



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 600 28 195 T2 2007.03.15**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 169 343 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **600 28 195.7**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US00/09437**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **00 918 540.6**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2000/061621**

(86) PCT-Anmeldetag: **07.04.2000**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **19.10.2000**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **09.01.2002**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **24.05.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **15.03.2007**

(51) Int Cl.⁸: **C07K 14/435 (2006.01)**

C12N 15/12 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

128704 P 09.04.1999 US

(73) Patentinhaber:

Heska Corp., Fort Collins, Col., US

(74) Vertreter:

Rüger und Kollegen, 73728 Esslingen

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**BRANDT, Kevin S., Fort Collins, Colorado 80525,
US; GAINES, Patrick J., Fort Collins, Colorado
80526, US; STINCHCOMB, T., Dan, Fort Collins, CO
80528, US; WISNEWSKI, Nancy, Fort Collins, CO
80526, US**

(54) Bezeichnung: **PROTEINE UND NUKLEINSÄUREMOLEKÜLE DES KOPFES, DES NERVENKORDS, DER TIEFEREN DARMABSCHNITTE UND DES MALPIGHI-GEFÄSSES DES FLOHS UND IHRE VERWENDUNGEN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Gebiet der Erfindung

[0001] Die Erfindung betrifft Nukleinsäuremoleküle, die aus dem Kopf- und Nervenstrang vom Floh isoliert sind, Nukleinsäuremoleküle, die aus dem Hindgut und Malpighi-Tubulus vom Floh isoliert sind, Proteine, für die durch derartige Nukleinsäuremoleküle kodiert werden, gegen derartige Proteine gezüchtete Antikörper, und Hemmstoffe derartiger Proteine. Die vorliegende Erfindung betrifft ferner therapeutische Zusammensetzungen, die derartige Nukleinsäuremoleküle, Proteine, Antikörper und/oder sonstige Hemmstoffe enthalten, sowie Verwendungen davon.

HINTERGRUND ZU DER ERFINDUNG

[0002] Flohbefall von Tieren ist von gesundheitlichem und wirtschaftlichem Belang, da Flöhe als Ursache und/oder Überträger vielfältiger Erkrankungen bekannt sind. Flöhe sind unmittelbare Verursacher vielfältiger Erkrankungen, zu denen Allergien gehören, und sind Träger einer Reihe von infektiösen Substanzen, zu denen, jedoch ohne darauf beschränken zu wollen, Endoparasiten (z.B. Nematoden, Zestoden, Trematoden und Protozoen), Bakterien und Viren zählen. Insbesondere ist Flohbiss ein Problem bei als Schoßtiere gehaltenen Haustieren, da der Befall nicht nur für das Tier eine Belästigung darstellt, sondern auch für dessen Besitzer, dessen Wohnung sich möglicherweise generell als von den Insekten befallen erweist. Die Flöhe bilden somit nicht nur ein Problem durch den Befall des Tieres, sondern auch durch ihr Auftreten in der gesamten Umgebung des Tieres.

[0003] Flohbisse sind besonders problematisch, da sie nicht nur eine mögliche Ursache von Krankheitsübertragungen sind, sondern auch allergische Reaktionen in Lebewesen hervorrufen können, die sich als Erkrankung manifestieren. Beispielsweise können Flohbisse zu einer allergische Erkrankung führen, die als Flohallergie oder Flohdermatitis (FAD = Flea Allergic (Allergy) Dermatitis) bekannt ist. Eine überempfindliche Reaktion in Tieren führt gewöhnlich zu einer örtlichen Entzündung und Schädigung von Gewebe, die eine erhebliche Beeinträchtigung für das Tier darstellt.

[0004] Die medizinische Bedeutung von Flohbefall hat die Entwicklung von Wirkstoffen gefördert, die in der Lage sind, den Flohbefall einzudämmen. Üblicherweise in Frage kommende Verfahren zur Bekämpfung von Flohbefall konzentrieren sich auf den Einsatz von Insektiziden. Während einige dieser Produkte effizient wirken, bieten die meisten bestenfalls eine Schutz von sehr beschränkter Dauer. Außerdem sind viele der Verfahren häufig bei der Verringerung der Flohpopulationen ohne Erfolg. Insbesondere wurden zur Verhinderung von Flohbefall von Tieren Insektizide eingesetzt, die Shampoos, Pulvern, Halsbändern, Sprays, Spot-on-Vernebler und Badelotionen (d.h. Tauchbädern) hinzugefügt wurden. Die Verminderung des Flohbefalls eines Haustiers war bisher aus einem oder mehreren der folgenden Gründe erfolglos: fehlerhaftes Verhalten des Haustierbesitzers (häufige Anwendung ist Voraussetzung); verhaltensbezogene oder physiologische Unverträglichkeit des Haustiers gegenüber der Pestizidsubstanz oder dem Verabreichungsmittel; und die Entstehung von Flohpopulationen, die gegen die vorgeschriebene Pestiziddosis resistent sind.

[0005] Es besteht daher ein Bedarf nach der Entwicklung eines Wirkstoffs und eines Verfahrens zum Schutz von Tieren vor Flohbefall.

KURZDARSTELLUNG DER ERFINDUNG

[0006] Die Erfindung betrifft ein neues Produkt und Verfahren zum Schutz von Tieren vor Flohbefall.

[0007] Die vorliegende Erfindung schafft flohspezifische Kopf- und Nervenstrang-(HNC = Head and Nerve Cord)-Proteine und Hindgut- und flohspezifische Malpighi-Tubulus-(HMT = Hindgut and Malpighian Tubule)-Proteine; Nukleinsäuremoleküle, die für flohspezifische HNC-Proteine und flohspezifische HMT-Proteine kodieren; Antikörper, die gegen derartige Proteine gezüchtet sind (d.h. anti-flohspezifische HNC-Antikörper bzw. anti-flohspezifische HMT-Antikörper); Mimotope derartiger Proteine oder solcher Antikörper; und Verbindungen, die flohspezifische HNC- oder HMT-Aktivität verhindern (d.h. inhibierende Compounds oder Hemmstoffe).

[0008] Die vorliegende Erfindung betrifft ferner Verfahren zum Gewinnen derartiger Proteine, Nukleinsäuremoleküle und Antikörper. Die vorliegende Erfindung betrifft ferner den Einsatz von Proteinen und Antikörpern, um derartige inhibierende Compounds zu identifizieren, sowie Testzusammenstellungen zum Identifizieren

derartiger inhibierender Compounds. Außerdem betrifft die Erfindung therapeutische Zusammensetzungen, die Proteine, Nukleinsäuremoleküle, Antikörper der vorliegenden Erfindung enthalten; weiter sind Verwendungen derartiger therapeutischer Compounds zum Reduzieren von Flohbefall eingeschlossen.

[0009] Die vorliegende Erfindung schafft ein isoliertes Nukleinsäuremolekül, das eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die zumindest zu 70% mit einer Nukleinsäuresequenz identisch ist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören, wobei die Nukleinsäuresequenz für ein Polypeptid kodiert, das eine Allantoinase-Aktivität aufweist.

[0010] In einem Ausführungsbeispiel weist das Nukleinsäuremolekül eine Nukleinsäuresequenz auf, die zumindest zu 80% identisch mit einer Nukleinsäuresequenz ist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören.

[0011] In noch einem weiteren Ausführungsbeispiel weist das Nukleinsäuremolekül eine Nukleinsäuresequenz auf, die zumindest zu 90% identisch mit einer Nukleinsäuresequenz ist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören.

[0012] In einem weiteren Ausführungsbeispiel weist das Nukleinsäuremolekül eine Nukleinsäuresequenz auf, die zumindest zu 95% mit einer Nukleinsäuresequenz identisch ist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören.

[0013] Vorzugsweise ist das Nukleinsäuremolekül aus der Gruppe ausgewählt, zu der gehören: ein Nukleinsäuremolekül, das eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören; und eine allele Variante eines Nukleinsäuremoleküls, das eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören.

[0014] Darüber hinaus kodiert das Nukleinsäuremolekül vorzugsweise für ein Protein, das eine Aminosäuresequenz aufweist, die zumindest zu etwa 75% identisch mit SEQ ID NO: 2 ist.

[0015] Weiter kodiert das Nukleinsäuremolekül eher bevorzugt für ein Protein das SEQ ID NO: 2 aufweist.

[0016] Die vorliegende Erfindung schafft ferner ein wie oben erläutertes rekombinantes Molekül, das operativ an eine Transkriptionssteuersequenz gelinkt ist. Die Erfindung schafft ferner ein rekombinantes Virus und eine rekombinante Zelle, die das oben erläuterte Nukleinsäuremolekül enthält.

[0017] Noch ein weiteres Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung betrifft ein Verfahren zum Herstellen eines Proteins, für das die oben erwähnten Nukleinsäuresequenzen kodieren, wobei das isolierte Protein selbst eine Allantoinase-Aktivität aufweist.

[0018] Die vorliegende Erfindung betrifft ferner einen isolierten Antikörper, der selektiv an das Protein bindet, und ein Verfahren zum Identifizieren eines Compounds, das in der Lage ist, die Aktivität des isolierten Proteins zu inhibieren, wobei zu dem Verfahren die Schritte gehören, das isolierte Protein mit einem mutmaßlich inhibierenden Compound unter Bedingungen zusammenzubringen, in denen das Protein in Abwesenheit der Verbindung eine Aktivität zeigt; und festzustellen, ob das mutmaßlich inhibierende Compound die Aktivität inhibiert.

[0019] Darüber hinaus ist in einem weiteren Ausführungsbeispiel eine Zusammenstellung zum Identifizieren eines Compounds geschaffen, das in der Lage ist, die Aktivität des isolierten Proteins zu inhibieren, wobei die Testzusammenstellung das isolierte Protein und ein Mittel enthält, um das Maß der Aktivität in Gegenwart eines mutmaßlich inhibierenden Compounds zu bestimmen.

[0020] Die vorliegende Erfindung schafft ferner eine Zusammensetzung mit einem Exzipienten und einer Verbindung, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: (a) das isolierte Nukleinsäuremolekül as; (b) das isolierte Protein; und (c) der isolierte Antikörper. Die Zusammensetzung kann ferner eine Komponente enthalten, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören ein Adjuvans und ein Trägerstoff. Eine derartige Zusammensetzung kann in einem Verfahren zum Schutz eines Tieres gegen Flohbefall verwendet werden.

[0021] Die vorliegende Beschreibung enthält lediglich die Auflistung jene Sequenzen, die einen Bestandteil der Erfindung bilden (Seiten 1–11, die SEQ ID NO: 1–6 enthalten). Die Sequenzaufstellung sämtlicher sonstiger Sequenzen, die nicht Bestandteil der Beschreibung sind, wurde nicht in die Beschreibung aufgenommen,

da sie sich ohne weiteres aus der veröffentlichten Internationalen Patentanmeldung entnehmen lassen.

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0022] Die vorliegende Erfindung schafft Nukleinsäuremoleküle, die aus dem Kopf- und/oder dem Nervenstrang vom Floh isoliert sind, Nukleinsäuremoleküle, die aus dem Hindgut und/oder dem Malpighi-Tubulus vom Floh isoliert sind, Proteine, für die derartige Nukleinsäuremoleküle kodieren, Antikörper, die gegen derartige Proteine gezüchtet sind, und Hemmstoffe derartiger Proteine. In dem hier verwendeten Sinne werden Nukleinsäuremoleküle, die von dem Kopf- und/oder Nervenstrang vom Floh isoliert wurden, und auch als flohspezifische HNC- oder HNC-Nukleinsäuremoleküle bzw. Proteine bezeichnete Proteine, für die derartige Nukleinsäuremoleküle kodieren; und Nuklein(säure)moleküle, die von dem Hindgut und/oder den Malpighi-Tubuli vom Floh isoliert wurden, und Proteine, für die derartige Nukleinsäuremoleküle kodieren, werden als flohspezifische HMT- oder HMT-Nukleinsäuremoleküle bzw. Proteine bezeichnet. HNC-Nukleinsäuremoleküle und HMT-Nukleinsäuremoleküle der vorliegenden Erfindung sind Nukleinsäuremoleküle, die in erster Linie in HNC-Geweben bzw. HMT-Geweben von Flöhen exprimiert werden, die jedoch auch in Zellen exprimiert werden können, die von Flohgeweben abgeleitet sind, die nicht HNC- oder HMT-Gewebe sind. HNC- und HMT-Nukleinsäuremoleküle bzw. Proteine der vorliegenden Erfindung können von einem Floh isoliert werden, oder rekombinant oder synthetisch zubereitet werden. HMT- und HNC-Nukleinsäuremoleküle der vorliegenden Erfindung können RNA- oder DNA-Moleküle sein; Beispiele von Nukleinsäuremolekülen umfassen, ohne darauf beschränkt zu sein, komplementäre DNA-(cDNA)-Moleküle, genomische DNA-Moleküle, synthetische DNA-Moleküle, DNA-Moleküle, die spezifische Markierungen für Messenger-RNA sind, die von HMT- und HNC-Geweben abgeleitet ist, und entsprechende mRNA-Moleküle. In dem hier verwendeten Sinne beziehen sich die Ausdrücke "HMT- und/oder HNC-Protein" und "HMT- und HNC-Protein" auf ein Protein, das entweder durch ein flohspezifische HMT-Gewebe oder durch ein flohspezifisches HNC-Gewebe, oder sowohl durch ein flohspezifische HMT- als auch ein HNC-Gewebe exprimiert ist. In dem hier verwendeten Sinne beziehen sich die Ausdrücke "HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül" und "HMT- und HNC-Nukleinsäuremolekül" auf ein Nukleinsäuremolekül, das von einer HMT-cDNA-Bibliothek, von einer HNC-cDNA-Bibliothek oder von beiden Bibliotheken isoliert ist, oder auf ein dementsprechendes Gen.

[0023] Im Vorliegenden sind Nukleinsäuremoleküle beschrieben, die partiell oder in voller Länge kodierende Regionen enthalten, die für die folgenden flohspezifischen Proteine kodieren: ein Allantoinase-(ALN)-Protein.

[0024] Allantoinase ist an der Katalyse der Reaktion beteiligt, die Allantoin zu Allantoinsäure umwandelt. Dies ist ein mittlerer Schritt im Purin-Katabolismus, der in Insekten zur Absonderung des Endprodukts Harnstoff führt. Das Enzym befindet sich in den Peroxisomen der Leber und Niere von Amphibien. Für Allantoinase existiert kein bekanntes Säuger-Homolog, da Säuger Harnsäure absondern, die gegenüber Allantoin eine Präkursorsubstanz ist. Dementsprechend bietet sich flohspezifische Allantoinase als ein neues Target für Vakzine und chemotherapeutische Medikamente gegen Flöhe an.

[0025] Flohspezifische Allantoinase-Nukleinsäuremoleküle bekannter Länge, die von *C. felis* isoliert sind, werden mit "nCfALN_#" bezeichnet, beispielsweise nCfALN₂₀₅₇, wobei "#" für die Anzahl von Nukleotiden in dem Molekül steht, und Allantoinaseproteine bekannter Länge werden mit "PCfALN_#" bezeichnet (beispielsweise PCfALN₃₈₄), wobei "#" die Anzahl von Aminosäuren angibt. Weiter sind HMT- und HNC-DNA-Moleküle beschrieben, die spezifische Markierungen für Messenger-RNA-Moleküle sind, die von HMT- und HNC-Geweben abgeleitet sind.

[0026] Solche DNA-Moleküle können einer gesamten oder einer Teilsequenz einer Messenger-RNA entsprechen, und ein DNA-Molekül, das einem solchen Messenger-RNA-Molekül (d.h. einem cDNA-Molekül) entspricht, kann daher für ein Protein voller Länge oder partieller Länge kodieren. Ein Nukleinsäuremolekül, das für ein Protein partieller Länge kodiert kann unmittelbar als Sonde oder mittelbar verwendet werden, um Primer zu erzeugen, die dazu dienen, eine cDNA-Nukleinsäuremolekül zu identifizieren und/oder zu isolieren, das für ein entsprechendes oder strukturell verwandtes Protein voller Länge kodiert. Ein derartiges partielles cDNA-Nukleinsäuremolekül kann außerdem in einer ähnlichen Weise verwendet werden, um ein genomisches Nukleinsäuremolekül, beispielsweise ein Nukleinsäuremolekül, das das vollständige Gen, einschließlich regulatorischer Regionen, Exons und Introns enthält, zu identifizieren. Verfahren zum Einsatz partieller HMT- und HNC-cDNA-Moleküle und Sequenzen zum Isolieren von Transkripten voller Länge sowie entsprechende cDNA-Moleküle sind in den weiter unten folgenden Beispielen beschrieben.

[0027] Die im Vorliegenden beschriebenen Proteine und Nukleinsäuremoleküle lassen sich aus ihrer natürlichen Quelle gewinnen oder können beispielsweise mittels rekombinanter Nukleinsäuretechnologie oder che-

mischer Synthese erzeugt werden. Außerdem ist die Verwendung dieser Proteine und Nukleinsäuremoleküle sowie die gegen dieselben wirkenden Antikörper und inhibierende Compounds als therapeutische Zusammensetzungen, die dazu dienen, Tiere vor Flohbefall zu schützen, sowie für sonstige Anwendungen beschrieben, wie sie beispielsweise weiter unten offenbart sind.

[0028] Flohspezifische HMT- und HNC-Proteine und Nukleinsäuremoleküle der vorliegenden Erfindung erweisen sich als nützlich, da sie neue Targets für wirksame Impfstoffe und chemotherapeutische Medikamente gegen Arthropoden repräsentieren. Die Produkte und Verfahren der vorliegenden Erfindung sind vorteilhaft, da sie im Falle von Arthropoden die Inhibierung von Entwicklungs-, Metamorphose-, Ernährungs-, Verdauungs- und/oder Reproduktionsprozessen ermöglichen, bei denen HMT- und/oder HNC-Proteine beteiligt sind.

[0029] Der Kopf- und Nervenstrang des Flohs, zu dem Fühler, Gehirn, Corpora cardiacum, Corpora allata sowie Subesophagus- und abdominale Gangliengewebe gehören, sind von Interesse, da solche Gewebe in hohem Maße für Transkripte angereichert sind, die für neuronale und endokrine Targets sowie für Targets kodieren, die an chemosensorischer und mechanosensorischer Rezeption beteiligt sind. Durch Sequenzieren von cDNA-Fragmenten aus einer Bibliothek, die in Nukleinsäuresequenzen von Kopf- und Nervenstrang des Flohs (die hier mit HNC-Nukleinsäuresequenzen bezeichnet sind) angereichert ist, werden Gene und deren entsprechenden kodierenden Regionen voller Länge identifiziert, die integral an neuronalen und endokrinen Funktionen des Flohs beteiligt sind. Wenn diese Gene identifiziert sind, können sie weiter charakterisiert werden, und es werden spezifische Eingriffsstrategien entwickelt. Flohspezifische HNC-Proteine und Nukleinsäuremoleküle der vorliegenden Erfindung erweisen sich an sich als nützlich, da sie neue Targets für Impfstoffe und chemotherapeutische Medikamente gegen Arthropoden repräsentieren.

[0030] Sich von Blut ernährende Insekten wie Flöhe nehmen bezogen auf ihr Körpergewicht große Mengen Blut auf und sind als solche daran angepasst, das Volumen der aufgenommenen Blutmahlzeit durch eine rasche Eliminierung des Wassers zu reduzieren. Darüber hinaus sind die Konzentrationen von Natrium-, Kalium- und Chlorid-Ionen in der Blutmahlzeit größer als in der Hämolymphe von Flöhen, was die Ausscheidung überschüssiger Mengen dieser Ionen verlangt. Der aktive Transport dieser Ionen aus der Hämolymphe in die Lumen der Malpighi-Tubuli und des Hindguts ist auch ein Motor für den passiven Transport von Wasser und sonstiger Hämolympheinhalte in diese Organe. Beim Durchqueren dieser Organe werden Abfallprodukte aus der Hämolymphe ausgeschieden und vitale Nährstoffe, Wasser und Salze absorbiert. Ein Eingreifen in diese lebenswichtigen Prozesse bildet daher eine wichtige Strategie in der Entwicklung eines Produkts zur Bekämpfung von Flohbefall. Durch Sequenzieren von cDNA-Fragmenten aus einer Bibliothek, die in Hindgut- und Malpighi-Tubulus-Nukleinsäuresequenzen (die hier als HMT-Nukleinsäuresequenzen bezeichnet sind) angereichert ist, werden an diesen Prozessen integral beteiligte Gene und ihre entsprechenden kodierenden Regionen voller Länge identifiziert. Nachdem diese Gene einmal identifiziert sind, werden sie weiter charakterisiert, und es lassen sich spezifische Eingriffsstrategien entwickeln. Als solche erweisen sich Flohspezifische HMT-Proteine und Nukleinsäuremoleküle der vorliegenden Erfindung als nützlich, da sie neue Targets für Impfstoffe und chemotherapeutische Medikamente gegen Arthropoden repräsentieren.

[0031] Die vorliegende Erfindung beschreibt ein isoliertes Protein, das ein flohspezifisches HMT- und/oder HNC-Protein beinhaltet. Zu beachten ist, dass der mit einer Instanz verbundene unbestimmte Artikel "ein" oder "eine" sich auf ein oder mehrere Einheiten der betreffenden Instanz bezieht; beispielsweise bedeutet "ein Protein", "ein Nukleinsäuremolekül", "ein Antikörper" und "eine therapeutische Zusammensetzung" jeweils "ein oder mehrere" oder "mindestens ein" Protein, Nukleinsäuremolekül, Antikörper bzw. therapeutische Zusammensetzung. Dementsprechend können die Begriffe "ein", "ein oder mehrere" und "mindestens eine" (bzw. deren grammatikalische Formen) im Vorliegenden untereinander austauschbar verwendet werden. Ferner ist zu beachten, dass die Begriffe "aufweisen", "enthalten" und "haben" untereinander austauschbar verwendet werden können. Dementsprechend ist ein isoliertes oder biologisch reines Protein, ein Protein, das von seiner natürlichen Umgebung abgetrennt wurde. Dementsprechend geben die Begriffe "isoliert" und "biologisch rein" nicht unbedingt den Grad wieder, bis zu dem das Protein purifiziert wurde. Ein isoliertes Protein der vorliegenden Erfindung kann aus dessen natürlicher Quelle gewonnen, mittels rekombinanter DNA-Technologie erzeugt oder durch chemische Synthese hergestellt sein.

[0032] In dem hier verwendeten Sinne können isolierte erfindungsgemäße HMT- und/oder HNC-Proteine vom Floh Proteine voller Länge oder beliebige Homologe derartiger Proteine sein. Ein isoliertes Protein, wie es hier beschrieben ist, einschließlich eines Homologs, kann anhand der Fähigkeit des Proteins, eine Immunantwort gegen ein flohspezifisches HMT- und/oder HNC-Protein hervorzurufen, oder anhand der HMT- und/oder HNC-Aktivität des Proteins in einer unkomplizierten Weise identifiziert werden. Zu Beispielen von Homologen zu flohspezifischen HMT- und HNC-Proteinen zählen flohspezifische HMT- und HNC-Proteine, in denen Ami-

nosäuren gelöscht (wie im Falle einer verkürzten Version des Proteins, beispielsweise eines Peptids), eingeführt, invertiert, substituiert und/oder (z.B. durch Glykosylierung, Phosphorylierung, Azetylierung, Myristylierung, Prenylierung, Palmitoylierung, Amidierung und/oder Hinzufügen von Glycerophosphatidyl-Inositol) derivatisiert wurden, so dass das Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das in der Lage ist, eine Immunantwort gegen ein flohspezifisches HMT- oder HNC-Protein hervorzurufen und/oder an einen gegen ein flohspezifisches HMT- oder HNC-Protein gerichteten Antikörper zu binden. D.h., ein Tier wird, nachdem ihm das Homolog durch in der Fachwelt bekannte Techniken als Immunogen verabreicht wurde, eine Immunantwort gegen wenigstens ein Epitop eines natürlichen flohspezifischen HMT- oder HNC-Proteins hervorbringen. Die Fähigkeit eines Proteins, eine Immunantwort hervorzurufen, kann durch Techniken gemessen werden, die dem Fachmann bekannt sind. In dem hier verwendeten Sinne bezeichnet der Begriff "Epitop" den kleinsten Abschnitt eines Proteins oder eines sonstigen Antigens, der in der Lage ist, selektiv an die Antigenbindungsstelle eines Antikörpers oder eines T-Zellenrezeptors zu binden. In der Fachwelt ist allgemein anerkannt, dass die minimale Größe eines Proteinepitops etwa vier bis sechs Aminosäuren beträgt. Wie dem Fachmann klar ist, kann ein Epitop auf natürliche Weise zusammenhängende Aminosäuren sowie Aminosäuren aufweisen, die aufgrund der tertiären Struktur des natürlichen Proteins sich in ausreichend enger räumlicher Nachbarschaft befinden, um ein Epitop zu bilden.

[0033] Dementsprechend beinhaltet ein Epitop einen Abschnitt eines Proteins, der wenigstens etwa 4 Aminosäuren, wenigstens etwa 5 Aminosäuren, wenigstens etwa 6 Aminosäuren, wenigstens etwa 10 Aminosäuren, wenigstens etwa 15 Aminosäuren, wenigstens etwa 20 Aminosäuren, wenigstens etwa 25 Aminosäuren, wenigstens etwa 30 Aminosäuren, wenigstens etwa 35 Aminosäuren, wenigstens etwa 40 Aminosäuren oder wenigstens etwa 50 Aminosäuren lang ist.

[0034] Geschaffen ist ein flohspezifische Homolg-Protein, das eine HMT- oder HNC-Aktivität aufweist, d.h. das Homolog zeigt eine Aktivität, die der Aktivität seiner natürlichen Entsprechung ähnelt. Beispiele solcher Aktivitäten sind im Vorliegenden offenbart; z.B. sämtliche. Verfahren zum Erfassen und Messen derartiger Aktivitäten sind in der Fachwelt bekannt. Beispiele solcher Aktivitäten sind im Vorliegenden offenbart; beispielsweise sind dies Allantoinase, Chitinbindungsprotein, Natrium/Kalium-ATPase, ligandgesteuerter Chloridkanal, ANON/23DA, Malvolio, Protein der Art geruchsbindender Proteine, N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor assoziiertes Protein, chemischen Sinn betreffendes lipophiles Ligandenbindungsprotein, Protein vom Typ eines Natrium/Wasserstoff-Trägers, ein Protein vom Typ eines Intrazellulären-Chloridkanals, ein peritrophinartiges Protein, peritrophinartiges Protein, ein peritrophinartiges Protein, ein Protein der Art eines Synapsenbläschens 2B, ein Protein der Art eines spannungsgesteuerten Chlorids, ein durch Anoxie hochgeregeltes proteinähnliches Protein und ein Protein der Art eines neuroendokrinspezifischen 7B2.

[0035] HMT- und/oder HNC-Homolog-Proteine des Flohs können das Ergebnis natürlicher alleler Veränderung oder natürlicher Mutation sein. Erfindungsgemäße HMT- und/oder HNC-Protein-Homologe des Flohs können auch durch nach dem Stand der Technik bekannte Verfahren erzeugt sein, zu denen, jedoch ohne darauf beschränken zu wollen, unmittelbare Modifikationen an dem Protein oder Modifikationen an dem für das Protein kodierenden Gen, beispielsweise mittels klassischer oder rekombinanter DNA-Techniken gehören, die zum zufälligen oder gezielten Hervorrufen von Mutagenese dienen.

[0036] Die beschriebenen flohspezifischen HMT- und HNC-Proteine werden durch flohspezifische HMT- bzw. HNC-Nukleinsäuremoleküle kodiert. In dem hier verwendeten Sinne gehören zu den flohspezifischen HMT- und HNC-Nukleinsäuremolekülen Nukleinsäuresequenzen, die mit natürlichen flohspezifischen HMT- und HNC-Genen, und vorzugsweise mit *Ctenocephalides felis* HMT- und HNC-Genen verwandt sind. In dem hier verwendeten Sinne gehören zu flohspezifischen HMT- und HNC-Genen sämtliche Regionen, die beispielsweise regulatorische Regionen sind, die die Erzeugung von flohspezifischen HMT- und HNC-Proteinen steuern, für die derartige Gene kodieren (beispielsweise, jedoch ohne darauf beschränkt zu sein, Transkriptions-, Translations- oder Posttranslations-Steuerungsregionen), sowie die kodierende Region selbst und beliebige Introns oder nicht übersetzte kodierende Regionen. In dem hier verwendeten Sinne kann ein Nukleinsäuremolekül, das eine Sequenz "enthält" oder "aufweist" die betreffende Sequenz in einer zusammenhängenden Anordnung enthalten, oder kann die Sequenz, wie es häufig bei einem Flohgen anzutreffen ist, in Form von in Fragmente zerlegte Exons enthalten. In dem hier verwendeten Sinne bezeichnet der Begriff "kodierende Region" ein kontinuierliches lineares Feld von Nukleotiden, das in ein Protein translatiert. Eine in voller Länge kodierende Region ist eine kodierende Region, die in ein Protein voller Länge übersetzt wird, d.h. in ein vollständiges Protein, wie es ursprünglich vor jeder post-translationalen Modifikation in seiner natürlichen Umgebung übersetzt werden würde.

[0037] Ein Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung ist ein *C. felis* ALN Gen, das die Nukleinsäurese-

quenz SEQ ID NO: 1 und/oder SEQ ID NO: 4 enthält. Diese Nukleinsäuresequenzen werden im Vorliegenden näher beschrieben. Beispielsweise repräsentiert die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1 die abgeleitete Sequenz des kodierenden Strangs einer *C. felis* cDNA, die hier als *C. felis* ALN Nukleinsäuremolekül nCfALN₂₀₅₇ bezeichnet ist, dessen Herstellung in den Beispielen offenbart ist. Das Nukleinsäuremolekül SEQ ID NO: 1 weist eine offensichtlich in voller Länge kodierende Region auf. Das (hier mit SEQ ID NO: 3 bezeichnete) Komplement von SEQ ID NO: 1 bezieht sich auf die Nukleinsäuresequenz des Strangs, der gegenüber dem Strang mit SEQ ID NO: 1 vollkommen komplementär ist und sich durch den Fachmann ohne weiteres ermitteln lässt.

[0038] Eine Translation von SEQ ID NO: 1, dem kodierenden Strang von nCfALN₂₀₅₇, sowie eine Translation von SEQ ID NO: 4, dem kodierenden Strang von nCfALN₁₁₅₂, der die kodierende Region von SEQ ID NO: 1 repräsentiert, liefert jeweils ein hier als PCfALN₃₈₄ bezeichnetes Protein ein Länge von etwa 384 Aminosäuren, dessen Aminosäuresequenz in SEQ ID NO: 2 präsentiert ist, wobei ein erstes In-Frame-Codon vorausgesetzt wird, das sich von Nukleotid 1 bis Nukleotid 3 von SEQ ID NO: 4 erstreckt.

[0039] Die Tabelle I listet unterschiedliche flohspezifische HNC-Nukleinsäuremoleküle auf, die in Vorliegenden beschrieben werden. Außerdem sind in Tabelle I Nukleinsäuremoleküle anderer Organismen erwähnt, die die größte Sequenzübereinstimmung mit den erwähnten HNC-Sequenzen der vorliegenden Erfindung aufweisen, wie sie ermittelt wurde, indem jede HNC-Sequenz unter Verwendung des BLAST-Netzwerks einer Suche durch Center for Biotechnology Information (NCBI), National Library of Medicine, National Institute of Health, Baltimore, Maryland, unterworfen wurde. Diese Datenbank schließt die Datenbanken SwissProt + PIR + SPupdate + GenPept + GPUupdate + PDB ein. Die Suche wurde unter Verwendung von Standardparametern mittels der xBLAST-Funktion durchgeführt.

TABELLE I

SEQ ID NO	Be- zeichn.	GenBank-Homologie	Organismus
63	2096-46	ATPase 6	<i>D. melanogaster</i>
64	2098-25	ATP-Synthase-Deltakette	<i>Sus scrofa</i>
65	2098-34	F1-ATPase Epsilon-Untereinheit	<i>Ipomoea batatas</i>
66	2110-19	ATP-Synthase-Beta-Untereinheit	<i>Drosophila pseudoobscura</i>
67	2113-15	ATP-Synthase-Deltakette,	<i>Sus scrofa</i>

68	2180-31	ATP-Synthase-Alpha-Untereinheit Präkursor	Rattus rattus
69	2224-50	Oligomycin-Empfindlichkeit verleihendes Protein	D. melanogaster
70	2116-51	Cysteindioxygenase	Homo sapiens
71	2116-55	Pyrrolin-5-Carboxylat-Dehydrogenase (P5CDh)	Homo sapiens
72	2124-17	AMP-Deaminase	Homo sapiens
73	2138-38	Ubiquitin	Mus musculus
74	2184-59	Mangansuperoxiddismutase	Homo sapiens
75	2096-24	Muskel-LIM-Protein 1	D. melanogaster
76	2140-53	F25H5.1a	C. elegans
77	2176-41	ausgefranst	D. melanogaster
78	2223-11	LlMm-Domäne enthaltendes Protein	C. elegans
79	2223-53	gelöscht in Spalthand/Spaltfuß 1 (DSS1)	Homo sapiens
80	2225-28	sas	D. melanogaster
81	2099-61	Histon H3	Spisula solidissima
82	2114-21	STE12	S. cerevisiae
83	2117-4	Rad51 Homolog	Bombyx mori
84	2138-46	Heat Shock Protein p27	D. immitis
85	2182-37	Heat Shock Protein 70	D. immitis
86	2211-32	BTB-II Proteindomänen	D. melanogaster
87	2223-7	Heat Shock Protein	D. melanogaster
88	2224-17	Heat Shock Protein 86	Homo sapiens
89	2225-16	POU-Domänenprotein	D. melanogaster
90	2225-18	Nucleolin	Xenopus laevis
91	2212-85	Schilddrüsenhormonrezeptor-zugeordnetes Proteinkomplex Komponente TRAP220	Homo sapiens
92	2211-21	T03D8.3	C. elegans
93	2223-67	von Hepatom abgeleiteter Wachstumsfaktor (HDGF)	Mus musculus
94	2225-61	Tyrosin-Hydroxylase Typ 1 (neuronal Form)	D. melanogaster
95	2097-7	sarco/endoplasmatisches Retikulum-Typ Ca-2+-ATPase	D. melanogaster
96	2098-27	Calcium-transportierende ATPase	D. melanogaster
97	2099-19	Calciumkanal Alpha-1-Untereinheit	Aplysia californica

98	2120-5	P-Typ spannungsgesteuerte Calcium-kanal Alpha 1-Untereinheit-Homolog	Homo sapiens
99	2124-2	sarco/endoplasmatisches Retikulum Ca ²⁺ -ATPase (SERCA)	Procambarus clarkii
100	2182-43	Sulfonylurea-Rezeptor 2b	Mus musculus
101	2223-18	Natrium-Kalium-Chlorid-Gemeinschaftstransporter	D. melanogaster
102	2223-63	sarco/endoplasmatischer Retikulum-Typ Ca ²⁺ (+)-ATPase	D. melanogaster
103	2224-13	ähnlich zu ABC-Transporter	C. elegans
104	2098-3	Camguk	D. melanogaster
105	2101-9	UNC-89	C. elegans
106	2132-31	Arginin-Kinase	Homarus gammarus
107	2141-51	Casein-Kinase-II Beta	Oryctolagus cuniculus
108	2178-18	Diacylglycerol-Kinase Eta	Cricetinae
109	2180-32	retinaartiges und fettsäurebindendes Glycoprotein	D. melanogaster
110	2137-23	Vitellogenin	Aedes aegypti
111	2144-14	Kernlokalisierungssignalfleck 1	Mus musculus
112	2212-13	mutmaßliche n-terminale Acetyltransferase	S. cerevisiae
113	2212-27	Clathrin zugeordnetes Protein AP47	Drosophila grimshawi
114	2223-28	O1 Chloroquinresistenzprotein	Plasmodium falciparans
115	2224-14	Vitellogenin	Athalia rosae
116	2224-15	Antigen NY-CO-3	Homo sapiens
117	2225-24	Carboanhydrase	C. elegans
118	2225-58	yk500f6.3	C. elegans
119	2225-76	nicht identifizierte	Homo sapiens
120	2224-86	BmP109 (Cerebrosidsulfat-Aktivator-Proteinfamilie)	Bombyx mori
121	2225-23	Intersectin	Homo sapiens
122	2170-16	Chemischen Sinn betreffendes lipophiles Ligandenbindungsprotein Protein	Phormia regina
123	2176-2	Geruchsrezeptorprotein 2.4	Danio rerio
124	2212-63	Geruchsrezeptor	Xenopus laevis
125	2224-77	innere Mitochondrialmembran-Translocase Tim23	Homo sapiens
126	2225-12	natriumabhängige Multivitaminträgerstoff	Rattus norvegicus

127	2225-42	Ribophorin I	Rattus norvegicus
128	2101-59	Phosphatträgerprotein	C. elegans
129	2132-38	Proteinaseinhibitor	Locusta migratoria
130	2174-72	HE4-Protein	Homo.sapiens
131	2211-48	spermatogener Zelle/Sperma zugeordnetes Tat-Bindungs-Homolog	Rattus norvegicus
132	2110-23	Gcap1-Genprodukt	Mus musculus
133	2116-64	Toll-Protein	D. melanogaster
134	2124-3	Tuberin-(TSC2)-Gen	Homo sapiens
135	2178-55	RAS-artiges Protein	Gallus gallus
136	2223-35	Rho1-Genprodukt	D. melanogaster
137	2224-82	Paxillin	Homo sapiens
138	2225-44	Adenylyl-Cyclase-zugeordnetes Protein (KAPPE)	Homo sapiens
139	2225-80	Adenylatekinase	Gallus gallus
140	2110-52	hydroxyprolinreiches Glycoprotein	Phaseolus vulgaris
141	2115-49	mitogen induzierbares Gen mig-2	Homo sapiens
142	2116-5	F52H3.5	C. elegans
143	2172-89	I2D3 Antigen	Babesia bovis
144	2178-20	Frameshift	P. falciparum
145	2178-81	KIAA0066	Homo sapiens
146	2182-16	Y57G11C.4	C. elegans
147	2182-53	C16C10.5	C. elegans
148	2211-8	Nicht identifiziert	Homo sapiens
149	2211-31	hypothetisches Protein	Arabidopsis thaliana
150	2223-54	ORF YNL207w	S. cerevisiae
151	2224-94	14,3 kDa perchlorsäurelösliches Protein	Capra hircus
152	2225-36	EST-Klon	C. elegans
1719	2228-2	BIGH3	H. sapiens
1720	2228-5	H Protein	H. sapiens
1721	2228-8	Ubiquinol-Cytochrom c Reduktase	Schizosaccharomyces pombe
1722	2228-11	ähnlich zu Mitochondrial-ATPase-Hemmstoffen	C. elegans
1723	2228-16	mutmaßliches Enzym	E. coli
1724	2228-18	Ribosomal-Protein L7A	Drosophila
1725	2228-22	Troponin-I Flügel-hoch A	Drosophila
1726	2228-25	tls-Genprodukt	E. coli

1727	2228-27	YCR521-Genprodukt	Saccharomyzete cerevisiae
1728	2228-28	mutmaßliches Transportsystem-Permeaseprotein	E. coli
1729	2228-32	SapA Protein	E. coli
1730	2228-34	Putatives Protein	Arabidopsis thaliana
1731	2228-37	Ada	E. coli
1732	2228-39	Titin	H. sapiens
1733	2228-42	Adenylosuccinatsynthetase	Mus musculus
1734	2228-43	Transfer-RNA-Ala-Synthetase	B. mori
1735	2228-44	C4 Zink-Finger-DNA-Bindungsprotein	Drosophila
1736	2228-48	Häm A: farnesyltransferase	H. sapiens
1737	2228-51	URF 4L (aa 1-96)	Drosophila
1738	2228-53	DOLICHOL-PHOSPHAT MANNOSYLTRANSFERASE	E. coli
1739	2228-58	Troponin-T	Drosophila
1740	2228-59	Proteindisulfidisomerase	Drosophila
1741	2228-63	orf, hypothetisches Protein	E. coli
1742	2228-66	ilvl Polypeptid	E. coli
1743	2228-68	orf, hypothetisches Protein	E. coli
1744	2228-72	Respiratorische Nitrat-Reduktase 1 Alpha-Kette	E. coli
1745	2228-77	Homolog von Virulenzfaktor	E. coli
1746	2228-84	ORF o164	E. coli
1747	2228-91	Nucleoprotein E3-3 orf1	Rattus norvegicus
1748	2245-66	Troponin C	Drosophila
1749	2245-70	Vorausgesagtes abgesondertes Protein	Plasmodium falciparum
1750	2245-72	Cytochrome C-1	H. sapiens
1751	2245-75	rpoB	Plasmodium falciparum
1752	2245-78	sarco(endo)plasmatischer Retikulum-Typ Calcium ATPase	Helliothis virescens
1753	2246-31	Ras-verwandtes GTP-Bindungsprotein	H. sapiens
1754	2246-57	Ähnlich wie im Falle von Inositol 1,4,5-Triphosphat Rezeptor	C. elegans
1755	2246-61	Revertase ähnelndes Protein	Aedes aegypti
1756	2247-13	Polyprotein	Drosophila
1757	2247-14	ORF2 für mutmaßliche Revertase	Drosophila
1758	2247-42	Asparaginyt tRNA Synthetase	H. sapiens
1759	2247-44	Calcium Bindungsprotein	Drosophila

1760	2247-58	ähnlich zu Fibronectin Typ III Domäne	C. elegans
1761	2247-62	Revertase	Drosophila
1762	2247-65	gag ähnelndes Protein	Culex pipiens
1763	2247-79	L-3-phosphoserine Phosphatase	H. sapiens
1764	2247-80	Esterase E4	Myzus persicae
1765	2247-89	Ähnlich wie im Falle von Aldehyd-Dehydrogenase	C. elegans
1766	2248-76	O-44-Protein	Rattus sp.
1767	2248-85	cDNA, isoliert für dieses Protein mittels eines gegen das Prosomal-Protein p27k gerichteten monoclonalen Antikörpers	H. sapiens
1768	2249-3	Projectin	Drosophila
1769	2249-5	ORF ID:o312#14	E. coli
1770	2249-9	Heat Shock Protein 60	Culicoides variipennis
1771	2249-11	Enigma-Protein	H. sapiens
1772	2249-12	Alpha,Alpha-Trehalose-Glucohydrolase	Oryctolagus cuniculus
1773	2249-13	kleines GTP-Bindungsprotein	Drosophila
1774	2249-14	Spermidin/Putrescin-Transportsystem permease	E. coli
1775	2249-19	Nueroendocrine-spezifisches Protein C	H. sapiens
1776	2249-21	a-agglutinin Kern-Untereinheit	Saccharomyzete cerevisiae
1777	2249-24	KIAA0337	H. sapiens
1778	2249-34	su(wa) Protein	Drosophila
1779	2249-42	Regulator von kdp-Operon	E. coli
1780	2249-59	Keine Definitionslinie gefunden	C. elegans
1781	2249-60	Prolinoxidase	Drosophila
1782	2249-62	Format-Acetyltransferase	E. coli
1783	2249-70	ähnlich zu HECT-Domäne	C. elegans
1784	2249-75	PHOSPHORIBOSYLFORMYLGLYCINAM IDIN CYCLO-LIGASE	E. coli
1785	2249-77	Hypothetisches 38.5 kd Protein in agal-mtr-intergenisch Region Präkursor	E. coli
1786	2249-85	D4L	Variola Virus
1787	2249-87	ähnlich zu Isocitrat-Dehydrogenase	C. elegans

1788	2250-6	Fii (Kopf-Schwanz-verbindend; 117)	Bakteriophage Lambda
1789	2250-7	möglicher NAGC-förmige transkriptionische Regulator	E. coli
1790	2250-10	Cystein-Kettenprotein	Bos taurus
1791	2250-13	Tol B Protein	E. coli
1792	2250-14	6-Phosphogluconat-Dehydratase	E. coli
1793	2250-15	6-phosphogluconat-Dehydratase	E. coli
1794	2250-22	PSST-Untereinheit der NADH: Ubiquinon- Oxidoreduktase	Bos taurus
1795	2250-30	sol i 3 Antigen	Solenopsis invicta
1796	2250-36	Vorausgesagt mittels Genefinder; ähnlich tRNA synthetases Klasse I (E und Q	C. elegans
1797	2250-37	PNP	H. sapiens
1798	2250-42	ORF ID:o331#2	E. coli
1799	2250-44	Extensin	E. coli
1800	2250-47	ORF o654	E. coli
1801	2250-48	Gcap1-Genprodukt	Mus musculus
1802	2250-52	ähnlich zu menschlichem MLH1 auf Chromosom 3p21	Mus musculus
1803	2250-53	Hypothetisches 27.6 kd Protein in hpt-panD intergenisch Region.	E. coli
1804	2250-58	UmuC Protein	E. coli
1805	2250-61	dJ134E15,1 (Blimp-1	H. sapiens
1806	2250-63	mit Ribosomal-Protein L23 verwandtes Produkt-Homolog	Rattus rattus
1807	2250-65	hypothetisches Protein MJ1143	E. coli
1808	2250-68	HI0025 Homolog	E. coli
1809	2250-77	R34094 1	H. sapiens
1810	2250-78	Erythrocyten-Bindungsprotein	Plasmodium yoelii
1811	2250-79	Fosmidomycin-Resistenzprotein	E. coli
1812	2250-81	Cyclophilin 1	Drosophila
1813	2250-83	mutmaßliche Glutamin-Synthetase	E. coli
1814	2251-3	J (Schwanz:Wirtsspezifität; 1132)	Bakteriophage Lambda
1815	2251-5	Molybdopterin Biosynthese MoeB Protein	E. coli
1816	2251-6	Fo-ATP-Synthase-Untereinheit b	Drosophila
1817	2251-9	Citratlyase Alpha-Kette	E. coli

1818	2251-10	Kutikula-Protein ACP65A	Drosophila
1819	2251-13	H-Repeat-zugeordnetes Protein in rhsC 3'Region (orf-h3	E. coli
1820	2251-20	Glyzinreiches Protein	Arabidopsis thaliana
1821	2251-23	2-Oxoglutarat-Dehydrogenase Prä- kursor	H. sapiens
1822	2251-29	NFX1	H. sapiens
1823	2251-32	ebgR Produkt, Repressor	E. coli
1824	2251-41	neurales Protein	Drosophila
1825	2251-45	ähnlich zu nicht identifiziertem ORF	E. coli
1826	2251-46	NADH:Ubiquinonoxidoreduktase b17,2-Untereinheit	Bos taurus
1827	2251-49	Tyrosin-Kinase	Drosophila
1828	2251-50	durch C. elegans cDNA yk89e9.5 codiert	C. elegans
1829	2251-57	H (Schwanzkomponente; 853)	Bakteriophage Lambda
1830	2251-60	Lysyl-tRNA-Synthetase	Drosophila
1831	2251-62	7,8-Diaminopelargonsäure amino- transferase	E. coli
1832	2251-64	mit Actin verwandtes Protein	Drosophila
1833	2252-6	scheibengroßer(?) Tumorerhemmerstoff	Drosophila
1834	2252-16	S-Adenosylmethionin decarboxylase	E. coli
1835	2252-17	F52H3.5	E. coli
1836	2252-21	translational gesteuertes Tumor- protein	Oryctolagus cuniculus
1837	2252-31	GTP-Bindungsprotein	Rattus rattus
1838	2252-34	mitochondriales Porin-Transkript 1	Drosophila
1839	2252-38	Kutikula-Protein	Manduca sexta
1840	2252-39	Ähnlichkeit zu Ratten-CD63-Antigen	C. elegans
1841	2252-41	ähnlich zu S. cerevisiae Lpg20p	E. coli
1842	2252-48	cut-E	E. coli
1843	2252-61	Histon H3	Spisula solidissima
1844	2252-66	ea10 (ssb;122)	Bakteriophage Lambda
1845	2252-71	Mao C Protein	E. coli
1846	2252-72	Miniparomyosin	Drosophila
1847	2252-73	Pherophorin-S	Volvox carterii
1848	2252-80	Cyclophilin	Mus musculus
1849	2252-84	alternative Genbezeichnung yhhG	E. coli
1850	2222-20	Nucleoporin Nup98	Ratte

1851	2222-21	hypothetisches Protein	Escherichia coli
1852	2222-36	ribosomales Protein S11	Mensch
1853	2222-39	hypothetisches Protein PFB0315w	Plasmodium fal- ciparans
SEQ ID NO	Be- zeichn.	GenBank-Homologie	Organismus
1854	2222-50	Serin/Threonin-spezifisches Pro- tein k.	Plasmodium fal- ciparans
1855	2222-58	hypothetisches Protein C25E10,9.	C. elegans
1856	2222-64	transportierende ATP-Synthase	Rind
1857	2222-94	Tricarboxylat-Transporter	Ratte
1858	2218-95	Anoxie hochgeregeltes Protein	Drosophila mela- nogaster

[0040] TABELLE II repräsentiert vielfältige flohspezifische HMT-Nucleinsäuremoleküle. Außerdem sind in Tabelle II Nucleinsäuremoleküle aus sonstigen Organismen aufgelistet, die die am nächsten kommende Sequenzübereinstimmung mit den erwähnten HMT-Sequenzen der vorliegenden Erfindung teilen, wie sie mittels Durchsuchens des BLAST-Netzwerks, wie oben beschrieben, ermittelt wurden.

