp Cys Cys Val Leu
130 135 140

Pro Met Gln Ser Val Leu Gln Gln Leu Ile Gly Glu Thr Val Ile Leu
145 150 155 160

Gly Thr Ile Ala Asp Thr Pro Asn Thr Pro Pro Leu Phe Phe Leu Phe
165 170 175

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

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

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

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

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

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

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

Ile Thr Ala Val Asn Ile Thr Pro Ile Thr Met
290 295

<210> 13
<211> 39
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 13

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

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

Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly
35

<210> 14
<211> 289
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 14

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

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

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

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

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

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

Pro Thr Gly Pro Thr Gly Leu Thr Gly Gln Thr Gly Ser Thr Gly Pro
100 105 110

Thr Gly Ala Thr Glu Gly Cys Leu Cys Asp Cys Cys Val Phe Pro Met
115 120 125

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

Ile Ala Asp Ala Pro Asn Val Ala Pro Arg Phe Phe Leu Phe Asn Ile
145 150 155 160

Thr Ser Val Asn Asp Phe Leu Val Thr Val Thr Asp Pro Val Ser Asn
165 170 175

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

Leu Thr Val Pro Pro Leu Thr Leu Leu Pro Pro Ala Asp Leu Gly Cys
195 200 205

Glu Cys Asp Cys Arg Glu Arg Pro Ile Arg Glu Leu Leu Asp Thr Leu
210 215 220

Ile Gly Ser Thr Val Asn Leu Leu Val Ser Asn Gly Ser Ile Ala Thr
225 230 235 240

Gly Phe Asn Val Glu Gln Thr Ala Leu Gly Ile Val Ile Gly Thr Leu
245 250 255

Pro Ile Pro Ile Asn Pro Pro Pro Pro Thr Leu Phe Arg Phe Ala Ile
260 265 270

Ser Thr Cys Lys Ile Thr Ala Val Asp Ile Thr Pro Thr Pro Thr Ala
275 280 285

Thr

<210> 15
<211> 49
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 15

Met Ser Arg Lys Asp Lys Phe Asn Arg Ser Arg Met Ser Arg Lys Asp
1 5 10 15

Arg Phe Asn Ser Pro Lys Ile Lys Ser Glu Ile Ser Ile Ser Pro Asp
20 25 30

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

Gly

<210> 16
<211> 189
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 16

Met Ser Arg Lys Asp Lys Phe Asn Arg Ser Arg Met Ser Arg Lys Asp
1 5 10 15

Arg Phe Asn Ser Pro Lys Ile Lys Ser Glu Ile Ser Ile Ser Pro Asp
20 25 30

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

Gly Ile Thr Gly Pro Thr Phe Asn Ile Asn Phe Arg Ala Glu Lys Asn
50 55 60

Val Ala Gln Ser Phe Thr Pro Pro Ala Asp Ile Gln Val Ser Tyr Gly
65 70 75 80

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

Phe Thr Ala Pro Ile Asn Gly Ile Tyr Leu Phe Ser Ala Ser Ile Gly
100 105 110

Phe Asn Pro Thr Leu Gly Thr Thr Ser Thr Leu Arg Ile Thr Ile Arg
115 120 125

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

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

Gln Thr Ile Asp Ile Gln Phe Ser Ala Ala Glu Ser Gly Thr Leu Thr
165 170 175

Val Gly Ser Ser Asn Phe Phe Ser Gly Ala Leu Leu Pro
180 185

<210> 17
<211> 33
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 17

Met Asn Glu Glu Tyr Ser Ile Leu His Gly Pro Ala Leu Glu Pro Asn

1 5 10 15

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

Gly

<210> 18
<211> 84
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 18

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

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

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

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

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

Gly Pro Thr Gly

<210> 19
<211> 39
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 19

Met Lys Asn Arg Asp Asn Asn Arg Lys Gln Asn Ser Leu Ser Ser Asn
1 5 10 15

Phe Arg Ile Pro Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro
20 25 30

Thr Gly Phe Thr Gly Ile Gly
35

<210> 20
<211> 1056
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 20

Met Lys Asn Arg Asp Asn Asn Arg Lys Gln Asn Ser Leu Ser Ser Asn
1 5 10 15

Phe Arg Ile Pro Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro
20 25 30

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

Pro Thr Gly Pro Gln Gly Pro Arg Gly Leu Gln Gly Pro Met Gly Glu
50 55 60

Met Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Ser Val
65 70 75 80

Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly Gln Gln Gly Pro Gln Gly
85 90 95

Leu Arg Gly Pro Gln Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gly Gly Val
100 105 110

Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln
115 120 125

Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly
130 135 140

Pro Glu Gly Ser Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Leu Pro Gly Ala
145 150 155 160

Thr Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ala Gln Gly Ile Gln Gly Thr Pro
165 170 175

Gly Pro Ser Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly
180 185 190

Gln Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr
195 200 205

Gly Pro Ser Gly Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr
210 215 220

Gly Pro Gly Gly Gly Pro Ser Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr
225 230 235 240

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

Ser Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Ala Gln Gly Leu Gln Gly Ile
260 265 270

Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ile Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Ser Gln
275 280 285

Gly Ile Gln Gly Ile Pro Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Glu Gln Gly
290 295 300

Ile Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Asp
305 310 315 320

Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Ile Gly Pro Gln Gly Val Thr
325 330 335

Gly Ala Thr Gly Asp Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Pro Gly
340 345 350

Pro Ser Gly Glu Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro
355 360 365

Met Gly Asp Ile Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Pro Glu Gly Leu Gln
370 375 380

Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Pro Gly Pro Val Gly Ala Thr Gly
385 390 395 400

Pro Glu Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Pro Val Gly Ala
405 410 415

Thr Gly Pro Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln
420 425 430

Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Val Gln Gly Ala Thr Gly Ile Gln Gly
435 440 445

Ile Gln Gly Glu Ile Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln Gly Val
450 455 460

Gln Gly Ala Gln Gly Ala Ile Gly Pro Thr Gly Pro Met Gly Pro Gln
465 470 475 480

Gly Val Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Ala Thr Gly Ala Gln Gly
485 490 495

Val Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Pro Thr Gly Ala
500 505 510

Thr Gly Asp Met Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Glu Gly Thr Thr Gly
515 520 525

Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Ser Gly Gly
530 535 540

Pro Ala Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Ser Gly Pro Ala Gly Val
545 550 555 560

Thr Gly Pro Ser Gly Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala
565 570 575

Thr Gly Val Thr Gly Asp Thr Gly Ala Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr
580 585 590

Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Leu Gln Gly
595 600 605

Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Glu Ile Gly Pro Thr Gly Pro
610 615 620

Gln Gly Val Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Thr Gly Ala Thr
625 630 635 640

Gly Asp Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Asp Ile Gly
645 650 655

Pro Thr Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Ser Gln Gly Ile
660 665 670

Gln Gly Ala Thr Gly Gly Thr Gly Ala Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln
675 680 685

Gly Pro Gln Gly Asp Ile Gly Leu Thr Gly Ser Gln Gly Pro Thr Gly
690 695 700

Ile Gln Gly Ile Gln Gly Glu Ile Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Pro
705 710 715 720

Glu Gly Leu Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Pro Val
725 730 735

Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly
740 745 750

Val Gln Gly Ala Thr Gly Pro Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile
755 760 765

Gln Gly Val Gln Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln Gly Ala Thr
770 775 780

Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Glu Ile Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly
785 790 795 800

Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Ala Ile Gly Pro Thr Gly Pro
805 810 815

Met Gly Ala Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Ala Thr
820 825 830

Gly Ala Gln Gly Val Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly
835 840 845

Pro Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Glu
850 855 860

Gly Thr Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly
865 870 875 880

Pro Ser Gly Gly Pro Ala Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Pro Ser Gly
885 890 895

Pro Ala Gly Val Thr Gly Pro Ser Gly Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly
900 905 910

Ala Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Asp Thr Gly Ala Thr Gly Ser
915 920 925

Thr Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr
930 935 940

Gly Leu Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Glu Ile Gly
945 950 955 960

Pro Thr Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val
965 970 975

Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln
980 985 990

Gly Asp Ile Gly Pro Thr Gly Ser Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly
995 1000 1005

Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln Gly
1010 1015 1020

Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Glu Ile Gly Pro Thr Gly
1025 1030 1035

Pro Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly
1040 1045 1050

Pro Thr Gly
1055

<210> 21
<211> 39
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 21

Met Ser Asp Lys His Gln Met Lys Lys Ile Ser Glu Val Leu Gln Ala
1 5 10 15

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

Pro Phe Thr Phe Pro Thr Gly
35

<210> 22
<211> 365
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 22

Met Ser Asp Lys His Gln Met Lys Lys Ile Ser Glu Val Leu Gln Ala
1 5 10 15

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

Pro Phe Thr Phe Pro Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly
35 40 45

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

Thr Gly Pro Pro Val Gly Thr Asn Leu Asp Thr Ile Tyr Val Thr Asn
65 70 75 80

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

Leu Thr Thr Ile Pro Val Gly Thr Asn Pro Val Gly Val Gly Val Asn
100 105 110

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

Ser Val Ile Asn Gly Ser Thr Asn Thr Val Val Ala Thr Ile Pro Val
130 135 140

Gly Thr Gln Pro Phe Gly Val Gly Val Asn Pro Ser Thr Asn Leu Ile
145 150 155 160

Tyr Val Ala Asn Arg Thr Ser Asn Asn Val Ser Val Ile Lys Gly Gly
165 170 175

Thr Asn Thr Val Leu Thr Thr Ile Pro Val Gly Thr Asn Pro Val Gly
180 185 190

Val Gly Val Asn Ser Ser Thr Asn Leu Ile Tyr Val Thr Asn Glu Ile
195 200 205

Pro Asn Ser Val Ser Val Ile Lys Gly Gly Thr Asn Thr Val Val Ala
210 215 220

Thr Ile Pro Val Gly Leu Phe Pro Phe Gly Val Gly Val Asn Ser Leu
225 230 235 240

Thr Asn Leu Ile Tyr Val Val Asn Asn Ser Pro His Asn Val Ser Val
245 250 255

Ile Asp Gly Asn Thr Asn Thr Val Leu Thr Thr Ile Ser Val Gly Thr
260 265 270

Ser Pro Val Gly Val Gly Val Asn Leu Ser Thr Asn Leu Ile Tyr Val
275 280 285

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

Thr Val Leu Thr Thr Ile Pro Val Gly Thr Thr Pro Phe Glu Val Gly
305 310 315 320

Val Asn Ser Ser Thr Asn Leu Ile Tyr Val Ser Asn Leu Asn Ser Asn
325 330 335

Asn Val Ser Val Ile Asn Gly Ser Ala Asn Thr Val Ile Ala Thr Val
340 345 350

Pro Val Gly Ser Val Pro Arg Gly Ile Gly Val Lys Pro
355 360 365

<210> 23
<211> 30
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 23

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

Pro Thr Leu Pro Pro Val Pro Pro Phe Gln Phe Pro Thr Gly
20 25 30

<210> 24
<211> 160
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 24

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

Pro Thr Leu Pro Pro Val Pro Pro Phe Gln Phe Pro Thr Gly Pro Thr
20 25 30

Gly Ser Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Ser Thr Gly
35 40 45

Pro Thr Gly Phe Asn Leu Pro Ala Gly Pro Ala Ser Ile Thr Leu Thr
50 55 60

Ser Asn Glu Thr Thr Ala Cys Val Ser Thr Gln Gly Asn Asn Thr Leu
65 70 75 80

Phe Phe Ser Gly Gln Val Leu Val Asn Gly Ser Pro Thr Pro Gly Val
85 90 95

Val Val Ser Phe Ser Phe Ser Asn Pro Ser Leu Ala Phe Met Val Pro
100 105 110

Leu Ala Val Ile Thr Asn Ala Ser Gly Asn Phe Thr Ala Val Phe Leu
115 120 125

Ala Ala Asn Gly Pro Gly Thr Val Thr Val Thr Ala Ser Leu Leu Asp
130 135 140

Ser Pro Gly Thr Met Ala Ser Val Thr Ile Thr Ile Val Asn Cys Pro
145 150 155 160

<210> 25
<211> 30
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 25

Met Asp Glu Phe Leu Ser Ser Thr Ala Leu Asn Pro Cys Ser Ile Gly
1 5 10 15

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

<210> 26
<211> 69
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 26

Met Asp Glu Phe Leu Ser Ser Thr Ala Leu Asn Pro Cys Ser Ile Gly
1 5 10 15

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

Gly Ser Thr Gly Thr Thr Gly Pro Thr Gly Ser Ile Gly Pro Thr Gly
35 40 45

Asn Thr Gly Leu Thr Gly Asn Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro
50 55 60

Thr Gly Asp Thr Gly
65

<210> 27
<211> 36
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 27

Met Lys Glu Arg Asp Arg Gln Asn Ser Leu Asn Ser Asn Phe Arg Ile
1 5 10 15

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

Thr Gly Ile Gly
35

<210> 28

<211> 934
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 28

Met Lys Glu Arg Asp Arg Gln Asn Ser Leu Asn Ser Asn Phe Arg Ile
1 5 10 15

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

Thr Gly Ile Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Pro Thr Gly
35 40 45

Pro Gln Gly Pro Arg Gly Phe Gln Gly Pro Met Gly Glu Met Gly Pro
50 55 60

Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ala Gly Gln Met
65 70 75 80

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

Pro Gln Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Leu
100 105 110

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

Gly Ile Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly
130 135 140

Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Val Pro Gly Ala Thr Gly Ser
145 150 155 160

Gln Gly Ile Gln Gly Ala Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Pro Ser
165 170 175

Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Gln Gly Ile Ser Gly Pro
180 185 190

Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Ser Gly Gly Pro
195 200 205

Pro Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gly Gly Gly Pro
210 215 220

Ser Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Asn Thr Gly Val Thr
225 230 235 240

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

Glu Thr Gly Ala Gln Gly Leu Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Pro
260 265 270

Ile Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Pro
275 280 285

Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Glu Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly
290 295 300

Ile Gln Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Asp Gln Gly Pro Gln Gly Ile
305 310 315 320

Gln Gly Ala Ile Gly Pro Gln Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Asp Gln
325 330 335

Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Pro Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly
340 345 350

Ser Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Met Gly Asp Ile Gly Pro
355 360 365

