



1/2

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

Organización CSA Ltda

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

00-434

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO GEL DE LA DESATURASA
HUMANA Y USO USO

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL C12N^{15/53}, C12N^{9/00}

71. SOLICITANTE ABBOTT LABORATORIES

DOMICILIO ABBOTT PARK, ESTADO DE ILLINOIS, USA

74. APODERADO JOSE ANTONIO LLOREDA

BOGOTÁ, D. C.,

EXPEDIENTE No.

000434

TITULO " GEN DE LA DESATURASA HUMANA Y SUS USOS."

CLASIFICACION INTERNACIONAL C12N 15/53, C12N 9/00.

SOLICITANTE ABBOTT LABORATORIES

DOMICILIO ABBOTT PARK, ESTADO DE ILLINOIS, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

APODERADO JOSE ANTONIO LLOREDA
T.P. 10.784
CÓDIGO 231

SANTAFE DE BOGOTA, D.C. - 5 ENE. 2000



00 434

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social **ABBOTT LABORATORIES** sociedad existente y organizada de conformidad con las leyes del Estado de Illinois, Estados Unidos de América

No. de Identificación _____

Representante Legal (Persona Jurídica) **JOSE ANTONIO LLOREDA**

País de Domicilio **ESTADOS UNIDOS DE AMERICA**

Departamento o Estado **ILLINOIS**

Dirección **100 Abbott Park Road, Abbott Park, Illinois 60064-3500 Estados Unidos de América.**

Ciudad **ABBOTT PARK** Teléfono **009 1 847 935 1729**

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre **JOSE ANTONIO LLOREDA**

Dirección y Domicilio **Calle 72 No. 5-83 Piso 6° |**

Ciudad **Santafé de Bogotá** Teléfono **326 42 70**

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor(es) **Pradip Mukerji, Amanda Eun-Yeong Leonard, Yung-Sheng Huang y Jennifer M. Parker-Barnes**

Identificación _____

Dirección **1069 Arcaro Drive Gahanna, OH 43230; 581 Shadewood Court Gahanna, OH 43230; 2462 Danvers Court Upper Arlington, OH 43220 y 1311 Belcross Drive, New Albany, OH 43054**

Teléfono **009 1 847 935 1729**

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención **" GEN DE LA DESATURASA HUMANA Y SUS USOS . "**

PRIORIDAD REIVINDICADA SI ☒ NO ☐ TIPO DE PRIORIDAD ANDINA ☐ UNIONISTA ☒

(33) País **US** (32) Fecha **08-01-99** (31) No. Solicitud **09/227.613**

Para Publicar a los ☐ 6 meses ☐ 12 meses ☐ 18 meses a partir de la fecha de la presente Solicitud

(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL

C.12N 15/33, C12N9/00

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a la identificación de un gen involucrado en la des-saturación de ácidos grasos poliinsaturados en el carbono 5 (v.g., "Δ5-desaturasa humana") y a sus usos. En particular, la Δ5-desaturasa humana puede utilizarse, por ejemplo, en la conversión del ácido dihomo-γ-linolénico (ADGL) en ácido araquidónico (AA) y en la conversión del ácido 20:4n-3 en el ácido eicosapentaenoico (AEP). El ácido araquidónico (AA), y los ácidos grasos poliinsaturados producidos a partir de estas conversiones pueden agregarse a composiciones farmacéuticas, composiciones nutricionales, alimentos para animales, así como también a otros productos como por ejemplo los cosméticos.

ANEXOS DE LA SOLICITUD

- | | |
|--|-------------------------------------|
| Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica | ☐ |
| Los poderes debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la S.I.C. 11.700 | ☒ |
| Recibo de la tasa respectiva \$553.000,00 | ☒ |
| Recibo de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación | ☐ |
| Si se reivindica prioridad Ancina. | |
| Copia de la primera solicitud | ☐ |
| Traducción oficial | ☐ |
| Si se reivindica prioridad Unionista: | |
| ... certificada de la primera solicitud: | ☐ |
| Nota: Debe presentarse dentro de los tres (3) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior | |
| Traducción Simple | ☐ |
| Capítulo descriptivo | ☒ |
| Dibujos, planos necesarios | ☒ |
| Capítulo reivindicatorio | ☒ |
| Tarjeta archivo propietarios según formato | ☒ |
| Tarjeta archivo temático según formato | ☒ |
| Extracto para publicación según formato | ☒ |
| Arte final 12 x 12 cms. Y 6x6 cms | ☐ |
| Otros Documentos | ☐ |
| Nota: Anexo información sobre la fuente normativa de reciprocidad y petición Reconocimiento Personería | ☒ |

SOLICITO LA CONCESIÓN DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD

FIRMA

NOMBRE JOSE ANTONIO LLOREDA

C.C. 17.159.681 de Bogotá TP No. 10.784



2

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

NIT : 800176089-Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,627

FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

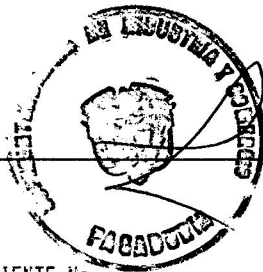
DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JOSE LOPEZA CAMACHO & COCONSIGNACION		BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** CONCEPTO *****

CANT	PERIÓDICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	553,000.00
		TOTAL :	\$ 553,000.00

SON: QUINIENTOS CINCUENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE :



RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10

Conmutador: 334 12 21

Fax: 281 31 25

Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

NIT : 300175007-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

REMIO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,587

FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	VR. PAGO
DOSE LLOPEDA CAMACHO & COCONSIGNACION		BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

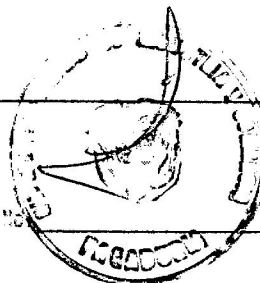
***** CONCEPTO *****

CAUSAL ADMINISTRATIVO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
31/0005-01-08 PRORROGA DE TERMINOS	31 PRORROGA DE TERMINOS	45,000.00
TOTAL :		\$ 45,000.00

CONV: CUARENTA Y CINCO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CANCELACION AL EXPEDIENTE NO



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 00000434 00000000 Folios: 161
Fecha (ACT): 2000-01-05 15:38:25
NIT : 800175000-2 Tranite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,604
FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
JOSE LUCYDEA CAMACHO & CO	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** CONCEPTO *****

CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	5,200.00
TOTAL :	\$ 5,200.00

CON: CINCO MIL DOSCIENTOS PESOS

RECTORAL

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.





20
5

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

NIT : 800178089-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000 Folios: 161
Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,593
FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JOSE LOREDA CANACHO & CO	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050 00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO	
50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	800.00
TOTAL :			800.00

SOLO OCHOCIENTOS PESOS

RESPONSABLE :



RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Commutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176089-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Folios: 161

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 55,816
FECHA : OCTUBRE 11 DE 1999

Radicacion : 00000434 00000000

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

***** CONSIGNACION *****

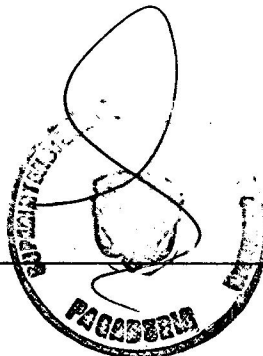
DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	747629	11/10/1999	11,113,300.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
10	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
20		FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	800.00
TOTAL :			\$ 800.00

SON: OCHOCIENTOS PESOS

RESPONSABLE :



RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176089-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 55,810
FECHA : OCTUBRE 11 DE 1999

Radicacion : 03000434 00000000 Folios: 161
Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	747629	11/10/1999	11,113,300.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
10	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
20		FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	800.00
TOTAL :			\$ 800.00

SON: OCHOCIENTOS PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176089-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Folios: 161

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,594
FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

Radicacion : 00000434 00000000

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CAMACHO & CO	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

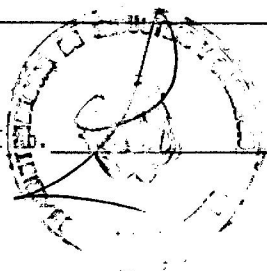
***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
10	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
20		FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	800.00
		TOTAL :	\$ 800.00

CEN: OCHOCIENTOS PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

REGISTRO OFICIAL DE CAJA : 00
FECHA : 00000000 00 00 0000

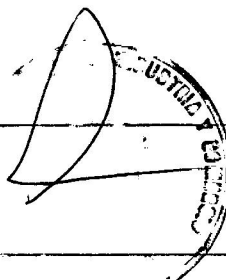
DEPOSITANTE	TIPO	CANTO	CUENTA	FECHA	FECHA	FECHA
LOREDA Y CIA S. A	CONCILIACION	CANTO DETALLADO	ASO 00000000	750000	00/00/0000	00,000.00

CANT. DEPOSITOS	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50000 00 00	CONCEPTO 00000000 00000000	50,000.00
	TOTAL :	50,000.00

CONCEPTO DETALLADO

RESPONSABLE :

REGISTRO DE CAJA (00/00/00) AL CUBIERTO



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 1
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

SEÑAL OFICIAL DE PAGA : 00 40,000

FECHA : SEPTIEMBRE 8 DE 1999

***** D E C L A R A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PAGO	Nº. PAGO
ALCANTARA Y CIA S. A.	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	100-0000000	750100	09/09/1999	00,000.00

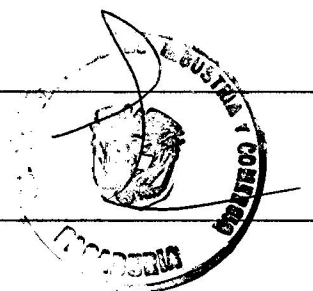
***** D E C L A R A C I O N *****

CONCEPTO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
SEÑAL DE PAGA OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	00-00000000-0000-0000	00.00
TOTAL :	:	00.00

SEÑAL DE PAGA

RECORRIDO :

SEÑAL DE PAGA ADJUNTO AL EXPERIENTE N°.



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
 Conmutador: 334 12 21
 Fax: 281 31 25
 Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 900171 99-2

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 49.924

FECHA : SEPTIEMBRE 9 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

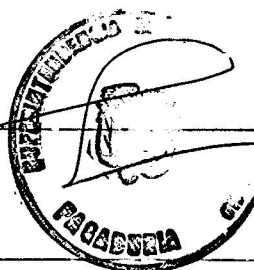
DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LIBREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050 00021-8	750480	09/09/1999	90,800.00

***** CONCEPTOS *****

CANT. HISTORICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-07 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
20	FOTOCOPIAS (CADA "014"	80.00
	TOTAL :	\$ 80.00

EN: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE :



RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10

Conmutador: 334 12 21

Fax: 281 31 25

Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

2k
13

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

VIT : 00017100

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

REGISTRO REGIONAL DE DATA : 99 : 49.923

FECHA : SEPTIEMBRE 9 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

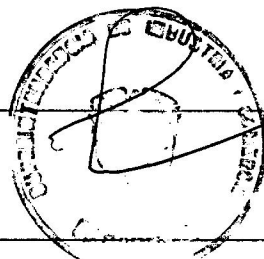
DEBITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PGO	V-L. PAGO
LOPEDEZ Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00004-9	750.000	09/09/1999	99.900.00

***** C O N C E P T O *****

CANT. REMITIDO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005 01 09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
20	FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
	TOTAL :	80.00

SON: CIENTO PESOS

RESPONSABLE :



REGISTRO DE CAJA ACUSADO AL EXPEDIENTE No.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
 Conmutador: 334 12 21
 Fax: 281 31 25
 Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

NIT : 802176089

Trasite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,614

FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CO N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CAMACHO & CO	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
		TOTAL :	\$ 80.00

CON: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



241
15

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800179089-2

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,616

FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CAMACHO & CO	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
		TOTAL :	\$ 80.00

CON: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



200

16

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

NIT : 800176089-2 Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,617
FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

**** CONSIGNACION ****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CAMACHO & CO	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

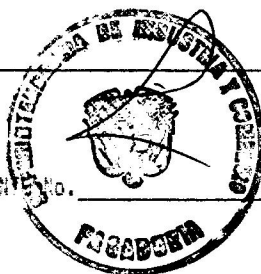
**** CONCEPTO ****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD :	
		20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
		TOTAL :	\$ 80.00

SON: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

NIT : 900176089-2

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,608

FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CANACHO A COCONSIGNACION		BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

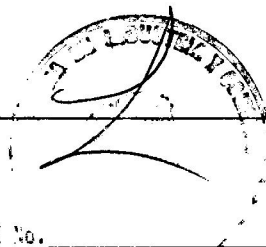
***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD :	
		20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
		TOTAL :	\$ 80.00

SOLO OCHENTA PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



27
17

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

NIT : 900174089-2

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,609
FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

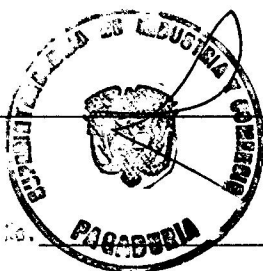
DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CANACHO & COCONSIGNACION		BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
20	FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
TOTAL :		\$ 80.00

SON: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE :



RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

20
19

NIT : 300170099-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,610
FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CANACHO & CO	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
		TOTAL :	\$ 80.00

SON: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



22
20

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000 Folios: 161
Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,615
FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

**** COCONSIGNACION ****

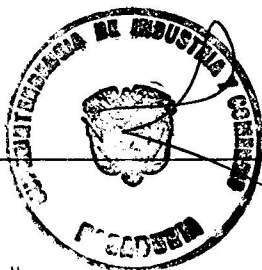
DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CAMACHO & COCONSIGNACION		BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
		TOTAL :	\$ 80.00

SON: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE :



RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



29
21
Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AHD): 2000-01-05 15:38:25

NIT : 800176089-2 Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,619
FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

******* CONSIGNACION *******

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CAMACHO & CO	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

******* CONCEPTO *******

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
		TOTAL :	\$ 80.00

SON: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

28
22

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (RC): 2000-01-05 15:38:25

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 900175089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,618

FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CAMACHO & COCONSIGNACION		BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
		TOTAL :	\$ 80.00

SEN: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



288
23

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000 Folios: 161
Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 900176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,621
FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CAMACHO & COCONSIGNACION		BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

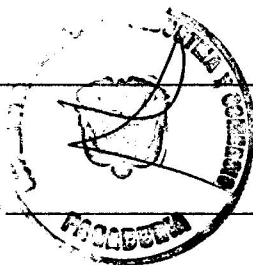
***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
		TOTAL :	\$ 80.00

CON: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

23
24

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (ACT): 2000-01-05 15:38:25

NIT : 000176089-2

Tracite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,620

FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CAMACHO & CO	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
		TOTAL :	\$ 80.00

CON: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

28
25

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00030434 00000000

Folios: 161

NIT : 900176089-2 Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,622

FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CANACHO & CO	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD :	
		20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
		TOTAL :	\$ 80.00

CON: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

24
26

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

NIT : 800170089-2

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,623

FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

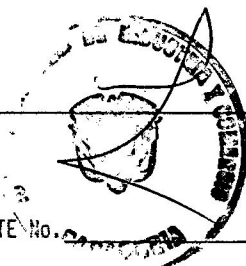
DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
JOSE LLGRED A CAMACHO & CO	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
		TOTAL :	\$ 80.00

SOM: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE :



RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

NIT : 80017608

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,624
FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CAMACHO & COCONSIGNACION		BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		20 FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
		TOTAL :	\$ 80.00

CON: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia



24/28

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00000434 00000000

Folios: 161

Fecha (AMD): 2000-01-05 15:38:25

NIT : 300176089-2

Trabite : 002 PATENTES D : 1 REGISTRO/ 001 SOLICITUD

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 99 - 68,625

FECHA : DICIEMBRE 14 DE 1999

***** CONSIGNACION *****

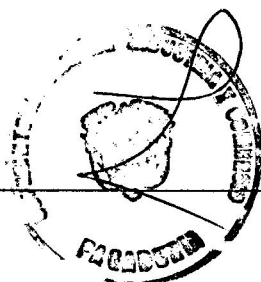
DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CANACHO & CO	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00024-9	957840	14/12/1999	2,269,200.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD :	
20	FOTOCOPIAS (CADA HOJA)	80.00
	TOTAL :	80.00

CON: OCHENTA PESOS

RESPONSABLE : _____



RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

3
29

ANEXO

Atentamente manifiesto a usted que la fuente normativa de la reciprocidad de la cual se deriva el derecho del solicitante para reivindicar prioridad en el presente caso, se encuentra:

- a) En el Artículo 2 del Anexo 1C, Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio, del Acuerdo por el cual se establece la "Organización Mundial de Comercio (OMC)" suscrito en Marruecos el 15 de abril de 1994. Este acuerdo fue aprobado por el Congreso de Colombia mediante Ley 170 de 1994 y por la Corte Constitucional Colombiana mediante Sentencia C-137-95 de 28 de marzo de 1995, y entró en vigencia en nuestro país el 30 de abril de 1995, 30 días después de su ratificación.

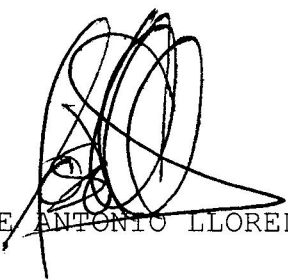
Dicho Artículo establece que en lo que respecta a las partes II, III y IV del Acuerdo (referidas a la existencia, alcance y ejercicio de los derechos de propiedad intelectual, entre otros) los Miembros cumplirán los artículos 1 a 12 y el Artículo 19 del Convenio de París --el Artículo que establece la prioridad de las patentes de invención es el Artículo 4--

- b) En el Artículo 4 del mencionado Anexo 1C, Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio, del Acuerdo por el cual se establece la Organización Mundial de Comercio (OMC), el cual consagra el "Trato de la nación más favorecida" para los países Miembros del mismo.
- c) En el Artículo 4 del Convenio de París, del cual ya era parte Colombia en el momento en que se presentó la solicitud cuya prioridad ahora reivindico, con lo cual se cumple la reciprocidad exigida en el Artículo 12 de la Decisión 344 del Acuerdo de Cartagena para con solicitudes provenientes de los Países Miembros del Acuerdo de Cartagena.

~~30~~
30

ANEXO

El documento que acredita la calidad REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores JOSE LLOREDA CAMACHO y/o ALFONSO LLOREDA CAMACHO y/o JOSE ANTONIO LLOREDA para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se encuentra protocolizado ante esa División bajo el No. 11.700. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.



JOSE ANTONIO LLOREDA

T.P. No. 10.784

CODIGO 231

RESUMEN -OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

GEN DE LA DESATURASA HUMANA Y SUS USOS

La presente invención se refiere a la identificación de un gen involucrado en la des-saturación de ácidos grasos poliinsaturados en el carbono 5 (v.g., "Δ5-desaturasa humana") y a sus usos. En particular, la Δ5-desaturasa humana puede utilizarse, por ejemplo, en la conversión del ácido dihomo-γ-linolénico (ADGL) en ácido araquidónico (AA) y en la conversión del ácido 20:4n-3 en el ácido eicosapentaenoico (AEP). El ácido araquidónico (AA), y los ácidos grasos poliinsaturados producidos a partir de estas conversiones pueden agregarse a composiciones farmacéuticas, composiciones nutricionales, alimentos para animales, así como también a otros productos como por ejemplo los cosméticos.

6
32

GEN DE LA DESATURASA HUMANA Y SUS USOS

La presente invención es una Continuación en Parte de la Solicitud pendiente de Patente de los Estados Unidos No. de Serie 09/227 613 radicada el 8 de enero de 1999, la cual es una Continuación en Parte de la Solicitud pendiente de Patente Internacional PCT/US98/07422 radicada el 11 de abril de 1998 (la cual designó a los Estados Unidos), esta última una Continuación en Parte de la Solicitud pendiente de Patente de los Estados Unidos No. de Serie 08/833 610 radicada el 11 de abril de 1997, todas citadas en el presente documento en toda su integridad con propósitos de solo referencia.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo Técnico

La presente invención se refiere a la identificación y aislamiento de un gen que codifica una enzima (v.g., la $\Delta 5$ -desaturasa humana) involucrada en la síntesis de ácidos grasos poliinsaturados y a sus usos. En particular, la enzima $\Delta 5$ -desaturasa cataliza la conversión de, por ejemplo, el ácido dihomo- γ -linolénico (ADGL) en ácido araquidónico (AA) y la conversión del ácido (n-3)-eicosatetraenoico ($20:4n-3$) en el ácido eicosapentaenoico ($20:5n-3$). El producto convertido puede emplearse a manera de sustrato en la producción de otros ácidos grasos poliinsaturados (AGPIs). El producto u otros ácidos grasos poliinsaturados pueden agregarse a composiciones farmacéuticas, composiciones nutricionales, a alimentos para animales, así como también a otros productos tales como los cosméticos.

Información Sobre el Estado Previo de los Conocimientos

Las desaturasas son críticas en la producción de ácidos grasos

7
33

poliinsaturados de cadena larga los cuales tienen muy importantes funciones. Por ejemplo, los AGPIs son componentes importantes de la membrana plasmática de una célula, lugar en donde éstos se encuentran en forma de fosfolípidos. También sirven como precursores de las prostaciclinas, eicosanoides, leucotrienos y prostaglandinas humanas. Adicionalmente, los AGPIs son necesarios para el desarrollo apropiado del cerebro de los infantes así como también para la formación y reparación de tejidos. En vista de la significancia biológica de los AGPIs, se han realizado numerosos intentos para producirlos, así como también para obtener intermediarios que conduzcan eficientemente a su producción.

Un buen número de enzimas están involucradas en la biosíntesis de los AGPIs entre las que se incluye las $\Delta 5$ -desaturasa (véase Figura 11). Por ejemplo, la elongasa (elo) cataliza la conversión del ácido γ -linolénico (AGL) al ácido dihomogamma-linolénico (ADGL) y del ácido estearidónico (18:4n-3) al ácido (n-3)-eicosatetraenoico (20:4n-3). El ácido linoleico (AL, 18:2- $\Delta 9,12$ ó 18:2n-6) es producido a partir del ácido oleico (AO, 18:1- $\Delta 9$) gracias a una $\Delta 12$ -desaturasa. El AGL (18:3- $\Delta 6,9,12$) es producido a partir del ácido linoleico a través de una $\Delta 6$ -desaturasa.

Debe anotarse que los animales no pueden desaturar más allá de la posición $\Delta 9$ y por lo tanto no pueden convertir el ácido oleico en ácido linoleico. De igual forma, el ácido α -linolénico (AAL, 18:3- $\Delta 9,12,15$) no puede ser sintetizado por los mamíferos. Sin embargo, el ácido α -linolénico puede convertirse en el ácido estearidónico (AET, 18:4- $\Delta 6,9,12,15$) a través de una $\Delta 6$ -desaturasa (véase publicación de patente PCT WO 96/13591 y The FASEB Journal, Abstracts, Part I, Abstract 3093, page A532 (Experimental Biology 98 San Francisco, CA, April 18-22, 1998); véase también Patente de los Estados Unidos No. 5 552 306), a lo cual sigue una elongación para obtener el ácido (n-3)-eicosatetraenoico (20:4- $\Delta 8,11,14,17$) en mamíferos y algas. Este ácido graso poliinsaturado (v.g., el 20:4- $\Delta 8,11,14,17$) puede luego convertirse en el ácido eicosapentaenoico (AEP, 20:5- $\Delta 5,8,11,14,17$) gracias a una $\Delta 5$ -

8
34

desaturasa. Otros eucariotes, entre los que se incluyen los hongos y plantas, poseen enzimas las cuales producen desaturación en los carbonos 12 (véase publicación PCT WO 94/11516 y Patente de los Estados Unidos No. 5 443 974) y 15 (véase publicación de PCT No. WO 94/11245). La mayoría de los ácidos grasos poliinsaturados de animales son por lo tanto obtenidos ya sea por la dieta y/o por des-saturación y elongación del ácido linolénico ó del ácido α -linolénico. En vista de estas dificultades, es de significativo interés el aislamiento de los genes involucrados en la biosíntesis de AGPIs a partir de especies que produzcan de forma natural estos ácidos grasos y expresar luego estos genes en un sistema microbiano, de planta ó animal que pueda ser alterado para lograr la producción de cantidades comerciales de uno o más AGPIs. Uno de los más importantes AGPIs de cadena larga, citado anteriormente, es el ácido araquidónico (AA). El AA se encuentra en hongos filamentosos y puede también purificarse a partir de tejidos de mamíferos entre los que se incluye el hígado y las glándulas adrenales. Tal como se anotó antes, la producción de AA a partir del ácido dihomo- γ -linolénico (ADGL) es catalizada por una $\Delta 5$ -desaturasa. El AEP (ácido eicosapentaenoico) es otro importante AGPI de cadena larga. Se encuentra en hongos y también en aceites de origen marino. Tal como se anotó antes, el AEP se obtiene a partir del ácido (n-3)-eicosatetraenoico gracias a una conversión catalizada por la $\Delta 5$ -desaturasa.

Con base en el anterior discusión, existe la clara necesidad de contar con la enzima $\Delta 5$ -desaturasa, del gen que codifica la enzima, así como también contar con métodos recombinantes de producción de esta enzima. Adicionalmente, existe la necesidad de aceites que contengan niveles de AGPIs más altos de lo que ocurre normalmente en la naturaleza así como también de aceites enriquecidos en cuanto al contenido de tales AGPIs novedosos. Tales aceites pueden solamente prepararse por aislamiento y expresión del gen de la $\Delta 5$ -desaturasa.

Todas las patentes y publicaciones citadas en el presente documento se incorporan, en toda su integridad, con propósitos de solo referencia.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una secuencia de nucleótidos aislada que corresponde o es complementaria aprox. a por lo menos el 50% de la secuencia de nucleótidos ilustrada en la ID SEC NO:1 (Figura 12). Esta secuencia de nucleótidos aislada puede representarse por la ID SEC NO:1. La secuencia codifica una desaturasa funcionalmente activa la cual utiliza un ácido graso poliinsaturado como su sustrato. Las secuencias pueden obtenerse a partir de un mamífero tal como, por ejemplo, un humano.

La presente invención también incluye proteínas purificadas codificadas por la secuencia de nucleótidos antes referida. Adicionalmente, la presente invención incluye un polipéptido purificado el cual desatura ácidos grasos poliinsaturados en el carbono 5 y tiene por lo menos una similitud en cuanto a aminoácidos de aprox. el 50% respecto de la secuencia de aminoácidos de las proteínas purificadas referidas inmediatamente antes.

Por otra parte, la presente invención abarca también un método de producción de una enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana. Dicho método comprende los pasos de: a) aislamiento de la secuencia de nucleótidos representada por la ID SEC NO:1 (Figura 12); b) construcción de un vector que comprende: i) una secuencia de nucleótidos aislada operablemente ligada a ii) un promotor; y c) introducción del vector dentro de una célula huésped bajo condiciones y durante un tiempo suficientes para la expresión de la enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana. La célula huésped puede tratarse, por ejemplo, de una célula eucariótica ó de una célula procariótica. En particular, la célula procariótica puede tratarse, por ejemplo de una célula de E. coli, de una célula cianobacteriana, ó de una célula de B. subtilis. La célula eucariótica puede ser, por ejemplo, una célula de mamífero, de insecto, de una planta o una célula fúngica (la célula fúngica puede corresponder, v.g, a una de

Saccharomyces cerevisiae, Candida spp., Lipomyces starkey, Yarrowia lipolytica, Kluyveromyces spp., Hansenula spp., Trichoderma spp., ó Pichia spp.).

Adicionalmente, la invención también abarca un vector que comprende:
a) una secuencia de nucleótidos como la representada por la ID SEC NO:1 (Figura 12) operablemente ligada a b) un promotor. La presente invención también incluye una célula huésped que comprenda este vector. La célula huésped puede ser, por ejemplo, una célula eucariótica ó una célula procariótica. Entre las células eucarióticas y células procarióticas apropiadas se encuentran las ya referidas.

Por otra parte, la presente invención incluye una célula de una planta, una planta ó tejido de planta que comprenda el vector antes descrito, en donde la expresión de la secuencia de nucleótidos del vector da como resultado la producción de por lo menos un ácido graso por parte de una célula de planta, de una planta ó de un tejido de planta. El ácido graso poliinsaturado puede corresponder, por ejemplo, a uno seleccionado entre ácido araquidónico (AA) y AEP (ácido eicosapentaenoico). La invención también incluye uno o más aceites o ácidos grasos de planta expresados por parte de una célula de planta, planta o tejido de planta antes referidos.

Adicionalmente, la presente invención abarca una planta transgénica que comprenda el vector antes descrito, en donde la expresión de la secuencia de nucleótidos del vector da como resultado la producción de niveles alterados de AA o de AEP cuando la célula se hace crecer en un medio de cultivo que comprenda un ácido graso seleccionado del grupo conformado por un ácido graso esencial, AL (ácido linoleico) y AAL (ácido α -linolénico).

Debe también anotarse que la presente invención incluye un mamífero transgénico no humano, cuyo genoma comprende una secuencia de ADN

que codifica una $\Delta 5$ -desaturasa humana operablemente ligada a un promotor. La secuencia de ADN puede ser representada por la ID SEC NO:1 (Figura 12). La presente invención también incluye un fluido (v.g., leche) producido por el mamífero transgénico no humano, en donde el fluido comprende un nivel detectable de por lo menos una $\Delta 5$ -desaturasa humana.

Adicionalmente, la presente invención incluye un método (v.g., "primer" método) para producir un ácido graso poliinsaturado que comprende los pasos de: a) aislamiento de dicha secuencia de nucleótidos representada por la ID SEC NO:1 (Figura 12); b) construcción de un vector que comprende una secuencia de nucleótidos aislada; c) introducción del vector dentro de una célula huésped bajo condiciones y durante un tiempo suficientes para la expresión de la enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana; y d) exposición de la enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana expresada a un 'substrato' ácido graso poliinsaturado con el fin de convertir el substrato en un 'producto' ácido graso poliinsaturado. El ácido graso poliinsaturado tomado como substrato puede tratarse, por ejemplo, del ácido dihomo- γ -linolénico (ADGL) ó del ácido (n-3)-eicosatetraenoico (20:4n-3) y el producto ácido graso poliinsaturado puede tratarse del ácido araquidónico (AA) ó del ácido eicosapentaenoico (AEP), respectivamente. Este método puede además comprender el paso adicional de exposición del producto ácido graso poliinsaturado a una elongasa con el fin de convertir el producto ácido graso poliinsaturado en 'otro' ó segundo ácido graso poliinsaturado diferente (v.g., "segundo" método). En este método, el que comprende el paso adicional (v.g., "segundo" método), el producto ácido graso poliinsaturado puede corresponder, por ejemplo, al ácido araquidónico (AA) ó al AEP (ácido eicosapentaenoico), y el 'otro' ó segundo ácido graso poliinsaturado puede corresponder al ácido adrenico (AD) ó al (n-3)-docosapentaenoico, respectivamente. El método que contiene el paso adicional puede comprender además el paso de exposición del segundo ácido graso poliinsaturado a una desaturasa adicional con el fin de convertir dicho

segundo ácido graso poliinsaturado a un ácido graso poliinsaturado "final" (v.g., "tercer" método). El ácido graso poliinsaturado final puede tratarse, por ejemplo, del ácido (n-6)-docosapentaenoico, ó del ácido docosahexaenoico (ADH).

La presente invención también incluye una composición nutricional que comprende por lo menos un ácido graso poliinsaturado seleccionado del grupo conformado por el producto ácido graso poliinsaturado producido de acuerdo con el "primer" método, el segundo ácido graso poliinsaturado producido de acuerdo con el "segundo" método, y el ácido graso poliinsaturado final producido de acuerdo con el "tercer" método. El producto ácido graso poliinsaturado puede corresponder, por ejemplo, al AA ó al AEP. El segundo ácido graso poliinsaturado puede ser, por ejemplo, ácido adrenico ó el ácido (n-3)-docosapentaenoico. El ácido graso poliinsaturado final puede tratarse, por ejemplo, del ácido (n-6)-docosapentaenoico ó del ácido docosahexaenoico (ADH). La composición nutricional puede corresponder, por ejemplo, a una fórmula para infantes, un suplemento dietético ó de un sustituto de la dieta y puede suministrarse a un humano ó a un animal y puede administrarse enteral o parenteralmente. La composición nutricional puede además comprender por lo menos un macronutriente seleccionado del grupo conformado por aceite de coco, aceite de soya, aceite de canola, monoglicéridos, diglicéridos, triglicéridos, glucosa, lactosa comestible, suero electrodializado, leche descremada electrodializada, suero de leche, proteína de soya, e hidrolizados de proteínas. También puede comprender por lo menos una vitamina seleccionada del grupo conformado Vitaminas A, C, D, E, y complejo B y por lo menos un mineral seleccionado del grupo conformado magnesio, calcio, zinc, manganeso, sodio, potasio, fósforo, cobre, cloruro, yodo, selenio y hierro.

Adicionalmente, la presente invención abarca una composición farmacéutica que comprende 1) por lo menos un ácido graso poliinsaturado seleccionado del grupo conformado por el producto ácido

graso poliinsaturado producido de acuerdo con el "primer" método, el segundo ácido graso poliinsaturado diferente producido de acuerdo con el "segundo" método, y el ácido graso poliinsaturado final producido de acuerdo con el "tercer" método y 2) un vehículo portador farmacéuticamente aceptable. La composición puede administrarse a un humano ó a un animal. Puede también comprender por lo menos un elemento seleccionado del grupo conformado por una vitamina, un mineral, una sal, un carbohidrato, un aminoácido, un ácido graso libre, un fosfolípido, un antioxidante, y un compuesto fenólico.

