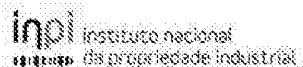


---

(11) Número de Publicação: **PT 2397553 E**



(51) Classificação Internacional:

**C12N 15/12** (2016.01) **A61K 39/00** (2016.01)  
**C07K 14/435** (2016.01) **A61P 37/04** (2016.01)

**(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

---

(22) Data de pedido: **2005.07.28**

(30) Prioridade(s): **2004.07.28 US 591626 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2011.12.21**

(45) Data e BPI da concessão: **2016.05.04**  
**111/2016**

(73) Titular(es):

**NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF CANADA**  
**1200 MONTRÉAL ROAD OTTAWA, ONTARIO**  
**K1A 0R6** CA

(72) Inventor(es):

**NEIL W ROSS** CA  
**STEWART C JOHNSON** CA  
**MARK D FAST** CA  
**KATHRYN VANYA EWART** CA

(74) Mandatário:

**ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS**  
**RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA** PT

(54) Epígrafe: **VACINAS RECOMBINANTES CONTRA COPÉPODES CALIGÍDEOS (PIOLHOS MARINHOS) E SUAS SEQUÊNCIAS ANTIGÉNICAS**

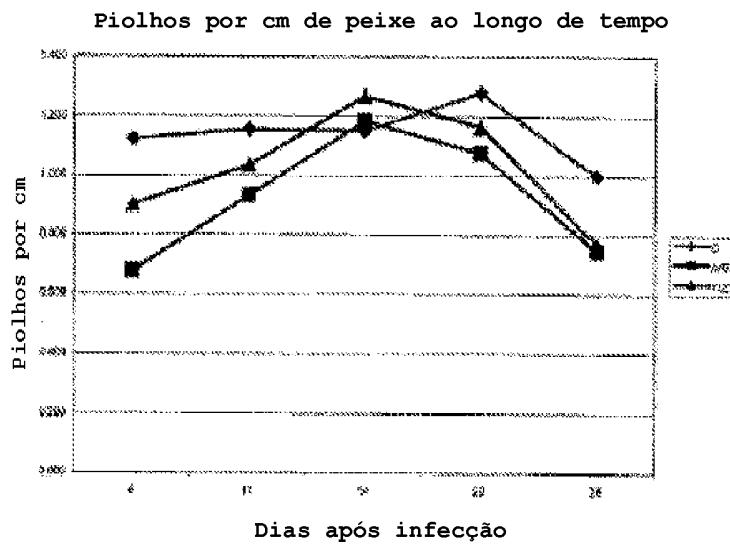
(57) Resumo:

UMA VACINA RECOMBINANTE CONTRA CONTRA A INFECÇÃO POR COPÉPODES CALIGÍDEOS EM PEIXES, EM QUE A VACINA COMPREENDE UMA QUANTIDADE IMUNOLOGICAMENTE EFICAZ DE UM ANTIGÉNIO DE PROTEÍNA DE ADESÃO 2 RECOMBINANTE PURIFICADA E UM ADJUVANTE, DILUENTE OU VEÍCULO FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL.

**RESUMO**

**"VACINAS RECOMBINANTES CONTRA COPÉPODES CALIGÍDEOS (PIOLHOS MARINHOS) E SUAS SEQUÊNCIAS ANTIGÉNICAS"**

Uma vacina recombinante contra contra a infecção por copépodes caligídeos em peixes, em que a vacina compreende uma quantidade imunologicamente eficaz de um antigénio de proteína de adesão 2 recombinante purificada e um adjuvante, diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável.



**DESCRIÇÃO**

**"VACINAS RECOMBINANTES CONTRA COPÉPODES CALIGÍDEOS (PIOLHOS MARINHOS) E SUAS SEQUÊNCIAS ANTIGÉNICAS"**

**CAMPO DA INVENÇÃO**

A presente invenção refere-se, de um modo geral, a vacinas de salmão. Mais particularmente, a presente invenção refere-se a vacinas contra copépodes parasíticos caligídeos (piolhos marinhos) e suas sequências de antigénio.

**ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

Várias espécies intimamente relacionadas de copépodes parasíticos na família *Caligidae* (copépodes caligídeos) infetam e provocam doença em peixes em cultura. Coletivamente, estas espécies são referidas como piolhos marinhos. Existem três géneros principais de piolhos marinhos: *Pseudocaligus*, *Caligus* e *Lepeophtheirus*. Em relação à produção de salmonídeos ao longo do hemisfério norte, uma espécie, o piolho do salmão (*Lepeophtheirus salmonis*), é responsável pela maioria dos surtos de doença em explorações de salmonídeos. Este parasita é responsável por perdas indiretas e direta em aquacultura de mais de 100 milhões de US\$ anualmente (Johnson, S.C., et al., *Zool Studies* 43: 8-19, 2004). Todos os estágios de

desenvolvimento dos piolhos marinhos, que se ligam ao hospedeiro, alimentam-se do muco, pele e sangue do hospedeiro. As atividades de ligação e de alimentação de piolhos marinhos resultam em lesões que variam na sua natureza e gravidade dependendo de: a espécie de piolhos marinhos, a sua abundância, os estágios de desenvolvimento presentes e a espécie do hospedeiro (Johnson, S.C. et al., "Interactions between sea lice and their hosts". In: Host-Parasite Interactions. Editors: G. Wiegertjes e G. Flik, Garland Science/Bios Science Publications, 2004, pp. 131-160). No hemisfério sul, *Caligus rogercresseyi*, é o principal caligídeo que afeta a indústria de criação de salmão no Chile (González, L. e Carvajal, J. *Aquaculture* 220: 101-117, 2003).

Os copépodes caligídeos possuem ciclos de vida diretos que consistem em dois estágios de Nauplius planctónicos de vida livre, um estágio de copepódico infeccioso que nada livremente, quatro a seis estágios de chalimus ligados, um ou dois estágios pré-adultos, e um estágio adulto (Kabata, Z., Book 1: Crustacea as enemies of fishes. In: Diseases of Fishes., Editors: Snieszko, S.F. e Axelrod, H.R.; New York, T.F.H. Publications, 1970, p. 171). Cada um destes estágios de desenvolvimento é separado por uma muda. Assim que é alcançado o estágio adulto os copépodes caligídeos não sofrem mudas adicionais. No caso de *L. salmonis*, os ovos eclodem no primeiro estágio de nauplius que nada livremente, que é seguido por um segundo estágio nauplius, e depois o estágio copepodid infetante. Assim que o copépode localiza um peixe hospedeiro adequado

continua o seu desenvolvimento através de quatro estágios de *chalimus*, primeiro e segundo estágios pré-adulto, e depois um estágio adulto final (Schram, T.A. "Supplemental descriptions of the developmental stages of *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837) (Copepoda: Caligidae)". In: Pathogens of Wild and Farmed Fish: Sea lice. Editors: Boxshall, G.A. e Defaye, D., 1993, pp. 30-50). As mudas são caracterizadas por alterações graduais à medida que o animal cresce e sofre modificações físicas que lhe permitem viver como um parasita de livre circulação, alimentando-se e reproduzindo-se na superfície do peixe.

Os copépodes caligídeos (piolhos marinhos) alimentam-se do muco, pele e sangue dos seus hospedeiros que conduzem a lesões que variam na gravidade, com base no(s) estágio(s) de desenvolvimento dos copépodes presentes, o número de copépodes presentes, os seus sítio(s) de ligação e a espécie do hospedeiro. Em situações de doença grave, tal como se observa no salmão do Atlântico (*Salada de salmão* quando infetada por números elevados de *L. salmonis*, podem ser observadas áreas extensas de erosão da pele e hemorragias na cabeça e no dorso, e uma área de erosão distinta e hemorragia sub-epidérmica na região perianal (Grimnes, A. et al. *J Fish Biol* 48: 1179-1194, 1996). Os piolhos marinhos podem provocar alterações fisiológicas nos seus hospedeiros incluindo o desenvolvimento de uma resposta de stress, função imunitária reduzida, falência osmorreguladora e morte se não for tratada (Johnson et al., *supra*).

Existem várias estratégias de gestão que têm sido utilizadas para reduzir a intensidade das infestações do copépode caligídeo (piolhos marinhos). Estas incluem: acompanhar os sítios antes do repovoamento, separação por classe do ano e seleção de sítios de criação para evitar áreas onde existem densidades elevadas de hospedeiros selvagens ou outras condições ambientais adequadas para o estabelecimento de piolhos marinhos (Pike, A.W. et al. *Adv Parasitol* 44: 233-337, 1999). Embora a utilização destas estratégias possa, em alguns casos diminuir as taxas de infeção de piolhos marinhos, a sua utilização individualmente ou em combinação não foi eficaz a eliminar a infecção.

Foi utilizada uma variedade de produtos químicos e de fármacos para controlar piolhos marinhos. Estes produtos químicos foram concebidos para o controlo de pestes terrestres e parasitas de plantas e animais domésticos. Estes incluem compostos tais como peróxido de hidrogénio, organofosfatos (e.g., diclorvós e azametifos), ivermectina (e compostos relacionados, tais como benzoato de emamectina), reguladores da muda de insetos e piretrinas (MacKinnon, B.M., *World Aquaculture* 28: 5-10, 1997; Stone J., et al., *J Fish Dis* 22: 261-270, 1999). Os tratamentos contra piolhos marinhos podem ser classificados naqueles que são administrados com banhos (e.g. organofosfatos, piretrinas) e aqueles que são administrados oralmente (e.g. ivermectina). Os tratamentos em banho para controlar os piolhos marinhos são difícil, a sua aplicação é dispendiosa e podem ter efeitos significativos no crescimento do peixe

após os tratamentos (MacKinnon, *supra*). Os produtos químicos utilizados nos tratamentos de banho não são necessariamente eficazes contra todos os estágios de piolhos marinhos que se encontram no peixe. Atualmente, a utilização dos tratamentos orais, tais como SLICE® (benzoato de emamectina) é predominante na indústria de salmonídeos. Ao contrário dos produtos químicos administrados como tratamentos de banho, o SLICE® não proporciona protecção a curto termo contra a reinfeção. Este tratamento embora seja mais fácil de aplicar do que os tratamentos em banho, é ainda dispendioso e, como em ambos os tratamentos, requere um período de intervalo de segurança antes de os animais poderem ser abatidos para consumo humano (Stone, *supra*). Como observado em pestes e parasitas terrestres, há evidência para o desenvolvimento de resistência em *L. salmonis* a alguns desses tratamentos, especialmente em populações tratadas frequentemente (Denholm, I., Pest Manag Sci 58: 528-536, 2002). Para reduzir os custos associados aos tratamentos contra piolhos marinhos e para eliminar os riscos ambientais associados a esses tratamentos, são necessários novos métodos de controlo de piolhos marinhos, tais como vacinas.

Uma característica típica dos sítios de ligação e alimentação de copépodes caligídeos em muitos dos seus hospedeiros é uma falta de uma resposta imunitária do hospedeiro (Johnson *et al.*, *supra*; Jones, M.W., *et al.*, J Fish Dis 13: 303-310, 1990; Jónsdóttir, H., *et al.*, J Fish Dis 15: 521-527, 1992). Esta falta de uma resposta

imunitária é semelhante à relatada para outros parasitas artrópodes, tais como as carraças em animais terrestres. Nesses casos, a supressão da resposta imunitária do hospedeiro é devida à produção de substâncias imunomoduladoras pelo parasita (Wikle, S. K., et al., "Arthropod modulation of host immune responses". In The Immunology of Host-Ectoparasitic Arthropod Relationships. Editors: Wikle, S. K., CAB Int., 1996, pp. 107-130). Estas substâncias estão a ser investigadas para utilização como抗原s de vacina para controlar estes parasitas. Os piolhos marinhos, tais como *L. salmonis*, como outros artrópodes ectoparasitas, produzem substâncias biologicamente ativas no sítio de ligação e alimentação que limitam uma resposta imunitária do hospedeiro. Como estas substâncias possuem potencial para utilização numa vacina contra piolhos marinhos os autores identificaram várias destas substâncias de *L. salmonis* e examinaram os seus efeitos da função imunitária do hospedeiro *in vitro*.

Foram identificados抗原s potenciais utilizando uma combinação de técnicas de biologia molecular, proteómica, bioquímica e imunologia. Por exemplo, foi observado um aumento na atividade de protease no muco de salmão Atlântico infectado com *L. salmonis*, comparado com o peixe não infetado (Ross, N.W., et al., *Dis Aquat Org* 41: 43-51, 2000; Fast, M.D., et al., *Dis Aquat Org* 52: 57-68, 2002). Este aumento da atividade é principalmente devido ao aspeto de uma série de proteínas de peso molecular baixo (18-24 kDa), que são produzidas por *L. salmonis* e foram

identificadas como tripsinas com base na atividade, estudos de inibição e tamanho. Foi identificada a atividade da tripsina em muco de salmão infetado utilizando adsorção de afinidade de aminobenzamidina e zimografia de protease (Firth, K.J., et al., *J Parasitol* 86: 1199-1205, 2000). Foram caracterizados vários genes que codificam para a tripsina a partir de *L. salmonis* e o sítio da expressão da tripsina foi determinado (Johnson, S.C., et al., *Parasitol Res* 88: 789-796, 2002; Kvamme, B.O., et al., *Int. J. Parasitol.* 34, 823-832, 2004; Kvamme, B.O. et al., *Gene* 352:63-72, 2005).

Foram desenvolvidas várias bibliotecas de cDNA a partir dos estágios de copépode, pré-adulto e adulto de *L. salmonis*. Um estudo de marcador de sequência expressa (EST) da biblioteca de pré-adulto resultou na identificação de vários genes que codificam a tripsina e proteases relacionadas (incluindo quimotripsina e outras na família da peptidase S1), proteínas de choque térmico, proteínas da cutícula e enzimas metabólicas. Alguns destes genes, como aqui descrito, têm utilidade como抗igénios numa vacina de piolhos marinhos.

A atividade de tipo tripsina é secretada por *L. salmonis* para a pele do salmão e crê-se que seja utilizada pelos piolhos marinhos para se alimentarem no muco, pele e sangue do salmão e para proteger os piolhos marinhos da resposta imunitária do salmão (Firth, et al. *supra*). A tripsina foi descoberta nos produtos de secreção (SPs) dos

piolhos marinhos, após estimulação com dopamina, por sequenciação de aminoácidos utilizando espectrometria de massa. A Tabela 1 apresenta as sequências peptídicas da tripsina secretada por *L. salmonis*. A proteção contra a tripsina de piolhos marinhos pode reduzir a alimentação dos piolhos e reduzir a supressão da resposta imunitária.

**Tabela 1:** Sumário da tripsina secretada por *L. salmonis* identificada por LC/MS/MS

Emparelhamentos de proteínas de piolhos marinhos	Fração de Assoc. (pool#- fraction#)	Ião Paren- tal (m/z)	Mr (Da)	Erro (ppm) <sup>a</sup>	Valor <sup>b</sup>	Sequência peptídica (início-fim) <sup>c</sup>
Tripsina de Piolhos marinhos (tipos 1-4)	1-2	579,80	1157,77	27	46	<sup>21</sup> FIDWIAEHQ <sup>22</sup> (SEQ ID NO:25)
SL-0903	1-1	638,35	1274,69	38	72	<sup>71</sup> IAVSDITYHEK <sup>81</sup> (SEQ ID NO:26)
	3-6	920,18	1840,28	13	25	<sup>115</sup> DQFIGDWWVSGWTTI SSSGPPSPVIK <sup>141</sup> (SEQ ID NO:27)
						NOYDEESK (SEQ ID NO: 28)
Tipo vitelogenina						
SL-1469 SEP proteína 3	1-1	724,85	1447,66	17	24	LSFEHETIEFAR (SEQ ID NO: 29)
	1-2	879,98	1757,91	29	72	IIIIGHEFTPQYIENR (SEQ ID NO: 30)
SL-0547 SEP proteína 1	1-1	604,31	1204,67	19	25	IVIIKELSSGM (SEQ ID NO: 31) + M oxidação <sup>d</sup>
SL-0858 SEP Proteína 2	1-2	1248,71	2495,33	65	35	AGQYQGEIISGIVLNPNIIP PSISNLAK (SEQ ID NO: 32)

<sup>a</sup> Diferença (em partes-por-milhão) entre a massa medida e a massa prevista a partir das sequências de DNA.

<sup>b</sup> Classificação da pesquisa de MASCOT<sup>TM</sup>, valores acima de 21 indicam identidade ou homologia extensa ( $p<0,05$ )

<sup>c</sup> Braceto de cianogénio/sequência de péptido tríptico prevista a partir da sequência de DNA.

<sup>d</sup> oxidação +M significa que o emparelhamento de MASCOT foi para um péptido que contém um resíduo de metionina oxidado.

A proteína tipo vitelogenina foi descoberta nos produtos de secreção (SPs) de piolhos marinhos após estimulação com dopamina. A vitelogenina foi previamente referida como sendo um antigénio eficaz numa vacina contra as carraças (Tellam, R.I., et al., *Vet Parasitol* 103: 141-156, 2002). A inclusão de vitelogenina numa vacina de piolhos marinhos pode interferir com a fecundidade dos piolhos marinhos e reduzir o número da descendência e desse modo reduzir os futuros números de piolhos marinhos. Adicionalmente, as proteínas tipo vitelogenina foram implicadas na síntese da melanina em invertebrados (Lee, K.M. et al., *Eur J Biochem* 267:3695-3703, 2000). A melanina é uma molécula de defesa importante dos invertebrados.

Os genes do tipo adesão do mexilhão expressam proteínas semelhantes às que se encontram nos filamentos do bisso do mexilhão que os mexilhões utilizam para se fixarem a superfícies sólidas. O modo como estes genes se relacionam com a infestação de piolhos marinhos ainda não é totalmente compreendida, mas eles podem estar envolvidos na produção de filamentos frontais. O filamento frontal é utilizado pelos estágios chalimus para se ligarem eles próprios fisicamente ao hospedeiro (Gonzalez-Alanis, P., et al., *J Parasitol* 87: 561-574, 2001).

Os genes BCS-1 são expressos pelas cracas quando eles mudam de uma forma planctónica para uma forma agarrada (Okazaki, Y., et al., *Gene* 250 (1-2): 127-135, 2000). Há

presentemente evidências que sugerem que estas são proteínas de ligação à cutícula. A disruptão destas proteínas pelos anticorpos pode interferir com a muda, a integridade da cutícula dos piolhos marinhos e o crescimento normal dos piolhos.

As proteínas de secreção produzidas pelos piolhos marinhos podem atuar como agentes imunomoduladores ou auxiliar nas actividades de alimentação do hospedeiro (Fast, M.D., et al., *Exp Parasitol.* 107:5-13, 2004; Fast, M.D., et al., *J Parasitol* 89: 7-13, 2003). A neutralização destas actividades pelos anticorpos derivados do hospedeiro pode prejudicar o crescimento e a sobrevivência dos piolhos marinhos no salmão.

As vacinas são geralmente mais seguras do que os tratamentos químicos, tanto para os peixes como para o ambiente. Todavia, ainda não foram desenvolvidas até à data vacinas comerciais contra piolhos marinhos. O desenvolvimento de vacinas tem sido dificultado por uma falta de conhecimento das interações hospedeiro-patogénio entre piolhos marinhos e os seus hospedeiros. Parece haver uma resposta de anticorpo muito limitada em hospedeiros infetados naturalmente. Foram produzidas vacinas experimentais, particularmente através de extratos totalmente animais, contra *L. salmonis*. Investigações no desenvolvimento de vacinas contra piolhos marinhos tiveram como alvo proteínas imunogénicas de piolhos marinhos e, em particular, tiveram como alvo antigénios do trato gastro-

intestinal. Estas vacinas, baseadas em extratos totalmente animais, não demonstraram ser protetoras embora a sua administração tenha resultado em pequenas alterações em fecundidade de *L. salmonis* (Grayson T.H., et al., *J Fish Biol* 47: 85-94, 1995). Este estudo particular, todavia, foi um ensaio único e não foram relatados resultados adicionais deste grupo. Também foram exploradas vacinas de peixe à base de lipossomas em certas espécies de peixes (Keough, Pedido PCT WO 03/101482) mas não em combinação com抗igénios de piolhos marinhos.

