

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 536 238**

51 Int. Cl.:

C07K 14/435 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.12.2010 E 10798035 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.02.2015 EP 2516453**

54 Título: **Péptidos antimicrobianos**

30 Prioridad:

21.12.2009 EP 09306289

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

21.05.2015

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (50.0%)**

3, rue Michel-Ange

75794 Paris Cedex 16, FR y

**UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES
DE LILLE (50.0%)**

72 Inventor/es:

TASIEMSKI, AURÉLIE;

SALZET, MICHEL y

GAILL, FRANÇOISE

74 Agente/Representante:

RUO, Alessandro

ES 2 536 238 T3

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

DESCRIPCIÓN

Péptidos antimicrobianos

5 **[0001]** La presente invención se refiere a nuevos péptidos antimicrobianos, sus derivados, y composiciones que contienen los mismos.

10 **[0002]** Actualmente hay varios péptidos antimicrobianos en desarrollo clínico avanzado, esencialmente en forma de fármacos tópicos (Andrès, E., Dimarcq, J.-L. Cationic anti-microbial peptides: from innate immunity study to drug development. La revue de medicine interne (2004), 25, 629-635). Sin embargo se han sugerido muy pocas de estas moléculas para su pretendido uso en acuicultura, por ejemplo, las peneidinas aisladas de las gambas peneidos (*Penaeus vannamei*). Véase, el documento EP1000153.

15 **[0003]** Esto se puede explicar por el hecho de que varios de estos péptidos antimicrobianos (AMP) se inhiben en presencia de sales, lo que no es el caso de los péptidos de la presente invención, en tanto en cuanto se aíslan de un gusano del fondo marino: *Alvinella pompejana* o gusano pompeya.

20 **[0004]** Este gusano se considera también que es el único de la mayoría de organismos tolerantes al calor que se conoce en la ciencia. De hecho, resiste temperaturas desde 10 a 80 °C, lo que sugiere que las moléculas que se originan de este gusano tal como el péptido de acuerdo con la presente invención, son termoestables y por lo tanto interesantes en farmacología.

25 **[0005]** La intensificación de las producciones en acuicultura se ha hecho posible por el uso importante de antibióticos. A pesar de las legislaciones estrictas, el uso intencionado preventivo de antibióticos está difundido, en particular durante las fases críticas (por ejemplo, en los estadios tempranos de vida, metamorfosis, transferencia de animales), pero también durante el crecimiento animal. Este uso masivo de antibióticos tiende a promover la evolución emergente de cepas resistentes a antibióticos, lo que podría diezmar la cría animal. Las cepas multirresistentes a antibióticos (MAR) aparecieron a mediados de los 80. Además de que no se ha descubierto casi ninguna nueva familia de antibióticos durante los últimos treinta años, ofreciendo demasiado pocos productos nuevos contra las cepas resistentes.

30

35 **[0006]** Una solución alternativa sería el uso de AMP. Estas moléculas, que se producen naturalmente en los animales y plantas, tienen un amplio espectro y rápida actividad antibiótica contra bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, hongos, y virus encapsulados. Además, estos AMP no son inmunogénicos y su acción sobre la membrana bacteriana no debería favorecer la evolución emergente de cepas resistentes a los antibióticos. El primer AMP, desarrollado en los 90, es un derivado de la Magainina: el Pexiganan de Magainin Pharmaceuticals, Inc. En un estudio en fase III, el Pexiganan se incluyó en una crema, y mostraba la misma eficacia que una terapia antibiótica vía oral con Ofloxacina, para el tratamiento de las úlceras cutáneas sobreinfectadas en diabéticos. Entre los otros AMP en desarrollo, que pueden ser de interés para el clínico en un futuro cercano, se deberían mencionar el Isegran, desarrollado por Intrabiotics Pharmaceuticals Inc., péptidos MBI desarrollados por Micrologix Biotech Inc., y péptidos derivados de la Histatina desarrollado por Periondotix Inc. (**Andrès et al.** mencionado anteriormente). Pero también las peneidinas mencionadas anteriormente, que parece que tienen una masa molecular mayor en comparación con el péptido aislado reivindicado de *Alvinella pompejana*.

40

45 **[0007]** Los péptidos de acuerdo con la invención permitirían disminuir el uso de antibióticos en acuicultura, sustituyendo una parte de los últimos. Debido a la inocuidad de los AMP, su uso beneficiaría la imagen de la marca, pero también la salud de los animales que se van a tratar, los consumidores y el medio ambiente, sin miedo a favorecer la evolución emergente de cepas resistentes a antibióticos.

50 **[0008]** Por lo tanto, uno de los objetivos de la invención es proporcionar nuevos AMP que tienen una actividad antibiótica de amplio espectro.

55 **[0009]** La presente invención se refiere a un nuevo péptido que comprende o consiste en la SEC ID N° 1, con la condición de que dicho péptido anterior no consista en las SEC ID N°s 2 a 5.

[0010] Con la expresión "péptido" quiere decirse una cadena de aminoácidos contigua. Esta cadena de aminoácidos contigua puede llamarse proteína si contiene al menos 50 aminoácidos. Esta cadena de aminoácidos contigua puede ser de origen natural o artificial (a partir de síntesis química).

60 **[0011]** Con la expresión "cadena de aminoácidos contigua" quiere decirse aminoácidos que están en contacto o se conectan a través de una secuencia sin ruptura.

65 **[0012]** Debido a que la SEC ID N° 1 se obtuvo de *Alvinella pompejana*, se ha llamado Alvinellacina. La Alvinellacina es la secuencia activa más pequeña contra un microorganismo. El péptido contiene 4 cisteínas que están implicadas en Puentes de Cisteína.

[0013] Con la palabra “microorganismos” quiere decirse organismos que son microscópicos tales como bacterias, hongos, y virus.

[0014] La presente invención también se refiere a un péptido que consiste en la SEC ID N° 6, o deriva de la SEC ID N° 1:

- por modificación en su extremo C, y/o extremo N, y/o
- por sustitución, y/o supresión, y/o adición de uno o varios aminoácidos en su cadena peptídica, y/o
- por modificación de al menos un enlace peptídico -CO-NH- en su cadena peptídica, particularmente por introducción de un enlace tipo retro o retro-inverso, y/o
- por sustitución de al menos un aminoácido de su cadena peptídica, con un aminoácido no proteínogénico,

en particular, péptidos o fragmentos de péptidos que tienen más de un 80%, preferentemente más de un 85%, preferentemente más de un 90% y más preferentemente más de un 95% de homología.

[0015] De acuerdo con la invención, un péptido que deriva de la SEC ID N° 1 comparte una identidad de al menos el 80% con los aminoácidos 1 a 22 de la SEC ID N° 1 y tiene actividad antimicrobiana, antivírica y/o fungicida.

[0016] La SEC ID N° 6 corresponde al pre-propéptido de la Alvinellacina.

[0017] Con la palabra “pre-propéptido” quiere decirse un precursor de la proteína de la Alvinellacina, que incluye un péptido de señal en el extremo N. Este pre-propéptido se somete a una modificación post-traducciona en el gusano Pompeya, y así se convierte en el péptido activo de la SEC ID N° 1.

[0018] Con la expresión “proteína precursora” quiere decirse una proteína inactiva, sin actividad antimicrobiana.

[0019] Con la expresión “actividad antimicrobiana” quiere decirse una acción contra bacterias, hongos y virus, que da lugar a un descenso de su población y/o da lugar a la inhibición del crecimiento del microorganismo.

[0020] Con la expresión “péptido de señal” quiere decirse un fragmento de la cadena de aminoácidos de la SEC ID N° 6, que es una secuencia corta que dirige el transporte de dicha proteína precursora en *Alvinella pompejana*. El péptido de señal de la SEC ID N° 6 va desde el 1° al 19° resto de aminoácido.

[0021] Con la expresión “modificación post-traducciona en el gusano pompeya” quiere decirse el proceso de eliminación que se produce en *Alvinella pompejana*, que corresponde a la escisión de 186 aminoácidos contiguos desde la parte del extremo N de la SEC ID N° 6, y que da lugar a la obtención de la SEC ID N° 1.

[0022] Con la expresión “modificación de su extremo C, y/o extremo N” quiere decirse la sustitución de un grupo, por ejemplo -COOH o -NH₂, localizado en el primer o último aminoácido del péptido de la SEC ID N° 1, cualquiera que sea el motivo de la sustitución, por ejemplo, revestir un soporte con el péptido.