Thr Gly Pro Glu Gly Pro Glu Gly Leu Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln
370 375 380

Gly Val Pro Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln Gly
385 390 395 400

Ile Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ile Gly Val Thr Gly Pro Glu Gly Pro
405 410 415

Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Ile Thr Gly Ala Thr
420 425 430

Gly Ala Gln Gly Ala Thr Gly Val Gln Gly Val Gln Gly Asn Ile Gly
435 440 445

Ala Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Thr Gln Gly Asp
450 455 460

Ile Gly Pro Thr Gly Pro Met Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln
465 470 475 480

Gly Ile Gln Gly Pro Thr Gly Ala Gln Gly Val Gln Gly Pro Gln Gly
485 490 495

Ile Gln Gly Ile Gln Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Asp Thr Gly Thr
500 505 510

Thr Gly Ala Thr Gly Glu Gly Thr Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly
515 520 525

Pro Ser Gly Val Thr Gly Pro Ser Gly Gly Pro Ala Gly Pro Thr Gly
530 535 540

Pro Thr Gly Pro Ser Gly Pro Thr Gly Leu Thr Gly Pro Ser Gly Gly
545 550 555 560

Pro Pro Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Gly Val Gly Asp
565 570 575

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

Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Leu Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly
595 600 605

Val Gln Gly Asp Ile Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Pro
610 615 620

Gln Gly Ile Gln Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Asp Gln Gly Pro Gln
625 630 635 640

Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly
645 650 655

Ile Gln Gly Gly Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ala Thr Gly Ala
660 665 670

Thr Gly Ala Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln
675 680 685

Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Pro Thr Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly
690 695 700

Glu Ile Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Leu Gln Gly Pro
705 710 715 720

Gln Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Pro Gln
725 730 735

Gly Ile Gln Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ser Gln Gly
740 745 750

Ile Gln Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ser Gln Gly Ile
755 760 765

Gln Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr
770 775 780

Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Val Ser Thr
785 790 795 800

Thr Ala Thr Tyr Ser Phe Ala Asn Asn Thr Ser Gly Ser Ala Ile Ser
805 810 815

Val Leu Leu Gly Gly Thr Asn Ile Pro Leu Pro Asn Asn Gln Asn Ile
820 825 830

Gly Pro Gly Ile Thr Val Ser Gly Gly Asn Thr Val Phe Thr Val Thr
835 840 845

Asn Ala Gly Asn Tyr Tyr Ile Ala Tyr Thr Ile Asn Ile Thr Ala Ala
850 855 860

Leu Leu Val Ser Ser Arg Ile Thr Val Asn Gly Ser Pro Leu Ala Gly
865 870 875 880

Thr Ile Asn Ser Pro Ala Val Ala Thr Gly Ser Phe Asn Ala Thr Ile
885 890 895

Ile Ser Asn Leu Ala Ala Gly Ser Ala Ile Ser Leu Gln Leu Phe Gly
900 905 910

Leu Leu Ala Val Ala Thr Leu Ser Thr Thr Thr Pro Gly Ala Thr Leu
915 920 925

Thr Ile Ile Arg Leu Ser
930

<210> 29
<211> 39
<212> PRT
<213> Bacillus mycoides

<400> 29

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

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

Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly
35

<210> 30
<211> 287
<212> PRT
<213> Bacillus mycoides

<400> 30

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

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

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

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

Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr
65 70 75 80

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

Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro
100 105 110

Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Gly Thr Glu Gly Cys Leu Cys Asp
115 120 125

Cys Cys Val Leu Pro Met Gln Ser Val Leu Gln Gln Leu Ile Gly Glu
130 135 140

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

Phe Phe Leu Phe Thr Ile Thr Ser Val Asn Asp Phe Leu Val Thr Val
165 170 175

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

Val Gly Phe Leu Pro Pro Gly Pro Pro Ile Thr Leu Leu Pro Pro Thr
195 200 205

Asp Val Gly Cys Glu Cys Glu Cys Arg Glu Arg Pro Ile Arg Gln Leu
210 215 220

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

Ser Ile Ala Ala Asp Phe Ser Val Glu Gln Thr Gly Leu Gly Ile Val
245 250 255

Leu Gly Thr Leu Pro Ile Asn Pro Thr Thr Thr Val Arg Phe Ala Ile
260 265 270

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

<210> 31
<211> 30
<212> PRT
<213> Bacillus mycoides

<400> 31

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

Pro Thr Leu Pro Pro Val Gln Pro Phe Gln Phe Pro Thr Gly
20 25 30

<210> 32
<211> 190
<212> PRT
<213> Bacillus mycoides

<400> 32

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

Pro Thr Leu Pro Pro Val Gln Pro Phe Gln Phe Pro Thr Gly Pro Thr
20 25 30

Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ser Thr Gly Ser Thr Gly Ser Thr Gly
35 40 45

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

Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr
65 70 75 80

Gly Phe Asn Leu Pro Ala Gly Pro Ala Ser Ile Thr Leu Thr Ser Asn
85 90 95

Glu Thr Thr Ala Cys Val Ser Thr Gln Gly Asn Asn Thr Leu Phe Phe
100 105 110

Ser Gly Gln Val Leu Val Asn Gly Ser Pro Thr Pro Gly Val Val Val
115 120 125

Ser Phe Ser Phe Ser Asn Pro Ser Leu Ala Phe Met Val Pro Leu Ala
130 135 140

Val Ile Thr Asn Ala Ser Gly Asn Phe Thr Ala Val Phe Leu Ala Ala
145 150 155 160

Asn Gly Pro Gly Thr Val Thr Val Thr Ala Ser Leu Leu Asp Ser Pro
165 170 175

Gly Thr Met Ala Ser Val Thr Ile Thr Ile Val Asn Cys Pro
180 185 190

<210> 33
<211> 21
<212> PRT
<213> Bacillus mycoides

<400> 33

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

Asn Phe Pro Thr Gly
20

<210> 34
<211> 335
<212> PRT
<213> Bacillus mycoides

<400> 34

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

Asn Phe Pro Thr Gly Val Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr
20 25 30

Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly
35 40 45

Glu Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Glu
50 55 60

Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr
65 70 75 80

Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly
85 90 95

Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Glu Thr Gly Ala
100 105 110

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

Gly Pro Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly
130 135 140

Ala Thr Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Ile Thr Gly Val Ala Gly Ala
145 150 155 160

Thr Gly Glu Thr Gly Ala Ala Gly Glu Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr
165 170 175

Gly Ala Ile Gly Ala Ile Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ile Thr Gly
180 185 190

Val Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Gly Ile
195 200 205

Thr Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr
210 215 220

Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Ile Thr Gly Val Ala Gly Ala Thr Gly
225 230 235 240

Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Pro Gly Thr Ile Pro Thr Thr Asn Leu
245 250 255

Leu Tyr Phe Thr Phe Ser Asp Gly Glu Lys Leu Ile Tyr Thr Asn Ala
260 265 270

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

Val Ser Tyr Ile Asn Leu Phe Ile Asn Gly Ile Leu Gln Pro Gln Pro
290 295 300

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

Pro Ser Gln Gly Ser Ser Ile Ile Leu Gln Phe Ile Ile Ile Asn
325 330 335

<210> 35
<211> 22
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 35

Met Ile Gly Pro Glu Asn Ile Gly Pro Thr Phe Pro Ile Leu Pro Pro
1 5 10 15

Ile Tyr Ile Pro Thr Gly
20

<210> 36
<211> 234
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 36

Met Ile Gly Pro Glu Asn Ile Gly Pro Thr Phe Pro Ile Leu Pro Pro
1 5 10 15

Ile Tyr Ile Pro Thr Gly Glu Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Ala
20 25 30

Thr Gly Glu Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr
35 40 45

Gly Ala Thr Gly Glu Thr Gly Ser Thr Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly
50 55 60

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

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

Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Ser Thr Gly Ile Thr Gly Leu Thr Gly
100 105 110

Val Thr Gly Leu Thr Gly Glu Thr Gly Pro Ile Gly Ile Thr Gly Pro
115 120 125

Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr
130 135 140

Gly Gly Ile Gly Pro Ile Thr Thr Thr Asn Leu Leu Tyr Tyr Thr Phe
145 150 155 160

Ala Asp Gly Glu Lys Leu Ile Tyr Thr Asp Thr Asp Gly Ile Pro Gln
165 170 175

Tyr Gly Thr Thr Asn Ile Leu Ser Pro Ser Glu Val Ser Tyr Ile Asn
180 185 190

Leu Phe Val Asn Gly Ile Leu Gln Pro Gln Pro Leu Tyr Glu Val Ser
195 200 205

Thr Gly Lys Leu Thr Leu Leu Asp Thr Gln Pro Pro Ser Gln Gly Ser
210 215 220

Ser Ile Ile Leu Gln Phe Ile Ile Ile Asn
225 230

<210> 37
<211> 23
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn mồi

<400> 37
ggatccatgg ctgaacacaa tcc 23

<210> 38
<211> 24

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn mồi

<400> 38
ggatccttaa ttcgtattct ggcc 24

<210> 39
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn mồi

<400> 39
ggatccatga aacggtcaat c 21

<210> 40
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn mồi

<400> 40
ggatccttac taatttggtt ctgt 24

<210> 41
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn mồi

<400> 41
ggatccatgc taccaaaagc c 21

<210> 42
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn mồi

<400> 42
ggatccttag tccgcaggcg tagc 24

<210> 43
<211> 35
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 43

Met Ser Asn Asn Asn Ile Pro Ser Pro Phe Phe Phe Asn Asn Phe Asn
1 5 10 15

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

Pro Thr Gly
35

<210> 44
<211> 222
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 44

Met Ser Asn Asn Asn Ile Pro Ser Pro Phe Phe Phe Asn Asn Phe Asn
1 5 10 15

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

Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro
35 40 45

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

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

Thr Phe Ser Ser Ala Asn Ala Ser Ile Val Thr Pro Ala Pro Gln Thr
85 90 95

Val Asn Asn Leu Ala Pro Ile Gln Phe Thr Ala Pro Val Leu Ile Ser
100 105 110

Lys Asn Val Thr Phe Asn Gly Ile Asp Thr Phe Thr Ile Gln Ile Pro
115 120 125

Gly Asn Tyr Phe Phe Ile Gly Ala Val Met Thr Ser Asn Asn Gln Ala
130 135 140

Gly Pro Val Ala Val Gly Val Gly Phe Asn Gly Ile Pro Val Pro Ser
145 150 155 160

Leu Asp Gly Ala Asn Tyr Gly Thr Pro Thr Gly Gln Glu Val Val Cys
165 170 175

Phe Gly Phe Ser Gly Gln Ile Pro Ala Gly Thr Thr Ile Asn Leu Tyr
180 185 190

Asn Ile Ser Asp Lys Thr Ile Ser Ile Gly Gly Ala Thr Ala Ala Gly
195 200 205

Ser Ser Ile Val Ala Ala Arg Leu Ser Phe Phe Arg Ile Ser
210 215 220

<210> 45
<211> 41
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 45

Met Phe Ser Glu Lys Lys Arg Lys Asp Leu Ile Pro Asp Asn Phe Leu
1 5 10 15

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

Ile Pro Ser Phe Thr Leu Pro Thr Gly
35 40

<210> 46
<211> 293
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 46

Met Phe Ser Glu Lys Lys Arg Lys Asp Leu Ile Pro Asp Asn Phe Leu
1 5 10 15

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

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

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

Thr Asp Pro Asp Asn Gly Cys Ser Val Ala Glu Gly Ser Gly Thr Val
65 70 75 80

Ala Ser Gly Phe Ala Ser His Ala Glu Ala Cys Asn Thr Gln Ala Ile
85 90 95

Gly Asp Cys Ser His Ala Glu Gly Gln Phe Ala Thr Ala Ser Gly Thr
100 105 110

Ala Ser His Ala Glu Gly Phe Gln Thr Thr Ala Ser Gly Phe Ala Ser
115 120 125

His Thr Glu Gly Ser Gly Thr Thr Ala Asp Ala Asn Phe Ser His Thr
130 135 140

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

Met Gly Lys Asn Gly Thr Thr Arg Ser Ser Phe Ser Trp His Leu Ala
165 170 175

Asn Gly Leu Ala Val Gly Pro Ser Leu Asn Ser Ala Val Ile Glu Gly
180 185 190

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

Ala Asp Tyr Ala Glu Met Phe Glu Thr Ile Asp Gly Asn Leu Ile Asp
210 215 220

Val Gly Tyr Phe Val Thr Leu Tyr Gly Glu Lys Ile Arg Lys Ala Asn
225 230 235 240

Ala Asn Asp Asp Tyr Ile Leu Gly Val Val Ser Ala Thr Pro Ala Met
245 250 255

Ile Ala Asp Ala Ser Asp Leu Arg Trp His Asn Leu Phe Val Arg Asp
260 265 270

Glu Trp Gly Arg Thr Gln Tyr His Glu Val Val Val Pro Glu Lys Lys
275 280 285

Met Ala Met Glu Glu
290

<210> 47
<211> 49
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 47

Met Thr Arg Lys Asp Lys Phe Asn Arg Ser Arg Ile Ser Arg Arg Asp
1 5 10 15

Arg Phe Asn Ser Pro Lys Ile Lys Ser Glu Ile Leu Ile Ser Pro Asp
20 25 30

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

Gly

<210> 48
<211> 83
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 48

Met Thr Arg Lys Asp Lys Phe Asn Arg Ser Arg Ile Ser Arg Arg Asp
1 5 10 15

Arg Phe Asn Ser Pro Lys Ile Lys Ser Glu Ile Leu Ile Ser Pro Asp
20 25 30

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

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

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

Thr Gly Pro

<210> 49
<211> 38
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 49

Met Ser Arg Lys Asp Arg Phe Asn Ser Pro Lys Ile Lys Ser Glu Ile
1 5 10 15

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

Phe Thr Leu Pro Thr Gly
35

<210> 50
<211> 163
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 50

Met Ser Arg Lys Asp Arg Phe Asn Ser Pro Lys Ile Lys Ser Glu Ile
1 5 10 15

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

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

Thr Gly Asp Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Phe Asn Ile Asn Phe Arg
50 55 60