Uma discussão mais recente de possíveis alvos de vacina no trato gastrointestinal foi apresentada por Raynard et al.; contudo, os seus estudos encontraram um sucesso limitado (Raynard, R.S., et al., *Pest Manag Sci* 58: 569-575, 2002).

### **Epitopos de células T promíscuas**

Os epitopos de células T promíscuas (ou "epitopos de PTC") são péptidos altamente imunogénicos que podem ser caracterizados em parte pela sua capacidade para se ligarem a várias formas isotípicas e alotípicas de moléculas de MHC classe II humana. Ao auxiliar por bypass de restrição de MHC, eles podem induzir as respostas de células T e anticorpo em membros de uma população geneticamente diversa expressando diversos haplotipos de MHC. Os epitopos de PTC podem por isso ser combinados com抗igénios que, por si próprios, são fracamente imunogénicos, para criar

imunogénios de péptido potentes. Na presente invenção, estes epitopos são incorporados na composição para aumentar a imunogenicidade do抗igenio, e a composição global, numa vasta gama de espécies.

Os epitopos de células T promíscuos podem ser derivados de imunogénios que ocorrem naturalmente de origem viral e bacteriana. Os epitopos de PTC que ocorrem naturalmente podem também ser modificados de forma conservadora por adições de aminoácidos simples ou múltiplas, eliminações ou substituições (e.g. em classes de aminoácidos carregados, hidrofílicos/hidrofóbico, estéricos) para obter sequências candidatas que podem ser rastreados quanto à sua capacidade para aumentar a imunogenicidade.

Os epitopos de PTC que não ocorrem naturalmente podem ser sintetizados artificialmente para obter sequências que possuem imunogenicidade comparável ou melhor. Os epitopos de PTC artificiais podem variar em tamanho desde cerca de 15 até cerca de 50 resíduos de aminoácidos em resíduos de aminoácidos de comprimento e podem possuir características estruturais, tais como hélices anfipáticas, que são estruturas de alfa-hélice com os resíduos de aminoácidos hidrofóbicos a dominar uma face da hélice e resíduos carregados ou polares a dominar as faces circundantes. Os epitopos de PTC também podem conter padrões de aminoácidos primários adicionais, tais como um resíduo Gly ou um resíduo carregado seguido por dois a três

resíduos hidrofóbicos, seguido por sua vez por um resíduo carregado ou polar (uma sequência Rothbard). Adicionalmente, os epitopos de PTC obedecem frequentemente à regra 1, 4, 5, 8, em que um resíduo carregado positivamente é seguido por resíduos hidrofóbicos nas quarta, quinta, e oitava posições após o resíduo carregado.

Estas características podem ser incorporadas nas construções de epitopos de PTC artificiais. Posições variáveis e aminoácidos preferidos estão disponíveis para motivos de ligação a MHC (Meister *et al.*, *Vaccine*, 1995; 13:581-591). Por exemplo, o epitopo de PTC degenerado descrito em WO 95/11998 como SSAL1TH1 possui a sequência degenerada (Asp/Glu) - (Leu/Ile/Val/Phe) - Ser - (Asp/Gly) - (Leu/Ile/Val/Phe) - (Lys/Arg) - Gly - (Leu/Ile/Val/Phe) - (Leu/Ile/Val/Phe) - (Leu/Ile/Val/Phe) - His - (Lys/Arg) - Leu/Ile/Val/Phe) - (Asp/Glu) - Gly - (Leu/Ile/Val/Phe) - .

#### **Exemplos específicos de epitopos de PTC**

Epitopos de células T promíscuas particularmente úteis são a proteína F do vírus do sarampo LSEIKGVIVHRLEGV (SEQ ID NO: 33); ou sequência do tétano QYIKANSKFIGITEL (SEQ ID NO: 34).

Exemplos de epitopos de células T particularmente úteis são listados na Tabela 2:

**Tabela 2: Exemplos de Epitopos de células T, promíscuos**

<b>descrição</b>	<b>sequência de aminoácidos</b>	<b>SEQ ID NO:</b>
sarampo 289-302	LSEIKGVIVHRLEGV	33
Toxina do tétano 830-844	QYIKANSKFIGITEL	34

Devido a uma falta de entendimento dos mecanismos e da patologia que circundam a infestação do salmão com piolhos marinhos, a identificação de alvos adequados para tratar a doença não foi bem sucedida. Isto dificultou o progresso de investigação de vacina e como tal, apesar da promessa e do sucesso de terapias à base de vacina noutras áreas de infecção, uma vacina adequada de piolhos marinhos vacina ainda tem que ser desenvolvida. Consequentemente, existe uma necessidade para proporcionar alvos moleculares efetivos adequados (antigénios) e uma vacina contra infecção com piolhos marinhos.

### **SUMÁRIO DA INVENÇÃO**

É um objetivo da presente invenção obviar ou mitigar pelo menos uma desvantagem de tratamentos prévios contra a infecção de piolhos marinhos em peixes.

Num primeiro aspetto, a presente invenção proporciona uma vacina contra infecção pelo copépode caligídeo em peixes, compreendendo a vacina uma quantidade imunologicamente eficaz de antigénio. Particularmente, o copépode caligídeo é *Lepeophtheirus salmonis*, embora qualquer

infecção por copépode possa ser tratada. Numa forma de realização, a vacina compreende um fragmento de nucleótidos ou péptido de tripsina de *L. salmonis* e um adjuvante, diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável.

Noutro aspeto da presente invenção são proporcionadas sequências de DNA e de aminoácidos que codificam抗igénios para utilização na preparação de formulações de vacina para o tratamento de infecção pelo copépode caligídeo em peixes. Formas de realização destas sequências incluem proteínas de adesão.

Outros aspetos da invenção incluem um DNA que codifica a proteína de adesão 2.

Ainda outros aspetos da invenção incluem uma sequência de aminoácidos que codifica a proteína de adesão 2.

Está também incluída uma vacina de DNA que compreende um DNA que codifica a proteína de adesão 2 e um adjuvante, diluente ou veículo farmaceuticamente aceitáveis.

Um outro aspeto é uma vacina de péptido que compreende, uma sequência de aminoácidos que codifica a proteína de adesão 2, e um adjuvante, diluente ou veículo farmaceuticamente aceitáveis.

Outros aspetos e características da presente invenção tornar-se-ão óbvios para as pessoas com experiência na técnica após a revisão da seguinte descrição de formas de realização específicas da invenção em conjunção com as figuras acompanhantes.

**BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS**

Serão agora descritas formas de realização da presente invenção, apenas a título de exemplo, com referência às Figuras anexas, em que:

A Fig. 1 apresenta a) a sequência de ácido nucleico e b) sequência de aminoácidos da proteína do tipo vitelogenina (SEQ ID NO: 1, 2).

A Fig. 2 apresenta a) a sequência de ácido nucleico e b) a sequência de aminoácidos da proteína SEP 1 (SEQ ID NO: 3, 4).

A Fig. 3 apresenta a) a sequência de ácido nucleico e b) a sequência de aminoácidos da proteína SEP 2 (SEQ ID NO: 5, 6).

A Fig. 4 apresenta a) a sequência de ácido nucleico e b) a sequência de aminoácidos da proteína SEP 3 (SEQ ID NO: 7, 8).

A Fig. 5 apresenta a) a sequência de ácido nucleico e b) a sequência de aminoácidos da proteína de adesão 2, homóloga ao precursor da proteína da matriz da placa de adesão do mexilhão (SEQ ID NO: 9, 10).

A Fig. 6 apresenta a) a sequência de ácido nucleico e b) a sequência de aminoácidos da proteína de adesão 1, homóloga ao precursor da proteína da matriz da placa de adesão do mexilhão (proteína do pé 1) (SEQ ID NO: 11, 12)

A Fig. 7 apresenta a) a sequência de ácido nucleico e b) a sequência de aminoácidos da proteína 1 de ligação à cutícula, homóloga à proteína de tipo BSC-1 (moran 9-15) (SEQ ID NO: 13, 14).

A Fig. 8 é um gráfico de piolhos por cm de peixe ao longo do tempo de duração pós-infeção, utilizando vacinas (A/B = gene expresso da tripsina de piolhos marinhos com o epitopo das células T; Y/Z = gene da tripsina expresso em piolhos marinhos; C = controlo) da presente invenção.

A Fig. 9 é um gráfico de piolhos por grama de peixe ao longo do tempo de duração pós-infeção, utilizando vacinas (A/B = gene expresso da

tripsina de piolhos marinhos com o epitopo das células T; Y/Z = gene da tripsina expresso em piolhos marinhos; C = controlo) da presente invenção.

A Fig. 10 apresenta um gráfico de dados em pilha que apresenta as percentagens de diferentes estágios de piolhos marinhos presentes em peixes imunizados com a vacina da tripsina de *L. salmonis* em comparação com o peixe de controlo a cada tempo de amostragem.

A Fig. 11 apresenta uma sequência de ácido nucleico parcial (SEQ ID NO: 15) da proteína do tipo vitelogenina SL-903 semelhante a, mas mais comprida do que, a da Fig. 1. Os codões a negrito, sublinhados e em itálico **TGA**, **TAA** ou **TAG** são códões de terminação previstos.

A Fig. 12 apresenta a sequência de ácido nucleico de comprimento total da proteína SEP 1 SL-0547 (SEQ ID NO: 16). Os codões a negrito e sublinhados **ATG** são códões de partida presumidos. Os codões a negrito, sublinhados e em itálico **TGA**, **TAA** ou **TAG** são códões de terminação previstos.

A Fig. 13 apresenta a sequência de ácido nucleico putativa de comprimento total da proteína SEP 2

SL-0858 (SEQ ID NO: 17). Os códões a negrito e sublinhados **ATG** são códões de partida presumidos. Os codões a negrito, sublinhados e em itálico **TGA**, **TAA** ou **TAG** são códões de terminação previstos.

A Fig. 14 apresenta a sequência putativa de comprimento total da proteína SEP 3 SL-1469 (SEQ ID NO: 18). Os códões a negrito e sublinhados **ATG** são códões de partida presumidos. Os codões a negrito, sublinhados e em itálico **TGA**, **TAA** ou **TAG** são códões de terminação previstos.

A Fig. 15 apresenta a sequência putativa de comprimento total da proteína de adesão do mexilhão SL-0927 (SEQ ID NO: 19). Os códões a negrito e sublinhados **ATG** são códões de partida presumidos. Os codões a negrito, sublinhados e em itálico **TGA**, **TAA** ou **TAG** são códões de terminação previstos.

A Fig. 16 apresenta uma sequência de aminoácidos parcial da proteína do tipo vitelogenina SL-903 (SEQ ID NO: 20), juntamente com os pontos comuns do BLAST™ da sequência. Os aminoácidos sublinhados são os fragmentos peptídicos dos dados de Proteómica por Espetrometria de Massa.

A Fig. 17 apresenta a sequência de aminoácidos putativa de comprimento total da proteína SEP 1 SL-0547 (SEQ ID NO: 21), juntamente com os pontos comuns do BLAST da sequência. Os aminoácidos sublinhados são os fragmentos peptídicos dos dados de Proteómica por Espetrometria de Massa.

A Fig. 18 apresenta a sequência de aminoácidos putativa de comprimento total da proteína SEP 2 SL-0858 (SEQ ID NO: 22), juntamente com os pontos comuns do BLAST da sequência. Os aminoácidos sublinhados são os fragmentos peptídicos dos dados de Proteómica por Espetrometria de Massa.

A Fig. 19 apresenta a sequência de aminoácidos putativa de comprimento total da proteína SEP 3 SL-1469 (SEQ ID NO: 23), juntamente com os pontos comuns do BLAST da sequência. Os aminoácidos sublinhados são os fragmentos peptídicos dos dados de Proteómica por Espetrometria de Massa.

A Fig. 20 apresenta a sequência de aminoácidos putativa de comprimento total da proteína de adesão do mexilhão SL-0927 (SEQ ID NO: 24), juntamente com pontos comuns do BLAST da sequência. Os aminoácidos sublinhados são os fragmentos peptídicos dos dados de Proteómica por Espetrometria de Massa.

A Figura 21 apresenta a expressão média ( $\pm$ SEM) do gene da interleucina-1 $\beta$ , relativo à  $\beta$ -actina, em células SHK-1 incubadas com e sem lipopolissacáridos (LPS), fracção 1 do produto de secreção/excreção de *L. salmonis* reunida, fracção 2 do produto de secreção/excreção de *L. salmonis* reunida, e fracção 3 do produto de secreção/excreção de *L. salmonis* reunida. \* indica diferenças significativas em relação ao controlo; † indica diferenças significativas em relação a LPS + controlo.

A Figura 22 apresenta a expressão média ( $\pm$ SEM) do gene da interleucina-1 $\beta$ , relativo à  $\beta$ -actina, em células SHK-1 incubadas com e sem lipopolissacáridos (LPS), LPS e solvente de cromatografia líquida liofilizado (LC), fracção 1 do produto de secreção/excreção de *L. salmonis*, fracção 2 do produto de secreção/excreção de *L. salmonis*, e produtos de secreção/excreção não fraccionados de *L. salmonis*. \* indica diferenças significativas em relação ao controlo; † indica diferenças significativas em relação a LPS + controlo.

#### **DESCRICAÇÃO DETALHADA**

De um modo geral, a presente invenção proporciona uma vacina para o tratamento de infecção de piolhos marinhos em peixes, particularmente infecção de *L. salmonis*.

Também se refere à sequência de DNA e de aminoácidos dos alvos moleculares para utilização na preparação destas vacinas.

As vacinas da presente invenção foram criadas com base em estudos realizados pelo grupo dos autores e outros sobre a expressão genética em piolhos marinhos. Existem vários genes em piolhos marinhos que possuem potencial como produtores de抗原s em formulações de vacina concebidas para proteger o salmão contra piolhos marinhos, especialmente *L. salmonis*. Os genes incluem: 1) um gene para a tripsina de piolhos marinhos; 2) um gene que possui uma semelhança elevada com uma proteína do tipo vitelogenina que se encontra em produtos de secreção; 3) um gene que possui uma semelhança de sequência elevada com o gene da proteína 1 de adesão ao mexilhão; 4) um gene que possui uma sequência elevada com o gene da proteína-2 de adesão do mexilhão; 5) vários genes que possuem uma semelhança de sequências elevada com o gene que codifica para a proteína BCS-1 específica do estágio de *Balanus amphrite*; e, 6) genes que codificam para três proteínas de produtos de secreção (SP) em piolhos marinhos que, atualmente, não possuem uma semelhança significativa com proteínas conhecidas nas bases de dados públicas.

Como aqui utilizado, um "antigénio" refere-se a uma molécula que contém um ou mais epitopos que irão estimular o sistema imunitário de um hospedeiro para produzir uma resposta humoral e/ou celular específica para

o antigénio. O termo é também aqui utilizado indistintamente com "imunogénio".

Como aqui utilizado, o termo "epitopo" refere-se ao sítio de um antigénio ou hapteno ao qual uma molécula de anticorpo específica se liga. O termo é também aqui utilizado indistintamente com "determinante antigénico" ou "sítio determinante antigénico".

As Figuras 1 até 6 apresentam as sequências dos genes da presente invenção acima descritas e sequenciadas no laboratório dos autores, com a exceção da tripsina, da qual a sequência de ácido nucleico foi publicada (Johnson, 2002, *supra*). Os autores identificaram o produto do gene da tripsina nas secreções dos piolhos marinhos por sequenciação de aminoácidos, utilizando espectrometria de massa. Estes genes foram selecionados e investigados com base num entendimento anterior da sua função putativa.

As Figuras 11 até 20 apresentam sequências de nucleótidos e de aminoácidos mais longas ou putativas de comprimento total dos genes e das proteínas como aqui descritas.

Os antigénios derivados de *L. salmonis* devem proporcionar proteção aos peixes contra outras espécies de piolhos marinhos na medida em que eles devem utilizar métodos altamente conservados para se ligarem de modo a permitir-lhes alimentarem-se com sucesso no hospedeiro.

Adjuvantes que podem ser utilizados no contexto da presente invenção incluem os Adjuvantes Montanide™ ISA e IMS (Seppic, Paris, France), outros adjuvantes de óleo-em-água, água-em-óleo, e água-em-óleo-em-água, Adjuvantes de Ribi (Ribi ImmunoChem Research, Inc., Hamilton, MT), adjuvantes de Hunter TiterMax (CytRx Corp., Norcross, GA), adjuvantes de sal de alumínio, proteínas adsorvidas em nitrocelulose,抗原s encapsulados, nanopartículas contendo adjuvantes. Os adjuvantes preferidos incluem Seppic Montanide 720, Montanide IMS111x, Montanide IMS131x, Montanide IMS221x, Montanide IMS301x, Montanide ISA206, Montanide ISA 207, Montanide ISA25, Montanide ISA27, Montanide ISA28, Montanide ISA35, Montanide ISA50A, Montanide ISA563, Montanide ISA70, Montanide ISA51, Montanide ISA720, Montanide ISA264. São particularmente preferidos os adjuvantes incluídos em Montanide ISA740, Montanide ISA773, Montanide ISA 708, Montanide ISA266. O adjuvante recomendado é Montanide ISA763.

Resultados de estudos que utilizaram as vacinas da presente invenção para o tratamento de infecção com piolhos marinhos são aqui apresentados através dos seguintes exemplos.

**EXEMPLO 1**

Foram expostos salmões à tripsina de *L. salmonis* como antígeno. Os peixes foram imunizados com dois grupos

de formulação da vacina de tripsina: A/B (tripsina de piolhos marinhos recombinante com um epitopo de células T) e Y/Z (apenas tripsina de piolhos marinhos recombinante). Certos peixes foram administrados com uma vacina de controlo, C, contendo apenas adjuvante. A proteção do peixe foi visível nos dias 6, 11 e 20 (Figuras 8 e 9). O número de piolhos marinhos por cm e por grama do peixe é reduzida nos peixes vacinados, em comparação com os controlos. A formulação da vacina A/B resultou em números de piolhos mais baixos do que a formulação Y/Z demonstrando que a inclusão de epitopos de células T com antigénios de piolhos marinhos proporciona mais proteção contra piolhos marinhos.

A Figura 10 apresenta resultados de dados em pilha das experiências de exposição e vacinação. A formulação de vacina A/B (tripsina de piolhos marinhos recombinante com um epitopo de células T) aparenta abrandar o desenvolvimento de *L. salmonis*, aos dias 6, 11 e 20, observaram-se percentagens mais baixas de piolhos que sofreram muda para um estágio mais avançado em comparação com os peixes do controlo.

**EXEMPLO 2****Cromatografia por Exclusão de Tamanho e Determinação da Proteína**

Foram reconstituídos produtos de secreção e excreção liofilizados (SEPs) com acetato de amónio a 1,0 M

(AMA) (pH 6,0). Foram utilizados um HPLC Agilent 1100 equipado com um detetor de array de diodo (monitorizando a 230 e 256 nm) e uma coluna Toso Haas (G3000PWX2, 6  $\mu$ m d<sub>p</sub> (7,8 mm x 300 mm)) para separar as proteínas/péptidos nas secreções. Estas amostras foram então fracionadas utilizando um coletor Waters Fraction de acordo com os intervalos de tempo. As frações como apresentadas na Tabela 1 foram recolhidas durante 6 corridas de HPLC separadas e reunidas para cada intervalo de tempo. Estas amostras foram então liofilizadas (-80°C) antes da determinação da proteína. A coluna foi mantida à temperatura ambiente e eluída isocraticamente com 98:2 AMA: acetonitrilo (ACN) durante 30 minutos a 0,2 ml min<sup>-1</sup>. As soluções padrão de albumina do soro de bovino (BSA) (20  $\mu$ g, 2,0  $\mu$ g, e 0,2  $\mu$ g), SW + DA, e tripsina de bovino (40  $\mu$ g) foram todas corridas como controlos para comparação de picos com SEPs.