[0023] Con la expresión “introducción de un enlace tipo retro” quiere decirse la introducción de un enlace amida retro, que consiste en un enlace peptídico -NH-CO- en la SEC ID N° 1.

[0024] Con la expresión “introducción de un enlace peptídico tipo retro-inverso” quiere decirse la introducción de un enlace amida retro-inverso, que consiste en un enlace peptídico -NH-CO- acoplado con una configuración inversa absoluta del aminoácido.

[0025] Con la expresión “aminoácidos no proteínogénicos”, se debe entender como aminoácidos que no se encuentran en proteínas (por ejemplo, carnitina, L-canavanina, o L-DOPA), o que no se codifican por el código genético de referencia (por ejemplo, hidroxiprolina y selenometionina).

[0026] En una realización ventajosa, el péptido reivindicado tiene una identidad al menos del 80% con el péptido de la SEC ID N° 1. Por lo tanto, el péptido reivindicado puede tener sin limitación una secuencia de aminoácidos en la que se han sustituido o suprimido uno o más aminoácidos en cualquier sitio dentro de dicha secuencia o en la que se han añadido uno o más aminoácidos proteínogénicos, es decir, aminoácidos naturales, a dicha secuencia, en particular un péptido que contiene las cuatro cisteínas de la SEC ID N° 1 que están implicadas en Puentes de Cisteína.

[0027] La presente invención también se refiere a un péptido como se define anteriormente, que se caracteriza por que se aísla y se purifica de *Alvinella pompejana*.

[0028] Con la expresión “aislado y purificado de *Alvinella pompejana*” quiere decirse que el péptido se extrae primero de *Alvinella pompejana* y luego se separa de otros residuos orgánicos, por ejemplo, con el uso a propósito de un kit comercial de extracción de proteína total, seguido por una cromatografía de afinidad, u otra técnica bien conocida utilizada habitualmente por el experto en la técnica.

[0029] La presente invención también se refiere a una molécula de ácido nucleico aislada que codifica un péptido como se ha definido anteriormente, en particular la molécula de ácido nucleico de la SEC ID N° 7, con la condición de que no consista en las SEC ID N°s 8 a 25.

5 **[0030]** La SEC ID N° 7 corresponde a una molécula de ácido nucleico que codifica el pre-propéptido mencionado anteriormente de la SEC ID N° 6.

[0031] Las SEC ID N°s 8 a 25 corresponden a moléculas de ácido nucleico desveladas que codifican las cadenas de aminoácidos de las SEC ID N°s 2 a 5.

10 **[0032]** Con la expresión “molécula de ácido nucleico” quiere decirse una cadena de ADN sencilla o doble, o una cadena de ARN sencilla o doble, que incluye un híbrido ADN/ARN, que codifica el péptido reivindicado.

15 **[0033]** La presente invención también se refiere a una construcción de ácido nucleico recombinante que comprende la molécula de ácido nucleico mencionado anteriormente unida operativamente a un vector de expresión.

[0034] Con la expresión “unida operativamente” quiere decirse que la molécula de ácido nucleico mencionada anteriormente está unida de manera covalente a un vector de expresión, permitiendo que el ribosoma traduzca la molécula de ácido nucleico reivindicada, o permitiendo que la ARN polimerasa produzca un ARNm que codifique el péptido reivindicado.

20 **[0035]** Con la expresión “vector de expresión” quiere decirse una molécula hecha de ácidos nucleicos, en particular, un plásmido, que comprende una región promotora y opcionalmente una región potenciadora. El vector de expresión puede incluir otros genes tales como un gen de resistencia a antibióticos, con el fin de seleccionar células huésped que contienen la molécula de ácido nucleico que codifica el péptido reivindicado. Las técnicas de producción recombinante que utilizan el vector de expresión mencionado anteriormente son conocidas por un experto en la técnica.

25 **[0036]** La presente invención también se refiere a una célula huésped que comprende la construcción de ácido nucleico recombinante mencionada anteriormente.

[0037] Con la expresión “célula huésped” quiere decirse cualquier célula viva, en particular células eucariotas tales como una célula fúngica (por ejemplo *Aspergillus niger*), y también una célula bacteriana, o cualquier medio no viviente que comprenda una maquinaria de transcripción y/o traducción y opcionalmente orgánulos de una célula, que permitan amplificar la construcción de ácido nucleico reivindicada y/o producir el péptido reivindicado.

30 **[0038]** La presente invención se refiere además a los péptidos que se han definido anteriormente, para su uso como fármacos, en particular como agentes antimicrobianos, antivíricos o fungicidas.

35 **[0039]** Otro objetivo de la invención es proporcionar una composición que comprende al menos un péptido como se ha definido anteriormente.

[0040] Otro objetivo más de la invención es proporcionar una composición como se ha definido anteriormente, para su uso como un agente antibacteriano contra bacterias Gram-negativas y Gram-positivas.

40 **[0041]** Se puede encontrar una lista de bacterias Gram - o Gram + en el catálogo DSMZ: (http://www.dsmz.de/microorganisms/bacteria_catalogue.php).

45 **[0042]** Otro objetivo más de la invención es proporcionar una composición como se ha definido anteriormente, para su uso en varios dominios como sanidad animal y humana, agricultura y en acuicultura para evitar el desarrollo de enfermedades infecciosas en producción animal.

50 **[0043]** Con la expresión “acuicultura” quiere decirse la producción de organismos acuáticos, en particular la cría de peces, algacultura y acuicultura multi-trófica integrada (IMTA).

55 **[0044]** Con la expresión “organismos acuáticos” quiere decirse cualquier organismo de agua dulce o salada, que incluyen -sin limitación- los siguientes:

- 60
- peces, tales como carpas, salmones y otros ciprínidos y salmónidos;
 - moluscos, tales como ostras, almejas, berberechos, árcidos de concha, vieiras y mejillones;
 - crustáceos, tales como cangrejos, langostas, gambas y langostinos;
 - plantas acuáticas, tales como algas, y fitoplancton.

65 **[0045]** Es obvio para un experto en la técnica que los péptidos reivindicados se podrían utilizar en asociación con otras técnicas tales como vacunas y métodos físicos con la intención de reducir las poblaciones de microorganismos no deseados.

[0046] La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende al menos uno de los péptidos reivindicados, en asociación con un vehículo farmacéutico aceptable.

5 **[0047]** Con la expresión "vehículo farmacéutico aceptable" quiere decirse cualquier vehículo farmacológico elegido por un experto en la técnica.

[0048] En este contexto, se pueden utilizar en asociación con cualquier excipiente farmacéuticamente aceptable, y en cualquier forma farmacéuticamente aceptable tal como por ejemplo comprimidos oblongos, cápsulas de gelatina dura, otras cápsulas, jabones y lociones.

10 **[0049]** En otra realización ventajosa, la composición farmacéutica reivindicada comprende además al menos otro agente antimicrobiano que se selecciona de entre el grupo que comprende:

- 15 - tetraciclinas, tales como oxitetraciclina o clortetraciclina;
 - quinolonas, tales como ácido oxolínico, flumequina o sarafloxacin;
 - sulfamidas, opcionalmente potenciadas con trimetoprim u ormetoprim;
 - nitrofuranos, tales como furazolidona;
 - macrólidos, tales como eritromicina o espiramicina (E710);
 - florfenicol;
 20 - cloranfenicol.

[0050] Otro objetivo de la invención es proporcionar la composición farmacéutica que se ha definido anteriormente para su uso en terapia antibiótica animal y/o humana.

25 **[0051]** La vía de administración óptima (por ejemplo, la vía oral, vía tópica, tratamiento con baños) debería determinarla un experto en la técnica, como la cantidad óptima de péptido a utilizar y la duración del tratamiento.

30 **[0052]** La presente invención también se refiere a una composición dietética, en particular un suplemento alimentario que contiene además uno o más ingredientes nutritivos, que comprenden una composición como se ha definido anteriormente.

35 **[0053]** Otro objetivo de la invención es proporcionar una composición como se ha descrito anteriormente, en la que dichos péptidos están encapsulados, en particular nanoencapsulados. La encapsulación puede tener varios beneficios, en particular permitir el suministro de los péptidos reivindicados a lo largo del tiempo. Las técnicas de encapsulación y nanoencapsulación las conoce bien un experto en la técnica.

[0054] Otro objetivo más de la presente invención es proporcionar un desinfectante que comprende una composición que contiene al menos uno de los péptidos reivindicados.

