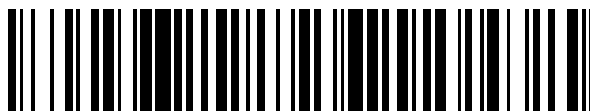


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 741 586**

51 Int. Cl.:

A61K 8/64 (2006.01)

A61K 8/66 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

C07K 14/46 (2006.01)

C12N 9/64 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.11.2010 PCT/EP2010/068509**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.06.2011 WO11064384**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.11.2010 E 10784313 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 2506825**

54 Título: **Enzimas del líquido de eclosión y usos de las mismas**

30 Prioridad:

30.11.2009 GB 0921001

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

11.02.2020

73 Titular/es:

AQUA BIO TECHNOLOGY ASA (100.0%)

Fornebuveien 42-44

1366 Fornebu, NO

72 Inventor/es:

LEREN, HANS KRISTIAN y

WALTHER, BERNT

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 741 586 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Enzimas del líquido de eclosión y usos de las mismas

- 5 La presente invención se refiere al uso de coriolisina que puede obtenerse del líquido de eclosión de peces en diversas aplicaciones cosméticas y médicas para la piel. En el presente documento también se describen proteínas muy ácidas que pueden obtenerse del líquido de eclosión de peces y su uso en diversas aplicaciones cosméticas y médicas para la piel.
- 10 La piel es uno de los órganos más vulnerables del cuerpo. Aunque raras veces tienen peligro para la vida, los trastornos o afecciones de la piel pueden ser incómodos y pueden provocar discapacidades crónicas. Además, debido a que la piel es muy visible, los trastornos y afecciones de la piel pueden conducir a estrés psicológico. Por lo tanto, existe una continua necesidad de tratamientos eficaces para afecciones y trastornos de la piel.
- 15 La piel forma el mayor órgano del cuerpo, representando aproximadamente el 12-16 por ciento del peso de una persona. Desempeña muchos papeles vitales como barrera y como influencia reguladora entre el mundo exterior y el entorno controlado dentro de nuestros cuerpos.
- 20 La piel consta de 3 capas, a saber, la epidermis, la dermis y el subcutis. La epidermis es la capa epitelial superior de la piel. Actúa como una barrera física, evitando la pérdida de agua del cuerpo y evitando la entrada de sustancias y organismos en el cuerpo. Su grosor varía según el sitio del cuerpo.
- 25 La epidermis consta de epitelio escamoso estratificado, es decir, consta de capas de células aplanadas. La piel, el cabello y las uñas están queratinizados, lo que significa que tienen una superficie hidrófoba endurecida, muerta, hecha de una proteína llamada queratina. La epidermis se hace impermeable debido a su contenido de lípidos extracelulares asociados con los queratinocitos, especialmente en la capa media de la epidermis (estrato lúcido). Las membranas mucosas (por ejemplo, del esófago, cavidad faríngea oral, órganos reproductivos y otros) son principalmente no queratinizadas y húmedas. La epidermis tiene tres tipos principales de células, a saber, queratinocitos (células cutáneas), melanocitos (células productoras de pigmento) y células de Langerhans (células inmunitarias). La célula
- 30 de Merkel es una cuarta célula epidérmica, menos frecuente.
- Los queratinocitos maduran y se diferencian con la acumulación de queratina a medida que se mueven hacia afuera. Con el tiempo se caen o se desprenden por rozamiento. Forman cuatro o cinco estratos distintos, que de lo más superficial a lo más profundo son (i) el estrato córneo (capa córnea) con células duras, secas y muertas sin núcleos,
- 35 (ii) el estrato granuloso (capa granular) con células que contienen gránulos basófilos y separadas hacia fuera del estrato córneo por el estrato lúcido delgado, (iii) el estrato espinoso (capa espinosa o de células espinosas) en el que las células se aplanan cada vez más a medida que se mueven hacia arriba y (iv) el estrato basal (capa basal) con células regenerativas columnares (altas).
- 40 Inmediatamente debajo de la epidermis está la membrana basal, una estructura especializada que se encuentra entre la epidermis y la dermis.
- La dermis es el tejido conectivo fibroso o capa de soporte de la piel. Las fibras principales son fibras de colágeno y elastina que están entrelazadas.
- 45 El subcutis es la capa de grasa inmediatamente debajo de la dermis y la epidermis. También se llama tejido subcutáneo, hipodermis o panículo. El subcutis se compone principalmente de células grasas (adipocitos), nervios y vasos sanguíneos.
- 50 Se crean nuevas células epiteliales de la piel en la capa inferior de la piel, el estrato granuloso. Con el tiempo, las células migran a la superficie de la piel y se vuelven más ácidas. Durante su viaje de 30 días, mueren y se saturan de queratina. La queratina y los lípidos asociados son importantes porque protegen la piel de los elementos externos.
- 55 La enfermedad, la lesión, los factores ambientales, la edad, los niveles hormonales, la medicación, los materiales aplicados externamente o ingeridos, las condiciones genéticas o una diversidad de factores adicionales pueden conducir a un funcionamiento anómalo de la piel que da como resultado irregularidades o anomalías. Algunas de estas irregularidades o anomalías pueden ser de naturaleza puramente cosmética, por ejemplo, piel seca, arrugas o pigmentación alterada, o pueden ser más graves y provocar dolor o molestias, por ejemplo, eccema y psoriasis.
- 60 La piel seca es una de las afecciones o anomalías más comunes de la piel. Aunque determinados individuos son más susceptibles a la piel seca, la afección puede aquejar a cualquiera, independientemente de su edad, sexo o tipo de piel.
- 65 La piel seca se produce cuando se agota el agua de la capa externa de la piel (el estrato córneo con el estrato lúcido). Cuando esta capa está bien hidratada, minimiza la pérdida de agua a través de la piel y ayuda a impedir la entrada a irritantes, alérgenos y gérmenes. Sin embargo, cuando el estrato córneo se seca, se reduce su función protectora.

Esto permite mayor pérdida de agua, dejando la piel vulnerable a factores ambientales.

En condiciones normales, el estrato córneo tiene un contenido de agua del 10 % al 30 %. Esta agua otorga a la piel su textura blanda, suave y flexible. El agua proviene de la atmósfera, las capas subyacentes de la piel y el sudor. El aceite producido por las glándulas cutáneas y las sustancias grasas producidas por las células cutáneas actúan como hidratantes naturales, lo que permite que el estrato córneo selle agua en su interior.

El cuerpo pierde agua continuamente a través de la superficie de la piel por evaporación. En condiciones normales, la velocidad de pérdida es lenta y el agua se reemplaza adecuadamente. Aparecen señales y síntomas característicos de la piel seca cuando la pérdida de agua excede el reemplazo de agua y el contenido de agua del estrato córneo cae por debajo del 10 %.

Son muy deseables hidratantes que mejoren o erradiquen la piel seca. Aunque se conocen en la técnica muchos hidratantes, sigue existiendo la necesidad de productos naturales que sean eficaces pero suaves.

Otra anomalía o afección cutánea habitual son cantidades excesivas de la capa córnea de la piel. Esto puede resultar de la incapacidad de la capa córnea para desprenderse o por deposición excesiva de queratina en la capa córnea. La primera puede producirse cuando el proceso natural de erosión cutánea se hace irregular, lo que da a la piel un carácter seco y rugoso. Los trastornos hiperproliferativos benignos incluyen hiperqueratosis epidermolítica (o piel agrietada) y queratosis de los folículos pilosos. Una afección hiperproliferativa benigna habitual es la hipertrofia periférica alrededor de cicatrices y/o formación de queloides. Otras afecciones hiperproliferativas son helomas, callos, verrugas hiperqueratósicas (particularmente verruga vulgar), ictiosis y queratosis palmoplantares.

Los tratamientos actuales implican exfoliación o cirugía en casos extremos. La hiperqueratosis se trata habitualmente ablandando la capa córnea y retirando la piel engrosada.

También puede usarse exfoliación para retirar células epidérmicas alteradas, por ejemplo, células epidérmicas de una epidermis que muestra un trastorno de pigmentación, por ejemplo, manchas cutáneas.

La exfoliación retira los estratos externos de la epidermis para revelar las células cutáneas más nuevas que se encuentran debajo. Puede realizarse exfoliación mediante medios físicos (es decir abrasión de la piel) o mediante medios químicos. Los exfoliantes químicos incluyen exfoliantes que contienen ácido salicílico, ácido glicólico, enzimas frutales, ácido cítrico o ácido málico y pueden ser aplicados en altas concentraciones por un dermatólogo o en menores concentraciones en productos sin receta. La exfoliación química puede implicar el uso de productos que contienen alfa hidroxilácidos (AHA) o beta hidroxilácidos (BHA) o enzimas que actúan para aflojar las sustancias pegajosas que mantienen las células unidas en uniones celulares, permitiendo que se separen. Este tipo de exfoliación está recomendada para personas que se tratan de acné.

La mayor desventaja para la exfoliación es el alto precio de algunos de los productos y métodos usados para realizarla. La exfoliación conducirá a cierta rojez inicial en la piel. Hacia el final de las quimioexfoliaciones, la piel cambiará de color, variando los colores de blanco brillante a gris en la superficie cutánea. Son por lo tanto deseables métodos más eficaces que sean más suaves para la piel. Se desvelan composiciones que contienen péptidos y su uso en el tratamiento de afecciones cutáneas en el documento WO 2005/046709. El documento US 2009/0117093 desvela un fragmento de granulina biológicamente activo para usar en la exfoliación de la piel. El documento WO 02/066624 desvela una proteasa humana que tiene diversas aplicaciones terapéuticas.

Por tanto sigue existiendo la necesidad de tratamientos adecuados para hidratar la piel y/o para exfoliación de la capa córnea de la piel.

Sorprendentemente, se ha descubierto ahora que determinadas moléculas que se encuentran en el líquido de eclosión de peces son hidratantes y exfoliantes notablemente eficaces, a saber, coriolisina y un grupo recientemente identificado de proteínas muy ácidas (VAP).

Se logra la eclosión de embriones de peces, al menos en parte, por las llamadas enzimas de eclosión, coriolisinas. La coriolisina es una metaloproteinasas que se encuentra en el líquido de eclosión de peces y generalmente se encuentra en dos formas, a saber, la enzima coriolítica alta (coriolisina H, HCE) y la enzima coriolítica baja (coriolisina L, LCE), que son similares en algunas características estructurales y catalíticas y pertenecen a la familia de la astacina pero con preferencias de sustrato notablemente diferentes.

En el salmón, el LCE es relativamente infrecuente en comparación con coriolisinas conocidas de otras especies de peces y puede aplicarse para los fines que se describen a continuación en el presente documento. La secuencia de LCE de salmón se expone en la SEQ ID NO. 1, a continuación, y se divulga en la base de datos EMBL como número de referencia FJ824909.

Como se ha mencionado anteriormente, se ha identificado ahora un grupo de proteínas muy ácidas (VAP) en el líquido de eclosión de peces por precipitación de otros componentes en acetona al 80 % y eliminación de la acetona por

evaporación del sedimento centrifugado como se describe en los Ejemplos.

Estas VAP se generan mediante la escisión proteolítica de la cáscara de huevo o corion polimerizado y reticulado mediante enzimas de eclosión durante la eclosión y son fragmentos de componentes incorporados al corion durante la ovogénesis, tales como coriogenina H y L como se describe con más detalle a continuación en el presente documento. Se han desvelado proteínas de cáscara de huevo de salmón en Oppen-Berntsen *et al.* (Marine Biotechnology, 1999, vol. 1 pág. 252-260). Estos fragmentos de proteínas coriogénicas, que aquí se denominan VAP, se liberan en el líquido perivitelino durante la eclosión para convertirse en componentes del líquido de eclosión. Las VAP aparecen en diversas formas. Cuando se analizan por isoelectroenfoque (véase los Ejemplos), VAP I, II y III (como se analiza a continuación) aparecen en al menos 2, 6 y 3 isoformas, respectivamente.

Se divulgan en el presente documento tres VAP que se han identificado y que tienen propiedades sorprendentes como se describe a continuación en el presente documento. Las secuencias de estas VAP se han determinado mediante espectroscopia de masas como se describe en los Ejemplos y se presentan en las SEQ ID NO. 2-4.

VAP I, II y III como se denominan en el presente documento tienen las secuencias expuestas en las SEQ ID NO. 2, 3 y 4, respectivamente.

La VAP I tiene un tamaño de 117 aminoácidos y tiene un peso molecular de aproximadamente 15,5 kDa y pl de aproximadamente 3,5. Esta VAP es un fragmento de una proteína de cáscara de huevo de 439 aminoácidos, de 57 kDa (también conocida como proteína de zona pelúcida, SEQ ID NO. 5). VAP I puede proceder como alternativa de una proteína de zona pelúcida homóloga que comprende 467 residuos de aminoácidos (SEQ ID NO: 8).

La VAP II tiene un tamaño de 261 aminoácidos y tiene un peso molecular de aproximadamente 35 kDa y pl de aproximadamente 4,0. Esta VAP es un fragmento de una proteína de 524 aminoácidos, coriogenina H beta de 68 kDa (SEQ ID NO. 6).

La VAP III tiene un tamaño de 224 aminoácidos y tiene un peso molecular de aproximadamente 29 kDa y pl de aproximadamente 5,2. Esta VAP es un fragmento de una proteína de 438 aminoácidos, coriogenina L de 57 kDa (SEQ ID NO. 7).

Como se muestra en los Ejemplos y se ha analizado anteriormente, cada VAP puede existir en diversas isoformas.

Por tanto, se desvela un polipéptido en el presente documento que consiste en:

- (i) una secuencia de aminoácidos como se expone en una cualquiera de las SEQ ID NO. 2-4 o una secuencia que es al menos 50 % idéntica a dicha secuencia, o una parte de cualquiera de dichas secuencias; y opcionalmente
- (ii) una secuencia de aminoácidos flanqueante en el extremo N y/o C de la secuencia de aminoácidos en (i) que tiene de 1 a 100 aminoácidos de longitud.

Los "polipéptidos" como se denominan en el presente documento son moléculas preferentemente con más de 100, 150, 200 o 250 restos y/o menos de 400, 300 o 200 restos o un intervalo seleccionado de los mismos. Como se indica en el presente documento, una "parte" comprende preferentemente al menos 100, 150, 200 o más aminoácidos de la secuencia de la que procede. Dicha parte puede obtenerse de una parte central o N terminal o C terminal de la secuencia. En un aspecto preferido, dicha parte consiste en la secuencia de longitud completa de la que procede de la que se han eliminado al menos 1, 2, 3, 4 o 5 restos de aminoácidos, preferentemente del extremo N.

Como se indica en el presente documento, una "secuencia flanqueante" es una secuencia de aminoácidos que está unida en el extremo N o C terminal de la secuencia de aminoácidos central mediante enlaces peptídicos normales para formar una secuencia de aminoácidos continua (excepto como se modifica en equivalentes funcionales como se analiza a continuación en el presente documento). Una secuencia flanqueante puede estar presente en el extremo terminal N o C de la secuencia central de aminoácidos o puede estar presente en ambos extremos. La secuencia flanqueante puede ser tan corta como 1 aminoácido o tan larga como 100 aminoácidos, preferentemente de 1-50 (o de 5-100 o 10-50), por ejemplo, 1-25, por ejemplo, 1-5 aminoácidos de longitud. Cuando están presentes secuencias flanqueantes en los extremos terminales tanto N como C, estas pueden ser de la misma secuencia o de secuencias diferentes y pueden ser de la misma o diferente longitud. Las secuencias flanqueantes pueden proceder de la secuencia nativa de la que la VAP en cuestión es un fragmento o pueden tener menos de 80, 70, 60 o 50 % de identidad con la secuencia nativa en la parte comparable (véase, por ejemplo, secuencias nativas en relación con las SEQ ID NO. 2-4 provistas en las SEQ ID NO. 5-7, respectivamente y la SEQ ID NO: 8, que proporciona una secuencia nativa alternativa para la SEQ ID NO. 2).

La secuencia en la parte (i) anterior puede ser al menos 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 o 99 % idéntica a la secuencia (SEQ ID NO 2-8) con la que se compara.

La identidad de secuencia puede determinarse mediante, por ejemplo, el uso del banco de datos de secuencias de proteínas SWISS-PROT usando FASTA pep-cmp con un factor de pam variable y penalización de creación de hueco

ajustada a 12,0 y penalización de extensión de hueco ajustada a 4,0 y una ventana de 2 aminoácidos. Preferentemente, dicha comparación se realiza sobre la longitud completa de la secuencia, pero puede realizarse sobre una ventana de comparación más pequeña, por ejemplo, menos de 200, 100 o 50 aminoácidos contiguos.

5 Preferentemente, dichos polipéptidos relacionados con la identidad de secuencia son funcionalmente equivalentes a los polipéptidos que se exponen en las SEQ ID NO. enumeradas. Dichos polipéptidos funcionalmente equivalentes pueden tomar la forma de derivados como se expone a continuación. De forma similar, los polipéptidos con secuencias como se exponen en las SEQ ID NO. pueden modificarse sin afectar a la secuencia del polipéptido como se describe a continuación.

10 Asimismo, las "partes" como se describen en el presente documento pueden ser funcionalmente equivalentes. Preferentemente, estas partes satisfacen las condiciones de identidad (en relación con una región comparable) mencionadas en el presente documento. Los polipéptidos desvelados en el presente documento, incluyendo partes y polipéptidos que incluyen las secuencias flanqueantes descritas anteriormente, pueden ser ácidos, por ejemplo, tener un pl de 3 a 5,5, preferentemente de 3,5 a 5,2.

15 Como se indica en el presente documento, para conseguir "equivalencia funcional" el polipéptido puede mostrar algo de eficacia reducida en la realización de la función médica o cosmética en relación con la molécula parental (es decir la molécula de la que procedió, por ejemplo, por sustitución de aminoácidos), pero preferentemente es tan eficaz o más. Por tanto, la equivalencia funcional se refiere a un polipéptido que es eficaz para tratar una afección o trastorno o para mejorar cosméticamente el estado y/o la apariencia de la piel como se indica en el presente documento, es decir, para reducir uno o más síntomas del paciente, por ejemplo, la apariencia, textura, grosor o contenido de humedad de la piel como se describe más adelante en el presente documento. Esto puede ensayarse por comparación de los efectos del polipéptido derivado en relación con el polipéptido del que procede de una manera cualitativa o cuantitativa, por ejemplo, realizando los análisis indicados en los Ejemplos. Cuando son posibles resultados cuantitativos, el derivado tiene al menos 30, 50, 70 o 90 % de eficacia del polipéptido parental.

20 Pueden obtenerse proteínas funcionalmente equivalentes que están relacionadas con o proceden de la proteína de origen natural modificando la secuencia de aminoácidos nativa mediante sustituciones, adiciones y/o supresiones de aminoácidos sencillas o múltiples (por ejemplo, 2-20, preferentemente 2-10) (siempre que satisfagan los requisitos de identidad de secuencia mencionados anteriormente), pero sin destruir la función de la molécula. Dichas proteínas están codificadas por "moléculas de ácido nucleico funcionalmente equivalentes" que se generan por sustitución, adición y/o supresión apropiada de una o más bases.

25 Los equivalentes funcionales pueden ser variantes de "adición" en las que se generan proteínas o polipéptidos de fusión amino y/o carboxilo terminales, que comprenden una proteína o polipéptido adicional fusionado con el polipéptido parental. Como se ha descrito anteriormente, cualquier secuencia que, cuando se añade al polipéptido central, forma una secuencia de aminoácidos contigua está limitada a las secuencias flanqueantes como se ha descrito anteriormente.

30 Otros equivalentes funcionales pueden ser variantes de "supresión" o "truncamiento" en las que se generan proteínas o polipéptidos en los que se han eliminado restos amino y/o carboxilo terminales del polipéptido central. Por ejemplo, pueden eliminarse restos del extremo amino, en donde se eliminan al menos 1, 2, 3, 4 o 5 restos de aminoácidos. Dichos equivalentes funcionales son partes como las descritas anteriormente en el presente documento.

35 Las variantes funcionalmente equivalentes pueden ser variaciones biológicas naturales (por ejemplo, variantes alélicas o variaciones geográficas dentro de una especie o como alternativa en diferentes géneros, por ejemplo, plantas, animales o bacterias, particularmente peces, particularmente de la familia *Salmonidae*, especialmente las subfamilias *Salmo* y *Oncorhynchus*) y derivados preparados utilizando técnicas conocidas. Por ejemplo, pueden producirse moléculas de ácido nucleico que codifican proteínas funcionalmente equivalentes mediante síntesis química o en forma recombinante utilizando las técnicas conocidas de mutagénesis dirigida, incluyendo supresión, mutagénesis aleatoria o escisión enzimática y/o ligamiento de ácidos nucleicos.

40 También se desvela en el presente documento una molécula de ácido nucleico que consta de una secuencia de nucleótidos que codifica solo un polipéptido como se ha descrito anteriormente o una secuencia complementaria de la misma.