Ala Glu Lys Asn Gly Ala Gln Ser Phe Thr Pro Pro Ala Asp Ile Gln
65 70 75 80

Val Ser Tyr Gly Asn Ile Ile Phe Asn Asn Gly Gly Gly Tyr Ser Ser
85 90 95

Val Thr Asn Thr Phe Thr Ala Pro Ile Asn Gly Ile Tyr Leu Phe Ser
100 105 110

Ala Asn Ile Gly Phe Asn Pro Thr Leu Gly Thr Thr Ser Thr Leu Arg
115 120 125

Ile Thr Ile Arg Lys Asn Leu Val Ser Val Ala Ser Gln Thr Ile Asp
130 135 140

Ile Gln Phe Ser Ala Ala Glu Ser Gly Thr Leu Thr Val Gly Ser Ser
145 150 155 160

Asn Phe Phe

<210> 51
<211> 39
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 51

Met Lys Glu Arg Asp Asn Lys Gly Lys Gln His Ser Leu Asn Ser Asn

1 5 10 15

Phe Arg Ile Pro Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro
20 25 30

Thr Gly Phe Thr Gly Ile Gly
35

<210> 52
<211> 323
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 52

Met Lys Glu Arg Asp Asn Lys Gly Lys Gln His Ser Leu Asn Ser Asn
1 5 10 15

Phe Arg Ile Pro Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro
20 25 30

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

Pro Thr Gly Pro Gln Gly Pro Arg Gly Phe Gln Gly Pro Met Gly Glu
50 55 60

Met Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ala
65 70 75 80

Gly Gln Met Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly Gln Gln Gly Pro Glu Gly
85 90 95

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

Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ile Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln
115 120 125

Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly
130 135 140

Pro Glu Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Leu Pro Gly Ala
145 150 155 160

Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Val Gln Gly Val Ile Gly Pro Gln
165 170 175

Gly Pro Ser Gly Ser Thr Gly Gly Thr Gly Ala Thr Gly Gln Gly Val
180 185 190

Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Pro Ser
195 200 205

Gly Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gly
210 215 220

Gly Gly Pro Ser Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ser Thr Gly Asn Thr
225 230 235 240

Gly Ala Thr Gly Ser Pro Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly
245 250 255

Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ile Gln Gly Ser Gln Gly Ile Gln Gly Ile
260 265 270

Gln Gly Ile Gln Gly Pro Leu Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln
275 280 285

Gly Ile Gln Gly Ile Pro Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Glu Gln Gly
290 295 300

Ile Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Asp
305 310 315 320

Gln Gly Thr

<210> 53
<211> 39
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 53

Met Arg Glu Arg Asp Asn Lys Arg Gln Gln His Ser Leu Asn Pro Asn
1 5 10 15

Phe Arg Ile Ser Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro
20 25 30

Thr Gly Phe Thr Gly Ile Gly
35

<210> 54
<211> 436
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 54

Met Arg Glu Arg Asp Asn Lys Arg Gln Gln His Ser Leu Asn Pro Asn
1 5 10 15

Phe Arg Ile Ser Pro Glu Leu Ile Gly Pro Thr Phe Pro Pro Val Pro
20 25 30

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

Pro Thr Gly Pro Gln Gly Pro Arg Gly Phe Gln Gly Pro Met Gly Glu
50 55 60

Met Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Val
65 70 75 80

Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly Gln Gln Gly Pro Gln Gly
85 90 95

Leu Arg Gly Pro Gln Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gly Gly Val
100 105 110

Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln
115 120 125

Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly
130 135 140

Pro Glu Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Leu Pro Gly Ala
145 150 155 160

Thr Gly Ser Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln
165 170 175

Gly Pro Ser Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Gln Gly Ile
180 185 190

Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Ser
195 200 205

Gly Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gly
210 215 220

Gly Gly Pro Ser Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Asn Thr
225 230 235 240

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

Pro Thr Gly Ser Thr Gly Ala Gln Gly Leu Gln Gly Ile Gln Gly Ile
260 265 270

Gln Gly Pro Ile Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Pro Gln Gly Ile Gln
275 280 285

Gly Ile Pro Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Glu Gln Gly Ile Gln Gly
290 295 300

Val Gln Gly Ile Gln Gly Ile Thr Gly Ala Thr Gly Asp Gln Gly Pro
305 310 315 320

Gln Gly Ile Gln Gly Val Ile Gly Ala Gln Gly Val Thr Gly Ala Thr
325 330 335

Gly Asp Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Pro Gly Pro Ser Gly
340 345 350

Ala Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Met Gly Asp
355 360 365

Ile Gly Pro Thr Gly Pro Glu Gly Pro Glu Gly Leu Gln Gly Pro Gln
370 375 380

Gly Ile Gln Gly Val Pro Gly Pro Val Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly
385 390 395 400

Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Ala Thr Gly Pro
405 410 415

Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Ile Thr
420 425 430

Gly Ala Thr Gly
435

<210> 55
<211> 36
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 55

Met Lys Asn Arg Asp Asn Lys Gly Lys Gln Gln Ser Asn Phe Arg Ile
1 5 10 15

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

Thr Gly Ile Gly
35

<210> 56
<211> 470
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 56

Met Lys Asn Arg Asp Asn Lys Gly Lys Gln Gln Ser Asn Phe Arg Ile
1 5 10 15

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

Thr Gly Ile Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Pro Gln Gly Pro Thr Gly
35 40 45

Pro Gln Gly Pro Arg Gly Phe Gln Gly Pro Met Gly Glu Met Gly Pro
50 55 60

Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Val Gly Pro Ile
65 70 75 80

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

Pro Gln Gly Glu Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Leu
100 105 110

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

Gly Ile Gln Gly Leu Gln Gly Pro Ile Gly Ala Thr Gly Pro Glu Gly
130 135 140

Pro Gln Gly Ile Gln Gly Val Gln Gly Leu Pro Gly Ala Thr Gly Pro
145 150 155 160

Gln Gly Ile Gln Gly Ala Gln Gly Ile Gln Gly Thr Gln Gly Pro Ser
165 170 175

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

Thr Gly Ile Thr Gly Pro Thr Gly Ile Thr Gly Pro Ser Gly Gly Pro
195 200 205

Pro Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gly Gly Gly Pro
210 215 220

Ser Gly Ser Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Asp Thr Gly Ala Thr
225 230 235 240

Gly Ser Thr Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Ala Gln Gly Pro Gln Gly
245 250 255

Val Gln Gly Ile Gln Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala
260 265 270

Thr Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Thr
275 280 285

Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ser Gln Gly Pro Thr Gly Asn Thr Gly
290 295 300

Pro Thr Gly Ser Gln Gly Ile Gln Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ala
305 310 315 320

Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Val Ser Thr
325 330 335

Thr Ala Thr Tyr Ala Phe Ala Asn Asn Thr Ser Gly Ser Ile Ile Ser
340 345 350

Val Leu Leu Gly Gly Thr Asn Ile Pro Leu Pro Asn Asn Gln Asn Ile
355 360 365

Gly Pro Gly Ile Thr Val Ser Gly Gly Asn Thr Val Phe Thr Val Ala
370 375 380

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

Leu Leu Val Ser Ser Arg Ile Thr Val Asn Gly Ser Pro Leu Ala Gly
405 410 415

Thr Ile Asn Ser Pro Ala Val Ala Ala Gly Ser Phe Ser Ala Thr Ile
420 425 430

Ile Ala Asn Leu Pro Ala Gly Ala Ala Val Ser Leu Gln Leu Phe Gly
435 440 445

Val Ile Ala Leu Ala Thr Leu Ser Thr Ala Thr Pro Gly Ala Thr Leu
450 455 460

Thr Ile Ile Arg Leu Ser
465 470

<210> 57
<211> 136
<212> PRT
<213> Bacillus mycoides

<400> 57

Met Lys Phe Ser Lys Lys Ser Thr Val Asp Ser Ser Ile Val Gly Lys
1 5 10 15

Arg Val Val Ser Lys Val Asn Ile Leu Arg Phe Tyr Asp Ala Arg Ser
20 25 30

Cys Gln Asp Lys Asp Val Asp Gly Phe Val Asp Val Gly Glu Leu Phe
35 40 45

Thr Ile Phe Arg Lys Leu Asn Met Glu Gly Ser Val Gln Phe Lys Ala
50 55 60

His Asn Ser Ile Gly Lys Thr Tyr Tyr Ile Thr Ile Asn Glu Val Tyr
65 70 75 80

Val Phe Val Thr Val Leu Leu Gln Tyr Ser Thr Leu Ile Gly Gly Ser
85 90 95

Tyr Val Phe Asp Lys Asn Glu Ile Gln Lys Ile Asn Gly Ile Leu Gln
100 105 110

Ala Asn Ala Leu Asn Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile
115 120 125

Pro Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly
130 135

<210> 58
<211> 384
<212> PRT
<213> Bacillus mycoides

<400> 58

Met Lys Phe Ser Lys Lys Ser Thr Val Asp Ser Ser Ile Val Gly Lys
1 5 10 15

Arg Val Val Ser Lys Val Asn Ile Leu Arg Phe Tyr Asp Ala Arg Ser
20 25 30

Cys Gln Asp Lys Asp Val Asp Gly Phe Val Asp Val Gly Glu Leu Phe
35 40 45

Thr Ile Phe Arg Lys Leu Asn Met Glu Gly Ser Val Gln Phe Lys Ala
50 55 60

His Asn Ser Ile Gly Lys Thr Tyr Tyr Ile Thr Ile Asn Glu Val Tyr
65 70 75 80

Val Phe Val Thr Val Leu Leu Gln Tyr Ser Thr Leu Ile Gly Gly Ser
85 90 95

Tyr Val Phe Asp Lys Asn Glu Ile Gln Lys Ile Asn Gly Ile Leu Gln
100 105 110

Ala Asn Ala Leu Asn Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile
115 120 125

Pro Pro Phe Thr Leu Pro Thr Gly Pro Thr Gly Gly Thr Gly Pro Thr
130 135 140

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

Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val
165 170 175

Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr
180 185 190

Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Val Thr Gly
195 200 205

Pro Thr Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Gly Thr Glu Gly Cys Leu Cys
210 215 220

Asp Cys Cys Val Leu Pro Met Gln Ser Val Leu Gln Gln Leu Ile Gly
225 230 235 240

Glu Thr Val Ile Leu Gly Thr Ile Ala Asp Thr Pro Asn Thr Pro Pro
245 250 255

Leu Phe Phe Leu Phe Thr Ile Thr Ser Val Asn Asp Phe Leu Val Thr
260 265 270

Val Thr Asp Gly Thr Thr Thr Phe Val Val Asn Ile Ser Asp Val Thr
275 280 285

Gly Val Gly Phe Leu Pro Pro Gly Pro Pro Ile Thr Leu Leu Pro Pro
290 295 300

Thr Asp Val Gly Cys Glu Cys Glu Cys Arg Glu Arg Pro Ile Arg Gln
305 310 315 320

Leu Leu Asp Ala Phe Ile Gly Ser Thr Val Ser Leu Leu Ala Ser Asn
325 330 335

Gly Ser Ile Ala Ala Asp Phe Ser Val Glu Gln Thr Gly Leu Gly Ile
340 345 350

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

Ile Ser Thr Cys Lys Ile Thr Ala Val Asn Ile Thr Pro Ile Thr Met
370 375 380

<210> 59
<211> 196
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 59

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

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

20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Gly Leu Gly
195

<210> 60
<211> 17
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 60

Met Ala Phe Asp Pro Asn Leu Val Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro
1 5 10 15

Pro

<210> 61
<211> 17
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 61

Met Ala Leu Glu Pro Asn Leu Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Ile Pro
1 5 10 15

Pro

<210> 62
<211> 17
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 62

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

Pro

<210> 63
<211> 17
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 63

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

Pro

<210> 64
<211> 17
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 64

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

Pro

<210> 65
<211> 17
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 65

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

Pro

<210> 66
<211> 17
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 66

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

Pro

<210> 67
<211> 17
<212> PRT
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 67

Met Ala Leu Asn Pro Cys Ser Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Met Gln
1 5 10 15

Pro

<210> 68
<211> 17
<212> PRT

<213> Bacillus mycoides

<400> 68

Met Ala Leu Asn Pro Gly Ser Ile Gly Pro Thr Leu Pro Pro Val Gln
1 5 10 15

Pro

<210> 69
<211> 17
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 69

Met Ala Leu Asn Pro Gly Ser Val Gly Pro Thr Leu Pro Pro Met Gln
1 5 10 15

Pro

<210> 70
<211> 17
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 70

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

Ser

<210> 71
<211> 799
<212> PRT
<213> Bacillus mycoides

<400> 71

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

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

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

Asn Asn Leu Ile Gln Glu Glu Arg Leu Ala Glu Ala Leu Lys Glu Arg
50 55 60

Gly Thr Ile Asp Gln Ser Ala Ser Lys Glu Glu Thr Gln Lys Ala Val
65 70 75 80

Glu Gln Tyr Ile Glu Lys Lys Lys Gly Asp Gln Pro Asn Lys Glu Ile
85 90 95

Leu Pro Asp Asp Pro Ala Lys Glu Ala Ser Asp Phe Val Lys Lys Val
100 105 110

Lys Glu Lys Lys Met Glu Glu Lys Glu Lys Val Lys Lys Ser Val Glu
115 120 125

Asn Ala Ser Ser Glu Gln Thr Pro Ser Gln Asn Lys Lys Gln Leu Asn
130 135 140

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

Val Arg Thr Asp Lys Val Leu Val Leu Leu Val Glu Phe Ser Asp Tyr
165 170 175

Lys His Asn Asn Ile Glu Gln Ser Pro Gly Tyr Met Tyr Ala Asn Asp
180 185 190

Phe Ser Arg Glu His Tyr Gln Lys Met Leu Phe Gly Asn Glu Pro Phe
195 200 205

Thr Leu Phe Asp Gly Ser Lys Val Lys Thr Phe Lys Gln Tyr Tyr Glu

210 215 220

Glu Gln Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Thr Asp Gly Tyr Val Thr Glu Trp
225 230 235 240