40 **[0055]** Con el término "desinfectante" quiere decirse una mezcla de compuestos que proporciona una actividad antimicrobiana, antivírica y/o fungicida, y que se utiliza para este fin.

45 **[0056]** Entre otras aplicaciones posibles, se debería señalar que los péptidos reivindicados podrían utilizarse por ejemplo en los medios de cultivo, en particular medios para células de insecto y eucariotas, con el fin de evitar la contaminación de estos medios por microorganismos.

[0057] Los siguientes ejemplos 1 a 3 y figuras 1 a 3 ilustran la invención.

50 **[0058]** La Figura 1 presenta el perfil cromatográfico del extracto de *Alvinella pompejana*, que se obtiene después de su pre-purificación en una columna Sep-Pack® 20g (Waters™) y su purificación por cromatografía de fase inversa (RP-HPLC) utilizando una columna C18 250 x 4,1 mm (218TP54 Vydac™), como se describe en la parte experimental. Las dos líneas más anchas indican fracciones que poseen propiedades antimicrobianas.

55 eje x de izquierda a derecha: Tiempo de Elución (min);
 eje y (lado izquierdo): densidad óptica (O.D.) a 255 nm;
 eje y (lado derecho): porcentaje de ACN en el eluyente.

60 **[0059]** La Figura 2 presenta la capacidad de la Alvinellacina para crear poros en los liposomas, que se utilizan aquí para imitar las bacterias bacterianas.

eje x de izquierda a derecha: tiempo (s);
 eje y (lado izquierdo): fluorescencia (unidades arbitrarias).

65 **[0060]** La flecha muestra el momento de adición de Alamicina y la Alvinellacina.

[0061] El control negativo muestra el ruido de fondo, que corresponde con la fluorescencia medida sin la permeabilización de liposomas.

[0062] La Figura 3 presenta la permeabilización de bacterias Gram-positivas (*Bacillus megaterium*) y bacterias Gram-negativas (*Escherichia coli*) tras el uso intencionado de Alvinellacina y dos AMP más (Cecropina de origen porcino y Magainina de origen anfibio). Estos experimentos se llevaron a cabo a pH 7,4. La permeabilización de bacterias se midieron 10 minutos después de la adición de cada AMP para *B. megaterium*, mientras que la misma medición se hizo tras 120 minutos después de la adición de cada AMP para *E. coli*.

eje x de izquierda a derecha: concentración de Alvinellacina, Cecropina y Magainina (nM);
eje y (lado izquierdo): bacterias permeabilizadas (%).
Los símbolos negros son para *E. coli* y los símbolos blancos son para *B. megaterium*.

Ejemplo 1: Extracción, purificación y secuenciación de la Alvinellacina endógena de *Alvinella pompejana*

[0063] Se recolectaron 20 gusanos Pompeya de crecimiento completo y sexualmente maduros en la Dorsal del Pacífico Oriental, a 3.000 metros de profundidad. Estos gusanos adultos se machacaron y la mezcla homogénea resultante se acidificó a un pH 3 añadiendo HCl 1 M. Luego se centrifugó la solución a 10.000 g durante 30 minutos. Se concentraron de esta manera las proteínas en el aglomerado de centrifugación y se eliminaron.

[0064] El sobrenadante que contenía los péptidos se pre-purificó en una columna pre-empaquetada con metanol Sep-Pak® 20g (Waters™), a continuación se lavó con agua de calidad para HPLC que se había pre-acidificado con una solución de ácido trifluoroacético (TFA) al 5%.

[0065] La fracción obtenida con el 60% de eluyente se purificó entonces por cromatografía de fase inversa (RP-HPLC) utilizando una columna C18 250 x 4,1 mm (218TP54 Vydac™). Se utilizó un gradiente del 2 al 62% de ACN para esta purificación. La densidad óptica de cada fracción recolectada se midió posteriormente, con el fin de obtener un perfil cromatográfico (Figura 1). Cada pico del perfil cromatográfico corresponde con una fracción que se secó, re-suspendió en agua purificada y luego se ensayó en cuanto a su actividad antimicrobiana.

[0066] Las fracciones activas se purificaron más por RP-HPLC sucesivas utilizando una columna C18 250 x 2,1 mm (218TP52 Vydac™). El grado de pureza y la masa molecular de los péptidos activos se estimaron por espectrometría de masas.

[0067] Los péptidos purificados se secuenciaron por degradación de Edman (una técnica que es bien conocida por un experto en la técnica). Los resultados mostraban que una secuencia obtenida se correspondía con un péptido activo de la SEC ID N° 1 que era totalmente desconocida. Debido a su origen, este péptido se ha llamado Alvinellacina. El uso de técnicas de genética inversa clásicas permitieron obtener una molécula de ácido nucleico que codificaba el precursor proteico de este péptido. EL precursor proteico de la SEC ID N° 6 incluye un péptido de señal que va desde el 1º al 19º resto de aminoácido de la secuencia. El ADN complementario que codifica el pre-péptido se dedujo además de esta y consiste en la SEC ID N° 7.

Ejemplo 2: Evaluación de los mecanismos de actividad antibacteriana

[0068] El mecanismo de la actividad antibacteriana se determinó utilizando liposomas llenos con un reactivo fluorescente. Los liposomas consisten en una bicapa de fosfolípidos que se utiliza aquí para imitar la membrana bacteriana. La permeabilización de los liposomas daría lugar a la liberación del compuesto interno, reaccionando por lo tanto con el medio y produciendo una luz fluorescente que se puede medir por espectrometría. El ensayo se lleva a cabo con controles negativos y positivos. Se utilizó la Alamicina, que es un antibiótico que se sabe que crea poros en la membrana bacteriana, como control positivo. El control negativo es una solución de liposomas, con la intención de medir el ruido de fondo (Figura 2).

[0069] Los resultados muestran que la Alvinellacina actúa como la Alamicina y permeabiliza la bicapa de fosfolípidos.

[0070] Este modo de acción no debería favorecer la evolución emergente de cepas resistentes a antibióticos.

Ejemplo 3: Evaluación de la actividad antibacteriana y comparación con otros AMP

[0071] La concentración inhibidora mínima (MIC) se determinó de acuerdo con el método de Hancock (Hancock, R. E. W. 19 de septiembre 1999, fecha de publicación. [En línea.] Hancock Laboratory Methods. Department of Microbiology and Immunology, University of British Columbia, British Columbia, Canadá, <http://www.cmdr.ubc.ca/bobh/methods.htm> [Antibiotics and Antimicrobial Peptides: MIC Determination by Microtitre Broth Dilution Method, último acceso el 21 de septiembre.]). La permeabilización de membranas bacterianas y actividad de formación de poros se ensayaron como se ha descrito anteriormente (Herbst, R., Ott, C, Jacobs, T., Marti, T., Marciano-Cabral, F., Leippe, M. Pore-forming polypeptides of the pathogenic protozoon *Naegleria fowleri*).

J. Biol. Chem. 2002. 277:22353-22360).

5 **[0072]** En un ensayo líquido de inhibición del crecimiento, la Alvinellacina purificada era muy activa contra el agente patógeno *Staphylococcus aureus* para humanos (MIC 0,385-0,75 µM) y el agente patógeno *Vibrio alginolyticus* para bivalvos (MIC 0,006-0,012 µM).

10 **[0073]** Para investigar el modo de acción de la Alvinellacina, los inventores utilizaron el colorante fluorescente SYTOX-Green® y el *Bacillus megaterium* Gram-positivo o *E. coli* Gram-negativa (Figura 3). Los resultados de este ensayo demuestran que la Alvinellacina permeabiliza rápidamente las membranas bacterianas y es potencialmente
 15 activa contra Gram-negativas y en menor extensión contra Gram-positivas. En el periodo de medición, la actividad de la Alvinellacina contra la bacteria Gram-negativa ensayada parecía estar por encima del orden de magnitud más alto para los péptidos antimicrobianos bien conocidos Cecropina PI y Magainina II. Se detectó una menor actividad contra bacterias Gram-positivas en comparación con los dos controles positivos. También se midió la actividad de formación de poros por la Alvinellacina para caracterizar más su modo de acción utilizando un sistema de membrana
 20 minimalista. Más precisamente, los inventores controlaron la disipación de un potencial de membrana inducido en los liposomas compuestos por azolectina, una mezcla de fosfolípidos de soja sin procesar. La actividad de formación de poros se detectó a concentraciones finales hasta de 0,5 nM, mientras que el control positivo Alameticina daba una señal a 0,1 nM.