As concentrações de proteína das frações de secreção de *L. salmonis* foram determinadas utilizando um método de ligação ao corante (Bradford, M.M. *Anal Biochem* 72: 248-254, 1976). Todos os ensaios foram corridos num Thermomax™ Microplate Reader (Molecular Devices). As amostras foram reconstituídas em ddH<sub>2</sub>O e depois, após deformação de proteínas, foram igualmente separadas entre ensaios funcionais de base celular e análise de proteómica.

#### **Cultura de Células de SHK**

As células SHK-1 foram cultivadas a 18 °C em

frascos tratados para cultura de tecidos, de 75 cm<sup>2</sup> (Costar), em meio L-15 (com 300 mg/L de L-glutamina) suplementado com 500 µl de sulfato de gentamicina (50 mg/mL destilado em água), 365 µl de 2-mercaptoetanol (55 mM em D-PBS) e 5% de soro bovino fetal (FBS), como descrito por Fast *et al.* 2004 *supra*. Todos os componentes do meio forma adquiridos à Gibco. Os frascos confluentes foram passados semanalmente por divisão de células e de meio igualmente entre dois frascos e adicionando um volume igual de meio novo para cada frasco. As células utilizadas neste estudo foram passadas entre 64 e 68 vezes.

As células SHK-1 foram semeadas a aproximadamente  $4 \times 10^6$  células/frasco em meio L-15 suplementado como descrito acima. A estimulação celular seguiu o mesmo procedimento que Fast, M.D. *et al.* *Dev. Comp. Immunol.* 29: 951-963, 2005. Resumidamente, após um período de 48 h, para permitir qualquer expressão génica induzida por manipulação para regressar a níveis constitutivos, o meio foi removido e foi adicionado 20 ml de meio fresco. Foi adicionado lipopolissacárido (LPS) a todos os frascos, exceto aos controlos, para obter uma concentração final de 5 mg/mL.

No primeiro ensaio, as frações de SEP foram reunidas em 3 grupos (Tabela 1), cada um contendo intervalos de tempo iguais (10 min) e volumes a partir da cromatografia por exclusão de tamanho. Isto resultou em 13 µg de proteína (fração 1 reunida), 8,0 µg de proteína (fração 2 reunida) e <0,1 µg de proteína (fração 3 reunida)

a ser adicionada a cada frasco. Estas incubações foram realizadas durante 4 h a 18 °C antes de o meio ser removido e as células serem armazenadas em RNAlater a -80 °C até à extração de RNA. Este ensaio foi repetido duas vezes com frascos em triplicado para cada condição.

No Segundo ensaio, as frações 1 e 2 de SEP da fracção 1 reunida (Tabela 1) foram adicionadas a 1,0 e 1,4 µg por frasco, respetivamente. Estas concentrações foram obtidas após concentrar 4 corridas de exclusão por tamanho para cada fração. Para testar qualquer efeito do solvente residual no ensaio à base de células, 4 corridas de um branco de AMA sofreram o mesmo tratamento e foram incluídas na experiência como controlos. Finalmente, as SEPs não fracionadas utilizadas nas incubações de macrófagos foram aqui incubadas à mesma concentração (660 ng).

Estas incubações foram realizadas em triplicado e seguiram o mesmo procedimento que o primeiro ensaio.

#### **PCR em Tempo Real em genes do salmão Atlântico**

O RNA total foi isolado a partir de células SHK-1 armazenados em RNAlater™ com o kit Nucleospin™ RNA II (Clontech) e a concentração foi medida por espetrofotômetro. As amostras de RNA foram sujeitas a PCR para verificar a falta de contaminação de DNA. As sequências

para os iniciadores da PCR em Tempo Real (Real-time PCR) foram concebidas, testadas e os seus produtos sequenciados, como previamente descritos por Fast *et al.*, *supra* (2004; 2005). A PCR quantitativa em Tempo Real foi realizada utilizando um sistema de deteção iCycler iQ™ Real-Time e kits SYBR green (Bio-Rad) também previamente descrito por Fast *et al.*, *supra* (2004; 2005). Para garantir que não haveria contaminação de DNA genómico adicionada ao cDNA quantificado, não foram corridos controlos não-RT para cada isolamento de RNA em PCR e observados por electroforese em gel de agarose a 2,5%.

O perfil da reação de PCR foi como se segue: um passo inicial de desnaturação de 3 min a 95 °C, seguido por 40 ciclos de desnaturação (30 s a 95 °C), emparelhamento (30 s a 58 °C) e extensão (30 s a 72 °C), e finalizando com um passo de extensão final de 72 °C durante 5 min. A sensibilidade das reações e a amplificação de produtos contaminantes, tais como dímeros de iniciadores, indiscriminadamente detetados por SYBR green (*i.e.* o SYBR green liga-se a todo o DNA de cadeia dupla), foram avaliados por amplificação de diluições de 10 vezes dos clones ( $10^{-2}$  até  $10^{-8}$  ng) e das amostras em duplicado assim como realizando um branco sem cDNA em cada corrida. A relação entre o ciclo do limiar ( $C_t$ ) e o log (RNA) foi linear ( $-3,5 < \text{rampa} < -3,2$ ) para todas as reações. Os números de cópias foram estimados com base no peso molecular dos clones e OD 260.

**Atividade imunomoduladora das proteínas SEP**

As SEPs foram fracionadas com base no tamanho e nas e nas frações que foram recolhidas. No primeiro ensaio (Fig. 21), as frações reunidas (PF1, PF2, PF3) foram incubadas com células SHK-1 (uma linha de células do tipo macrófago de salmão) em combinação com lipopolissacáridos (LPS) e a expressão do gene da interleucina-1 $\beta$  foi monitorizada de modo a determinar o efeito imunomodulador das proteínas SEP fracionadas na expressão génica imunitária. O gene da interleucina-1 $\beta$  foi reduzido na sua expressão em todas as três frações reunidas em comparação com as células estimuladas apenas com LPS (Fig. 21). Quando as frações individuais que contêm proteínas foram testadas, a expressão do gene da interleucina-1 $\beta$  foi reduzida pela fração 2. A análise de LC-MS mostrou que a Fração 2 da mistura 1 continha a proteína 1 SEP, proteína SEP 2 e tripsina. A evidência para a atividade imunomoduladora da SEP, que contém todas as proteínas descritas, é apresentada na Fig. 22 em que existe uma diminuição significativa na expressão induzida por LPS de interleucina-1 $\beta$  na presença de SEPs totais.

As formas de realização acima descritas da presente invenção pretendem ser apenas exemplos. As alterações, modificações e variações podem ser realizadas

em formas de realização particulares pelos especialistas na técnica sem se afastar do âmbito da invenção, que é definido apenas pelas reivindicações anexas.

## LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

&lt;110&gt; National Research Council of Canada

&lt;120&gt; VACINAS RECOMBINANTES CONTRA COPÉPODES CALIGÍDEOS (PIOLHOS MARINHOS) E SUAS SEQUÊNCIAS ANTIGÉNICAS

&lt;130&gt; PAT 2116WEP-81

&lt;140&gt; 05770065.0

&lt;141&gt; 2005-07-28

&lt;150&gt; US 60/591,626

&lt;151&gt; 2004-07-28

&lt;160&gt; 34

&lt;170&gt; PatentIn versão 3.0

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 594

&lt;212&gt; DNA

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

&lt;400&gt; 1

gcaatcacaa	atatatccatg	gatgtactsc	ccaaatttgc	catgtatata	cttttgacaa	60
tgtcacatct	ccatcacacac	ctcacctcttg	ctggacgttg	gtttctggac	atgtttcccc	120
acatccaaatc	tatgtcaggtt	tttttttttttt	tttttttttttt	tttttttttttt	tttttttttttt	180
ttatattgggc	ggtcacatcaca	tccaaatccca	aaacaaggggc	ccaaaggaaaga	ttaatgttct	240
catcaacggc	ggaggcttttg	atgttggaga	ggaggggacat	ttttatgtac	aaagccggaca	300
agaaattttt	tttttttttttt	aatggggatc	aaatgttacat	tttttttttttt	tttttttttttt	360
ctgggttagtc	tatgtatggcc	atgttgcgtcg	tttaatccctt	tttttttttttt	tttttttttttt	420
ccatccgggt	tttttttttttt	atgttgcgtcg	tttttttttttt	tttttttttttt	tttttttttttt	480
tgttcatcaa	tttttttttttt	tttttttttttt	tttttttttttt	tttttttttttt	tttttttttttt	540
tttttttttttt	tttttttttttt	tttttttttttt	tttttttttttt	tttttttttttt	tttttttttttt	600

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 178

&lt;212&gt; PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

&lt;400&gt; 2

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

<210> 3  
 <211> 508  
 <212> DNA  
 <213> *Lepeophtheirus salmonis*

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (503)  
 <223> n = qualquer nucleótido

<400> 3

gtccgggttcg yccaaatctaa aatgttaccac aagggggcga totataaaatt ctttgaaagg  
 acaactcccc aasagggttga ggcgggttaaq cccggcttcg tttggaaagaa ggttgggggt  
 gcttggaaatg ggggtactcg tatgggttcg qttcaagaaatg tggaaagacga cttccccacc  
 atggaaatgac gttgttcatacg aatcgccaaag aagccgtgaaa aatcttttcgt cagggttcgt  
 cttaccctcc cccctggaaac tattgcgtt attttgcag gtatccacaa agggaaagaga  
 sttgtcatc tcaagggtct ctcccggtgg aatgtttatgt tttctggccc cttcaagtt  
 aataactgcc caatttggaaag gatataatccaa cgatatttgt tggccacatc aaccaagctc  
 gatgtttccat ccatttataat gcccgagccatc attaatgtatc attacttccg tggttttaga  
 gccggccaaage agucagctgg ttttgttat

<210> 4  
 <211> 169  
 <212> PRT  
 <213> *Lepeophtheirus salmonis*

<220>  
 <221> misc\_feature

<222> (168)

<223> Xaa = qualquer aminoácido

<400> 4

<210> 5

<211> 433

<212> DNA

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 5

<210> 6

<211> 126

<212> PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 6

<210> 7

<211> 605

<212> DNA

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<220>

<221> misc feature

<222> (573)

<223> n = qualquer nucleótido

<400> 7

<210> 8

<211> 181

<212> PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 8

<210> 9

<211> 689

<212> DNA

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 9

tacatgtctt	gaacccgtgtct	gtcccatctaa	tttgtgttaaa	aatggrrggaa	satgtaaaagt	60
ttatcggtga	gtatgtttatt	ggatgtgtaa	aggtaactgt	tttgaagggtt	caasatgtca	120
tcaaccaact	tgcacacacta	caacatgtcc	taaasatgtct	gtttgtgtaa	tggattggtc	180
taataaaaaa	acacgcgtgt	catgtaaaaaa	aggatgtgtct	ggtgccaaatt	gtcgatgtaa	240
tgtttgtttcc	cagtttccat	gtgaaaaatgg	atctgtatgt	gttgraaaaat	atggatctca	300
accatcaatgt	gatgtgttggc	ctggatgtttt	tggatatttc	tgcccaatcsc	atttttgtgs	360
acatccaaat	tatccatgt	taggtgtgtaa	atgtgtaaatt	atggaaagacg	aaaaaaaactt	420
ggggatgtat	aaatctgtttt	gtttatgtttt	aggaaaggatat	gatgggttsssa	tttgtcaagcgt	480
atttttttgc	tctgaatcat	tctgttcaattt	tccgaggaaaa	tgttccgttta	gtatggatata	540
aggaaatgtgc	aaatgtgtaca	gaggatattca	aggcggagggc	tgtgttacatc	ctaaaaatcttg	600
tgtttttttttgc	gacccaaagcag	atgtgttttttt	agaaaaaaacct	ggcagggcgtt	attttgttttgc	660
tgcaaaaaaa	tagacatata	atgttttttt	tttttttttttt	tttttttttttt	tttttttttttt	680

<210> 10

<211> 223

<212> PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 10

Thr Cys Ieu Glu Pro Val Cys Pro Ser Asn Leu Cys Lys Asn Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Lys Cys Lys Val Tyr Arg Gly Val Cys Tyr Cys Asp Cys Iys Gly Thr  
 20 25 30  
 Gly Phe Glu Gly Ser Lys Cys His Gln Pro Thr Cys Thr Pro Thr Thr  
 35 40 45  
 Cys Pro Lys Asn Ala Val Cys Glu Leu Asp Trp Ser Asn Lys Lys Thr  
 50 55 60  
 Arg Arg Thr Cys Lys Lys Gly Phe Ala Gly Ala Asn Cys Ala Asp Asn  
 65 70 75 80  
 Ala Cys Ser Gln Phe Pro Cys Glu Asn Gly Ser Glu Cys Val Val Lys  
 85 90 95  
 Tyr Gly Ser Gln Pro Gln Cys Asp Cys Lys Pro Gly Phe Phe Gly Asn  
 100 105 110  
 Phe Cys Gln Ser His Phe Cys Glu His Phe Lys Tyr Ser Ala Val Gly  
 115 120 125  
 Gly Lys Cys Glu Ile Met Glu Asp Glu Lys Asn Leu Gly Val Tyr Lys  
 130 135 140  
 Pro Val Cys Lys Cys Leu Glu Gly Tyr Glu Gly Lys Ile Cys Ser Glu  
 145 150 155 160  
 Ile Ser Cys Ser Glu Ser Phe Cys His Tyr Arg Gly Lys Cys Ser Val  
 165 170 175  
 Ser Lys Asp Ile Arg Ser Cys Lys Cys Asp Arg Gly Ile Gln Gly Glu  
 180 185 190  
 Arg Cys Glu His Pro Lys Pro Cys Glu Ser Cys Asp Lys Ala Asp Cys  
 195 200 205  
 Val Arg Glu Lys Pro Gly Ser Gly Asn Phe Val Cys Ala Iys Lys  
 210 215 220

<210> 11

<211> 585

<212> DNA

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 11

ccccatccaaa	gttagpctcaa	aaacaaagtc	stataccccc	cotctttact	ccaaaaagaa	60
cttctttaa	gc	aaagaaaccct	ctgttatatta	ccaaagttaag	aaaaatcccg	120
seaaagttaag	aaaattctgt	gacccttgcag	ttacttccct	cctcagaccc	atccgaaacag	180
caacgactgtt	tcaaccacaa	gagactatcc	aaatccaaatct	tttgaaagtt	aaacgcaaaa	240
ttaaatgttca	gaaatagtat	ccggatttac	ttccgggtotca	gtctccaaaa	agtctatttt	300
stcattgtat	gtctggaaaat	ccattttatgc	aaatccatct	ccccccatctt	tttagatattc	360
acccaaacaaca	ccctttccat	atccaaatgt	aaatccatctt	gagccccaaa	ctatccatag	420
tttcagatct	aaaggcaggct	ccaaagtctac	ccatccaaa	cctactttatg	tttcgttcaac	480
gaccacccaa	ccaaatgtatc	tatccatctac	tatccatctac	ccctatgtat	ccatctatgtt	540
ttatccatctt	ttatccatctt	ttatccatctac	ttatccatctac	ttatccatctt	ttatccatctt	585

<210> 12

<211> 194

<212> PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 12

<210> 13

<211> 507

<212> DNA

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 13

acgcgtggctcg	ggggccgggggt	acgcggggggaa	tcaagtacaaaa	gttttacaggc	aaaaatgtatc	60
atgtacaccc	caggattttct	tctttccatc	gtttttttcat	gtgcctttgg	ggcaccggggaa	120
tatcaagect	ttcaagccgt	ttatgtctcc	gttgcggagc	tttacgttta	tcaatacggcc	180
gttcaagatc	cccaatccagg	aaatgtacttt	tctgcggaaag	aatccctgttga	tggacacggtc	240
atctctggat	cctatccaaqt	gggttctcccc	gttgggttgtt	ttccaaatgt	gacccatcac	300
ggtagtggat	atagtggata	cgttgtgtat	gttcaagtatg	aaaggaaatcc	atctctatccc	360
aaaggttcctc	sgccaaaaaaag	atatgtttaa	aaatgtttggc	attgtatgtat	tttcattttat	420
tgtatttat	ttatgtttaaa	tatatttttc	atatgttgaaa	tttgtatgtt	ttactctccaa	480
aaatataataaa	tttttatattt	stattttt				547

<210> 14

<211> 129

<212> PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 14

Ser Val Val Ala Ala Glu Val Arg Gly Glu Ser Val Gin Ser Leu Gin  
 1 5 10 15  
 Ala Thr Met Ile Met Tyr Thr Ser Val Phe Leu Leu Ser Ile Val Phe  
 20 25 30

Ser Cys Ala Phe Gly Ala Pro Gln Tyr Gln Ala Ser Gln Pro Ala Tyr  
 35 40 45  
 Ala Pro Val Glu Glu Pro Tyr Ala Tyr Gln Tyr Ala Val Gln Asp Pro  
 50 55 60  
 Gln Ser Gly Asn Asp Phe Ser Ala Glu Glu Ser Ser Asp Gly Gln Val  
 65 70 75 80  
 Ile Ser Gly Ser Tyr Gln Val Ala Leu Pro Asp Gly Arg Ile Gln Thr  
 85 90 95  
 Val Thr Tyr Thr Val Ser Gly Asp Ser Gly Tyr Val Ala Asp Val Gln  
 100 105 110  
 Tyr Glu Gly Thr Pro Ser Tyr Pro Glu Ala Pro Gln Gln Pro Arg Tyr  
 115 120 125  
 Val

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 4203

&lt;212&gt; DNA

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

&lt;400&gt; 15

tattccaaatg taaatgtgtc aaggatggg ctcasaaatc ccaattgtaaat atggataaaa 60  
 tcaacaaatca tggacatggg ttccatattctg aagagcaatc catatttggg gtttgtgtat 120  
 ctctttracac tggtagtgtat ctaaatttg tgaaatctgt aagtctatctt aaagatttca 180  
 aaaaacatgtt aatgtgttctt attgtgttattt ggaggggccgtt aatgtgtgtatc attgtaccatc 240  
 aatcatccatc aatcaatgtt aatccaaatgtt gttttttttttt tgcattttttttt accattttttt 300  
 tttttttttttt gaaatggggat cttttttttttt cttttttttttt cttttttttttt tttttttttttt 360  
 ttgtttttttttt ttgtttttttttt ttgtttttttttt ttgtttttttttt ttgtttttttttt ttgtttttttttt 420  
 ttgtttttttttt ttgtttttttttt ttgtttttttttt ttgtttttttttt ttgtttttttttt ttgtttttttttt 480

atctccatcc cgsatttcaa gataaaggaa atccatggaa ttcttgcacaga gaccccaagg 540  
 ctgtgtaaaga acatccatcc acgtggatgt tttttgagag tgacatgtcc acttttgtcaa 600  
 aataatgttca gggaaaagtc aacaatgtcc atgacatcat gcaacatctt tcaaatgtaca 660  
 aagatgccat tgcacggatc cttgtatgtt gatgtaaacag tttgttccca ggtatgttgg 720  
 ctatggacta caatcacattt aaggatgtatgt ctgtatgttact tcaatccatcc aatgtatgttgg 780  
 aaggtgtatt caatccatcc tttttccatcc aacttttggg aagttttaggs accagccgtt 840  
 ctgcacatcc ggttgcgtgc atgtatgttgg aagacaaatt tgcacccatcc agggatgttgg 900  
 tccgtgtctt tttttccatcc ttcgtatgttgc tcaacatccatcc tttttgttgg 960  
 aatccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg accagccgtt 1020  
 ttccttggaca ctttgcacga gttacccgtt gaaagggccgg aatgtatgttgc tcccttgcgtt 1080  
 ctaaaggatc tttttccatcc tttttgttggt gatgtatgttgg taaaacaatt gaaaaaaatttt 1140  
 tgggtgttgc tggccacccaa gggccatccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg 1200  
 atggaaaacgt tgctgtaaaaa tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg atccatccatcc 1260  
 gacatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 1320  
 gacatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 1380  
 caatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 1440  
 ctgtatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 1500  
 aatatgtcaac caatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 1560  
 tgaatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 1620  
 cttatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 1680  
 tcatttggatc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 1740  
 tgggttggagg tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 1800  
 aggttctcat tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 1860  
 aaagtatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 1920  
 aggttctcat tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 1980  
 ttaaggaaagg tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2040  
 actccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2100  
 sagatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2160  
 caatccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2220  
 tttttccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2280  
 ccatttccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2340  
 atccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2400  
 tttttccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2460  
 agccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2520  
 atgttgcataa tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2580  
 acggggaaataa tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2640  
 gggatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2700  
 gtatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2760  
 tgcacatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2820  
 tccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2880  
 ctatccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 2940  
 aatccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3000  
 ctggatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3060  
 gatccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3120  
 gggatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3180  
 aatccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3240  
 gtatccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3300  
 aatccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3360  
 atccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3420  
 aaacatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3480  
 atccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3540  
 tggatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3600  
 cttttccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3660  
 tccatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3720  
 acacacatccatcc tttttccatcc tttttgttggg aatgtatgttgg aatgtatgttgg 3780

cagttttttgt	cataaaatgtt	gcaggatctc	atccatgtgc	taaaatttat	ttgggggggtc	3840
acagcatcgc	atccaaaaca	agtggccca	agaagattaa	tgttctcatc	aacgtgtgg	3900
ctattgtgt	aggagagtag	gacatgttc	atgaacaaga	gggcaagaa	atttcaagg	3960
tcttaaaatg	gggtatcaat	taatgtttt	acttcttttt	gaatctctgg	gtatgtatgt	4020
atggccatgc	agtccagatca	atccctgttc	catctgttac	gggtcaacat	tgccgtttgt	4080
gtggaaactt	caacagassc	caatgtatg	aatttggaaag	caaggatgtc	atccaaatgt	4140
agacatccgc	cgagcttttt	gaagattata	aatggaaatg	tttggaaattt	attttttca	4200
tcg						4203