Leu Thr Val Pro Gly Lys Ala Ala Asp Tyr Gly Ala Asp Gly Lys Thr
245 250 255

Gly His Asp Asn Lys Gly Pro Lys Gly Ala Arg Asp Leu Val Lys Glu
260 265 270

Ala Leu Lys Ala Ala Ala Glu Lys Gly Leu Asp Leu Ser Gln Phe Asp
275 280 285

Gln Phe Asp Arg Tyr Asp Thr Asn Gly Asp Gly Asn Gln Asn Glu Pro
290 295 300

Asp Gly Val Ile Asp His Leu Met Val Ile His Ala Gly Val Gly Gln
305 310 315 320

Glu Ala Gly Gly Gly Lys Leu Gly Asp Asp Ala Ile Trp Ser His Arg
325 330 335

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

Val Ser Tyr Trp Asp Gly Lys Val Ala Ala His Asp Tyr Thr Ile Glu
355 360 365

Pro Glu Asp Gly Ala Val Gly Val Phe Ala His Glu Phe Gly His Asp
370 375 380

Leu Gly Leu Pro Asp Glu Tyr Asp Thr Asn Tyr Thr Gly Ala Gly Ser
385 390 395 400

Pro Val Glu Ala Trp Ser Leu Met Ser Gly Gly Ser Trp Thr Gly Arg
405 410 415

Ile Ala Gly Thr Glu Pro Thr Ser Phe Ser Pro Gln Asn Lys Asp Phe
420 425 430

Leu Gln Lys Asn Met Asp Gly Asn Trp Ala Lys Ile Val Glu Val Asp
435 440 445

Tyr Asp Lys Ile Lys Arg Gly Val Gly Phe Pro Thr Tyr Ile Asp Gln
450 455 460

Ser Val Thr Lys Ser Asn Arg Pro Gly Leu Val Arg Val Asn Leu Pro
465 470 475 480

Glu Lys Ser Val Glu Thr Ile Lys Thr Gly Phe Gly Lys His Ala Tyr

485 490 495

Tyr Ser Thr Arg Gly Asp Asp Met His Thr Thr Leu Glu Thr Pro Leu
500 505 510

Phe Asp Leu Thr Lys Ala Ala Asn Ala Lys Phe Asp Tyr Lys Ala Asn
515 520 525

Tyr Glu Leu Glu Ala Glu Cys Asp Phe Ile Glu Val His Ala Val Thr
530 535 540

Glu Asp Gly Thr Lys Thr Leu Ile Asp Lys Leu Gly Asp Lys Val Val
545 550 555 560

Lys Gly Asp Gln Asp Thr Thr Glu Gly Lys Trp Ile Asp Lys Ser Tyr
565 570 575

Asp Leu Ser Gln Phe Lys Gly Lys Lys Val Lys Leu Gln Phe Asp Tyr
580 585 590

Ile Thr Asp Pro Ala Leu Thr Tyr Lys Gly Phe Ala Met Asp Asn Val
595 600 605

Asn Val Thr Val Asp Gly Lys Val Val Phe Ser Asp Asp Ala Glu Gly
610 615 620

Gln Ala Lys Met Lys Leu Asn Gly Phe Val Val Ser Asp Gly Thr Glu
625 630 635 640

Lys Lys Pro His Tyr Tyr Tyr Leu Glu Trp Arg Asn Tyr Ala Gly Ser
645 650 655

Asp Glu Gly Leu Lys Val Gly Arg Gly Pro Val Tyr Asn Thr Gly Leu
660 665 670

Val Val Trp Tyr Ala Asp Asp Ser Phe Lys Asp Asn Trp Val Gly Arg
675 680 685

His Pro Gly Glu Gly Phe Leu Gly Val Val Asp Ser His Pro Glu Ala
690 695 700

Val Val Gly Asn Leu Asn Gly Lys Pro Val Tyr Gly Asn Thr Gly Leu
705 710 715 720

Gln Ile Ala Asp Ala Ala Phe Ser Leu Asp Gln Thr Pro Ala Trp Asn
725 730 735

Val Asn Ser Phe Thr Arg Gly Gln Phe Asn Tyr Pro Gly Leu Pro Gly
740 745 750

Val Ala Thr Phe Asp Asp Ser Lys Val Tyr Ser Asn Thr Gln Ile Pro

755 760 765

Asp Ala Gly Arg Lys Val Pro Gln Leu Gly Leu Lys Phe Gln Val Val
770 775 780

Gly Gln Ala Asp Asp Lys Ser Ala Gly Ala Ile Trp Ile Arg Arg
785 790 795

<210> 72
<211> 152
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 72

Met Ser Cys Asn Glu Asn Lys His His Gly Ser Ser His Cys Val Val
1 5 10 15

Asp Val Val Lys Phe Ile Asn Glu Leu Gln Asp Cys Ser Thr Thr Thr
20 25 30

Cys Gly Ser Gly Cys Glu Ile Pro Phe Leu Gly Ala His Asn Thr Ala
35 40 45

Ser Val Ala Asn Thr Arg Pro Phe Ile Leu Tyr Thr Lys Ala Gly Ala
50 55 60

Pro Phe Glu Ala Phe Ala Pro Ser Ala Asn Leu Thr Ser Cys Arg Ser
65 70 75 80

Pro Ile Phe Arg Val Glu Ser Val Asp Asp Asp Ser Cys Ala Val Leu
85 90 95

Arg Val Leu Ser Val Val Leu Gly Asp Ser Ser Pro Val Pro Pro Thr
100 105 110

Asp Asp Pro Ile Cys Thr Phe Leu Ala Val Pro Asn Ala Arg Leu Val
115 120 125

Ser Thr Ser Thr Cys Ile Thr Val Asp Leu Ser Cys Phe Cys Ala Ile
130 135 140

Gln Cys Leu Arg Asp Val Thr Ile
145 150

<210> 73
<211> 167
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 73

Met Phe Ser Ser Asp Cys Glu Phe Thr Lys Ile Asp Cys Glu Ala Lys
1 5 10 15

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

Pro Gln Phe Ala Ser Leu Phe Thr Pro Leu Leu Leu Pro Ser Val Ser
35 40 45

Pro Asn Pro Asn Ile Thr Val Pro Val Ile Asn Asp Thr Val Ser Val
50 55 60

Gly Asp Gly Ile Arg Ile Leu Arg Ala Gly Ile Tyr Gln Ile Ser Tyr
65 70 75 80

Thr Leu Thr Ile Ser Leu Asp Asn Ser Pro Val Ala Pro Glu Ala Gly
85 90 95

Arg Phe Phe Leu Ser Leu Gly Thr Pro Ala Asn Ile Ile Pro Gly Ser
100 105 110

Gly Thr Ala Val Arg Ser Asn Val Ile Gly Thr Gly Glu Val Asp Val
115 120 125

Ser Ser Gly Val Ile Leu Ile Asn Leu Asn Pro Gly Asp Leu Ile Arg
130 135 140

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

145 150 155 160

Leu Thr Val Ala Gln Ile Ser
165

<210> 74
<211> 156
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 74

Met Ser Cys Asn Cys Asn Glu Asp His His His His Asp Cys Asp Phe
1 5 10 15

Asn Cys Val Ser Asn Val Val Arg Phe Ile His Glu Leu Gln Glu Cys
20 25 30

Ala Thr Thr Thr Cys Gly Ser Gly Cys Glu Val Pro Phe Leu Gly Ala
35 40 45

His Asn Ser Ala Ser Val Ala Asn Thr Arg Pro Phe Ile Leu Tyr Thr
50 55 60

Lys Ala Gly Ala Pro Phe Glu Ala Phe Ala Pro Ser Ala Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ser Cys Arg Ser Pro Ile Phe Arg Val Glu Ser Ile Asp Asp Asp Asp
85 90 95

Cys Ala Val Leu Arg Val Leu Ser Val Val Leu Gly Asp Thr Ser Pro
100 105 110

Val Pro Pro Thr Asp Asp Pro Ile Cys Thr Phe Leu Ala Val Pro Asn
115 120 125

Ala Arg Leu Ile Ser Thr Asn Thr Cys Leu Thr Val Asp Leu Ser Cys
130 135 140

Phe Cys Ala Ile Gln Cys Leu Arg Asp Val Thr Ile
145 150 155

<210> 75
<211> 182
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 75

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

Val Gly Lys Pro Leu Leu Tyr Ile Ala Gln Val Ser Leu Glu Leu Ala
20 25 30

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

Arg Lys Glu Glu Ser Asn Arg Asn Glu Asn Val Val Ser Ser Ala Val
50 55 60

Glu Glu Val Ile Glu Gln Glu Glu Gln Gln Gln Glu Gln Glu Gln Glu
65 70 75 80

Gln Glu Glu Gln Val Glu Glu Lys Thr Glu Glu Glu Glu Gln Val Gln
85 90 95

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

Asp Met Asn Asn Glu Glu Lys Ile His Phe Leu Leu Asn Arg Pro His
115 120 125

Tyr Ile Pro Lys Val Arg Cys Arg Ile Lys Thr Ala Thr Ile Ser Tyr
130 135 140

Val Gly Ser Ile Ile Ser Tyr Arg Asn Gly Ile Val Ala Ile Met Pro
145 150 155 160

Pro Asn Ser Met Arg Asp Ile Arg Leu Ser Ile Glu Glu Ile Lys Ser

165 170 175

Ile Asp Met Ala Gly Phe
180

<210> 76
<211> 174
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 76

Met Lys Glu Arg Ser Glu Asn Met Arg Ser Ser Ser Arg Lys Leu Thr
1 5 10 15

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

Phe Ala Phe Asn Ala Thr Ser Pro Gln Phe Ala Thr Leu Phe Thr Pro
35 40 45

Leu Leu Leu Pro Ser Thr Gly Pro Asn Pro Asn Ile Thr Val Pro Val
50 55 60

Ile Asn Asp Thr Ile Ser Thr Gly Thr Gly Ile Arg Ile Gln Val Ala
65 70 75 80

Gly Ile Tyr Gln Ile Ser Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Leu Asp Asn Val
85 90 95