20 LISTADO DE SECUENCIAS

[0074]

25 <110> FRE2933 Laboratoire de Neurobiologie des Annelides, Universite des Sciences et des Technologies de Lille-Lille1 Tasiemski, Aurelie Michel, Salzet

<120> Péptidos antimicrobianos de *Alvinella pompejana*: la Alvinellacina

30 <130> IOB 09 BC CNR ALVI

<160> 25

<170> PatentIn versión 3.5

35 <210> 1

<211> 22

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40 <220>

<223> péptido derivado de *Alvinella pompejana*

<220>

45 <221> PÉPTIDO

<222> (1)..(22)

<400> 1

Arg Gly Cys Tyr Thr Arg Cys Trp Lys Val Gly Arg Asn Gly Arg Val
1 5 10 15

Cys Met Arg Val Cys Thr
20

50

<210> 2

<211> 235

<212> PRT

<213> *Alvinella pompejana*

55

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (153)..(153)

<223> Xaa es o L o F

60

<400> 2

Met Asp Cys Thr Pro Ala Pro Tyr Asp Lys Glu Gly Leu Val Thr Lys
 1 5 10 15

Ser Gln Lys Thr Thr Met Met Ser Trp Gly Leu Met Thr Tyr Ser Val
 20 25 30

Val Val Thr Leu Val Leu Val Phe Leu Val Val Phe Gly Ser Leu His
 35 40 45

Met Glu Arg Gln Leu Gln Lys Cys Asn Ala Gln His Thr Ser Ile Glu
 50 55 60

Pro Leu Met Arg Glu Glu Glu Glu Arg Phe Pro Thr Lys Val Tyr His
 65 70 75 80

Ile Val Asp Glu Asp Glu Ser Glu Gln Asp Ile Glu Val Asp Gln Ala
 85 90 95

Arg Asp Arg Glu Ile Ile His Leu Lys Glu Arg Asp Ser Asp Glu Tyr
 100 105 110

Ser Leu Leu Val Phe Asp Phe Lys Gln Asn Leu Gly Ala Ile Tyr Asp
 115 120 125

Asp Leu Thr Gly Ser Cys Tyr Val Met Gly Gly Leu Asp Ser Ser Leu
 130 135 140

Pro Asp Ser Val His Ile Gln Arg Xaa Leu Glu Ser Lys Thr Asp Gly
 145 150 155 160

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

Leu Arg Asp Leu Ser Leu Ile Pro Ala Glu Leu Gln Thr Leu Cys Trp
 180 185 190

Gly Lys Pro Ala Phe Trp Ile Ser Lys Thr Leu Thr Glu Asp Lys Gly
 195 200 205

Ser His Arg Gln Lys Arg Gly Cys Tyr Thr Arg Cys Trp Lys Val Gly
 210 215 220

Arg Asn Gly Arg Val Cys Met Arg Val Cys Thr
 225 230 235

5

<210> 3
 <211> 169
 <212> PRT

<213> *Alvinella pompejana*

<220>

<221> MISC_FEATURE

5 <222> (15)..(15)

<223> Xaa es o M o I

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <222> (16)..(16)

<223> Xaa es o V o W

<220>

<221> MISC_FEATURE

15 <222> (29)..(29)

<223> Xaa es o Q o E

<220>

<221> MISC_FEATURE

20 <222> (60)..(60)

<223> Xaa es cualquier aminoácido

<400> 3

ES 2 536 238 T3

Met Arg Glu Glu Glu Glu Arg Phe Pro Thr Lys Val Tyr His Xaa Xaa
 1 5 10 15

Asp Glu Asp Glu Ser Glu Gln Asp Ile Glu Val Asp Xaa Ala Arg Asp
 20 25 30

Arg Glu Ile Ile His Leu Lys Glu Arg Asp Ser Asp Glu Tyr Ser Leu
 35 40 45

Leu Val Phe Asp Phe Lys Gln Asn Leu Gly Ala Xaa Tyr Asp Asp Leu
 50 55 60

Thr Gly Ser Cys Tyr Val Met Gly Gly Leu Asp Ser Ser Leu Pro Asp
 65 70 75 80

Ser Val His Ile Gln Arg Leu Leu Glu Ser Lys Thr Asp Gly Asn Asp
 85 90 95

Ile Val Lys Glu Leu Asp Tyr Thr Val Asn Ser Glu Arg Pro Leu Arg
 100 105 110

Asp Leu Ser Leu Ile Pro Ala Glu Leu Gln Thr Leu Cys Trp Gly Lys
 115 120 125

Pro Ala Phe Trp Ile Ser Lys Thr Leu Thr Glu Asp Lys Gly Ser His
 130 135 140

Arg Gln Lys Arg Gly Cys Tyr Thr Arg Cys Trp Lys Val Gly Arg Asn
 145 150 155 160

Gly Arg Val Cys Met Arg Val Cys Thr
 165

5 <210> 4
 <211> 99
 <212> PRT
 <213> *Alvinella pompejana*

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(16)
 <223> Xaa es o R o Q

15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (17)..(17)
 <223> Xaa es o L o F

20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (20)..(20)
 <223> Xaa es o S o N

5 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (24)..(24)
 <223> Xaa es o G o D

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (60)..(60)
 <223> Xaa es o A o V

15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (73)..(73)
 <223> Xaa es o S o F

<400> 4

```

Met Gly Gly Leu Asp Ser Ser Leu Pro Asp Ser Val His Ile Gln Xaa
 1           5           10           15

Xaa Leu Glu Xaa Lys Thr Asp Xaa Asn Asp Ile Val Lys Glu Leu Asp
      20           25           30

Tyr Thr Val Asn Ser Glu Arg Pro Leu Arg Asp Leu Ser Leu Ile Pro
      35           40           45

Ala Glu Leu Gln Thr Leu Cys Trp Gly Lys Pro Xaa Phe Trp Ile Ser
      50           55           60

Lys Thr Leu Thr Glu Asp Lys Gly Xaa His Arg Gln Lys Arg Gly Cys
 65           70           75           80

Tyr Thr Arg Cys Trp Lys Val Gly Arg Asn Gly Arg Val Cys Met Arg
      85           90           95

Val Cys Thr
  
```

20 <210> 5
 <211> 180
 <212> PRT
 <213> *Alvinella pompejana*

25 <400> 5

ES 2 536 238 T3

Met Thr Tyr Ser Val Val Val Thr Leu Val Leu Val Phe Leu Val Val
 1 5 10 15

Phe Gly Ser Leu His Met Glu Arg Gln Leu Gln Lys Cys Asn Ala Gln
 20 25 30

His Thr Ser Ile Glu Pro Leu Met Arg Glu Glu Glu Glu Arg Phe Pro
 35 40 45

Thr Lys Val Tyr His Ile Val Asp Glu Asp Glu Ser Glu Gln Asp Ile
 50 55 60

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

Asp Ser Asp Glu Tyr Ser Leu Leu Val Phe Asp Phe Lys Gln Asn Leu
 85 90 95

Gly Ala Ile Tyr Asp Asp Leu Thr Gly Ser Cys Tyr Val Met Gly Gly
 100 105 110

Leu Asp Ser Ser Leu Pro Asp Ser Val His Ile Gln Arg Leu Leu Glu
 115 120 125

Ser Lys Thr Asp Gly Asn Asp Ile Val Lys Glu Leu Asp Tyr Thr Val
 130 135 140

Asn Ser Glu Arg Pro Leu Arg Asp Leu Ser Leu Ile Pro Ala Glu Leu
 145 150 155 160

Gln Thr Leu Cys Trp Gly Lys Pro Ala Phe Trp Ile Ser Lys Thr Leu
 165 170 175

Thr Glu Asp Lys Gly Ser His Arg Gln Lys Arg Gly Cys Tyr Thr Arg
 180 185 190

Cys Trp Lys Val Gly Arg Asn Gly Arg Val Cys Met Arg Val Cys Thr
 195 200 205

<210> 7
 <211> 720
 5 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> molécula de ácido nucleico derivada de *Alvinella pompejana*