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 821

&lt;212&gt; DNA

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

&lt;400&gt; 16

cttctttaat	cctgaaaagg	tagttagtg	acttccacgg	aaatggccaa	aaacaaggaa	60
gtccgttaac	cgaggaaacta	caagttagcc	tccggagtcg	tccgggttgg	caaattctaa	120
atgtaccaca	agaaggcaat	ctatessatc	ttgaaaggaga	caacccccc	aaaggtttag	180
gcccgtttagc	cggcccttgc	tqagaaagaq	gtccggagggt	ccaaatgg	gggtacttgt	240
atggttcgcg	tccaaagat	aaagaacgc	tcccccacca	tggaaagaa	tgctctataga	300
atccyccssg	agccgtgaa	gctctctgc	agggtccgtc	ctaccctcsc	ccctggaaact	360
atrgcgtt	tttttgcagg	tatccacaaa	ggaaaggaga	tcgttatttc	caaggagatc	420
cccaatggaa	tgcattttgt	ttctggcccc	ttcaagatca	atcaatgtcc	atttaaagg	480
atattcttcc	gtatattttt	ggccacatca	accaatgtcg	atgttttcc	cattaaatg	540
cccgagaa	ttaatgtatg	tttttttgt	cgttttag	ccggccaa	ggccgttgg	600
atgtgtttcg	aaaggtaaaaa	ggaaayaat	aaaccccttgc	aaacacgtaa	ggaggacccs	660
gtccgttgg	ataagccgt	ccctcaatgt	atcatgttgc	ACCCCGGAGC	ctctcttttg	720
aaaaatctact	tggaaagg	cttccgttct	agcaaggggac	aatatactca	taatatgaa	780
tttttaattgt	cgtttttgtt	ataaaaaatca	aaatattctcg	c		821

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 591

&lt;212&gt; DNA

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

&lt;400&gt; 17

tcaatttgt	tgttccagga	agagaaacat	aaagatcatt	ccatctttt	cacttttgtt	60
catgtccgt	tctggagg	atccggatgt	ggagtcctgc	aaatcccgata	acttggggaga	120
aggagacatt	ggcccttctc	tttataccct	tccaggatgt	atgtggacca	gtctggattt	180
gaaagccctc	tttgcatttcc	acaaggacdt	cgatggagat	gtggatgtt	aaatcaatgt	240
ggtcasagass	ggatattgtt	ccatccccc	ccctgtcatt	gaaaggccctt	ccggccatgc	300
tttgggttgt	tgttccatca	aaatggagga	gtttgttgc	aaatatgcgt	tttttttgtt	360
cccaatgtat	tttcccaagg	ggccaaatgt	ttttttccct	ttggaaaggca	gacaaatgtgg	420
atgtgttatt	tcttcacatgt	catcccaat	ttccatccca	acccctgc	tttttttgtt	480
ggggaccatt	catggaaactc	tctctgtgc	cagaacccgg	aaagaatgtt	tctgtatca	540
tggagatttg	aaaaatgtca	attatctt	gtttttgtat	ccatatttgc	a	591

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 3718

&lt;212&gt; DNA

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

&lt;400&gt; 18

ccatccaaaga	tggagggtcsc	agccctccctt	tgccttattttg	tttgcggctgt	caggcggaaagc	60
atsttttgaaag	atggaaagca	atatgtatrt	gatccggaga	cattctgttgt	tgttgttscg	120
atggaccatg	ctcccacactc	atctggatit	gttttacaagc	accatactac	catgcaagtt	180
ccaggagata	scatcaaaagt	gaaqutttt	gacttgcgtat	tctccatcttt	ccatggaaesa	240
catgagaatg	qagqgttccc	atttgaccac	acttacatcc	tttgcacacaa	cagagacatt	300
cctgcatttg	segttcagtt	ggactccat	ggattgtttt	cattccctca	agtgggtcct	360
aaatctgacac	tattccaaacg	taacatgatc	agaggatgggg	ctcaaaagact	ccatcttgaa	420
atggataaasa	tcaacatc	tggacatgga	ttccattctg	ccggggcaat	catcttttgg	480
gattgtgata	ctcttttac	tgttagtgt	catcaatattg	tggaaatctgt	aaqtgtatct	540
ssagatgtca	aaaacagag	scgtgttcc	attgtatgtt	ggaggggcga	acgttgtgac	600
atggacccatg	agcataccg	ggcagagaga	atcccaatgt	gtcttttact	tgcttccaa	660
ccctttatgt	tcgtggacaa	ggaggggagat	cattttccac	cttggccat	catggatca	720
tccctcagttg	ttgcacat	ctatcaaaig	gaaggagtc	cctttatigc	tcacttcaat	780
tcaacatcta	ttttgaaatc	tgttgaagat	atctcagaa	ctatggtgt	tgttggaaat	840
ccagtcagg	atctttaata	cgaaatttgc	gataaaagat	atcaatggas	ttctgacaga	900
gaccccaagg	ctctgtgaa	acattttatcc	actgggtat	tttttgagag	tgacatgrcc	960
acttttgtcc	satatgttta	ggaaaaagc	ccaaatgttcc	atgacatct	gcacatctt	1020
tcaaaatgaca	aaatgtccat	tgcagaagct	catgataat	gatgtaaacag	tatgttaccc	1080
ggtatgttgg	ctatggacta	caatcacatt	ggggctatgt	ctggaaagact	tcacttccac	1140
aaatctgtat	aaatgtgttt	caatataat	cttttcaat	sacttttggg	aaatgttagg	1200
cccaaggttt	ctgcacat	ggtcctgt	atgtatcat	segarcaatt	tgaaaaactt	1260
agggtgttgt	tccgtgttct	tactgcatt	cttttccata	trcgtaaccc	tagcaagca	1320
cttttggatg	atctggaa	tttgtacaac	tacgtatgg	atcaacttct	casagatgcc	1380
gtccccaaatg	ttcttgac	cttgcac	gttacatgc	aaagagccgg	agtatgtc	1440
cccccctgttt	cttggaaat	tttccatct	gttgcgtat	gtatccgca	tttttcaatt	1500
gaaaaatata	tgggtgc	tgaccacaa	gaggcaat	agtttcttgg	aatgttgtt	1560
atctttoget	atggaaac	tgctgtaaaa	ttaaagcct	ttatttatgg	agaaaactgag	1620
atcaaaatgt	gacatctcc	tactctgt	gttcaagct	ctgttttgg	agcaatca	1680
cccgaaagg	gaggtgtata	tttatttgc	attttttgc	acagtgtaaa	ctctcatgaa	1740
cttagatgt	ccgtctctc	atacttgat	gacgtat	ccacccgca	tcacttca	1800
ccatcggtt	ctgtactt	caagaa	gattatgaa	ttatcact	tgcttttaca	1860
ctcttggat	atctgtt	caatattt	ccctgcas	atccggtct	tgttattggc	1920
aaatacttct	tgaatata	taagcaat	agtcattt	aaactgact	tggtatggg	1980
gtgttccat	ctttagat	tcaat	caatctt	ccgggtat	agggtgat	2040
agctacttgg	tcatttggat	tcatagtt	cccttcc	tgatgttgt	aatgtgtat	2100
gacacacat	tgtttggagg	atataat	atggaaat	gtgtgtat	aaatgttgg	2160
ggatgttcc	aggttctat	ccgtttaat	aaagccat	gcccgtat	ctggaaatct	2220
ggagatctca	aaatgtatct	atggggat	atgacat	ggggat	tgatcaacca	2280
atcaacgtt	agggttctt	tttgcac	asctcgtt	ttgcacat	acaatata	2340
ggagatctca	tttggggagg	tgggaaat	aaagat	tgcataat	gaaaggactt	2400
ggaggccat	actccat	tcaccaaa	gcaatgat	ttggaaatct	cttgttccat	2460
ccaccccttgg	aaatgtgt	tccagtt	tactttaat	catccat	egttttttgt	2520
gttcaagat	caat	ggggaaat	aggggtt	tgttca	tgttcaat	2580
aaatgtat	tttttggaca	tggatct	atgtatgt	ttccaaatccc	acaatcaaa	2640
atgttttctt	ccatthtca	aaatccgtt	tatggat	atttccca	agatatttgt	2700
atggagat	atccat	gaaagat	aaat	ttccaa	ttttatgt	2760
atccactcg	tactt	gcaat	tttt	ccat	ccatgtat	2820
aatgtaaa	aggat	agccat	gtt	atgtat	ttttatgtt	2880
atgtgttcc	atgtgt	aaatggat	tttt	atgtat	ttttatgt	2940
tcttata	acggggaa	ttttgact	gaaatgg	ccat	aaatggat	3000
tccat	ggagagcc	tttac	ccat	tttgcacat	ttggaaatgt	3060
atccat	gtat	ccat	at	tgcacat	atgtgaa	3120
tgtggagca	tgcttgc	gtcaca	ggggaaat	caat	gttggaaat	3180
tcatatgat	tcaat	tcccaat	ccat	ttttatgt	atgtgaaat	3240

gttgtcacaa	cttattatcaa	agccaaaggaa	gaaaccacaagg	ataggagtata	ccaaattattt	3300
ttggggacatg	atttcaactcc	tggatcatt	gagaatcgtc	tcaagtttag	atgtcaaaaga	3360
gtgcagttc	ctggaaatata	gtctgattat	tctatttgc	tcaatatagg	aaacaagtc	3420
ccagacitgg	gagaaatgtt	tatgacitata	gaaaagggca	ctcaatttca	atgtactgg	3480
aaggcaaaac	ttcaatatagg	tgcgtgtcgt	gactgtgact	ctacttctgg	agaatgtaaa	3540
ttaagcttca	atcatgaaac	aactgaagaa	gcaagagagg	ctatgaaaca	cactiggtac	3600
tatgaaaatgt	gtatggaaaca	gaaagaaacag	ccatgatgggg	caaaacaggagg	tgtataaaactt	3660
ccattcacac	aaatgttggca	catgacaaca	tggatgcaaa	ctactgtcc	gtaaaatac	3718

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 2428

&lt;212&gt; DNA

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (2077)

&lt;223&gt; n = nucleótido desconhecido

&lt;400&gt; 19

ccaaatcttag	ctatgtcaata	tgcactatgtc	aaaataatttt	atatactgtt	tttataatttga	60
tttttattttt	tatattatca	catcccttgc	gacttttgc	ccaaatgtttt	ctgtgtttaaac	120
tttttggtca	tttattacata	gttgcataac	ctatttcaag	tatstttaagg	ccgtatcata	180
tgtttttttt	tatattttt	tcactgtatg	ttttgcattt	tatsttgcac	cttgcgtgtaa	240
gtgttttttt	aaatattata	gttgcagacc	tgcacgtgt	agatgtacgc	tataaattgt	300
atgcacccccc	cttcaatttat	tttgccttcc	aaatggccac	atgtttttgt	tatcttgcac	360
ccatgttata	tccttctttt	tccttcaatgt	catctccctt	tcctttttcc	cttgcgttacat	420
cttattttac	cccccacccac	atttttccat	tgacttcctt	gaccacaaac	ccatctgttt	480
caacaacccac	ccctgcacca	tctatattac	gaaatgtttt	ctttcccaac	tctttccaaac	540
catctttttt	ttctttctgt	aaaaatgttt	ccatcaactac	aaatccaccc	gttacaaat	600
ccctcaacccac	aaatcaatca	cccttcaccc	aaatcttttc	ccctccatca	tctgtttatg	660
aaatgttgcac	aaatattttt	ccatccaaag	tagcttcata	aaatcaatgt	tatacccccc	720
ctcttttactc	aaaaaaatgt	ttctttaccc	aaatccatctc	tgtttttttt	aaatgtttatg	780
aaatcccccgt	aaatgttcaaa	aaatgttcaaa	aaatccatgt	aaatccatgt	tatacccccc	840
cttcaatgtca	tcccgagccgc	ccatgttgc	aaatccatgtt	aaatccatgtt	aaatccatgtt	900
tttgatgtttt	aaatccatgtt	aaatccatgtt	aaatccatgtt	aaatccatgtt	aaatccatgtt	960
tatcaaaaaaa	gttcaatgtt	tttgcacat	aaatccatgtt	aaatccatgtt	aaatccatgtt	1020
ccatcatcttt	ttatgttttca	ccatcatcttt	ttatgttttca	ttatgttttca	ttatgttttca	1080
aaatccaaatcc	tatccatgtt	ttatgttttca	aaatccatgtt	aaatccatgtt	aaatccatgtt	1140
cttcaatgtat	tttgcgttcc	ccatccatgtt	aaatccatgtt	aaatccatgtt	aaatccatgtt	1200
ccatgttccat	atctatgttt	aaatccatgtt	atgtatgttt	aaatccatgtt	aaatccatgtt	1260

cattccscsac	aggtaaacct	gttcttgttt	ctacggacagc	aaatggatata	tactttacgg	1320
ccggaaaccaaa	agggttacga	agttttccac	tttacacgaga	acaacgcacat	ctttttttcat	1380
ctatccctta	tgttccaaaca	actacatcaa	ggcagccctcc	agttttttgtt	tttttttttttt	1440
cacccsagcc	ccatctggaa	ccatctggcc	atatatcgoya	ttttttttttt	tttttttttttt	1500
aaagtggaaaa	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	1560
atatacaatt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	1620
atggaaatccg	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	1680
aaatgttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	1740
ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	1800
ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	1860
ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	1920
ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	1980
ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	2040
ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	2100
ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	2160
ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	2220
ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	2280
ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	2340
ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	2400
ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	ttttttttttt	tttttttttttt	2426

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 1393

&lt;212&gt; PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

&lt;400&gt; 20

Phe Gin Arg Asn Met Ile Arg Gly Itp Ala Gln Arg Leu Gin Leu Asn  
 1 8 10 15  
 Met Asp Lys Ile Asn Asn His Gly His Phe His Ser Glu Glu Gln  
 20 25 30  
 Ser Ile Phe Gly Asp Cys Asp Thr Leu Tyr Thr Val Ser Asp His Lys  
 35 40 45  
 Ile Val Lys Ser Val Ser His Thr Lys Asp Cys Lys Asn Arg Val His  
 50 55 60  
 Val Leu Ile Asp Asp Trp Arg Gly Glu Arg Cys Asp Ile Asp Pro Glu  
 65 70 75 80  
 His Pro Glu Ser Arg Glu Asn Pro Asn Gly Leu Tyr Ser Ala Ser Asn  
 85 90 95  
 Thr Ile Tyr Val Val Asp Lys Lys Gly Asp His Phe His Pro Lys Ala  
 100 105 110  
 Ile Ile Gly Ser Ser Ser Val Val Ala Gln Phe Tyr Gln Met Glu Gly  
 115 120 125  
 Val Ser Phe Ile Ala His Ser Asn Ser Thr Ser Ile Leu Lys Ser Val  
 130 135 140  
 Glu Asp Ile Ser Glu Pro Met Val Val Gly Ile Pro Val Lys Asp  
 145 150 155 160  
 Leu Lys Tyr Gln Phe Glu Asp Lys Glu Tyr Gln Trp Asn Ser Asp Arg  
 165 170 175  
 Asp Leu Lys Ala Arg Glu Glu His Leu Ser Thr Gly Glu Phe Phe Glu  
 180 185 190  
 Ser Asp Met Ser Thr Leu Ser Lys Tyr Val Lys Glu Lys Leu Asn Lys  
 195 200 205  
 Phe His Asp Ile Met Gln His Leu Ser Asn Asp Lys Asp Ala Ile Ala  
 210 215 220  
 Glu Ala His Asp Asn Gly Val Asn Ser Met Val Pro Gly Met Leu Ala  
 225 230 235 240  
 Met Asp Tyr Asn Thr Leu Lys Ala Met Ser Glu Glu Leu His Ser Asp  
 245 250 255  
 Lys Ser Asp Glu Gly Val Phe Lys Tyr Asn Leu Phe Asn Glu Leu Leu  
 260 265 270  
 Gly Ser Leu Gly Thr Ser Ala Ser Ala Leu Leu Val Arg Asp Met Ile  
 275 280 285  
 Met Glu Asp Lys Phe Glu Asn Phe Arg Asp Ala Val Arg Ala Leu Thr  
 290 295 300  
 Ala Ile Pro Phe His Ile Arg His Pro Ser Lys Gin Leu Leu Ser Glu  
 305 310 315 320  
  
 Phe Glu Ala Leu Tyr Asn Tyr Asp Gly Asp Gln Leu Leu Lys Asp Ala  
 325 330 335  
 Val Pro Ile Val Leu Gly His Leu Ala Arg Val Thr Cys Glu Arg Ala  
 340 345 350  
 Gly Val Met His Ser Pro Ala Ser Lys Glu Cys Phe His Ser Val Val  
 355 360 365  
 Asp Gly Tyr Ala Asp Lys Thr Ile Glu Lys Ile Met Gly Ala Ser Asp  
 370 375 380