Pro Val Thr Pro Glu Ala Ala Arg Phe Phe Leu Thr Leu Asn Ser Ser
100 105 110

Thr Asn Ile Ile Ala Gly Ser Gly Thr Ala Val Arg Ser Asn Ile Ile
115 120 125

Gly Thr Gly Glu Val Asp Val Ser Ser Gly Val Ile Leu Ile Asn Leu
130 135 140

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

Val Asp Ile Arg Ser Ala Ala Leu Thr Val Ala Gln Ile Arg
165 170

<210> 77
<211> 796
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 77

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

Val Leu Gly Leu Ser Phe Gly Ala Gly Thr Gln Ser Ala Tyr Ala Glu
20 25 30

Thr Pro Val Asn Lys Thr Ala Thr Ser Pro Val Asp Asp His Leu Ile
35 40 45

Pro Glu Glu Arg Leu Ala Asp Ala Leu Lys Lys Arg Gly Val Ile Asp
50 55 60

Ser Lys Ala Ser Glu Thr Glu Thr Lys Lys Ala Val Glu Lys Tyr Val
65 70 75 80

Glu Asn Lys Lys Gly Glu Asn Pro Gly Lys Glu Ala Ala Asn Gly Asp
85 90 95

Gln Leu Thr Lys Asp Ala Ser Asp Phe Leu Lys Lys Val Lys Asp Ala
100 105 110

Lys Ala Asp Thr Lys Glu Lys Leu Asn Gln Pro Ala Thr Gly Thr Pro
115 120 125

Ala Ala Thr Gly Pro Val Lys Gly Gly Leu Asn Gly Lys Val Pro Thr
130 135 140

Ser Pro Ala Lys Gln Lys Asp Tyr Asn Gly Glu Val Arg Lys Asp Lys

145 150 155 160

Val Leu Val Leu Leu Val Glu Tyr Ala Asp Phe Lys His Asn Asn Ile
165 170 175

Asp Lys Glu Pro Gly Tyr Met Tyr Ser Asn Asp Phe Asn Lys Glu His
180 185 190

Tyr Glu Lys Met Leu Phe Gly Asn Glu Pro Phe Thr Leu Asp Asp Gly
195 200 205

Ser Lys Ile Glu Thr Phe Lys Gln Tyr Tyr Glu Glu Gln Ser Gly Gly
210 215 220

Ser Tyr Thr Val Asp Gly Thr Val Thr Lys Trp Leu Thr Val Pro Gly
225 230 235 240

Lys Ala Ala Asp Tyr Gly Ala Asp Ala Pro Gly Gly Gly His Asp Asn
245 250 255

Lys Gly Pro Lys Gly Pro Arg Asp Leu Val Lys Asp Ala Leu Lys Ala
260 265 270

Ala Val Asp Ser Gly Ile Asp Leu Ser Glu Phe Asp Gln Phe Asp Gln
275 280 285

Tyr Asp Val Asn Gly Asp Gly Asn Lys Asn Gln Pro Asp Gly Leu Ile
290 295 300

Asp His Leu Met Ile Ile His Ala Gly Val Gly Gln Glu Ala Gly Gly
305 310 315 320

Gly Lys Leu Gly Asp Asp Ala Ile Trp Ser His Arg Trp Thr Val Gly
325 330 335

Pro Lys Pro Phe Pro Ile Glu Gly Thr Gln Ala Lys Val Pro Tyr Trp
340 345 350

Gly Gly Lys Met Ala Ala Phe Asp Tyr Thr Ile Glu Pro Glu Asp Gly
355 360 365

Ala Val Gly Val Phe Ala His Glu Tyr Gly His Asp Leu Gly Leu Pro
370 375 380

Asp Glu Tyr Asp Thr Gln Tyr Ser Gly Gln Gly Glu Pro Ile Glu Ala
385 390 395 400

Trp Ser Ile Met Ser Gly Gly Ser Trp Ala Gly Lys Ile Ala Gly Thr
405 410 415

Thr Pro Thr Ser Phe Ser Pro Gln Asn Lys Glu Phe Phe Gln Lys Thr

420 425 430

Ile Gly Gly Asn Trp Ala Asn Ile Val Glu Val Asp Tyr Glu Lys Leu
435 440 445

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

Ser Ala Arg Pro Gly Met Ile Arg Val Asn Leu Pro Asp Lys Asp Val
465 470 475 480

Lys Thr Ile Glu Pro Ala Phe Gly Lys Gln Tyr Tyr Tyr Ser Thr Lys
485 490 495

Gly Asp Asp Leu His Thr Lys Met Glu Thr Pro Leu Phe Asp Leu Thr
500 505 510

Asn Ala Thr Ser Ala Lys Phe Asp Phe Lys Ser Leu Tyr Glu Ile Glu
515 520 525

Ala Gly Tyr Asp Phe Leu Glu Val His Ala Val Thr Glu Asp Gly Lys
530 535 540

Gln Thr Leu Ile Glu Arg Leu Gly Glu Lys Ala Asn Ser Gly Asn Ala
545 550 555 560

Asp Ser Thr Asn Gly Lys Trp Ile Asp Lys Ser Tyr Asp Leu Ser Gln
565 570 575

Phe Lys Gly Lys Lys Val Lys Leu Thr Phe Asp Tyr Ile Thr Asp Gly
580 585 590

Gly Leu Ala Leu Asn Gly Phe Ala Leu Asp Asn Ala Ser Leu Thr Val
595 600 605

Asp Gly Lys Val Val Phe Ser Asp Asp Ala Glu Gly Thr Pro Gln Leu
610 615 620

Lys Leu Asp Gly Phe Val Val Ser Asn Gly Thr Glu Lys Lys Lys His
625 630 635 640

Asn Tyr Tyr Val Glu Trp Arg Asn Tyr Ala Gly Ala Asp Asn Ala Leu
645 650 655

Lys Phe Ala Arg Gly Pro Val Phe Asn Thr Gly Met Val Val Trp Tyr
660 665 670

Ala Asp Ser Ala Tyr Thr Asp Asn Trp Val Gly Val His Pro Gly His
675 680 685

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

690 695 700

Leu Asn Gly Lys Pro Thr Val Lys Ser Ser Thr Arg Phe Gln Ile Ala
705 710 715 720

Asp Ala Ala Phe Ser Phe Asp Lys Thr Pro Ala Trp Lys Val Val Ser
725 730 735

Pro Thr Arg Gly Thr Phe Thr Tyr Asp Gly Leu Ala Gly Val Pro Lys
740 745 750

Phe Asp Asp Ser Lys Thr Tyr Ile Asn Gln Gln Ile Pro Asp Ala Gly
755 760 765

Arg Ile Leu Pro Lys Leu Gly Leu Lys Phe Glu Val Val Gly Gln Ala
770 775 780

Asp Asp Asn Ser Ala Gly Ala Val Arg Leu Tyr Arg
785 790 795

<210> 78
<211> 430
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 78

Met Lys His Asn Asp Cys Phe Asp His Asn Asn Cys Asn Pro Ile Val
1 5 10 15

Phe Ser Ala Asp Cys Cys Lys Asn Pro Gln Ser Val Pro Ile Thr Arg
20 25 30

Glu Gln Leu Ser Gln Leu Ile Thr Leu Leu Asn Ser Leu Val Ser Ala
35 40 45

Ile Ser Ala Phe Phe Ala Asn Pro Ser Asn Ala Asn Arg Leu Val Leu
50 55 60

Leu Asp Leu Phe Asn Gln Phe Leu Ile Phe Leu Asn Ser Leu Leu Pro
65 70 75 80

Ser Pro Glu Val Asn Phe Leu Lys Gln Leu Thr Gln Ser Ile Ile Val
85 90 95

Leu Leu Gln Ser Pro Ala Pro Asn Leu Gly Gln Leu Ser Thr Leu Leu
100 105 110

Gln Gln Phe Tyr Ser Ala Leu Ala Gln Phe Phe Phe Ala Leu Asp Leu
115 120 125

Ile Pro Ile Ser Cys Asn Ser Asn Val Asp Ser Ala Thr Leu Gln Leu
130 135 140

Leu Phe Asn Leu Leu Ile Gln Leu Ile Asn Ala Thr Pro Gly Ala Thr
145 150 155 160

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

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

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

Thr Gly Ala Thr Gly Val Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr
210 215 220

Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly
225 230 235 240

Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala
245 250 255

Thr Gly Leu Thr Gly Ala Thr Gly Ala Ala Gly Gly Gly Ala Ile Ile
260 265 270

Pro Phe Ala Ser Gly Thr Thr Pro Ser Ala Leu Val Asn Ala Leu Val
275 280 285

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

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

Tyr Ala Phe Val Ala Pro Arg Ala Gly Thr Ile Thr Ser Leu Ala Gly
325 330 335

Phe Phe Ser Ala Thr Ala Ala Leu Ala Pro Ile Ser Pro Val Gln Val
340 345 350

Gln Ile Gln Ile Leu Thr Ala Pro Ala Ala Ser Asn Thr Phe Thr Val
355 360 365

Gln Gly Ala Pro Leu Leu Leu Thr Pro Ala Phe Ala Ala Ile Ala Ile
370 375 380

Gly Ser Thr Ala Ser Gly Ile Ile Ala Glu Ala Ile Pro Val Ala Ala
385 390 395 400

Gly Asp Lys Ile Leu Leu Tyr Val Ser Leu Thr Ala Ala Ser Pro Ile
405 410 415

Ala Ala Val Ala Gly Phe Val Ser Ala Gly Ile Asn Ile Val
420 425 430

<210> 79
<211> 437
<212> PRT
<213> Bacillus cereus

<400> 79

Met Lys His Asn Asp Cys Phe Gly His Asn Asn Cys Asn Asn Pro Ile
1 5 10 15

Val Phe Thr Pro Asp Cys Cys Asn Asn Pro Gln Thr Val Pro Ile Thr
20 25 30

Ser Glu Gln Leu Gly Arg Leu Ile Thr Leu Leu Asn Ser Leu Ile Ala
35 40 45

Ala Ile Ala Ala Phe Phe Ala Asn Pro Ser Asp Ala Asn Arg Leu Ala
50 55 60

Leu Leu Asn Leu Phe Thr Gln Leu Leu Asn Leu Leu Asn Glu Leu Ala
65 70 75 80

Pro Ser Pro Glu Gly Asn Phe Leu Lys Gln Leu Ile Gln Ser Ile Ile

85 90 95

Asn Leu Leu Gln Ser Pro Asn Pro Asn Leu Gly Gln Leu Leu Ser Leu
100 105 110

Leu Gln Gln Phe Tyr Ser Ala Leu Ala Pro Phe Phe Phe Ser Leu Ile
115 120 125

Leu Asp Pro Ala Ser Leu Gln Leu Leu Leu Asn Leu Leu Ala Gln Leu
130 135 140

Ile Gly Val Thr Pro Gly Gly Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr
145 150 155 160

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

Gly Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr
180 185 190

Gly Leu Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly
195 200 205

Val Ala Gly Pro Ala Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly Leu
210 215 220

Ala Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Pro Thr Gly Asp Thr Gly Leu Ala
225 230 235 240

Gly Ala Thr Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Leu Ala Gly Ala Thr Gly
245 250 255

Pro Thr Gly Ala Thr Gly Leu Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala
260 265 270

Ala Gly Gly Gly Ala Ile Ile Pro Phe Ala Ser Gly Thr Thr Pro Ala
275 280 285

Ala Leu Val Asn Ala Leu Ile Ala Asn Thr Gly Thr Leu Leu Gly Phe
290 295 300

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

Leu Ala Leu Gly Val Gly Asp Tyr Ala Phe Val Ala Pro Arg Asp Gly
325 330 335

Val Ile Thr Ser Leu Ala Gly Phe Phe Ser Ala Thr Ala Ala Leu Ser
340 345 350

Pro Leu Ser Pro Val Gln Val Gln Ile Gln Ile Leu Thr Ala Pro Ala

355 360 365

Ala Ser Asn Thr Phe Thr Val Gln Gly Ala Pro Leu Leu Leu Thr Pro
370 375 380

Ala Phe Ala Ala Ile Ala Ile Gly Ser Thr Ala Ser Gly Ile Ile Pro
385 390 395 400

Glu Ala Ile Pro Val Val Ala Gly Asp Lys Ile Leu Leu Tyr Val Ser
405 410 415

Leu Thr Ala Ala Ser Pro Ile Ala Ala Val Ala Gly Phe Val Ser Ala
420 425 430

Gly Ile Asn Ile Val
435

<210> 80
<211> 119
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 80

Met Leu Phe Thr Ser Trp Leu Leu Phe Phe Ile Phe Ala Leu Ala Ala
1 5 10 15

Phe Arg Leu Thr Arg Leu Ile Val Tyr Asp Lys Ile Thr Gly Phe Leu
20 25 30

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

Val Ser Thr Phe Thr Lys Val Lys Gly Lys Gly Leu Arg Lys Trp Ile
50 55 60

Gly Glu Leu Leu Ser Cys Tyr Trp Cys Thr Gly Val Trp Val Ser Ala
65 70 75 80

Phe Leu Leu Val Leu Tyr Asn Trp Ile Pro Ile Val Ala Glu Pro Leu
85 90 95

Leu Ala Leu Leu Ala Ile Ala Gly Ala Ala Ala Ile Ile Glu Thr Ile
100 105 110

Thr Gly Tyr Phe Met Gly Glu
115

<210> 81
<211> 61
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 81

Met Phe Ala Val Ser Asn Asn Pro Arg Gln Asn Ser Tyr Asp Leu Gln
1 5 10 15

Gln Trp Tyr His Met Gln Gln Gln His Gln Ala Gln Gln Gln Ala Tyr
20 25 30

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

Cys Gly Lys Lys Lys Ser Thr Ile Lys His Tyr Glu Glu
50 55 60

<210> 82
<211> 481
<212> PRT
<213> Bacillus anthracis

<400> 82

Met Ser Arg Tyr Asp Asp Ser Gln Asn Lys Phe Ser Lys Pro Cys Phe
1 5 10 15

Pro Ser Ser Ala Gly Arg Ile Pro Asn Thr Pro Ser Ile Pro Val Thr
20 25 30

Lys Ala Gln Leu Arg Thr Phe Arg Ala Ile Ile Ile Asp Leu Thr Lys
35 40 45

Ile Ile Pro Lys Leu Phe Ala Asn Pro Ser Pro Gln Asn Ile Glu Asp
50 55 60

Leu Ile Asp Thr Leu Asn Leu Leu Ser Lys Phe Ile Cys Ser Leu Asp
65 70 75 80

Ala Ala Ser Ser Leu Lys Ala Gln Gly Leu Ala Ile Ile Lys Asn Leu
85 90 95

Ile Thr Ile Leu Lys Asn Pro Thr Phe Val Ala Ser Ala Val Phe Ile
100 105 110

Glu Leu Gln Asn Leu Ile Asn Tyr Leu Leu Ser Ile Thr Lys Leu Phe
115 120 125

Arg Ile Asp Pro Cys Thr Leu Gln Glu Leu Leu Lys Leu Ile Ala Ala
130 135 140

Leu Gln Thr Ala Leu Val Asn Ser Ala Ser Phe Ile Gln Gly Pro Thr
145 150 155 160

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

Ala Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly Ala
180 185 190

Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr
195 200 205

Gly Pro Gln Gly Ala Gln Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly
210 215 220

Pro Gln Gly Ala Gln Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro
225 230 235 240

Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gln
245 250 255

Gly Val Gln Gly Pro Thr Gly Ala Thr Gly Ile Gly Val Thr Gly Pro
260 265 270

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

Gln Gly Asn Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gln Gly Ile Gln Gly Pro Ala
290 295 300

Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gln Gly Ala Gln Gly Pro Ala Gly
305 310 315 320

