

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 582 207**

51 Int. Cl.:

**A01N 63/02** (2006.01)

**A01N 37/46** (2006.01)

**C07K 14/435** (2006.01)

**A61K 38/17** (2006.01)

**A01P 7/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.09.2009 E 09793063 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.04.2016 EP 2334177**

54 Título: **Formulación de toxina peptídica**

30 Prioridad:

**01.10.2008 US 101825 P**

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

**09.09.2016**

73 Titular/es:

**VESTARON CORPORATION (100.0%)  
4717 Campus Drive Suite 1200  
Kalamazoo, MI 49008, US**

72 Inventor/es:

**TEDFORD, WILLIAM;  
MC INTYRE, JOHN;  
RUSSELL, DANIEL HOPKINS y  
CARLSON, PETER**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 582 207 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

Formulación de toxina peptídica

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al campo de las formulaciones de péptidos insecticidas.

10 **Antecedentes**

10

Los péptidos insecticidas son tóxicos para sus dianas cuando se suministran internamente, pero a veces tienen poca o ninguna actividad tóxica. La actividad insecticida tóxica se refiere a la capacidad de la toxina para inhibir el crecimiento, alterar el movimiento o incluso matar a un insecto cuando la toxina se suministra al insecto o al entorno del insecto por pulverización, u otros medios, al contrario del suministro de la toxina directamente al intestino u

15

órganos internos del insecto por inyección o induciendo al insecto a consumir la toxina en su alimento, por ejemplo, un insecto que se alimenta en una planta transgénica.

20

La capacidad para aumentar satisfactoriamente o incluso cambiar las propiedades de los péptidos con disolventes, ha sido, hasta ahora, difícil de conseguir. La amplia variedad, propiedades únicas y naturaleza especial de los péptidos, en combinación con la enorme variedad de disolventes posibles entre los que se puede escoger, ha producido solamente unos pocos métodos que se han descrito para el aumento de unos pocos péptidos seleccionados, en los últimos 50 años o así. Existen varios textos sobre esta materia. Véase, por ejemplo, *Principles of Dairy Chemistry* Jenness y Patton (1959) pp. 115-117, 127, 317, 326-328, 333.

25

Se han hecho intentos para aumentar la actividad de unos cuantos péptidos mediante purificación y extracción. Por ejemplo, en el documento US No. 5.840.838, Hensley, se describe un procedimiento para aumentar la actividad del péptido  $\beta$  amiloide, un resto peptídico de 39-43, con un proceso que implica la disolución del péptido en un disolvente orgánico, incubándolo durante 45 minutos a 3 horas por encima de la temperatura ambiente, equilibrándolo a la temperatura ambiente y luego retirando el disolvente.

30

El documento US No. 4.530.784, Rosenberg, se refiere a un método para extraer un factor biológicamente activo que restaura la inhibición del crecimiento por contacto en células malignas en mamíferos mezclando medios especialmente preparados con un agente de precipitación volátil no desnaturizante. El precipitado formado en esta reacción se separa de la formulación y se extrae con un agente tamponante iónico biológicamente aceptable.

35

El documento US No. 4.337.194, Diaz, es un proceso para preparar somatostatina utilizando una reacción de acoplamiento gradual de un péptido en solución de DMF. El producto de la reacción se aísla por evaporación o por precipitación con un segundo disolvente que hace que la somatostatina sea insoluble, después se purifica el péptido bruto que se obtiene.

40

De Dianous et al. ("The effect of the mode of application on the toxicity of *Androctonus australis hector* insect toxin", *Pesticide Science*, Volumen 23, Edición 1, páginas 35-40, 1988) describe el ensayo de toxicidad de la toxina para insectos del veneno del escorpión *Androctonus australis Hector* (AaH IT) utilizando varios métodos de aplicación en varias especies de insectos. Se ensayaron tres disolventes diferentes: etanol y agua (50 + 50 por volumen), acetona y agua (80 + 20 por volumen) y acetona y dimetilsulfóxido (50+50 por volumen). Cuando se utilizaba acetona y agua o acetona y dimetilsulfóxido, se informa que la  $DL_{50}$  había sido de  $1 \mu\text{g } 100 \text{ mg}^{-1}$  de mosca.

45

Tedford et al. ("Functional Significance of the  $\beta$ -Hairpin in the Insecticidal Neurotoxin  $\omega$ -Atracotoxin-Hv1a", *JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*, vol. 276, no. 28, páginas 26568-26576, 2001) describe el análisis funcional de la neurotoxina insecticida  $\omega$ -Atracotoxin-Hv1a de la araña tela de embudo australiana e informan de la importancia funcional de las características estructurales específicas del péptido, por ejemplo, como la región de vuelta de la horquilla.

50

Sin embargo, hay pocas, si hay, descripciones de métodos para convertir un péptido que tenga una actividad insecticida tóxica baja en uno que tenga una actividad insecticida tóxica significativamente mayor.

55

El procedimiento descrito en el presente documento aumenta la toxicidad insecticida tóxica de péptidos insecticidas. A veces se hace referencia a los péptidos que se tratan de esta manera como "péptidos tóxicos aumentados". El proceso descrito en el presente documento para producir péptidos tóxicos aumentados a veces se llama hacer los péptidos "especiales". El proceso de hacer los péptidos especiales hace los que péptidos sean más activos que antes de que se trataran con el proceso o el tratamiento descrito en el presente documento. Una vez que los péptidos se han hecho especiales se pueden aplicar tópicamente al insecto, el entorno del insecto, a los lugares donde habita, su hábitat y el alimento que toca, come o consume; con el fin de controlar al insecto, más que tener que modificar el péptido en el genoma de una planta adecuada u otro alimento. Se describe en el presente documento, tanto el nuevo proceso, como las formulaciones y los nuevos péptidos tóxicos aumentados producidos por el procedimiento.

60

65

## Sumario de la invención

La invención se refiere a una formulación peptídica que comprende:

- 5 a) un péptido que se selecciona de entre cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, o SEQ ID NO: 119;
- 10 b) un disolvente orgánico polar que se selecciona de entre acetona, metanol, etanol, propanol y todos sus isómeros, metiletilcetona, dietilcetona, y etilacetoacetato;
- 15 c) un disolvente aprótico polar que se selecciona de entre: dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida, dioxano y hexametilfosforotriamida;
- d) en el que dicho disolvente orgánico polar comprende de un 70 a un 99 por ciento ( %) del volumen final de la formulación;
- e) en el que dicho disolvente aprótico polar o adyuvante comprende desde aproximadamente un 30, a aproximadamente un 1 por ciento ( %) del volumen final de la suspensión;
- 20 f) una fase acuosa opcional, en la que dicha fase acuosa comprende desde un 0 (cero), a aproximadamente un 10 por ciento ( %) del volumen final de la suspensión.

La invención también incluye un proceso para el control de un insecto con la formulación peptídica descrita anteriormente, en la que la formulación peptídica se aplica en el entorno del insecto.

25 Además, la invención proporciona un péptido que comprende el de SEQ. ID. NO. 117, un péptido que comprende el de SEQ. ID. NO. 118 y un péptido que comprende el de SEQ. ID. NO. 119.

30 También se describen en el presente documento procedimientos que utilizan disolventes para aumentar la toxicidad de los péptidos tóxicos para insectos. Los procedimientos implican la preparación de los péptidos secando los péptidos, si es necesario, seguido por la adición de: o bien 1) un disolvente orgánico polar, con o sin agua a un péptido secado, o 2) un disolvente aprótico polar u otro adyuvante al péptido secado, seguido por la adición de: o bien 1) un disolvente orgánico polar, con o sin agua, (en el que se añade primero el disolvente aprótico polar) o 2) un disolvente aprótico polar u otro adyuvante al disolvente orgánico polar (en el que el disolvente orgánico polar se añade primero), a la formulación peptídica.

40 Los procedimientos también se pueden describir de la siguiente manera: Un método para aumentar la actividad insecticida tóxica de un péptido tóxico para insectos, al que se llama en el presente documento hacer especial al péptido, que comprende: añadir o bien i) un disolvente orgánico polar o ii) un disolvente aprótico polar o adyuvante al péptido y luego añadir o bien i) un disolvente orgánico polar o ii) un disolvente aprótico polar o adyuvante, que sea el no se añadió inicialmente a la formulación peptídica anterior.

45 Se describe en el presente documento un método en el que el disolvente orgánico polar comprende de aproximadamente de un 50, a aproximadamente un 99,9 por ciento ( %) del volumen final de la formulación. Se describe específicamente el método en el que el disolvente orgánico polar comprende desde aproximadamente un 60, 70, 85, 90 a aproximadamente un 99,0 por ciento ( %) del volumen final de la formulación. Se describe el método en el que el disolvente orgánico polar comprende de aproximadamente un 70 a aproximadamente un 99,0 por ciento ( %) del volumen final de la formulación. Se describe específicamente el método en el que el disolvente orgánico comprende de aproximadamente 60, 70, 80, 85, 90, a aproximadamente un 99,0 por ciento ( %) del volumen final de la formulación. El disolvente orgánico polar se puede seleccionar de entre acetona, metanol, etanol, propanol, y todos sus isómeros, metiletilcetona, dietilcetona, acetonitrilo, etilacetoacetato. Los disolventes orgánicos polares que se seleccionan de entre acetona, metanol, etanol, propanol y todos sus isómeros son especialmente útiles.

55 El disolvente aprótico polar o adyuvante comprenderá de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 0,01 %, del volumen final de la formulación. Específicamente, el disolvente aprótico polar o adyuvante, comprende de aproximadamente un 15 % a aproximadamente un 0,005 %, desde aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 0,01 %, desde aproximadamente un 8 % a aproximadamente un 0,1 %, desde aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 0,1 % del volumen final de la formulación. El disolvente aprótico polar o adyuvante se selecciona de entre dimetilsulfóxido, dimetilformamida, dioxano y hexametilfosforotriamida. Se ejemplifica el dimetilsulfóxido, también conocido como DMSO.

65 Los péptidos tóxicos para insectos son preferentemente los que tienen a) más de 10 restos de aminoácidos y menos de 3000 restos de aminoácido; b) un peso molecular desde aproximadamente 550 Da a aproximadamente 350.000 Da; y c) tienen actividad insecticida. Los péptidos pueden tener opcionalmente de 1 a 5 enlaces disulfuro. La actividad insecticida de los péptidos opcionalmente son péptidos que tienen una actividad tóxica en al menos un ensayo de insecticida tóxico reproducible. Los péptidos tóxicos para insectos se pueden seleccionar de entre el

veneno de una araña, acaro, escorpión, serpiente, caracol, ciertas plantas o cualquier combinación de los mismos. La araña puede ser una araña de tela de embudo australiana, y los péptidos de los géneros *Atrax* o *Hadronyche* se hacen especiales fácilmente utilizando los procedimientos descritos en el presente documento. Los péptidos específicos de las arañas, escorpiones y plantas se proporcionan en el listado de secuencias.

5 También se describen en el presente documento formulaciones de péptidos tóxicos especiales que comprenden: a) un péptido, b) un disolvente orgánico polar; c) un disolvente aprótico polar o adyuvante; d) en el que dicho disolvente orgánico polar comprende de aproximadamente un 80 a aproximadamente un 99 por ciento ( %) del volumen final de la formulación; e) en el que dicho disolvente aprótico polar o adyuvante comprende de aproximadamente un 1 a  
10 aproximadamente un 10 por ciento ( %) del volumen final de la suspensión; y f) una fase acuosa opcional, en la que dicha fase acuosa comprende de un 0 (cero) a aproximadamente un 10 por ciento ( %) del volumen final de la suspensión.

15 Los péptidos que se hacen especiales por el proceso de la presente invención son nuevos. Estos péptidos se describen por todas sus propiedades y no simplemente por su secuencia. Para la mayor parte de los péptidos que se pueden hacer especiales, como se describen en el presente documento, la información de secuencia peptídica es conocida; sin embargo, una vez tratados los mismos péptidos tendrán una mayor actividad tóxica. Estos péptidos que se han hecho especiales son nuevos con propiedades únicas, tanto los péptidos como el proceso para hacerlos se describen en el presente documento.

20 También se describen métodos para controlar insectos, en particular las aplicaciones de los péptidos tóxicos especiales o las formulaciones de péptidos tóxicos especiales que se aplican en el entorno del insecto. El péptido tóxico especial se puede aplicar como una formulación seca o líquida. La formulación puede incluir agentes humectantes y dispersantes, tensioactivos y otros componentes comunes de las formulaciones peptídicas  
25 insecticidas. También se describen péptidos tóxicos especiales producidos como el producto de cualquiera de los procesos descritos en el presente documento. Los procesos descritos en el presente documento se pueden utilizar con cualquier péptido. Los siguientes péptidos se mencionan a modo de ejemplos específicos y no pretenden limitar la variación, tipo o número de péptidos que pueden hacerse especiales utilizando este proceso.

### 30 Descripción detallada de la invención

#### Definiciones

35 "Principio activo" significa un péptido o polipéptido, a veces se llama toxina en el presente documento.

"Actividad insecticida", "control de insectos" o "controlar el insecto" significa que al exponerse o tras la exposición del insecto al principio activo, el insecto muere, detiene o enlentece su movimiento o su alimentación, se detiene o enlentece su crecimiento, no puede formar una pupa, no se puede reproducir o no puede producir una descendencia fértil.

40 "Entorno del insecto" significa cualquier lugar o superficie que está o estará expuesta a un insecto. El entorno del insecto incluye los lugares donde habita, su hábitat y el alimento que toca, come o consume.

45 "Péptido tóxico para un insecto" significa un péptido que tiene actividad insecticida cuando es ingerido o inyectado a un insecto pero que tiene poca, baja o ninguna actividad insecticida tóxica.

"Péptido hecho especial" significa lo mismo que "péptido tóxico especial" posteriormente.

50 "Disolventes apróticos polares" son disolventes orgánicos que tienen potencia de disolución iónica pero carecen de hidrógeno ácido. Un disolvente aprótico polar no puede donar hidrógeno ( $H^+$  o protón). Estos disolventes en general tienen constantes dieléctricas altas y alta polaridad. Ejemplos adicionales que se deberían considerar representativos son: dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida, dioxano, hexametilfosforotriamida y metilsulfóxido (MSO®). Adyuvantes como disolventes apróticos polares. Ciertos adyuvantes pueden ser también disolventes apróticos polares. Las mezclas de aceites con tensioactivos a los que se hace referencia comúnmente como  
55 adyuvantes son otros ejemplos de disolventes apróticos polares. Los aceites cosechados en combinación con tensioactivos también pueden actuar como disolventes apróticos polares. Ejemplos tales como Agicide Activator®, Herbimax®, Maximizer®, y MSO® todos disponibles en Loveland Company sirven para mostrar los adyuvantes comerciales que pueden actuar como disolventes apróticos polares como se define el término en la presente invención. El MSO® es un aceite de semillas metilado y mezclado con un tensioactivo que utiliza metil ésteres del  
60 aceite de soja en cantidades de entre aproximadamente un 80 y un 85 por ciento de aceite de petróleo con un 15 a 20 por ciento de tensioactivo. El uso y las descripciones del MSO® que se utiliza como disolvente aprótico polar se pueden encontrar en el Ejemplo 7.

65 "Disolventes orgánicos polares" son disolventes orgánicos con momentos dipolares suficientes para conferir una constante dieléctrica de 15 o mayor, siendo un ejemplo la acetona. Otros ejemplos de disolventes orgánicos polares incluyen compuestos con un  $H^+$  dissociable, tal como alquil alcoholes inferiores. Ejemplos adicionales que se

deberían considerar representativos son los siguientes: acetona, metanol, etanol, propanol, todos los isómeros del propanol que incluyen 1- y 2-propanol (n- e iso-propanol, respectivamente). Otros disolventes orgánicos polares que pueden utilizarse satisfactoriamente como parte de la presente formulación pueden determinarlos los expertos en la técnica; pueden incluir metiletilcetona, dietilcetona, acetonitrilo, etilacetoacetato, etc.

5 “Péptido tóxico especial” significa un péptido que previamente tenía una baja actividad insecticida tóxica que tiene una actividad insecticida tóxica relativamente mayor debido a los procedimientos descritos en el presente documento que se utilizaron para aumentar la actividad tóxica de los péptidos.

10 “Actividad tóxica” o “actividad insecticida tóxica” significan la actividad insecticida que resulta de la exposición o contacto de las capas externas del insecto, con el péptido insecticida. La actividad tóxica puede resultar de la exposición o el contacto entre un material tratado o superficie y la parte externa del insecto, tal como sus pies, el abdomen, antenas, boca. La actividad tóxica puede resultar del acicalado de las partes externas del insecto tras la ingestión de la toxina. El tratamiento de cualquier material o superficie con insecticida o toxina que entra en contacto con el insecto con la actividad insecticida resultante se considera una actividad tóxica.

15 “Aplicación tóxica” significa la aplicación del principio activo en el entorno del insecto, o el insecto en sí mismo. El entorno de un insecto se puede tratar con una “aplicación tóxica” de cualquier manera incluyendo: pulverización, pintura, cebos, impregnación de materiales, tal como tratando papel y otros objetos que se colocan en el mismo área donde se espera o se sabe que el insecto visita o frecuenta. La aplicación tóxica puede significar también el contacto directo con el insecto y el insecticida.

#### El proceso para hacer especial

25 Descripción del proceso para hacer péptidos especiales.

Se añade un disolvente orgánico polar, con o sin agua, a un péptido seco y luego se añade un disolvente aprótico polar u otro adyuvante a la formulación del péptido con disolvente orgánico polar (opcionalmente con agua), o de manera alternativa primero se añade un disolvente aprótico polar u otro adyuvante a un péptido seco y luego se añade un disolvente orgánico polar (con o sin agua) a la formulación del péptido y el disolvente aprótico polar. Tratamientos adicionales y pretratamientos de las formulaciones de péptidos y disolventes son opcionales y se tratan posteriormente.

30 Los péptidos hechos especiales se utilizan entonces como se desee según su efecto. La aplicación y uso de los péptidos hechos especiales pueden ser por cualquier medio, sea convencional o como sea determinado eficaz por un facultativo que sea un experto en la técnica, incluyendo: pulverizando por medio de un atomizador u otro tipo de boquilla pulverizadora, aplicación directa e indirecta de gotas de la formulación, aplicación el resto seco de la formulación sobre cualquier superficie corporal del insecto seleccionado, inmersión del insecto seleccionado en un baño, etc.

40 El péptido se hace especial al completar la adición del disolvente orgánico polar y el disolvente aprótico polar u otro adyuvante, con los disolventes añadidos en cualquier orden. Es mejor comenzar con un péptido que está en un entorno no acuoso. El orden de adición de disolventes será determinado por un facultativo experto en la técnica de la formulación insecticida, poniendo atención y considerando los péptidos en particular que se utilicen. Se pueden hacer numerosas variaciones en la manera en que se añaden los disolventes y deberían ser evidentes para un experto en la técnica. Algunas variaciones y más detalles se proporcionan posteriormente.

50 Puede que sea necesaria la preparación del péptido eliminando el agua si los péptidos de partida están disueltos en agua. El procedimiento de hacer los péptidos especiales se puede practicar con péptidos que tengan tanto alta como baja solubilidad en agua. A menudo los péptidos se preparan en disolventes basados en agua o se expresan en entornos acuosos. Si el péptido que se va a hacer especial está en un entorno acuoso, la mayoría del agua debería eliminarse primero, es decir, el péptido debería secarse. Si el péptido ya está en un estado seco, entonces no es necesario el secado. La preparación de péptidos puede implicar la concentración, purificación, aislamiento o identificación de los péptidos y/o las cantidades o concentración del péptido en la muestra. Una vez que el péptido está en un estado, condición o concentración preferida, se debería “secar”. Un método para secar un péptido, o para extraerlo de un entorno acuoso, es liofilizar el péptido utilizando procedimientos de liofilización de péptidos tradicionales. Véase Protein Analysis and Purification 2ª Ed. Rosenberg 2005 pp 140. Otros métodos incluyen, secado por pulverización, evaporación por rotación, y centrifugación al vacío. El secado del péptido se debería de hacer de tal manera que los péptidos no se dañen o destruyan excesivamente. Se debe evitar un calor excesivo. Los expertos en la técnica sabrán y serán capaces de poner en práctica los procedimientos apropiados para secar el péptido.

60 Adición del disolvente orgánico polar al péptido seco. Una vez que se ha preparado el péptido con la mayoría del agua eliminada, está listo para mezclarlo con el disolvente orgánico polar o el disolvente aprótico polar o adyuvante. Los mejores resultados a veces se obtienen cuando se añade el disolvente orgánico polar al péptido seco antes de añadir el disolvente aprótico polar y el orden se describe posteriormente, pero con algunos péptidos en algunas

situaciones el disolvente aprótico polar se añade a un péptido seco seguida por la adición del disolvente orgánico polar.

#### El disolvente orgánico polar.

5 Se pueden utilizar muchos disolventes orgánicos polares, algunos parece que producen péptidos que tienen una mayor actividad tóxica que otros. Los inventores han descubierto que los siguientes disolventes orgánicos polares funcionan bien con este procedimiento para hacer péptidos especiales: acetona, metanol, etanol, propanol, todos los isómeros del propanol, que incluyen 1- y 2-, propanol (n- e iso- propanol, respectivamente). Otros disolventes orgánicos polares que se pueden utilizar satisfactoriamente como parte de esta formulación pueden determinarlos los expertos en la técnicas; estos pueden incluir metiletilcetona, dietilcetona, acetonitrilo, etilacetato, etc. La mezcla del péptido y el disolvente se pueden hacer por cualquier método de mezcla en laboratorio tales como mezclado removido, agitado, batido, etc.

15 Si se añade el disolvente orgánico polar al péptido secado antes del disolvente aprótico/adyuvante, entonces aquél (el disolvente orgánico polar) puede ser como mucho un 98 al 100 % del líquido de la formulación, y el péptido formará probablemente un precipitado en el disolvente. La formulación puede aparecer como una suspensión turbia o no transparente. Se debería mezclar vigorosamente. El disolvente orgánico polar puede tener algo de agua en el mismo, véase "Agua" posteriormente, pero el disolvente puro o seco también funciona bien. Las concentraciones finales óptimas de agua y de disolvente orgánico polar las pueden determinar para una formulación de un péptido tóxico especial particular los expertos en la técnica. Los inventores han formulado péptidos tóxicos especiales con disolventes orgánicos polares a concentraciones finales del 80 al 99 %. Concentraciones menores del 80 % también funcionarían con algunos péptidos. Los inventores describen específicamente disolventes orgánicos polares a concentraciones finales del 60, 70, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 y 99 % y con agua a concentraciones finales de agua del 0 % al 10 %, se describen en particular concentraciones finales de agua de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 %. Los expertos en la técnica serán capaces de utilizar satisfactoriamente valores fuera de estos intervalos de muestra en formulaciones particulares de péptidos tóxicos especiales particulares.