La presente invención también incluye un alimento para animales que comprende por lo menos un ácido graso poliinsaturado seleccionado del grupo conformado por el producto ácido graso poliinsaturado producido de acuerdo con el "primer" método, el segundo ácido graso poliinsaturado diferente producido de acuerdo con el "segundo" método, y el ácido graso poliinsaturado final producido de acuerdo con el "tercer" método. El producto ácido graso poliinsaturado puede tratarse, por ejemplo, de AA y AEP. El segundo ácido graso poliinsaturado diferente puede ser, por ejemplo, el ácido adrenico ó el ácido (n-3)-docosapentaenoico. El ácido graso poliinsaturado final puede tratarse, por ejemplo, del ácido (n-6)-docosapentaenoico ó del ácido docosaheptaenoico (ADH).

Por otra parte, la presente invención también incluye un cosmético que comprende un ácido graso poliinsaturado seleccionado del grupo conformado por el producto ácido graso poliinsaturado producido de acuerdo con el "primer" método, el segundo ácido graso poliinsaturado diferente producido de acuerdo con el "segundo" método, y el ácido graso poliinsaturado final producido de acuerdo con el "tercer" método.

Adicionalmente, la presente invención incluye un método de prevenir o tratar una condición patológica causada por la ingesta o producción insuficientes de ácidos grasos poliinsaturados, método que comprende administración de la anterior composición nutricional a un paciente en

una cantidad suficiente como para efectuar dicha prevención o tratamiento.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

La Figura 1 ilustra las secciones de las desaturasa $\Delta 5$ y $\Delta 6$ de la *Mortierella alpina*, las IDs (identidades) de los clones obtenidas a partir de la base de datos LifeSeq con las cuales dichas secciones presentan homología, y las convenciones asociadas con las IDs de los clones.

La Figura 2 representa el contig 2692004.

La Figura 3 representa el contig 2153526.

La Figura 4 representa el contig 3506132.

La Figura 5 representa el contig 3854933.

La Figura 6 representa el contig 2511785.

La Figura 7 representa el contig 2535 generado con base en el contig 2511785 de la Figura 6 y el contig 3506132 de la Figura 4.

La Figura 8 representa el contig 253538a generado con base en el contig 2535 de la Figura 7 y el contig 3854933 de la Figura 5.

La Figura 9 representa la identidad (igualdad) en cuanto a la secuencia de aminoácidos entre la $\Delta 5$ -desaturasa de la *M. alpina* (Ma29) y el contig 253538a.

La Figura 10 representa la identidad en la secuencia de aminoácidos entre la $\Delta 6$ -desaturasa de la *M. alpina* (Ma524) y el contig 253538a.

La Figura 11 representa diversas rutas de biosíntesis de ácidos grasos. Puede observarse el papel de la enzima $\Delta 5$ -desaturasa.

La Figura 12 representa la secuencia de nucleótidos completa del gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana ($\Delta 5$ humana)

La Figura 13 representa la secuencia de aminoácidos de la $\Delta 5$ -desaturasa humana traducida a partir de la $\Delta 5$ humana (véase, Figura 12).

La Figura 14 ilustra la identidad (igualdad) de secuencias entre los clones pRAE-7 y pRAE-8.

La Figura 15 representa la secuencia completa del gen de la desaturasa humana putativa proveniente del clon pRAE-7.

La Figura 16 ilustra la identidad en cuanto a secuencias de aminoácidos entre el gen de la desaturasa humana putativa en el pRAE-7 y la $\Delta 5$ -desaturasa de la *M. alpina*.

La Figura 17 ilustra la identidad en cuanto a secuencias de aminoácidos entre el gen de la desaturasa humana putativa en el pRAE-7 y la $\Delta 6$ -desaturasa de la *M. alpina*.

La Figura 18 ilustra la identidad en cuanto a secuencias de aminoácidos entre el gen de la desaturasa humana putativa en el pRAE-7 y el contig 2535.

La Figura 19 ilustra la identidad en cuanto a secuencias de aminoácidos entre el gen de la desaturasa humana putativa en el pRAE-7 y el contig 38.

La Figura 20 ilustra la identidad en cuanto a secuencias de aminoácidos entre el N-terminus (terminal N) del clon A-1, un representante del Grupo 1, y el N-terminus del gen del citocromo b5.

La Figura 21 ilustra la identidad en cuanto a secuencias de nucleótidos entre la secuencia de nucleótidos de una porción del clon A-1 y una porción de la secuencia GenBank ac004228.

La Figura 22 representa la identidad en cuanto a las secuencias de nucleótidos entre la secuencia de nucleótidos de una porción del clon 3-5 del Grupo 2 y una porción de la secuencia GenBank ac004228. El clon 3-5 tiene una ATG dentro de un sitio *NcoI*, pero traduce cuatro codones de detención (stops) entre la ATG y el sitio *BamHI*.

La Figura 23 representa la identidad en cuanto a las secuencias de nucleótidos entre la secuencia de nucleótidos de una porción del clon A-10 del Grupo 3 y una porción de la secuencia GenBank ac004228. El Clon A-10 tiene una ATG 135 bp corriente arriba del sitio *BamHI*, dando lugar a un marco de lectura abierto de 1267 bp (base pair = pares de bases).

La Figura 24 representa la identidad en cuanto a las secuencias de nucleótidos entre la secuencia de nucleótidos de una porción del clon A-16 del Grupo 4 y una porción de la secuencia GenBank ac004228. El clon A-16 no tiene una ATG; sin embargo, existe una ATG (subrayada) corriente arriba de donde la secuencia se alinea con la ac004228.

La Figura 25 representa la identidad en la secuencia de nucleótidos entre la secuencia de nucleótidos de una porción del clon A-19 del Grupo 5 y una porción de la secuencia GenBank ac004228. El clon A-19 no tiene una ATG; sin embargo, este clon se alinea (matches) con la secuencia ac004228 incluso corriente arriba del sitio *BamHI*.

La Figura 26 representa la secuencia parcial de nucleótidos de la

H
43

secuencia GenBank ac004228 y los clones representativos de los cinco Grupos.

La Figura 27 representa la identidad en cuanto a las secuencias de nucleótidos entre la $\Delta 5$ -desaturasa humana y el contig 3381584.

La Figura 28 representa la identidad en cuanto a las secuencias de nucleótidos entre la $\Delta 5$ -desaturasa humana y el contig 2153526.

La Figura 29 representa la identidad en cuanto a las secuencias de aminoácidos entre la $\Delta 5$ -desaturasa humana y el contig 253538a.

La Figura 30 representa la identidad en cuanto a las secuencias de aminoácidos entre la $\Delta 5$ -desaturasa humana y el contig 38.

La Figura 31 representa la identidad en cuanto a las secuencias de aminoácidos entre la $\Delta 6$ -desaturasa de la *M. alpina* (Ma524) y la $\Delta 5$ -desaturasa humana.

La Figura 32 representa la identidad en la secuencia de aminoácidos entre la $\Delta 5$ -desaturasa de la *M. alpina* (Ma29) y la $\Delta 5$ -desaturasa humana.

La Figura 33 ilustra la actividad de la $\Delta 5$ -desaturasa humana del gen en el clon pRAE-28-5, comparada con la del gen en los clones pRAE-26-1, pRAE-33, y pRAE-35, cuando se expresa en levadura de panadería.

La Figura 34 ilustra la especificidad por el sustrato del gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana en el clon pRAE-28-5, la conversión del AGDL (20:3n-6) en AA (20:4n-6), cuando el gen se expresa en levadura de panadería.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a secuencias de nucleótidos y de aminoácidos del gen de la $\Delta 5$ -desaturasa derivada de humanos. Adicionalmente, la presente invención también incluye los usos del gen y de la enzima codificada por este gen. Por ejemplo, el gen y su correspondiente enzima pueden usarse para la producción de ácidos grasos poliinsaturados tales como, por ejemplo, el ácido araquidónico (AA), ácido eicosapentaenoico (AEP) y/o el ácido adrenico (AD) los cuales puede agregarse a composiciones farmacéuticas, composiciones nutricionales y a otros productos valiosos.

Gen de la $\Delta 5$ -Desaturasa humana y Enzima Codificada por Este

Tal como se anotó anteriormente, la enzima desaturasa codificada por el gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana es esencial para la producción de ácidos grasos poliinsaturados altamente insaturados con una longitud de cadena de más de 20 carbonos. La secuencia de nucleótidos del gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana aislado se ilustra en la Figura 2, y en la Figura 3, se ilustra la secuencia de aminoácidos de la correspondiente proteína purificada.

A manera de ejemplo, el gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana aislado acorde con la presente invención, convierte el ácido dihomo- γ -linolénico (ADGL) en ácido araquidónico (AA), ó convierte el ácido (n-3)-eicosatetraenoico ($20:4n-3$) en el AEP (ácido eicosapentaenoico). Como se sabe, el AA ni el AEP, por ejemplo, pueden sintetizarse sin el gen de la $\Delta 5$ -desaturasa (v.g., humana ó de la *M. alpina*) y la enzima codificada por éste.

Debe anotarse que la presente invención también abarca secuencias de nucleótidos (y las correspondientes proteínas codificadas) las cuales poseen unas secuencias que corresponden (v.g., son idénticas) ó son

complementarias aprox. a por lo menos el 50%, preferiblemente por lo menos el 60%, y mejor aún por lo menos a aprox. el 70% de los nucleótidos presentes en la secuencia definida por la ID SEC NO:1 (v.g., la secuencia de nucleótidos del gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana descrita en el presente documento (véase Figura 12). Tales secuencias pueden obtenerse a partir de fuentes no humanas (v.g., C. elegans ó ratón). Adicionalmente, la presente invención también abarca fragmentos y derivados de las secuencias de nucleótidos de la presente invención (v.g., ID SEC NO:1, así como también las secuencias obtenidas a partir de fuentes no humanas, y exhiben la complementariedad ó correspondencia anteriormente descritas. Los equivalentes funcionales de las secuencias mencionadas (v.g., secuencias con actividad $\Delta 5$ -desaturasa humana) también se encuentran abarcadas dentro del alcance de la presente invención.

La invención también incluye un polipéptido purificado el cual desatura ácidos grasos poliinsaturados en la posición correspondiente al carbono 5, el cual tiene por lo menos una similaridad en cuanto a aminoácidos del 50% frente a la secuencia de aminoácidos de las proteínas antes mencionadas, las cuales son, a su vez, codificadas por las secuencias de nucleótidos anteriormente descritas.

La presente invención también abarca una secuencia de nucleótidos aislada la cual codifica la desaturasa de actividad sobre los AGPIs y que es hibridizable, bajo condiciones moderadamente rigurosas, con un ácido nucleico que tiene una secuencia de nucleótidos correspondiente o complementaria respecto a la secuencia de nucleótidos representada por la ID SEC NO:1 ilustrada en la Figura 12. Una molécula de ácido nucleico es "hibridizable" con otra molécula de ácido nucleico cuando una forma de una sola cadena de la molécula de ácido nucleico puede unirse (anneal) a la otra molécula de ácido nucleico bajo las condiciones apropiadas de temperatura y fuerza iónica (véase Sambrook et al., "Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition (1989), Cold

Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York)) . Las condiciones de temperatura y fuerza iónica determinan la "rigurosidad" de la hibridización. La "hibridización" exige que dos ácidos nucleicos contengan secuencias complementarias. Sin embargo, dependiendo de la rigurosidad de la hibridización, pueden ocurrir disparidades entre las bases. La rigurosidad apropiada para la hibridización de ácidos nucleicos depende de la longitud de los ácidos nucleicos y el grado de complementariedad. Tales variables son bien conocidas en este campo de la ciencia. Más específicamente, entre mayor sea el grado de similaridad u homología entre dos secuencias de nucleótidos, mayor será el valor de la T_m , temperatura de fusión, de los híbridos de ácidos nucleicos que contengan aquellas secuencias. Para el caso de híbridos con más de 100 nucleótidos de longitud, se han obtenido ecuaciones para el cálculo de la T_m (véase Sambrook et al., supra [citado arriba]). Para la hibridización con ácidos nucleicos más cortos, la posición de las disparidades (incongruencias) se vuelve más importante, y la longitud del oligonucleótido determina su especificidad (véase Sambrook et al., supra)

Producción de la Enzima $\Delta 5$ -Desaturasa Humana

Una vez se haya aislado el gen que codifica la $\Delta 5$ -desaturasa humana, este puede luego introducirse dentro de ya sea una célula huésped procariótica o dentro de una eucariótica a través del uso de un vector ó constructo.

El vector, por ejemplo, un bacteriófago, cósmido ó plásmido, puede comprender la secuencia de nucleótidos que codifica la enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana así como también cualquier promotor que sea funcional en la célula huésped y capaz de producir la expresión de la $\Delta 5$ -desaturasa humana codificada por la secuencia de nucleótidos. El promotor se encuentra en asociación operable con una secuencia de nucleótidos u operablemente ligado a dicha secuencia. (Se dice que un promotor está "operablemente ligado" con una secuencia codificadora si

el promotor afecta la transcripción ó expresión de la secuencia codificadora). Entre los promotores apropiados se incluyen, por ejemplo, aquellos obtenidos de genes que codifican la alcohol deshidrogenasa, la gliceraldehido 3-fosfatodeshidrogenasa, fosfoglucoisomerasa, fosfoglicerato quinasa, acidofosfatasa, T7, TP1, lactasa, metalotioneína, el primer (cebador) del citomegalovirus temprano inmediato, la proteína ácida del suero, la glucoamilasa, y los promotores activados en presencia de galactosa, por ejemplo, la GAL1 y GAL10. Adicionalmente, la secuencia de nucleótidos codificadoras de otras proteínas, oligosacáridos, lípidos, etc. puede también incluirse dentro del vector así como también otras secuencias reguladoras tales como una señal de poliadenilación (v.g., la señal de poli-A del antígeno SV-40T, la ovoalbúmina ó la hormona de crecimiento bovina). La elección de las secuencias presentes en el constructo depende de los productos de expresión deseados así como también de la naturaleza de la célula huésped.

Tal como se anotó antes, una vez se haya construido el vector, éste puede luego introducirse en la célula huésped elegida por métodos conocidos por aquellos expertos en este campo de la industria entre los que se incluye, por ejemplo, la transfección, la transformación y la electroporación (véase, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Vol. 1-3, ed. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)). La célula huésped luego se cultiva bajo apropiadas condiciones que permitan la expresión del AGPI el cual luego será recuperado y purificado.

Entre los ejemplos de células huésped procarióticas apropiadas se incluyen, por ejemplo, bacterias tales como Escherichia coli, Bacillus subtilis así como también cianobacterias como Spirulina spp. (v.g., algas verdeazules). Ejemplos de células huésped eucarióticas apropiadas son, por ejemplo, las células de mamíferos, células de plantas, células de levaduras tales como Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces carlsbergensis, Lipomyces starkey, Candida spp. tal como la Yarrowia

(*Candida lipolytica*, *Kluyveromyces* spp., *Pichia* spp., *Trichoderma* spp. ó *Hansenula* spp., ó células fúngicas tales como las células fúngicas filamentosas, por ejemplo, *Aspergillus*, *Neurospora* y *Penicillium*. Preferiblemente, se utilizan células de *Saccharomyces cerevisiae* (levadura de panadería).

La expresión en una célula huésped puede realizarse de una manera temporal o estable. La expresión temporal puede ocurrir a partir de los constructos introducidos los cuales contienen las señales expresión funcionales en la huésped célula, pero utilizando constructos que no repliquen y que raramente se integren dentro de la célula huésped, ó en caso de que la célula huésped no sea proliferante. La expresión temporal también puede acometerse por inducción de la actividad de un promotor regulable operablemente ligado al gen de interés, aunque tales sistemas inducibles frecuentemente exhiben un nivel basal bajo de expresión. La expresión estable puede lograrse mediante la introducción de un constructo que puede integrarse en el genoma del huésped o que en forma autónoma se replique en la célula huésped. La expresión estable interés puede seleccionarse mediante el uso de un marcador seleccionable localizado sobre el constructo de expresión ó transfectado con el constructo de expresión, a lo cual sigue la selección de las células que expresen el marcador. Cuando la expresión estable resulte de la integración, el sitio de la integración del constructo puede ocurrir al azar dentro del genoma del huésped o puede realizarse en un sitio tomado como objetivo a través del uso de constructos que contengan regiones de homología con el genoma del huésped suficientes para dirigir la recombinación con el locus del huésped. En caso de que los constructos se dirijan a un locus endógeno, todas o algunas de las regiones transcripcionales y traduccionales reguladoras pueden ser suministradas por el locus endógeno.

Un mamífero transgénico puede también emplearse con el fin de expresar la enzima de interés (v.g., la $\Delta 5$ -desaturasa humana), y en últimas el

AGPI(s) de interés. Más específicamente, una vez el constructo anteriormente descrito sea creado, éste puede insertarse en el pronúcleo (pronucleus) de un embrión. El embrión puede luego implantarse en una hembra recipiente. Alternativamente, puede también utilizarse un método de transferencia nuclear (Schnieke et al., Science 270:2130-2133 (1997)). La gestación y nacimiento se deberán luego permitir (véase, v.g., Patente de los Estados Unidos No. 5 700 671). Las muestras de leche, de tejidos o de otros fluidos tomadas de los hijos contendrán luego niveles alterados de AGPIs, si se comparan con los niveles normalmente encontrados en los animales no transgénicos. Las generaciones posteriores pueden monitorearse en cuanto a la producción de los niveles alterados o incrementados de AGPIs y por consiguiente confirmarse la incorporación del gen ó genes codificadores de la enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana en sus genomas. El mamífero utilizado como huésped puede seleccionarse del grupo conformado, por ejemplo, por un ratón, una rata, un conejo, un cerdo, una cabra, una oveja, un caballo y una vaca. Sin embargo, puede usarse cualquier mamífero a condición de que tenga la capacidad de incorporar ADN codificador de la enzima de interés dentro de su genoma.

Para la expresión de un polipéptido que funcione como $\Delta 5$ -desaturasa humana, las regiones de iniciación y terminación funcionales, transcripcionales y traduccionales, deberán estar operablemente ligadas al ADN codificador del polipéptido desaturasa. Las regiones iniciación y terminación de la transcripción y traducción se obtienen a partir de una variedad de fuentes, no exclusivas, entre las que se incluye el ADN a ser expresado, genes reconocidos o de los que se sospeche son capaces de ser expresados en el sistema deseado, vectores de expresión, síntesis química, o aquellas regiones provenientes de un locus endógeno presente en una célula huésped. La expresión en un tejido de planta y/o en una parte de la planta presenta ciertas eficiencias, particularmente cuando el tejido ó la parte es una que sea cosechada tempranamente, tales como semillas, hojas, frutos, flores, raíces, etc. La expresión puede dirigirse

24
50

para que se lleve a cabo en ciertas locaciones de la planta utilizando secuencias reguladoras específicas tales como aquellas reveladas en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5 463 174, 4 943 674, 5 106 739, 5 175 095, 5 420 034, 5 188 958, y 5 589 379. Alternativamente, la proteína expresada puede tratarse de una enzima que produzca un producto que pueda ser incorporado, ya sea directamente o después de sufrir modificaciones, dentro de una fracción de los fluidos de la planta huésped. La expresión de un gen $\Delta 5$ -desaturasa humana, ó de transcriptos antisentido de $\Delta 5$ -desaturasa humana, puede alterar los niveles de AGPIs específicos, o de derivados de éstos, encontrados en las partes de plantas y/o tejidos de plantas. La región codificadora del polipéptido $\Delta 5$ -desaturasa humana puede expresarse ya sea por si misma o con otros genes, con el fin de producir tejidos y/o partes de planta que contengan proporciones superiores de los AGPIs deseados o en los cuales la composición en AGPIs se asemeje más estrechamente a la de la leche de seno humano (Prieto et al., publicación PCT No. WO 95/24494). La región de terminación puede obtenerse a partir de la región 3' del gen del cual se obtuvo la región de iniciación o a partir de un gen diferente. Se conoce un gran número de regiones de terminación y se ha encontrado que son satisfactorias en una variedad de huéspedes ya sea de los mismos, o de diferentes, géneros y especies. La región de terminación usualmente se selecciona como un asunto de conveniencia en lugar de atender a una propiedad en particular.

Tal como se anotó antes, una planta (v.g., la Glycine max (soya) ó la Brassica napus (canola)), un tejido de planta, maíz, papa, girasol, cártamo ó lino, pueden también utilizarse como huésped ó como célula huésped, respectivamente, para la expresión de la enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana las cuales pueden, a su vez, emplearse en la producción de ácidos grasos poliinsaturados. Más específicamente, los AGPIs deseados pueden ser expresados en semillas. Los métodos de aislamiento de aceites de semillas son conocidos en este campo de la industria. Por lo tanto, además de proporcionar una fuente de AGPIs, los componentes de los

aceites de semillas pueden manipularse a través de la expresión del gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana, así como también y quizás con otros genes de desaturasas y de elongasas, con el fin de obtener aceites de semillas que puedan agregarse a composiciones nutricionales, composiciones farmacéuticas, alimentos para animales y cosméticos. Nuevamente, un vector que comprenda una secuencia de ADN que codifique la $\Delta 5$ -desaturasa humana, operablemente ligado a un promotor, se introducirá en el tejido de planta ó en la planta durante un tiempo y bajo condiciones suficientes para la expresión del gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana. El vector puede también comprender uno o más genes que codifiquen otras enzimas, por ejemplo, $\Delta 4$ -desaturasa, elongasa, $\Delta 6$ -desaturasa, $\Delta 12$ desaturasa, $\Delta 15$ -desaturasa, $\Delta 17$ -desaturasa y/o $\Delta 19$ -desaturasa. El tejido de la planta o la planta puede producir el substrato relevante (v.g., ADGL, AGL, AEP, 20:4n-3, etc.) con el cual las enzimas actúan, ó un vector que codifique enzimas que produzcan tales substratos puede introducirse en el tejido de la planta, célula de planta, planta, ó célula huésped de interés. Por otra parte, el substrato puede asperjarse sobre los tejidos de la planta que expresen las enzimas apropiadas. Usando estas diversas técnicas, el investigador puede producir AGPIs (v.g., ácidos grasos n-6 insaturados tales como el AA, ó ácidos grasos n-3 tales como AEP ó ADH) a través del uso de una célula de una planta, un tejido de planta, ó planta. Debe aclararse también que la invención también abarca una planta transgénica que comprende el vector antes descrito, en donde la expresión de la secuencia de nucleótidos del vector da como resultado la producción de un ácido graso poliinsaturado en, por ejemplo, las semillas de la planta transgénica.

Los substratos que pueden ser producidos por la célula huésped ya sea natural ó transgénicamente, así como también las enzimas que pueden ser codificadas por secuencias de ADNs presentes en el vector, y que subsecuentemente son introducidos dentro de la célula huésped, se ilustran en la Figura 1.

En vista de lo anterior, la presente invención también abarca un método de producción de la enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana, método que comprende los pasos de: 1) aislamiento de la secuencia deseada de nucleótidos del gen codificador de la $\Delta 5$ -desaturasa humana; 2) construcción de un vector que comprenda dicha secuencia de nucleótidos; y 3) introducción de dicho vector dentro de una célula huésped bajo las condiciones y durante el tiempo suficientes para la producción de la enzima desaturasa.

La presente invención también abarca un método para producir ácidos grasos poliinsaturados, método que comprende la exposición de un ácido a la enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana, de tal forma que la desaturasa convierta tal ácido en un ácido graso poliinsaturado. Por ejemplo, cuando el ácido 20:3n-6 se expone a la $\Delta 5$ -desaturasa humana, éste se convertirá en AA. El AA puede luego exponerse a la elongasa la cual elongará el AA y lo convertirá en ácido adrenico (22:4n-6). Alternativamente, la $\Delta 5$ -desaturasa humana puede emplearse para convertir el ácido (n-3)-eicosatetraenoico (20:4n-3) en el ácido (n-3) eicosapentaenoico (20:5n-3) el cual puede exponerse a la elongasa y convertirse en el ácido (n-3)-docosapentaenoico. El ácido (n-3)-docosapentaenoico puede luego convertirse en el ácido docosahexaenoico (ADH) mediante el uso de la $\Delta 4$ -desaturasa. En consecuencia, la $\Delta 5$ -desaturasa humana puede usarse en la producción de ácidos grasos poliinsaturados los cuales puede usarse, a su vez, para cumplir propósitos benéficos específicos.

Usos del Gen de la $\Delta 5$ -Desaturasa Humana y de la Enzima Codificada por Este

Tal como se anotó antes, el gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana aislado y la enzima desaturasa codificada por éste ofrecen muchos usos. Por ejemplo, el gen y la correspondiente enzima pueden usarse indirecta ó directamente en la producción de ácidos grasos poliinsaturados, como por

ejemplo, AA, ácido adrenico ó AEP. ("Directamente" significa que abarca la situación en donde la enzima directamente convierte el ácido en otro ácido, el último de los cuales se utiliza en una composición (v.g., la conversión de ADGL en AA) . "Indirectamente" significa que abarca la situación en donde un ácido graso se convierte en otro ácido graso (v.g., un intermediario de la ruta de síntesis) gracias a la desaturasa (v.g., ADGL en AA) y luego, este último ácido graso se convertirá en otro ácido graso a través del uso de una enzima del tipo de no desaturasa (v.g., AA en ácido adrenico (AD) por acción de la elongasa correspondiente, o por acción de otra desaturasa (v.g., de AA a AEP gracias a la $\Delta 17$ -desaturasa). Estos ácidos grasos poliinsaturados (v.g., aquellos producidos ya sea directa ó indirectamente por la actividad de la enzima desaturasa) pueden agregarse, por ejemplo, a composiciones nutricionales, composiciones farmacéuticas, cosméticos, y alimentos para animales, todas las cuales quedan abarcadas dentro de la presente invención. Dichos usos se describirán en detalle a continuación.

Composiciones Nutricionales

La presente invención incluye composiciones nutricionales. Entre tales composiciones, para los propósitos de la presente invención, se incluyen todos los alimentos ó preparaciones de consumo humano incluyendo el consumo entérico o parenteral, los cuales sirven para (a) nutrir o construir tejidos ó para suministrar energía y/o (b) mantener, restaurar o proporcionar un adecuado status nutricional ó una adecuada función metabólica.

La composición nutricional de la presente invención comprende por lo menos un aceite ó ácido producido gracias al uso del gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana, en concordancia con la presente invención, y bien puede encontrarse en forma de un sólido o de un líquido. Adicionalmente, la composición puede incluir macronutrientes comestible, vitaminas y minerales en cantidades deseadas para un uso en particular. La cantidad

de tales ingredientes variará dependiendo de si la composición se diseña para uso en infantes normales, infantes sanos, niños o adultos con necesidades específicas tales como aquellas que acompañan ciertas condiciones metabólicas (v.g., desórdenes metabólicos).

Entre los ejemplos de macronutrientes que pueden agregarse a la composición se incluye, sin hacer una lista exhaustiva de éstos, las grasas comestibles, los carbohidratos y las proteínas. Ejemplos de tales grasas comestibles son, sin hacer una lista exhaustiva de éstos, el aceite de coco, aceite de soya, y los mono y diglicéridos. Entre los ejemplos de tales carbohidratos se incluyen, sin hacer una lista exhaustiva de éstos, la glucosa, lactosa comestible y el almidón hidrolizado. Adicionalmente, dentro de los ejemplos de proteínas que pueden utilizarse en la composición nutricional acorde con la invención se incluyen, sin hacer una lista exhaustiva de éstas, las proteínas de la soya, suero electrodializado, leche descremada electrodializada, suero de leche, ó los hidrolizados de dichas proteínas.

Con respecto a las vitaminas y minerales, los siguientes pueden agregarse a las composiciones nutricionales de la presente invención: calcio, fósforo, potasio, sodio, cloruro, magnesio, manganeso, hierro, cobre, zinc, selenio, yodo, y las vitaminas A, F, D, C, y el complejo B. También se pueden agregar otras vitaminas y minerales.

Los componentes utilizados en las composiciones nutricionales de la presente invención deberán tener un origen semi-purificado o purificado. Por semi-purificado o purificado se entiende una material que ha sido preparado por purificación de un material natural ó por síntesis.

Entre los ejemplos de composiciones nutricionales de la presente invención se incluyen, sin hacer una lista exhaustiva de éstos, las fórmulas para infantes, suplementos dietéticos, substitutos de la dieta, y las composiciones para rehidratación. Dentro de las composiciones

nutricionales de particular interés se incluyen, sin hacer una lista exhaustiva de éstas, aquellas utilizadas para la suplementación por vía entérica o parenteral de uso en infantes, fórmulas especiales para infantes, suplementos para personas de edad avanzada, y suplementos para aquellos individuos con dificultades gastrointestinales y/o mala absorción.

La composición nutricional de la presente invención puede también agregarse a un alimento incluso cuando no se requiera la suplementación de la dieta. Por ejemplo, la composición puede agregarse a alimentos de cualquier tipo entre los que se incluye, sin hacer una lista exhaustiva de éstos, margarina, mantequillas modificadas, quesos, leche, yoghurt, chocolate, dulces, golosinas, aceites para ensaladas, aceites para cocina, grasas para cocina, carnes, pescados y bebidas.

En una práctica preferida de la presente invención, la composición nutricional es un producto nutricional entérico, mejor aún, un producto nutricional entérico para adultos o pediátrico. Esta composición puede administrarse a adultos o niños que experimenten estrés o que tengan necesidades específicas debido a estados de enfermedad crónicos o agudos. La composición puede comprender, además de los ácidos grasos poliinsaturados producidos en concordancia con la presente invención, macronutrientes, vitaminas y minerales como los anteriormente descritos. Los macronutrientes pueden estar presentes en cantidades equivalentes a aquellas presentes en la leche humana ó con base en requerimientos de energía, calculados según calorías aportadas.

Los métodos para la formulación de fórmulas entéricas líquidas o sólidas y para fórmulas nutricionales parenterales son bien conocidos en este campo. (Véase también, sección de Ejemplos).

La fórmula entérica, por ejemplo, puede esterilizarse y subsecuentemente emplearse a manera de un sistema del tipo de listo para consumir (ready-

to-feed) o almacenarse en un líquido ó polvo concentrados. El polvo puede obtenerse por un secado en spray de la fórmula preparada en la forma antes indicada, y reconstituirse por rehidratación del concentrado. Las fórmulas nutricionales pediátricas y para adultos son bien conocidas en este campo de la industria y se encuentran disponibles en el comercio (v.g., Similac®, Ensure®, Jevity® y Alimentum® producidas por Ross Products Division, Abbott Laboratories, Columbus, Ohio). Puede agregarse a cualquiera de estas fórmulas un aceite o un ácido graso producido en concordancia con la presente invención.

La densidad energética de las composiciones nutricionales de la presente invención, cuando en están en forma líquida, puede oscilar entre aprox. 0,6 Kcal - 3 Kcal per ml. Cuando se encuentren en forma sólida o en polvo, los suplementos nutricionales pueden contener entre aprox. 1,2 y más de 9 Kcal por gramo, preferiblemente entre aprox. 3 - 7 Kcal por g. en general, la osmolaridad de un producto líquido deberá ser inferior a 700 mOsm y, mejor aún, menor a 660 mOsm.

La fórmula nutricional puede incluir macronutrientes, vitaminas, y minerales, tal como se anotó anteriormente, además de los AGPIs producidos en concordancia con la presente invención. La presencia de estos componentes adicionales ayuda a la ingesta individual de los requerimientos mínimos diarios de dichos elementos. Además de la provisión de AGPIs, puede también ser deseable agregar zinc, cobre, ácido fólico y antioxidantes a la composición. Se cree que estas sustancias alivian un sistema inmune deprimido y por lo tanto proporcionarán beneficios adicionales al individuo que reciba la composición. Una composición farmacéutica puede también ser suplementada con estos elementos.

En una práctica más preferida, la composición nutricional comprende además de los antioxidantes y de por lo menos un AGPI, una fuente de carbohidratos en donde por lo menos 5% en peso del carbohidrato es un

oligosacárido indigestible. En un práctica aún más preferida, la composición nutricional adicionalmente comprende proteína, taurina, y carnitina.

Tal como se anotó antes, los AGPIs producidos en concordancia con la presente invención, o derivados de éstos, pueden agregarse a un sustituto de la dieta o suplemento, particularmente a una fórmula para infantes, fórmulas para pacientes bajo alimentación intravenosa o fórmulas para prevenir o tratar la malnutrición u otras condiciones o estados de enfermedad. Por principio, debe anotarse que la leche del seno humano posee un perfil de ácidos grasos que comprende desde aprox. 0,15% - aprox. 0,36% en forma de ADH, desde aprox. 0,03% - aprox. 0,13% en forma de AEP, desde aprox. 0,30% - aprox. 0,88% como AA, desde aprox. 0,22% - aprox. 0,67% como ADGL, y desde aprox. 0,27% - aprox. 1,04% como AGL. En consecuencia, los ácidos grasos tales como, AA, AEP y/o ácido docosaheptaenoico (ADH), producidos en concordancia con la presente invención, puede ser usados para modificar, por ejemplo, la composición de la fórmula para infantes para que semejen mejor el contenido en AGPIs de la leche materna ó para modificar la presencia de AGPIs normalmente encontrados en una leche no materna. En particular, una composición para uso en un producto farmacológico o en un suplemento alimenticio, particularmente un sustituto o suplemento de la leche materna, preferiblemente comprenderá uno o más ácidos entre AA, ADGL y AGL. Mejor aún, la mezcla de aceites comprenderá desde aprox. 0,3 - 30% de AA, desde aprox. 0,2 - 30% de ADGL, y/o desde aprox. 0,2 - aprox. 30% de AGL.

Las composiciones nutricionales de uso parenteral que comprenden desde aprox. 2 hasta aprox. 30% en peso de ácidos grasos calculados como triglicéridos, se encuentran incluidas dentro de la presente invención. La composición preferida contiene aprox. 1 - 25 % en peso de AGL respecto de la composición total de AGPIs (Patente de los Estados Unidos No. 5 196 198). Se pueden incluir opcionalmente otras vitaminas,

particularmente vitaminas solubles en grasas tales como vitamina A, D, E y L-carnitina. Si se desea, un preservativo tal como el alfa-tocoferol puede agregarse en una cantidad de aprox. 0,1% en peso.