His Lys Glu Gln Ile Lys Leu Leu Gly Met Leu Phe Asn Leu Arg Tyr  
 385 390 395 400  
 Gly Asn Val Ala Glu Lys Leu Lys Pro Leu Ile Tyr Gly Glu Thr Glu  
 405 410 415  
 Ile Lys Cys Gly His Leu Arg Thr Leu Ala Val Gln Ala Ala Ala Phe  
 420 425 430  
 Gly Thr Ile Asn Asn Gly Lys Gly Ala Glu Tyr Leu Leu Pro Ile Phe  
 435 440 445  
 Ala Asp Ser Glu Asn Ser His Glu Leu Arg Leu Thr Ala Leu Ser Tyr  
 450 455 460  
 Leu Met Asp Ala His Pro Thr Ala Thr His Phe Asn Thr Ile Val Ala  
 465 470 475 480  
 Val Leu Tyr Arg Glu Lys Asp Tyr Glu Val Ile Asn Tyr Ala Phe Thr  
 485 490 495  
 Leu Leu Asp Lys Tyr Ala Thr Asn Ile Asn Pro Cys Lys Lys Ser Val  
 500 505 510  
 Ser Val Leu Ala Lys Tyr Phe Leu Lys Tyr Leu Lys Gln Tyr Ser His  
 515 520 525  
 Phe Glu Thr Asp Tyr Gly Leu Gly Val Ser Lys Thr Tyr Ser Arg Gln  
 530 535 540  
 Phe Gln Gln Ser Lys Tyr Gly Tyr Gly Glu Tyr Ser Tyr Trp Val  
 545 550 555 560  
 Ile Gly Ser His Ser Ser Thr Leu Pro Leu Ser Val Ala Met Cys Met  
 565 570 575  
 Asp Thr Thr Leu Phe Gly Gly Tyr Thr Ala Asn Gly Met Cys Val Gln  
 580 585 590  
 Leu Arg Ile Glu Gly Leu Ser Lys Ala Leu Ile Arg Lys Phe Lys Thr  
 595 600 605  
 Met Ser Pro Asp Ile Trp Lys Ser Glu Asp Leu Lys Ser Ile Leu Met  
 610 615 620  
 Gly Asp Met Asn Ile Lys Glu Arg Pro Asp Gln Pro Ile Asn Val Glu  
 625 630 635 640  
 Val Leu Leu Phe Val Lys Asn Ser Val Val Ala Phe Arg Gln Tyr Asn  
 645 650 655  
 Glu Asp Ser Ile Lys Glu Gly Gly Asn Leu Lys Glu Ile Phe Asp Gln  
 660 665 670  
 Leu Lys Gly Leu Gly Asp Thr Tyr Ser Ile Asn His Gln Arg Ala Met  
 675 680 685  
 Arg Phe Gln Ser Leu Leu Tyr Gln Gln Pro Leu Glu Val Gln Ala Pro  
 690 695 700  
 Val Ser Tyr Leu Asn Ser Phe Thr Gly Val Phe Asp Val Gln Ala Thr  
 705 710 715 720  
 Ile Lys Lys Gly Asn Ala Arg Gly Leu Met Phe Arg Asp Val Lys Tyr  
 725 730 735  
 Asn Met Asn Phe Phe Gly His Gly Ser Arg Met Met Val Gln Asn  
 740 745 750  
  
 Pro Gln Ser Lys Met Phe Tyr Ser Ile Ser Gln Asn Arg Ile Tyr Gly  
 755 760 765  
 Ser His Phe Pro Arg Glu Phe Val Ile Gly Val Asn Pro Leu Lys Lys  
 770 775 780

Glu Phe Lys Leu Ser Ile Gln Arg Pro Ser Tyr Glu Asn Pro Leu Val  
 785 790 795 800  
 Leu Met Met His Ser Leu Thr Lys Val Tyr Thr Gly Ser Gln Asn Val  
 805 810 815  
 Asn Glu Lys Gln Asp Ile Ser Ala Asn Cys Pro Glu Cys Lys Ser Asp  
 820 825 830  
 Thr Pro Val Ser Tyr Gly Pro Asp Ala Ala Lys Thr Arg Val Phe Leu  
 835 840 845  
 Asn His Asp Cys Asp Lys Thr Gly Ser Tyr Ile His Gly Glu Tyr Phe  
 850 855 860  
 Asp Cys Glu Met Glu Ser Asn Arg Gly Lys Val Leu Tyr His Leu Itp  
 865 870 875 880  
 Arg Ala Met Leu Pro Tyr Asn Lys Asn Pro Lys Thr Phe Gly Asn Gly  
 895 900 895  
 Ile Arg Met Gly Ile Arg Gln Ile Arg Ala Tyr Phe Val Phe Phe Pro  
 900 905 910  
 Arg Ala Glu Lys Cys Gly Ala Met Leu Arg Trp Ser Gln Ser Lys Glu  
 915 920 925  
 Asn Pro Val Lys Glu Leu Glu Ile Ser Leu Arg Phe Asn Ala Asn Pro  
 930 935 940  
 Asn Gly Glu Arg Leu Phe Phe Arg Gly Arg Lys Trp Val Val Thr Thr  
 945 950 955 960  
 Ile Ile Lys Ala Lys Gly Glu Pro Gln Asp Arg Val Tyr Lys Ile Ile  
 965 970 975  
 Leu Gly His Glu Phe Thr Pro Gly Tyr Ile Glu Asn Arg Leu Lys Phe  
 980 985 990  
 Arg Met Gln Arg Ala Ala Val Pro Gly Ile Met Ser Asp Tyr Ser Ile  
 995 1000 1005  
 Cys Phe Asn Met Glu Asn Lys Tyr Pro Asp Phe Gly Glu Glu Phe  
 1010 1015 1020  
 Met Thr Tyr Asp Lys Ser Thr Gln Leu Lys Met Thr Gly Lys Ala  
 1025 1030 1035  
 Lys Leu Gln Tyr Gly Ala Ala Ala Asp Cys Asp Ser Thr Pro Gly  
 1040 1045 1050  
 Glu Met Lys Leu Ser Phe Lys His Glu Thr Thr Glu Glu Ala Arg  
 1055 1060 1065  
 Glu Ala Met Lys His Thr Trp Tyr Tyr Glu Lys Cys Met Glu Gln  
 1070 1075 1080  
 Lys Lys Gln Pro Glu Trp Ala Asn Arg GLY Asp Lys Leu Pro Phe  
 1085 1090 1095  
 Thr Gln Ala Cys His Met Thr Thr Trp Asp Ala Thr Thr Ala Arg  
 1100 1105 1110  
 Lys Tyr Ser Trp Lys Met Asn Phe Val Lys Met Thr Asp Arg Met  
 1115 1120 1125  
 Asn Ala Ile Val Ser Gln Phe Gln Ser Ile Met Lys Thr Gly Leu  
 1130 1135 1140  
 Leu Pro Tyr Trp Asp Ile Asp Pro Glu Ile Ile Pro Ala Thr Ser  
 1145 1150 1155  
 Ala Asp Pro His Met Asn Ile Lys Ala Thr Leu Lys Asn His Asp  
 1160 1165 1170  
 Lys Asn Val Asp Met Tyr Met Glu Thr Ser Gln Gly Gly Gln Arg

1175	1180	1185
Phe Asn Asp Ile Pro Leu Ser	Leu Asn Trp Arg	Pro Met Leu Arg
1190	1195	1200
Asn Leu Lys Phe Thr Ser Thr	Thr Arg Arg Leu	Met Gln Tyr Lys
1205	1210	1215
Ile Ile His Gly Cys Thr Thr	Thr Ile Asp His Val	Tyr Thr Leu
1220	1225	1230
Asp Asn Val Thr Tyr Pro Tyr	Thr Pro Thr Ser Cys	Trp Thr Leu
1235	1240	1245
Ala Ser Gly His Cys Ser Pro	His Pro Thr Tyr Ala	Val Phe Val
1250	1255	1260
Lys Lys Ser Ala Gly Ser His	Leu Asp Ala Lys Ile	Tyr Leu Gly
1265	1270	1275
Gly His Ser Ile Glu Phe Gln	Thr Ser Gly Pro Lys	Lys Ile Asn
1280	1285	1290
Val Leu Ile Asn Gly Glu Ala	Ile Asp Val Gly Glu	Glu Glu Glu His
1295	1300	1305
Val His Glu Gln Asp Gly Gln	Glu Ile Phe Lys Val	Leu Lys Trp
1310	1315	1320
Gly Ser Ser Tyr Ser Val Tyr	Ser Phe Leu Lys Ile	Trp Val Val
1325	1330	1335
Tyr Asp Gly His Ala Val Ser	Leu Ile Pro Ala Pro	Ser Val Thr
1340	1345	1350
Gly Gln His Cys Gly Leu Cys	Gly Asn Phe Asn Arg	Asn Gln Tyr
1355	1360	1365
Asp Glu Phe Glu Ser Lys Asp	Ala His Gln Leu Lys	Thr Ser Asp
1370	1375	1380
Glu Leu Val Glu Asp Tyr Lys	Trp Lys Cys	
1385	1390	

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 247

&lt;212&gt; PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

&lt;400&gt; 21

Met Ala Lys Asn Lys Asn Val Gly Lys Pro Arg Asn Tyr Lys Leu Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Gly Val Val Arg Phe Gly Lys Ser Lys Met Tyr His Lys Lys Ala  
 20 25 30  
 Ile Tyr Lys Phe Leu Lys Lys Thr Thr Pro Lys Lys Val Glu Ala Ser  
 35 40 45  
 Lys Pro Ala Phe Val Glu Lys Lys Val Gly Gly Ala Lys Asn Gly Gly  
 50 55 60  
 Thr Arg Met Val Arg Val Lys Lys Leu Lys Asn Asp Phe Pro Thr Met  
 65 70 75 80  
 Glu Arg Arg Ala His Arg Ile Ala Lys Lys Pro Glu Lys Leu Ser Arg  
 85 90 95  
 Arg Val Arg Pro Thr Leu Thr Pro Gly Thr Ile Ala Val Ile Leu Ala  
 100 105 110  
 Gly Ile His Lys Gly Lys Arg Ile Val Ile Leu Lys Glu Leu Ser Ser  
 115 120 125  
 Gly Met Leu Leu Ile Ser Gly Pro Phe Lys Leu Asn Asn Cys Pro Ile  
 130 135 140  
 Arg Arg Ile Asn Gln Arg Tyr Leu Leu Ala Thr Ser Thr Lys Leu Asp  
 145 150 155 160  
 Val Ser Ser Ile Lys Met Pro Glu Asn Ile Asn Asp Asp Tyr Phe Arg  
 165 170 175  
 Arg Leu Arg Ala Ala Lys Lys Pro Ala Gly Ser Val Phe Glu Gly Lys  
 180 185 190  
 Lys Glu Glu Tyr Lys Pro Ser Glu Gln Arg Lys Lys Asp Gln Val Glu  
 195 200 205  
 Val Asp Lys Gln Leu Leu Asn Val Ile Met Lys His Pro Glu Ala Ser  
 210 215 220  
 Leu Leu Lys Gln Tyr Leu Lys Lys Ser Phe Gly Leu Ser Lys Gly Gln  
 225 230 235 240  
 Tyr Pro His Asn Met Lys Phe  
 245

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 178

&lt;212&gt; PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

&lt;400&gt; 22

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

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 1234

&lt;212&gt; PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (1018)

&lt;223&gt; Xaa = aminoácido desconhecido

&lt;400&gt; 23

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

20	25	30	
Val Val Val Gly Thr Met Asp His Ala Pro His Ser Ser Gly Phe Ala			
35	40	45	
Tyr Lys His His Thr Thr Met Gln Val Gln Gly Asp Asn Ile Lys Val			
50	55	60	
Lys Leu Ser Asp Val Glu Phe Ser Gln Phe Asn Gly Lys His Glu Asn			
65	70	75	80
Gly Glu Phe Pro Phe Asp His Thr Asn Phe Val Ala Thr Asn Arg Asp			
85	90	95	
Ile Pro Ala Phe Glu Val Gln Leu Asp Ser His Gly Ile Phe Ser Ser			
100	105	110	
Leu Lys Val Gly Pro Lys Leu Thr Leu Phe Gln Arg Asn Met Ile Arg			
115	120	125	
Gly Trp Ala Gln Arg Leu Gln Leu Asn Met Asp Lys Ile Asn Asn His			
130	135	140	
Gly His Gly Phe His Ser Glu Gln Ser Ile Phe Gly Asp Cys Asp			
145	150	155	160
Thr Leu Tyr Thr Val Ser Asp His Lys Ile Val Lys Ser Val Ser His			
165	170	175	
Thr Lys Asp Cys Lys Asn Arg Val His Val Leu Ile Asp Asp Trp Arg			
180	185	190	
Gly Glu Arg Cys Asp Ile Asp Pro Glu His Pro Glu Ser Arg Glu Asn			
195	200	205	
Pro Asn Gly Leu Tyr Ser Ala Ser Asn Thr Ile Tyr Val Val Asp Lys			
210	215	220	
Lys Gly Asp His Phe His Pro Lys Ala Ile Ile Gly Ser Ser Ser Val			
225	230	235	240
Val Ala Gln Phe Tyr Gln Met Glu Gly Val Ser Phe Ile Ala His Ser			
245	250	255	
Asn Ser Thr Ser Ile Leu Lys Ser Val Glu Asp Ile Ser Glu Pro Met			
260	265	270	
Val Val Val Gly Ile Pro Val Lys Asp Leu Lys Tyr Glu Phe Glu Asp			
275	280	285	
Lys Glu Tyr Gln Trp Asn Ser Asp Arg Asp Leu Lys Ala Arg Glu Glu			
290	295	300	
His Leu Ser Thr Gly Glu Phe Phe Glu Ser Asp Met Ser Thr Leu Ser			
305	310	315	320
Lys Tyr Val Lys Glu Lys Leu Asn Lys Phe His Asp Ile Met Gln His			
325	330	335	
Leu Ser Asn Asp Lys Asp Ala Ile Ala Glu Ala His Asp Asn Glu Val			
340	345	350	
Asn Ser Met Val Pro Gly Met Leu Ala Met Asp Tyr Asn Thr Ser Lys			
355	360	365	
Ala Met Ser Glu Glu Leu His Ser Asp Lys Ser Asp Glu Gly Val Phe			
370	375	380	
Lys Tyr Asn Leu Phe Asn Glu Leu Leu Gly Ser Leu Gly Thr Ser Ala			
385	390	395	400
Ser Ala Leu Leu Val Arg Asp Met Ile Met Glu Asp Lys Phe Glu Asn			
405	410	415	
Phe Arg Asp Ala Val Arg Ala Leu Thr Ala Ile Pro Phe His Ile Arg			
420	425	430	

His Pro Ser Lys Gln Leu Leu Ser Glu Phe Glu Ala Leu Tyr Asn Tyr  
 435 440 445  
 Asp Gly Asp Gln Leu Leu Lys Asp Ala Val Pro Ile Val Leu Gly His  
 450 455 460  
 Leu Ala Arg Val Thr Cys Glu Arg Ala Gly Val Met His Ser Pro Ala  
 465 470 475 480  
 Ser Lys Glu Cys Phe His Ser Val Val Asp Gly Tyr Ala Asp Lys Thr  
 485 490 495  
 Ile Glu Lys Ile Met Gly Ala Ser Asp His Lys Glu Gln Ile Lys Leu  
 500 505 510  
 Leu Gly Met Leu Phe Asn Leu Arg Tyr Gly Asn Val Ala Glu Lys Leu  
 515 520 525  
 Lys Pro Leu Ile Tyr Gly Glu Thr Glu Ile Lys Cys Gly His Leu Arg  
 530 535 540  
 Thr Leu Ala Val Gln Ala Ala Phe Gly Ala Ile Asn Asn Gly Lys  
 545 550 555 560  
 Gly Ala Gln Tyr Leu Leu Pro Ile Phe Ala Asp Ser Glu Asn Ser His  
 565 570 575  
 Glu Leu Arg Leu Thr Ala Leu Ser Tyr Leu Met Asp Ala His Pro Thr  
 580 585 590  
 Ala Thr His Phe Asn Thr Ile Val Ala Val Leu Tyr Arg Glu Lys Asp  
 595 600 605  
 Tyr Glu Val Ile Asn Tyr Ala Phe Thr Leu Leu Asp Lys Tyr Ala Thr  
 610 615 620  
 Asn Ile Asn Pro Cys Lys Lys Ser Val Ser Val Leu Ala Lys Tyr Phe  
 625 630 635 640  
 Leu Lys Tyr Leu Lys Gln Tyr Ser His Phe Glu Thr Asp Tyr Gly Leu  
 645 650 655  
 Gly Val Ser Lys Thr Tyr Ser Arg Gln Phe Gln Gln Ser Lys Tyr Gly  
 660 665 670  
 Tyr Gly Glu Tyr Ser Tyr Trp Val Ile Gly Ser His Ser Ser Thr  
 675 680 685  
 Leu Pro Leu Ser Val Ala Met Cys Met Asp Thr Thr Leu Phe Gly Gly  
 690 695 700  
 Tyr Thr Ala Asn Gly Met Cys Val Gln Leu Arg Ile Glu Gly Leu Ser  
 705 710 715 720  
 Lys Ala Leu Ile Arg Lys Phe Lys Thr Met Ser Pro Asp Ile Trp Lys  
 725 730 735  
 Ser Glu Asp Leu Lys Ser Ile Leu Met Gly Asp Met Asn Ile Lys Gln  
 740 745 750

Arg Pro Asp Gln Pro Ile Asn Val Glu Val Leu Phe Val Lys Asn  
 755 760 765  
 Ser Val Val Ala Phe Arg Gln Tyr Asn Glu Asp Ser Ile Lys Glu Gly  
 770 775 780  
 Gly Asn Leu Lys Glu Ile Phe Asp Gln Leu Lys Gly Leu Gly Asp Thr  
 785 790 795 800  
 Tyr Ser Ile Asn His Gln Arg Ala Met Arg Phe Gly Ser Leu Leu Tyr  
 805 810 815  
  
 Gln Gln Pro Leu Glu Val Gly Ala Pro Val Ser Tyr Leu Asn Ser Phe  
 820 825 830  
 Thr Gly Val Phe Asp Val Gln Ala Thr Ile Lys Gly Asn Ala Arg  
 835 840 845  
 Gly Leu Met Phe Arg Asp Val Lys Tyr Asn Met Asn Phe Phe Gly His  
 850 855 860  
 Gly Ser Arg Met Met Met Val Gln Asn Pro Gln Ser Lys Met Phe Tyr  
 865 870 875 880  
 Ser Ile Ser Gln Asn Arg Ile Tyr Gly Ser His Phe Pro Arg Gln Phe  
 885 890 895  
 Val Ile Gly Val Asn Pro Leu Lys Lys Glu Phe Lys Leu Ser Ile Gln  
 900 905 910  
 Arg Pro Ser Tyr Glu Asn Pro Leu Val Leu Met Met His Ser Leu Thr  
 915 920 925  
 Lys Val Tyr Thr Gly Ser Gln Asn Val Asn Glu Lys Gln Asp Ile Ser  
 930 935 940  
 Ala Asn Cys Pro Glu Cys Lys Ser Asp Thr Pro Val Ser Tyr Gly Pro  
 945 950 955 960  
 Asp Ala Ala Lys Thr Arg Val Phe Leu Asn His Asp Cys Asp Lys Thr  
 965 970 975  
 Gly Ser Tyr Ile His Gly Glu Tyr Phe Asp Cys Glu Met Glu Ser Asn  
 980 985 990  
 Arg Gly Lys Val Leu Tyr His Leu Trp Arg Ala Met Leu Pro Tyr Asn  
 995 1000 1005  
 Lys Asn Pro Lys Thr Phe Gly Asn Gly Asn Arg Met Gly Ile Arg  
 1010 1015 1020  
 Gln Ile Arg Ala Tyr Phe Val Phe Phe Pro Arg Ala Gln Lys Cys  
 1025 1030 1035  
 Gly Ala Met Leu Arg Trp Ser Gln Ser Lys Glu Asn Pro Val Lys  
 1040 1045 1050  
 Glu Leu Glu Ile Ser Met Arg Phe Asn Ala Asn Pro Asn Gly Glu  
 1055 1060 1065  
 Arg Leu Phe Phe Arg Gly Arg Lys Trp Val Val Thr Thr Ile Ile  
 1070 1075 1080  
 Lys Ala Lys Gly Glu Pro Gln Asp Arg Val Tyr Lys Ile Ile Ile  
 1085 1090 1095  
 Gly His Glu Phe Thr Pro Gly Tyr Ile Glu Asn Arg Leu Lys Phe  
 1100 1105 1110  
 Arg Met Gln Arg Ala Ala Val Pro Gly Ile Met Ser Asp Tyr Ser  
 1115 1120 1125