Ala Thr Gly Ala Thr Gly Pro Gln Gly Val Gln Gly Pro Thr Gly Ala
325 330 335

Thr Gly Ile Gly Val Thr Gly Pro Thr Gly Pro Ser Gly Pro Ser Phe
340 345 350

Pro Val Ala Thr Ile Val Val Thr Asn Asn Ile Gln Gln Thr Val Leu
355 360 365

Gln Phe Asn Asn Phe Ile Phe Asn Thr Ala Ile Asn Val Asn Asn Ile
370 375 380

Ile Phe Asn Gly Thr Asp Thr Val Thr Val Ile Asn Ala Gly Ile Tyr
385 390 395 400

Val Ile Ser Val Ser Ile Ser Thr Thr Ala Pro Gly Cys Ala Pro Leu
405 410 415

Gly Val Gly Ile Ser Ile Asn Gly Ala Val Ala Thr Asp Asn Phe Ser
420 425 430

Ser Asn Leu Ile Gly Asp Ser Leu Ser Phe Thr Thr Ile Glu Thr Leu
435 440 445

Thr Ala Gly Ala Asn Ile Ser Val Gln Ser Thr Leu Asn Glu Ile Thr
450 455 460

Ile Pro Ala Thr Gly Asn Thr Asn Ile Arg Leu Thr Val Phe Arg Ile
465 470 475 480

Ala

<210> 83
<211> 275
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 83

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

Ser Thr Ser Leu Val Ala Cys Ser Gly Ile Thr Glu Lys Thr Val Ala
20 25 30

Lys Glu Glu Lys Val Lys Leu Thr Asp Gln Gln Leu Met Ala Asp Leu
35 40 45

Trp Tyr Gln Thr Ala Gly Glu Met Lys Ala Leu Tyr Tyr Gln Gly Tyr
50 55 60

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

Lys Lys Pro Ala Ile Val Leu Asp Leu Asp Glu Thr Val Leu Asp Asn
85 90 95

Ser Pro His Gln Ala Met Ser Val Lys Thr Gly Lys Gly Tyr Pro Tyr
100 105 110

Lys Trp Asp Asp Trp Ile Asn Lys Ala Glu Ala Glu Ala Leu Pro Gly
115 120 125

Ala Ile Asp Phe Leu Lys Tyr Thr Glu Ser Lys Gly Val Asp Ile Tyr
130 135 140

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

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

Gln Asp Pro Lys Glu Lys Gly Lys Glu Lys Arg Arg Glu Leu Val Ser
180 185 190

Gln Thr His Asp Ile Val Leu Phe Phe Gly Asp Asn Leu Ser Asp Phe

195 200 205

Thr Gly Phe Asp Gly Lys Ser Val Lys Asp Arg Asn Gln Ala Val Ala
210 215 220

Asp Ser Lys Ala Gln Phe Gly Glu Lys Phe Ile Ile Phe Pro Asn Pro
225 230 235 240

Met Tyr Gly Asp Trp Glu Gly Ala Leu Tyr Asp Tyr Asp Phe Lys Lys
245 250 255

Ser Asp Ala Glu Lys Asp Lys Ile Arg Arg Asp Asn Leu Lys Ser Phe
260 265 270

Asp Thr Lys
275

<210> 84
<211> 795
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 84

Met Lys Lys Lys Lys Lys Leu Lys Pro Leu Ala Val Leu Thr Thr Ala
1 5 10 15

Ala Val Leu Ser Ser Thr Phe Ala Phe Gly Gly His Ala Ala Tyr Ala
20 25 30

Glu Thr Pro Thr Ser Ser Leu Pro Ile Asp Glu His Leu Ile Pro Glu
35 40 45

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

Ala Ser Gln Ala Glu Thr Ser Lys Ala Val Glu Lys Tyr Val Glu Lys
65 70 75 80

Lys Lys Gly Glu Asn Pro Gly Lys Glu Ile Leu Thr Gly Asp Ser Leu
85 90 95

Thr Gln Glu Ala Ser Asp Phe Met Lys Lys Val Lys Asp Ala Lys Met
100 105 110

Arg Glu Asn Glu Gln Ala Gln Gln Pro Glu Val Gly Pro Val Ala Gly
115 120 125

Gln Gly Ala Ala Leu Asn Pro Gly Lys Leu Asn Gly Lys Val Pro Thr
130 135 140

Thr Ser Ala Lys Gln Glu Glu Tyr Asn Gly Ala Val Arg Lys Asp Lys
145 150 155 160

Val Leu Val Leu Leu Val Glu Phe Ser Asp Phe Lys His Asn Asn Ile
165 170 175

Asp Gln Glu Pro Gly Tyr Met Tyr Ser Lys Asp Phe Asn Arg Glu His
180 185 190

Tyr Gln Lys Met Leu Phe Gly Asp Glu Pro Phe Thr Leu Phe Asp Gly
195 200 205

Ser Lys Ile Asn Thr Phe Lys Gln Tyr Tyr Glu Glu Gln Ser Gly Gly
210 215 220

Ser Tyr Thr Val Asp Gly Thr Val Thr Glu Trp Leu Thr Val Pro Gly
225 230 235 240

Lys Ala Ser Asp Tyr Gly Ala Asp Ala Gly Thr Gly His Asp Asn Lys
245 250 255

Gly Pro Leu Gly Pro Lys Asp Leu Val Lys Glu Ala Leu Lys Ala Ala
260 265 270

Val Ala Lys Gly Ile Asn Leu Ala Asp Phe Asp Gln Tyr Asp Gln Tyr
275 280 285

Asp Gln Asn Gly Asn Gly Asn Lys Asn Glu Pro Asp Gly Ile Ile Asp
290 295 300

His Leu Met Val Val His Ala Gly Val Gly Gln Glu Ala Gly Gly Gly
305 310 315 320

Lys Leu Lys Asp Asp Ala Ile Trp Ser His Arg Ser Lys Leu Gly Ser
325 330 335

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

Gly Lys Met Ala Ala Tyr Asp Tyr Thr Ile Glu Pro Glu Asp Gly Ala
355 360 365

Val Gly Val Phe Ala His Glu Tyr Gly His Asp Leu Gly Leu Pro Asp
370 375 380

Glu Tyr Asp Thr Lys Tyr Ser Gly Gln Gly Glu Pro Val Glu Ser Trp
385 390 395 400

Ser Ile Met Ser Gly Gly Ser Trp Ala Gly Lys Ile Ala Gly Thr Glu
405 410 415

Pro Thr Ser Phe Ser Pro Gln Asn Lys Glu Phe Phe Gln Lys Asn Met
420 425 430

Lys Gly Asn Trp Ala Asn Ile Leu Glu Val Asp Tyr Asp Lys Leu Ser
435 440 445

Lys Gly Ile Gly Val Ala Thr Tyr Val Asp Gln Ser Thr Thr Lys Ser
450 455 460

Lys Arg Pro Gly Ile Val Arg Val Asn Leu Pro Asp Lys Asp Ile Lys
465 470 475 480

Asn Ile Glu Ser Ala Phe Gly Lys Lys Phe Tyr Tyr Ser Thr Lys Gly
485 490 495

Asn Asp Ile His Thr Thr Leu Glu Thr Pro Val Phe Asp Leu Thr Asn
500 505 510

Ala Lys Asp Ala Lys Phe Asp Tyr Lys Ala Phe Tyr Glu Leu Glu Ala
515 520 525

Lys Tyr Asp Phe Leu Asp Val Tyr Ala Ile Ala Glu Asp Gly Thr Lys
530 535 540

Thr Arg Ile Asp Arg Met Gly Glu Lys Asp Ile Lys Gly Gly Ala Asp
545 550 555 560

Thr Thr Asp Gly Lys Trp Val Asp Lys Ser Tyr Asp Leu Ser Gln Phe
565 570 575

Lys Gly Lys Lys Val Lys Leu Gln Phe Glu Tyr Leu Thr Asp Ile Ala
580 585 590

Val Ala Tyr Lys Gly Phe Ala Leu Asp Asn Ala Ala Leu Thr Val Asp
595 600 605

Gly Lys Val Val Phe Ser Asp Asp Ala Glu Gly Gln Pro Ala Met Thr
610 615 620

Leu Lys Gly Phe Thr Val Ser Asn Gly Phe Glu Gln Lys Lys His Asn
625 630 635 640

Tyr Tyr Val Glu Trp Arg Asn Tyr Ala Gly Ser Asp Thr Ala Leu Gln
645 650 655

Tyr Ala Arg Gly Pro Val Phe Asn Thr Gly Met Val Val Trp Tyr Ala
660 665 670

Asp Gln Ser Phe Thr Asp Asn Trp Val Gly Val His Pro Gly Glu Gly
675 680 685

Phe Leu Gly Val Val Asp Ser His Pro Glu Ala Ile Val Gly Thr Leu
690 695 700

Asn Gly Gln Pro Thr Val Lys Ser Ser Thr Arg Tyr Gln Ile Ala Asp
705 710 715 720

Ala Ala Phe Ser Phe Asp Gln Thr Pro Ala Trp Lys Val Asn Ser Pro
725 730 735

Thr Arg Gly Ile Phe Asp Tyr Lys Gly Leu Pro Gly Val Ala Lys Phe
740 745 750

Asp Asp Ser Lys Gln Tyr Ile Asn Ser Val Ile Pro Asp Ala Gly Arg
755 760 765

Lys Leu Pro Lys Leu Gly Leu Lys Phe Glu Val Val Gly Gln Ala Glu
770 775 780

Asp Lys Ser Ala Gly Ala Val Trp Leu His Arg
785 790 795

<210> 85
<211> 169
<212> ADN
<213> Bacillus anthracis

<400> 85
taatcaccct cttccaaatc aatcatatgt tatacatata ctaaactttc catttttta 60

aattgttcaa gtagtttaag atttcttttc aataattcaa atgtccgtgt cattttcttt 120

cggttttgca tctactatat aatgaacgct ttatggaggt gaatttatg 169

<210> 86
<211> 303
<212> ADN
<213> Bacillus anthracis

<400> 86
atttatttca ttcaattttt cctatttagt acctaccgca ctcacaaaaa gcacctctca 60

ttaatttata ttatagtcat tgaaatctaa tttaatgaaa tcatcatact atatgtttta 120

taagaagtaa aggtaccata cttaattaat acatatctat acacttcaat atcacagcat 180

gcagttgaat tatatccaac tttcatttca aattaaataa gtgcctccgc tattgtgaat 240

gtcatttact ctccctacta catttaataa ttatgacaag caatcatagg aggttactac 300

atg 303

<210> 87
<211> 173
<212> ADN
<213> Bacillus anthracis

<400> 87
aattacataa caagaactac attagggagc aagcagtcta gcgaaagcta actgcttttt 60

tattaaataa ctattttatt aaatttcata tatacaatcg cttgtccatt tcatttggct 120

ctacccacgc atttactatt agtaatatga atttttcaga ggtggatttt att 173

<210> 88
<211> 124
<212> ADN
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 88
ctatgattta agatacacaa tagcaaaaga gaaacatatt atataacgat aaatgaaact 60

tatgtatatg tatggtaact gtatatatta ctacaataca gtatactcat aggaggtagg 120

tatg 124

<210> 89
<211> 376
<212> ADN
<213> Bacillus weihenstephensis

<400> 89
ggtaggtaga tttgaaatat gatgaagaaa aggaataact aaaaggagtc gatatccgac 60

tccttttagt tataaataat gtggaattag agtataattt tatataggta tattgtatta 120

gatgaacgct ttatccttta attgtgatta atgatggatt gtaagagaag gggcttacag 180

tccttttttt atggtgttct ataagccttt ttaaaagggg taccacccca cacccaaaaa 240

caggggggt tataactaca tattggatgt tttgtaacgt acaagaatcg gtattaatta 300

ccctgtaaat aagttatgtg tatataaggt aactttatat attctcctac aataaaataa 360

aggaggtaat aaagtg 376

<210> 90
<211> 225
<212> ADN
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 90
aacccttaat gcattggtta aacattgtaa agtctaaagc atggataatg ggcgagaagt 60

aagtagattg ttaacaccct gggtcaaaaa ttgatattta gtaaaattag ttgcactttg 120

tgcatttttt cataagatga gtcatatgtt ttaaattgta gtaatgaaaa acagtattat 180

atcataatga attggtatct taataaaaga gatggaggta actta 225

<210> 91
<211> 125
<212> ADN
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 91
taattccacc ttcccttatc ctctttcgcc tatttaaaaa aaggtcttga gattgtgacc 60

aaatctcctc aactccaata tcttattaat gtaaatacaa acaagaagat aaggagtgac 120

attaa 125

<210> 92
<211> 144
<212> ADN

<213> Bacillus thuringiensis

<400> 92
aggatgtctt tttttatatt gtattatgta catccctact atataaattc cctgctttta 60

tcgtaagaat taacgtaata tcaaccatat cccgttcata ttgtagtagt gtatgtcaga 120

actcacgaga aggagtgaac ataa 144

<210> 93
<211> 126
<212> ADN
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 93
ttaatgtcac tccttatctt cttgtttgta tttacattaa taagatattg gagttgagga 60

gatttggtca caatctcaag acctttttt taaataggcg aaagaggata agggaaggtg 120

gaatta 126

<210> 94
<211> 103
<212> ADN
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 94
atatattttc ataatacgag aaaaagcgga gtttaaaaga atgagggaac ggaaataaag 60

agttgttcat atagtaaata gacagaattg acagtagagg aga 103

<210> 95
<211> 169
<212> ADN
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 95
aaactaaata atgagctaag catggattgg gtggcagaat tatctgccac ccaatccatg 60

cttaacgagt attattatgt aaatttctta aaattgggaa cttgtctaga acatagaacc 120

tgtccttttc attaactgaa agtagaaaca gataaaggag tgaaaaaca 169

<210> 96
<211> 111
<212> ADN
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 96
attcactaca acggggatga gtttgatgcg gatacatatg agaagtaccg gaaagtgttt 60

gtagaacatt acaaagatat attatctcca tcataaagga gagatgcaaa g 111

<210> 97
<211> 273
<212> ADN
<213> Bacillus anthracis

<400> 97
cgcgcaccac ttcgtcgtac aacaacgcaa gaagaagttg gggatacagc agtattctta 60

ttcagtgatt tagcacgcgg cgtaacagga gaaaacattc acgttgattc agggtatcat 120

atcttaggat aaatataata ttaattttaa aggacaatct ctacatgttg agattgtcct 180

ttttatttgt tcttagaaag aacgattttt aacgaaagtt cttaccacgt tatgaatata 240

agtataatag tacacgattt attcagctac gta 273

<210> 98
<211> 303
<212> ADN
<213> Bacillus anthracis

<400> 98
tgaagtatct agagctaatt tacgcaaagg aatctcagga caacactttc gcaacaccta 60

tattttaaat ttaataaaaa aagagactcc ggagtcagaa attataaagc tagctgggtt 120

caaatcaaaa atttcactaa aacgatatta tcaatacgca gaaaatggaa aaaacgcctt 180

atcataaggc gtttttcca tttttcttc aaacaaacga ttttactatg accatttaac 240

taatttttgc atctactatg atgagtttca ttcacattct cattagaaag gagagattta 300

atg 303

<210> 99
<211> 240
<212> ADN
<213> Bacillus anthracis

<400> 99
tatatcatat gtaaaattag ttcttattcc cacatatcat atagaatcgc catattatac 60

atgcagaaaa ctaagtatgg tattattctt aaattgttta gcaccttcta atattacaga 120

tagaatccgt cattttcaac agtgaacatg gatttcttct gaacacaact ctttttcttt 180

ccttatttcc aaaaagaaaa gcagcccatt ttaaaatacg gctgcttgta atgtacatta 240

<210> 100
<211> 267
<212> ADN
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 100
tatcacataa ctctttattt ttaatatttc gacataaagt gaaactttaa tcagtggggg 60

ctttgttcat ccccccactg attattaatt gaaccaaggg ataaaaagat agagggtctg 120

accagaaaac tggagggcat gattctataa caaaaagctt aatgtttata gaattatgtc 180

tttttatata gggagggtag taaacagaga tttggacaaa aatgcaccga tttatctgaa 240

ttttaagttt tataaagggg agaaatg 267

<210> 101
<211> 124
<212> ADN
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 101
atttttttact tagcagtaaa actgatatca gttttactgc tttttcattt ttaaattcaa 60

tcattaaatc ttccttttct acatagtcat aatgttgtat gacattccgt aggaggcact 120

tata 124

<210> 102
<211> 170
<212> ADN
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 102
acataaattc acctccataa agcgttcatt atatagtaga tgcaaaaccg aaagaaaatg 60

acacggacat ttgaattatt gaaaagaaat cttaaactac ttgaacaatt taaaaaaatg 120

gaaagtttag tatatgtata acatatgatt gatttggaag agggtgatta 170

<210> 103
<211> 212
<212> ADN
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 103
ttctattttc caacataaca tgctacgatt aaatggtttt ttgcaaatgc cttcttggga 60