TABELLE II

SEQ ID NO:	Bezeich n.	GenBank-Homologie	Organismus
171	2094-23	Mitochondrien-ATP-Synthase, Alpha-Untereinheit	Drosophila melanogaster
172	2104-20	Mitochondrien-ATP-Synthase	Drosophila melanogaster
173	2105-14	ATP-Synthase Gamma-Untereinheit	Homo sapiens
174	2167-72	Oligomycin-Empfindlichkeit verleihendes Protein	Drosophila melanogaster
175	2179-20	ATPase 6	Drosophila melanogaster
176	2193-60	ATP-Synthase-Untereinheit B	Schizaphis graminum
177	2229-41	ATP-Synthase-Alpha-Untereinheit	D. melanogaster
178	2231-35	9 kD Grund-Protein	D. melanogaster
179	2231-47	ATP-Synthase Alpha-Untereinheit	Bos taurus
180	2232-95	Mitochondrien-ATP-Synthase-Untereinheit 9	Homo sapiens
181	2084-56	abundantes Protein später Embryogenese	Picea glauca
182	2084-36	TGF-Beta-Maskierungsprotein/stranded on second	Drosophila melanogaster
183	2086-2	Argonaute-Protein	Arabidopsis thaliana
184	2196-92	ähnlich Drosophila HMPB homeotische proboscipedia Protein	C. elegans
185	2092-27	DMDHEM2	Drosophila melanogaster
186	2094-21	SeID Protein	Drosophila melanogaster
187	2106-11	Unr	Rattus norvegicus
188	2231-15	cno (canoe)	D. melanogaster
189	2230-79	ALR-Homolog	D. melanogaster
190	2232-42	saxophoner Serin-Threonin-Kinase-Rezeptor	D. melanogaster
191	2232-68	Selenophosphat-Synthetase	D. melanogaster
192	2088-11	Auf MMTAX107, TAX ansprechendes Element Bindungsprotein	Mus musculus
193	2089-2	cs Dna J-1	Cucumis sativus
194	2090-7	Lethal (2) TID	Drosophila melanogaster
195	2102-33	monozytisches Leukämie Zink-Finger-Protein	homo sapiens
196	2105-26	orf1 5' von EpoR	Mus musculus

197	2106-6	enthält Ähnlichkeit gegenüber EGF-1	C. elegans
198	2106-9	HSP70 Protein	Ceratititis capitata
199	2084-60	82 kD Heat Shock Protein	Drosophila pseudobscura
200	2108-59	PAR-Domänenprotein	Drosophila melanogaster
201	2156-34	yk29g12.3	C. elegans
202	2161-17	Segmentationsprotein	Drosophila melanogaster
203	2162-28	Heat Shock Protein 70, hsp70A2	Anopheles albimanus
204	2187-18	Heat Shock Protein 70	Anopheles albimanus
205	2173-77	Heat Shock Protein hsp70	D. melanogaster
206	2165-30	nukleoläres Protein	Drosophila melanogaster
207	2165-59	weist Ähnlichkeit auf gegenüber C4-Typ-Zink-Finger	C. elegans
208	2177-80	Zink-Finger-Protein	Mus musculus
209	2181-45	PAR-Domänenprotein 1	Drosophila melanogaster
210	2185-9	Heat Shock Protein-70	Anopheles albimanus
211	2185-82	Segmentationsprotein	Drosophila melanogaster
212	2188-33	transkriptorisches Repressorprotein	Drosophila melanogaster
213	2203-18	Mastermind	Drosophila virilis
214	2205-82	hohe Mobilität Gruppe Protein 1a	Chironomus tentans
215	2230-26	DNA-Reparatur-Protein	D. melanogaster
216	2230-71	Homolog von sieben in absentia	Homo sapiens
217	2230-89	nukleäre gepunktetes Protein, SPOP	Homo sapiens
218	2230-96	Heat Shock Protein	D. melanogaster
219	2231-7	hypothetisches Protein	S.pombe
220	2231-38	Rad51 Homolog	Bombyx mori
221	2231-81	DNA-Reparatur-Protein	D. melanogaster
222	2232-2	zelluläres Nucleinsäurebindungsprotein	Xenopus laevis
223	2234-63	Heat Shock Protein 70	Trichoplusia ni
224	2232-77	Actin bindendes Doppelt-Zink-Finger-Protein (abLIM)	Homo sapiens
225	2234-78	DNA-Bindungsprotein Isoform I	D. melanogaster
226	2084-48	Allantoinase	Rana catesbeiana

227	2085-22	Beta-Glucuronidase	E. coli
228	2094-24	Prolidase = PeptidaseD/Imidopeptidase	Mus musculus
229	2088-43	verzweigte Ketten-Alpha-Keto-Säure Dehydrogenase-E1-Beta-Untereinheit	Bos taurus
230	2086-29	3-Hydroxyisobutyrat-Dehydrogenase	Dictyostelium discoideum
231	2088-5	Rab 5c Protein	Canis familiaris
232	2095-17	Cytochrom P-450	Heliothis virescens
233	2102-16	Carbamoyl-Phosphat-Synthetase II	Plasmodium falciparans
234	2102-48	NADPH Cytochrom P450 Reduktase	Musca domestica
235	2104-15	verzweigte Kette Alpha-Keto-Säure Dehydrogenase	Rattus norvegicus
236	2106-5	Metallothionein	Strongylocentro tus purpuratus
237	2106-47	Peroxidoxin-1	Dirofilaria immitis
238	2107-17	Protein ähnelnd Tetracyclin- Transporter	Mus musculus
239	2107-58	Allergen Bla g 5 (Glutathion-S- Transferase)	Blattella germanica
240	2156-58	HAL-3 Homolog	Arabidopsis thaliana
241	2195-90	Aminoacyclase-1	Homo sapiens
242	2171-55	NADPH-Ferrihemoprotein-Reduktase	Drosophila melano gaster
243	2169-30	hypothetisches Protein	Synechocystis sp
244	2169-52	Insulin abbauendes Enzym insulin degrading enzyme	Drosophila melano gaster
245	2177-64	3-Hydroxyisobutyrat-Dehydrogenase	Rattus norvegicus
246	2181-69	Endonexin	Bos taurus
247	2138-25	Glutamat-Dehydrogenase	Drosophila melano gaster
248	2230-28	Glutathion-S-Transferase	Anopheles gambiae
249	2191-8	Lactase-Phlorizin-Hydrolase	Rattus rattus
250	2193-52	Cytochrom P450	Heliothis virescens
251	2202-35	Glutathion-S-Transferase	Anopheles gambiae

252	2229-77	Glutathion-S-Transferase	Anopheles gambiae
253	2229-81	Urat-Oxidase	D. melanogaster
254	2231-42	Superoxid-Dismutase	Cervus elaphus
255	2232-74	Allergen Bla g 5	Blattella germanica
256	2234-42	Glutathion-Reduktase-Familie	Musca domestica
257	2087-8	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator	Homo sapiens
258	2087-23	Nervensystem Antigen 2	Drosophila melanogaster
259	2091-56	Adenosin-Triphosphatase	Homo sapiens
260	2094-20	Natriumpumpe, Alpha-Untereinheit	Ctenocephalides felis
261	2095-51	ähnlich zu Hrs	C. elegans
262	2103-24	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor-zugeordnetes Protein	Drosophila melanogaster
263	2105-55	Innere Rektifizierungs-K-Kanal	Sus scrofa
264	2105-63	EF-Hand Ca ²⁺ Bindungsprotein p22	Rattus norvegicus
265	2106-62	Für Zahnerkrankung Kandidats Genprodukt	Homo sapiens
266	2167-50	PKD1 (Polycystische Nierenerkrankung 1)	Fugu rubripes
267	2185-37	Kupfer transportierende ATPase	Archaeoglobus fulgidus
268	2193-29	TrkG Kalium-Transport-Protein	E. coli
269	2195-33	Silizium Transporter	Cylindrotheca fusiformis
270	2202-16	Ähnlichkeit zu menschlichem Sulfat-Anion-Transporter	C. elegans
271	2230-2	Sulfat-Transporter	Arabidopsis thaliana
272	2230-69	Mitochondrien-Porin	D. melanogaster
273	2231-22	Muskarin-Acetylcholin-Rezeptor	D. melanogaster
274	2231-24	p97-Untereinheit von 15S Mg(2+) - ATPase	Xenopus laevis
275	2231-32	Anion transportierende ATPase	Aquifex aeolicus
276	2231-70	Sulfat-Permease	Schizosaccharomyces pombe
277	2231-94	mutmaßlicher Na/H-Tauscher	S. pombe
278	2233-6	Plasmamembrane Ca ²⁺ -ATPase 2	Mus musculus
279	2233-24	Chloridkanal Gen, CLIC2	Homo sapiens
280	2085-61	Beta-Typ Proteinkinase C	Bos taurus
281	2089-20	cGMP-abhängige Proteinkinase	Drosophila melanogaster
282	2092-12	Btk	Homo sapiens

283	2093-64	Rezeptor ähnelndes Protein Tyrosin-Phosphatase	Drosophila melanogaster
284	2095-31	frr (fms-verwandte Tyrosin-Kinase-Gen)	Homo sapiens
285	2094-58	Casein-Kinase II Beta	Oryctolagus cuniculus
286	2103-54	ORF YGL084c	Saccharomyzete cerevisiae
287	2106-42	Protein-Phosphatase Epsilon-Untereinheit	Homo sapiens
288	2156-5	Serin/Threoninkinase	Rattus norvegicus
289	2157-95	cGMP-abhängige Proteinkinase	Drosophila melanogaster
290	2165-80	ABL Genprodukt	Gallus gallus
291	2165-63	Diadenosintetraphosphatase	Homo sapiens
292	2167-17	Adenylatcyclase	S. cerevisiae
293	2177-44	Serin/Threoninkinase	C. elegans
294	2188-16	ähnelt leicht Serin/Threoninkinase	C. elegans
295	2191-60	Kohlenhydratkinase, pfkB-Familie	Archaeoglobus fulgidus
296	2195-22	Proteinkinase	Drosophila melanogaster
297	2196-30	Calcium-abhängige Proteinkinase	A. thaliana
298	2205-83	Proteinkinase/Endoribonulcease (IRE1)	Homo sapiens
299	2205-87	Rezeptor-Tyrosin-Phosphatase	Hirudo medicinalis
300	2229-11	Magnesium-abhängige Calcium-inhibierbare Phosphatase	Bos taurus
301	2229-29	Phosphoglyceratkinase	Schistosoma mansoni
302	2229-74	Pyruvatkinase	D. melanogaster
303	2230-55	Serin/Threonin-spezifische Proteinphosphatase 4	D. melanogaster
304	2230-57	Stress-aktivierte MAP-Kinase Kinase 3	D. melanogaster
305	2231-64	alkalische Phosphatase	D. melanogaster
306	2231-91	Olynucleotidphosphorylase	Yersinia enterocolitica
307	2232-43	Proteinkinase PkwA	Thermomonospora curvata
308	2234-94	Serin/Threoninkinase ULK1	Homo sapiens
309	2085-18	Pyridoxamine-Phosphat-Oxidase	C. elegans
310	2094-13	Sphingomyelin-Phosphodiesterase	Mus musculus
311	2105-47	Apolipoprotein E Rezeptor 2	Homo sapiens
312	2092-38	Squalen-Synthetase	Homo sapiens
313	2094-25	Fettsäure-Synthetase	Rattus norvegicus

314	2089-32	Coproporphyrinogen-Oxidase	Homo sapiens
315	2085-46	HADHB Mitochondrien-trifunctional Protein Beta-Untereinheit	Homo sapiens
316	2104-56	Pyridoxalkinase	Homo sapiens
317	2107-30	Phosphomevalonatkinase	Homo sapiens
318	2154-70	sehr lange Kette aufweisende Acyl-CoA-Dehydrogenase	Mus musculus
319	2191-85	Stearyl-CoA Desaturase	Cyprinus carpio
320	2192-44	sehr lange Kette aufweisende Acyl-CoA-Dehydrogenase	Rattus norvegicus
321	2195-55	Ähnlich dem LDL-Rezeptor-verwandtes Protein	C. elegans
322	2229-82	Lipase-3	D. melanogaster
323	2231-59	Phosphatidylethanolamin-Bindungsprotein	Macaca fascicularis
324	2233-25	Ähnlichkeit zu Hefe Ethanolaminephosphotransferase	C. elegans
325	2233-41	zelluläres retinartiges Säure-Bindungsprotein (mCRABP)	Manduca sexta
326	2087-61	Allergen	Lepidoglyphus destructor
327	2087-41	Chloroquin-Resistenz-Kandidat-Protein	Plasmodium falciparum
328	2089-51	Xenopus Bf B	Xenopus laevis
329	2086-58	Organellen-Repeat-Protein	Plasmodium falciparum
330	2090-45	Heat Shock verwandtes Protein	Drosophila melanogaster
331	2104-23	40 kDa Heat Shock Beaufsichtigungs-Protein	Deinococcus
332	2107-26	Luciferase	Photuris pennsylvanica
333	2162-46	F20D1.9	C. elegans
334	2162-49	PKR Inhibitor P58	Bos taurus
335	2162-93	GroES Homolog	Rickettsia
336	2171-46	NH2 Terminus unsicher	Leishmania tarentolae
337	2089-10	Beta-Adaptin	Drosophila melanogaster
338	2229-24	nicht funktionales Folat-Bindungsprotein	Homo sapiens
339	2229-25	Calmodulin B	Halocynthia roretzi
340	2229-31	mutmaßliches T1/ST2-Rezeptor-Bindungsprotein	C. elegans
341	2229-36	Alpha-Crystallin verwandtes Protein 25	Plodia interpunctella
342	2229-40	Defensin	Apis mellifera
343	2229-86	Glutamat-Ammoniak-Ligase	D. melanogaster
344	2231-49	Melanoma-assoziiertes Antigen ME491	Homo sapiens

345	2231-76	Histon C	Drosophila virilis
346	2232-65	Translatonal gesteuertes Tumor-Protein	Oryctolagus cuniculus
347	2232-84	Apyrase	Aedes aegypti
348	2232-85	KIAA0124	Homo sapiens
349	2233-59	Glutamin-abhängige Carbamoyl-Phosphat-Synthase	C. elegans
350	2233-86	ANG12 Präkursor	Anopheles gambiae
351	2234-11	gewebespezifisches sekretorisches Protein	Pfanne troglodytes
352	2234-76	Methionin-Adenosyltransferase	D. melanogaster
353	2089-13	Synaptische Vessikel-Protein 2 Form B	Rattus norvegicus
354	2159-52	Glycoprotein 56	Rattus norvegicus
355	2084-6	CLN3; Homolog des Gens, dem die Batten Erkrankung zugrunde liegt	Mus musculus
356	2085-10	Amphiphysin	Gallus gallus
357	2156-39	Glycoprotein 55	Rattus norvegicus
358	2104-59	Transmembran-Transporter	Discopyge ommata
359	2105-9	Insekt-Intestinal-Mucin II	Trichoplusia ni
360	2106-14	Kinesin ähnelndes Protein	D. melanogaster
361	2107-45	Lazarillo Präkursor	Schistocerca americana
362	2156-3	Clathrin-assoziiertes Protein	Mus musculus
363	2161-46	neurale Variante mena+ Protein	Mus musculus
364	2171-92	Malvolio	Drosophila melanogaster
365	2175-18	Homolog von SYT-Synaptotagmin	Mus musculus
366	2177-10	GABA Rezeptor-Untereinheit (Rdl)	Aedes aegypti
367	2181-10	Neurexin IV	Drosophila melanogaster
368	2191-92	Synaptisches Vesikel-Protein 2B	Rattus norvegicus
369	2229-18	Synaptisches Vesikel-Protein 2A	Rattus norvegicus
370	2194-38	Gamma-Untereinheit von Maus-Nerven- Wachstumsfaktor	Mus musculus
371	2230-60	lin-7-C	Rattus norvegicus
372	2230-81	PDZ-Domänenprotein	Homo sapiens
373	2234-5	Gcap1-Genprodukt	Mus musculus
374	2234-55	Gcap1-Genprodukt	Mus musculus
375	2234-71	Gcap1-Genprodukt	Mus musculus

376	2085-34	Leber-spezifisches Transport-Protein	Rattus norvegicus
377	2087-15	polyspezifischer organischer Kation-Transporter	Homo sapiens
378	2204-80	Transmembran-Transporter	Discopyge ommatta
379	2093-39	Leber-spezifisches Transport-Protein	Rattus norvegicus
380	2093-46	ähnlich zu Monocarboxylat-Transporter Familie	C. elegans
381	2092-22	ähnlich zu Matrin F/G	C. elegans
382	2103-50	Nicht identifiziert	Drosophila melanogaster
383	2103-51	organischer Kation-Transporter	Rattus norvegicus
384	2197-35	renaler organischer Kation-Transporter	Oryctolagus cuniculus
385	2156-17	Sulfat-Anion-Transporter	Manduca sexta
386	2166-84	LX1	Mus musculus
387	2167-94	MCT (Monocarboxylat-Transporter)	Homo sapiens
388	2196-83	renaler organischer Kation-Transporter	Oryctolagus cuniculus
389	2229-83	Ähnlichkeit zu Monocarboxylat-Transporter 1	C. elegans
390	2231-89	Golgi 4-Transmembranen überspannender Transporter MTP	Mus musculus
391	2158-8	Phosphatträgerprotein	C. elegans
392	2085-14	ADP/ATP Translocase	Drosophila melanogaster
393	2085-17	Na ⁺ -abhängiger anorganischer Phosphatase-Kotransporter	Drosophila melanogaster
394	2088-38	ADP/ATP Translocase	Bos taurus
395	2092-50	ADP/ATP Translocase	Drosophila melanogaster
396	2104-21	Na ⁽⁺⁾ -abhängiger anorganischer Phosphat-Kotransporter	Drosophila melanogaster
397	2121-55	Phosphatträgerprotein	C. elegans
398	2105-64	Phosphatträgerprotein	Homo sapiens
399	2102-6	ZK512.6	C. elegans
400	2108-27	Mitochondrien-Phosphatträgerprotein	Homo sapiens
401	2194-63	Mitochondrien-Phosphat-Transporter	Rattus norvegicus
402	2196-14	Phosphat/triose-Phosphat-Translocator-Präkursor	C. elegans
403	2204-11	EST Klon	D. melanogaster
404	2085-16	Chymotrypsin I	Anopheles gambiae
405	2085-54	Chymotrypsin II	Anopheles gambiae

406	2086-12	Plasminogen	Homo sapiens
407	2086-18	Trypsin Eta	Drosophila melanogaster
408	2090-21	Trypsin	Manduca sexta
409	2092-15	Alp1	Cochliobolus carbonum
410	2102-11	Vitellin-abbauende Protease	Bombyx mori
411	2102-17	Chymotrypsin II	Anopheles gambiae
412	2102-51	Chymotrypsin ähnelnde Protease	Anopheles gambiae
413	2103-31	Beta-Trypsin	Drosophila erecta
414	2107-22	Faktor IX	Rattus norvegicus
415	2108-29	Trypsin	Anopheles stephensi
416	2157-15	Trypsin	Choristoneura fumiferana
417	2160-34	Aminopeptidase	Synechocystis
418	2160-36	E01G6.1	C. elegans
419	2103-62	plasminogener Aktivator-Inhibitor 2	Mus musculus
420	2167-36	Faktor IX	Oryctolagus cuniculus
421	2167-67	Alp1	Cochliobolus carbonum
422	2169-51	Trypsin	Aedes aegypti
423	2181-27	Chymotrypsin BII	Penaeus vannamei
424	2185-69	Plasma-Prekallikrein	Homo sapeins
425	2187-20	Pre-Procathepsin L	Paragonimus westermani
426	2188-45	Vitellin-abbauende Protease	Bombyx mori
427	2192-91	später Trypsin-Präkursor	Culex pipiens quinquefasciatus
428	2196-10	SPC2	Branchiostoma californiensis
429	2196-88	Trypsin	Anopheles stephensi
430	2204-9	Carnitin/Cholin-Acetyltransferase	C. elegans
431	2229-7	Iota-Trypsin	D. melanogaster
432	2229-22	Trypsin	Anopheles gambiae
433	2229-89	Trypsin	Anopheles gambiae
434	2229-94	später Trypsin-Präkursor	Culex pipiens quinquefasciatus

435	2230-59	Chymotrypsin 1	Anopheles gambiae
436	2230-67	Carboxypeptidase A	Drosophila heteroneura
437	2231-62	Aminopeptidase N	Sus scrofa
438	2231-74	Limulus-Faktor C Serin-Protease	Tachypleus tridentatus
439	2232-15	Cystein-Proteinase	Sitophilus zeamais
440	2232-25	Carboxypeptidase	Simulium vitatum
441	2232-33	mutmaßliche aspartische Protease	Brassica oleracea
442	2233-46	Aminopeptidase N	Pleuronectes americanus
443	2233-85	Chymotrypsin 1	Anopheles gambiae
444	2233-90	Trypsin	Anopheles stephensi
445	2233-94	Preprechymotrypsin 1	Penaeus vannamei
446	2234-29	Chymotrypsin ähnelnde Protease Präkursor	Aedes aegypti
447	2234-58	mutmaßlich	C. elegans
448	2234-61	Carboxylesterase-Präkursor	Aphis gossypii
449	2234-68	Serin-Protease-Inhibitor I	Schistocerca gregaria
450	2084-35	Integrales Membran-Protein	Mus musculus
451	2086-45	ähnlich zu Beta-Ureidopropionase von Ratte	C. elegans
452	2087-54	Cyclin	Mus musculus
453	2088-22	Esp 8	Mus musculus
454	2091-16	weist Ähnlichkeit gegenüber EGF ähnelnden Domänen auf	C. elegans
455	2091-29	multiples exostosis-artiges Protein	Homo sapiens
456	2091-30	Apoptosis 1 Inhibitor	Drosophila melanogaster
457	2092-33	KIAA0023 (mutmaßliches Onkogen)	Homo sapiens
458	2095-35	G-gekoppelter Rezeptor	C. elegans
459	2095-3	Go (heterotrimerische Guanyl-Nukleotid- Bindungsprotein Alpha-Untereinheit)	Manduca sexta
460	2085-4	gp 150 Protein	Drosophila melanogaster
461	2103-28	Leukotrien A4 Hydrolase	Rattus sp.
462	2105-62	mutmaßliches orf	Homo sapiens
463	2107-6	Aktivator-Protein	Drosophila melanogaster
464	2107-28	Thrombozyten-Endothelial-Tetraspan-Antigen 3	Homo sapiens

465	2189-3	Oligopeptidase A (prIC)	Haemophilis influenzae
466	2156-54	Fibroblasten-Wachstumsfaktor- Rezeptor	Xenopus laevis
467	2160-92	weist Ähnlichkeit gegenüber EGF ähnlichen Domänen auf	C. elegans
468	2160-65	schwache Ähnlichkeit gegenüber dem Drosophila hyperplastischen Disc-Protein	C. elegans
469	2165-53	Inositol-Triphosphatrezeptor	Rattus norvegicus
470	2166-22	Placental-Protein 11	Homo sapiens
471	2166-92	Verlängerungsfaktor 1 Alpha-ähnlich	Drosophila melanogaster
472	2181-34	DSch	Drosophila melanogaster
473	2192-65	STAM, Signal umwandelndes Adapter- Molekül	Homo sapiens
474	2194-24	ATPasen zugeordnete vielfältige zelluläre Aktivitäten (AAA Familie)	Arabidopsis thaliana
475	2196-75	ähnlich zu Zellteilungssteuerungsprotein	C. elegans
476	2230-38	EST-Klon	S. cerevisiae
477	2230-39	NTPase	D. melanogaster
478	2230-66	Adenylyl-Cyclase- Aggregationsprotein	Dictyostelium discoideum
479	2230-80	Sphingomyelin-Phosphodiesterase	C. elegans
480	2231-29	nukleäres Antigen H731	Homo sapiens
481	2231-40	Suppressor von Actin-Mutation 2	Homo sapiens
482	2231-66	DET1	Arabidopsis thaliana
483	2232-7	Calreticulin	D. melanogaster
484	2232-38	Aktivator-Protein	D. melanogaster
485	2232-69	Ornithin-Decarboxylase	Gallus gallus
486	2233-32	ähnlich bHLH-PAS	D. melanogaster
487	2233-45	rab1	D. melanogaster
488	2234-2	C10A Genprodukt	Mus musculus
489	2234-72	QM Homolog	D. melanogaster
490	2084-17	Integrales Membran-Protein	Herpesvirus-2
491	2091-4	Endomembran-Protein EMP70 Präkursor-Isolog	Arabidopsis thaliana
492	2102-45	YIr251wp	Saccharomyzete cerevisiae
493	2162-68	220 kDa Seiden-Protein	Chironomus thummi
494	2160-47	Präkursor HT7 Protein	Gallus gallus
495	2161-12	Peritrophin 95 Präkursor	Lucilia cuprina
496	2161-15	yk86g11.5	C. elegans

497	2171-12	51A Oberflächenprotein	Paramecium tetraurelia
498	2173-18	hypothetische - Mitochondrien- Membran-Transportprotein	Schizosaccharom yces pombe
499	2087-32	est Sequenz	C. elegans
500	2091-19	Ähnlich wie im Falle von P. aeruginosa hypothetisches Protein	C. elegans
501	2192-86	Tyrosinkinase	Drosophila melangaster
502	2086-42	M04B2.4	C. elegans
503	2088-16	Glycoprotein 330	C. elegans/ Menschliche
504	2088-39	EST-Sequenz	Arabidopsis thaliana
505	2088-57	Yer 126cp	Saccharomyzete cereviciae
506	2089-25	ähnlich zu S. cereviciae hypothetisches Protein YKL166	C. elegans
507	2090-3	EST-Sequenz	Saccharomyzete cereviciae
508	2090-53	EST-Sequenz	C. elegans
509	2095-20	Chloroplast ORF	Marchantia polymorpha
510	2102-28	ähnlich zu S. cerevisiae hypothetisches Protein YKL166	C. elegans
511	2102-55	D1054.3	C. elegans
512	2102-58	ZC513.5 Genprodukt	C. elegans
513	2105-44	E 1087 Protein	Saccharomyces cerevisiae
514	2109-24	F11C1.5	C. elegans
515	2154-21	Disulfid ähnelndes Protein	Acanthamoeba castellanii
516	2156-6	ZK470.1	C. elegans
517	2156-18	BIIIA3	Ovis aries
518	2156-27	AFR1	S. cereviciae
519	2165-94	COS41.8	Ciona intestinalis
520	2167-65	EST-Sequenz, Funktion nicht identifiziert	C. elegans
521	2171-93	KIAA0160	Homo sapiens
522	2175-45	ORF YJR83.18	S. cereviciae
523	2185-66	rps4	Plasmodium falciparum
524	2195-40	C27C12.4	C. elegans
525	2196-20	Glycoprotein A	Pneumocystis carinii
526	2205-89	BKRF1 kodiert für EBNA-1 Protein	Epstein Barr Virus
527	2229-19	D4L	Variola Virus

528	2230-35	KIAA0747	Homo sapiens
529	2231-8	13	Mus musculus
530	2231-78	nicht identifiziertes Protein	Arabidopsis thaliana
531	2232-49	Ähnlichkeit zu Hefe hypothetisches 52.9 KD Protein	C. elegans
532	2232-52	Tetratricopeptid-Repeat-Protein (tpr2)	Homo sapiens
533	2233-5	ähnlich zu Saccharomyces cerevisiae SCD6 Protein	C. elegans
534	2233-22	cDNA EST yk486b9,3	C. elegans
535	2233-93	CDC27Dm	D. melanogaster
536	2084-34	Immunosuppressor/V-ATPase 115 kDa-Untereinheit	Mus musculus
537	2086-30	V-ATPase A-Untereinheit	Aedes aegypti
538	2087-45	H ⁺ ATPase	Drosophila melanogaster
539	2088-55	40-kDa-V-ATPase-Untereinheit	Manduca sexta
540	2088-62	Vacuoläre ATPase-Untereinheit A	Drosophila melanogaster
541	2091-26	Proton-ATPase ähnelndes Protein	Homo sapiens
542	2091-31	Vacuoläre-ATPase-Untereinheit A	Drosophila melanogaster
543	2092-20	Vacuoläre-ATPase 115 kDa-Untereinheit	Homo sapiens
544	2095-18	ähnlich zu S. cerevisiae Vacuoläre H(+)-ATPase 54 kD-Untereinheit	C. elegans
545	2095-54	H(+)-transportierende ATPase-Untereinheit B	Manduca sexta
546	2108-8	ähnlich zu S. cerevisiae 54 kDa V-ATPase-Untereinheit	C. elegans
547	2154-36	V-ATPase-Untereinheit E	Drosophila melanogaster
548	2154-76	V-ATPase-Untereinheit A (neu Fragment)	Aedes aegypti
549	2166-32	V-ATPase C-Untereinheit	Drosophila melanogaster
550	2166-33	Vacuoläre (V-Typ) H(+)-ATPase B-Untereinheit	Helicoverpa virescens
551	2166-90	Beta-Untereinheit von ATPase	Schizaphis graminum
552	2161-5	ATPase I	Plasmodium falciparum
553	2171-24	ähnlich zu V-ATPase 116kd-Untereinheit	C. elegans
554	2169-82	V-ATPase-Untereinheit E	Drosophila melanogaster
555	2187-36	V-ATPase-Membransektor zugeordnetes Protein M8-9	Homo sapiens

556	2188-91	V-ATPase-Untereinheit A	Candida tropicalis
557	2230-88	Vacuoläre ATPase G-Untereinheit	Manduca sexta
558	2232-61	V-ATPase-Untereinheit C	D. melanogaster
559	2086-52	Penelope-transpoierbares Element ORF	Drosophila virilis
560	2103-2	Genom-Polyprotein-Genprodukt	Plum pox Virus
561	2106-8	pol-Protein	Menschliche T-Zelle lymphotropic Virus Typ 2
562	2108-41	Revertase, Doc retroposon	Drosophila melanogaster
563	2202-28	Polyprotein	Hepatitis Virus C
564	2165-95	DNA-Polymerase	Choristoneura biennis entomopoxvirus
565	2169-81	Revertase	Drosophila melanogaster
566	2181-36	Revertase	Anopheles gambiae
1416	2240-4	Alpha-L-Fucosidase Präkursor	Homo sapiens
1417	2240-11	Estrogen verwandter Rezeptor-Alpha	Mus musculus
1418	2240-14	NADH:Ubiquinonoxidoreduktase 51-kD-Untereinheit	Homo sapiens
1419	2240-17	Peritrophin 1	Anopheles gambiae
1420	2240-19	kleine GTPase rac1b	Homo sapiens
1421	2240-23	Symplekin	Homo sapiens
1422	2240-26	Ribosomal-Protein L30	Bos taurus
1423	2240-28	60S Ribosomal-Protein RPL10A	Homo sapiens
1424	2240-29	KIN17 Protein	D. melanogaster
1425	2240-31	eukaryotischer Initialisierungsfaktor 4 Gamma	Homo sapiens
1426	2240-38	Omithin-Decarboxylase-Antizyme	D. melanogaster
1427	2240-44	Elektronentransfer-Flavoprotein	Rattus norvegicus
1428	2240-53	EST-Klon	C. elegans
1429	2240-55	Glutathion-Reduktase-Familie	Musca domestica
1430	2240-58	Chymotrypsin ähnelnde Serin-Protease	C. felis
1431	2240-63	Ferritin-Untereinheit 1	D. melanogaster
1432	2240-64	Vacuoläre ATPase-Untereinheit B	D. melanogaster
1433	2240-66	Chaperonin enthaltende TCP-1 Delta	Fugu rubripes
1434	2240-70	1-Acyl-Glycerol-3-Phosphat-Acyltransferase	Zea mays
1435	2240-71	EST-Klon AL021106	D. melanogaster
1436	2240-72	376aa lange hypothetische Dehydrogenase	Pyrococcus horikoshii

1437	2240-77	Chymotrypsin ähnelnde Serin-Protease	C. felis
1438	2240-80	EST-Klon	C. elegans
1439	2240-83	Chymotrypsin ähnelnde Serin-Protease	C. felis
1440	2240-90	Cytochrom P450	D. melanogaster
1441	2240-93	Enhancer-Trap-Locus-1	Mus musculus
1442	2240-94	Glycerol-3-Phosphat-Dehydrogenase	Ceratitis capitata
1443	2241-3	FS-H Präkursor	Ctenocephalide s felis
1444	2241-5	Trypsin ähnelnde Serin-Protease	Ctenocephalide s felis
1445	2241-7	Myospheroid-Protein	D. melanogaster
1446	2241-10	Sam50	D. melanogaster
1447	2241-12	NADH-Dehydrogenase-Untereinheit 2	Chorthippus parallelus
1448	2241-15	mutmaßliches Protein	Arabidopsis thaliana
1449	2241-16	enthält EGF ähnelndes Repeat	C. elegans
1450	2241-20	Gcap1-Genprodukt	Mus musculus
1451	2241-25	Na(+)-abhängiger anorganischer Phosphat-Kotransporter	D. melanogaster
1452	2241-31	D4L	Variola Virus
1453	2241-36	Plenty-of-Proline-101; POP101; SH3-Philo-Protein	Mus musculus
1454	2241-40	EF-1-Alpha	D. melanogaster
1455	2241-44	F1-ATP-Synthase Epsilon-Untereinheit	Ipomoea batatas
1456	2241-54	Ribosomal-Protein S28	Homo sapiens
1457	2241-55	Y-Box Protein	D. melanogaster
1458	2241-56	kurze Kette aufweisende Alkohol-Dehydrogenase	Homo sapiens
1459	2241-59	enthält 3 Cystein-reiche Repeats	C. elegans
1460	2241-60	Muskeltyp-Phosphofructokinase	Canis familiaris
1461	2241-61	Heat Shock Protein 82	Mus musculus
1462	2241-65	Chymotrypsin ähnelnde Protease	C. felis
1463	2241-66	Oligosaccharyltransferase-Untereinheit	D. melanogaster
1464	2241-70	EST-Klon	D. melanogaster
1465	2241-72	Failed Axon Connection Protein	D. melanogaster

1466	2241-74	Enolase	Hymenolepis diminuta
1467	2241-78	multiple Exostosis 2 Protein	Mus musculus
1468	2241-80	Protein auf Ecdyson-Puffs	D. melanogaster
1469	2241-82	Paramyosin	D. melanogaster
1470	2241-83	Beta-Tubulin	Bombyx mori
1471	2241-84	Faktor zur Förderung natürlicher Killerzellen	Cyprinus carpio
1472	2241-86	ähnlich zu MYOTUBULARIN-VERWANDTEM PROTEIN	Homo sapiens
1473	2241-87	Renin	Rattus norvegicus
1474	2241-90	Myophilin	Echinococcus multilocularis
1475	2243-10	Alpha-Actinin	D. melanogaster
1476	2243-11	Monocarboxylat-Transporter	Homo sapiens
1477	2243-13	yk278a10.3	C. elegans
1478	2243-15	Selen-Donator-Protein	Homo sapiens
1479	2243-18	Azetyl-CoA-Synthetase	D. melanogaster
1480	2243-20	Cytochrom P450 CYP12A3	Musca domestica
1481	2243-22	NADH-Dehydrogenase-Untereinheit 4	Anopheles arabiensis
1482	2243-27	Polyubiquitin	Cricetulus griseus
1483	2243-28	Moesin	D. melanogaster
1484	2243-31	QM Protein	Bombyx mandarina
1485	2243-32	Sec23 Protein	Homo sapiens
1486	2243-37	verkürztes Protein	S. cerevisiae
1487	2243-38	Projectin	D. melanogaster
1488	2243-39	Nicht identifiziert	Homo sapiens
1489	2243-41	ähnlich zu Enoyl-CoA-Hydratase	C. elegans
1490	2243-45	ähnlich zu Dehydrogenase	C. elegans
1491	2243-46	Trypsin ähnelnde Serin-Protease	C. felis
1492	2243-48	Merlin	Rattus norvegicus
1493	2243-52	GTP-spezifisches Succinyl-CoA-Synthetase-Beta-Untereinheit	Homo sapiens
1494	2243-53	Sod-Protein (Superoxid-Dismutase)	Drosophila virilis
1495	2243-54	Trypsin ähnelnde Serin-Protease	C. felis
1496	2243-61	Chymotrypsin ähnelnde Serin-Protease	C. felis
1497	2243-66	Tag B	Dictyostelium discoideum

1498	2243-67	hypothetisches Protein	Arabidopsis thaliana
1499	2243-68	Heat Shock verwandtes Protein 70	Trichoplusia ni
1500	2243-72	TRIP-1 Homolog	D. melanogaster
1501	2243-73	Cytosolische NADP-abhängige Isocitrat- Dehydrogenase	Microtis mexicanis
1502	2243-86	Progesteron-induziertes Protein	Oryctolagus cuniculus
1503	2243-87	Bmsqd-2	Bombyx mori
1504	2243-91	Natrium/Jodid-Symporter	Homo sapiens
1505	2243-92	ORF2	Acidianus ambivalens
1506	2243-94	Lysosomal-Beta-Galaktosidase	Felis cattus
1507	2244-12	Tropomyosin-Isoform 127	D.melanogaster
1508	2244-19	KIAA0181	Homo sapiens
1509	2244-23	Plasma-Membrane-Calcium-ATPase-Isoform 1	Homo sapiens
1510	2244-29	NADH-Dehydrogenase	Bos taurus
1511	2244-44	Glutamat-Dehydrogenase	D. melanogaster
1512	2244-54	Spliceosomal-Protein	D. melanogaster
1513	2244-59	Ziliarkörper-Glutathion-Peroxidase	Bos taurus
1514	2244-61	Pyridoxal-Phosphate-abhängige Aminotransferasen	C. elegans
1515	2244-64	Nicht identifiziert	Rattus norvegicus
1516	2244-69	Trypsin ähnelnde Serin-Protease	C. felis
1517	2244-71	Peritrophin 1	Anopheles gambiae
1518	2244-75	NADH-Dehydrogenase-Untereinheit 5	Anopheles gambiae
1519	2244-84	Microsomal-Epoxid-Hydrolase	Rattus norvegicus
1520	2244-86	C54G7.2 Genprodukt	C. elegans
1521	2244-91	Aminopeptidase N	Plutella xylostella
1522	2253-2	Cytochrom-C-Oxidase	H. sapiens
1523	2253-13	Initialisierungsfaktor 5A	Gallus gallus
1524	2253-14	Protein-Phosphatase Typ 2A katalytische-Untereinheit	Bos taurus
1525	2253-16	Myosin-Leichtkette 2	D. melanogaster
1526	2253-18	cDNA EST yk462d1.5	C. elegans
1527	2253-19	Ribosomal-Protein S10	H. sapiens
1528	2253-24	Aspartyl (Asparaginy) Beta-Hydroxylase, HAAH	H. sapiens

1529	2253-27	Larven- und Erwachsenenstadium Myosin-Schwerkette	D. melanogaster
1530	2253-33	Nervensystem Antigen 2	D. melanogaster
1531	2253-36	dJ366N23.2	H. sapiens
1532	2253-40	hrp48.1	D. melanogaster
1533	2253-42	ZnT-1	Mus musculus
1534	2253-43	Aminopeptidase N	Manduca sexta
1535	2253-56	Profilin	D. melanogaster
1536	2253-59	T26A5.	H. sapiens
1537	2253-68	NADH-Ubiquinonoxidoreduktase 42 kDa Untereinheit	D. melanogaster
1538	2253-78	Glyzin-reiches Protein	
1539	2253-81	5'-Nucleotidase	H. sapiens
1540	2253-86	Glutathion S-Transferase	Anopheles gambiae
1541	2253-87	Ferritin-Untereinheit 1	D. melanogaster
1542	2253-92	Myosin-Leichtkette 2	D. melanogaster
1543	2253-94	Xylose-Proton-Symport	E. coli
1544	2254-4	reife-Parasit-infiziertes Erythrocytenoberflächen-Antigen	P. falciparum
1545	2254-6	Fo-ATP-Synthase-Untereinheit b	D. melanogaster
1546	2254-13	ähnlich zu Arabidopsis thaliana männliches Sterilitätsprotein 2	C. elegans
1547	2254-17	CLN3 Protein	H. sapiens
1548	2254-21	YbgG	B. subtilis
1549	2254-25	Peroxisomal-Protein	Synechocystis sp
1550	2254-27	Glutaminase	Rattus norvegicus
1551	2254-30	Tartan-Protein	D. melanogaster
1552	2254-33	Leuzin-Zipper-EF-Hand enthaltendes Transmembran-Protein 1	H. sapiens
1553	2254-39	ähnlich zu Helicase	C. elegans
1554	2254-43	Muskel-Myosin-Schwerkette	D. melanogaster
1555	2254-45	mutmaßliche Nicotinat- Phosphoribosyltransferase	N. tabacum
1556	2254-51	60S Ribosomal-Protein	Mus musculus
1557	2254-54	kleines nukleäres Riboprotein Sm-D	H. sapiens
1558	2254-55	Nucleosid-Diphosphat-Kinase	Salmo salar
1559	2254-60	Serin-Protease	C. felis

1560	2254-63	Myospheroid-Protein	D. melanogaster
1561	2254-65	Carboxylesterase	Anisopteromalus calandrae
1562	2254-66	Siah-Bindungsprotein 1	H. sapiens
1563	2254-70	Vacuoläre ATPase, Untereinheit M9,7	Manduca sexta
1564	2254-83	Fumarylacetoacetat-Hydrolase	Rattus norvegicus
1565	2254-84	Metalloproteinase 1	Hydra vulgaris
1566	2254-88	Alpha-Spectrin	D. melanogaster
1567	2254-93	NADH-Dehydrogenase-Untereinheit 6	D. melanogaster
1568	2254-96	Cyclophilin-Isoform 5	C. elegans
1569	2255-5	ähnlich zu Mitochondrien-ATPase-Hemmstoffen	C. elegans
1570	2255-8	yk391f12.5	C. elegans
1571	2255-12	Nicht identifiziert	H. sapiens
1572	2255-17	Ribonucleotid-Reduktase-Untereinheit M1	M. musculus
1573	2255-19	Docking-Protein	H. sapiens
1574	2255-22	Ähnlich dem Ratten-5E5-Antigen	H. sapiens
1575	2255-23	Ribosomal-Protein S31	D., melanogaster
1576	2255-25	Ähnlich der Acyl-CoA-Dehydrogenase	C. elegans
1577	2255-28	Arginin Tyrosin-Kinase	H. sapiens
1578	2255-32	Ribosomal-Protein L7a	D. melanogaster
1579	2255-33	chS-Rex-s	G. gallus
1580	2255-39	Phosphoacetylglucosamin-Mutase	C. elegans
1581	2255-41	NADH-Dehydrogenase-Untereinheit 6	D., melanogaster
1582	2255-45	tRNA-Glutamin-Synthetase	C. elegans
1583	2255-46	p68	M. musculus
1584	2255-49	ABC8	M. musculus
1585	2255-50	Kynurenin-Aminotransferase	R. rattus
1586	2255-51	SmD Homolog {Gly-Arg-Repeat}	M. musculus
1587	2255-56	Epoxid-Hydrolase	S. scrofa
1588	2255-60	Sec23 Protein	H. sapiens
1589	2255-62	HMG CoA-Synthase	M. musculus
1590	2255-63	dipeptidyl Aminopeptidase ähnliches Protein 6	M. musculus
1591	2255-66	Retinastäbchen Na ⁺ /Ca ⁺ , K ⁺ Tauscher	H. sapiens
1592	2255-67	4-Hydroxybutyrat-Coenzyme A Transferase	C. elegans
1593	2255-70	hD54+ins2 Isoform	H. sapiens

1594	2255-73	Chromaffin Granula-ATPase II Homolog	M. musculus
1595	2255-77	40S Ribosomal-Protein S10	H. sapiens
1596	2255-79	34/67 kD Laminin-Bindungsprotein	S. purpuratus
1597	2255-82	RNA-Bindungsprotein Lerche	D. melanogaster
1598	2255-86	Thiol-spezifisches Antioxidans-Protein	R. norvegicus
1599	2256-7	Ähnlich menschlichem auf Estrogen ansprechendem Finger-Protein	H. sapiens
1600	2256-11	Trypsin	C. felis
1601	2256-12	CEV14	H. sapiens
1602	2256-16	AL021475	C. elegans
1603	2256-21	Heterogenes Nucleäres Ribonucleoprotein C1	H. sapiens
1604	2256-22	b4 Integrin-Interaktor	H. sapiens
1605	2256-28	Testis verbessertes Gen-Transkript-Protein	H. sapiens
1606	2256-31	Synapsenbläschen-Protein 2B	R. norvegicus
1607	2256-40	TNF-Alpha-stimuliertes ABC Protein	H. sapiens
1608	2256-42	Carboxypeptidase A	H. armigera
1609	2256-46	Pherophorin S	V. carteri
1610	2256-52	Fo-ATP-Synthase-Untereinheit b	D. melanogaster
1611	2256-54	PDGF zugeordnetes Protein	H. sapiens
1612	2256-58	S20 Ribosomal-Protein	D. melanogaster
1613	2256-64	Ribosomal-Protein S9	H. sapiens
1614	2256-69	Elongationsfaktor 1-Gamma	Artemia sp
1615	2256-70	konserviertes hypothetisches Protein	S. pombe
1616	2256-72	fructose 1.6 bisphosphate-aldolase 4C	D. melanogaster
1617	2256-73	Troponin-T	D. melanogaster
1618	2256-80	SRP14	C. familiaris
1619	2256-82	succinyl-CoA-Synthetase-Alpha-Untereinheit	S. scrofa
1620	2256-89	Csa-19	H. sapiens
1621	2256-92	Sacm21	M. musculus
1622	2256-94	Apoptosis-Inhibitor	Cydia pomonella granulosus Virus
1623	2256-96	Ribosomal-Protein L22	D. melanogaster

[0041] Tabelle III listet eine Vielzahl von flohspezifischen HNC-Nukleinsäuren der vorliegenden Erfindung auf.

Tabelle III

SEQ ID NO:	Name
567	2096-19NB.HNC
568	2096-25NB.HNC
569	2096-48NB.HNC
570	2096-50NB.HNC
571	2096-52NB.HNC
572	2096-55NB.HNC
573	2097-09NB.HNC
574	2097-15NB.HNC
575	2097-20NB.HNC
576	2097-22NB.HNC
577	2097-32NB.HNC
578	2097-45NB.HNC
579	2097-46NB.HNC
580	2097-47NB.HNC
581	2097-56NB.HNC
582	2097-64NB.HNC
583	2098-04NB.HNC
584	2098-40NB.HNC
585	2098-43NB.HNC
586	2099-9NB.HNC
587	2100-10NB.HNC
588	2100-45NB.HNC
589	2100-47NB.HNC
590	2100-56NB.HNC
591	2100-63NB.HNC
592	2110-41NB.HNC
593	2110-53NB.HNC
594	2112-12NB.HNC
595	2112-35NB.HNC
596	2113-17NB.HNC
597	2115-16NB.HNC
598	2115-22NB.HNC
599	2115-3NB.HNC
600	2116-19NB.HNC
601	2116-24NB.HNC

SEQ ID NO:	Name
602	2116-27NB.HNC
603	2116-41NB.HNC
604	2116-59NB.HNC
605	2116-64NB.HNC
606	2117-05NB.HNC
607	2117-09NB.HNC
608	2117-11NB.HNC
609	2117-53NB.HNC
610	2118-03NB.HNC
611	2122-39NB.HNC
612	2123-25NB.HNC
613	2124-40NB.HNC
614	2124-62NB.HNC
615	2131-22NB.HNC
616	2131-32NB.HNC
617	2132-15NB.HNC
618	2132-28NB.HNC
619	2132-63NB.HNC
620	2132-9NB.HNC
621	2137-19NB.HNC
622	2137-24NB.HNC
623	2138-05NB.HNC
624	2138-51NB.HNC
625	2139-31NB.HNC
626	2139-41NB.HNC
627	2139-60NB.HNC
628	2140-13NB.HNC
629	2140-15NB.HNC
630	2140-18NB.HNC
631	2140-54NB.HNC
632	2141-16NB.HNC
633	2141-59NB.HNC
634	2142-16NB.HNC
635	2142-18NB.HNC
636	2143-06NB.HNC
637	2143-07NB.HNC

Tabelle III (Forts.)

SEQ ID NO:	Name
638	2143-33NB.HNC
639	2143-54NB.HNC
640	2168-06NB.HNC
641	2168-09NB.HNC
642	2168-42NB.HNC
643	2168-79NB.HNC
644	2168-82NB.HNC
645	2170-04NB.HNC
646	2170-08NB.HNC
647	2170-82NB.HNC
648	2172-39NB.HNC
649	2172-59NB.HNC
650	2172-60NB.HNC
651	2172-77NB.HNC
652	2174-14NB.HNC
653	2174-17NB.HNC
654	2174-41NB.HNC
655	2174-49NB.HNC
656	2174-59NB.HNC
657	2174-68NB.HNC
658	2176-21NB.HNC
659	2176-34NB.HNC
660	2176-47NB.HNC
661	2176-56NB.HNC
662	2176-62NB.HNC
663	2176-63NB.HNC
664	2176-64NB.HNC
665	2176-65NB.HNC
666	2176-75NB.HNC
667	2178-05NB.HNC
668	2178-13NB.HNC
669	2178-23NB.HNC
670	2178-25NB.HNC
671	2178-41NB.HNC
672	2178-56NB.HNC
673	2178-57NB.HNC
674	2178-58NB.HNC
675	2178-67NB.HNC
676	2178-72NB.HNC

SEQ ID NO:	Name
677	2178-78NB.HNC
678	2178-80NB.HNC
679	2178-90NB.HNC
680	2178-91NB.HNC
681	2178-95NB.HNC
682	2180-05NB.HNC
683	2180-18NB.HNC
684	2180-20NB.HNC
685	2180-32NB.HNC
686	2180-59NB.HNC
687	2180-62NB.HNC
688	2180-74NB.HNC
689	2180-78NB.HNC
690	2180-79NB.HNC
691	2180-88NB.HNC
692	2180-90NB.HNC
693	2182-07NB.HNC
694	2182-12NB.HNC
695	2182-13NB.HNC
696	2182-27NB.HNC
697	2182-2NB.HNC
698	2182-46NB.HNC
699	2182-55NB.HNC
700	2182-57NB.HNC
701	2182-63NB.HNC
702	2182-64NB.HNC
703	2182-83NB.HNC
704	2182-86NB.HNC
705	2182-88NB.HNC
706	2182-90NB.HNC
707	2182-92NB.HNC
708	2182-94NB.HNC
709	2184-15NB.HNC
710	2184-37NB.HNC
711	2184-65NB.HNC
712	2186-14NB.HNC
713	2186-45NB.HNC
714	2186-50NB.HNC
715	2186-52NB.HNC

[0042] Ein Gen oder ein sonstiges Nukleinsäuremolekül, wie es hier beschrieben ist, kann eine allele Variante sein, die eine Sequenz enthält, die ähnlich jedoch nicht identisch ist mit: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 165,

SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 1859, SEQ ID NO: 1860, SEQ ID NO: 1861, SEQ ID NO: 1863, SEQ ID NO: 1864, SEQ ID NO: 1866, SEQ ID NO: 1867, SEQ ID NO: 1869, SEQ ID NO: 1870, SEQ ID NO: 1871, SEQ ID NO: 1872, SEQ ID NO: 1874, SEQ ID NO: 1875, SEQ ID NO: 1876, SEQ ID NO: 1877, SEQ ID NO: 1878, SEQ ID NO: 1880, SEQ ID NO: 1881, SEQ ID NO: 1882, SEQ ID NO: 1884, SEQ ID NO: 1885, SEQ ID NO: 1886, SEQ ID NO: 1887, SEQ ID NO: 1889, SEQ ID NO: 1890, SEQ ID NO: 1891, SEQ ID NO: 1892, SEQ ID NO: 1893, SEQ ID NO: 1894, SEQ ID NO: 1895, SEQ ID NO: 1896, SEQ ID NO: 1898, SEQ ID NO: 1899, SEQ ID NO: 1900, SEQ ID NO: 1901, SEQ ID NO: 1903, SEQ ID NO: 1904, SEQ ID NO: 1905, SEQ ID NO: 1906, SEQ ID NO: 1907, SEQ ID NO: 1908, SEQ ID NO: 1909, SEQ ID NO: 1910, SEQ ID NO: 1911, SEQ ID NO: 1912, SEQ ID NO: 1913, SEQ ID NO: 1914, SEQ ID NO: 1916, SEQ ID NO: 1917, SEQ ID NO: 1918, SEQ ID NO: 1919, SEQ ID NO: 1921, SEQ ID NO: 1922, SEQ ID NO: 1923, SEQ ID NO: 1924, SEQ ID NO: 1926, SEQ ID NO: 1927, SEQ ID NO: 1928, SEQ ID NO: 1929 und/oder SEQ ID NO: 1931 oder einer *C. felis* Nukleinsäuresequenz aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III und/oder Tabelle IV oder einem Komplement davon. Beispielsweise ist eine allele Variante eines *C. felis* ALN Gens, das SEQ ID NO: 1 enthält, ein Gen, das im Wesentlichen an demselben Ort (oder an denselben Orten) in dem Genom vorkommt, wie das Gen, das SEQ ID NO: 1 enthält, das jedoch aufgrund von natürlichen Veränderungen, die beispielsweise durch Mutation oder Rekombination hervorgerufen sind, eine ähnliche, jedoch nicht identische Sequenz aufweist. Da die natürliche Selektion Abänderungen, die eine Funktion beeinträchtigen, gewöhnlich verwirft, kodieren allele Varianten (d.h. Allele, die Nukleinsäuresequenzen entsprechen oder Allele erwähnter Nukleinsäuresequenzen sind) gewöhnlich für Proteine, die eine ähnliche Aktivität aufweisen wie das Protein, für das das Gen kodiert, mit dem sie gerade verglichen werden. Allele Varianten von Genen oder Nukleinsäuremolekülen können ferner Abänderungen in den untranslatierten 5'- oder 3'-Regionen des Gens (z.B. in regulatorischen Steuerungsregionen) aufweisen oder können alternatives Spleißen eines naszierenden Transkripts involvieren, wobei alternative Exons in Juxtaposition gebracht werden. Allele Varianten sind dem Fachmann wohl bekannt, und ihr natürliches Vorkommen wird in einem vorgegebenen Floh wie *C. felis* gewöhnlich erwartet, da das Genom diploid ist, und eine geschlechtliche Reproduktion die Neuauswahl von Allelen zum Ergebnis hat. Beispielsweise ist SEQ ID NO: 162 offensichtlich eine allele Variante oder ein multiples Gen von SEQ ID NO: 153.

[0043] Es sind isolierte HMT- und HNC-Proteine geschaffen, die durch Nukleinsäuremoleküle kodiert werden, die unter stringenten Hybridisierungsbedingungen an Gene oder sonstige Nukleinsäuremoleküle hybridisieren, die für flohspezifische HMT- bzw. HNC-Proteine kodieren. Die minimale Größe von HMT- und HNC-Proteinen der vorliegenden Erfindung ist ausreichend groß, um durch ein Nukleinsäuremolekül kodiert zu werden, das in der Lage ist, ein stabiles Hybrid zu bilden (d.h. unter stringenten Hybridisierungsbedingungen zu hybridisieren), wobei die komplementäre Sequenz eines Nukleinsäuremoleküls für das entsprechende natürliche Protein kodiert. Die Größe eines für ein derartiges Protein kodierenden Nukleinsäuremoleküls ist abhängig von der Nukleinsäurezusammensetzung und dem Prozentsatz an Homologie zwischen dem flohspezifischen HMT- oder HNC-Nukleinsäuremolekül und der komplementären Nukleinsäuresequenz. Es ist ohne weiteres einzusehen, dass das Maß der Homologie, das erforderlich ist, um unter stringenten Bedingungen ein stabiles Hybrid zu bilden, davon abhängen kann, ob die homologen Sequenzen über ein gesamtes vorgegebenes Nukleinsäuremolekül verstreut sind oder auf einem vorgegebenen Nukleinsäuremolekül in abgegrenzten Regionen gehäuft auftreten (d.h. lokalisiert sind).

[0044] Geschaffen sind flohspezifische Proteine des Typs ALN, CBP, NKAB, LGIC, ANON, MALV, OS-D, NMDA, CLBP, NAH, CLIC, PL2, PL3, PL4, SVP, VGCC, AUP und 7B2. Ein flohspezifisches ALN-Protein kann ein Protein beinhalten, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, die vorzugsweise weniger als, oder ungefähr gleich 30% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 25% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 20% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 15% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 10% Basenpaarabweichung erlauben, und sogar eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 5% Basenpaarabweichung erlauben, mit einem Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 3 und SEQ ID NO: 6.

[0045] Ein flohspezifisches CBP-Protein kann ein Protein beinhalten, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, die vorzugsweise weniger als, oder ungefähr gleich 30% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 25% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 20% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 15% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 10% Basenpaar-

chung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 15% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 10% Basenpaarabweichung erlauben, und sogar eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 5% Basenpaarabweichung erlauben, mit einem Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1893, SEQ ID NO: 1895, SEQ ID NO: 1898 und SEQ ID NO: 1900.