Por ejemplo, en el presente documento se desvela una molécula de ácido nucleico que consiste en:

- 60 (i) una secuencia de nucleótidos como se expone en una cualquiera de las SEQ ID NO. 10-12, una secuencia que es al menos 50 % idéntica a dicha secuencia o una secuencia que hibrida con dicha secuencia en condiciones de unión no rigurosas de SSC 6 x/formamida al 50 % a temperatura ambiente y lavado en condiciones de alta rigurosidad, por ejemplo, SSC 2 x, 65 °C, donde SSC = NaCl 0,15 M, citrato de sodio 0,015 M, pH 7,2, o una secuencia complementaria de cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente, o una parte de las mismas; y opcionalmente
- 65 (ii) una secuencia de nucleótidos flanqueante en el extremo 5' o 3' de la secuencia de nucleótidos en (i) que tiene

una longitud de 1 a 300 nucleótidos,

o una secuencia complementaria de la misma.

- 5 Las "moléculas de ácido nucleico" como se denominan en el presente documento son moléculas preferentemente con más de 300, 450, 600 o 750 bases y/o menos de 1200, 900 o 600 bases o un intervalo seleccionado de los mismos. Las "partes" como se ha indicado anteriormente, preferentemente comprenden al menos 300, 450 o 600 bases de nucleótidos de la secuencia de la que proceden. Preferentemente, dichas partes codifican péptidos N-terminales, centrales o C-terminales como se ha descrito anteriormente en el presente documento. En un aspecto preferido, dicha parte consta de la secuencia de longitud completa de la que procede de la que se han eliminado al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 bases, preferentemente del extremo 5'.

15 Como se indica en el presente documento, una "secuencia flanqueante" es una secuencia de nucleótidos que está unida en el extremo 5' o 3' terminal de la secuencia de nucleótidos central mediante enlaces fosfodiéster normales para formar una secuencia de nucleótidos continua (excepto como se modifica en equivalentes funcionales como se analiza a continuación en el presente documento). Una secuencia flanqueante puede estar presente en el extremo 5' o 3' terminal de la secuencia de nucleótidos central o puede estar presente en ambos extremos. La secuencia flanqueante puede ser tan corta como 1 nucleótido o tan larga como 300 nucleótidos, preferentemente de 1-150 (o de 15-300 o 30-150), por ejemplo, 1-75, por ejemplo, 1-15 nucleótidos de longitud. Cuando están presentes secuencias flanqueantes en los extremos terminales tanto 5' como 3', estas pueden ser de la misma secuencia o de secuencias diferentes y pueden ser de la misma o diferente longitud. Las secuencias flanqueantes pueden proceder de la secuencia nativa de la que la secuencia codificante de VAP en cuestión es un fragmento o pueden tener menos de 80, 70, 60 o 50 % de identidad con la secuencia codificante nativa en la parte comparable (véase, por ejemplo, secuencias nativas en relación con las SEQ ID NO. 10-12 provistas en las SEQ ID NO 13-15, respectivamente y la SEQ ID NO: 16, que proporciona una secuencia nativa alternativa para la SEQ ID NO. 10).

25 La secuencia en la parte (i) anterior puede ser al menos 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 o 99 % idéntica a la secuencia (SEQ ID NO 10-16) con la que se compara.

- 30 La identidad de secuencia puede determinarse mediante, por ejemplo, búsqueda de FASTA usando paquetes GCG, con valores por defecto y un factor de pam variable, y penalización de creación de huecos establecida en 12,0 y penalización de extensión de huecos establecida en 4,0 con una ventana de 6 nucleótidos.

35 Preferentemente, dichas moléculas de ácido nucleico relacionadas con la identidad de secuencia o hibridantes son funcionalmente equivalentes a las moléculas de ácido nucleico que se exponen en las SEQ ID NO. enumeradas. Dichas moléculas de ácido nucleico funcionalmente equivalentes pueden tomar la forma de derivados como se expone posteriormente y se consideran funcionalmente equivalentes si codifican polipéptidos que se considerarían equivalentes funcionales según los ensayos descritos anteriormente en el presente documento. Son equivalentes funcionales preferidos los que codifican los polipéptidos preferidos como se ha expuesto anteriormente, por ejemplo, moléculas de ácido nucleico que codifican polipéptidos hallados en géneros o especies diferentes a las moléculas específicas mencionadas en el presente documento.

45 Asimismo, las "partes" como se describen en el presente documento pueden ser funcionalmente equivalentes. Preferentemente, estas partes satisfacen las condiciones de identidad (en relación con una región comparable) o hibridación mencionadas en el presente documento. Las moléculas de ácido nucleico desveladas en el presente documento, incluyendo partes y secuencias de nucleótidos que incluyen las secuencias flanqueantes descritas anteriormente, pueden codificar polipéptidos ácidos como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

50 Las moléculas de ácido nucleico desveladas en el presente documento pueden ser ADN monocatenario o bicatenario, ADNc o ARN, preferentemente ADN e incluyen secuencias degradadas, sustancialmente idénticas e hibridantes como se ha descrito anteriormente. Sin embargo, idealmente las moléculas son ADN o ADNc.

55 Los polipéptidos desvelados en el presente documento incluyen los que se modifican sin afectar a la secuencia del polipéptido, por ejemplo, por modificación química, incluyendo por desglucosilación o glucosilación. Dichos polipéptidos pueden prepararse mediante modificación posterior a la síntesis/aislamiento del polipéptido sin afectar a la funcionalidad, por ejemplo, determinada glucosilación, metilación, etc. de restos particulares.

60 Los polipéptidos desvelados en el presente documento también pueden tomar la forma de peptidomiméticos que pueden considerarse derivados en los que se conservan las características funcionales del polipéptido pero se presentan en el contexto de una estructura diferente, por ejemplo, no peptídica. Dichos peptidomiméticos se han desarrollado y utilizado con éxito para otras aplicaciones médicas particulares.

65 Los peptidomiméticos, particularmente moléculas no peptídicas pueden generarse mediante diversos procesos, incluyendo diseño de fármacos basado en la conformación, exploración, diseño de bibliotecas centrado y química medicinal clásica. No solo se pueden utilizar oligómeros de aminoácidos no naturales u otros componentes básicos orgánicos, sino que también se pueden utilizar carbohidratos, compuestos heterocíclicos o macrocíclicos o cualquier

molécula orgánica que comprenda elementos estructurales y conformación que proporcione una superficie electrostática molecular que imite las mismas propiedades de la conformación tridimensional del péptido mediante métodos conocidos en la técnica.

- 5 Por tanto, los peptidomiméticos pueden tener poco o ningún parecido con una cadena principal peptídica. Los peptidomiméticos pueden comprender una forma no peptídica completamente sintética (por ejemplo, basada en una cadena principal de carbohidratos con sustituyentes apropiados) o pueden conservar uno o más elementos del péptido en el que se basa, por ejemplo, derivatizando uno o más aminoácidos o reemplazando uno o más aminoácidos con componentes alternativos no peptídicos. Los moldes de tipo peptídico incluyen pseudopéptidos y péptidos cíclicos.
- 10 Los elementos estructurales considerados redundantes para la función del péptido pueden minimizarse para conservar una función de almacén solamente o eliminarse cuando sea apropiado.

15 Cuando los peptidomiméticos conservan uno o más elementos peptídicos, es decir, más de un aminoácido, dichos aminoácidos pueden reemplazarse con un análogo no convencional o estructural del mismo. Los aminoácidos conservados en las secuencias también pueden derivatizarse o modificarse (por ejemplo, marcarse, glucosilarse o metilarse) siempre que se conserven las propiedades funcionales de los polipéptidos desvelados en el presente documento. Se indica que los peptidomiméticos "pueden obtenerse de" una determinada secuencia polipeptídica. Con esto se quiere decir que el peptidomimético está diseñado en referencia a una secuencia polipeptídica definida, de modo que conserva las características estructurales del péptido que son esenciales para su función. Estas pueden ser las cadenas laterales particulares del polipéptido o el potencial de enlace de hidrógeno de la estructura. Dichas características pueden ser proporcionadas por componentes no peptídicos o uno o más de los restos de aminoácidos o los enlaces que unen dichos restos de aminoácidos del polipéptido pueden modificarse para mejorar determinadas funciones del polipéptido tales como estabilidad o resistencia a la proteasa, conservando al mismo tiempo las características estructurales del polipéptido que son esenciales para su función.

25 Son ejemplos de aminoácidos análogos no convencionales o estructurales que pueden usarse aminoácidos D, isómeros de amida (tales como N-metil amida, amida retro-inversa, tioamida, tioéster, fosfonato, cetometileno, hidroximetileno, fluorovinilo, (E)-vinilo, metilnamino, metilendio o alcanos), L-N metilaminoácidos, D- α metilaminoácidos, D-N-metilaminoácidos. Se enumeran ejemplos de aminoácidos no convencionales en la Tabla 1.

30

TABLA 1

| Aminoácido no convencional | Código | Aminoácido no convencional | Código |
|--|--------|----------------------------|--------|
| ácido α -aminobutírico | Abu | L-N-metilalanina | Nmala |
| α -amino- α -metilbutirato | Mgab | L-N-metilarginina | Nmarg |
| aminociclopropano-carboxilato | Cpro | L-N-metilasparagina | Nmasn |
| | | ácido L-N-metilaspártico | Nmasp |
| ácido aminoisobutírico | Aib | L-N-metilcisteína | Nmcys |
| aminonorbornil-carboxilato | Norb | L-N-metilglutamina | Nmgln |
| | | ácido L-N-metilglutámico | Nmglu |
| ciclohexilalanina | | Chexa L-N-metilhistidina | Nmhis |
| ciclopentilalanina | Cpen | L-N-metilisoleucina | Nmile |
| D-alanina | Dal | L-N-metilleucina | Nmleu |
| D-arginina | Darg | L-N-metillisina | Nmlys |
| ácido D-aspártico | Dasp | L-N-metilmetionina | Nmmet |
| D-cisteína | Dcys | L-N-metilorleucina | Nmnle |
| D-glutamina | Dgln | L-N-metilorvalina | Nmnva |
| ácido D-glutámico | Dglu | L-N-metilornitina | Nmom |
| D-histidina | Dhis | L-N-metilfenilalanina | Nmphe |
| D-isoleucina | Dile | L-N-metilprolina | Nmpro |
| D-leucina | Dleu | L-N-metilserina | Nmser |
| D-lisina | Dlys | L-N-metiltreonina | Nmthr |
| D-metionina | Dmet | L-N-metilriptófano | Nmtrp |
| D-ornitina | Dorn | L-N-metil tirosina | Nmtyr |
| D-fenilalanina | Dphe | L-N-metilvalina | Nmval |
| D-prolina | Dpro | L-N-metiletilglicina | Nmetg |
| D-serina | Dser | L-N-metil-t-butilglicina | Nmtbug |
| D-treonina | Dthr | L-norleucina | Nle |
| D-triptófano | Dtrp | L-norvalina | Nva |

(continuación)

| Aminoácido no convencional | Código | Aminoácido no convencional | Código |
|--------------------------------|---------|---|--------|
| D-tirosina | Dtyr | α -metil-aminoisobutirato | Maib |
| D-valina | Dval | α -metil- γ -aminobutirato | Mgabü. |
| D- α -metilalanina | Dmala | α -metilciclohexilalanina | Mchexa |
| D- α -metilarginina | Dmarg | α -metilciclopentilalanina | Mcpen |
| D- α -metilasparagina | Dmasn | α -metil- α -naftilalanina | Manap |
| D- α -metilaspartato | Dmasp | α -metilpenicilamina | Mpen |
| D- α -metilcisteína | Dmcys | N-(4-aminobutil)glicina | Nglu |
| D- α -metilglutamina | Dmgln | N-(2-aminoetil)glicina | Naeg |
| D- α -metilhistidina | Dmhis | N-(3-aminopropil)glicina | Norn |
| D- α -metilisoleucina | Dmile | N-amino- α -metilbutirato | Nmaabu |
| D- α -metilleucina | Dmleu | α -naftilalanina | Anap |
| D- α -metillisina | Dmlys | N-bencilglicina | Nphe |
| D- α -metilmetionina | Dmmet | N-(2-carbamiletil)glicina | Nglñ |
| D- α -metilornitina | Dmorn | N-(carbamilmetil)glicina | Nasn |
| D- α -metilfenilalanina | Dmphe | N-(2-carboxietil)glicina | Nglu |
| D- α -metilprolina | Dmpro | N-(carboximetil)glicina | Nasp |
| D- α -metilserina | Dmser | N-ciclobutilglicina | Ncbut |
| D- α -metiltreonina | Dmthr | N-cicloheptilglicina | Nchep |
| D- α -metilriptófano | Dmtrp | N-ciclohexilglicina | Nchex |
| D- α -metiltirosina | Dmty | N-ciclododeciliglicina | Ncdec |
| D- α -metilvalina | Dmval | N-ciclododeciliglicina | Ncdod |
| D-N-metilalanina | Dnmala | N-ciclooctilglicina | Ncoct |
| D-N-metilarginina | Dnmarg | N-ciclopropilglicina | Ncpro |
| D-N-metilasparagina | Dnmasn | N-cicoundeciliglicina | Ncund |
| D-N-metilaspartato | Dnmasp | N-(2,2-difeniletil)glicina | Nbhm |
| D-N-metilcisteína | Dnmcys | N-(3,3-difenilpropil)glicina | Nbhe |
| D-N-metilglutamina | Dnmglñ | N-(3-guanidinopropil)glicina | Narg |
| D-N-metilglutamato | Dnmglu | N-(1-hidroxietil)glicina | Nthr |
| D-N-metilhistidina | Dnmhis | N-(hidroxietil)glicina | Nser |
| D-N-metilisoleucina | Dnmile | N-(imidazoliletal)glicina | Nhis |
| D-N-metilleucina | Dnmleu | N-(3-indoliletal)glicina | Nhtrp |
| D-N-metillisina | Dnmlys | N-metil- γ -aminobutirato | Nmgabu |
| N-metilciclohexilalanina | Nmchexa | D-N-metilmetionina | Dnmmet |
| D-N-metilornitina | Dnmorn | N-metilciclopentilalanina | Nmcpen |
| N-metilglicina | Nala | D-N-metilfenilalanina | Dnmphe |
| N-metilaminoisobutirato | Nmaib | D-N-metilprolina | Dnmpro |
| N-(1-metilpropil)glicina | Nile | D-N-metilserina | Dnmser |
| N-(2-metilpropil)glicina | Nleu | D-N-metiltreonina | Dnmthr |
| D-N-metilriptófano | Dnmtrp | N-(1-metiletal)glicina | Nval |
| D-N-metiltirosina | Dnmtyr | N-metila-naftilalanina | Nmanap |
| D-N-metilvalina | Dnmval | N-metilpenicilamina | Nmpen |
| ácido γ -aminobutírico | Gabu | N-(p-hidroxifenil)glicina | Nhtyr |
| L- β -butilglicina | Tbug | N-(tiometil)glicina | Ncys |
| L-etilglicina | Etg | penicilamina | Pen |
| L-homofenilalanina | Hphe | L- α -metilalanina | Mala |
| L- α -metilarginina | Marg | L- α -metilasparagina | Masn |
| L- α -metilaspartato | Masp | L- α -metil- β -butilglicina | Mtbug |
| L- α -metilcisteína | Mcys | L-metiletaliglicina | Metg |
| L- α -metilglutamato | Mglñ | L- α -metilglutamato | Mglu |

(continuación)

| Aminoácido no convencional | Código | Aminoácido no convencional | Código |
|---|--------|---|--------|
| L- α -metilhistidina | Mhis | L- α -metilhomofenilalanina | Mhphe |
| L- α -metilisoleucina | Mile | N-(2-metiltioetil)glicina | Nmet |
| L- α -metilleucina | Mleu | L- α -metillisina | Mlys |
| L- α -metilmetionina | Mmet | L- α -metilnorleucina | Mnle |
| L- α -metilnorvalina | Mnva | L- α -metilornitina | Morn |
| L- α -metilfenilalanina | Mphe | L- α -metilprolina | Mpro |
| L- α -metilserina | Mser | L- α -metiltreonina | Mthr |
| L- α -metiltriptófano | Mtrp | L- α -metiltirosina | Mtyr |
| L- α -metilvalina | Mval | L-N-metilhomofenilalanina | Nmhphe |
| N-(N-(2,2-difeniletil)carbamilmetil)glicina | Nnbhm | N-(N-(3,3-difenilpropil)carbamilmetil)glicina | Nnbhe |
| 1-carboxi-1-(2,2-difenil-etilamino)ciclopropano | Nmbc | L-O-metil serina | Omser |
| | | L-O-metil homoserina | Omhser |

Los aminoácidos no convencionales que pueden usarse incluyen análogos restringidos conformacionalmente, por ejemplo, tales como Tic (para reemplazar F), Aib (para reemplazar A) o ácido pipecólico (para reemplazar Pro).

- 5 Los polipéptidos y las moléculas de ácido nucleico analizadas anteriormente también incluyen derivados que se han modificado, por ejemplo, para facilitar su uso en aplicaciones farmacéuticas (analizadas posteriormente), por ejemplo, mediante la adición de grupos de dirección o funcionales, por ejemplo, para mejorar la lipofilia, ayudar al transporte celular, la solubilidad y/o la estabilidad. Por tanto, pueden conjugarse oligosacáridos, ácidos grasos, alcoholes grasos, aminoácidos, péptidos o polipéptidos con los polipéptidos o moléculas de ácido nucleico mencionados anteriormente.
- 10 Las moléculas de ácido nucleico pueden estar presentes en un vehículo vírico como se describe posteriormente en el presente documento.

Los derivados polipeptídicos pueden estar en forma de "profármacos" o "propéptidos" de modo que el componente añadido se pueda eliminar mediante escisión una vez administrado, por ejemplo, mediante escisión de un sustituyente añadido mediante esterificación que puede eliminarse por la acción de esterasas. Dichos profármacos incluyen precursores nativos de las proteínas de origen natural que se escinden, por ejemplo, por proteólisis para producir el polipéptido de interés. Dichos precursores pueden estar inactivos en la forma precursora, pero pueden activarse mediante escisión proteolítica. Sin embargo, cualquier secuencia que, cuando se añade al polipéptido central, forma una secuencia de aminoácidos contigua está limitada a las secuencias flanqueantes como se ha descrito anteriormente. Como alternativa, pueden tener secuencias flanqueantes más largas, siempre que no se extiendan a moléculas que son la secuencia nativa de la que procede el fragmento de VAP (por ejemplo, las SEQ ID NO. 5-8 en relación con las secuencias de aminoácidos y las SEQ ID NO. 13-16 para las secuencias de nucleótidos) o una secuencia con al menos 50, 60, 70, 80 o 90 % de identidad de secuencia con esa secuencia en la parte comparable.

25 Las moléculas de ácido nucleico desveladas en el presente documento pueden codificar por tanto dichos profármacos o precursores. Sin embargo, cualquier secuencia que, cuando se añade al polinucleótido central, forme una secuencia de nucleótidos contigua está limitada a secuencias flanqueantes como se ha descrito anteriormente. Como alternativa, pueden ser secuencias flanqueantes más largas, siempre que no se extiendan a moléculas que son la secuencia nativa de la que procede el fragmento de VAP o una secuencia con al menos 50, 60, 70, 80 o 90 % de identidad de secuencia con esa secuencia en la parte comparable.

30

Los polipéptidos o las moléculas de ácido nucleico modificados como se ha descrito anteriormente pueden ensayarse para asegurar que conservan la actividad funcional en relación con la molécula no modificada determinando si tienen los mismos o similares efectos médicos o cosméticos.

35

Las moléculas de ácido nucleico descritas anteriormente se pueden unir operativamente con una secuencia de control de expresión o un vehículo o vector de clonación de ADN recombinante que contiene dicha molécula de ADN recombinante. Esto permite la expresión intracelular de un polipéptido desvelado en el presente documento como un producto génico, cuya expresión está dirigida por el (los) gen(es) introducido(s) en células de interés. La expresión génica se dirige desde un promotor activo en las células de interés y puede insertarse en cualquier forma de vector de ADN lineal o circular para su incorporación en el genoma o para replicación independiente o transfección/expresión transitoria. Están bien descritas en la bibliografía técnicas adecuadas de transformación o transfección. Como alternativa, la molécula de ADN desnuda puede introducirse directamente en la célula para los usos descritos en el presente documento.

40

45

Los vectores de expresión apropiados incluyen secuencias de control apropiadas tales como, por ejemplo, elementos de control de la traducción (por ejemplo, codones de inicio y parada, sitios de unión a ribosomas) y de la transcripción

(por ejemplo, regiones promotor-operador, secuencias de parada de terminación) unidas en un marco de lectura correspondiente con las moléculas de ácido nucleico necesarias para la ejecución del método como se describe más adelante en el presente documento. Los vectores apropiados pueden incluir plásmidos y virus (incluyendo virus tanto bacteriófagos como eucariotas). Los vectores víricos adecuados incluyen baculovirus y también adenovirus, virus adenoasociados, virus del herpes y vaccinia/viruela. Se describen en la técnica muchos otros vectores víricos. Los vectores preferidos incluyen vectores de expresión bacterianos y de mamíferos pGEX-KG, pEF-neo y pEF-HA. La molécula de ácido nucleico puede fusionarse convenientemente con ADN que codifica un polipéptido adicional, por ejemplo, glutatión-S-transferasa, para producir una proteína de fusión tras su expresión.