30 Sonicación. Una vez que el péptido es captado en el disolvente se puede sonicar o tratar de otra manera para aumentar adicionalmente su actividad tóxica. La sonicación puede separar las partículas de péptido en solución y reducir el tamaño de las partículas suspendidas. La sonicación u otros procedimientos para reducir el tamaño de la partícula parece que aumentan la toxicidad tóxica de los péptidos. Se pueden utilizar otros procedimientos que reducen el tamaño de las partículas, además de la sonicación, para aumentar la actividad tóxica. Varios procedimientos para reducir el tamaño de las partículas deberían ser conocidos para los familiarizados con la manipulación de péptidos. Sin estar limitados por cualquier procedimiento o mecanismo en particular, la utilización de mezclado, agitado o batido a alta velocidad con perlas de cristal puede ser útil también para aumentar la toxicidad de los péptidos tóxicos especiales.

40 Agua. Como se ha mencionado anteriormente, el disolvente orgánico polar no necesita ser puro o absoluto cuando se utiliza: puede contener agua. Además, este agua puede contener sales, moléculas orgánicas, péptidos, etc. El agua se puede añadir presumiblemente al péptido o bien antes de que se añada el disolvente orgánico polar a la formulación peptídica, o al mismo tiempo o tras la adición del disolvente orgánico polar. Se tiene que tener cuidado de no utilizar una concentración de agua demasiado alta, ya que los inventores han observado que esto puede reducir o eliminar la actividad de ciertas formulaciones de ciertos péptidos tóxicos especiales. El agua no tiene que ser pura, puede incluir varias proteínas tales como quitinasas, fosfolipasas, lectinas, etc., o sales, azúcares, carbohidratos, etc., con el fin de crear una solución final más útil y estable. De manera alternativa, la fase acuosa puede ser inicialmente agua pura, y luego se podrían añadir varias proteínas tales como quitinasas, fosfolipasas, lectinas, etc. a la fase acuosa después de que se mezcle con el disolvente orgánico polar y los péptidos.

#### 50 El disolvente aprótico polar

El disolvente aprótico polar o adyuvante se puede utilizar como el primer ingrediente que se añade al péptido secado o puede añadirse a la formulación con disolvente orgánico polar con el péptido (opcionalmente con agua) descrita anteriormente. Los expertos en la técnica pueden determinar si el disolvente aprótico polar o el disolvente orgánico polar debería ser el primer líquido que se añada al péptido secado con el fin de determinar la mejor manera para hacer especiales los péptidos. Esta determinación dependerá de las circunstancias de cada caso y en particular exactamente con el péptido tóxico para insectos que se utilice y la formulación final que se desee. Sin embargo, dichas variaciones se tienen que llevar a la práctica con cuidado, ya que los inventores han observado que en algunos casos la actividad insecticida más baja resultaba de si el disolvente aprótico polar se añadía al péptido antes del disolvente orgánico polar.

Los disolventes apróticos polares carecen de un hidrógeno ácido. Estos disolventes generalmente tienen constantes dieléctricas altas y alta polaridad. Ejemplos incluyen dimetilsulfóxido, dimetilformamida, dioxano, y hexametilfosforotriamida.

El adyuvante puede ser cualquier aceite y/o tensioactivo emulsionante formulado para aplicaciones agrícolas de pesticidas y especialmente péptidos. Estas formulaciones comerciales normalmente tienen aceites y tensioactivos emulsionantes formulados para "llevar y diseminar" los principios activos. Ejemplos incluyen: "Aero Dyneamic" de Helena Chemical Co. que es un aceite vegetal metilado o etilado, un tensioactivo no iónico y un agente tamponante o acidificante. Se describe adicionalmente como una "mezcla del propietario de ésteres de alquil fosfato etoxilado, polidimetilsiloxano modificado con polialqueno, emulsionantes no iónicos y aceites vegetales metilados. Para el uso aéreo solamente a 2,202-8,808 litros /378,57 litros (2-8 qt/100 gal) 30-70 por ciento. Proporciona una reducción del pH y tamponado, NIS y mezcla de aceites" Véase la etiqueta para las tasas. Otros ejemplos y fabricantes de adyuvantes se pueden encontrar en la Tabla 1.

Tabla 1 (a continuación): Tensioactivos Agroquímicos (Comienza en la página siguiente).

Tensioactivo/Adyuvante	Composición	Descripción Breve	Aplicación sugerida
LI 700 (Productos Loveland)	Fosfatidilcolina, ácido metilacético, y éter de alquil polioxietileno (80 %); Constituyentes ineficaces como adyuvantes de la pulverización (20 %)	Penetrante no iónico, poco espumante; ayuda a proporcionar una cubierta de pulverización uniforme y a acidificar las soluciones de pulverización	0,2267-0,68038 kg/ 378,54 litros (8-24 oz/100 galones) (solución al 0,0625 %-0,1825 %)
SILWET L-77 (Productos Loveland)	Copolímeros de poliéter polisiloxano, poliéter (100 %)	Tensioactivo de silicona no iónico, organofuncional que reduce a tensión superficial por debajo de los tensioactivos utilizados comúnmente, lo que da como resultado una humectación más eficaz y una cobertura más uniforme	0,0850-0,4536 kg/ 378,54 litros (3-16 oz/100 galones) (Solución al 0,02 %-0,125 %)
MSO Concentrado w/LECI-TECH (Productos Loveland)	Aceite vegetal metilado, alcohol etoxilato, fosfatidilcolina (100 %)	Aumenta la actividad de tensioactivos no iónicos herbicidas post-aplicados y aceites de fumigación de cosechas basados en petróleo.	0,4732-9,09464 l por 4046,85 m <sup>2</sup> (1-2 pintas por acre) (1,25-2,5 % basándose en 10 galones/acre)
TACTIC (Productos Loveland)	Látex sintético, 1,2-propanodiol, Alcohol etoxilato, copolímero de silicona poliéter (63,4 %); Constituyentes ineficaces como adyuvantes de la pulverización (36,6 %)	Aumenta la adherencia (polímero de látex) y la cobertura (organosilicona)	0,2267-0,9072 kg/ 378,54 litros (8-32 oz/100 gal.) (Solución al 0,0625 %-0,25 %)

Las concentraciones finales del disolvente aprótico polar y/o adyuvante se pueden determinar, para la formulación de un péptido tóxico particular que se ha hecho especial, por los expertos en la técnica. Los inventores han formulado satisfactoriamente péptidos tóxicos especiales con disolventes apróticos polares a concentraciones finales del 10 % y tan bajas como de 0,01 %, con 0,5 % funcionan bien. El adyuvante Silwet L-77, por ejemplo, funciona bien a una concentración final tan baja como de un 0,01 %, y los expertos en la técnica deberían ser capaces de encontrar satisfactoriamente otros adyuvantes utilizando incluso valores mayores o menores que los intervalos descritos en el presente documento para formulaciones particulares de péptidos tóxicos particulares que se han hecho especiales.

El agua y las etapas de sonicación descritas anteriormente se pueden aplicar en cualquier orden. Los modos particulares de aplicación de insecticidas para formulaciones en particular de péptidos tóxicos especiales los determinarán los expertos en la técnica.

#### Péptidos tóxicos tópicos y su preparación

Los ejemplos de péptidos tóxicos para insectos se conocen bien y se pueden encontrar en numerosas referencias. Se pueden identificar por su naturaleza peptídica y su actividad, habitualmente su actividad oral o por inyección. En el presente documento los inventores proporcionan unos cuantos ejemplos para ilustrar y describir mejor la invención.

Los péptidos tóxicos para los insectos son péptidos de más de 5 restos de aminoácido y menos de 3000 restos de aminoácido. Varían de un peso molecular de aproximadamente 550 Da a aproximadamente 350.000 Da. Los péptidos tóxicos para insectos tienen algún tipo de actividad insecticida. Normalmente muestran actividad cuando se inyectan en los insectos pero la mayoría no tienen una actividad significativa cuando se aplican tópicamente a un insecto. La actividad insecticida de los péptidos tóxicos para insectos se mide de varias maneras. Los métodos comunes de medición son ampliamente conocidos por los expertos en la técnica. Dichos métodos incluyen, la determinación de las respuestas medias a la dosis (por ejemplo, DL<sub>50</sub>, DP<sub>50</sub>, CL<sub>50</sub>, DE<sub>50</sub>) ajustando las representaciones de la respuesta a la dosis basándose en la puntuación de varios parámetros tales como: parálisis, mortalidad, falta de ganancia de peso, etc. Las mediciones se pueden hacer por cohortes de insectos expuestos a varias dosis de la formulación de insecticida en cuestión. El análisis de los datos se puede hacer creando curvas definidas por análisis probit y/o la Ecuación de Hill, etc. En tales casos, las dosis se administrarían por inyección hipodérmica, por infusión hiperbárica, por presentación de la formulación insecticida como parte de una muestra de alimento o cebo, etc.

Los péptidos tóxicos para insectos se definen en el presente documento como todos los péptidos que demuestran ser insecticidas al suministrarlos a los insectos sea por inyección hipodérmica, infusión hiperbárica, o al suministrarlos *per os* a un insecto (es decir, por ingestión como parte de una muestra de alimento presentada al insecto). Esta clase de péptido comprende por lo tanto, muchos péptidos que se producen naturalmente como componentes de venenos de arañas, ácaros, escorpiones, serpientes, caracoles, etc. Esta clase comprende también, varios péptidos producidos por plantas (por ejemplo, varias lectinas, proteínas inactivadoras de ribosomas, y cisteína proteasas), y varios péptidos producidos por microbios entomopatógenos (por ejemplo la familia de la endotoxina Cry1/delta de proteínas producidas por varias especies de *Bacillus*).

Los siguientes documentos son de conocimiento general por su publicación. Véanse los siguientes: Patentes de EE. UU.: US 5.763.568, publicada el 9 de junio de 1998, específicamente las secuencias del listado de secuencias, y las que se numeran de 1-26, y las conocidas como toxinas "kappa" u "omega", incluyendo las que pueden formar 2-4 puentes disulfuro intracatenarios, y los péptidos que aparecen en las columnas 2 y 4, y en la Tabla 5, y en la Fig. 5, Fig. 15, Fig. 16, Fig. 17, Fig. 18. US 5.959.182, publicada el 28 de sept de 1999, específicamente las secuencias del listado de secuencias y las numeradas del 1-26 y las que se conocen como toxinas "kappa" u "omega", incluyendo las toxinas que pueden formar 2-4 puentes disulfuro intracatenarios, y los péptidos que aparecen en las columnas 2 y 4, y la Tabla 5, y en la Fig. 5, Fig. 15, Fig. 16, Fig. 17, Fig. 18. US 6.583.264 B2, publicada el 24 de junio de 2003, y US 7.173.106 B2, publicada el 6 de feb de 2007 específicamente la secuencia número 1, llamada "omega-atracotoxina-Hv2a o  $\omega$ -atracotoxina-Hv2a, que incluyen toxinas que pueden formar 2-4 puentes disulfuro intracatenarios. US 7.279.547 B2, publicado el 9 de oct de 2007, específicamente las secuencias del listado de secuencias, y las que se numeran del 1-35, y variantes de  $\omega$ -atracotoxina-Hv2a, toxinas que pueden formar 2-4 puentes disulfuro intracatenarios, y los péptidos que aparecen en las columnas 4-8 de la memoria descriptiva, y en la Fig. 3 y Fig. 4. US 7.354.993 B2, publicada el 8 de abril de 2008 específicamente las secuencias peptídicas enumeradas en el listado de secuencias, y las numeradas del 1-39, y los polipéptidos llamados U-ACTX, toxinas que pueden formar 2-4 puentes disulfuro intracatenarios, y variantes de las mismas, y los péptidos que aparecen en las columnas 4-9 de la memoria descriptiva y en la Fig. 1. Patente EP 1812 464 B1, publicada y concedida el 10.08.2008 Boletín 2008/41, específicamente las secuencias peptídicas enumeradas en el listado de secuencias, toxinas que pueden formar 2-4 puentes disulfuro intracatenarios, y las numeradas del 1-39, y los llamados polipéptidos U-ACTX, y variantes de los mismos, y los péptidos que aparecen en los párrafos 0023 a 0055, y que aparecen en la Fig. 1.

Se describen variantes homólogas de las secuencias mencionadas, que tienen homología con dichas secuencias o las que se refieren a las descritas en el presente documento que también se han descrito como adecuadas para hacerlas especiales de acuerdo con el proceso que se describe en el presente documento incluyendo todas las secuencias homólogas que incluyen las secuencias homólogas que tienen al menos cualquiera de los siguientes porcentajes de identidad con cualquiera de las secuencias descritas en el presente documento: 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % o mayor identidad con una cualquiera de las secuencias identificadas en las patentes señaladas anteriormente, y con cualquier otra secuencia identificada en el presente documento, incluyendo todas y cada una de las secuencias del listado de secuencias de la presente solicitud. Cuando se utiliza el término homólogo u homología en el presente documento con un número tal como un 30 % o más entonces se quiere decir que es el porcentaje de identidad o el porcentaje de similitud entre los dos péptidos. Cuando se utiliza homólogo u homología sin un porcentaje numérico entonces se refiere a dos secuencias peptídicas que están relacionadas estrechamente en un aspecto evolutivo o de desarrollo en el que comparten aspectos físicos y funcionales comunes como la toxicidad tóxica y un tamaño similar con el péptido con un 100 % más de longitud o un 50 % de longitud más corta.

Se describen en el presente documento péptidos que se mencionan en los documentos de patentes US y EP a los que se hace referencia anteriormente, que incluyen los siguientes: Toxinas aisladas de plantas e insectos, especialmente toxinas de arañas, escorpiones y plantas que depredan o se defienden ellas mismas de los insectos, tales como las arañas de tela en embudo y especialmente las arañas de tela en embudo australianas, que incluyen las toxinas que se encuentran en, aisladas de o derivadas del género *Atrax* o *Hadronyche*, que incluyen las especies de los géneros, *Hadronyche versuta*, o la araña de tela en embudo de las Montañas Azules, *Atrax robustus*, *Atrax*

5 *formidabilis*, *Atrax infensus* que incluyen las toxinas conocidas como "atracotoxinas", "co-atracotoxinas",  
 10 atracotoxinas "kappa", atracotoxinas "omega", también conocidas como  $\omega$ -atracotoxinas, polipéptidos U-ACTX, U-  
 15 ACTX-Hv1a, rU-ACTX-Hv1a, rU-ACTX-Hv1b, o mutantes o variantes, especialmente los péptidos de cualquiera de  
 20 estos tipos y especialmente lo que tienen menos de aproximadamente 200 aminoácidos pero más de  
 25 aproximadamente 10 aminoácidos, y especialmente los péptidos con menos de 150 aminoácidos pero más de  
 30 aproximadamente 20 aminoácidos, especialmente péptidos de menos de aproximadamente 100 aminoácidos pero  
 35 mayores de aproximadamente 25 aminoácidos, especialmente péptidos de menos de aproximadamente 65  
 40 aminoácidos pero más de aproximadamente 25 aminoácidos, especialmente péptidos de menos de  
 45 aproximadamente 55 aminoácidos pero más de aproximadamente 25 aminoácidos, especialmente péptidos de  
 50 aproximadamente 37 o 39 o aproximadamente 36 a 42 aminoácidos, especialmente péptidos de menos de  
 55 aproximadamente 55 aminoácidos pero más de aproximadamente 25 aminoácidos, especialmente péptidos de  
 60 menos de aproximadamente 45 aminoácidos pero más de aproximadamente 35 aminoácidos, especialmente  
 65 péptidos de menos de aproximadamente 115 aminoácidos pero más de aproximadamente 75 aminoácidos,  
 70 especialmente péptidos de menos de aproximadamente 105 aminoácidos pero más de aproximadamente 85  
 75 aminoácidos, especialmente péptidos de menos de aproximadamente 100 aminoácidos pero más de  
 80 aproximadamente 90 aminoácidos, incluyendo toxinas peptídicas de cualquiera de las longitudes mencionadas en el  
 85 presente documento que pueden formar 2, 3 y/o 4 o más puentes disulfuro intracatenarios, incluyendo toxinas que  
 90 alteran las corrientes del canal del calcio, incluyendo toxinas que alteran las corrientes del canal del potasio,  
 95 especialmente los canales del calcio de insecto o híbridos de los mismos, especialmente toxinas o variantes de los  
 100 mismos de cualquiera de estos tipos, y cualquier combinación de cualquiera de los tipos de toxinas descritos en el  
 105 presente documento que tienen actividad insecticida tóxica, se pueden hacer especiales con el proceso descrito en  
 110 el presente documento.

115 Los péptidos venenosos de la araña tela de embudo australiana, género *Atrax* y *Hadronyche* son particularmente  
 120 adecuados y funcionan bien cuando se tratan por lo métodos, procedimientos o procesos descritos en la invención.  
 125 Estos péptidos de arañas, como muchos otros péptidos tóxicos, incluyendo especialmente los péptidos tóxicos de  
 130 escorpiones y tóxicos de plantas, se vuelven tópicamente activos o tóxicos cuando se tratan por los procesos que se  
 135 describen en la presente invención. Ejemplos de los péptidos adecuados que se ensayan y con los datos, se  
 140 proporcionan en el presente documento. Además de los organismos mencionados anteriormente, se sabe que las  
 145 siguientes especies también tienen toxinas adecuadas para hacerlas especiales por el proceso de la presente  
 150 invención. Se mencionan específicamente las siguientes especies: *Agelenopsis aperta*, *Androctonus australis*  
 155 *Hector*, *Antrax formidabilis*, *Antrax infensus*, *Atrax robustus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bothus martensii* Karsch, *Bothus*  
 160 *occitanus tunetanus*, *Buthacus arenicola*, *Buthotus judaicus*, *Buthus occitanus mardochei*, *Centruroides noxius*,  
 165 *Centruroides suffusus suffusus*, *Hadronyche infensa*, *Hadronyche versuta*, *Hadronyche versutus*, *Hololena curta*,  
 170 *Hottentotta judaica*, *Leiurus quinquestriatus*, *Leiurus quinquestriatus hebraeus*, *Leiurus quinquestriatus*  
 175 *quinquestriatus*, *Oldenlandia affinis*, *Scorpio maurus palmatus*, *Tityus serrulatus*, *Tityus zulianu*. Cualquier toxina  
 180 peptídica de cualquiera de los géneros enumerados anteriormente y/o las especies de los géneros es adecuada  
 185 para hacerla especial de acuerdo con el proceso de la presente invención.

190 No se pretende que los ejemplos de la presente memoria descriptiva, ni se deberían utilizar para que limiten la  
 195 invención, se proporcionan solamente para ilustrar la invención.

200 Como se ha señalado anteriormente, muchos péptidos son candidatos adecuados para someterse al proceso de  
 205 hacerlos especiales. Las secuencias que se han señalado anteriormente, posteriormente y en el listado de  
 210 secuencias son péptidos especialmente adecuados y se pueden hacer especiales, y muchos de estos se han hecho  
 215 especiales de acuerdo con la presente invención con los resultados que se muestran en los ejemplos posteriores.

SEQ ID NO: 60 (código de una letra) (secuencia de referencia)

50 SPTCI PSGQP CPYNE NCCSQ SCTFK ENENG NTVKR CD  
 1 5 10 15 20 25 30 35 37

SEQ ID NO: 60 (código de tres letras) (secuencia de referencia)

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
 1 5 10 15  
 Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Phe Lys Glu Asn Glu Asn Gly Asn Thr  
 20 25 30  
 Val Lys Arg Cys Asp  
 35 37

55 Llamada "ω-ACTX-Hv1a" tiene puentes disulfuro en las posiciones: 4-18, 11-22 y 17-36. El peso molecular es 4096.

SEQ ID NO: 117 (código de una letra)

GSSPT CIPSG QPCPY NENCC SQSCT FKENE NGNTV KRCD  
 1 5 10 15 20 25 30 35 39

SEQ ID NO: 117 (código de tres letras)

5

Gly Ser Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn  
 1 5 10 15  
 Glu Asn Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Phe Lys Glu Asn Glu Asn Gly  
 20 25 30  
 Asn Thr Val Lys Arg Cys Asp  
 35 39

Llamada "ω-ACTX-Hv1a+2" tiene puentes disulfuro en las posiciones: 6-20, 13-24 y 19-38. El peso molecular es 4199.

10

SEQ ID NO: 118 (código de una letra)

GSAIC TGADR PCAAC CPCCP GTSCK AESNG VSYCR KDEP  
 1 5 10 15 20 25 30 35 39

15 SEQ ID NO: 118 (código de tres letras)

Gly Ser Ala Ile Cys Thr Gly Ala Asp Arg Pro Cys Ala Ala Cys Cys  
 1 5 10 15  
 Pro Cys Cys Pro Gly Thr Ser Cys Lys Ala Glu Ser Asn Gly Val Ser  
 20 25 30  
 Tyr Cys Arg Lys Asp Glu Pro  
 35 39

Llamada "κ-ACTX-Hv1c" tiene puentes disulfuro en las posiciones: 5-19, 12-24, 15-16, 18-34. El peso molecular es de 3912,15

20

SEQ ID NO: 119 (código de una letra)

GSQYC VPDQ PCSLN TQPCC DDATC TQERN ENGHT VYYCR A  
 1 5 10 15 20 25 30 35 40 41

25 SEQ ID NO: 119 (código de tres letras)

Gly Ser Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr  
 1 5 10 15  
 Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Arg Asn Glu Asn  
 20 25 30  
 Gly His Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 35 40 41

Llamada "rU-ACTX-Hv1a ("Híbrida")+2" tiene puentes disulfuro en las posiciones: 5-20, 12-25, 19-39. El peso molecular es de 4570,51.

30

Preparación de péptidos tóxicos tópicos

Los péptidos tóxicos descritos anteriormente se pueden preparar de varias maneras y en algunas realizaciones no necesitan prepararse por cualquier proceso formal. Los péptidos se pueden recolectar simplemente con o sin otras impurezas en una composición y se utilizan. En una realización de la que se proporcionan posteriormente varios Ejemplos, los péptidos están liofilizados o tienen algunos, la mayoría o casi todo el líquido eliminado antes de hacerlos especiales. En algunas realizaciones los péptidos aún están húmedos y solo se retira el exceso de líquido. En algunas realizaciones, los péptidos están en soluciones acuosas o en algo similar a una solución acuosa. Los péptidos no se tienen que aislar o purificar antes de hacerlos especiales.