[0058] Ein flohspezifisches SVP-Protein kann ein Protein beinhalten, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, die vorzugsweise weniger als, oder ungefähr gleich 30% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 25% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 20% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 15% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 10% Basenpaarabweichung erlauben, und sogar eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 5% Basenpaarabweichung erlauben, mit einem Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1903 und SEQ ID NO: 1905.

[0059] Ein flohspezifisches VGCC-Protein kann ein Protein beinhalten, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, die vorzugsweise weniger als, oder ungefähr gleich 30% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 25% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 20% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 15% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 10% Basenpaarabweichung erlauben, und sogar eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 5% Basenpaarabweichung erlauben, mit einem Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1907, SEQ ID NO: 1909, SEQ ID NO: 1911, SEQ ID NO: 1913, SEQ ID NO: 1916 und SEQ ID NO: 1918.

[0060] Ein flohspezifisches AUP-Protein kann ein Protein beinhalten, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, die vorzugsweise weniger als, oder ungefähr gleich 30% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 25% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 20% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 15% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 10% Basenpaarabweichung erlauben, und sogar eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 5% Basenpaarabweichung erlauben, mit einem Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1921 und SEQ ID NO: 1923.

[0061] Ein flohspezifisches 7B2-Protein kann ein Protein beinhalten, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, die vorzugsweise weniger als, oder ungefähr gleich 30% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 25% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 20% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 15% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 10% Basenpaarabweichung erlauben, und sogar eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 5% Basenpaarabweichung erlauben, mit einem Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1926, SEQ ID NO: 1928 und SEQ ID NO: 1931.

[0062] Ein flohspezifisches HMT- und/oder HNC-Protein kann ein Protein beinhalten, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, die vorzugsweise weniger als, oder ungefähr gleich 30% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 25% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 20% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 15% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 10% Basenpaarabweichung erlauben, und sogar eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 5% Basenpaarabweichung erlauben, mit einem Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der eine Nukleinsäuresequenz gehört, die zu einer Nukleinsäuresequenz aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III und/oder Tabelle IV komplementär ist.

[0063] In einer Abwandlung ist ein flohspezifisches ALN-Protein beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von

etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 3 und SEQ ID NO: 6.

[0064] Ein flohspezifisches CBP-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 9 und SEQ ID NO: 13.

[0065] Ein flohspezifisches NKAB-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 15 und SEQ ID NO: 18.

[0066] Ein flohspezifisches LGIC-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 1860, SEQ ID NO: 1863 und SEQ ID NO: 1866.

[0067] Ein flohspezifisches ANON-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 27 und SEQ ID NO: 30.

[0068] Ein flohspezifisches MALV-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 33 und SEQ ID NO: 36.

[0069] Ein flohspezifisches OS-D-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 39 und SEQ ID NO: 42.

[0070] Ein flohspezifisches NMDA-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 45 und SEQ ID NO: 48.

[0071] Ein flohspezifisches CLBP-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 167 und SEQ ID NO: 170.

[0072] Ein flohspezifisches NAH-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1869 und SEQ ID NO: 1871.

[0073] Ein flohspezifisches CLIC-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1874 und SEQ ID NO: 1876.

[0074] Ein flohspezifisches PL2-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1879, SEQ ID NO: 1881, SEQ ID NO: 1884 und SEQ ID NO: 1886.

[0075] Ein flohspezifisches PL3-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1889 und SEQ ID NO: 1891.

[0076] Ein flohspezifisches PL4-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1893, SEQ ID NO: 1895, SEQ ID NO: 1898 und SEQ ID NO: 1900.

[0077] Ein flohspezifisches SVP-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1903 und SEQ ID NO: 1905.

[0078] Ein flohspezifisches VGCC-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1907, SEQ ID NO: 1909, SEQ ID NO: 1911, SEQ ID NO: 1913, SEQ ID NO: 1916 und SEQ ID NO: 1918.

[0079] Ein flohspezifisches AUP-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1921 und SEQ ID NO: 1923.

[0080] Ein flohspezifisches 7B2-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1926, SEQ ID NO: 1928 und SEQ ID NO: 1931.

[0081] Ein flohspezifisches HMT- und/oder HNC-Protein wird beschrieben, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das unter Bedingungen, zu denen die Schritte gehören: (a) Hybridisieren bei einer Temperatur von etwa 37°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, und (b) Spülen bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der eine Nukleinsäuresequenz gehört, die zu einer Nukleinsäuresequenz aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III und/oder Tabelle IV komplementär ist.

[0082] Ein durch die vorliegende Erfindung beschriebenes und geschaffenes flohspezifisches ALN-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% iden-

tisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1 und/oder SEQ ID NO: 4 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0083] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches CBP-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 7 und/oder SEQ ID NO: 10 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0084] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches NKAB-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 13 und/oder SEQ ID NO: 16 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0085] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches LGIC-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 1861 und/oder SEQ ID NO: 1864 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0086] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches ANON-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 25 und/oder SEQ ID NO: 28 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0087] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches MALV-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 31 und/oder SEQ ID NO: 34 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0088] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches OS-D-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 37 und/oder SEQ ID NO: 40 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0089] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches NMDA-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 43 und/von SEQ ID NO: 46 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0090] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches CLBP-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 165 und/oder SEQ ID NO: 168 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0091] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches NAH-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1867 und/oder SEQ ID NO: 1870 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0092] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches CLIC-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1872 und/oder SEQ ID NO: 1875 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0093] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches PL2-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1877, SEQ ID NO: 1878, SEQ ID NO: 1880, SEQ ID NO: 1882 und/oder SEQ ID NO: 1885 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version

2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0094] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches PL3-protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1887 und/oder SEQ ID NO: 1890 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0095] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches PL4-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1892, SEQ ID NO: 1894, SEQ ID NO: 1896 und/oder SEQ ID NO: 1899 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0096] Ein weiteres flohspezifisches SVP-Protein beschriebenes beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1901 und/oder SEQ ID NO: 1904 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0097] Ein weiteres flohspezifisches VGCC-Protein beschriebenes beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1906, SEQ ID NO: 1908, SEQ ID NO: 1910, SEQ ID NO: 1912, SEQ ID NO: 1914 und/oder SEQ ID NO: 1917 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0098] Ein weiteres flohspezifisches AUP-Protein beschriebenes beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1919 und/oder SEQ ID NO: 1922 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0099] Ein weiteres flohspezifisches 7B2-Protein beschriebenes beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1924, SEQ ID NO: 1927 und/oder SEQ ID NO: 1929 aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für

die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0100] Ein weiteres beschriebenes flohspezifisches HMT- und/oder HNC-Protein beinhaltet ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das vorzugsweise mindestens zu 70% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 75% identisch, eher bevorzugt mindestens zu 80% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 85% identisch, eher bevorzugt mindestens zu etwa 90% identisch, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch zu einem Nukleinsäuremolekül ist, das eine Nukleinsäuresequenz aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III und/oder Tabelle IV aufweist; ebenfalls bevorzugt sind Fragmente (d.h. Abschnitte) von solchen Proteinen, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die aus mindestens etwa 18 Nukleotiden bestehen. Der Prozentsatz der Übereinstimmung in dem hier verwendeten Sinne wird unter Verwendung von Standardparametern mittels der Vergleichen-Funktion innerhalb des Programms DNAsis, Version 2.1, hinsichtlich maximaler Entsprechung bestimmt.

[0101] Weitere beschriebene flohspezifische ALN-Proteine beinhalten Proteine, die die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2 oder SEQ ID NO: 5 aufweisen, und Proteine die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2 oder SEQ ID NO: 5 enthält, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2 oder SEQ ID NO: 5 hervorruft. Desgleichen sind durch die vorliegende Erfindung weitere Proteine beschrieben und geschaffen, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1 und/oder SEQ ID NO: 4 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0102] Weitere beschriebene flohspezifische CBP-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 8 oder SEQ ID NO: 11 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 8 oder SEQ ID NO: 11 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 8 oder SEQ ID NO: 11 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 7 und/oder SEQ ID NO: 10 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0103] Weitere beschriebene flohspezifische NKAB-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 14 oder SEQ ID NO: 17 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 14 oder SEQ ID NO: 17 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 14 oder SEQ ID NO: 17 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 13 und/oder SEQ ID NO: 16 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0104] Weitere beschriebene flohspezifische LGIC-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 23 oder SEQ ID NO: 1862 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 23 oder SEQ ID NO: 1862 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 23 oder SEQ ID NO: 1862 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 1859, SEQ ID NO: 1861 und/oder SEQ ID NO: 1864 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0105] Weitere beschriebene flohspezifische ANON-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 26 oder SEQ ID NO: 29 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 26 oder SEQ ID NO: 29 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 26 oder SEQ ID NO: 29 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 25 und/oder SEQ ID NO: 28 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0106] Weitere beschriebene flohspezifische MALV-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 32 oder SEQ ID NO: 35 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 32 oder SEQ ID NO: 35 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 32 oder SEQ ID

NO: 35 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 31 und/oder SEQ ID NO: 34 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0107] Weitere beschriebene flohspezifische OS-D-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 38 oder SEQ ID NO: 41 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 38 oder SEQ ID NO: 41 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 38 oder SEQ ID NO: 41 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 37 und/oder SEQ ID NO: 40 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0108] Weitere beschriebene flohspezifische NMDA-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 44 oder SEQ ID NO: 47 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 44 oder SEQ ID NO: 47 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 44 oder SEQ ID NO: 47 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 43 und/oder SEQ ID NO: 46 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0109] Weitere beschriebene flohspezifische CLBP-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 166 oder SEQ ID NO: 169 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 166 oder SEQ ID NO: 169 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 166 oder SEQ ID NO: 169 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 165 und/oder SEQ ID NO: 168 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0110] Weitere beschriebene flohspezifische NAH-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1868 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1868 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1868 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1867 und/oder SEQ ID NO: 1870 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0111] Weitere beschriebene flohspezifische CLIC-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1873 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1873 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1873 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1872 und/oder SEQ ID NO: 1875 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0112] Weitere beschriebene flohspezifische PL2-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1883 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1883 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1883 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1877, SEQ ID NO: 1878, SEQ ID NO: 1880, SEQ ID NO: 1882 und/oder SEQ ID NO: 1885 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0113] Weitere beschriebene flohspezifische PL3-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1888 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1888 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1888 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1887 und/oder SEQ ID NO: 1890 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0114] Weitere beschriebene flohspezifische PL4-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1897 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1897 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort ge-

gen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1897 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1892, SEQ ID NO: 1894, SEQ ID NO: 1896 und/oder SEQ ID NO: 1899 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0115] Weitere beschriebene flohspezifische SVP-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1902 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1902 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1902 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1901 und/oder SEQ ID NO: 1904 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0116] Weitere beschriebene flohspezifische VGCC-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1915 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1915 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1915 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1906, SEQ ID NO: 1908, SEQ ID NO: 1910, SEQ ID NO: 1912, SEQ ID NO: 1914 und/oder SEQ ID NO: 1917 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0117] Weitere beschriebene flohspezifische AUP-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1920 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1920 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1920 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1919 und/oder SEQ ID NO: 1922 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0118] Weitere beschriebene flohspezifische 7B2-Proteine beinhalten Proteine mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1925 oder SEQ ID NO: 1930 und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1925 oder SEQ ID NO: 1930 aufweist, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1925 oder SEQ ID NO: 1930 hervorruft. Desgleichen werden außerdem Proteine beschrieben, für die Nukleinsäuremoleküle, die die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1924, SEQ ID NO: 1927 und/oder SEQ ID NO: 1929 aufweisen, oder Homologe davon kodieren.

[0119] Weitere beschriebene flohspezifische HMT- und/oder HNC-Proteine beinhalten Proteine, die eine Aminosäuresequenz aufweisen, für die eine Nukleinsäuresequenz aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III und/oder Tabelle IV kodiert, und Proteine, die Homologe eines Proteins umfassen, für das eine Nukleinsäuresequenz aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III und/oder Tabelle IV kodiert, wobei ein derartiges Homolog wenigstens ein Epitop enthält, das eine Immunantwort gegen ein Protein hervorruft, für das eine Nukleinsäuresequenz aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III und/oder Tabelle IV kodiert.

[0120] Ferner sind isolierte Proteine beschrieben, wobei für das Protein mindestens eines der folgenden Nukleinsäuremoleküle nCfALN₂₀₅₇, nCfALN₁₁₅₂, nCfCBP₁₁₂₈, nCfCBP₈₁₆, nCfNKAB₁₇₁₄, nCfNKAB₉₇₈, nCfLGIC₂₂₄₀, nCfLGIC₁₇₀₇, nCfANON₁₄₂₉, nCfANON₁₁₉₄, nCfMALV₇₆₅, nCfMALV₇₆₂, nCfOSD₆₀₄, nCfOSD₄₀₅, nCfNMDA₁₂₂₇, nCfNMDA₇₃₈, nCfCLBP1A₆₃₃, nCfCLBP1A₄₄₁, nCfCLBP2A₆₃₁, nCfCLBP2A₄₄₁, nCfLGIC₂₇₃₉, nCfLGIC₂₀₁₆, nCfNAH₂₀₈₀, nCfNAH₁₈₂₄, nCfCLIC₂₂₈₃, nCfCLIC₇₈₆, nCfPL2₁₂₉₁, nCfPL2₁₁₇₃, nCfPL3₄₀₆, nCfPL3₂₄₃, nCfPL4₉₇₄, nCfPL4₁₀₄₃, nCfPL4₁₀₆₂, nCfPL4₈₅₅, nCfSVP₁₈₇₅, nCfSVP₁₅₉₀, nCfVGCC₃₈₁, nCfVGCC₂₁₉₁, nCfVGCC₁₉₆₈, nCfVGCC₆₇₃, nCfVGCC₃₁₂₆, nCfVGCC₂₅₅₃, nCfAUP₁₁₈₁, nCfAUP₃₀₆, nCf7B2₂₁₆₁, nCf7B2₈₀₁, nCf7B2₇₄₁ oder alle Varianten beliebiger dieser Nukleinsäuremoleküle kodieren. Für ein bevorzugtes isoliertes Protein kodiert ein Nukleinsäuremolekül, das eine Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 4 aufweist. In einer Abwandlung werden jene beschrieben, die SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 1859, SEQ ID NO: 1861, SEQ ID NO: 1864, SEQ ID NO: 1867, SEQ ID NO: 1870, SEQ ID NO: 1872, SEQ ID NO: 1875, SEQ ID NO: 1877, SEQ ID NO: 1878, SEQ ID NO: 1881, SEQ ID NO: 1882, SEQ ID NO: 1885, SEQ ID NO: 1887, SEQ ID NO: 1890, SEQ ID NO: 1892, SEQ ID NO: 1894, SEQ ID NO: 1896, SEQ ID NO: 1899, SEQ ID NO: 1901, SEQ ID NO: 1904, SEQ ID NO: 1906, SEQ ID NO: 1908, SEQ ID NO: 1910, SEQ ID NO: 1912, SEQ ID NO: 1914, SEQ ID NO: 1917, SEQ ID NO: 1919, SEQ ID NO: 1922, SEQ ID NO: 1924, SEQ ID NO: 1927 und/oder SEQ ID NO: 1929, oder ein Protein aufweisen, für das eine alle Variante eines beliebigen dieser aufgelisteten Nukleinsäuremo-

leküle kodiert.

[0121] Die Proteine können Proteine beinhalten, die zu mindestens etwa 70%, vorzugsweise mindestens zu etwa 80%, eher bevorzugt mindestens zu 85%, sogar eher bevorzugt mindestens zu 90%, sogar eher bevorzugt mindestens zu 95%, und sogar eher bevorzugt zu etwa 100% identisch mit PCfALN₃₈₄, PCfCBP₂₇₂, PCfNKAB₃₂₆, PCfLGIC₅₆₉, PCfANON₃₉₈, PCfMALV₂₅₄, PCfOSD₁₃₅, PCfNMDA₂₄₆, PCfCLBPIA₁₄₇ oder PCfCLBP2A₁₄₇ sind.

[0122] Weiter sind Proteine beschrieben, für die alle Varianten eines Nukleinsäuremoleküls kodieren, das für die Proteine PCfALN₃₈₄, PCfCBP₂₇₂, PCfNKAB₃₂₆, PCfLGIC₅₆₉, PCfANON₃₉₈, PCfVIALV₂₅₄, PCfOSD₁₃₅, PCfNMDA₂₄₆, PCfCLBPIA₁₄₇, PCfCLBP2A₁₄₇, PCfLGIC672, PCfNAH₆₀₈, PCfCLIC₂₆₂, PCfPL2₃₉₁, PCfPL3₈₁, PCfPL4₂₈₅, PCfSVP₅₃₀, PCfVGCC₈₅₁, PCfAUP₁₀₂, PCf7B2₂₆₇, PCf7B2₂₄₇ kodiert. Weiter sind Fragmente davon beschrieben, die mindestens etwa 6 Aminosäurereste aufweisen.

[0123] Weitere beschriebene HMT- und HNC-Proteine beinhalten Proteine mit den Aminosäuresequenzen, die zu mindestens etwa 70%, vorzugsweise mindestens zu etwa 80%, eher bevorzugt mindestens zu 85%, sogar eher bevorzugt mindestens zu 90%, sogar eher bevorzugt mindestens zu 95%, und sogar eher bevorzugt zu etwa 100% identisch mit einer Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 1862, SEQ ID NO: 1868, SEQ ID NO: 1873, SEQ ID NO: 1879, SEQ ID NO: 1883, SEQ ID NO: 1888, SEQ ID NO: 1897, SEQ ID NO: 1902, SEQ ID NO: 1915, SEQ ID NO: 1920, SEQ ID NO: 1925 und/oder SEQ ID NO: 1930 sind; und Proteine, für die alle Varianten von Nukleinsäuremolekülen kodieren, die für HMT- und HNC-Proteine kodieren, die die Aminosäuresequenzen SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 1862, SEQ ID NO: 1868, SEQ ID NO: 1873, SEQ ID NO: 1879, SEQ ID NO: 1883, SEQ ID NO: 1888, SEQ ID NO: 1897, SEQ ID NO: 1902, SEQ ID NO: 1915, SEQ ID NO: 1920, SEQ ID NO: 1925 und/oder SEQ ID NO: 1930 aufweisen. Außerdem bevorzugt sind Fragmente davon, die mindestens etwa 6 Aminosäurereste aufweisen.

[0124] Weiter sind C. felis HMT- und HNC-Proteine beschrieben, die eine Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 1862, SEQ ID NO: 1868, SEQ ID NO: 1873, SEQ ID NO: 1879, SEQ ID NO: 1883, SEQ ID NO: 1888, SEQ ID NO: 1897, SEQ ID NO: 1902, SEQ ID NO: 1915, SEQ ID NO: 1920, SEQ ID NO: 1925 und/oder SEQ ID NO: 1930 aufweisen (zu denen, jedoch ohne darauf beschränken zu wollen, die Proteine, die eine Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 1862, SEQ ID NO: 1868, SEQ ID NO: 1873, SEQ ID NO: 1879, SEQ ID NO: 1883, SEQ ID NO: 1888, SEQ ID NO: 1897, SEQ ID NO: 1902, SEQ ID NO: 1915, SEQ ID NO: 1920, SEQ ID NO: 1925 und/oder SEQ ID NO: 1930 enthalten, Fusionsproteine und multivalente Proteine gehören), und Proteine, für die alle Varianten von Nukleinsäuremolekülen kodieren, die für Proteine kodieren, die eine Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 1862, SEQ ID NO: 1868, SEQ ID NO: 1873, SEQ ID NO: 1879, SEQ ID NO: 1883, SEQ ID NO: 1888, SEQ ID NO: 1897, SEQ ID NO: 1902, SEQ ID NO: 1915, SEQ ID NO: 1920, SEQ ID NO: 1925 und/oder SEQ ID NO: 1930 aufweisen.

[0125] Ein bevorzugtes flohspezifisches HMT- oder HNC-Protein kann eine Aminosäuresequenz von mindestens etwa 35 Aminosäuren, vorzugsweise mindestens etwa 50 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 100 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 200 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 250 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 300 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 350 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 400 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 450 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 500 Aminosäuren, sogar eher bevorzugt mindestens 550 Aminosäuren, und sogar eher bevorzugt mindestens 575 Aminosäuren aufweisen. In einer Abwandlung können die flohspezifischen HMT- und HNC-Proteine Proteine voller Länge beinhalten, d.h. Proteine, die durch für volle Länge kodierende Regionen kodiert sind, oder nach einer Translation modifizierte Proteine davon, z.B. reife Proteine, von denen initialisierende Methionin- und/oder Signalsequenzen oder "Pro"-Sequenzen entfernt wurden.

[0126] Ein Fragment eines HMT- und/oder HNC-Proteins kann eine Länge von mindestens etwa 5 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 10 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 15 Aminosäuren, eher bevorzugt

mindestens 20 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 25 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 30 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 35 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 40 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 45 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 50 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 55 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 60 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 65 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 70 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 75 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 80 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 85 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 90 Aminosäuren, eher bevorzugt mindestens 95 Aminosäuren, und sogar eher bevorzugt mindestens 100 Aminosäuren aufweisen.

[0127] Weitere beschriebene HMT- und HNC-Proteine umfassen Proteine, für die Nukleinsäuremoleküle kodieren, die wenigstens einen Abschnitt von nCfALN₂₀₅₇, nCfALN₁₁₅₂, nCfCBP₁₁₂₈, nCfCBP₈₁₆, nCfNKAB₁₇₁₄, nCfNKAB₉₇₈, nCfLGIC₂₂₄₀, nCfLGIC₁₇₀₇, nCfANON₁₄₂₉, nCfANON₁₁₉₄, nCfMALV₇₆₅, nCfMALV₇₆₂, nCfOSD₆₀₄, nCfOSD₄₀₅, nCfNMDA₁₂₂₇, nCfNMDA₇₃₈, nCfCLBP1A₆₃₃, nCfCLBP1A₄₄₁, nCfCLBP2A₆₃₁, nCfCLBP2A₄₄₁, nCfLGIC₂₇₃₉, nCfLGIC₂₀₁₆, nCfNAH₂₀₈₀, nCfNAH₁₈₂₄, nCfCLIC₂₂₈₃, nCfCLIC₇₈₆, nCfPL₂₁₂₉₁, nCfPL₁₁₇₃, nCfPL3₄₀₆, nCfPL3₂₄₃, nCfPL4₉₇₄, nCfPL4₁₀₄₃, nCfPL4₁₀₆₂, nCfPL4₈₅₅, nCfSVP₁₈₇₅, nCfSVP₁₅₉₀, nCfVGCC₃₈₁, nCfVGCC₂₁₉₁, nCfVGCC₁₉₆₈, nCfVGCC₆₇₃, nCfVGCC₃₁₂₆, nCfVGCC₂₅₅₃, nCfAUP₁₁₈₁, nCfAUP₃₀₆, nCf7B2₂₁₆₁, nCf7B2₈₀₁, nCf7B2₇₄₁ sowie HMT- und HNC-Proteine aufweisen, für die alle Varianten derartiger Nukleinsäuremoleküle kodieren. Ein Abschnitt eines derartigen HMT- und HNC-Nukleinsäuremoleküls weist vorzugsweise eine Länge von wenigstens 18 Nukleotiden auf.

[0128] Für HMT- und HNC-Proteine der vorliegenden Erfindung kodieren Nukleinsäuremoleküle, die Nukleinsäuresequenzen aufweisen, die wenigstens einen Abschnitt von SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 4 enthalten. Außerdem sind jene zahllosen Sequenzen beschrieben, die wenigstens einen Abschnitt von SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 1859, SEQ ID NO: 1861, SEQ ID NO: 1864, SEQ ID NO: 1867, SEQ ID NO: 1870, SEQ ID NO: 1872, SEQ ID NO: 1875, SEQ ID NO: 1877, SEQ ID NO: 1878, SEQ ID NO: 1881, SEQ ID NO: 1882, SEQ ID NO: 1885, SEQ ID NO: 1887, SEQ ID NO: 1890, SEQ ID NO: 1892, SEQ ID NO: 1894, SEQ ID NO: 1896, SEQ ID NO: 1899, SEQ ID NO: 1901, SEQ ID NO: 1904, SEQ ID NO: 1906, SEQ ID NO: 1908, SEQ ID NO: 1910, SEQ ID NO: 1912, SEQ ID NO: 1914, SEQ ID NO: 1917, SEQ ID NO: 1919, SEQ ID NO: 1922, SEQ ID NO: 1924, SEQ ID NO: 1927 und/oder SEQ ID NO: 1929 sowie alle Varianten dieser Nukleinsäuremoleküle aufweisen. Ein Abschnitt eines derartigen HMT- und HNC-Nukleinsäuremoleküls weist vorzugsweise eine Länge von wenigstens 18 Nukleotiden auf.

[0129] Für flohspezifisches HMT- und/oder HNC-Protein kann ein Nukleinsäuremolekül kodieren, das einer Länge von mindestens etwa 15 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 18 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 20 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 25 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 30 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 40 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 50 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 100 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 150 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 350 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 450 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 550 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 650 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 750 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 1000 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 1500 Nukleotiden, eher bevorzugt mindestens 1750 Nukleotiden eher bevorzugt mindestens 2000 Nukleotiden, und sogar eher bevorzugt mindestens 2250 Nukleotiden aufweist. Darin enthalten ist ein HMT-Protein, für das wenigstens ein Abschnitt von nCfALN₂₀₅₇, nCfALN₁₁₅₂, nCfCBP₁₁₂₈, nCfCBP₈₁₆, nCfNKAB₁₇₁₄, nCfNKAB₉₇₈, nCfLGIC₂₂₄₀, nCfLGIC₁₇₀₇, nCfANON₁₄₂₉, nCfANON₁₁₉₄, nCfMALV₇₆₅, nCfMALV₇₆₂, nCfOSD₆₀₄, nCfOSD₄₀₅, nCfNMDA₁₂₂₇, nCfNMDA₇₃₈, nCfCLBP1A₆₃₃, nCfCLBP1A₄₄₁, nCfCLBP2A₆₃₁, nCfCLBP2A₄₄₁, nCfLGIC₂₇₃₉, nCfLGIC₂₀₁₆, nCfNAH₂₀₈₀, nCfNAH₁₈₂₄, nCfCLIC₂₂₈₃, nCfCLIC₇₈₆, nCfPL2₁₂₉₁, nCfPL2₁₁₇₃, nCfPL3₄₀₆, nCfPL3₂₄₃, nCfPL4₉₇₄, nCfPL4₁₀₄₃, nCfPL4₁₀₆₂, nCfPL4₈₅₅, nCfSVP₁₈₇₅, nCfSVP₁₅₉₀, nCfVGCC₃₈₁, nCfVGCC₂₁₉₁, nCfVGCC₁₉₆₈, nCfVGCC₆₇₃, nCfVGCC₃₁₂₆, nCfVGCC₂₅₅₃, nCfAUP₁₁₈₁, nCfAUP₃₀₆, nCf7B2₂₁₆₁, nCf7B2₈₀₁, nCf7B2₇₄₁ oder eine alle Variante eines beliebigen dieser Nukleinsäuremoleküle kodiert. Außerdem kodieren für flohspezifische HMT- und HNC-Proteine Nukleinsäuremoleküle, die offensichtlich in voller Länge für HMT- bzw. HNC kodierende Regionen aufweisen, d.h. Nukleinsäuremoleküle, die offensichtlich für HMT- oder HNC-Proteine voller Länge kodieren.

[0130] Flohspezifische HMT- und HNC-Proteine, wie sie hier beschrieben sind, können verwendet werden, um Hemmstoffe zu entwickeln, die nach einer wirkungsvollen Verabreichung an ein Tier in der Lage sind, das Tier vor Flohbefall zu schützen. Gemäß der vorliegenden Erfindung betrifft die Fähigkeit eines Inhibitors der vorliegenden Erfindung, ein Tier vor Flohbefall zu schützen, die Fähigkeit des betreffenden Proteins, einen durch Flöhe hervorgerufenen Befall beispielsweise zu behandeln, zu lindern und/oder zu verhindern. Insbe-

sondere bezeichnet der Begriff "eine Tier vor Flohbefall zu schützen" ein Verringern der Wahrscheinlichkeit für die Ausweitung einer Flohpopulation auf einem Tier und in dessen Umgebung (d.h. eine Reduzierung der Flohbelastung). Vorzugsweise wird die Größe der Flohpopulation im optimalen Fall bis zu einem Grad reduziert, bei dem das Tier keine Belästigung durch die Flöhe erfährt. Ein Wirtstier in dem hier verwendeten Sinn ist ein Tier das Flöhen zur Ernährung dient, indem sie sich an dem Tiere festsetzen und sich durch dessen Haut hindurch ernähren. Flöhe und andere Ektoparasiten können sich auf einem Wirtstier über sehr lange Zeit aufhalten oder ein Tier vorübergehend befallen, um sich zu ernähren. Zu einem beliebigen Zeitpunkt kann ein gewisser Prozentsatz einer Flohpopulation sich auf einem Wirtstier aufhalten, während sich der Rest in der Umgebung des Tieres befindet. In einer solchen Umgebung befinden sich möglicherweise nicht nur ausgewachsene Flöhe, sondern auch Floheier und/oder Flohlarven. Die Umgebung kann beliebig groß sein, so dass Flöhe in der Umgebung in der Lage sind, auf ein Wirtstier zu springen und von diesem wieder abzuspringen. Beispielsweise kann die Umgebung eines Tieres Pflanzen, z.B. Getreide, umfassen, von denen aus die Flöhe ein Tier befallen. Dementsprechend ist es erwünscht, nicht nur die Flohbelastung auf einem Tier selbst zu reduzieren, sondern auch die Flohbelastung in der Umgebung des Tieres zu vermindern.

[0131] Zu geeigneten als Ziel in Frage kommenden Flöhen zählen beliebige Flöhe, die im Wesentlichen nicht in der Lage sind, eine Erkrankung in einem Tier hervorzurufen, dem eine Inhibitor der vorliegenden Erfindung verabreicht wurde. Dementsprechend gehören zu den als Ziel in Frage kommenden Flöhe beliebige Flöhe, die ein Protein erzeugen, auf das sich durch ein inhibierendes Compound zielen lässt, das eine flohspezifische HMT- oder HNC-Protein-Funktion inhibiert, woraus sich die verminderte Fähigkeit des Parasiten ergibt, eine Erkrankung in dem Tier hervorzurufen. Zu den als Ziel bevorzugten Flöhen gehören Flöhe der folgenden Gattungen: Ctenocephalides, Cyopsyllus, Diamanus (Oropsylla), Echidnophaga, Nosopsyllus, Pulex, Tunga und Xenopsylla, wobei die Flöhe der Arten Ctenocephalides canis, Ctenocephalides felis, Diamanus montanus, Echidnophaga gallinacea, Nosopsyllus faciatus, Pulex irritans, Pulex simulans, Tunga penetrans und Xenopsylla cheopis stärker bevorzugt sind, wobei C. felis sogar noch mehr bevorzugt ist. Solche Flöhe sind ebenfalls bevorzugt hinsichtlich der Isolierung von Proteinen oder Nukleinsäuremolekülen der vorliegenden Erfindung.

[0132] Außerdem ist ein flohspezifisches HMT- und/oder HNC-Protein-Fusionsprotein beschrieben das eine flohspezifisches HMT- und/oder HNC-Protein enthaltende Domäne aufweist, die an ein oder mehrere Fusionssegmente gebunden ist. Geeignete Fusionssegmente für einen Einsatz in der vorliegenden Erfindung umfassen, ohne darauf beschränkt zu sein, Segmente, die in der Lage sind: die Stabilität eines Proteins zu verbessern; als Immunopotentiator zu wirken, um eine Immunantwort gegen ein flohspezifisches HMT- und/oder HNC-Protein zu verbessern; und/oder die Purifikation eines flohspezifischen HMT- und/oder HNC-Proteins (z.B. durch Affinitätschromatographie) zu erleichtern. Ein geeignetes Fusionssegment kann ein Domäne beliebiger Größe sein, die die gewünscht Funktion aufweist (z.B. eine gesteigerte Stabilität verleiht, einem Protein eine erhöhte Immunogenizität verleiht und/oder die Reindarstellung eines Proteins vereinfacht). Fusionssegmente können zu Amino- und/oder Carboxyl-Termini der flohspezifisches HMT und/oder HNC enthaltenden Domäne des Proteins vereinigt werden und können für Spaltung zugänglich sein, um ein unkompliziertes Auffangen eines flohspezifischen HMT- und/oder HNC-Proteins zu ermöglichen. Fusionsproteine werden vorzugsweise durch Züchtung einer rekombinanten Zelle erzeugt, die mit einem Fusionsnukleinsäuremolekül transformiert ist, das für ein Protein einschließlich des Fusionssegments kodiert, das entweder an das Carboxyl- und/oder an das Aminoende einer HMT enthaltenden und/oder HNC enthaltenden Domäne gebunden ist. Zu bevorzugten Fusionssegmenten gehören eine Metallbindungsdomäne (z.B. ein Polyhistidinsegment); eine Immunoglobulinbindungsdomäne (z.B. Protein A; Protein G; T-Zelle; B-Zelle; Fc-Rezeptor oder Komplementprotein-Antikörper-Bindungsdomänen); eine Zucker-Bindungsdomäne (z.B. eine Maltosebindungsdomäne); und/oder eine "Markierungs"-Domäne (z.B. wenigstens ein Abschnitt von β -Galaktosidase, ein Strep-Markierungspeptid, ein T7 Markierungspeptid, eine FlagTM Peptid oder sonstige Domänen, die sich mittels Verbindungen purifizieren lassen, die an die Domäne binden, z.B. monoclonale Antikörper). Zu mehr bevorzugten Fusionssegmente gehören Metallbindungsdomänen, beispielsweise ein Polyhistidinsegment; eine Maltosebindungsdomäne; ein Strep-Markierungspeptid, wie es z.B. bei Biometra in Tampa, FL, erhältlich ist; und eine S10 Peptid.

[0133] Außerdem sind Mimotope erfindungsgemäßer flohspezifische HMT- und/oder HNC-Proteine beschrieben. In dem hier verwendeten Sinne bezeichnet ein Mimetop eines flohspezifische HMT- und/oder HNC-Proteins jede Verbindung, die in der Lage ist, die Aktivität eines derartigen HMT- und/oder HNC-Proteins nachzuahmen, und zwar häufig aufgrund der Tatsache, dass das Mimetop eine Struktur aufweist, die das spezielle HMT- und/oder HNC-Protein nachahmt. Zu Mimetopen können, jedoch ohne darauf beschränkt zu sein, zählen: Peptide, die modifiziert wurden, um deren Anfälligkeit für den Zerfall zu verringern, beispielsweise all-D Retropeptide; antiidiotypische und/oder katalytische Antikörper oder Fragmente davon; nicht proteinartige im-

munogene Abschnitte eines isolierten Proteins (z.B. Kohlenhydratstrukturen); und synthetische oder natürliche organische Moleküle, beispielsweise Nukleinsäuren. Solche Mimotope können unter Verwendung von durch Computer erzeugte Strukturen von Proteinen der vorliegenden Erfindung entworfen werden. Mimotope können außerdem gewonnen werden, indem Zufallsproben von Molekülen, z.B. Oligonucleotide, Peptide oder sonstige organische Moleküle erzeugt werden und derartige Proben mittels Affinitätschromatographietechniken unter Verwendung der entsprechenden Bindungspartner gescreent werden.

[0134] Weiter ist ein isoliertes Nukleinsäuremolekül beschrieben, das ein flohspezifisches HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül aufweist, d.h. ein Nukleinsäuremolekül, das sich aus einer HMT-cDNA-Bibliothek, aus einer HNC-cDNA-Bibliothek oder aus beiden Bibliotheken isolieren lässt. In dem hier verwendeten Sinne ist "HMT- und HNC-Nukleinsäuremoleküle" gleichbedeutend mit "HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül". Die Identifizierungsmerkmale derartiger Nukleinsäuremoleküle sind im Vorausgehenden beschrieben. Ein Nukleinsäuremolekül, wie es hier beschrieben ist, kann ein isoliertes natürliches flohspezifisches HMT- und/oder HNC-Gen oder ein Homolog davon beinhalten, wobei Letzteres weiter unten näher erläutert wird.

[0135] Das Nukleinsäuremolekül kann eine oder mehrere regulatorische Regionen, volle oder Teillänge kodierende Regionen oder Kombinationen davon beinhalten. Die minimale Größe eines Nukleinsäuremoleküls ist eine Größe, die ausreicht, um die Bildung eines stabilen Hybrids (d.h. eine Hybridisierung unter stringenten Hybridisierungsbedingungen) mit der komplementären Sequenz eines weiteren Nukleinsäuremoleküls zu ermöglichen. Dementsprechend liegt die minimale Größe eines HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremoleküls der vorliegenden Erfindung in einem Bereich der Länge von ungefähr 12 bis ungefähr 18 Nukleotiden. Geeignete und bevorzugte Flöhe, aus denen Nukleinsäuremoleküle der vorliegenden Erfindung zu isolieren sind, werden im Vorliegenden offenbart. Zu besonders bevorzugten HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekülen gehören *C. felis* HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremoleküle.

[0136] Gemäß der vorliegenden Erfindung ist ein isoliertes Nukleinsäuremolekül ein Nukleinsäuremolekül, das aus seiner natürlichen Umgebung entfernt wurde (d.h., das einer Manipulation durch den Menschen unterworfen wurde), und es kann DNA, RNA oder Derivate sowohl von DNA als auch RNA beinhalten. Dementsprechend gibt der Begriff "isoliert" nicht den Grad wieder, bis zu dem das Nukleinsäuremolekül purifiziert wurde. Isolierte flohspezifische HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremoleküle der vorliegenden Erfindung oder Homologe davon können aus einer natürlichen Quelle isoliert werden oder mittels rekombinanter DNA-Technologie (z.B. Polymerasekettenreaktion-(PCR)-Amplifizierung oder Klonierung) oder chemischer Synthese erzeugt werden. Isolierte flohspezifische HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremoleküls und Homologe davon, können beispielsweise natürliche allele Varianten und Nukleinsäuremoleküle beinhalten, die durch Insertionen, Deletionen, Substitutionen und/oder Inversionen von Nukleotiden in einer Weise geeignet modifiziert sind, so dass die Modifikationen die Fähigkeit des Nukleinsäuremoleküls, für ein HMT- und/oder HNC-Protein der vorliegenden Erfindung zu kodieren, nicht erheblich beeinträchtigen.

[0137] Eine flohspezifische HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül-Homolog kann mittels einer Anzahl von in der Fachwelt bekannten Verfahren erzeugt werden; siehe beispielsweise Sambrook et al., ebd. Beispielsweise können Nukleinsäuremoleküle mittels unterschiedlichen Techniken modifiziert werden, zu denen, jedoch ohne darauf beschränken zu wollen, gehören: klassische Mutagenese und rekombinante DNA-Techniken, beispielsweise stellenspezifische Mutagenese, chemische Behandlung, Restriktionsenzym-Spaltung, Ligasierung von Nukleinsäurefragmenten, PCR-Amplifizierung, Synthese von Oligonucleotid-Mischungen und Ligasierung von Mischungsgruppen, um eine Mischung von Nukleinsäuremoleküle zu "bilden", sowie Kombinationen der Techniken. Nukleinsäuremolekül-Homologe können selektiert werden, indem sie mit flohspezifischen HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekülen hybridisiert werden, oder durch Screenen der Funktion eines Proteins, für das das Nukleinsäuremolekül kodiert (z.B. die Fähigkeit eine Immunantwort gegen wenigstens ein Epitop eines flohspezifischen HMT- oder HNC-Proteins hervorzurufen, oder eine HMT- oder HNC-Aktivität zu bewirken).

[0138] Ein isoliertes Nukleinsäuremolekül, wie es hier beschrieben ist, kann eine Nukleinsäuresequenz beinhalten, die für wenigstens ein flohspezifisches HMT- oder HNC-Protein der vorliegenden Erfindung kodiert, wobei Beispiele derartiger Proteine im Vorliegenden offenbart werden. Obwohl der Begriff "Nukleinsäuremolekül" in erster Linie das physikalische Nukleinsäuremolekül bezeichnet, und der Begriff "Nukleinsäuresequenz" in erster Linie die Sequenz von Nukleotiden auf dem Nukleinsäuremolekül bezeichnet, sind die beiden Ausdrücke untereinander austauschbar, insbesondere in Bezug auf ein Nukleinsäuremolekül oder eine Nukleinsäuresequenz, die in der Lage ist, für ein flohspezifisches HMT- oder HNC-Protein zu kodieren.

[0139] Ein bevorzugtes Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung ist nach Verabreichung an ein Tier

in der Lage, das Tier vor Flohbefall zu schützen. Wie im Einzelnen weiter unten offenbart, kann ein derartiges Nukleinsäuremolekül eine Antisens-RNA, ein zur Dreifachhelixbildung fähiges Molekül, ein Ribozym oder ein sonstiges auf einer Verbindung von Nukleinsäure basierendes Medikament sein oder dafür kodieren. In weiteren Ausführungsbeispielen kann ein Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung für ein schutzwirksames Protein (z.B. für ein HMT- oder HNC-Protein der vorliegenden Erfindung) kodieren, wobei das Nukleinsäuremolekül dem Tier beispielsweise durch eine unmittelbare Injektion (d.h. als ein genetischer Impfstoff) oder in einer Trägersubstanz, beispielsweise einem rekombinanten Impfstoff auf Virusbasis oder einem auf rekombinanten Zellen basierenden Impfstoff verabreicht wird.

[0140] Ein flohspezifisches HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül kann ein isoliertes Nukleinsäuremolekül enthalten, das unter Bedingungen, die vorzugsweise weniger als, oder ungefähr gleich 30% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 25% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 20% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 15% Basenpaarabweichung erlauben, eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 10% Basenpaarabweichung erlauben, und sogar eher bevorzugt unter Bedingungen, die weniger als, oder ungefähr gleich 5% Basenpaarabweichung erlauben, mit einem Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 1859, SEQ ID NO: 1860, SEQ ID NO: 1861, SEQ ID NO: 1863, SEQ ID NO: 1864, SEQ ID NO: 1866, SEQ ID NO: 1867, SEQ ID NO: 1869, SEQ ID NO: 1870, SEQ ID NO: 1871, SEQ ID NO: 1872, SEQ ID NO: 1874, SEQ ID NO: 1875, SEQ ID NO: 1876, SEQ ID NO: 1877, SEQ ID NO: 1878, SEQ ID NO: 1880, SEQ ID NO: 1881, SEQ ID NO: 1882, SEQ ID NO: 1884, SEQ ID NO: 1885, SEQ ID NO: 1886, SEQ ID NO: 1887, SEQ ID NO: 1889, SEQ ID NO: 1890, SEQ ID NO: 1891, SEQ ID NO: 1892, SEQ ID NO: 1893, SEQ ID NO: 1894, SEQ ID NO: 1895, SEQ ID NO: 1896, SEQ ID NO: 1898, SEQ ID NO: 1899, SEQ ID NO: 1900, SEQ ID NO: 1901, SEQ ID NO: 1903, SEQ ID NO: 1904, SEQ ID NO: 1905, SEQ ID NO: 1906, SEQ ID NO: 1907, SEQ ID NO: 1908, SEQ ID NO: 1909, SEQ ID NO: 1910, SEQ ID NO: 1911, SEQ ID NO: 1912, SEQ ID NO: 1913, SEQ ID NO: 1914, SEQ ID NO: 1916, SEQ ID NO: 1917, SEQ ID NO: 1918, SEQ ID NO: 1919, SEQ ID NO: 1921, SEQ ID NO: 1922, SEQ ID NO: 1923, SEQ ID NO: 1924, SEQ ID NO: 1926, SEQ ID NO: 1927, SEQ ID NO: 1928, SEQ ID NO: 1929 und/oder SEQ ID NO: 1931, ein Nukleinsäuremolekül aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III oder Tabelle IV und/oder ein Nukleinsäuremolekül, das zu einem Nukleinsäuremolekül aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III oder Tabelle IV komplementär ist.

[0141] Außerdem ist ein HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül beschrieben, wobei das Nukleinsäuremolekül bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die 1 × SSC und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 1859, SEQ ID NO: 1860, SEQ ID NO: 1861, SEQ ID NO: 1863, SEQ ID NO: 1864, SEQ ID NO: 1866, SEQ ID NO: 1867, SEQ ID NO: 1869, SEQ ID NO: 1870, SEQ ID NO: 1871, SEQ ID NO: 1872, SEQ ID NO: 1874, SEQ ID NO: 1875, SEQ ID NO: 1876, SEQ ID NO: 1877, SEQ ID NO: 1878, SEQ ID NO: 1880, SEQ ID NO: 1881, SEQ ID NO: 1882, SEQ ID NO: 1884, SEQ ID NO: 1885, SEQ ID NO: 1886, SEQ ID NO: 1887, SEQ ID NO: 1889, SEQ ID NO: 1890, SEQ ID NO: 1891, SEQ ID NO: 1892, SEQ ID NO: 1893, SEQ ID NO: 1894, SEQ ID NO: 1895, SEQ ID NO: 1896, SEQ ID NO: 1898, SEQ ID NO: 1899, SEQ ID NO: 1900, SEQ ID NO: 1901, SEQ ID NO: 1903, SEQ ID NO: 1904, SEQ ID NO: 1905, SEQ ID NO: 1906, SEQ ID NO: 1907, SEQ ID NO: 1908, SEQ ID NO: 1909, SEQ ID NO: 1910, SEQ ID NO: 1911, SEQ ID NO: 1912, SEQ ID NO: 1913, SEQ ID NO: 1914, SEQ ID NO: 1916, SEQ ID NO: 1917, SEQ ID NO: 1918, SEQ ID NO: 1919, SEQ ID NO: 1921, SEQ ID NO: 1922, SEQ ID NO: 1923, SEQ ID NO: 1924, SEQ ID NO: 1926, SEQ ID NO: 1927, SEQ ID NO: 1928, SEQ ID NO: 1929 und/oder SEQ ID NO: 1931, ein Nukleinsäuremolekül aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III oder Tabelle IV und/oder ein Nukleinsäuremolekül, das zu einem Nukleinsäuremolekül aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III oder

Tabelle IV komplementär ist.

[0142] Außerdem sind weitere bevorzugte Nukleinsäuremoleküle beschrieben, die Oligonucleotide eines isolierten Nukleinsäuremoleküls beinhalten, wobei das Nukleinsäuremolekül bei einer Temperatur von etwa 47,5°C in einer Lösung, die $1 \times \text{SSC}$ und 0% Formamid enthält, mit einem isolierten Nukleinsäuremolekül hybridisiert, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 1859, SEQ ID NO: 1860, SEQ ID NO: 1861, SEQ ID NO: 1863, SEQ ID NO: 1864, SEQ ID NO: 1866, SEQ ID NO: 1867, SEQ ID NO: 1869, SEQ ID NO: 1870, SEQ ID NO: 1871, SEQ ID NO: 1872, SEQ ID NO: 1874, SEQ ID NO: 1875, SEQ ID NO: 1876, SEQ ID NO: 1877, SEQ ID NO: 1878, SEQ ID NO: 1880, SEQ ID NO: 1881, SEQ ID NO: 1882, SEQ ID NO: 1884, SEQ ID NO: 1885, SEQ ID NO: 1886, SEQ ID NO: 1887, SEQ ID NO: 1889, SEQ ID NO: 1890, SEQ ID NO: 1891, SEQ ID NO: 1892, SEQ ID NO: 1893, SEQ ID NO: 1894, SEQ ID NO: 1895, SEQ ID NO: 1896, SEQ ID NO: 1898, SEQ ID NO: 1899, SEQ ID NO: 1900, SEQ ID NO: 1901, SEQ ID NO: 1903, SEQ ID NO: 1904, SEQ ID NO: 1905, SEQ ID NO: 1906, SEQ ID NO: 1907, SEQ ID NO: 1908, SEQ ID NO: 1909, SEQ ID NO: 1910, SEQ ID NO: 1911, SEQ ID NO: 1912, SEQ ID NO: 1913, SEQ ID NO: 1914, SEQ ID NO: 1916, SEQ ID NO: 1917, SEQ ID NO: 1918, SEQ ID NO: 1919, SEQ ID NO: 1921, SEQ ID NO: 1922, SEQ ID NO: 1923, SEQ ID NO: 1924, SEQ ID NO: 1926, SEQ ID NO: 1927, SEQ ID NO: 1928, SEQ ID NO: 1929 und/oder SEQ ID NO: 1931, ein Nukleinsäuremolekül aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III oder Tabelle IV und/oder ein Nukleinsäuremolekül, das zu einem Nukleinsäuremolekül aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III oder Tabelle IV komplementär ist, wobei das Oligonucleotid mindestens etwa 18 Nukleotide aufweist.

[0143] Außerdem sind flohspezifische HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremoleküle beschrieben, die eine Nukleinsäuresequenz aufweisen, die vorzugsweise mindestens zu 70%, eher bevorzugt mindestens zu 75%, eher bevorzugt mindestens zu 80%, eher bevorzugt mindestens zu 85%, eher bevorzugt mindestens zu 90%, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 95% identisch mit einer Nukleinsäuresequenz ist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören, obwohl ebenfalls jene beschrieben sind, die aufweisen: SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 1859, SEQ ID NO: 1860, SEQ ID NO: 1861, SEQ ID NO: 1863, SEQ ID NO: 1864, SEQ ID NO: 1866, SEQ ID NO: 1867, SEQ ID NO: 1869, SEQ ID NO: 1870, SEQ ID NO: 1871, SEQ ID NO: 1872, SEQ ID NO: 1874, SEQ ID NO: 1875, SEQ ID NO: 1876, SEQ ID NO: 1877, SEQ ID NO: 1878, SEQ ID NO: 1880, SEQ ID NO: 1881, SEQ ID NO: 1882, SEQ ID NO: 1884, SEQ ID NO: 1885, SEQ ID NO: 1886, SEQ ID NO: 1887, SEQ ID NO: 1889, SEQ ID NO: 1890, SEQ ID NO: 1891, SEQ ID NO: 1892, SEQ ID NO: 1893, SEQ ID NO: 1894, SEQ ID NO: 1895, SEQ ID NO: 1896, SEQ ID NO: 1898, SEQ ID NO: 1899, SEQ ID NO: 1900, SEQ ID NO: 1901, SEQ ID NO: 1903, SEQ ID NO: 1904, SEQ ID NO: 1905, SEQ ID NO: 1906, SEQ ID NO: 1907, SEQ ID NO: 1908, SEQ ID NO: 1909, SEQ ID NO: 1910, SEQ ID NO: 1911, SEQ ID NO: 1912, SEQ ID NO: 1913, SEQ ID NO: 1914, SEQ ID NO: 1916, SEQ ID NO: 1917, SEQ ID NO: 1918, SEQ ID NO: 1919, SEQ ID NO: 1921, SEQ ID NO: 1922, SEQ ID NO: 1923, SEQ ID NO: 1924, SEQ ID NO: 1926, SEQ ID NO: 1927, SEQ ID NO: 1928, SEQ ID NO: 1929 und/oder SEQ ID NO: 1931, ein Nukleinsäuremolekül aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III oder Tabelle IV und/oder ein Nukleinsäuremolekül, das zu einem Nukleinsäuremolekül aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III oder Tabelle IV komplementär ist. Ebenfalls bevorzugt sind Oligonucleotide beliebiger derartiger Nukleinsäuremoleküle. Die prozentuale Übereinstimmung kann mittels der Sequenzanalyse-Software der GCG™ Wisconsin-Package-Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern bestimmt werden.