5
10 Por tanto, se desvela en el presente documento un vector, preferentemente un vector de expresión, que comprende una molécula de ácido nucleico como se ha definido anteriormente.

15 Se desvelan en el presente documento métodos para preparar moléculas de ácido nucleico recombinante, que comprenden insertar secuencias de nucleótidos descritas anteriormente que codifican los polipéptidos desvelados en el presente documento en ácido nucleico de vector.

20 En métodos como los descritos a continuación en el presente documento, los polipéptidos pueden administrarse a una célula mediante transfección de una célula con una molécula de ácido nucleico como se describe en el presente documento.

25 Puede introducirse moléculas de ácido nucleico desveladas en el presente documento, preferentemente contenidas en un vector, en una célula por cualquier medio apropiado. Están bien descritas en la bibliografía técnicas adecuadas de transformación o transfección. Se conocen una diversidad de técnicas y estas pueden usarse para introducir dichos vectores en células procariotas o eucariotas para expresión. Las células hospedadoras preferidas para este fin incluyen líneas celulares de insectos, líneas celulares eucariotas o *E. coli*, tales como la cepa BL21/DE3. Por tanto, se desvelan en el presente documento células hospedadoras procariotas o eucariotas transformadas o transfectadas que contienen una molécula de ácido nucleico, particularmente un vector como se ha definido anteriormente.

30 Se desvela en el presente documento un método para preparar un polipéptido como se ha definido anteriormente en el presente documento, que comprende cultivar una célula hospedadora que contiene una molécula de ácido nucleico como se ha definido anteriormente, en condiciones por las que dicho polipéptido se expresa y recuperar dicha molécula producida de este modo.

35 También se desvelan en el presente documento células que producen y secretan polipéptidos descritos anteriormente, pero que se han modificado en relación con las células nativas mediante la expresión de material de ácido nucleico codificante.

40 Los polipéptidos o moléculas de ácido nucleico utilizados en composiciones y usos de la invención como se describe a continuación en el presente documento pueden obtenerse o proceder de fuentes de origen natural o pueden generarse total o parcialmente de forma sintética.

45 Convenientemente, los polipéptidos y las moléculas de ácido nucleico se aíslan de acuerdo con los protocolos descritos en los Ejemplos y a continuación o como se describe en Yasumasu *et al.*, 1989, J. Biochem., 105, p212-218 en relación con coriolisina.

Por tanto, se desvela en el presente documento un método para aislar uno o más polipéptidos (VAP o secuencias relacionadas) como se describe en el presente documento a partir del líquido de eclosión (por ejemplo, de salmón) que comprende al menos las etapas de:

- 50 a) suspender huevos en un volumen mínimo de agua (por ejemplo, menos que el volumen de los huevos);
 b) inducir la eclosión rápida, sincronizada de dichos huevos (preferentemente de modo que la eclosión se complete en menos de 3 horas para más del 95 % de los embriones);
 c) filtrar los huevos en eclosión para obtener líquido de eclosión;
 d) añadir acetona a dicho líquido de eclosión a una concentración final de 80 % v/v; y
 55 e) someter dicho líquido a centrifugación a baja velocidad en donde dicho(s) polipéptido(s) está(n) presente(s) en el sedimento formado de este modo; y opcionalmente
 f) separar los polipéptidos presentes en el sedimento de la etapa e) para aislar polipéptidos individuales, por ejemplo, mediante el uso de una columna de intercambio iónico.

60 Una columna de intercambio iónico preferida es una columna DEAE-Sepharose® CL-6B, sin embargo, están fácilmente disponibles alternativas adecuadas.

65 Preferentemente, dicho líquido de eclosión es de peces, especialmente *Salmonidae*, particularmente *Salmo*, por ejemplo, *Salmo salar* (salmón del Atlántico) y *Oncorhynchus* (salmón del Pacífico).

Los polipéptidos o las moléculas de ácido nucleico desvelados en el presente documento están preferentemente

5 sustancialmente libres de cualquier componente contaminante procedente del material o materiales fuente utilizados en el procedimiento de aislamiento o en su preparación sintética. Especialmente de forma preferente el compuesto se purifica hasta un grado de pureza de más de 50 o 60 %, por ejemplo, > 70, 80 o 90 %, preferentemente más de 95 o 99 % de pureza como se ha evaluado p/p (peso seco). Dichos niveles de pureza corresponden a las moléculas específicas de interés, pero incluyen sus productos de degradación. Cuando sea adecuado, pueden usarse preparaciones que tengan menor pureza, por ejemplo, que contengan más de 1, 2, 5 o 10 % de la molécula de interés, por ejemplo, más de 20 o 30 %. Los polipéptidos desvelados en el presente documento pueden purificarse mediante, por ejemplo, cromatografía (por ejemplo, HPLC, de exclusión por tamaño, de intercambio iónico, de afinidad, de interacción hidrófoba, de fase inversa) o electroforesis capilar.

10 Los polipéptidos pueden generarse de forma sintética, por ejemplo, mediante ligamiento de péptidos generados sintéticamente más pequeños o más convenientemente mediante expresión recombinante de una molécula de ácido nucleico que codifica dicho polipéptido como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

15 Las moléculas de ácido nucleico pueden generarse de forma sintética, por ejemplo, mediante amplificación de una secuencia de ácido nucleico como se describe en el presente documento. Los polipéptidos de VAP y las moléculas de ácido nucleico descritas en el presente documento pueden usarse como se describe posteriormente en el presente documento para efectuar diversos efectos cosméticos y/o médicos.

20 Además, pueden usarse proteínas más largas (y sus secuencias codificantes) que incluyen los fragmentos descritos anteriormente, tales como las proteínas nativas de longitud completa, para los procesos descritos posteriormente en el presente documento. Por tanto, para los usos descritos posteriormente, el polipéptido que puede usarse se extiende a un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en una cualquiera de las secuencias N.º 2-8 o una secuencia que es al menos 50 % idéntica a dicha secuencia, o una parte de cualquiera de dichas secuencias.

25 Las definiciones en lo que se refiere a polipéptidos, partes, identidad de secuencia y proteínas funcionalmente equivalentes se aplican de manera similar y también son aplicables valores de identidad de secuencia preferidos como se ha expuesto anteriormente. Preferentemente, los polipéptidos son fragmentos de las proteínas nativas (opcionalmente con secuencias flanqueantes) como se ha descrito anteriormente en el presente documento. De forma similar, para los usos descritos posteriormente, las moléculas de ácido nucleico que pueden utilizarse se extienden a moléculas de ácido nucleico que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido como se ha descrito anteriormente o un polipéptido más largo como se ha descrito anteriormente o una secuencia complementaria del mismo. Los usos pueden realizarse con fragmentos de las secuencias codificantes nativas (opcionalmente con secuencias flanqueantes) como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

30 Por tanto, para los usos descritos posteriormente, la molécula de ácido nucleico que puede usarse se extiende a una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos como se expone en una cualquiera de las SEQ ID NO. 10-16 una secuencia que es al menos 50 % idéntica a dicha secuencia o una secuencia que hibrida con dicha secuencia en condiciones de unión no rigurosas de SSC 6 x/formamida al 50 % a temperatura ambiente y lavado en condiciones de alta rigurosidad, por ejemplo, SSC 2 x, 65 °C, donde SSC = NaCl 0,15 M, citrato de sodio 0,015 M, pH 7,2, o una secuencia complementaria de cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente, o una parte de cualquiera de dichas secuencias.

35 Además de las VAP descritas anteriormente, también se ha descubierto que una proteína adicional que hallada en el líquido de eclosión de peces tiene usos cosméticos y/o médicos ventajosos que son complementarios de los de las VAP, a saber, coriolisina L como se ha analizado anteriormente en el presente documento.

40 Por tanto, pueden usarse polipéptidos o moléculas de ácido nucleico como se ha desvelado en el presente documento *ex vivo* o *in vitro*, en partes o productos animales, por ejemplo, muestras cutáneas, particularmente cuando se contempla que estos se reintroducirán en el cuerpo del que proceden, por ejemplo, en forma de un injerto cutáneo.

45 Sin embargo, los polipéptidos y las moléculas de ácido nucleico como se desvelan en el presente documento se prefieren para su uso *in vivo* como se analiza en más detalle a continuación.

50 Los polipéptidos y las moléculas de ácido nucleico como se describen en el presente documento tienen aplicaciones para el tratamiento de diversas anomalías, trastornos o afecciones como se describe posteriormente en el presente documento.

55 Por tanto, se desvela una composición farmacéutica en el presente documento que comprende un polipéptido o una molécula de ácido nucleico como se ha descrito anteriormente en el presente documento y uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

60 En consecuencia, la presente invención proporciona una composición farmacéutica o cosmética que comprende:

- 65 (i) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1; o

(ii) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 50 % idéntica a una secuencia como se expone en la SEQ ID NO. 1; o

(iii) un polipéptido que comprende una parte de una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte comprende al menos 100 aminoácidos; o

(iv) un polipéptido que comprende una parte de una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte es al menos 50 % idéntica a una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1 y comprende al menos 100 aminoácidos; y/o

(v) una o más moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido como se expone en cualquiera de (i) a (iv) anteriores o una secuencia complementaria del mismo,

y uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéutica o cosméticamente aceptables, en donde la composición es un gel, crema, pomada, loción, espuma, solución no acuosa, pulverización, bálsamo, barra, jabón, polvo, película, emulsión, suspensión o dispersión.

Las referencias a una composición farmacéutica en el presente documento pueden entenderse como inclusivas de composiciones cosméticas.

Por "farmacéuticamente aceptable" o "fisiológicamente aceptable" se entiende que el ingrediente debe ser compatible con otros ingredientes en la composición, así como fisiológicamente aceptable para el receptor.

El principio activo para administración puede modificarse de forma apropiada para su uso en una composición farmacéutica. Por ejemplo, los compuestos utilizados de acuerdo con la invención pueden estabilizarse contra la degradación mediante el uso de derivados como se ha descrito anteriormente.

El principio activo también puede estabilizarse en las composiciones, por ejemplo, mediante el uso de aditivos apropiados tales como sales o no electrolitos, tampones de acetato, Tris, fosfato o acetato, manitol, glicina, HSA (seroalbúmina humana) o polisorbato.

La molécula de ácido nucleico o el polipéptido como se describe en el presente documento puede estar presente en dicha composición como el único principio activo o puede combinarse con otros ingredientes, particularmente otros principios activos, por ejemplo, para aumentar el efecto terapéutico o para hacer que la composición sea más atractiva para el consumidor. Dicho otro componente puede ser una de las VAP descritas anteriormente o un componente alternativo.

La composición que comprende uno o más polipéptidos o moléculas de ácido nucleico descritos en el presente documento también puede comprender impurezas, por ejemplo, después de la preparación de dichos uno o más polipéptidos o moléculas de ácido nucleico de fuentes naturales. En composiciones que comprenden dichos uno o más polipéptidos o moléculas de ácido nucleico como se describe en el presente documento, cada uno de dichos polipéptido(s) o molécula(s) de ácido nucleico puede estar presente en el intervalo de 0,0001 a 30 % p/p de la composición farmacéutica. Preferiblemente dicho(s) polipéptido(s) o molécula(s) de ácido nucleico está(n) presente(s) en un intervalo de 0,01-10 % o como se describe posteriormente en el presente documento.

En un aspecto adicional de la invención, las composiciones como se describen en el presente documento son para su uso en terapia.

Como se ha mencionado anteriormente, los polipéptidos y las moléculas de ácido nucleico descritos en el presente documento presentan propiedades terapéuticas en el tratamiento de anomalías, trastornos o dolencias cutáneos, hidratando y/o exfoliando la piel.

Las anomalías, afecciones o trastornos cutáneos preferidos para tratar son piel seca, piel en la que la capa córnea es más gruesa de lo deseable, por ejemplo, en afecciones de hiperqueratosis, o piel con pigmentación indeseable en la epidermis, por ejemplo, manchas cutáneas, de la edad, solares u oscuras. Los tratamientos pueden ser cosméticos, por ejemplo el tratamiento de piel normal pero seca o engrosamiento de la piel (tal como callos, helomas o verrugas hiperqueratóticas) o tratamiento de trastornos de pigmentación, tales como manchas cutáneas, o terapéuticos, por ejemplo, para tratar el acné, eccema, psoriasis o verrugas que provocan dolor.

Como se indica en el presente documento, un "trastorno" se refiere a una alteración patológica subyacente en un organismo sintomático o asintomático en relación con un organismo normal, que puede resultar, por ejemplo, de infección o una imperfección genética adquirida o congénita. Una "anomalía" o "afección" se refiere a una irregularidad o un defecto en la piel en relación con piel óptima normal pero que no es el resultado de una alteración patológica. El defecto/irregularidad puede resultar en su lugar de la edad, la lesión, los factores ambientales, los niveles hormonales, la medicación, los materiales aplicados externamente o ingeridos, condiciones genéticas o una diversidad de factores adicionales que conducen al funcionamiento anómalo de la piel que da como resultado irregularidades.

El trastorno, anomalía o afección puede ser únicamente cosmético o no cosmético que requiera tratamiento médico, o una combinación de los mismos.

Como se indica en el presente documento, se entiende que "cosmético" se refiere a un tratamiento que no cura, trata ni previene una enfermedad o trastorno, sino que en su lugar actúa como un producto de cuidado de la piel o para modificar o mejorar la apariencia de la piel, por ejemplo, el color, la textura o el contenido de humedad de la piel.

Un ingrediente "no cosmético" (o médico) usado en tratamientos médicos como se describe en el presente documento sirve para curar, mitigar, tratar o prevenir uno o más síntomas del trastorno, por ejemplo, dolor o incomodidad.

La base de los tratamientos descritos en el presente documento es los efectos hidratantes y exfoliantes de la piel de las VAP y/o coriolisina como se desvela en el presente documento. Estos efectos se han mostrado en los Ejemplos proporcionados en el presente documento.

Por tanto, se desvelan en el presente documento tratamientos basados en las propiedades hidratantes y/o exfoliantes de las VAP y/o coriolisina.

La invención proporciona por tanto un método cosmético de exfoliación y/o hidratación de la piel de un animal, en donde un polipéptido, molécula de ácido nucleico o composición farmacéutica como se ha descrito anteriormente en el presente documento se administra a dicho animal, en donde:

- (a) dicho polipéptido comprende (i) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1; o (ii) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 50 % idéntica a una secuencia como se expone en la SEQ ID NO. 1; o (iii) un polipéptido que comprende una parte de una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte comprende al menos 100 aminoácidos; o (iv) un polipéptido que comprende una parte de una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte es al menos 50 % idéntica a una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1 y comprende al menos 100 aminoácidos;
- (b) dicha molécula de ácido nucleico comprende una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido como se expone en cualquiera de (i) a (iv) anterior o una secuencia complementaria del mismo; y
- (c) dicha composición farmacéutica comprende el polipéptido de (a) y/o la molécula de ácido nucleico de (b) y uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéutica o cosméticamente aceptables.

Como se indica en el presente documento, "exfoliar" se refiere a retirar células superficiales de una superficie de epitelio que en la piel equivale a raspado o descamación de la capa córnea de la epidermis. "Hidratar" como se indica en el presente documento abarca hidratantes que evitan la pérdida de agua de la piel así como hidratantes (humectantes) que atraen y retienen agua cuando se aplica a la piel y emolientes (que mejoran la descamación defectuosa).

Dicho de manera alternativa, un polipéptido, molécula de ácido nucleico o composición farmacéutica desvelado en el presente documento puede encontrar utilidad para exfoliar y/o hidratar la piel de un animal en donde:

- (a) dicho polipéptido comprende (i) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1; o (ii) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 50 % idéntica a una secuencia como se expone en la SEQ ID NO. 1; o (iii) un polipéptido que comprende una parte de una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte comprende al menos 100 aminoácidos; o (iv) un polipéptido que comprende una parte de una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte es al menos 50 % idéntica a una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1 y comprende al menos 100 aminoácidos;
- (b) dicha molécula de ácido nucleico comprende una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido como se expone en cualquiera de (i) a (iv) anterior o una secuencia complementaria del mismo; y
- (c) dicha composición farmacéutica comprende el polipéptido de (a) y/o la molécula de ácido nucleico de (b) y uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéutica o cosméticamente aceptables.

Como se ha mencionado anteriormente, dichas propiedades exfoliantes y/o hidratantes son ventajosas para tratar o prevenir una diversidad de anomalías, trastornos o afecciones cutáneas.

En un aspecto preferido, la anomalía, afección o trastorno cutáneo para tratar o prevenir es piel seca. Este puede tratarse mediante hidratación y/o exfoliación.

La "piel seca" como se indica en el presente documento se refiere a una epidermis que carece de humedad o sebo, con frecuencia caracterizada por un patrón de líneas finas, descamación y prurito. La piel seca puede aparecer como una afección cutánea en sí misma (por ejemplo, debido a la edad, daño por calor/frío/sequedad) o puede ser el síntoma de un trastorno o afección cutáneo tal como daño por el sol, eccema, dermatitis de contacto, psoriasis o ictiosis (una afección heredada que provoca descamación notable de la piel).

En un aspecto preferido adicional, la anomalía, afección o trastorno para tratar o prevenir es el engrosamiento de las capas córneas de la piel. Este puede tratarse mediante hidratación y/o exfoliación.

Dichas capas córneas engrosadas de la piel pueden aparecer en afecciones tales como callos o helomas que son almohadillas protectoras compuestas de la capa superior engrosada de la piel debido a roce repetido del área o verrugas en la piel. Dichos métodos también pueden usarse para tratar o prevenir el acné que implica queratinización en su patología. Las capas córneas engrosadas de la piel pueden ser la afección en sí misma o pueden ser un síntoma de una afección o trastorno cutáneo.

En un aspecto preferido adicional, la anomalía, afección o trastorno para tratar o prevenir es un trastorno o anomalía de la pigmentación de la piel. Este puede tratarse mediante exfoliación.

Los trastornos o anomalías de la pigmentación de la piel pueden producirse como resultado de la edad, cambios hormonales, factores genéticos, enfermedad o el sol u otro daño. La pigmentación alterada puede resultar de un exceso local de melanocitos o aumentos de la actividad de los melanocitos, o ambos. Los trastornos de la pigmentación incluyen manchas cutáneas, solares o de la edad (léntigo solar) y otras imperfecciones tales como pecas.

Como se indica en el presente documento, "anómalo" se determina en relación con piel óptima normal, es decir, piel sana, hidratada, con pigmentación normal y no envejecida.

En una exposición alternativa adicional, la invención proporciona un polipéptido, molécula de ácido nucleico o composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de una afección o trastorno de la piel de un animal en donde dicha piel está anormalmente seca, la capa córnea de la piel está anormalmente engrosada o la piel tiene un trastorno de la pigmentación o eccema, dermatitis de contacto, psoriasis, ictiosis o acné, en donde:

- (a) dicho polipéptido comprende (i) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1; o (ii) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 50 % idéntica a una secuencia como se expone en la SEQ ID NO. 1; o (iii) un polipéptido que comprende una parte de una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte comprende al menos 100 aminoácidos; o (iv) un polipéptido que comprende una parte de una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte es al menos 50 % idéntica a una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1 y comprende al menos 100 aminoácidos;
- (b) dicha molécula de ácido nucleico comprende una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido como se expone en cualquiera de (i) a (iv) anterior o una secuencia complementaria del mismo; y
- (c) dicha composición farmacéutica comprende el polipéptido de (a) y/o la molécula de ácido nucleico de (b) y uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéutica o cosméticamente aceptables.

En un aspecto preferido, los usos médicos y cosméticos se consiguen mediante la administración tópica a la piel.

Preferentemente, para indicaciones médicas o cosméticas dependientes, al menos en parte, de los efectos de exfoliación de los principios activos, las composiciones farmacéuticas usadas para este fin comprenden coriolisina (o sus secuencias relacionadas como se describe en el presente documento).

Preferentemente, para indicaciones médicas o cosméticas dependientes, al menos en parte, de los efectos hidratantes de los principios activos, las composiciones farmacéuticas usadas para este fin también comprenden una o más VAP (o sus secuencias relacionadas como se describe en el presente documento).

Por tanto, en un aspecto particularmente preferido, la coriolisina (o sus secuencias relacionadas como se describe en el presente documento) puede usarse para tratar trastornos en los que la piel está anormalmente seca, la capa córnea de la piel está anormalmente engrosada o en los que está presente un defecto de la pigmentación, por ejemplo, callos, helomas, verrugas, eccema, dermatitis de contacto, psoriasis, ictiosis, acné y manchas cutáneas.