10 <400> 7

ES 2 536 238 T3

atgacgtatt ctgtagttgt gacgctggtc ttagtgtttc ttgtcgtctt cggtagtctg 60
 catatggaac ggcagctgca gaaatgcaac ggcgagcata cttagattga acccctgatg 120
 cgtgaggaag aggagcgtt tccatacaag gtttatcaca ttgtggacga ggatgaaagc 180
 gaacaagaca tcgaagtaga ccaagcacgt gaccgggaga taatccattt gaaggagcgc 240
 gatagtgatg aatattcatt acttgtcttc gatttcaagc agaatctcgg agccatttac 300
 gacgatctta ccggatcgtg ttacgtcatg ggtggccttg acagcagtct gccagacagc 360
 gtacatatac agcgattgct tgaaagcaag actgatggca atgacatcgt gaaggaactc 420
 gactacaccg tcaactctga acgtccactg agagatctga gcctgattcc agccgagctc 480
 cagacgttgt gttggggaaa acctgccttc tggatcagta agactctaac cgaagacaaa 540
 ggttctcatc gtcagaagag aggttggtac acacgttgtt ggaaagttgg taggaacgga 600
 cgtgtttgta tgcgtgtttg tacataactc acctgcttca tttcactgag aaacaggact 660
 tattaacaat aactaaaca ccaaatgatc tggcggctcc gtctgccta cgcaggcaag 720

<210> 8
 <211> 763
 <212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*

5

<400> 8

cttgctgaga gacaagcaga ggcaatggac tgtacgccgg caccttacga caaagaaggt 60
 cttgtaacca agtcgcagaa gacgaccatg atgtcatggg gactgatgac gtattctgta 120
 gttgtgacgc tggctcttagt gtttcttgtc gtcttcggta gtctgcatat ggaacggcag 180
 ctgcagaaat gaaacggcga gcatacttgc attgaacccc tgatgocgtga ggaagaggag 240
 cgctttccta caaaggttta tcacattgtg gacgaggatg aaagcgaaca agacatcgaa 300
 gtagaccaag cacgtgaccg ggagataatc catttgaagg agcgcgatag tgatgaatat 360
 tcattacttg tcttogattt caagcagaat ctcggagcca tttacgacga tcttaccgga 420
 tcgtgttacg tcatgggtgg ccttgacagc agtctgccag acagcgtaca tatacagcga 480
 ttgcttgaaa gcaagactga tggcaatgac atcgtgaagg aactcgacta cacctgcaac 540
 tctgaacgtc cactgagaga tctgagcctg attccagccg agctccagac gttgtgttgg 600
 ggaaaacctg ccttctggat cagtaagact ctaaccgaag acaaaggttc tcatcgtcag 660
 aagagagggt gttacacacg ttgttgaaa gttggttagga acggacgtgt ttgtatgcgt 720
 gtttgtacat aactcacctg cttcatttca ctgagaaaca gga 763

10

<210> 9
 <211> 752
 <212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*

15

<400> 9

aggcaatgga ctgtacgccc gcaccttacg acaaagaagg tcttgaacc aagtcgcaga 60
 agacgacccat gatgtcatgg ggactgatga cgtattctgt agttgtgacg ctggctcttag 120
 tgtttcttgt ogtcttcggt agtctgcata tggaaacggca gctgcagaaa tgcaacgcgc 180
 agcatacttc gattgaaccc ctgatgcgtg aggaagagga gcgctttcct acaaaggttt 240
 atcacattgt ggacgaggat gaaagcgaac aagacatcga agtagaccaa gcacgtgacc 300
 gggagataat ccatttgaag gagcgcgata gtgatgaata ttcattactt gtcttcgatt 360
 tcaagcagaa tctcggagcc atttacgacg atcttaccgg atcgtgttac gtcatgggtg 420
 gccttgacag cagtctgcca gacagcgtac atatacagcg attgcttgaa agcaagactg 480

 atggcaatga catcgtgaag gaactcgact acaccgtcaa ctctgaacgt ccaactgagag 540
 atctgagcct gattccagcc gagctccaga cgttgtgttg gggaaaacct gccttctgga 600
 tcagtaagac tctaaccgaa gacaaagggt ctcatcgtca gaagagaggt tgttacacac 660
 gttgttgaa agttggtag aacggacgtg tttgtatgcg tgtttgtaca taactcacct 720
 gcttcatttc actgagaaac aggacttatt aa 752

5 <210> 10
 <211> 754
 <212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*

10 <400> 10

gcttcttgcg gagagacaag cagaggcaat ggactgtacg cgggcacctt acgacaaaga 60
 aggtcttgta accaagtcgc agaagacgac catgatgtca tggggactga tgacgtattc 120
 tgtagtgtg acgctggtct tagtgtttct tctcgtcttc ggtagtctgc atatggaacg 180
 gcagctgcag aatgcaacg cgcagcatac ttcgattgaa cccctgatgc gtgaggaaga 240
 ggagcgcctt cctacaaagg tttatcacat tgtggacgag gatgaaagcg aacaagacat 300
 cgaagtagac caagcacgtg accgggagat aatccatttg aaggagcgcg atagtgatga 360
 atattcatta cttgtcttcg atttcaagca gaatctcggg gccatttacg acgatcttac 420
 cggatcgtgt tacgtcatgg gtggccttga cagcagtctg ccagacagcg tacatataca 480
 gcgattcctt gaaagcaaga ctgatggcaa tgacatcgtg aaggaactcg actacaccgt 540
 caactctgaa cgtccactga gagatctgag cctgattcca gccgagctcc agacgttgtg 600
 ttggggaaaa cctgccttct ggatcagtaa gactctaacc gaagacaaag gttctcatcg 660
 tcagaagaga ggttgttaca cacgttgttg gaaagttggt aggaacggac gtgtttgtat 720
 gcgtgtttgt acataactca cctgcttcat ttca 754

15 <210> 11
 <211> 815
 <212> ADN

ES 2 536 238 T3

<213> *Alvinella pompejana*

<400> 11

5

| | | | | | | |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| tgctgagaga | caagcagagg | caatggactg | tacgccggca | ccttacgaca | aagaaggtct | 60 |
| tgtaaccaag | tgcagaaga | cgaccatgat | gtcatgggga | ctgatgacgt | attctgtagt | 120 |
| tgtgacgctg | gtccttagtg | ttcttgtcgt | cttcggtagt | ctgcatatgg | aacggcagct | 180 |
| gcagaaatgc | aacgcgcagc | atacttcgat | tgaaccctcg | atgcgtgagg | aagaggagcg | 240 |
| ctttcctaca | aaggtttatc | acattgtgga | cgaggatgaa | agcgaacaag | acatcgaagt | 300 |
| agaccaagca | cgtgaccggg | agataatcca | tttgaaggag | cgcgatagtg | atgaatattc | 360 |
| attacttgtc | ttcgatttca | agcagaatct | cggagccatt | tacgacgata | ttaccggata | 420 |
| gtgttacgtc | atgggtggcc | ttgacagcag | totgccagac | agcgtacata | tacagcgatt | 480 |
| gcttgaaagc | aagactgatg | gcaatgacat | cgtgaaggaa | ctcgactaca | ccgtcaactc | 540 |
| tgaacgtcca | ctgagagata | tgagcctgat | tccagccgag | ctccagaagt | tgtgttgggg | 600 |
| aaaacctgcc | ttctggatca | gtaagactct | aaccgaagac | aaaggttctc | atcgtcagaa | 660 |
| gagaggttgt | tacacacggt | gttggaaagt | tggtaggaac | ggacgtgttt | gtatgcgtgt | 720 |
| ttgtacataa | ctcacctgct | tcatttcact | gagaaacagg | acttattaac | ataaactaaa | 780 |
| caccaaataa | tctggcggct | ccgtcctgcc | tacgc | | | 815 |

<210> 12

<211> 782

10 <212> ADN

<213> *Alvinella pompejana*

<400> 12

ES 2 536 238 T3

| | |
|--|------------|
| gagaagcttc ttgctgagag acaagcagag gcaatggact gtacgccggc accttacgac | 60 |
| aaagaaggtc ttgtaaccaa gtcgcagaag acgaccatga tgtcatgggg actgatgacg | 120 |
| tattctgtag ttgtgacgct ggtcttagtg tttcttgcg tcttcggtag tctgcatatg | 180 |
| gaacggcagc tgcagaaatg caacgcgcag catacttcga ttgaacccct gatgcgtgag | 240 |
| gaagaggagc gctttcctac aaaggtttat cacattgtgg acgaggatga aagcgaacaa | 300 |
| gacatcgaag tagaccaagc acgtgaccgg gagataatcc atttgaagga gcgcgatagt | 360 |
| gatgaatatt cttacttgt cttcgatttc aagcagaatc tcggagccat ttacgacgat | 420 |
| cttaccggat cgtgttacgt catgggtggc cttgacagca gtctgccaga cagcgtacat | 480 |
| atacagcgat tgcttgaaag caagactgat ggcaatgaca tcgtgaagga actcgactac | 540 |
| accgtcaact ctgaacgtcc actgagagat ctgagcctga ttccagccga gctccagacg | 600 |
| ttgtgttggg gaaaacctgc cttctggatc agtaagactc taaccgaaga caaaggttct | 660 |
| catcgtcaga agagaggttg ttacacacgt tgttggaag ttggtaggaa cggacgtgtt | 720 |
| tgtatgcgtg tttgtacata actcacctgc ttcatttcac tgagaaacag gacttattaa | 780 |
| ca | 782 |