Por otra parte, las proporciones de AA, ADGL y AGL pueden ajustarse en particular para un uso dado. Cuando van formulados como suplemento a la leche materna ó como sustituto, una composición que comprenda uno o más entre AA, ADGL y AGL deberá proporcionarse en una proporción entre aprox. 1:19:30 y aprox. 6:1:0,2, respectivamente. Por ejemplo, la leche materna de animales puede variar en cuanto a las proporciones de AA:ADGL:AGL las cuales van desde 1:19:30 hasta 6:1:0,2, en donde las proporciones intermedias preferiblemente van desde aprox. 1:1:1, 1:2:1, 1:1:4. Cuando son producidos juntos en una célula huésped, se puede acudir a un ajuste de la tasa y porcentaje de conversión de un substrato precursor tal como AGL y ADGL para producir AA con el fin de controlar con precisión las proporción de AGPIs. Por ejemplo, una tasa de conversión entre 5% - 10% de ADGL a AA puede usarse con el fin de producir una proporción AA vs ADGL de aprox. 1:19, y una tasa de conversión de aprox. 75% - 80% puede usarse con el fin de producir una proporción AA : ADGL de aprox. 6:1. Por consiguiente, bien sea en un sistema de cultivo de células o en un huésped animal, puede acudirse a regulación de la temporización, grado y especificidad de la expresión de la desaturasa, así como también de la expresión de otras desaturasas y elongasas, con el propósito de modular los niveles y proporciones de AGPIs. Los AGPIs/ácidos producidos en concordancia con la presente invención (v.g., AA y AEP) puede entonces combinarse con otros AGPIs/ácidos (v.g., AGL) en las concentraciones y proporciones deseadas.

Adicionalmente, el AGPI producido en concordancia con la presente invención o las células huésped que los contengan, pueden también usarse como suplementos en la alimentación de animales con el fin de modificar

la composición en ácidos grasos de tejidos o de la leche y lograr así mejores productos para consumo humano o animal.

Composiciones Farmacéuticas

La presente invención también abarca una composición farmacéutica que comprende uno o más de los ácidos grasos y/o aceites resultantes producidos usando el gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana, en concordancia con los métodos descritos en el presente documento. Más específicamente, tales composiciones farmacéuticas pueden comprender uno o más de los ácidos y/o aceites así como también un vehículo portador, auxiliar de formulación o vehículo farmacéuticamente aceptables, estándares, no tóxicos, y bien conocidos en este campo tales como, por ejemplo, solución salina buferizada con fosfatos, agua, etanol, polioles, aceites vegetales, un agente humectante o una emulsión tal como una emulsión agua/aceite. La composición puede encontrarse bien sea en una forma líquida ó sólida. Por ejemplo, la composición puede encontrarse en la forma de una tableta, cápsula, líquido o polvo ingestibles, inyectables, o en forma de ungüentos o cremas de uso tópico. Se puede mantener una apropiada fluidez, por ejemplo, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones y a través del uso de surfactantes. Puede también ser aconsejable la inclusión de agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio, y similares. Además de tales diluentes inertes, la composición puede también incluir auxiliares de formulación, tales como agentes humectantes, emulsificantes y agentes suspensores, agentes edulcorantes, saborizantes y agentes perfumantes.

Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden comprender agentes suspensores tales como, por ejemplo, alcoholes isostearílicos etoxilados, polioxietilensorbitol y ésteres del sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y goma tragacanto, o mezclas de estas sustancias.

Las formas de dosificación sólidas tales como las tabletas y cápsulas puede prepararse usando técnicas bien conocidas en este campo. Por ejemplo, los AGPIs producidos en concordancia con la presente invención pueden tabletearse con bases o excipientes convencionales de la tabletería tales como lactosa, sacarosa, y almidón de maíz en combinación con agentes aglutinantes tales como goma acacia, almidón de maíz o gelatina, agentes desintegrantes tales como almidón de papa ó ácido algínico, y un lubricante tal como ácido esteárico o estearato de magnesio. Las cápsulas puede prepararse incorporando estos excipientes dentro de una cápsula de gelatina junto con antioxidantes y el ó los AGPIs relevantes. El antioxidante y los componentes AGPIs deberán ajustarse con base en los lineamientos antes presentados.

Para el caso de la administración intravenosa, los AGPIs producidos en concordancia con la presente invención, o sus derivados, pueden incorporarse en formulaciones comerciales tales como los Intralipids^{MR}. El perfil típico normal de ácidos grasos en el plasma de adultos comprende de 6,4 – 9,46% de AA, 1,45 – 3,11% de ADGL, y 0,02 – 0,08% de AGL. Estos AGPIs ó sus precursores metabólicos pueden administrarse solos o en combinación con otros AGPIs con el fin de lograr un perfil normal de ácido grasos en un paciente. Si se desea, los componentes individuales de las formulaciones pueden suministrarse por separado, en forma de kit, para un solo o para múltiple uso. Una dosificación típica de un ácido graso en particular puede ir desde aprox. 0,1 mg - 20 g (hasta 100 g) diarios y preferiblemente entre 10 mg - 1, 2, 5 ó 10 g diarios.

Entre las posible rutas de administración de las composiciones farmacéuticas de la presente invención se incluyen, por ejemplo, las vías entéricas (v.g., oral y rectal) y parenteral. Por ejemplo, una preparación líquida puede administrarse, por ejemplo, oralmente o rectalmente. Adicionalmente, una mezcla homogénea puede dispersarse completamente en agua, comezclarse bajo condiciones estériles con

diluentes, preservativos, buffers o propelentes farmacéuticamente aceptables con el fin de formar un spray o inhalante.

La ruta de administración dependerá, por supuesto, del efecto deseado. Por ejemplo, si la composición va a utilizarse para tratar una piel áspera, reseca, o para el envejecimiento de la piel, o para tratar pieles lesionadas o quemadas, o para tratar la piel o el cabello afectados por una enfermedad o condición, la composición puede quizás aplicarse tópicamente.

La posología de la composición a administrar al paciente puede determinarla un experto en este campo y dependerá de diversos factores tales como peso corporal, edad, estado inmunológico, etc., del paciente,

Con respecto a la forma, la composición puede, por ejemplo, tratarse de una solución, una dispersión, una suspensión, una emulsión ó un polvo estéril para posterior reconstitución.

La presente invención también incluye el tratamiento de diversos desórdenes a través del uso de las composiciones farmacéuticas y/o composiciones nutricionales descritas en el presente documento. En particular, las composiciones de la presente invención pueden usarse para tratar la restenosis con posterioridad a angioplastias. Adicionalmente, los síntomas de la inflamación, artritis reumatoide, asma y psoriasis pueden también tratarse con las composiciones de la invención. Las evidencias también indican cómo los AGPIs pueden estar involucrados en el metabolismo del calcio; por lo tanto, las composiciones de la presente invención pueden, quizás, utilizarse en el tratamiento o prevención de la osteoporosis y de los cálculos renales o del tracto urinario.

Adicionalmente, las composiciones de la presente invención pueden también usarse en el tratamiento del cáncer. Se ha revelado que las células malignas alteran las composiciones en ácidos grasos. Por otra

parte, se ha revelado que los ácidos grasos vuelven más lento su crecimiento, provocan la muerte de estas células e incrementan su sensibilidad a los agentes quimioterapéuticos. Más aún, las composiciones de la presente invención pueden también ser útiles para el tratamiento de la caquexia asociada con el cáncer.

Las composiciones de la presente invención pueden también usarse para el tratamiento de la diabetes (véase, Patente de los Estados Unidos No. 4 826 877 y Horrobin et al., Am. J. Clin. Nutr. Vol. 57 (Suppl.) 7325-7375). Se ha demostrado que el metabolismo de los ácidos grasos y su composición dentro del organismo se alteran en animales diabéticos.

Adicionalmente, las composiciones de la presente invención, las cuales comprenden AGPIs producidos ya sea directa ó indirectamente a través del uso de la(s) enzima(s) desaturasa(s), pueden también emplearse en el tratamiento del eczema, en la reducción de presión sanguínea, y en el mejoramiento de los puntajes en los exámenes de matemáticas.

Adicionalmente, las composiciones de la presente invención pueden usarse en la inhibición de la agregación plaquetaria, inducción de la vasodilatación, reducción de los niveles de colesterol, inhibición de la proliferación de musculatura lisa de las paredes de los vasos y de tejido fibroso (Brenner et al., Adv. Exp. Med. Biol. Vol. 83, p.85-101, 1976), para la reducción o prevención del sangrado gastrointestinal y otros efectos colaterales de las drogas anti-inflamatorias no esteroideas (véase, Patente de los Estados Unidos No. 4 666 701), prevención o tratamiento de la endometriosis y del síndrome premenstrual (véase, Patente de los Estados Unidos No. 4 758 592), y tratamiento de encefalomiелitis miálgica y la fatiga crónica ocurridas después de infecciones virales (véase Patente de los Estados Unidos No. 5 116 871). Entre los usos adicionales de las composiciones de la presente invención se incluyen su

uso en el tratamiento del SIDA, esclerosis múltiple, y desórdenes inflamatorios de la piel, así como también para un buen mantenimiento de la salud general.

Adicionalmente, las composiciones de la presente invención pueden utilizarse para propósitos cosméticos. Estas pueden agregarse a composiciones cosméticas pre-existentes a fin de formar una mezcla o pueden usarse solas.

Aplicaciones Veterinarias

Debe anotarse que las composiciones farmacéuticas y las composiciones nutricionales anteriormente descritas pueden utilizarse en animales (v.g., domésticos ó no domésticos), así como también en humanos, en la medida en que los animales experimentan las mismas necesidades y condiciones que los humanos. Por ejemplo, los aceites ó ácidos de la presente invención pueden utilizarse en suplementos para la alimentación de animales, alimentos substitutos para animales, vitaminas para animales o en un ungüentos tópicos para animales.

La presente invención puede ilustrarse adicionalmente con base en los siguientes ejemplos, con los cuales no se pretende limitar el alcance de la invención.

EJEMPLO I

SECUENCIAS DEL GEN DE LA DESATURASA HUMANA

Tal como se describe en la Solicitud de patente Internacional PCT/US98/07422 (la cual se cita aquí solo a manera de referencia), las secuencias putativas del gen de la desaturasa humana involucradas en la biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga se aislaron con base en la homología entre las secuencias de ADNc humano y las secuencias del gen de la desaturasa de la *Mortierella alpina*. Se encontró

que las tres "cajas de histidina" conservadas se hallaban igualmente conservadas entre las desaturasas de ligamiento a la membrana. Al igual que sucede con otras desaturasas del tipo de ligamiento a membrana, el motif final de las cajas de histidina HXXHH motif era QXXHH. La secuencia de aminoácidos de la desaturasa humana putativa exhibió homología frente a las secuencias de las desaturasas $\Delta 5$, $\Delta 6$, $\Delta 9$, y $\Delta 12$ de la *M. alpina*.

Las secuencias de ADNc de la $\Delta 5$ -desaturasa y de la $\Delta 6$ -desaturasa de la *M. alpina* se utilizaron para buscar (hacer indagación) la base de datos LifeSeq de Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA. La secuencia de la $\Delta 5$ -desaturasa se dividió en fragmentos: 1) aminoácidos Nos. 1-150, 2) aminoácidos Nos. 151-300, y 3) aminoácidos Nos. 301-446. La secuencia de la $\Delta 6$ desaturasa se dividió en tres fragmentos: 1) aminoácidos Nos. 1-150, 2) aminoácidos Nos. 151-300, y 3) aminoácidos Nos. 301-457. Estos fragmentos polipeptídicos se buscaron en la base de datos usando el algoritmo "tblastn". Este algoritmo compara una secuencia de indagación tipo proteína consultada contra una base de datos de secuencias de nucleótidos dinámicamente traducida en todos los seis marcos de lectura (en las dos cadenas).

Los fragmentos polipeptídicos 2 y 3 de la $\Delta 5$ - y $\Delta 6$ desaturasas de la *M. alpina* exhiben homologías con las secuencias CloneID tal como se ilustra en la Figura 1. CloneID representa una secuencia individual de la base de datos LifeSeq de Incyte. Después de que los resultados del "tblastn" se revisaron, la Información Clónica (Clon Information) se buscó utilizando el conjunto de valores dados por defecto o predeterminados con una Rigurosidad ≥ 50 , y un Productscore ≤ 100 para diferentes números de CloneID. Los resultados de la Clon Information revelaron la información entre la que se incluye el ClusterID, CloneID, Library, HitID, y Hit Description. Cuando se selecciona, el número ClusterID representa la información clónica de todos los clones pertenecen al ClusterID. El comando Assemble, ensambla todo lo

concerniente al CloneID el cual comprende el ClusterID. El siguiente conjunto de valores se utilizó como valores por defecto o predeterminados para el program GCG (Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, Madison, WI):

Word Size: 7; Minimum Overlap: 14; Stringency: 0.8; Minimum Identity: 14; Maximum Gap: 10; Gap Weight: 8; and Length Weight: 2.

[Tamaño de Palabra: 7; Superposición Mínima: 14; Rigurosidad (Exactitud): 0,8; Identidad Mínima: 14; Gap Máximo: 10; Peso del Gap: 8; y Peso del Tramo: 2].

Los resultados del GCG Assembly revelaron los contigs generados con base en la información de las secuencias dentro del CloneID. Un contig es un alineamiento de secuencias de ADN fundamentado en áreas de homología entre estas secuencias. Se generó una nueva secuencia (secuencia de consenso) con base en la secuencia de ADN alineada dentro de un contig. Se identificó el contig que contenía el CloneID, y los sitios ambiguos de la secuencia de consenso se editaron con base en el alineamiento de los CloneIDs (Ver Figuras 2-6) a fin de generar la mejor secuencia posible. El procedimiento se repitió para todos los seis CloneID listados en la Figura 1. Esto produjo cinco únicos contigs. Las secuencias consenso editadas de los 5 contigs se importaron en el Programa de Software Sequencher (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, Michigan). Luego, dichas secuencias consenso se ensamblaron. El contig 2511785 se superpone con el 3506132, y este nuevo contig tomó el nombre de contig 2535 (Figura 7). Los contigs obtenidos a partir del programa Sequencher se copiaron en el paquete de software Sequence Analysis de GCG.

Cada contig se tradujo en todos los seis marcos de lectura en secuencias de proteínas. La $\Delta 5$ -desaturasa (Ma29) y la $\Delta 6$ -desaturasa de la (Ma524)

de la de la *M. alpina* se compararon con cada uno de los contigs traducidos usando la búsqueda FastA (una búsqueda de Pearson y Lipman en cuanto similaridad entre una secuencia de indagación y un grupo de secuencias del mismo tipo (ácido nucleico ó proteína). La homología entre estas secuencias sugieren la presencia de marcos de lectura abierta de cada contig, los cuales aparecen subrayados en las Figuras 3, 5, y 7. La homología entre las secuencias de $\Delta 5$ y $\Delta 6$ -desaturasas de la *M. alpina* frente a los 2535 y 3854933 se utilizó para crear el contig final denominado 253538a (véase, Figura 8). La Figura 9 corresponde a la cotejación realizada por FastA de las secuencias traducidas del contig final 253538a y de la Ma29, y la Figura 10 es la cotejación FastA de las secuencias traducidas del contig final 253538a y de la Ma524.

Si bien el marco de lectura abierta se generó combinando los dos contigs, el contig 2535 reveló que existe una única secuencia al comienzo de este contig que no empata o no coincide con el contig 3854933. Por lo tanto, es posible que estos contigs hayan sido generados a partir de genes humanos parecidos a los de la desaturasa, independientes.

El contig 253538a contiene un marco de lectura abierta que codifica el aminoácido 432 (Figura 8, subrayado). Este comienza con Gln (CAG) y termina con el codon de detención (TGA) (ambos en negrilla). El contig 253538a se alinea tanto con las secuencias de las desaturasas $\Delta 5$ - y $\Delta 6$ -de la *M. alpina*, sugiriendo que pueden tratarse de desaturasas, o que pueden tratarse de otras desaturasas conocidas las cuales comparten homología entre sí. Los contigs individuales listados en la Figura 1, así como también el contig intermediario 2535 y el contig final final 253538a pueden utilizarse para aislar los genes completos de las desaturasas humanas.

Determinación de la Secuencia del Gen de la $\Delta 5$ -Desaturasa Humana

Los primers RO384 y RO388 se designaron con base en las secuencias 5'

M
GJ

y 3', respectivamente, del contig 2535. La biblioteca de ADNc de los monocitos humanos (Clontech, Palo Alto, CA) se amplificó con el primer RO329 (5' - CAG ACC AAC TGG TAA TGG TAG - 3') y el RO384 (5' - TCA GGC CCA AGC TGG ATG GCT GCA ACA TG - 3') del vector, y también con el primer RO328 (5' - CTC CTG GAG CCC GTC AGT ATC - 3') y RO388 (5' - ATG GTG GGG AAG AGG TGG TGC TCA ATC TG - 3') del vector. Se efectuó la reacción de cadena polimerasa (Polymerase Chain Reaction = PCR) en un volumen de 100 μ L que contenía: 1 μ L de biblioteca de ADNc de monocitos humanos, 10 pM de cada primer, 10 μ L de buffer 10X y 1,0 U de Taq Polymerase. Las condiciones en el termociclador Perkin Elmer Thermocycler 9600 fueron las siguientes: 94°C durante 2 minutos, luego 30 ciclos de 94°C durante 1 minuto, 58°C durante 2 minutos, y 72°C durante 3 minutos. La PCR sufrió una extensión adicional de 72 °C durante 7 minutos.

La mezcla amplificada por PCR se corrió en un gel, y los fragmentos amplificados se purificaron también en un gel. El fragmento aislado a partir de la amplificación PCR con RO329 y RO384 tenía aproximadamente un tamaño de 900 bp (pares de bases), y el de la amplificación PCR con RO328 y RO388 tenía aprox. 650 bp. Estos fragmentos aislados se rellenaron usando T4 ADN polimerasa, y los fragmentos llenados se clonaron en el vector PCR-Blunt (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA). El clon del fragmento amplificado con RO329/RO384 se designó como pRAE-7, y el clon del fragmento amplificado con RO328/RO388 se le denominó pRAE-8. Los dos extremos de los clones se secuenciaron (se identificó su secuencia) usando el secuenciador ABI 373 DNA Sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA) y se ensamblaron usando el programa Sequencher (un programa de análisis de secuencias, de Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI). Dicho ensamble de las secuencias reveló que los dos clones contenían diferentes tamaños para el mismo gen (Figura 14). La secuencia completa del gen pRAE-7 se compiló (Figura 15) y se buscó contra las secuencias conocidas en la base de datos pública.

El algoritmo FastA es una búsqueda de Pearson y Lipman en cuanto a similaridad entre una secuencia de indagación y un grupo de secuencias del mismo tipo (ácido nucleico ó proteína). La secuencia del gen en pRAE-7 se tradujo en seis marcos de lectura, y usando este método, se buscó la base de datos Swissprot (Genetics Computer Grupo (GCG) (Madison, WI). El gen en pRAE-7 fue identificado como una desaturasa humana putativa con base en su homología frente a las desaturasas conocidas. La búsqueda de la base de datos Swissprot produjo coincidencias contra la desaturasa de ácidos grasos omega-3 provenientes de la semilla de mung (23,4% de identidad (igualdad) con una superposición en 303 AA), contra la linoleoil-CoA desaturasa del *Synechocystis* sp. (24,3% de identidad con superposición en 280 AA), contra la desaturasa de ácidos grasos omega-6 del frijol de soya (19,7% de identidad con superposición en 284 AA), y contra la acil-CoA desaturasa 1 del *Saccharomyces cerevisiae* (21,6% de identidad con superposición en 134 AA). La búsqueda FastA contra las desaturasas de la *M. alpina* produjeron regiones de coincidencia frente a las desaturasas $\Delta 6$ -(31,9% de identidad con superposición en 285 AA), $\Delta 5$ -(28,4% de identidad con superposición en 292 AA), y desaturasa $\Delta 12$ -(23,0% de identidad con superposición en 274 AA). La alineación de las secuencias coincidentes del gen putativo de la desaturasa humana en pRAE-7 contra $\Delta 5$ -desaturasa de la *M. alpina* (Ma29), la $\Delta 6$ -desaturasa de la *M. alpina* (Ma524) así como también contra los contigs 2535 y 38, se presenta en las Figuras 16, 17, 18, y 19 respectivamente.

Los contigs 2535, 38, y 253538a se generaron con base en los ensambles de diversas secuencias así como también de sus homologías versus desaturasas conocidas. Sin embargo, al examinar las Figuras 18 y 19, puede concluirse que los contigs son meramente indicaciones sobre como podrían posiblemente ser las secuencias de las desaturasas humanas.

En el extremo 5' del gen, la ATG (Metionina), es necesaria para expresar desaturasa humana en la levadura. Las Figuras 16 y 17 ilustran cómo el

pRAE-7 es probable y justamente las 2/3 partes últimas de un gen desaturasa. Muchas desaturasas de ácidos grasos omega-3 y omega-6, así como también la desaturasa de la linoleoil-CoA arriba mencionada, son más pequeñas que las desaturasas $\Delta 5$ y $\Delta 6$ de la *M. alpina*, las cuales tienen tamaños que oscilan entre 359-380 aminoácidos. Se concluyó, con base en todas las secuencias evaluadas, que el gen aislado probablemente necesita de todas maneras de 180-480 bps (60-160 aminoácidos) adicionales a la secuencia 5' para expresar una enzima completa.

Con el fin de extender la secuencia 5' del gen de la desaturasa humana, se utilizó el kit de amplificación de ADNc Marathon (Marathon cADN Amplification Kit; Clontech, Palo Alto, CA) para investigar el ADNc listo del hígado humano (Clontech). Las reacciones del tipo de rápida amplificación de los extremos del ADNc (RACE, siglas en Inglés) son eficientes para PCRs a larga distancia de los extremos 5' y 3'. Después de llevar a cabo el protocolo RACE para 5' descrito en el kit, los primers RO430 (5' - GTG GCT GTT GTT ATT GGT GAA GAT AGG CAT C - 3') (designados con base en la secuencia 3' del gen en pRAE-7, corriente abajo del codon TAA (de detención)) y el primer adaptador de marathon (AP1) del kit, se usaron con el fin de generar tres productos amplificados por PCR, los cuales se designaron como A, B, y C. Los tamaños de los fragmentos fueron aprox. de 1,5 Kb, 1,4 Kb, y 1,2 Kb, respectivamente. Los fragmentos se rellenaron con T4 ADN polimerasa, y se clonaron en el vector pCR-blunt. Se generó un total de veintidos clones y se secuenciaron. Usando el algoritmo FastA, las secuencias se buscaron contra la base de datos GenEMBL de GCG.

Muchas de las secuencias presentaron una gran homología frente a la secuencia de ADN humano con número de acceso en el GenBank AC004228. Esta secuencia de ADN se describe como: Sequencing in Progress, *Homo sapiens* Chromosome 11q12pac pDJ519o3; HTGS phase 1,18 unordered pieces. Los 18 contigs se registraron de una manera arbitraria. Usando esta información de las secuencias y la información

proveniente de las secuencias ensambladas de los clones, se categorizaron los clones en cinco grupos.

Todos los clones presentan la misma secuencia corriente abajo del sitio *Bam*HI (véase, Figura 12, en subrayado). Pero cada grupo representa una secuencia 5' diferente, encontrándose que un total de 10 clones eran demasiado cortos respecto de la longitud completa del gen. El Grupo 1, representado por el clon A-1, lo comprende 5 clones los cuales presentan homología frente al gen del citocromo b5 (Figura 20). No está presente en el clon A-1 un codón de inicio de la traducción, ATG; sin embargo, como puede observarse en la Figura 21, existe una ATG (subrayada) presente en la secuencia ac004228 17 bp corriente arriba del área de fuerte homología entre A-1 y ac004228. Partiendo del área de fuerte homología, el clon A-1 presenta un marco de lectura abierta de 1318 bp. Sin embargo, partiendo del ATG, el marco de lectura abierta es de 1335 bp. El Grupo 2, representado por el clon 3-5, está comprendido por 3 clones los cuales poseen una ATG dentro de un sitio *Nco*I, pero cuatro codones de detención traducionales entre el ATG y el sitio *Bam*HI (Figura 22, los sitios *Nco*I, *Bam*HI se encuentran indicados en negrilla, y los cuatro codones de terminación, subrayados). El Grupo 3 está comprendido por un clon, el A-10, el cual tiene un ATG de 135 bp corriente arriba del sitio *Bam*HI, que da lugar a un marco de lectura abierta de 1267 bp (Figura 23). El Grupo 4 lo comprende 2 clones, representados por el clon A-16, el cual no posee un ATG; sin embargo, corriente arriba de donde se alinea la secuencia con ac004228, existe un ATG (Figura 24, subrayado). El marco de lectura abierta de este grupo es de 1347 bp. El Grupo 5 comprende un clon que no tiene un ATG. Sin embargo, este clon coincide con la secuencia ac004228 incluso corriente arriba del sitio *Bam*HI (Figura 25).

Tal como se ilustra en la Figura 26, muchos de los clones pertenecientes a los cinco grupos se encuentran representados en orden con la secuencia ac004228. Se evidenció un alto nivel de empalme (splicing), con la

45
81

secuencia corriente abajo del sitio *Bam*HI (en negrilla) que actúa como anclamiento común para los diversos exones 5'. Todos los sitios de inicio potenciales se encuentran resaltados en negrilla, y las secuencias encontradas dentro de los clones, con un subrayado.

La secuencia del A-1 se utilizó para la búsqueda en la base de datos LifeSeq de Incyte Pharmaceuticals, Inc., Palo Alto, CA, a fin de observar si su última versión podría también tener secuencias con homologías respecto a nuestra secuencia del gen desaturasa. Se generaron dos contigs en esta búsqueda, el contig 3381584 y el contig 2153526. La secuencia del gen de la desaturasa humana inicialmente se compiló con base en las secuencias del Grupo I de clones y ac004228. Sin embargo, La Figura 12 representa la secuencia real del ADN del gen aislado. Los contigs de Incyte se utilizaron para confirmar esta secuencia (véase, Figuras 27 y 28). La secuencia traducida de la desaturasa humana, la conformaba 445 aminoácidos (Figura 13), también se cotejó (matched) con los contigs originales 253538a y 38. Estas alineaciones se ilustran en las Figuras 29 y 30, respectivamente.

La búsqueda por FastA del gen de la desaturasa humana contra la base de datos Swissprot produjo coincidencias (matches) versus la desaturasa de ácidos grasos omega-3 provenientes de la semilla de mung (22,4% de identidad con superposición en 381 AA), versus la desaturasa de la linoleoil-CoA proveniente del *Synechocystis* Sp. (24,5% de identidad con superposición en 335 AA), versus la desaturasa de ácidos grasos omega-6 del frijol de soya (20,3% de identidad con superposición en 290 AA) y versus la desaturasa 1 de la acil-CoA del *Saccharomyces cerevisiae* (21,4% de identidad con superposición en 168 AA). La búsqueda FastA contra las desaturasas de la *M. alpina* produjo coincidencias (matches) versus las desaturasas $\Delta 6$ (30,5% de identidad con superposición en 455 AA), $\Delta 5$ (27,5% de identidad con superposición en 455 AA) y $\Delta 12$ (22,5% de identidad con superposición en 382 AA). La cotejación FastA de la secuencia de la desaturasa humana traducida

46
22

contra las secuencias Ma524 ($\Delta 6$ -desaturasa de la *M. alpina*) y Ma29 ($\Delta 5$ -desaturasa de la *M. alpina*) se ilustran en las Figuras 31 y 32, respectivamente.

EJEMPLO II

CONSTRUCCION DE CLONES

Se generaron nuevos clones con base en los clones provenientes de los tres Grupos antes mencionados, clones A-1, A-10, y A-16. Dos primers, los cuales se modificaron con fosfato en 5', el RO526 (5'-CAT GGC CCC CGA CCC GGT GG-3') y el RO527 (5' - GCG GCC ACC GGG TCG GGG GC - 3'), se fusionaron a fin de formar un adaptador. Este adaptador el cual poseía proyecciones o salientes *NcoI* y *BsaI*, se ligó con el clon A-1, el cual había sido cortado con *BsaI/HindIII* y se purificó en gel, durante 15 min a temperatura ambiente. El vector pYX242 (*NcoI/HindIII*) (Novagen, Madison, WI) se agregó a esta mezcla de ligamiento y se dejó en incubación a temperatura ambiente durante 45 minutos adicionales. Esto produjo un clon designado como pRAE-28-5. (el Plásmido pRAE-28-5 se depositó ante la American Type Culture Collection, 10 801 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110-2209 el 21 de Diciembre de 1998, bajo los términos del Tratado de Budapest, y se registró bajo el número ATCC _____.)

El clon A-10 se amplificó por PCR con RO512 (5'-GAT TGG GTG CCA TGG GGA TGC GGG ATG AAA AGG C - 3') y RO5 (5' - GAA ACA GCT ATG ACC ATG - 3'), el producto amplificado se cortó con *NcoI* y *HindIII* y se purificó en gel, y el fragmento purificado se clonó en pYX242 (*NcoI/HindIII*). Este nuevo clon se designó como el pRAE-26-1.

El clon A-10 también se amplificó por PCR con RO580 (5' - TCC TGC GAA TTC ACC ATG AAA AGG CGG GAG AGA G - 3') y RO5, el producto amplificado se cortó con *NcoI* y *HindIII* y se purificó en gel, y

44
5
7

el fragmento purificado se clonó en pYX242 (*NcoI/HindIII*). Este nuevo clon se designó con el nombre de pRAE-33.

Dos primers los cuales se modificaron con fosfato en 5', RO578 (5' - CAT GGC TAG GAG AGG CAG CGC AGC CGC GTC TGG AC - 3') y RO579 (5' - CTA GGT CCA GAC GCG GCT GCG CTG CCT CTC CTA GC - 3'), se fusionaron para formar un adaptador. Este adaptador el cual poseía proyecciones *NcoI* y *BlnI*, se ligó con el clon A-16, el cual había sido cortado con *BlnI/HindIII* y se purificó en gel, durante 15 min a temperatura ambiente. Se agregó el vector pYX242 (*NcoI/HindIII*) vector a esta mezcla de ligamiento y se dejó en incubación a temperatura ambiente durante 45 min adicionales. Esto produjo un clon designado como pRAE-35.

EJEMPLO III

EXPRESION DE LA $\Delta 5$ -DESATURASA HUMANA

Los constructos pRAE-26-1, pRAE-28-5, pRAE-33, y pRAE-35 se transformaron en *S. cerevisiae* 334 y se investigaron-tamizaron en cuanto a actividad desaturasa. Los substratos ADGL (20:3n-6), AO (18:1n-9), AA (20:4n-6), y AL (18:2n-6) se usaron para determinar la actividad del gen expresado a partir de los constructos pRAE-26-1 y pRAE-28-5. Se empleó solo el substrato ADGL para determinar la actividad del gen expresado a partir de todos los constructos. La cepa utilizada como control negativo fue la de *S. cerevisiae* 334 que contenía el vector pYX242 no modificado. Los cultivos se hicieron crecer durante 48 horas a 30°C, en un medio selectivo (Ausubel *et al.*, Short Protocols in Molecular Biology, Ch. 13, P. 3-5 (1992)), en presencia de un substrato en particular. Las fracciones lipídicas de cada cultivo se extrajeron para efectos de análisis. Los resultados de actividad de la desaturasa se presentan en las Figuras 33 y 34.

Todos los valores en la Figura 33 corresponden al promedio de dos muestras individuales por cepa, sometidas a prueba en el mismo ensayo.

El sustrato, así como también el ácido graso en que se convirtió, se ilustran en negrilla. El gen expresado en la cepa 334 (pRAE-28-5) es una $\Delta 5$ -desaturasa. Está convirtió el sustrato ADGL en AA en un porcentaje más alto, en comparación con la cepa de control 334 (pYX242), 0,127% Vs. 0,062%, respectivamente. El porcentaje de AA presente en los cultivos de las cepas 334 (pRAE-26-1), 334 (pRAE-33), y 334 (pRAE-35) son comparables con los de la cepa de control (0,075%, 0,062%, y 0,063%, respectivamente). Por lo tanto, puede concluirse que el gen que contiene la secuencia del cit b5 en el constructo pRAE-28-5, expresa una $\Delta 5$ -desaturasa humana activa; mientras que, las demás variaciones del gen, no.

La actividad de la $\Delta 5$ -desaturasa humana se confirmó adicionalmente mediante el experimento bosquejado en la Figura 34. En esta Figura se incluyen los perfiles de los ácidos grasos de las cepas 334 (pRAE-28-5), 334 (pRAE-26-1), y la cepa de control 334 (pYX242), cuando se usó ADGL (20:3n-6), AO (18:1n-9), AA (20:4n-6), ó AL (18:2n-6) como los sustratos, así como también cuando no se agregó ningún sustrato. Nuevamente, la cepa 334 (pRAE-28-5) expresó una $\Delta 5$ -desaturasa humana activa, la cual convirtió el ADGL en AA en un porcentaje más alto a como lo hizo la cepa de control, 0,106% Vs. 0,065%, respectivamente. La cepa 334 (pRAE-26-1) presentó casi la misma cantidad de AA (0,06%) que la de control. La conversión del sustrato AO en AL, no se detectó, confirmando que las cepas no poseen actividad $\Delta 12$ -desaturasa. Se detectó la conversión del sustrato AA en ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3), pero a un nivel muy bajo, igual al de la cepa de control, confirmando que las cepas no presentan actividad $\Delta 17$ -desaturasa. La conversión del sustrato AL en ácido AGL también se detectó, pero nuevamente a un nivel muy bajo, igual al de la cepa de control, confirmando que las cepas no presentan actividad $\Delta 6$ -desaturasa.