Se pueden usar una o más VAP (o sus secuencias relacionadas como se describe en el presente documento) para tratar trastornos en los que la piel está anormalmente seca.

Como se usa en el presente documento, el "tratamiento" se refiere a la reducción, alivio o eliminación, preferentemente hasta niveles normales, de uno o más de los síntomas o efectos de dicha afección o trastorno, por ejemplo la presencia o alcance de sequedad o engrosamiento de la piel, alcance o área de pigmentación, prurito o dolor, etc. en relación con los síntomas o efectos presentes en una parte diferente del cuerpo de dicho individuo donde la piel no padece dicha afección o trastorno y no sometido a dicho tratamiento o en un individuo normal correspondiente no sometido a dicho tratamiento.

La "prevención" se refiere a la prevención absoluta o reducción o alivio del alcance o momento (por ejemplo retardo) de la aparición de ese síntoma o efecto. Por ejemplo, las afecciones tipificadas por sequedad, engrosamiento o pigmentación anómala de la piel pueden prevenirse mediante la aplicación regular de composiciones de la invención antes de la aparición de dicha afección.

Preferentemente, dichos tratamientos se consiguen usando polipéptidos desvelados en el presente documento. Sin

embargo, también se contempla el uso de los polinucleótidos codificantes. Esto se puede conseguir, por ejemplo, mediante métodos de terapia génica, por ejemplo, uso de secuencias con sentido para permitir la expresión de las moléculas deseadas en la piel.

5 El método de tratamiento o prevención desvelado en el presente documento puede combinarse provechosamente con la administración de uno o más principios activos que son eficaces en el tratamiento o la prevención de los trastornos o afecciones y/o para conseguir hidratación o exfoliación. Por tanto, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener adicionalmente uno o más de dichos principios activos.

10 También se desvelan productos que contienen uno o más polipéptidos o moléculas de ácido nucleico como se definen en el presente documento y opcionalmente uno o más principios activos adicionales como una preparación combinada para su uso simultáneo, separado o secuencial en terapia humana o animal, preferentemente como se describe en el presente documento.

15 Las composiciones de la invención se pueden formular de una manera convencional con uno o más vehículos, excipientes y/o diluyentes fisiológicamente aceptables, según técnicas bien conocidas en este campo usando ingredientes fácilmente disponibles.

20 Por tanto, se puede incorporar el principio activo, opcionalmente junto con otras sustancias activas como una preparación combinada, con uno o más vehículos, diluyentes y/o excipientes convencionales, para producir preparaciones galénicas convencionales tales como comprimidos, píldoras, polvos, grageas, sobrecitos, obleas, elixires, suspensiones (como líquidos de inyección o infusión), emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (como un sólido o en un medio líquido), pomadas, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, soluciones inyectables estériles, polvos envasados estériles y similares. También pueden usarse polímeros biodegradables (tales como poliésteres, polianhídridos, ácido poliláctico o ácido poliglicólico) para implantes sólidos. Las composiciones pueden estabilizarse mediante el uso de liofilización, subenfriamiento o Permazyme.

30 Son excipientes, vehículos o diluyentes adecuados lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábiga, fosfato de calcio, carbonato de calcio, lactosa de calcio, almidón de maíz, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, jarabe acuoso, agua, agua/etanol, agua/glicol, agua/polietileno, glicol, propilenglicol, metilcelulosa, hidroxibenzoatos de metilo, hidroxibenzoatos de propilo, talco, estearato de magnesio, aceite mineral o sustancias grasas tales como grasa dura o mezclas adecuadas de los mismos. También pueden usarse agentes para obtener formulaciones de liberación sostenida, tales como carboxipolimetileno, carboximetilcelulosa, acetato ftalato de celulosa o polivinilacetato.

35 Las composiciones pueden incluir adicionalmente agentes lubricantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes que aumentan la viscosidad, agentes de granulación, agentes disgregantes, agentes aglutinantes, agentes osmoticoactivos, agentes de suspensión, agentes conservantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, potenciadores de la adsorción (por ejemplo, agentes de penetración de superficie o para administración nasal, por ejemplo, sales biliares, lecitinas, tensioactivos, ácidos grasos, quelantes), agentes de oscurecimiento, disolvente orgánico, antioxidante, agentes estabilizantes, emolientes, silicona, alfa-hidroxiácido, demulcente, agente antiespumante, agente hidratante, vitamina, aroma, espesantes iónicos o no iónicos, tensioactivos, carga, espesante iónico o no iónico, secuestrante, polímero, propulsor, agente alcalinizante o acidificante, opacificante, agentes colorantes y compuestos grasos y similares.

40 Las composiciones de la invención pueden formularse para proporcionar una liberación rápida, sostenida o retardada del principio activo después de la administración al cuerpo empleando técnicas bien conocidas en este campo.

50 La composición puede estar en cualquier forma farmacéutica apropiada para permitir el suministro o para dirigirse a células o tejidos particulares, por ejemplo, como una emulsión o en liposomas, niosomas, microesferas, nanopartículas o similares con las que puede absorberse, adsorberse, incorporarse o unirse el principio activo. Esta puede convertir eficazmente el producto en una forma insoluble. Estas formas en partículas pueden superar problemas tanto de estabilidad (por ejemplo degradación) como de suministro.

55 Estas partículas pueden portar moléculas superficiales apropiadas para mejorar el tiempo en circulación (por ejemplo, componentes del suero, tensioactivos, polioxamina 908, PEG, etc.) o restos para dirección específica de sitio, tales como ligandos para receptores particulares portadas por células. Se conocen bien en este campo técnicas apropiadas para la administración de fármacos y para la dirección y se describen en el documento WO99/62315.

60 Se prefiere el uso de soluciones, suspensiones, geles y emulsiones, por ejemplo, el principio activo puede portarse en agua, un gas, un líquido de base acuosa, un aceite, un gel, una emulsión, una emulsión de aceite en agua o de agua en aceite, una dispersión o una mezcla de los mismos.

65 Las composiciones pueden ser para administración tópica (es decir, a la piel), oral o parenteral, por ejemplo, mediante inyección.

Sin embargo, se prefieren las composiciones y la administración tópicas, e incluyen geles, cremas, pomadas, pulverizaciones, lociones, bálsamos, barras, jabones, polvos, películas, aerosoles, gotas, espumas, soluciones, emulsiones, suspensiones, dispersiones, por ejemplo, dispersiones de vesículas no iónicas, leches y cualquier otra forma farmacéutica o cosmética convencional en la técnica.

5 Las pomadas, geles y cremas pueden, por ejemplo, formularse con una base acuosa u oleosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Las lociones pueden formularse con una base acuosa o aceitosa y, en general, también contendrán uno o más agentes emulsionantes, dispersantes, de suspensión, espesantes o colorantes. Los polvos pueden formarse con la ayuda de cualquier base de polvo adecuada. Las gotas y soluciones
10 pueden formularse con una base acuosa o no acuosa que también comprende uno o más agentes dispersantes, solubilizantes o de suspensión. Las pulverizaciones en aerosol se suministran convenientemente a partir de envases presurizados, con el uso de un propulsor adecuado.

15 Como alternativa, las composiciones pueden proporcionarse en una forma adaptada para administración oral o parenteral. Las formas farmacéuticas alternativas incluyen por tanto comprimidos sencillos o recubiertos, cápsulas, suspensiones y soluciones que contienen el componente activo opcionalmente junto con uno o más vehículos convencionales inertes y/o diluyentes, por ejemplo, con almidón de maíz, lactosa, sacarosa, celulosa microcristalina, estearato de magnesio, polivinilpirrolidona, ácido cítrico, ácido tartárico, agua, agua/etanol, agua/glicerol, agua/sorbitol, agua/polietilenglicol, propilenglicol, alcohol estearílico, carboximetilcelulosa o sustancias grasas tales
20 como grasa dura o mezclas adecuadas de los mismos.

La concentración de principio activo en composiciones de la invención, depende de la naturaleza del compuesto utilizado (es decir, el polipéptido o la molécula de ácido nucleico), el modo de administración, la evolución del tratamiento, la edad y el peso del paciente, la indicación médica, el cuerpo o área corporal para tratar y puede variarse
25 o ajustarse según la elección. En general, sin embargo, los intervalos de concentración para el compuesto descrito en el presente documento son 0,0001, 0,0005, 0,001 o 0,01 a 25 %, por ejemplo, 0,0005-15 %, por ejemplo, de 0,01 a 10 %, tal como 0,1 o de 0,5 a 5, por ejemplo, 1-5 % (p/p de la preparación final para administración, en particular para administración tópica).

30 Cuando hay más de un compuesto presente, por ejemplo, coriolisina y una o más VAP (o moléculas relacionadas) como se describe en el presente documento, cada compuesto puede estar presente en las cantidades descritas anteriormente. Dichas concentraciones se determinan por referencia a la cantidad del compuesto en sí mismo y, por tanto, se debe tener en cuenta la pureza de la composición. Las dosis individuales eficaces para VAP (y moléculas relacionadas) pueden estar en el intervalo de 0,1-100 mg/cm²/día, preferentemente 0,1-10 mg/cm²/día, cuando se
35 aplica por vía tópica, dependiendo del animal que se trate, tomadas como una única dosis. Para coriolisina (y moléculas relacionadas), las dosis individuales eficaces pueden estar en el intervalo de 0,1-100 mU/cm²/día, preferentemente 0,5-10, por ejemplo, 1-5 mU/cm²/día.

La administración puede ser mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica médica, incluyendo, por ejemplo, administración oral, intestinal, percutánea, bucal, rectal o tópica o administración por inhalación. Las formas de administración preferidas se administrarán por vía oral o, más preferentemente, por vía tópica. Como se apreciará, la administración oral tiene sus limitaciones si el principio activo es digerible. Para solucionar dichos problemas, los
40 ingredientes pueden estabilizarse como se ha mencionado previamente.

45 Se apreciará que ya que el principio activo para la realización de la invención toma una diversidad de formas, por ejemplo, molécula de ácido nucleico (que puede estar en un vector) o polipéptido, la forma de la composición y la vía de administración variarán. Preferentemente, sin embargo, se emplearían soluciones líquidas, cremas o suspensiones, particularmente, por ejemplo, para administración oral o administración tópica.

50 El polipéptido o las moléculas de ácido nucleico de la invención pueden usarse para las indicaciones médicas mencionadas anteriormente. En estos últimos métodos de terapia génica, las moléculas de ácido nucleico se proporcionan preferentemente en vectores que son adecuados para la transfección/transformación como se ha descrito anteriormente, por ejemplo, vectores víricos tales como adenovirus usando métodos de terapia génica conocidos en la técnica para aplicaciones médicas.

55 Los animales a los que pueden aplicarse o administrarse las composiciones incluyen mamíferos, reptiles, aves, insectos y peces particularmente durante la acuicultura de peces (por ejemplo, salmón o bacalao). Preferentemente, los animales a los que se aplican las composiciones de la invención son mamíferos, particularmente primates, animales domésticos, ganado y animales de laboratorio. Por tanto, los animales preferidos incluyen ratones, ratas, conejos,
60 cobayas, gatos, perros, monos, cerdos, vacas, cabras, ovejas y caballos. De forma especialmente preferente, las composiciones se aplican, o se administran, a seres humanos.

Los siguientes ejemplos se proporcionan solamente como ilustración en la que las figuras a las que se hace referencia son las siguientes:

65 La Figura 1 muestra el isoelectroenfoco de los VAP después de su purificación;

La Figura 2 muestra los efectos de las VAP del salmón del Atlántico sobre el epitelio humano en el que A y B muestran el cultivo cutáneo expuesto a las VAP y C muestra el cultivo cutáneo de control; y

La Figura 3 muestra los efectos de coriolisina L del salmón del Atlántico sobre el epitelio humano en el que A muestra el cultivo cutáneo expuesto a coriolisina L y B muestra el cultivo cutáneo de control.

5

Ejemplo 1: Identificación y caracterización de VAP

Aislamiento de proteínas

10 Durante el transcurso del análisis de los componentes del líquido de eclosión del salmón del Atlántico, se identificaron nuevas proteínas presentes en el líquido de eclosión.

Se proporciona un método para preparar líquido de eclosión parcial (a partir del cual se puede preparar zonasa) que puede usarse como material de partida para aislar las VAP desveladas en el presente documento (o sus secuencias precursoras) en el documento WO99/29836 (particularmente el Ejemplo 1 del método descrito, pero opcionalmente sin la etapa de urea).

15

Por tanto, se ha usado el siguiente método para aislamiento. Se aislaron VAP del líquido de eclosión (en bruto o filtrado a través de filtros de 0,45 µm). Posteriormente, las VAP se precipitaron añadiendo 4 volúmenes de acetona a temperatura ambiente o a 4 °C. Después de 20-30 minutos, los VAP precipitados se recogieron como un sedimento después de centrifugación a baja velocidad (aproximadamente 5000xg) y se resuspendieron en el tampón apropiado (por ejemplo, TrisHCl 10 mM, pH 8,0 o PBS).

20

La Figura 1 muestra PAGE bidimensional de las VAP después de su purificación como se ha descrito anteriormente.

25

Análisis de secuencia

Las VAP recientemente identificadas fueron sometidas a caracterización por análisis de EM de los puntos tripsinizados. El análisis de EM fue MALDI-TOF-TOF (desorción/ionización por láser asistida por matriz. Tiempo de vuelo x2).

30

Los siguientes resultados se obtuvieron para la mejor coincidencia, como lo refleja la puntuación más alta.

VAP I

gij 185133695 Masa: 49859 Puntuación: 419 Expectativa: 8,2e-36 Consultas coincidentes: 7

proteína de cáscara de huevo [Salmo salar]

| Observado | Mr (esp) | Mr (calc) | Delta | Inicio | Final | Ausencia | Iones | Péptido | SEQ ID NO |
|-----------|-----------|-----------|--------|--------|-------|----------|-------|---------------------------------------|-----------|
| 1105,6858 | 1104,6785 | 1104,5928 | 0,0857 | 126 | 135 | 0 | 56 | K.DGQFWWSR.D | 17 |
| 1439,6891 | 1438,6818 | 1438,6300 | 0,0519 | 210 | 220 | 0 | 102 | R.DSHYDLVFQCR.Y | 18 |
| 1538,8765 | 1537,8693 | 1537,8239 | 0,0453 | 221 | 234 | 0 | --- | R.YTGTSVETLVIEVK.T | 19 |
| 1785,9341 | 1784,9269 | 1784,8767 | 0,0501 | 193 | 209 | 0 | --- | R.MSSSYVVGIGPFGDITR.D | 20 |
| 1801,9253 | 1800,9180 | 1800,8717 | 0,0464 | 193 | 209 | 0 | 130 | R.MSSSYVVGIGPFGDITR.D + Oxidación (M) | 21 |
| 2023,1099 | 2022,1027 | 2022,0569 | 0,0458 | 118 | 135 | 1 | 93 | K.TVTVQCTKDGQFWWSR.D | 22 |
| 2311,1242 | 2310,1169 | 2310,0686 | 0,0484 | 173 | 192 | 0 | --- | K.VTECGTWTEEPDITVYENR.M | 23 |

gij 158132194 Masa: 59145 Puntuación: 502 Expectativa: 4,1e-44 Consultas coincidentes: 12
VAP II

corigenina H beta [*Oncorhynchus masou*]

| Observado | Mr (esp) | Mr (calc) | Delta | Inicio | Final | Ausencia | Iones | Péptido | SEQ ID NO |
|-----------|-----------|-----------|---------|--------|-------|----------|-------|---|-----------|
| 1089,6560 | 1088,6488 | 1088,5979 | 0,0509 | 211 - | 220 | 0 | 52 | K.DGQFVWVAR.D | 24 |
| 1198,6832 | 1197,6759 | 1197,6717 | 0,0042 | 385 - | 395 | 0 | 80 | R.TDPNIVLTLGR.C | 25 |
| 1346,7405 | 1345,7333 | 1345,7354 | -0,0021 | 370 - | 380 | 1 | 48 | K.VLRDPVYTEVR.I | 26 |
| 1432,6125 | 1431,6052 | 1431,6089 | -0,0037 | 295 - | 305 | 0 | 62 | R.DSQYDLTFQCR.Y | 27 |
| 1688,7701 | 1687,7629 | 1687,7772 | -0,0143 | 450 - | 463 | 0 | --- | K.MFTFVDPMSMTPLR.E + Oxidación (M) | 28 |
| 1704,7646 | 1703,7573 | 1703,7721 | -0,0149 | 450 - | 463 | 0 | --- | K.MFTFVDPMSMTPLR.E + 2 Oxidación (M) | 29 |
| 1720,7581 | 1719,7508 | 1719,7671 | -0,0162 | 450 - | 463 | 0 | --- | K.MFTFVDPMSMTPLR.E + 3 Oxidación (M) | 30 |
| 1772,8510 | 1771,8438 | 1771,8563 | -0,0126 | 278 - | 294 | 0 | 93 | R.MSSSYQVGVGPFQGSITR.D | 31 |
| 1788,8447 | 1787,8374 | 1787,8513 | -0,0138 | 278 - | 294 | 0 | (88) | R.MSSSYQVGVGPFQGSITR.D + Oxidación (M) | 32 |
| 1977,0356 | 1976,0284 | 1976,0514 | -0,0230 | 203 - | 220 | 1 | 129 | K.AVTYQCTKDGQFVWVAR.D | 33 |
| 2361,0236 | 2360,0163 | 2360,0512 | -0,0349 | 258 - | 277 | 0 | --- | K.VTECGTVMTEETDTIYENR.M | 34 |
| 2377,0210 | 2376,0137 | 2376,0461 | -0,0324 | 258 - | 277 | 0 | --- | K.VTECGTVMTEETDTIYENR.M + Oxidación (M) | 35 |

VAP III

Comparación con péptidos de coriogenina (*Oncorhynchus masou*)

| Inicio - Final | Observado | Mr (esp) | Mr (calc) | Delta | Ausencia | Secuencia | SEQ ID NO |
|----------------|------------|-----------|-----------|--------|----------|---|-----------|
| 103 - 115 | 1572,7675 | 1571,7602 | 1571,7184 | 0,0418 | 1 | R.AECRENMVHVEAK.H (Sin coincidencia) | 36 |
| 103 - 115 | 1588,7668 | 1587,7596 | 1587,7133 | 0,0462 | 1 | R.AECRENMVHVEAK.H Oxidación (M) (Sin coincidencia) | 37 |
| 188 - 201 | 1733,8167 | 1732,8094 | 1732,7661 | 0,0434 | 0 | R.TNDAMINIECHYPR.K (Sin coincidencia) | 38 |
| 188 - 201 | 1749,8474 | 1748,8401 | 1748,7610 | 0,0791 | 0 | R.TNDAMINIECHYPR.K Oxidación (M) (puntuación de iones 82) | 39 |
| 222 - 232 | 1421,7118x | 1420,7045 | 1420,6696 | 0,0348 | 0 | K.YAEELLYFSMR.L (Sin coincidencia) | 40 |
| 222 - 232 | 1437,7161 | 1436,7088 | 1436,6646 | 0,0443 | 0 | K.YAEELLYFSMR.L Oxidación (M) (puntuación de iones 33) | 41 |
| 233 - 242 | 1312,6294 | 1311,6221 | 1311,5918 | 0,0304 | 0 | R.LMTADWQYER.A (Sin coincidencia) | 42 |
| 233 - 242 | 1328,6293 | 1327,6220 | 1327,5867 | 0,0354 | 0 | R.LMTADWQYER.A Oxidación (M) (puntuación de iones 37) | 43 |
| 269 - 287 | 2130,1112 | 2129,1039 | 2129,0575 | 0,0464 | 0 | R.IFVDSVCVATLEPNINANPR.Y (puntuación de iones 143) | 44 |
| 302 - 312 | 1278,6242 | 1277,6169 | 1277,5645 | 0,0524 | 0 | K.MTGSHSQFMPR.S (Sin coincidencia) | 45 |
| 318 - 326 | 1172,6300 | 1171,6228 | 1171,6026 | 0,0202 | 0 | K.LYFQVEAFR.F (puntuación de iones 78) | 46 |

A partir de los resultados anteriores, las secuencias de las VAP se generaron identificando péptidos en la secuencia de VAP por EM e insertando después las secuencias intermedias usando partes relevantes de la secuencia nativa conocida con la que se realizó la comparación. Las secuencias de VAP identificadas por este proceso se exponen en la SEQ ID NO. 2-4 y las secuencias nativas con las que se compararon se proporcionan en las SEQ ID NO. 5-8.

Ejemplo 2: Aplicaciones médicas/cosméticas de VAP *in vitro*.

10 Materiales y métodos

Los siguientes estudios se llevaron a cabo utilizando las VAP de salmón del Atlántico preparadas como se ha descrito en el Ejemplo 1.