5 <210> 13
 <211> 770
 <212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (182)..(182)
 <223> n es a, c, g o t

<400> 13

tgatgcgtga ggaagaggag cgctttccta caaaggttta tcacatgtgg gacgaggatg 60
 aaagcgaaca agacatcgaa gtagaccaag cacgtgaccg ggagataatc catttgaagg 120
 agcgcgatag tgatgaatat tcattacttg tcttcgattt caagcagaat ctcggagcca 180
 tntacgacga tcttaccgga tegtgttacg tcatgggtgg ccttgacagc agtctgccag 240
 acagcgtaca tatacagoga ttgcttgaaa gcaagactga tggcaatgac atcgtgaagg 300
 aactcgacta caccgtaaac tctgaacgtc cactgagaga tctgagcctg attccagccg 360
 agctccagac gttgtgttg ggaaaacctg ccttctggat cagtaagact ctaaccgaag 420
 acaaaggttc tcatcgtcag aagagaggtt gttacacacg ttgttgaaa gttggtagga 480
 acggacgtgt ttgtatgctt gtttgtacat aactcaactg cttcatttca ctgagaaaca 540
 ggacttatta acataaacta aacaccaaact gatctggcgg ctccgtcctg cctacgcagg 600
 caaggcgaag tttctgtota tatacgcgca cgattctcat cgatcttate gccttgtgat 660
 gatgatgatc atcatcatcc agtgtacaac ctcaaagcca taacgtcaga atattaagta 720
 gcattttagt gcttttcttt ctaataaaat catgatagtc cccaaaaaaa 770

<210> 14
 <211> 770
 <212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*
 <400> 14

5

atgcgtgagg aagaggagcg ctttctaca aaggtttate acattgtgga cgaggatgaa 60
 agcgaacaag acatcgaagt agaccaagca cgtgaccggg agataatcca tttgaaggag 120
 cgcgatagtg atgaatattc attacttgtc ttcgatttca agcagaatct cggagccatt 180
 tacgacgatc ttaccggatc gtgttacgtc atgggtggcc ttgacagcag tctgccagac 240
 agcgtacata tacagcgatt gcttgaaagc aagactgatg gcaatgacat cgtgaaggaa 300
 ctogactaca ccgtcaactc tgaacgtcca ctgagagatc tgagcctgat tccagccgag 360
 ctccagacgt tgtgttgggg aaaacctgcc ttctggatca gtaagactct aaccgaagac 420
 aaaggttctc atcgtcagaa gagaggttgt tacacacggt gttggaaagt tggtaggaac 480
 ggacgtgttt gtatgcgtgt ttgtacataa ctcaactgct tcatttcaact gagaacagg 540
 acttattaac ataaactaaa caccaaactga tctggcggct ccgtcctgcc tacgcaggca 600
 aggcgaagtt tctgtctata tacgcgcaag attctcatcg atcttatcgc cttgtgatga 660
 tgatgatcat catcatccag tgtacaacct caaagccata acgtcagaat attaagtagc 720
 atttgtaggg ttttctttct aataaaatca tgatagtttc ctgaaaaaaa 770

10

<210> 15
 <211> 757

ES 2 536 238 T3

<212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*

<400> 15

5

```

gcaacgcgca gcatacttgc attgaacccc tgatgcgtga ggaagaggag cgctttccta      60
caaaggttta tcacattgtg gacgaggatg aaagcgaaca agacatcgaa gtagacgagg      120

cacgtgaccg ggagataatc catttgaagg agcgcgatag tgatgaatat tcattacttg      180
tcttgcgattt caagcagaat ctccggagcca tttacgacga tcttaccgga tcgtgttacg      240
tcatgggtgg ccttgacagc agtctgccag acagcgtaca tatacagcga ttgcttgaaa      300
gcaagactga tggcaatgac atcgtgaagg aactcgcacta caccgtcaac tctgaacgtc      360
cactgagaga tctgagcctg attccagccg agctccagac gttgtgttgg ggaaaacctg      420
ccttctggat cagtaagact ctaaccgaag acaaaggttc tcatcgtcag aagagaggtt      480
gttacacaacg ttgttggaag gttggttaga acggacgtgt ttgtatgogt gtttgtacat      540
aactcacctg cttcatttca ctgagaaaca ggacttatta acataaacta aacaccaaact      600
gatctggcgg ctccgtcctg cctacgcagc caaggcgaag tttctgtcta tatacgcgca      660
cgattctcat cgatcttacc gccttgtgat gatgatgatc atcatcatcc agtgtacaac      720
ctcaaagcca taacgtctag aatattaagt agcattt      757
  
```

<210> 16
 <211> 730
 <212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*

10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (142)..(142)
 <223> n es a, c, g o t

15

<400> 16

tcacattgtg gacgaggatg aaagcgaaca agacatcgaa gtagaccaag cacgtgaccg 60
 ggagataatc catttgaagg agcgcgatag tgatgaatat tcattacttg tottcgattt 120
 caagcagaat ctccggagcca tntacgacga tottaccgga tctgtttacg tcatgggtgg 180
 ccttgacagc agtctgccag acagcgtaca tatacagcga ttgcttgaaa gcaagactga 240
 tggcaatgac atcgtgaagg aactcgacta caccgccaac tctgaacgtc cactgagaga 300
 tctgagcctg attccagccg agctccagac gttgtgttgg ggaaaacctg ccttctggat 360
 cagtaagact ctaaccgaag acaaaggttc tcatcgtcag aagagagggt gttacacacg 420
 ttgttgaaa gttggttagga acggacgtgt ttgtatgctg gtttgtacat aactcacctg 480
 cttcatttca ctgagaaaca ggacttatta acataaacta aacaccaaact gatctggcgg 540
 ctccgtcctg cctacgcagg caaggcgaag tttctgtcta tatacgcgca cgattctcat 600
 cgatcttacc gccttctgat gatgatgac atcatcatcc agtgtacaac ctcaaagcca 660
 taacgtcaga atattaagta gcattttagt gcttttcttt ctaataaaat catgatagtt 720
 tccaaaaaaa 730

5 <210> 17
 <211> 652
 <212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*

<400> 17

ggagcgcgat agtgatgaat attcattact tgtcttcgat ttcaagcaga atctcggagc 60
 catttacgac gatottaccg gatcgtgta cgtcatgggt ggccctgaca gcagtctgcc 120
 agacagcgta catatacagc gattgcttga aagcaagact gatggcaatg acatcgtgaa 180
 ggaactcgac tacacogtca actctgaaag tccactgaga gatctgagcc tgattccagc 240
 cgagctccag acgttctggt ggggaaaacc tgccttctgg atcagtaaga ctctaaccga 300
 agacaaaggc tctcatcgtc agaagagagg ttgttacaca cgttcttggg aagttggtag 360
 gaacggacgt gtttctatgc gtgtttgtac ataactcacc tgcttcattt cactgagaaa 420
 caggacttat taacataaac taaacaccaa atgatctggc ggctccgtcc tgcctacgca 480
 ggcaaggcga agtttctgtc tatatacgcg cacgattctc atcgatctta tgccttctg 540
 atgatgatga tcatcatcat ccagtgtaaca acctcaaagc cataacgtca gaatattaag 600
 tagcatttgt aggcctttct ttctaataaa atcatgatag tttccaaaa aa 652

10
 15 <210> 18
 <211> 602
 <212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*