La presente secuencia (Figura 12) difiere de la secuencia Genbank g3169158 de la base de datos LifeSeq con respecto a dos posiciones. En particular, con respecto la secuencia de nucleótidos de la secuencia

49
5
8

g3169158, en donde la posición 1082 es una adenosina; sin embargo, en la posición 1082 de la presente secuencia se encuentra una timina (véase, Figura 12). Adicionalmente, la posición 1229 de la secuencia g3169158 hay una adenina, mientras que en la presente secuencia, la posición 1229 es un guanina. En término de una comparación en la secuencia de aminoácidos, la posición 361 de la presente secuencia es leucina (véase, Figura 13), y la posición 361 de la secuencia g3169158 es glutamina. Por otra parte, la posición 410 del presente secuencia la ocupa una arginina, en tanto que la posición 410 de la secuencia g3169158 es histidina. Adicionalmente, la secuencia g3169158 se describe, en la base de datos, como una "proteína hipotética" la cual "exhibe similaridad respecto a los motifs encontrados en la desaturasa delta 6, una citocromo b5 hipotética que contiene proteína de fusión". Sin embargo, como se demuestra en el ejemplo anterior, la proteína codificada por la secuencia en la Figura 12 es una $\Delta 5$ -desaturasa humana, no una $\Delta 6$ -desaturasa.

EJEMPLO IV

EXPRESION DE LA $\Delta 5$ -DESATURASA HUMANA EN CELULAS DE INSECTO

Se usaron células de insecto a modo de un huésped eucariótico diferente para la expresión de la $\Delta 5$ -desaturasa humana. El sistema de expresión en baculovirus involucra el uso de células de insecto para expresar un gen, en este caso, el gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana, el cual ha sido clonado en un vector de expresión en baculovirus. Se sabe que las células de insecto no contienen ninguna actividad desaturasa sobre AGPIs. Por lo tanto, este sistema es apropiado para la expresión y caracterización de las desaturasas recombinantes.

El fragmento que contiene el gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana (pRAE28-5, véase EJEMPLO II) se amplificó por PCR usando el sistema Expand High Fidelity PCR System (Boehringer Mannheim Corp., Indianapolis, IN) y un conjunto de primers que contenían los sitios de restricción apropiados. El primer corriente arriba designado como RO676 (5' - ATA

CGT GAA TTC GCC GCC ACC ATG GCC CCC GAC CCG GTG - 3') correspondió a la hebra de sentido (sense strand) del ADNc de la $\Delta 5$ y contenía un sitio EcoRI sitio 5' corriente arriba del ATG. El primer corriente abajo RO677 (5' - TAT CCG CTC GAG TTA TTG GTG AAG ATA GGC ATC TAG - 3') correspondió a la cadena o hebra antisentido (strand antisense) en el extremo 3' del ADNc de la $\Delta 5$, e incluía un sitio XhoI inmediatamente corriente abajo del codon de terminación de la traducción. La reacción PRC, en un volumen final de 100 μ L, se llevó a cabo como sigue: 5 minutos de desnaturalización a 94°C, luego 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 55°C y 2 minutos a 72°C durante 30 ciclos, y 7 minutos de extensión a 72°C al final de la amplificación. El producto amplificado por PCR de la $\Delta 5$ humana se analizó mediante electroforesis en gel de agarose, se purificó en gel, se digirió con EcoRI y XhoI, y luego se ligó en el plásmido donador tipo baculovirus pFastBac1 (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD) el cual se restringió (delimitó) con las mismas enzimas. El clon de baculovirus respectivo se designó como pJPBh4 para la $\Delta 5$ -desaturasa humana. Este vector pFastBac1 contiene un casete de expresión el cual tiene un promotor polihedrina, una señal de poliadenilación SV40, y un marcador de resistencia a la gentamicina.

La transformación inicial se realizó en células XL1 blue (Invitrogen, Carlsbad, CA). Los clones positivos luego se transformaron dentro de E. coli DH10Bac (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD) el cual contiene el genoma del baculovirus. Los clones positivos se seleccionaron mediante screening (tamizaje) azul blanco en donde las colonias blancas contenían el bácmido recombinante. Las colonias blancas luego se seleccionaron para efectos del aislamiento del ADN bácmido. El ADN se aisló usando un kit de aislamiento de plásmido Qiagen (Qiagen, Inc., Valencia, CA), específico para el ADN con una longitud de 135 kb. El ADN del bácmido recombinante se analizó en un gel de agarosa al 0,6% para confirmar la presencia del ADN de alto peso molecular. El análisis PCR, usando primers pUC/M13 (5' delantero - TGT AAA ACG ACG GCC AGT - 3' y 5' reverso - GAA ACA GCT ATG ACC ATG - 3') también se

51
77

efectuó para confirmar el tamaño correcto del inserto para el ADNc de la desaturasa dentro del bácmido.

Se usaron células Sf9 de insecto (Spodoptera frugiperda) para la transfección del ADN del bácmido recombinante. Estas células se hicieron crecer en un medio libre de suero (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD). La transfección se efectuó siguiendo el protocolo CellFECTIN Sf900 Protocol (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD). El virus recombinante se recuperó por recolección del sobrenadante 72 horas post-transfección. Se hizo un ensayo de a placa sobre el sobrenadante para determinar el título de las partículas víricas recombinantes recuperadas. Se preparó un stock viral para los estudios de expresión. Todas las infecciones con el virus recombinante se realizaron durante la fase de crecimiento semi-logarítmico de las células Sf9 y se infectaron con una MOI de 5 (Multiplicidad de Infección). Para valorar la actividad del gen de la $\Delta 5$ -desaturasa humana expresado, las células Sf9m se sembraron a una concentración de 1×10^6 células/orificio en una placa de cultivo de tejidos de 6 orificios y se infectaron con 100 μ L del stock viral (aprox. 5 MOI). El substrato, el ácido dihomogamalinolénico (ADGL, C20:3n-6) se suplementó al tiempo de la infección, a una concentración de 100 μ M. Se usaron como controles, a manera de controles negativos en cada experimento, una infección mímica (mock infection) con Sf9, así como también células infectadas con un virus recombinante que contenía el gen reportador GusA. Se recolectó el medio 48 horas post-infección y se conservó. Las células se cosecharon y se sometieron a análisis de lípidos.

Para efectos del análisis de ácidos grasos, los pellets de células se agitaron con vórtice con 6 mL de metanol, a lo cual siguió la adición de 12 mL de cloroformo y tridecanoína (a modo de patrón interno). Las mezclas se incubaron durante por lo menos una hora a temperatura ambiente ó a 4°C durante una noche. La capa clorofórmica se extrajo y se filtró a través de un filtro Whatman con un gramo de sulfato de sodio anhidro a fin de remover las partículas y el agua residual. Los solventes

orgánicos se evaporaron a 40°C bajo una corriente de nitrógeno. Los lípidos extraídos se derivatizaron (se prepararon en forma de derivados) a modo de metil ésteres de los ácidos grasos (FAME, siglas en Inglés) para efectos del análisis por cromatografía de gases (GC) mediante la adición de 2 mL de hidróxido de potasio 0,5 N en metanol, en un tubo cerrado. Las muestras se calentaron a 95 - 100°C durante 30 minutos y se enfriaron a temperatura ambiente. Se agregaron aprox. 2 mL de trifluoruro de boro al 14% en metanol y se repitió el calentamiento. Después de que se enfrió la mezcla de lípidos extraída, se agregaron 2 mL de agua y 1 mL de hexano a fin de extraer los FAME para el análisis por GC. El porcentaje de conversión se calculó dividiendo el producto producido por la suma (el producto producido más el substrato) y luego multiplicando por 100.

En la Tabla 1 se resume la síntesis de ácidos grasos en células de insecto infectadas con virus recombinante que contenía el ADNc de la $\Delta 5$ desaturasa humana. Se monitoreó la conversión del substrato agregado, de ADGL (C20:3n-6), en ácido araquidónico (AA, 20:4n-6). La cantidad de ácido araquidónico (AA, 20:4n-6) producido por la $\Delta 5$ -desaturasa humana fue 9,67% del ácido graso total versus el control, el cual no produjo AA. Esto dio como resultado una conversión del 29,6% de ADGL en AA.

Estos datos indican que la $\Delta 5$ -desaturasa humana puede expresarse en un huésped eucariótico diferente (células de insecto) en una forma biológicamente activa, tal como se demostró por la producción de AA.

Tabla 1

<u>Acido graso</u>	<u>$\Delta 5$ Humana</u>	<u>Control</u>
18:1n-9	19,15	19,99
18:3n-6	2,43	5,18
*20:3n-6	22,95	30,00
20:4n-6 (29,6%)	9,67	ND
22 :1n-9	0,11	0,25

* indica substrato agregado
 ND = significa No Detectado

Composiciones Nutricionales

Los AGPIs descritos en la Descripción Detallada de la Invención pueden utilizarse en diversos suplementos nutricionales, formulaciones para infantes, sustitutos nutricionales y otras soluciones nutricionales.

I. FORMULACIONES PARA INFANTES

A. Isomil® - Fórmula a base de Soya con Hierro:

Uso: Como bebida para infantes, niños y adultos con una alergia o sensibilidad a la leche de vaca. Una alimentación para pacientes con desórdenes para los cuales la lactosa deba evitarse: deficiencia de lactasa, intolerancia a la lactosa y galactosemia.

Características:

- Aislado de proteínas de soya para evitar síntomas de la alergia o sensibilidad a las proteínas de la leche de vaca.
- Formulación libre de lactosa para evitar la diarrea asociada con la lactosa.
- Baja osmolaridad (240 mOs/kg de agua) para reducir el riesgo de diarrea osmótica.
- Carbohidratos duales (jarabe de maíz y sacarosa) diseñada para mejorar la absorción de carbohidratos y reducir el riesgo de exceder la capacidad de absorción del intestino lesionado.
- 1,8 mg de hierro (a manera de sulfato ferroso) por 100 Calorías para ayudar a prevenir la deficiencia de hierro.
- Niveles recomendados de vitaminas y minerales.

- Aceites vegetales para suministrar los niveles recomendados de ácidos grasos esenciales.

- color blanco de la leche, consistencia similar a la de la leche y aroma agradable.

Ingredientes: (Pareve) 85% de agua, 4,9% de jarabe de maíz, 2,6% de azúcar (sacarosa), 2,1% de aceite de soya, 1,9% de aislado de proteínas de soya, 1,4% de aceite de coco, 0,15% de citrato de calcio, 0,11 % de fosfato tribásico de calcio, citrato de potasio, fosfato de potasio monobásico, cloruro de potasio, mono- y diglicéridos, lecitina de soya, carragaen, ácido ascórbico, L-metionina, cloruro de magnesio, fosfato de potasio dibásico, cloruro de sodio, cloruro de colina, taurina, sulfato ferroso, m-inositol, acetato de alfa-tocoferil, sulfato de zinc, L-carnitina, niacinamida, pantotenato de calcio, sulfato cúprico, vitamina A palmitato, clorhidrato del cloruro de tiamina, riboflavina, clorhidrato de piridoxina, ácido fólico, sulfato de manganeso, yoduro de potasio, filoquinona, biotina, selenito de sodio, vitamina D3 y cianocobalamina.

B. Isomil® DF, Fórmula a base de Soya para la Diarrea

Uso: Como alimentación a corto plazo para el manejo con base en la dieta de la diarrea en infantes y niños de corta edad.

Características:

- Primera fórmula para infantes que contiene fibra agregada a la dieta además de la fibra de soya, específicamente útil para el manejo de la diarrea.

- Clínicamente demostrada como una fórmula que reduce la

duración de las heces sueltas, acuosas durante diarreas entre moderadas y severas en infantes.

- Nutricionalmente completa que satisface las necesidades nutricionales del infante.

- Aislado de proteína de soya con adición de L-metionina que satisface o excede los requerimientos mínimos de infantes respecto de todos los aminoácidos esenciales.

- Formulación libre de lactosa para evitar la diarrea asociada con la lactosa.

- Baja osmolaridad (240 mOsm/kg en agua) para reducir el riesgo de diarrea osmótica.

- Carbohidratos duales (jarabe de maíz y sacarosa) diseñados para mejorar la absorción de carbohidrato y reducir el riesgo de exceder la capacidad de absorción del intestino lesionado.

- Satisface o excede los niveles de vitaminas y minerales recomendados por el Committee on Nutritión of the American Academy of Pediatrics y exigidos en las fórmula para infantes.

- 1,8 mg de hierro (como sulfato ferroso) por 100 calorías para ayudar a prevenir la deficiencia de hierro.

- Aceites vegetales para suministrar los niveles recomendados de ácidos grasos esenciales.

Ingredientes: (Pareve) 86% de agua, 4,8% de jarabe, 2,5% de azúcar (sacarosa), 2,1% de aceite de soya, 2,0% de aislado de proteína de soya, 1,4% de aceite de coco, 0,77% de fibra de soya, 0,12% de citrato de

calcio, 0,11% de fosfato tribásico de calcio, 0,10% de citrato de potasio, cloruro de potasio, fosfato monobásico de potasio, mono y diglicéridos, lecitina de soya, carragaen, cloruro de magnesio, ácido ascórbico, L-metionina, fosfato de potasio dibásico, cloruro de sodio, cloruro de colina, taurina, sulfato ferroso, m-inositol, acetato de alfa-tocoferil, sulfato de zinc, L-carnitina, niacinamida, pantotenato de calcio, sulfato cúprico, vitamina A palmitato, clorhidrato del cloruro de tiamina, riboflavina, clorhidrato de piridoxina, ácido fólico, sulfato de manganeso, yoduro de potasio, filoquinona, biotina, selenito de sodio, vitamina D3 y cianocobalamina.

C. Isomil® SF, Fórmula a base de Soya Libre de Sacarosa Con Hierro:

Uso: Como bebida para infantes, niños y adultos con una alergia o con sensibilidad a la proteína de la leche de vaca o con intolerancia a la sacarosa. Alimentación para pacientes con desórdenes en los cuales deben evitarse la lactosa y la sacarosa.

Características:

- Aislado de proteína de soya para evitar los síntomas de la alergia o sensibilidad a la proteína de la leche de vaca.
- Formulación libre de lactosa para evitar la diarrea asociada con la lactosa (la fuente de carbohidratos es la Policosa®, Polímeros de Glucosa).
- Libre de sacarosa para aquellos pacientes que no pueden tolerar la sacarosa.
- Baja osmolaridad (180 mOsm/kg en agua) para reducir el riesgo de diarrea osmótica.

51
83

- 1,8 mg de hierro (como sulfato ferroso) por 100 calorías que ayuda a prevenir la deficiencia de hierro.

- Niveles Recomendados de vitaminas y minerales.

- Aceites vegetales que proporcionan los niveles recomendados de ácidos grasos esenciales.

- Color blanco de la leche, consistencia similar a la de la leche, aroma agradable.

Ingredientes: (Pareve) 75% de agua, 11,8% de almidón de maíz hidrolizado, 4,1% de aceite de soya, 4,1% de aislado de proteína de soya, 2,8 % de aceite de coco, 1,0 % de almidón de maíz modificado, 0,38% de fosfato tribásico de calcio, 0,17% de citrato de potasio, 0,13% de cloruro de potasio, mono y diglicéridos, lecitina de soya, cloruro de magnesio, ácido ascórbico, L-metionina, carbonato de calcio, cloruro de sodio, cloruro de colina, carragaen, taurina, sulfato ferroso, m-inositol, acetato de alfa-tocoferil, sulfato de zinc, L-carnitina, niacinamida, pantotenato de calcio, sulfato cúprico, vitamina A palmitato, clorhidrato del cloruro de tiamina, riboflavina, clorhidrato de piridoxina, ácido fólico, sulfato de manganeso, yoduro de potasio, filoquinona, biotina, selenito de sodio, vitamina D3 y cianocobalamina.

D. Isomil® 20 - Fórmula a base de Soya Con Hierro Lista para Consumir, 20 cal/oz fl (0,676 cal/ml).

Uso: Cuando se aconseja una alimentación con soya.

Ingredientes: (Pareve) 85% de agua, 4,9% de jarabe de maíz, 2,0% de azúcar(sacarosa), 2,1 % de aceite de soya, 1,9% de aislado de proteína de soya, 1,4% de aceite de coco, 0,15% de citrato de calcio, 0,11% de fosfato tribásico de calcio, citrato de potasio, fosfato monobásico de

potasio, cloruro de potasio, mono y diglicéridos, lecitina de soya, carragaen, ácido ascórbico, L-metionina, cloruro de magnesio, fosfato dibásico de potasio, fosfato dibásico de potasio, cloruro de colina, taurina, sulfato ferroso, m-inositol, acetato de alfa-tocoferil, sulfato de zinc, L-carnitina, niacinamida, pantotenato de calcio, sulfato cúprico, vitamina A palmitato, clorhidrato del cloruro de tiamina, riboflavina, clorhidrato de piridoxina, ácido fólico, sulfato de manganeso, yoduro de potasio, filoquinona, biotina, selenito de sodio, vitamina D3 y cianocobalamina.

E. Similac® - Fórmula para Infantes:

Uso: Cuando se necesite una fórmula para infantes: Cuando se tome la decisión de descontentar la alimentación con leche materna, antes de un año de edad, cuando se necesita suministrar un suplemento a la alimentación con leche materna o en los casos de una alimentación habitual y no se haya adoptado la alimentación con leche materna.

Características:

- Proteína de calidad y cantidad adecuada para un excelente crecimiento, térmicamente desnaturalizada, que reduce el riesgo de pérdida de sangre entérica asociada con la leche.
- Grasa proveniente de una mezcla de Aceites vegetales (doblemente homogeneizados) que suministra ácido linolénico esencial, el cual es de fácil absorción.
- Carbohidrato, como lactosa, en proporción similar a la de la leche humana.
- Baja carga renal de polutos que minimiza el estrés (daño) sobre los órganos en desarrollo.

57
85

- Formas en: Polvo, Concentrado Líquido y Lista para Consumir.

Ingredientes: (-D) Agua, leche descremada, lactosa, aceite de soya, aceite de coco, mono y diglicéridos, lecitina de soya, ácido ascórbico, carragaen, cloruro de colina, taurina, m-inositol, acetato de alfa-tocoferil, sulfato de zinc, niacinamida, sulfato ferroso, pantotenato de calcio, sulfato cúprico, vitamina A palmitato, clorhidrato del cloruro de tiamina, riboflavina, clorhidrato de piridoxina, ácido fólico, sulfato de manganeso, filoquinona, biotina, selenito de sodio, vitamina D3 y cianocobalamina.

F. Similac® NeoCare - Fórmula para Infantes Prematuros Con Hierro:

Uso: Para satisfacer las necesidades nutricionales especiales de infantes prematuros después de ser dados de alta por el hospital. Similac NeoCare es una fórmula nutricionalmente completa desarrollada para proporcionar a infantes prematuros cantidades adicionales de calorías, proteína, vitaminas y minerales necesarias para promover el crecimiento y fomentar el desarrollo.

Características:

- Reduce la necesidad de suplementación calórica y vitamínica. Aporta más calorías (22 cal/oz fl (0,743 cal/mL) que las fórmulas de término estándar (20 Cal/oz fl)
- Mezcla de grasas altamente absorbida, con triglicéridos de cadena mediana (aceites MCTs) que ayudan a satisfacer las necesidades digestivas especiales de los infantes prematuros
- Superiores niveles de proteína, vitaminas y minerales por cada 100 calorías para ampliar el soporte nutricional iniciado en el hospital.

- Aporta más calcio y fósforo para una mejorada mineralización ósea.

Ingredientes: - D Sólidos de jarabe de maíz, leche descremada, lactosa, concentrado de proteínas del suero, aceite de soya, aceite de cártamo con alto contenido de ácido oleico, aceite de coco fraccionado (triglicéridos de cadena mediana), aceite de coco, citrato de potasio, fosfato tribásico de calcio, carbonato de calcio, ácido ascórbico, cloruro de magnesio, cloruro de potasio, cloruro de sodio, taurina, sulfato ferroso, m-inositol, cloruro de colina, palmitato de ascorbilo, L-carnitina, acetato de alfa-tocoferil, sulfato de zinc, niacinamida, mezcla de tocoferoles, citrato de sodio, pantotenato de calcio, sulfato cúprico, clorhidrato del cloruro de tiamina, vitamina A palmitato, beta caroteno, riboflavina, clorhidrato de piridoxina, ácido fólico, sulfato de manganeso, filoquinona, biotina, selenito de sodio, vitamina D3 y cianocobalamina.

G. Similac® Natural Care – Fortificante de la Leche Humana con bajo Contenido de Hierro Listo para su Uso, 24 cal/oz fl (0,80 cal/mL)

Uso: Producto diseñado para su mezcla con la leche humana o como alternativa de alimentación frente a la leche humana de uso en infantes con bajo peso al nacer.

Ingredientes: - D Agua, leche descremada, almidón de maíz hidrolizado, lactosa, aceite de coco fraccionado (triglicéridos de cadena mediana), concentrado de proteína del suero, aceite de soya, aceite de coco, fosfato tribásico de calcio, citrato de potasio, cloruro de magnesio, citrato de sodio, ácido ascórbico, carbonato de calcio, mono y diglicéridos, lecitina de soya, carragaen, cloruro de colina, m-inositol, taurina, niacinamida, L-carnitina, acetato de alfa tocoferil, sulfato de zinc, cloruro de potasio, pantotenato de calcio, sulfato ferroso, sulfato cúprico, riboflavina, vitamina A palmitato, clorhidrato del cloruro de tiamina, clorhidrato de piridoxina, biotina, ácido fólico, sulfato de manganeso, filoquinona, vitamina D3, selenito de sodio y cianocobalamina.

61
87

Diversos AGPIs de esta invención pueden ser sustituidos y/o agregados en las fórmulas para infantes antes descritas y en otras fórmulas para infantes conocidas en este campo de la industria.

II. FORMULACIONES NUTRICIONALES

A. ENSURE®

Uso: ENSURE es un alimento líquido con bajos residuos diseñado fundamentalmente como un suplemento nutricional de uso oral con las comidas o entre éstas, en cantidades apropiadas, ó como un sustituto de las comidas. ENSURE es una formulación nutricional libre de lactosa y de gluten, y es apropiada para su utilización en dietas modificadas, entre las que se incluye las dietas con bajo contenido de colesterol. Si bien es fundamentalmente un suplemento oral, puede administrarse mediante tubo de alimentación.

Condiciones de los Pacientes:

- Para pacientes que siguen dietas modificadas.
- Para pacientes de edad avanzada con riesgos en su nutrición
- Para pacientes con pérdida involuntaria de peso
- Para pacientes en período de recuperación de enfermedades o cirugía
- Para pacientes quienes necesitan una dieta baja en residuos.

Ingredientes: -D Agua, Azúcar (Sacarosa), Maltodextrina (de maíz), Caseinatos de Calcio y Sodio, Aceite de cártamo con alto contenido de ácido oleico, aislado de proteínas de soya, Aceite de Soya, Aceite de Canola, Citrato de Potasio, Fosfato Tribásico de Calcio, Citrato de Sodio, Cloruro de Magnesio, Fosfato de Magnesio Dibásico, Sabor Artificial, Cloruro de Sodio, Lecitina de Soya, Cloruro de Colina, Acido Ascórbico, Carragaen, Sulfato de Zinc, Sulfato ferroso, Acetato de Alfa-Tocoferil, Goma Gellan, Niacinamida, Pantotenato de Calcio, Sulfato de Manganeso, Sulfato Cúprico, Vitamina A Palmitato, Clorhidrato del

Cloruro de Tiamina, Clorhidrato de Piridoxina, Riboflavina, Acido Fólico, Molibdato de Sodio, Cloruro de Cromo, Biotina, Yoduro de Potasio, Selenato de Sodio.

B. ENSURE® - BARRAS:

Uso: ENSURE BARS (ENSURE EN BARRAS)- son productos nutricionales, completos, balanceados, con uso de tipo suplemento entre comidas o con estas. Proporcionan una alternativa deliciosa, rica en nutrientes, frente a otras golosinas. Las Barras de ENSURE contienen < 1 g de lactosa/barra, y sabor de Chocolate Fudge Brownie está libre de gluten. (el gluten contiene el sabor Honey Graham Crunch.)

Condiciones de los Pacientes:

- Para pacientes que necesitan cantidades adicionales de calorías, proteína, vitaminas y minerales
- Especialmente útiles para personas que no consumen suficientes calorías y nutrientes.
- Para personas con capacidad para masticar y deglutir
- No debe consumirse por personas que presenten alergia al maní o cualquier tipo de alergia a nueces

Ingredientes: Las barras con sabor a Honey Graham Crunch contienen: jarabe de maíz con alto contenido de fructosa, aislado de proteína de soya, azúcar moreno, miel, maltodextrina (maíz) , arroz tostado (arroz trillado, azúcar [sacarosa] , sal [cloruro de sodio] y malta), salvado de avena, aceites de soya y de semillas de algodón parcialmente hidrogenados, polisacáridos de la soya, glicerina, concentrado de proteínas del suero, polidextrosa, fructosa, caseinato de calcio, polvo de cocoa, sabores artificiales, aceite de canola, aceite de cártamo con alto contenido de ácido oleico, leche deshidratada y sin grasa, polvo de suero, lecitina de soya y aceite de maíz. Las barras se manufacturan en una planta que procese nueces.

Vitaminas y Minerales: Fosfato Tribásico de Calcio, Fosfato Dibásico de Potasio, Oxido de Magnesio, Sal (Cloruro de Sodio), Cloruro de Potasio, Acido Ascórbico, Ortofosfato Férrico, Acetato de Alfa-Tocoferil, Niacinamida, Oxido de Zinc, Pantotenato de Calcio, Gluconato de Cobre, Sulfato de Manganeso, Riboflavina, Beta Caroteno, Clorhidrato de Piridoxina, Mononitrato de Tiamina, Acido Fólico, Biotina, Cloruro de Cromo, Yoduro de Potasio, Selenato de Sodio, Molibdato de Sodio, Filoquinona, Vitamina D3 y Cianocobalamina.

Proteína: - Barras Honey Graham Crunch (Barras crocantes con sabor a miel)- La fuente de proteína es una mezcla de aislado de proteína de soya y proteínas de la leche.

Aislado de proteína de soya	74%
Proteínas de la Leche	26%

Grasa: Honey Graham Crunch – La fuente de grasa es una mezcla de aceites de soya y de semilla de algodón parcialmente hidrogenados, aceite de canola, aceite de cártamo con alto contenido de oleico, aceites, y lecitina de soya.

Aceites de soya y semillas de algodón parcialmente hidrogenados	76%
Aceite de canola	8%
Aceite de cártamo con alto contenido de oleico	8%
Aceite de maíz	4%
Lecitina de soya	4%

Carbohidratos: Honey Graham Crunch – La fuente de carbohidratos es una combinación de jarabe de maíz con alto contenido de fructosa, azúcar morena, maltodextrina, miel, arroz tostado, glicerina, polisacárido de soya, y salvado de avena.

Aceite de maíz con alto contenido de fructosa	24%
---	-----

CV
90

Azúcar moreno	21%
Maltodextrina	12%
Miel	11%
Arroz tostado	9%
Glicerina	9%
Polisacárido de Soya	7%
Salvado de avena	7%

C. ENSURE® HIGH PROTEIN:

Uso: El ENSURE® HIGH PROTEIN (ENSURE con alto contenido de proteínas) es un alimento líquido, concentrado, con alto contenido de proteínas diseñado para personas que requieran aportes adicionales de calorías, proteínas, vitaminas, y minerales en sus dietas. Puede utilizarse a manera de un suplemento nutricional oral con las comidas o entre estas o, en cantidades apropiadas, como sustituto de las comidas. El ENSURE con alto contenido de proteínas es un producto libre de lactosa y libre de gluten, apropiado para su uso en personas que se recuperan de cirugías generales o de fracturas de cadera, y para pacientes en riesgo de sufrir úlceras por estrés.

Condiciones de los Pacientes:

- Para pacientes que necesiten aportes adicionales de calorías, proteínas, vitaminas, y minerales, tales como aquellos pacientes que se recuperan de una cirugía general o de fracturas de cadera, pacientes con riesgo de sufrir úlceras por estrés, y pacientes que siguen dietas bajas en colesterol.

Características:

- Bajo contenido de grasas saturadas
- Contiene 6 g de grasa total y menos de 5 mg de colesterol por porción
- Producto delicioso, con textura y sabor cremosos.
- Excelente fuente de proteína, calcio, y otras vitaminas y minerales

65
91

esenciales.

- Util en dietas con bajo contenido de colesterol
- Libre de lactosa, fácil digestión

Ingredientes:

Producto con Sabor a Vanilla Supreme: -D Agua, Azúcar (Sacarosa), Maltodextrina (Maíz), Caseinatos de Calcio y Sodio, Aceite de cártamo con alto Contenido de Acido Oleico, Aislado de Proteína de Soya, Aceite de Soya, Aceite de Canola, Citrato de Potasio, Fosfato Tribásico de Calcio, Citrato de sodio, Cloruro de Magnesio, Fosfato Dibásico de Magnesio, Sabor Artificial, Cloruro de Sodio, Lecitina de Soya, Cloruro de colina, Acido Ascórbico, Carragaen, Sulfato de Zinc, Sulfato Ferroso, Acetato de alfa-tocoferil, Goma Gellan, Niacinamida, Pantotenato de Calcio, Sulfato de manganeso, Sulfato Cúprico, Vitamina A Palmitato, Clorhidrato del cloruro de Tiamina, Clorhidrato de piridoxina, Riboflavina, Acido Fólico, Molibdato de Sodio, Cloruro de Cromo, Biotina, Yoduro de Potasio, Selenato de Sodio, Filoquinona, Vitamina D3 y Cianocobalamina.

- Proteína:

La fuente de proteína es una mezcla de dos proteínas de alto valor biológico: caseína y soya.

Caseinatos de sodio y calcio	85%
Aislado de Proteína de soya	15%

Grasa:

La fuente de grasa es una mezcla de tres aceites: aceite de cártamo con alto contenido de oleico, aceite de canola, y aceite de soya.

Aceite de cártamo con alto contenido de oleico	40%
Aceite de canola	30%
Aceite de soya	30%

El nivel de grasa presente en el ENSURE HIGH PROTEIN cumple las

recomendaciones de la American Heart Association (AHA). Los 6 gramos de grasa en ENSURE HIGH PROTEIN representan el 24% de las calorías totales, en donde el 2,6% de la grasa corresponde a ácidos grasos saturados y 7,9% corresponden a ácidos grasos poliinsaturados. Estos valores se encuentran dentro de los lineamientos AHA de una proporción < 30% de las calorías totales provenientes de grasas, < 10% de las calorías provenientes de ácidos grasos saturados, y < 10% de las calorías totales de ácidos grasos poliinsaturados.

Carbohidratos:

ENSURE HIGH PROTEIN contiene una combinación de maltodextrina y sacarosa. Su moderado poder edulcorante y la variedad de sus sabores (vainilla suprema, chocolate royal, mora salvaje, y banana), más VARI-FLAVORS® Flavor Pacs, a nuez, cereza, frambuesa, limón, y naranja, ayudan a prevenir el cansancio por los mismos sabores y ayuda en el cumplimiento por parte del paciente de los tratamientos.

Los productos con sabor a vainilla y a otros sabores diferentes al chocolate contienen:

Sacarosa	60%
Maltodextrina	40%

Con sabor a chocolate:

Sacarosa	60%
Maltodextrina	30%

D. ENSURE® LIGHT

Uso: ENSURE LIGHT (ENSURE dietético) es un alimento líquido con bajo contenido de grasas diseñado para su uso como suplemento

61
93

nutricional oral con o entre comidas. ENSURE LIGHT es un producto que no contiene lactosa y libre de gluten, y es apropiado para su uso en dietas modificadas, incluyendo las dietas con bajo colesterol.

Condiciones de los Pacientes:

- Para pacientes con sobrepeso o con peso normal que requieran una nutrición extra en un suplemento que contenga 50% menos grasa y 20% menos calorías que el ENSURE.
- Para adultos sanos que no coman bien y necesiten nutrición extra.

Características:

- Bajo en grasa y grasas saturadas
- Contiene 3 g de grasa total por porción y < 5 g de colesterol
- Deliciosa, sabor cremoso
- Excelente fuente de calcio y de otras vitaminas y minerales esenciales
- Util para dietas bajas en colesterol
- Libre de lactosa, y de fácil digestión

Ingredientes:

Producto con Sabor a Vainilla Francesa: -D Agua, Maltodextrina (Maíz), Azúcar (Sacarosa), Caseinato de Calcio, Aceite de Cártamo con Alto Contenido de Oleico, Aceite de Canola, Cloruro de Magnesio, Citrato de Sodio, Citrato de Potasio, Fosfato Dibásico de Potasio, Fosfato Dibásico de Magnesio, Sabores Naturales y Artificiales, Fosfato Tribásico de Calcio, Gel de Celulosa, Cloruro de Colina, Lecitina de Soya, Carragaen, Sal (Cloruro de Sodio) , Acido Ascórbico, Goma de Celulosa, Sulfato ferroso, Acetato de Alfa-Tocoferil, Sulfato de Zinc, Niacinamida, Sulfato de Manganeso, Pantotenato de Calcio, Sulfato Cúprico, Clorhidrato del Cloruro de Tiamina, Vitamina A Palmitato, Clorhidrato de Piridoxina, Riboflavina, Cloruro de Cromo, Acido Fólico, Molibdato de Sodio, Biotina, Yoduro de Potasio, Selenato de Sodio, Filoquinona, Vitamina D3 y Cianocobalamina.

Proteína: La fuente de proteína es Caseinato de calcio.