[0144] Ein Nukleinsäuremolekül wird beschrieben, das sämtliche oder einen Teil der Nukleinsäuremoleküle nCfALN₂₀₅₇, nCfALN₁₁₅₂, nCfCBP₁₁₂₈, nCfCBP₈₁₆, nCfNKAB₁₇₁₄, nCfNKAB₉₇₈, nCfLGIC₂₂₄₀, nCfLGIC₁₇₀₇, nCfANON₁₄₂₉, nCfANON₁₁₉₄, nCfMALV₇₆₅, nCfMALV₇₆₂, nCfOSD₆₀₄, nCfOSD₄₀₅, nCfNMDA₁₂₂₇, nCfNMDA₇₃₈, nCfCLBP1A₆₃₃, nCfCLBP1A₄₄₁, nCfCLBP2A₆₃₁, nCfCLBP2A₄₄₁, nCfLGIC₂₇₃₉, nCfLGIC₂₀₁₆, nCfNAH₂₀₈₀, nCfNAH₁₈₂₄, nCfCLIC₂₂₈₃, nCfCLIC₇₈₆, nCfPL2₁₂₉₁, nCfPL2₁₁₇₃, nCfPL3₄₀₆, nCfPL3₂₄₃, nCfPL4₉₇₄, nCfPL4₁₀₄₃,

nCfPL4₁₀₆₂, nCfPL4₈₅₅, nCfSVP₁₈₇₅, nCfSVP₁₅₉₀, nCfVGCC₃₈₁, nCfVGCC₂₁₉₁, nCfVGCC₁₉₆₈, nCfVGCC₆₇₃, nCfVGCC₃₁₂₆, nCfVGCC₂₅₅₃, nCfAUP₁₁₈₁, nCfAUP₃₀₆, nCf7B2₂₁₆₁, nCf7B2₈₀₁, nCf7B2₇₄₁ oder alle Varianten dieser Nukleinsäuremoleküle beinhaltet. Ein bevorzugtes Nukleinsäuremolekül beinhaltet mindestens einen Abschnitt einer Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 4, obwohl jene, die einen Abschnitt einer Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 3 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 1859, SEQ ID NO: 1860, SEQ ID NO: 1861, SEQ ID NO: 1863, SEQ ID NO: 1864, SEQ ID NO: 1866, SEQ ID NO: 1867, SEQ ID NO: 1869, SEQ ID NO: 1870, SEQ ID NO: 1871, SEQ ID NO: 1872, SEQ ID NO: 1874, SEQ ID NO: 1875, SEQ ID NO: 1876, SEQ ID NO: 1877, SEQ ID NO: 1878, SEQ ID NO: 1880, SEQ ID NO: 1881, SEQ ID NO: 1882, SEQ ID NO: 1884, SEQ ID NO: 1885, SEQ ID NO: 1886, SEQ ID NO: 1887, SEQ ID NO: 1889, SEQ ID NO: 1890, SEQ ID NO: 1891, SEQ ID NO: 1892, SEQ ID NO: 1893, SEQ ID NO: 1894, SEQ ID NO: 1895, SEQ ID NO: 1896, SEQ ID NO: 1898, SEQ ID NO: 1899, SEQ ID NO: 1900, SEQ ID NO: 1901, SEQ ID NO: 1903, SEQ ID NO: 1904, SEQ ID NO: 1905, SEQ ID NO: 1906, SEQ ID NO: 1907, SEQ ID NO: 1908, SEQ ID NO: 1909, SEQ ID NO: 1910, SEQ ID NO: 1911, SEQ ID NO: 1912, SEQ ID NO: 1913, SEQ ID NO: 1914, SEQ ID NO: 1916, SEQ ID NO: 1917, SEQ ID NO: 1918, SEQ ID NO: 1919, SEQ ID NO: 1921, SEQ ID NO: 1922, SEQ ID NO: 1923, SEQ ID NO: 1924, SEQ ID NO: 1926, SEQ ID NO: 1927, SEQ ID NO: 1928, SEQ ID NO: 1929 und/oder SEQ ID NO: 1931 und/oder ein Nukleinsäuremolekül aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III oder Tabelle IV enthalten, sowie alle Varianten von Nukleinsäuremolekülen, die diese Nukleinsäuresequenzen aufweisen, und Homologe von Nukleinsäuremoleküle, die diese Nukleinsäuresequenzen enthalten, ebenfalls beschrieben sind; ein derartiges Homolog kann für ein Nukleinsäuremolekül kodieren oder ist zu diesem komplementär sein, das für wenigstens ein Epitop kodiert, das eine Immunantwort gegen ein Protein hervorruft, das eine Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 1862, SEQ ID NO: 1868, SEQ ID NO: 1873, SEQ ID NO: 1879, SEQ ID NO: 1883, SEQ ID NO: 1888, SEQ ID NO: 1897, SEQ ID NO: 1902, SEQ ID NO: 1915, SEQ ID NO: 1920, SEQ ID NO: 1925 und/oder SEQ ID NO: 1930 aufweist. Solche Nukleinsäuremoleküle können zusätzlich zu den Nukleotiden, die in den SEQ-ID-Nummern enthalten sind, beispielsweise, jedoch ohne darauf beschränkt zu sein, Nukleotide, wie ein Gen voller Länge, eine in voller Länge kodierende Region, ein Nukleinsäuremolekül, das für eine Fusionsprotein kodiert, oder ein Nukleinsäuremolekül, das für ein multivalentes schutzwirksames Compound kodiert, beinhalten.

[0145] Das HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül kann für ein Protein kodieren, das zumindest zu etwa 70%, vorzugsweise zumindest zu etwa 75%, eher bevorzugt mindestens zu 80%, sogar eher bevorzugt mindestens zu 85%, sogar eher bevorzugt mindestens zu 90%, sogar eher bevorzugt mindestens zu 95%, sogar eher bevorzugt mindestens zu 98%, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 100% identisch mit PCfALN₃₈₄, PCfCBP₂₇₂, PCfNKAB₃₂₆, PCfLGIC₅₆₉, PCfANON₃₉₈, PCfMALV₂₅₄, PCfOSD₁₃₅, PCfNMDA₂₄₆, PCfCLBP1A₁₄₇, PCfCLBP2A₁₄₇, PCfLGIC₆₇₂, PCfNAH₆₀₈, PCfCLIC₂₆₂, PCfPL2₃₉₁, PCfPL3₈₁, PCfPL4₂₈₅, PCfSVP₅₃₀, PCfVGCC₈₅₁, PCfAUP₁₀₂, PCf7B2₂₆₇, PCf7B2₂₄₇ ist, und/oder ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül mit einer Sequenz aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III und/oder Tabelle IV kodiert.

[0146] Ferner kann ein HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül für ein Protein kodieren, das eine Aminosäuresequenz, die zumindest zu etwa 70%, vorzugsweise zumindest zu etwa 75%, eher bevorzugt mindestens zu 80%, sogar eher bevorzugt mindestens zu 85%, sogar eher bevorzugt mindestens zu 90%, sogar eher bevorzugt mindestens zu 95%, sogar eher bevorzugt mindestens zu 98%, und sogar eher bevorzugt mindestens zu 100% identisch mit SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 1862, SEQ ID NO: 1868, SEQ ID NO: 1873, SEQ ID NO: 1879, SEQ ID NO: 1883, SEQ ID NO: 1888, SEQ ID NO: 1897, SEQ ID NO: 1902, SEQ ID NO: 1915, SEQ ID NO: 1920, SEQ ID NO: 1925 und/oder SEQ ID NO: 1930 ist, und/oder eine Protein aufweist, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das eine Sequenz aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III und/oder Tabelle IV enthält. Außerdem ist ein HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül eingeschlossen, das für ein Protein kodiert, das wenigstens einen Abschnitt von SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 1862, SEQ ID NO: 1868, SEQ ID NO: 1873, SEQ ID NO: 1879, SEQ ID NO: 1883, SEQ ID NO: 1888, SEQ ID NO: 1897, SEQ ID NO: 1902, SEQ ID NO: 1915, SEQ ID NO: 1920, SEQ ID NO: 1925 und/oder SEQ ID NO: 1930

aufweist, und/oder ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül kodiert, das eine Sequenz aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III und/oder Tabelle IV enthält, sowie alle Varianten eines Nukleinsäuremoleküls, das für ein Protein mit diesen Sequenzen kodiert, einschließlich Nukleinsäuremoleküle, die modifiziert wurden, um Co-donnutzungseigenschaften der Zellen aufzunehmen, in die derartige Nukleinsäuremoleküle zu exprimieren sind.

[0147] Das flohspezifische HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül kann eine offensichtlich in voller Länge für HMT und/oder HNC kodierende Region aufweisen, d.h. das bevorzugte Nukleinsäuremolekül kodiert für ein offensichtliches HMT- und/oder HNC-Protein voller Länge oder für ein nach einer Translation modifiziertes Protein davon. Das HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül kann für ein reifes Protein kodieren.

[0148] Ein bevorzugtes flohspezifisches HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung beinhaltet ein Nukleinsäuremolekül, das SEQ ID NO: 1 aufweist, außerdem sind andere, die SEQ ID NO: 4 aufweisen, die SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 1859, SEQ ID NO: 1860, SEQ ID NO: 1861, SEQ ID NO: 1863, SEQ ID NO: 1864, SEQ ID NO: 1866, SEQ ID NO: 1867, SEQ ID NO: 1869, SEQ ID NO: 1870, SEQ ID NO: 1871, SEQ ID NO: 1872, SEQ ID NO: 1874, SEQ ID NO: 1875, SEQ ID NO: 1876, SEQ ID NO: 1877, SEQ ID NO: 1878, SEQ ID NO: 1880, SEQ ID NO: 1881, SEQ ID NO: 1882, SEQ ID NO: 1884, SEQ ID NO: 1885, SEQ ID NO: 1886, SEQ ID NO: 1887, SEQ ID NO: 1889, SEQ ID NO: 1890, SEQ ID NO: 1891, SEQ ID NO: 1892, SEQ ID NO: 1893, SEQ ID NO: 1894, SEQ ID NO: 1895, SEQ ID NO: 1896, SEQ ID NO: 1898, SEQ ID NO: 1899, SEQ ID NO: 1900, SEQ ID NO: 1901, SEQ ID NO: 1903, SEQ ID NO: 1904, SEQ ID NO: 1905, SEQ ID NO: 1906, SEQ ID NO: 1907, SEQ ID NO: 1908, SEQ ID NO: 1909, SEQ ID NO: 1910, SEQ ID NO: 1911, SEQ ID NO: 1912, SEQ ID NO: 1913, SEQ ID NO: 1914, SEQ ID NO: 1916, SEQ ID NO: 1917, SEQ ID NO: 1918, SEQ ID NO: 1919, SEQ ID NO: 1921, SEQ ID NO: 1922, SEQ ID NO: 1923, SEQ ID NO: 1924, SEQ ID NO: 1926, SEQ ID NO: 1927, SEQ ID NO: 1928, SEQ ID NO: 1929 und/oder SEQ ID NO: 1931 aufweisen, ebenfalls beschrieben.

[0149] Mit Kenntnis der Nukleinsäuresequenzen gewisser flohspezifischer HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremoleküle, wie sie hier beschrieben sind, ist es einem Fachmann beispielsweise möglich (a) Kopien jener Nukleinsäuremoleküle zu erzeugen, (b) Nukleinsäuremoleküle zu gewinnen, die wenigstens einen Abschnitt derartiger Nukleinsäuremoleküle aufweisen (z.B. Nukleinsäuremoleküle, die Gene voller Länge enthalten, für volle Länge kodierende Regionen, regulatorische Steuersequenzen, verkürzte kodierende Regionen), und (c) sonstige flohspezifische HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremoleküle zu gewinnen. Solche Nukleinsäuremoleküle lassen sich auf vielfältigen Wegen gewinnen, beispielsweise durch Screenen geeigneter Expressionsbibliotheken mit Antikörpern der vorliegenden Erfindung; durch herkömmliche Klonierungstechniken unter Verwendung von Oligonucleotidsonden der vorliegenden Erfindung, um geeignete Bibliotheken zu durchsuchen; und durch PCR-Amplifizierung geeigneter Bibliotheken oder von DNA mittels Oligonucleotid-Primer der vorliegenden Erfindung. Zu bevorzugten Bibliotheken zum Durchsuchen oder aus denen Nukleinsäuremoleküle zu amplifizieren sind, gehören cDNA-Bibliotheken sowie genomische DNA-Bibliotheken von Flohlarven des 1. Stadiums; Larven des 3. Stadiums, Wanderlarven, vor dem Puppenstadium befindlichen Larven, Puppen und völlig ausgereiften Flöhen. In ähnlicher Weise gehören zu bevorzugten DNA-Quellen, die zu durchsuchen sind, oder anhand derer Nukleinsäuremoleküle zu amplifizieren sind, flohspezifische cDNA vor dem Puppenstadium, cDNA des Erwachsenenstadiums und genomische DNA. Techniken zum Klonen und Amplifizieren von Genen sind beispielsweise in Sambrook et al., ebd. offenbart.

[0150] Außerdem sind Nukleinsäuremoleküle beschrieben, die Oligonucleotide sind, die in der Lage sind, unter stringenten Hybridisierungsbedingungen mit komplementären Regionen von anderen, vorzugsweise längeren, Nukleinsäuremolekülen zu hybridisieren, wie sie beispielsweise als jene beschrieben sind, die C. felis HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremoleküle oder andere flohspezifische HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremoleküle beinhalten. Diese Oligonucleotide können RNA, DNA oder Derivate von beiden Substanzen sein. Die minimale Größe derartiger Oligonucleotide ist die Größe, die erforderlich ist, um auf einem Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung ein stabiles Hybrid zwischen einem Oligonucleotid und einer komplementären Sequenz zu bilden. Ein bevorzugtes Oligonucleotid der vorliegenden Erfindung weist eine maximale Größe von vorzugsweise etwa 100 bis 200 Nukleotiden auf. Außerdem sind Oligonucleotide eingeschlossen, die beispielsweise als Sonden zum Identifizieren von Nukleinsäuremolekülen verwendet werden können, Primer zum

Erzeugen von Nukleinsäuremolekülen, oder therapeutische Wirkstoffe, die flohspezifische HMT- und/oder HNC-Protein-Produktion oder Aktivität inhibieren (z.B. als Antisens-, Triplexformations-, Ribozym- und/oder auf RNA-Medikamenten basierende Wirkstoffe). Weiter ist hier die Nutzung derartiger Oligonucleotide eingeschlossen, um Tiere mittels einer oder mehrerer solcher Technologien vor einer Erkrankung zu schützen. Geeignete Oligonukleotide enthaltende therapeutische Zusammensetzungen können einem Tier durch in der Fachwelt bekannte Techniken verabreicht werden.

[0151] Ein Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung beinhaltet einen rekombinanten Vektor, der wenigstens ein isoliertes Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung enthält, das in einen beliebigen Vektor inseriert wird, der in der Lage ist, das Nukleinsäuremolekül in eine Wirtszelle einzubringen. Ein derartiger Vektor enthält heterologe Nukleinsäuresequenzen, d.h. Nukleinsäuresequenzen, die von Natur aus nicht in der Nachbarschaft von Nukleinsäuremolekülen der vorliegenden Erfindung zu finden sind, und die vorzugsweise von einer Art abgeleitet sind, die von der Art abweicht, von der das (die) Nukleinsäuremolekül(e) abgeleitet wurde(n). Der Vektor kann entweder RNA oder DNA, prokaryotisch oder eukaryotisch sein und ist gewöhnlich ein Virus oder ein Plasmid. Rekombinante Vektoren können in der Klonierung, Sequenzierung und/oder in sonstiger Weise zum Manipulieren von Floh-HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekülen der vorliegenden Erfindung verwendet werden.

[0152] Ein Typ eines rekombinanten Vektors, der hier als ein rekombinantes Molekül bezeichnet wird, weist ein Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung auf, das operativ an einen Expressionsvektor gelinkt ist. Der Begriff "operativ gelinkt" bezieht sich auf die Insertion eines Nukleinsäuremoleküls in einen Expressionsvektor in einer Weise, die eine Expression des Moleküls erlaubt, wenn dieses in eine Wirtszelle transformiert wird. In dem hier verwendeten Sinne ist ein Expressionsvektor ein DNA- oder RNA-Vektor, der in der Lage ist, eine Wirtszelle zu transformieren und eine Expression eines spezifizierten Nukleinsäuremoleküls zu bewirken. Vorzugsweise ist der Expressionsvektor auch zu einer Reduplikation innerhalb der Wirtszelle fähig. Expressionsvektoren können entweder prokaryotisch oder eukaryotisch sein und sind gewöhnlich Viren oder Plasmide. Expressionsvektoren der vorliegenden Erfindung beinhalten beliebige Vektoren, die in rekombinanten Zellen der vorliegenden Erfindung, einschließlich in Bakterien-, Pilz-, Parasiten-, Insekten- und sonstigen Tier- und Pflanzenzellen, eine Funktion (d.h. eine unmittelbare Genexpression) ausüben. Bevorzugte Expressionsvektoren der vorliegenden Erfindung sind in der Lage, Genexpression in Bakterien-, Hefe-, Insekten- und Säugerzellen, und eher bevorzugt in die hier offenbarten Zelltypen zu lenken.

[0153] Insbesondere enthalten Expressionsvektoren der vorliegenden Erfindung regulatorische Sequenzen, beispielsweise Transkriptionssteuersequenzen, Translationssteuersequenzen, Replikationsursprünge, und sonstige regulatorische Sequenzen, die mit der rekombinanten Zelle kompatibel sind und die Expression von Nukleinsäuremolekülen der vorliegenden Erfindung steuern. Insbesondere enthalten rekombinante Moleküle der vorliegenden Erfindung Transkriptionssteuersequenzen. Transkriptionssteuersequenzen sind Sequenzen, die die Initialisierung, Elongation und Beendigung einer Transkription steuern. Besonders wichtige Transkriptionssteuersequenzen sind jene, die eine Transkriptionsinitialisierung steuern, z.B. Promotor-, Enhancer-, Operator- und Repressorsequenzen. Geeignete Transkriptionssteuersequenzen beinhalten beliebige Transkriptionssteuersequenzen, die in der Lage sind, ihre Funktion in mindestens einer der rekombinanten Zellen, wie sie hier beschrieben sind, auszuführen. Vielfältige derartige Transkriptionssteuersequenzen sind in der Fachwelt bekannt. Bevorzugte Transkriptionssteuersequenzen beinhalten solche, die ihre Funktion in Bakterien-, Hefe- oder Insekten- sowie in Säugerzellen ausführen, beispielsweise, jedoch ohne darauf beschränkt zu wollen, Transkriptionssteuersequenzen für *tac*, *lac*, *trp*, *trc*, *oxy-pro*, *omp/lpp*, *rmB*, Lambda-Bakteriophage (beispielsweise Lambda pL und Lambda pR und Fusionen, die derartige Promotoren enthalten), Bakteriophage T7, T7lac, Bakteriophage T3, Bakteriophage SP6, Bakteriophage SP01, Metallothionein, Alphaanpassungsfaktor, *Pichia*-Alkoholoxidase, subgenomischer Alphavirus Promotor, Antibiotikaresistenzgen, Baculovirus, *Heliothis zea* Insektenvirus, Vakziniavirus, Herpesvirus, Waschbärpockenvirus, sonstiges Pockenvirus, Adenovirus, Zytomegalovirus (beispielsweise unmittelbarer Frühpromoter), Affenvirus 40, Retrovirus, Actin, retrovirales Repeat am langen Terminal, Rous-Sarkomvirus, Hitzeschock, Phosphat und Nitrat, sowie sonstige Sequenzen, die in der Lage sind die Genexpression in prokaryotischen oder eukaryotischen Zellen zu steuern. Zusätzliche geeignete Transkriptionssteuersequenzen beinhalten gewebespezifische Promotoren und Enhancer sowie in das Lymphom einführbare Promotoren (z.B. Promotoren, die sich durch Interferone oder Interleukine induzieren lassen). Transkriptionssteuersequenzen der vorliegenden Erfindung können ferner natürlich auftretende Transkriptionssteuersequenzen beinhalten, die von Natur aus Flöhen zugeordnet sind, wie Transkriptionssteuersequenzen von *C. felis*.

[0154] Geeignete und bevorzugte Nukleinsäuremoleküle zum Einschließen in rekombinante Vektoren der vorliegenden Erfindung sind von der im Vorliegenden offenbarten Art. Geeignete Nukleinsäuremoleküle, die in

rekombinante Vektoren, und insbesondere in rekombinante Moleküle eingeschlossen werden können, beinhalten Nukleinsäuremoleküle, die eine Sequenz aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III und/oder Tabelle IV aufweisen. Besonders bevorzugte Nukleinsäuremoleküle, die in rekombinante Vektoren, und insbesondere in rekombinante Moleküle eingeschlossen werden können, beinhalten nCfALN₂₀₅₇, nCfALN₁₁₅₂, nCfCBP₁₁₂₈, nCfCBP₈₁₆, nCfNKAB₁₇₁₄, nCfNKAB₉₇₈, nCfLGIC₂₂₄₀, nCfLGIC₁₇₀₇, nCfANON₁₄₂₉, nCfANON₁₁₉₄, nCfMALV₇₆₅, nCfMALV₇₆₂, nCfOSD₆₀₄, nCfOSD₄₀₅, nCfNMDA₁₂₂₇, nCfNMDA₇₃₈, nCfCLBP1A₆₃₃, nCfCLBP1A₄₄₁, nCfCLBP2A₆₃₁, nCfCLBP2A₄₄₁, nCfLGIC₂₇₃₉, nCfLGIC₂₀₁₆, nCfNAH₂₀₈₀, nCfNAH₁₈₂₄, nCfCLIC₂₂₈₃, nCfCLIC₇₈₆, nCfPL2₁₂₉₁, nCfPL2₁₁₇₃, nCfPL3₄₀₆, nCfPL3₂₄₃, nCfPL4₉₇₄, nCfPL4₁₀₄₃, nCfPL4₁₀₆₂, nCfPL4₈₅₅, nCfSVP₁₈₇₅, nCfSVP₁₅₉₀, nCfVGCC₃₈₁, nCfVGCC₂₁₉₁, nCfVGCC₁₉₆₈, nCfVGCC₆₇₃, nCfVGCC₃₁₂₆, nCfVGCC₂₅₅₃, nCfAUP₁₁₈₁, nCfAUP₃₀₆, nCf7B2₂₁₆₁, nCf7B2₈₀₁, nCf7B2₇₄₁.

[0155] Rekombinante Moleküle, wie sie hier beschrieben sind, können ferner (a) sekretorische Signale (d.h. Signalsegment-Nukleinsäuresequenzen) enthalten, um es einem exprimierten flohspezifischen Protein der vorliegenden Erfindung zu ermöglichen, aus der Zelle, die das Protein erzeugt, abgesondert zu werden und/oder (b) Fusionssequenzen enthalten, die zur Expression von Nukleinsäuremolekülen der vorliegenden Erfindung als Fusionsproteine führen. Zu Beispielen geeigneter Signalsegmente gehören beliebige Signalsegmente, die in der Lage sind, die Absonderung eines Proteins der vorliegenden Erfindung zu steuern. Bevorzugte Signalsegmente umfassen, ohne darauf beschränkt zu sein, Gewebeplasminogen-Aktivator- (t-PA = tissue Plasminogen Activator), Interferon-, Interleukin-, Wachstumshormon-, Histokompatibilitäts- und virale Hüllglycoprotein-Signalsegmente. Geeignete Fusionssegmente, für die Fusionssegmentnukleinsäuren kodieren sind im Vorliegenden offenbart. Darüber hinaus kann ein Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung mit einem Fusionssegment vereinigt werden, das das kodierte Protein zu dem Proteosom lenkt, beispielsweise ein Ubiquitininfusionssegment. Eukaryotische rekombinante Moleküle können ferner intervenierende und/oder untranslatierte Sequenzen beinhalten, die die Nukleinsäuresequenzen von Nukleinsäuremolekülen der vorliegenden Erfindung umgeben und/oder darin enthalten sind.

[0156] Ein weiteres Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung umfasst eine rekombinante Zelle, die eine Wirtszelle beinhaltet, die mit einem oder mehreren rekombinanten Molekülen der vorliegenden Erfindung transformiert ist. Eine Transformation eines Nukleinsäuremoleküls in eine Zelle kann mittels eines beliebigen Verfahrens verwirklicht werden, durch das ein Nukleinsäuremolekül in die Zelle inseriert werden kann. Zu den Transformationstechniken zählen, ohne darauf beschränkt zu sein, Transfektion, Elektroporation, Mikroinjektion, Lipofektion, Adsorption und Protoplastenfusion. Eine rekombinante Zelle kann einzellig bleiben oder kann zu einem Gewebe, einem Organ oder einem mehrzelligen Organismus heranwachsen. Zu beachten ist, dass eine Zelllinie sich auf eine beliebige rekombinante Zelle der vorliegenden Erfindung bezieht, solange diese kein transgenes Lebewesen ist. Transformierte Nukleinsäuremoleküle der vorliegenden Erfindung können extrachromosomal bleiben oder können sich in eine oder mehrere Stellen innerhalb eines Chromosoms der transformierten (d.h. rekombinanten) Zelle so integrieren, dass deren Fähigkeit, sich exprimieren zu lassen, erhalten bleibt. Zu bevorzugten Nukleinsäuremoleküle, mit denen eine Zelle zu transformieren ist, gehören hier offenbarte C. felis HMT- und HNC-Nukleinsäuremoleküle. Zu Nukleinsäuremolekülen, mit denen eine Zelle zu transformieren ist, zählen Nukleinsäuremoleküle mit einer Sequenz aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III und/oder Tabelle IV. Zu besonders bevorzugten Nukleinsäuremolekülen, mit denen eine Zelle zu transformieren ist, gehören nCfALN₂₀₅₇, nCfALN₁₁₅₂, nCfCBP₁₁₂₈, nCfCBP₈₁₆, nCfNKAB₁₇₁₄, nCfNKAB₉₇₈, nCfLGIC₂₂₄₀, nCfLGIC₁₇₀₇, nCfANON₁₄₂₉, nCfANON₁₁₉₄, nCfMALV₇₆₅, nCfMALV₇₆₂, nCfOSD₆₀₄, nCfOSD₄₀₅, nCfNMDA₁₂₂₇, nCfNMDA₇₃₈, nCfCLBP1A₆₃₃, nCfCLBP1A₄₄₁, nCfCLBP2A₆₃₁, nCfCLBP2A₄₄₁, nCfLGIC₂₇₃₉, nCfLGIC₂₀₁₆, nCfNAH₂₀₈₀, nCfNAH₁₈₂₄, nCfCLIC₂₂₈₃, nCfCLIC₇₈₆, nCfPL2₁₂₉₁, nCfPL2₁₁₇₃, nCfPL3₄₀₆, nCfPL3₂₄₃, nCfPL4₉₇₄, nCfPL4₁₀₄₃, nCfPL4₁₀₆₂, nCfPL4₈₅₅, nCfSVP₁₈₇₅, nCfSVP₁₅₉₀, nCfVGCC₃₈₁, nCfVGCC₂₁₉₁, nCfVGCC₁₉₆₈, nCfVGCC₆₇₃, nCfVGCC₃₁₂₆, nCfVGCC₂₅₅₃, nCfAUP₁₁₈₁, nCfAUP₃₀₆, nCf7B2₂₁₆₁, nCf7B2₈₀₁ oder nCf7B2₇₄₁.

[0157] Für eine Transformation geeignete Wirtszellen können beliebige Zellen sein, die sich mit einem Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung transformieren lassen. Wirtszellen können entweder nicht transformierte Zellen sein oder Zellen sein, die bereits mit wenigstens einem Nukleinsäuremolekül transformiert sind (z.B. mit Nukleinsäuremolekülen, die für eine oder mehrere Proteine der vorliegenden Erfindung und/oder für sonstige Proteine kodieren, die in der Herstellung multivalenter Impfstoffe von Nutzen sind). Wirtszellen können entweder endogen (d.h. von Natur aus) in der Lage sein, erfindungsgemäße Floh-HMT- und/oder HNC-Proteine zu erzeugen, oder können sein in der Lage sein, derartige Proteine zu erzeugen, nachdem sie mit wenigstens einem Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung transformiert sind. Wirtszellen können beliebige Zellen sein, die in der Lage sind, wenigstens ein Protein der vorliegenden Erfindung zu erzeugen und beinhalten Bakterien-, Pilz- (einschließlich Hefe-), Parasiten- (einschließlich Helminthe-, Protozoen- und Ektoparasiten-), sonstige Insekten-, und sonstige Tier- und Pflanzenzellen. Wirtszellen umfassen beispielsweise Bakterien-, Mikrobakterien-, Hefe-, Insekten und Säugerzellen. Mehr bevorzugte Wirtszellen beinhalten Sal-

monellen-, Escherichia-, Bacillus-, Caulobacter-, Listeria-, Saccharomyzeten-, Pichia-, Spodoptera-, Mikrobakterien-, Trichoplusia-, BHK-(Jungtierhamsternieren)-Zellen, MDCK-(Madin-Darby Hundenierenzelllinien)-Zellen, CRFK-(Crandell Katzennierenzelllinien)-Zellen, CV-1-Zellen (Afrikanische Affenierenzelllinie, die beispielsweise verwendet werden, um Waschbärpockenvirus zu züchten), COS-Zellen (z.B. COS-7) und Vero-Zellen. Besonders bevorzugte Wirtszellen sind beispielsweise Escherichia coli-, einschließlich E. coli K-12 Derivaten; Salmonella typhi-; Salmonella typhimurium-, einschließlich geschwächte Stämme wie UK-1_x3987 und SR-11_x4072; Caulobacter-; Pichia-; Spodoptera frugiperda-; Tri-Choplusia ni-; BHK Zellen; MDCK-Zellen; CRFK-Zellen; CV-1-Zellen; COS-Zellen; Vero-Zellen; und nicht tumorerzeugende Maus-Myoblast-G8-Zellen (z.B. ATCC CRL 1246). Weitere geeignete Säugerzellenwirte sind sonstige Nieren-Zelllinien, sonstige Fibroblast-Zelllinien (z.B. menschliche, murine oder Kükenembryofibroblast-Zelllinien), Myelom-Zelllinien, Eierstockzellen des Chinesischen Hamsters, Maus-NIH/3T3-Zellen, LMTK³¹ Zellen und/oder HeLa-Zellen. Die Proteine können als heterologe Proteine unter Verwendung von Immunglobulinpromotoren in Myelom-Zelllinien exprimiert werden.

[0158] Eine rekombinante Zelle wird vorzugsweise durch Transformieren einer Wirtszelle mit einem oder mehreren rekombinanten Molekülen erzeugt, von denen jedes ein oder mehrere Nukleinsäuremoleküle der vorliegenden Erfindung aufweist, das (die) operativ an eine Expressionsvektor gelinkt ist (sind), der eine oder mehrere Transkriptionssteuersequenzen enthält, von denen im Vorliegenden Beispiele offenbart sind. Der Begriff "operativ gelinkt" bezieht sich auf die Insertion eines Nukleinsäuremoleküls in einen Expressionsvektor in einer Weise, die eine Expression des Moleküls erlaubt, wenn dieses in eine Wirtszelle transformiert wird.

[0159] Eine rekombinante Zelle der vorliegenden Erfindung beinhaltet eine beliebige Zelle, die mit mindestens einem Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung transformiert ist. Geeignete und bevorzugte Nukleinsäuremoleküle sowie geeignete und bevorzugte rekombinante Moleküle, mit denen Zellen zu übertragen sind, sind im Vorliegenden offenbart.

[0160] Rekombinante Zellen der vorliegenden Erfindung lassen sich auch gemeinsam mit einem oder mehreren rekombinanten Molekülen transformieren, zu denen Floh-HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremoleküle, die für ein oder mehrere Proteine der vorliegenden Erfindung kodieren, und ein oder mehrere sonstige Nukleinsäuremoleküle gehören, die für andere im Vorliegenden offenbarte schutzwirksame Compounds kodieren (z.B., um zu multivalente Impfstoffe zu erzeugen).

[0161] Rekombinante DNA betreffende Technologien können verwendet werden, um Expression von transformierte Nukleinsäuremoleküle zu verbessern, indem beispielsweise die Anzahl von Kopien der Nukleinsäuremoleküle innerhalb einer Wirtszelle, die Effizienz, mit der jene Nukleinsäuremoleküle transkribiert werden, die Effizienz, mit der die sich ergebenden Transkripte übersetzt werden und die Effizienz von post-translationalen Modifikationen manipuliert wird. Rekombinante Techniken, die zur Steigerung der Expression von Nukleinsäuremolekülen der vorliegenden Erfindung dienen können, beinhalten, ohne darauf beschränkt zu sein, operatives Linken von Nukleinsäuremolekülen an Plasmide hoher Kopienanzahl, Integration der Nukleinsäuremoleküle in ein oder mehrere Wirtszellenchromosomen, Hinzufügen von Vektorstabilitätssequenzen zu Plasmiden, Substitutionen oder Modifikationen von Transkriptionssteuersignalen (z.B. Promotoren, Operatoren, Enhancer), Substitutionen oder Modifikationen von Translationssteuersignalen (z.B. Ribosom-Bindungsstellen, Shine-Dalgarno-Sequenzen), Modifikation von Nukleinsäuremolekülen der vorliegenden Erfindung, um eine Anpassung an die Codonnutzung der Wirtszelle zu bewirken, Deletion von Sequenzen, die Transkripte destabilisieren, und ein Einsatz von Steuersignalen, die während der Fermentation das rekombinante Zellwachstum vorübergehend von der rekombinanten Enzymproduktion trennen. Die Aktivität eines exprimierten rekombinanten Proteins, wie es hier beschrieben ist, kann durch Fragmentierung, Modifizierung oder Derivatisierung von Nukleinsäuremolekülen, die für ein derartiges Protein kodieren, verbessert werden.

[0162] Isolierte Floh-HMT- und/oder HNC-Proteine, wie sie hier beschrieben sind, können auf vielfältige Weise erzeugt werden, beispielsweise durch Erzeugung und Auffangen natürlicher Proteine, Erzeugung und Auffangen rekombinanter Proteine, und chemische Synthese der Proteine. Beispielsweise kann ein isoliertes Protein der vorliegenden Erfindung erzeugt werden, indem eine Zelle gezüchtet wird, die in der Lage ist, das Protein unter Bedingungen zu exprimieren, die geeignet sind zu das Protein hervorzubringen, und dieses aufzufangen. Eine bevorzugte zu züchtende Zelle ist eine rekombinante Zelle der vorliegenden Erfindung. Wirkungs-volle Züchtungsbedingungen umfassen, ohne darauf beschränkt zu sein, Bedingungen der Mittel, des Bioreaktors, der Temperatur, des pH-Werts und des Sauerstoffs, die wirkungsvoll sind, um die Produktion von Proteinen zu erlauben. Ein wirkungsvolles Medium bezieht sich auf ein beliebiges Medium, in dem eine Zelle gezüchtet wird, um ein Floh-HMT- und/oder HNC-Protein der vorliegenden Erfindung hervorzubringen. Solche Medien basieren gewöhnlich auf einem wässrigen Medium, das assimilierbaren Kohlenstoff, Stickstoff und

Phosphatquellen sowie geeignete Salze, Mineralien, Metalle und sonstige Nährstoffe, z.B. Vitamine, enthält. Zellen der vorliegenden Erfindung können in herkömmlichen Fermentationsbioreaktoren, Schüttelkolben, Te- ströhrchen, auf Mikrotiterscheiben und Petriplatten gezüchtet werden. Eine Züchtung kann unter für eine re- kombinante Zelle geeigneten Temperatur-, pH-Wert- und Sauerstoffgehalt-Bedingungen durchgeführt werden. Solche Züchtungsbedingungen sind Bestandteil des Fachwissen des Fachmanns. Beispiele geeigneter Bedin- gungen sind in dem Abschnitt "Beispiele" aufgeführt.

[0163] Abhängig von dem für die Erzeugung verwendeten Vektor- und Wirtssystem können resultierende Pro- teine der vorliegenden Erfindung entweder innerhalb der rekombinanten Zelle verbleiben; in das Fermentati- onsmedium abgesondert werden; in einen Raum zwischen zwei zellulären Membranen abgesondert werden, beispielsweise dem periplasmatischen Raum in *E. coli*; oder auf der Oberfläche einer Zelle oder einer viralen Membrane zurückgehalten werden.

[0164] Der Begriff "Auffangen des Proteins" sowie ähnliche Ausdrücke beziehen sich auf das Auffangen des gesamten Fermentationsmediums, das das Protein enthält, und impliziert nicht notwendig zusätzliche Schritte der Trennung oder Purifikation. Proteine, wie sie hier beschrieben sind, können mittels einer Vielfalt von stan- dardmäßigen Proteinpurifikationstechniken in reiner Form dargestellt werden, beispielsweise, jedoch ohne darauf beschränkt zu sein, Affinitätschromatographie, Ionenaustauschchromatographie, Filterung, Elektropho- rese, hydrophobe Wechselwirkungschromatographie, Gel-Filterungschromatographie, Umkehrphasenchro- matographie, Concanavalin-A-Chromatographie, Chromatofokussierung und differentielle Solubilisierung. Die Proteine werden vorzugsweise in "weitgehend reiner" Form aufgefangen. In dem hier verwendeten Sinne be- zeichnet "weitgehend rein" einen Reinheitsgrad, der den wirkungsvollen Einsatz des Proteins als eine thera- peutische oder diagnostische Zusammensetzung erlaubt. Eine therapeutische Zusammensetzung für Tiere sollte beispielsweise keine wesentliche Toxizität aufweisen und sollte vorzugsweise in der Lage sein, die Pro- duktion von Antikörpern in einem behandelten Tier zu stimulieren.

[0165] Die vorliegende Erfindung betrifft ferner isolierte (d.h. aus ihrer natürlichen Umgebung entfernte) Anti- körper, die selektiv an ein Floh-HMT- und/oder HNC-Protein der vorliegenden Erfindung binden oder eine Mi- metop davon (z.B. Anti-C. felis HMT- oder HNC-Antikörper). In dem hier verwendeten Sinne bezeichnet der Begriff "bindet selektiv an" ein HMT- und/oder HNC-Protein die Fähigkeit von Antikörpern der vorliegenden Er- findung, bevorzugt an spezifizierte erfindungsgemäße Proteine und deren Mimotope zu binden. Die Bindung lässt sich mittels vielfältiger Verfahren messen, die nach dem Stand der Technik Standard sind, beispielsweise Enzym-Immunoassays (z.B. ELISA), Immunoblot-Tests, usw.; siehe beispielsweise Sambrook et al., ebd. und Harlow, et al., 1988, *Antibodies, a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Labs Press; Harlow et al., ebd.

[0166] Ein Anti-HMT- oder Anti-HNC-Antikörper bindet vorzugsweise selektiv so an ein Floh-HMT- bzw. HNC-Protein, dass er die Funktion jenes Proteins inhibiert.

[0167] Isolierte Antikörper der vorliegenden Erfindung können Antikörper in Serum oder Antikörper beinhal- ten, die in unterschiedlichen Graden gereinigt wurden. Antikörper der vorliegenden Erfindung können polyclo- nal oder monoclonal sein, oder können funktionale äquivalente Formen sein, beispielsweise Antikörperfrag- mente und gentechnisch hergestellte Antikörper, zu denen Einzelkettenantikörper oder chimärische Antikörper gehören, die in der Lage sind, an ein oder mehrere Epitope zu binden.

[0168] Ein bevorzugtes Verfahren zum Erzeugen von Antikörpern der vorliegenden Erfindung beinhaltet die Schritte: (a) Verabreichung einer wirksamen Menge eines erfindungsgemäßen Proteins, Peptids oder Mime- tops davon an ein Tier, um die Antikörper zu erzeugen, und (b) Auffangen der Antikörper. In einem anderen Verfahren werden Antikörper der vorliegenden Erfindung mittels Techniken, wie sie im Vorausgehenden offen- bart sind, rekombinant erzeugt, um HMT- und/oder HNC-Proteine der vorliegenden Erfindung zu erzeugen. Gegen definierte Proteine oder Mimotope gezüchtete Antikörper können vorteilhaft sein, da solche Antikörper nicht wesentlich mit gegen sonstige Stoffe wirkenden Antikörpern kontaminiert sind, die in einem diagnosti- schen Versuch sonst Störungen oder Nebenwirkungen hervorrufen könnten, falls sie in einer therapeutischen Zusammensetzung eingesetzt werden.

[0169] Antikörper der vorliegenden Erfindung weisen eine Reihe unterschiedlicher nützlicher Einsatzmöglich- keiten auf, die in den Schutzbereich der vorliegenden Erfindung fallen. Beispielsweise können solche Antikör- per verwendet werden: (a) als therapeutische Verbindungen, um ein Tier passiv zu immunisieren, so dass die- ses vor Flöhen geschützt ist, die auf eine Behandlung mit solchen Antikörpern ansprechen und/oder (b) als Werkzeuge, um Expressionsbibliotheken zu Screenen und/oder gewünschte Proteine der vorliegenden Erin- dung aus einer Mischung aus Proteinen und sonstigen Verunreinigungen aufzufangen. Weiter können Antikör-

per der vorliegenden Erfindung verwendet werden, um gezielt zytotoxische Wirkstoffe gegen Flöhe einzusetzen, um diese unmittelbar zu töten. Ein gezielter Einsatz kann verwirklicht werden, indem derartige Antikörper durch in der Fachwelt bekannte Techniken mit den zytotoxischen Wirkstoffen konjugiert (d.h. stabil verbunden) werden. Geeignete zytotoxische Wirkstoffe sind in der Fachwelt bekannt.

[0170] Ein Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung ist eine therapeutische Zusammensetzung, die nach einer Verabreichung an ein für Flohbefall anfälliges Tier in der Lage ist, das Tier vor Flohbefall zu schützen. Therapeutische Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung enthalten mindestens eines der folgenden schutzwirksamen Moleküle: ein isoliertes Floh-HMT- und/oder HNC-Protein; ein isoliertes Floh-HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül; und/oder eine von dem isolierten Floh-HMT abgeleitete Verbindung. Eine therapeutische Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung kann ferner eine Komponente enthalten, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der ein Exzipienten, ein Trägerstoff und/oder ein Adjuvans gehören; diese Komponenten sind im Einzelnen hier beschrieben. In dem hier verwendeten Sinne bezeichnet ein schutzwirksames Molekül oder schutzwirksames Compound eine Verbindung, die nach einer Verabreichung an ein Tier in einer wirkungsvollen Weise in der Lage ist, einen Flohbefall zu behandeln, zu lindern und/oder zu verhindern. Bevorzugte zu bekämpfende Flöhe sind im Vorliegenden offenbart. Ein Beispiel eines schutzwirksamen Moleküls ist ein Impfstoff, beispielsweise, jedoch ohne darauf beschränkt zu sein, ein nackter Nukleinsäureimpfstoff, ein rekombinanter Impfstoff auf Virusbasis, ein auf rekombinanten Zellen basierender Impfstoff und ein auf rekombinantem Protein basierender Impfstoff. Ein weiteres Beispiel eines schutzwirksamen Moleküls ist eine Verbindung, die HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität inhibiert, z.B. ein isolierter Antikörper der selektiv an ein Floh-HMT- und/oder HNC-Protein bindet. Ein Inhibieren einer Floh-HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität kann sich auf die Fähigkeit einer Verbindung beziehen, die Aktivität Floh-HMT- und/oder HNC-Proteine zu reduzieren. Ein Inhibieren einer Floh-HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität kann sich außerdem auf die Fähigkeit einer Verbindung beziehen, die Menge an Floh-HMT- und/oder HNC-Protein in einem Floh zu reduzieren.

[0171] Weiter ist ein Verfahren zum Reduzieren eines Flohbefalls bei einem für Flohbefall anfälligen Tier beschrieben. Ein derartiges Verfahren beinhaltet den Schritt, dem Tier ein therapeutisches Molekül zu verabreichen, das ein schutzwirksames Compound enthält, das aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören (a) ein isoliertes Floh-HMT- und/oder HNC-Protein; (b) ein Mimetop eines isolierten Floh-HMT- und/oder HNC-Proteins; (c) ein isoliertes Floh-HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül; und (d) eine Verbindung, die von einem isolierten Floh-HMT- und/oder HNC-Protein abgeleitet ist, das HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität inhibiert.

[0172] Therapeutische Zusammensetzungen können an ein beliebiges für Flohbefall anfälliges Tier verabreicht werden, vorzugsweise an Säuger und eher bevorzugt an Hunde, Katzen, Menschen, Frettchen, Pferde, Rinder, Schafe und sonstige Tiere wie Streicheltiere, der Ernährung dienende Tiere, Arbeitstiere und/oder Zootiere. Zu bevorzugten Tieren, die vor Flohbefall durch Auftragen auf die Körperoberfläche des Tieres erfolgen (beispielsweise durch oberflächliches Auftupfen oder Besprühen des Tieres) oder durch Anwenden auf die Umgebung (z.B. Sprühen). Beispiele solcher Zusammensetzungen umfassen, ohne darauf beschränkt zu sein, transgene Vektoren, die in der Lage sind, wenigstens eine therapeutische Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung zu erzeugen. Alternativ kann ein Floh therapeutische Zusammensetzungen oder deren Produkte aufnehmen, die sich auf der Oberfläche eines Wirtstiers oder in dessen Blut befinden, nachdem dem Tier eine therapeutische Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung verabreicht wurde.

[0173] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Wirtstier (d.h. ein Tier, das von Flöhen befallen oder hierfür gefährdet ist) behandelt, indem dem Tier eine therapeutische Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung geeignet verabreicht wird, so dass die Zusammensetzung selbst (z.B. ein HMT- und/oder HNC-Protein-Inhibitor, ein HMT- und/oder HNC-Proteinsynthesuppressor (d.h. eine Verbindung, die die Erzeugung oder die Halbwertszeit eines HMT- und/oder HNC-Proteins in Flöhen reduziert), ein HMT- und/oder HNC-Protein-Mimetop oder ein Anti-HMT- und/oder HNC-Antikörper) oder ein Produkt, das durch das Tier in Reaktion auf die Verabreichung der Zusammensetzung erzeugt wird (z.B. Antikörper, die in Reaktion auf eine Verabreichung eines Floh-HMT- und/oder HNC-Proteins oder Nukleinsäuremoleküls oder auf eine Konvertierung eines inaktiven "Prodrug"-Inhibitors in einen aktiven HMT- und/oder HNC-Protein-Inhibitor erzeugt werden) letztendlich in den Floh gelangt. Ein Wirtstier wird vorzugsweise geeignet behandelt, so dass das Compound oder dessen Produkt auf der Körperoberfläche des Tieres vorhanden ist oder in den Blutstrom des Tieres eindringt. Die Flöhe sind dann der Zusammensetzung oder dem Produkt ausgesetzt, wenn sie sich an dem Tier ernähren. Beispielsweise werden zu verabreichende Floh-HMT- und/oder HNC-Protein-Hemmstoffe einem Tier so verabreicht, dass diese in den Blutstrom des Tieres gelangen, wo sie durch saugende Flöhe aufgenommen werden können.

[0174] Ferner ist die Fähigkeit mit eingeschlossen, einen Befall mit Flöhen im Larvenstadium zu reduzieren,

insofern als wenigstens ein Teil der Verbindungen der vorliegenden Erfindung oder deren Produkte, der sich in dem durch die Flöhe aufgenommenen Blut befindet, nachdem sich die Flöhe an dem Blut eines Wirtstiers ernährt haben, dem eine therapeutische Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung verabreicht wurde, von den Flöhen mit dem Kot ausgeschieden wird, der danach von den Flohlarven aufgenommen wird. Insbesondere ist zu beachten, dass Flohlarven sich hauptsächlich wenn nicht sogar ausschließlich von den Exkrementen der Flöhe ernähren.

[0175] Das Reduzieren einer HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität in einem Floh kann eine Anzahl von Resultaten erbringen, die eine Flohbelastung auf behandelten Tiere und in deren unmittelbarer Umgebung reduzieren. Solche Resultate umfassen, ohne darauf beschränkt zu sein, (a) Einschränkung der Lebensfähigkeit von Flöhen, die sich von dem behandelten Tier ernähren, (b) Reduzierung der Fertilität weiblicher Flöhe, die sich von dem behandelten Tier ernähren, (c) Reduzierung der Fortpflanzungsfähigkeit männlicher Flöhe, die sich von dem behandelten Tier ernähren, (d) Einschränkung der Lebensfähigkeit von Eiern, die von weiblichen Flöhen abgelegt werden, die sich von dem behandelten Tier ernähren, (e) Veränderung des Nahrungsaufnahmeverhaltens von Flöhen, die sich von dem behandelten Tier ernähren (beispielsweise nehmen die Flöhe geringere Volumina pro Mahlzeit auf oder saugen weniger häufig), (f) Einschränkung der Lebensfähigkeit von Flohlarven, beispielsweise aufgrund der Tatsache, dass sich die Larven durch Exkremente von Flöhen ernähren, die sich von dem behandelten Tier ernähren, (g) Verändern der Entwicklung von Flohlarven (z.B. durch Abnahme der Nahrungsaufnahme, Wachstumsbeschränkung, Inhibieren (z.B. Verlangsamen oder Blockieren) der Häutung und/oder Inhibieren der Reifung zum Erwachsenenstadium) und/oder (h) Verändern oder Verringern der Fähigkeit von Flöhen oder Flohlarven, eine Blutmahlzeit zu verdauen.

[0176] Um ein Tier vor Flohbefall zu schützen, wird dem Tier eine therapeutische Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung in einer wirkungsvollen Weise verabreicht, so dass die Zusammensetzung in der Lage ist, das Tier vor Flohbefall zu schützen. Therapeutische Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung können den Tieren vor einem Befall verabreicht werden, um dem Befall zu verhindern (d.h. als ein vorbeugender Impfstoff) und/oder können Tieren nach einem Befall verabreicht werden. Beispielsweise Proteine können Mimotope davon und Antikörper davon als immuntherapeutische Wirkstoffe verwendet werden.

[0177] Therapeutische Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung können in einem für das zu behandelnde Tier verträglichen Exzipienten formuliert werden. Zu Beispielen solcher Exzipienten zählen Wasser, physiologische Kochsalzlösung, Ringersche Lösung, Dextroselösung, Hanksche Lösung und sonstige wässrige physiologisch ausgewogene Salzlösungen. Es können auch nicht wasserhaltige Trägersubstanzen, z.B. fette Öle, Sesamöl, Ethyloleat oder Triglyceride verwendet werden. Zu weiteren nützlichen Formulierungen gehören Suspensionen, die die Viskosität fördernde Agenzien, z.B. Natriumcarboxymethylcellulose, Sorbitol oder Dextran enthält. Exzipienten können darüber hinaus geringe Mengen an Zusatzstoffen enthalten, z.B. Stoffe, die die Isotonizität und chemische Stabilität verbessern. Zu Beispielen von Puffern zählen Phosphatpuffer, Bicarbonatpuffer und Tris-Puffer, während zu Beispielen von Konservierungsstoffen Thimerosal oder o-Cresol, Formalin und Benzylalkohol gehören. Standardformulierungen können flüssige injizierbare Stoffe oder Feststoffe sein, die in einer geeigneten Flüssigkeit als eine Suspension oder Injektionslösung aufgenommen werden können. Dementsprechend kann der Exzipient in einer nicht flüssigen Formulierung Dextrose, humanes Serumalbumin, Konservierungsstoffe, usw. aufweisen, dem vor einer Verabreichung steriles Wasser oder physiologische Kochsalzlösung hinzugefügt werden kann.

[0178] Eine therapeutische Zusammensetzung gemäß der Erfindung enthält ein Adjuvans. Adjuvante sind Agenzien, die in der Lage sind, die Immunantwort eines Tier auf ein spezielles Antigen zu verstärken. Zu geeigneten Adjuvante gehören, ohne darauf beschränkt zu sein, Zytokine, Chemokine, und Verbindungen die die Produktion von Zytokinen und Chemokinen induzieren (z.B. Granulozyt-Makrophagenkolonie stimulierender Faktor (GM-CSF), Flt-3 Ligand, Granulozytenkolonie stimulierender Faktor (G-CSF), Makrophagenkolonie stimulierender Faktor (M-CSF), Kolonie stimulierender Faktor (CSF), Erythropoietin (EPO), Interleukin 2 (IL-2), Interleukin-3 (IL-3), Interleukin 4 (IL-4), Interleukin 5 (IL-5), Interleukin 6 (IL-6), Interleukin 7 (IL-7), Interleukin 8 (IL-8), Interleukin 10 (IL-10), Interleukin 12 (IL-12), Gamma-Interferon, Gamma-Interferon induzierender Faktor I (IGIF), transformierender Wachstumsfaktor Beta, RANTES (reguliert bei Aktivierung, von normalen T-Zellen exprimiert und vermutlich abgesondert), Makrophagen-Entzündungsproteine (z.B. MIP-1 Alpha und MIP-1 Beta), und Leishmania Elongationsinitiierungsfaktor (LEIF)); bakterielle Komponenten (z.B. Endotoxine, insbesondere Superantigene, Exotoxine und Zellmembrankomponenten); auf Aluminium basierende Salze; auf Kalzium basierende Salze; Silika; Polynucleotide; Toxoide; Serumproteine, virale Hüllproteine; Blockcopolymeradjuvante (z.B. Hunter's Titermax™ Adjuvans (Vaxcel™, Inc. Norcross, GA), Ribi Adjuvante (Ribi Immuno-Chem Research, Inc., Hamilton, MT); und Saponine und deren Derivate (z.B. Quil Eine (Superfos Biosector A/S, Dänemark). Proteinadjuvante der vorliegenden Erfindung können in der Form der Proteine selbst oder der

Nukleinsäuremoleküle verabreicht werden, die für derartige Proteine unter Verwendung der im Vorliegenden beschriebenen Verfahren kodieren.

[0179] Erfindungsgemäß kann eine therapeutische Zusammensetzung einen Trägerstoff enthalten. Zu Trägerstoffen gehören Verbindungen, die die Halbwertszeit einer therapeutischen Zusammensetzung in dem behandelten Tier erhöhen. Geeignete Trägerstoffe umfassen, ohne darauf beschränkt zu sein, polymer kontrollierte Freigabesubstanzen, biologisch abbaubare Implantate, Liposome, Bakterien, Viren, sonstige Zellen, Öle, Ester und Glykole.