15 Se obtuvieron cultivos diferenciados de epitelio cutáneo humano de SkinEthics (Niza, Francia) el día 16 después de sembrar en sustratos de crecimiento de plástico con microporos lo que permite el acceso de nutrientes al tejido epitelial desde abajo. Dichos cultivos presentan una morfología cutánea normal después de la diferenciación durante el periodo de cultivo a 37 °C. Estos cultivos se mantuvieron durante dos días más *in vitro* de modo que el estrato córneo superior quedara expuesto al aire y el estrato basal al sustrato de crecimiento.

20 Se trasladaron cultivos paralelos a atmósfera húmeda a 30 °C y se expusieron a una solución salina tamponada con fosfato que contenía Mg, Ca medio durante 6 horas con o sin la presencia de VAP a 0,5 mg/ml (medido a DO280). Los cultivos se fijaron en formalina y se incluyeron en parafina según los procedimientos convencionales y se tiñeron con hematoxilina/eosina.

25 Resultados

A. Efectos hidratantes

30 Los resultados se muestran en la Figura 2A-C en la que A y B muestran el cultivo cutáneo expuesto a VAP y C muestra el cultivo cutáneo de control. Estas figuras muestran que las VAP hacen que las láminas del estrato córneo de la piel se separen, de modo que se produce "deslaminación". Las láminas no se desprenden ni exfolian, simplemente se separan una de las otras.

35 Esta separación está causada por proteínas anfífilas muy cargadas que se intercalan en el estrato córneo y que, debido a su carácter anfífilo, transportan agua para separar las láminas de la piel. Por lo tanto, el agua es transportada al estrato córneo por las VAP lo que reduce la pérdida de agua transepidérmica (PATE).

Ejemplo 3: Aplicaciones médicas/cosméticas de coriolisina L *in vitro*

Materiales y métodos

5 Los siguientes estudios se llevaron a cabo utilizando la coriolisina L del salmón del Atlántico preparada como se describe en Yasumasu *et al.*, 1989, mencionado anteriormente, a partir del líquido de eclosión del salmón.

Los cultivos de epitelio de la piel humana se prepararon como se ha descrito en el Ejemplo 2 y se aplicó coriolisina L del líquido de eclosión de salmón a 0,15 mU/ml durante 6 horas a 30 °C.

10

Resultados

A. Efectos de exfoliación

15 Los resultados se muestran en la Figura 3A y B en la que A muestra el cultivo cutáneo expuesto a coriolisina L de salmón y B muestra el cultivo cutáneo de control. Los resultados muestran que la coriolisina L provoca deslaminación y ruptura de las láminas de la piel.

20 La exfoliación también puede analizarse evaluando el sobrenadante de cultivos cutáneos para evaluar la cantidad de células epiteliales que se eliminan de los cultivos cutáneos durante el tratamiento. Ya que la coriolisina L es inhibida por EDTA 1 mM, sus efectos pueden inhibirse fácilmente para demostrar su acción sobre la piel.

Ejemplo 4: Aplicaciones médicas/cosméticas de VAP y coriolisina L *in vivo*

25 *Aplicaciones cosméticas*

A individuos que padecen piel seca y/o piel que necesita exfoliación (por ejemplo, callos o helomas) se les administran cremas cosméticas o placebo como se describe posteriormente. El tratamiento se repite periódicamente, por ejemplo, cada 8 horas.

30

Los efectos de la crema en la piel se analizan basándose en efectos cualitativos como apariencia y sensación (por ejemplo, prurito) o se pueden analizar de forma más cuantitativa, por ejemplo, en contenido de agua o grosor.

Aplicaciones médicas

35

A individuos que padecen una afección o anomalía de la piel tal como acné, eccema o psoriasis se les administran cremas de tratamiento o placebo como se describe posteriormente. El tratamiento se repite periódicamente, por ejemplo, cada 8 horas.

40

Los efectos de la crema en la piel se analizan basándose en efectos cualitativos como apariencia, sensación (por ejemplo, dolor) o color o pueden analizarse de forma más cuantitativa, por ejemplo, según el tamaño de la anomalía restante, el grado de inflamación o grosor.

Crema de placebo:

| Nombre | Denominación INCI | % | Fase/Temperatura (°C) |
|---------------------|-----------------------------------|------|-----------------------|
| Cetiol V | Oleato de decilo | 4 | A/75 |
| Dynacerin 660 | Erucato de oleílo | 6 | A/75 |
| CUTINA GMS V | Estearato de glicerilo | 3 | A/75 |
| Cire da lanol CTO | Alcohol cetearílico y Cteareth 33 | 2 | A/75 |
| Nacol 16-95 | Alcohol cetílico | 1 | A/75 |
| Edenor L2 SM GS | Ácido esteárico y ácido palmítico | 3 | A/75 |
| Nacol 18-94 | Alcohol cetílico | 1 | A/75 |
| Radia 7730 | Miristato de isopropilo | 4 | A/75 |
| dH ₂ O | | 25 | B/75 |
| Glicerina 4810 | Glicerina | 3 | B/75 |
| Optiphen | | 1 | B/75 |
| Trietanolamina 85 % | | 0,4 | B/75 |
| dH ₂ O | | 46,3 | C/75 |
| Nipa Biopure 100 | Imidazolodinil urea | 0,3 | C/25 |

45

ES 2 741 586 T3

Crema cosmética/de tratamiento con 10 % de principio activo:

| Nombre | Denominación INCI | % | Fase/Temperatura (°C) |
|-----------------------|-----------------------------------|------|-----------------------|
| Cetiol V | Oleato de decilo | 4 | A/75 |
| Dynacerin 660 | Erucato de oleílo | 6 | A/75 |
| CUTINA GMS V | Estearato de glicerilo | 3 | A/75 |
| Cire da lanol CTO | Alcohol cetearílico y Cteareth 33 | 2 | A/75 |
| Nacol 16-95 | Alcohol cetílico | 1 | A/75 |
| Edenor L2 SM GS | Ácido esteárico y ácido palmítico | 3 | A/75 |
| Nacol 18-94 | Alcohol cetílico | 1 | A/75 |
| Radia 7730 | Miristato de isopropilo | 4 | A/75 |
| dH ₂ O | | 25 | B/75 |
| Glicerina 4810 | Glicerina | 3 | B/75 |
| Optiphen | | 1 | B/75 |
| Trietanolamina 85 % | | 0,4 | B/75 |
| dH ₂ O | | 36,3 | C/75 |
| Nipa Biopure 100 | Imidazolodinitil urea | 0,3 | C/25 |
| VAP y/o coriolisina L | | 10 | 25 |

Secuencias:

5 SEQ ID NO. 1: Coriolisina L - Salmón del Atlántico

MDHRPTLSLL LLLLLLGLSQ ASGNEFHDEP DHVSITSVIL KSNNGTNELL
 LDGDILAPRT RNAMKCFSSQ YSCLWKKSSD GLVYVPYILS AVYSSLEVET IETAMKYFQG
 KTCIRFIPRK TQTAYLDIQS SGGCFGTVGT VGDRQTLSLA
 QFGCVQHGI QHELLHALGF YHEHNRSDRE QYIRINWQYI YDYAVGNFQK EDTNNLHTAY
 DYSSVMHYDR TAYTNDYGKE TITPIPDPSV AIGQRLGMSD IDVLKVNKLY QC

10 SEQ ID NO. 2: VAP I - Salmón del Atlántico

TVTQCTKDG QFVVVSRDA TLPNLELDSI SLLGANGAHC TPVGTTSafa IYQFKVTECG
 TVVTEEPDTI VYENRMSSSY VVGIGPFGDI TRDSHYDLVF QCRYTGTSVE TLVIEVK

SEQ ID NO. 3: VAP II - Salmón

AVTVQCTKDG QFVVVVARDA TLPSLELDSI SLLGTNGPHC HAIGTTSVFA
 IYQFKVTECG TVMTEETDTI IYENRMSSSY QVGVGPFSGI TRDSQYDLTF
 QCRYKGSTIV AVVIDVKPVP PPNPDIAPGP LTVELRLGSG TCLKGCNEE EVAYTSYYTE
 ADYPVTKVLR DPVYTEVRIL ARTDPNIVLT LGRCWATTNP NPLSLPQWDL LIDGCPYQDD
 RYLTTIPINVG PSSGLSFPTH YRRFVLKMFT FVDPMSTPL R

15 SEQ ID NO. 4: VAP III - Salmón

ES 2 741 586 T3

AECRENMVHV EAKHDLLGIG QLIQLEDLTL GDCPMSGFDN INQVLIFESP LQSCGSQLRM
TTNSLIYIFT LYYKPKPLAN TPLIRTNDAM INIECHYPRK HNVSSLALIP TWTPFSAKY
AEELLYFSMR LMTADWQYER AGNMYVLGDM VNIEASVMQY FHVPLRIFVD
SCVATLEPNI NANPRYAFIE NHGCLIDAKM TGSHSQFMPR SADYKLYFQV EAFR

SEQ ID NO. 5: Proteína zr de longitud completa - salmón del Atlántico

MKWSAVCLVA VATLGWLCDA QNFLEKPGWP PIQTPPSWPP QTPQRPVQPL
PQRPAQPFLQ KPAQPIQRI PYTEDDTKQT CEVVDKDKVS CGLSGITAAQ
CQAISCCFDG RMCIFYGKTVT VQCTKDGQFV VVSRDATLP NLELDSISLL
GANGAHCTPV GTTSAFAIQ FKVTECGTVV TEEPDTIVYE NRMSSSYVVG IGPFGDITRD
SHYDLVFQCR YTGTSVETLV IEVKTYPNPN PVVTVDAVLN VELRLANGRC
LSKGCDEMQE AYTSYYTVAD YPVTKVL RDP VYAEVRILGM TDPNVVLTLE
QCWATIDPTG DRLPRWDLV NGCPYQDDRY LTVPIASDSS YIPPGEFLSH
YKRFVFKMFT FVDPTSMVPL QENVYIHCRA TVCHALAGSC EQRCNRQRRD
LSAQGQKTK GDVVVSSQKV IMIDPSLYA

5

SEQ ID NO. 6: Coriogenina H de longitud completa - salmón del Pacífico

MKWSAVCLVA VATLGWLCDA QIYLEKPGWP PIQTPASWPA QPPEKPVQPP
QRPAQPPQWP AQPPQWPAQP PQRPAQPPQR PAQTQQWPGQ PPQRPAQPPQ
WPAQPPQRPA QPPQRPAQPP QRPAQPPRP AQPPQWPVHP PQWPVQPGTP
LQRPKFSPDP GSKQSCDVDS QHKVQCGLPD ITAAHCDAIN CCFDGRMCFY
GKAVTVQCTK DGQFVVVVAR DATLPSLELD SISLLGTNGP HCHAIGTTSV FAIQFKVTE
CGTVMTEETD TIIYENRMSS SYQVGVGPPG SITRDSQYDLTFQCRYKGST IVAVVIDVKP
VPPNPDIAP GPLTVELRLG SGTCLTKGCN EEEVAYTSYY TEADYPVTKV LRDPVYTEVR
ILARTDPNIV LTLGRCWATT NPNPLSLPQW DLLIDGCPYQ DDRYLTPIN VGPSSGLSFP
THYRRFVLKM FTFVDPMST PLRETVFIHC NTAVCLPSHG DSCEPRCYRK
RRDIPAAVQK TTRIKSNLVS SGELILDPR ELTN

10

SEQ ID NO. 7: Coriogenina L de longitud completa - salmón del Pacífico

MAMKWSVCL VAVAMLGCLC VAQIWPPSIK PVQQPFRPNR PPPQQPQQPP
YQKPRIPPKD QTQAKQKFET PLDWTYPLDP KPEPKIIGGS EARTPVAANS
VRAECRENMV HVEAKHDLLG IGQLIQLEDL TLGDCPMSGF DNINQVLIFE SPLQSCGSQ
RMTTNSLIYI FTLYYKPKPL ANTPLIRTND AMINIECHYP RKHNVSSLAL IPTWTFPSAA
KYAEELLYFS MRLMTADWQY ERAGNMYVLG DMVNIEASVM QYFHVPLRIF
VDSCVATLEP NINANPRYAF IENHGCLIDA KMTGSHSQFM PRSADYKLYF
QVEAFRFQSQ RGS DPIIPQK TKIPFQPAAD YPATLDMIFL TCHLKATTIA FPIDFEYKAC
SFINTWREAG GNDGVCGCCD STCSNRKGRD TTTHQKPANI WEGDVQLGPI FISEKVEQ

SEQ ID NO. 8: Proteína zr alternativa - salmón del Atlántico

KWSYQLPQKL AQPLPQKPAQ PLPQWPVQPL PQRPAEPLPQ RPAQPLPQWP
VQPLPQRPAE PLPQRPAQPL PQRPVQPLPQ RPAQPFLQKP AQPQPQRIPY

TKDDTKQTCE VVDKDKVSCG LSGITAAQCQ AISCCFDGRM CFYGKTVTFQ
CTKDGQFVVV VSRDATLPNL ELDSISLLGA NGAHCTPVGT TSAFAIYQFK VTECGTVVTE
EPDITVYENR MSSSYVVGIG PFGDITRDSH YDLVFQCRYT GTSVETLVIE VKTYPNPNPV
VTVDAVLNVE LRLANGRCLS KGCDEMQEAY TSYYTVADYP VTKVLRDPVY
AEVRILGMTD PNVVLTLEQC WATTDPTGDR LPRWDLLVNG CPYQDDRYLT
VPIASDSSYI PPGEFLSHYK RFVFKMFTFV DPTSMVPLQE NVYIHCRA TV CHALAGSCEQ
RCNRQRRLDLS AQGQKKTGKD VVVSSQKVIM IDPSLYA

5

SEQ ID NO. 9: Secuencia de nucleótidos, coriolisina L, salmón del Atlántico

atggaccacagaccactcttagcctgcttctgctgctgctgctgctggcctatcacaggccagtgaaatgagttccatgatga
gccggaccatgtgtccatcactcagtaactcgaagccaacaacggaaccaatgagctactgctggatggagacattctagct
cctagaaccaggaacgcatgaagtgccttagcagccagtagcagctgctctggaagaagtcacgacggcctggtgtacgtgc
ctfacatcctcagcgtgtatattccagcttgaggtagagactattgagacggccatgaagtactccaaggcaagacctgcatc
cgcttcattccacgtaagacacagactgcctacctggacattcagagcagcggcgggtgtttgtaccgtgggactgttggg
acaggcagacattgtctctgacagtttgctgtgtcaacatggtatcatccagcatgagctgctcagccctgggcttaccac
gagcacaacaggagtgaccgtgaacagtatatcaggatcaactggcaatacatctatgactacgccgttgggaactccagaa
ggaggacaccaacaacctgcacactgcatacgactactcctctgtcatgcactatgatagaaccgcttacactaacgactacgg
aaaggaaaccatcactcccacagaccatctgtggccattggacagagactggcagtgccgacattgatgtcctgaaggt
caacaagctctaccaatgctaagaggaagagcgccattgttgaanaatgtgtgatgctggatgtgctgcatgtgctgatgtattttatt
gttgaagttgtatgatccttttaacacattggaataataaagcatggttatggttaaaaaaaaa

10

SEQ ID NO. 10: Secuencia de nucleótidos que codifica la SEQ ID NO. 2, VAP I

ES 2 741 586 T3

atgaagtgagtgagcagttgtctagtgccagtgccacgctggctggctgtgtgatgctcagaatttcttgaaaaaccaggggtg
ccaccatccagacaccaccgctatggcctcccaaaccctcagaggcctgtccaaccctcctcagagacctgtcaacc
cttctcagaagcctgccaaccatacctcaacggatacctacaccgaagacgacacaaaacagacctgtgaggtgtgga
caaggacaaggtgtcgtgtggactttctggcatcactgctgccaatgcccaggccatcagctgctgtttgatggacggatgtctc
tacgggaaaacagtgactgtccagtgaccaaggatggccagtttgggtgggtttccagggatgccactctgccaacctga
gctagattccatcagcctgtaggggcaaacggagcccactgcacccctgtcggcaccacatctgcctttgccatctaccagttca
aagttactgaatgtggaactgtggtagcggaggaaacctgatactattgtctatgagaacaggatgtcctctcatatgtagtgggat
tggacccttcggcgacattaccaggagacgccactatgacctggcttccagtgctcgtatactgggactccgttgagacattggt
atcgaggtgaaaacgtatccaaaccccaaccagtggtcactgttgatgacagttctcaacgtggagctccgactggccaatgga
cgttgtctccaagggatgtgatgaaatgcaagaagcatacacctctactacacgggtggcagactaccctgtcaccaaggtctc
cagggatcccgtgtacgctgaggttcgcatcctggggatgacagatcccaatgttctctgacactggagcagtgctgggcccacc
atagaccacaggtgataggctgccccgggtgggacctactagttaatgggtgtccctaccaggatgaccgttacctgaccgtgc
ccatgcctcggacagctcctatatccctccgggagaattcttatccactacaagcgtctcgtctcaagatgttcacctttgtggat
ccgacatctatggtccccctgcaggagaacgtgtacatccactgtcgtgcaacagtggtccacgctctagcaggatcctgtgaac
aaaggtgcaacaggcaaaggagagatcttctgtcctcaaggccaaaagaagactaaaggagatgttggtttccagtcaaaaa
gtcatcatgattgaccaagtctttatgcttaa

SEQ ID NO. 14: Secuencia de nucleótidos de longitud completa que codifica la SEQ ID NO. 6, coriogenina H - salmón del Pacífico

5

atgaagtgagtgagcagttgtctagtgccagtgccacgctggctggctgtgtgatgctcagaatttcttgaaaaaccaggggtg

ccacccatccagacaccagcgtcatggcctgcccacccccctgagaagcctgtcaacccccctcagaggcctgcccagcccc
ctcagtgccctgcccagccccctcagtgccctgcccagccccctcagaggcctgcccagccccctcagaggcctgcccagcccc
ccagcagtgccctgcccacccccctcagaggcctgcccagccccctcagtgccctgcccacccccctcagaggcctgcccag
ccccctcaaagacctgcccacccccctcagaggcctgcccacccccctccgaggcctgcccacccccctcagtgccctgttcat
ccccctcagtgccctgtccaaccggtacgcccctcagaggcctaaattccccctgaccaggcctcaaagcagagctgtgatg
ttgatagccaacacaaggtgcagtggtgacttctgacatcactgcccattgtgatgccattaactgctgtttgatggacggat
gtgcttctacggaaaagcagtgactgtcagtgaccaaggatggccagttgtggtggtggccagggatgcccactgcccag
gcttgaactggactccatcagcctgctggggacaaacggacccccactgcatgctattggcacaacttctgtctttgcatctac
cagtttaaagtcactgaatgtggaactgcatgacggaggaaactgatactattatctatgagaataggatgtcctcttcatatcaag
tgggggtggcccccttggctccatcaccaggacagccaatatgatctaactccagtgagatataaggcagtagcattgtg
gctgtggtattgatgtgaagccggtcctcctccaaatcctgatatagctcctggacccccacagttgagctcagactcggcagcg
gaacatgccttaccaggatgtaataagagggaagtgccctacacctcttactacacagaggcagactaccctgtaccaag
gtcctcaggatcctgtgtacactgaggtcgcctcctggcaggacagatcccaacattgtgctgaccctgggtcgtgctgggc
taccacaaacccaaacccctcagcctgcccagtgggaccttctcattgatggatgctcttaccaggatgaccgttaccctgacca
ctccatcaatgtgggaccctctcgggtctgtccttccaacccactacaggcgtctccttaagatgttacccttgggatccaa
tgtctatgacccccctgaggagacgggttccatcattgtaatacagctgtgtgtgctccatccatggagacagctgtgaaccaa
gatgctacagaaagaggagagacattcctgctgagtcagaccagaagaccaccagaatcaagtctaatttgggttccagtgccgaac
tgatcctgactgacccaaggagctcaccaactag

SEQ ID NO. 15: Secuencia de nucleótidos de longitud completa que codifica la SEQ ID NO. 7, coriogenina L - salmón del Pacífico

5

atggcgtgaagtggagtgtagttgtctcgtggcagtgccatgcttggctgtctgtgtgtcagatttggccaccctccattaaa
ccagtgacgaacccctcagacccaatcgtccaccacctcagcagcctcagcaaccaccgtatcagaacccaggatcccac
caaaagaccaaaccaggccaagcagaagttgagacaccattggattggacctatcctctggacccaagccagagccca
agattattgggggctcagaggcgagaacccctgtggctgccaattcagtgagggtgagtgaggagagaacatggtccacgtg
gaagcgaagcatgacctgctgggatcggccagttgatccagctagaagacctcacttgggagactgccctatgtctggattcg
acaatacaaccaggtgctcatctttagtctccgctgagtcagtggtgagccagctaaggatgactaccaactccctcatctaca
tcttactctatattacaaacccaaacctctggcaaacacccccctcatcaggacaaatgacgcgatgatcaatattgagtccac
tatccaaggaaacacaatgtgagcagcctggccctgatcccaacctggaccccccttctccgctgctaagtatgagaggaactcc
tgtacttctccatgaggctcatgactgctgactggcagtatgagaggccggaacatgtacgtgttgggtgatattggaacatcg
aggcctctgtcatgagtaactccacgttcccctgctatcttgggacagctgtgtggccaccctggaacccaacataaacgcca
atccagatattgcttattgagaatcatgggtgtctgatgatgcaaaaatgacaggttcccactcccagttcatgctcgttccgc
agactacaagctgtattccaggtggaggcttccaggtccagagccagagggggagtgaccaattattccgcagaaaacaaa
gatacctttcagcctgcccagattatcccgtacgctcagatgatcttcttacctgtcacctgaaggcaaccacaatcgttctcc
ccattgattttagtacaaggcctgctcttcatcattacgtggaggaggctggtgggaatgatggagtggtggtgctgtgactc
cacctgtagcaacaggaaggagcgcgataccactacacatcaaaaaccagcaaatataggaggaggatgttccagcttgg