Caseinato de Calcio	100%
---------------------	------

Grasa: La fuente de grasa es una mezcla de dos aceites: aceite de cártamo con alto contenido de oleico y aceite de canola.

Aceite de cártamo con alto contenido de oleico	70%
Aceite de Canola	30%

El nivel de grasa en el ENSURE LIGHT satisface los lineamientos de la American Heart Association (AHA). Los 3 gramos de grasa presentes en el ENSURE LIGHT representan el 13,5% de las calorías totales, en donde el 1,4% de la grasa corresponde provienen de ácidos grasos saturados y 2,6% de ácidos grasos poliinsaturados. Estos valores se encuentran dentro de los lineamientos de la AHA: < 30% de calorías totales provenientes de la grasa, < 10% de las calorías totales provenientes de ácidos grasos saturados, y < 10% de las calorías totales provenientes de ácidos grasos poliinsaturados.

Carbohidratos:

ENSURE LIGHT contiene una combinación de maltodextrina y sacarosa. El producto con sabor a chocolate también contiene jarabe de maíz. El poder edulcorante moderado y su variedad de sabores (vainilla francesa, chocolate supremo, frambuesa swirl), más VARI-FLAVORS® Sabor Pacs, a nuez, cereza, frambuesa, limón, y naranja, ayudan a prevenir el cansancio por los mismos sabores y ayuda en el cumplimiento por parte del paciente de los tratamientos.

Los productos con sabor a vainilla y otros sabores diferentes al chocolate contienen:

Sacarosa	51 %
Maltodextrina	49 %

69
95

Con sabor a chocolate:

Sacarosa	47,0 %
Jarabe de maíz	26,5 %
Maltodextrina	26,5 %

Vitaminas y Minerales:

Una porción de 8 oz fluidas (238 mL) de ENSURE LIGHT proporciona por lo menos 25% de los RDIs (Requerimiento mínimos diarios) de las vitaminas y minerales esenciales.

Cafeína: El producto con sabor a chocolate contiene 2,1 mg de cafeína/8 oz fluidas (238 mL)(0.0089 mg/mL)

E. ENSURE PLUS®

Uso: El ENSURE PLUS es un alimento líquido rico en calorías, y con bajo contenido de residuos útil cuando se necesite un aporte nacional de calorías y nutrientes, pero a la vez una concentración normal de proteína. Se encuentra diseñado fundamental como suplemento nutricional oral que puede utilizarse con o entre las comidas o, en cantidades apropiadas como sustituto de los alimentos. El ENSURE PLUS es un producto que no contiene lactosa y libre de gluten. Aunque fundamentalmente es un suplemento nutricional oral, este volumen puede suministrarse a través de una alimentación por tubo.

Condiciones de los Pacientes:

- Para pacientes que necesiten aportes adicionales de calorías y nutrientes, pero a la vez una concentración normal de proteína, en un volumen limitado.
- Para pacientes que necesiten subir de peso, o para mantener su peso corporal normal

Características:

- Producto delicioso, de sabor cremoso.
- Excelente fuente de vitaminas y minerales sociales

Ingredientes:

Producto con Sabor a Vainilla: -D Agua, Jarabe de Maíz, Maltodextrina (Maíz), Aceite de Maíz, Caseinatos de Sodio y Calcio, Azúcar (Sacarosa), Aislado de proteína de soya, Cloruro de Magnesio, Citrato de Potasio, Fosfato Tribásico de Calcio, Lecitina de Soya, Sabores Naturales y Artificiales, Citrato de sodio, Cloruro de Potasio, Cloruro de Colina, Acido Ascórbico, Carragaen, Sulfato de Zinc, Sulfato ferroso, Acetato de Alfa-Tocoferil, Niacinamida, Pantotenato de Calcio, Sulfato de Manganeso, Sulfato Cúprico, Clorhidrato del Cloruro de Tiamina, Clorhidrato de Piridoxina, Riboflavina, Vitamina A Palmitato, Acido Fólico, Biotina, Cloruro de Cromo, Molibdato de Sodio, Yoduro de Potasio, Selenito de sodio, Filoquinona, Cianocobalamina y Vitamina D3.

Proteína:

La fuente de proteína es una mezcla de dos proteínas de alto valor biológico: caseína y soya.

Caseinatos de sodio y calcio	84%
Aislado de proteína de soya	16%

Grasa:

La Fuente de grasa es Aceite de Maíz.

Aceite de Maíz	100%
----------------	------

Carbohidratos:

ENSURE PLUS contiene una combinación de maltodextrina y sacarosa. El poder edulcorante moderado y su variedad de sabores (vainilla, chocolate, frambuesa, café, mantequilla de nuez, y ponche de leche y

huevo), más VARI-FLAVORS® Sabor Pacs, a nuez, cereza, frambuesa, limón, y naranja, ayudan a prevenir el cansancio por los mismos sabores y ayuda en el cumplimiento por parte del paciente de los tratamientos.

Productos con sabor a vainilla, frambuesa, mantequilla de nuez y café

Jarabe de Maíz	39%
Maltodextrina	38%
Sacarosa	23%

Productos con sabores de chocolate y ponche de leche y huevo:

Jarabe de Maíz	36%
Maltodextrina	34%
Sacarosa	30%

Vitaminas y Minerales:

Una porción de 8 oz fluidas (238 mL) de ENSURE LIGHT proporciona por lo menos 15% de los RDIs (Requerimiento mínimos diarios) de las 25 vitaminas y minerales esenciales.

Cafeína:

Los productos con sabor a chocolate contienen 3,1 mg Cafeína/8 oz fl. El sabor de café contiene algunas trazas más de cafeína.

F. ENSURE: PLUS® HN

Uso: El ENSURE PLUS HN es un alimento líquido nutricionalmente completo con alto contenido de calorías y alto contenido de nitrógeno diseñado para personas con altos requerimientos de calorías y proteínas o que tengan una limitada tolerancia al volumen. Puede ser utilizada para suplementación oral o para una administración oral total por tubo. El ENSURE PLUS HN es un producto libre de lactosa y de gluten.

Condiciones de los Pacientes:

- Para pacientes con necesidades incrementadas de calorías y proteínas, tales como en casos de cirugía o lesiones
- Para pacientes con una limitada tolerancia al volumen y que experimenten una temprana saciedad

Características:

- Util como suplemento o como sustituto nutricional total
- Para uso oral o para alimentación por tubo
- 1,5 cal/mL,
- Alto contenido de nitrógeno
- Producto con alta densidad calórica

Ingredientes:

Producto con sabor a vainilla: -D Agua, Maltodextrina (Maíz), Caseinatos de Sodio y Calcio, Aceite de Maíz, Azúcar (Sacarosa), Aislado de Proteína de Soya, Cloruro de Magnesio, Citrato de Potasio, Fosfato Tribásico de Calcio, Lecitina de Soya, Sabor Natural y Artificial, Citrato de sodio, Cloruro de colina, Acido Ascórbico, Taurina, L-Carnitina, Sulfato de Zinc, Sulfato Ferroso, Acetato de Alfa-Tocoferil, Niacinamida, Carragaen, Pantotenato de Calcio, Sulfato de Manganeso, Sulfato Cúprico, Clorhidrato del Cloruro de Tiamina, Clorhidrato de Piridoxina, Riboflavina, Vitamina A Palmitato, Acido Fólico, Biotina, Cloruro de Cromo, Molibdato de Sodio, Yoduro de Potasio, Selenito de sodio, Filoquinona, Cianocobalamina y Vitamina D3.

G. ENSURE® POWDER:

Uso: ENSURE POWDER (ENSURE en Polvo)(para reconstituir con agua) es un alimento líquido con bajo contenido de residuos diseñado fundamentalmente como suplemento nutricional oral de uso con o entre comidas. ENSURE POWDER no contiene lactosa ni gluten, y es apropiado para uso en dietas modificadas, incluyendo dietas bajas en colesterol.

Condiciones de los Pacientes:

- Para pacientes que siguen dietas modificadas
- Para pacientes de edad avanzada con riesgo de desnutrición
- Para pacientes que se recuperan de enfermedades/cirugías
- Para pacientes que necesitan una dieta baja en residuos

Características:

- Conveniente, fácil de mezclar
- Bajo en grasas saturadas
- Contiene 9 g de grasa total y < 5 mg de colesterol por porción
- Alto contenido de vitaminas y minerales
- Para dietas bajas en colesterol
- Libres de lactosa, y de fácil digestión

Ingredientes: -D Jarabe de Maíz, Maltodextrina (Maíz), Azúcar (Sacarosa) , Aceite de Maíz, Caseinatos de Sodio y Calcio, Aislado de proteína de soya, Sabor Artificial, Citrato de Potasio, Cloruro Magnesio, Citrato de Sodio, Fosfato Tribásico de Calcio, Cloruro de Potasio, Lecitina de Soya. Acido Ascórbico, Cloruro de Colina, Sulfato de Zinc, Sulfato Ferroso, Acetato de Alfa-Tocoferil, Niacinamida, Pantotenato de Calcio, Sulfato de Manganeso, Clorhidrato del Cloruro de Tiamina, Sulfato Cúprico, Clorhidrato de Piridoxina, Riboflavina, Vitamina A Palmitato, Acido Fólico, Biotina, Molibdato de Sodio, Cloruro de Cromo, Yoduro de Potasio, Selenato de Sodio, Filoquinona, Vitamina D3 y Cianocobalamina.

Proteína:

La fuente de proteína es una mezcla de dos proteínas de alto valor biológico: caseína y soya.

Caseinatos de sodio y calcio	84%
Aislado de proteína de soya	16%

Grasa:

La fuente de grasa es aceite de maíz.

Aceite de Maíz	100%
----------------	------

Carbohidratos:

ENSURE POWDER contiene una combinación de jarabe de maíz, maltodextrina, y sacarosa. El poder edulcorante moderado más VARI-FLAVORS® Sabor Pacs, a nuez, cereza, frambuesa, limón, y naranja, ayudan a prevenir el cansancio por los mismos sabores y ayuda en el cumplimiento por parte del paciente de los tratamientos.

El producto con sabor a vainilla contiene:

Jarabe de Maíz	35%
Maltodextrina	35%
Sacarosa	30%.

H. ENSURE® PUDDING

Uso: El ENSURE PUDDING (ENSURE en Pudín) es un suplemento con un contenido denso de nutrientes que proporciona una nutrición balanceada en una forma no líquida que se puede utilizar con o entre comidas. Resulta apropiado para las dietas en donde se modifique la consistencia de los alimentos (v.g., alimentos suaves, en puré, o completamente líquidos) o para personas que tengan problemas con la deglución o con el tragado de los alimentos. ENSURE PUDDING no contiene gluten.

Condiciones de los Pacientes:

- Para pacientes con dietas en donde se requiera la modificación de la consistencia de los alimentos (v.g., alimentos suaves, en puré, o completamente líquidos).
- Para pacientes con problemas de deglución de alimentos

Características:

- Producto rico y cremoso, de excelente sabor
- Excelente fuente de vitaminas y minerales esenciales
- No necesita refrigeración
- No contiene gluten

Perfil de Nutrientes por cada 5 oz (aprox. 150 mL): calorías 250, Proteína 10,9%, Grasa Total 34,9%, Carbohidratos 54,2%

Ingredientes: -D Leche descremada, Agua, Azúcar (Sacarosa), Aceite de Soya Parcialmente Hidrogenado, Almidón para Alimentación Modificado, Sulfato de Magnesio, Estearolil Lactilato de Sodio, Fosfato Dibásico de Sodio, Sabor Artificial, Acido Ascórbico, Sulfato de Zinc, Sulfato Ferroso, Acetato de Alfa-Tocoferil, Cloruro de Colina, Niacinamida, Sulfato de Manganeso, Pantotenato de Calcio, Amarillo # 5 FD&C, Citrato de Potasio, Sulfato Cúprico, Vitamina A Palmitato, Clorhidrato del Cloruro de Tiamina, Clorhidrato de Piridoxina, Riboflavina, Amarillo # 6 FD&C, Acido Fólico, Biotina, Filoquinona, Vitamina D3 y Cianocobalamina.

Proteína:

La fuente de proteína es leche descremada.

Leche descremada	100%
------------------	------

Grasa:

La Fuente de grasa es aceite de soya hidrogenado.

Aceite de soya hidrogenado	100 %
----------------------------	-------

Carbohidratos:

El ENSURE PUDDING contiene una combinación de sacarosa y almidón modificado para alimentación. Su moderado poder edulcorante y la

76
102

variedad de sus sabores (vainilla, chocolate mantequilla, y yuca), ayudan a prevenir el cansancio por los mismos sabores y ayuda en el cumplimiento por parte del paciente de los tratamientos. El producto contiene 9,2 gramos de lactosa por porción.

Producto con sabor a vainilla y otros sabores diferentes al chocolate:

Sacarosa	56 %
Lactosa	27 %
Almidón modificado para alimentación	17 %

Sabor a chocolate:

Sacarosa	58 %
Lactosa	26%
Almidón modificado para alimentación	16 %

I. ENSURE® WITH FIBER:

Uso: ENSURE WITH FIBER (ENSURE con Fibra) es un alimento alimenticio nutricionalmente completo que contiene fibra, diseñado para personas que puedan beneficiarse por el alto contenido de fibra y de nutrientes en la dieta. ENSURE WITH FIBER es apropiado para personas que no necesiten una dieta con bajo contenido de residuos. Puede administrarse oralmente o a través de tubo, y puede usarse como suplemento nutricional a una dieta normal o, en cantidades apropiadas como sustituto de los alimentos. ENSURE WITH FIBER no contiene lactosa ni gluten, y es apropiada para dietas modificadas, incluyendo dietas con bajo colesterol.

Condiciones de los Pacientes:

- Para pacientes que puedan beneficiarse o con dietas con alto contenido de fibra y nutrientes

77
103

Características:

- Novedosa fórmula baja en grasa saturada, con alto contenido de vitaminas y minerales
- Cada porción contiene 6 g de grasa total y < 5 mg de colesterol
- Delicioso, sabor cremoso
- Excelente fuente de fibra
- Excelente fuente de vitaminas y minerales esenciales
- Para dietas bajas en colesterol
- No contiene lactosa ni gluten

Ingredientes:

Producto con sabor a vainilla: -D Agua; Maltodextrina (Maíz), Azúcar (Sacarosa), Caseinatos de Sodio y Calcio, Fibra de Avena, Aceite cártamo con Alto Contenido de Oleico, Aceite de Canola, Aislado de proteína de soya, Aceite de Maíz, Fibra de Soya, Fosfato Tribásico de Calcio, Cloruro de Magnesio, Citrato de Potasio, Gel de Celulosa, Lecitina de Soya, Fosfato Dibásico de Potasio, Citrato de Sodio, Sabores Naturales y Artificiales, Cloruro de Colina, Fosfato de Magnesio, Acido Ascórbico, Goma de Celulosa, Cloruro de Potasio, Carragaen, Sulfato Ferroso, Acetato de Alfa-Tocoferil, Sulfato de Zinc, Niacinamida, Sulfato de Manganeso, Pantotenato de Calcio, Sulfato Cúprico, Vitamina A Palmitato, Clorhidrato del Cloruro de Tiamina, Clorhidrato de Piridoxina, Riboflavina, Acido Fólico, Cloruro de Cromo, Biotina, Molibdato de Sodio, Yoduro de Potasio, Selenato de Sodio, Filoquinona, Vitamina D3 y Cianocobalamina.

Proteína:

La fuente de proteína es una mezcla de dos proteínas de alto valor biológico: caseína y soya.

Caseinatos de sodio y calcio	80 %
Aislado de proteína de soya	20 %

Grasa:

78/104

La Fuente de grasa es una mezcla de tres aceites: Cártamo con Alto Contenido de Oleico, canola y maíz.

Cártamo con Alto Contenido de Oleico	40 %
Aceite de Canola	40 %
Aceite de Maíz	20%

El nivel de grasa en el ENSURE WITH FIBER satisface las recomendaciones de la American Heart Association (AHA). Los 6 gramos de grasa presentes en el ENSURE WITH FIBER representan el 22% de las calorías totales, en donde el 2,01% de la grasa provienen de ácidos grasos saturados y 6,7% de ácidos grasos poliinsaturados. Estos valores se encuentran dentro de los lineamientos de la AHA: < 30% de calorías totales provenientes de la grasa, < 10% de las calorías totales provenientes de ácidos grasos saturados, y < 10% de las calorías totales provenientes de ácidos grasos poliinsaturados.

Carbohidratos:

ENSURE WITH FIBER contiene una combinación de maltodextrina y sacarosa. Su moderado poder edulcorante y la variedad de sus sabores (vainilla, chocolate, mantequilla de nuez), más VARI-FLAVORS® Flavor Pacs, a nuez, cereza, frambuesa, limón, y naranja, ayudan a prevenir el cansancio por los mismos sabores y ayuda en el cumplimiento por parte del paciente de los tratamientos.

El producto con sabor a vainilla y otro sabores distintos a chocolate contiene:

Maltodextrina	66 %
Sacarosa	25 %
Fibra de Avena	7 %
Fibra de Soya	2 %

Producto con sabor a chocolate contiene:

Maltodextrina	55 %
Sacarosa	36 %
Fibra de Avena	7 %
Fibra de Soya	2 %

Fibra:

La mezcla de fibras usadas en ENSURE WITH FIBER esta conformada por fibra de avena y polisacárido de soya. Esta mezcla produce aprox. 4 gramos de la fibra de dieta total por cada 8 oz fluidas (238 mL). La proporción entre fibras insolubles vs. solubles es 95:5.

Los diferentes suplementos nutricionales descritos anteriormente y aquellos que sean conocidos por los expertos en este campo de la industria pueden sustituirse y/o suplementarse con los AGPIs producidos en concordancia con la presente invención.

J. OxepaTM - Producto Nutricional

Oxepa es un producto nutricional entérico bajo en carbohidratos, y con alto contenido calórico diseñado para el manejo de la dieta de pacientes con o en riesgo de sufrir ARDS. Contiene una exclusiva combinación de ingredientes, entre los que se incluye una mezcla de aceites patentizada que contiene ácido eicosapentaenoico (AEP del aceite de pescado), ácido γ -linolénico (AGL proveniente del aceite de borraja (no me olvides)), y niveles elevados de antioxidantes.

Distribución Calórica:

La densidad calórica es alta, con un valor de 3,5 cal/mL (355 cal/ 8 oz fluidas (238 mL)), con el fin de minimizar el volumen requerido con el fin de satisfacer las necesidades de energía. La distribución de calorías del producto Oxepa se ilustran en la Tabla IV.

Tabla IV. Distribución Calórica del Oxepa

	por 8 oz fl	por litro	% de cal.
calorías	355	1500	---
Grasa (g)	22,2	93,7	55,2
Carbohidratos (g)	25	105,5	28,1
Proteínas (g)	14,8	62,5	16,7
Agua (g)	186	785	---

Grasa:

- Oxepa contiene 22,2 g de grasa por porción de 8 oz fl (93,7 g/L)
- La fuente de grasa es una mezcla de aceites: 31,5% de aceite de canola, 25 % de triglicéridos de cadena media (MCTs), 20% de aceite de borraja, 20% de aceite de pescado, y 3,2% de lecitina de soya. El perfil de ácidos grasos típico del producto Oxepa se ilustra en la Tabla V.
- Oxepa proporciona una cantidad balanceada de ácidos grasos poliinsaturados, monoinsaturados, y saturados, tal como se ilustra en la Tabla VI.
- Los triglicéridos de cadena mediana (MCTs) representan el 25% de la mezcla de grasas . Ayudan al vaciado gástrico debido a que son absorbidos por el tracto intestinal sin que se produzca su emulsificación por parte de los ácidos biliares.

Los diferentes componentes ácidos grasos del producto nutricional OxepaTM pueden sustituirse y/o suplementarse utilizando los AGPIs producidos en concordancia con la presente invención.

81
102

Tabla V. Perfil Típico de Acidos Grasos

	% de Acidos	g/8 oz fl	g/L
Grasos Totales			
Caproico	0,2	0,04	0,18
Caprílico	14,69	3,1	13,07
Cáprico	11,06	2,33	9,87
Palmítico	5,59	1,18	4,89
Palmitoleico	1,82	0,38	1,62
Estearico	1,94	0,39	1,64
Oleico	24,44	5,16	21,75
Linoleico	16,28	3,44	14,49
α -Linolénico	3,47	0,73	3,09
γ -Linolénico	4,82	1,02	4,29
Eicosapentanoico	5,11	1,08	4,55
Docosapentaenoico	0,55	0,12	0,49
Otros	7,55	1,52	6,72

Los ácidos grasos representan aprox. al 95 % de la grasa total.

Tabla VI. Perfil de Grasas del Oxepa.

% de total calorías de la Grasa	55,2
Acidos grasos poliinsaturados	31,44 g/L
Acidos grasos monoinsaturados	25,53 g/L
Acidos grasos saturados	32,38 g/L
Proporción de n-6 vs n-3	1,75:1
Colesterol	9,49 mg/8 oz fl ó 40,1 mg/L

Carbohidratos:

- El contenido de carbohidratos es de 25,0 g por porción de 8 oz fl (105,5 g/L)
- Las fuentes de carbohidrato son: 45% de maltodextrina (un carbohidrato complejo) y 55% de sacarosa (un azúcar simple), los

cuales son fácilmente digeribles y absorbidos.

- El alto contenido de grasa y el bajo contenido de carbohidrato del producto Oxepa se diseñó para minimizar la producción de dióxido de carbono (CO₂). Los altos niveles de CO₂ pueden complicar el abandono del uso de dispositivos de ventilación en ciertos pacientes. Los bajos niveles de carbohidrato también pueden ser útiles en aquellos pacientes que presenten hiperglicemia inducida por el estrés.
- El producto Oxepa no contiene lactosa

Los carbohidratos de la dieta, los aminoácidos provenientes de proteína, y la porción glicerol de las grasas pueden convertirse en glucosa dentro del organismo. A través de este proceso, se satisfacen las necesidades de carbohidratos de los tejidos glucosa-dependientes (tales como los del sistema nervioso central y las células sanguíneas rojas). Sin embargo, una dieta sin carbohidratos puede conducir a la cetosis, a un excesivo catabolismo de la proteínas tisulares, y a una pérdida de fluidos y electrolitos. Tales efectos pueden prevenirse mediante la ingestión diaria de 50 – 100 g de carbohidratos digeribles, en caso de que la ingesta calórica sea la adecuada. El nivel de carbohidratos presente en el producto Oxepa también es suficiente para minimizar la gluconeogénesis, siempre y cuando se satisfagan las necesidades energéticas.

Proteína:

- El producto Oxepa contiene 14,8 g de proteína por cada porción de 8 oz fluidas (62,5 g/L)
- La proporción entre calorías totales/nitrógeno (150:1) satisface la necesidad de pacientes estresados
- El producto Oxepa suministra suficiente proteína para promover el anabolismo y la masa corporal magra sin que se de lugar a la aparición de problemas respiratorios. Una alta ingesta de proteínas constituye una preocupación en pacientes con insuficiencia respiratoria. Si bien la proteína posee un pequeño efecto sobre la producción de CO₂, una

dieta con alto contenido de proteínas puede incrementar el impulso ventilatorio.

- Las fuentes de proteínas del producto Oxepa son: 86,8 de caseinato de sodio y 13,2% de caseinato de calcio
- El perfil de aminoácidos del sistema proteico del producto Oxepa supera el estándar sobre el consumo de proteínas de alta calidad impuesto por la National Academy de Sciences.

* Oxepa no contiene gluten.

REIVINDICACIONES

1. Una secuencia de nucleótidos aislada que corresponde ó es complementaria aprox. a por lo menos 50% la secuencia de nucleótidos representada por la ID SEC NO:1 (Figura 12).
2. La secuencia de nucleótidos aislada acorde con la Reivindicación 1, en donde dicha secuencia se representa por la ID SEC NO:1.
3. La secuencia de nucleótidos aislada acorde con las Reivindicaciones 1 ó 2, en donde dicha secuencia codifica una desaturasa funcionalmente activa la cual utiliza un ácido graso poliinsaturado como sustrato.
4. La secuencia de nucleótidos aislada acorde con la Reivindicación 1, en donde dicha secuencia se obtiene a partir de un mamífero.
5. La secuencia de nucleótidos aislada acorde con la Reivindicación 4, en donde dicha secuencia se obtiene de un humano.
6. Una proteína purificada codificada por dicha secuencia de nucleótidos acorde con las Reivindicaciones 1 ó 2.
7. Un polipéptido purificado el cual desatura ácidos grasos poliinsaturados en el carbono 5 y tiene aprox. por lo menos 50% de similaridad en cuanto a aminoácidos respecto de la secuencia de aminoácidos de dicha proteína purificada codificada acorde con la Reivindicación 6.
8. Un método de producción de una $\Delta 5$ -desaturasa humana que comprende los pasos de:

- 25
111
- a) aislamiento de dicha secuencia de nucleótidos representada por la ID SEC NO:1 (Figura 12);
 - b) construcción de un vector que comprende: i) dicha secuencia de nucleótidos aislada operablemente ligado a ii) un promotor;
 - c) introducción de dicho vector dentro de una célula huésped bajo las condiciones y durante un tiempo suficientes para la expresión de dicha enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana.

9. El método de la Reivindicación 8, en donde dicha célula huésped es una célula eucariótica ó una célula procariótica.

10. El método de la Reivindicación 9, en donde dicha célula procariótica se selecciona del grupo conformado por E. Coli, Cianobacterias, y B. subtilis.

11. El método de la Reivindicación 9, en donde dicha célula eucariótica se selecciona del grupo conformado por una célula de mamífero, una célula de insecto, una célula de planta y una célula micótica.

12. El método de la Reivindicación 11, en donde dicha célula micótica es una célula de levadura.

13. El método de la Reivindicación 12, en donde dicha célula de levadura se selecciona del grupo conformado por Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces carlsbergensis, Candida spp., Lipomyces starkey, Yarrowia lipolytica, Kluyveromyces spp., Hansenula spp., Trichoderma spp. y Pichia spp..

14. El método de la Reivindicación 13, en donde dicha célula de levadura es de Saccharomyces cerevisiae.

86
11

15. Un vector que comprende a) una secuencia de nucleótidos como la representada por la ID SEC NO:1 (Figura 12) operablemente ligado a b) un promotor.
16. Una célula huésped que comprende dicho vector de la Reivindicación 15.
17. La célula huésped acorde con la Reivindicación 16, en donde dicha célula huésped es una célula eucariótica ó una célula procariótica.
18. La célula huésped acorde con la Reivindicación 17, en donde dicha célula procariótica se selecciona del grupo conformado por E. Coli, Cianobacterias, y B. subtilis.
19. La célula huésped acorde con la Reivindicación 17, en donde dicha célula eucariótica se selecciona del grupo conformado por una célula de mamífero, una célula de insecto, una célula de planta y una célula micótica.
20. La célula huésped acorde con la Reivindicación 19, en donde dicha célula micótica es una célula de levadura.
21. La célula huésped acorde con la Reivindicación 20, en donde dicha célula de levadura se selecciona del grupo conformado por Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces carlsbergensis, Candida spp., Lipomyces starkey, Yarrowia lipolytica, Kluyveromyces spp., Hansenula spp., Trichoderma spp. ó Pichia spp..
22. La célula huésped acorde con la Reivindicación 21, en donde dicha célula de levadura es de Saccharomyces cerevisiae,
23. Una célula de planta ó un tejido de planta que comprende dicho vector acorde con la Reivindicación 15, en donde la expresión de dicha secuencia

de nucleótidos de dicho vector da como resultado la producción de un ácido graso poliinsaturado por parte de dicha célula de planta o tejido de planta.

24. La célula de planta ó tejido de planta de la Reivindicación 23, en donde dicho ácido graso poliinsaturado es ácido araquidónico (AA) ó ácido eicosapentaenoico (AEP).

25. Uno ó más aceites ó ácidos de plantas expresados por dicha célula de planta, dicha planta o dicho tejido de planta de la Reivindicación 23.

26. Una planta transgénica que comprende dicho vector acorde con la Reivindicación 15, en donde la expresión de dicha secuencia de nucleótidos de dicho vector da como resultado la producción de un ácido graso poliinsaturado en las semillas de dicha planta transgénica.

27. Una célula de mamífero que comprende dicho vector acorde con la Reivindicación 15, en donde la expresión de dicha secuencia de nucleótidos de dicho vector da como resultado la producción de niveles modificados de AA ó de AEP cuando dicha célula se hace crecer en un medio de cultivo que comprenda un ácido graso seleccionado del grupo conformado por un ácido graso esencial, AL (ácido linoleico) y AAL (ácido α -linolénico).

28. Un fluido producido por un mamífero transgénico no humano cuyo genoma comprende una secuencia de ADN que se representa por la ID SEC NO: 1 (Figura 12) que codifica una $\Delta 5$ -desaturasa humana operablemente ligada a un promotor, en donde dicho fluido comprende un nivel detectable de por lo menos una $\Delta 5$ -desaturasa humana.

29. Un método para la producción de un ácido graso poliinsaturado que comprende los pasos de:

- a) aislamiento de dicha secuencia de nucleótidos representada por la ID SEC NO:1 (Figura 12);

- 88
114
- b) construcción de un vector que comprende dicha secuencia de nucleótidos aislada;
 - c) introducción de dicho vector dentro de una célula huésped bajo las condiciones y durante un tiempo suficientes para la expresión de dicha enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana; y
 - d) exposición de dicha enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana expresada a un sustrato ácido graso poliinsaturado con el fin de convertir dicho sustrato en un producto ácido graso poliinsaturado.

30. El método acorde con la Reivindicación 29, en donde dicho sustrato ácido graso poliinsaturado es el ADGL ó el ácido 20:4n-3 y dicho producto ácido graso poliinsaturado es AA ó AEP, respectivamente.

31. El método acorde con la Reivindicación 29, el cual comprende adicionalmente el paso de exposición de dicho producto ácido graso poliinsaturado a una elongasa con el fin de convertir dicho producto ácido graso poliinsaturado en un segundo ácido graso poliinsaturado.

32. El método acorde con la Reivindicación 31, en dicho producto ácido graso poliinsaturado es AA ó AEP y dicho segundo ácido graso poliinsaturado es el ácido adrenico ó el ácido (n-3)-docosapentaenoico, respectivamente.

33. El método acorde con la Reivindicación 31, el cual comprende el paso adicional de exposición de dicho segundo ácido graso poliinsaturado a una desaturasa adicional con el fin de convertir dicho segundo ácido graso poliinsaturado a un ácido graso poliinsaturado final.

34. El método acorde con la Reivindicación 33, en dicho ácido graso poliinsaturado final es el ácido (n-6)-docosapentaenoico ó el ácido docosaheptaenoico (ADH).

29
11/5

35. Una composición nutricional que comprende por lo menos un ácido graso poliinsaturado seleccionado del grupo conformado por dicho producto ácido graso poliinsaturado obtenido de acuerdo con el método de la Reivindicación 29, dicho segundo ácido graso poliinsaturado producido de acuerdo con el método de la Reivindicación 31, y dicho ácido graso poliinsaturado final producido de acuerdo con el método de la Reivindicación 33.

36. La composición nutricional de la Reivindicación 35, en donde dicho producto ácido graso poliinsaturado es AA ó AEP.

37. La composición nutricional de la Reivindicación 35, en donde dicho segundo ácido graso poliinsaturado es el ácido adrenico ó el ácido (n-3)-docosapentaenoico.

38. La composición nutricional de la Reivindicación 35, en donde dicho ácido graso poliinsaturado final es el DHA.

39. La composición nutricional de la Reivindicación 35, en donde dicha composición nutricional se selecciona del grupo conformado por una fórmula para infantes, un suplemento de la dieta, y un sustituto de la dieta.

40. La composición nutricional de la Reivindicación 39, en donde dicha composición nutricional se administra a un humano o a un animal.

41. La composición nutricional de la Reivindicación 40, en donde dicha composición nutricional se administra por vía entérica ó por vía parenteral.

42. La composición nutricional de la Reivindicación 39, en donde dicha composición nutricional comprende adicionalmente por lo menos un macronutriente seleccionado del grupo conformado por aceite de coco, aceite de coco, aceite de soya, aceite de canola, monoglicéridos, diglicéridos, glucosa, lactosa comestible, suero electrodializado, leche descremada electrodializada, suero de leche, proteína de soya, e hidrolizados de proteínas.

43. La composición nutricional de la Reivindicación 42, en donde dicha composición nutricional comprende adicionalmente por lo menos una vitamina seleccionada del grupo conformado por Vitaminas A, C, D, E, y complejo B y por lo menos un mineral seleccionados del grupo conformado calcio, magnesio, zinc, manganeso, sodio, potasio, fósforo, cobre, cloruro, yodo, selenio y hierro.

44. Una composición farmacéutica que comprende 1) por lo menos un ácido graso poliinsaturado seleccionado del grupo conformado por dicho producto ácido graso poliinsaturado obtenido de acuerdo con el método de la Reivindicación 29, dicho segundo ácido graso poliinsaturado producido de acuerdo con el método de la Reivindicación 31, y dicho ácido graso poliinsaturado final producido de acuerdo con el método de la Reivindicación 33 y 2) un vehículo portador farmacéuticamente aceptable.

45. La composición farmacéutica acorde con la Reivindicación 44, en donde dicha composición farmacéutica se administra a un humano ó a un animal.

46. La composición farmacéutica acorde con la Reivindicación 44, en donde dicha composición farmacéutica comprende además un elemento seleccionado del grupo conformado por una vitamina, un mineral, un carbohidrato, un aminoácido, un ácido graso libre, un fosfolípido, un antioxidante, y un compuesto fenólico.

47. Un alimento para animales que comprende por lo menos un ácido graso poliinsaturado seleccionado del grupo conformado por dicho producto ácido graso poliinsaturado obtenido de acuerdo con el método de la Reivindicación 29, dicho segundo ácido graso poliinsaturado producido de acuerdo con el método de la Reivindicación 31, y dicho ácido graso poliinsaturado final producido de acuerdo con el método de la Reivindicación 33.