[0180] Außerdem wird eine Formulierung zur kontrollierten Freigabe in Betracht gezogen, die in der Lage ist, eine Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung in einem Tier allmählich freizugeben. In dem hier verwendeten Sinne weist eine Formulierung zur kontrollierten Freigabe eine Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung in einer Trägersubstanz zur kontrollierten Freigabe auf. Geeignete kontrollierte Freigabe-Trägersubstanzen umfassen, ohne darauf beschränkt zu sein, biokompatible Polymere, sonstige polymere Matrizen, Kapseln, Mikrokapseln, Mikropartikel, Bolus-Präparate, osmotische Pumpen, Diffusionsvorrichtungen, Liposome, Lipospheren, und transdermale Verabreichungssysteme. Andere Formulierungen zur kontrollierten Freigabe beinhalten Flüssigkeiten, die nach Verabreichung an ein Tier in situ einen Feststoff oder ein Gel bilden. Bevorzugte Formulierungen zur kontrollierten Freigabe sind biodegradabel (d.h. biologisch abbaubar).

[0181] Eine bevorzugte Formulierung zur kontrollierten Freigabe ist in der Lage, eine Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung in das Blut des behandelten Tieres mit einer konstanten Geschwindigkeit freizugeben, die ausreicht, um einen therapeutischen Dosisspiegel der Zusammensetzung zu erreichen, um ein Tier vor Flohbefall zu schützen. Die therapeutische Zusammensetzung wird vorzugsweise über eine bestimmte Zeitspanne freigegeben, die sich zwischen etwa 1 bis ungefähr 12 Monate bewegen. Eine Formulierung zur kontrollierten Freigabe der vorliegenden Erfindung ist in der Lage, vorzugsweise mindestens etwa 1 Monat, eher bevorzugt mindestens etwa 3 Monate, sogar eher bevorzugt mindestens etwa 6 Monate, sogar eher bevorzugt mindestens etwa 9 Monate, und sogar eher bevorzugt mindestens etwa 12 Monate zu therapeutisch zu wirken.

[0182] Geeigneten Protokolle zum Verabreichen therapeutischer Zusammensetzungen in einer wirkungsvollen Weise beinhalten eine individuelle Dosierung, die Anzahl von Dosen, die Häufigkeit der Verabreichung einer Dosis und die Verabreichungsform. Die Festlegung derartiger Protokolle kann durch den Fachmann erfolgen. Eine geeignete Einzeldosis ist eine Dosis, die in der Lage ist, ein Tier vor einer Erkrankung zu schützen, wenn sie innerhalb einer geeigneten Zeitspanne ein oder mehrere Male verabreicht wird. Beispielsweise liegt eine bevorzugte Einzeldosis einer therapeutischen Protein-, Mimetop- oder Antikörper-Zusammensetzung, die einen auf rekombinantem Protein basierenden Impfstoff enthält, in einem Bereich von ungefähr 1 Mikrogramm (μg) bis ungefähr 10 Milligramm (mg) der therapeutischen Zusammensetzung pro Kilogramm Körpergewicht des Tieres. Auffrischungsimpfungen können im Bereich von etwa 2 Wochen bis zu einigen Jahren nach der ersten Verabreichung erfolgen. Auffrischungsverabreichungen werden vorzugsweise verabreicht, wenn die Immunantwort des Tieres nicht mehr ausreicht, um das Tier vor einer Erkrankung zu schützen. Ein bevorzugtes Verabreichungszeitschema basiert darauf, dass etwa 10 μg bis ungefähr 1 mg der therapeutischen Zusammensetzung pro kg Körpergewicht des Tieres etwa ein- bis ungefähr zweimal in einer Zeitspanne von etwa 2 Wochen bis ungefähr 12 Monaten verabreicht werden.

[0183] Verabreichungsarten können, ohne darauf beschränkt zu sein, subkutane, intradermale, intravenöse, intranasale, orale, transdermale, intraoculare, konjunktivale, und intramuskuläre Routen umfassen. Verabreichungsverfahren für andere therapeutische Verbindungen kann ein Fachmann bestimmen, und diese können die Verabreichung einer therapeutischen Zusammensetzung ein oder mehrere Male, auf einer täglichen, wöchentlichen, monatlichen oder jährlichen Basis umfassen; Verabreichungsformen können durch einen Fachmann festgelegt werden und können auf einer beliebigen Verabreichungsrouten basieren. Eine bevorzugte Verabreichungsrouten eines inhibierenden Compounds im Falle einer Verabreichung an Flöhe ist eine äußerliche oder "Auftupf"-Formulierung, die auf der Körperoberfläche des Tieres appliziert wird, so dass ein Floh dem inhibierenden Compound ausgesetzt ist, wenn er das Tier befällt; eine weitere bevorzugte Verabreichungsrouten eines inhibierenden Compounds basiert auf einer oralen Formulierung, die nach der Nahrungsaufnahme des Tieres in der Regel in dessen Blutstrom gelangt, der anschließend auf einen Floh übertragen wird, während sich dieser an dem Tier ernährt.

[0184] Eine auf rekombinantem Protein basierender Impfstoff wird beschrieben, der ein rekombinant erzeugtes Floh-HMT- und/oder HNC-Protein der vorliegenden Erfindung enthält, das einem Tier gemäß einem Protokoll verabreicht wird, das dazu führt, dass das Tier eine ausreichende Immunantwort hervorbringt, um sich vor einem Flohbefall zu schützen. Solche Protokolle lassen sich durch den Fachmann ermitteln.

[0185] Ein Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung kann einem Tier auf eine geeignete Weise verabreicht werden, um in dem Tier eine Expression jenes Nukleinsäuremoleküls in ein schutzwirksames Protein oder eine schutzwirksame RNA (z.B. Antisense-RNA, Ribozym, Tripelhelixformen oder RNA-Medikament) zu ermöglichen. Nukleinsäuremoleküle können einem Tier mittels einer Reihe unterschiedlicher Verfahren verabreicht werden, zu denen, jedoch ohne darauf beschränken zu wollen, gehören: (a) Verabreichen einer nackten (d.h. nicht in einer Virushülle oder zellulären Membrane verpackten) Nukleinsäure als genetischer Impfstoff (z.B. als nackte DNA- oder RNA-Moleküle, wie beispielsweise in Wolff et al., 1990, Science 247, 1465–1468 erläutert) oder (b) Verabreichen eines Nukleinsäuremoleküls, das in Form eines rekombinanten Impfstoffs auf Virusbasis oder in Form eines auf rekombinanten Zellen basierenden Impfstoffs (d.h. das Nukleinsäuremolekül wird durch eine virale oder zelluläre Trägersubstanz verabreicht) verpackt ist.

[0186] Ein genetischer (d.h. die Form einer nackten Nukleinsäure aufweisender) Impfstoff kann ein Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung enthalten und enthält vorzugsweise ein rekombinantes Molekül der vorliegenden Erfindung, das vorzugsweise kompetent für Replikation oder für eine sonstige Amplifikation ist. Dieser genetische Impfstoff kann ein oder mehrere Nukleinsäuremoleküle der vorliegenden Erfindung in Form beispielsweise eines dicistronischen rekombinanten Moleküls aufweisen. Bevorzugte genetische Impfstoffe enthalten wenigstens einen Teil eines viralen Genoms, d.h. einen viralen Vektor. Zu bevorzugten viralen Vektoren gehören solche, die auf Alphaviren, Pockenviren, Adenoviren, Herpesviren, Picomaviren und Retroviren basieren, wobei solche, die auf Alphaviren basieren, z.B. Sindbis oder Semliki-Forest-Virus, artspezifische Herpesviren und Pockenviren sind besonders bevorzugt. Jede beliebige geeignete Transkriptionssteuersequenz kann verwendet werden, beispielsweise jene, die als geeignete für Proteinproduktion offenbart sind. Zu besonders bevorzugten Transkriptionssteuersequenzen gehören Zytomegalovirus des Typs "sehr früh" (vorzugsweise in Verbindung mit Intron-A), Rous-Sarkomvirus Repeat am langen Terminal und gewebespezifische Transkriptionssteuersequenzen, sowie Transkriptionssteuersequenzen, die gegenüber viralen Vektoren endogen sind, falls virale Vektoren verwendet werden. Die Einbeziehung eines "starken" Polyadenylierungssignal ist ebenfalls bevorzugt.

[0187] Genetische Impfstoffe, wie sie hier beschrieben sind, können auf vielfältigen Wegen verabreicht werden, wobei intramuskuläre, subkutane, intradermale, transdermale, konjunktivale, intraoculare, intranasale und orale Verabreichungsformen bevorzugt sind. Eine bevorzugte Einzeldosis eines genetischen Impfstoffs liegt im Bereich von etwa 1 Nanogramm (ng) bis ungefähr 600 µg, abhängig von der Verabreichungsroute und/oder dem Verabreichungsverfahren, wie es sich durch den Fachmann ermitteln lässt. Geeignete Verabreichungsverfahren basieren beispielsweise auf Injektion, Tropfen, Zerstäubung und/oder äußerlicher Applikation. Genetische Impfstoffe der vorliegenden Erfindung können in einem wässrigen Exzipienten (z.B. Phosphatpufferkochsalzlösung), in reiner Form oder in einem Trägerstoff (z.B. auf Lipid basierende Trägersubstanzen) vorliegen.

[0188] Ein rekombinanter Impfstoff auf Virusbasis enthält ein rekombinantes Molekül der vorliegenden Erfindung, das in einer Virushülle verpackt ist und sich nach Verabreichung in einem Tier exprimieren lässt. Vorzugsweise ist das rekombinante Molekül mangelhaft hinsichtlich Verpackung oder Replikation und/oder kodiert für ein geschwächtes Virus. Eine Reihe von rekombinanten Viren können verwendet werden, zu denen, jedoch ohne darauf beschränken zu wollen, solche gehören, die auf Alphaviren, Pockenviren, Adenoviren, Herpesviren, Picornaviren und Retroviren basieren. Bevorzugte Impfstoffe auf der Basis rekombinanter Viren sind solche, die auf Alphaviren (beispielsweise Sindbis-Virus), Waschbärpockenviren, artspezifischen Herpesviren und artspezifischen Pockenviren basieren. Ein Beispiel von Verfahren zum Erzeugen und Einsetzen von Alphavirus rekombinanten Impfstoffen auf Virusbasis ist in der US-Patentschrift 5 766 602 von Xiong und Grieve offenbart. Nach Verabreichung an ein Tier infiziert ein rekombinanter Impfstoff auf Virusbasis, wie oben beschrieben, Zellen in dem immunisierten Tier und steuert die Produktion eines schutzwirksamen Proteins oder RNA-Nukleinsäuremoleküls, das in der Lage ist, das Tier, wie im Vorliegenden offenbart, vor Flohbefall zu schützen. Beispielsweise wird ein rekombinanter Impfstoff auf Virusbasis, der ein Floh-HMT- und/oder HNC-Nukleinsäuremolekül der vorliegenden Erfindung aufweist, gemäß einem Protokoll verabreicht, das dazu führt, dass das Tier eine ausreichende Immunantwort erzeugt, um sich vor Flohbefall zu schützen. Eine bevorzugte Einzeldosis eines rekombinanten Impfstoffs auf Virusbasis der vorliegenden Erfindung liegt in einem Bereich von ungefähr 1×10^4 bis ungefähr 1×10^8 Virusplaque bildende Einheiten (pfu) pro Kilogramm Körpergewicht des Tieres. Verabreichungsprotokolle ähneln jenen, die mit Blick auf Protein basierenden Impfstoffen im Vorliegenden beschrieben sind, wobei subkutane, intramuskuläre, intranasale, intraoculare, konjunktivale, und orale Verabreichungsrouten bevorzugt sind.

[0189] Ein auf rekombinanten Zellen basierender Impfstoff, wie er beschrieben ist, enthält rekombinante Zellen der vorliegenden Erfindung, die wenigstens ein Protein der vorliegenden Erfindung exprimieren. Zu bevor-

zugten rekombinante Zellen für dieses Ausführungsbeispiel gehören rekombinante Salmonellen-, E. coli-, Listeria-, Mycobacterium-, S. frugiperda-, Hefe-, (einschließlich *Saccharomyces cerevisiae* und *Pichia pastoris*), BHK-, CV-1-, Myoblast G8-, COS- (z.B. COS-7), Vero-, MDCK- und CRFK-Zellen. Rekombinante Zellen verwendende Impfstoffe der vorliegenden Erfindung können auf vielfältigen Wegen verabreicht werden, weisen jedoch den Vorteil auf, dass sie oral, vorzugsweise in Dosen im Bereich von etwa 10^8 bis ungefähr 10^{12} Zellen pro Kilogramm Körpergewicht verabreicht werden können. Verabreichungsprotokolle ähneln jenen, die mit Blick auf Protein basierenden Impfstoffen im Vorliegenden beschrieben sind. Rekombinante Zellen verwendende Impfstoffe können ganz Zellen, von Zellmembranen befreite Zellen oder Zelllysate beinhalten.

[0190] Die Wirksamkeit einer therapeutischen Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung zum Schutz eines Tieres vor Flohbefall kann auf vielfältigen Wegen getestet werden, zu denen, jedoch ohne darauf beschränken zu wollen, gehören: Nachweis von schutzwirksamen Antikörpern (beispielsweise mittels Proteinen oder Mimetopen der vorliegenden Erfindung), Nachweis einer zellulären Unempfindlichkeit in dem behandelten Tier oder Abfrage des behandelten Tiers mit den Flöhen, um festzustellen, ob das behandelte Tier gegenüber Befall resistent ist. Abfrageuntersuchung können unmittelbare Verabreichung von Flöhen an das behandelte Tier beinhalten. In einem Ausführungsbeispiel können therapeutische Zusammensetzungen in Tiermodellen, beispielsweise Mäusen, getestet werden. Solche Techniken sind in der Fachwelt bekannt.

[0191] Eine dieser therapeutischen Zusammensetzungen enthält einen Inhibitor einer Floh-HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität, d.h. ein Compound, das in der Lage ist, die Funktion eines Floh-HMT- und/oder HNC-Proteins, das auf Inhibition durch einen Inhibitor von Floh-HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität anspricht, erheblich zu stören. Ein Inhibitor einer HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität kann mittels erfindungsgemäßer Floh-HMT- und/oder HNC-Proteine identifiziert werden. Ein Inhibitor einer HMT- und/oder HNC-Protein-Funktion kann mittels erfindungsgemäßer Floh-HMT- und/oder HNC-Proteine identifiziert werden. Ein bevorzugter Inhibitor einer HMT- und/oder HNC-Protein-Funktion ist ein Compound, das in der Lage ist, die Funktion eines Floh-HMT- und/oder HNC-Proteins erheblich zu stören, und dass Wirtstierproteine nicht wesentlich beeinträchtigt. In dem hier verwendeten Sinne ist ein Compound, das Wirtstierproteine nicht wesentlich inhibiert oder beeinträchtigt, so geartet, dass das Wirtstier nach Verabreichung des Compounds keine auf die Verbindung zuzurückführbare wesentlichen nachteiligen Wirkungen zeigt, und nach Verabreichung an ein Tier in einer wirkungsvollen Weise in der Lage ist, das Tier vor Flohbefall zu schützen.

[0192] Weiter ist ein Verfahren zum Identifizieren eines Compounds beschrieben, das in der Lage ist, Floh-HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität zu inhibieren. Ein derartiges Verfahren enthält die Schritte: (a) Inberührungbringen (z.B. Zusammenführen, Mischen) eines isolierten Floh-HMT- und/oder HNC-Proteins, vorzugsweise eines C. felis HMT- und/oder HNC-Proteins, der vorliegenden Erfindung, mit einem mutmaßlich inhibierenden Compound unter Bedingungen, in denen in der Abwesenheit der Verbindung das Protein HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität aufweist, und (b) Ermitteln, ob das mutmaßlich inhibierende Compound die Aktivität inhibiert. HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität lassen sich auf vielfältigen aus dem Stand der Technik bekannten Wegen bestimmen, zu denen, ohne auf diese beschränken zu wollen, gehören: Ermitteln der Fähigkeit von HMT- und/oder HNC-Protein an ein Substrat zu binden oder in sonstiger Weise mit diesem zu interagieren. Zu solchen Bedingungen, unter denen ein HMT- und/oder HNC-Protein HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität aufweist, gehören Bedingungen, in denen ein HMT- und/oder HNC-Protein unter physiologischen Bedingungen, d.h. einem physiologischen pH-Wert, physiologische ionischen Konzentrationen und physiologischen Temperaturen, eine einwandfreie dreidimensional gefaltete Struktur aufweist.

[0193] Zu screenende mutmaßliche inhibierende Compounds beinhalten Antikörper (einschließlich Fragmente und Mimotope davon), mutmaßliche Substrat-Analoga und sonstige, vorzugsweise kleine, organische oder anorganische Moleküle. Verfahren zum Ermitteln einer HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität sind in der Fachwelt bekannt; siehe z.B. den Abschnitt Beispiele der vorliegenden Anmeldung. Verfahren zum Ermitteln einer Bindung eines mutmaßlich inhibierenden Compounds an ein HMT- und/oder HNC-Protein der vorliegenden Erfindung sind dem Fachmann bekannt und beinhalten beispielsweise das Bestimmen von Änderungen in molekularer Masse mittels Oberflächenplasmonresonanz (z.B. durch Bestimmen der Lichtstreuung durch einen Inhibitor eines HMT- und/oder HNC-Proteins, vor und nach der Kontaktierung des Inhibitors oder Proteins mit einem HMT- und/oder HNC-Protein bzw. Inhibitor) oder Screenen hinsichtlich Verbindungen, die eine Wechselwirkung zwischen einem HMT- und/oder HNC-Protein und einem Substrat verhindern.

[0194] Zu einem bevorzugten Verfahren zum Identifizieren eines Compounds, das in der Lage ist, HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität zu inhibieren gehören: Kontaktieren eines isolierten Floh-HMT- und/oder HNC-Protein mit einer Aminosäuresequenz, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: (a) ein Protein, das eine Aminosäuresequenz aufweist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: SEQ ID NO: 2,

SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 1862, SEQ ID NO: 1868, SEQ ID NO: 1873, SEQ ID NO: 1879, SEQ ID NO: 1883, SEQ ID NO: 1888, SEQ ID NO: 1897, SEQ ID NO: 1902, SEQ ID NO: 1915, SEQ ID NO: 1920, SEQ ID NO: 1925 und/oder SEQ ID NO: 1930 und/oder ein Protein, für das ein Nukleinsäuremolekül aus Tabelle I, Tabelle II, Tabelle III und/oder Tabelle IV kodiert; (b) ein Protein, das eine wenigstens 25 aufeinanderfolgende Aminosäuren langen Abschnitt aufweist, der hinsichtlich der Sequenz mit einem darauffolgenden Aminosäureabschnitt einer Sequenz identisch ist, wie sie in (a) dargelegt ist, wobei das Protein HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität aufweist; (c) ein Protein, das ein Fragment eines Proteins aufweist, wie es in (a) dargelegt ist, wobei das Fragment eine Aktivität aufweist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören, Binden an ein HMT- und/oder HNC-Molekül und Hydrolysieren eines HMT- und/oder HNC-Proteinsubstrats; und (d) ein Protein, für das eine allele Variante eines Nukleinsäuremoleküls kodiert, das für ein beliebiges Protein von (a), (b) oder (c) kodiert, wobei sich eine mutmaßlich inhibierende Compound unter Bedingungen befindet, in denen das Protein in der Abwesenheit der Verbindung HMT- und/oder HNC-Protein-Aktivität aufweist; und feststellen, ob das mutmaßlich inhibierende Compound die Aktivität inhibiert.

[0195] Ein weiteres Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung ist eine Testzusammenstellung zum Identifizieren eines Inhibitors eines Floh-HMT- und/oder HNC-Proteins der vorliegenden Erfindung. Diese Zusammenstellung weist ein isoliertes Floh-HMT- und/oder HNC-Protein der vorliegenden Erfindung und ein Mittel zur Bestimmung einer Inhibition einer Aktivität eines Floh-HMT- und/oder HNC-Proteins auf, wobei das Mittel den Nachweis einer Inhibition ermöglicht. Der Nachweis einer Inhibition eines Floh-HMT- und/oder HNC-Proteins identifiziert einen mutmaßlichen Inhibitor, ein Inhibitor eines Floh-HMT- und/oder HNC-Proteins zu sein. Die Mittel zur Bestimmung einer Inhibition eines Floh-HMT- und/oder HNC-Proteins beinhalten eine Versuchsanordnung, die eine Bindung eines mutmaßlichen Inhibitors an ein Floh-HMT- und/oder HNC-Molekül erfasst, und eine Versuchsanordnung, die eine Störung durch einen mutmaßlichen Inhibitor für die Fähigkeit Floh-HMT und/oder HNC-Protein erfasst, ein Substrat zu hydrolysieren. Mittel und Verfahren sind im Vorliegenden beschrieben und sind in der Fachwelt bekannt.

[0196] Die folgenden Beispiele sind zum Zweck einer Veranschaulichung dargelegt und sollen den Gegenstand der vorliegenden Erfindung nicht beschränken. Die folgenden Beispiele beinhalten eine Anzahl von in der Fachwelt bekannten chemischen Verfahren im Zusammenhang mit rekombinanter DNA und Protein; siehe beispielsweise Sambrook et al., ebd.

Beispiel 1

[0197] Dieses Beispiel beschreibt die Isolierung von RNA aus dem Hindgut und Malpighi-Tubuli (HMT) von *Ctenocephalides felis* und die Verwendung von isolierter RNA zum Konstruieren von subtrahierten und nicht subtrahierten cDNA-Bibliotheken.

[0198] Etwa 10.000 Hindguts und Malpighi-Tubuli wurden von übereinstimmende Zahlen von mit Katzenblut gefütterten bzw. nicht damit gefütterten ausgewachsenen *C. felis* mit einem Verhältnis männlich zu weiblich von 1 zu 4 disseziert, und die Gesamt-RNA wurde unter Verwendung eines Guanidin-Isothiocyanatlysepuffers und dem von Sambrook et al. beschriebenen Standardverfahren extrahiert. Mit Poly-A angereicherte mRNA wurde mittels einer von Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, bezieharen mRNA-Purifikationszusammenstellung gemäß dem Herstellerprotokoll von der oben erwähnten Gesamt-RNA gereinigt. Dieselben Arbeitsschritte wurden verwendet, um die Gesamt-RNA zu extrahieren und mit Poly-A angereicherte mRNA von den dissezierten *C. felis* Körpern nach Entfernung von HMT, im Folgenden mit "nicht-HMT-mRNA" bezeichnet, zu isolieren.

[0199] Mit Poly-A angereicherte mRNA wurde verwendet, um mittels subtraktiver Hybridisierung und Suppressions-PCR, wie im Folgenden erläutert, eine cDNA-Bibliothek zu konstruieren. Die subtraktive Hybridisierung und Suppressions-PCR wurde mittels einer PCR-Select™ cDNA Subtraktionszusammenstellung, die von Clontech Laboratories, Inc., Palo Alto, CA beziehbar ist, nach den Vorgaben des Herstellers durchgeführt. Kurz gesagt verwendet diese Zusammenstellung subtraktive Hybridisierung und Suppressions-PCR, um spezifisch cDNA-Sequenzen zu amplifizieren, die in der Tester-cDNA vorliegen und in der Treiber-cDNA abwesend sind, und auf diese Weise hinsichtlich testerspezifischer Sequenzen anzureichern. Die Effizienz des Subtraktionsverfahrens kann, wie in Abschnitt V. D. des Herstellerprotokolls beschrieben, durch semiquantitative PCR und durch Vergleichen der Ethidiumbromid-Färbungsmuster der subtrahierten und nicht subtrahierten Proben auf Agarose-Gelen abgeschätzt werden.

[0200] Für die semiquantitative PCR wurden drei Gene mit mRNAs verwendet, von denen bekannt ist, dass

sie außerhalb des HMT-Gewebes exprimieren, um auf eine spezifische Subtraktion zu testen. Diese Gene kodierten für mutmaßliche Actin-, N-Aminopeptidase- und Serinproteaseproteine.

[0201] Die subtraktive Hybridisierung und Suppressions-PCR wurde unter den folgenden Bedingungen durchgeführt: Zwei Mikrogramm (μg) HMT-mRNA wurden als Matrize für eine Synthese des Testermaterials verwendet, und 2 μg von nicht-HMT-mRNA wurden in dieser Reaktion als Matrize für die Synthese des Treibermaterials verwendet. Die Anzahl von in den selektiven Amplifizierungsschritten verwendeten Zyklen wurde unter Verwendung der Herstellerprotokolle optimiert. Die Optimierung führte zu der Verwendung von 24 anstelle der standardmäßigen 27 Zyklen primärer PCR, in Kombination mit 15 Zyklen sekundärer PCR anstelle der standardmäßigen 12 Zyklen.

[0202] Die Produkte aus der suppressiven PCR-Reaktion wurden mittels eines Original TA Cloning® Kit, beziehbar von Invitrogen in den von Invitrogen, Carlsbad, CA, beziehbaren pCR® 2.1 Vektor ligasiert. Die Ligationsreaktion wurde anschließend verwendet, um von Invitrogen beziehbare kompetente Zellen INValphaF' One Shot™ zu transformieren, die mit 50 Mikrogramm pro Milliliter ($\mu\text{g}/\text{ml}$) Ampicillin, beziehbar von Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, und 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 5-Brom-4-Chlor-3-Indoyl-(Beta-D-Galactopyranosid (X-Gal), beziehbar von Fisher Biotech, Fair Lawn, NJ, auf Luria-Nährboden-(LB)-Agar aufgetragen waren. Transformierte Kolonien wurden amplifiziert, und die DNA mittels des standardmäßigen alkalischen Lyseverfahrens isoliert, wie es von Sambrook et al., ebd. beschrieben ist.

[0203] Mittels eines ABI PRISM™ Model 377, beziehbar von Perkins Elmer, mit XL upgrade DNA Sequencer, beziehbar von PE Applied Biosystems, Foster City, CA, wurden nach der Durchführung von Reaktionen mittels des PRISM™ Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kits oder des PRISM™ dRhodamine Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kits oder des PRISM™ BigDye™ Terminator Cycle sequencing Ready Reaction Kits, beziehbar von PE Applied Biosystems, gemäß dem nachstehend mit "Standardsequenzierungsverfahren" bezeichneten Herstellerprotokoll automatisierte Zyklus-Sequenzierung von DNA-Proben durchgeführt. Eine Sequenzanalyse wurde unter Verwendung von Standardparametern mittels der von International Biotechnologies Inc., New Haven, CT, beziehbaren Sequenzanalysesoftware MacVector™ und der nachstehend mit GCG Version 9.0 bezeichneten, von Genetics Computer Group (GCG), Madison, WI, beziehbaren Sequenzanalysesoftware Wisconsin Package Version 9.0, durchgeführt. Von jeder ausgelesenen Sequenz wurde die Vektorsequenz an beiden Enden abgetrennt und mittels des BLAST-Netzwerks einer Suche durch die Institute National Center for Biotechnology Information (NCBI), National Library of Medicine, National Institute of Health, Baltimore, MD, unterworfen. Diese Datenbank schließt die Datenbanken SwissProt + PIR + SPupdate + GenPept + GPupdate + PDB ein. Die Suche wurde mittels der xBLAST-Funktion durchgeführt, die die translatierten Sequenzen in sämtlichen 6 Leseframes mit den in der Datenbank enthaltenen Proteinsequenzen vergleicht. Klone, die eine signifikante Homologie gegenüber Sequenzen in der GenBank-Datenbank aufwiesen, wurden gemäß der vorgeschlagenen Funktion gruppiert und sind in Tabelle II aufgelistet. Klone ohne signifikante Homologie gegenüber Sequenzen in der GenBank-Datenbank wurden manuell nach offenen Leseframes durchsucht und sind in Tabelle IV aufgelistet.

[0204] Eine nicht subtrahierte HMT-cDNA-Bibliothek wurde wie im Folgenden erläutert konstruiert. Etwa 10.000 HMT-Gewebe wurden von übereinstimmende Zahlen von nicht mit Katzenblut gefütterten bzw. damit gefütterten ausgewachsenen *C. felis* mit einem Verhältnis männlich zu weiblich von 1:4 disseziert. Die Gesamt-RNA wurde gemäß den Herstellerprotokollen unter Verwendung eines Guanidin-Isothiocyanatlysepuffers und den von Sambrook et al. beschriebenen Arbeitsschritten, gefolgt von einer Isolierung mittels eines von Pharmacia beziehbaren mRNA-Purifikationskits, extrahiert. Die Bibliothek wurde mit 5 μg isolierter mRNA mittels eines ZAP-cDNA® cDNA synthesis kits konstruiert und mittels eines ZAP-cDNA® Gigapack® Gold Cloning Kits gepackt, beides beziehbar von Stratagene, La Jolla, CA.

[0205] Die resultierende HMT-Bibliothek wurde zu einem Titer von etwa 5×10^9 plaquebildenden Einheiten pro Milliliter (pfu/ml) amplifiziert. Einzelklonexzision wurden mittels der von Stratagen beziehbaren Helferphagen Ex-Assist™ durchgeführt und genutzt, um unter Verwendung der Herstellerprotokolle mit den folgenden Ausnahmen Doppelstrang-Plasmid-Matrizen zum Sequenzieren zu erzeugen. Nach einer Inkubation der SOLR-Zellen mit dem geklärten Phagenlysat wurde die Mischung verwendet, um LB-Nährboden zu inokulieren, und die Mischung wurde über Nacht inkubiert und, wie oben für die subtrahierte HMT-Bibliothek beschrieben, anschließend einer Miniprep-Plasmidpräparation und Sequenzierung unterworfen.

Beispiel 2

[0206] Dieses Beispiel beschreibt die Isolierung von RNA aus dem Kopf- und Nervenstrang (HNC) von Cte-

nocephalides felis und die Verwendung von isolierter RNA zum Konstruieren von subtrahierten und nicht subtrahierten cDNA-Bibliotheken.

[0207] Etwa 4.000 Köpfe und damit verbundene Nervenstränge, einschließlich der terminalen abdominalen Ganglien wurden von übereinstimmenden Zahlen von mit Katzenblut gefütterten und nicht gefütterten ausgereifen *C. felis* mit einem Verhältnis von männlich zu weiblich von 1 zu 4 disseziert, und die Gesamt-RNA wurde mittels eines Guanidin-Isothiocyanatlysepuffer und dem Standardverfahren, wie es von Sambrook et al. beschrieben ist, extrahiert. Etwa 618 µg Gesamt-RNA war wiedergewonnen. Mit Poly-A angereicherte mRNA wurde mittels einer von Pharmacia beziehbaren mRNA-Purifikationszusammenstellung gemäß dem Herstellerprotokoll von der oben erwähnten Gesamt-RNA gereinigt. Etwa 13 µg mRNA wurden isoliert. Dieselben Arbeitsschritte wurden verwendet, um die Gesamt-RNA zu extrahieren und mit Poly-A angereicherte mRNA von den dissezierten *C. felis* Körpern nach Entfernung von HNC, im Folgenden mit "nicht-HNC-mRNA" bezeichnet, zu isolieren.

[0208] Subtraktive Suppressions-PCR wurde, wie in Beispiel 1 beschrieben, mittels einer von Clontech beziehbaren PCR-Select™ cDNA-Subtraktionszusammenstellung unter den folgenden Bedingungen durchgeführt: Zwei Mikrogramm (µg) HNC-mRNA wurden als die Matrize für eine Synthese des Testermaterials verwendet, und 2 µg von nicht-HMT-mRNA wurden in diese Reaktion als Matrize für die Synthese des Treibermaterials verwendet. Die Anzahl von in den selektiven Amplifizierungsschritten verwendeten Zyklen wurde unter Verwendung der Herstellerprotokolle optimiert. Die Optimierung führte zu der Verwendung von 24 anstelle der standardmäßigen 27 Zyklen primärer PCR, in Kombination entweder mit 12 oder mit Zyklen sekundärer PCR.

[0209] Von den vielfältigen Kombinationen von PCR-Zyklen gewonnene cDNA-Pools wurden mittels einer von Invitrogen beziehbaren TA-Klonierungszusammenstellung in den TA-Vektor ligasiert. Aliquote der Ligationsreaktion wurden in von Gibco-BRL, Gaithersburg, MD, beziehbare Ultramax DH5?™ Bakterien transformiert. Teile der Transformationsmischung wurden verwendet, um LB-Boullionkulturen zu inokulieren, die 100 µg/ml Ampicillin enthielten. Die Übernachtskulturen wurden plattiert, um diskrete Kolonien zu erzeugen, die individuell für Übernachtskulturen für Plasmidpreps verwendet wurden. Transformierte Kolonien wurden amplifiziert, und die DNA mittels des standardmäßigen alkalischen Lyseverfahrens isoliert, wie es von Sambrook et al., ebd. beschrieben ist.

[0210] Automatisierte Zyklus-Sequenzierung von DNA-Proben wurde mittels der Standardsequenzierungsverfahren durchgeführt, wie sie in Beispiel 1 beschrieben sind. Eine Sequenzanalyse wurde unter Verwendung von Standardparametern mittels der von International Biotechnologies Inc., New Haven, CT, beziehbaren Sequenzanalysesoftware MacVector™ und der nachstehend mit GCG Version 9.0 bezeichneten, von Genetics Computer Group (GCG), Madison, WI, beziehbaren Sequenzanalysesoftware Wisconsin Package Version 9.0, durchgeführt. Von jeder ausgelesenen Sequenz wurde die Vektorsequenz an beiden Enden abgetrennt und, wie in Beispiel 1 beschrieben, einer xBLAST-Suche unterworfen. Klone, die eine signifikante Homologie gegenüber Sequenzen in der GenBank-Datenbank aufwiesen, wurden gemäß der vorgeschlagenen Funktion gruppiert und sind in Tabelle I aufgelistet. Klone ohne signifikante Homologie gegenüber Sequenzen in der GenBank-Datenbank wurden manuell nach offenen Leseframes durchsucht und sind in Tabelle III aufgelistet.

[0211] Eine nicht subtrahierte cDNA-Bibliothek wurde wie im Folgenden erläutert konstruiert. Es wurden etwa 6400 Kopf- und Nervenstränge von *C. felis* disseziert, und Poly-A-RNA wurde wie oben beschrieben isoliert. Über sieben µg der HNC-Poly-A-RNA wurden verwendet um mittels des Lambda-ZAP-cDNA-Synthesekits und -Protokolls von Stratagen eine cDNA-Bibliothek zu konstruieren. Die resultierende HNC-Bibliothek wurde zu einem Titer von etwa 5×10^9 plaquebildenden Einheiten pro Milliliter (pfu/ml) amplifiziert. Einzelklonexzision wurden mittels der von Stratagen beziehbaren Helferphagen Ex-Assist™ durchgeführt und genutzt, um unter Verwendung der Herstellerprotokolle mit den folgenden Ausnahmen Doppelstrang-Plasmid-Matrizen zum Sequenzieren zu erzeugen. Nach einer Inkubation der SOLR-Zellen mit dem geklärten Phagenlysats wurde die Mischung verwendet, um LB-Nährboden zu inokulieren, und die Mischung wurde über Nacht inkubiert und, wie oben für die subtrahierte Bibliothek beschrieben, anschließend einer Miniprep-Plasmidpräparation und Sequenzierung unterworfen.

Beispiel 3

[0212] In diesem Beispiel wird die Herstellung eines *C. felis* cDNA-Pools beschrieben mittels rascher Amplifizierung von cDNA-Enden (RACE-cDNA-Pool, RACE = Rapid Amplification of cDNA Ends).

[0213] Die Gesamt-RNA wurde aus erwachsenen gefütterten und nicht gefütterten Flöhen wie im Folgenden

erläutert extrahiert. Etwa 1000 erwachsene gefütterte Flöhe und 1000 erwachsene nicht gefütterte Flöhe wurden auf Trockeneis tiefgefroren und mittels eines Mörsers und Stößels getrennt zu Pulver vermahlen, und die Gesamt-RNA wurde aus jedem Pulver, wie im Folgenden erläutert, extrahiert. Zehn ml Lösung D (4 M Guanidinisothoncyanat, 25 mM Natriumcitrat pH-Wert 7,0, 1,5% Sarcosyl, 0,5 M 2-Mercaptoethanol) wurden dem Pulver hinzugefügt, und die Suspension wurde durch Schütteln gemischt. Es wurden ein ml 2 M Natriumazetat, pH-Wert 4,0 und 3 ml mit pH-Wert 4,7 Phenol/Chloroform/Isoamyl-Alkohol (125:24:1), beziehbar von Sigma, hinzugefügt und die Suspension auf einem Wirbelschüttler gemischt und anschließend für 15 Minuten auf Eis inkubiert. Nach der Inkubation wurde die Mischung mit $10.000 \times g$ für eine Zeitdauer von 20 Minuten zentrifugiert, und der Überstand wurde entfernt und mit Phenol/Chloroform/Isoamyl-Alkohol pH-Wert 4,7 zweifach extrahiert. Anschließend wurde dem Überstand ein gleiches Volumen Isopropanol zugefügt und bei -20°C für 2 Stunden inkubiert, gefolgt einem Zentrifugieren mit $10.000 \times g$ für eine Zeitdauer von 20 Minuten. Nach dem Zentrifugieren wurde der Überstand entfernt und verworfen, und das Pellet wurde in 70% Ethanol gewaschen und bei Raumtemperatur zu trockenen gelassen. Das Pellet wurde nochmals in 10 mM Tris 1 mM EDTA pH-Wert 8,0 suspendiert. Eine Spektrophotometeranalyse zeigte an, dass die Ausbeute an Gesamt-RNA von nicht gefütterten Flöhen 1140 μg betrug, und die Ausbeute von gefütterten Flöhen 1500 μg betrug.

[0214] Jeweils sechshundert μg von jeder der Gesamt-RNA Extraktionen der gefütterten bzw. nicht gefütterten erwachsenen Flöhe wurden zusammengeführt und es wurde anschließend die mRNA mittels einer mRNA-Purifikationszusammenstellung, beziehbar von Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, gemäß dem Herstellerprotokoll extrahiert. Etwa 15–25 μg mRNA wurden basierend auf Spektrophotometeranalyse und Ethidiumbromid-Einfärbung isoliert. Ein μg der gereinigten mRNA wurden als Matrize verwendet, um eine RACE-cDNA-Pool zu konstruieren mittels eines Marathon-cDNA-Amplifizierungskits, beziehbar von Clontech Laboratories, Inc., Palo Alto, CA, gemäß den Vorgaben des Herstellers.

Beispiel 4

[0215] In diesem Beispiel wird die Klonierung, Sequenzierung, Expression rekombinanten Proteins und die Purifikation eines *C. felis* Allantoinase Nukleinsäuremoleküls der vorliegenden Erfindung beschrieben. Dieses Beispiel beschreibt außerdem die Expression von Allantoinase-mRNA in unterschiedlichen Flohgewebe.

[0216] Ein TA-Klon aus der HMT-EST-Bibliothek, wie sind in Beispiel 1 beschrieben sie, wurde mittels Standardsequenzierungsverfahren sequenziert, und es zeigte sich eine signifikante Homologie desselben gegenüber Allantoinase-Genen. Dieser Klon wurde mit EcoRI digestiert, um ein Insert mit einer Länge von 682 Nukleotiden zu exzidieren, das mit Floh-Nukleinsäuremolekül nCfALN₆₈₂ bezeichnet wird. Das Insert wurde durch Gel-Purifikation mittels einer von Qiagen, Chatsworth, CA, erhältlichen Gel-Purifikationszusammenstellung isoliert. Etwa 50 Nanogramm (ng) gereinigtes nCfALN₆₈₂ wurde verwendet, um unter Verwendung der Herstellerprotokolle mittels einer von Amersham, Arlington Heights, IL, beziehbaren Megaprime-DNA-Markierungszusammenstellung eine mit ^{32}P α -dATP markierte DNA-Sonde zu konstruieren.

[0217] Die mit ^{32}P α -dATP markierte Sonde wurde in einem standardmäßigen Plaqueanhebungshybridisierungsverfahren verwendet, um einen Klon aus der in Beispiel 1 beschriebenen HMT-Lambda-ZAP nicht subtrahierten cDNA-Bibliothek zu isolieren. Die folgenden Hybridisierungsbedingungen wurden verwendet, die nachstehend als "Standardhybridisierungsbedingungen" bezeichnet werden. Filter wurden für etwa 14 Stunden bei 55°C mit etwa 1×10^6 Impulsen pro Minute (cpm) pro ml Sonde in $5 \times$ SSPE (siehe Sambrook et al., ebd.), 1,2% Natriumdodecylsulfat (SDS), 0,1 mg/ml Lachssperma-DNA und $5 \times$ Denhardt-Reagens (siehe Sambrook et al., ebd.) hybridisiert. Die Filter wurden wie folgt gewaschen: (a) 10 Minuten mit $5 \times$ SSPE und 1% SDS, (b) 10 Minuten mit $2 \times$ SSPE und 1% SDS, (c) 10 Minuten mit $1 \times$ SSPE und 0,5% SDS und (d) 10 Minuten mit $0,5 \times$ SSPE und 1% SDS. Sämtliche Waschungen wurden durchgeführt bei 55°C . Plaques, die heftig an der Sonde hybridisierten, wurden isoliert und einer in vivo Exzision unterworfen. Die in vivo Exzision wurde mittels des Stratagen-Ex-AssistTM-Helferphagensystem und dessen Protokollen durchgeführt wurden, um ein positives Plaque in pBluescriptTM-Plasmid-DNA umwandeln. Nach Zubereitung von DNA mittels einer Qiagen QiaprepTM-Spin-Minipräparationszusammenstellung unter Verwendung der Anleitung des Herstellers und Restriktionsenzymdigestion mit etwa 1 μl von 20 U/ μl jeweils von EcoRI und XhoI, beziehbar von New England Biolabs, Beverly, MA, wurde die Sequenzierung mittels Standardsequenzierungsverfahren durchgeführt. Ein Klon wurde aus einer primären Plaque isoliert, die ein hier mit nCfALN₂₀₅₇ bezeichnetes Nukleinsäuremolekül mit etwa 2057 Basenpaaren enthielt, das eine hier als SEQ ID NO: 1 bezeichnete Nukleotidsequenz aufwies. Das Komplement von SEQ ID NO: 1 wird im Vorliegenden als SEQ ID NO: 3 bezeichnet.

[0218] Die Sequenzierung von nCfALN₆₈₂ zeigt an, dass nCfALN₆₈₂ 100% Übereinstimmung mit den Nukleotiden 855 bis 1536 von SEQ ID NO: 1 aufweist.

[0219] Eine Translation von SEQ ID NO: 1 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfALN₂₀₅₇ für ein volle Länge aufweisendes hier mit PCfALN₃₈₄ bezeichnetes Allantoinaseprotein von 384 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 2 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 152 bis Nukleotid 154 von SEQ ID NO: 1 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 1304 bis Nukleotid 1306 von SEQ ID NO: 1 erstreckt. Die für PCfALN₃₈₄ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfALN₁₁₅₂ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 4 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 6 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die auch mit SEQ ID NO: 5 bezeichnete Aminosäuresequenz von PCfALN₃₈₄, prognostiziert, dass PCfALN₃₈₄ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 42,2 kilodalton (kDa) und einen geschätzten isoelektrischen Punkt (pI) von etwa 6 aufweist.

[0220] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 2 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 48,6% Übereinstimmung, mit einem *Rana catesbeiana* (Ochsenfrosch) Allantoinaseprotein, GenBank-Zugriffsnr. 458126, aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 4 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 4 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 51% Übereinstimmung, mit einem *Rana catesbeiana* Nukleinsäuremolekül, GenBank-Zugriffsnummer U03471, aufwies. Die Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

[0221] Die kodierende Region von nCfALN₂₀₅₇, d.h. SEQ ID NO: 4, wurde anhand des oben als die Matrize beschriebenen pBluescriptTM Klon mittels des Sense-Primers ALN-FE, der die Nukleotidsequenz 5' GCG GAT CCT ATG CTG AAT TGC AAG AAC CTT G 3' mit einer in Fettdruck hervorgehobenen BamHI-Stelle aufweist, die hier als SEQ ID NO: 37 bezeichnet ist, und mittels des Antisense-Primers ALN-RE, der die Nukleotidsequenz 5' CAG GTA CCC TCT TTT AGA AGC ACC GGT CCC 3' mit einer in Fettdruck hervorgehobenen KpnI-Stelle aufweist, die hier mit SEQ ID NO: 38 bezeichnet ist, PCR-amplifiziert. Die PCR-Reaktionen wurden mittels der folgenden Amplifizierungszyklen durchgeführt: (a) eine Zyklus für dreißig Sekunden bei 95°C; (b) dreißig Zyklen für zwanzig Sekunden bei 95°C, für zwanzig Sekunden bei 50°C und für zwei Minuten bei 72°C; und (c) eine Zyklus für fünf Minuten bei 72°C, wobei diese Bedingungen nachstehend mit "Standard Thermozyklusbedingungen" bezeichnet sind, in Reaktionen, die 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 1 µM von jedem Primer, 0,5 µl 5 U/µl Taq-Polymerase, 1 µl von 1 µg/µl Matrize, und 3 µl 10 × Taq-Puffer aufwiesen, wobei diese Bedingungen nachstehend mit "Standard-PCR-Reaktionsbedingungen" bezeichnet sind.

[0222] Das PCR-Produkt wurde mit BamHI und KpnI digestiert und in den von Invitrogen erhältlichen Vektor pTrcHisB ligasiert, der mit BamHI und KpnI digestiert und mit alkalischer Phosphatase behandelt worden war. Das sich ergebende, hier mit pTrc-nCfALN₁₁₅₂ bezeichnete, rekombinante Molekül wurde in den von Novagen Inc., Madison, WI, bezieharen *E. coli* Stamm BL21 transformiert, um die rekombinante Zelle *E. coli*:pTrc-nCfALN₁₁₅₂ zu bilden.

[0223] Die rekombinante Zelle wurde unter Standardbedingungen kultiviert und anschließend in Anwesenheit von 0,5 µM Isopropylthio-β-Galactosid (IPTG) inkubiert, um eine Expression von rekombinantem Protein zu induzieren, für das ein Wert von etwa 42,2 kDa vorausberechnet worden war. Die Expression wurde durch Coomassie-blau-eingefärbtes Tris-Glyzin-Gel und durch Western-Blot unter Verwendung eines von Novagen bezieharen T7 Markierungsantikörpers bestätigt, der eine Expression eines Proteins von etwa 55 kDa zeigte. Das Proteinprodukt wurde mittels einer von Pharmacia bezieharen mit NiCl₂ elektrisch geladenen HiTrapTM Chelatsäule durch Flüssigchromatographie gereinigt, und es zeigte sich, nachdem es einer automatisierten Proteinsequenzierung durch Edman-Abbau unterworfen worden war, dass darin die His-Markierung des Vektors enthalten war.

[0224] Um zu ermitteln, ob in den HMT-Geweben ausschließlich Allantoinase exprimiert wird, wurde eine Northern-Blot-Analyse wie folgt durchgeführt. Von 1000 erwachsenen, mit Katzenblut gefütterten *C. felis*, mit einem Verhältnis von männlich zu weiblich von 1:4, wurden HMT-Gewebe disseziert. Die Gesamt-RNA wurde aus den HMT-Geweben und den HMT-freien Rümpfen, die sich aus diesen Dissektionen ergaben, wie im Folgenden erläutert, voneinander unabhängig extrahiert. Das Gewebe wurden bei -80°C tiefgefroren, mit einem Mörser und Stößel zu Pulver vermahlen, und die Pulver wurden gleichmäßig in vier 2-ml Eppendorfröhrchen verteilt, die jeweils 1 ml Lysepuffer enthielten. Der Lysepuffer enthielt 4 M Guanidinium-Thiocyanat, 25 mM Natriumcitrat, pH-Wert 7,0, 3% Sarcosyl, 0,5 M 2-Mercaptoethanol, 0,1% Antischaummittel und 1 mM Aurintricarboxylsäure, sämtliches beziehbar von Sigma Chemical Corporation, St. Louis, MO.

[0225] Nach einem Mischen wurden die Röhrchen für 2 Minuten mit 14.000 U/min zentrifugiert, und die Überstände wurden auf getrennte 2 ml Eppendorfröhrchen übertragen, die 250 µl Phenol enthielten, das von Aldrich,

Milwaukee, WI beziehbar ist. Nach einem Mischen wurden die Röhrchen mit 14.000 U/min für 5 Minuten zentrifugiert, und die Überstände wurden auf neue 2-ml-Röhrchen übertragen. Dieses Verfahren wurde 3 Mal wiederholt, bis an der Phenol/Lysepuffer-Grenzfläche keine proteinartigen Substanzen mehr sichtbar waren, anschließend wurde jedem Röhrchen 250 µl Chloroform zugefügt, und der Inhalt gemischt und mit 14.000 U/min für 5 Minuten zentrifugiert, gefolgt von einer Übertragung des Überstands in eine neue Röhre. Jedem Röhrchen wurde ein Volumen Isopropanol zugefügt, das gleich dem Volumen des Überstands war, und die Röhrchen wurden für 5 Minuten auf Eis angeordnet. Die Röhrchen wurden anschließend für 15 Minuten bei Raumtemperatur mit 14.000 U/min zentrifugiert, die Überstände wurden entfernt und verworfen, und die verbliebenen RNA-Pellets wurden mit 70% Ethanol gewaschen und getrocknet. Die RNA-Pellets wurden in 100 µl TE (10 mM Tris, 1 mM Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)) resuspendiert. Anschließend wurde die Quantität der RNA in jedem Röhrchen mittels eines Spektrophotometers ermittelt.

[0226] Etwa 10 µg jeder RNA wurden in getrennte Röhrchen hinzugegeben, die 18,75 µl Beschickungspuffer enthielten, der auf 50% Formamid, 16% Formaldehyd, 17% Wasser, 7% Glycerol, 1 × MOPS-Puffer (eine 1:20 Dilution von 0,4 M 93-[N-Morpholino]propansulfonische Säure (MOPS), 0,1 M Natriumazetat und 20 mM EDTA), 10 µl Ethidiumbromid und 10 µl Bromphenol-Blaufarbstoff basiert, die sämtliche von Sigma beziehbar sind. Die Röhrchen wurden für 2 Minuten auf 95°C erhitzt und anschließend auf Eis angeordnet. Die RNA-Proben wurden durch Gelelektrophorese auf einem 1,5% Agarose-Gel mit 3,2% Formaldehyd und 1 × MOPS-Puffer getrennt; dann wurde das Gel vor einer Übertragung zur Entfernung überschüssigen Formaldehyds für 30 Minuten in Wasser getränkt. Das Gel wurde dann mittels herkömmlicher Techniken, wie sie von Sambrook et al., ebd. beschrieben sind, mit 10 × SSPE als den Transfer-Puffer auf von Schleicher and Schuell Inc., Keene, NH, beziehbare Nytran[®] Nylonmembran transferiert. Die Membranen wurden mittels dem von Stratagen beziehbaren Stratalinker[®] UV-vernetzt, anschließend bei 42°C in 50% Formamid, 5 × SSPE, 1,2% SDS, 5 × Denhardt-Reagens, 2,5 mM EDTA und 100 µg/ml Lachssperma-DNA vorhybridisiert. Eine Sonde, die das Allantoinase-EST-Nukleinsäuremolekül nCfALN₆₈₂ aufwies, wurde mittels einer von Amersham beziehbaren DNA-Markierungszusammenstellung mit α-³²P-ATP markiert, dem Puffer in einer Konzentration von etwa 1 × 10⁶ cpm/ml hinzugegeben und zugelassen, für 18 Stunden bei 42°C zu hybridisieren. Das Blot wurde anschließend wie folgt gewaschen: 10 Minuten bei 42°C in 4 × SSPE und 1% SDS; 10 Minuten bei 42°C in 2 × SSPE und 1% SDS; 10 Minuten bei 42°C mit 0,5 × SSPE und 0,5 × SDS; und 10 Minuten bei 42°C mit 0,25 × SSPE und 0,25% SDS. Das Blot wurde anschließend für 1 Stunde auf Film aufgelegt, und der Film wurde mittels Standardverfahren entwickelt. Eine Analyse des entwickelten Films zeigte auf, dass Allantoinase-mRNA in HMT-Gewebe anwesend war, jedoch nicht in nicht-HMT-Gewebe.

[0227] Außerdem wurde eine Northern-Blot-Analyse durchgeführt, um zu ermitteln, ob die Allantoinase-mRNA lediglich in gewissen Stadien des Flohlebenszyklus exprimiert wird, und ob die Expression von Allantoinase-mRNA durch die Ernährung beeinflusst wird. Die Gesamt-RNA wurde, wie oben beschrieben, aus 1000 Flöhen für jeden der folgenden Flohlebensstadien: Ei, Larve des ersten Stadiums, Larve des dritten Stadiums, Wanderlarve und Puppe, und aus 1000 erwachsenen Flöhen unter den folgenden Ernährungsbedingungen extrahiert: nicht gefüttert, für 15 Minuten mit Katzenblut gefüttert, für 2 Stunden mit Katzenblut gefüttert, für 8 Stunden mit Katzenblut gefüttert und für 24 Stunden mit Katzenblut gefüttert.

[0228] Jede RNA-Probe wurde durch Gelelektrophorese getrennt, auf Nylonmembran übertragen und mit α-³²P-ATP markierter nCfALN₆₈₂-Sonde, wie oben beschrieben, hybridisiert. Eine Analyse des entwickelten Films zeigte auf, dass Allantoinase-mRNA in sämtlichen getesteten erwachsenen Flöhe unabhängig von den Ernährungsbedingungen exprimiert wurde und über sämtliche Lebensstadien hinweg exprimiert wurde, mit Ausnahme des Ei- und Puppenstadiums, d.h. den beiden Lebensstadien, in denen keine Nahrungsaufnahme stattfindet oder Urin abgesondert wird.