ES 2 741 586 T3

cccatctttatctcggaaaagggtgagcaataa

SEQ ID NO. 16: Secuencia de nucleótidos de longitud completa que codifica la SEQ ID NO. 8, Proteína zr alternativa - salmón del Atlántico

5
gaagtggcttaccactccctcagaagctgccaaccccttctcagaagcctgccaaccttctcagtgccctgtccaac
cccttctcagaggcctgtgaaccccttctcagaggcctgtcaaccccttctcagtgccctgtccaaccccttctcagaggc
ctgtgaaccccttctcagaggcctgtcaaccccttctcagaggcctgtccaaccccttctcagagacctgtcaaccccttct
tcagaagcctgccaacccatacctcaacggatacctacaccaaagacgacacaaaacagacctgtgagggttgagaa
ggacaagggtgctgtggactttctggcatcactgtgccaatgccaggccatcagctgctgtttgatggacggatgtgcttctac
gggaaaacagtgacttccagtgtaccaaggatggccagttgtggtgggtggttccagggatgccactctgccaaccttgagct
agattccatcagcctgtgaggggcaaacggagcccactgcacccctgtcggcaccacatctgcctttgccatctaccagttcaaa
gttactgaatgtggaactgtggtgacggaggaacctgatactattgtctatgagaacaggatgtccttctcatatgtagtgggattg
gaccttcggcgacattaccagggacagccactatgacctggtcttccagtgctcgttactgggacttccgttgagacattggttat
cgaggtgaaaacgtatccaaaccccaaccagtggtcactgttgatgcagttctcaacgtggagctccgactggccaatggacg
ttgtctccaagggatgtgatgaaatgcaagaagcatacaccttactacacgggtggcagactaccctgtaccaaggctcctca
gggatcccgtgtacgtgaggttcgcatcctggggatgacagatcccaatggtgtcctgacactggagcagtgctgggccaccac
agacccacaggtgataggctgccccggtgggacctactagttaatgggtgtccctaccaggatgaccttacctgacctgccc
atgcctcggacagctcctatatccctccgggagaattctatccactacaagcgttctcctcaagatgtcacctttgtggatcc
gacatctatggtccccctgcaggagaacgtgtacatccactgtcgtgcaacagtggtgccacgctctagcaggatcctgtgaaca
agggtcaacaggcaaaggagagatcttctgctcaaggccaaaagaagactaaaggagatgtgtggttccagtaaaaaagt
catcatgattgacccaagtctttatgcttaa

LISTADO DE SECUENCIAS

- 10 <110> Aqua Bio Technology ASA
<120> Enzimas del líquido de eclosión y usos de las mismas
<130> 42.20.98087/01
15 <150> GB0921001.4
<151> 30/11/2009
<160> 46
20 <170> PatentIn versión 3.3
<210> 1
<211> 262
25 <212> PRT
<213> *Salmo salar*
<400> 1

ES 2 741 586 T3

Gln Thr Leu Ser Leu Ala Gln Phe Gly Cys Val Gln His Gly Ile Ile
 145 150 155 160

Gln His Glu Leu Leu His Ala Leu Gly Phe Tyr His Glu His Asn Arg
 165 170 175

Ser Asp Arg Glu Gln Tyr Ile Arg Ile Asn Trp Gln Tyr Ile Tyr Asp
 180 185 190

Tyr Ala Val Gly Asn Phe Gln Lys Glu Asp Thr Asn Asn Leu His Thr
 195 200 205

Ala Tyr Asp Tyr Ser Ser Val Met His Tyr Asp Arg Thr Ala Tyr Thr
 210 215 220

Asn Asp Tyr Gly Lys Glu Thr Ile Thr Pro Ile Pro Asp Pro Ser Val
 225 230 235 240

Ala Ile Gly Gln Arg Leu Gly Met Ser Asp Ile Asp Val Leu Lys Val
 245 250 255

Asn Lys Leu Tyr Gln Cys
 260

<210> 2
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

5

<400> 2

Thr Val Thr Val Gln Cys Thr Lys Asp Gly Gln Phe Val Val Val Val
 1 5 10 15

Ser Arg Asp Ala Thr Leu Pro Asn Leu Glu Leu Asp Ser Ile Ser Leu
 20 25 30

Leu Gly Ala Asn Gly Ala His Cys Thr Pro Val Gly Thr Thr Ser Ala
 35 40 45

Phe Ala Ile Tyr Gln Phe Lys Val Thr Glu Cys Gly Thr Val Val Thr
 50 55 60

Glu Glu Pro Asp Thr Ile Val Tyr Glu Asn Arg Met Ser Ser Ser Tyr
 65 70 75 80

10

ES 2 741 586 T3

Val Val Gly Ile Gly Pro Phe Gly Asp Ile Thr Arg Asp Ser His Tyr
85 90 95

Asp Leu Val Phe Gln Cys Arg Tyr Thr Gly Thr Ser Val Glu Thr Leu
100 105 110

Val Ile Glu Val Lys
115

5 <210> 3
<211> 261
<212> PRT
<213> *Salmo salar*

<400> 3

Ala Val Thr Val Gln Cys Thr Lys Asp Gly Gln Phe Val Val Val Val
1 5 10 15

Ala Arg Asp Ala Thr Leu Pro Ser Leu Glu Leu Asp Ser Ile Ser Leu
20 25 30

Leu Gly Thr Asn Gly Pro His Cys His Ala Ile Gly Thr Thr Ser Val
35 40 45

Phe Ala Ile Tyr Gln Phe Lys Val Thr Glu Cys Gly Thr Val Met Thr
50 55 60

Glu Glu Thr Asp Thr Ile Ile Tyr Glu Asn Arg Met Ser Ser Ser Tyr
65 70 75 80

Gln Val Gly Val Gly Pro Phe Gly Ser Ile Thr Arg Asp Ser Gln Tyr
85 90 95

Asp Leu Thr Phe Gln Cys Arg Tyr Lys Gly Ser Thr Ile Val Ala Val
100 105 110

Val Ile Asp Val Lys Pro Val Pro Pro Pro Asn Pro Asp Ile Ala Pro
115 120 125

Gly Pro Leu Thr Val Glu Leu Arg Leu Gly Ser Gly Thr Cys Leu Thr
130 135 140

Lys Gly Cys Asn Glu Glu Glu Val Ala Tyr Thr Ser Tyr Tyr Thr Glu
145 150 155 160

10

ES 2 741 586 T3

Ala Asp Tyr Pro Val Thr Lys Val Leu Arg Asp Pro Val Tyr Thr Glu
 165 170 175

Val Arg Ile Leu Ala Arg Thr Asp Pro Asn Ile Val Leu Thr Leu Gly
 180 185 190

Arg Cys Trp Ala Thr Thr Asn Pro Asn Pro Leu Ser Leu Pro Gln Trp
 195 200 205

Asp Leu Leu Ile Asp Gly Cys Pro Tyr Gln Asp Asp Arg Tyr Leu Thr
 210 215 220

Thr Pro Ile Asn Val Gly Pro Ser Ser Gly Leu Ser Phe Pro Thr His
 225 230 235 240

Tyr Arg Arg Phe Val Leu Lys Met Phe Thr Phe Val Asp Pro Met Ser
 245 250 255

Met Thr Pro Leu Arg
 260

<210> 4
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

5

<400> 4

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

Leu Gly Ile Gly Gln Leu Ile Gln Leu Glu Asp Leu Thr Leu Gly Asp
 20 25 30

Cys Pro Met Ser Gly Phe Asp Asn Ile Asn Gln Val Leu Ile Phe Glu
 35 40 45

Ser Pro Leu Gln Ser Cys Gly Ser Gln Leu Arg Met Thr Thr Asn Ser
 50 55 60

Leu Ile Tyr Ile Phe Thr Leu Tyr Tyr Lys Pro Lys Pro Leu Ala Asn
 65 70 75 80

Thr Pro Leu Ile Arg Thr Asn Asp Ala Met Ile Asn Ile Glu Cys His

10

ES 2 741 586 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | |
| Tyr | Pro | Arg | Lys | His | Asn | Val | Ser | Ser | Leu | Ala | Leu | Ile | Pro | Thr | Trp | |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | |
| Thr | Pro | Phe | Ser | Ala | Ala | Lys | Tyr | Ala | Glu | Glu | Leu | Leu | Tyr | Phe | Ser | |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |
| Met | Arg | Leu | Met | Thr | Ala | Asp | Trp | Gln | Tyr | Glu | Arg | Ala | Gly | Asn | Met | |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | | |
| Tyr | Val | Leu | Gly | Asp | Met | Val | Asn | Ile | Glu | Ala | Ser | Val | Met | Gln | Tyr | |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 | |
| Phe | His | Val | Pro | Leu | Arg | Ile | Phe | Val | Asp | Ser | Cys | Val | Ala | Thr | Leu | |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | | |
| Glu | Pro | Asn | Ile | Asn | Ala | Asn | Pro | Arg | Tyr | Ala | Phe | Ile | Glu | Asn | His | |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | | |
| Gly | Cys | Leu | Ile | Asp | Ala | Lys | Met | Thr | Gly | Ser | His | Ser | Gln | Phe | Met | |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | | |
| Pro | Arg | Ser | Ala | Asp | Tyr | Lys | Leu | Tyr | Phe | Gln | Val | Glu | Ala | Phe | Arg | |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | | |

<210> 5
 <211> 439
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

5

<400> 5

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

10

ES 2 741 586 T3

Pro Ile Pro Gln Arg Ile Pro Tyr Thr Glu Asp Asp Thr Lys Gln Thr
 65 70 75 80

Cys Glu Val Val Asp Lys Asp Lys Val Ser Cys Gly Leu Ser Gly Ile
 85 90 95

Thr Ala Ala Gln Cys Gln Ala Ile Ser Cys Cys Phe Asp Gly Arg Met
 100 105 110

Cys Phe Tyr Gly Lys Thr Val Thr Val Gln Cys Thr Lys Asp Gly Gln
 115 120 125

Phe Val Val Val Val Ser Arg Asp Ala Thr Leu Pro Asn Leu Glu Leu
 130 135 140

Asp Ser Ile Ser Leu Leu Gly Ala Asn Gly Ala His Cys Thr Pro Val
 145 150 155 160

Gly Thr Thr Ser Ala Phe Ala Ile Tyr Gln Phe Lys Val Thr Glu Cys
 165 170 175

Gly Thr Val Val Thr Glu Glu Pro Asp Thr Ile Val Tyr Glu Asn Arg
 180 185 190

Met Ser Ser Ser Tyr Val Val Gly Ile Gly Pro Phe Gly Asp Ile Thr
 195 200 205

Arg Asp Ser His Tyr Asp Leu Val Phe Gln Cys Arg Tyr Thr Gly Thr
 210 215 220

Ser Val Glu Thr Leu Val Ile Glu Val Lys Thr Tyr Pro Asn Pro Asn
 225 230 235 240

Pro Val Val Thr Val Asp Ala Val Leu Asn Val Glu Leu Arg Leu Ala
 245 250 255

Asn Gly Arg Cys Leu Ser Lys Gly Cys Asp Glu Met Gln Glu Ala Tyr
 260 265 270

Thr Ser Tyr Tyr Thr Val Ala Asp Tyr Pro Val Thr Lys Val Leu Arg
 275 280 285

Asp Pro Val Tyr Ala Glu Val Arg Ile Leu Gly Met Thr Asp Pro Asn
 290 295 300

ES 2 741 586 T3

Val Val Leu Thr Leu Glu Gln Cys Trp Ala Thr Ile Asp Pro Thr Gly
305 310 315 320

Asp Arg Leu Pro Arg Trp Asp Leu Leu Val Asn Gly Cys Pro Tyr Gln
325 330 335

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

Pro Pro Gly Glu Phe Leu Ser His Tyr Lys Arg Phe Val Phe Lys Met
355 360 365

Phe Thr Phe Val Asp Pro Thr Ser Met Val Pro Leu Gln Glu Asn Val
370 375 380

Tyr Ile His Cys Arg Ala Thr Val Cys His Ala Leu Ala Gly Ser Cys
385 390 395 400

Glu Gln Arg Cys Asn Arg Gln Arg Arg Asp Leu Ser Ala Gln Gly Gln
405 410 415

Lys Lys Thr Lys Gly Asp Val Val Val Ser Ser Gln Lys Val Ile Met
420 425 430

Ile Asp Pro Ser Leu Tyr Ala
435

<210> 6

<211> 524

<212> PRT

<213> *Oncorhynchus masou*

<400> 6

Met Lys Trp Ser Ala Val Cys Leu Val Ala Val Ala Thr Leu Gly Trp
1 5 10 15

Leu Cys Asp Ala Gln Ile Tyr Leu Glu Lys Pro Gly Trp Pro Pro Ile
20 25 30

Gln Thr Pro Ala Ser Trp Pro Ala Gln Pro Pro Glu Lys Pro Val Gln
35 40 45

Pro Pro Gln Arg Pro Ala Gln Pro Pro Gln Trp Pro Ala Gln Pro Pro

5

10

ES 2 741 586 T3

| | | |
|--|-----|-----|
| 50 | 55 | 60 |
| Gln Trp Pro Ala Gln Pro Pro Gln Arg Pro Ala Gln Pro Pro Gln Arg 65 | 70 | 75 |
| Pro Ala Gln Thr Gln Gln Trp Pro Gly Gln Pro Pro Gln Arg Pro Ala 85 | 90 | 95 |
| Gln Pro Pro Gln Trp Pro Ala Gln Pro Pro Gln Arg Pro Ala Gln Pro 100 | 105 | 110 |
| Pro Gln Arg Pro Ala Gln Pro Pro Gln Arg Pro Ala Gln Pro Pro Pro 115 | 120 | 125 |
| Arg Pro Ala Gln Pro Pro Gln Trp Pro Val His Pro Pro Gln Trp Pro 130 | 135 | 140 |
| Val Gln Pro Gly Thr Pro Leu Gln Arg Pro Lys Phe Pro Ser Asp Pro 145 | 150 | 155 |
| Gly Ser Lys Gln Ser Cys Asp Val Asp Ser Gln His Lys Val Gln Cys 165 | 170 | 175 |
| Gly Leu Pro Asp Ile Thr Ala Ala His Cys Asp Ala Ile Asn Cys Cys 180 | 185 | 190 |
| Phe Asp Gly Arg Met Cys Phe Tyr Gly Lys Ala Val Thr Val Gln Cys 195 | 200 | 205 |
| Thr Lys Asp Gly Gln Phe Val Val Val Val Ala Arg Asp Ala Thr Leu 210 | 215 | 220 |
| Pro Ser Leu Glu Leu Asp Ser Ile Ser Leu Leu Gly Thr Asn Gly Pro 225 | 230 | 235 |
| His Cys His Ala Ile Gly Thr Thr Ser Val Phe Ala Ile Tyr Gln Phe 245 | 250 | 255 |
| Lys Val Thr Glu Cys Gly Thr Val Met Thr Glu Glu Thr Asp Thr Ile 260 | 265 | 270 |
| Ile Tyr Glu Asn Arg Met Ser Ser Ser Tyr Gln Val Gly Val Gly Pro 275 | 280 | 285 |

ES 2 741 586 T3

Phe Gly Ser Ile Thr Arg Asp Ser Gln Tyr Asp Leu Thr Phe Gln Cys
 290 295 300

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

Val Pro Pro Pro Asn Pro Asp Ile Ala Pro Gly Pro Leu Thr Val Glu
 325 330 335

Leu Arg Leu Gly Ser Gly Thr Cys Leu Thr Lys Gly Cys Asn Glu Glu
 340 345 350

Glu Val Ala Tyr Thr Ser Tyr Tyr Thr Glu Ala Asp Tyr Pro Val Thr
 355 360 365

Lys Val Leu Arg Asp Pro Val Tyr Thr Glu Val Arg Ile Leu Ala Arg
 370 375 380

Thr Asp Pro Asn Ile Val Leu Thr Leu Gly Arg Cys Trp Ala Thr Thr
 385 390 395 400

Asn Pro Asn Pro Leu Ser Leu Pro Gln Trp Asp Leu Leu Ile Asp Gly
 405 410 415

Cys Pro Tyr Gln Asp Asp Arg Tyr Leu Thr Thr Pro Ile Asn Val Gly
 420 425 430

Pro Ser Ser Gly Leu Ser Phe Pro Thr His Tyr Arg Arg Phe Val Leu
 435 440 445

Lys Met Phe Thr Phe Val Asp Pro Met Ser Met Thr Pro Leu Arg Glu
 450 455 460

Thr Val Phe Ile His Cys Asn Thr Ala Val Cys Leu Pro Ser His Gly
 465 470 475 480

Asp Ser Cys Glu Pro Arg Cys Tyr Arg Lys Arg Arg Asp Ile Pro Ala
 485 490 495

Ala Val Gln Lys Thr Thr Arg Ile Lys Ser Asn Leu Val Ser Ser Gly
 500 505 510

Glu Leu Ile Leu Thr Asp Pro Arg Glu Leu Thr Asn
 515 520

ES 2 741 586 T3

<211> 438
 <212> PRT
 <213> *Oncorhynchus masou*

5 <400> 7

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

ES 2 741 586 T3

Ile Asn Ile Glu Cys His Tyr Pro Arg Lys His Asn Val Ser Ser Leu
 195 200 205

Ala Leu Ile Pro Thr Trp Thr Pro Phe Ser Ala Ala Lys Tyr Ala Glu
 210 215 220

Glu Leu Leu Tyr Phe Ser Met Arg Leu Met Thr Ala Asp Trp Gln Tyr
 225 230 235 240

Glu Arg Ala Gly Asn Met Tyr Val Leu Gly Asp Met Val Asn Ile Glu
 245 250 255

Ala Ser Val Met Gln Tyr Phe His Val Pro Leu Arg Ile Phe Val Asp
 260 265 270

Ser Cys Val Ala Thr Leu Glu Pro Asn Ile Asn Ala Asn Pro Arg Tyr
 275 280 285

Ala Phe Ile Glu Asn His Gly Cys Leu Ile Asp Ala Lys Met Thr Gly
 290 295 300

Ser His Ser Gln Phe Met Pro Arg Ser Ala Asp Tyr Lys Leu Tyr Phe
 305 310 315 320

Gln Val Glu Ala Phe Arg Phe Gln Ser Gln Arg Gly Ser Asp Pro Ile
 325 330 335

Ile Pro Gln Lys Thr Lys Ile Pro Phe Gln Pro Ala Ala Asp Tyr Pro
 340 345 350

Ala Thr Leu Asp Met Ile Phe Leu Thr Cys His Leu Lys Ala Thr Thr
 355 360 365

Ile Ala Phe Pro Ile Asp Phe Glu Tyr Lys Ala Cys Ser Phe Ile Asn
 370 375 380

Thr Trp Arg Glu Ala Gly Gly Asn Asp Gly Val Cys Gly Cys Cys Asp
 385 390 395 400

Ser Thr Cys Ser Asn Arg Lys Gly Arg Asp Thr Thr Thr His Gln Lys
 405 410 415

Pro Ala Asn Ile Trp Glu Gly Asp Val Gln Leu Gly Pro Ile Phe Ile
 420 425 430

ES 2 741 586 T3

Ser Glu Lys Val Glu Gln
435

5 <210> 8
<211> 467
<212> PRT
<213> *Salmo salar*

<400> 8

Lys Trp Ser Tyr Gln Leu Pro Gln Lys Leu Ala Gln Pro Leu Pro Gln
1 5 10 15

Lys Pro Ala Gln Pro Leu Pro Gln Trp Pro Val Gln Pro Leu Pro Gln
20 25 30

Arg Pro Ala Glu Pro Leu Pro Gln Arg Pro Ala Gln Pro Leu Pro Gln
35 40 45

Trp Pro Val Gln Pro Leu Pro Gln Arg Pro Ala Glu Pro Leu Pro Gln
50 55 60

Arg Pro Ala Gln Pro Leu Pro Gln Arg Pro Val Gln Pro Leu Pro Gln
65 70 75 80

Arg Pro Ala Gln Pro Phe Leu Gln Lys Pro Ala Gln Pro Ile Pro Gln
85 90 95

Arg Ile Pro Tyr Thr Lys Asp Asp Thr Lys Gln Thr Cys Glu Val Val
100 105 110

Asp Lys Asp Lys Val Ser Cys Gly Leu Ser Gly Ile Thr Ala Ala Gln
115 120 125

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

Lys Thr Val Thr Phe Gln Cys Thr Lys Asp Gly Gln Phe Val Val Val
145 150 155 160

Val Ser Arg Asp Ala Thr Leu Pro Asn Leu Glu Leu Asp Ser Ile Ser
165 170 175

10 Leu Leu Gly Ala Asn Gly Ala His Cys Thr Pro Val Gly Thr Thr Ser

ES 2 741 586 T3

| | | |
|--|-----|-----|
| 180 | 185 | 190 |
| Ala Phe Ala Ile Tyr Gln Phe Lys Val Thr Glu Cys Gly Thr Val Val 195 200 205 | | |
| Thr Glu Glu Pro Asp Thr Ile Val Tyr Glu Asn Arg Met Ser Ser Ser 210 215 220 | | |
| Tyr Val Val Gly Ile Gly Pro Phe Gly Asp Ile Thr Arg Asp Ser His 225 230 235 240 | | |
| Tyr Asp Leu Val Phe Gln Cys Arg Tyr Thr Gly Thr Ser Val Glu Thr 245 250 255 | | |
| Leu Val Ile Glu Val Lys Thr Tyr Pro Asn Pro Asn Pro Val Val Thr 260 265 270 | | |
| Val Asp Ala Val Leu Asn Val Glu Leu Arg Leu Ala Asn Gly Arg Cys 275 280 285 | | |
| Leu Ser Lys Gly Cys Asp Glu Met Gln Glu Ala Tyr Thr Ser Tyr Tyr 290 295 300 | | |
| Thr Val Ala Asp Tyr Pro Val Thr Lys Val Leu Arg Asp Pro Val Tyr 305 310 315 320 | | |
| Ala Glu Val Arg Ile Leu Gly Met Thr Asp Pro Asn Val Val Leu Thr 325 330 335 | | |
| Leu Glu Gln Cys Trp Ala Thr Thr Asp Pro Thr Gly Asp Arg Leu Pro 340 345 350 | | |
| Arg Trp Asp Leu Leu Val Asn Gly Cys Pro Tyr Gln Asp Asp Arg Tyr 355 360 365 | | |
| Leu Thr Val Pro Ile Ala Ser Asp Ser Ser Tyr Ile Pro Pro Gly Glu 370 375 380 | | |
| Phe Leu Ser His Tyr Lys Arg Phe Val Phe Lys Met Phe Thr Phe Val 385 390 395 400 | | |
| Asp Pro Thr Ser Met Val Pro Leu Gln Glu Asn Val Tyr Ile His Cys 405 410 415 | | |