35

40

Ensayos reproducibles para medir la actividad insecticida tópica

La actividad insecticida tópica de un péptido se puede medir y cuantificar. Hay disponibles numerosos ensayos. Varios ejemplos de ensayo reproducibles útiles para determinar la actividad tópica de un péptido se proporcionan en los ejemplos posteriores. Estos ejemplos describen en detalle tanto los péptidos como los ensayos.

45

**Ejemplos- Materiales y métodos**

**Ejemplo 1. (ejemplo de referencia)**

5 Ensayo tópico con acetona y DMSO utilizando la toxina  $\omega$ -ACTX-Hv1a para la mosca doméstica:

SPTCIPSGQPCYPYNENCCSQSCTFKENENGNTVKRCD (SEQ ID NO: 60) sintético. Peso molecular: 4050 Da. DL<sub>50</sub> en mosca doméstica: 90,2 pmol/g

10 Administración y aplicación en la formulación. El insecto es la mosca doméstica (*Musca domestica*) de investigaciones Benzon que pesaban entre 12-20 mg (peso medio 16 mg) recibiría cada una 2  $\mu$ l por aplicaciones con micropipeta de las formulaciones en la superficie torácica dorsal del cuerpo.

Dosis de toxina:

15 ~90.000 pmol/g  $\omega$ -ACTX (Inyección de 1000x la DL50) disuelta en un 90 % de Acetona/10 % DMSO o DMSO (10 %-20 %) con un 0,1 % de Tween 20,  
 ~9.000 pmol/g (Inyección de 100x la DL50), y  
 ~900 pmol/g (10x la DL50) disuelta en DMSO (10-20 %) con un 0,1 % de Tween 20.

20 Preparación de las soluciones de aplicación a base de agua

$\omega$ -ACTX/DMSO de reserva – 3,5 mg de  $\omega$ -ACTX liofilizada (Auspep) se amasaron y disolvieron en 70  $\mu$ l de DMSO (de reserva 50  $\mu$ g/ $\mu$ l). Agua + Tween de reserva - Se prepararon alícuotas de 1000  $\mu$ l de Tween 20 de reserva en agua con el volumen en porcentaje para los valores de los volúmenes (enumerados posteriormente) desde el 1 % de Tween 20 de reserva (por ejemplo, 111  $\mu$ l 1 % Tween 20 + 889  $\mu$ l de agua para el Tween 20 de reserva al 0,111 %, etc.). En todos los casos, primero se añadió el Tween 20 de reserva al tubo, luego el DMSO, y finalmente  $\omega$ -ACTX/DMSO de reserva.

Dosis $\omega$ -ACTX (pmol/g)	[DMSO] (%)	$\omega$ -ACTX	DMSO	Agua + Tween (% v/v)	Volumen Final
90.000	10 %	17,5 $\mu$ l $\omega$ -ACTX de reserva (50 $\mu$ g/ $\mu$ l in DMSO)	12,5 $\mu$ l	270 $\mu$ l (0,111 % Tween)	300 $\mu$ l
-ve	10 %	-	30 $\mu$ l	270 $\mu$ l (0,111 % Tween)	300 $\mu$ l
90.000	20 %	17,5 $\mu$ l $\omega$ -ACTX de reserva (50 $\mu$ g/ $\mu$ l in DMSO)	42,5 $\mu$ l	240 $\mu$ l (0,125 % Tween)	300 $\mu$ l
9.000	20 %	Solución de 30 $\mu$ l de 90.000 pmol/g ACTX	54 $\mu$ l	216 $\mu$ l (0,138 % Tween)	300 $\mu$ l
900	20 %	Solución de 30 $\mu$ l de 9.000 pmol/g ACTX	54 $\mu$ l	216 $\mu$ l (0,138 % Tween)	300 $\mu$ l
-ve	20 %	-	60 $\mu$ l	240 $\mu$ l (0,125 % Tween)	300 $\mu$ l

30 Tabla 2 (anterior). Tratamientos Agua-DMSO. Nota. En la Tabla 2 y muchas tablas posteriores se utilizan algunas de las siguientes abreviaturas: “con espasmos” o “con esp” significa espasmos; “morib” significa moribundo y “-ve” significa “condiciones de control negativo” que son las mismas que las condiciones experimentales pero sin el principio(s) activo(s).

35 Preparación de soluciones de aplicación a base de acetona:

Acetona – Se utilizó la misma reserva de  $\omega$ -ACTX en DMSO 50  $\mu$ g/ $\mu$ l para crear una formulación en un 90 % de acetona y un 10 % de DMSO que suministraría una dosis equivalente de 90.000 pmol/g cuando se aplica como una gota de 2  $\mu$ l para moscas domésticas con un peso medio de 16 mg. En este caso, la toxina de reserva se añadió a la acetona primero, y luego se añadió un volumen final de DMSO para conseguir un 10 % p/v de DMSO. Esto se hizo para examinar la cantidad de precipitado cuando se añadía la toxina disuelta a la acetona.

45 También se preparó una segunda solución de  $\omega$ -ACTX disolviendo 1,2 mg de  $\omega$ -ACTX liofilizada (Auspep) en 240  $\mu$ l de acetona (reserva de 5  $\mu$ g/ $\mu$ l). Se diluyeron 50  $\mu$ l de esta reserva en 121,5  $\mu$ l de Acetona tras la cual se añadieron 17,15  $\mu$ l de DMSO (concentración del 10 %). Los cálculos que dan lugar a una dosificación de  $\omega$ -ACTX estimada para esta formulación son los siguientes:

$$50 \mu\text{l} \times \text{reserva de } \omega\text{-ACTX } 5 \mu\text{g}/\mu\text{l} = 250 \mu\text{g } \omega\text{-ACTX} / \text{volumen total de } 171,5 \mu\text{l} = 1,458 \mu\text{g}/\mu\text{l} \times 2 \mu\text{l}/\text{insecto} = 2,915 \mu\text{g}/\text{insecto}$$

$$5 \quad 2,915 \mu\text{g}/\text{insecto} \times 1 \mu\text{mol}/4050 \mu\text{g} \times 10^6 \text{ pmol}/1 \mu\text{mol} = 719,7 \text{ pmol}/\text{insecto} \times 1 \text{ insecto}/0,016 \text{ g} = 45.000 \text{ pmol}/\text{g}$$

10 Se preparó también una formulación de control de seroalbúmina bovina (BSA) en acetona y DMSO. Debido a la concentración del BSA de reserva, la concentración de acetona era solamente de aproximadamente un 60 % en un 10 % de DMSO.

Tabla 3 (anterior). Tratamientos con Acetona-DMSO

Dosis de $\omega$ -ACTX (pmol/g)	Concentración DMSO (%)	$\omega$ -ACTX	DMSO	Acetona	Volumen Final
90.000	10 %	17,5 $\mu\text{l}$ $\omega$ -ACTX DE RESERVA (50 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ en DMSO)	12,5 $\mu\text{l}$	270 $\mu\text{l}$	300 $\mu\text{l}$
45.000	10 %	50 $\mu\text{l}$ (5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ en Acetona)	17,15 $\mu\text{l}$	104,3 $\mu\text{l}$	171,5 $\mu\text{l}$
-ve	10 %	-	30 $\mu\text{l}$	270 $\mu\text{l}$	300 $\mu\text{l}$
+ve	10 %	87,5 $\mu\text{l}$ 10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ BSA	30 $\mu\text{l}$	182,5 $\mu\text{l}$	300 $\mu\text{l}$

## Administración y aplicación de la formulación

15 Se refrigeraron las moscas domésticas durante ~ 4 h y luego se anestesiaron con CO<sub>2</sub>. Se aplicó cada una de las formulaciones de tratamiento descritas anteriormente a un grupo de diez moscas anestesiadas. Los tratamientos consistían en una gota de 2  $\mu\text{l}$  de la formulación respectiva, pipeteada en la superficie torácica dorsal del cuerpo de una mosca. Los grupos de diez moscas anestesiadas se utilizaron para ensayar cada régimen de tratamiento. La solución de Acetona-DMSO se evaporaba rápidamente de la cutícula. Se dejó que se absorbieran las formulaciones de DMSO a través de la cutícula. Las moscas tratadas que revivían sobre la superficie dorsal tendían a pegarse al fondo del recipiente y luchaban después de la colocación con alimento y agua; se hizo una intervención para evitar esto golpeando suavemente el recipiente o manipulando las moscas pegadas volviéndolas a la orientación correcta con unas pincillas. También se reservó un grupo de moscas sin tratar para asegurar que la mortalidad no era afectada por la exposición al CO<sub>2</sub>. En todos los tratamientos se dieron alimentos y agua y se observaron durante 24 horas.

Resultados (n = 10 para todos los grupos de tratamiento, el número de moscas muertas por grupo se muestran en la segunda columna):

Tabla 4 (anterior). Resultados de tratamientos con Acetona-DMSO

Tratamiento (Hora de aplicación)	Muertas (Tiempo tras Tratamiento)	Notas
-ve 20 % DMSO/Tween (3:54 PM 1/7/08)	0 (~ 8 h)	Todas las moscas saludables/activas
90.000 pmol/g $\omega$ -ACTX 20 % DMSO/Tween (4:09 PM 1/7/08)	1 (~ 8 h)	1 muerta en el alimento, las otras saludables
Tratamiento (Hora de aplicación)	Muertas (Tiempo tras Tratamiento)	Notas
9.000 pmol/g $\omega$ -ACTX 20 % DMSO/Tween (4:22 PM 1/7/08)	1 (~ 7,5 h)	1 pegada al fondo (?) muertas (?)
900 pmol/g $\omega$ -ACTX 20 % DMSO/Tween (4:32 PM 1/7/08)	0 (~ 7,5 h)	
-ve 10 % DMSO/Tween (5:39 PM 1/7/08)	0 (~ 6,5 h)	1 pegada al fondo y desplazada
90.000 pmol/g $\omega$ -ACTX 10 % DMSO/Tween (4:52 PM 1/7/08)	0 (~ 7 h)	
-ve 90 % Acetona/10 %DMSO (5:25 PM 1/7/08)	1 (~7,5 h)	

ES 2 582 207 T3

+ve Proteína BSA (5:01 PM 1/7/08)	1 (?) (~ 7 h)	1 inconsciente al lado del plato de alimento
90.0000 pmol/g $\omega$ -ACTX (DMSO de reserva) 90 % Acetona/10 % DMSO (5:11 PM 1/7/08)	0 (~ 7 h)	1 pegada sobre la espalda y desplazada
45.0000 pmol/g $\omega$ -ACTX (Acetona de reserva) 90 % Acetona/10 % DMSO (5:19 PM 1/7/08)	1 (~ 6,5 h)	1 muerta en el plato de alimento
-ve sin tratar (5:40 PM 1/7/08)	0 (~ 6,5 h)	
Tratamiento (Hora de aplicación)	Muertas (Tiempo tras Tratamiento)	Notas
-ve 20 % DMSO/Tween (3:54 PM 1/7/08)	0 (~19 h)	Todas las moscas saludables/activas
90.000 pmol/g $\omega$ -ACTX 20 % DMSO/Tween (4:09 PM 1/7/08)	1 (~ 19 h)	1 con espasmos
9.000 pmol/g $\omega$ -ACTX 20 % DMSO/Tween (4:22 PM 1/7/08)	1 (~ 18,5 h)	Muerta por pegarse al fondo
900 pmol/g $\omega$ -ACTX 20 % DMSO/Tween (4:32 PM 1/7/08)	0 (~18,5 h)	Todas las moscas saludables/activas
-ve 10 % DMSO/Tween (5:39 PM 1/7/08)	1 (~ 17,5 h)	Muerta en la comida
90.000 pmol/g $\omega$ -ACTX 10 % DMSO/Tween (4:52 PM 1/7/08)	1 (8 h)	2 con espasmos
-ve 90 % Acetona/10 %DMSO (5:25 PM 1/7/08)	1 (~ 17,5 h)	
+ve Proteína BSA (5:01 PM 1/7/08)	1 (~ 18 h)	
90.0000 pmol/g $\omega$ -ACTX (DMSO de reserva) 90 % Acetona/10 % DMSO (5:11 PM 1/7/08)	1 (~ 18 h)	1 con espasmos
45.0000 pmol/g $\omega$ -ACTX (Acetona de reserva) 90 % Acetona/10 % DMSO (5:19 PM 1/7/08)	5 (~ 17,5 h)	2 con espasmos
-ve sin tratar (5:40 PM 1/7/08)	0 (~ 17,5 h)	Todas las moscas saludables/activas
Tratamiento	Muertas (Tiempo tras Tratamiento)	Notas
-ve 20 % DMSO/Tween (3:54 PM 1/7/08)	0 (~ 27,5 h)	
90.000 pmol/g $\omega$ -ACTX 20 % DMSO/Tween (4:09 PM 1/7/08)	3 (~ 27,5 h)	1 con espasmos
9.000 pmol/g $\omega$ -ACTX 20 % DMSO/Tween (4:22 PM 1/7/08)	1 (~ 27 h)	
Tratamiento (Hora de aplicación)	Muertas (Tiempo tras Tratamiento)	Notas
900 pmol/g $\omega$ -ACTX 20 % DMSO/Tween (4:32 PM 1/7/08)	0 (~ 27 h)	
-ve 10 % DMSO/Tween (5:39 PM 1/7/08)	1 (~ 26 h)	

Tratamiento (Hora de aplicación)	Muertas (Tiempo tras Tratamiento)	Notas
90.000 pmol/g $\omega$ -ACTX 10 % DMSO/Tween (4:52 PM 1/7/08)	3 (~ 26,5 h)	1 con espasmos
-ve 90 % Acetona/10 %DMSO (5:25 PM 1/7/08)	1 (~ 26 h)	
+ve BSA Proteína (5:01 PM 1/7/08)	1 (~ 26 h)	
90.0000 pmol/g $\omega$ -ACTX (DMSO de reserva) 90 % Acetona/10 % DMSO (5:11 PM 1/7/08)	3 (~ 26,5 h)	1 con espasmos
45.0000 pmol/g $\omega$ -ACTX (Acetona de reserva) 90 % Acetona/10 % DMSO (5:19 PM 1/7/08)	7 (~ 26 h)	1 enferma
-ve sin tratar (5:40 PM 1/7/08)	0 (~ 26 h)	

La aplicación tópica de  $\omega$ -ACTX disuelta en Acetona con un 10 % de DMSO era insecticida para las moscas (un 70 % de mortalidad a las 24 h) mientras que una preparación similar de  $\omega$ -ACTX disuelta en DMSO y luego diluida a un 10 % de DMSO en acetona era menos insecticida (~ 30 %). Estos resultados son similares a los ensayos tópicos en los que la  $\omega$ -ACTX se disolvía en Acetona con DMSO a una concentración del 10 % que mataba el 90 % de las moscas domésticas (19/6/08) mientras que la  $\omega$ -ACTX disuelta en Acetona con DMSO y luego diluido en Acetona a una concentración de 90.000 pmol/g mataban el 40 % de los insectos tratados. La aplicación tópica de  $\omega$ -ACTX en un 10-20 % de agua también era insecticida pero considerablemente menos que la solución Acetona/DMSO (30 % vs. 70 %).

## Ejemplo 2. (ejemplo de referencia)

Ensayo tópico con Acetona/Metanol/DMSO utilizando la toxina  $\omega$ -ACTX-Hv1a para mosca doméstica:

SPTCIPSGQPCYNENCCSQSCTFKENENGNTVKRCD (SEQ. ID. NO. 60) sintética. Peso molecular 4050 Da.  
DL<sub>50</sub> en mosca doméstica: 90,2 pmol/g.

Administración y aplicación de la formulación

Insectos: Mosca doméstica (*Musca domestica*) de investigaciones Benzon que pesaban entre 12-18 mg (peso medio 15 mg); aplicación con micropipeta de 2  $\mu$ l en tórax dorsal. Gusano falso medidor (*Trichoplusia ni*) de investigaciones Benzon que pesaban ~ 30 mg; aplicación con micropipeta de 2  $\mu$ l en dorsal anterior.

Cálculos de Dosis de toxina: ~ 90.000 pmol/g  $\omega$ -ACTX (inyección de 1000 x la DL<sub>50</sub>),

$$0.015 \text{ g/mosca} \times 90.000 \text{ pmol/g} = 1350 \text{ pmol/mosca} \times 4050 \text{ pg/pmol} \times 1 \mu\text{g}/10^6 \text{ pg} = 5,467 \mu\text{g/insecto.}$$

$$5,467 \mu\text{g}/2 \mu\text{l de aplicación} = 2,733 \mu\text{g}/\mu\text{l} \times 150 \mu\text{l} = 410,06 \mu\text{g} \times 1 \mu\text{l}/5 \mu\text{g} = 82 \mu\text{l}$$

5  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  de  $\omega$ -ACTX de reserva

Preparación de las soluciones de aplicación

Se prepararon las mezclas de  $\omega$ -ACTX en acetona (90 %) y DMSO (10 %) de acuerdo con la Tabla 5 a partir de una preparación de reserva de 1,5 mg de  $\omega$ -ACTX liofilizada disuelta en 300  $\mu$ l de acetona para producir una solución de 5 mg/ml. La  $\omega$ -ACTX formaba un precipitado turbio cuando se añadió la acetona que se asentaba cuando se dejaba en la gradilla. La preparación se removió durante ~ 5 s para homogeneizar el precipitado antes de la dilución.

Metanol/DMSO – Se prepararon mezclas de  $\omega$ -ACTX en metanol (90 %) y DMSO (10 %) de acuerdo con la Tabla 5 a partir de una preparación de reserva de 2,3 mg de  $\omega$ -ACTX liofilizada disuelta en 460  $\mu$ l de metanol para producir una mezcla con una concentración final de péptido de 5 mg/ml. La  $\omega$ -ACTX formaba un precipitado turbio cuando se añadía el metanol que se asentaba cuando se dejaba en la gradilla, de manera similar a las suspensiones de atracotoxina/acetona. La preparación se removió durante ~ 5 s para homogeneizar el precipitado antes de la dilución.

Tabla 5 (anterior). Preparaciones de tratamiento

Tratamiento	$\omega$ -ACTX	DMSO	Disolvente	Total Volumen
90.000 pmol/g	82 $\mu$ l 5 mg/ml $\omega$ -ACTX de reserva en Acetona	15 $\mu$ l	53 $\mu$ l Acetona	150 $\mu$ l
-ve	-	15 $\mu$ l	135 $\mu$ l Acetona	150 $\mu$ l
90.000 pmol/g	82 $\mu$ l 5 mg/ml $\omega$ -ACTX de reserva en Metanol	15 $\mu$ l	53 $\mu$ l Metanol	150 $\mu$ l
-ve	-	15 $\mu$ l	135 $\mu$ l Metanol	150 $\mu$ l

Las preparaciones de tratamiento de la Tabla 5 son formulaciones de acetona/metanol/DMSO; el orden de adición cuando se preparaba cada formulación era disolvente,  $\omega$ -ACTX de reserva (cuando era necesario), y finalmente el DMSO.

Administración y aplicación de la formulación.

Cada formulación de tratamiento descrito anteriormente se aplicó a un grupo de diez moscas domésticas anestesiadas con CO<sub>2</sub>. La aplicación del tratamiento consistía en una gota de 2  $\mu$ l de la formulación respectiva, pipeteada en la superficie torácica dorsal del cuerpo de una mosca. Cada mezcla se removió inmediatamente antes de cada aplicación para asegurar la suspensión de las partículas precipitadas. A continuación del tratamiento, los insectos se colocaron en recipientes con alimento recién puesto y agua, se permitió que se recuperaran, y se observaron durante 24 h.

Cada formulación de tratamiento descrito anteriormente también se aplicó a un grupo de diez de la 2ª fase larvaria de *T. ni*. La aplicación del tratamiento consistía en una gota de 2  $\mu$ l de la formulación respectiva, pipeteada en la superficie dorsal anterior del cuerpo. Cada mezcla se removió inmediatamente antes de cada aplicación para asegurar la suspensión de las partículas precipitadas. A continuación del tratamiento, los insectos se colocaron en un medio reciente y se observaron durante 24 h.

Tabla 6a – Mosca doméstica (posteriormente)

Tratamiento	Muertes (18 h)	Muertes (24 h)
90.000 pmol/g Acetona + DMSO	4	4
-ve Acetona + DMSO	0	0
90.000 pmol/g Metanol + DMSO	10	10
-ve Metanol + DMSO	0	0
Sin tratar	0	0

Tabla 6b- Gusano falso medidor (posteriormente)

Tratamiento	Muertes (18 h)	Muertes (24 h)
45,000 pmol/g Acetona + DMSO	0	0
-ve Acetona + DMSO	0	0
45.000 pmol/g Metanol + DMSO	0	0
-ve Metanol + DMSO	0	0

Tabla 6a y Tabla 6b (anterior). Resultados de la administración de formulaciones de acetona/metanol/DMSO en Mosca doméstica y gusano falso medidor.

El tratamiento tóxico de moscas domésticas con una alta dosis de  $\omega$ -ACTX en metanol con DMSO era insecticida con el 100 % de mortalidad a las 18 horas post-tratamiento en comparación con solo el 40 % de mortalidad de moscas domésticas tratadas con  $\omega$ -ACTX en acetona. No había mortalidad en los controles en cualquier tratamiento. No había diferencia entre los tratamientos con  $\omega$ -ACTX y control en el gusano falso medidor en términos de muerte del insecto, alimentación o comportamiento. El metanol potenciaba la actividad tóxica de  $\omega$ -ACTX más que la acetona en este experimento.

### Ejemplo 3. (ejemplo de referencia)

Ensayo tóxico con metanol y etanol utilizando moscas domésticas  
La toxina es  $\omega$ -ACTX-Hv1a

SPTCIPSGQPCYNENCCSQSCTFKENENGNTVKRCD (SEQ ID. NO: 60) sintética.

Peso molecular: 4050 Da

DL<sub>50</sub> en mosca domestica: 90,2 pmol/g

5 Administración y aplicación de la formulación

Insecto: mosca doméstica (*Musca domestica*) de investigaciones Benzon que pesaban entre 12-20 mg (peso medio 16 mg). Aplicación de 2 µl con micropipeta en el tórax dorsal.