Beispiel 5

[0229] In diesem Beispiel ist die Klonierung, Sequenzierung, Expression rekombinanten Proteins und Purifikation eines *C. felis* Chitinbindungsprotein-Nukleinsäuremoleküls beschrieben. Dieses Beispiel beschreibt außerdem die Expression von Chitinbindungsprotein mRNA in unterschiedlichen Flohgeweben.

[0230] Ein TA-Klon aus der HMT-EST-Bibliothek, wie sie in Beispiel 1 beschrieben ist, wurde mittels Standardsequenzierungsverfahren sequenziert, und es wurde eine Homologie des Klons gegenüber einem Chitinase ähnelnden Gen aus *Bombyx mori* (Seidenraupe) nachgewiesen. Dieser Klon wurde mit EcoRI digestiert, um ein mit Chitinbindungsprotein-(CBP)-Nukleinsäuremolekül nCfCBP₄₂₉ bezeichnetes Insert mit einer Länge von etwa 429 Nukleotiden zu exzidieren. Das Insert wurde durch Gel-Purifikation mittels einer von Qiagen erhältlichen Gel-Purifikationszusammenstellung isoliert. Etwa 50 ng gereinigtes nCfCBP₄₂₉ wurde verwendet, um un-

ter Verwendung der Herstellerprotokolle mittels einer von Amersham beziehbaren Megaprime-DNA-Markierungszusammenstellung eine mit ^{32}P α -dATP markierte DNA-Sonde zu konstruieren.

[0231] Die mit ^{32}P α -dATP markierte Sonde wurde in einem Plaqueanhebungshybridisierungsverfahren verwendet, um mittels Standardhybridisierungsbedingungen, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind, einen Klon aus der HMT-Lambda-ZAP nicht subtrahierten cDNA-Bibliothek zu isolieren, wie sie in Beispiel 1 beschrieben ist. Plaques, die heftig an der Sonde hybridisierten, wurden isoliert und einer in vivo Exzision unterworfen. Die in vivo Exzision wurde mittels des Stratagen-Ex-AssistTM-Helferphagensystem und dessen Protokollen durchgeführt, um ein positives Plaque in pBluescriptTM-Plasmid-DNA umzuwandeln, und nach Zubereitung von DNA mittels einer Qiagen QiaprepTM-Spin-Minipräparationszusammenstellung unter Verwendung der Anleitung des Herstellers und Restriktionsenzymdigestion mit etwa 1 PI von 20 U/ μl jeweils von EcoRI und XhoI, die von New England Biolabs beziehbar sind, wurde eine Sequenzierung durchgeführt. Ein Klon wurde aus einer primären Plaque isoliert, die ein hier mit nCfCBP₁₁₂₈ bezeichnetes Nukleinsäuremolekül mit etwa 1128 Basenpaaren enthielt, das eine hier als SEQ ID NO: 7 bezeichnete Nukleotidsequenz aufwies. Das Komplement von SEQ ID NO: 7 wird im Vorliegenden als SEQ ID NO: 9 bezeichnet. Die Sequenzierung von nCfCBP₄₂₉ zeigt an, dass nCfCBP₄₂₉ 100% Übereinstimmung mit den Nukleotiden 148 bis 576 von SEQ ID NO: 7 aufweist.

[0232] Eine Translation von SEQ ID NO: 7 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfCBP₁₁₂₈ für ein volle Länge aufweisendes hier mit PCfCBP₂₇₂ bezeichnetes chitinbindendes Protein von 272 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 8 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 6 bis Nukleotid 8 von SEQ ID NO: 7 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 822 bis Nukleotid 824 von SEQ ID NO: 7 erstreckt. Die für PCfCBP₂₇₂ kodierende Kodierungsregion wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfCBP₈₁₆ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 10 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 12 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die auch mit SEQ ID NO: 11 bezeichnete Aminosäuresequenz von PCfCBP₂₇₂ prognostiziert, dass PCfCBP₂₇₂ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 30,6 kDa und einen geschätzten pI von etwa 7,3 aufweist.

[0233] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 8 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 8 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 26% Übereinstimmung, mit einem *Lucilia cuprina* Peritrophin-44-Protein, GenBank-Zugriffsnr. 407976, aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 10 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 10 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 40%, mit einem *Lucilia cuprina* Peritrophin-44 Nukleinsäuremolekül, GenBank-Zugriffsnummer L25106, aufwies. Die Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

[0234] Ein Nukleinsäuremolekül, das die Nukleotide 59 bis 827 von SEQ ID NO: 7 aufweist und für ein prognostiziertes Chitinbindungsprotein eines reifen Flohs kodiert, wurde anhand des oben als die Matrize beschriebenen pBluescriptTM Klons mittels des Sense-Primers CBP-FE, der die Nukleotidsequenz 5' CGG GAT CCT GCT GAC AGG AAT TCG CCC AC 3' mit einer in Fettdruck hervorgehobenen BamHI-Stelle aufweist, die hier als SEQ ID NO: 39 bezeichnet ist, und mittels des Antisense-Primers CBP-RE, der die Nukleotidsequenz 5' CAT GGT ACC CCT GGT TTA AGC CTT ACT TAG C 3' mit einer in Fettdruck hervorgehobenen KpnI-Stelle aufweist, die hier mit SEQ ID NO: 38 bezeichnet ist, PCR-amplifiziert. Die PCR-Reaktionen wurden unter standardmäßigen PCR-Reaktions- und Thermozyklusbedingungen durchgeführt, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind. Das PCR-Produkt wurde mit BamHI und KpnI abgebaut und in den von Invitrogen erhältlichen Vektor pTrcHisB ligasiert, der mit BamHI und KpnI abgebaut und mit alkalischer Phosphatase behandelt worden war. Das sich ergebende, hier mit pTrc-nCfCBP₇₆₉ bezeichnete, rekombinante Molekül wurde in den von Novagen beziehbaren *E. coli* Stamm BL21 transformiert, um die rekombinante Zelle *E. coli*: coli:pTrc-nCfCBP769 zu bilden. Die rekombinante Zelle wurde unter Standardbedingungen kultiviert und anschließend in Anwesenheit von 0,5 PM IPTG inkubiert, um eine Expression von rekombinantem Protein zu induzieren, das als Protein von etwa 32 kDa vorausberechnet worden war. Die Expression von Protein wurde durch Coomassie-blau-gefärbtes Tris-Glyzin-Gel und durch Western-Blot unter Verwendung eines T7 Markierungsantikörpers bestätigt, der eine Expression eines Proteins von etwa 32 kDa zeigte. Das Proteinprodukt wurde mittels einer von Pharmacia beziehbaren mit NiCl_2 elektrisch geladenen HiTrapTM Chelatsäule durch Flüssigchromatographie gereinigt, und es zeigte sich, nachdem es einer automatisierten Proteinsequenzierung durch Edman-Abbau unterworfen worden war, dass darin die His-Markierung des Vektors enthalten war.

[0235] Eine Northern-Blot-Analyse wurde, wie in Beispiel 4 beschrieben, durchgeführt, um zu ermitteln, ob CBP-mRNA lediglich in HMT-Gewebe und ob es lediglich in gewissen Stadien des Flohlebenszyklus exprimiert wird, und ob die Expression der CBP-mRNA durch Ernährung beeinflusst wird. Die Gesamt-RNA wurde aus

Flohgewebe und hinsichtlich Lebensstadien und Ernährungsbedingungen wie in Beispiel 4 beschrieben extrahiert. Jede RNA-Probe wurde durch Gelelektrophorese getrennt, auf eine Nylonmembran übertragen und mit α - ^{32}P -ATP markiertem nCKfBP₄₂₉ unter den Northern-Blot-Bedingungen hybridisiert, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind. Eine Analyse des entwickelten Films zeigte auf, dass CBP-mRNA in HMT-Gewebe exprimiert wurde, jedoch nicht in nicht-HMT-Gewebe. Die CBP-mRNA wurde unabhängig von den Ernährungsbedingungen auch in sämtlichen getesteten erwachsenen Flöhe detektiert, jedoch nicht in irgendeinem der von dem Erwachsenenstadium abweichenden Stadien.

Beispiel 6

[0236] In diesem Beispiel ist die Klonierung und Sequenzierung eines *C. felis* Natrium/Kalium-ATPase, Beta-Untereinheit-Nukleinsäuremoleküls beschrieben.

[0237] Eine TA-Klon aus der in Beispiel 1 beschriebenen HMT-EST-Bibliothek wurde mittels Standardsequenzierungsverfahren sequenziert, und es wurde eine Homologie desselben gegenüber dem Nervensystem-Antigen 1 Gen aus *Drosophila melanogaster* nachgewiesen. Dieser Klon wurde mit EcoRI digestiert, um ein Insert mit einer Länge von etwa 439 Nukleotiden zu exzidieren, das mit Floh-NKAB-Nukleinsäuremolekül nCfNKAB₄₃₉ bezeichnet wird. Das Insert wurde durch Gel-Purifikation mittels einer von Qiagen erhältlichen Gel-Purifikationszusammenstellung isoliert. Etwa 50 ng gereinigtes nCfNKAB₄₃₉ wurde verwendet, um unter Verwendung der Herstellerprotokolle mittels einer von Amersham beziehbaren Megaprime-DNA-Markierungszusammenstellung eine mit ^{32}P α -dATP markierte DNA-Sonde zu konstruieren.

[0238] Die mit ^{32}P α -dATP markierte Sonde wurde in einem Plaqueanhebungshybridisierungsverfahren verwendet, um mittels Standardhybridisierungsbedingungen, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind, einen Klon aus der in Beispiel 1 beschriebenen HMT-Lambda-ZAP nicht subtrahierten cDNA-Bibliothek zu isolieren. Plaques, die heftig an der Sonde hybridisierten, wurden isoliert und einer in vivo Exzision unterworfen. Die in vivo Exzision wurde mittels des Stratagen-Ex-AssistTM-Helferphagensystem und dessen Protokollen durchgeführt, um ein positives Plaque in pBluescriptTM-Plasmid-DNA umzuwandeln, und nach Zubereitung von DNA mittels einer Qiagen QiaprepTM-Spin-Minipräparationszusammenstellung unter Verwendung der Anleitung des Herstellers und Restriktionsenzymdigestion mit etwa 1 PI von 20 U/ μl jeweils von EcoRI und XhoI, die von New England Biolabs beziehbar sind, wurde eine Sequenzierung durchgeführt. Ein Klon wurde aus einer sekundären Plaque isoliert, die ein hier mit nCfNKAB₁₇₁₄ bezeichnetes Nukleinsäuremolekül mit etwa 1714 Basenpaaren enthielt, das eine hier als SEQ ID NO: 13 bezeichnete Nukleotidsequenz aufwies. Das Komplement von SEQ ID NO: 13 wird im Vorliegenden als SEQ ID NO: 15 bezeichnet. Die Sequenzierung von nCfNKAB₄₃₉ zeigt an, dass nCfNKAB₄₃₉ 100% Übereinstimmung mit den Nukleotiden 907 bis 1345 von SEQ ID NO: 13 aufweist.

[0239] Eine Translation von SEQ ID NO: 13 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfNKAB₁₇₁₄ für ein volle Länge aufweisendes, hier mit PCfNKAB₃₂₆ bezeichnetes, NKAB-Protein von 326 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 14 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 294 bis Nukleotid 296 von SEQ ID NO: 13 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 1272 bis Nukleotid 1274 von SEQ ID NO: 13 erstreckt. Die für PCfNKAB₃₂₆ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfNKAB₉₇₈ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 16 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 18 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist.

[0240] Die auch durch SEQ ID NO: 17 bezeichnete Aminosäuresequenz von PCfNKAB₃₂₆, prognostiziert, dass PCfNKAB₃₂₆ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 37.7 kDa und einen geschätzten pI von etwa 5 aufweist.

[0241] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 14 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 14 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 46% Übereinstimmung, mit einem *Drosophila melanogaster* Nervensystem-Antigen 2 Protein, GenBank-Zugriffsnr. 881344, aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 16 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 16 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 52% Übereinstimmung, mit einem *Drosophila melanogaster* Nervensystem-Antigen 2 Nukleinsäuremolekül, GenBank-Zugriffsnummer U22440, aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

Beispiel 7

[0242] In diesem Beispiel ist die Klonierung und Sequenzierung eines *C. felis* ligandgesteuerten Ionenkanal-Nukleinsäuremoleküls beschrieben. Dieses Beispiel beschreibt außerdem die Expression von ligandgesteuerter Ionenkanal-mRNA in unterschiedlichen Flohgeweben.

[0243] Ein TA-Klon aus der HMT-EST-Bibliothek, wie sie in Beispiel 1 beschrieben ist, wurde mittels Standardsequenzierungsverfahren sequenziert, und es wurde eine Homologie des Klons gegenüber einem menschlichen ligandgesteuerten Chloridkanal-Nukleinsäuremolekül nachgewiesen. Der Klon wurde mit *EcoRI* digestiert, um ein mit Floh-LGIC-Nukleinsäuremolekül nCfLGIC₃₇₆ bezeichnetes Insert mit einer Länge von etwa 376 Nukleotiden zu exzidieren. Das Insert wurde durch Gel-Purifikation mittels einer von Qiagen erhältlichen Gel-Purifikationszusammenstellung isoliert. Etwa 50 ng gereinigtes nCfLGIC₃₇₆ wurde verwendet, um unter Verwendung der Herstellerprotokolle mittels einer von Amersham beziehbaren Megaprime-DNA-Markierungszusammenstellung eine mit ³²P α-dATP markierte DNA-Sonde zu konstruieren.

[0244] Die mit ³²P α-dATP markierte Sonde wurde in einem Plaqueanhebungshybridisierungsverfahren verwendet, um mittels Standardhybridisierungsbedingungen, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind, einen Klon aus der HMT-Lambda-ZAP nicht subtrahierten cDNA-Bibliothek zu isolieren, wie sie in Beispiel 1 beschrieben ist. Plaques, die heftig an der Sonde hybridisierten, wurden isoliert und einer in vivo Exzision unterworfen. Die in vivo Exzision wurde mittels des Stratagen-Ex-Assist™-Helferphagensystem und dessen Protokollen durchgeführt, um ein positives Plaque in pBluescript™-Plasmid-DNA umzuwandeln, und nach Zubereitung von DNA mittels einer Qiagen Qiaprep™-Spin-Minipräparationszusammenstellung unter Verwendung der Anleitung des Herstellers und Restriktionsenzymdigestion mit etwa 1 PI von 20 U/μl jeweils von *EcoRI* und *XhoI*, die von New England Biolabs beziehbar sind, wurde eine Sequenzierung durchgeführt. Ein Klon wurde aus einer sekundären Plaque isoliert, die ein hier mit nCfLGIC₂₂₄₀ bezeichnetes Nukleinsäuremolekül mit etwa 2240 Basenpaaren enthielt, das eine hier als SEQ ID NO: 19 bezeichnete Nukleotidsequenz aufwies. Das Komplement von SEQ ID NO: 19 wird im Vorliegenden als SEQ ID NO: 21 bezeichnet. Die Sequenzierung von nCfLGIC₃₇₆ zeigt an, dass nCfLGIC₃₇₆ 100% Übereinstimmung mit den Nukleotiden 763 bis 1138 von SEQ ID NO: 19 aufweist.

[0245] Eine Translation von SEQ ID NO: 19 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfLGIC₂₂₄₀ für ein eine Teillänge aufweisendes hier mit PCfLGIC₅₆₉ bezeichnetes LGIC-Protein von 272 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 20 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 1 bis Nukleotid 3 von SEQ ID NO: 19 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 1708 bis Nukleotid 1710 von SEQ ID NO: 19 erstreckt. Die für PCfLGIC₅₆₉ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfLGIC₁₇₀₇ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 22 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 24 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die auch mit SEQ ID NO: 23 bezeichnete Aminosäuresequenz von PCfLGIC₅₆₉, prognostiziert, dass PCfLGIC₅₆₉ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 64 kDa und einen geschätzten pI von etwa 6.6 aufweist.

[0246] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 20 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 20 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 23% Übereinstimmung, mit einem *Rattus norvegicus* Glyzinrezeptor Alpha-3-Kette-Präkursorprotein, GenBank-Zugriffsnr. 121580 aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 22 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 22 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 38% Übereinstimmung, mit einem menschliche Glyzinrezeptor Alpha-3 Untereinheit-Nukleinsäuremolekül, GenBank-Zugriffsnummer AF017715 aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

[0247] Northern-Blot-Analyse wurde, wie in Beispiel 4 beschrieben, durchgeführt, um zu ermitteln, ob LGIC mRNA lediglich in HMT-Gewebe exprimiert wird. Die Gesamt-RNA wurde, wie in Beispiel 4 beschrieben, aus HMT-Geweben und nicht-HMT-Geweben extrahiert. Jede RNA-Probe wurde durch Gelelektrophorese getrennt, auf eine Nylonmembran übertragen und mit α-³²P-ATP markiertem nCfLGIC₃₇₆ unter den Northern-Blot-Bedingungen hybridisiert, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind. Eine Analyse des entwickelten Films zeigte auf, dass LGIC-mRNA in HMT-Geweben exprimiert wurde, jedoch nicht in nicht-HMT-Geweben.

[0248] Eine zusätzliche Nukleinsäuresequenz, die den kodierenden Regionen an dem 5'-Ende der oben beschriebenen LGIC-cDNA entspricht, wurde durch PCR mittels des RACE-cDNA-Pools isoliert, der wie in Beispiel 3 beschrieben, als die Matrize zubereitet war. Eine erste PCR-Reaktion wurde mittels Reverse-Primer-LGIC-R4 durchgeführt, er komplementär zu den Nukleotiden 200–223 von SEQ ID NO: 19 ist, und er eine

hier als SEQ ID NO: 1932 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' GCG ATA CTG GTG GTA CTG GTG AAG 3' aufweist, wurde mit dem Vorwärtslinkerprimer Adapter-Primer 1, der eine hier als SEQ ID NO: 1933 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' CCA TCC TAA TAC GAC TCA CTA TAG GGC 3' aufweist, mittels standardmäßiger PCR-Reaktionsbedingungen und der folgenden Thermozyklusbedingungen verwendet: (1) für 30 Sekunden bei 94°C, (2) 5 Zyklen von für 10 Sekunden bei 94°C anschließend für 4 Minuten bei 72°C, (3) 5 Zyklen von für 10 Sekunden bei 94°C anschließend für 4 Minuten bei 70°C und (4) 25 Zyklen von für 10 Sekunden bei 94°C anschließend für 4 Minuten bei 68°C. Das Reaktionsprodukt wurde auf einem 1,5% Agarose-Gel getrennt und durch Ethidiumbromid eingefärbt, es waren jedoch keine klaren Bänder zu sehen. Das erste PCR-Reaktionsprodukt wurde 1:50 in Wasser verdünnt und unter denselben Reaktionsbedingungen, wie sie für die erste PCR-Reaktion beschrieben sind, als Matrize für eine zweite PCR-Reaktion verwendet, die den Reverse-Primer LGIC-R5, der gegenüber den Nukleotiden 88–110 von SEQ ID NO: 19 komplementär ist, und der eine hier als SEQ ID NO: 1934 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' GAG GTG GTT GTC TTC AGT GGT TG 3' aufweist, und den Vorwärts-Adapter-Primer 2 verwendete, der eine hier als SEQ ID NO: 1935 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' ACT CAC TAT AGG GCT CGA GCG GC 3' aufwies. Das Reaktionsprodukt wurde durch Elektrophorese auf einem 1,5% Agarose-Gel getrennt und mit Ethidiumbromid eingefärbt, wobei sich ein Band von etwa 700 bp zeigte. Dieses Band wurde von de Gel abgetrennt und mittels der QIAquick Gel-Extraktionszusammenstellung gereinigt, anschließend gemäß dem Herstellerprotokoll in den von Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, beziehbaren pCR-II-TA-Klonierungsvektor ligasiert. Dieser hier mit nCfLGIC₆₁₃ bezeichnete Klon, der eine mit SEQ ID NO: 1859 bezeichnete Kodierungssequenz und einen hier mit SEQ ID NO: 1860 bezeichneten komplementären Strang aufwies, wurde mittels eines von Perkin Elmer, Branchburg, NJ, beziehbaren automatischen ABI PRISM 377 DNA-Sequencer sequenziert. Eine Sequenzanalyse zeigte auf, dass die Nukleotide 503–613 von nCfLGIC₆₁₃ 100% Übereinstimmung mit den Nukleotide 1–110 von SEQ ID NO: 19 aufwiesen. Die beiden Sequenzen wurden hintereinander angeordnet, um eine hier mit nCfLGIC₂₇₃₉ bezeichnete, auf 2739 Nukleotiden basierende zusammenhängende Sequenz zu bilden, die einen hier als SEQ ID NO: 1861 bezeichneten kodierenden Strang und einen hier als SEQ ID NO: 1863 bezeichneten komplementären Strang aufwies. Eine Translation von SEQ ID NO: 1861 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfLGIC₂₇₃₉ für ein volle Länge aufweisendes hier mit PCfLGIC₆₇₂ bezeichnetes LGIC-Protein von 672 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 1862 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 191 bis Nukleotid 193 von SEQ ID NO: 1861 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 2207 bis Nukleotid 2209 von SEQ ID NO: 1861 erstreckt. Die für PCfLGIC₆₇₂ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfLGIC₂₀₁₆ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 1864 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 1866 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die Aminosäuresequenz von PCfLGIC₆₇₂, d.h. SEQ ID NO: 1862, prognostiziert, dass PCfLGIC₆₇₂ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 75,5 kDa und einen geschätzten pI von etwa 5,89 aufweist.

[0249] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1862 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1862 den größten Grad an Homologie, d.h. 31,4% Übereinstimmung mit der Glyzinrezeptor Alpha-3-Kette-Präkursorsubstanz-cDNA aus Rattus norvegicus (Zugriffsnr. P24524) aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 1864 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1864 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 43,1% Übereinstimmung mit dem Homo sapiens Glyzinrezeptor, Alpha3-cDNA (Zugriffsnr. NP006520) aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

[0250] Eine LGIC-Nukleinsäuremolekül für eine rekombinante Expression der vorherberechneten extrazellulären Domäne wurde wie im Folgenden erläutert erzeugt.

[0251] Um die Region, die für die vorherberechnete extrazelluläre Domäne der LGIC-cDNA kodiert, in den InsectSelect™ Expressionsvektor pIB/V5-His zu ligasieren, wurden zwei gesonderte jedoch überlappende DNA-Fragmente erzeugt, die als die Matrize in der überlappenden PCR-Erweiterung dienen sollte. Um ein 3'-DNA-Fragment zu erzeugen, wurde eine erste PCR-Reaktion unter Verwendung eines Vorwärtsprimers LGIC-ECD-D2F, der den Nukleotiden 2–25 von SEQ ID NO: 19 entspricht und eine hier als SEQ ID NO: 1936 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' CAA TTT TAA ACG CAT CCA CGA CCG 3' aufweist, und eines Reverse-Primers LGIC-ECDRE durchgeführt, der zu den Nukleotiden 937–961 von SEQ ID NO: 19 komplementär ist, eine hier als SEQ ID NO: 1937 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' CCG CTC GAG CGA CCC ATT TCA CGA CTT ATT TGA ATC G 3' aufweist und der eine in Fettdruck hervorgehoben XhoI Stelle aufweist, um die Nukleotide 2–963 aus SEQ ID NO: 19 zu amplifizieren, die als Matrize unter standardmäßigen PCR-Reaktionsbedingungen verwendet wurden, und den folgenden Thermozyklusbedingungen: (1) für 30 Sekunden bei 94°C, (2) 25 Zyklen von für 10 Sekunden bei 94°C, für 10 Sekunden bei 55°C und für 3 Minuten bei 72°C. Die

Produkte diese Reaktion wurden auf einem 1,5% Agarose-Gel getrennt und ein Band, das einem Molekül einer Länge von etwa 960 Nukleotiden entspricht, wurde von dem Gel abgeschnitten und wie oben beschrieben mittels der QIAquick Gel-Extraktionszusammenstellung gereinigt. Um ein 5'-cDNA-Fragment zu erzeugen, wurde eine zweite PCR-Reaktion mittels des Reverse-Primers LGIC-R5 (SEQ ID NO: 1934) und des Vorwärtsprimers LGIC-ECD-FE durchgeführt, der den Nukleotiden 188–215 von SEQ ID NO: 1859 entspricht und eine hier als SEQ ID NO: 1938 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' GGA ATT CTA AAA TGC ACA ACA AAA TCC TGG TCC TGG 3' aufweist und eine in Fettdruck hervorgehobene EcoRI-Stelle aufweist, die SEQ ID NO: 1859 als die Matrize unter den beschriebenen Thermozyklusbedingungen verwendet, um das 3'-Fragment zu erzeugen. Die Produkte diese Reaktion wurden auf einem 1,5% Agarose-Gel getrennt und ein Band, das einem Molekül einer Länge von etwa 425 Nukleotiden entspricht, wurde von dem Gel abgeschnitten und wie oben beschrieben mittels der QIAquick Gel-Extraktionszusammenstellung gereinigt.

[0252] Für die PCR-Überlappungserweiterungsreaktion wurden die oben beschriebenen 5'- und 3'-cDNA-Fragmente als Matrize in einer PCR-Reaktion mit dem Vorwärtsprimer LGIC-ECD-FE und dem Reverse-Primer LGIC-ECD-RE unter den beschriebenen Thermozyklusbedingungen verwendet, um die 5'- und 3'-Fragmente zu erzeugen. Die Produkte diese Reaktion wurden auf einem 1,5% Agarose-Gel getrennt, und ein Band, das einem hier mit nCfLGIC₁₃₀₀ bezeichneten Molekül der Länge von etwa 1300 Nukleotiden entspricht, wie es durch Agarosegelelektrophorese und Ethidiumbromid-Einfärbung sichtbar gemacht war, wurde von dem Gel abgeschnitten und wie oben beschrieben mittels der QIAquick Gel-Extraktionszusammenstellung gereinigt.

[0253] Das Produkt der PCR-Überlappungserweiterungsreaktion wurde anschließend mit von New England BioLabs, Inc., Beverly, MA, bezieharen EcoRI und XhoI-Restriktionsendonukleasen für 18 Stunden bei 37° digestiert. Das Digestionsprodukt wurde mittels des von Qiagen bezieharen QIAquick Nucleotide Removal Kit gereinigt und in den Vektor pIB/V5-His ligasiert, der ebenfalls mit EcoRI und XhoI digestiert worden war, und für 30 Minuten bei 37°C mit von New England BioLabs, Inc. beziehbarer alkalischer Phosphatase von Garnelen behandelt. Gemäß Standardtransformationsverfahren wurde ein bakterieller Klon isoliert, der das Plasmid pIB/V5-His-nCfLGIC₁₃₀₀ enthielt. Eine DNA-Sequenzanalyse von pIB/V5-His-nCfLGIC₁₃₀₀ bestätigte, dass die Nukleotide 188–1464 von SEQ ID NO: 1861 erfolgreich in den pIB/V5-His-Expressionsvektor ligasiert worden waren, im Rahmen mit dem C-Terminal V5 Epitop, für das der Vektor kodiert.

Beispiel 8

[0254] In diesem Beispiel ist die Klonierung und Sequenzierung eines *C. felis* ANON/23DA Nukleinsäuremoleküls beschrieben. Dieses Beispiel beschreibt außerdem die Expression von ANON/23DA mRNA in unterschiedlichen Flohgeweben.

[0255] Eine TA-Klon aus der in Beispiel 1 beschriebenen HMT-EST-Bibliothek wurde mittels Standardsequenzierungsverfahren sequenziert, und es wurde eine Homologie desselben gegenüber einem ANON/23DA Gen aus *Drosophila melanogaster* nachgewiesen. Dieser Klon wurde mit EcoRI digestiert, um ein Insert mit einer Länge von etwa 177 Nukleotiden zu exzidieren, das mit Floh-ANON-Nukleinsäuremolekül nCfANON₁₇₇ bezeichnet wird. Das Insert wurde durch Gel-Purifikation mittels einer von Qiagen erhältlichen Gel-Purifikationszusammenstellung isoliert. Etwa 50 ng gereinigtes nCfANON₁₇₇ wurde verwendet, um unter Verwendung der Herstellerprotokolle mittels einer von Amersham bezieharen Megaprime-DNA-Markierungszusammenstellung eine mit ³²P α-dATP markierte DNA-Sonde zu konstruieren.

[0256] Die mit ³²P α-dATP markierte Sonde wurde in einem Plaqueanhebungshybridisierungsverfahren verwendet, um mittels Standardhybridisierungsbedingungen, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind, einen Klon aus der in Beispiel 1 beschriebenen HMT-Lambda-ZAP nicht subtrahierten cDNA-Bibliothek zu isolieren. Plaques, die heftig an der Sonde hybridisierten, wurden isoliert und einer in vivo Exzision unterworfen. Die in vivo Exzision wurde mittels des Stratagen-Ex-Assist™-Helferphagensystem und dessen Protokollen durchgeführt, um ein positives Plaque in pBluescript™-Plasmid-DNA umzuwandeln und nach Zubereitung mit einer Qiagen Qiaprep™-Spin-Minipräparationszusammenstellung unter Verwendung der Anleitung des Herstellers und Restriktionsenzymdigestion mit etwa 1 PI von 20 U/μl jeweils von EcoRI und XhoI, die von New England Biolabs beziehbar sind, wurde eine Sequenzierung von DNA durchgeführt. Ein Klon wurde aus einer sekundären Plaque isoliert, die ein hier mit nCfANON₁₄₂₉ bezeichnetes Nukleinsäuremolekül mit etwa 1429 Basenpaaren enthielt, das eine hier als SEQ ID NO: 25 bezeichnete Nukleotidsequenz aufwies. Das Komplement von SEQ ID NO: 25 wird im Vorliegenden als SEQ ID NO: 27 bezeichnet. Die Sequenzierung von nCfANON₁₇₇ zeigt an, dass nCfANON₁₇₇ 100% Übereinstimmung mit den Nukleotiden 279 bis 455 von SEQ ID NO: 25 aufweist.

[0257] Eine Translation von SEQ ID NO: 25 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfANON₁₄₂₉ für ein volle Länge aufweisendes hier mit PCfANON₃₉₈ bezeichnetes ANON-Protein von 398 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 26 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 18 bis Nukleotid 20 von SEQ ID NO: 25 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 1212 bis Nukleotid 1214 von SEQ ID NO: 25 erstreckt. Die für PCfANON₃₉₈ kodierende Kodierungsregion wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfANON₁₁₉₄ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 28 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 30 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die auch durch SEQ ID NO: 297 bezeichnete Aminosäuresequenz von PCfANON₃₉₈ prognostiziert, dass PCfANON₃₉₈ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 45 kDa und einen geschätzten pI von etwa 8,8 aufweist.

[0258] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 26 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 26 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 65% Übereinstimmung, mit einem *Drosophila melanogaster* ANON/23DA-Protein, GenBank-Zugriffsnr. 924937, aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 28 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 28 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 60% Übereinstimmung, mit einem *Drosophila melanogaster* ANON/23DA-Nukleinsäuremolekül, GenBank-Zugriffsnummer U29170, aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

[0259] Eine Northern-Blot-Analyse wurde, wie in Beispiel 4 beschrieben, durchgeführt, um zu ermitteln, ob ANON-mRNA lediglich in HMT-Gewebe und ob es lediglich in gewissen Stadien des Flohlebenszyklus exprimiert wird, und ob die Expression der ANON-mRNA durch Ernährung beeinflusst wird. Die Gesamt-RNA wurde aus Flohgeweben und hinsichtlich Lebensstadien und Ernährungsbedingungen wie in Beispiel 4 beschrieben extrahiert. Jede RNA-Probe wurde durch Gelelektrophorese getrennt, auf eine Nylonmembran übertragen und mit α -32P-ATP markiertem nCfANON₁₇₇ unter den Northern-Blot-Bedingungen hybridisiert, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind. Eine Analyse des entwickelten Films zeigte auf, dass ANON-mRNA in nicht-HMT-Geweben exprimiert wurde, jedoch nicht in HMT-Geweben. Die ANON-mRNA wurde auch in sämtlichen getesteten erwachsenen Flöhen unabhängig von den Ernährungsbedingungen und in den Entwicklungsstadien der Wanderlarve und Puppe detektiert.

Beispiel 9

[0260] In diesem Beispiel ist die Klonierung und Sequenzierung eines *C. felis* Malvolio-Nukleinsäuremoleküls beschrieben.

[0261] Ein TA-Klon aus der in Beispiel 1 beschriebenen HMT-EST-Bibliothek wurde mit EcoRI digestiert, um ein mit nCfMALV₄₃₂ bezeichnetes Insert mit einer Länge von etwa 432 Nukleotiden zu exzidieren. Das Insert wurde durch Gel-Purifikation mittels einer von Qiagen erhältlichen Gel-Purifikationszusammenstellung isoliert und mittels Standardsequenzierungsverfahren sequenziert, und es wurde eine Homologie desselben gegenüber einem nachstehend mit Floh-MALV-Nukleinsäuremolekül bezeichneten Malvolio-Gen aus *Drosophila melanogaster* nachgewiesen.

[0262] Sequenzdaten aus nCfMALV₄₃₂ wurden verwendet, um PCR-Primer zu entwerfen, die dazu dienen ein *C. felis* MALV Nukleinsäuremolekül aus der in Beispiel 1 beschriebenen HMT-nicht subtrahierten Bibliothek mittels einer getesteten PCR wie im Folgenden erläutert zu amplifizieren. Ein Sense-Primer MALV R1, der die mit SEQ ID NO: 41 bezeichnete Nukleotidsequenz 5' CCA TTA TTA ACC TGG TCG ACC AC 3' aufweist und den Nukleotiden 365–387 von nCfMALV₄₃₂ entspricht, und ein Reverse-Primer M13-Reverse, der die mit SEQ ID NO: 42 bezeichnete Nukleotidsequenz 5' GGA AAC AGT ATG ACC ATG 3' aufweist, wurden in einer ersten PCR-Reaktion verwendet, die HMT-nicht subtrahierte Bibliothek als Matrize verwendete, unter Verwendung von von standardmäßigen PCR-Reaktions- und Thermozyklusbedingungen, mit dem Unterschied, dass 2 PI Matrize verwendet wurde. Das Reaktionsprodukt aus der ersten PCR-Reaktion wurde 1:50 verdünnt und wie im Folgenden erläutert als Matrize in einer zweiten PCR-Reaktion verwendet. Ein Reverse-Primer Malvolio R2, der eine Nukleotidsequenz 5' CGC TAT AGT CGG TAG GGT CGC 3', die mit SEQ ID NO: 43 bezeichnet ist und den Nukleotiden 239–259 von nCfMALV₄₃₂ entspricht, und ein Vorwärtsprimer T3 mit einer Nukleotidsequenz 5' AAT TAA CCC TCA CTA AAG GG 3' wurden unter standardmäßigen PCR-Reaktions- und Thermozyklusbedingungen in einer zweiten PCR-Reaktion verwendet.

[0263] Die zweite PCR-Reaktion brachte ein PCR-Produkt von etwa 1000 bp hervor, das durch Elektrophorese auf einem 1,5% Agarose-Gel getrennt, exzidiert und mittels einer von Qiagen bezieharen Gel-Purifikationszusammenstellung gereinigt wurde. Das gereinigte PCR-Produkt wurde in den von Invitrogen bezieharen

Original TA Klonierungsvektor pCRII™ ligasiert. Die Ligationsreaktion wurde anschließend verwendet, um von Invitrogen beziehbare kompetente Zellen INValphaF⁺ One Shot™ zu transformieren, die mit 50 Mikrogramm pro Milliliter (µg/ml) Ampicillin, beziehbar von Sigma-Aldrich Co., und 50 µg/ml X-Gal, beziehbar von Fisher Biotech, auf LB-Agar aufgetragen waren. Ein Klon wurde aus der Ligationsmischung isoliert, die ein hier mit nCfMALV₇₆₅ bezeichnetes Nukleinsäuremolekül mit etwa 765 Basenpaaren enthielt, das eine hier als SEQ ID NO: 31 bezeichnete Nukleotidsequenz aufwies. Das Komplement von SEQ ID NO: 31 wird im Vorliegenden als SEQ ID NO: 33 bezeichnet.

[0264] Eine Translation von SEQ ID NO: 31 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfMALV₇₆₅ für ein eine Teillänge aufweisendes hier mit PCfMALV₂₅₄ bezeichnetes MALV-Protein von 254 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 32 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 2 bis Nukleotid 4 von SEQ ID NO: 31 erstreckt, und das letzte Codon sich von Nukleotid 761 bis Nukleotid 763 von SEQ ID NO: 31 erstreckt. Die für PCfMALV₂₅₄ kodierende Kodierungsregion wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfMALV₇₆₂ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 34 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 36 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die auch mit SEQ ID NO: 35 bezeichnete Aminosäuresequenz von PCfMALV₂₅₄ prognostiziert, dass PCfMALV₂₅₄ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 36 kDa und einen geschätzten pI von etwa 4,9 aufweist.

[0265] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 32 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 32 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 71% Übereinstimmung, mit einem *Drosophila melanogaster* Malvoli-Protein, GenBank-Zugriffsnr. 780776, aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 34 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 34 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 63% Übereinstimmung, mit einem *Drosophila melanogaster* Malvolio-Nukleinsäuremolekül, GenBank-Zugriffsnummer U23948, aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

Beispiel 10

[0266] In diesem Beispiel ist die Klonierung, Sequenzierung und rekombinante Expression eines gegenüber *C. felis* Geruchsbindungsprotein ähnlichen (OS-D) Nukleinsäuremoleküls beschrieben. Dieses Beispiel beschreibt auch die Expression von OS-D-mRNA in unterschiedlichen Flohgeweben.

[0267] Ein *C. felis* OS-D Nukleinsäuremolekül einer Länge von etwa 311 Nukleotiden wurde aus einer mit Katzenblut gefütterten erwachsenen Floh-cDNA-Bibliothek, die wie in Beispiel 8 der PCT-Veröffentlichung WO 96/11706 von Grieve et al., veröffentlicht am 25. April 1996, erläutert zubereitet worden war, wie im Folgenden beschrieben durch PCR-Amplifizierung isoliert. Ein Sense-Primer 5'newBsaI5', der eine mit SEQ ID NO: 57 bezeichnete Nukleotidsequenz 5' CAA AAC TGG TCT CCC CGC TC 3' aufwies, wurde in Kombination mit einem Vektor-Primer T7, der eine mit SEQ ID NO: 58 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' TAA TAC GAC TCA CTA TAG GG 3' aufwies, in einer ersten PCR-Reaktion unter Verwendung der mit Katzenblut gefütterten erwachsenen Floh-cDNA-Bibliothek als Matrize unter standardmäßigen PCR-Reaktions- und Thermozyklusbedingungen verwendet. Ein mit nCfOSD₃₁₁ bezeichnetes Nukleotidfragment der Länge 311 wurde isoliert und es wurde nachgewiesen, dass es für ein eine partielle Länge aufweisendes Protein von 45 Aminosäuren kodiert, dessen Sequenz derjenigen des *Drosophila melanogaster*-OS-D-Proteins ähnelt. Da der Primer 5'newBsaI5' konstruiert wurde, um für die *C. felis* Serpinkonstante Region spezifisch zu sein, wird angenommen, dass nCfOSD₃₁₁ zufällig in dieser PCR-Reaktion amplifiziert wurde.

[0268] Um ein Floh-OS-D-Nukleinsäuremolekül zu isolieren, das für ein volle Länge aufweisendes OS-D-Protein kodieren, wurde das Nukleinsäuremolekül nCfOSD₃₁₁ verwendet, um, wie im Folgenden erläutert, Primer für eine genestete PCR zu konstruieren. Der Sense-Primer OSD-R1, der eine Nukleotidsequenz 5' GGT TCG CCT CTC TTC ACT TG 3' aufweist, die hinsichtlich der Sequenz gegenüber den mit SEQ ID NO: 59 bezeichneten Nukleotiden 108–127 von nCfOSD₃₁₁ komplementär ist, wurde in Kombination mit dem M13 Reverse-Primer, SEQ ID NO: 54, in einer ersten PCR-Reaktion verwendet, die die mit Katzenblut gefütterte erwachsene *C. felis* cDNA-Bibliothek als die Matrize verwendete. Das Produkt der ersten Reaktion wurde 1:50 verdünnt und als Matrize für eine zweite PCR-Reaktion verwendet, die den Reverse-Primer OSD-R2, der eine Nukleotidsequenz 5' CGG TTG GAT CGT AAA CTG CAG 3' aufweist, die hinsichtlich der Sequenz zu den mit SEQ ID NO: 60 bezeichneten Nukleotiden 52–72 von nCfOSD₃₁₁ komplementär ist, und Vorwärtsprimer T3, SEQ ID NO: 56 verwendete. Jede PCR-Reaktion wurde unter standardmäßigen PCR-Reaktions- und Thermozyklusbedingungen durchgeführt, mit der Ausnahme, dass eine Annealing-Temperatur von 55°C verwendet wurde, anstelle von 50°C.

[0269] Ein DNA-Fragment von etwa 365 Nukleotiden, hier mit nCfOSD₃₆₅ bezeichnet, wurde aus dem zweiten PCR-Produkt isoliert und mittels einer von Qiagen beziehbaren Gel-Purifikationszusammenstellung gereinigt. Das gereinigte Fragment wurde in dem von Invitrogen beziehbaren pCRII™ TA Klonierungsvektor ligasiert und mittels Standardsequenzierungsverfahren sequenziert. Die Sequenzierung deckte auf, dass die Nukleotide 294–365 von nCfOSD₃₆₅ zu den Nukleotiden 1–72 zu denen oben beschriebenen Moleküls nCfDSD₃₁₁ passen. Die Sequenzen aus den beschriebenen Klonen partieller Länge wurden hintereinander angeordnet, um eine Sequenz zu erzeugen, die eine mit nCfOSD₆₀₄ bezeichnete, hier mit SEQ ID NO: 37 gekennzeichnete, volle Länge kodierende Region von 604 Nukleotiden aufweist, wobei nCfOSD₃₁₁ hinsichtlich der Sequenz mit den Nukleotide 294–604 von SEQ ID NO: 37 identisch ist, und nCfOSD₃₆₅ hinsichtlich der Sequenz mit den Nukleotiden 1–365 von SEQ ID NO: 37 identisch ist. Das Komplement von SEQ ID NO: 37 ist hier durch SEQ ID NO: 39 repräsentiert.

[0270] Eine Translation von SEQ ID NO: 37 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfOSD₆₀₄ für ein volle Länge aufweisendes hier mit PCfOSD₁₃₅ bezeichnetes OS-D-Protein von 135 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 38 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 26 bis Nukleotid 28 von SEQ ID NO: 37 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 431 bis Nukleotid 433 von SEQ ID NO: 37 erstreckt. Die für PCfOSD₁₃₅ kodierende Kodierungsregion wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfOSD₄₀₅ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 40 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 42 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die auch mit SEQ ID NO: 41 bezeichnete Aminosäuresequenz von PCfOSD₁₃₅, prognostiziert, dass PCfOSD₁₃₅ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 15 kDa und einen geschätzten pI von etwa 8,6 aufweist. Eine Analyse von SEQ ID NO: 38 lässt annehmen, dass das Anwesenheit eines Signalpeptids, für das eine von etwa Aminosäure 1 bis etwa Aminosäure 20 überspannende Strecke von Aminosäuren kodiert. Das hier als PCfOSD₁₁₅ bezeichnete vorgeschlagene reife Protein enthält etwa 115 Aminosäuren, die den Aminosäuren 21 bis 135 von SEQ ID NO: 38 entsprechen. Das vorherberechnete pI des reifen Proteins (d.h. des Proteins mit dem entfernten Signalpeptid) beträgt 6,6.

[0271] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 38 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 38 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 60% Übereinstimmung, mit einem chemosensorischen Schistocerca gregaria Protein CSP-sg4, GenBank-Zugriffsnr. 3283938 aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 40 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 40 den größten Grad an Homologie aufwies, d.h. etwa 58% Übereinstimmung, mit einem chemosensorischen Schistocerca gregaria Protein CSP-sg4 Nukleinsäuremolekül, GenBank-Zugriffsnummer AF070964 aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 40 mit Nukleinsäuremolekülen, die sequenziert wurden, beim Screening der HNC subtrahierten und nicht subtrahierten Bibliotheken, wie sie sind in Beispiel 2 beschrieben sind, zeigte auf, dass OS-D (d.h. SEQ ID NO: 40) in sämtlichen dieser Bibliotheken exprimiert wird. Eine zusätzliche Sequenzanalyse zeigte auf, dass vier Cysteine in C. felis OS-D anwesend sind, die hinsichtlich ihrer Sequenzausrichtungen mit den vier Cysteinen von anderen OS-D ähnelnden Insektenmolekülen konserviert sind: zu denen gehören: D. melanogaster OS-D-Protein GenBank-Zugriffsnr: U02546, S. gregaria chemosensorische Protein CSP-sg4, GenBank-Zugriffsnummer AF070964 und cockroach Bein regenerative Protein, GenBank-Zugriffsnr: AF030340. Berechnungen der prozentualen Übereinstimmung und eine weitere Sequenzanalyse wurde mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

[0272] Ein Nukleinsäuremolekül, das die Nukleotide 91 bis 447 von SEQ ID NO: 37 aufweist und für ein prognostiziertes OS-D-Protein eines reifen Flohs kodiert, wurde mittels des oben als die Matrize beschriebenen pBluescript™ Klon mittels des Sense-Primers OSD-FE, der die Nukleotidsequenz 5' CGC GGA TCC AGA AGA TAA ATA TAC TAG CAA ATT TGA TAA C 3' mit einer in Fettdruck hervorgehobenen BamHI-Stelle aufweist, die hier als SEQ ID NO: 61 bezeichnet ist, und mittels des Antisense-Primers CBP-RE, der die Nukleotidsequenz 5' GAG GAA TTC CTC TTT TTG GAA ATT TAA ACT GTA ACG G 3' mit einer in Fettdruck hervorgehobenen KpnI-Stelle aufweist, die hier mit SEQ ID NO: 62 bezeichnet ist, PCR-amplifiziert.

[0273] Die PCR-Reaktionen wurden unter standardmäßigen PCR-Reaktions- und Thermozyklusbedingungen durchgeführt, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind; das Produkt wurde mittels Agarosegelelektrophorese abgetrennt, ein Fragment wurde exzidiert und mittels einer von Qiagen erhältlichen Gel-Purifikationszusammenstellung gereinigt. Das Fragment wurde mit BamHI und EcoRI digestiert und in den von Invitrogen erhältlichen Vektor pTrcHisB ligasiert, der mit BamHI und EcoRI digestiert und mit alkalischer Phosphatase behandelt worden war. Das sich ergebende, hier mit pTrc-nCfDSD₃₅₇ bezeichnete, rekombinante Molekül wurde in den von Novagen Inc. beziehbaren E. coli Stamm BL21 transformiert, um die rekombinante Zelle E. coli:pTrc-nCfOSD₃₅₇ zu bilden.

[0274] Die rekombinante Zelle wurde unter Standardbedingungen kultiviert, anschließend in Anwesenheit von 0,5 mM IPTG inkubiert, um eine Expression von rekombinantem Protein zu induzieren, für das ein Wert von etwa 17-kDa vorausberechnet worden war. Die Expression von Protein wurde durch Coomassie-blau-eingefärbtes Tris-Glyzin-Gel und durch Western-Blot unter Verwendung eines T7 Markierungsantikörpers bestätigt, der eine Expression eines Proteins von etwa 17 kDa zeigte.

[0275] Um zu ermitteln, ob in den HNC-Geweben ausschließlich OS-D mRNA exprimiert wird, wurde eine Northern-Blot-Analyse wie folgt durchgeführt. Von 1500 erwachsenen, mit Katzenblut gefütterten *C. felis*, mit einem Verhältnis von männlich zu weiblich von 1:4, wurden HNC-Gewebe disseziert. Die Gesamt-RNA wurde aus den HNC-Geweben und den HNC-freien Rümpfen, die sich aus diesen Dissektionen ergaben mittels eines standardmäßige Guanidin-Lyseverfahrens, wie es von Sambrook et al., ebd. beschrieben ist, voneinander unabhängig extrahiert.

[0276] Etwa 15 µg jeder RNA wurden durch Elektrophorese entweder auf Glyoxal-Gelen, wobei die RNA nach Burnett, Biotechniques, 22: 4, Seite 668–671, 1997 zubereitet wurde, oder auf Formaldehyd-Gelen, wobei die RNA nach Sambrook et al., ebd. zubereitet wurde, getrennt. Nach der Elektrophorese wurde die RNA gemäß den in Burnett und Sambrook et al. ebd. beschriebenen Protokollen auf von Amersham beziehbaren Hybond-N-Nylon-Membranen aufgesogen. Die Membrane wurde mittels des von Stratagen beziehbaren Stratalinker® UV-vernetzt und bei 42°C für etwa 3 bis 6 Stunden in etwa 30 ml Hybridisierungspuffer abgeordnet, der auf 5 × SSPE, 1% Sarcosyl, 50% Formamid, 5 × Denhardt-Reagens und 25 mM EDTA basierte. Eine Sonde, die das Floh-EST-Nukleinsäuremolekül nCfOSD₃₅₇ aufwies, wurde mittels einer von Amersham beziehbaren DNA-Markierungszusammenstellung mit α-³²P-ATP markiert, dem Puffer in einer Konzentration von etwa 1 × 10⁶ cpm/ml hinzugegeben und zugelassen, für etwa 14 bis 18 Stunden bei 42°C zu hybridisieren. Das Blot wurde anschließend zweimal für 10 Minuten pro Wäsche bei 55°C in 0,5 × SSPE und 0,1% Sarcosyl gewaschen und zur Autoradiographie auf Film aufgelegt. Eine Analyse des entwickelten Films zeigte, dass im Vergleich zu nicht HNC-Geweben in HNC-Geweben eine größere Expression von OS-D-mRNA vorhanden war, was ein Indiz für eine Anhäufung von OS-D in Kopf- und Nervenstränge des Flohs ist.

Beispiel 11

[0277] In diesem Beispiel ist die Klonierung und Sequenzierung eines dem *C. felis* N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor zugeordneten (NMDA = N-Methyl-D-Aspartate Receptor Associated) Nukleinsäuremoleküls beschrieben.

[0278] Eine TA-Klon aus der in Beispiel 1 beschriebenen HMT-EST-Bibliothek wurde mittels Standardsequenzierungsverfahren sequenziert, und es wurde eine signifikante Homologie desselben gegenüber NMDA Genen nachgewiesen. Dieser Klon wurde mit EcoRI digestiert, um ein Insert mit einer Länge von 279 Nukleotiden zu exzidieren, das mit Floh-NMDA-Nukleinsäuremolekül nCfNMDA₂₇₉ bezeichnet wird. Das Insert wurde durch Gel-Purifikation mittels einer von Qiagen erhältlichen Gel-Purifikationszusammenstellung isoliert. Etwa 50 ng gereinigtes nCfNMDA₂₇₉ wurde verwendet, um unter Verwendung der Herstellerprotokolle mittels einer von Amersham beziehbaren Megaprime-DNA-Markierungszusammenstellung eine mit ³²P α-dATP markierte DNA-Sonde zu konstruieren.

[0279] Die mit ³²P α-dATP markierte Sonde wurde in einem Plaqueanhebungshybridisierungsverfahren verwendet, um mittels Standardhybridisierungsbedingungen, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind, einen Klon aus der in Beispiel 1 beschriebenen HMT-Lambda-ZAP nicht subtrahierten cDNA-Bibliothek zu isolieren. Plaques, die heftig an der Sonde hybridisierten, wurden isoliert und einer in vivo Exzision unterworfen. Die in vivo Exzision wurde mittels des Stratagen-Ex-Assist™-Helferphagensystem und dessen Protokollen durchgeführt, um ein positives Plaque in pBluescript™-Plasmid-DNA umzuwandeln, und nach Zubereitung von DNA mittels einer Qiagen Qiaprep™-Spin-Minipräparationszusammenstellung unter Verwendung der Anleitung des Herstellers und Restriktionsenzymdigestion mit etwa 1 PI von 20 U/µl jeweils von EcoRI und XhoI, die von New England Biolabs beziehbar sind, wurde eine Sequenzierung durchgeführt. Ein Klon wurde aus einer sekundären Plaque isoliert, die ein hier mit nCtNMDA₁₂₂₇ bezeichnetes Nukleinsäuremolekül mit etwa 1227 Basenpaaren enthielt, das eine hier als SEQ ID NO: 43 bezeichnete Nukleotidsequenz aufwies. Das Komplement von SEQ ID NO: 43 wird im Vorliegenden als SEQ ID NO: 45 bezeichnet. Die Sequenzierung von nCfNMDA₂₇₉ zeigt an, dass nCfNMDA₂₇₉ 100% Übereinstimmung mit den Nukleotiden 709 bis 987 von SEQ ID NO: 43 aufweist.