ES 2 741 586 T3

Arg Ala Thr Val Cys His Ala Leu Ala Gly Ser Cys Glu Gln Arg Cys
 420 425 430

Asn Arg Gln Arg Arg Asp Leu Ser Ala Gln Gly Gln Lys Lys Thr Lys
 435 440 445

Gly Asp Val Val Val Ser Ser Gln Lys Val Ile Met Ile Asp Pro Ser
 450 455 460

Leu Tyr Ala
 465

5 <210> 9
 <211> 924
 <212> ADN
 <213> *Salmo salar*

<400> 9

atggaccaca gaccactct tagcctgctt ctgctgctgc tgctgctggg cctatcacag 60
 gccagtggaa atgagttcca tgatgagccg gaccatgtgt ccatcacttc agtaatcctg 120
 aagtccaaca acggaaccaa tgagctactg ctggatggag acattctagc tcctagaacc 180
 aggaacgcca tgaagtgctt tagcagccag tacagctgtc tctggaagaa gtcattctgac 240
 ggcttggtgt acgtgcctta catcctcagc gctgtatatt ccagcttggg gtagagact 300
 attgagacgg ccatgaagta cttccaaggc aagacctgca tccgcttcat tccacgtaag 360
 acacagactg cctacctgga cattcagagc agcggcgggt gttttggtac cgtggggact 420
 gttggggaca ggcagacatt gtctcttgca cagtttggct gtgttcaaca tggatatcatc 480
 cagcatgagc tgcttcacgc cctgggcttc taccacgagc acaacaggag tgaccgtgaa 540
 cagtatatca ggatcaactg gcaatacatc tatgactacg ccgttgggaa cttccagaag 600
 gaggacacca acaacctgca cactgcatac gactactcct ctgtcatgca ctatgataga 660
 accgcttaca ctaacgacta cggaaaggaa accatcactc ccatcccaga cccatctgtg 720
 gccattggac agagactggg catgtccgac attgatgtcc tgaaggtcaa caagctctac 780
 caatgctaag aggaagagcg ccattgttga aaatgtgtga tgctggatgt gctgtcatgt 840
 gctgatgtat tttattgttg gaagtttgta tgtatccttt taatcacatt ggtaataata 900
 10 aagcatggtt atggtaaaaa aaaa 924

15 <210> 10
 <211> 351
 <212> ADN
 <213> *Salmo salar*

<400> 10

ES 2 741 586 T3

acagtgactg tccagtgtac caaggatggc cagtttgtgg tggtggtttc cagggatgcc 60
 actctgcccc accttgagct agattccatc agcctgctag gggcaaacgg agcccactgc 120
 acccctgtcg gcaccacatc tgcctttgcc atctaccagt tcaaagttac tgaatgtgga 180
 actgtggtga cggaggaacc tgatactatt gtctatgaga acaggatgtc ctcttcatat 240
 gtagtgggga ttggaccctt cggcgacatt accagggaca gccactatga cctggtcttc 300
 cagtgtcggg atactgggac ttccgttgag acattgggta tcgaggtgaa a 351

5

<210> 11
 <211> 783
 <212> ADN
 <213> *Salmo salar*

<400> 11

gcagtgactg ttcagtgtac caaggatggc cagtttgtgg tggtggtggc cagggatgcc 60
 actctgcccc gcctggaact ggactccatc agcctgctgg ggacaaacgg accccactgc 120
 catgctattg gcacaacttc tgtctttgcc atctaccagt ttaaagtcac tgaatgtgga 180
 actgtcatga cggaggaaac tgatactatt atctatgaga ataggatgtc ctcttcatat 240
 caagtggggg ttggcccctt tggctccatc accagggaca gccaatatga tctaacattc 300
 cagtgcagat ataagggcag taccattgtg gctgtgggta ttgatgtgaa gccggttcct 360
 cctccaaatc ctgatatagc tcttggaacc ctcacagttg agctcagact cggcagcggg 420
 acatgcctta ccaagggatg taatgaagag gaagtggcct acacctctta ctacacagag 480
 gcagactacc ctgtcaccaa ggtcctcagg gatcctgtgt aactgaggt tcgcatcctg 540
 gcgaggacag atcccaacat tgtgctgacc ctgggtcgct gctgggctac cacaaacca 600
 aaccctctca gcctgcccc gtgggacctt ctcaattgat gatgtcctta ccaggatgac 660
 cgttacctga ccaactccat caatgtggga ccctcttcgg gtctgtcctt cccaaccac 720
 tacagggcgt tcgtccttaa gatgttcacc tttgtggatc caatgtctat gacccccctg 780

10

agg 783

15

<210> 12
 <211> 672
 <212> ADN
 <213> *Salmo salar*

<400> 12

ES 2 741 586 T3

```

gctgagtgca gggagaacat ggtccacgtg gaagcgaagc atgacctgct ggggatcggc      60
cagttgatcc agctagaaga cctcactttg ggagactgcc ctatgtctgg attcgacaat      120
atcaaccagg tgctcatctt tgagtctccg ctgcagtcac gtggcagcca gctaaggatg      180
actaccaact ccctcatcta catcttcact ctatattaca aacccaaacc tctggcaaac      240
acccccctca tcaggacaaa tgacgcgatg atcaatattg agtgccacta tccaaggaaa      300
cacaatgtga gcagcctggc cctgatccca acctggaccc ctttctccgc tgctaagtat      360
gcagaggaac tcctgtactt ctccatgagg ctcatgactg ctgactggca gtatgagagg      420
gccggtaaca tgtacgtggt gggtgatatg gtgaacatcg aggcctctgt catgcagtac      480
ttccacgttc ccctgcgtat ctttgtggac agctgtgtgg ccaccctgga acccaacata      540
aacgccaatc ccagatatgc cttcattgag aatcatgggt gtctgatcga tgccaaaatg      600
acaggttccc actcccagtt catgcctcgt tccgcagact acaagctgta tttccagggt      660
gaggctttca gg                                                                672

```

5

```

<210> 13
<211> 1320
<212> ADN
<213> Salmo salar

<400> 13

```

ES 2 741 586 T3

atgaagtgga gtgcagtttg tctagtggca gtggccacgc ttggctggct gtgtgatgct 60
cagaatttct tggaaaaacc aggggtggcca cccatccaga caccaccgtc atggcctccc 120
caaaccctc agaggcctgt ccaaccctt cctcagagac ctgctcaacc ctttcttcag 180
aagcctgccc aaccataacc tcaacggata ccctacaccg aagacgacac aaaacagacc 240
tgtgaggttg tggacaagga caaggtgtcg tgtggacttt ctggcatcac tgctgcccac 300
tgccaggcca tcagctgctg ttttgatgga cggatgtgct tctacgggaa aacagtgact 360
gtccagtgta ccaaggatgg ccagtttgtg gtggtggttt ccagggatgc cactctgccc 420
aaccttgagc tagattccat cagcctgcta ggggcaaacg gagcccactg caccctgtc 480
ggcaccacat ctgcctttgc catctaccag ttcaaagtta ctgaatgtgg aactgtggtg 540
acggaggaac ctgatactat tgtctatgag aacaggatgt cctcttcata tgtagtgggg 600
attggaccct tcggcgacat taccaggac agccactatg acctggtctt ccagtgtcgg 660
tatactggga cttccgttga gacattggtt atcgaggtga aaacgtatcc aaacccaac 720
ccagtggcca ctggtgatgc agttctcaac gtggagctcc gactggccaa tggacgttgt 780
ctctccaagg gatgtgatga aatgcaagaa gcatacacct ctactacac ggtggcagac 840
taccctgtca ccaaggctct cagggatccc gtgtacgctg aggttcgcat cctgggggatg 900
acagatccca atgttgtcct gacactggag cagtgtctgg ccacataga cccacaggt 960
gataggctgc cccggtggga cctactagtt aatgggtgtc cctaccagga tgaccgttac 1020
ctgaccgtgc ccatgcctc ggacagctcc tatatccctc cgggagaatt cttatcccac 1080
tacaagcgct tcgtcttcaa gatgttcacc tttgtggatc cgacatctat ggtccccctg 1140
caggagaacg tgtacatcca ctgtcgtgca acagtgtgcc acgctctagc aggatcctgt 1200
gaacaaaggt gcaacaggca aaggagagat ctttctgctc aaggccaaaa gaagactaaa 1260
ggagatggtg tggtttccag tcaaaaagtc atcatgattg acccaagtct ttatgcttaa 1320

5 <210> 14
<211> 1575
<212> ADN
<213> *Oncorhynchus masou*

10 <400> 14

ES 2 741 586 T3

atgaagtgga gtgcagtttg tctagtgga gtggccacgc ttggctggct gtgtgatgct 60
 cagatttact tggaaaaacc aggggtggcca cccatccaga caccagcgtc atggcctgcc 120
 caaccccctg agaagcctgt tcaaccccct cagaggcctg cccagcccc tcagtggcct 180
 gccagcccc ctcagtggcc tgcccagccc cctcagaggc ctgcccagcc ccctcagagg 240
 cctgccc aaa cccagcagtg gcctggccaa ccccctcaga ggccctgccc gccccctcag 300
 tggcctgccc aaccccctca gaggcctgcc caaccccctc aaagacctgc ccaaccccct 360
 cagaggcctg cccaaccccc tccgaggcct gcccaacccc ctcagtggcc tgttcatccc 420
 cctcagtggc ctgtccaacc cggtagcgcg cttcagaggc ctaaattccc ctctgacca 480
 ggctcaaagc agagctgtga tgttgatagc caacacaagg tgcagtgtgg acttctctgac 540
 atcactgccg ccatttgtga tgccattaac tgctgttttg atggacggat gtgcttctac 600
 ggaaaagcag tgactgttca gtgtaccaag gatggccagt ttgtgggtgg ggtggccagg 660
 gatgccactc tgcccagcct ggaactggac tccatcagcc tgctggggac aaacggaccc 720
 cactgccatg ctattggcac aacttctgtc tttgccatct accagtttaa agtcaactgaa 780
 tgtggaactg tcatgacgga ggaaactgat actattatct atgagaatag gatgtcctct 840
 tcatatcaag tgggggttg cccctttggc tccatcacca gggacagcca atatgatcta 900
 acattccagt gcagatataa gggcagtacc attgtggctg tggttattga tgtgaagccg 960
 gttcctctc caaatcctga tatagctcct ggaccctca cagttgagct cagactcggc 1020
 agcggaaacat gccttacc aa gggatgtaat gaagaggaag tggcctacac ctcttactac 1080
 acagaggcag actaccctgt caccaaggct ctcagggatc ctgtgtacac tgaggttcgc 1140
 atcctggcga ggacagatcc caacattgtg ctgaccctgg gtcgctgctg ggctaccaca 1200
 aacccaaacc ctctcagcct gcccagtg gaccttctca ttgatggatg tccttaccag 1260
 gatgaccgtt acctgaccac tccatcaat gtgggaccct cttcgggtct gtccttccca 1320
 accactaca ggcgcttcgt ccttaagatg ttcaccttg tggatccaat gtctatgacc 1380
 cccctgaggg agacgggtgt catccattgt aatacagctg tgtgtctgcc atccatgga 1440
 gacagctgtg aaccaagatg ctacagaaag aggagagaca ttctgctgc agtccagaag 1500
 accaccagaa tcaagtctaa tttggtttcc agtggcgaac tgatcctgac tgaccaag 1560
 gagctacca actag 1575

- 5 <210> 15
- <211> 1317
- <212> ADN
- <213> *Oncorhynchus masou*

ES 2 741 586 T3

<400> 15

atggcgatga agtggagtgt agtttgtctc gtggcagtgg ccatgcttgg ctgtctgtgt 60
 gttgctcaga tttggccacc ctccattaa ccagtgacgc aacccttcag acccaatcgt 120
 ccaccacctc agcagcctca gcaaccaccg tatkagaaac ccaggatccc accaaaagac 180
 caaaccagc ccaagcagaa gtttgagaca ccattggatt ggacctatcc tctggacca 240
 aagccagagc ccaagattat tgggggctca gaggcgagaa ccctgtggc tgccaattca 300
 gtgagggctg agtgcagga gaacatggc cacgtggaag cgaagcatga cctgctggg 360
 atcggccagt tgatccagct agaagacctc actttgggag actgccctat gtctggattc 420
 gacaatatca accaggtgct catctttgag tctccgctgc agtcatgtgg cagccagcta 480
 aggatgacta ccaactccct catctacatc ttcactctat attacaaacc caaacctctg 540
 gcaaacacc ccctcatcag gacaaatgac gcgatgatca atattgagtg ccaactatcca 600
 aggaaacaca atgtgagcag cctggccctg atcccaacct ggacccttt ctccgctgct 660
 aagtatgcag aggaactcct gtacttctcc atgaggetca tgactgctga ctggcagtat 720
 gagagggccg gtaacatgta cgtgttgggt gatatggtga acatcgagc ctctgtcatg 780
 cagtacttcc acgttccct gcgtatcttt gtggacagct gtgtggccac cctggaacc 840
 aacataaacg ccaatcccag atatgccttc attgagaatc atgggtgtct gatcgatgcc 900
 aaaatgacag gttcccactc ccagttcatg cctcgttccg cagactacaa gctgtatttc 960
 5 caggtggagg ctttcagggt ccagagccag agggggagtg acccaattat tccgcagaaa 1020
 acaaagatac cttttcagcc tgcggcagat tatcccgcta cgctcgacat gatcttcctt 1080
 acctgtcacc tgaaggcaac cacaatcgct ttccccattg attttgagta caaggcctgc 1140
 tctttcatta atacgtggag ggaggctggt gggaatgatg gagtgtgtgg ctgctgtgac 1200
 tccacctgta gcaacaggaa gggacgcgat accactacac atcaaaaacc agcaaatata 1260
 tgggagggag atgttcagct tgggtccatc tttatctcgg aaaagggtga gcaataa 1317

<210> 16
 <211> 1405
 <212> ADN
 <213> *Salmo salar*

<400> 16

10

ES 2 741 586 T3

gaagtggctt taccaactcc ctcagaagct tgcccaaccc cttcctcaga agcctgccca 60
 acctcttcct cagtggcctg tccaaccocct tcctcagagg cctgctgaac cccttcctca 120
 gaggcctgct caaccocctc ctcagtggcc tgtccaaccc cttcctcaga ggccctgctga 180
 accccttcct cagaggcctg ctcaaccocct tcctcagagg cctgtccaac cccttcctca 240
 gagacctgct caaccctttc ttcagaagcc tgcccaaccc atacctcaac ggatacccta 300
 caccaaagac gacacaaaac agacctgtga ggttgtggac aaggacaagg tgtcgtgtgg 360
 actttctggc atcactgctg cccaatgccca ggccatcagc tgctgttttg atggacggat 420
 gtgcttctac gggaaaacag tgactttcca gtgtaccaag gatggccagt ttgtgggtgg 480
 ggtttcagg gatgccactc tgcccaacct tgagctagat tccatcagcc tgctaggggc 540
 aaacggagcc cactgcaccc ctgtcggcac cacatctgcc tttgccatct accagttcaa 600
 agttactgaa tgtggaactg tggtgacgga ggaacctgat actattgtct atgagaacag 660
 gatgtcctct tcatatgtag tggggattgg acccttcggc gacattacca gggacagcca 720
 ctatgacctg gtcttccagt gtcggtatac tgggacttcc gttgagacat tggttatcga 780
 ggtgaaaacg tatccaaacc ccaaccagc ggtcactggt gatgcagttc tcaacgtgga 840
 gctccgactg gccaatggac gttgtctctc caagggatgt gatgaaatgc aagaagcata 900
 cacctcttac tacacggtag cagactaccc tgtcaccaag gtcctcaggg atcccgtgta 960
 cgctgagggt cgcacccctg ggatgacaga tcccaatggt gtcctgacac tggagcagtg 1020
 ctgggccacc acagaccca caggatgatg gctgccccgg tgggacctac tagttaatgg 1080
 gtgtccctac caggatgacc gttacctgac cgtgcccatc gcctcggaca gctcctatat 1140
 ccctccggga gaattcttat ccactacaa gcgcttcgtc ttcaagatgt tcacctttgt 1200
 ggatccgaca tctatgggcc ccctgcagga gaacgtgtac atccactgtc gtgcaacagt 1260
 gtgccacgct ctagcaggat cctgtgaaca aagggtgcaac aggcaaagga gagatctttc 1320
 tgctcaaggc caaagaaga ctaaaggaga tgttgtggtt tccagtcaaa aagtcacat 1380
 gattgacca agtctttatg cttaa 1405

5 <210> 17
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

10 <400> 17

Asp Gly Gln Phe Val Val Val Val Ser Arg
 1 5 10

ES 2 741 586 T3

<210> 18
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*
 5
 <400> 18
 Asp Ser His Tyr Asp Leu Val Phe Gln Cys Arg
 1 5 10
 10
 <210> 19
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*
 15
 <400> 19
 Tyr Thr Gly Thr Ser Val Glu Thr Leu Val Ile Glu Val Lys
 1 5 10
 20
 <210> 20
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*
 25
 <400> 20
 Met Ser Ser Ser Tyr Val Val Gly Ile Gly Pro Phe Gly Asp Ile Thr
 1 5 10 15
 Arg
 30
 <210> 21
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*
 <400> 21
 Met Ser Ser Ser Tyr Val Val Gly Ile Gly Pro Phe Gly Asp Ile Thr
 1 5 10 15
 Arg
 35
 <210> 22
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*
 40
 <400> 22
 Thr Val Thr Val Gln Cys Thr Lys Asp Gly Gln Phe Val Val Val Val
 1 5 10 15
 Ser Arg
 45
 <210> 23
 <211> 20
 <212> PRT