Ile	Cys	Phe	Asn	Met	Glu	Asn	Lys	Lys	Pro	Asp	Phe	Gly	Glu	Glu
1130						1135						1140		
Phe	Met	Thr	Tyr	Asp	Lys	Ser	Thr	Gln	Leu	Lys	Met	Thr	Gly	Lys
1145						1150						1155		
Ala	Lys	Leu	Gln	Tyr	Gly	Ala	Ala	Ala	Asp	Cys	Asp	Ser	Thr	Pro
1160						1165						1170		
Gly	Glu	Met	Lys	Leu	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Thr	Thr	Glu	Glu	Ala
1175						1180						1185		
Arg	Glu	Ala	Met	Lys	His	Thr	Trp	Tyr	Tyr	Glu	Lys	Cys	Met	Glu
1190						1195						1200		
Gln	Lys	Lys	Gln	Pro	Glu	Trp	Ala	Asn	Arg	Gly	Asp	Lys	Leu	Pro
1205						1210						1215		
Phe	Thr	Gln	Ala	Cys	His	Met	Thr	Thr	Trp	Asp	Ala	Thr	Thr	Ala
1220						1225						1230		

## Pro

&lt;210&gt; 24

&lt;211&gt; 714

&lt;212&gt; PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

&lt;400&gt; 24

Met	Lys	Thr	Ser	Ile	Ile	Phe	Ser	Leu	Tyr	Val	Leu	Pro	Ser	Ile	Leu
1				3					10					15	
His	Leu	Ala	Val	Ser	Glu	Asp	Lys	Thr	Ile	Ile	Ala	Glu	Asp	Leu	Thr
					20				25					30	
Ala	Val	Glu	Ser	Arg	Tyr	Lys	Val	Asp	Ala	Lys	Pro	Ser	Pro	Tyr	Val
					35				40					45	
Pro	Pro	Gln	Pro	Ala	Pro	Asp	Phe	Asp	Tyr	Phe	Ala	Pro	Thr	Val	Ser
					50				55					60	
Pro	Ser	Phe	Ser	Pro	Ile	Ala	Ser	Pro	Ser	Pro	Ser	Ser	Pro	Val	Thr
					65				70					75	
Ser	Tyr	Phe	Thr	Pro	Thr	Thr	Ile	Pro	Pro	Val	Thr	Pro	Ser	Thr	Thr
							85				90			95	
Thr	Thr	Thr	Val	Thr	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Thr	Ser	Thr	Tyr	Arg	Lys
										1050				110	

Leu Phe Phe Pro Thr Ser Phe Lys Pro Ser Phe Leu Ser Ser Arg Lys  
 115 120 125  
 Lys Leu Thr Thr Thr Thr Pro Ala Thr Thr Ser Ser Thr Thr  
 130 135 140  
 Thr Thr Ile Thr Phe Thr Pro Thr Ser Pro Pro Pro Ser Ala Asn  
 145 150 155 160  
 Glu Val Arg Thr Thr Leu Asn Pro Ser Lys Val Ala Ser Lys Thr Lys  
 165 170 175  
 Ser Tyr Thr Arg Pro Leu Tyr Ser Lys Lys Asn Phe Leu Arg Lys Lys  
 180 185 190  
 Pro Ser Val Tyr Tyr Lys Val Lys Lys Asn Pro Val Lys Leu Arg Lys  
 195 200 205  
 Val Lys Lys Ile Leu Arg Pro Val Ser Tyr Ser Thr Pro Gln Thr His  
 210 215 220  
 Pro Ser Ser Thr Thr Val Ser Thr Arg Asp Tyr Pro Ser Lys Ser  
 225 230 235 240  
 Leu Glu Ser Leu Thr Gln Thr Lys Ser Pro Glu Ile Val Ser Ala Phe  
 245 250 255  
 Thr Pro Val Ser Val Ser Lys Lys Ser Ile Lys Ser Leu Asn Ala Arg  
 260 265 270  
 Lys Ser Ser Tyr Ala Ser Pro Ser Thr Pro Ser Phe Arg Tyr Ser Pro  
 275 280 285  
 Thr Thr Pro Ser Ser Tyr Gln Ser Leu Lys Pro Phe Glu Pro Lys Pro  
 290 295 300  
 Ile His Arg Phe Arg Ser Lys Pro Gly Tyr Lys Ser Thr Arg Ser Lys  
 305 310 315 320  
 Pro Thr Tyr Val Ser Ser Thr Thr His Pro Ala Tyr Val Ser Ser  
 325 330 335  
 Thr Ile Ser Pro Ala Tyr Ala Ser Ser Ser Val Ser Pro Ala Tyr Ala  
 340 345 350

Ser Ser Ser Val Ser Pro Ala Tyr Ala Ser Thr Thr Val Lys Pro Val  
 355 360 365  
 Phe Val Ser Thr Thr Ala Asn Glu Ile Tyr Tyr Thr Pro Glu Pro Lys  
 370 375 380  
 Arg Val Arg Ser Leu Pro Leu Thr Arg Glu Gln Ala His Leu Tyr Ser  
 385 390 395 400  
 Ser Ile Pro Tyr Asp Ser Thr Thr Thr Ser Arg Gln Pro Pro Ala Pro  
 405 410 415  
 Val Ser Tyr Ser Thr Pro Lys Pro His Ser Lys Gln His Ser Gln Tyr  
 420 425 430  
 Arg Glu Leu Pro Leu Thr Arg Glu Gln Ser Glu Asn Ile Glu Phe Ser  
 435 440 445  
 Thr Pro Val Lys Ala Asn Thr Lys Pro Tyr Asn Asn Asn Ile Gln Phe  
 450 455 460  
 Asn Pro Val Arg Arg Ile Pro Ser His Tyr Arg Asn His Gln Ala Leu  
 465 470 475 480  
 Asn Glu Ile Arg Arg Glu Glu Lys Tyr Pro Ala Gln Pro Tyr Ser Phe  
 485 490 495

Ser Tyr Asp Ile Lys Asp Glu Thr Ser Gly Thr Asp Phe Phe Arg Ser  
                   500                 505                 510  
 Glu Glu Ser Ser Gly Pro Val Thr Lys Gly Ser Tyr Lys Val Ala Leu  
                   515                 520                 525  
 Pro Asp Gly Arg Ile Gin Ile Val Glu Tyr Ile Ala Asp Glu Asn Gly  
                   530                 535                 540  
 Tyr Lys Ala Thr Val Ser Tyr Glu Gly Glu Ala Val Phe Pro Asn Pro  
                   545                 550                 555                 560  
 Asp Asp Phe Glu Glu Glu Pro Thr Arg Arg Thr Phe Arg His Ser Arg  
                   565                 570                 575  
 Lys Val Asp Ile Asp Ser Val Pro Asn Asn Asn Tyr Ser Phe Leu Arg  
                   580                 585                 590  
 Asn Arg Val Arg Gly Ala Gly Thr Thr Glu Lys Ala Pro Ser Pro Gln  
                   595                 600                 605  
 Asp Thr Thr Ile Arg Pro Val Ser Leu Pro Leu Arg His Arg Leu Ser  
                   610                 615                 620  
 Arg Thr Glu Val Ser Lys Ser Leu Pro Thr Ser Pro Phe Pro Tyr Ala  
                   625                 630                 635                 640  
 Val Ser Ser Thr Ser Pro Ala Pro Leu Pro Ser Ser Gln Gly Pro Gln  
                   645                 650                 655  
 Arg Phe Arg Val His His Ser Ser Pro Asn Val Glu Gly Arg Val Leu  
                   660                 665                 670  
 His His Ser Thr Pro Pro Val Ser Tyr Ser Gln Leu Pro Gln Ile Ala  
                   675                 680                 685  
 Thr Thr Gln Lys Pro Arg Phe Leu His Asn Ala Asn Tyr Glu Glu Ala  
                   690                 695                 700  
 Leu Arg Asp Tyr Gly Ile Lys Val Asp Tyr  
                   705                 710

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 25

Phe Ile Asp Trp Ile Ala Glu His Gin  
                   1                  5

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 26

Ile Ala Val Ser Asp Ile Thr Tyr His Glu Lys  
                   1                  5                  10

<210> 27

<211> 27

<212> PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 27

Asp Gln Glu Phe Ile Gly Asp Val Val Val Ser Gly Trp Gly Thr Ile  
1 5 10 15  
Ser Ser Ser Gly Pro Pro Ser Pro Val Leu Lys  
20 25

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 28

Asn Gln Tyr Asp Glu Phe Glu Ser Lys  
1 5

<210> 29

<211> 12

<212> PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 29

Leu Ser Phe Glu His Glu Thr Thr Glu Glu Ala Arg  
1 5 10

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 30

Ile Ile Leu Gly His Glu Phe Thr Pro Gly Tyr Ile Glu Asn Arg  
1 5 10 15

<210> 31

<211> 11

<212> PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 31

Ile Val Ile Leu Lys Glu Leu Ser Ser Gly Met  
1 5 10

<210> 32

<211> 25

<212> PRT

<213> *Lepeophtheirus salmonis*

<400> 32

Ala Gly Glu Tyr Gly Gly Glu Ile Ser Gly Ile Val Leu Pro Asn Ile  
1 5 10 15

Pro Pro Ser Ile Ser Asn Leu Ala Lys  
20 25

<210> 33

<211> 15

<212> PRT

<213> sarampo

<400> 33

Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Arg Leu Glu Gly Val  
1 5 10 15

<210> 34

<211> 15

<212> PRT

<213> toxina do tétano

<400> 34

Gln Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu Leu  
1 5 10 15

Lisboa, 2 de maio de 2016

**REIVINDICAÇÕES**

- 1.** DNA que codifica um antigénio de proteína para utilização no tratamento de infecção com o copépode caligídeo em peixes, em que o DNA consiste na sequência de nucleótidos tal como apresentada na SEQ ID NO: 9.
- 2.** DNA de acordo com a reivindicação 1, em que o copépode caligídeo é *Lepeophtheirus salmonis*.
- 3.** DNA que codifica um antigénio de proteína, compreendendo o DNA uma sequência de nucleótidos tal como apresentada na SEQ ID No: 9.
- 4.** DNA de acordo com a reivindicação 3 para utilização na prevenção de infecção pelo copépode caligídeo em peixes.
- 5.** Proteína recombinante purificada, para utilização na prevenção de infecção pelo copépode caligídeo em peixes, consistindo a proteína numa sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 10.
- 6.** Proteína recombinante purificada, para utilização de acordo com a reivindicação 5 em que o copépode caligídeo é *Lepeophtheirus salmonis*.

7. Proteína recombinante purificada compreendendo uma sequência de aminoácidos tal como apresentada na SEQ ID NO: 10.

Lisboa, 2 de maio de 2016

**FIG.1**

**a)**

**Proteína de tipo vitelogenina (SL-0903)**

**Sequência de ácido nucleico**

GCAATACAAAATTATCCATGGATGTAACACACAATTGACCATGTATATACTCTT  
GACAATGTCACATATCCTTACACACCTACCTCATGCTGGACGTTGGCTCTGGAA  
CACTGTTCCCCACATCCAACCTTATGCAGTTTGTCAAAAAGTCTGCAGGATCTC  
ATTAGATGCTAAAATTATTGGGCGGTACAGCATCGAATTCCAAACAAGTGG  
CCCAAAGAAGATTAATGTTCTCATCAACCGGTGAAGCTATTGATGTTAGGAGAGGA  
GGAACATGTTCATGAACAAGACGGACAAGAAATTTCAGGTCTTAAATGGGG  
ATCAAGTTACAGTGTACTCCTTCTTGAATCTGGGTAGTCTATGATGGCCAT  
GCAGTCAGCTTAATCCCTGCTCCATCTGTTACGGGTCAACATTGGGGTTGTGT  
GGAAACTTCAACAGAAACCAATATGATGAATTGAAAGCAAGGATGCTCATCAAT  
TGAAGACATCCGACGAGCTTGTGAAGATTATAATGGAAGTGTGAGAATTAT  
TTCTTTCATCGATTGATGGAGATATTTTACAATGATTCTATTATAT

**b)**

**Sequência de aminoácidos**

Q Y K I I H G C T T I D H V Y T L D N V T Y P Y T P T S C W T I L A S G H C S P H P  
T Y A V F V K K S A G S H L D A K I Y L O G H S I E F Q T S G P K K I N V L I N G E  
A I D V G E E E H V H E Q D G Q E I F K V L K W O S S Y S V Y S F L K I W V V Y D  
G H A V S L I P A P S V T G Q H C G L C G N E N R N Q Y D E F E S K D A H Q L K T  
S D E L V E D Y K W K C

**FIG. 2****a)****Proteína 1 SEP (SL-0547)****Sequência de ácido nucleico**

GTCCGGTTCGGCAAATGTAAAATGTACCAACAGAAGGCAATCTATAAAATTCTTGA  
AGAAGACAACCTCCAAAAAGGTTGAGGCCAGTAAGCCCGCCTCGTTGAGAAG  
AAGGTGGAGGTGCCAAGAATGGGGTACTCGTATGGTTCGCGTCAAGAAGTT  
GAAGAAAGACTTCCCCACCATGGAAAGACGTGCTCATAGAATGCCAAGAAGC  
CTGAAAAGCTCTCTGGCAGGGTCCGTCCTACCCCTACCCCTGGAACTATTGCAG  
TTATTCTTGCAGGTATCCACAAAGGAAAGAGAATCGTCATTCTCAAGGAGCTCTC  
CAGTGGAAATGCTCTGATTCTGGCCCCCTCAAGCTTAATAACTGCCAATTAGA  
AGGATTAATCAACGCTATTGTTGGCCACATCAACCAAGCTCGATGTTCATCCA  
TTAAAATGCCGAGAACATTAAATGATGATTACTCCGTCGTTAAGAGCCGCCAA  
GAAGCCAGCTGGTANTGTAT

**b)****Sequência de aminoácidos**

VRFGKSK Met Y H K K A I Y K F L K K T T P K K V E A S K P A F V E K K V G G  
A K N G G T R Met V R V K K L K N D F P T Met E R R A H R I A K K P E K L S R R V  
R P T L T P G T I A V I L A G I H K G K R I V I L K E L S S G Met L L I S G P F K L N N  
C P I R R I N Q R Y L A T S T K L D V S S I K Met P E N I N D D Y F R R L R A A K  
K P A G X V

**FIG. 3**

**a)**

**Proteína 2 SEP (SL-0858)**

**Sequência de ácido nucleico**

AAGCCCTCTTGATCTTCAGAAGGACCTCGATGGAGATGTGGATGTTGAACCTCA  
AGTTGGTCAAGAAAGGAATTGTCTCATTCCCACATCCCTGCATTGAAAGCCCTT  
CAGGCCTGCATTGGCTCTTGTTCTACAAACTGGAGGAGATTGTCAAGCAAAT  
ATGCGTATTTCTTGTGTCCAGACTATTTCCAGAGGGCCAAAGCTGTTCTTCCC  
TTTGAAGGCAGGACAATATGGAGGTGAGATCTCTGGTATTGTTCTACCTGACAT  
CCCACCTTCCATTCCAACCTCGCCAAAGGGAACCATTCATGGAACCTCTCTGT  
GACCAGAAACGGGGAAGAAGTTCTGTATCAATGGAGATTGAAAATGACAAA  
TTAACCTTGTCTGTATCCATATTGAAGTCAATAAAACTTCATTAATCT

**b)**

**Sequência de aminoácidos**

-ALFDLQKDLDGDVDVELKLVKKGIYSIPIPCIESPSQLHLGS  
CSYKLEEVSKYAYFLCPDYFPEGQSCSFPLKAGQYGGEIISGI  
VLVDIIPPSISNLAKGTIHGTLSVTRNGEEVFCINGDLK Met TN  
Stop

**FIG. 4****a)****Proteína 3 SEP (SL-1469)****Sequência de ácido nucleico**

AGAAAATTGAAATCTCACTAAGATTAATACTTCTCCCAATGGTGAGCGTTATATT  
TCAGAGGTAGAAAATGGGCTCTTACTGGTATCGTCAAAGCCAAAGGAGAACAC  
AAGATAGGGTATACAAAATTATTTGGGACATGAATTCACTCCTGGATACATTGA  
GAATCGCTCAAGTTAGAATGCAAAGAGTTGCAGTCCCTGGCTTTGTCTGA  
TTATTCTATTGCTTTAATATGGAAAACAAGTACCCAGACTTTGGAGAAGAGTTA  
TGACTTATGACAAGAGCACTCAATTAAAATGTCTGGAAATGCAAGACTTCAATA  
TGGTGCTGCTGCAGACTGTGACTCTACTCCTGGAGAAATGAAATTAAAGCTTCGA  
ACATGAAAACAACTGAAGAACAGCAAGAGAGGGCTATGAAACACACCGTGGTACTATGA  
AAAGTGTATGGAACAGAACATCCAGAATGGGCAAGCAGAGGTGACAGAC  
TTCCATTCACAGAACAGCCTGCCACATGACAACATGGGATGCAACTACTGCTCCGT  
AAATACACATGGAAGAGATGAACCTTGTNAGATGACTGATCGCATTGAATGCTATT  
GTTTC

**b)****Sequência de aminoácidos**

-EIEISLRFNTSPNGERLYFRGRKWALTGIVKAKGEPQDRVYK  
IILGHEFTPQYIENRLKFRMetQRVAVPGLLSDYSICFNMetEN  
KYPDFGEBFMetTYDKSTQLKMetSGNARLQYGAADCDSTPG  
EMetKLSFEHETTEEAREA MetKHTWYYEKCMetEQKQHPEWA  
SRGDRLPFTEA CH MetTTWDATTAP stop

**FIG. 5****a)****Proteína de adesão 3**

~precursor da proteína 2 da matriz da placa adesiva de mexilhão (proteína 2 do pé)

(mb3a02.ckr)

**Sequência de ácido nucleico**

TACATGTCTTGAACCTGTCTGTCCATCTAATTGTGTAAGGATGGTGGAAAATGT  
AAAGTTTATCGTGAGTATGTTATTGCGATTGTAAAGGTAAGGTTGTTGAAGGTT  
CAAAATGTCACTCAACCAACTTGCACACCTACAAACATGTCTTAAATGCTGTTG  
TGAACCTGGATTGGTCTAATAAAAAAACACGTCGTACATGTAAAAAAGGATTGCT  
GGTGCACAAATTGTGCTGATAATGCTTGCTCCAGTTCCATGTGAAAATGGATCT  
GAATGTGTTGTAAGGATCTCAACCACAATGTGATTGTAAGCCTGGATTGTT  
TTGGCAATTCTGCCAATCACATTGTGAAACATTCAAATATTGAGCTGTAGGT  
GGTAAATGTGAAATTATGGAAGACGAAAAAAACTTGGGAGTCTATAAACCTGTTT  
GTAAATGTTAGAAGGATATGAAGGTAAAATTGCAAGCGAAATTCTTGCTCTGA  
ATCATTCTGTCATTATCGAGGAAAATGTTCCGTTAGTAAAGATATAAGAAGCTGC  
AAATGTGACAGAGGAATTCAAGGCAGCGCTGTGAAACATCCTAAACCTTGTGAA  
AGTTGCGACAAAGCAGATTGTGTTAGAGAAAAACCTGGCAGTGGCAATTGTT  
TGTGCAAAAAAAATAGACATAATATAATTAAAG

**b)****Sequência de aminoácidos**

-TCLEPVCPNSLCKNGKCKVYRGVCYCDCKGTGPEGSKCW  
QPTCTPTTCPKNAVCLELDWSNKKTRRTCKKGFAGANCADNA  
CSQFPCENGSECVVKYGSQPQCDCKPGFFGNFCQSHFCEHFK  
YSAVGQKCEIMEDEDEKNLGVYKPVCKCLEQYEGKICSEISCSE  
SFCHYRGKCSVSKDIRSCKCDRGIQGERCEHPKPCESCDKAD  
CVREKPGSGNFVCARK

**FIG. 6****a)****Proteína de adesão 1**

~precursor da proteína da matriz da placa adesiva de  
mexilhão (proteína 1 do pé) (sl-0927-9)