[0280] Eine Translation von SEQ ID NO: 43 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfNMDA₁₂₂₇ für ein volle Länge aufweisendes hier mit PCfNMDA₂₄₆ bezeichnetes NMDA-Protein von 246 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 44 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das

Initialisierungscodon sich von Nukleotid 312 bis Nukleotid 314 von SEQ ID NO: 43 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 1050 bis Nukleotid 1052 von SEQ ID NO: 43 erstreckt. Die für PCfNMDA₂₄₆ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfNMDA₇₃₈ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 46 repräsentierten die Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 48 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die auch mit SEQ ID NO: 47 bezeichnete Aminosäuresequenz von PCfNMDA₂₄₆ prognostiziert, dass PCfNMDA₂₄₆ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 27 kDa und einen geschätzten pI von etwa 5,6 aufweist.

[0281] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 44 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 44 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 34% Übereinstimmung, mit einem *Emericella nidulans* Negative-Actin-Regulatorprotein, GenBank-Zugriffsnr. 3676056, aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 46 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 46 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 45% Übereinstimmung mit einem *Drosophila melanogaster* NMDA-Nukleinsäuremolekül, GenBank-Zugriffsnummer L37377, aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

Beispiel 12

[0282] In diesem Beispiel ist die Klonierung und Sequenzierung von einem *C. felis* im chemischen Sinn verwandter lipophilen Ligandenbindungsprotein-Nukleinsäuremolekül beschrieben. Dieses Beispiel beschreibt außerdem die Expression von im chemischen Sinn verwandter lipophiler Ligandenbindungsprotein-mRNA in unterschiedlichen Flohgeweben.

[0283] Eine TA-Klon aus der in Beispiel 2 beschriebenen HNC-EST-Bibliothek wurde mittels Standardsequenzierungsverfahren sequenziert, und es wurde eine signifikante Homologie desselben gegenüber im chemischen Sinn verwandter lipophilen Ligandenbindungsprotein-(CLBP = Chemical Sense Related Lipophilic Ligand Binding Protein)-Genen nachgewiesen. Dieser Klon wurde mit EcoRI digestiert, um ein Insert mit einer Länge von 339 Nukleotiden zu exzidieren, das mit Floh-CLBP-Nukleinsäuremolekül nCfCLBP₃₃₉ bezeichnet wird. Das Insert wurde durch Gel-Purifikation mittels einer von Qiagen, Chatsworth, CA, erhältlichen Gel-Purifikationszusammenstellung isoliert. Etwa 50 ng gereinigtes nCfCLBP₃₃ wurde verwendet, um unter Verwendung der Herstellerprotokolle mittels einer von Amersham beziehbaren Megaprime-DNA-Markierungszusammenstellung eine mit ³²P α-dATP markierte DNA-Sonde zu konstruieren.

[0284] Die mit ³²P α-dATP markierte Sonde wurde in einem Standard-Plaqueeinbeugshybridisierungsverfahren verwendet, um einen Klon aus der in Beispiel 2 beschriebenen HNC-Lambda-ZAP nicht subtrahierten cDNA-Bibliothek zu isolieren. Die folgende Hybridisierungsbedingungen wurden verwendet. Filter wurden bei 45°C für etwa 14 Stunden mit etwa 5 × 10⁷ Impulsen pro Minute (cpm) pro ml der Sonde in 100 ml Puffer (5 × SSPE, 1% Sarcosyl, 0,1 mg/ml BLOTTO) hybridisiert. Die Filter wurden zweimal bei 55°C für eine Zeitdauer von 20 Minuten pro Wäsche in 500 ml 0,5 × SSPE und 0,1% Sarcosyl gewaschen und einer Autoradiographie unterworfen. Zwei Plaques, die heftig an der Sonde hybridisierten, wurden isoliert und mittels des Stratagen Ex-AssistTM Helferphagensystems und dessen Protokollen einer in vivo Exzision unterworfen. Unter Verwendung eines Quantität Prep mini prep Kits, beziehbar von BioRad, Hercules, CA, wurde aus jedem positiven Klon Minipräparations-DNA zubereitet und mittels Standardsequenzierungsverfahren sequenziert. Die Sequenzierung deckte auf, dass die beiden positiven Klone miteinander 97% Aminosäurenübereinstimmung aufwiesen. Der erste Klon enthielt ein Nukleinsäuremolekül von etwa 633 Nukleotiden, hier mit nCfCLBP1A₆₃₃ bezeichnet, mit einer hier als SEQ ID NO: 153 bezeichneten Nukleotidsequenz. Das Komplement von SEQ ID NO: 153 ist hier mit SEQ ID NO: 155 repräsentiert. Der zweite Klon enthielt ein Nukleinsäuremolekül von etwa 631 Nukleotiden, hier mit nCfCLBP2A₆₃₁ bezeichnet, mit einer hier als SEQ ID NO: 162 bezeichneten Nukleotidsequenz. Das Komplement von SEQ ID NO: 162 ist hier mit SEQ ID NO: 164 repräsentiert. Eine Sequenzierung von nCfCLBP₃₄₀ zeigte an, dass nCfCLBP₃₃₉ eine Übereinstimmung von 100% mit den Nukleotide 1 bis 339 von SEQ ID NO: 153 und eine Übereinstimmung 100% mit den Nukleotiden 2 bis 339 von SEQ ID NO: 162 aufwies.

[0285] Eine Translation von SEQ ID NO: 153 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfCLBP1A₆₃₃ für ein volle Länge aufweisendes hier mit PCfCLBP1A₁₄₇ bezeichnetes CLBP-Protein von 147 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 154 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 67 bis Nukleotid 69 von SEQ ID NO: 153 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 511 bis Nukleotid 513 von SEQ ID NO: 153 erstreckt. Die für PCfCLBP1A₁₄₇ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfCLBP1A₄₄₁ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 156 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und

einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 158 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die auch durch SEQ ID NO: 157 bezeichnete Aminosäuresequenz von PCfCLBP1A₁₄₇, prognostiziert, dass PCfCLBP1A₁₄₇ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 15 kDa und einen geschätzten pI von etwa 5 aufweist.

[0286] Eine Analyse von SEQ ID NO: 154 lässt annehmen, dass das eine Signalpeptid vorhanden ist, für das eine von etwa Aminosäure 1 bis etwa Aminosäure 19 überspannende Strecke von Aminosäuren kodiert. Das hier als PCfCLBP1A₁₂₈ bezeichnete vorgeschlagene reife Protein enthält 128 Aminosäuren, die hier mit SEQ ID NO: 160 repräsentiert sind. Für PCfCLBP1A₁₂₈ kodiert ein mit nCfCLBP1A₃₈₄ bezeichnetes Nukleinsäuremolekül, das einen kodierenden Strang mit der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 159 und einen komplementären Strang mit der SEQ ID NO: 161 aufweist.

[0287] Eine Translation von SEQ ID NO: 162 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfCLBP2A₆₃₁ für ein volle Länge aufweisendes hier mit PCfCLBP2A₁₄₇ bezeichnetes CLBP-Protein von 147 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 163 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 65 bis Nukleotid 67 von SEQ ID NO: 162 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 509 bis Nukleotid 511 von SEQ ID NO: 162 erstreckt. Die für PCfCLBP2A₁₄₇ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfCLBP2A₄₄₁ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 165 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 167 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die Aminosäuresequenz von PCfCLBP2A₁₄₇ prognostiziert, dass PCfCLBP2A₁₄₇ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 15 kDa und eine geschätzte pI von etwa 5 aufweist.

[0288] Eine Analyse von SEQ ID NO: 163 lässt die Anwesenheit eines Signalpeptids annehmen, für das eine von etwa Aminosäure 1 bis etwa Aminosäure 19 überspannende Strecke von Aminosäuren kodiert. Das hier als PCfCLBP2A₁₂₈ bezeichnete vorgeschlagene reife Protein enthält etwa 128 Aminosäuren, die hier mit SEQ ID NO: 16 repräsentiert sind. Für PCfCLBP2A₁₂₈ kodiert ein mit nCfCLBP2A₃₈ bezeichnetes Nukleinsäuremolekül, das einen kodierenden Strang mit der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 168 und einen komplementären Strang mit der SEQ ID NO: 170 aufweist.

[0289] Ein Vergleich der Aminosäuresequenzen SEQ ID NO: 154 und SEQ ID NO: 163 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass die Sequenzen den größten Grad an Homologie aufwiesen, d.h. etwa 29% Übereinstimmung, mit einem *Drosophila melanogaster* Pheromon-Bindungsprotein verwandten Protein 2 (PBPRP-2), GenBank-Zugriffsnr: 1709595. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt. Ein BLAST-Vergleich der Nukleinsäuresequenzen SEQ ID NO: 156 und SEQ ID NO: 165 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass jede Sequenz den größten Grad an Homologie gegenüber einem menschlichen Xp22 PAC PRC11-5G11 Nukleinsäuremolekül, GenBank-Zugriffsnummer: AC002369 aufwies. Ein paarweiser Identitätsvergleich konnte nicht durchgeführt werden, da der menschliche Klon bei GenBank ist zu groß, um sich in GCG Version 9.0 laden zu lassen. Ein unter Verwendung von Standardparametern ausgeführter BLAST-Vergleich zeigte einen unbedeutenden Grad an Übereinstimmung von 0,87. Eine zusätzliche Sequenzanalyse zeigte auf, dass sechs Cysteine in *C. felis* CLBP anwesend sind, die hinsichtlich ihrer Sequenzausrichtungen mit den sechs Cysteinen von Neuronen/Sinn betreffenden Molekülen in der PBP/GOBP-Familie konserviert sind, zu der gehören: *D. melanogaster* PBPRP-2, GenBank-Zugriffsnr: 1709595 und PBPRP-5, GenBank-Zugriffsnr: P54195, Proteine, und *Phormia regina* chemischen Sinn betreffendes lipophiles Ligandenbindungsprotein (CSRLBP), GenBank-Zugriffsnr: S65458.

[0290] Eine Northern-Blot-Analyse wurde durchgeführt, um zu ermitteln, ob CLBP mRNA ausschließlich in HNC-Gewebe exprimiert wird. HNC-Gewebe wurden disseziert, die Gesamt-RNA wurde isoliert und, wie in Beispiel 10 beschrieben, mittels Elektrophorese separiert.

[0291] Nach der Elektrophorese wurde RNA, wie in Beispiel 10 beschrieben, geblottet, und eine Sonde, die den mit α -³²P-ATP markierten Klon nCfCLBP₃₄₀ aufwies, wurde zu dem Puffer in einer Konzentration von etwa 1×10^6 cpm/ml zugefügt und zugelassen, für etwa 14 bis 18 Stunden zu hybridisieren. Das Blot wurde anschließend, wie in Beispiel 10 beschrieben, gewaschen und zur Autoradiographie auf Film aufgelegt. Eine Analyse des entwickelten Films zeigte, dass im Vergleich zu nicht HNC-Gewebe in HNC-Gewebe eine größere Expression von CLBP-mRNA vorhanden war, was ein Indiz für eine Anhäufung von CLBP in Kopf- und Nervenstränge des Flohs ist.

[0292] Die kodierende Region von nCfCLBP2A₆₃₁, d.h. SEQ ID NO: 162, wurde anhand des oben als die Ma-

trize beschriebenen pBluescript™ Klons mittels des Sense-Primers 2A1BamSen, der die Nukleotidsequenz 5' ATG GAT CCG GCA AAA TAT ACC AAA GAA GAA G 3' mit einer in Fettdruck hervorgehobenen BamHI-Stelle aufweist, die hier als SEQ ID NO: 1952 bezeichnet ist, und mittels des Antisense-Primers 2A1antiR1, der die Nukleotidsequenz 5' ATG AAT TCT TAT ATT GGT ATC GCG TCC ATT 3' mit einer in Fettdruck hervorgehobenen EcoRI-Stelle aufweist, die hier mit SEQ ID NO: 1953 bezeichnet ist, PCR-amplifiziert.

[0293] Die PCR-Reaktionen wurden unter den folgenden Thermozyklusbedingungen durchgeführt: (a) eine Zyklus bei 95°C für eine Minute; (b) fünf Zyklen für zehn Sekunden bei 94°C, für fünfundzwanzig Sekunden bei 49°C und für eine Minute bei 69°C; und (c) dreiundzwanzig Zyklen für zehn Sekunden bei 94°C, für zwanzig Sekunden bei 53°C und für fünfundsiebzig Sekunden bei 69°C, in Reaktionen, die 0,2 mM dNTPs, 1 µM von jedem Primer, 0,5 µl von 5 U/µl KlenTaq Advantage Polymerase, beziehbar von Clontech, 1 µl von 1 µg/µl Matrize und 1 × KlenTaq-Puffer aufwiesen, wobei diese Bedingungen nachstehend mit "Standard-PCR-Bedingungen" bezeichnet sind. Das PCR-Produkt wurde mit BamHI und EcoRI digestiert und in den von Invitrogen erhältlichen Vektor pTrcHisB ligasiert, der mit BamHI und KpnI digestiert und mit EcoRI behandelt worden war. Das sich ergebende, hier mit pTrc-nCfCLBP2A₄₄ bezeichnete, rekombinante Molekül wurde in den von Novagen Inc., Madison, WI, beziehbaren E. coli Stamm BL21 transformiert, um die rekombinante Zelle E. coli:pTrc-nCfCLBP2A₄₄ zu bilden.

[0294] Die rekombinante Zelle wurde unter Standardbedingungen kultiviert und anschließend in Anwesenheit von 0,5 µM Isopropylthio-β-Galactosid (IPTG) inkubiert, um eine Expression von rekombinantem Protein zu induzieren. Die Expression wurde durch Coomassie-blau-eingefärbtes Tris-Glyzin-Gel und durch Western-Blot unter Verwendung eines von Novagen beziehbaren T7 Markierungsantikörpers bestätigt, der eine Expression eines Proteins von etwa 18 kDa zeigte. Das Proteinprodukt wurde wie im Folgenden erläutert gereinigt. Die rekombinanten Zellen wurden durch Zentrifugieren aufgefangen, der Überstand wurde verworfen, und die Pellets wurden in 60 ml (gesamt) von 50 mM Tris pH 8,0, das 50 mM NaCl und 1 mM Phenylmethylsulfonyl-Fluorid (PMSF) enthielt, resuspendiert und homogenisiert. Die Probe wurde fünfmal durch den Mikroverflüssiger passiert, bei 4°C für eine Zeitdauer von 20 Minuten geschüttelt und für 30 Minuten mit 20.000 × G zentrifugiert. Der Überstand wurde aufgefangen und durch ein 0,45 µm Filter gefiltert, anschließend in 50 mM Tris pH 8, das 50 mM NaCl und 10 mM Imidazol enthielt, ein Lauf über eine von Amersham Pharmacia beziehbare HiTrap Chelatsäule erlaubt und mit einem ansteigenden Imidazolgradienten ausgewaschen. Das rekombinante Protein wurde bei etwa 150 mM Imidazol ausgewaschen. Fraktionen, die rekombinantes Protein enthielten, wurden in einen Pool überführt und mittels eines Centricon Plus-20 (Amicon) konzentriert und in PBS dialysiert. Eine Quantifizierung des Proteins wurde durch Densitometrie gegenüber einem bekannten Standard durchgeführt.

Beispiel 13

[0295] Dieses Beispiel beschreibt die weitere Charakterisierung und Expression einer Natrium/Wasserstoff transporterartigen cDNA, die mittels EST-Sequenzierung, wie sie in Beispiel 1 beschrieben ist, isoliert wird.

[0296] Eine mit Klon 2231-94 bezeichnete cDNA wurde, wie in Beispiel 1 beschrieben, aus der nicht subtrahierten HMT-Bibliothek isoliert. Analyse von Klon 2231-94 zeigte an, dass die mit nCfNAH₂₀₈₀ bezeichnete cDNA eine Länge von etwa 2080 Nucleotiden aufweist, einen kodierenden Strang besitzt, der die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1867 und eine komplementäre Sequenz mit SEQ ID NO: 1869 aufweist. Eine Translation von SEQ ID NO: 1867 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfNAH₂₀₈₀ für ein hier mit PCfNAH₆₀₈ bezeichnetes, volle Länge aufweisendes, einem Natrium/Wasserstoff-Transporter ähnelndes Protein von 608 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 1868 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 45 bis Nukleotid 47 von SEQ ID NO: 1867 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 1869 bis Nukleotid 1871 von SEQ ID NO: 1867 erstreckt.

[0297] Die für PCfNAH₆₀₈ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfNAH₁₈₂₄ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 1870 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 1871 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist.

[0298] Die Aminosäuresequenz von SEQ ID NO: 1868, prognostiziert, dass PCfNAH₆₀₈ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 67,9 kDa und einen geschätzten isoelektrischen Punkt (pI) von etwa 6,47 aufweist.

[0299] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1868 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäu-

resequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1868 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 67,7% Übereinstimmung, mit einem Natrium-Wasserstoff-Austauscher NHE1 (Zugriffsnr. AAD32689,1) aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 1867 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1867 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 59,5% Übereinstimmung, mit einem *Drosophila melanogaster* Natrium-Wasserstoff-Austauscher NHE1 (Zugriffsnr. AF142676) aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

[0300] Um das volle Länge aufweisende mutmaßliche NAH-Protein zu exprimieren, wurde die gesamte kodierende Region durch PCR amplifiziert und anschließend, wie im Folgenden erläutert, in den von Invitrogen beziehbaren InsectSelect™ Expressionsvektor pIB/V5-His ligasiert. Ein den Nukleotiden 42–74 von SEQ ID NO: 1867 entsprechender Vorwärtsprimer NAH-IST-FE, der die mit SEQ ID NO: 1939 bezeichnete Sequenz 5' GAC TAG TAA AAT GGG CGT TAA AAA TAT ATA TTT ATA CTG C 3' und eine in Fettdruck hervorgehobene Spel-Stelle aufwies, wurde in Verbindung mit einem zu den Nukleotiden 1845–1867 von SEQ ID NO: 1867 komplementären Reverse-Primer NAH-IST-RE, der die mit SEQ ID NO: 1940 bezeichnete Sequenz 5' CCG CTC GAG GTA CTG CAC GTA CTA ACG TCA TC 3' und eine in Fettdruck hervorgehobene XhoI Restriktionsstelle aufwies, in einer PCR-Reaktion verwendet, wobei SEQ ID NO: 1867 als Matrize verwendet wurde. Standard PCR-Reaktionsbedingungen wurden unter den folgende Thermozyklusbedingungen verwendet: (1) für 30 Sekunden bei 94°C, (2) 25 Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C, und 10 Sekunden bei 55°C und für 3 Minuten bei 72°C. Die Produkte dieser Reaktion wurden auf einem 1,5% Agarose-Gel getrennt und ein Band, das einem Molekül einer Länge von etwa 1825 Nukleotiden entspricht, wurde von dem Gel abgeschnitten und wie oben beschrieben mittels der QIAquick Gel-Extraktionszusammenstellung gereinigt. Das PCR-Produkt wurde anschließend bei 37° für 18 Stunden mit Spel und XhoI-Restriktionsendonukleasen digestiert. Das Digestionsprodukt wurde mittels des von Qiagen beziehbaren QIAquick Nucleotide Removal Kit gereinigt und in den Vektor pIB/V5-His ligasiert, der ebenfalls mit Spel und XhoI digestiert worden war, und für 30 Minuten bei 37°C mit von New England BioLabs, Inc. beziehbarer alkalischer Phosphatase von Garnelen behandelt. Gemäß Standardtransformationsverfahren wurde ein bakterieller Klon isoliert, der das Plasmid pIB/V5-His-NAH enthielt. Eine DNA-Sequenzanalyse des Klons bestätigte, dass die Nukleotide 42–1867 von SEQ ID NO: 1867, hier mit nCfNAH₁₈₂₆ bezeichnet, erfolgreich in den pIB/V5-His-Expressionsvektor ligasiert worden waren, im Rahmen mit dem C-Terminal V5 Epitop, für das der Vektor kodiert.

[0301] Eine Northern-Blot-Analyse, wie in Beispiel 4 beschrieben, wurde durchgeführt, um zu ermitteln, ob NAH-mRNA lediglich in gewissen Lebensstadien des Flohlebenszyklus exprimiert wird, und ob NAH-mRNA lediglich in HMT-Gewebe exprimiert wird. Die Gesamt-RNA wurde extrahiert aus: Eiern, Larven des ersten, dritten und Wanderstadiums, Puppen sowie Flöhen im Erwachsenenstadium, die nicht gefüttert bzw. für 0,25; 2; 8 und 24 Stunden mit Katzenblut gefüttert worden waren. Darüber hinaus wurde die Gesamt-RNA aus Hindguts und Malpighi-Tubuli, die aus für 24 Stunden mit Katzenblut gefütterten erwachsenen Flöhen extrahiert worden waren, und aus den übrigen Körperteilen nach der Entfernung von Hindguts und Malpighi-Tubuli extrahiert. Jede RNA-Probe wurde durch Gelelektrophorese getrennt, auf Nylonmembranen übertragen und mit α -³²P-ATP markiertem nCfNAH₁₈₂₆ unter den Northern-Blot-Bedingungen hybridisiert, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind. Eine Analyse des entwickelten Films zeigte auf, dass NAH-mRNA lediglich bei den erwachsenen Fütterungszeitpunkten 0,25; 2 und 8 Stunden exprimiert wurden.

Beispiel 14

[0302] Dieses Beispiel beschreibt die weitere Charakterisierung einer Chlorid-intrazellulären kanalartigen cDNA, die durch EST-Sequenzierung, wie sie beschrieben in Beispiel 1 ist, isoliert wurde.

[0303] Eine mit Klon 2233-24 bezeichnete cDNA wurde, wie in Beispiel 1 beschrieben, aus der nicht subtrahierten HMT-Bibliothek isoliert. Die Analyse von Klon 2233-24 zeigte an, dass die mit nCfCLIC₂₂₈₃ bezeichnete cDNA eine Länge von etwa 2283 Nucleotiden aufweist, einen kodierenden Strang besitzt, der die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1872 und eine komplementäre Sequenz mit SEQ ID NO: 1874 aufweist. Eine Translation von SEQ ID NO: 1872 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfCLIC₂₂₈₃ für ein hier mit PCfCLIC₂₆₂ bezeichnetes, volle Länge aufweisendes Chlorid-intrazelluläres kanalartiges Protein von 262 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 1873 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 60 bis Nukleotid 62 von SEQ ID NO: 1872 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 846 bis Nukleotid 848 von SEQ ID NO: 1872 erstreckt. Die für PCfCLIC₂₆₂ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfCLIC₇₈₆ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 1875 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 1876 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die Aminosäuresequenz von SEQ ID NO: 1873 prognostiziert, dass PCfCLIC₂₆₂ ein geschätz-

tes Molekulargewicht von etwa 30,2 kDa und einen geschätzten isoelektrischen Punkt (pI) von etwa 6,02 aufweist.

[0304] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1873 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1873 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 37,8% Übereinstimmung, mit einem Homo sapiens Chlorid intrazellulären Kanal 2 (Zugriffsnr. NP001280,1) aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 1872 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1872 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 37,5% Übereinstimmung mit einem Homo sapiens Chlorid intrazellulären Kanal 2 (Zugriffsnr. NM001289) aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

Beispiel 15

[0305] Dieses Beispiel beschreibt die weitere Charakterisierung einer hier mit PL2 bezeichneten peritrophinartigen cDNA, die durch EST-Sequenzierung, wie sie beschrieben in Beispiel 1 ist, isoliert wird.

[0306] Eine mit Klon 2232-23 bezeichnete cDNA wurde, wie in Beispiel 1 beschrieben, aus der nicht subtrahierten HMT-Bibliothek isoliert, hier als SEQ ID NO: 1877 bezeichnet. Analyse von Klon 2232-23 zeigte an, dass die mit nCfPL2₄₅₇ bezeichnete cDNA eine Länge von etwa 457 Nucleotiden aufwies. Eine Translation des kodierenden Strangs von nCfPL2₄₅₇ lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfPL2₄₅₇ für ein eine Teillänge aufweisendes hier mit PCfPL2₁₁₃ bezeichnetes peritrophinartiges Protein von 113 Aminosäuren kodiert, wobei ein Anhalten des Kodieren bei den Nukleotiden 342–344 von nCfPL2₄₅₇ vorausgesetzt wird.

[0307] Eine zusätzliche Kodierungssequenz, die dem 5'-Ende von nCfPL2₄₅₇ entspricht, wurde durch PCR isoliert, die mittels eines RACE-cDNA-Pool ausgeführt wurde, der, wie in Beispiel 3 beschrieben, als Matrize zubereitet war. Eine erste PCR-Reaktion wurde mittels des zu den Nukleotiden 167–187 der nCfPL2₄₅₇-cDNA komplementären Reverse-Primer PL2-R1, der eine hier als SEQ ID NO: 1941 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' GTC TGG AAG CTC AGG AAG AGG 3', aufweist, in Verbindung mit dem oben beschriebenen Vorwärts-Adapter-Primer 1, SEQ ID NO: 1933, unter den folgenden Thermozyklusbedingungen durchgeführt: (1) für 30 Sekunden bei 94°C, (2) 5 Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C und mit 4 Minuten bei 72°C, (3) 5 Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C und für 4 Minuten bei 70°C und (4) 25 Zyklen von für 10 Sekunden bei 94°C und anschließend für 4 Minuten bei 68°C. Das Produkt diese Reaktion wurde 1:50 verdünnt und, wie im Folgenden erläutert, als Matrize für eine zweite PCR-Reaktion verwendet. Der Vorwärts-Adapter-Primer 2, SEQ ID NO: 1935, wurde zusammen mit dem Reverse-Primer PL2-R2, der zu den Nukleotiden 29–52 der nCfPL2₄₅₇-cDNA komplementär ist und eine hier mit SEQ ID NO: 1942 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' GTA ATA TGC GTG ACA ATC GTG TGG 3' aufweist, unter den für die erste PCR-Reaktion beschriebenen Thermozyklusbedingungen verwendet. Das sich ergebende Produkt wurde, wie oben beschrieben, mittels Gel purifiziert, um ein eindeutig unterscheidbares Band aufzudecken, das einem Nukleinsäuremolekül einer Länge von etwa 900 bp entspricht. Das Fragment wurde anschließend in den von Qiagen beziehbaren pCR-II-TA-Klonierungsvektor ligasiert und mittels eines automatischen DNA-Sequencers ABI PRISM 377 sequenziert. Die Sequenzierung deckte auf, dass die Nukleotide 791–835 des Fragments 100% Übereinstimmung mit den Nukleotiden 1–45 der nCfPL2₄₅₇-cDNA aufwiesen. Die beiden Sequenzen wurden hintereinander angeordnet, um eine mit nCfPL2₁₂₉₁ bezeichnete zusammenhängende Sequenz mit einer Länge von etwa 1291 Nucleotiden zu bilden, die einen kodierenden Strang mit der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1878 und einer komplementären Sequenz mit SEQ ID NO: 1879 aufwies. Eine Translation von SEQ ID NO: 1878 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCtPL2₁₂₉₁ für ein nicht volle Länge aufweisendes peritrophinartiges Protein von 391 Aminosäuren kodiert.

[0308] Um die zusätzliche Sequenz, die dem 5'-Ende von SEQ ID NO: 1878 entspricht, zu isolieren, wurden genestete PCR-Reaktionen durchgeführt, wobei der RACE-cDNA-Pool als Matrize verwendet wurde. Für die erste PCR wurde der Vorwärts-Adapter Primer AP1 zusammen mit dem Reverse-Primer PL2-R1 unter standardmäßigen PCR-Reaktionsbedingungen und den folgenden Thermozyklusbedingungen verwendet: (1) für 1 Minute bei 94°C, (2) 5 Zyklen mit 20 Sekunden bei 94°C und mit 1 Minute bei 70°C, (3) 5 Zyklen mit 20 Sekunden bei 94°C und mit 1 Minute bei 68°C, (4) 10 Zyklen mit 20 Sekunden bei 94°C und mit 1 Minute bei 66°C. Die Produkte diese Reaktion wurden 1:50 in Wasser verdünnt und als Matrize für die zweite, genestete PCR verwendet. Die zweite PCR-Reaktion verwendete den Vorwärts-Adapter Primer AP2 in Verbindung mit dem zu den Nukleotiden 70–93 von SEQ ID NO: 1878 komplementären Reverse-Primer PL2-R5, mit einer hier als SEQ ID NO: 1943 bezeichneten Nukleotidsequenz 5' CGG TGC AAG TTA TAG AAC CTT CCG 3', unter standardmäßigen PCR-Reaktionsbedingungen unter Verwendung der folgenden Thermozyklusbedingungen: (1) für 1 Minute bei 94°C, (2) 5 Zyklen mit 20 Sekunden bei 94°C und mit 1 Minute bei 70°C, (3) 5 Zyklen mit 20

Sekunden bei 94°C und mit 1 Minute bei 68°C, (4) 40 Zyklen mit 20 Sekunden bei 94°C und mit 1 Minute bei 66°C. Die Produkte dieser Reaktion wurden durch Agarosegelelektrophorese getrennt, und ein Band mit einer Länge von etwa 279 Nucleotiden wurde aus dem Gel exzidiert und wie oben beschrieben gereinigt. Das mit nCfPL2₂₇₉ bezeichnete Fragment, das eine mit SEQ ID NO: 1880 bezeichnete kodierende Nukleinsäuresequenz und eine SEQ ID NO: 1881 bezeichnete komplementäre Sequenz aufwies, wurde anschließend in dem von Qiagen beziehbaren pCROII TA Klonierungsvektor ligasiert und wie oben beschrieben sequenziert. Die Sequenzierung deckte auf, dass die Nukleotide 228–279 von nCfPL2₂₇₉ mit den Nukleotiden 42–93 von SEQ ID NO: 1878 identisch waren, während die Nukleotide 186–228 von nCfPL2₂₇₉ keine wesentliche Ähnlichkeit gegenüber SEQ ID NO: 1878 aufwiesen. Diese Diskrepanz ist möglicherweise das Ergebnis eines alternativen Spleißens der RNA oder eines Artefakts des cDNA-Pools. Um den Grund für diese Diskrepanz zu ermitteln, wurden durch PCR mittels im Vorliegenden beschriebener Techniken aus Floh-cDNA-Bibliotheken von erwachsenen Mittelgut, Hindgut und Malpighi-Tubuli und Larven gemischter Stadien zusätzliche Fragmente isolierte, die dieser Region entsprachen. Eine Sequenzanalyse von Fragmenten, die aus diesen Bibliotheken erhalten wurden, zeigten auf, dass diese Fragmente hinsichtlich der Sequenz zu der Sequenz von nCfPL2₂₇₉ identische waren, weshalb die Region von SEQ ID NO: 1878, die sich nicht mit nCfPL2₂₇₉ anordnen ließ als eine Artefakt eingestuft wurde und in nachfolgenden Hintereinanderausrichtungen nicht verwendet wurde.

[0309] Die oben beschriebenen PL2-Sequenzen wurden hintereinander angeordnet, um eine mit nCfPL2₁₄₇₇ bezeichnet zusammenhängende Sequenz mit einer Länge von etwa 1477 Nucleotiden zu bilden, die einen kodierenden Strang mit einer Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1882 und einer komplementären Sequenz mit SEQ ID NO: 1884 aufwies. Eine Translation von SEQ ID NO: 1882 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfPL2₁₄₇₇ für eine hier mit PCfPL2₄₅₃ bezeichnetes, volle Länge aufweisendes peritrophinartiges Protein von 453 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 1883 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass sich ein Initialisierungscodon von Nukleotid 3 bis Nukleotid 5 von SEQ ID NO: 1882 erstreckt und ein Terminationscodon sich von Nukleotid 1362 bis Nukleotid 1364 von SEQ ID NO: 1882 erstrecken. Die für PCfPL2₄₅₃ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfPL2₁₃₅₉ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 1885 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 1886 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die Aminosäuresequenz von SEQ ID NO: 1883 prognostiziert, dass PCfPL2₄₅₃ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 49 kDa und einen geschätzten isoelektrischen Punkt (pI) von etwa 4,7 aufweist.

[0310] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1883 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1883 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 28% Übereinstimmung, mit einem *Drosophila melanogaster* Locus AE003474-Protein (Zugriffsnr: AAF47629) aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 1882 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1882 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 50% Übereinstimmung, mit *Penaeus semisulcatus* (krebbsverwandtes) peritrophinartiges Protein 1 cDNA (Zugriffsnr: AF095580) aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

Beispiel 16

[0311] Diese Beispiel beschreibt die weitere Charakterisierung und Expression einer hier mit PL3 bezeichneten, eine peritrophinartige Sequenz aufweisenden cDNA, die, wie in Beispiel 1 beschrieben, durch EST-Sequenzierung isoliert wird.

[0312] Eine mit Klon 2240-17 bezeichnete cDNA wurde, wie in Beispiel 1 beschrieben, aus der nicht subtrahierten HMT-Bibliothek isoliert. Analyse von Klon 2240-17 zeigte an, dass die mit nCfPL3₄₀₆ bezeichnete cDNA eine Länge von etwa 406 Nucleotiden aufweist, einen kodierenden Strang besitzt, der die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1887 und eine komplementäre Sequenz mit SEQ ID NO: 188 aufweist. Eine Translation von SEQ ID NO: 1887 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfPL3₄₀₆ für ein hier mit PCfPL3₈₁ bezeichnetes, volle Länge aufweisendes, einem Peritrophin ähnelndes Protein von 81 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 1888 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 20 bis Nukleotid 22 von SEQ ID NO: 1887 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 263 bis Nukleotid 265 von SEQ ID NO: 1887 erstreckt. Die für PCfPL3₈₁ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfPL3₂₄₃ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 1890 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 1891 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die Aminosäuresequenz von SEQ ID NO: 1888 prognostiziert, dass PCfPL3₈₁ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 9,1 kDa und einen geschätzten isoelektrischen Punkt (pI) von etwa 3,64 aufweist.

[0313] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1888 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1888 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 34,2% Übereinstimmung, mit einem *Anopheles gambiae* Peritrophin 1 Protein (Zugriffsnr. AAC39127) aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 1887 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1887 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 37% Übereinstimmung, mit einem *Anopheles gambiae* Chlorid intrazellulären Kanal 2 (Zugriffsnr. AF030431) aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

[0314] Um das volle Länge aufweisende mutmaßliche PL3-Protein zu exprimieren, wurde die gesamte kodierende Region durch PCR amplifiziert und anschließend, wie im Folgenden erläutert, in den von Invitrogen beziehbaren *E. coli* Expressionsvektor pTrcHisB ligasiert. Der den Nukleotiden 70–93 von SEQ ID NO: 1887 entsprechende Vorwärtsprimer PL3FE, der die mit SEQ ID NO: 1944 bezeichnete Sequenz 5' CGG GAT CCC GAA TAT GCT GAC GTA GAT GTG TG 3' und eine in Fettdruck hervorgehobene BamHI-Endonucleaserestriktionsstelle aufweist, wurde in Verbindung mit dem zu den Nukleotiden 245–269 von SEQ ID NO: 1887 komplementären Reverse-Primer PL3RE, der die hier mit SEQ ID NO: 1945 bezeichnete Sequenz 5' GGA ATT CTG TTT TAT TCT GGT TGG TAA CAT TC 3' und eine in Fettdruck hervorgehobene EcoRI Endonucleaserestriktionsstelle aufweist, in einer PCR-Reaktion, die SEQ ID NO: 1887 als die Matrize verwendet, unter standardmäßigen PCR-Reaktionsbedingungen und den folgenden Thermozyklusbedingungen verwendet: (1) für 30 Sekunden bei 94°C, (2) 25 Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C, mit 10 Sekunden bei 55°C und mit 3 Minuten bei 72°C. Das Reaktionsprodukt wurde auf einem 1,5% Agarose-Gel getrennt, und ein Band, das einem Nukleotidmolekül der Länge von etwa 200 entspricht, wie durch Agarosegelelektrophorese und Ethidiumbromid-Einfärbung sichtbar gemacht, wurde von dem Gel abgeschnitten und wie oben beschrieben mittels der QIAquick Gel-Extraktionszusammenstellung gereinigt.

[0315] Das Produkt der PCR-Reaktion wurde anschließend für 18 Stunden bei 37°C mit von New England BioLabs, Inc. beziehbaren BamHI- und EcoRI-Restriktionsendonukleasen digestiert, mittels des von Qiagen beziehbaren QIAquick Nucleotide Removal Kits gereinigt, und in den Vektor pTrcHisB ligasiert, der in ähnlicher Weise für 30 Minuten bei 37°C mit alkalischer Phosphatase von Garmelen, beziehbar von New England BioLabs, Inc. behandelt, digestiert und gereinigt worden war.

[0316] Nach Standardtransformationsverfahren in *E. coli* BL-21 kompetente Zellen, wurde ein bakterieller Klon isoliert, der das Plasmid pTrcHisB-PL3 enthielt. Eine DNA-Sequenzanalyse des Klon bestätigte, dass 70–269 von SEQ ID NO: 1887 erfolgreich in den pTrcHisB-Expressionsvektor ligasiert worden war, im Rahmen mit dem N-Terminal T7 Tag-Epitop für das der Vektor kodiert. Für das rekombinante Protein für das hierdurch kodierte wird, wird vorausberechnet, dass es eine Länge von 97 Aminosäuren, eine molekulare Masse von 10,9 kDa, einschließlich des T7 Tag und ein pI von 4,08 aufweist.

[0317] Eine rekombinantes PL3-Protein wurde wie folgt exprimiert: Fünf ml Luria-Nährboden wurden mit einem von Novagen, Madison, WI, beziehbaren Glycerolausgangsmaterial von *E. coli* BL-21 kompetenten Zellen inokuliert, die mit dem pTrcHisB-PL3-Plasmid transformiert worden waren, das wie oben beschrieben zubereitet worden war und dem erlaubt worden war, bei 37°C über Nacht unter Selektion mit 100 µg/ml Ampicillin zu wachsen. Eine 1 ml Aliquot dieser Kultur wurde anschließend verwendet, um 10 ml neuen Luria-Nährboden zu inokulieren, der 100 µg/ml Ampicillin enthielt, und der Kultur wurde erlaubt, bis zu einem approximierten OD-Ablesewert von 0,5 zu wachsen. Ein 1 ml Aliquot der Kultur wurde entfernt, die Zellen wurden durch Zentrifugieren pelletiert, und der Überstand wurde verworfen.

[0318] Die Zellen wurden in in einer Lösung von 100 µl PBS und 100 µl von 2 × SDS-PAGE Beschickungspuffer (100 mM Tris pH-Wert 6,8, 4% SDS, 20% Glycerol, 0,02% Bromphenol-Blau und 10% 2-Mercaptoethanol) resuspendiert. Nach dem Entfernen des oben beschriebenen 1 ml Aliquots, wurde der übrigen 9 ml Kultur IPTG bis zu einer endgültige Konzentration von 5 mM von IPTG zugefügt, die Kultur wurde für weitere 60 Minuten bei 37°C inkubiert, 1 ml wurde entnommen und ein OD-Wert von etwa 0,6 gemessen. Die Zellen in dieser 1 ml Probe wurden anschließend durch Zentrifugieren pelletiert und in einer Lösung von 120 µl PBS und 120 µl SDS-PAGE-Beschickungspuffer resuspendiert. Gleiche Volumina der mit IPTG induzierten und nicht damit induzierten Lysate wurden auf ein von Novex, San Diego, CA beziehbares 14% Tris-Glyzin SDS-PAGE-Gel geladen. Nach der Elektrophorese wurden die Proteine aus dem SDS-PAGE-Gel auf eine Nitratcellulose-Membran übertragen, und es wurde unter Verwendung der von Novagen beziehbaren T7-Markierungsantikörper eine Western-Blot-Analyse durchgeführt, die aufzeigte, dass ein Protein von etwa 18 kDa durch IPTG induziert worden war. Die Tatsache, dass das rekombinante PL3-Protein ein höheres Molekulargewicht aufwies als vorherberechnet, ist konsistent mit herkömmlichen veröffentlichten Ergebnissen für andere Peritrophinproteine, und es wird angenommen, dass dies teilweise auf den typischerweise niedrigen pI-Wert dieser Proteine zu-

rückzuführen ist (Tellam et al., (1999) Peritrophic Matrix Proteins, Insect Biochemistry and Molecular Biology, 29: 87–101). Eine Sequenzanalyse dieses Proteins zeigt an, dass es das N-Terminal T7 Tag enthielt, für das der Vektor kodiert.

[0319] Vier Glaskolben, die jeweils 1 Liter Luria-Nährboden mit 100 µg/ml Ampicillin enthielten, wurden mit einer Starter-Kultur von 5 ml *E. coli* BL-21 Zellen inokuliert, die wie oben beschrieben mit dem pTrcHisB-PL3-Plasmid transformiert waren. Den Kulturen wurde erlaubt, bei 37°C zu wachsen, bis die optische Dichte etwa den Wert 0,500 erreichte, um zu diesem Zeitpunkt ein 1 ml Aliquot von jedem Glaskolben als die Präinduktionsprobe zu entnehmen. Zu Jedem 1-Liter-Glaskolben wurde bis zu einer endgültigen Konzentration von 0,5 mM IPTG zugefügt, und es wurde den Kulturen erlaubt für 135 zusätzliche Minuten bei 37°C zu wachsen, um zu diesem Zeitpunkt ein 1 ml Aliquot von jedem Glaskolben als Säulen-Induzierungsprobe zu entnehmen. Die 1-ml-Aliquote wurden zentrifugiert, die Überstände wurden verworfen, und die Pellets wurden pro 0,5 gemessene optische Dichteeinheiten in 100 µl 2 × SDS-PAGE Beschickungspuffer resuspendiert. Die Präinduzierungs- und Säulen-Induzierungs-Proben wurden anschließend mittels der standardmäßigen Western-Blot Techniken und des oben beschriebenen T7-Markierungsantikörpers hinsichtlich einer rekombinanten PL3-Protein-Expression getestet. Ein bei etwa 18 kDa laufendes Protein wurde in den postinduzierten, jedoch nicht in den präinduzierten Proben entdeckt.

[0320] Die Zellen aus den übrigen 4 Liter Kultur wurden zentrifugiert, die Überstände wurden verworfen, und die Zellpellets wurden in 120 ml Puffer A (50 mM Tris, PH 8,0, 20 mM NaCl, 1 mM Phenylmethylsulfonylfluorid (PMSF)) zusammengeführt und resuspendiert. Die Probe wurde fünfmal durch einen Mikroverflüssiger passiert, anschließend bei 4°C für eine Zeitdauer von 20 Minuten geschüttelt. Die Probe wurde anschließend für 30 Minuten zentrifugiert und der Überstand aufgefangen. Eine Western-Blot-Analyse des Überstands zeigte auf, dass das rekombinante PL3-protein in der ersten Puffer A Extraktion löslich war. Der Puffer A Überstand, der das rekombinante PL3-Protein enthielt, wurde anschließend mittels dem Fachmann hinlänglich bekannter Techniken durch eine Nickel-Säule, eine Q2-Anionenaustausch-Chromatographiesäule, und durch Kationenaustausch-Chromatographie weiter gereinigt.

Beispiel 17

[0321] Diese Beispiel beschreibt die weitere Charakterisierung einer hier mit PL4 bezeichneten, peritrophinartige Sequenz aufweisende cDNA, die wie in Beispiel 1 beschrieben durch EST-Sequenzierung isoliert wird.

[0322] Eine mit Klon 2244-71 bezeichnete cDNA wurde, wie in Beispiel 1 beschrieben, aus der nicht subtrahierten HMT-Bibliothek isoliert. Analyse von Klon 2244-71 zeigte an, dass die mit nCfPL4₉₇₄ bezeichnete cDNA eine Länge von etwa 974 Nucleotiden aufweist, einen kodierenden Strang besitzt, der die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1892 und eine komplementäre Sequenz mit SEQ ID NO: 1893 aufweist. Eine Translation von SEQ ID NO: 1892 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfPL4₉₇₄ für ein eine Teillänge aufweisendes peritrophinartiges Protein einer Länge von 285 Aminosäuren kodiert. Eine zusätzliche Sequenz, die dem 5'-Ende entspricht, wurde mittels des in Beispiel 3 beschriebenen RACE-cDNA-Pools als Matrize, wie im Folgenden erläutert, durch PCR isoliert. Adapter-Primer 1, d.h. SEQ ID NO: 1933, wurde als der Vorwärtsprimer in Verbindung mit dem zu den Nukleotiden 229–251 von SEQ ID NO: 1892 komplementären Reverse-Primer PL4-R1, der eine hier als SEQ ID NO: 1946 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' GAT ATC CAC TTT GAT CAG CGC AC 3' aufwies, in einer PCR-Reaktion unter standardmäßigen PCR-Reaktionsbedingungen und unter den folgenden Thermozyklusbedingungen verwendet: (1) für 30 Sekunden bei 94°C, (2) 5 Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C und mit 4 Minuten bei 72°C, (3) 5 Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C und für 4 Minuten bei 70°C, (4) 25 Zyklen von für 10 Sekunden bei 94°C anschließend mit 4 Minuten bei 68°C. Die Produkte dieser Reaktion wurden 1:50 verdünnt und als Matrize in einer zweiten PCR-Reaktion eingesetzt, die den Adapter-Primer 2, d.h. SEQ ID NO: 1935, als Vorwärtsprimer und den zu den Nukleotiden 58–78 von SEQ ID NO: 1892 komplementären Reverse-Primer PL4-R2, der eine hier als SEQ ID NO: 1947 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' GGT ACT ACT CCT GGT GCG GGC 3' aufwies, unter den für die erste PCR-Reaktion beschriebenen Thermozyklusbedingungen verwendet. Die Produkte dieser Reaktion wurden wie zuvor beschrieben Gel-gereinigt, und das Fragment wurde in den von Qiagen beziehbaren pCR-II-TA-Klonierungsvektor ligasiert und sequenziert, um ein Fragment mit einer Länge von etwa 150 Nucleotiden aufzudecken. Sequenzanalyse zeigte auf, dass die Nukleotide 68–146 des Fragments 100% Übereinstimmung mit den Nukleotiden 1–79 von nCfPL4₉₇₄ aufwiesen. Die beiden Sequenzen wurden hintereinander angeordnet, um eine mit nCfPL4₁₀₄₃ bezeichnete zusammenhängende Sequenz mit einer Länge von etwa 1043 Nucleotiden zu bilden, die einen kodierenden Strang mit SEQ ID NO: 1894 und einen komplementären Strang mit SEQ ID NO: 1895 aufwies. Allerdings scheint die zusammenhängende Sequenz nicht für ein Starter-Methionin in der vorherberechneten Proteinsequenz zu kodieren, daher wurde ein zweiter Versuch unternommen, die übrigen Kodierungssequen-

zen an dem 5'-Ende wie im Folgenden erläutert zu isolieren. Eine erste PCR-Reaktion wurde mit Adapter-Primer 1 als dem Vorwärtsprimer und PL4-R2 als dem Reverse-Primer unter Verwendung des RACE-cDNA-Pools als die Matrize unter den oben beschriebenen Thermozyklusbedingungen durchgeführt. Die Produkte dieser Reaktion wurden 1:50 verdünnt und als Matrize in einer zweiten PCR-Reaktion verwendet, die den Adapter-Primer 2 als Vorwärtsprimer und den zu den Nukleotiden 58–80 von SEQ ID NO: 1894 komplementären Reverse-Primer PL4-R4, der die mit SEQ ID NO: 1948 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' CCG TCG ACA TTA AAC TCA CCA TC 3' aufwies, unter den für die erste PCR-Reaktion beschriebenen Thermozyklusbedingungen zu verwenden. Die Produkte dieser Reaktion wurden wie zuvor beschrieben Gel-gereinigt, und das Fragment wurde in den von Qiagen beziehbaren pCR-II-TA-Klonierungsvektor ligasiert und sequenziert, um ein Fragment mit einer Länge von etwa 100 Nucleotiden aufzudecken. Die Sequenzanalyse zeigte auf, dass die Nukleotide 21–101 des Fragments 100% Übereinstimmung mit den Nukleotide 1–81 von SEQ ID NO: 1892 aufwiesen. Die beiden Sequenzen wurden hintereinander angeordnet, um eine hier mit nCfPL4₁₀₆₂ bezeichnete zusammenhängende Sequenz mit einer Länge von etwa 1062 Nucleotiden zu bilden, die einen kodierenden Strang mit SEQ ID NO: 1896 und einen komplementären Strang mit SEQ ID NO: 1898 aufwies. Eine Translation von SEQ ID NO: 1896 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfPL4₁₀₆₂ für ein volle Länge aufweisendes hier mit PCfPL4₂₈₅ bezeichnetes peritrophinartiges Protein von 285 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ NO: 1897 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initiationscodon sich von Nukleotid 19 bis Nukleotid 21 von SEQ ID NO: 1896 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 874 bis Nukleotid 876 von SEQ ID NO: 1896 erstreckt. Die für PCfPL4₂₈₅ kodierende Kodierungsregion wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfPL4₈₅₅ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 1899 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 1900 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die Aminosäuresequenz von SEQ ID NO: 1897 prognostiziert, dass PCfPL4₂₈₅ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 31,4 kDa und einen geschätzten isoelektrischen Punkt (pI) von etwa 6,99 aufweist.

[0323] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1897 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1897 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 31,5% Übereinstimmung, mit einem *Drosophila melanogaster* Gasp Präkursor (Zugriffsnr. AAD09748) aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 1896 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1896 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 39,4% Übereinstimmung, mit einem *Drosophila melanogaster* Gasp Präkursor (Zugriffsnr. AF070734) aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

[0324] Eine Northern-Blot-Analyse, wie in Beispiel 4 beschrieben, wurde durchgeführt, um zu ermitteln, ob PL4-mRNA lediglich in gewissen Lebensstadien des Flohlebenszyklus exprimiert wird, und ob PL4-mRNA lediglich in HMT-Gewebe exprimiert wird. Die Gesamt-RNA wurde extrahiert aus: Eiern, Laven des ersten, dritten und Wanderstadiums, Puppen sowie Flöhen im Erwachsenenstadium, die nicht gefüttert bzw. für 0,25; 2; 8 und 24 Stunden mit Katzenblut gefüttert worden waren. Darüber hinaus wurde die Gesamt-RNA aus Hindguts und Malpighi-Tubuli, die aus für 24 Stunden mit Katzenblut gefütterten erwachsenen Flöhen extrahiert worden waren, und aus den übrigen Körperteilen nach der Entfernung von Hindguts und Malpighi-Tubuli extrahiert. Jede RNA-Probe wurde durch Gelelektrophorese getrennt, auf Nylonmembranen übertragen und mit α -³²P-ATP markiertem nCfPL4₉₇₄ unter den Northern-Blot-Bedingungen hybridisiert, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind.

[0325] Die Ergebnisse der Northern-Blot-Tests sind komplex. Obwohl stringente Bedingungen verwendet wurden, wurden einige Bänder mit eindeutig unterscheidbaren Expressionsmustern beobachtet. Eine Message von etwa 1600 bp wurde lediglich in den Ei-, ersten, dritten und Wanderlarvenstadien erfasst. Eine Message von etwa 1500 bp wurde in sämtlichen Lebensstadien und für sämtliche erwachsenen gefütterten Zeitpunkte erfasst, wobei jedoch die stärksten Signale in dem Eistadium, ersten Larvenstadium und ungefütterten Erwachsenenstadium erfasst wurden. Eine dritte Message von etwa 1200 bp, wurde in dem Ei-, ersten Larvenstadium, Puppen- und Erwachsenenlebensstadium erfasst, einschließlich sämtlicher nicht gefütterter und gefütterter erwachsenen Zeitpunkte. Sämtliche drei erfassten Messages wurden lediglich in den HMT-Gewebe beobachtet und wurden nicht in den Rumpfgeweben erfasst.

[0326] Die Detektion von drei mRNAs anstelle von einer einzigen ist möglicherweise die Folge der Expression von drei in hohem Maße homologen Transkripten. Die Literatur berichtet, dass Peritrophin-Gen-Familien entdeckt wurden, die eine Anzahl von hochgradig verwandten Genen enthalten (siehe Schorderet et al., 1998, cDNA and deduced amino acid sequences of a peritrophic membrane glycoprotein, 'peritrophin-48', from the larvae of *Lucilia cuprina*, *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 28, 99–111). Es ist möglich, dass diese Transkripte die Produkte einer derartigen Familie repräsentieren, oder dass die Messages die RNA-Produkte

eines alternativen Spleißens eines einzelnen Genorts sind.

Beispiel 18

[0327] Dieses Beispiel beschreibt die weitere Charakterisierung einer eine Synapsenbläschen 2B-ähnliche Sequenz aufweisenden cDNA, die durch die in Beispiel 1 beschriebenen EST-Sequenzierung isoliert wurde.