48. El alimento para animales acorde con la Reivindicación 47, en donde dicho producto ácido graso poliinsaturado es el AA ó el AEP.

91/11

49. El alimento para animales acorde con la Reivindicación 47, en donde segundo ácido graso poliinsaturado es el ácido adrenico ó el ácido (n-3)-docosapentaenoico.

50. El alimento para animales acorde con la Reivindicación 47, en donde ácido graso poliinsaturado final es el (n-6)-docosapentaenoico ó el ácido ADH.

51. Un cosmético que comprende un ácido graso poliinsaturado¹ seleccionado del grupo conformado por dicho producto ácido graso poliinsaturado obtenido de acuerdo con el método de la Reivindicación 29, dicho segundo ácido graso poliinsaturado producido de acuerdo con el método de la Reivindicación 31, y dicho ácido graso poliinsaturado final producido de acuerdo con el método de la Reivindicación 33.

Figura 1

Secciones de la Desaturasa	ID del Clon con base en la Base de Datos Incyte LifeSeq	Convenciones
151-300 delta 5	3808675	desaturasa de ácidos grasos
301-446 delta 5	354535	delta 6
151-300 delta 6	3448789	delta 6
151-300 delta 6	1362863	delta 6
151-300 delta 6	2394760	delta 6
301-457 delta 6	3350263	delta 6

Figura 2

Contig 2692004 Editado

GCACGCCGACCGGCGCCGGGAGATCCTGGCAAAGTATCCAGAGATAAAGTCCTTGATGAAACCTGATCCCAATTTGATATGGATTATAATTA
TCATCGTTCTCACCCAGTTGGGTGCATTTTACATAGTAAAAGACTTGGACTGGAAATGGGTCATATTTGGGGCCTATGCGTTTGGCAGTTGC
ATTAACCACTCAATGACTCTGGCTATTCATGAGATTGCCCACAATGCTGCCTTTGGCAACTGCAAAGCAATGTGGAATCGCTGGT'TTGAAT
GTTT'GCTAATCTTCCTATTGGGATTCCATATTCAATTTCCCTTTAAGAGGTATCACATGGATCATCATCGGTACCTTGGAGCTGATGGCGTCG
ATGTAGATATTCCTACCGATTTT'GAGGGCTGGTTCTTCTGTACCGCTTTCAGAAAGTTTATATGGGTTATTCTTCAGCCTCTCTTTTATGCC
TTTCGACCTCTGTT'CATCAACCCCAAACCAATTACGTATCTGGAAGTTATCAATACCGTGGCACAGGTCAC'TTTTGACATTTTAATTTATTA
CTTT'TTGGGAATTAAATCCTTAGTCTACATGTTGGCAGCATCTTTACTTGGCCTGGGTTTGCACCCAATTTCTGGACATTTTATAGCTGAGC
ATTACATGTTCTTAAAGGGTCATGAAACTTACTCATATTATGGGCCTCTGAATTTACTTACCTTCAATGTGGGTTATCATAATGAACATCAT
GATTTCCCAACATTCCTGGAAAAAGTCTTCCACTGGTGAGGAAAATAGCAGCTGAATACTATGACAACCTCCCTCACTACAATTCTGGAT
AAAAGTACTGTATGATTTTGTGATGGATGATACAATAAGTCCCTACTCAAGAATGAAGAGGCACCAAAAAGGAGAGATGGTGCTGGAGTAAA
TATCATTAGTGCCAAAGGGATTCTTCTCCAAAAC'TTAGATGATAAAATGGAATTTTGCATTATTAAACTTGAGACCAGTGATGCTCAGAA
GCTCCCCTGGCACAATTT'CAGAGTAAGAGCTCGGTGATACCAAGAAGTGAATCTGGCTTTTAAACAGTCAGCCTGACTCTGTACTGCTCAGT
TTCAC'FCACAGGAACTTGTGACTTGTGTATTATCGTCAT'TGAGGATGTTT'CACT'CATGTCTGTCATTTTATAAGCA'TATCA'T'T'AAAAAGC
TTC'AAAAAGCTATTT'CGCCAGG

95

Figura 3

Contig 2153526 Editado

TTACCTTCTACGTCCGCTTCTTCCTCACTTATGTGCCACTATTGGGGCTGAAAGCTTCCTGGGCCTTTTCTTCATAGTCAGGTTCC
TGGAAA
GCAACTGGTTTGTGTGGGTGACACAGATGAACCATATTCCCATGCACATTGATCATGACCGGAACATGGACTGGGTTTCCACCCAGCTCCAG
GCCACATGCAATGTCCACAAGTCTGCCTTCAATGACTGGTTCAGTGGACACCTCAACTTCCAGATTGAGCACCATCTTTTCCACCATGCC
TCCACACAATTACCACAAAGTGGCTCCCCTGGTGCAGTCCCTTGTGTGCCAAGCATGGCATAGAGTACCAGTCCAAGUCCCTGCTGTCAGCC
TCGCCGACATCATCCACTCACTAAAGGAGTCAGGGCAGCTCTGGCTAGATGCCTATCTTCACCAATAACAACAGCCACCCTGCCAGTCTGG
AAGAAGAGGAGGAAGACTCTGGAGCCAAGGCAGAGGGGAGCTTGAGGGACAATGCCACTATAGTTTAATACTCAGAGGGGGTGGGTTTGGG
GACATAAAGCCTCTGACTCAAACCTCCCTTTTATCTTCTAGCCACAGTTCTAAGACCCAAAGTGGGGGGTGGACACAGAAGTCCCTAGGA
GGAAGGAGCT

Figura 4

Contig 3506132 Editado

GTCTTTTACTTTGGCAATGGCTGGATTCCTACCCTCATCACGGCCTTTGTCCTTGCTACCTCTCAGGCCCAAGCTGGATGGCTGCAACATGA
TTATGGCCACCTGTCTGTCTACAGAAAACCCAAGTGAACCACCTTGTCCACAAATTCGTCATTGGCCACTTAAAGGGTGCCTCTGCCAACT
GGTGAATCATCGCCACTTCCAGCACCACGCCAAGCCTAACATCTTCCACAAGGATCCCGATGTGAACATGCTGCACGTGTTTGTTCTGGGC
GAATGGCAGCCCATCGAGTACGGCAAGA

Figura 5**Contig 3854933 Editado**

CAGGGACCTACCCCGCGCTACTTCACCTGGGACGAGGTGGCCCAGCGCTCAGGGTGCGAGGAGCGGTGGCTAGTGATCGACCGTAAGGTGTA
CAACATCAGCGAGTTCACCCGCCGGCATCCAGGGGGCTCCCGGGTCATCAGCCACTACGCCGGGCAGGATGCCACGGATCCCTTTGTGGCC
TCCACATCAACAAGGGCCTTGTGAAGAAGTATATGAACTCTCTCCTGATTGGAGAACTGTCTCCAGAGCAGCCCAGCTTTGAGCCCACCAAG
AATAAAGAGCTGACAGATGAGTTCGGGGAGCTGCGGGCCACAGTGGAGCGGATGGGGCTCATGAAGGCCAACCATGTCTTCTCCTGCTGTA
CCTGCTGCACATCTTGCTGCTGGATGGTGCAGCCTGGCTCACCTTTGGGTCTTTGGGACGTCCTTTTGGCCCTTCCTCCTCTGTGCGGTGC
TGCTCAGTGCAGTTCAGGCCCAGGCTGGCTGGCTGCAGCATGACTTTGGGCACCTGTCGGTCTTCAGCACCTCAAAGTGGAACCATCTGCTA
CATCATTTTGTGATTGGCCACC'TGAAGGGGGCCCCCGCCAGTTGGTGGAACCACATGCACCTCCAGCACCATGCCAAGCCCCAACTGCTTCCG
CAAAGACCCAGACATCAACATGCATCCCTTCTTCTTGCCTTGGGGAAGATCCTCTCTGTGGAGCTTGGGAAACAGAAGAAAAAATATATGC
CGTACAACCACCAGCACARATACTTCTTCCTAATTGGGCCCCCAGCCTTGCTGCCTCTCTACTTCCAGTGGTATATTTTCTATTTTGTATC
CAGCGAAAGAAGTGGGTGGACTTGGCCTGGATCAGCAAACAGGAATACGATGAAGCCGGGCTTCCATTGTCCACCGCAAATGCTTC'AAA

x 2/2 96

Figura 6

Contig 2511785 Editado

GCCACTTAAAGGGTGCCTCTGCCAACTGGTGGGAATCATCGCCACTTCCAGCACCACGCCAAGCCTAACATCTTCCACAAGGATCCCGATGTG
AACATCTTGCACGTCTTTCTTCTTGGGGGAATGGCAGCCCATCGAGTACGGCAAGAAGAAGCTGAAATACCTCCCCTACAATCACCAGCAAGA
ATACTTCTTCTTGATTGGGCCGCCGCTGCTCATCCCCATGTATTTCCAGTACCAGATCATCATGACCATGATCGTCCATAAGAAGTGGGTGG
ACCTGGCCTGGGCCGTGAGTACTACATCCGGTTCTTCATCACCTACATCCCTTTCTACGGCATCCTGGGAGCCCTCCTTTTCTCAACTTC
ATCAGGTTCTTGAGAGCCACTGGTTTGTGTGGGTACACAGATGAATCACATCGTCATGGAGATTGACCAGGAGGCCTACCGTGACTGGTT
CAGTAGCCAGCTGACAGCCACCTGCAACGTGGAGCAGTCTTCTTCAACGACTGGTTCAGTGGACACCTTAACTTCCAGATTGAGCACCACC
TCTTCCCCACCATGCCCCGGCACAACTTACACAAGATCGCCCCGCTGGTGAAGTCTCTATGTGCCAAGCATGGCATTGAATACCAGGAGAAG
CCGCTACTGAGGGCCCTGCTGGACATCATCAGGTCCCTGAAGAAGTCTGGGAAGCTGTGGCTGGACGCCTACCTTCACAAATGAAGCCACAG
CCCCGGGACACCGTGGGGAAGGGGTGCAGGTGGGGTGATGGCCAGAGGAATGATGGGCTTTTGTCTGAGGGGTGTCCGAGAGGCTGGTGT
ATGCACTGCTCACGGACCCCATGTTGGATCTTTCTCCCTTTCTCCTCTCCTTTTTCTCTTACATCTCCCCCATAGCACCTGCCCCATGG
GACCTGCCCTCCCTCAGCCGTCAGCCATCAGCCATGGCCCTCCAGTGCCTCCTAGCCCCCTTCTTCCAAGGAGCAGAGAGGTGGCCACCGGG
GGTGGCTCTGTCTACCTCCACTCTCTGCCCCCTAAAGATGGGAGGAGACCAGCGGTCCATGGGTCTGGCCTGTGAGTCTCCCCCTTGCAGCCT
GGTCACTAGGCATCACCCCCGCTTTGGTTCTTTCAGATGCTCTTGGGGTTCATAGGGGCAGGTCCCTAGTCGGGCAGGGCCCCCTGACCTTCCCG
GCCCTGGCTTCACTCTCCCTGACGGCTGCCATTGGTCCACCCTTTCTATAGAGAGGCCTGCTTTGTTACAAAGCTCGGGTCTCCCTTCTGCAGC
TCGGTTAAGTACCCGAGGCCTCTCTTAAGATGTCCAGGGCCCCAGGCCCCGCGGGCACAGCCAGCCCCAAACCTTGGGGCCCTGGAAGAGTCTCT
CACCCCATCACTAGAGTGCTCTGACCCTGGGCTTTCACGGGCCCCATTCCACCGCCTCCCCAACTTGAGCCTGTGACCTTGGGACCAAAGGG
GGAGTCCCTCGTCTCTTGTGACTCAGCAGAGGCAGTGGCCACGTTTCAGGGAGGGGGCCGGCTGGCCTGGAGGCTCAGCCCACCCTCCAGCTTT
TCTTCAGGGTGTCTGAGGTCCAAGATTTCTGGAGCAATCTGACCCTTCTCCAAAGGCTCTGTTATCAGCTGGGCAGTGCCAGCCAAATCCCTG
GCCATTTGGCCCCAGGGGACGTGGGCCCTG

46

Figura 8

Contig 253538a Editado

CAGGGACCTACCCCGCGCTACTTCACCTGGGACGAGGTGGCCCAGCGCTCAGGGTGCGAGGAGCGGTGGCTAGTGATC
GACCGTAAGGTGTACAACATCAGCGAGTTCACCCGCCGGCATCCAGGGGGCTCCCGGGTTCATCAGCCACTACGCCGGGC
AGGATGCCACGGATCCCITTTGTGGCCTTCCACATCAACAAGGGGCTTGTGAAGAAGTATATGAACTCTCTCCTGATTGGAG
AACTGTCTCCAGAGCAGCCCAGCTTTGAGCCCCACCAAGAATAAAGAGCTGACAGATGAGTTCGCGGAGCTGCGGGCCAC
AGTGGAGCGGATGGGGCTCATGAAGGCCAACCATGTCTTCTCCTGCTGTACCTGCTGCACATCTTGTCTGGATGGTG
CAGCCTGGCTCACCCITTTGGGTCTTTGGGACGTCTTTTGGCCCTTCTCTCTGTGCGGTGCTGCTCAGTGCAGTTCAGC
AGGCCAAAGCTGGATGGCTGCAACATGATTATGGCCACCTGTCTGTCTACAGAAAACCCAAGTGGAACCACCTTGTCCAC
AAATTCGTCAATTGGCCACTTAAAGGGTGCCTCTGCCAACTGGTGGAATCATCGCCACTTCCAGCACCCACGCCAAGCCTAAC
ATCTTCCACAAGGATCCCGATGTGAACATGCTGCACGTGTTTGTCTTGGGCGAATGGCAGCCCATCGAGTACGGCAGAA
GAAAGCTGAAATACCTGCCCTACAATCACCAGCACGAATACITCTTCTTGGTGGGCGCGCGCTGCTCATCCCCATGTATT
CCAGTACCAGATCATCATGACCATGATCGTCCATAAGAAGTGGGTGGACCTGGCCTGGGCGGTGAGCTACTACATCCGGT
TCTTTCATCACCTACATCCCTTCTACGGCATCCTGGGAGCCCTCCTTTCTCTCAACTTCATCAGGTTCCTGGAGAGCCACCTG
GTITGTGTGGGTTCACACAGATGAATCACATCGTTCATGGAGATTGACCAGGAGGCCCTACCGTGACTGGTTCAGTAGCCAGC
TGACAGCCACCTGCAACGTGGAGCAGTCTTCTTCAACGACTGGTTCAGTGGACACCTTAACITCCAGATTGAGCACCCACC
TCTTCCCCACCATGCCCCGGGCACAACCTTACACAAGATCGCCCCGCTGGTGAAGTCTCTATGTGCCAAGCATGGCATTGAAT
ACCAGGAGAAGCCGCTACTGAGGGCCCTGCTGGACATCATCAGGTCCCTGAAGAAGTCTGGGAAGCTGTGGCTGGACGC
CTACCTTCACAAATGAAGCCACAGCCCCCGGGACACCGTGGGGAAGGGGTGCAGGTGGGGTGATGGCCAGAGGAATGA
TGGGCTTTTGTCTGAGGGGTGTCCGAGAGGCTGGTGTATGCACTGCTCACGGACCCCATGTGGATCTTTCTCCCCTTTCT
CCTCTCTCTTTTCTCTTACATCTCCCCCATAGCACCTTGCCTCATGGGACCTGCCCTCCCTCAGCCGTTCAGCCATCAGCC
ATGGCCCTCCCAAGTGCCTCCTAGCCCCCTTCTTCCAAGGAGCAGAGAGGTGGCCACCGGGGGTGGCTCTGTCTTACCTCCA
CTCTCTGCCCCCTAAAGATGGGAGGAGACCAGCGGTCCATGGGTCTGGCCTGTGAGTCTCCCTTGCAGCCTGGTCACTAG
GCATCACCCCCGCTTTGGTTCCTCAGATGCTCTTGGGGTTCATAGGGGCAGGTCTAGTCCGGGCAGGGCCCCCTGACCTC
CCGGCCTGGCTTCACTCTCCCTGACGGCTGCCATGGTCCACCCCTTTCATAGAGAGGCCTGCTTTGTTACAAAGCTCGGGT
CTCTCTCTGTCAGCTCGGTAAAGTACCCGAGGCCCTCTCTTAAGATGTCCAGGGCCCCAGGCCCGCGGGCACAGCCAGCCC
AAACCTTGGGCCCTGGAAGAGTCTCTCACCCCATCACTAGAGTGTCTTGACCTTGGGCTTTACGGGGCCCCATTCTCACCTG
CTCTCTTCAACTTGAGCCTGTGACCTTGGGACCAAGGGGGAGTCCCTCTCTCTTGTGACTCAGCAGAGGGCAGTGGCCAC
GTTTACGGGAGGGGGCGGCTGGCCTGGAGGCTCAGCCACCCCTCCAGCTTTCTCTCAGGGTGTCTCTGAGGTCTCAAGATCT
GGAGCAATCTGACCCCTCTCTCCAAAGGCTCTGTATCAGCTGGGCAGTGGCAGCCAATCCCTGGCCATTTGGCCCCAGGGG
ACGTGGGCCCTG

x2 bp

Figura 9

Cotejación FastA entre la Ma29 y el contig 253538a

PUNTAJES Initl: 117 Initn: 225 Opt: 256
Puntaje Smith-Waterman: 408 Identidad del 27,0% con superposición en 441 aa

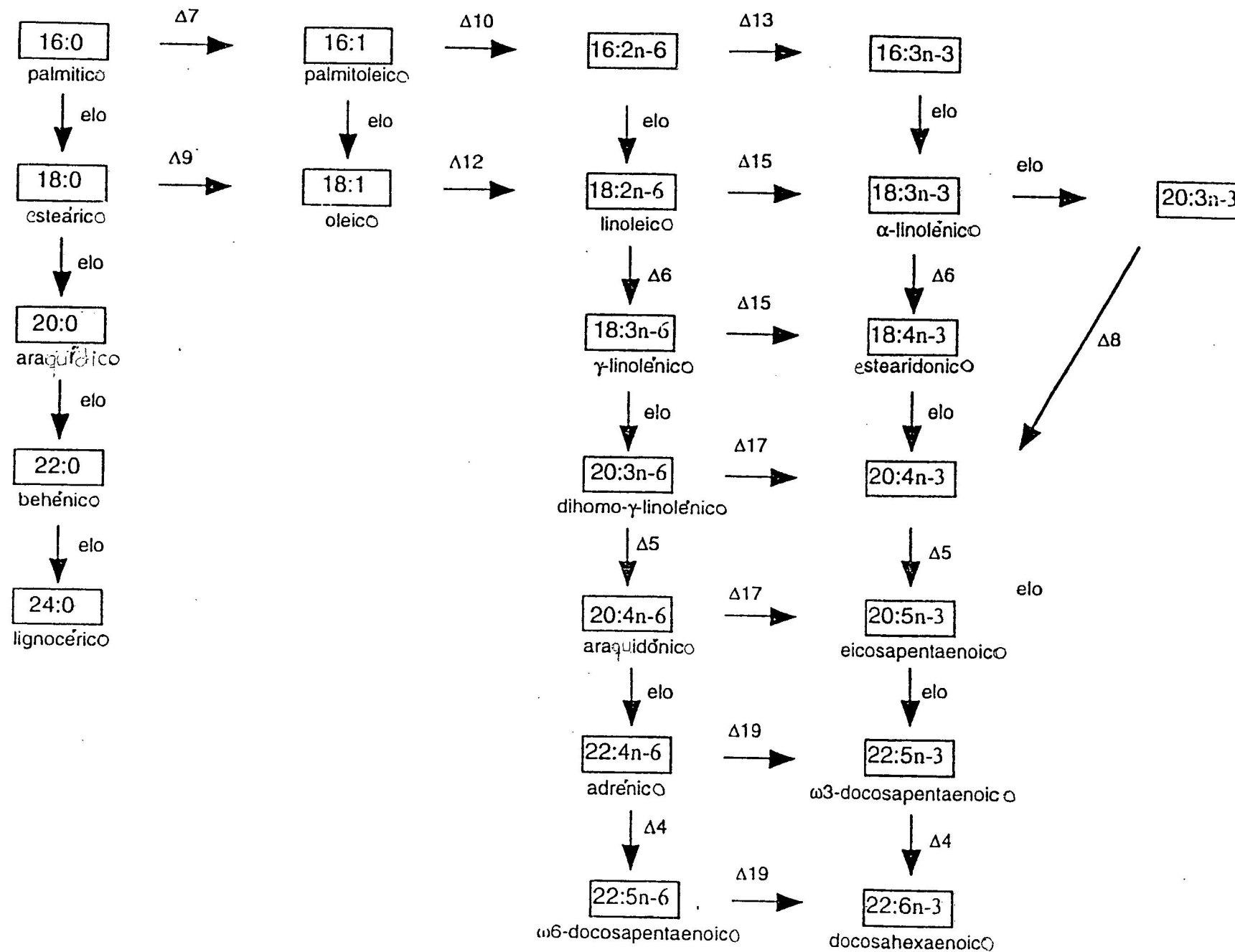
Ma29.pep	10	20	30	40	50	
253538a	10	20	30	40	50	
Ma29.pep	60	70	80	90	100	110
253538a	60	70	80	90	100	110
Ma29.pep	120	130	140	150	160	170
253538a	120	130	140	150	160	170
Ma29.pep	180	190	200	210	220	
253538a	180	190	200	210	220	
Ma29.pep	230	240	250	260	270	280
253538a	230	240	250	260	270	280
Ma29.pep	290	300	310	320	330	340
253538a	290	300	310	320	330	
Ma29.pep	350	360	370	380	390	
253538a	340	350	360	370		
Ma29.pep	400	410	420	430	440	
253538a	380	390	400	410	420	430

Figura 10

Cotejación FastA entre la Ma524 y el contig 253538a

PUNTAJES		Initl: 231	Initn: 499	Opt: 401				
Puntaje Smith-Waterman:		620	Identidad del 27,3% con superposición en 455 aa					
		10	20	30	40	50	59	
Ma524.pép		MAAAPSVRTFTTRAEVLNAEALNEGKKDAEAPFLMIIDNKVYDVREFVPDHPGGSVILTH-						
		:		: : :	: : :	:	: :	
253538a		QGPTPRYFTWDEV-----AQRSGCEERWLVIDRKVYNISEPTRRHPGGSRVISHY						
		10	20	30	40	50		
		60	70	80	90	100	110	
Ma524.pép		VGKDGTDVFDTFHPEAAW--ETLANFYVGDIIDE---SDRDIKNDDFAAEVRKLRTLQSL						
		: : :	: :	: : :	: : :	: :	: : :	
253538a		AGQDATDPFVAFHINKGLVKKYMNSSLIGELSPSEQPSFEPTKNKELTDEFRELRAATVERM						
		60	70	80	90	100	110	
		120	130	140	150	160	170	
Ma524.pép		GYDSSKAYYAFKVSENLCTIWLSTVIVAKWGQTSTLANVLSAALLGLFWQCGWLAHDF						
		: : :	: :	: :	: :	: :	: :	
253538a		GLMKANHVFLLYLLHILLLDGAAWLTWVFG-TSFLPFLLCAVLLSAVQAQAGWLQHDY						
		120	130	140	150	160		
		180	190	200	210	220	230	
Ma524.pép		LHHQVFQDRFWGDLFGAFLGGVCQGFSSSWWKDKHNTTHAAPNVHGEDPDIDTHPLLTWS						
		: :	: :	: :	: :	: :	: :	
253538a		GHLSVYRKPKWNHLVHKFVIGHLKGASANWNNHRHFQHHAKPNIFHKDPDVN---ML---						
		170	180	190	200	210	220	
		240	250	260	270	280	290	
Ma524.pép		EHALEMFSVPDEELTRMWSRFMVLNQTFWYFPILS---FARLSWCLQSILFVLPNGQAH						
		: : :	: :	: :	: :	: :	: :	
253538a		-HVF-VLGEWQPIEYGGKKLKYLPYNHQHEYFFLIGPPLLIPMYFYQYQIIMTMI---VH						
		230	240	250	260	270		
		300	310	320	330	340	349	
Ma524.pép		KPSGARVPISLVEQLSLAMHWTWYLATMFLFIK--DPVNMLVYFLVSQAVCGNLLAIVFS						
			: :	: :	: :	: :	: :	
253538a		K-----NWVDLAWAVSYIIRFFITYIPFYGILGALLFLNFIREFSHWFVWVTQ						
		280	290	300	310	320		
		350	360	370	380	390	400	409
Ma524.pép		LNHNGMPVISKEEAVDMDFFTKQIITGRDVHPGLFANWFTGGLNYQIEHHLFSPMPRHNF						
		: :	: :	: :	: :	: :	: :	: :
253538a		MNHIMEI--DQEAYR-DWFSSQLTATCNVEQSFFNDWFSGHLNFQIEHHLFPTMPRHNL						
		330	340	350	360	370	380	
		410	420	430	440	450		
Ma524.pép		SKIQPAVETLCKKANVRYHTTGMIETAEVFSRLNEVSKAASKMGKAQX						
			: :	: :	: :	: :	: :	
253538a		HKIAPLVKSLCAKHGIEYQEKPLLRALLDIIRSLKKSGLWLDAYLHKX						
		390	400	410	420	430		

Figura 11
Rutas de Biosíntesis de Ácidos Grasos



102

Figura 12

$\Delta 5$ -Desaturasa Humana

ATGGCCCCGACCCGGTGGCCGCCGAGACCGCGGCTCAGGGACCTACCCCGCGCTACTTCACCTGG
GACGAGGTGGCCCAGCGCTCAGGGTGCGAGGAGCGGTGGCTAGTGATCGACCGTAAGGTGTACAAC
ATCAGCGAGTTCACCCGCCGGCATCCAGGGGGCTCCCGGGTCATCAGCCACTACGCCGGGCAGGAT
GCCACGGATCCCTTTGTGGCCTTCCACATCAACAAGGGCCTTGTGAAGAAGTATATGAACTCTCTC
CTGATTGGAGAACTGTCTCCAGAGCAGCCCAGCTTTGAGCCCACCAAGAATAAAGAGCTGACAGAT
GAGTTCCGGGAGCTGCGGGCCACAGTGGAGCGGATGGGGCTCATGAAGGCCAACCATGTCTTCTTC
CTGCTGTACCTGCTGCACATCTTGCTGCTGGATGGTGCAGCCTGGCTCACCTTTGGGTCTTTGGG
ACGTCCTTTTTGCCCTTCCTCCTCTGTGCGGTGCTGCTCAGTGCAGTTCAGGCCCAGGCTGGCTGG
CTGCAGCATGACTTTGGGCACCTGTGCGGTCTTCAGCACCTCAAAGTGGAACCATCTGCTACATCAT
TTTGTGATTGGCCACCTGAAGGGGGCCCCCGCCAGTTGGTGGAACCACATGCACTTCCAGCACCAT
GCCAAGCCCAACTGCTTCCGCAAAGACCCAGACATCAACATGCATCCCTTCTTCTTTGCCTTGGGG
AAGATCCTCTCTGTGGAGCTTGGGAAACAGAAGAAAAAATATATGCCGTACAACCACCAGCACAAA
TACTTCTTCTAATTGGGCCCCCAGCCTTGCTGCCTCTCTACTTCCAGTGGTATATTTTCTATTTT
GTTATCCAGCGAAAGAAGTGGGTGGACTTGGCCTGGATGATTACCTTCTACGTCCGCTTCTTCCTC
ACTTATGTGCCACTATTGGGGCTGAAAGCCTTCCTGGGCCTTTTCTTCATAGTCAGGTTTCTGGAA
AGCAACTGGTTTGTGTGGGTGACACAGATGAACCATATTCCCATGCACATTGATCATGACCGGAAC
ATGGACTGGGTTTCCACCCAGCTCCTGGCCACATGCAATGTCCACAAGTCTGCCTTCAATGACTGG
TTCAGTGGACACCTCAACTTCCAGATTGAGCACCATCTTTTCCACGATGCCTCGACACAATTAC
CACAAAGTGGCTCCCCTGGTGCAGTCCTTGTGTGCCAAGCGTGGCATAGAGTACCAGTCCAAGCCC
CTGCTGTCAGCCTTCCCGACATCATCCACTCACTAAAGGAGTCAGGGCAGCTCTGGCTAGATGCC
TATCTTCACCAATAA

Figura 13

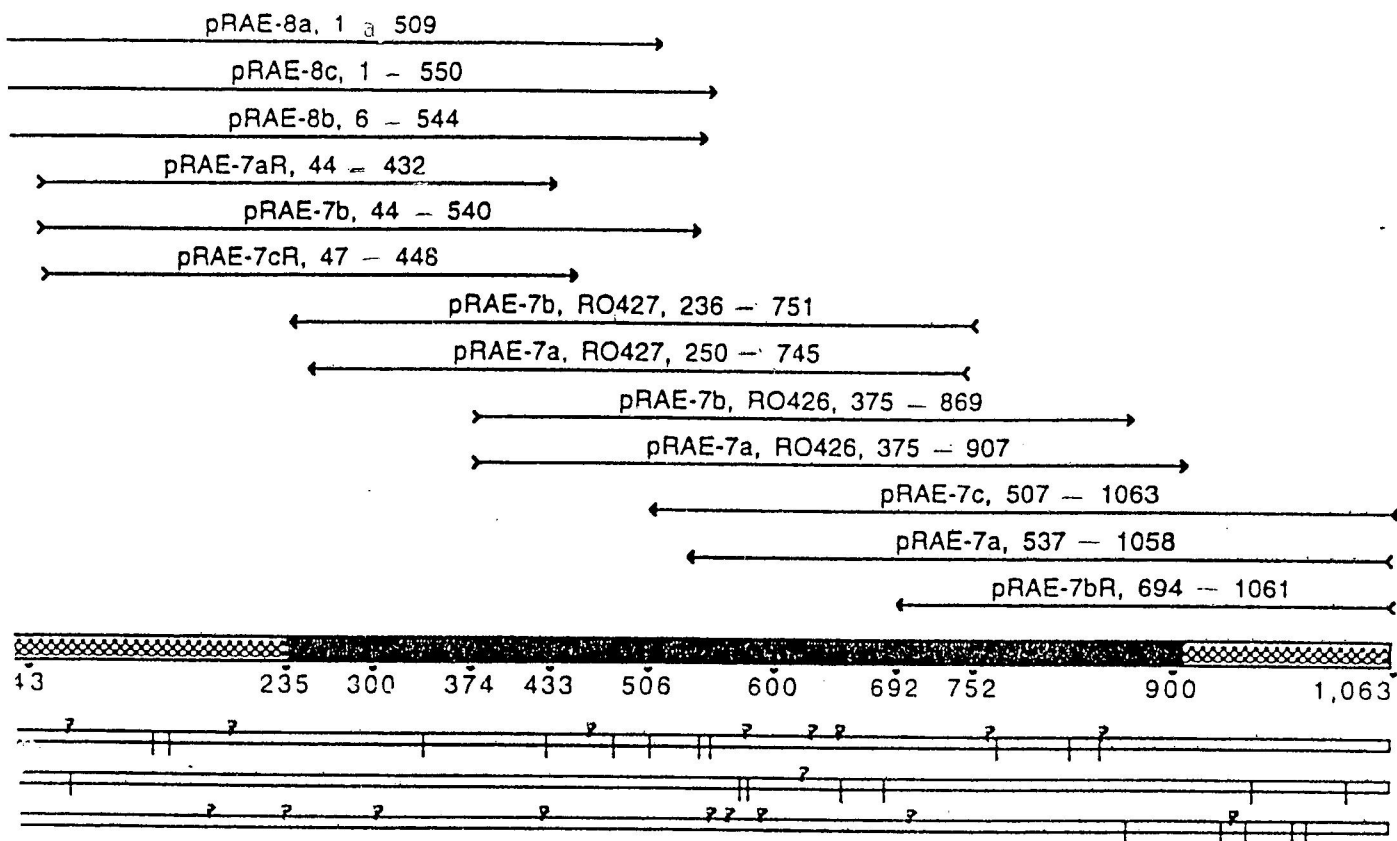
$\Delta 5$ -Desaturasa Humana

1 MAPDFVAAET AAQGTPRYF TWDEVAQRSG CEERWLVIDR KVYNISEFTR
 51 RHPGGSRVIS HYAGQDATDP FVAFHINKGL VKKYMNSLLI GELSPEQPSF
 101 EPTKNKELTD EFREL RATVE RMGLMKANH V FLLYLLHIL LLDGAAWLTL
 151 WVFGTSFLPF LLCVLLSAV QAQAGWLQHD FGHL SVFSTS KWNHLLHHFV
 201 IGHLKGAPAS WWNHMHFQHH AKPNCFRKDP DINMHPFFFA LGKILSVELG
 251 KQKKKYPYN HQHKYFFLIG PPALLPLYFQ WYIFYFVIQR KKWVDLAWMI
 301 TFYVRFFLTY VPLLGLKAFL GLFFIVRFLE SNWFVWVTQM NHIPMHIDHD
 351 RNMDWVSTQL LATCNVHKSA FNDWFSGHLN FQIEHHLFPT MPRHNYHKVA
 401 PLVQSLCAKR GIEYQSKPLL SAFADIIHSL KESGQLWLDA YLHQ*

105
13

Figura 14

Contig [0023]
Sequencher^{MR} "Secuencia del pRAE-7"



Hueco en contig Fragmento sencillo Fragmentos múltiples-la misma dirección Ambas cadenas Ambas cadenas plus		Convenciones Marco 1 del codon de inicio Marco 2 del codon de detención		Los topes en los fragmentos se ilustran con símbolos, los rectángulos blancos ilustran características	
---	--	---	--	--	--