<400> 18

ES 2 536 238 T3

gccatttacg acgatcttac cggatcgtgt tacgtcatgg gtggccttga cagcagtctg 60
ccagacagcg tacatataca gcgattgctt gaaagcaaga ctgatggcaa tgacatcgtg 120
aaggaactcg actacaccgt caactctgaa cgtccactga gagatctgag cctgattcca 180
gccgagctcc agacgttgtg ttggggaaaa cctgccttct ggatcagtaa gactctaacc 240
gaagacaaaag gttctcatcg tcagaagaga ggttgttaca cacgttgttg gaaagttggt 300
aggaacggac gtgtttgtat gcgtgttgt acataactca cctgcttcat ttcactgaga 360
aacaggactt attaacataa actaaacacc aaatgatctg gcggtccgt cctgcctacg 420
caggcaaggc gaagtttctg tctatatacg cgcacgattc tcatcgatct tatcgcttg 480
tgatgatgat gatcatcatc atccagtgta caacctcaaa gccataacgt ctagaatatt 540
aagtagcatt tgtaggcttt tctttctaataaaatcatga tagtttccaa gocttaaaaa 600
aa 602

5

<210> 19
<211> 715
<212> ADN
<213> *Alvinella pompejana*

<400> 19

ggaaagcgaa caagacatcg aagtagacca agcacgtgac cgggagataa tccatttgaa 60
ggagcgcgat agtgatgaat attcattact tgtcttcgat ttcaagcaga atotcggagc 120
catttaocgac gatcttaccg gatcgtgta cgtcatgggt ggccttgaca gcagtctgcc 180
agacagcgta catatacagc gattccttga aagcaagact gatggcaatg acatcgtgaa 240
ggaactcgac tacaccgtca actctgaacg tccactgaga gatctgagcc tgattccagc 300
cgagctccag acgttgtggt ggggaaaacc tgccttctgg atcagtaaga ctctaaccga 360
agacaaaggt tctcatcgtc agaagagagg ttgttacaca cgttgttga aagttggtag 420
gaacggacgt gtttgtatgc gtgtttgtac ataactcacc tgcttcattt cactgagaaa 480
caggacttat taacataaac taaacaccaa atgatctggc ggctccgtcc tgcctacgca 540
ggcaaggcga agtttctgtc tatatacggc cagcattctc atogatctta tgccttgtg 600
atgatgatga tcatcatcat ccagtgtaca acctcaaagc cataacgtca gaatattaag 660
tagcatttgt aggcttttct ttctaataaaa atcatgatag tttcccctaa aaaaa 715

10

<210> 20
<211> 709
<212> ADN
<213> *Alvinella pompejana*

15

<220>
<221> misc_feature
<222> (62)..(62)
<223> n es a, c, g o t

20

ES 2 536 238 T3

<400> 20

```

agacgatgaa accgaacaag acatcgaagt agacgaggca cgtgaccggg agataatcca      60
tntgaaggag cgcgatagtg atgaatattc attacttgtc ttcgatttca agcagaatct      120
cggagccatt tacgacgata ttaccggata gtgttacgtc atgggtggcc ttgacagcag      180
tctgccagac agcgtacata tacagcgatt gcttgaaagc aagactgatg acaatgacat      240
cgtgaaggaa ctcgattaca ccgtcaactc tgaacgtcca ctgagagatc tgagcctgat      300
tocagccgag ctccagacgt tgtgttgggg aaagcctgtc ttctggatca gtaagactct      360
aaccgaagac aaaggttctc atcgtcagaa gagaggttgt tacacacggt gttggaaagt      420
tggtaggaac ggacgtgttt gtatgogtgt ttgtacataa ctcacctgct tcatttcaact      480
gagaaacagg acttattaac ataaactaaa caccaaatga tctggcggct ccgtcctago      540
cttccccagc aaggcgaagt tcctgtctat atacggccac ggttctcctc gatcttatcg      600
ccttgtgatg atgatgatcc agtgaacaac ctcaaagcca tagtctagaa tattaagtag      660
catttgtagg cttttctttc taataaaatc gtaatagttt ccaaaaaaa      709

```

5 <210> 21
 <211> 754
 <212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (54)..(54)
 <223> n es a, c, g o t

15 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (143)..(143)
 <223> n es a, c, g o t

20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (166)..(166)
 <223> n es a, c, g o t

25 <400> 21

ggagcgcgtt ctacaaaagg tttatcacat tgtggaogat gatgaaacga acanagacat 60
 cgaagtagac caagcacgtg accgggagat aatccatttg aaggagcgcg atagtgatga 120
 atattcatta cttgtcttcg atntcaagca gaatctcoga gccatntacg acgatcttac 180
 cggatcgtgt tacgtcatgg gtggccttga cagtagtttg ccagacagtg tacatataca 240
 gcaattgctt gaaaacaaga ctgatggcaa tgacatcgtg aaggaactcg attacaccgt 300
 caactctgaa cgtccactga gagatctgag cctgattcca gccgagctcc agacgttctg 360
 ttggggaaag cctgtcttct ggatcagtaa gactctaacc gaagacaaag gttttcatcg 420
 tcagaagaga ggttggtaca cacgttggtg gaaagttggt aggaacggac gtggttgtat 480
 gogtgttgt acataactca cctgcttcat ttcactgaga aacaggactt attaacataa 540
 actaaacacc aaatgatctg gcggtccgt cctgcctacg caggcaaggc gaagttcctg 600
 tctatatacg cgcacgattc tcatcgatct tatcgccttg tgatgatgat gatcatcatc 660
 atccagtgtc caacctcaa gccataacgt cagaatatta agtagcattt gtaggctttt 720
 ctttctaata aatcgtgat agtttccaaa aaaa 754

<210> 22
 <211> 761
 <212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*

5

<400> 22

aaggagcgcct ttcctacaaa ggtttatcac attgtggagc atgatgaaac cgaacaagac 60
 atcgaagtag accaagcacg tgaccgggag ataatccatt cgaaggagcg cgatagtgat 120
 gaatattcat tacttgtott cgatttcaag cagaatctcg gagccattta cgacgatctt 180
 accggatcgt gttacgtcat ggggtgcctt gacagtagtt tgccagacag tgtacatata 240
 cagcaattgc ttgaaaacaa gactgatggc aatgacatcg tgaaggaact cgattacacc 300
 gtcaactctg aacgtccact gagagatctg agcctgattc cagccgagct ccagacgttg 360
 tgttggggaa agcctgtott ctggatcagt aagactctaa ccgaagacaa aggttttcat 420
 cgtcagaaga gaggttgta cacacgttgt tggaaagttg gtaggaacgg acgtgtttgt 480
 atgogtgttt gtacataact cacctgcttc atttactga gaaacaggac ttattaacat 540
 aaactaaaca ccaaatgato tggcgcctcc gtcctgcta cgcaggcaag gcgaagttcc 600
 tgtctatata cgcgcacgat tctcatcgat cttatgcct tgtgatgatg atgatcatca 660
 tcatccagtg tacaacctca aagccataac gtcagaatat taagtagcat ttgtaggctt 720
 ttctttctaa taaaatcgtg atagtttccg ggctaataaaa a 761

10

<210> 23
 <211> 743
 <212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*

15

<400> 23

```

aaggtttatc acattgtgga cgatgatgaa accgaacaag acatcgaagt agaccaagca      60
cgtgaccggg agataatoca tttgaaggag cgcgatagtg atgaatattc attacttgtc      120
ttcgatttca agcagaatct cggagccatt taogacgata ttaccggatc gtgttacgtc      180
atgggtggcc ttgacagtag tttgccagac agtgtacata tacagcaatt gcttgaaaac      240
aagactgatg gcaatgacat cgtgaaggaa ctogattaca cagtcaactc tgaacgtcca      300
ctgagagatc tgagcctgat tccagccgag ctccagacgt tgtgttgggg aaagcctgtc      360
ttctggatca gtaagactct aaccgaagac aaaggttttc atcgtcagaa gagaggttgt      420
tacacacggt gttggaaagt tggtaggaac ggacgtgttt gtatgogtgt ttgtacataa      480
ctcacctgct tcatttcact gagaaacagg acttattaac ataaactaaa caccaaatga      540
tctggcggct ccgtcctgcc tacgcaggca aggccaagtt cctgtctata tacgcgcacg      600
attctcatcg atcttatogc cttgtgatga tgatgatcat catcatccag tgtacaacct      660
caaagccata acgtcagaat attaagtagc atttgtaggc ttttctttct aataaaatcg      720
tgatagtttc cgggctaaaa aaa                                     743

```

5

<210> 24
 <211> 704
 <212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*

10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (112)..(112)
 <223> n e s a , c , g o t