ES 2 741 586 T3

<213> *Salmo salar*

<400> 23

Val Thr Glu Cys Gly Thr Val Val Thr Glu Glu Pro Asp Thr Ile Val
1 5 10 15

Tyr Glu Asn Arg
20

5

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

10 <213> *Salmo salar*

<400> 24

Asp Gly Gln Phe Val Val Val Val Ala Arg
1 5 10

15

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

20 <213> *Salmo salar*

<400> 25

Thr Asp Pro Asn Ile Val Leu Thr Leu Gly Arg
1 5 10

25

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

30 <213> *Salmo salar*

<400> 26

Val Leu Arg Asp Pro Val Tyr Thr Glu Val Arg
1 5 10

35

<210> 27

<211> 11

<212> PRT

40 <213> *Salmo salar*

<400> 27

Asp Ser Gln Tyr Asp Leu Thr Phe Gln Cys Arg
1 5 10

45

<210> 28

<211> 14

<212> PRT

50 <213> *Salmo salar*

<400> 28

Met Phe Thr Phe Val Asp Pro Met Ser Met Thr Pro Leu Arg
1 5 10

50

ES 2 741 586 T3

<210> 29
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*
 5
 <400> 29
 Met Phe Thr Phe Val Asp Pro Met Ser Met Thr Pro Leu Arg
 1 5 10
 10
 <210> 30
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*
 15
 <400> 30
 Met Phe Thr Phe Val Asp Pro Met Ser Met Thr Pro Leu Arg
 1 5 10
 20
 <210> 31
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*
 25
 <400> 31
 Met Ser Ser Ser Tyr Gln Val Gly Val Gly Pro Phe Gly Ser Ile Thr
 1 5 10 15
 Arg
 30
 <210> 32
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*
 <400> 32
 Met Ser Ser Ser Tyr Gln Val Gly Val Gly Pro Phe Gly Ser Ile Thr
 1 5 10 15
 Arg
 35
 <210> 33
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*
 40
 <400> 33
 Ala Val Thr Val Gln Cys Thr Lys Asp Gly Gln Phe Val Val Val Val
 1 5 10 15
 Ala Arg
 45
 <210> 34

ES 2 741 586 T3

<211> 20
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

5 <400> 34

Val Thr Glu Cys Gly Thr Val Met Thr Glu Glu Thr Asp Thr Ile Ile
 1 5 10 15
 Tyr Glu Asn Arg
 20

10 <210> 35
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

15 <400> 35

Val Thr Glu Cys Gly Thr Val Met Thr Glu Glu Thr Asp Thr Ile Ile
 1 5 10 15
 Tyr Glu Asn Arg
 20

20 <210> 36
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

<400> 36

25 Ala Glu Cys Arg Glu Asn Met Val His Val Glu Ala Lys
 1 5 10

30 <210> 37
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

<400> 37

35 Ala Glu Cys Arg Glu Asn Met Val His Val Glu Ala Lys
 1 5 10

40 <210> 38
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

<400> 38

45 Thr Asn Asp Ala Met Ile Asn Ile Glu Cys His Tyr Pro Arg
 1 5 10

<210> 39
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

ES 2 741 586 T3

<400> 39

Thr Asn Asp Ala Met Ile Asn Ile Glu Cys His Tyr Pro Arg
 1 5 10

5

<210> 40
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

10

<400> 40

Tyr Ala Glu Glu Leu Leu Tyr Phe Ser Met Arg
 1 5 10

15

<210> 41
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

20

<400> 41

Tyr Ala Glu Glu Leu Leu Tyr Phe Ser Met Arg
 1 5 10

25

<210> 42
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

30

<400> 42

Leu Met Thr Ala Asp Trp Gln Tyr Glu Arg
 1 5 10

35

<210> 43
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

<400> 43

Leu Met Thr Ala Asp Trp Gln Tyr Glu Arg
 1 5 10

40

<210> 44
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> *Salmo salar*

45

<400> 44

Ile Phe Val Asp Ser Cys Val Ala Thr Leu Glu Pro Asn Ile Asn Ala
 1 5 10 15

Asn Pro Arg

50

<210> 45
 <211> 11

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica o cosmética que comprende:

- 5 (i) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1; o
 (ii) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es al
 10 (iii) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una parte de una secuencia de
 aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte comprende al menos 100 aminoácidos;
 o
 (iv) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una parte de una secuencia de
 aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte es al menos 50 % idéntica a una secuencia
 de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1 y comprende al menos 100 aminoácidos; y/o
 15 (v) una o más moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido como se expone en cualquiera de (i) a (iv)
 anteriores o una secuencia complementaria del mismo,

y uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéutica o cosméticamente aceptables, en donde la composición es un
 gel, crema, pomada, loción, espuma, solución no acuosa, pulverización, bálsamo, barra, jabón, polvo, película,
 emulsión, suspensión o dispersión.

20 2. Una composición según la reivindicación 1, en donde dicha composición comprende un polipéptido que comprende
 una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1 o un polipéptido que tiene actividad
 metaloproteínasa que comprende una parte de una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1,
 en donde dicha parte comprende al menos 100 aminoácidos.

25 3. Una composición según la reivindicación 1 o 2, en donde dicha parte de polipéptido comprende al menos 150
 aminoácidos.

30 4. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicha parte de polipéptido comprende
 al menos 200 aminoácidos.

5. Una composición que comprende:

- 35 (i) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1; o
 (ii) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es al
 menos 50 % idéntica a una secuencia como se expone en la SEQ ID NO. 1; o
 (iii) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una parte de una secuencia de
 aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte comprende al menos 100 aminoácidos;
 o
 40 (iv) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una parte de una secuencia de
 aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte es al menos 50 % idéntica a una secuencia
 de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1 y comprende al menos 100 aminoácidos; y/o
 (v) una o más moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido como se expone en cualquiera de (i) a (iv)
 45 anteriores o una secuencia complementaria del mismo,

y uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéutica o cosméticamente aceptables, para su uso en terapia.

6. Un método cosmético para exfoliar y/o hidratar la piel de un animal en donde:

- 50 (a) un polipéptido como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4;
 (b) molécula de ácido nucleico como se define en la reivindicación 1; o
 (c) composición farmacéutica que comprende:
 (i) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1; o
 55 (ii) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es
 al menos 50 % idéntica a una secuencia como se expone en la SEQ ID NO. 1; o
 (iii) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una parte de una secuencia de
 aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte comprende al menos 100 aminoácidos;
 o
 60 (iv) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una parte de una secuencia de
 aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte es al menos 50 % idéntica a una
 secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1 y comprende al menos 100 aminoácidos; y/o
 (v) una o más moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido como se expone en cualquiera de (i) a
 (iv) anteriores o una secuencia complementaria del mismo,
 65

y uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéutica o cosméticamente aceptables,

se administran a dicho animal.

7. Un polipéptido como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, molécula de ácido nucleico como se define en la reivindicación 1 o composición farmacéutica que comprende:

- 5
- (i) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1; o
 - (ii) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 50 % idéntica a una secuencia como se expone en la SEQ ID NO. 1; o
 - 10 (iii) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una parte de una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte comprende al menos 100 aminoácidos; o
 - (iv) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una parte de una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte es al menos 50 % idéntica a una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1 y comprende al menos 100 aminoácidos; y/o
 - 15 (v) una o más moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido como se expone en cualquiera de (i) a (iv) anteriores o una secuencia complementaria del mismo,

y uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéutica o cosméticamente aceptables, para su uso en el tratamiento o prevención de eccema, dermatitis de contacto, psoriasis, ictiosis o acné.

20 8. Un polipéptido como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, molécula de ácido nucleico como se define en la reivindicación 1 o composición farmacéutica que comprende:

- 25
- (i) un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1; o
 - (ii) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 50 % idéntica a una secuencia como se expone en la SEQ ID NO. 1; o
 - (iii) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una parte de una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte comprende al menos 100 aminoácidos; o
 - 30 (iv) un polipéptido que tiene actividad metaloproteínasa que comprende una parte de una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1, en donde dicha parte es al menos 50 % idéntica a una secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO. 1 y comprende al menos 100 aminoácidos; y/o
 - (v) una o más moléculas de ácido nucleico que codifican un polipéptido como se expone en cualquiera de (i) a (iv) anteriores o una secuencia complementaria del mismo,

35 y uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéutica o cosméticamente aceptables, para su uso en el tratamiento o prevención de una afección o trastorno de la piel de un animal en donde dicha piel está anormalmente seca, la capa córnea de la piel está anormalmente engrosada o la piel tiene un trastorno de la pigmentación.

40 9. El polipéptido, molécula de ácido nucleico o composición farmacéutica para su uso de la reivindicación 8, en donde la afección o trastorno cutáneo para tratar o prevenir es callos, helomas, verrugas o manchas cutáneas.

FIGURA 1

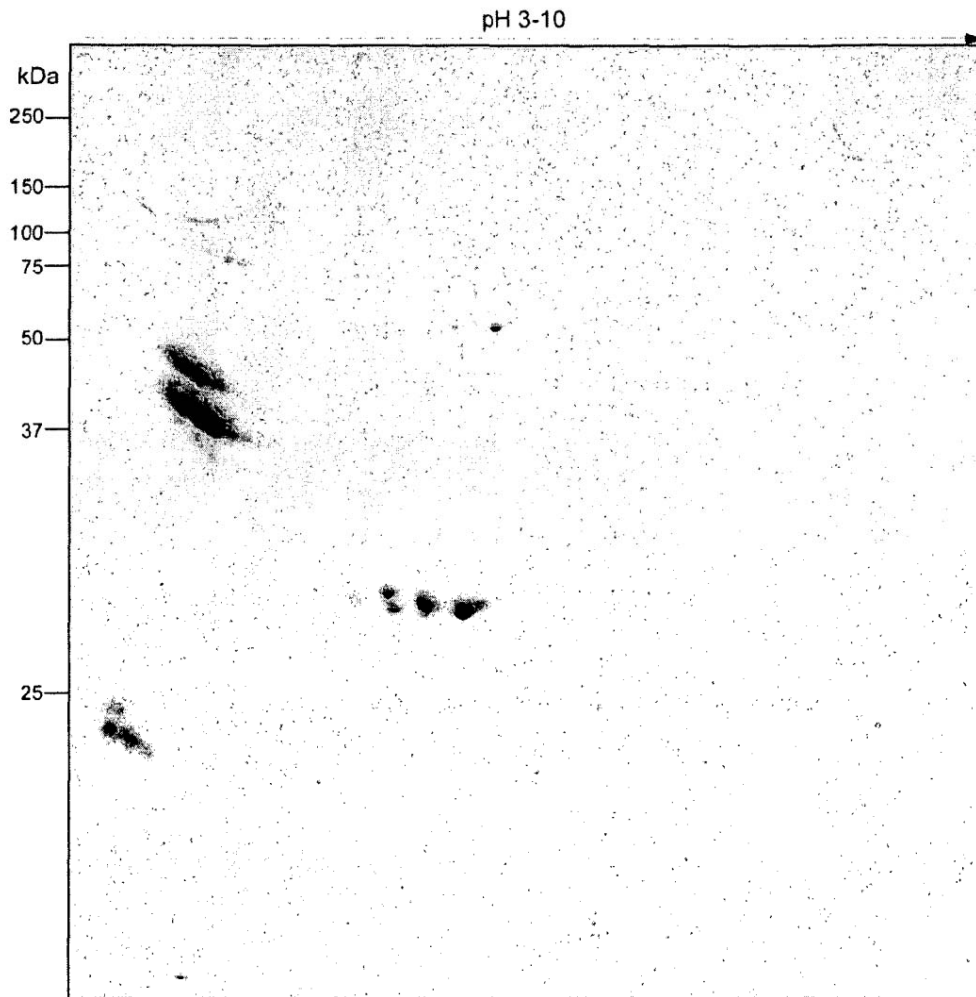


Figura 2A

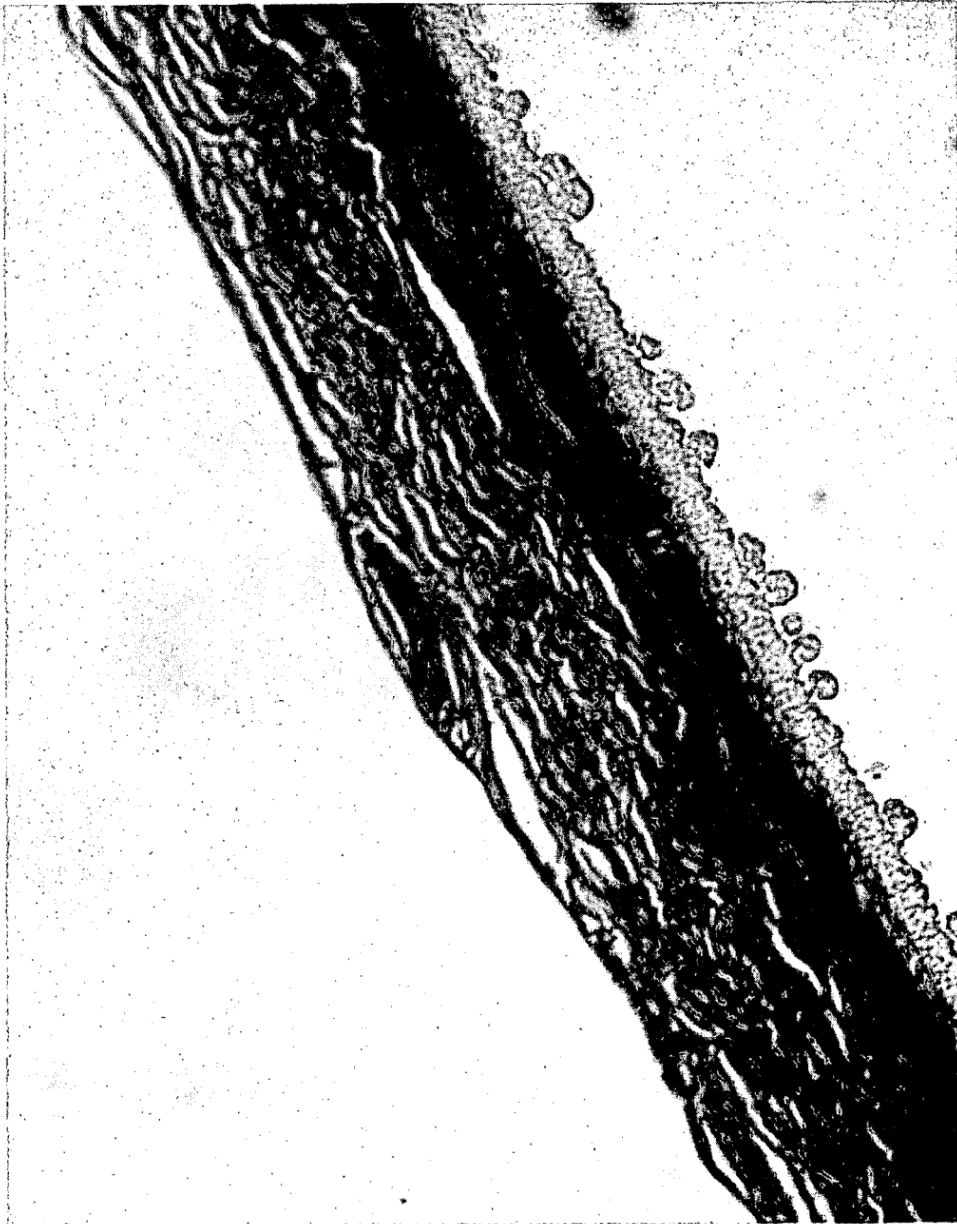


Figura 2B



Figura 2C

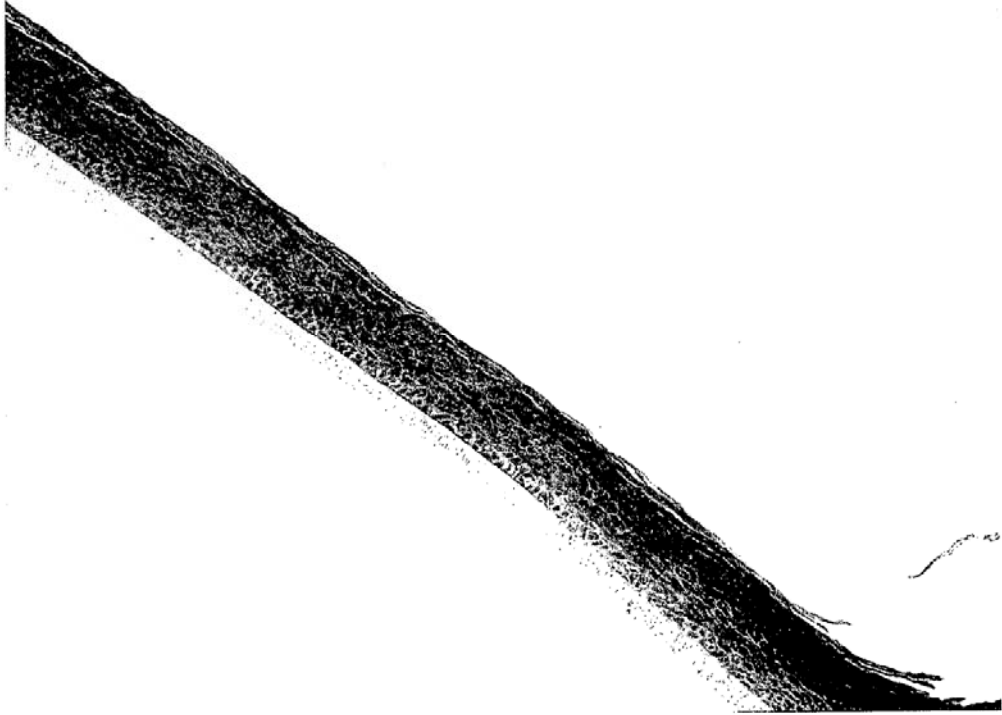


Figura 3A

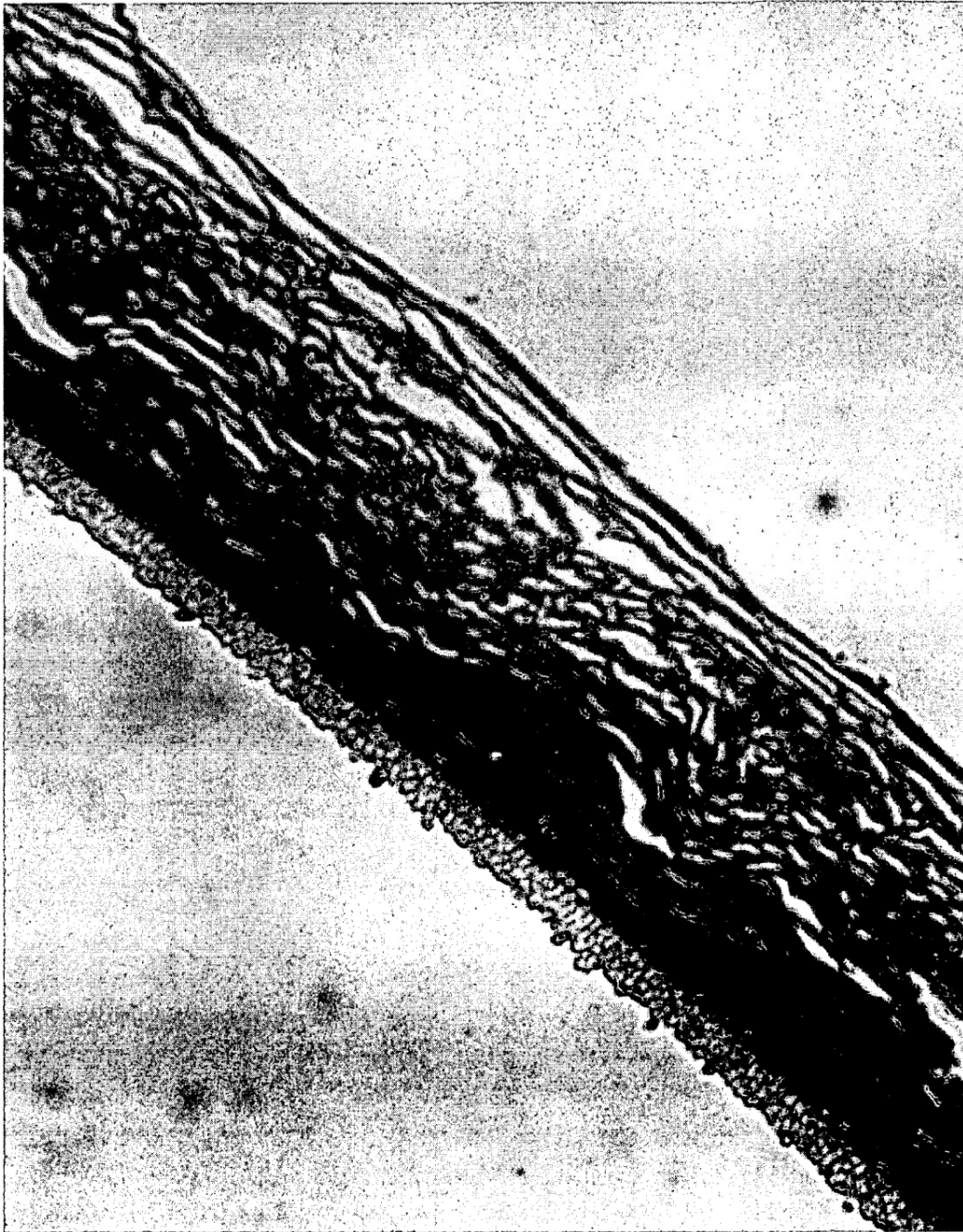


Figura 3B