agaaggatta gagcgttttt ttatagaaac caaaagtcat taacaatttt aagttaatga 120

ctttttttgtt tgcctttaag aggttttatg ttactataat tatagtatca ggtactaata 180

acaagtataa gtatttctgg gaggatatat ca 212

<210> 104
<211> 717
<212> ADN

<213> Bacillus mycoides

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (7)..(7)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (11)..(11)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 104
gtctgangga ncacgccgcg tgagtgatga aggctttcgg gtcgtaaaac tctgttgtta 60

gggaagaaca agtgctagtt gaataagctg gcaccttgac ggtacctaac cagaaagcca 120

cggctaacta cgtgccagca gccgcggtaa tacgtaggtg gcaagcgtta tccggaatta 180

ttgggcgtaa agcgcgcgca ggtggtttct taagtctgat gtgaaagccc acggctcaac 240

cgtggagggt cattggaaac tgggagactt gagtgcagaa gaggaaagtg gaattccatg 300

tgtagcggtg aaatgcgtag agatatggag gaacaccagt ggcgaaggcg actttctggt 360

ctgtaactga cactgaggcg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat accctggtag 420

tccacgccgt aaacgatgag tgctaagtgt tagagggttt ccgcccttta gtgctgaagt 480

taacgcatta agcactccgc ctggggagta cggccgcaag gctgaaactc aaaggaattg 540

acgggggccc gcacaagcgg tggagcatgt ggtttaattc gaagcaacgc gaagaacctt 600

accaggtctt gacatcctct gacaacccta gagatagggc ttccccttcg ggggcagagt 660

gacaggtggt gcatggttgt cgtcagctcg tgtcgtgaga tgttgggtta agtcccg 717

<210> 105
<211> 711
<212> ADN
<213> Bacillus mycoides

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (20)..(21)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 105
ggagcacgcc gcgtgagtgn ngaaggcttt cgggtcgtaa aactctgttg ttagggaaga 60

acaagtgcta gttgaataag ctggcacctt gacggtacct aaccagaaag ccacggctaa 120

ctacgtgcca gcagccgcgg taatacgtag gtggcaagcg ttatccggaa ttattgggcg 180

taaagcgcgc gcaggtggtt tcttaagtct gatgtgaaag cccacggctc aaccgtggag 240

ggtcattgga aactgggaga cttgagtgca gaagaggaaa gtggaattcc atgtgtagcg 300

gtgaaatgcg tagagatatg gaggaacacc agtggcgaag gcgactttct ggtctgtaac 360

tgacactgag gcgcgaaagc gtggggagca aacaggatta gataccctgg tagtccacgc 420

cgtaaacgat gagtgctaag tgttagaggg tttccgccct ttagtgctga agttaacgca 480

ttaagcactc cgcctgggga gtacggccgc aaggctgaaa ctcaaaggaa ttgacggggg 540

cccgcacaag cggtggagca tgtggtttaa ttcgaagcaa cgcgaagaac cttaccaggt 600

cttgacatcc tctgaaaact ctagagatag agcttctcct tcgggagcag agtgacaggt 660

ggtgcatggt tgtcgtcagc tcgtgtcgtg agatgttggg ttaagtcccg c 711

<210> 106
<211> 719
<212> ADN
<213> Bacillus mycoides

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (630)..(630)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (640)..(642)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 106
aaagtctgac ggagcacgcc gcgtgagtga tgaaggcttt cgggtcgtaa aactctgttg 60

ttagggaaga acaagtgcta gttgaataag ctggcacctt gacggtacct aaccagaaag 120

ccacggctaa ctacgtgcca gcagccgcgg taatacgtag gtggcaagcg ttatccggaa 180

ttattgggcg taaagcgcgc gcaggtggtt tcttaagtct gatgtgaaag cccacggctc 240

aaccgtggag ggtcattgga aactgggaga cttgagtgca gaagaggaaa gtggaattcc 300

atgtgtagcg gtgaaatgcg tagagatatg gaggaacacc agtggcgaag gcgactttct 360

ggtctgtaac tgacactgag gcgcgaaagc gtggggagca aacaggatta gataccctgg 420

tagtccacgc cgtaaacgat gagtgctaag tgttagaggg tttccgccct ttagtgctga 480

agttaacgca ttaagcactc cgcctgggga gtacggccgc aaggctgaaa ctcaaaggaa 540

ttgacggggg cccgcacaag cggtggagca tgtggtttaa ttcgaagcaa cgcgaagaac 600

cttaccaggt cttgacatcc tctgaaaacn ctagagatan nncttctcct tcgggagcag 660

agtgacaggt ggtgcatggt tgtcgtcagc tcgtgtcgtg agatgttggg ttaagtccc 719

<210> 107
<211> 709
<212> ADN
<213> Bacillus mycoides

<400> 107
ggagcacgcc gcgtgagtga tgaaggcttt cgggtcgtaa aactctgttg ttagggaaga 60

acaagtgcta gttgaataag ctggcacctt gacggtacct aaccagaaag ccacggctaa 120

ctacgtgcca gcagccgcgg taatacgtag gtggcaagcg ttatccggaa ttattgggcg 180

taaagcgcgc gcaggtggtt tcttaagtct gatgtgaaag cccacggctc aaccgtggag 240

ggtcattgga aactgggaga cttgagtgca gaagaggaaa gtggaattcc atgtgtagcg 300

gtgaaatgcg tagagatatg gaggaacacc agtggcgaag gcgactttct ggtctgtaac 360

tgacactgag gcgcgaaagc gtggggagca aacaggatta gataccctgg tagtccacgc 420

cgtaaacgat gagtgctaag tgttagaggg tttccgccct ttagtgctga agttaacgca 480

ttaagcactc cgcctgggga gtacggccgc aaggctgaaa ctcaaaggaa ttgacggggg 540

cccgcacaag cggtggagca tgtggtttaa ttcgaagcaa cgcgaagaac cttaccaggt 600

cttgacatcc tctgacaacc ctagagatag ggcttcccct tcgggggcag agtgacaggt 660

ggtgcatggt tgtcgtcagc tcgtgtcgtg agatgttggg ttaagtccc 709

<210> 108
<211> 713
<212> ADN
<213> Thành viên họ Bacillus cereus

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (4)..(4)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (22)..(22)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (697)..(697)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 108

ggancaacgc cgcgtgagtg angaaggctt tcgggtcgta aaactctgtt gttagggaag 60

aacaagtgct agttgaataa gctggcacct tgacggtacc taaccagaaa gccacggcta 120

actacgtgcc agcagccgcg gtaatacgta ggtggcaagc gttatccgga attattgggc 180

gtaaagcgcg cgcaggtggt ttcttaagtc tgatgtgaaa gcccacggct caaccgtgga 240

gggtcattgg aaactgggag acttgagtgc agaagaggaa agtggaattc catgtgtagc 300

ggtgaaatgc gtagagatat ggaggaacac cagtggcgaa ggcgactttc tggtctgtaa 360

ctgacactga ggcgcgaaag cgtggggagc aaacaggatt agataccctg gtagtccacg 420

ccgtaaacga tgagtgctaa gtgttagagg gtttccgccc tttagtgctg aagttaacgc 480

attaagcact ccgcctgggg agtacggccg caaggctgaa actcaaagga attgacgggg 540

gcccgcacaa gcggtggagc atgtggttta attcgaagca acgcgaagaa ccttaccagg 600

tcttgacatc ctctgaaaac tctagagata gagcttctcc ttcgggagca gagtgacagg 660

tggtgcatgg ttgtcgtcag ctcgtgtcgt gagatgntgg gttaagtccc gca 713

<210> 109
<211> 876
<212> ADN
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 109

tctgacggag caacgccgcg tgagtgatga aggctttcgg gtcgtaaaac tctgttgtta 60

gggaagaaca agtgctagtt gaataagctg gcaccttgac ggtacctaac cagaaagcca 120

cggctaacta cgtgccagca gccgcggtaa tacgtaggtg gcaagcgtta tccggaatta 180

ttgggcgtaa agcgcgcgca ggtggtttct taagtctgat gtgaaagccc acggctcaac 240

cgtggagggt cattggaaac tgggagactt gagtgcagaa gaggaaagtg gaattccatg 300

tgtagcggtg aaatgcgtag agatatggag gaacaccagt ggcgaaggcg actttctggt 360

ctgtaactga cactgaggcg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat accctggtag 420

tccacgccgt aaacgatgag tgctaagtgt tagagggttt ccgcccttta gtgctgaagt 480

taacgcatta agcactccgc ctggggagta cggccgcaag gctgaaactc aaaggaattg 540

acgggggccc gcacaagcgg tggagcatgt ggtttaattc gaagcaacgc gaagaacctt 600

accaggtctt gacatcctct gaaaacccta gagatagggc ttctccttcg ggagcagagt 660

gacaggtggt gcatggttgt cgtcagctcg tgtcgtgaga tgttgggtta agtcccgcaa 720

cgagcgcaac ccttgatctt agttgccatc attaagttgg gcactctaag gtgactgccg 780

gtgacaaacc ggaggaaggt ggggatgacg tcaaatcatc atgcccctta tgacctgggc 840

tacacacgtg ctacaatgga cggtacaaag agctgc 876

<210> 110
<211> 686
<212> ADN
<213> Thành viên họ Bacillus cereus

<400> 110

aaggctttcg ggtcgtaaaa ctctgttgtt agggaagaac aagtgctagt tgaataagct 60

ggcaccttga cggtacctaa ccagaaagcc acggctaact acgtgccagc agccgcggta 120

atacgtaggt ggcaagcgtt atccggaatt attgggcgta aagcgcgcgc aggtggtttc 180

ttaagtctga tgtgaaagcc cacggctcaa ccgtggaggg tcattggaaa ctgggagact 240

tgagtgcaga agaggaaagt ggaattccat gtgtagcggt gaaatgcgta gagatatgga 300

ggaacaccag tggcgaaggc gactttctgg tctgtaactg acactgaggc gcgaaagcgt 360

ggggagcaaa caggattaga taccctggta gtccacgccg taaacgatga gtgctaagtg 420

ttagagggtt tccgcccttt agtgctgaag ttaacgcatt aagcactccg cctggggagt 480

acggccgcaa ggctgaaact caaaggaatt gacgggggcc cgcacaagcg gtggagcatg 540

tggtttaatt cgaagcaacg cgaagaacct taccaggtct tgacatcctc tgaaaaccct 600

agagataggg cttctccttc gggagcagag tgacaggtgg tgcatggttg tcgtcagctc 660

gtgtcgtgag atgttgggtt aagtcc 686

<210> 111

<211> 717

<212> ADN

<213> Bacillus aryabhattai

<220>

<221> Đặc tính pha tạp

<222> (3)..(4)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 111
ggnncaacgc cgcgtgagtg atgaaggctt tcgggtcgta aaactctgtt gttagggaag 60

aacaagtacg agagtaactg ctcgtacctt gacggtacct aaccagaaag ccacggctaa 120

ctacgtgcca gcagccgcgg taatacgtag gtggcaagcg ttatccggaa ttattgggcg 180

taaagcgcgc gcaggcggtt tcttaagtct gatgtgaaag cccacggctc aaccgtggag 240

ggtcattgga aactggggaa cttgagtgca gaagagaaaa gcggaattcc acgtgtagcg 300

gtgaaatgcg tagagatgtg gaggaacacc agtggcgaag gcggcttttt ggtctgtaac 360

tgacgctgag gcgcgaaagc gtggggagca aacaggatta gataccctgg tagtccacgc 420

cgtaaacgat gagtgctaag tgttagaggg tttccgccct ttagtgctgc agctaacgca 480

ttaagcactc cgcctgggga gtacggtcgc aagactgaaa ctcaaaggaa ttgacggggg 540

cccgcacaag cggtggagca tgtggtttaa ttcgaagcaa cgcgaagaac cttaccaggt 600

cttgacatcc tctgacaact ctagagatag agcgttcccc ttcgggggac agagtgacag 660

gtggtgcatg gttgtcgtca gctcgtgtcg tgagatgttg ggttaagtcc cgcaacg 717

<210> 112
<211> 718
<212> ADN
<213> Bacillus aryabhattai

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (6)..(6)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (9)..(10)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 112
tctganggnn cacgccgcgt gagtgatgaa ggctttcggg tcgtaaaact ctgttgttag 60

ggaagaacaa gtacgagagt aactgctcgt accttgacgg tacctaacca gaaagccacg 120

gctaactacg tgccagcagc cgcggtaata cgtaggtggc aagcgttatc cggaattatt 180

gggcgtaaag cgcgcgcagg cggtttctta agtctgatgt gaaagcccac ggctcaaccg 240

tggagggtca ttggaaactg gggaacttga gtgcagaaga gaaaagcgga attccacgtg 300

tagcggtgaa atgcgtagag atgtggagga acaccagtgg cgaaggcggc tttttggtct 360

gtaactgacg ctgaggcgcg aaagcgtggg gagcaaacag gattagatac cctggtagtc 420

cacgccgtaa acgatgagtg ctaagtgtta gagggtttcc gccctttagt gctgcagcta 480

acgcattaag cactccgcct ggggagtacg gtcgcaagac tgaaactcaa aggaattgac 540

gggggcccgc acaagcggtg gagcatgtgg tttaattcga agcaacgcga agaaccttac 600

caggtcttga catcctctga caactctaga gatagagcgt tccccttcgg gggacagagt 660

gacaggtggt gcatggttgt cgtcagctcg tgtcgtgaga tgttgggtta agtcccgc 718

<210> 113
<211> 716
<212> ADN
<213> Bacillus flexus

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (4)..(4)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (22)..(22)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 113
ggancaacgc cgcgtgagtg angaaggctt tcgggtcgta aaactctgtt gttagggaag 60