10 Cálculo de la dosis de toxina:

~ 90.000 pmol/g de ω-ACTX (inyección de 1000 x la DL<sub>50</sub>)

15 **0,015 g/mosca x 90.000 pmol/g = 1350 pmol/mosca x 4050 pg/pmol x 1 µg/10<sup>6</sup> pg = 5,467 µg/insecto**  
**5,467 µg/2 µl aplicación = 2,733 µg/ µl x 250 µl = 683,43 µg x 1 µl/5 µg =**  
**136,7 µl 5 µg/µl de ω-ACTX de reserva**

20 NOTA: Las soluciones de tratamiento se calculó para las moscas sobre un peso medio de 15 mg (con un intervalo de 12-18 mg); el peso medio actual de los insectos que se utilizaron era de 16 mg (con un intervalo de 12-20 mg). La dosis de ω-ACTX en las tablas posteriores se ha ajustado para esta discrepancia.

Preparación de las soluciones de aplicación

25 Metanol – Se prepararon las soluciones de ω-ACTX en metanol de acuerdo con la Tabla 7, utilizando una preparación de reserva de 1,0 mg de ω-ACTX liofilizada disuelta en 200 µl de metanol (solución de 5 mg/ml).

Tabla 7 (anterior) Formulaciones de tratamiento con metanol

Tratamiento	ω-ACTX	Metanol	Volumen Total
84.375 pmol/g	136,68 µl de reserva de ω-ACTX a 5 mg/ml	113,3 µl	250 µl
16.875 pmol/g	solución 50 µl 84.375 pmol/g	200 µl	250 µl
3.375 pmol/g	solución 50 µl 16.875 pmol/g	200 µl	250 µl
675 pmol/g	solución 50 µl 3.375 pmol/g	200 µl	250 µl
135 pmol/g	solución 50 µl 675 pmol/g	200 µl	250 µl
-ve	-	250 µl	200 µl

30 Metanol + DMSO – Se prepararon las soluciones de ω-ACTX en metanol de acuerdo con la Tabla 8 utilizando una de reserva de 5 mg/ml. Se prepararon los 84.375 pmol/g diluyendo la mezcla de reserva en metanol (88,3 µl) antes de añadir el DMSO (25 µl) a una concentración final de un 10 % de DMSO. Se preparó entonces una solución de DMSO al 10 % en metanol y se sacaron alícuotas como se describe posteriormente para las series de diluciones seriadas.

35

Tabla 8 (anterior) Soluciones de tratamiento Metanol/DMSO

Tratamiento	ω-ACTX	DMSO	Metanol	Volumen Total
84.375 pmol/g	136,68 µl de reserva de ω-ACTX 5 mg/ml en Metanol	25 µl (100 %)	88,3 µl	250 µl
16.875 pmol/g	Solución de 50 µl 84.375 pmol/g	-	200 µl (10 % DMSO)	250 µl
3.375 pmol/g	Solución de 50 µl 16.875 pmol/g	-	200 µl (10 % DMSO)	250 µl
675 pmol/g	Solución de 50 µl 3.375 pmol/g	-	200 µl (10 % DMSO)	250 µl
135 pmol/g	Solución de 50 µl 675 pmol/g	-	200 µl (10 % DMSO)	250 µl
-ve	-	-	250 µl (10 % DMSO)	250 µl

- 5 Etanol + DMSO – Se prepararon las soluciones de  $\omega$ -ACTX en etanol de acuerdo con la Tabla 9 a partir de una preparación de reserva de 0,8 mg de  $\omega$ -ACTX liofilizada disuelta en 160  $\mu$ l de etanol para producir una solución de 5 mg/ml. La solución de 84.375 pmol/g se preparó diluyendo la solución de reserva en etanol (88,3  $\mu$ l) antes de añadir el DMSO (25  $\mu$ l) a una concentración final de DMSO del 10 %. Se preparó entonces una solución de DMSO al 10 %/etanol y se hicieron alícuotas como se describe posteriormente para las series de dilución seriada.

Tabla 9 (anterior).

Tratamiento	$\omega$ -ACTX	DMSO :	Etanol	Volumen Total
84.375 pmol/g	136,68 $\mu$ l de $\omega$ -ACTX 5 mg/ml en Etanol	25 $\mu$ l (100 %)	88,3 $\mu$ l	250 $\mu$ l
16.875 pmol/g	solución de 50 $\mu$ l 84.375 pmol/g	-	200 $\mu$ l (10 % DMSO)	250 $\mu$ l
3.375 pmol/g	solución de 50 $\mu$ l 16.875 pmol/g	-	200 $\mu$ l (10 % DMSO)	250 $\mu$ l
675 pmol/g	solución de 50 $\mu$ l 3.375 pmol/g	-	200 $\mu$ l (10 % DMSO)	250 $\mu$ l
135 pmol/g	solución de 50 $\mu$ l 675 pmol/g	-	200 $\mu$ l (10 % DMSO)	250 $\mu$ l
-ve	-	-	250 $\mu$ l (10 % DMSO)	250 $\mu$ l

- 10 Formulaciones de solución de etanol; el orden de adición cuando se prepara la formulación de 84.375 pmol/g era etanol,  $\omega$ -ACTX de reserva y finalmente DMSO. Se preparó una solución de DMSO al 10 % / etanol y se hicieron alícuotas en tubos marcados, y se llevó a cabo una dilución seriada de 5 x del tratamiento de 84.375 pmol/g.

Administración y aplicación de la formulación

- 15 Cada formulación de tratamiento que se ha descrito anteriormente se aplicó a un grupo de diez moscas domésticas anestesiadas con CO<sub>2</sub>. La aplicación del tratamiento consistía en una gota de 2  $\mu$ l de la formulación respectiva, pipeteada en la superficie torácica dorsal del cuerpo de una mosca. Cada mezcla se removió inmediatamente antes de cada aplicación para asegurar la suspensión de las partículas precipitadas. Después del tratamiento, los insectos se colocaron en recipientes con comida recién preparada y agua, se permitió que se recuperaran, y se observaron durante 60 horas.
- 20

Resultados de los tratamientos con metanol o etanol y DMSO

Tabla 10 (anterior). Resultados del tratamiento con metanol o etanol y DMSO

Tratamiento	Muertes (6 h)	Muertes (19.5 h)	Muertes (24 h)	Muertes (50 h)	Muertes (60 h)
-ve control Metanol + DMSO	0	0	0	0	0
135 pmol/g Metanol+ DMSO	0	0	0	0	0
675 pmol/g Metanol + DMSO	0	0	0	0	0
3.375 pmol/g Metanol + DMSO	0	0	0	0	0 (1 con espasmos)
16.875 pmol/g Metanol + DMSO	0	0	0 (1 con espasmos)	0 (1 con espasmos)	0 (1 con espasmos)
84.375 pmol/g Metanol + DMSO	0	3 (3 con espasmos)	3 (3 con espasmos)	7	7 (1 con espasmos)
-ve control Metanol	0	0	0	0	0
135 pmol/g Metanol	0	0	0	0	0
675 pmol/g Metanol	0	0	0	0	0
3.375 pmol/g Metanol	0	0	0	0	0
16.875 pmol/g Metanol	0	0	0	1 (1 con espasmos)	1
84.375 pmol/g Metanol	0	0	0	1	1 (5 con espasmos)

-ve control Etanol + DMSO	0	0	0	0	0
135 pmol/g Etanol + DMSO	0	0	0	0	0
675 pmol/g Etanol + DMSO	1	1	1	1	1
3.375 pmol/g Etanol + DMSO	0	0	0	1	0
16.875 pmol/g Etanol + DMSO	0	3 (1 con espasmos)	3 (2 con espasmos)	7	7 (1 con espasmos)
84.375 pmol/g Etanol + DMSO	2	7	7	7	7 (1 con espasmos)
Sin tratamiento	0	0	0	0	0

El tratamiento tópico de moscas domésticas con una dosis alta (84.375 pmol/g) de  $\omega$ -ACTX en etanol con DMSO era insecticida produciendo un 30 % y un 70 % de mortalidad a las 24 y 50 horas post-tratamiento, respectivamente. Los tratamientos preparados con etanol eran más potentes que los preparados con metanol (mortalidad del 70 % vs 30 % a las 24 h para la dosis más alta, y 30 % vs 0 % de mortalidad en el tratamiento con 16.875 pmol/g a las 24 h). El efecto de la dosis más alta de  $\omega$ -ACTX en metanol con DMSO no era tan potente como en el ensayo previo (3 muertas, 3 con espasmos vs. 10 muertas a la dosis más alta tras 24 h).

Los tratamientos con metanol/  $\omega$ -ACTX sin DMSO no eran insecticidas, sugiriendo que la inclusión de un penetrante aprótico o algún tipo de adyuvante molecular es importante para la actividad de las preparaciones tópicas de  $\omega$ -ACTX.

Este experimento muestra ejemplos de los intervalos de dosis eficaces de la  $\omega$ -ACTX aplicada tópicamente diluida en metanol, y el efecto que tiene la inclusión de DMSO y etanol sobre actividad insecticida de la formulación en el paradigma del bioensayo tópico utilizado.

**Ejemplo 4 (ejemplo de referencia)**

Ensayo tópico con la toxina:  $\omega$ -ACTX-Hv1a:

SPTCIPSGQPCPYNENCCSQSCTFKENENGNTVKRCD (SEQ ID. NO. 55.)

Peso molecular: 4050. DL<sub>50</sub> en la mosca doméstica: 90,2 pmol/g

Se prepararon alícuotas de 1,5 mg de toxina secada por congelación a partir de reservas congeladas.

Aplicación tópica: Grupos de diez moscas domésticas (*Musca domestica*) de investigaciones Benzon, que pesaban entre 12-20 mg (peso medio 16 mg), recibieron cada una 2  $\mu$ l por aplicación con micropipeta del precipitado de toxina suspendido en Etanol-DMSO en la superficie torácica dorsal del cuerpo.

Preparación de las soluciones de reserva para el tratamiento tópico y *per os*: Reserva 1 (preparación removida): 1 ml de etanol se añadió a ~ 1500  $\mu$ g de  $\omega$ -ACTX liofilizada, y la mezcla resultante se removió vigorosamente. Se retiró una alícuota de 50  $\mu$ l de la suspensión del péptido para los ensayos de aplicación tópica y se mantuvo en hielo durante ~ 2 h; el resto se dividió en dos alícuotas de ~ 475  $\mu$ l y se mantuvieron entonces en hielo durante ~ 2 h.

Reserva 2 (preparación removida y sonicada): se añadió 1 ml de etanol a ~ 1500  $\mu$ g de  $\omega$ -ACTX liofilizada, y la mezcla resultante se removió vigorosamente, y luego se sonicó ~ 10-15 s, subiendo poco a poco de un ajuste de intensidad de "0" a un ajuste de "5" durante este periodo. Se retiró entonces una alícuota de 50  $\mu$ l de la suspensión del péptido para los ensayos de aplicación tópica y se mantuvo en hielo durante ~ 2 h; el resto se dividió en dos alícuotas de ~ 475  $\mu$ l y se mantuvo en hielo durante ~ 2 h.

Cálculos de la dosis de toxina:

$$1,5 \mu\text{g}/\mu\text{l} \times 2 \mu\text{l}/\text{aplicación} \times 10^6 \text{ pg}/1 \mu\text{g} \times 1 \text{ pmol}/4050 \text{ pg} \times 1 \text{ mosca}/0,016 \text{ g} = 46.875 \text{ pmol}/\text{g}$$

La aplicación tópica de las soluciones de toxina y los resultados de las mismas. Se prepararon soluciones de reserva de  $\omega$ -ACTX en Etanol como se ha descrito anteriormente. La Tabla 11, posterior, indica las recetas utilizadas para diluir las soluciones de reserva para la aplicación tópica a las moscas domésticas:

Tabla 11 (anterior): Formulaciones de Etanol/DMSO

Tratamiento nº (dosis)	$\omega$ -ACTX	DMSO	90 % EtOH/10 %DMSO	Volumen Total
1-removido (46.875 pmol/g)	50 $\mu$ l de reserva -1 de $\omega$ -ACTX	5 $\mu$ l	-	55 $\mu$ l
2-removido (9.375 pmol/g)	10 $\mu$ l solución de tratamiento 1	-	40 $\mu$ l	50 $\mu$ l
3-removido + sonificado (46.875 pmol/g)	50 $\mu$ l de reserva-2 de $\omega$ -ACTX	5 $\mu$ l	-	55 $\mu$ l
4- removido + sonificado (9.375 pmol/g)	10 $\mu$ l solución de tratamiento 3	-	40 $\mu$ l	50 $\mu$ l

Las moscas tratadas se mantuvieron en recipientes con acceso *ad libitum* al alimento y el agua y se valoró la mortalidad (y el comportamiento espasmódico, presumiblemente resultante de la alteración de las normas fisiológicas por acción de la toxina) a partir de ese momento como se indica en la Tabla 12 posterior:

Tabla 12 (anterior) Resultados del tratamiento con Etanol/DMSO

Tratamiento	N	Muertas (7,5 h)	Muertas (14 h)	Muertas (24 h)	Muertas (40 h)	Muertas (48 h)	Muertas (76 h)
9.000 pmol/g removido	10	0 (1 con espasmos)	1	1	2 (1 con espasmos)	2 (2 con espasmos)	3 (1 con espasmos)
45.000 pmol/g removido	10	1 (2 con espasmos)	6	6 (1 con espasmos)	8	8	8
9.000 pmol/g sonificado	10	2 (2 con espasmos)	2 (1 con espasmos)	2 (2 con espasmos)	3	3	3 (1 con espasmos)
45.000 pmol/g sonificado	10	5 (2 con espasmos)	8	9	9	9	9

Este experimento demuestra que la sonicación de la  $\omega$ -ACTX suspendida en etanol aumenta la actividad insecticida tóxica de la formulación de toxina resultante.

La sonicación de los precipitados de omega-ACTX-Hv1a en etanol-DMSO aumenta la actividad insecticida de la toxina omega aumentando la mortalidad de las moscas domésticas tratadas por contacto, hasta las 24 h post-aplicación.

### Ejemplo 5

Las toxinas eran:

#### 1) $\omega$ -ACTX-Hv1a+2:

GSSPT CIPSG QPCPY NENCC SQSCT FKENE NGNTV KRCD (SEQ ID. NO. 117) tiene tres puentes disulfuro: 6-20, 13-24 y 19-38. Peso molecular: 4199. Inyección DL50 en la mosca doméstica: 77 pmol/g

#### 2) rKappa-ACTX-Hv1c:

GSAIC TGADR PCAAC CPCCP GTSCCK AESNG VSYCR KDEP SEQ ID. NO. 118 tiene cuatro puentes disulfuro: 5-19, 12-24, 15-16, 18-34 Recombinante de pDR2 (pET-32a). Peso molecular: 3912,15 Inyección DL50 en mosca doméstica: 389 pmol/g

#### 3) rU-ACTX-Hv1a+2:

GSQYC VPVDQ PCSLN TQPCC DDATC TQERN ENGHT VYYCR A SEQ ID. NO. 119 tiene tres puentes disulfuro: 5-20, 12-25, 19-39 Peso molecular: 4570,51 Inyección DL50 en mosca doméstica: 81,5 pmol/g

Preparación de mezclas para el tratamiento tóxico:

Las recetas para las reservas de toxina utilizadas para formular las mezclas de tratamiento eran las siguientes:

**Reserva 1:**  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2: una alícuota de 1,5 mg de toxina secada por congelación suspendida en 850  $\mu$ l de etanol y sonicada durante 10-15 segundos con subida poco a poco desde el ajuste "0" hasta el ajuste "5" en el sonicador para crear partículas finas.

**Reserva 2:** rU-ACTX-Hv1a+2 una alícuota de 1,5 mg de toxina secada por congelación suspendida en 900  $\mu$ l de

acetona y sonicada durante 10-15 segundos con subida poco a poco desde el ajuste "0" hasta el ajuste "5" en el sonicador para crear partículas finas.

Reserva 3: rU-ACTX-Hv1a+2: una alícuota de 1,5 mg de toxina secada por congelación suspendida en 900 µl metanol y sonicada durante 10-15 segundos con subida poco a poco desde el ajuste "0" hasta el ajuste "5" en el sonicador para crear partículas finas.

Reserva 4: rKappa-Hv1c+2: una alícuota de 1,5 mg de toxina secada por congelación suspendida en 900 µl acetona y sonicada durante 10-15 segundos con subida poco a poco desde el ajuste "0" hasta el ajuste "5" en el sonicador para crear partículas finas.

Reserva 5: rKappa-Hv1c+2: una alícuota de 1,5 mg de toxina secada por congelación suspendida en 900 µl metanol y sonicada durante 10-15 segundos con subida poco a poco desde el ajuste "0" hasta el ajuste "5" en el sonicador para crear partículas finas.

La preparación final de mezclas para las aplicaciones tópicas se hizo mezclando reservas con otros reactivos como se enumera a continuación:

Control 1 - Etanol + 0,05 % LI-700 - 475 µl Etanol. 25 µl 1 % LI-700 en Etanol

Control 2 - Etanol + 0,01 % LI-700 - 495 µl Etanol. 5 µl 1 % LI-700 en Etanol

Control 3 - Etanol + 0,1 % MSO® - 450 µl Etanol. 50 µl 1 % MSO® en Etanol

Control 4 - Etanol + 0,02 % MSO® - 490 µl Etanol. 10 µl 1 % MSO® en Etanol

Tratamiento 1 - ω-ACTX-Hv1a+2 Precipitada Etanol + 10 % DMSO + 0.05 % Silwet - 425 µl de reserva 1 25 µl 1 % Silwet en Etanol. 50 µl DMSO

Control 5 - Etanol + 10 % DMSO + 0.05 % Silwet - 425 µl Etanol 25 µl 1 % Silwet en Etanol. 50 µl DMSO

Tratamiento 2 - rU-ACTX-Hv1a+2 precipitada en Acetona + 10 % DMSO - 450 µl de reserva 2. 50 µl DMSO

Tratamiento 3 - rU-ACTX-Hv1a+2 precipitada en metanol + 10 % DMSO - 450 µl de reserva 3. 50 µl DMSO

Tratamiento 4 - rKappa-ACTX-Hv1c precipitada en Acetona + 10 % DMSO - 450 µl de reserva 4. 50 µl DMSO

Tratamiento 5 - rKappa-ACTX-Hv1c precipitada en metanol + 10 % DMSO - 450 µl de reserva 5. 50 µl DMSO

Control 6 - Acetona + 10 % DMSO - 450 µl Acetona. 50 µl DMSO

Control 7 - Metanol + 10 % DMSO - 450 µl metanol. 50 µl DMSO

Control 8 - Etanol + 10 % DMSO - 450 µl Etanol. 50 µl DMSO

Administración y aplicación de la formulación.

Aplicación tópica de gotas de 2 µl en el abdomen ventral de moscas domésticas de entre 12-18 mg con micropipetas P10, como se describe en los ejemplos anteriores. Tras la aplicación, a las moscas se les proporcionó alimento y agua *ad libitum* y se observó su mortalidad.

Resultados de las mezclas de tratamientos tópicos. Tabla 13 (a continuación).

Tratamiento	6 h.		24 h.		42 h.	
LI-700 (n = 10)	Muertas	con espasmos/ Morib	Muertas	con espasmos/ Morib	Muertas	con espasmos/ Morib
Control 1 - etanol + 0,05 % LI-700	0	4/0	0	3/1	1	1/1
Control 2 - etanol + 0,01 % LI-700	0	6/0	1	4/1	1	4/2
MSO (n = 10)						
Control 3 - etanol + 0,1 % MSO®	2	4/1	2	4/0	3	2/1
Control 4 - etanol + 0,02 % MSO®	0	7/0	1	5/0	4	1/1
Silwet (n = 10, ~45.000 pmol/g)						
Tratamiento 1 - ω-ACTX-Hv1a+2 precipitada + ~10 % DMSO + 0,05 % Silwet	2	3/0	7	1/2	10	0/0
Control 5 - etanol + ~10 % DMSO + 0,05 % Silwet	1	0/0	1	0/0	2	0/0
Precipitación en acetona/metanol (n = 10, ~45.000 pmol/g)						
Tratamiento 2 - rU-ACTX-Hv1a+2 precipitada en acetona + 10 % DMSO	0	0/0	1	2/0	5	2/0

Tratamiento 3 - <u>rU-ACTX-Hv1a+2</u> precipitada en metanol + 10 % DMSO	0	0/0	2	1/0	5	2/0
Tratamiento 4 - <u>rKappa-ACTX-Hv1c+2</u> precipitada en acetona* + 10 % DMSO	0	1/0	0	1/0	5	3/0
Tratamiento 5 - <u>rKappa-ACTX-Hv1c +2</u> precipitada en metanol* + 10 % DMSO	0	1/0	1	1/0	4	0/0
Control 6 - Acetona + 10 % DMSO	0	0/0	1	0/0	2	0/0
Control 7 - metanol + 10 % DMSO	0	0/0	0	0/0	1	0/0
Control 8 - etanol + 10 % DMSO	0	0/0	0	0/0	0	0/0

5 Las concentraciones de LI-700 por debajo de 0,01 % daban como resultado una alteración considerable del comportamiento de las moscas tratadas, y posiblemente algo de mortalidad también. Las concentraciones de MSO® por debajo de 0,02 % daban como resultado una alteración considerable del comportamiento de las moscas tratadas y también una considerable mortalidad (es decir, del 30-40 %). El Silwet, 0,05 %, podía potenciar ligeramente la actividad insecticida tóxica de las suspensiones de toxina omega/etanol/DMSO en este paradigma experimental. Basándose en los resultados que se presentan aquí y otros estudios no desvelados, la potenciación estaría en el intervalo del 15-20 %.

10 Las formulaciones que se aplicaban tópicamente del híbrido y la atracotoxina kappa-1s eran insecticidas cuando el 90 % de acetona o el 90 % de metanol se sustituían por un 90 % de etanol. Las formulaciones con acetona y metanol de la toxina híbrida podían ser ligeramente menos insecticidas que la formulación de etanol ensayada anteriormente. Los inventores creen que las formulaciones de acetona y metanol dan como resultado niveles equivalentes o mayores de actividad insecticida cuando se comparan con las formulaciones de kappa toxina y etanol.

#### 20 Ejemplo 6 (ejemplo de referencia)

La toxina para aplicación tópica es  $\omega$ -ACTX-Hv1a:

SPTCIPSGQPCYNENCCSQSCTFKENENGNTVKRCD (SEQ ID. NO. 60) que tiene un peso molecular: 4050. DL50 en la mosca doméstica: 90,2 pmol/g. Se prepararon alícuotas secadas por congelación de 1,5 mg de toxina preparada a partir de reservas congeladas.