Figura 15a

Convenciones:

TRANSLATION OF pRAE-7 MV = Traducción del pRAE-7 MV

Gly = glicina Trp = triptofano Thr = Treonina Phe = fenilalanina
Tyr = tirosina Lys = lisina Cys = Cisteína

Secuencia Completa del pRAE-7

10 20 30 40

CTC CTG GAG CCC GTC AGT ATC GGC GGA ATT CCG GCA GTT CAG GCC CAG
Leu Leu Glu Pro Val Ser Ile Gly Gly Ile Pro Ala Val Gln Ala Gln>
_a_a_a_a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [A]_a_a_a_a_>

50 60 70 80 90

GCT GGC TGG CTG CAG CAT GAC TTT GGG CAC CTG TCG GTC TTC AGC ACC
Ala Gly Trp Leu Gln His Asp Phe Gly His Leu Ser Val Phe Ser Thr>
_a_a_a_a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [A]_a_a_a_a_>

100 110 120 130 140

TCA AAG TGG AAC CAT CTG CTA CAT CAT TTT GTG ATT GGC CAC CTG AAG
Ser Lys Trp Asn His Leu Leu His His Phe Val Ile Gly His Leu Lys>
_a_a_a_a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [A]_a_a_a_a_>

150 160 170 180 190

GGG GCC CCC GCC AGT TGG TGG AAC CAC ATG CAC TTC CAG CAC CAT GCC
Gly Ala Pro Ala Ser Trp Trp Asn His Met His Phe Gln His His Ala>
_a_a_a_a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [A]_a_a_a_a_>

200 210 220 230 240

AAG CCC AAC TGC TTC CGC AAA GAC CCA GAC ATC AAC ATG CAT CCC TTC
Lys Pro Asn Cys Phe Arg Lys Asp Pro Asp Ile Asn Met His Pro Phe>
_a_a_a_a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [A]_a_a_a_a_>

250 260 270 280

TTC ITT GCC TTG GGG AAG ATC CTC TCT GTG GAG CTT GGG AAA CAG AAG
Phe Phe Ala Leu Gly Lys Ile Leu Ser Val Glu Leu Gly Lys Gln Lys>
_a_a_a_a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [A]_a_a_a_a_>

290 300 310 320 330

AAA AAA TAT ATG CCG TAC AAC CAC CAG CAC AAA TAC TTC TTC CTA ATT
Lys Lys Tyr Met Pro Tyr Asn His Gln His Lys Tyr Phe Phe Leu Ile>
_a_a_a_a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [A]_a_a_a_a_>

340 350 360 370 380

GGG GGG CCA GCC TTG CTG CCT CTC TAC TTC CAG TGG TAT ATT TTC TAT
Gly Pro Pro Ala Leu Leu Pro Leu Tyr Phe Gln Trp Tyr Ile Phe Tyr>
_a_a_a_a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [A]_a_a_a_a_>

390 400 410 420 430

ITT GTT ATC CAG CGA AAG AAG TGG GTG GAC TTG GCC TGG ATG ATT ACC
Phe Val Ile Gln Arg Lys Lys Trp Val Asp Leu Ala Trp Met Ile Thr>
_a_a_a_a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [A]_a_a_a_a_>

Figura 15b

```

      440          450          460          470          480
    *             *             *             *             *
TTC TAC GTC CGC TTC TTC CTC ACT TAT GTG CCA CTA TTG GGG CTG AAA
Phe Tyr Val Arg Phe Phe Leu Thr Tyr Val Pro Leu Leu Gly Leu Lys>
__a__a__a__a__a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [ A] __a__a__a__a__a__>

      490          500          510          520
    *             *             *             *             *
GCC TTC CTG GGC CTT TTC TTC ATA GTC AGG TTC CTG GAA AGC AAC TGG
Ala Phe Leu Gly Leu Phe Phe Ile Val Arg Phe Leu Glu Ser Asn Trp>
__a__a__a__a__a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [ A] __a__a__a__a__a__>

530          540          550          560          570
*           *           *           *           *
TTT GTG TGG GTG ACA CAG ATG AAC CAT ATT CCC ATG CAC ATT GAT CAT
Phe Val Trp Val Thr Gln Met Asn His Ile Pro Met His Ile Asp His>
__a__a__a__a__a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [ A] __a__a__a__a__a__>

      580          590          600          610          620
    *             *             *             *             *
GAC CGG AAC ATG GAC TGG GTT TCC ACC CAG CTC CAG GCC ACA TGC AAT
Asp Arg Asn Met Asp Trp Val Ser Thr Gln Leu Gln Ala Thr Cys Asn>
__a__a__a__a__a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [ A] __a__a__a__a__a__>

      630          640          650          660          670
    *             *             *             *             *
GTC CAC AAG TCT GCC TTC AAT GAC TGG TTC AGT GGA CAC CTC AAC TTC
Val His Lys Ser Ala Phe Asn Asp Trp Phe Ser Gly His Leu Asn Phe>
__a__a__a__a__a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [ A] __a__a__a__a__a__>

      680          690          700          710          720
    *             *             *             *             *
CAG ATT GAG CAC CAT CTT TTT CCC ACG ATG CCT CGA CAC AAT TAC CAC
Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Tyr His>
__a__a__a__a__a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [ A] __a__a__a__a__a__>

      730          740          750          760
    *             *             *             *             *
AAA GTG GCT CCC CTG GTG CAG TCC TTG TGT GCC AAG CAT GGC ATA GAG
Lys Val Ala Pro Leu Val Gln Ser Leu Cys Ala Lys His Gly Ile Glu>
__a__a__a__a__a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [ A] __a__a__a__a__a__>

770          780          790          800          810
*           *           *           *           *
TAC CAG TCC AAG CCC CTG CTG TCA GCC TTC GCC GAC ATC ATC CAC TCA
Tyr Gln Ser Lys Pro Leu Leu Ser Ala Phe Ala Asp Ile Ile His Ser>
__a__a__a__a__a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [ A] __a__a__a__a__a__>

      820          830          840          850          860
    *             *             *             *             *
CTA AAG GAG TCA GGC CAG CTC TGG CTA GAT GCC TAT CTT CAC CAA TAA
Leu Lys Glu Ser Gly Gln Leu Trp Leu Asp Ala Tyr Leu His Gln ***>
__a__a__a__a__a_TRANSLATION OF PRAE-7 MV [ A] a a a a >

```

108
134

Figura 16

Cotejación FastA entre el Gen en el pRAE-7 y la Δ5-Desaturasa de la *M. alpina* (Ma29) – Secuencias Traducidas

PUNTAJES		Init1: 62	Initn: 105	Opt: 245	
Puntaje Smith-Waterman:		271	Identidad del 28,4% con superposición en 292 aa		
		10 20 30 40			
pRAE-7.pep	LLEPVSIGGIPAVQAQAGWLQ-HDFGHLSV-FSTSKWNHL--LH				
Ma29.pep	ASYYAQLFVPFVVERTWLQVVFALIMGFACAQVGLNPLHDASHFSVTHNPTVWKILGATH				
	140	150	160	170 180 190	
		50 60 70 80 90			
pRAE-7.pep	HFVIGHLKGAPASWWNHMH-FQHHAKPNCFRKDPDINM-HPFFFALGKILSVELGKQKKK				
Ma29.pep	DF----FNGASYLVWVYQHMLGHHPTYNTIAGADPDVSTSEP-----DVRRIKPNQK				
	200	210	220	230	
		100 110 120 130 140 149			
pRAE-7.pep	YMPYNH--QHKYF-FLIGPPALLPLYFQWYIFYFVIQ----RKKWVDLAWMITFY--VRF				
Ma29.pep	WF-VNHINQHMFPFLYGLLAFKVRIQDINILYFVKTNDAIRVNPISWTWHTVMFWGGKAF				
	240	250	260	270 280 290	
		150 160 170 180 190			
pRAE-7.pep	FLTY---VPL--LGLKAFLGLFFIVRFLESNWFVWVTQMNH1PMHID---HDRN----MD				
Ma29.pep	FVWYRLIVPLQYLPLGKVLLLFVADMVSSYWLALTFQANHVVVEVQWPLPDENGIIQKD				
	300	310	320	330 340 350	
		200 210 220 230 240 250			
pRAE-7.pep	WVSTQLQATCN-VHKSAFNDWFSGHLNFQIEHHLFFTPMRHNYHKVAPLVQSLCAKHGIE				
Ma29.pep	WAAMQVETTQDYAHDShLWTSITGSLNZQAVHHLFPNVSQHHPDILAIKNTCSEYKVP				
	360	370	380	390 400 410	
		260 270 280			
pRAE-7.pep	YQSKPLL-SAFADIIHSLKESGQLWLDAYLHQX				
Ma29.pep	YLVKDTFWQAFASHLEHLRVLGLRPKEEX				
	420	430	440		

Figura 17

Cotejación FastA entre el Gen en el pRAE-7 y la Δ6-Desaturasa de la *M. alpina* (Ma29) – Secuencias Traducidas

PUNTAJES Init1: 278 Initn: 483 Opt: 301
Puntaje Smith-Waterman: 498 Identidad del 31,9% con superposición en 285 aa

SCORES Init1: 278 Initn: 483 Opt: 301
Smith-Waterman score: 498; 31.9% identity in 285 aa overlap

pRAE-7.pep	10	20	30	40
	LLEPVSIGGIPAVQAQAGWLQHDFGHLSV	FSTSKWNHLLHHFVIG		
Ma524.pep	GLSTVIVAKWGQTSTLANVLSAALLGLFWQ	CGWLAHDFLHHQVFQDRFWGDLFGAFLGG		
	140	150	160	170
pRAE-7.pep	50	60	70	80
	HLKGAPASWWNHMHFQHHAKPNCFRKDPD	INMHPFF---	FALGKILSV---	ELGKQKKK
Ma524.pep	VCQGFSSSWWKDKHNTTHHAAPNVHG	EDPDIDTHPLLTWSEHALEMFSDVPDEEL	TRMWSR	
	200	210	220	230
pRAE-7.pep	100	110	120	130
	YMPYNHQHKYFFFLIGPPALLPLYFQWY	IFYFV-----	IQRKKWVDLAWMITF	
Ma524.pep	FMVLN-QTWFYFPILSFARLSWC	LSILFVLPLNGQAHKPSGARVPISLVEQLSLAMHWTW		
	260	270	280	290
pRAE-7.pep	150	160	170	180
	YVRFFLTIV--PLLGLKAFLGLFFIVRF	LESNWFWVTQMNHIPMHI---	DHDRNMDWVS	
Ma524.pep	YLATMFLFIKDPV----	NMLVYFLVSQAVCGNLLAIVFSLNHNGMPVISKEEAVDM	DFFT	
	320	330	340	350
pRAE-7.pep	210	220	230	240
	TQLQATCNVHKSAFNDWFS	GHILNFQIEHHLFPTMPRENYHK/APLVQSLCAKHGIEYQSK		
Ma524.pep	KQIITGRDVHPGLFANWFTGGLNYQIEHHLF	PSMPPTNFSKIQPAVETLCKKYNVRYHTT		
	380	390	400	410
pRAE-7.pep	270	280		
	PLLSAFADIHSLKESGQLWLDAYLHQX			
Ma524.pep	GMIEGTAEVFSRLNEVSKAASKMGKAQX			
	440	450		

Figura 18

Cotejación FastA entre el Gen en el pRAE-7
y el contig 2535

PUNTAJES		Init1: 1028	Initn: 1024	Opt: 1430			
Puntaje Smith-Waterman:		1430	Identidad del 71,0% con superposición en 276 aa				
pRAE-7.pep		10	20	30	40	50	
		LLEPVSIGGIPAVQAQAGWLQHDFGHL SVFSTSKWNHLLHHFVIGHLKGAPA					
2535		VFYFGNGWIPTLITAFVLATSQAQAGWLQHDYGHLSVYRKPKWNHLVHKFVIGHLKGASA					
		10	20	30	40	50	60
pRAE-7.pep		60	70	80	90	100	110
		SWWNHMHFQHHAKPNCFRKDPDINM-HPFFFALGKILSVELGKQKKKYPYNHQHKYFFL					
2535		NWWNHRHFQHHAKPNIFHKDPDVNMLH--VFVLGEWQPIEYGKKKLKYLPPYNHQHEYFFL					
		70	80	90	100	110	
pRAE-7.pep		120	130	140	150	160	170
		IGPPALLPLYFQWYIFYFVIQRKKWVDLAWMITFYVRFFLTYPVLLG-LKAFLGLFFIVR					
2535		IGPPLLIPMYFQYQIIMTMIVHKNWVDLAWAVSYYIRFFITYIPFYGILGALLFLNFI-R					
		120	130	140	150	160	170
pRAE-7.pep		180	190	200	210	220	230
		FLESNWFVWVTQMNHHPMHIDHNRNMDWVSTQLQATCNVHKSAFNDWFSGHLNFQIEHHL					
2535		FLESHWFVWVTQMNHIVMEIDQEAYRDWFSQLTATCNVEQSFFNDWFSGHLNFQIEHHL					
		180	190	200	210	220	230
pRAE-7.pep		240	250	260	270	280	
		FPTMPRHNHVKVAPLVQSLCAKHGIEYQSKPILLSAFADIHSLKESGQLWLDAYLHQX					
2535		FPTMPRHNHVKIAPLVKSLCAKHGIEYQEKPLLRALLDIIRSLKSGKLWLDAYLHKXSH					
		240	250	260	270	280	290
2535		SPRDTVKGCRWGEQQRNDGLLFXGVSERLVYALLTDPMLDLSPFLLSFFSSHLPHSTLP					
		300	310	320	330	340	350

111
13
1

Figura 19

Cotejación FastA del Gen en el pRAE-7
con el contig 38

PUNTAJES Init1: 965 Initn: 965 Opt: 968
Puntaje Smith-Waterman: 968 Identidad del 97,0% con superposición en 133 aa

				10	20	30	39
pRAE-7.pep				LLEFVSIGGIPAVQAQAGWLQHDFGHLSVFSTSKWNHLL			
				:			
38	LHILLLDGAAWLTLWVFGTSFLPFLLCVLLSAVQAQAGWLQHDFGHLSVFSTSKWNHLL						
	130	140	150	160	170	180	
	40	50	60	70	80	90	99
pRAE-7.pep	HHFVIGHLKGAPASWWNHMFQHHAKPNCFRKDPDINMHPFFALGKILSVELGKQKKKY						
38	HHFVIGHLKGAPASWWNHMFQHHAKPNCFRKDPDINMHPFFALGKILSVELGKQKKKY						
	190	200	210	220	230	240	
	100	110	120	130	140	150	159
pRAE-7.pep	MPYNHQHKYFFLIGPPALLPLYFQWYIFYFVIQRKKWVDLAWMITFYVRFFLTYPVLLGL						
38	MPYNHQHKYFFLIGPPALLPLYFQWYIFYFVIQRKKWVDLAWISKQEYDEAGLPLSTANA						
	250	260	270	280	290	300	
	160	170	180	190	200	210	219
pRAE-7.pep	KAFLGLFFIVRFLESNWFWVTQMNHIFMHIDHNRNMDWVSTQLQATCNVHKSAFNDWFS						
38	SK						

```

                530          540          550          560          570          580
A-1.pdt      XLDLPTNMEXRKAAAELXAAETAAQGPTPRYFTWDEVAQRSGCEERWLVIDRKVYNISE
                :|:| :|: :: : ||:: :|||:::
CYB5_HUMAN      AEQSDEAVKYYTLEEIQKHNSKSTWLLLHHKVYDLTK
                10          20          30

                590          600          610          620          630          640
A-1.pdt      FTRRHPGGSRVISHAAGQDATDPFVAFHINKGLVKKYMN-SLLIGELSPEQPSFEPTKNK
                | :||| :|: : || |||: | ::: : |: :||| |:: :| ||
CYB5_HUMAN      FLEEHPGEEVLREQAGGDATENFE--DVGHSTDAREMSKTFIIIGELHPDD---RPKLNK
                40          50          60          70          80          90

                650          660          670          680          690          700
A-1.pdt      ELTDEFRELRATVEQRFPVXFLTCTGAHGFFSLEVPLPDSNKXFSWTSRPIXWNKGKRP
CYB5_HUMAN      PPETLITTIDSSSSWINWIPAISAVAVALMYRLYMAED
                100          110          120          130

```

Figura 21

Cotejación FastA de la Secuencia 5' del Clon A-1 y la
Secuencia del Citocromo b5 Humano

LOCUS AC004228 170743 bp DNA HTG 26-FEB-1998
DEFINITION *** SEQUENCING IN PROGRESS *** Homo sapiens Chromosome 11q12 pac
pDJ519o3; HTGS phase 1, 18 unordered pieces.
ACCESSION AC004228
NID g2911733
KEYWORDS HTG; HTGS_PHASE1. . . .

PUNTAJES Init1: 913 Initn: 1123 Opt: 916
Identidad del 94,6% con superposición en 203 pb

A-1	389	379	369	359	349	339	330
	CCCGACCAATATGATGGAATAAAGGAAAGCGCCGCTGAATTATAGGCCGCCGAGACCGC						
ac004228	CCCGGCCGCGCGCGTCCAGGCCAGCTATGGCCCCGACCCGGTGGCCGCCGAGACCGC						
	60090	60100	60110	60120	60130	60140	
A-1	329	319	309	299	289	279	270
	GGCTCAGGGACCTACCCCGCGTTACTTCACATGGGACGAGGTGGCCCAGCGCTCAGGGTG						
ac004228	GGCTCAGGGACCTACCCCGCGTACTTCACCTGGGACGAGGTGGCCCAGCGCTCAGGGTG						
	60150	60160	60170	60180	60190	60200	
A-1	269	259	249	239	229	219	210
	CGAGGAGCGGTGGCTTGATCGACCGTAAGGTGTACAACATCAGCGAGTTCACCCGCCG						
ac004228	CGAGGAGCGGTGGCTAGTGATCGACCGTAAGGTGTACAACATCAGCGAGTTCACCCGCCG						
	60210	60220	60230	60240	60250	60260	
A-1	209	199	189	179	169	159	150
	GCATCCAGGGGGCTCCCGGGTCATCAGCCACTACGCCGGGCAGGATGCCACGGATCCCTT						
ac004228	GCATCCAGGGGGCTCCCGGGTCATCAGCCACTACGCCGGGCAGGATGCCACGGTGAGCGC						
	60270	60280	60290	60300	60310	60320	
A-1	149	139	129	119	109	99	90
	CGTGGCCTTCCACATCAACAAGGGCCTTGTGAAGAAATATGAAGTCTCTCCTGATTGG						
ac004228	AGCCACGCGGGGGCACAGGAGAGGGCGGGACCGGAGGCTGAGTGCAGGGGAGACAGAGTT						
	60330	60340	60350	60360	60370	60380	

Figura 22

Cotejación FastA de la Secuencia 5' del Clon 3-5
y la Secuencia ac004228

PUNTAJES Init1: 1365 Initn: 2510 Opt: 1377
Identidad del 98,6% con superposición en 285 bp

3-5	20	30	40	50	60	70
	AATACGACTCACTATAGGGCTCGAGCGGCCGCCGGCAGGTCCGGACCTGCCAACGTGA					
ac004228	CCCCGCCCCACACGCCGCATCACTTACAGGGCCCGGGGCTG-CCGGACCTGCCAACGTGA					
	61710	61720	61730	61740	61750	61760
3-5	80	90	100	110	120	130
	ATCTTATCGCCATGGACCTTACCTTGACACAACCCAAAGTAGCTGCCTTGGGGCAGGGGGT					
ac004228	ATCTTATCGCCATGGACCTTACCTTGACACAACCCAAAGTAGCTGCCTTGGGGCAGGGGGT					
	61770	61780	61790	61800	61810	61820
3-5	140	150	160	170	180	190
	GGCCAGAGTGCTTAGGGAAATGTGGAGCCCTACCCAGAACAACGGTGGAGGGAAAGGGAA					
ac004228	GGCCAGAGTGCTTAGGGAAATGTGGAGCCCTACCCAGAACAACGGTGGAGGGAAAGGGAA					
	61830	61840	61850	61860	61870	61880
3-5	200	210	220	230	240	250
	GAAACGCAGAAGTGCCCCAGTTCGGACGTAGGGAAGTCTTCCTCTTCGTGGTTTTTGGAG					
ac004228	GAAACGCAGAAGTGCCCCAGTTCGGACGTAGGGAAGTCTTCCTCTTCGTGGTTTTTGGAG					
	61890	61900	61910	61920	61930	61940
3-5	260	270	280	290	300	310
	AACCCTAGCTAAGAGAGGAAAGGGACTTATTGAAAGACCCGCAAGAAGGGACGGAAGTCT					
ac004228	AACCCTAGCTAAGAGAGGAAAGGGACTTATTGAAAGACCCGCAAGAAGGGACGGAAGTCT					
	61950	61960	61970	61980	61990	62000
3-5	320	330	340	350	360	370
	CATAGCCCTGAGAGGATCCCTTTGTGGCCTTCCACATCAACAAGGGCCTTGTGAAGAAGT					
ac004228	CATAGCCCTGAGAGGTGAAGCCAGCTGGAGTTGATGGGTGCAATGGGGACCTAGAGAAGT					
	62010	62020	62030	62040	62050	62060

Figura 23

Cotejación FastA de la Secuencia 5' del Clon A-10
y la Secuencia ac004228

PUNTAJES Init1: 931 Initn: 1309 Opt: 934
Identidad del 97,0% con superposición en 200 bp

	30	40	50	60	70	80	89
A-10	TATAGGGCTCGAGCGGCCGCCCCGGGCAGGTGCCCCGGAGGCGCCTGATCATACCTGTTGCC						
ac004228	CGAGCCAAACACCGACTAATTCGGAGGAAAGCCCCGGAGGCGCCTGATCATACCTGTTGCC						
	60400	60410	60420	60430	60440	60450	
	90	100	110	120	130	140	149
A-10	CCGTGATTGGGTGTCCTGCGGATGCGGGATGAAAAGGCGGGAGAGAGGCCTGGAAAAGTG						
ac004228	CCGTGATTGGGTGTCCTGCGGATGCGGGATGAAAAGGCGGGAGAGAGGCCTGGAGAAGTG						
	60460	60470	60480	60490	60500	60510	
	150	160	170	180	190	200	209
A-10	GAGTCTGGGGAGTGGGGATGGAGGCCAACAACACGCACACACAAACAAAGGGTCCCGCCT						
ac004228	GAGTCTGGGGAGTGGGGATGGAGGCCAACAACACGCACACACAAACAAAGGGTCCCGCCT						
	60520	60530	60540	60550	60560	60570	
	210	220	230	240	250	260	269
A-10	CCCTGCCGTGCATTCCATCTGCAGCCCCGAGCCTCAGGATCCCTTTGTGGCCTTCCACAT						
ac004228	CCCTGCCGTGCATTCCATCTGCAGCCCCGAGCCTCAGG-TCTCTGGGCGGGACAGAACC						
	60580	60590	60600	60610	60620	60630	

2/16
14/2

Figura 24

Cotejación FastA de la Secuencia 5' del Clon A-16
y la Secuencia ac004228

PUNTAJES		Init1: 985	Initn: 1488	Opt: 997			
Identidad del 98,1% con superposición en 209 bp							
		40	50	60	70	80	90
A-16		CGAGCGGCCGCCCGGGCAGGTCTAGAAATTCAGCGGCCGCTGAAGCCGCGTCTGGACCTAG					
ac004228		AGGGAGTCACATCCTGTCTCGATGGCTAGGAGAGGCAGC-GCAGCCGCGTCTGGACCTAG					
		60720	60730	60740	60750	60760	
		100	110	120	130	140	150
A-16		GTGCCGGTCTCCACTCGCCAGCAGGAGCGGAGAGGGAGCAGGAAAGGAGCCCAATTCTCGA					
ac004228		GTGCCGGTCTCCACTCGCCAGCAGGAGCGGAGAGGGAGCAGGAAAGGAGCCCAATTCTCGA					
		60770	60780	60790	60800	60810	60820
		160	170	180	190	200	210
A-16		GGATGGGGCTGAAACGGGAAGCTTGCGGAGACCGCTGCCTTGCGGACCCCTGCGTCGTGT					
ac004228		GGATGGGGCTGAAACGGGAAGCTTGCGGAGACCGCTGCCTTGCGGACCCCTGCGTCGTGT					
		60830	60840	60850	60860	60870	60880
		220	230	240	250	260	270
A-16		GAAGACTGGAGGACGCGGAAGGGACAGCGCTGGCCGGGGAGGGCAAGCGGCCGCTGGCGA					
ac004228		GAAGACTGGAGGACGCGGAAGGGACAGCGCTGGCCGGGGAGGGCAAGCGGCCGCTGGCGT					
		60890	60900	60910	60920	60930	60940
		280	290	300	310	320	330
A-16		TCCCTTTGTGGCCTTCACATCAACAAGGGCCTTGTGAAGAAGTATATGAAGTCTCTCCT					
ac004228		ACATAAGGGATTGGGAATGGCATACTTAGCGAGGACCCCCAGAGCTGTTCTCGAATCG					
		60950	60960	60970	60980	60990	61000

Figura 25

Cotejación FastA de la Secuencia 5' del Clon A-19
y la Secuencia ac004228

PUNTAJES		Init1: 1227	Initn: 1409	Opt: 1532		
Identidad del 94,0% con superposición en 349 bp						
	60	70	80	90	100	110
A-19	TTATTCCCTTATTTGTCCCTGCCCATGTCCTGCTGATTGGTCCATTTTACCTCTAGCTAG					
ac004228	ATACAGCACTGATTGGTCCATTTTACAGGGTGCTGATTGGTCCATTTTACCTCTAGCTAG					
	63250	63260	63270	63280	63290	63300
	120	130	140	150	160	170
A-19	CTAAAGAGCACGGATTGGTGCATTTTGCAAACCTCTGGCTACAGAGGGGTTCTCCAGGTC					
ac004228	CTAAAGAGCACGGATTGGTGCATTTTACAAACCTCTAGCTACAGAAAAGTTCTCCAAGTC					
	63310	63320	63330	63340	63350	63360
	180	190	200	210	220	230
A-19	TGCACTCGACCCAGGAAGTCCATCTGGCTTCACCTCTCACTTCAACTTGGGTACAGCCTT					
ac004228	TGCACTCGACCCAGGAAGTCCATCTGGCTTCACCTCTCACTTCAACTTGGGTACAGCCTT					
	63370	63380	63390	63400	63410	63420
	240	250	260	270	280	290
A-19	CTGGCGGGCAGGAAGATGGCCTTTGGTGCGAACACTGCCGGAGTCCAGGGGGCTGGCTCC					
ac004228	CTGGCGGGCAGGAGGATGGCCTTTGGTGCGAACACTGCCGGAGTCCAGGGGGCTGGCTCC					
	63430	63440	63450	63460	63470	63480
	300	310	320	330	340	
A-19	CTCACCTTTCATCTTCTCCCGGCACTTGCAGGATCCCTTTGTGGCC					
ac004228	CTCACCTTTCATCTTCTCCCGGCACTTGCAGGATCCCTTTGTGGCC					
	63490	63500	63510	63520	63530	

178
14/4

Figura 26a

Secuencia Parcial de ac004228

59751 ACTAGAACCG CTGTTCTTAC CGCGGCGCCC CCTGGGAGCC AACGCCGCGA
59801 TGCCCGCCTG ACGTCAGGAA GTCGAATCCG GCGGCGACGC TTTTAGGGAG
59851 CCCGCGAGGG GGC GCGTGTT GGCAGCCCAG CTGTGAGTTG CCCAAGACCC
59901 ACCGGGGGAC GGGATCTCGC TCCCCGCGCC ACAGGCTCG GCCAATGGGA Posible inicio
59951 ACGCGCGCTG CGAGGCCCGC CGGTCTGCCC TGCGGTGCTG AAAACCCGGC
60001 GCGCAGGCGG CTGGCTCTGG GCGCGCGCCA GCAAATCCAC TCCTGGAGCC
60051 CGCGGACCCC GAGCACGCGC CTGACAGCCC CTGCTGGCCC GGCGCGCGGC
60101 GTCGCCAGGC CAGCTATGGC CCCCAGCCCG GTGGCCGCCG AGACCGCGGC
60151 TCAGGGACCT ACCCGCGCT ACTTCACCTG GGACGAGGTG GCCCAGCGCT Clon A-1
60201 CAGGGTCCG GGAGCGGTGG CTAGTGATCG ACCGTAAGGT GTACAACATC
60251 AGCGAGTCA CCCGCCGCA TCCAGGGGGC TCCCGGGTCA TCAGCCACTA
60301 CGCCGGGCG GATGCCACGG TGAGCGCAGC CAGGCGGGG CACAGGAGAG
60351 GCGGGGACCG GAGGCTGAGT GCAGGGGAGA CAGAGTTACG CACTCCGAGC
60401 CAAACACCGA CTAATTCGGA GGAAAGCCCG GAGGCGCCTG ATCATACCTG
60451 TTGCCCGGTG ATTGGGTGTC CTGCGGATGC GGGATGAAAA GGCGGGAGAG Clon A-10
60501 AGGCCTGAG AAGTGAATC TGGGGAGTGG GGATGGAGGC CAACAACACG
60551 CACACAGAAA CAAAGGATCC TGCTCCCTG CCGTGCATTC CATCTGCAGC
60601 CCGAGGCTC AGGTCTCTGG GCGGGGACAG AACCCCGAGC TGGGTAGGCT
60651 AGGAGGGAGG AGAGCAAGGA TGCAGGCCGC CTGGGGAGGG AGGGGGTCAG
60701 TGGCTAGGGG AGGGAGTCAC ATCCTGTCTC GATGGCTAGG AGAGGCAGCG
60751 CAGCGGCTC TGGACCTAGG TGCCGGTCTC CACTCGCCAG CAGGAGCGGA Clon B-17
60801 GAGGGAGGAG GAAAGGATCC CATCTCCGAG GATGGGGCTG AAACGGGAAG
60851 CTTGGGAGG CCGCTGCTT GGGGACCCCT GCGTCGTGTG AAGACTGGAG
60901 GACGCGGAG GACAGCCTT GCGCGGCGAG GGCAAGCGGC CGCTGGCGTA
60951 CATAGGGAT TGGGAATGGC ATACACTTAG CGAGGACCCC CAGAGCTGTT
61001 CTCGAATGGC GGGGAGGCG ACTGAGCCGC AGGCCAGCGA GGTCTTCAGC

119/145

Figura 26b

61051 TATTCCGCGG AGCGGACCGC TGTTTACGCT CTGGGGCGGT AGGCCCTTCG
61101 CGGGGTCTTG TCCCTTCTTC CCTTGGTCTC ACTGCGGGGT CGGCGCGCGC
61151 CCCAGCCCCA GGCCTGCTGC TTCCCTTTCT AGACCACAGC CCTCAGAGCT
61201 AAGGCCCCGG CGCCTCTCTG CTGGGTGGA GTCCCTGGGA CTCAGTCCTA
61251 GGGACTCGAA AGTCGGGGCG TTCCCTTCAC CGCGTTTCCC CCTTGGCGGC
61301 CAGAATGGCG TCCCCTCCCC TTGCATCCCC CTC'TGATCCC GTGCCCTGCA
61351 GCGTGATGCC CTCCACTGTC CCTATCCACT ACCCTGGCGT CCCAGAGTGT
61401 GCCGCGGGTC ACCAGGTTCC CATAACGTCG CAGCAGAGCT TAGACGCTGC
61451 GGGGCGAAGA CCCGCCCCAC CCTCTGACGC GACCAGCCTA GTGGGCGAGG
61501 CCAGAGCTTG CGCGGGTCAA CCAGAGTGAC CACTCGGGAG CCCTGACTGC
61551 GGCCAAGGGC GCAGGCGTGT CCCGGCGCAT GCGCAGACGA AACAGGCACC
61601 AACGCTGGAG CTTCCCGCAG TGTGATTG GCGCGGGGAT GCCGCGGCGG
61651 GGACGGCGAT TGGTCCGTAT GTGTGGTGCC ACCGGCCGCC GCTCCGCCCC
61701 GGCCCCCGCC CCACACGCCG CATCACTTAC AGGGCCCCGG GCTGCCGGAC
61751 CTGCCAACGT GAATCTTATC GCCATGGACC TTACCTTGCA CAACCCAAAG
61801 TAGCTGCCTT GGGGCAGGG GTGCCAGAG TGCTTAGGGA AATGTGGAGC Clon 3-5
61851 CCTACCCAGA ACAACGGTGG AGGGAAAGGG AAGAAACGCA GAAGTGCCCC
61901 AGTTCCGACG TAGGGAAGTC TTCCTCTTCG TGGTTTTTGG AGAACCTAG
61951 CTAAGAGAGG AAAGGGACTT ATTGAAAGAC CCGCAAGAAG GACCGGAAGT
62001 CTCATAGCCC TGAGAGGTGA AGCCAGCTGG AGTTGATGGG TCGAATGGGG
62051 ACCTAGAGAA CTTTCTGTGA TCTAGAGGTT TGTAATAATGC ACCAATCAGT
62101 GCTCTGTAAA AACGCACCAA TTGGCGCTCT GTAGCTAGCT AGAGGTTTGT
62151 AAAATGAGCC AATCAGCAGG ACGTGGGCAG GGACAACTAA GACAATAAAA
62201 GCTGGCCACC CCAGCCAGCT GCTGCAACCC GCTCCAGTTC CCTTACAGGC
62251 TGTGGAAGCA TTGTCTTTT GCTCGTCACA CTAAACCTTG CTGCTGCTCA
62301 TTCTTTGGGT CTGCAAAGAG TGTATTCTCT TTAAGAGCTA TAACAGCGGG
62351 AAGGTCCACG GCTCCATTCT TGAAGTCAGT GAGAACATAC CCCCGGAAG
62401 GAACCAACGC CCGACACAGC CCCACCCATC TCTCCTGTTT CTCACCTATA