15

<400> 24

```

gacatogaag tagacgaggc acgtgaccog ggagataatc ctttgaagg agcgcgatag      60
tgatgaatat tcattacttg tcttcgattt caagcagaat ctgggagcca tntacgacga      120
tcttacogga tcgtgttacg tcatgggtgg ccttgacagc agtctgccag acagcgtaca      180
tatacagcga ttgcttgaaa gcaagactga tggcaatgac atcgtgaagg aactcgacta      240
cacctgcaac tctgaacgtc cactgagaga tctgagcctg attccagccg agctccagac      300
gttgtgttgg ggaaaacctg ctttctggat cagtaagact ctaaccgaag acaaaggttc      360
tcatcgtcag aagagaggtt gttacacacg ttgttgaaa gttggttagga acggacgtgt      420
ttgtatgcgt gtttgtacat aactcacctg cttcatttca ctgagaaaca ggacttatta      480
acataaacta aacaccaaact gatctggcgg ctccgtcctg cctacgcagg caaggcgaag      540
tttctgtcta tatacgcgca cgattctcat cgatcttata gccttgtgat gatgatgatc      600
atcatcatcc agtgtacaac ctcaaagcca taacgtctag aatattaagt agcatttcta      660
ggcttttctt tctaataaaa tcatgatagt ttccgctaaa aaaa                                     704

```


ES 2 536 238 T3

5 <210> 25
 <211> 776
 <212> ADN
 <213> *Alvinella pompejana*

10 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> n es a, c, g o t

<400> 25

```

    agtntatggt aataagtcca gtttctcagt gaaatgaagc aggtgagtta tgtacaaaca      60
    cgcatacaaa cacgtccggt cctaccaact gtccaacaac gtgtgtaaca acctctcttc      120
    tgacgatgaa aacctttgtc ttcggttaga gtcttactga tccagaagac aggctttccc      180
    caacacaacg tttggagctc ggctggaatc aggctcagat ctctcagtgg acgttcagag      240
    ttgacgggtg aatcgagttc cttcacgatg tcattgccat cagtcttggt ttcaagcaat      300
    tgccgtatat gtacactgtc tggcaaaact ctgtcaaggc caccatgac gtaacaogat      360
    ccggtaaagat cgtcgtaaat ggctccgaga ttctgcttga aatcgaagac aagtaatgaa      420
    tattcatcac tatcgcgctc cttcaaatgg attatctccc ggtcacgtgc ttggtotact      480
    tcgatgtcct gttcggtttc atcatcgtcc acaatgtgat aaacctttgt aggaaagcgc      540
    tcctcttctt cacgcatcag gggttcaatc gaagtatgcg ggcggttgcg ttctgcagct      600
    gccgttccat atgcagaact ccgaagacga caagaaacac taggaccagc gtcacaacta      660
    cagaatacgt catcagtccc catgacatca tggtcgtctt ctgcgacttg gttacaagac      720
    cttctttgtc gtaagggtgcc ggcgtacagt ccattgcctc tgcttgtctc tcagca      776
  
```

15

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Un péptido que comprende o consiste en la SEC ID N° 1, o un péptido que deriva de la SEC ID N° 1, que tiene dicho péptido una identidad al menos del 80% con los aminoácidos 1 a 22 de la SEC ID N° 1, y que tiene una actividad antimicrobiana, antivírica o fungicida, con la condición de que el péptido mencionado anteriormente no consista en las SEC ID N°s 2 a 5.
- 2.** Un péptido de acuerdo con la reivindicación 1, que consiste en la SEC ID N° 6.
- 10 **3.** Un péptido de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, **que se caracteriza porque** se aísla y purifica de *Alvinella pompejana*.
- 4.** Una molécula aislada de ácido nucleico que codifica un péptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en particular la molécula de ácido nucleico de la SEC ID N° 7, con la condición de que no consista en las SEC ID N°s 8 a 25.
- 15 **5.** Una construcción de ácido nucleico recombinante que comprende la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 4 unida operativamente a un vector de expresión.
- 20 **6.** Una célula huésped que comprende la construcción de ácido nucleico recombinante de la reivindicación 5.
- 7.** Un péptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para su uso como fármacos, en particular como un agente antimicrobiano, antivírico y/o fungicida.
- 25 **8.** Una composición que comprende al menos un péptido de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 3.
- 9.** La composición de acuerdo con la reivindicación 8, para su uso como un agente antibacteriano contra bacterias Gram-negativas y/o Gram-positivas.
- 30 **10.** La composición de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, para su uso en acuicultura.
- 11.** Una composición farmacéutica que comprende al menos un péptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en asociación con un vehículo farmacéutico aceptable.
- 35 **12.** La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 11, que comprende además al menos otro agente antimicrobiano que se selecciona de entre los siguientes:
- tetraciclinas, tales como la oxitetraciclina o clortetraciclina;
 - quinolonas, tales como ácido oxolínico, flumequina o sarafloxacin;

40 - sulfamidas, opcionalmente potenciadas con trimetoprim u ormetoprim;

 - nitrofuranos, tales como la furazolidona;
 - macrólidos, tales como la eritromicina;
 - florfenicol;
 - cloranfenicol.
- 45 **13.** La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 12, para su uso en terapia antibiótica animal y/o humana.
- 50 **14.** Una composición dietética, en particular un suplemento alimentario que contiene además uno o más ingredientes nutritivos, que comprende una composición de acuerdo con la reivindicación 8 o 9.
- 15.** La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 14, en la que dichos péptidos están encapsulados, en particular nanoencapsulados.
- 55 **16.** Un desinfectante que comprende una composición de acuerdo con la reivindicación 8.

FIGURA 1

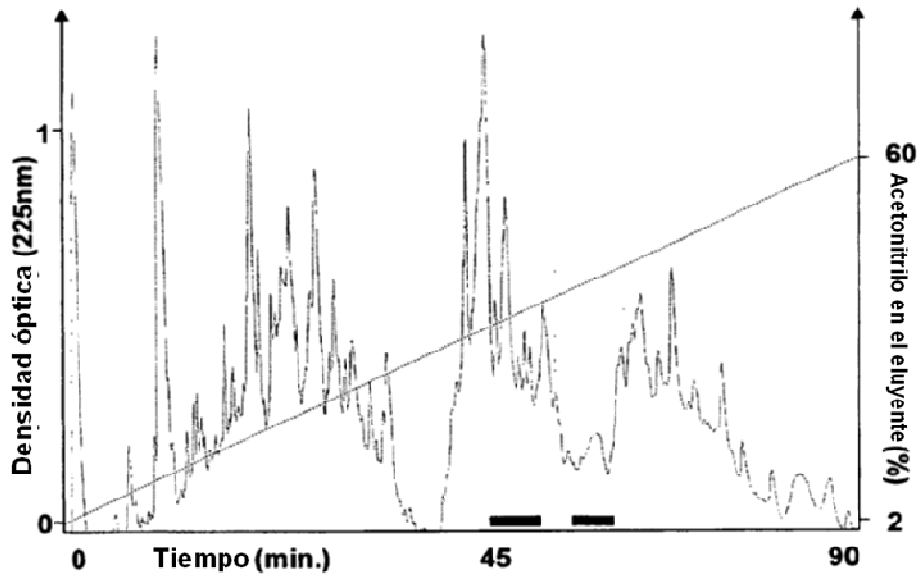


FIGURA 2

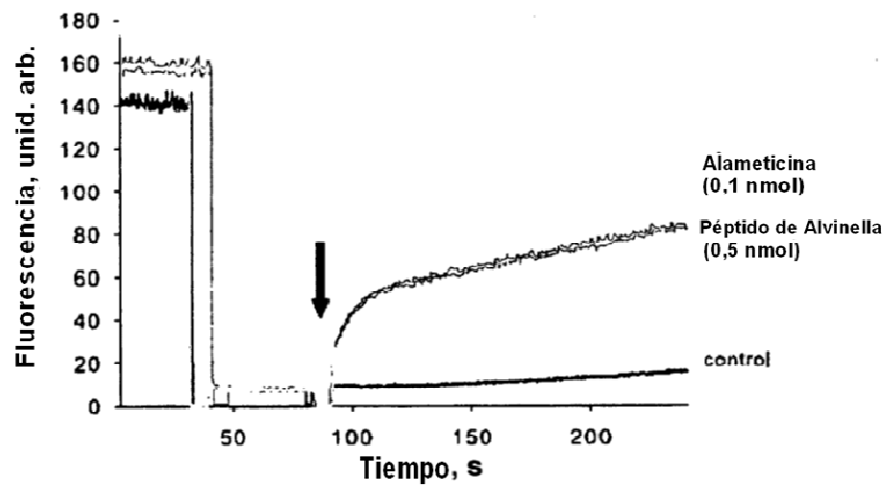


FIGURA 3