25 Administración y aplicación de la formulación

Aplicación tópica: grupos de diez moscas domésticas (*Musca domestica*) de investigaciones Benzon, que pesaban entre 12-20 mg (peso medio 16 mg), cada una recibió una aplicación con micropipeta de 2  $\mu$ l de precipitado de toxina suspendido en Etanol-DMSO en la superficie torácica dorsal del cuerpo.

30 Preparación de las soluciones de reserva para el tratamiento tópico:

35 Reserva 1 (preparación de etanol removida y sonicada): se añadieron 0,9 ml de etanol a ~ 1500  $\mu$ g de  $\omega$ -ACTX liofilizada, y la mezcla resultante se removió vigorosamente, y luego se sonicó ~10-15 seg, se aumentó poco a poco el ajuste de intensidad "0" al ajuste "5" durante este periodo. Se añadieron entonces 0,1 ml de DMSO a la suspensión de toxina, la mezcla resultante se removió, y se retiró una alícuota de 100  $\mu$ l de la suspensión alcohol-DMSO-péptido para los ensayos de aplicación tópica y se mantuvo en hielo durante ~ 2 h.

40 Reserva 2 (preparación de 1-propanol removida y sonicada): se añadieron 0,9 ml de 1-propanol a ~ 1500  $\mu$ g de  $\omega$ -ACTX liofilizada, y la mezcla resultante se removió vigorosamente, y luego se sonicó ~10-15 seg, se aumentó poco a poco el ajuste de intensidad "0" al ajuste "5" durante este periodo. Se añadieron entonces 0,1 ml de DMSO a la suspensión de toxina, la mezcla resultante se removió, y se retiró una alícuota de 100  $\mu$ l de la suspensión alcohol-DMSO-péptido para los ensayos de aplicación tópica y se mantuvo en hielo durante ~ 2 h.

45 Reserva 3 (preparación de 2-propanol removida y sonicada): se añadieron 0,9 ml de 2-propanol a ~1500  $\mu$ g de  $\omega$ -ACTX liofilizada, y la mezcla resultante se removió vigorosamente, y luego se sonicó durante ~ 10-15 seg, se aumentó poco a poco el ajuste de intensidad "0" al ajuste "5" durante este periodo. Se añadieron entonces 0,1 ml de

DMSO a la suspensión de toxina, la mezcla resultante se removió, y se retiró una alícuota de 100 µl de la suspensión alcohol-DMSO-péptido para los ensayos de aplicación tópica y se mantuvo en hielo durante ~ 2 h.

- 5 Reserva 4 (preparación de 2-butanol removida y sonicada): se añadieron 0,9 ml de 2-butanol a ~ 1500 µg de ω-ACTX liofilizada, y la mezcla resultante se removió vigorosamente, y luego se sonicó durante 10-15 seg, se aumentó poco a poco del ajuste de intensidad "0" al ajuste "5" durante este periodo. Se añadieron entonces 0,1 ml de DMSO a la suspensión de toxina, la mezcla resultante se removió, y se retiró una alícuota de 100 µl de la suspensión alcohol-DMSO-péptido para los ensayos de aplicación tópica y se mantuvo en hielo durante ~ 2 h.
- 10 Se señala que cada reserva se hizo a una concentración tal que la aplicación de 2 µl de la reserva en la superficie corporal de una mosca doméstica de ~ 16 mg resultara en una dosis de toxina de ~ 45.000 pmol/g. Por lo tanto, en algunos casos que se describen posteriormente, se aplicaba tópicamente una de las cuatros reservas descritas anteriormente de potencia completa en las moscas domésticas, pero en otros casos se llevaban a cabo diluciones en serie de cinco veces (utilizando las reservas y la solución del 90 % de alcohol-10 % de DMSO correspondiente)
- 15 con el fin de obtener una solución que se podía utilizar para suministrar una dosis de toxina menor en un volumen de 2 µl. Los procedimientos de control negativo (que se indican como "-ve" en la tabla posterior) comprende las moscas domésticas tratadas con aplicaciones de 2 µl torácicas dorsales de soluciones del alcohol en cuestión (diluido hasta el 90 % v/v con DMSO).
- 20 Aplicación tópica de las soluciones de toxina y los resultados de la misma:  
Las soluciones de reserva de ω-ACTX en varios alcoholes se prepararon como se ha descrito anteriormente. La Tabla 14 a continuación indica las formulaciones de reserva y la dosificación utilizada para la aplicación tópica a las moscas domésticas y la mortalidad observada para los correspondientes grupos de moscas:

Tratamiento	Nº de moscas tratadas	Muertas (~16 h)	Muertas (24 h)	Muertas (52 h)	Muertas (64 h)
1-Propanol -ve	10	0	0	0	0
1-Propanol 9.000 pmol/g	10	0	0	1	1
1-Propanol 45.000 pmol/g	10	1 (1 con espasmos)	2 (1 con espasmos)	2 (1 con espasmos)	2 (1 con espasmos)
2-Propanol-ve	10	1 (2 con espasmos)	2 (1 con espasmos)	3	3
2-Propanol 9.000 pmol/g	10	3 (2 con espasmos)	4 (1 con espasmos)	4	4
2-Propanol 45.000 pmol/g	10	5 (3 con espasmos)	5 (3 con espasmos)	8	8
2-Butanol -ve	10	5	7	7	7
2-Butanol 9.000 pmol/g	10	6	6 (1 con espasmos)	6 (1 con espasmos)	7 (2 con espasmos)
Etanol-ve	7	0	0	0	0
Etanol 1.800 pmol/g	10	0	1	1	1
Etanol 9.000 pmol/g	10	2	2	2	2 (2 con espasmos)
1-Octanol -ve	10	10	10	10	10

- 25 Tabla 14 (anterior). Resultados de la aplicación tópica de soluciones de toxina. Cuando se normalizó con la mortalidad observada en los grupos de control negativo (dosificados con la correspondiente solución de alcohol-DMSO), los precipitados de toxina omega parecen tener una actividad insecticida tan grande o mayor que otros precipitados de toxina en alcohol ensayados en estas series de experimentos.

- 30 El 90 % octanol - 10 % de DMSO, 90 % 2-butanol - 10 % DMSO, y 90 % 2-propanol - 10 % DMSO parece que producen niveles inaceptables de mortalidad de fondo, el último podría presumiblemente enmascarar la mortalidad debido al sitio de acción diana de la toxina omega en las moscas domésticas tratadas. El 90 % de 1-propanol - 10 % de DMSO no parece causar niveles inaceptables de mortalidad de fondo, pero también parece que no potencia el
- 35 sitio de actividad diana de la toxina aplicada así como el 90 % de etanol -10 % de DMSO.

**Ejemplo 7**

Toxina para aplicar tópicamente

$\omega$ -ACTX-Hv1a+2: GSSPTCIPSGQPCPYNENCCSQSCTFKENENGNTVKRCD

5 (SEQ ID. NO. 117). Peso molecular: 4196

Alícuotas secadas por congelación de 1,5 mg de toxina preparada a partir de reservas congeladas

Preparación de la mezcla de tratamiento

10 Todos los tratamientos se hicieron a una concentración final de 1,5  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2. Como anteriormente, se añadió etanol a ~ 1500  $\mu\text{g}$  de muestras de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2 liofilizada, la mezcla resultante se removió vigorosamente, luego se sonicó ~ 10-15 s, se aumentó poco a poco desde una intensidad fijada en "0" a fijada en "5" durante este periodo. Se añadieron ingredientes adicionales tales como DMSO, MSO®, agua, y detergente Tween 20 después de la sonicación, y las mezclas resultantes se removieron vigorosamente antes de la aplicación tópica con el

15 fin de asegurar la mezcla uniforme de ingredientes. Asumiendo un peso medio de las moscas de 16 mg (cohorte de 12-20 mg) la dosificación se calculó de la siguiente manera:

$$3 \mu\text{g}/\text{insecto} \times 1 \mu\text{mol}/4196 \mu\text{g} \times 10^6 \text{ pmol}/1 \mu\text{mol} \times 1 \text{ insecto}/0,016 \text{ g} = 44.685 \text{ pmol}/\text{g de dosis}$$

20 Las recetas para las reservas de toxina que se utilizaron para las mezclas de tratamiento eran las siguientes:

Reserva 1 – 1,5 mg de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2 liofilizada disuelta en 500  $\mu\text{l}$  de etanol, removida y sonicada.

Reserva 2 – 1,5 mg de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2 liofilizada disuelta en 150 de agua estéril (10 mg/ml).

25

Ensayos tópicos que utilizan  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2 con DMSO:

Las recetas para las mezclas de tratamiento eran las siguientes:

30 Solución de 45.000 pmol/g de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2, un 90 % de etanol/un 10 % de DMSO (+-ve control) -50  $\mu\text{l}$  de reserva 1, 40  $\mu\text{l}$  etanol, 10  $\mu\text{l}$  DMSO.  
un 90 % de Agua/un 10 % de DMSO/un 0,1 % de Tween 20 (-ve control) – 7,5  $\mu\text{l}$  de reserva 2, 82,5  $\mu\text{l}$  de agua estéril, 10  $\mu\text{l}$  DMSO. 1  $\mu\text{l}$  10 % Tween 20.  
45.000 pmol/g de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2, un 80 % de etanol/un 10 % de Agua/un 10 % de DMSO - 50  $\mu\text{l}$  de

35 reserva 1, 30  $\mu\text{l}$  de etanol, 10  $\mu\text{l}$  de agua estéril, 10  $\mu\text{l}$  DMSO.  
45.000 pmol/g de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2, un 70 % de etanol/un 20 % de Agua/un 10 % de DMSO - 50  $\mu\text{l}$  de reserva 1, 20  $\mu\text{l}$  de etanol, 20  $\mu\text{l}$  de agua estéril, 10  $\mu\text{l}$  de DMSO.  
45.000 pmol/g de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2, un 60 % de etanol/un 30 % de Agua/un 10 % de DMSO - 50  $\mu\text{l}$  de reserva 1, 10  $\mu\text{l}$  de etanol, 30  $\mu\text{l}$  de agua estéril, 10  $\mu\text{l}$  de DMSO.

40 45.000 pmol/g de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2, un 50 % de etanol/un 30 % de Agua/un 10 % de DMSO - 50  $\mu\text{l}$  de reserva 1, 40  $\mu\text{l}$  de agua estéril, 10  $\mu\text{l}$  DMSO.

Para el ensayo tópico utilizando  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2 con tensioactivo MSO®:

45 Un 5 % de MSO® (-ve control) – 95  $\mu\text{l}$  de etanol, 5  $\mu\text{l}$  de concentrado de MSO®.  
Un 1,25 % de MSO® (-ve control) – 98,75  $\mu\text{l}$  de etanol, 1,25  $\mu\text{l}$  de concentrado de MSO®.  
45.000 pmol/g de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2, un 5 % de MSO® - 50  $\mu\text{l}$  de reserva 1, 45  $\mu\text{l}$  de etanol, 5  $\mu\text{l}$  de concentrado de MSO®.  
45.000 pmol/g de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2, un 2,5 % de MSO® - 25  $\mu\text{l}$  de reserva 1, 23,75  $\mu\text{l}$  de etanol, 1,25  $\mu\text{l}$  de

50 concentrado de MSO®.  
45.000 pmol/g de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2, un 1,25 % de MOS® - 25  $\mu\text{l}$  de reserva 1, 24,37  $\mu\text{l}$  de etanol, 0,625  $\mu\text{l}$  de concentrado de MSO®.  
Todas las mezclas de tratamiento se mantuvieron en hielo durante ~ 1 h antes de la administración y aplicación.

55 Administración y aplicación de la formulación

Se salpicaron muestras de 2  $\mu\text{l}$  de cada mezcla de tratamiento en el tórax dorsal de moscas domésticas individuales (10 moscas domésticas tratadas por mezcla). Un segundo grupo de 10 moscas se trataron cada una con muestras de 2  $\mu\text{l}$  de 45.000 pmol/g de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2 en un 90 % de etanol/ un 10 % de DMSO pero con el tratamiento aplicado en la superficie ventral de las moscas en vez de en la superficie torácica dorsal. Tras la aplicación, las moscas se mantuvieron en recipientes de plástico con acceso *ad libitum* al alimento (1:1 mezcla de leche en polvo seca y azúcar de mesa) y agua (presentada en bolas de algodón empapadas) y se observaron cada 8-24 h durante dos días.

60

65 Resultados de la aplicación tópica de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2. La mortalidad post-aplicación (y el comportamiento "espasmódico" y "moribundo", ambos que resultan presumiblemente de la alteración de las normas fisiológicas por

acción de la toxina) se resumen en la Tabla 15, a continuación.

Tabla 15 (anterior).

Tratamiento	N	Muertas (4 h)	Muertas (14 h)	Muertas (22 h)	Muertas (38 h)	Muertas (48 h)
-ve 90EtOH/ 10DMSO	10	0	0	0	0	0
45.000 pmol/g 90EtOH/10DMSO	10	1	2	3	5	5 (1 con espasmos)
45.000 pmol/g 80EtOH/10H2O/ 10DMSO	10	0	1	2 (1 con espasmos)	4	4 (1 con espasmos)
45.0000 pmol/g 70EtOH/20H2O/ 10DMSO	10	0	0	0	0	0
45.0000 pmol/g 60EtOH/30H2O/ 10DMSO	10	0	0	0	0	0
45.0000 pmol/g 50EtOH/40H2O/ 10DMSO	10	0	0	0	1	1
45.000 pmol/g 90H2O/10DMS O	10	0	1	0	1	1 (3 con espasmos)
-ve 5 % MSO®	10	0	0	0	0	1
-ve 1,25 % MSO®	10	0	0 (1 morib)	1	1 (1 morib)	1
45.000 pmol/g 5 % MSO®	10	2 (1 con espasmos)	4 (1 morib)	4	4 (1 morib)	5 (1 con espasmos)
45.000 pmol/g 2,5 % MSO®	10	0	3	4	4 (1 con espasmos)	5 (1 con espasmos)
45.000 pmol/g 1,25 % MSO®	10	1	1	1	5 (1 con espasmos)	6 (1 con espasmos)
45.000 pmol/g 90EtOH/10DMSO ABDOMEN	10	0	1 (3 con espasmos)	5 (1 con espasmos)	5 (1 con espasmos)	7

- 5 Resultados de los ensayos tópicos de preparaciones con DMSO, etanol y MSO® de  $\omega$ -ACTX-Hv1a+2, administrada tópicamente. Los números anteriores se describen a continuación.

- 10 Número 1 – la adición de un 10 % de agua a los precipitados de toxina omega en las soluciones de etanol/DMSO parece reducir la actividad insecticida tópica del precipitado en las condiciones ensayadas anteriormente.
- 10 Número 2 – la adición de un 20 %, 30 %, y 40 % de agua a los precipitados de toxina omega en las soluciones de etanol/DMSO parece que elimina completamente la actividad insecticida tópica del precipitado en las condiciones ensayadas anteriormente.
- 15 Número 3 – la disolución/dilución de la toxina en un 90 % de agua/un 10 % de DMSO da como resultado una solución sin actividad insecticida en las condiciones ensayadas anteriormente.
- 15 Número 4 – la sustitución del 10 % de DMSO con un 1,25 % de MSO®, o un 5 % de MSO® da como resultado aparentemente mezclas con actividad insecticida significativa en las condiciones ensayadas anteriormente.
- 20 Número 5 – en las condiciones experimentales utilizadas anteriormente, la aplicación abdominal del precipitado (de toxina omega en un 90 % de etanol /un 10 % de DMSO) parece que induce la mortalidad del insecto con una velocidad y eficacia similar a, si no mayor que, la inducción de la mortalidad por la aplicación torácica dorsal de la misma mezcla de precipitado. Como la aplicación abdominal ventral puede ejecutarse aproximadamente dos veces más rápidamente que la aplicación torácica dorsal, esto apunta una mejoría técnica significativa para bioensayos futuros de aplicación tópica.

#### 25 Ejemplos adicionales de péptidos tóxicos y el listado de secuencias

- 25 Los péptidos tóxicos para insectos se refieren a péptidos que no son de insectos tóxicos, sino que son tóxicos para insectos. Su fuente no es necesariamente de insectos. En el listado de secuencias de esta solicitud se proporcionan una gran cantidad de péptidos tóxicos para insectos. Esta pequeña selección de aproximadamente 174 péptidos incluye los péptidos representativos de arañas, escorpiones y plantas. Las secuencias 1-140 son de arañas tela de embudo, las secuencias 141 a 171 son de escorpiones y las secuencias 172 a 174 son de plantas. El listado de
- 30

secuencias incluye ejemplos de péptidos en los que la fuente es *Oldenlandia affinis* que se sabe que produce un péptido cíclico al que se hace referencia como péptido tipo "Kalata". Se sabe que la familia de plantas *Oldenlandia* produce péptidos que tienen actividad insecticida. Se conocen otros péptidos insecticidas de plantas. También se proporcionan numerosos venenos peptídicos de arañas, que se tratan a lo largo de la presente solicitud.

5

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Vestaron Corporation Tedford, William McIntyre, John Russell, Daniel Carlson, Peter

10

<120> Formación de toxina peptídica

<130> 225312/128177

15

<150> US 61/101825

<151> 01-10-2008

<160> 174

20

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 41

<212> PRT

<213> *Atrax robustus*

25

<400> 1

Gly Ser Gln Tyr Cys Ala Pro Ala Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr  
1 5 10 15

Gln Pro Cys Cys Asp Asp Val Thr Cys Thr Gln Glu Arg Asn Glu Asn  
20 25 30

Gly His Thr Ala Tyr Tyr Cys Arg Val  
35 40

30

<210> 2

<211> 98

<212> PRT

<213> *Hadronyche versuta*

35

<400> 2

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
1 5 10 15

Ala Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Lys Asn  
20 25 30

Gly Leu Glu Ser Gln Thr Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
35 40 45

Ser Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn  
50 55 60

ES 2 582 207 T3

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

Thr Met Gly Leu Cys Val Pro Asn Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile  
85 90 95

Leu Gly

<210> 3  
<211> 98  
<212> PRT  
<213> *Atrax robustus*

5

<400> 3

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
1 5 10 15

Ala Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Lys Asn  
20 25 30

Gly Leu Glu Ser Gln Thr Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
35 40 45

Ser Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn  
50 55 60

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

Thr Met Gly Leu Cys Val Pro Asn Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile  
85 90 95

Leu Gly

<210> 4  
<211> 98  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*

10

<400> 4

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
1 5 10 15

Ala Ile Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Lys Asn  
20 25 30

15

ES 2 582 207 T3

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

Ser Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn  
 50 55 60

Arg Val Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys  
 65 70 75 80

Thr Met Gly Leu Cys Val Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile  
 85 90 95

Leu Gly

5 <210> 5  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 5

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Ala Ile Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Lys Asn  
 20 25 30

Asp Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asn  
 35 40 45

Ser Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn  
 50 55 60

Arg Val Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys  
 65 70 75 80

Thr Met Gly Leu Cys Val Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile  
 85 90 95

10 Leu Gly  
 <210> 6  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 15 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 6

ES 2 582 207 T3

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Ala Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Lys Asn  
 20 25 30

Gly Leu Glu Ser Gln Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
 35 40 45

Ser Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn  
 50 55 60

Arg Val Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys  
 65 70 75 80

Thr Met Gly Leu Cys Val Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile  
 85 90 95

Leu Gly

- <210> 7
- <211> 98
- <212> PRT
- <213> *Hadronyche versuta*

5

<400> 7

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Val Ile Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Lys Asn  
 20 25 30

Gly Leu Glu Ser Gln Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
 35 40 45

Ser Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn  
 50 55 60

Arg Val Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys  
 65 70 75 80

Thr Met Gly Leu Cys Val Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile  
 85 90 95

Leu Gly

10

ES 2 582 207 T3

<210> 8  
 <211> 93  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

5 <400> 8

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15  
 Ala Leu Phe Val Leu Cys Asp Phe Met Lys Asn Gly Leu Glu Ser Gln  
 20 25 30  
 Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Ser Ile Asp Ser Glu Asn Pro Asp  
 35 40 45  
 Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn Arg Val Cys Ser Ser  
 50 55 60  
 Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys Thr Met Gly Leu Cys  
 65 70 75 80  
 Val Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile Leu Gly  
 85 90

10 <210> 9  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

15 <400> 9

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15  
 Val Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Lys His  
 20 25 30  
 Gly Leu Glu Ser Gln Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
 35 40 45  
 Ser Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn  
 50 55 60  
 Arg Val Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys  
 65 70 75 80

ES 2 582 207 T3

Thr Met Gly Leu Cys Val Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile  
 85 90 95

Leu Gly

5 <210> 10  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 10

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Ala Ile Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Lys Asn  
 20 25 30

Asp Leu Glu Ser Gln Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asn  
 35 40 45

Ser Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn  
 50 55 60

Arg Val Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys  
 65 70 75 80

Thr Met Gly Leu Cys Val Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile  
 85 90 95

10 Leu Gly

15 <210> 11  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 11

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Ala Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Lys Asn  
 20 25 30

Gly Leu Glu Ser Gln Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
 35 40 45

ES 2 582 207 T3

Ser Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn  
 50 55 60

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

Thr Met Gly Leu Cys Val Pro Asn Val Gly Gly Leu Val Gly Asp Ile  
 85 90 95

Leu Gly

5 <210> 12  
 <211> 97  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 12

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Val Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Glu Asp Phe Met Lys Asn Gly  
 20 25 30

Leu Glu Ser Gln Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp Ser  
 35 40 45

Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn Arg  
 50 55 60

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

Met Gly Leu Cys Val Pro Asn Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile Leu  
 85 90 95

10 Gly

15 <210> 13  
 <211> 93  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 13

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln

ES 2 582 207 T3

```

1           5           10           15
Ala Leu Phe Val Leu Cys Asp Phe Met Lys Asn Gly Leu Glu Ser Gln
      20           25           30
Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp Ser Glu Asn Pro Asp
      35           40           45
Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn Arg Val Cys Ser Ser
      50           55           60
Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys Thr Met Gly Leu Cys
65           70           75           80
Val Pro Asn Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile Leu Gly
      85           90

```

<210> 14  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

5

<400> 14

```

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln
1           5           10           15
Ala Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Lys Asn
      20           25           30
Gly Leu Glu Ser Gln Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp
      35           40           45
Ser Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn
      50           55           60
Arg Ile Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys
65           70           75           80
Thr Met Gly Leu Cys Val Pro Asn Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile
      85           90

```

10

Leu Gly

<210> 15  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

15

ES 2 582 207 T3

<400> 15

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Ala Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Lys Asn  
 20 25 30

Gly Leu Glu Ser Gln Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
 35 40 45