**Sequência de ácido nucleico**

CCCATCCAAAGTAGCCTCAAAAACAAAGTCATATAACCGGCCCTTTACTCCAAA  
AAGAACTTCTTACGCAAGAAACCCCTGTATATTACAAAGTTAAGAAAAATCCCG  
TCAAGTTAAGAAAAGTTAAGAAAATTCTGAGACCTGTGAGTTACTCAACTCCTCA  
GACTCATCCGAGCAGCACGACTGTTCAACCACAAGAGAGACTATCCAAGTAAATC  
TCTTGAAAGTTAACGCAAACTAAGAGTCAGAAAATAGTATCGGCCTTACTCCG  
GTCTCAGTCTCAAAAAAGTCTATTAAATCATTGAATGCTCGAAAATCCATTATGC  
AAGTCCATCTACCCCATCTTTAGATATTGACCAACAACACCTCTTCATATCAA  
GTCTTAAGCCATTGAGCCAAACCTATTGATAGATTGAGATCTAAGCCAGGCTA  
CAAGTCTACCAAGATCCAAACCTACTTATGTTGTCACCGACCACCCACCCAGC  
GTATGTATCATCTACTATTAGTCCAGCCTATGCATCATCTAGTGTTAGTCCAGCC  
TATGCATCATCTAGTGTTAGCCAGCCTATGCATC

**b)****Sequência de aminoácidos**

PSKVASKTKSYTRPLYSKKNFLRKPSVYYKVKKNPVKLRKV  
VKKILRPVSYSTPQTHPSSTTVSTTRDYPKSLESLTQTKSPE  
IVSAFTPVSVKKSIAKSLNARKSIYASPSTPSFRYSPTPSSYQ  
SLKPFEPKPIHRFRSKPGYKSTRSKPTVVSSTTHPAYVSSTI  
SPAYASSSVSPAYASSSVSPAYA

**FIG. 7****a)**

**Proteína de ligação à cutícula 1**  
**~proteína de tipo BCS-1 (moran 9-15)**

**Sequência de ácido nucleico**

AGCGTGGTCGCGGGCCGAGGTACGGGGGAATCAGTACAAAGTTACAGGCAAC  
AATGATCATGTACACCTCAGTATTCCCTTCCATCGTCTTTCATGTGCCCTTG  
GAGCACCCCAATATCAAGCCTCTCAGCCTGCTTATGCTCCAGTTGAAGAGCCTT  
ACGCTTATCAATAACGCCGTTCAAGATCCCCAATCAGGAAATGACTTTCTGCCG  
AAGAATCCTCTGATGGACAAGTCATCTCTGGATCCTATCAAGTGGCTCTCCCCG  
ATGGTCGTATTCAAACGTGACCTACACTGTGAGTGAGATAGTGGATACGTTG  
CTGATGTTCACTGATGAAGGAACCTCCATCCTATCCCGAAGCTCTCAGCAACCC  
GATATGTTAAAAAGTTGGCATTGATGAATATTCAATTGATTATATTATGT  
TAAATATATTATTGATAGTTGAAATTGATATTGTTACTCTCAAAGAAATACAAATT  
TATATTATATT

**b)****Sequência de aminoácidos**

SVVAAEVRGESVQSLQATMIMYTSVELLSIVFSCAFGAPQYQ  
ASQPAYAPVEEPYAYQYAVQDPQSGNDPSAEESSDQQVISGS  
YQVALPDGRIQTVTYTVSGDSGYVADVQYEGTPSYPEAPQQ  
PRYV

FIG. 8

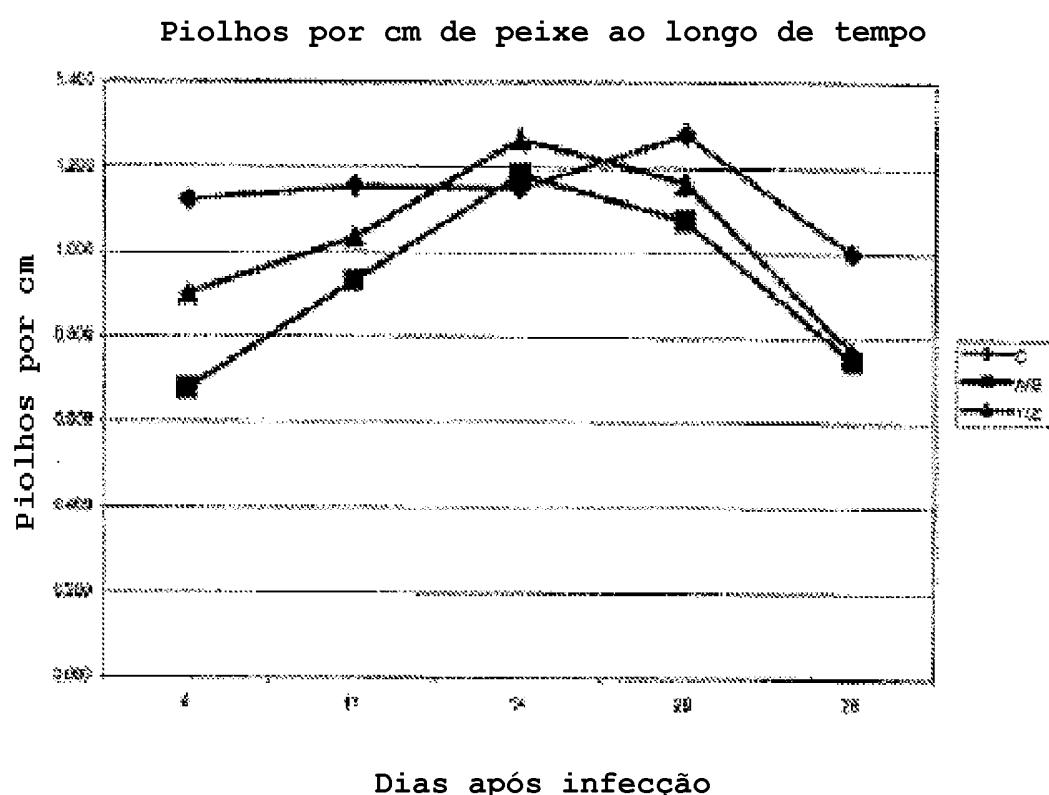


FIG. 9

Piolhos por grama de peixe ao longo de tempo

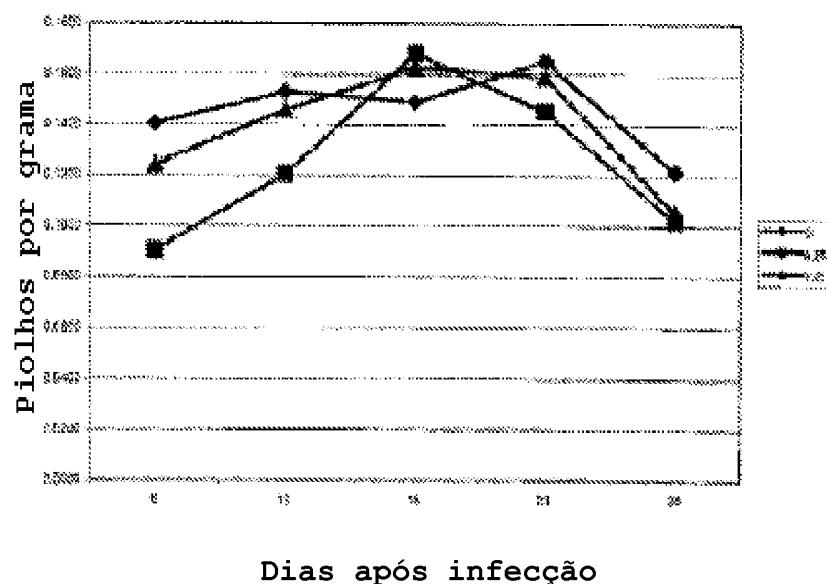


FIG. 10

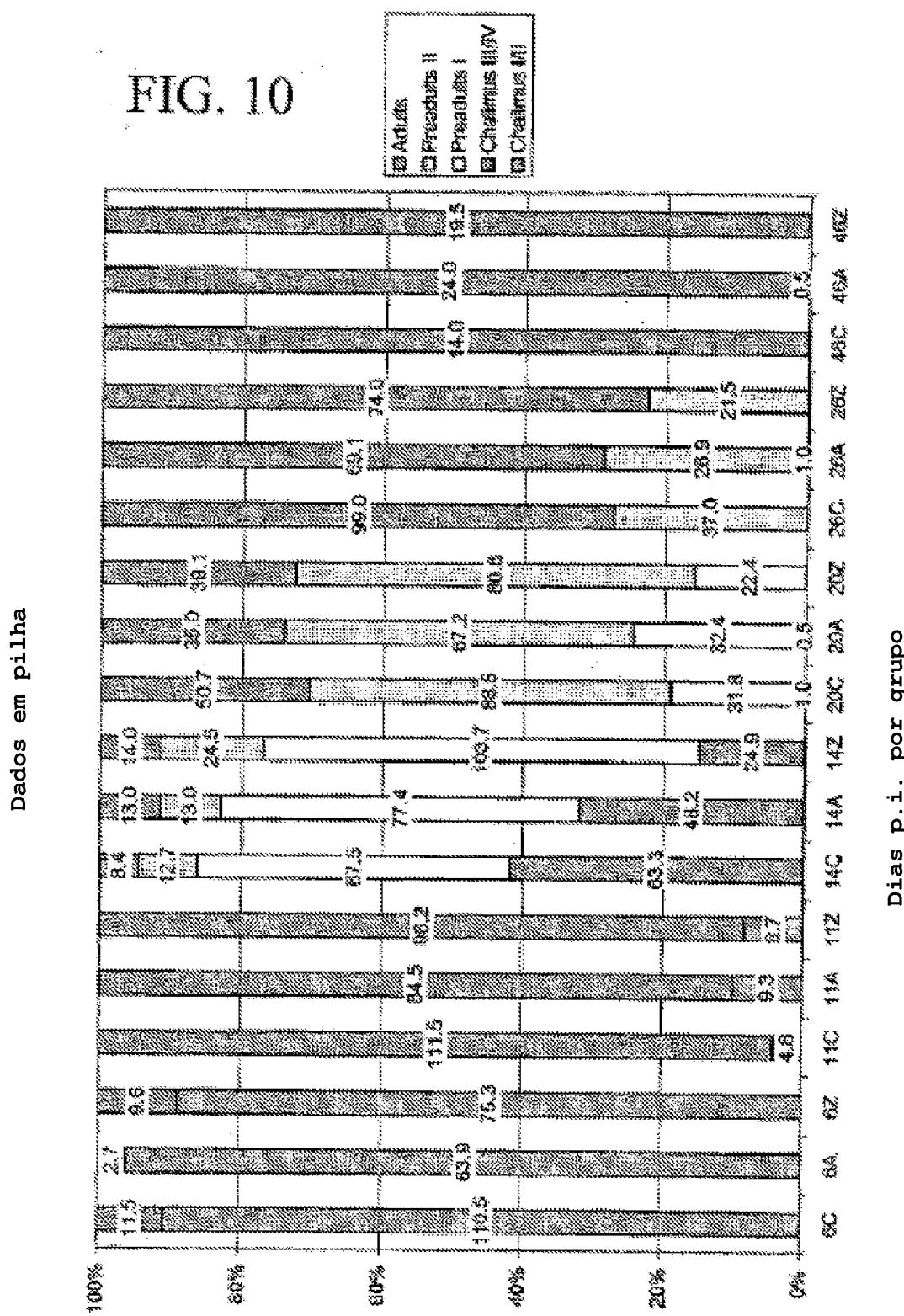


FIG. 11

## Proteína de tipo vitelogenina SL-903 >SL0903FLG

FIG. 12

Proteína 1 SEP SL-0547

&gt;SL0547DRFL

CTCTTAAATCTGAAAAGGTAGTAGTAGAACTTCCACGGAAATGGCGAA  
GAACAAAGAACCTCGGTAGCCGAGGAACCTACAAGTTAGCCTCCGGAGTC  
GTCCGGTTGGCAAATCTAAAATGTACCAAGAACAGAAGGCAATCTATAAAAT  
CTTGAAGAACACAACCTCCAAAAAGGTGAGGCCAGTAAGCCCGCTTCG  
TTGAGAAGAACGGTCGGAGGTGCCAGAACATGGGGTACTCGTATGGTTGGC  
GTCAAGAACGTTGAAGAACGACTTCCCCACCATGAAAGACGTGCTCATAG  
AATCGCCAAGAACGCTGAAAAGCTCTCGCAGGGTCCGTCTACCCCTCA  
CCCCCTGGAAACTATTGCAGTTATCTTGAGGTATCCACAAAGGAAAGAGA  
ATCGTCATTCTCAAGGAGCTCTCAGTGAAATGCTTCTGATTTCGCCCC  
TTCAAGCTTAATAACTGCCAATTAGAAGGATTAAATCAACCGTATTGTTG  
GCCACATCAACCAAGCTCGATGTTICATCCATTAAAATGCCGAGAACAT  
TAATGATGATTACTTCCGTCGTTAAGAGCCGCCAGAACCCAGCTGGTA  
GTGTATTGAAAGGTAAAAGGAAGAACATACAAACCTTCTGAAACAACGTAAG  
AAGGACCAAGCTGAAGTGTGATAAGCAGCTCTGAATGTCTCATGAAAGCA  
CCCCGAAGCCTCTTTGAAACAATAACTTGAAGAAGTCCTCGGTCTTAG  
CAAGGGACAATACTCTCATATAATGAAATTTTAATTGTCGTCTTGTTAAAT  
AAAACCTAAATTCCCTCGC

**FIG. 13****Proteína 2 SEP SL-0858****>S10858C4**

TCAATTGATTGATCCAGGAAGAGAAAACTGAAGATCATTGCCATCTTG  
CACTTTGTCATTGCCGTGTCTGGAGAGGATCTGGAGTGGGAGTCTGCA  
ATCCCGATAACTTGGGAGAAGGAGACATTGCCCTCTCTCCCTAATCCCCCTTC  
CACTAGTTAGTGGAAACCAAGTCTGGATTGGAAAGCCCTCTTGATCTTCACA  
AGGACCTCGATGGAGATGTGGATCTGAACCTCAAGTTGGTCAAGAAAGGA  
ATTGTCCTCCATTCCTCCATCCCTGCATTGAAAGCCCTTCAGGCCCTGCATTG  
GGCTCTTGTCTACAAACTGGAGGAGATTGTCAAGCAAATATGCGTATTTCTT  
TTGTGTCCAGACTATTTCCAGAGGGCAAAGCTGTCTTCTCCCTTGAAG  
GCAAGGACAATATGGAGGTGAGATCTCTGGTATTGTCTACCTGACATCCC  
ACCTTCCATTCCAACCTGCCAAGGGAAACCATCTGAACCTCTCTGT  
GACCAGAAACGGGAAAGAAGTTCTGTATCAATGGAGATTGAAAATGA  
CAAATTAATCCTGTTCTGTATCC  
ATATTGAA

FIG. 14

Proteína 3 SEP SL-1469

>SL1469FLRD

**FIG. 15****(proteína de adesão de mexilhão) SL-0927****>SL0927R61**

CCAATTCTAGCTAGTCATA/GMACTAGTCAAAATAATTATATATACAGTTTTATA  
TIGATTTTATTTATATATTACATCCT7G/GGGACTTTGAACAAAGGTGTTCCGT  
AGTAAACTTTGAGTCATTATTACATAGTGTCACTACCTATTCAGGATAATAAG  
GACGATCATCATGAAAACATCTATTATTTCTCACTGTATGTTCTGCCTCTATAAC  
TGCACCTTGCTGTAAGTGAAGATAAAACTATTATAGCTGAAGACCTGACAGCTGT  
AGAGTCACGCTATAAAAGTAGATGAAAACCCCTCACCTATGTTCCCTCCACAACCA  
GCACCAGATTTGATTACTTTGACCCACTGTATCTCTCTCTCTCTCCCCAATCGC  
ATCTCCCTCTCTCTTCCCTGTTACATECTACTTACACCCACAACCAATTCTCC  
AGTGACTCCCTGACCAACGACCACTGTTACAACAACAACCCCTGCCACATCT  
ACTTACAGAAAGTTATTCTTCAACGCTTTCAAAACCAACTTCTCTCTCTCGA  
AAAAAGTTAACCAACAACTACAACAAACGGCGCTACAAACATCTCAACAACAACA  
ACAATAACCTTCACCCCAACTACTTCACCCCTCCATCTGATAATGAAAGTTGAA  
CAACATTAAACCCATCCAAGTAGCCCTAAAAACAAAGTCATATAACCCCTCT  
TTACTCCAAAAAGAACCTTACGCAAGAAACCTCTGTTATATTACAAAGTTAAG  
AAAAATCCCGTCAAGTTAACGAAAGTTAACGAAAGTTAACCTCTGAGACCTGAGTTACT  
CAACTCTCAGACTCATCCGAGCAGCAGACTGTTCAACCACAAGAGACTATCC  
AAAGTAAATCTCTGAAAGTTAACGCAAACAAAGAGTCAGAAATAGTATCGGCC  
TTTACTCCGGTCTCAGCTCAAAAGCTATTAAATCATGAAATGCTGAAAAT  
CCATTATGCAAGTCATCTACCCCATCTTGTAGATATTCCACAAACACCTCT  
TCATATCAAAGTCTTAAGCCATTGAGCCAAACCTATTCAAGATTAGATCTA  
AGCCAGGCTACAAGTCTACAGATCCAAACCTACTTATGTTCTGCAACGACCAC  
CCACCCAGCGTATGTATCATCTACTTATTAGTCCAGCCTATGCATCATCTAGTGT  
GTCCAGCCTATGCATCATCTAGTGTATTAGCCCTATGCATCCACAACAGTTAA  
ACCTGTCTTGTCTACGACAGCAAATGAAATATACTATAACGCCGAACCAAAA  
AGGGTACGAAGTCTTCCACTTACACOAGAACAAGCACATCTCTATCATCTATT  
CTTATGATTCACAAACTACATCAAGGCAGCCTCCAGCTCTGTTCTTACAGTAC  
ACCTAAGCCCAACTCGAAACAACATAGCCAAATATCGGAATTGCCATTGACTAGA  
GACCAAGTGAACATGAGTTAGTACTCCGTAAAGGCTAATACGAAAGCCTT  
ACAATAATAATAACAATTAAATCTGTAAAGACGGATTCTCTCTTATTAGAAA  
TCATCAAGCGTTGAATGAAATACGTCGGGAGGAAAAGTATCTGCAACAACCCCT  
TCTTCTAGCTATGATACTCAAAGATGAGACAAGTGGAACGGATTCTTCTCTG  
AAGAAAGTCAGGCCCTGTGACGAAGGGAAAGTTATAAGGTGCTCTTCTGATG  
GTCGTATTCAAATTGTTGAATATATTGAGATGAAAATGGCTATAAGGCCACAGT  
TTCCTATGAGGGAGAAGCTGTTCTCCAAATCCAGATGATTGAGTCTGTAACCCAA  
ACTCGAGAGAACTTTAGACACTCAAGAAAAGTCGATATTGAGTCTGTAACCCAA  
ACAACACTCATTTTTCGGAATAGAGTCCTGCTGCTGAGGAACTACAGAAAAAG  
CTCTCTCTCTCAAGACACAACCAATTGTCAGTCAGTCTTCCATTAAAGACATCGA  
TTATCTCGTCCGAAGTCTCAAAATCACTTCAGAGTCGGTTCTTATGCTGT  
GAGTAGTACGTACCCAGCTCCATTACCTTCTAGTCAGGCCCACAACGTTCTG  
GTTCTCATCTCTCACCAAAATGTTGAGGGAGGAGTATTACATCACTCAACACCTC  
CAGTCAGCTATTCCCAACTCCCCAAATCGGACAACTCAAAAACCCAGATTCT  
TCATAACGCAATTACGAAGAAGCATTACGAGAGACTATGGAATTAAAGGTGATTAT  
TAAACCTTACTTTTGTGATCCATTAAATATGGGTATAAATATATTATTAGT  
ACTCATTGTTATTATTGTAAGGCCGTTAGTGTCTCAGATGAAAGTG