aacaagtaca agagtaactg cttgtacctt gacggtacct aaccagaaag ccacggctaa 120

ctacgtgcca gcagccgcgg taatacgtag gtggcaagcg ttatccggaa ttattgggcg 180

taaagcgcgc gcaggcggtt tcttaagtct gatgtgaaag cccacggctc aaccgtggag 240

ggtcattgga aactggggaa cttgagtgca gaagagaaaa gcggaattcc acgtgtagcg 300

gtgaaatgcg tagagatgtg gaggaacacc agtggcgaag gcggcttttt ggtctgtaac 360

tgacgctgag gcgcgaaagc gtggggagca aacaggatta gataccctgg tagtccacgc 420

cgtaaacgat gagtgctaag tgttagaggg tttccgccct ttagtgctgc agctaacgca 480

ttaagcactc cgcctgggga gtacggtcgc aagactgaaa ctcaaaggaa ttgacggggg 540

cccgcacaag cggtggagca tgtggtttaa ttcgaagcaa cgcgaagaac cttaccaggt 600

cttgacatcc tctgacaact ctagagatag agcgttcccc ttcgggggac agagtgacag 660

gtggtgcatg gttgtcgtca gctcgtgtcg tgagatgttg ggttaagtcc cgcaac 716

<210> 114
<211> 676
<212> ADN
<213> Paracoccus kondratievae

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (13)..(15)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (19)..(19)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (44)..(44)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 114
gccgcgtgag tgnnnaagnc cctagggttg taaagctctt tcanctggga agataatgac 60

tgtaccagca gaagaagccc cggctaactc cgtgccagca gccgcggtaa tacggagggg 120

gctagcgttg ttcggaatta ctgggcgtaa agcgcacgta ggcggaccgg aaagttgggg 180

gtgaaatccc ggggctcaac cccggaactg ccttcaaaac tatcggtctg gagttcgaga 240

gaggtgagtg gaattccgag tgtagaggtg aaattcgtag atattcggag gaacaccagt 300

ggcgaaggcg gctcactggc tcgatactga cgctgaggtg cgaaagcgtg gggagcaaac 360

aggattagat accctggtag tccacgccgt aaacgatgaa tgccagtcgt cgggcagcat 420

gctgttcggt gacacaccta acggattaag cattccgcct ggggagtacg gtcgcaagat 480

taaaactcaa aggaattgac gggggcccgc acaagcggtg gagcatgtgg tttaattcga 540

agcaacgcgc agaaccttac caacccttga catcccagga cagcccgaga gatcgggtct 600

ccacttcggt ggcctggaga caggtgctgc atggctgtcg tcagctcgtg tcgtgagatg 660

ttcggttaag tccggc 676

<210> 115
<211> 728
<212> ADN
<213> Enterobacter cloacae

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (4)..(5)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (12)..(12)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (33)..(33)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (719)..(719)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (721)..(722)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 115
ctgnngcagc cntgccgcgt gtatgaagaa ggncttcggg ttgtaaagta ctttcagcgg 60

ggaggaaggt gttgtggtta ataaccacag caattgacgt tacccgcaga agaagcaccg 120

gctaactccg tgccagcagc cgcggtaata cggagggtgc aagcgttaat cggaattact 180

gggcgtaaag cgcacgcagg cggtctgtca agtcggatgt gaaatccccg ggctcaacct 240

gggaactgca ttcgaaactg gcaggctaga gtcttgtaga ggggggtaga attccaggtg 300

tagcggtgaa atgcgtagag atctggagga ataccggtgg cgaaggcggc cccctggaca 360

aagactgacg ctcaggtgcg aaagcgtggg gagcaaacag gattagatac cctggtagtc 420

cacgccgtaa acgatgtcga tttggaggtt gtgcccttga ggcgtggctt ccggagctaa 480

cgcgttaaat cgaccgcctg gggagtacgg ccgcaaggtt aaaactcaaa tgaattgacg 540

ggggcccgca caagcggtgg agcatgtggt ttaattcgat gcaacgcgaa gaaccttacc 600

tggtcttgac atccacagaa ctttccagag atggattggt gccttcggga actgtgagac 660

aggtgctgca tggctgtcgt cagctcgtgt tgtgaaatgt tgggttaagt cccgcaacna 720

nncgcaac 728

<210> 116
<211> 717
<212> ADN
<213> Bacillus nealsonii

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (3)..(4)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (8)..(8)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 116
tgnngganca acgccgcgtg agtgatgaag gttttcggat cgtaaaactc tgttgttagg 60

gaagaacaag tacgagagta actgctcgta ccttgacggt acctaaccag aaagccacgg 120

ctaactacgt gccagcagcc gcggtaatac gtaggtggca agcgttgtcc ggaattattg 180

ggcgtaaagc gcgcgcaggc ggtcctttaa gtctgatgtg aaagcccacg gctcaaccgt 240

ggagggtcat tggaaactgg gggacttgag tgcagaagag aagagtggaa ttccacgtgt 300

agcggtgaaa tgcgtagaga tgtggaggaa caccagtggc gaaggcgact ctttggtctg 360

taactgacgc tgaggcgcga aagcgtgggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc 420

acgccgtaaa cgatgagtgc taagtgttag agggtttccg ccctttagtg ctgcagcaaa 480

cgcattaagc actccgcctg gggagtacgg ccgcaaggct gaaactcaaa ggaattgacg 540

ggggcccgca caagcggtgg agcatgtggt ttaattcgaa gcaacgcgaa gaaccttacc 600

aggtcttgac atctcctgac aatcctagag ataggacgtt ccccttcggg ggacaggatg 660

acaggtggtg catggttgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa gtcccgc 717

<210> 117
<211> 702
<212> ADN
<213> Bacillus subtilis

<400> 117
cgccgcgtga gtgatgaagg ttttcggatc gtaaagctct gttgttaggg aagaacaagt 60

gccgttcaaa tagggcggca ccttgacggt acctaaccag aaagccacgg ctaactacgt 120

gccagcagcc gcggtaatac gtaggtggca agcgttgtcc ggaattattg ggcgtaaagg 180

gctcgcaggc ggtttcttaa gtctgatgtg aaagcccccg gctcaaccgg ggagggtcat 240

tggaaactgg ggaacttgag tgcagaagag gagagtggaa ttccacgtgt agcggtgaaa 300

tgcgtagaga tgtggaggaa caccagtggc gaaggcgact ctctggtctg taactgacgc 360

tgaggagcga aagcgtgggg agcgaacagg attagatacc ctggtagtcc acgccgtaaa 420

cgatgagtgc taagtgttag ggggtttccg ccccttagtg ctgcagctaa cgcattaagc 480

actccgcctg gggagtacgg tcgcaagact gaaactcaaa ggaattgacg ggggcccgca 540

caagcggtgg agcatgtggt ttaattcgaa gcaacgcgaa gaaccttacc aggtcttgac 600

atcctctgac aatcctagag ataggacgtc cccttcgggg gcagagtgac aggtggtgca 660

tggttgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cc 702

<210> 118
<211> 680
<212> ADN
<213> Alcaligenes faecalis

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (103)..(103)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (262)..(264)

<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (272)..(273)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 118
cttcgggttg taaagtactt ttggcagaga agaaaaggta tctcctaata cgagatactg 60

ctgacggtat ctgcagaata agcaccggct aactacgtgc cancagccgc ggtaatacgt 120

agggtgcaag cgttaatcgg aattactggg cgtaaagcgt gtgtaggcgg ttcggaaaga 180

aagatgtgaa atcccagggc tcaaccttgg aactgcattt ttaactgccg agctagagta 240

tgtcagaggg gggtagaatt cnnntgtagc anngaaatgc gtagatatgt ggaggaatac 300

cgatggcgaa ggcagccccc tgggataata ctgacgctca gacacgaaag cgtggggagc 360

aaacaggatt agataccctg gtagtccacg ccctaaacga tgtcaactag ctgttggggc 420

cgttaggcct tagtagcgca gctaacgcgt gaagttgacc gcctggggag tacggtcgca 480

agattaaaac tcaaaggaat tgacggggac ccgcacaagc ggtggatgat gtggattaat 540

tcgatgcaac gcgaaaaacc ttacctaccc ttgacatgtc tggaaagccg aagagatttg 600

gccgtgctcg caagagaacc ggaacacagg tgctgcatgg ctgtcgtcag ctcgtgtcgt 660

gagatgttgg gttaagtccc 680

<210> 119

<211> 640
<212> ADN
<213> Paenibacillus massiliensis

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (5)..(6)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (8)..(9)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (13)..(17)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (22)..(23)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (26)..(26)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (45)..(45)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (51)..(51)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (54)..(54)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (67)..(67)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (70)..(70)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (73)..(73)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (121)..(121)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp

<222> (162)..(162)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (164)..(164)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (185)..(185)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (189)..(190)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (193)..(193)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (210)..(211)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (217)..(217)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (229)..(229)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (232)..(232)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (234)..(234)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (240)..(240)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (242)..(242)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (251)..(251)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (256)..(256)

<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (259)..(259)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (262)..(262)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (284)..(284)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (289)..(289)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (292)..(292)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (314)..(314)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>

<221> Đặc tính pha tạp
<222> (320)..(320)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (332)..(332)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (341)..(341)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (344)..(344)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (347)..(347)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (350)..(350)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (352)..(352)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (364)..(365)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (373)..(373)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (383)..(383)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (388)..(388)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (391)..(391)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (404)..(404)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp

<222> (417)..(418)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (420)..(420)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (424)..(424)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (428)..(428)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (432)..(432)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (434)..(434)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (443)..(444)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (446)..(446)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (450)..(450)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (455)..(455)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (471)..(472)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (475)..(475)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (477)..(477)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (490)..(490)

<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (492)..(496)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (501)..(501)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (503)..(503)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (506)..(506)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (509)..(509)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (516)..(517)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>

<221> Đặc tính pha tạp
<222> (519)..(519)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (530)..(530)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (538)..(538)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (540)..(540)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (544)..(544)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (546)..(546)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (551)..(551)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (562)..(562)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (564)..(564)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (571)..(572)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (589)..(589)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (594)..(594)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (597)..(598)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp

<222> (602)..(602)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (607)..(608)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (610)..(610)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (624)..(624)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (633)..(633)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (635)..(635)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (637)..(640)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 119

cttanngnnt gannnnnctt gnnaanaaag ccccggctaa ctacntgcca ncanccgcgg 60

taatacntan ggngcaagcg ttgtccggaa ttattgggcg taaagcgcgc gcaggcggtc 120

ntttaagtct ggtgtttaag cccggggctc aaccccggat cncncgggaa actggatgac 180

ttgantgcnn aanaagagag tggaattccn ngtgtancgg tgaaatgcnt ananatgtgn 240

angaacacca ntggcnaang cnactctctg ggctgtaact gacnctgang cncgaaagcg 300

tggggagcaa acangattan ataccctggt antccacgcc ntanacnatn antgctaggt 360

gttnngggtt tcnataccct tgntgccnaa nttaacacat taancactcc gcctggnnan 420

tacngtcnca anantgaaac tcnnangaan tgacngggac ccgcacaagc nntgnantat 480

gtggtttaan tnnnnncaac ncnaanaanc ttaccnngnc ttgacatctn aatgaccngn 540

gcananatgt nccttttcctt cngnacattc nngacaggtg gtgcatggnt gtcntcnnct 600

cntgtcnngn gatgttgggt taantccccg cancnannnn 640

<210> 120

<211> 678

<212> ADN

<213> Bacillus subtilis

<220>

<221> Đặc tính pha tạp

<222> (425)..(425)

<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (548)..(548)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (640)..(640)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (661)..(661)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 120
aagctctgtt gttagggaag aacaagtacc gttcgaatag ggcggtacct tgacggtacc 60

taaccagaaa gccacggcta actacgtgcc agcagccgcg gtaatacgta ggtggcaagc 120

gttgtccgga attattgggc gtaaagggct cgcaggcggt ttcttaagtc tgatgtgaaa 180

gcccccggct caaccgggga gggtcattgg aaactgggga acttgagtgc agaagaggag 240

agtggaattc cacgtgtagc ggtgaaatgc gtagagatgt ggaggaacac cagtggcgaa 300

ggcgactctc tggtctgtaa ctgacgctga ggagcgaaag cgtggggagc gaacaggatt 360

agataccctg gtagtccacg ccgtaaacga tgagtgctaa gtgttagggg gtttccgccc 420

cttantgctg cagctaacgc attaagcact ccgcctgggg agtacggtcg caagactgaa 480

actcaaagga attgacgggg gcccgcacaa gcggtggagc atgtggttta attcgaagca 540

acgcgaanaa ccttaccagg tcttgacatc ctctgacaat cctagagata ggacgtcccc 600

ttcgggggca gagtgacagg tggtgcatgg ttgtcgtcan ctcgtgtcgt gagatgttgg 660

nttaagtccc gcaacgag 678

<210> 121
<211> 743
<212> ADN
<213> Bacillus megaterium

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (4)..(4)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (12)..(13)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (689)..(691)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (693)..(708)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (712)..(712)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (716)..(717)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (720)..(720)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (727)..(727)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (729)..(730)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (734)..(734)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> Đặc tính pha tạp
<222> (740)..(741)

<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 121

aagnctttcg gnncgtaaaa ctctgttgtt agggaagaac aagtacgaga gtaactgctc 60

gtaccttgac ggtacctaac cagaaagcca cggctaacta cgtgccagca gccgcggtaa 120

tacgtaggtg gcaagcgtta tccggaatta ttgggcgtaa agcgcgcgca ggcggtttct 180

taagtctgat gtgaaagccc acggctcaac cgtggagggt cattggaaac tggggaactt 240

gagtgcagaa gagaaaagcg gaattccacg tgtagcggtg aaatgcgtag agatgtggag 300

gaacaccagt ggcgaaggcg gctttttggt ctgtaactga cgctgaggcg cgaaagcgtg 360

gggagcaaac aggattagat accctggtag tccacgccgt aaacgatgag tgctaagtgt 420

tagagggttt ccgcccttta gtgctgcagc taacgcatta agcactccgc ctggggagta 480

cggtcgcaag actgaaactc aaaggaattg acgggggccc gcacaagcgg tggagcatgt 540

ggtttaattc gaagcaacgc gaagaacctt accaggtctt gacatcctct gacaactcta 600

gagatagagc gttccccttc gggggacaga gtgacaggtg gtgcatggtt gtcgtcagct 660

cgtgtcgtga gatgttgggt taagtcccnn ncnnnnnnnn nnnnnnnntc tnaganncgn 720

gctgacnann ccangcaccn ngg 743

<210> 122

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn mồi

<400> 122
actcctacgg gaggcagcag t 21

<210> 123
<211> 16
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn mồi

<400> 123
gggttgcgct cgttgc 16

<210> 124
<211> 16
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn mồi

<400> 124
gggttgcgct cgttac 16