Ser Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Asn  
 50 55 60

Arg Val Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys  
 65 70 75 80

Thr Met Gly Leu Cys Val Pro Asn Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile  
 85 90 95

Leu Gly

- 5 <210> 16
- <211> 98
- <212> PRT
- <213> *Hadronyche versuta*

10 <400> 16

ES 2 582 207 T3

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15  
 Ala Ile Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Lys Asn  
 20 25 30  
 Asp Leu Glu Ser Gln Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asn  
 35 40 45  
 Ser Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Leu Leu Asp Ser  
 50 55 60  
 Arg Val Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys  
 65 70 75 80  
 Thr Met Gly Leu Cys Val Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Ile  
 85 90 95

Leu Gly

- <210> 17
- <211> 96
- <212> PRT
- <213> *Atrax robustus*
- <400> 17

5

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Ile Thr Leu Ala Val Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15  
 Ala Val Phe Val Phe Cys Gly Met Thr Asn Glu Asp Phe Met Glu Lys  
 20 25 30  
 Gly Leu Glu Ser Asn Glu Leu Pro Asp Ala Ile Lys Lys Pro Val Asn  
 35 40 45  
 Ser Gly Lys Pro Asp Thr Lys Arg Leu Leu Asp Cys Val Leu Ser Arg  
 50 55 60  
 Met Cys Phe Ser Asn Ala Asn Cys Cys Gly Leu Thr Pro Pro Cys Lys  
 65 70 75 80  
 Met Gly Leu Cys Val Pro Asn Val Gly Gly Leu Leu Gly Gly Ile Leu  
 85 90 95

10

<210> 18

ES 2 582 207 T3

<211> 96  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

5 <400> 18

Met	Lys	Phe	Ser	Lys	Leu	Ser	Ile	Thr	Leu	Ala	Val	Ile	Leu	Thr	Gln
1				5					10					15	
Ala	Val	Phe	Val	Phe	Cys	Gly	Met	Thr	Asn	Glu	Asp	Phe	Met	Glu	Lys
			20					25					30		
Gly	Leu	Glu	Ser	Asn	Glu	Leu	His	Asp	Ala	Ile	Lys	Lys	Pro	Val	Asn
		35					40					45			
Ser	Gly	Lys	Pro	Asp	Thr	Glu	Arg	Leu	Leu	Asp	Cys	Val	Leu	Ser	Arg
	50					55					60				
Met	Cys	Ser	Ser	Asp	Ala	Asn	Cys	Cys	Gly	Leu	Thr	Pro	Thr	Cys	Lys
65						70				75					80
Met	Gly	Leu	Cys	Val	Pro	Asn	Val	Gly	Gly	Leu	Leu	Gly	Gly	Ile	Leu
				85					90					95	

10 <210> 19  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

15 <400> 19

ES 2 582 207 T3

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Ala Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Glu His  
 20 25 30

Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
 35 40 45

Thr Glu Lys Ala Asp Ala Glu Arg Leu Val Asp Cys Val Val Asn Thr  
 50 55 60

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

Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Ser Val Arg Gly Leu Val Gly Gly Leu  
 85 90 95

Leu Gly Arg Ala Leu  
 100

5

- <210> 20
- <211> 101
- <212> PRT
- <213> *Hadronyche versuta*
- <400> 20

ES 2 582 207 T3

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Ala Leu Phe Val Leu Cys Met Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Glu Asn  
 20 25 30

Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
 35 40 45

Thr Glu Lys Ala Asp Ala Glu Arg Leu Val Asp Cys Val Val Asn Thr  
 50 55 60

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

Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Leu  
 85 90 95

Leu Gly Arg Ala Leu  
 100

- <210> 21
- <211> 101
- <212> PRT
- <213> *Hadronyche versuta*
- <400> 21

ES 2 582 207 T3

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Phe Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15  
 Ala Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Asp Asn  
 20 25 30  
 Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile His  
 35 40 45  
 Thr Glu Lys Ala Asp Ala Glu Arg Leu Val Asp Cys Val Leu Asn Thr  
 50 55 60  
 Leu Gly Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys  
 65 70 75 80  
 Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Leu  
 85 90 95  
 Leu Gly Arg Ala Leu  
 100

<210> 22  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche infensa*

<400> 22

5

10

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15  
 Ala Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Glu His  
 20 25 30  
 Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
 35 40 45  
 Thr Glu Lys Ala Asp Ala Glu Arg Leu Val Asp Cys Val Val Asn Thr  
 50 55 60  
 Leu Gly Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys  
 65 70 75 80  
 Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Leu  
 85 90 95  
 Leu Gly Arg Ala Leu  
 100

ES 2 582 207 T3

5 <210> 23  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche infensa*

<400> 23

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Val Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Thr Leu Leu Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Glu Asn  
 20 25 30

Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
 35 40 45

Thr Asp Lys Ala Tyr Ala Glu Arg Val Leu Asp Cys Val Val Asn Thr  
 50 55 60

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

Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Leu  
 85 90 95

Leu Gly Arg Ala Leu  
 100

10 <210> 24  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

15 <400> 24

ES 2 582 207 T3

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
1 5 10 15  
Ala Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Glu Asn  
20 25 30  
Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
35 40 45  
Thr Glu Lys Ala Asp Ala Glu Arg Leu Val Asp Cys Val Val Asn Thr  
50 55 60  
Leu Gly Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys  
65 70 75 80  
Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Leu  
85 90 95  
Leu Gly Arg Ala Leu  
100

<210> 25  
<211> 101  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*  
<400> 25

5

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
1 5 10 15  
Ala Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Glu Asn  
20 25 30  
Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
35 40 45  
Thr Glu Lys Ala Asp Ala Glu Arg Val Leu Asp Cys Val Val Asn Thr  
50 55 60  
Leu Gly Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys  
65 70 75 80  
Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Leu  
85 90 95  
Leu Gly Arg Ala Leu  
100

10

ES 2 582 207 T3

<210> 26  
 <211> 100  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

5 <400> 26

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15  
 Ala Leu Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Glu Asn  
 20 25 30  
 Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
 35 40 45  
 Thr Glu Lys Ala Asp Ala Glu Arg Leu Val Asp Cys Val Val Asn Thr  
 50 55 60  
 Leu Gly Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys  
 65 70 75 80  
 Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Ser Val Gly Leu Val Gly Gly Leu Leu  
 85 90 95  
 Gly Arg Ala Leu  
 100

10 <210> 27  
 <211> 97  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

15 <400> 27

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

ES 2 582 207 T3

Ser Gly Lys Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Val Leu Ser Arg  
 50 55 60

Val Cys Ser Ser Asp Glu Asn Cys Cys Gly Leu Thr Pro Thr Cys Thr  
 65 70 75 80

Met Gly Leu Cys Val Pro Asn Val Gly Gly Leu Leu Gly Gly Leu Leu  
 85 90 95

Ser

5 <210> 28  
 <211> 97  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

<400> 28

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Ile Thr Leu Val Val Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Ala Val Phe Val Phe Cys Gly Met Thr Asn Glu Asp Phe Met Glu Lys  
 20 25 30

Gly Phe Lys Ser Asn Asp Leu Gln Tyr Ala Ile Arg Gln Pro Val Asn  
 35 40 45

Ser Gly Lys Pro Asp Thr Glu Arg Leu Leu Asp Cys Val Leu Ser Arg  
 50 55 60

Val Cys Ser Ser Asp Glu Asn Cys Cys Gly Leu Thr Pro Thr Cys Thr  
 65 70 75 80

Met Gly Leu Cys Val Pro Asn Val Gly Gly Leu Leu Gly Gly Leu Leu  
 85 90 95

Ser

10 <210> 29  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 15 <213> *Hadronyche versuta*

<400> 29

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

ES 2 582 207 T3

Ala Leu Leu Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Glu Asn  
 20 25 30

Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Leu Asp  
 35 40 45

Thr Glu Asn Pro Asp Thr Glu Arg Gln Leu Asp Cys Val Leu Asn Thr  
 50 55 60

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

Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Asn Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Leu  
 85 90 95

Leu Gly Arg Ala Leu  
 100

<210> 30  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

5

<400> 30

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Val Leu Leu Val Val Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Glu Asn  
 20 25 30

Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
 35 40 45

Thr Glu Lys Ala Asp Ala Glu Arg Val Leu Asp Cys Val Val Asn Thr  
 50 55 60

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

Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Ser Val Gly Gly Ile Val Gly Gly Leu  
 85 90 95

Leu Gly Arg Ala Leu  
 100

10

<210> 31  
 <211> 101

ES 2 582 207 T3

<212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

<400> 31

5

```

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Ala Gln
 1           5           10           15

Ala Ile Phe Val Leu Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Glu Asn
 20           25           30

Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp
 35           40           45

Thr Glu Lys Ala Asp Ala Glu Arg Val Val Asp Cys Val Leu Asn Thr
 50           55           60

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

Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Leu
 85           90           95

Leu Gly Arg Ala Leu
 100
  
```

<210> 32  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

10

<400> 32

```

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln
 1           5           10           15

Ala Leu Leu Val Val Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Glu Asn
 20           25           30

Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp
 35           40           45

Thr Glu Lys Ala Asp Ala Glu Arg Val Leu Asp Cys Val Val Asn Ile
 50           55           60

Leu Gly Cys Ser Ser Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys
 65           70           75           80
  
```

15

ES 2 582 207 T3

Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Ser Val Gly Gly Ile Val Gly Gly Leu  
 85 90 95

Leu Gly Arg Ala Leu  
 100

5 <210> 33  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

<400> 33

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Ala Leu Leu Val Val Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Glu Asn  
 20 25 30

Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp  
 35 40 45

Thr Glu Lys Ala Asp Ala Glu Arg Val Leu Asp Cys Val Val Asn Thr  
 50 55 60

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

Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Ser Val Gly Gly Ile Val Gly Gly Leu  
 85 90 95

Leu Gly Arg Ala Leu  
 100

10 <210> 34  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 15 <213> *Hadronyche infensa*

<400> 34

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Leu Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Ala Leu Leu Val Val Cys Gly Lys Ile Asn Glu Asp Phe Met Glu Asn  
 20 25 30

Gly Leu Glu Ser His Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Ser Ile Asp  
 35 40 45

ES 2 582 207 T3

Thr Glu Lys Ala Asp Ala Glu Arg Val Leu Asp Cys Val Val Asn Thr  
 50 55 60

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

Thr Leu Gly Ile Cys Ala Pro Ser Val Gly Gly Ile Val Gly Gly Leu  
 85 90 95

Leu Gly Arg Ala Leu  
 100

<210> 35

<211> 95

5 <212> PRT

<213> *Hadronyche versuta*

<400> 35

Met Lys Phe Ser Lys Leu Ser Leu Thr Phe Ala Leu Ile Leu Thr Gln  
 1 5 10 15

Thr Leu Leu Val Leu Cys Asp Phe Met Glu Asn Gly Leu Glu Ser His  
 20 25 30

Ala Leu His Asp Glu Ile Arg Lys Pro Ile Asp Thr Glu Lys Ala Asp  
 35 40 45

Ala Glu Arg Val Leu Asp Cys Val Val Asn Thr Leu Gly Cys Ser Ser  
 50 55 60

Asp Lys Asp Cys Cys Gly Met Thr Pro Ser Cys Thr Leu Gly Ile Cys  
 65 70 75 80

Ala Pro Ser Val Gly Gly Leu Val Gly Gly Leu Leu Gly Arg Ala  
 85 90 95

10

<210> 36

<211> 76

15 <212> PRT

<213> *Hadronyche versuta*

<400> 36

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Leu Gly Gly Val Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met

ES 2 582 207 T3

20

25

30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
 35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Arg  
 50 55 60

Asn Glu Asn Gly His Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 65 70 75

5

<210> 37  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 37

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
 1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Arg Asn Glu Asn Gly His  
 20 25 30

10

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 35

15

<210> 38  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 38

Gly Ser Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
 1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Arg Asn Glu Asn Gly His  
 20 25 30

20

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 35

25

<210> 39  
 <211> 75  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 39



ES 2 582 207 T3

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu  
50 55 60

Asn Glu Asn Asp Asn Thr Val Tyr Tyr Cys Arg  
65 70 75

<210> 42  
<211> 38  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*

5

<400> 42

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu Asn Glu Asn Asp Asn  
20 25 30

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg  
35

10

<210> 43  
<211> 76  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*

15

<400> 43

ES 2 582 207 T3

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Ile  
 1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
 20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
 35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Arg  
 50 55 60

Asn Glu Asn Gly His Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 65 70 75

<210> 44  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 44

5

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
 1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Arg Asn Glu Asn Gly His  
 20 25 30

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 35

10

<210> 45  
 <211> 76  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 45

15

ES 2 582 207 T3

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu  
50 55 60

Asn Glu Asn Ala Asn Pro Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
65 70 75

<210> 46

<211> 39

5 <212> PRT

<213> *Hadronyche versuta*

<400> 46

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu Asn Glu Asn Ala Asn  
20 25 30

Pro Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
35

10

<210> 47

<211> 76

15 <212> PRT

<213> *Hadronyche versuta*

<400> 47

ES 2 582 207 T3

Met Asn Thr Thr Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Ile  
1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu  
50 55 60

Asn Glu Asn Asp Asn Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
65 70 75

<210> 48  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*

5

<400> 48

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu Asn Glu Asn Asp Asn  
20 25 30

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
35

10

<210> 49  
<211> 76  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*

15

<400> 49

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu  
50 55 60

ES 2 582 207 T3

Asn Glu Asn Asp Asn Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 65 70 75

5  
 <210> 50  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 50

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
 1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu Asn Glu Asn Asp Asn  
 20 30

10  
 Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 35

15  
 <210> 51  
 <211> 76  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 51

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Phe Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
 20 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
 35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu  
 50 55 60

20  
 Asn Glu Asn Asp Asn Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 65 70 75

25  
 <210> 52  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 52

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
 1 5 10 15

ES 2 582 207 T3

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu Asn Glu Asn Asp Asn  
20 25 30

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
35

5  
<210> 53  
<211> 76  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*  
<400> 53

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Arg Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu  
50 55 60

10  
Asn Glu Asn Asp Asn Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
65 70 75

15  
<210> 54  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*  
<400> 54

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu Asn Glu Asn Asp Asn  
20 25 30

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
35

20  
<210> 55  
<211> 37  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*  
25  
<400> 55

ES 2 582 207 T3

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
 1 5 10 15

Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Phe Lys Glu Asn Glu Asn Gly Asn Thr  
 20 25 30

Val Lys Arg Cys Asp  
 35

5 <210> 56  
 <211> 45  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

<400> 56

Leu Leu Ala Cys Leu Phe Gly Asn Gly Arg Cys Ser Ser Asn Arg Asp  
 1 5 10 15

Cys Cys Glu Leu Thr Pro Val Cys Lys Arg Gly Ser Cys Val Ser Ser  
 20 25 30

10 Gly Pro Gly Leu Val Gly Gly Ile Leu Gly Gly Ile Leu  
 35 40 45

15 <210> 57  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

<400> 57

Glu Asp Thr Arg Ala Asp Leu Gln Gly Gly Glu Ala Ala Glu Lys Val  
 1 5 10 15

20 Phe Arg Arg

<210> 58  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

<400> 58

Gly Glu Ser His Val Arg Glu Asp Ala Met Gly Arg Ala Arg Arg  
 1 5 10 15

30 <210> 59  
 <211> 78  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

35 <400> 59

ES 2 582 207 T3

Met Asn Thr Ala Thr Gly Val Ile Ala Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Glu Ala Glu Asp Thr Arg Ala Asp Leu Gln Gly Gly  
 20 25 30

Glu Ala Ala Glu Lys Val Phe Arg Arg Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser  
 35 40 45

Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr  
 50 55 60

Phe Lys Glu Asn Glu Asn Gly Asn Thr Val Lys Arg Cys Asp  
 65 70 75

5 <210> 60  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

<400> 60

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
 1 5 10 15

Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Phe Lys Glu Asn Glu Asn Gly Asn Thr  
 20 25 30

Val Lys Arg Cys Asp  
 35

10  
 15 <210> 61  
 <211> 78  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

<400> 61

Met Asn Thr Ala Thr Gly Val Ile Ala Leu Leu Val Leu Val Thr Val  
 1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Glu Ala Glu Asp Thr Arg Ala Asp Leu Gln Gly Gly  
 20 25 30

Glu Ala Ala Glu Lys Val Phe Arg Arg Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser  
 35 40 45

ES 2 582 207 T3

Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr  
 50 55 60

Phe Lys Glu Asn Glu Asn Gly Asn Thr Val Lys Arg Cys Asp  
 65 70 75

5 <210> 62  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

<400> 62

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
 1 5 10 15

Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Phe Lys Glu Asn Glu Asn Gly Asn Thr  
 20 25 30

10 Val Lys Arg Cys Asp  
 35

15 <210> 63  
 <211> 78  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

<400> 63

Met Asn Thr Ala Thr Gly Val Ile Ala Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Glu Ala Glu Asp Thr Arg Ala Asp Leu Gln Gly Gly  
 20 25 30

Glu Ala Ala Glu Lys Val Phe Arg Arg Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser  
 35 40 45

Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr  
 50 55 60

20 Phe Lys Glu Asn Glu Thr Gly Asn Thr Val Lys Arg Cys Asp  
 65 70 75

<210> 64  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

25 <400> 64

ES 2 582 207 T3

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
 1 5 10 15

Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Phe Lys Glu Asn Glu Thr Gly Asn Thr  
 20 25 30

Val Lys Arg Cys Asp  
 35

5

<210> 65  
 <211> 78  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

<400> 65

Met Asn Thr Ala Thr Gly Val Ile Ala Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Glu Ala Glu Asp Thr Arg Ala Asp Leu Gln Gly Gly  
 20 25 30

Glu Ala Ala Glu Lys Val Phe Arg Arg Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser  
 35 40 45

Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr  
 50 55 60

10

Phe Lys Glu Asn Glu Asn Ala Asn Thr Val Lys Arg Cys Asp  
 65 70 75

15

<210> 66  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

<400> 66

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
 1 5 10 15

Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Phe Lys Glu Asn Glu Asn Ala Asn Thr  
 20 25 30

Val Lys Arg Cys Asp  
 35

20

<210> 67  
 <211> 78  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

ES 2 582 207 T3

<400> 67

Met Asn Thr Ala Thr Gly Val Ile Ala Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Glu Ala Glu Asp Thr Arg Ala Asp Leu Gln Gly Gly  
20 25 30

Glu Ala Ala Glu Lys Val Phe Arg Arg Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser  
35 40 45

Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn Cys Cys Ser Lys Ser Cys Thr  
50 55 60

Tyr Lys Glu Asn Glu Asn Gly Asn Thr Val Gln Arg Cys Asp  
65 70 75

5

<210> 68

<211> 37

<212> PRT

<213> *Atrax robustus*

10

<400> 68

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
1 5 10 15

Cys Cys Ser Lys Ser Cys Thr Tyr Lys Glu Asn Glu Asn Gly Asn Thr  
20 25 30

Val Gln Arg Cys Asp  
35

15

<210> 69

<211> 73

<212> PRT

<213> *Atrax robustus*

20

<400> 69

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
1 5 10 15

Leu Gly Cys Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Val Arg Glu Asp Ala Met  
20 25 30

Gly Arg Ala Arg Arg Gly Ala Cys Thr Pro Thr Gly Gln Pro Cys Pro  
35 40 45

ES 2 582 207 T3

Tyr Asn Glu Ser Cys Cys Ser Gly Ser Cys Gln Glu Gln Leu Asn Glu  
 50 55 60

Asn Gly His Thr Val Lys Arg Cys Val  
 65 70

5 <210> 70  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

<400> 70

Gly Ala Cys Thr Pro Thr Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Ser Cys  
 1 5 10 15

Cys Ser Gly Ser Cys Gln Glu Gln Leu Asn Glu Asn Gly His Thr Val  
 20 25 30

Lys Arg Cys Val  
 35

10  
 15 <210> 71  
 <211> 79  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

<400> 71

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Ser Ala Asp Phe Gln Gly Gly Phe Glu Pro Tyr Glu  
 20 25 30

Gly Glu Asp Ala Glu Arg Ile Phe Arg Arg Ser Pro Thr Cys Ile Pro  
 35 40 45

Thr Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn Cys Cys Ser Gln Ser Cys  
 50 55 60

Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val Lys Gly Cys Asp  
 65 70 75

20  
 25 <210> 72  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

<400> 72

ES 2 582 207 T3

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Thr Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
 1 5 10 15

Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln  
 20 25 30

Val Lys Gly Cys Asp  
 35

5 <210> 73  
 <211> 79  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 73

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Ser Ala Asp Phe Gln Gly Gly Phe Glu Pro Tyr Glu  
 20 25 30

Glu Glu Asp Ala Glu Arg Ile Phe Arg Arg Ser Pro Thr Cys Ile Pro  
 35 40 45

Thr Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn Cys Cys Asn Gln Ser Cys  
 50 55 60

10 Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val Lys Arg Cys Asp  
 65 70 75

15 <210> 74  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 74

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Thr Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
 1 5 10 15

Cys Cys Asn Gln Ser Cys Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln  
 20 25 30

Val Lys Arg Cys Asp  
 35

20 <210> 75  
 <211> 79  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 25

ES 2 582 207 T3

<400> 75

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Ser Ala Asp Phe Gln Gly Gly Phe Glu Pro Tyr Glu  
20 25 30

Glu Glu Asp Ala Glu Arg Ile Phe Arg Arg Ser Pro Thr Cys Ile Pro  
35 40 45

Thr Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn Cys Cys Ser Gln Ser Cys  
50 55 60

Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val Lys Arg Cys Asp  
65 70 75

5 <210> 76  
<211> 37  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*

10 <400> 76

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Thr Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
1 5 10 15

Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln  
20 25 30

Val Lys Arg Cys Asp  
35

15 <210> 77  
<211> 79  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*

20 <400> 77

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Ser Val Asp Phe Gln Gly Gly Phe Glu Ser Tyr Glu  
20 25 30

Glu Glu Asp Ala Glu Arg Ile Phe Arg Arg Ser Pro Thr Cys Ile Pro

ES 2 582 207 T3

35

40

45

Thr Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn Cys Cys Ser Gln Ser Cys  
50 55 60

Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val Lys Arg Cys Asp  
65 70 75

5

<210> 78  
<211> 37  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*  
<400> 78

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Thr Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
1 5 10 15

Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln  
20 25 30

10

Val Lys Arg Cys Asp  
35

15

<210> 79  
<211> 78  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*  
<400> 79

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Ser Ala Asp Phe Gln Gly Gly Phe Glu Ser Ser Val  
20 25 30

Glu Asp Ala Glu Arg Leu Phe Arg Arg Ser Ser Thr Cys Ile Arg Thr  
35 40 45

Asp Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Ser Cys Cys Ser Gly Ser Cys Thr  
50 55 60

Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val Lys Arg Cys Asp  
65 70 75

20

25

<210> 80  
<211> 37  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*  
<400> 80

ES 2 582 207 T3

Ser Ser Thr Cys Ile Arg Thr Asp Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Ser  
1 5 10 15

Cys Cys Ser Gly Ser Cys Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln  
20 25 30

Val Lys Arg Cys Asp  
35

5 <210> 81  
<211> 78  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*

10 <400> 81

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Ser Ala Asp Phe Gln Gly Gly Phe Glu Pro Tyr Glu  
20 25 30

Glu Glu Asp Ala Glu Arg Ile Phe Arg Arg Ser Thr Cys Thr Pro Thr  
35 40 45

Asp Gln Pro Cys Pro Tyr His Glu Ser Cys Cys Ser Gly Ser Cys Thr  
50 55 60

Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val Lys Arg Cys Asp  
65 70 75

15 <210> 82  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versuta*

<400> 82

Ser Thr Cys Thr Pro Thr Asp Gln Pro Cys Pro Tyr His Glu Ser Cys  
1 5 10 15

Cys Ser Gly Ser Cys Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val  
20 25 30

Lys Arg Cys Asp  
35

20 <210> 83  
<211> 78  
<212> PRT  
25 <213> *Hadronyche versuta*

ES 2 582 207 T3

<400> 83

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Ser Ala Asp Phe Glu Gly Ser Phe Glu Pro Tyr Glu  
 20 25 30

Glu Glu Asp Ala Glu Arg Ile Phe Arg Arg Ser Thr Cys Thr Pro Thr  
 35 40 45

Asp Gln Pro Cys Pro Tyr Asp Glu Ser Cys Cys Ser Gly Ser Cys Thr  
 50 55 60

Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val Lys Arg Cys Asp  
 65 70 75

5

<210> 84

<211> 36

<212> PRT

<213> *Hadronyche versuta*

10

<400> 84

Ser Thr Cys Thr Pro Thr Asp Gln Pro Cys Pro Tyr Asp Glu Ser Cys  
 1 5 10 15

Cys Ser Gly Ser Cys Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val  
 20 25 30

Lys Arg Cys Asp  
 35

15

<210> 85

<211> 78

<212> PRT

<213> *Hadronyche versuta*

20

<400> 85

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Ser Ala Asp Phe Gln Gly Ser Phe Glu Pro Tyr Glu  
 20 25 30

ES 2 582 207 T3

Glu Glu Asp Ala Glu Arg Ile Phe Arg Arg Ser Thr Cys Thr Pro Thr  
 35 40 45

Asp Gln Pro Cys Pro Tyr Asp Glu Ser Cys Cys Ser Gly Ser Cys Thr  
 50 55 60

Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val Lys Arg Cys Asp  
 65 70 75

<210> 86  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

5

<400> 86

Ser Thr Cys Thr Pro Thr Asp Gln Pro Cys Pro Tyr Asp Glu Ser Cys  
 1 5 10 15

Cys Ser Gly Ser Cys Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val  
 20 25 30

Lys Arg Cys Asp  
 35

10

<210> 87  
 <211> 78  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

15

<400> 87

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Ser Ala Asp Phe Gln Gly Ser Phe Glu Pro Tyr Glu  
 20 25 30

Glu Glu Asp Ala Glu Arg Ile Phe Arg Arg Ser Thr Cys Thr Pro Thr  
 35 40 45

Asp Gln Pro Cys Pro Tyr His Glu Ser Cys Cys Ser Gly Ser Cys Thr  
 50 55 60

Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val Lys Arg Cys Asp  
 65 70 75

20

<210> 88  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

25

<400> 88

ES 2 582 207 T3

Ser Thr Cys Thr Pro Thr Asp Gln Pro Cys Pro Tyr His Glu Ser Cys  
 1 5 10 15

Cys Ser Gly Ser Cys Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val  
 20 25 30

Lys Arg Cys Asp  
 35

5 <210> 89  
 <211> 78  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

10 <400> 89

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Ile Gly Cys Ile Ser Ala Asp Phe Gln Gly Gly Phe Glu Pro Tyr Glu  
 20 25 30

Glu Glu Asp Ala Glu Arg Ile Phe Arg Arg Ser Thr Cys Thr Pro Thr  
 35 40 45

Asp Gln Pro Cys Pro Tyr Asp Glu Ser Cys Cys Ser Gly Ser Cys Thr  
 50 55 60

Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val Lys Arg Cys Asp  
 65 70 75

15 <210> 90  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

<400> 90

Ser Thr Cys Thr Pro Thr Asp Gln Pro Cys Pro Tyr Asp Glu Ser Cys  
 1 5 10 15

Cys Ser Gly Ser Cys Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val  
 20 25 30

Lys Arg Cys Asp  
 35

20 <210> 91  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 25 <213> *Atrax infensus*

ES 2 582 207 T3

<400> 91

Ser Thr Cys Thr Pro Thr Asp Gln Pro Cys Pro Tyr His Glu Ser Cys  
1 5 10 15

Cys Ser Gly Ser Cys Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln Val  
20 25 30

Lys Arg Cys Asp  
35

5 <210> 92

<211> 37

<212> PRT

<213> *Atrax infensus*

10 <400> 92

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Thr Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
1 5 10 15

Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln  
20 25 30

Val Lys Arg Cys Asp  
35

15 <210> 93

<211> 37

<212> PRT

<213> *Atrax infensus*

20 <400> 93

Ser Ser Thr Cys Ile Arg Thr Asp Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Ser  
1 5 10 15

Cys Cys Ser Gly Ser Cys Thr Tyr Lys Ala Asn Glu Asn Gly Asn Gln  
20 25 30

Val Lys Arg Cys Asp  
35

25 <210> 94

<211> 37

<212> PRT

<213> *Atrax robustus*

<400> 94

ES 2 582 207 T3

Ser Ser Val Cys Ile Pro Ser Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu His  
 1 5 10 15

Cys Cys Ser Gly Ser Cys Thr Tyr Lys Glu Asn Glu Asn Gly Asn Thr  
 20 25 30

Val Gln Arg Cys Asp  
 35

5  
 <210> 95  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 95

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
 1 5 10 15

Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Phe Lys Glu Asn Glu Asn Gly Asn Thr  
 20 25 30

Val Lys Arg Cys Asp  
 35

10  
 15  
 <210> 96  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax formidabilis*  
 <400> 96

Ser Pro Thr Cys Thr Gly Ala Asp Arg Pro Cys Ala Ala Cys Cys Pro  
 1 5 10 15

Cys Cys Pro Gly Thr Ser Cys Lys Gly Pro Glu Pro Asn Gly Val Ser  
 20 25 30

Tyr Cys Arg Asn Asp  
 35

20  
 25  
 <210> 97  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax formidabilis*  
 <400> 97

ES 2 582 207 T3

Ser Pro Thr Cys Thr Gly Ala Asp Arg Pro Cys Ala Ala Cys Cys Pro  
1 5 10 15

Cys Cys Pro Gly Thr Ser Cys Lys Gly Pro Glu Pro Asn Gly Val Ser  
20 25 30

Tyr Cys Arg Asn  
35

5 <210> 98  
<211> 37  
<212> PRT  
<213> *Atrax formidabilis*

<400> 98

Ser Pro Thr Cys Ile Arg Ser Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu Asn  
1 5 10 15

Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Phe Lys Thr Asn Glu Asn Gly Asn Thr  
20 25 30

10 Val Lys Arg Cys Asp  
35

15 <210> 99  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Atrax infensus*

<400> 99

Asn Gly Asn Gln Val Lys Arg Cys Asp  
1 5

20 <210> 100  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Atrax infensus*

25 <400> 100

Asn Gly Asn Gln Val Lys Arg Cys Asp  
1 5

30 <210> 101  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> *Hadronyche versutus*

35 <400> 101

ES 2 582 207 T3

Asn Gly Asn Thr Val Lys Arg Cys Asp

1 5

5 <210> 102  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versutus*

10 <400> 102

Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn Glu  
 1 5 10 15

15 <210> 103  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> *Agelenopsis aperta*

20 <400> 103

Glu Cys Val Pro Glu Asn Gly His Cys Arg Asp Trp Tyr Asp Glu Cys  
 1 5 10 15

25 <210> 104  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> *Agelenopsis aperta*

<400> 104

Glu Cys Ala Thr Lys Asn Lys Arg Cys Ala Asp Trp Ala Gly Pro Trp  
 1 5 10 15

Cys Cys Asp Gly Leu Tyr Cys Ser Cys Arg Ser Tyr Pro Gly Cys Met  
 20 25 30

30 Cys Arg Pro Ser Ser  
 35

<210> 105  
 <211> 38  
 <212> PRT  
 <213> *Agelenopsis aperta*

<400> 105

ES 2 582 207 T3

Ala Asp Cys Val Gly Asp Gly Gln Arg Cys Ala Asp Trp Ala Gly Pro  
1 5 10 15

Tyr Cys Cys Ser Gly Tyr Tyr Cys Ser Cys Arg Ser Met Pro Tyr Cys  
20 25 30

Arg Cys Arg Ser Asp Ser  
35

5  
<210> 106  
<211> 37  
<212> PRT  
<213> *Agelenopsis aperta*  
<400> 106

Ala Cys Val Gly Glu Asn Gln Gln Cys Ala Asp Trp Ala Gly Pro His  
1 5 10 15

Cys Cys Asp Gly Tyr Tyr Cys Thr Cys Arg Tyr Phe Pro Lys Cys Ile  
20 25 30

10  
Cys Arg Asn Asn Asn  
35

15  
<210> 107  
<211> 37  
<212> PRT  
<213> *Agelenopsis aperta*  
<400> 107

Ala Cys Val Gly Glu Asn Lys Gln Cys Ala Asp Trp Ala Gly Pro His  
1 5 10 15

Cys Cys Asp Gly Tyr Tyr Cys Thr Cys Arg Tyr Phe Pro Lys Cys Ile  
20 25 30

20  
Cys Arg Asn Asn Asn  
35

25  
<210> 108  
<211> 37  
<212> PRT  
<213> *Agelenopsis aperta*  
<400> 108

ES 2 582 207 T3

Asp Cys Val Gly Glu Ser Gln Gln Cys Ala Asp Trp Ala Gly Pro His  
 1 5 10 15

Cys Cys Asp Gly Tyr Tyr Cys Thr Cys Arg Tyr Phe Pro Lys Cys Ile  
 20 25 30

Cys Val Asn Asn Asn  
 35

5  
 <210> 109  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> *Hololena curta*  
 <400> 109

Ser Cys Val Gly Glu Tyr Gly Arg Cys Arg Ser Ala Tyr Glu Asp Cys  
 1 5 10 15

Cys Asp Gly Tyr Tyr Cys Asn Cys Ser Gln Pro Pro Tyr Cys Leu Cys  
 20 25 30

Arg Asn Asn Asn  
 35

10  
 15  
 <210> 110  
 <211> 38  
 <212> PRT  
 <213> *Hololena curta*  
 <400> 110

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

Tyr Cys Cys Ser Gly Tyr Tyr Cys Ser Cys Arg Ser Met Pro Tyr Cys  
 20 25 30

Arg Cys Arg Ser Asp Ser  
 35

20  
 25  
 <210> 111  
 <211> 70  
 <212> PRT  
 <213> *Androctonus australis Hector*  
 <400> 111

ES 2 582 207 T3

Lys Lys Asn Gly Tyr Ala Val Asp Ser Ser Gly Lys Ala Pro Glu Cys  
 1 5 10 15

Leu Leu Ser Asn Tyr Cys Asn Asn Gln Cys Thr Lys Val His Tyr Ala  
 20 25 30

Asp Lys Gly Tyr Cys Cys Leu Leu Ser Cys Tyr Cys Phe Gly Leu Asn  
 35 40 45

Asp Asp Lys Lys Val Leu Glu Ile Ser Asp Thr Arg Lys Ser Tyr Cys  
 50 55 60

Asp Thr Thr Ile Ile Asn  
 65 70

5 <210> 112  
 <211> 70  
 <212> PRT  
 <213> *Androctonus australis Hector*  
 <400> 112

Lys Lys Asn Gly Tyr Ala Val Asp Ser Ser Gly Lys Ala Pro Glu Cys  
 1 5 10 15

Leu Leu Ser Asn Tyr Cys Asn Asn Glu Cys Thr Lys Val His Tyr Ala  
 20 25 30

Asp Lys Gly Tyr Cys Cys Leu Leu Ser Cys Tyr Cys Phe Gly Leu Asn  
 35 40 45

Asp Asp Lys Lys Val Leu Glu Ile Ser Asp Thr Arg Lys Ser Tyr Cys  
 50 55 60

10 Asp Thr Thr Ile Ile Asn  
 65 70

15 <210> 113  
 <211> 70  
 <212> PRT  
 <213> *Androctonus australis Hector*  
 <400> 113

ES 2 582 207 T3

Lys Lys Asp Gly Tyr Ala Val Asp Ser Ser Gly Lys Ala Pro Glu Cys  
 1 5 10 15

Leu Leu Ser Asn Tyr Cys Tyr Asn Glu Cys Thr Lys Val His Tyr Ala  
 20 25 30

Asp Lys Gly Tyr Cys Cys Leu Leu Ser Cys Tyr Cys Phe Gly Leu Asn  
 35 40 45

Asp Asp Lys Lys Val Leu Glu Ile Ser Asp Thr Arg Lys Ser Tyr Cys  
 50 55 60

Asp Thr Pro Ile Ile Asn  
 65 70

<210> 114  
 <211> 33  
 <212> PRT  
 <213> *Scorpio maurus palmatus*  
 <400> 114

5

Ala Leu Pro Leu Ser Gly Glu Tyr Glu Pro Cys Val Arg Pro Arg Lys  
 1 5 10 15

Cys Lys Pro Gly Leu Val Cys Asn Lys Gln Gln Ile Cys Val Asp Pro  
 20 25 30

Lys

10

<210> 115  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 <213> *Leiurus quinquestriatus*  
 <400> 115

15

Asp Gly Tyr Ile Arg Lys Arg Asp Gly Cys Lys Leu Ser Cys Leu Phe  
 1 5 10 15

Gly Asn Glu Gly Cys Asn Lys Glu Cys Lys Ser Tyr Gly Gly Ser Tyr  
 20 25 30

Gly Tyr Cys Trp Thr Trp Gly Leu Ala Cys Trp Cys Glu Gly Leu Pro  
 35 40 45

Asp Glu Lys Thr Trp Lys Ser Glu Thr Asn Thr Cys Gly  
 50 55 60

20

ES 2 582 207 T3

<210> 116  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 <213> *Buthotus judaicus*

5 <400> 116

Asp Gly Tyr Ile Arg Lys Lys Asp Gly Cys Lys Val Ser Cys Ile Ile  
 1 5 10 15

Gly Asn Glu Gly Cys Arg Lys Glu Cys Val Ala His Gly Gly Ser Phe  
 20 25 30

Gly Tyr Cys Trp Thr Trp Gly Leu Ala Cys Trp Cys Glu Asn Leu Pro  
 35 40 45

Asp Ala Val Thr Trp Lys Ser Ser Thr Asn Thr Cys Gly  
 50 55 60

10 <210> 117  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

15 <400> 117

Gly Ser Ser Pro Thr Cys Ile Pro Ser Gly Gln Pro Cys Pro Tyr Asn  
 1 5 10 15

Glu Asn Cys Cys Ser Gln Ser Cys Thr Phe Lys Glu Asn Glu Asn Gly  
 20 25 30

Asn Thr Val Lys Arg Cys Asp  
 35

20 <210> 118  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

25 <400> 118

Gly Ser Ala Ile Cys Thr Gly Ala Asp Arg Pro Cys Ala Ala Cys Cys  
 1 5 10 15

Pro Cys Cys Pro Gly Thr Ser Cys Lys Ala Glu Ser Asn Gly Val Ser  
 20 25 30

Tyr Cys Arg Lys Asp Glu Pro  
 35

30 <210> 119  
 <211> 41  
 <212> PRT

ES 2 582 207 T3

<213> *Atrax robustus*

<400> 119

Gly Ser Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr  
 1 5 10 15  
 Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Arg Asn Glu Asn  
 20 25 30  
 Gly His Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 35 40

5

<210> 120

<211> 60

<212> PRT

10

<213> *Hadronyche versuta*

<400> 120

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

15

<210> 121

<211> 39

<212> PRT

20

<213> *Hadronyche versuta*

<400> 121

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
 1 5 10 15  
 Cys Cys Asp Asp Ala Tyr Cys Thr Gln Glu Arg Asn Glu Asn Gly His  
 20 25 30  
 Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 35

25

<210> 122

<211> 39

<212> PRT

<213> *Hadronyche versuta*

ES 2 582 207 T3

<400> 122

Gly Ser Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Arg Asn Glu Asn Gly His  
20 25 30

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
35

5 <210> 123

<211> 74

<212> PRT

<213> *Hadronyche versuta*

10 <400> 123

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Ile  
1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Glu Arg Asn  
50 55 60

Glu Asn Gly His Thr Val Tyr Tyr Cys Arg  
65 70

15 <210> 124

<211> 38

<212> PRT

<213> *Hadronyche versuta*

20 <400> 124

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Arg Asn Glu Asn Gly His  
20 25 30

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg  
35

25 <210> 125

<211> 75

<212> PRT

ES 2 582 207 T3

<213> *Hadronyche versuta*

<400> 125

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Tyr Cys Thr Gln Glu Leu  
50 55 60

Asn Glu Asn Asp Asn Thr Val Tyr Tyr Cys Arg  
65 70 75

5

<210> 126

<211> 38

<212> PRT

10 <213> *Hadronyche versuta*

<400> 126

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu Asn Glu Asn Asp Asn  
20 25 30

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg  
35

15

<210> 127

<211> 76

<212> PRT

20 <213> *Hadronyche versuta*

<400> 127

ES 2 582 207 T3

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Ile  
 1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
 20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
 35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Arg  
 50 55 60

Asn Glu Asn Gly His Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 65 70 75

5 <210> 128  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

<400> 128

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
 1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Arg Asn Glu Asn Gly His  
 20 25 30

10 Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 35

15 <210> 129  
 <211> 76  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

<400> 129

ES 2 582 207 T3

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
 20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
 35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu  
 50 55 60

Asn Glu Asn Ala Asn Pro Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 65 70 75

<210> 130  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

5

<400> 130

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
 1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu Asn Glu Asn Ala Asn  
 20 25 30

Pro Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 35

10

<210> 131  
 <211> 76  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

15

<400> 131

ES 2 582 207 T3

Met Asn Thr Thr Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Ile  
1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Tyr Cys Thr Gln Glu Leu  
50 55 60

Asn Glu Asn Asp Asn Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
65 70 75

<210> 132

<211> 39

5 <212> PRT

<213> *Hadronyche versuta*

<400> 132

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu Asn Glu Asn Asp Asn  
20 25 30

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
35

10

<210> 133

<211> 76

15 <212> PRT

<213> *Hadronyche versuta*

<400> 133

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
35 40 45

ES 2 582 207 T3

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu  
 50 55 60

Asn Glu Asn Asp Asn Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 65 70 75

5 <210> 134  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 <400> 134

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
 1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu Asn Glu Asn Asp Asn  
 20 25 30

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 35

10  
 <210> 135  
 <211> 76  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 15 <400> 135

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Phe Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Gly Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
 20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
 35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu  
 50 55 60

Asn Glu Asn Asp Asn Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 65 70 75

20 <210> 136  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 25 <400> 136

ES 2 582 207 T3

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
 1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu Asn Glu Asn Asp Asn  
 20 25 30

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 35

5  
 <210> 137  
 <211> 76  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

<400> 137

Met Asn Thr Ala Thr Gly Phe Ile Val Leu Leu Val Leu Ala Thr Val  
 1 5 10 15

Leu Gly Gly Ile Glu Ala Arg Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met  
 20 25 30

Gly Arg Val Arg Arg Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser  
 35 40 45

Leu Asn Thr Gln Pro Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu  
 50 55 60

10  
 Asn Glu Asn Asp Asn Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 65 70 75

15  
 <210> 138  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> *Atrax robustus*

<400> 138

Gln Tyr Cys Val Pro Val Asp Gln Pro Cys Ser Leu Asn Thr Gln Pro  
 1 5 10 15

Cys Cys Asp Asp Ala Thr Cys Thr Gln Glu Leu Asn Glu Asn Asp Asn  
 20 25 30

Thr Val Tyr Tyr Cys Arg Ala  
 35

20  
 <210> 139  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*

25

ES 2 582 207 T3

<220>  
 <221 > MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..(4)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural  
 5

<220>  
 <221 > MISC\_FEATURE  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural  
 10

<220>  
 <221 > MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural  
 15

<220>  
 <221 > MISC\_FEATURE  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural  
 20

<400> 139  
  
 Met Asn Thr Xaa Thr Gly Phe Ile Val Xaa Leu Val Leu Ala Thr Xaa  
 1                    5                    10                    15  
  
 Leu Gly Gly Xaa Glu Ala  
                   20

<210> 140  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> *Hadronyche versuta*  
 25

<220>  
 <221 > MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural  
 30

<400> 140  
  
 Xaa Glu Ser His Met Arg Lys Asp Ala Met Gly Arg Val Arg Arg  
 1                    5                    10                    15

<210> 141  
 <211> 64  
 <212> PRT  
 <213> *Leiurus quinquestriatus hebraeus*  
 40

<400> 141  
  
 Val Arg Asp Ala Tyr Ile Ala Lys Asn Tyr Asn Cys Val Tyr Glu Cys  
 1                    5                    10                    15  
 45