FIG. 16

## SL-0903 de tipo vitelogenina

FQRNIMIRGWAQRLQLNNMDKINNNHGHGFHSEEQSIFGDCDTLYTVDHKIVKSVSRTKDCXINRVHVLIDD  
 WRGERCOTIDPERFESRENPNGLYGAGNTTIVVOKNGDNHFRFKATIGSSESVACQFTONEGVSFIAHSNET  
 SILKSVEDISEPMVVVGIPIVKDLKYEPEIDKEYQWNSDRDLKAREEHLSGEGFESDNSTLSKYVREKLM  
 KFHDMQHLSMDKDALAELAHINGVNSMV/PIMPLANDINTLKAMSEELHSUWSDEGVFKYHLFNELLGSLG  
 TSASALLYRIMINEURFENTHDAYRALTAIFTRHFSGNQLLSEFALYNYDQGQQLLADAVPIVIGHLA  
 RVTCEERAGVNNSPASNECPHISVYDGYADKTIIEKINGASDNEKEQIKLLGMLFNLYGNVAEKLMLPLIYGE  
 TRIKCGHLRTLAYQAAAFGTINNGKGAEYLILPIFADSESENHLRLTALSYLMDEAHPATRHFNTIVAVLN  
 RENKTEVINYAFTYLONYATNINPCHRSVSVLAKYFLNLYLKQYSHFETDYOLGVSKTYSSQFQQSNSKCY  
 GGEISYVWIGSHOSTLPLSVAMCNUTTILFGGTTANGMCVQLRIEGLSKALIRKFTTMSFDIWKSEDLKS  
 TLMGDSNNIKERPDQFVINVEVLLFVKNSVVAFPQYNRDSTIKEGGNLKEIIFDQLPGLGDTYSINHQRANPF  
 GCLLTYQQPLEVQAPVSYINSFTQVFTWQATIEKGNARGLNFRDVKYINMETGNGCERMMIVQNPQCKMNPY  
 SISQWRIKGSHEPREFVIGVNPPLKEFKLSQLQPSYENPLVLMNNHSLTHVYTGSQNYNEHQDI SANOPS  
 CKSUTPVSYGFDANAKTAVFLNHDQNTGGSYIHCSEYFDCENESNRCKVLYHIMPAMLPYNNKPKTFONGI  
 RRGIRQIRAYFVFFFRAEKCGAMLRNSQCKENPVKELETSLRFNANENGERLFFRGRXWVYTTI1KAMG  
 EPQDRVYKIIILGCREFTPGYIENRLKFFMQRRAAVPGIMS DYSICFNMEENKYPDFGEEFMTYDKSTOLKME  
 GRKLQYGAAXKCDSTPGEMKLSTKHETEEAREAMKHTWYEMOMEQHKOPENAHRGDKNLPPFTQACHM  
 TTWDATTAKYEWKJNNFTVKMTDINNAIVSQFQSTINSTGLLPYWQDIDSEITIRATSADPHNNIKATLNMD  
 KNVDMYMETSGCQQRFNDIPIESLNKRPMLRNKFTSTTTRIMQYKIIINQCTTIDVYTLENN/TPYPT  
 TSCNTLASSGHCSPHSTYAVTVRK&AGSHLDAKIYLOGHSIEPQTSGGPKKINVLINGEAIIDVGEZENVNE  
 QDGQEIFFVIAWQSSSYSVYSEFLKJITWVYDGNAVSLIFAPSVTGONCGGICGNFNFQYDEFESKDAQQLK  
 TSDELVEDYKRC

## Pontos comuns de BLAST (BLAST hits)

tr Q9NDN7 \_TENMO Melanization-related protein [160 kDa MRP] [Tene... 147 2e-33  
 tr O17428 \_9HYME Vitellogenin [Pimpla nipponica] 73 4e-11

**FIG. 17**

**Proteína 1 SEP SL-0547**

MAKNKNVGKPRNYKLASGVVRFGKSKMYHKKAIYKFLKKITPKKVEASKPAFVEK  
KVGGAKNGGTRMVRVKKLKNDFPTMERRAHRIAKKPEKLSRRVRPTLTPTGTTAVILA  
GIIKGKRVILKELESSGMLLISGPFKLNNCPIRRINQRYLLATSTKILDVSSIKMPENIND  
DYFRRRLRAAKKPAAGSVFEGKKEEYKPSEQRKDQVEVDKQLLNVIMKJHPEASLLKQ  
YLKKSFGLSKGQYPHNMKE

**Pontos comuns de BLAST (BLAST hits)**

tr|Q5UATS|BOMMO Ribosomal protein L6 [RpL6] [Bombyx mori (Silk m... 242 6e-63

**FIG.18**

**Proteína 2 SEP SL-0858**

**MKIIIAIFALLPIAVSGEDLEWE SCNP DNLCGGDIALSPYFLPVVSGTSLOLKALFSL  
HEDLDGDVDVEELKLVKKGIVSIFIFCIESFSGILHGSCTSYKLEEIVSKYAYFLCPDY  
FPECGCCSFPLKAQYGCETISGIVLPDIPPSISNLAKGTINGTILSVTRNCEEVFCIN  
GDLKMTN**

**Pontos comuns de BLAST (BLAST hits)**

tr Q5EN79 \_9CNID Ganglioside M2 activator-like protein [Aurelia a... 44 0.001

FIG. 19

## Proteína 3 SEP SL-1469

MRVTALLCLFVAAVSGSIFEDGKQYVFDSETSVVVGTMHDAPHSSGFAYKHHHTMQL  
 QGDNIKVKLSDVEFSQFNGKHEINGEFPFDNTNFVATNRDI PAPEVQLDHSGLFSSIK  
 VGFPLTLFQRNMIRGWAQRLQLNMSKINNNHNGFHSEEQSI FGDCDTLYTVSDHKIV  
 KSVSHTKOCKNRVHVLIDDWRGERCDIDPEHPESENPNGLYSASNTIYVVDKKGDH  
 FHPKAIIGSSSYVAQFYQMEGVSFIAHSNSTSILKSVEDISEPMVVVGIPVKOLKYE  
 FEDKEYQWNSDRLKAREEHLSLSTGRFFEDEMSTLSKYVKEKLNKFHDIMQHLSNDKD  
 AIAEAHDNEVNSMVPGMLANDYNTSKAMSEELHSDKSDEGVFKYNLNFNEILLGSLGT  
 ASALLVDRDMMIMEDKFNFRDRAVRAITAIPFHRPSKQLLSEPEALINYDGDQILKD  
 AVPIVLGHHLARVTCTERAGVMHSPASKECFHSVVDGYADKTIEKINGASDHKEQIKILL  
 GMLFNLRYGNVAEKLKFLIYGETEIKCGHLRTLAVQAAFGAINNGKGAELYLLPIFA  
 DSENSHELRITLALSYLMQDAPPTATHENTIVAVLYREKDYEVINYAFTLLOKAYATNIN  
 PCKKSVSVIAKYFLKYLKQYSHFETDYGLGVSKTYSRQFOQSKYGYGGEYSYMWIGS  
 HSSTLPLSVAMCMDPTLFCGYTANGMCVQLRIEGLSKALIRKFKTMSPOIWKSEDLK  
 SITLMGDMNIKERPDQPINEVLLFVKNSVVAFQYNEIDSIEEGGNLKEIPDOLNGLG  
 DTYSINHQRAMRFGSLLYQQPLEVGAPVSYLNSFTGVFDVQATIKKGNARGLMFRDV  
 KYNMNFFGHGSRMMVQNPQSKMFYTSQNRITYGSRFREFVICVNPLKNEFKLSIQ  
 RPSYENPLVIMMHSLTKVYTGSQNVNEKQDI SANCPECKSDTPVSYGPDAAKTRVFL  
 NHDCDKTGSYI HGBYFDCEME3NRGKVLYHLWRAMLPYNKNPKTFGNGXRMGIROIR  
 AYFVFFPRAEKCGAMLNSQSKENPVKELEI SMRFNAANPNGERILFFRGRKVVTTII  
 KAKGE PQORVYKII LGHEFTPGYIENRLKFRMORAAVPGIMSIDSICFNMEKYPDF  
 GEEFMITYDKSTQLMXTGAKLQYGAACDSDTPGEMEKLSPXHETTEAREAMKHTWY  
 XEKCMEQQKOPEWANRGDKLFFPTQACHMTTWDATTAP

## Pontos comuns de BLAST (BLAST hits):

- tr|Q9NDN7|TENMO Melanization-related protein [160 kDa MRP] [Tenebrio molitor] 137 1e-30
- Melanization-related protein [160 kDa MRP] [Tenebrio molitor (Yellow mealworm)]
- sp|P18948|VII6\_CAEEL Vitellogenin 6 precursor [vit-6] [Caenorhabditis elegans] 67 2e-09
- tr|Q7KPP7|CAEEL Vitellogenin structural genes (Yolk protein gene) [Caenorhabditis elegans] 67 2e-09
- tr|Q8J1F9|9GOBI Vitellogenin [Vg-530] [Acanthogobius flavimanus] 66 4e-09

Fig. 20  
Proteína de adesão de mexilhão SL-0927

MKTSIIIFSLYVLPSILMLAVSEDKTIIAKOLTAVESRYKVDAKPSPYVPPQPAFD  
YFAPTVSPSPSPPIASFPSPSSPVTSYFTPTTIPVTFSTTTTVTTTPTATSTYRKLF  
FFTSPFKPSFLSSRKKLTTTTTPTATSSTTTITFTPTTSPPSANEVRTTLNPSKV  
ASKTKSYTRFLYSKKNFLRKKPSSVYKVKANPVKLREVKKILRPVSYSTPQTHESST  
TVSTTRDYPSRSKLESLTQTKSPPIVSAFTPVSYSKESIKSLNARKSYYASPSTPSFR  
YSPPTPSSYQSLKPFPDKFIHRFRSKPGYKSTRSKFTIVS3TTTHAYVSSTIISPAY  
ASSSVSPAYASSSVSPAYASTTVKPVFVSTTANEIYYTPEPKRVESLPLTRREQARLY  
SSIPYDSTTTSRQPPAPVSYSTPKPHSKQHNSQYRELPLTREQSENIEFSTPVKANTK  
PYNNNIQENPVRRIPSHYTRNHQALNEIRREEKYPAQPYSPSYDIKDETSGTDFRSE  
E23CPVTKGSYKVALEDGRIQIVETIADENCYKATVSYECEAVFFPNPDDFEETR  
TFRHSRKVIDDSVFNMMYSFLRNRRVRGAGITTEKAPSPQDTTIRPVSLPLRHRLRTS  
VSKSLPTSPFPYAVSSTSPAPLPSQGPQRFRVHHSSPNVEGRVLHHSTPPVSYSQL  
PQIATTQKPRFLHNANYEALRDYGIKVDY

### Pontos comuns de BLAST (BLAST hits):

tr Q9V918 _DROME CG9036-PA (RE26879p) [CG9036] [Drosophila melanogaster]	76
2e-12	
tr Q5R283 _DROSI CG9036 [Drosophila simulans (Fruit fly)]	76
2e-12	
tr Q5R279 _DROSE CG9036 [Drosophila sechellia (Fruit fly)]	76
2e-12	
tr Q5TRT2 _ANOGA ENSANGP00000029010 (Fragment)	
[ENSANGG0000002361...]	75
4e-12	
tr Q9V6T6 _DROME CG6305-PA (GH20904p) [CG6305] [Drosophila melanogaster]	74
1e-11	
tr Q7QGL7 _ANOGA ENSANGP00000018947 (Fragment)	
[ENSANGG0000001645...]	70
2e-10	
tr Q9V7U0 _DROME CG15920-PA, isoform A [CG15920] [Drosophila melanogaster]	70
2e-10	
tr Q9NDT7 _BALAM BCS-1 [bcs-1] [Balanus amphitrite (Barnacle)]	61
8e-08	

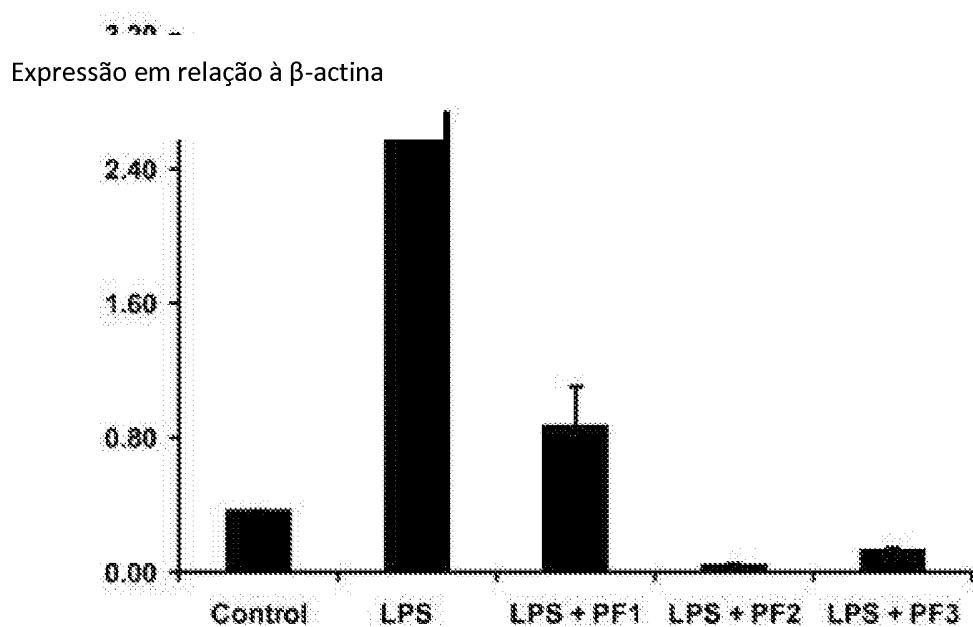
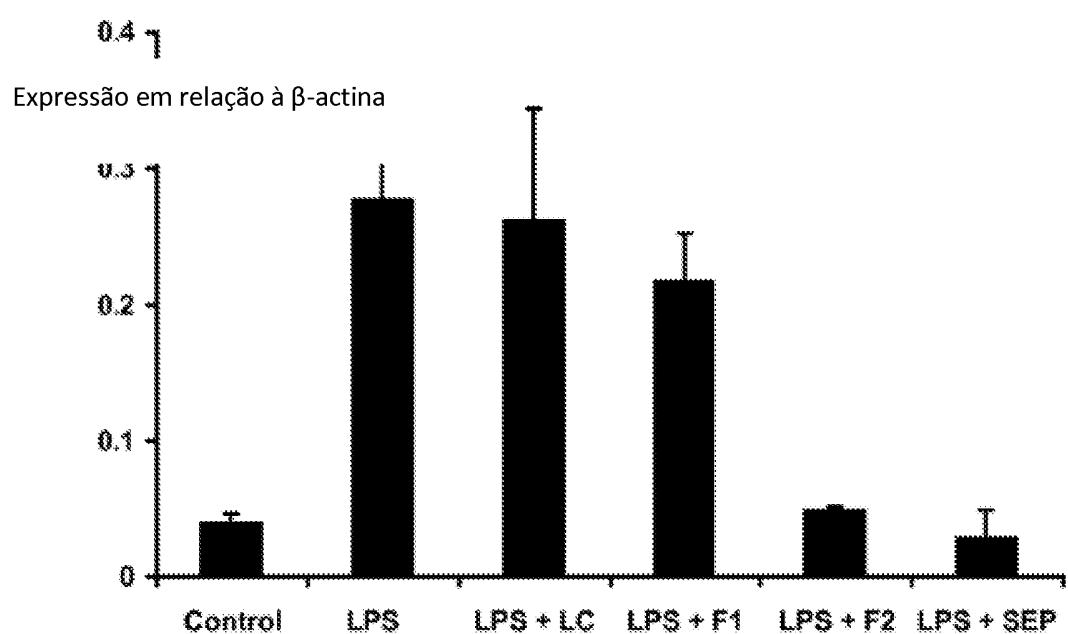
**FIG. 21**

FIG. 22



## REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de referências citadas pelo requerente é apenas para conveniência do leitor. A mesma não faz parte do documento da patente Europeia. Ainda que tenha sido tomado o devido cuidado ao compilar as referências, podem não estar excluídos erros ou omissões e o IEP declina quaisquer responsabilidades a esse respeito.

#### Documentos de patentes citadas na Descrição

- \* WO 03101482 A; Kacough \* US 05777088 A  
\* WO 0511888 A \* US 60591828 B

#### Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- JOHNSON, S.C. et al. *Zool Studies*, 2004, vol. 43, 8-19.
  - Interactions between sea ices and their hosts. JOHNSON, S.C. et al. *Host-Parasite Interactions*. Editors: G. Wiegertjes and G. Fox. Garland Science/Bios Science Publications, 2004, 131-160.
  - GONZÁLEZ, L.; CARYAJAL, J. *Aquaculture*, 2002, vol. 220, 101-117.
  - Diseases of Fishes. T.F.H. Publications, 1970, 171.
  - Supplemental descriptions of the developmental stages of *Lepophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837) (Copepoda: Caligidae). SCHRAM, T.A. *Pathogens of Wild and Farmed Fish: Sea Lice*, 1993, 30-50.
  - GRIMNES, A. et al. *J Fish Biol*, 1996, vol. 48, 1170-1194.
  - PIKE, A.W. et al. *Adv Parasitol*, 1999, vol. 44, 233-337.
  - MACKINNON, B.M. *World Aquaculture*, 1997, vol. 28, 5-10.
  - STONE, J. et al. *J Fish Dis*, 1999, vol. 22, 261-270.
  - DENHOLM, I. *Pest Manag Sci*, 2002, vol. 58, 528-536.
  - JONES, M.W. et al. *J Fish Dis*, 1990, vol. 13, 303-310.
  - JÓNSDÓTTIR, H. et al. *J Fish Dis*, 1992, vol. 15, 521-527.
  - Arthropod modulation of host immune responses. WIKEL, S. K. et al. *The Immunology of Host-Parasite Relationships*. CAB, 1996, 107-130.
  - ROSS, N.W. et al. *Dis Aquat Org*, 2000, vol. 41, 43-61.
  - FAST, M.D. et al. *Dis Aquat Org*, 2002, vol. 52, 57-68.
  - FIRTH, K.J. et al. *J Parasitol*, 2003, vol. 89, 1193-1205.
  - JOHNSON, S.C. et al. *Parasitol Res*, 2002, vol. 88, 789-796.
  - KVAMME, B.O. et al. *Int J Parasitol*, 2004, vol. 34, 823-832.
  - KVAMME, B.O. et al. *Genes*, 2005, vol. 352, 63-72.
  - TELLAM, R.L. et al. *Vet Parasitol*, 2002, vol. 103, 141-158.
  - LEE, K.M. et al. *Eur J Biochem*, 2000, vol. 267, 3696-3703.
  - GONZALEZ-ALANIS, P. et al. *J Parasitol*, 2001, vol. 87, 561-574.
  - OKAZAKI, Y. et al. *Genes*, 2000, vol. 250 (1-2), 127-135.
  - FAST, M.D. et al. *Exp Parasitol*, 2004, vol. 107, 5-13.
  - FAST, M.D. et al. *J Parasitol*, 2003, vol. 89, 7-13.
  - GRAYSON, T.H. et al. *J Fish Biol*, 1995, vol. 47, 85-94.
  - RAYNARD, R.S. et al. *Pest Manag Sci*, 2002, vol. 58, 568-575.
  - MEISTER, et al. *Vaccine*, 1995, vol. 13, 581-591.
  - BRADFORD, M.M. *Anal Biochem*, 1976, vol. 72, 248-254.
  - FAST, M.D. et al. *Dev Comp Immunol*, 2005, vol. 29, 601-609.