120
1246

Figura 26c

62451 CTGAAATTCT TGGGCAAAAG CTGTCTGTGG ACACACCCAG GGGAAAGGCC
62501 AGCCCAGGCA GGTGTTTCTT AGTGGTTCCC CTCAGCCAAT GCTTCCCATT
62551 CCTTGATGCA TCCTTCTAAC TAGAGCAGAT GCTCGGTGAT CTTAAACTGT
62601 GGACACCTGG GAGCACCTC AAAAGGCAGC TGGGCCTAGG GAGATGGCCT
62651 GTGCTTCTGT GTCAGGAGTT GGTTCCTTCA GGTGGGCTTG TGGTCTCGCT
62701 GACGTCAAGA ATGAAGCCAT GAACCTTCGC GGTGAGTGTT ACAGCTCTTA
62751 CAGGTGGCGT GGACCCAAAG AGTGAGCAGC AGCAAGATTT ATTGTGAAGA
62801 GCAAAGAACA AAGCTTCCAC AGCGTGGAAG GGTACCCGAG CAGGTGCCG
62851 CTGCTGGACG TTGGGGGGTG TGAGGGGGAG CAGCCTTTTT TTTCTTTTT
62901 TTTTGTAGAC GGAGTCTCCC TGTCGCCCAG GCTGGAGTGC AGTGGCGCGA
62951 TCTCGGCTCA CTGCAGGCTC CGCCCCCCCC CCGGGGTTC ACGCATCTC
63001 CTGCCTCAGC CTCCCAGTA GCTGGGACTA CAGGCGCCCG CTACCTCGCC
63051 CGGCTAATTT TTTGTATTT TAGTAGAGAC GGGGTTTCAC TGTGTTAGCC
63101 AGGATGGTCT CGATCTCCTG ACCTCGTGAT CCACCCGCCT TGGCCTCCCA
63151 AAGTGCTGGG ATTACAGGCG TGAGCCACCG CGCCCGGCCG GGAGCAGCTT
63201 TTATTCCTT ATTGTCCCT GCCCATGTCC TGCTGATTG TCCATTTTAT
63251 AGAGCACTGA TTGGTCCATT TTACAGGGTG CTGATTGGTC CATTTTACCT
63301 CTAGCTAGCT AAAGAGCAG GATTGGTGCA TTTACAAAC CTCTAGCTAC
63351 AGAAAAGTTC TCCAAGTCTG CACTCGACCC AGGAAGTCCA TCTGGCTTCA
63401 CCTCTCACTT CAACTTGGGT ACAGCCTTCT GGCGGGCAGG AGGATGGCCT
63451 TTGGTGCGAA CACTGCCGGA GTCCAGGGGG CTGGCTCCCT CACCTTTCAT Clon B-19
63501 CTTCTCCCGG CACTTGCAGG ATCCCTTTGT GGCCTTCCAC ATCAACAAGG
63551 GCCTTGTGAA GAAGTATATG AACTCTCTCC TGATTGGAGA ACTGTCTCCA
63601 GAGCAGCCCA GCTTTGAGCC CACCAAGAAT GTAAGACCCT GTGTTTGCTA
63651 TGTGCAACT ATTGGTTGTT GAGGGGGACA GAGAGGGGGT GGAAGGAGAG
63701 TCTAGATGGA ATCACAGTCA TAGTAATCAC AGTCAGTAGT AGCTCTGGGG
63751 AGTCTTGAGG TCCCTGCTTC TCTTGCATAG TCATGAGGTC ACAGGCCCAA

121
147

Figura 26d

63801 GGGAGCATGG CTTTGCAACC TATGGCTCCC CCAAGGCTGC CACTACCATG
63851 GCTGCCATCA TTGTTATCAT CATTGTTATC ATATGAGCAC TTACTATGCA
63901 CCAAGCATAA ACTCATAACT CTTACACATT TACAGATGAG ATAACAGGCT
63951 CAGGGAGGTT AAGCAACACA GCCAAGGATC ACACAGTTAG TAAATGGCAG
64001 AGCAAGGACT TAGTCCCCTG AACTCTTAGG CACTATCCCA TGGCACCTCC
64051 TCCTGTCATC CTCATTGTCTG TGGTATCTTT GCCTAGGACT GTGGACTTCC
64101 CACAGCTACC TCAGTGGGAG GTCCTTGAGC CTGAGAGGGC CTTGTCTCC
64151 AGTAGCATTG GGGTGCAGAT GAGAAGAATA ACAGCTCCTC TTCCTCTTCT
64201 GCAGAAAGAG CTGACAGATG AGTCCCGGA GCTGCGGGCC ACAGTGGAGC
64251 GGATGGGGCT CATGAAGGCC AACCATGTCT TCTTCCTGCT GTACCTGCTG
64301 CACATCTTGC TGCTGGATGG TGCAGCCTGG CTCACCCCTTT GGGTCTTTGG
64351 GACGTCCTTT TTGCCCTTCC TCCTCTGTGC GGTGCTGCTC AGTGCAGTTC
64401 AGGTGAGAGC CTTTGGCTTG TCAAGTGCA' AGCAATGCTC AGCATCCCTG

Figura 27a

Cotejación FastA entre la $\Delta 5$ -Desaturasa Humana
y el Contig 3381584

PUNTAJES		Init1: 4480	Initn: 4480	Opt: 4481
		Identidad del 99,9% con superposición en 898 bp		
human $\Delta 5$			10 20 30	
			ATGGCCCCCGACCCGGTGGCCGCCGAGACC	
3381584				
	80 90 100 110 120 130			
human $\Delta 5$		40 50 60 70 80 90		
		GCGGCTCAGGGACCTACCCCGCGCTACTTCACCTGGGACGAGGTGGCCCGAGCGCTCAGGG		
3381584				
	140 150 160 170 180 190			
human $\Delta 5$		100 110 120 130 140 150		
		TGCGAGGAGCGGTGGCTAGTGATCGACCGTAAGGTGTACAACATCAGCGAGTTCACCCGC		
3381584				
	200 210 220 230 240 250			
human $\Delta 5$		160 170 180 190 200 210		
		CGGCATCCAGGGGGCTCCCGGGTCATCAGCCACTACGCCGGGCAGGATGCCACGGATCCC		
3381584				
	260 270 280 290 300 310			
human $\Delta 5$		220 230 240 250 260 270		
		TTTGTGGCCTTCCACATCAACAAGGGCCTTGTGAAGAAGTATATGAACTCTCTCCTGATT		
3381584				
	320 330 340 350 360 370			
human $\Delta 5$		280 290 300 310 320 330		
		GGAGAACTGTCTCCAGAGCAGCCCAGCTTTGAGCCACCAAGAATAAAGAGCTGACAGAT		
3381584				
	380 390 400 410 420 430			
human $\Delta 5$		340 350 360 370 380 390		
		GAGTTCCGGGAGCTGCGGGCCACAGTGGAGCGGATGGGGCTCATGAAGGCCAACCATGTC		
3381584				
	440 450 460 470 480 490			
human $\Delta 5$		400 410 420 430 440 450		
		TTCTTCCTGCTGTACCTGCTGCACATCTTGCTGCTGGATGGTGCAGCCTGGCTCACCCCTT		
3381584				
	500 510 520 530 540 550			

Figura 27b

	460	470	480	490	500	510
human Δ5	TGGGTCTTTGGGACGTCCTTTTGGCCCTTCCTCCTCTGTGCGGTGCTGCTCAGTGCAGTT					
3381584	TGGGTCTTTGGGACGTCCTTTTGGCCCTTCCTCCTCTGTGCGGTGCTGCTCAGTGCAGTT					
	560	570	580	590	600	610
	520	530	540	550	560	570
human Δ5	CAGGCCCAGGCTGGCTGGCTGCAGCATGACTTTGGGCACCTGTGCGGTCTTCAGCACCTCA					
3381584	CAGGCCCAGGCTGGCTGGCTGCAGCATGACTTTGGGCACCTGTGCGGTCTTCAGCACCTCA					
	620	630	640	650	660	670
	580	590	600	610	620	630
human Δ5	AAGTGGAACCATCTGCTACATCATTTTGTGATTGGCCACCTGAAGGGGGCCCCCGCCAGT					
3381584	AAGTGGAACCATCTGCTACATCATTTTGTGATTGGCCACCTGAAGGGGGCCCCCGCCAGT					
	680	690	700	710	720	730
	640	650	660	670	680	690
human Δ5	TGGTGGAACCACATGCACTTCCAGCACCATGCCAAGCCCAACTGCTTCCGCAAAGACCCA					
3381584	TGGTGGAACCACATGCACTTCCAGCACCATGCCAAGCCCAACTGCTTCCGCAAAGACCCA					
	740	750	760	770	780	790
	700	710	720	730	740	750
human Δ5	GACATCAACATGCATCCCTTCTTCTTTGCCCTTGGGGAAGATCCTCTCTGTGGAGCTTGGG					
3381584	GACATCAACATGCATCCCTTCTTCTTTGCCCTTGGGGAAGATCCTCTCTGTGGAGCTTGGG					
	800	810	820	830	840	850
	760	770	780	790	800	810
human Δ5	AAACAGAAGAAAAATATATGCCGTACAACCACCAGCACAAATACTTCTTCCTAATTGGG					
3381584	AAACAGAAGAAAAATATATGCCGTACAACCACCAGCACAAATACTTCTTCCTAATTGGG					
	860	870	880	890	900	910
	820	830	840	850	860	870
human Δ5	CCCCCAGCCTTGCTGCCTCTCTACTTCCAGTGGTATATTTTCTATTTTGTATCCAGCGA					
3381584	CCCCCAGCCTTGCTGCCTCTCTACTTCCAGTGGTATATTTTCTATTTTGTATCCAGCGA					
	920	930	940	950	960	970
	880	890	900	910	920	930
human Δ5	AAGAAGTGGGTGGACTTGGCCTGGATGATTACCTTCTACGTCCGCTTCTTCCTCACTTAT					
3381584	AAGAAGTGGGTGGACTTGGCCTGGATCAGCAAACAGGAATACGATGAAGCCGGGCTTCCA					
	980	990	1000	1010	1020	1030

Figura 28

Figura 29

Cotejación FastA de la Δ5-Desaturasa Humana
con el Contig 253538a

PUNTAJES		Init1: 1479	Initn: 2483	Opt: 2489			
Puntaje Smith-Waterman:		2489	Identidad del 81,3% con superposición en 434 aa				
		10	20	30	40	50	60
human Δ5	MAPDPVAAETAAQGPTPRYFTWDEVAQ	RSGCEERWLVIDRKVYNI	SEFTRRHPPGGSRVIS				
253538a		QGPTPRYFTWDEVAQ	RSGCEERWLVIDRKVYNI	SEFTRRHPPGGSRVIS			
		10	20	30	40		
		70	80	90	100	110	120
human Δ5	HYAGQDATDPFVAFHINKGLVKKYMNSLLIGELSPEQPSFEPTKNKELTDEFREL	RATVE					
253538a	HYAGQDATDPFVAFHINKGLVKKYMNSLLIGELSPEQPSFEPTKNKELTDEFREL	RATVE					
		50	60	70	80	90	100
		130	140	150	160	170	180
human Δ5	RMGLMKANHVFLLYLLHILLDDGAAWLTLWVFGTSFLPFLLCAVLLSAVQAQAGWLQHD						
253538a	RMGLMKANHVFLLYLLHILLDDGAAWLTLWVFGTSFLPFLLCAVLLSAVQAQAGWLQHD						
		110	120	130	140	150	160
		190	200	210	220	230	239
human Δ5	FGHLSVFSSTSKWNHLLHHFVIGHLKGAPASWWNHMHFQHHAKPNCFRKDPDINM-HPFFF						
253538a	: :						

Figura 30

Figura 31

Cotejación FastA entre la Δ6-Desaturasa (Ma524)
y la Δ5-Desaturasa humana

PUNTAJES Init1: 280 Initn: 601 Opt: 303
Puntaje Smith-Waterman : 697 Identidad del 30,5% con superposición en 455 aa

	10	20	30	40	50
human Δ5	MAPDPVAAETAAQGPTPRYFTWDEV-----AQRSGCEER-----WLVIDRKVYNISEFTRRH				
Ma524.pep	MAAAPSVRTFTRAEVLNAEALNEGKKDAEAPFLMIIDNKVYDVREFVDPH				
	10	20	30	40	50
	60	70	80	90	100
human Δ5	PGGSRVISHYAGQDATDPFVAFHINKGLVKKYMNSLLIGELSPEQPSFEPTKNKELTDEF				
Ma524.pep	PGGSVILTH-VGKDGTDFDTFHPEAAW--ETLANFYVGDIDE---SDRDIKNDDFAAEV				
	60	70	80	90	100
	120	130	140	150	160
human Δ5	REL RATVERMGLMKANHVFLLYLLHILLLDGAAWLTLWVFG-TSFLPFLLCVLLSAVQ				
Ma524.pep	RKLR TLFQSLGYDSSKAYYAFKVSFNLCIWGLSTVIVAKWGQTSTLANVLSAALLGLFW				
	110	120	130	140	150
	180	190	200	210	220
human Δ5	AQAGWLQHDGHL SVFSTSKWNHLLH HFVIGH LKGAPASWNNHMHFQHHAKPNCFRKDPD				
Ma524.pep	QQCGWLAHDFLHHQVFD RFWGDLFGAFLGGVCQGFSSSWWKDKHNTTHAAPNVHGEDPD				
	170	180	190	200	210
	240	250	260	270	280
human Δ5	INMHPFF----FALGKILSV---ELGKQKKKYPYNHQHKYFFLIGPPALLPLYFQWYIF				
Ma524.pep	IDTHPLL TWSEHALEMFS DVPDEELTRMWSRFMVLN-QTWFYFPILSFARLSWCLQSILF				
	230	240	250	260	270
	290	300	310	320	329
human Δ5	YFV-----IQRKKWVDLAWMITFYVRFFLT YV--PLLGLKAFLGLFFIVRFL				
Ma524.pep	VLPNGQAHKPSGARVPISLVEQLSLAMHWIWLATMFLFIKDPV----NMLVYFLVSQAV				
	290	300	310	320	330
	330	340	350	360	370
human Δ5	ESNWFVWVTQMNH IPMHI---DHD RNMDWVSTQLLATCNVHKSAFNDWFSGHLNFQIEHH				
Ma524.pep	CGNLLAIVFSLNHNGMPVISKEEAVDMDFFTKQIITGRDVHPGLFANWFTGGLNYQIEHH				
	340	350	360	370	380
	390	400	410	420	430
human Δ5	LFPTMERHNYHKVAPLVQSLCAKRGIEYQSKPLLSAFADIIHSLKESGQLWLDAYLHQX				
Ma524.pep	LFPSMERNFSKIQPAVETLCKKYNVRYHTTGMIEGTAEVFSRLNEVSKAASKMGKAQX				
	400	410	420	430	440

Figura 32

Cotejación FastA entre la Δ5-Desaturasa (Ma29)
y la Δ5-Desaturasa humana

PUNTAJES		Init1: 145	Initn: 236	Opt: 266			
Puntaje Smith-Waterman :		400	Identidad del 27,5% con superposición en 455 aa				
		10	20	30	40	50	60
human Δ5	MAPDPVAAETAAGGPTPRYFTWDEVAQRSGCEERWLVIDRKVYNISEFTRRHPPGGSRVIS						
Ma29.pep	MGTDQGKT---FTWEELAAHNTKDDLLLAIRGRVYDVTKFLSRHPGGVDTL						
		10	20	30	40		
		70	80	90	100	110	
human Δ5	HYAGQDATDPFVAFHINKGLVKKYMNSLLIGEL-SPEQPSF-EPTKNKELTDEFREL						
Ma29.pep	LGAGRDVTPVFEMYHAF-GAADAIMKKYVGTLSNELPIFPEPTVFHKTIKTRVEGYFT						
	50	60	70	80	90	100	
	120	130	140	150	160	170	
human Δ5	VERMGLMKANHVF--FLLYLLHILLLDGAAWLTLWVFGTSFLPFLCAVLLSAVQAQAGW						
Ma29.pep	DRNIDPKNRPEIWGRYALIFGSLIASYYAQLFVPFVVERTWLQVVF-AIIMGFACAQVGL						
	110	120	130	140	150	160	
	180	190	200	210	220	230	
human Δ5	LQ-HDFGHLV-FSTSKWNHL--LHHFVIGHLKGAPASWNNMH-FQHHAKPNCFRKDPD						
Ma29.pep	NPLHDASHFSVTHNPTVWKILGATHDF----FNGASYLVWVYQHMLGHHHPYTNLAGADPD						
	170	180	190	200	210	220	
	240	250	260	270	280		
human Δ5	INM-HPFFFALGKILSVELGKQKKKMPYNH--QHKYF-FLIGPPALLPLYFQWYIFYFV						
Ma29.pep	VSTSEP-----DVRRIKPNQKWF-VNHINQHMFPFLYGLLAFKVRIQDINILYFV						
		230	240	250	260	270	
	290	300	310	320	330		
human Δ5	IQ----RKKWVDLAWMITFY--VRFFLT---VPL--LGLKAFLGLFFIVRFLESNWFVW						
Ma29.pep	KTNDAIRVNPISTWHTVMEWGGAFFVWYRLIVPLQYLPGLKVLVLLFTVADMVSS'WLAL						
	280	290	300	310	320	330	
	340	350	360	370	380	390	
human Δ5	VTQMNHIPMHID---HDPN---MDWVSTQLLATCN-VHKSADFNDWFSGHLNFQIEHHLF						
Ma29.pep	TFQANHVVVEEVQWPLPDENGIIQKDWAAAMQVETTQDYAHDShLWTSITGSLNYQAVVHLF						
	340	350	360	370	380	390	
	390	400	410	420	430	440	
human Δ5	PTMPRHNYHKVAPLVQSLCAKFGIEYQSKPLL-SAFADIIHSLKESQGLWLDAYLHQX						
Ma29.pep	PNT/SQHHYPDILAIKNTCSEYKVPYLVKDTFWQAFASHLEHLRLVGLRPKEEX						
	400	410	420	430	440		

Figura 33

Huésped (plásmido)	334(pRAE-28-5)	334(pRAE-26-1)	334(pRAE-33)	334(pRAE-35)	334(pYX242)
Substrato agregado	25 μ M de ADGL	25 μ M de ADGL	25 μ M de ADGL	25 μ M de ADGL	25 μ M de ADGL
	30°C/48 horas				
Acido Graso	(g de ácido graso/100 g de ácido graso) lípido (μ g)				
C16:0	151,580	202,175	285,291	281,298	304,229
C16:1	406,279	485,631	552,951	569,298	608,123
C18:0	16,494	25,995	32,162	27,479	30,093
C18:1n-9	100,031	133,349	173,772	184,740	187,780
C18:2n-6	-	0,180	-	-	0,946
C18:3n-6	-	0,058	0,074	-	0,074
C20:0	3,844	4,205	7,118	7,285	6,288
C20:3n-6	96,576	118,657	134,859	139,292	125,448
C20:4n-6	(0,127%) 1,204	(0,075%) 0,878	(0,062%) 0,902	(0,063%) 0,927	(0,062%) 0,958
C22:0	-	0,150	0,119	-	0,125
C22:1n-9	0,162	0,139	0,299	0,275	0,392
Lípido Total	949,0	1 169,0	1 445,5	1 468,0	1 538,5

Figura 34a

Huésped (plásmido)	334(pRAE-28-5)	334(pRAE-26-1)	334(pYX242)	334(pRAE-28-5)	334(pRAE-26-1)	334(pYX242)
Substrato agregado	25 μ M de ADGL	25 μ M de ADGL	25 μ M de ADGL	25 μ M de AO	25 μ M de AO	25 μ M de AO
	30°C/48 horas					
Acidos Grasos	(g de ácido graso/100 g de ácido graso) lípido (μ g)					
C16:0	49,332	106,358	93,225	84,327	37,013	51,018
C16:1	141,178	256,622	277,028	269,009	107,066	172,485
C18:0	9,301	14,819	12,908	11,871	8,3	9,047
C18:1n-9	39,876	87,564	72,842	106,416	52,634	71,453
C18:2n-6	-	-	-	ND	ND	ND
C18:3n-6	-	-	-	-	-	-
C20:0	2,154	7,339	-	-	3,729	-
C20:3n-6	45,395	56,346	55,306	-	-	-
C20:4n-6	(0,106%) 0,412	(0,060%) 0,396	(0,065%) 0,402	-	-	-
C20:5n-3	-	-	-	-	-	-
Lípido Total (μ g)	387	665	620	562	284	363

Huésped (plásmido)	334(pRAE-28-5)	334(pRAE-26-1)	334(pYX242)
Substrato agregado	25 μ M de AA	25 μ M de AA	25 μ M de AA
	30°C/48 horas		
Acidos Grasos	(g de ácido graso/100 g de ácido graso) lípido (μ g)		
C16:0	78,471	53,685	74,099
C16:1	230,45	141,526	181,298
C18:0	11,283	9,97	10,969
C18:1n-9	61,751	42,289	46,873
C18:2n-6	-	-	-
C18:3n-6	-	-	-
C20:0	-	2,685	-
C20:3n-6	-	-	-
C20:4n-6	63,584	68,442	60,89
C20:5n-3	(0,026%) 0,139	(0,019%) 0,077	(0,027%) 0,126
Lípidos Totales (μ g)	535	404	466

156

Figura 34b

Huésped (plásmido)	334(pRAE-28-5)	334(pRAE-26-1)	334(pYX242)	334(pRAE-28-5)	334(pRAE-26-1)	334(pYX242)
Substrato agregado	25 µM de AL	25 µM de AL	25 µM de AL	Sin substrato	Sin substrato	Sin substrato
	30°C/48 horas					
Acidos Grasos	(g de ácido graso/100 g de ácido graso) lípido (µg)					
C16:0	56,631	45,393	74,247	174,138	25,574	33,44
C16:1	181,311	117,045	208,029	277,122	43,193	47,189
C18:0	9,549	9,251	11,45	22,547	5,119	8,432
C18:1n-9	48,256	46,496	51,342	134,822	21,89	32,618
C18:2n-6	31,91	23,221	36,821	-	-	-
C18:3n-6	(0,02%) 0,082	ND	(0,012%) 0,056	-	-	-
C20:0	-	0,339	-	0,702	-	-
C20:3n-6	-	-	-	-	-	-
C20:4n-6	-	-	-	-	-	-
C20:5n-3	0,121	-	-	-	-	-
Lípido Total (µg)	407	279	460	746	127	168

132
151



EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

(21) No. SOLICITUD:	(51) INT. CL.:
(22) FECHA DE PRESENTACIÓN: 05-01-00	(71) SOLICITANTE: ABBOTT LABORATORIES
(30) PRIORIDAD:	
(31) No. DE SOLICITUD: 09/227.613	(72) INVENTOR/ES: Pradip Mukerji, Amanda Eun-Yeong Leonard, Yung-Sheng Huang y Jennifer M. Parker-Barnes
(32) FECHA DE PRESENTACIÓN: 08-01-99	
(33) PAÍS: US	(74) APODERADO: JOSE ANTONIO LLOREDA

(54) TÍTULO: " GEN DE LA DESATURASA HUMANA Y SUS USOS ."

(57) RESUMEN :

Reivindicación número 1.-

Una secuencia de nucleótidos aislada que corresponde ó es complementaria aprox. a por lo menos 50% la secuencia de nucleótidos representada por la ID SEC NO:1 (Figura 12).

Reivindicación número 8.-

Un método de producción de una $\Delta 5$ -desaturasa humana que comprende los pasos de:

- a) aislamiento de dicha secuencia de nucleótidos representada por la ID SEC NO:1 (Figura 12);
- b) construcción de un vector que comprende: i) dicha secuencia de nucleótidos aislada operablemente ligado a ii) un promotor;
- c) introducción de dicho vector dentro de una célula huésped bajo las condiciones y durante un tiempo suficientes para la expresión de dicha enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana.

Reivindicación número 15.-

Un vector que comprende a) una secuencia de nucleótidos como la representada por la ID SEC NO:1 (Figura 12) operablemente ligado a b) un promotor.

Reivindicación número 29.-

Un método para la producción de un ácido graso poliinsaturado que comprende los pasos de:

- a) aislamiento de dicha secuencia de nucleótidos representada por la ID SEC NO:1 (Figura 12);
- b) construcción de un vector que comprende dicha secuencia de nucleótidos aislada;
- c) introducción de dicho vector dentro de una célula huésped bajo las condiciones y durante un tiempo suficientes para la expresión de dicha enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana; y
- d) exposición de dicha enzima $\Delta 5$ -desaturasa humana expresada a un substrato ácido graso poliinsaturado con el fin de convertir dicho substrato en un producto ácido graso poliinsaturado.

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Patente de invención

Modelo de Utilidad

- ☒ Nombre e identificación del solicitante
- ☒ Nombre e identificación del inventor
- ☒ Título o nombre de la invención
- ☒ Descripción
- ☒ Reivindicaciones
- ☒ Resumen
- ☒ Comprobante de pago

☐

4

☐☐☐☐

COMPLETA

INCOMPLETA

Diseño Industrial

☐

- | | |
|--------------------------|--|
| ☐ | Nombre e identificación del solicitante |
| ☐ | Nombre e identificación del inventor o diseñador |
| ☐ | Indicación del género de productos para los cuales debe utilizarse |
| ☐ | Representación gráfica |
| ☐ | Comprobante de pago |

COMPLETA

INCOMPLETA

FIRMA RESPONSABLE.

Fecha _____

INFORME DE PROTOCOLO

Expediente 0-434.

Fecha: 13 de enero del 2000.

Se certifica que:

Desde fecha 19 de octubre de 1987,
del folio 54058 al folio 54062 del
libro de Protocolo N° 180, obra el poder
N° 11.700 conferido por ABBOTT
LABORATORIES

domiciliado(a) en Abbott Park - Illinois.
E.U.A.

al doctor JOSE LLORED A CAMACHO y/o ALFONSO
LLORED A CAMACHO y/o JOSE ANTONIO LLORED A

Representante en Santafé de Bogotá D.C. Los
mismos

Facultad para desistir si.

Revisado _____.



DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
PRIMER EXAMEN DE FORMA

430.
2000/01/13

EXPEDIENTE 0-434

Practicado el examen jurídico de acuerdo con lo establecido en el art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

- | | | |
|--|--|--|
| SI ☒ | NO ☐ | NO APLICABLE ☐ Presentó los poderes necesarios en forma correcta (Decisión 344, art. 14-a). |
| SI ☒ | NO ☐ | NO APLICABLE ☐ Acreditó, en forma correcta, la existencia y representación de la persona jurídica solicitante (art. 14-c de la Decisión 344; literal g) del art. 4 del Decreto 117/94). |
| SI ☒ | NO ☐ | NO APLICABLE ☐ Presentó, en forma correcta el comprobante de pago por la tasa de presentación establecida (art. 13-f de la Decisión 344 y la Resolución 02 del 4 de enero del 2000). |
| SI ☒ | NO ☐ | EXTEMPORANEAMENTE ☐ Reivindicó prioridad, dentro del plazo y de acuerdo con lo previsto en el Artículo 4 del Convenio de Paris. |
| SI ☐ | NO ☒ | NO APLICABLE ☐ Presentó copia, certificada su conformidad por la Administración que recibió la solicitud de la cual reivindica prioridad, al momento de radicar la solicitud nacional. |
| SI ☐ | NO ☒ | NO APLICABLE ☐ Presentó la traducción del capítulo reivindicatorio de la solicitud de la cual se reivindica prioridad (Art. 4, D-3 Convenio de París; Concepto: 5 de enero de 1999 S.I.C.). |
| SI ☐ | NO ☒ | CUMPLE LOS REQUISITOS JURIDICOS |

OBSERVACIONES JURIDICAS CONVENIO DE PARIS: En todo caso, deberá presentar copia certificada su conformidad por la Administración que recibió la solicitud de la cual reivindica prioridad, **en cualquier momento dentro del plazo de tres (3) meses**, contados a partir de la fecha de depósito de la solicitud posterior. La omisión de esta formalidad implicará la pérdida del derecho de prioridad.

En consecuencia, se conceptúa que esta solicitud:

- | | | |
|-----------------------------|--|--|
| SI ☐ | NO ☒ | Se ajusta a los aspectos FORMALES indicados en la Decisión 344 y por tanto, |
| SI ☐ | NO ☒ | Se recomienda PUBLICAR el extracto correspondiente. |

Santafé de Bogotá, D.C., 13 de enero del 2000

EXAMINADOR JURIDICO: Código 202002

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
1er EXAMEN DE FORMA

430.
2000/02/21

Radicación no 00000434

Concepto Técnico no 298 Clasificación Internacional de Patentes C12N¹⁵/53, C12N⁹/20

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

- SI ☒ NO ☐ Contiene la identificación correcta del inventor (Art.8, Art.13-a).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la identificación correcta del solicitante (Artículo 13-a).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el resumen con el objeto y finalidad de la invención en forma correcta (Art.13-e).
- SI ☐ NO ☒ Contiene el título o nombre de la invención en forma correcta (Art.13-b).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la descripción clara y completa de la invención (Art.13-c).
- SI ☒ NO ☐ Contiene los dibujos correctos (Art.14-c junto con el literal d) del Art. 4 del Dto. 117 del 94).
- SI ☒ NO ☐ Contiene las unidades de medida en el sistema exigido (Art.14-c junto con el Decreto 3464 del 26 de diciembre de 1980).
- SI ☐ NO ☒ Contiene una o más reivindicaciones, en forma correcta, que precisen la materia para la cual se solicita la protección mediante la patente (Art.13-d).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el extracto de acuerdo con el literal c) del artículo 4 del Dto. 117 /94.
- SI ☒ NO ☐ Contiene el arte final del dibujo característico de acuerdo con el literal c) del artículo 4 y el artículo 27 del Dto. 117 /94.
- SI ☒ NO ☐ Contiene la tarjeta del Archivo Temático [formato P-104] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la tarjeta del Archivo de Propietarios [formato P-105] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
- SI ☐ NO ☒ **CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS**

OBSERVACIONES Y OTROS: SI ☒ NO ☐ ver hoja(s) anexa(s)

Santa Fe de Bogotá, D.C., 21 de febrero /2000.

202016
EXAMINADOR TÉCNICO

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
PRIMER EXAMEN DE FORMA

372.
2000/02/21

CONCEPTO TÉCNICO: 298
EXPEDIENTE: 00000434
IPC: C15N 15/53, C12N 9/00,

Realizado el Primer Examen de Forma se hace la siguiente observación:

1. El título de la invención hace referencia a "gen de la desturasa humana y sus usos". Teniendo en cuenta que el uso no es patentable en Colombia debido a que el artículo 1 de la Decisión 344 no lo menciona de manera explícita, se recomienda modificar el título de manera que corresponda con las reivindicaciones de la solicitud pero no indique que el uso es parte de la invención.
2. Las reivindicaciones 1 y 7 no se encuentran totalmente definidas ya que contiene palabras subjetivas como "aproximadamente" las cuales no delimitan de manera precisa la invención. Además decir que una secuencia de nucleótidos es 50% complementaria con otra no permite establecer cual es la secuencia que se desea proteger. Se recomienda que omita el término aproximadamente y se elimine el segmento que se refiere a una secuencia de nucleótidos que es 50% complementaria a otra pues esto le resta exactitud a la reivindicación.
3. De manera similar, la reivindicación 8 no se encuentra totalmente definida ya que contiene palabras subjetivas como "tiempo suficiente" que permite delimitar como es el método que se desea proteger en la solicitud. Se recomienda que se mencionen exactamente cuales son dichas condiciones.
4. Las reivindicaciones 23 y 24 no son claras debido a que en ellas se hace mención de dos objetos de invención: una célula de planta y un tejido de planta. Sírvase dividir en dos reivindicaciones para que solo se reivindique un objeto por reivindicación.
5. La reivindicación 25 no precisa el objeto de la invención puesto que decir que dichos aceites son expresados por una planta o por las células de una planta recombinante no permite establecer cual es la molécula para la cual se solicita protección. Se recomienda que esta reivindicación sea eliminada o que defina la estructura química del aceite que se desea proteger puesto que sin esta información no es posible saber cual la invención y que la caracteriza como novedosa y por ende no es posible hacer el análisis de novedad, nivel inventivo y aplicación industrial que se requiere para determinar si la invención es patentable.
6. En consecuencia a lo anterior, sírvase presentar nueva tarjeta temática, nueva tarjeta para el archivo de propietarios y nuevo extracto de publicación.

Santa Fe de Bogotá, 21 de febrero de 2000

/ 202016

430.
165

EXPEDIENTE 0-434

AUTO 0044

430.
2000/03/02

LA JEFE DE LA DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DISPONE

ARTICULO PRIMERO: Reconocer personería al doctor Jose Antonio Lloreda, como apoderado del solicitante, en los términos y para los efectos del poder conferido

ARTICULO SEGUNDO: Conforme lo establece el artículo 22 de la Decisión 344 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena, requiérsele al solicitante, para que dentro del plazo de treinta (30) días hábiles siguientes a la fecha de notificación del auto, presente respuesta a las observaciones o complemente los antecedentes señalados en el examen de forma.

ARTICULO TERCERO: Notificar por estado el presente auto, advirtiéndole que contra el no procede recurso alguno en la vía gubernativa.

NOTIFIQUESE Y CUMPLASE

29 FEB. 2000

Dado en Santafé de Bogotá D.C., a los _____

LA JEFE DE LA DIVISION DE NUEVAS CREACIONES,

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL

NOTIFICADO POR ESTADO

Santafé de Bogotá D.C., _____ notificado por anotación en estado de esta misma fecha.

VENCIMIENTO NOTIFICACION ESTADO

SOLICITO PRORROGA TERMINO SI _____ NO _____

VENCIMIENTO TERMINO PRORROGA