ES 2 582 207 T3

Phe Arg Asp Ala Tyr Cys Asn Glu Leu Cys Thr Lys Asn Gly Ala Ser  
 20 25 30

Ser Gly Tyr Cys Gln Trp Ala Gly Lys Tyr Gly Asn Ala Cys Trp Cys  
 35 40 45

Tyr Ala Leu Pro Asp Asn Val Pro Ile Arg Val Pro Gly Lys Cys Arg  
 50 55 60

<210> 142

<211> 64

5 <212> PRT

<213> *Leiurus quinquestriatus quinquestriatus*

<400> 142

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

Phe Arg Asp Ser Tyr Cys Asn Asp Leu Cys Thr Lys Asn Gly Ala Ser  
 20 25 30

Ser Gly Tyr Cys Gln Trp Ala Gly Lys Tyr Gly Asn Ala Cys Trp Cys  
 35 40 45

Tyr Ala Leu Pro Asp Asn Val Pro Ile Arg Val Pro Gly Lys Cys His  
 50 55 60

10

<210> 143

<211> 65

15 <212> PRT

<213> *Bothus occitanus tunetanus*

<400> 143

Val Arg Asp Ala Tyr Ile Ala Gln Asn Tyr Asn Cys Val Tyr Phe Cys  
 1 5 10 15

Met Lys Asp Asp Tyr Cys Asn Asp Leu Cys Thr Lys Asn Gly Ala Ser  
 20 25 30

Ser Gly Tyr Cys Gln Trp Ala Gly Lys Tyr Gly Asn Ala Cys Trp Cys  
 35 40 45

Tyr Ala Leu Pro Asp Asn Val Pro Ile Arg Ile Pro Gly Lys Cys His  
 50 55 60

Ser  
 65

20

ES 2 582 207 T3

<210> 144  
 <211> 64  
 <212> PRT  
 <213> *Hottentotta judaica*

5

<400> 144

Gly Arg Asp Ala Tyr Ala Leu Asp Asn Leu Asn Cys Ala Tyr Thr Cys  
 1 5 10 15

Gly Ser Lys Ser Tyr Cys Asn Thr Glu Cys Thr Lys Asn Gly Ala Val  
 20 25 30

Ser Gly Tyr Cys Gln Trp Leu Gly Lys Tyr Gly Asn Ala Cys Trp Cys  
 35 40 45

Ile Asn Leu Pro Asp Lys Val Pro Ile Arg Ile Pro Gly Ala Cys Arg  
 50 55 60

10

<210> 145  
 <211> 67  
 <212> PRT  
 <213> *Leiurus quinquestriatus hebraeus*

15

<400> 145

Val Arg Asp Gly Tyr Ile Ala Gln Pro Glu Asn Cys Val Tyr His Cys  
 1 5 10 15

Phe Pro Gly Ser Ser Gly Cys Asp Thr Leu Cys Lys Glu Lys Gly Gly  
 20 25 30

Thr Ser Gly His Cys Gly Phe Lys Val Gly His Gly Leu Ala Cys Trp  
 35 40 45

Cys Asn Ala Leu Pro Asp Asn Val Gly Ile Ile Val Glu Gly Glu Lys  
 50 55 60

Cys His Ser  
 65

20

<210> 146  
 <211> 66  
 <212> PRT  
 <213> *Buthus occitanus mardochei*

25

<400> 146

Gly Arg Asp Gly Tyr Ile Ala Gln Pro Glu Asn Cys Val Tyr His Cys  
 1 5 10 15

ES 2 582 207 T3

Phe Pro Gly Ser Ser Gly Cys Asp Thr Leu Cys Lys Glu Lys Gly Ala  
 20 25 30

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

Cys Asp Asn Leu Pro Asn Lys Val Pro Ile Val Val Gly Gly Glu Lys  
 50 55 60

Cys His  
 65

<210> 147

<211> 65

5 <212> PRT

<213> *Buthus occitanus mardochei*

<400> 147

Gly Arg Asp Ala Tyr Ile Ala Gln Pro Glu Asn Cys Val Tyr Glu Cys  
 1 5 10 15

Ala Lys Asn Ser Tyr Cys Asn Asp Leu Cys Thr Lys Asn Gly Ala Lys  
 20 25 30

Ser Gly Tyr Cys Gln Trp Leu Gly Lys Tyr Gly Asn Ala Cys Trp Cys  
 35 40 45

Glu Asp Leu Pro Asp Asn Val Pro Ile Arg Ile Pro Gly Lys Cys His  
 50 55 60

Phe  
 65

10

<210> 148

<211> 64

15 <212> PRT

<213> *Bothus martensii* Karsch

<400> 148

Val Arg Asp Ala Tyr Ile Ala Lys Pro His Asn Cys Val Tyr Glu Cys  
 1 5 10 15

Ala Arg Asn Glu Tyr Cys Asn Asp Leu Cys Thr Lys Asn Gly Ala Lys  
 20 25 30

Ser Gly Tyr Cys Gln Trp Val Gly Lys Tyr Gly Asn Gly Cys Trp Cys  
 35 40 45

ES 2 582 207 T3

Ile Glu Leu Pro Asp Asn Val Pro Ile Arg Val Pro Gly Lys Cys His  
 50 55 60

5 <210> 149  
 <211> 64  
 <212> PRT  
 <213> *Bothus martensii* Karsch

<400> 149

Val Arg Asp Ala Tyr Ile Ala Lys Pro His Asn Cys Val Tyr Ser Cys  
 1 5 10 15

Ala Arg Asn Glu Trp Cys Asn Asp Leu Cys Thr Lys Asn Gly Ala Lys  
 20 25 30

Ser Gly Tyr Cys Gln Trp Val Gly Lys Tyr Gly Asn Gly Cys Trp Cys  
 35 40 45

10 Ile Glu Leu Pro Asp Asn Val Pro Ile Arg Val Pro Gly Lys Cys His  
 50 55 60

15 <210> 150  
 <211> 64  
 <212> PRT  
 <213> *Bothus martensii* Karsch

<400> 150

Val Arg Asp Ala Tyr Ile Ala Lys Pro Glu Asn Cys Val Tyr His Cys  
 1 5 10 15

Ala Gly Asn Glu Gly Cys Asn Lys Leu Cys Thr Asp Asn Gly Ala Glu  
 20 25 30

Ser Gly Tyr Cys Gln Trp Gly Gly Arg Tyr Gly Asn Ala Cys Trp Cys  
 35 40 45

20 Ile Lys Leu Pro Asp Asp Val Pro Ile Arg Val Pro Gly Lys Cys His  
 50 55 60

25 <210> 151  
 <211> 66  
 <212> PRT  
 <213> *Bothus martensii* Karsch

<400> 151

Val Arg Asp Gly Tyr Ile Ala Leu Pro His Asn Cys Ala Tyr Gly Cys  
 1 5 10 15

ES 2 582 207 T3

Leu Asn Asn Glu Tyr Cys Asn Asn Leu Cys Thr Lys Asp Gly Ala Lys  
 20 25 30

Ile Gly Tyr Cys Asn Ile Val Gly Lys Tyr Gly Asn Ala Cys Trp Cys  
 35 40 45

Ile Gln Leu Pro Asp Asn Val Pro Ile Arg Val Pro Gly Arg Cys His  
 50 55 60

Pro Ala  
 65

5 <210> 152  
 <211> 64  
 <212> PRT  
 <213> *Leiurus quinquestriatus*

<400> 152

Val Arg Asp Gly Tyr Ile Ala Gln Pro Glu Asn Cys Val Tyr His Cys  
 1 5 10 15

Ile Pro Asp Cys Asp Thr Leu Cys Lys Asp Asn Gly Gly Thr Gly Gly  
 20 25 30

His Cys Gly Phe Lys Leu Gly His Gly Ile Ala Cys Trp Cys Asn Ala  
 35 40 45

10 Leu Pro Asp Asn Val Gly Ile Ile Val Asp Gly Val Lys Cys His Lys  
 50 55 60

15 <210> 153  
 <211> 66  
 <212> PRT  
 <213> *Leiurus quinquestriatus*

<400> 153

Val Arg Asp Gly Tyr Ile Ala Lys Pro Glu Asn Cys Ala His His Cys  
 1 5 10 15

Phe Pro Gly Ser Ser Gly Cys Asp Thr Leu Cys Lys Glu Asn Gly Gly  
 20 25 30

Thr Gly Gly His Cys Gly Phe Lys Val Gly His Gly Thr Ala Cys Trp  
 35 40 45

Cys Asn Ala Leu Pro Asp Lys Val Gly Ile Ile Val Asp Gly Val Lys

ES 2 582 207 T3

50

55

60

Cys His  
65

5

<210> 154  
<211> 66  
<212> PRT  
<213> *Centruroides noxius*

<400> 154

Lys Glu Gly Tyr Leu Val Asp Ile Lys Asn Thr Gly Cys Lys Tyr Glu  
1 5 10 15

Cys Leu Lys Leu Gly Asp Asn Asp Tyr Cys Leu Arg Glu Cys Lys Gln  
20 25 30

Gln Tyr Gly Lys Gly Ala Gly Gly Tyr Cys Tyr Ala Phe Ala Cys Trp  
35 40 45

Cys Thr His Leu Tyr Glu Gln Ala Ile Val Trp Pro Leu Pro Asn Lys  
50 55 60

10

Arg Cys  
65

15

<210> 155  
<211> 66  
<212> PRT  
<213> *Centruroides noxius*

<400> 155

Lys Glu Gly Tyr Leu Val Glu Leu Gly Thr Gly Cys Lys Tyr Glu Cys  
1 5 10 15

Phe Lys Leu Gly Asp Asn Asp Tyr Cys Leu Arg Glu Cys Lys Ala Arg  
20 25 30

Tyr Gly Lys Gly Ala Gly Gly Tyr Cys Tyr Ala Phe Gly Cys Trp Cys  
35 40 45

Thr Gln Leu Tyr Glu Gln Ala Val Val Trp Pro Leu Lys Asn Lys Thr  
50 55 60

Cys Arg  
65

20

<210> 156  
<211> 66

ES 2 582 207 T3

<212> PRT  
 <213> *Centruroides suffusus suffusus*

<400> 156

5

Lys Glu Gly Tyr Leu Val Ser Lys Ser Thr Gly Cys Lys Tyr Glu Cys  
 1 5 10 15  
 Leu Lys Leu Gly Asp Asn Asp Tyr Cys Leu Arg Glu Cys Lys Gln Gln  
 20 25 30  
 Tyr Gly Lys Ser Ser Gly Gly Tyr Cys Tyr Ala Phe Ala Cys Trp Cys  
 35 40 45  
 Thr His Leu Tyr Glu Gln Ala Val Val Trp Pro Leu Pro Asn Lys Thr  
 50 55 60  
 Cys Asn  
 65

<210> 157  
 <211> 66  
 <212> PRT  
 <213> *Centruroides suffusus suffusus*

10

<400> 157

Lys Glu Gly Tyr Leu Val Asn Ser Tyr Thr Gly Cys Lys Phe Glu Cys  
 1 5 10 15  
 Phe Lys Leu Gly Asp Asn Asp Tyr Cys Leu Arg Glu Cys Arg Gln Gln  
 20 25 30  
 Tyr Gly Lys Gly Ser Gly Gly Tyr Cys Tyr Ala Phe Gly Cys Trp Cys  
 35 40 45  
 Thr His Leu Tyr Glu Gln Ala Val Val Trp Pro Leu Pro Asn Lys Thr  
 50 55 60  
 Cys Asn  
 65

15

<210> 158  
 <211> 76  
 <212> PRT  
 <213> *Buthotus judaicus*

20

<400> 158

ES 2 582 207 T3

Lys Lys Asn Gly Tyr Pro Leu Asp Arg Asn Gly Lys Thr Thr Glu Cys  
1 5 10 15

Ser Gly Val Asn Ala Ile Ala Pro His Tyr Cys Asn Ser Glu Cys Thr  
20 25 30

Lys Val Tyr Val Ala Glu Ser Gly Tyr Cys Cys Trp Gly Ala Cys Tyr  
35 40 45

Cys Phe Gly Leu Glu Asp Asp Lys Pro Ile Gly Pro Met Lys Asp Ile  
50 55 60

Thr Lys Lys Tyr Cys Asp Val Gln Ile Ile Pro Ser  
65 70 75

<210> 159

<211> 70

5 <212> PRT

<213> *Androctonus australis Hector*

<400> 159

Lys Lys Asn Gly Tyr Ala Val Asp Ser Ser Gly Lys Ala Pro Glu Cys  
1 5 10 15

Leu Leu Ser Asn Tyr Cys Asn Asn Glu Cys Thr Lys Val His Tyr Ala  
20 25 30

Asp Lys Gly Tyr Cys Cys Leu Leu Ser Cys Tyr Cys Phe Gly Leu Asn  
35 40 45

Asp Asp Lys Lys Val Leu Glu Ile Ser Asp Thr Arg Lys Ser Tyr Cys  
50 55 60

Asp Thr Thr Ile Ile Asn  
65 70

10

<210> 160

<211> 70

15 <212> PRT

<213> *Leiurus quinquestriatus quinquestriatus*

<400> 160

Lys Lys Asn Gly Tyr Ala Val Asp Ser Ser Gly Lys Ala Pro Glu Cys  
1 5 10 15

Leu Leu Ser Asn Tyr Cys Tyr Asn Glu Cys Thr Lys Val His Tyr Ala  
20 25 30

ES 2 582 207 T3

Asp Lys Gly Tyr Cys Cys Leu Leu Ser Cys Tyr Cys Val Gly Leu Ser  
 35 40 45

Asp Asp Lys Lys Val Leu Glu Ile Ser Asp Ala Arg Lys Lys Tyr Cys  
 50 55 60

Asp Phe Val Thr Ile Asn  
 65 70

5 <210> 161  
 <211> 70  
 <212> PRT  
 <213> *Leiurus quinquestriatus hebraeus*  
 <400> 161

Lys Lys Asn Gly Phe Ala Val Asp Ser Asn Gly Lys Ala Pro Glu Cys  
 1 5 10 15

Phe Phe Asp His Tyr Cys Asn Ser Glu Cys Thr Lys Val Tyr Tyr Ala  
 20 25 30

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

Asp Asp Lys Lys Val Leu Glu Ile Ser Asp Thr Thr Lys Lys Tyr Cys  
 50 55 60

10 Asp Phe Thr Ile Ile Asn  
 65 70

15 <210> 162  
 <211> 72  
 <212> PRT  
 <213> *Bothus martensii Karsch*  
 <400> 162

Lys Lys Asn Gly Tyr Ala Val Asp Ser Ser Gly Lys Val Ala Glu Cys  
 1 5 10 15

Leu Phe Asn Asn Tyr Cys Asn Asn Glu Cys Thr Lys Val Tyr Tyr Ala  
 20 25 30

Asp Lys Gly Tyr Cys Cys Leu Leu Lys Cys Tyr Cys Phe Gly Leu Leu  
 35 40 45

Asp Asp Lys Pro Val Leu Asp Ile Trp Asp Ser Thr Lys Asn Tyr Cys  
 50 55 60

ES 2 582 207 T3

Asp Val Gln Ile Ile Asp Leu Ser  
65 70

5 <210> 163  
<211> 61  
<212> PRT  
<213> *Leiurus quinquestriatus hebraeus*

<400> 163

Asp Gly Tyr Ile Lys Arg Arg Asp Gly Cys Lys Val Ala Cys Leu Ile  
1 5 10 15

Gly Asn Glu Gly Cys Asp Lys Glu Cys Lys Ala Tyr Gly Gly Ser Tyr  
20 25 30

Gly Tyr Cys Trp Thr Trp Gly Leu Ala Cys Trp Cys Glu Gly Leu Pro  
35 40 45

10 Asp Asp Lys Thr Trp Lys Ser Glu Thr Asn Thr Cys Gly  
50 55 60

15 <210> 164  
<211> 60  
<212> PRT  
<213> *Leiurus quinquestriatus hebraeus*

<400> 164

Asp Gly Tyr Ile Arg Gly Asp Gly Cys Lys Val Ser Cys Val Ile Asn  
1 5 10 15

His Val Phe Cys Asp Asn Glu Cys Lys Ala Ala Gly Gly Ser Tyr Gly  
20 25 30

Tyr Cys Trp Ala Trp Gly Leu Ala Cys Trp Cys Glu Gly Leu Pro Ala  
35 40 45

20 Glu Arg Glu Trp Lys Tyr Glu Thr Asn Thr Cys Gly  
50 55 60

25 <210> 165  
<211> 62  
<212> PRT  
<213> *Buthotus judaicus*

<400> 165

Asp Gly Tyr Ile Arg Lys Lys Asp Gly Cys Lys Val Ser Cys Ile Ile  
1 5 10 15

ES 2 582 207 T3

Gly Asn Glu Gly Cys Arg Lys Glu Cys Val Ala His Gly Gly Ser Phe  
 20 25 30

Gly Tyr Cys Trp Thr Trp Gly Leu Ala Cys Trp Cys Glu Asn Leu Pro  
 35 40 45

Asp Ala Val Thr Trp Lys Ser Ser Thr Asn Thr Cys Gly Arg  
 50 55 60

<210> 166  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 <213> *Buthacus arenicola*  
 <400> 166

5

Asp Gly Tyr Ile Arg Arg Arg Asp Gly Cys Lys Val Ser Cys Leu Phe  
 1 5 10 15

Gly Asn Glu Gly Cys Asp Lys Glu Cys Lys Ala Tyr Gly Gly Ser Tyr  
 20 25 30

Gly Tyr Cys Trp Thr Trp Gly Leu Ala Cys Trp Cys Glu Gly Leu Pro  
 35 40 45

Asp Asp Lys Thr Trp Lys Ser Glu Thr Asn Thr Cys Gly  
 50 55 60

10

<210> 167  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 <213> *Leiurus quinquestriatus quinquestriatus*  
 <400> 167

15

Asp Gly Tyr Ile Arg Lys Arg Asp Gly Cys Lys Leu Ser Cys Leu Phe  
 1 5 10 15

Gly Asn Glu Gly Cys Asn Lys Glu Cys Lys Ser Tyr Gly Gly Ser Tyr  
 20 25 30

Gly Tyr Cys Trp Thr Trp Gly Leu Ala Cys Trp Cys Glu Gly Leu Pro  
 35 40 45

Asp Asp Lys Thr Trp Lys Ser Glu Thr Asn Thr Cys Gly  
 50 55 60

20

<210> 168  
 <211> 60  
 <212> PRT  
 <213> *Bothus occitanus tunetanus*

25

ES 2 582 207 T3

<400> 168

Asp Gly Tyr Ile Lys Gly Tyr Lys Gly Cys Lys Ile Thr Cys Val Ile  
1 5 10 15

Asn Asp Asp Tyr Cys Asp Thr Glu Cys Lys Ala Glu Gly Gly Thr Tyr  
20 25 30

Gly Tyr Cys Trp Lys Trp Gly Leu Ala Cys Trp Cys Glu Asp Leu Pro  
35 40 45

Asp Glu Lys Arg Trp Lys Ser Glu Thr Asn Thr Cys  
50 55 60

5 <210> 169  
<211> 63  
<212> PRT  
<213> *Leiurus quinquestriatus hebraeus*

10 <400> 169

Asp Asn Gly Tyr Leu Leu Asn Lys Ala Thr Gly Cys Lys Val Trp Cys  
1 5 10 15

Val Ile Asn Asn Ala Ser Cys Asn Ser Glu Cys Lys Leu Arg Arg Gly  
20 25 30

Asn Tyr Gly Tyr Cys Tyr Phe Trp Lys Leu Ala Cys Tyr Cys Glu Gly  
35 40 45

Ala Pro Lys Ser Glu Leu Trp Ala Tyr Ala Thr Asn Lys Cys Asn  
50 55 60

15 <210> 170  
<211> 62  
<212> PRT  
<213> *Tityus serrulatus*

20 <400> 170

Lys Glu Gly Tyr Leu Met Asp His Glu Gly Cys Lys Leu Ser Cys Phe  
1 5 10 15

Ile Arg Pro Ser Gly Tyr Cys Gly Arg Glu Cys Gly Ile Lys Lys Gly  
20 25 30

Ser Ser Gly Tyr Cys Tyr Ala Trp Pro Ala Cys Tyr Cys Tyr Gly Leu

ES 2 582 207 T3

35

40

45

Pro Asn Trp Val Lys Val Trp Asp Arg Ala Thr Asn Lys Cys  
 50 55 60

5  
 <210> 171  
 <211> 64  
 <212> PRT  
 <213> *Tityus zulianus*  
 <400> 171

Lys Asp Gly Tyr Leu Val Gly Asn Asp Gly Cys Lys Tyr Ser Cys Phe  
 1 5 10 15

Thr Arg Pro Gly Thr Tyr Cys Ala Asn Glu Cys Ser Arg Val Lys Gly  
 20 25 30

Lys Asp Gly Tyr Cys Tyr Ala Trp Met Ala Cys Tyr Cys Tyr Ser Met  
 35 40 45

10  
 Pro Asn Trp Val Lys Thr Trp Asp Arg Ala Thr Asn Arg Cys Gly Arg  
 50 55 60

15  
 <210> 172  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> *Oldenlandia affinis*  
 <400> 172

Gly Leu Pro Val Cys Gly Glu Thr Cys Val Gly Gly Thr Cys Asn Thr  
 1 5 10 15

Pro Gly Cys Thr Cys Ser Trp Pro Val Cys Thr Arg Asn  
 20 25

20  
 <210> 173  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> *Oldenlandia affinis*  
 25  
 <400> 173

Cys Gly Glu Thr Cys Phe Gly Gly Thr Cys Asn Thr Pro Gly Cys Ser  
 1 5 10 15

Cys Thr Trp Pro Ile Cys Thr Arg Asp Gly Leu Pro Val  
 20 25

30  
 <210> 174  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> *Oldenlandia affinis*

ES 2 582 207 T3

<400> 174

Gly Thr Pro Cys Gly Glu Ser Cys Val Tyr Ile Pro Cys Ile Ser Gly  
1 5 10 15

Val Ile Gly Cys Ser Cys Thr Asp Lys Val Cys Tyr Leu Asn  
20 25 30

**REIVINDICACIONES**

1. Una formulación peptídica que comprende:

- 5 a) un péptido que se selecciona de entre cualquiera de las siguientes secuencias: SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, o SEQ ID NO: 119;
- b) un disolvente orgánico polar que se selecciona de entre acetona, metanol, etanol, propanol y todos sus isómeros, metiletilcetona, dietilcetona, acetonitrilo y etilacetoacetato;
- 10 c) un disolvente aprótico polar que se selecciona de entre: dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida, dioxano y hexametilfosforotriamida;
- d) en donde dicho disolvente orgánico polar comprende de un 70 a un 99 por ciento (%) del volumen final de la formulación;
- e) en donde dichos disolvente aprótico polar o adyuvante comprenden de aproximadamente un 30 a aproximadamente un 1 por ciento (%) del volumen final de la suspensión;
- 15 f) una fase acuosa opcional, en donde dicha fase acuosa comprende desde 0 (cero) a aproximadamente un 10 por ciento (%) del volumen final de la suspensión.

2. Un proceso para el control de un insecto con la formulación peptídica de la reivindicación 1, en el que la formulación peptídica se aplica al entorno del insecto.

20

3. Un péptido que comprende SEQ. ID. NO. 117.

4. Un péptido que comprende SEQ. ID. NO. 118.

25

5. Un péptido que comprende SEQ. ID. NO. 119.