[0328] Eine mit Klon 2104-59 bezeichnete cDNA wurde, wie in Beispiel 1 beschrieben, aus der hier als SEQ ID NO: 358 bezeichneten subtrahierten HMT-Bibliothek isoliert. Die DNA aus dem Klon 2104-59 wurde gereinigt, und das Insert wurde verwendet für Plaque-Hybridisierungs-Screening der nicht subtrahierten HMT-cDNA-Bibliothek, wie im Folgenden erläutert. Das Insert von Klon 2104-59 wurde durch Exzision mit EcoRI exzidiert, durch Agarosegelelektrophorese getrennt und mittels der von Qiagen beziehbaren QiaQuick Gel-Extraktionszusammenstellung gereinigt. Eine von Amersham Pharmacia beziehbare Megaprime-DNA-Markierungszusammenstellung wurde verwendet, um α -³²P-markierte dATP in die mit Zufallsprimern behandelte Sondenmischung zu inkorporieren. Die Hybridisierung und Plaquepurifikation wurden wie zuvor beschrieben durchgeführt, mit dem Resultat, dass ein Klon isoliert wurde, der eine etwa 1875 Nukleotide lange, hier mit nCfSVP₁₈₇₅ bezeichnete, Synapsenbläschen 2B ähnliche Sequenz enthält, die einen kodierenden Strang mit der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1901 und eine komplementäre Sequenz mit SEQ ID NO: 1903 aufwies. Eine Translation von SEQ ID NO: 1901 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfSVP₁₈₇₅ für ein volle Länge aufweisendes hier mit PCfSVP₅₃₀ bezeichnetes einem synaptische Vesikel 2B ähnelndes Protein von 530 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 1902 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 44 bis Nukleotid 46 von SEQ ID NO: 190 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 1634 bis Nukleotid 1636 von SEQ ID NO: 1901 erstreckt. Die für PCfSVP₅₃₀ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfSVP₁₅₉₀ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 1904 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 1905 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die Aminosäuresequenz von SEQ ID NO: 1902 prognostiziert, dass PCfSVP₅₃₀ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 58,7 kDa und ein pI von etwa 7,61 aufweist.

[0329] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1902 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1902 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 32% Übereinstimmung, mit einem Drosophila melanogaster BACR7A4.y (Zugriffsnr. CAB51685) aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 1901 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1901 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 39% Übereinstimmung, mit einem Rattus norvegicus Synapsenbläschen Protein 2B (SVP2B) mRNA (Zugriffsnr. L10362) aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

Beispiel 19

[0330] Dieses Beispiel beschreibt die weitere Charakterisierung einer einem spannungsgesteuerten Chlorid-Kanal ähnelnden Sequenz cDNA, die durch die in Beispiel 1 beschriebene EST-Sequenzierung isoliert wurde.

[0331] Eine mit Klon 2108-09 bezeichnete cDNA wurde, wie in Beispiel 1 beschrieben aus der nicht subtrahierten HMT-Bibliothek isoliert. Eine Analyse von Klon 2108-09 zeigte an, dass die mit nCfVGCC₃₈₁ bezeichnete cDNA eine Länge von etwa 381 Nukleotiden aufweist, einen kodierenden Strang besitzt, der die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1906 und eine komplementäre Sequenz mit SEQ ID NO: 1907 aufweist. Eine Translation von SEQ ID NO: 1906 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfVGCC₃₈₁ für ein eine Teillänge aufweisendes, einem spannungsgesteuerten Chlorid-Kanal ähnelndes Protein von 126 Aminosäuren kodiert. Eine zusätzliche Sequenz, die dem 5'-Ende entspricht, wurde mittels Hybridisierung und PCR, wie im Folgenden erläutert, isoliert.

[0332] Das Insert von Klon 2108-09 wurde durch Exzision mit EcoRI exzidiert, durch Agarosegelelektrophorese getrennt und mittels der von Qiagen beziehbaren QiaQuick Gel-Extraktionszusammenstellung gereinigt. Eine von Amersham Pharmacia beziehbare Megaprime-DNA-Markierungszusammenstellung wurde verwendet, um α -³²P-markierte dATP in die mit Zufallsprimern behandelte Sondenmischung zu inkorporieren. Die Hybridisierung und Plaquepurifikation wurden wie zuvor beschrieben auf der nicht subtrahierten HMT-cDNA-Bibliothek durchgeführt, mit dem Resultat, dass ein Klon isoliert wurde, der eine etwa 2191 Nukleotide lange, hier mit nCfSVP₁₈₇₅ bezeichnete VGCC ähnelnde Sequenz enthält, die einen kodierenden Strang mit der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1908 und eine komplementäre Sequenz mit SEQ ID NO: 1909 aufwies. Eine Trans-

lation von SEQ ID NO: 1908 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfVGCC₂₁₉₁ für ein partielles s VGCC ähnelndes Protein von 595 Aminosäuren kodiert.

[0333] Um die übrigen kodierenden Regionen an dem 5'-Ende zu isolieren, wurde, wie im Folgenden erläutert, eine PCR unter Verwendung des wie in Beispiel 3 beschriebenen zubereiteten RACE-cDNA-Pools als Matrize durchgeführt. Der Adapter-Primer 1 wurde als der Vorwärtsprimer in Verbindung mit dem zu den Nukleotiden 1482–1503 von SEQ ID NO: 1908 komplementären Reverse-Primer VGCC-R1, der eine hier als SEQ ID NO: 1949 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' CGA TCA TGC GTC TAG CAT TGG C 3' aufwies, unter standardmäßigen PCR-Reaktionsbedingungen und unter den folgenden Thermozyklusbedingungen verwendet: (1) für 30 Sekunden bei 94°C, (2) 5 Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C und mit 4 Minuten bei 72°C, (3) 5 Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C und mit 4 Minuten bei 70°C, (4) 25 Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C und mit 4 Minuten bei 68°C. Die Reaktionsprodukte wurden auf einem Agarose-Gel getrennt, und ein Band, das einem etwa 1970 Nukleotide langem Molekül entsprach, wurde isoliert, mittels einer von Qiagen beziehbaren Gel-Purifikationszusammenstellung gereinigt, in den von Invitrogen beziehbaren pCR II TA Klonierungsvektor ligasiert und mittels eines automatischen DNA-Sequencers ABI PRISM 377 sequenziert. Die Sequenzanalyse deckte ein etwa 1968 Nukleotide langes, als nCfVGCC₁₉₆₈ bezeichnetes Fragment auf, das einen kodierenden Strang mit SEQ ID NO: 1910 und einen komplementären Strang mit SEQ ID NO: 1911 aufwies. Die Sequenzanalyse zeigte außerdem auf, dass das Nukleinsäuremolekül nCfVGCC₁₉₆₈ nicht für ein Start-Codon kodiert, und es wurde daher eine zweite 5'-RACE PCR, wie im folgenden beschrieben, durchgeführt, um eine zusätzliche Sequenz zu isolieren. Der Adapter-Primer 1 wurde als Vorwärtsprimer in Verbindung mit dem zu den Nukleotiden 50–372 von SEQ ID NO: 1910 komplementären Reverse-Primer VGCC-R4, der eine hier als SEQ ID NO: 1950 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' CCC GCC CCA GTT CTA GGT TGT CC 3' aufwies, unter Verwendung des RACE-cDNA-Pools, der, wie in Beispiel 3 beschrieben als die Matrize zubereitet war, und unter den PCR-Reaktions- und Thermozyklusbedingungen, wie sie für die erste PCR-Reaktion beschrieben sind, verwendet. Die Produkte dieser Reaktion wurden anschließend 1:50 in Wasser verdünnt und als Matrize in einer zweiten PCR-Reaktion eingesetzt, die den Adapter-Primer 2 als Vorwärtsprimer in Verbindung mit dem zu den Nukleotiden 134–153 von SEQ ID NO: 1910 komplementären Reverse-Primer VGCC-R2, der eine hier als SEQ ID NO: 1951 bezeichnete Nukleinsäuresequenz 5' CAC ACC CAA CCT GAC CAG GC 3' aufwies, unter den PCR-Reaktions- und Thermozyklusbedingungen, wie sie für die erste PCR-Reaktion beschrieben sind, verwendete.

[0334] Die Produkte dieser Reaktion wurden wie zuvor beschrieben Gel-gereinigt, und das Fragment wurde in den von Qiagen beziehbaren pCR-II-TA-Klonierungsvektor ligasiert und sequenziert, um ein hier mit nCfVGCC₆₇₃ bezeichnetes Fragment mit einer Länge von etwa 673 Nucleotiden aufzudecken, das einen kodierenden Strang mit SEQ ID NO: 1912 und einen komplementären Strang mit SEQ ID NO: 1913 aufwies. Die Sequenzanalyse zeigte auf, dass die Nukleotide 520–673 des Fragments 100% Übereinstimmung mit den Nukleotiden 1–154 von SEQ ID NO: 1910 aufwiesen. Die VGCC-Fragmente wurden hintereinander angeordnet, um eine hier mit nCfVGCC₃₁₂₆ bezeichnete zusammenhängende Sequenz mit einer Länge von 3126 Nukleotiden zu bilden, die einen kodierenden Strang mit SEQ ID NO: 1914 und einen komplementären Strang mit SEQ ID NO: 1916 aufwies.

[0335] Eine Translation von SEQ ID NO: 1914 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfVGCC₃₁₂₆ für ein volle Länge aufweisendes, hier mit PCfVGCC₈₅₁ bezeichnetes VGCC ähnelndes Protein von 851 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 1915 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 168 bis Nukleotid 170 von SEQ ID NO: 1914 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 2721 bis Nukleotid 2723 von SEQ ID NO: 1914 erstreckt. Die für PCfVGCC₈₅₁ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfVGCC₂₅₅₃ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 1917 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 191 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die Aminosäuresequenz von SEQ ID NO: 1915 prognostiziert, dass PCfVGCC₈₅₁ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 93,4 kDa und ein geschätztes pI von etwa 7,35 aufweist.

[0336] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1915 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1915 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 63,1% Übereinstimmung, mit einem *Oryctolagus cuniculus* (Kaninchen) Chloridkanal-Protein 3 (CLCN3) (Zugriffsnr: AAB95163) aufwies. Ein Vergleich von SEQ ID NO: 1914 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1914 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 61,3% Übereinstimmung, mit einer *Oryctolagus cuniculus* Chloridkanal-Protein 3 (CLCN3) mRNA (Zugriffsnr: AF029348) aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt.

[0337] Eine Northern-Blot-Analyse, wie in Beispiel 4 beschrieben, wurde durchgeführt, um zu ermitteln, ob VGCC-mRNA lediglich in gewissen Lebensstadien des Flohlebenszyklus exprimiert wird, und ob VGCC-mRNA lediglich in HMT-Gewebe exprimiert wird. Die Gesamt-RNA wurde extrahiert aus: Eiern, Larven des ersten, dritten und Wanderstadiums, Puppen sowie Flöhen im Erwachsenenstadium, die nicht gefüttert bzw. für 0,25; 2; 8 und 24 Stunden mit Katzenblut gefüttert worden waren. Darüber hinaus wurde die Gesamt-RNA aus Hindguts und Malpighi-Tubuli, die aus für 24 Stunden mit Katzenblut gefütterten erwachsenen Flöhen entnommen worden waren, und aus den nach der Entfernung von Hindguts und Malpighi-Tubuli übrigen Körperteilen extrahiert. Jede RNA-Probe wurde durch Gelelektrophorese getrennt, auf Nylonmembranen übertragen und mit α - ^{32}P -ATP markiertem nCfVGCC₃₈₁ unter den Northern-Blot-Bedingungen hybridisiert, wie sie in Beispiel 4 beschrieben sind. In sämtlichen Lebensstadien und für sämtliche erwachsenen nicht gefütterte und gefütterte Zeitpunkte wurde ein Band von etwa 3 kB erfasst, jedoch variierte die Intensität des Signals in der Tat zwischen den Stadien, wobei die stärksten Signale in dem Eistadium, bei nicht gefütterten erwachsenen Flöhen und bei für 0,25 Stunde gefütterten erwachsenen Flöhen beobachtet wurden, und die schwächsten Signale in dem 3. Larven- und Puppenstadium zu beobachten waren. Ein starkes Signal ließ sich in den für 24 Stunden gefütterten HMT-Gewebe von erwachsenen Flöhen erfassen, während in den Rumpfgeweben lediglich ein sehr schwaches Signal vorlag.

Beispiel 20

[0338] Dieses Beispiel beschreibt die weitere Charakterisierung und Expression einer Intersectin ähnelnden cDNA, die durch die in Beispiel 2 beschriebene EST-Sequenzierung isoliert wurde.

[0339] Eine mit Klon 2225-23 bezeichnete cDNA wurde, wie in Beispiel 2 beschrieben aus der hier als SEQ ID NO: 121 bezeichneten nicht subtrahierten HNC-Bibliothek isoliert. Um zu ermitteln, ob Klon 2225-23 mRNA ausschließlich in den HNC-Geweben exprimiert wird, wurde eine Northern-Blot-Analyse wie in Beispiel 10 beschrieben durchgeführt. Für den Hybridisierungsschritt wurde eine Sonde, die das Floh-Klon 2225-23 Nukleinsäuremolekül aufwies, mittels einer von Amersham beziehbaren DNA-Markierungszusammenstellung mit α - ^{32}P -ATP markiert und dem Puffer in einer Konzentration von etwa 1×10^6 cpm/ml hinzugegeben und zugelassen, für etwa 14 bis 18 Stunden bei 42°C zu hybridisieren. Das Blot wurde anschließend zweimal für 10 Minuten pro Wäsche bei 55°C in 0,5 × SSPE und 0,1% Sarcosyl gewaschen und für eine Autoradiographie auf Film aufgelegt. Eine Analyse des entwickelten Films zeigte, dass im Vergleich zu nicht HNC-Geweben in HNC-Geweben eine größere Expression von Klon 2225-23 mRNA vorhanden war, was ein Indiz für eine Anhäufung von Klon 2225-23 in Kopf- und Nervensträngen des Flohs ist.

Beispiel 21

[0340] Dieses Beispiel beschreibt die weitere Charakterisierung und Expression einer einem neuroendokrinspezifischen Protein C ähnelnden cDNA, die durch die in Beispiel 2 beschriebene EST-Sequenzierung isoliert wurde.

[0341] Eine mit Klon 2249-19 bezeichnete cDNA wurde, wie in Beispiel 2 beschrieben, aus der hier als SEQ ID NO: 177 bezeichneten nicht subtrahierten HNC-Bibliothek isoliert. Um zu ermitteln, ob Klon 2249-19 mRNA ausschließlich in den HNC-Geweben exprimiert wird, wurde eine Northern-Blot-Analyse wie in Beispiel 10 beschrieben durchgeführt. Für den Hybridisierungsschritt wurde, wie im Folgenden erläutert, eine Sonde mit der Nukleinsäuresequenz von Klon 2249-19 erzeugt. Eine PCR-Reaktion wurde mittels des Vorwärtsprimers 2249-19for, der eine hier mit SEQ ID NO: 1954 bezeichnete Nukleotidsequenz 5' AGT CGC ATA GTG CAC TTC TGA ATG 3' aufwies, und des Reverse-Primers 2249-19rev, der eine hier als SEQ ID NO: 1955 bezeichnete Nukleotidsequenz 5' CTG ACA TCT GTT TCC ACA GCT C 3' aufwies, unter Verwendung der wie in Beispiel 2 beschrieben zubereiteten HNC-cDNA-Bibliothek als Matrize unter standardmäßigen PCR-Reaktionsbedingungen und unter den folgenden Thermozyklusbedingungen durchgeführt: (1) eine Minute bei 95°C, (2) zwei Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C, mit 20 Sekunden bei 50°C und mit 20 Sekunden bei 72°C, (3) dreißig Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C, für 20 Sekunden bei 53°C, für 40 Sekunden bei 72°C. Das PCR-Produkt wurde mittels einer von Invitrogen beziehbaren TA Klonierungszusammenstellung in den TA-Vektor ligasiert, und der Klon wurde mit EcoRI Enzym digestiert und von einem Agarose-Gel gereinigt. Das gereinigte Nukleinsäuremolekül wurde mittels einer von Amersham beziehbaren DNA-Markierungszusammenstellung mit α - ^{32}P -ATP markiert, dem Puffer in einer Konzentration von etwa 1×10^6 cpm/ml hinzugegeben und zugelassen, für etwa 14 bis 18 Stunden bei 42°C zu hybridisieren. Das Blot wurde anschließend zweimal für 10 Minuten pro Wäsche bei 55°C in 0,5 × SSPE und 0,1% Sarcosyl gewaschen und für eine Autoradiographie auf Film aufgelegt. Eine Analyse des entwickelten Films zeigte, dass Expression von Klon 2249-19 mRNA in HNC-Geweben und nicht HNC-Geweben vorhanden war, wobei 2 Bändern evident waren, nämlich eines bei etwa 1,5

kb und eines bei etwa 2,5 kb.

Beispiel 22

[0342] Dieses Beispiel beschreibt die weitere Charakterisierung und Expression einer einem Anoxie-hochregulierten Protein ähnelnden cDNA, die durch die in Beispiel 2 beschriebene EST-Sequenzierung isoliert wurde.

[0343] Ein als Klon 2218-95 bezeichneter TA-Klon aus der in Beispiel 2 beschriebenen HNC-EST Bibliothek, hier als SEQ ID NO: 1858 bezeichnet, wurde mittels Standardsequenzierungsverfahren sequenziert, und es wurde dabei nachgewiesen, dass dieser ein nicht volle Länge aufweisendes Nukleinsäuremolekül enthielt, das eine signifikante Homologie gegenüber Anoxie-hochregulierten Protein-(AUP = Anoxia Upregulated Protein)-Genen aufwies. Eine weitere Sequenz, die für ein AUP-Gen kodiert, wurde wie im Folgenden erläutert, isoliert. Eine Hybridisierungssonde, die die Nukleinsäuresequenz von SEQ ID NO: 1858 enthielt, wurde wie folgt konstruiert. Eine PCR-Reaktion wurde mittels des Vorwärtsprimers 2218-95for, der eine hier mit SEQ ID NO: 1956 bezeichnete Nukleotidsequenz 5' AAT AGT GAT GTT GTA AGA GTT AGG 3' aufwies, und des Reverse-Primers 2218-95rev, der eine hier als SEQ ID NO: 1957 bezeichnete Nukleotidsequenz 5' GTT TAA TAT TGC ATG TTT ATT CAT TAA AA 3' aufwies, unter Verwendung der wie in Beispiel 2 beschriebenen zubereiteten HNC-cDNA-Bibliothek als die Matrize unter standardmäßigen PCR-Reaktionsbedingungen und unter den folgenden Thermozyklusbedingungen durchgeführt: (1) eine Minute bei 95°C, (2) dreißig Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C, mit 20 Sekunden bei 55°C, mit 20 Sekunden bei 72°C. Das PCR-Produkt wurde mittels einer von Invitrogen beziehbaren TA Klonierungszusammenstellung in den TA-Vektor ligasiert, und der Klon wurde mit EcoRI Enzym digestiert, und von einem Agarose-Gel gereinigt. Das gereinigte Nukleinsäuremolekül wurde mittels einer von Amersham beziehbaren DNA-Markierungszusammenstellung mit α -³²P-ATP markiert.

[0344] Die mit ³²P α -dATP markierte Sonde wurde in einem standardmäßigen Plaquehybridisierungsverfahren verwendet, um einen Klon aus der in Beispiel 2 beschriebenen HNC-Lambda-ZAP nicht subtrahierten cDNA-Bibliothek zu isolieren. Die Hybridisierung wurde wie in Beispiel 12 beschrieben durchgeführt, und eine heftig an der Sonde hybridisierende Plaque wurde, wie in Beispiel 12 beschrieben, isoliert, gereinigt und sequenziert. Die Sequenzierung deckte auf, dass der Klon ein hier mit nCfAUP₁₁₈₁ bezeichnetes Nukleinsäuremolekül von etwa 1181 Nukleotiden enthielt, das eine hier als SEQ ID NO: 1919 bezeichnete Nukleotidsequenz aufwies. Das Komplement von SEQ ID NO: 1919 ist im Vorliegenden als SEQ ID NO: 1921 repräsentiert.

[0345] Eine Translation von SEQ ID NO: 1919 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCfAUP₁₁₈₁ für ein volle Länge aufweisendes hier mit PCfAUP₁₀₂ bezeichnetes AUP-Protein von 102 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ ID NO: 1920 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 127 bis Nukleotid 129 von SEQ ID NO: 1919 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 433 bis Nukleotid 435 von SEQ ID NO: 1919 erstreckt. Die für PCfAUP₁₀₂ kodierende Kodierungsregion, wird durch das Nukleinsäuremolekül nCfAUP₃₀₆ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 1922 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 1923 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die Aminosäuresequenz von PCfAUP₁₀₂ prognostiziert, dass PCfAUP₁₀₂ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 11,9 kDa und ein geschätztes pI von etwa 10,5 aufweist.

[0346] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1920 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1920 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 52% Übereinstimmung, mit einem Drosophila melanogaster Anoxie-hochregulierten Protein, GenBank-Zugriffsnr: AAD38397 aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt. Ein BLAST-Vergleich von Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1919 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1919 den größten Grad an Homologie gegenüber einem Klon aus der Region 14q31 eines menschlichen Chromosoms, das das Gen für Neurexin III enthält, GenBank #AC007056 aufwies. Ein paarweiser Identitätsvergleich konnte nicht durchgeführt werden, da der menschliche Klon bei GenBank zu groß ist, um sich in GCG Version 9.0 laden zu lassen.

Beispiel 23

[0347] Dieses Beispiel beschreibt die weitere Charakterisierung eines neuroendokrinspezifischen 7B2 Polypeptids, das durch die in Beispiel 2 beschriebene EST-Sequenzierung isoliert wurde.

[0348] Eine mit Klon 2211-21 bezeichnete cDNA wurde, wie in Beispiel 2 beschrieben, aus der hier als SEQ ID NO: 92 bezeichneten subtrahierten HNC-Bibliothek isoliert. Die DNA aus dem Klon 2211-21 wurde gereinigt,

und das Insert wurde verwendet für ein Plaque-Hybridisierungs-Screening der nicht subtrahierten HMT-cDNA-Bibliothek, wie im Folgenden erläutert. Das Insert von Klon 2211-21 wurde durch Exzision mit EcoRI exziiert, durch Agarosegelelektrophorese getrennt und mittels der von Qiagen beziehbaren QiaQuick Gel-Extraktionszusammenstellung gereinigt. Eine von Amersham Pharmacia beziehbare Megaprime-DNA-Markierungszusammenstellung wurde verwendet, um α - ^{32}P -markierte dATP in die mit Zufallsprimern behandelte Sondenmischung zu inkorporieren. Die mit ^{32}P α -dATP markierte Sonde wurde in einem standardmäßigen Plaquelift-hybridisierungsverfahren verwendet, um einen Klon aus der wie in Beispiel 2 beschrieben zubereiteten HNC-Lambda-ZAP nicht subtrahierten cDNA-Bibliothek zu isolieren. Die folgende Hybridisierungsbedingungen wurden verwendet. Von Amersham beziehbare Hybond-N Filter wurden mit etwa 2×10^6 Impulsen pro Minute (cpm) pro ml der Sonde in 50 ml Hybridisierungslösung ($5 \times \text{SSPE}$, 25 mM EDTA pH-Wert 8,0, $5 \times \text{Denhardt-Reagens}$, 1,2% SDS, 0,020 mg/ml Lachssperma-DNA) für etwa 48 Stunden bei 55°C hybridisiert. Die Filter wurden einmal in 50 ml $4 \times \text{SSPE}$, 1% SDS für 15 Minuten bei 55°C, einmal in 50 ml $2 \times \text{SSPE}$, 1% SDS für 10 Minuten bei 55°C und zweimal in 50 ml $0,5 \times \text{SSPE}$, 0,5% SDS für 10 Minuten bei 55°C gewaschen. Die Filter wurden anschließend einer Autoradiographie unterworfen. Ein Plaque, die heftig an der Sonde hybridisierte, wurde isoliert und unter Verwendung des Stratagen Ex-Assist™ Helferphagensystems und dessen Protokolle einer in-vivo-Exzision unterworfen. Unter Verwendung einer von Qiagen, Chatsworth, CA, beziehbaren Miniprep-Zusammenstellung und dessen Protokoll wurde Minipräparations-DNA zubereitet und mittels Standardsequenzierungsverfahren sequenziert. Der mit nCf7B2₂₁₆₁ bezeichnete Klon enthält ein Nukleinsäuremolekül mit einer Länge von etwa 2161 Nukleotiden, das einen kodierenden Strang mit der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1924 und eine komplementäre Sequenz mit der SEQ ID NO: 1926 aufweist.

[0349] Eine Translation von SEQ ID 1924 lässt annehmen, dass das Nukleinsäuremolekül nCf7B2₂₁₆₁ für ein volle Länge aufweisendes hier mit PCf7B2₂₆₇ bezeichnetes 7B2 ähnelndes Protein von 267 Aminosäuren kodiert, das eine durch SEQ NO: 1925 repräsentierte Aminosäuresequenz aufweist, wobei vorausgesetzt ist, dass das Initialisierungscodon sich von Nukleotid 107 bis Nukleotid 109 von SEQ ID NO: 1924 erstreckt, und das Terminationscodon sich von Nukleotid 908 bis Nukleotid 910 von SEQ ID NO: 1924 erstreckt. Die für PCf7B2₂₆₇ kodierende Kodierungsregion wird durch das Nukleinsäuremolekül nCf7B2₈₀₁ repräsentiert, das einen kodierenden Strang mit der durch SEQ ID NO: 1927 repräsentierten Nukleinsäuresequenz und einen komplementären Strang mit der durch SEQ ID NO: 1928 repräsentierten Nukleinsäuresequenz aufweist. Die Aminosäuresequenz von SEQ ID NO: 1925 prognostiziert, dass PCf7B2₂₆₇ ein geschätztes Molekulargewicht von etwa 31 kDa und ein geschätztes pI von etwa 5 aufweist. Eine Analyse von PCf7B2₂₆₇ lässt die Anwesenheit eines Signalpeptids annehmen, das für eine von etwa Aminosäure 1 bis etwa Aminosäure 20 überspannende Strecke von Aminosäuren kodiert. Das im Vorliegenden mit PCf7B2₂₄₇ bezeichnete vorgeschlagene reife Protein enthält 247 Aminosäuren, die der SEQ ID NO: 1930 zugewiesen sind, und ein mit nCf7B2₇₄₁ bezeichnetes Nukleinsäuremolekül, das einen kodierenden Strang mit SEQ ID NO: 1929 und einen komplementären Strang mit SEQ ID NO: 1931 aufweist, kodiert für dieses Protein.

[0350] Ein Vergleich der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 1925 mit bei GenBank ausgewiesenen Aminosäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1925 den größten Grad an Homologie, d.h. etwa 39% Übereinstimmung, mit einem *Drosophila melanogaster* Protein, GenBank-Zugriffsnr: AAF52036 aufwies. Berechnungen der prozentualen Identität wurden mittels GCG Version 9.0 unter Verwendung von Standardparametern durchgeführt. Ein BLAST-Vergleich der Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 1924 mit bei GenBank ausgewiesenen Nukleinsäuresequenzen zeigt an, dass SEQ ID NO: 1924 den größten Grad an Homologie gegenüber einem menschlichen Chromosom 19, Cosmid R28204 Klon, GenBank Zugriffsnr: AC006132 aufweist. Ein paarweiser Identitätsvergleich konnte nicht durchgeführt werden, da der menschliche Klon bei GenBank zu groß ist, um sich in GCG Version 9.0 laden zu lassen, allerdings ergab die BLAST Bewertung den Wert 0,20, was nicht als ein signifikanter Grad an Übereinstimmung erachtet wird.

[0351] Um zu ermitteln, ob 7B2 mRNA ausschließlich in den HNC-Gewebe exprimiert wird, wurde eine Northern-Blot-Analyse wie in Beispiel 10 beschrieben durchgeführt. Für den Hybridisierungsschritt wurde, wie im Folgenden erläutert, eine Sonde mit der Nukleinsäuresequenz von Klon 2211-21 erzeugt. Eine PCR-Reaktion wurde mittels des Vorwärtsprimers 2211-21for, der eine hier mit SEQ ID NO: 1958 bezeichnete Nukleotidsequenz 5' GCG CCA TGA AGA TTT CAG GCG 3' aufwies, und des Reverse-Primers 2211-21rev, der eine hier als SEQ ID NO: 1959 bezeichnete Nukleotidsequenz 5' AAG TGC AAT GAA TCA TCA GCA AG 3' aufwies, unter Verwendung der wie in Beispiel 2 beschrieben zubereiteten HNC-cDNA-Bibliothek als die Matrize unter standardmäßigen PCR-Reaktionsbedingungen und unter den folgenden Thermozyklusbedingungen durchgeführt: (1) eine Minute bei 95°C, (2) fünf Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C, und 20 Sekunden bei 50°C und mit 20 Sekunden bei 72°C, (3) dreißig Zyklen mit 10 Sekunden bei 94°C, mit 20 Sekunden bei 53°C, mit 40 Sekunden bei 72°C. Das PCR-Produkt wurde mittels einer von Invitrogen beziehbaren TA Klonierungszusammenstellung in den TA-Vektor ligasiert, und der Klon wurde mit EcoRI Enzym digestiert und von einem Agaro-

se-Gel gereinigt. Das gereinigte Nukleinsäuremolekül wurde mittels einer von Amersham beziehbaren DNA-Markierungszusammenstellung mit α -³²P-ATP markiert, dem Puffer in einer Konzentration von etwa 1×10^6 cpm/ml hinzugegeben und zugelassen, für etwa 14 bis 18 Stunden bei 42°C zu hybridisieren. Das Blot wurde anschließend zweimal für 10 Minuten pro Wäsche bei 55°C in $0,5 \times$ SSPE und 0,1% Sarcosyl gewaschen und für eine Autoradiographie auf Film aufgelegt. Eine Analyse des entwickelten Films zeigte, dass nach 2,5 Tagen Belichtung der Klon 2211-21 mRNA ausschließlich in HNC-Gewebe exprimiert wurde.

AUFLISTUNG DER SEQUENZEN

<110> Brandt, Kevin S.

Gaines, Patrick J.

Stinchcomb, Dan T.

Wisnewski, Nancy

<120> FLOHKOPF, NERVENSTRANG, HINDGUT UND MALPIGHI-TUBULUS
NUCLEINSÄUREMOLEKÜLE, PROTEINE UND VERWENDUNGEN DESSELBEN

<130> FC-6-C1-PCT

<140> noch nicht zugeordnet <141> 2000-04-07

<150> 60/128,704 <151> 1999-04-09

<160> 1959

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 2057

<212> DNA

<213> Ctenocephalides felis

<220>

<221> CDS

<222> (152) .. (1303)

<400> 1


```

aacataataa taacttaata aaattttgtg atcagatttc taatatccag aacaaagcca 60
gtaattataa gaaccaagcc tatttcatgt gaaggttact tctccacagt attattatct 120
atctcaagaa gtaatctatt actgaatcaa a atg aaa agc agt acc tgt att 172
                               Met Lys Ser Ser Thr Cys Ile
                               1           5

ttt ctt ctg gtc att atg ctg aat tgc aag aac ctt gtt aat gct gcg 220
Phe Leu Leu Val Ile Met Leu Asn Cys Lys Asn Leu Val Asn Ala Ala
      10           15           20

tgc acc aac aac gcg cct cca atg aag ata ttc cgt agc cga aga gtt 268
Cys Thr Asn Asn Ala Pro Pro Met Lys Ile Phe Arg Ser Arg Arg Val
      25           30           35

ctt ctc ggt gat ggt act gaa aga gat gct ggc att gta gtt gat tcc 316
Leu Leu Gly Asp Gly Thr Glu Arg Asp Ala Gly Ile Val Val Asp Ser
      40           45           50           55

tcc gga aga ata aaa agt ata att tca gga gaa gaa gtg gaa agg ata 364
Ser Gly Arg Ile Lys Ser Ile Ile Ser Gly Glu Glu Val Glu Arg Ile
      60           65           70

gct aac gaa act aaa gtt gag gtg ttg gac tac ggt caa ttt tca ata 412

```

```

ctt ctc ggt gat ggt act gaa aga gat gct ggc att gta gtt gat tcc 316
Leu Leu Gly Asp Gly Thr Glu Arg Asp Ala Gly Ile Val Val Asp Ser
40 45 50 55

tcc gga aga ata aaa agt ata att tca gga gaa gaa gtg gaa agg ata 364
Ser Gly Arg Ile Lys Ser Ile Ile Ser Gly Glu Glu Val Glu Arg Ile
60 65 70

gct aac gaa act aaa gtt gag gtg ttg gac tac ggt caa ttt tca ata 412
Ala Asn Glu Thr Lys Val Glu Val Leu Asp Tyr Gly Gln Phe Ser Ile
75 80 85

tgg cca ggt gtg ata gac tct cat gtg cac gtc aac gaa cca gga aga 460
Trp Pro Gly Val Ile Asp Ser His Val His Val Asn Glu Pro Gly Arg
90 95 100

gaa tcc tgg gaa gga tac acc aca gct act aaa gca gca gct tgg ggc 508
Glu Ser Trp Glu Gly Tyr Thr Thr Ala Thr Lys Ala Ala Ala Trp Gly
105 110 115

ggg att acc aca ata gta gac atg cct ttg aat tcc atc cca cct aca 556
Gly Ile Thr Thr Ile Val Asp Met Pro Leu Asn Ser Ile Pro Pro Thr
120 125 130 135

act act gta gag aat ttg aga aca aaa gtg aat tca gcc tgt ggt aaa 604
Thr Thr Val Glu Asn Leu Arg Thr Lys Val Asn Ser Ala Cys Gly Lys
140 145 150

acg cat gtt gat gtc gct ttc tgg gga ggc gtg att cct ggc aat gcg 652
Thr His Val Asp Val Ala Phe Trp Gly Gly Val Ile Pro Gly Asn Ala
155 160 165

cac gaa ttg ttg cca ctt atc aac gcc gga gta aga gga ttc aaa tgt 700
His Glu Leu Leu Pro Leu Ile Asn Ala Gly Val Arg Gly Phe Lys Cys
170 175 180

ttt aca agt gaa agt ggt gtc gat gag ttt cca cag gtt act aaa aat 748
Phe Thr Ser Glu Ser Gly Val Asp Glu Phe Pro Gln Val Thr Lys Asn
185 190 195

gat ctg gaa atg gct cta aaa gag ctc cag aaa gca aat tcc gta ctt 796
Asp Leu Glu Met Ala Leu Lys Glu Leu Gln Lys Ala Asn Ser Val Leu
200 205 210 215

ctg tac cat gcc gaa tta ccc gct cct caa gaa aat gtt aca agc aat 844
Leu Tyr His Ala Glu Leu Pro Ala Pro Gln Glu Asn Val Thr Ser Asn
220 225 230

```

gaa act gaa aag tac atg act tac ctg aaa aca cga cct cca agt atg 892
 Glu Thr Glu Lys Tyr Met Thr Tyr Leu Lys Thr Arg Pro Pro Ser Met
 235 240 245

gaa gta aat gct att gat atg att ata gac ctc aca aaa aaa tat aaa 940
 Glu Val Asn Ala Ile Asp Met Ile Ile Asp Leu Thr Lys Lys Tyr Lys
 250 255 260

gtt agg tct cac ata gtg cat cta tca gca gca ggt gct tta ccg caa 988
 Val Arg Ser His Ile Val His Leu Ser Ala Ala Gly Ala Leu Pro Gln
 265 270 275

ttg aaa aaa gcg cgc tca gag aac gtt cca ctt tcg att gaa act tgt 1036
 Leu Lys Lys Ala Arg Ser Glu Asn Val Pro Leu Ser Ile Glu Thr Cys
 280 285 290 295

cat cat tac tta acc ttt gct gct gaa gat gtt cca gat gga cat act 1084
 His His Tyr Leu Thr Phe Ala Ala Glu Asp Val Pro Asp Gly His Thr
 300 305 310

gaa tac aaa tgc gct cca cca att aga gaa gaa agt aat caa gaa aaa 1132
 Glu Tyr Lys Cys Ala Pro Pro Ile Arg Glu Glu Ser Asn Gln Glu Lys
 315 320 325

tta tgg caa gct ttg gaa aac aga gat att gat atg gta gtc agt gat 1180
 Leu Trp Gln Ala Leu Glu Asn Arg Asp Ile Asp Met Val Val Ser Asp
 330 335 340

cat tct cca tca cct gct gca ctg aaa ggc ctg tgc aat ggt tgt cat 1228
 His Ser Pro Ser Pro Ala Ala Leu Lys Gly Leu Cys Asn Gly Cys His
 345 350 355

cct gat ttc cta aaa gct tgg ggt gga att gct ggt atg cag ttt gga 1276
 Pro Asp Phe Leu Lys Ala Trp Gly Gly Ile Ala Gly Met Gln Phe Gly
 360 365 370 375

tta tct tta ata agg gac cgg tgc ttc taaaagaggc tttaaagctc 1323
 Leu Ser Leu Ile Arg Asp Arg Cys Phe
 380

atgatgtatc tcgtttatta tctgcgggac ctgcgaaatt aactggactg gatggcataa 1383

aaggacaaat caaagaaggc ttggatgctg atttagtaat ttgggatcct gaggaagaat 1443

ttaagggtcac taaagacata atccaacaca agaataaaga aacaccatac ttaggaatga 1503

cgttgaaggg caaagttcat gcaactgttg tacgaggaga ctttgtttac cgtaatggac 1563

```

aaccattcga aattccaaaa ggaaatttac ttattgaatg attaaatgta atagattaat 1623
caaatttttag atgattaataa ttgtttttatt actacaatag caacctctgc ctgaaaatta 1683
accgaacaaa cttctaacat ccttattaat gtatagattt tgaataataa catagaaatt 1743
atactatttt ttgatgact ctaataaaaa aatgtataa atggccatgc ctgatataat 1803
tttgataacc ttaatgaaaa aatgttttaa tggccatgtc tgaaaagatt tctatgtgta 1863
tttttttggt aacattttat tgttgaatgg ataaaagata aatacaattt tataagctgt 1923
ttggataaat taattttgaa taaatccata atcatagaat atgttaagta gcaaattaaa 1983
atatggacca caaaccacaa aatgtatacg aaatataact tatatgatat atgaaaaaaaa 2043
aaaaaaaaaa aaaa 2057

```

<210> 2

<211> 384

<212> PRT

<213> Ctenocephalides felis

<400> 2

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

Leu	Asn	Ser	Ile	Pro	Pro	Thr	Thr	Thr	Val	Glu	Asn	Leu	Arg	Thr	Lys
130						135					140				
Val	Asn	Ser	Ala	Cys	Gly	Lys	Thr	His	Val	Asp	Val	Ala	Phe	Trp	Gly
145					150					155					160
Gly	Val	Ile	Pro	Gly	Asn	Ala	His	Glu	Leu	Leu	Pro	Leu	Ile	Asn	Ala
				165					170					175	
Gly	Val	Arg	Gly	Phe	Lys	Cys	Phe	Thr	Ser	Glu	Ser	Gly	Val	Asp	Glu
			180					185					190		
Phe	Pro	Gln	Val	Thr	Lys	Asn	Asp	Leu	Glu	Met	Ala	Leu	Lys	Glu	Leu
	195						200					205			
Gln	Lys	Ala	Asn	Ser	Val	Leu	Leu	Tyr	His	Ala	Glu	Leu	Pro	Ala	Pro
	210					215					220				
Gln	Glu	Asn	Val	Thr	Ser	Asn	Glu	Thr	Glu	Lys	Tyr	Met	Thr	Tyr	Leu
225					230					235					240
Lys	Thr	Arg	Pro	Pro	Ser	Met	Glu	Val	Asn	Ala	Ile	Asp	Met	Ile	Ile
				245					250					255	
Asp	Leu	Thr	Lys	Lys	Tyr	Lys	Val	Arg	Ser	His	Ile	Val	His	Leu	Ser
			260					265					270		
Ala	Ala	Gly	Ala	Leu	Pro	Gln	Leu	Lys	Lys	Ala	Arg	Ser	Glu	Asn	Val
		275					280					285			
Pro	Leu	Ser	Ile	Glu	Thr	Cys	His	His	Tyr	Leu	Thr	Phe	Ala	Ala	Glu
	290					295					300				
Asp	Val	Pro	Asp	Gly	His	Thr	Glu	Tyr	Lys	Cys	Ala	Pro	Pro	Ile	Arg
305					310					315					320
Glu	Glu	Ser	Asn	Gln	Glu	Lys	Leu	Trp	Gln	Ala	Leu	Glu	Asn	Arg	Asp
			325						330				335		
Ile	Asp	Met	Val	Val	Ser	Asp	His	Ser	Pro	Ser	Pro	Ala	Ala	Leu	Lys
		340						345					350		
Gly	Leu	Cys	Asn	Gly	Cys	His	Pro	Asp	Phe	Leu	Lys	Ala	Trp	Gly	Gly
	355						360					365			
Ile	Ala	Gly	Met	Gln	Phe	Gly	Leu	Ser	Leu	Ile	Arg	Asp	Arg	Cys	Phe
	370					375					380				

<210> 3

<211> 2057

<212> DNA

<213> Ctenocephalides felis

<400> 3

```

tttttttttt tttttttttt tcatatatca tataagttat atttcgtata cattttgtgg 60
tttggtggtcc atattttaat ttgctactta acatattcta tgattatgga tttattcaaa 120
attaatttat ccaaacagct tataaaattg tatttatctt ttatccattc aacaataaaa 180
tgtaacaaa aaaatacaca tagaaatctt tcagacatg gccatttaaa cattttttca 240
ttaaggttat caaaaatata tcaggcatgg ccatttatac atttttttta ttagagtcac 300
caaaaaaata gtataatttc tatgttatta ttcaaaatct atacattaat aaggatgta 360
gaagtgtgtt cggttaattt tcaggcagag gttgctattg tagtaataaa acaattttaa 420
tcatctaaaa tttgattaat ctattacatt taatcattca ataagtaaatt ttccttttgg 480
aatttcgaat ggttgtccat tacggtaaac aaagtctcct cgtacaacag ttgcatgaac 540
tttgcccttc aacgtcattc ctaagtatgg tgtttcttta ttcttggtgt ggattatgtc 600
tttagtgacc ttaaattctt cctcaggatc ccaaattact aaatcagcat ccaagccttc 660
tttgatttgt ctttttatgc catccagtc agttaatttc gcagggtccc cagataataa 720
acgagataca tcatgagctt taaagcctct tttagaagca ccggtccctt attaaagata 780
atccaaactg cataccagca attccacccc aagcttttag gaaatcagga tgacaaccat 840
tgcacaggcc tttcagtgc gcagggtgat gagaatgat actgactacc atatcaatat 900
ctctgttttc caaagcttgc cataattttt cttgattact ttcttctcta attggtggag 960
cgcattttgt ttcagtatgt ccatctggaa catcttcagc agcaaagggt aagtaatgat 1020
gacaagtttc aatcgaaagt ggaacgttct ctgagcgcgc ttttttcaat tgcggtaaa 1080
cacctgctgc tgatagatgc actatgtgag acctaacttt atattttttt gtgaggctca 1140
taatcatatc aatagcattt acttccatac ttggaggctg tgttttcagg taagtcatgt 1200
acttttcagt ttcatgtctt gtaacatttt cttgaggagc gggttaattcg gcatggtaca 1260
gaagtacgga atttgctttc tggagctctt ttagagccat ttccagatca tttttagtaa 1320
cctgtggaaa ctcatcgaca ccactttcac ttgtaaaaca tttgaatcct cttactccgg 1380
cgttgataag tggcaacaat tcgtgcgcat tgccaggaat cacgcctccc cagaaagcga 1440
catcaacatg cgtttttacca caggctgaat tcacttttgt tctcaaattc tctacagtag 1500
ttgtagggtg gatggaattc aaaggcatgt ctactattgt ggtaatcccg cccaagctg 1560
ctgcttttagt agctgtggtg tatccttccc aggattctct tcttggttcg ttgacgtgca 1620
catgagagtc tatcacacct ggccatattg aaaattgacc gtagtccaac acctcaactt 1680
tagtttcgtt agctatcctt tccacttctt ctctgaaat tatacttttt attcttccgg 1740
aggaatcaac tacaatgccg gcatctcttt cagtaccatc accgagaaga actcttcggc 1800
tacggaatat cttcattgga ggcgcgttgt tggtgacgc agcattaaca aggttcttgc 1860
aattcagcat aatgaccaga agaaaaatac aggtactgct tttcattttg attcagtaat 1920
agattacttc ttgagataga taataatact gtggagaagt aaccttcaca tgaaataggc 1980
ttggttctta taattactgg ctttgttctg gatattagaa atctgatcac aaaattttat 2040
taagttatta ttatgtt                                     2057

```

<210> 4

<211> 1152

<212> DNA

<213> Ctenocephalides felis

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1152)

<400> 4

```

atg aaa agc agt acc tgt att ttt ctt ctg gtc att atg ctg aat tgc 48
Met Lys Ser Ser Thr Cys Ile Phe Leu Leu Val Ile Met Leu Asn Cys
  1             5             10             15

aag aac ctt gtt aat gct gcg tgc acc aac aac gcg cct cca atg aag 96
Lys Asn Leu Val Asn Ala Ala Cys Thr Asn Asn Ala Pro Pro Met Lys
      20             25             30

ata ttc cgt agc cga aga gtt ctt ctc ggt gat ggt act gaa aga gat 144
Ile Phe Arg Ser Arg Arg Val Leu Leu Gly Asp Gly Thr Glu Arg Asp
      35             40             45

gct ggc att gta gtt gat tcc tcc gga aga ata aaa agt ata att tca 192
Ala Gly Ile Val Val Asp Ser Ser Gly Arg Ile Lys Ser Ile Ile Ser
      50             55             60

gga gaa gaa gtg gaa agg ata gct aac gaa act aaa gtt gag gtg ttg 240
Gly Glu Glu Val Glu Arg Ile Ala Asn Glu Thr Lys Val Glu Val Leu
      65             70             75             80

gac tac ggt caa ttt tca ata tgg cca ggt gtg ata gac tct cat gtg 288
Asp Tyr Gly Gln Phe Ser Ile Trp Pro Gly Val Ile Asp Ser His Val
      85             90             95

cac gtc aac gaa cca gga aga gaa tcc tgg gaa gga tac acc aca gct 336
His Val Asn Glu Pro Gly Arg Glu Ser Trp Glu Gly Tyr Thr Thr Ala
      100             105             110

act aaa gca gca gct tgg ggc ggg att acc aca ata gta gac atg cct 384
Thr Lys Ala Ala Ala Trp Gly Gly Ile Thr Thr Ile Val Asp Met Pro
      115             120             125

ttg aat tcc atc cca cct aca act act gta gag aat ttg aga aca aaa 432
Leu Asn Ser Ile Pro Pro Thr Thr Thr Val Glu Asn Leu Arg Thr Lys
      130             135             140

gtg aat tca gcc tgt ggt aaa acg cat gtt gat gtc gct ttc tgg gga 480
Val Asn Ser Ala Cys Gly Lys Thr His Val Asp Val Ala Phe Trp Gly
      145             150             155             160

```


ggc gtg att cct ggc aat gcg cac gaa ttg ttg cca ctt atc aac gcc	528
Gly Val Ile Pro Gly Asn Ala His Glu Leu Leu Pro Leu Ile Asn Ala	
165 170 175	
gga gta aga gga ttc aaa tgt ttt aca agt gaa agt ggt gtc gat gag	576
Gly Val Arg Gly Phe Lys Cys Phe Thr Ser Glu Ser Gly Val Asp Glu	
180 185 190	
ttt cca cag gtt act aaa aat gat ctg gaa atg gct cta aaa gag ctc	624
Phe Pro Gln Val Thr Lys Asn Asp Leu Glu Met Ala Leu Lys Glu Leu	
195 200 205	
cag aaa gca aat tcc gta ctt ctg tac cat gcc gaa tta ccc gct cct	672
Gln Lys Ala Asn Ser Val Leu Leu Tyr His Ala Glu Leu Pro Ala Pro	
210 215 220	
caa gaa aat gtt aca agc aat gaa act gaa aag tac atg act tac ctg	720
Gln Glu Asn Val Thr Ser Asn Glu Thr Glu Lys Tyr Met Thr Tyr Leu	
225 230 235 240	
aaa aca cga cct cca agt atg gaa gta aat gct att gat atg att ata	768
Lys Thr Arg Pro Pro Ser Met Glu Val Asn Ala Ile Asp Met Ile Ile	
245 250 255	
gac ctc aca aaa aaa tat aaa gtt agg tct cac ata gtg cat cta tca	816
Asp Leu Thr Lys Lys Tyr Lys Val Arg Ser His Ile Val His Leu Ser	
260 265 270	
gca gca ggt gct tta ccg caa ttg aaa aaa gcg cgc tca gag aac gtt	864
Ala Ala Gly Ala Leu Pro Gln Leu Lys Lys Ala Arg Ser Glu Asn Val	
275 280 285	
cca ctt tcg att gaa act tgt cat cat tac tta acc ttt gct gct gaa	912
Pro Leu Ser Ile Glu Thr Cys His His Tyr Leu Thr Phe Ala Ala Glu	
290 295 300	
gat gtt cca gat gga cat act gaa tac aaa tgc gct cca cca att aga	960
Asp Val Pro Asp Gly His Thr Glu Tyr Lys Cys Ala Pro Pro Ile Arg	
305 310 315 320	
gaa gaa agt aat caa gaa aaa tta tgg caa gct ttg gaa aac aga gat	1008
Glu Glu Ser Asn Gln Glu Lys Leu Trp Gln Ala Leu Glu Asn Arg Asp	
325 330 335	
att gat atg gta gtc agt gat cat tct cca tca cct gct gca ctg aaa	1056
Ile Asp Met Val Val Ser Asp His Ser Pro Ser Pro Ala Ala Leu Lys	
340 345 350	

ggc ctg tgc aat ggt tgt cat cct gat ttc cta aaa gct tgg ggt gga 1104
 Gly Leu Cys Asn Gly Cys His Pro Asp Phe Leu Lys Ala Trp Gly Gly
 355 360 365

att gct ggt atg cag ttt gga tta tct tta ata agg gac cgg tgc ttc 1152
 Ile Ala Gly Met Gln Phe Gly Leu Ser Leu Ile Arg Asp Arg Cys Phe
 370 375 380

<210> 5

<211> 384

<212> PRT

<213> Ctenocephalides felis

<400> 5

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

Lys Asn Leu Val Asn Ala Ala Cys Thr Asn Asn Ala Pro Pro Met Lys
 20 25 30

Ile Phe Arg Ser Arg Arg Val Leu Leu Gly Asp Gly Thr Glu Arg Asp
 35 40 45

Ala Gly Ile Val Val Asp Ser Ser Gly Arg Ile Lys Ser Ile Ile Ser
 50 55 60

Gly Glu Glu Val Glu Arg Ile Ala Asn Glu Thr Lys Val Glu Val Leu
 65 70 75 80

Asp Tyr Gly Gln Phe Ser Ile Trp Pro Gly Val Ile Asp Ser His Val
 85 90 95

His Val Asn Glu Pro Gly Arg Glu Ser Trp Glu Gly Tyr Thr Thr Ala
 100 105 110

Thr Lys Ala Ala Ala Trp Gly Gly Ile Thr Thr Ile Val Asp Met Pro
 115 120 125

Leu Asn Ser Ile Pro Pro Thr Thr Thr Val Glu Asn Leu Arg Thr Lys
 130 135 140

Val Asn Ser Ala Cys Gly Lys Thr His Val Asp Val Ala Phe Trp Gly
 145 150 155 160

Gly Val Ile Pro Gly Asn Ala His Glu Leu Leu Pro Leu Ile Asn Ala
 165 170 175

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

<210> 6

<211> 1152

<212> DNA

<213> Ctenocephalides felis

<400> 6

gaagcaccgg tcccttatta aagataatcc aaactgcata ccagcaattc caccccaagc 60

```

ttttaggaaa tcaggatgac aaccattgca caggcctttc agtgcagcag gtgatggaga 120
atgatcactg actaccatat caatatctct gttttccaaa gcttgccata atttttcttg 180
attactttct tctctaattg gtggagcgca tttgtattca gtatgtccat ctggaacatc 240
ttcagcagca aagggttaagt aatgatgaca agtttcaatc gaaagtggaa cgttctctga 300
gcgcgccttt ttcaattgcg gtaaagcacc tgctgctgat agatgcacta tgtgagacct 360
aactttatat ttttttgtga ggtctataat catatcaata gcattttactt ccatacttgg 420
aggtcgtggt ttcaggttaag tcatgtactt ttcagtttca ttgcttgtaa cattttcttg 480
aggagcgggt aattcggcat ggtacagaag tacggaattt gctttctgga gctcttttag 540
agccatttcc agatcatttt tagtaacctg tggaaactca tcgacaccac tttcacttgt 600
aaaacatttg aatcctctta ctccggcggt gataagtggc aacaattcgt gcgcattgcc 660
aggaatcacg cctccccaga aagcgacatc aacatgcgtt ttaccacagg ctgaattcac 720
ttttgttctc aaattctcta cagtagttgt aggtgggatg gaattcaaag gcatgtctac 780
tattgtggta atcccgcccc aagctgctgc tttagtagct gtggtgtatc cttcccagga 840
ttctcttctt ggttcgttga cgtgcacatg agagtctatc acacctggcc atattgaaaa 900
ttgaccgtag tccaacacct caactttagt ttcgttagct atcctttcca cttcttctcc 960
tgaaattata ctttttattc ttccggagga atcaactaca atgccagcat ctctttcagt 1020
accatcaccg agaagaactc ttccgctacg gaatatcttc attggaggcg cgttgttggt 1080
gcacgcagca ttaacaaggt tcttgcaatt cagcataatg accagaagaa aaatacaggt 1140
actgcttttc at                                     1152

```

<210> 7

<211> 1128

<212> DNA

<213> Ctenocephalides felis

<220>

<221> CDS

<222> (6) .. (821)

<400> 7

```

tcaca atg aag ttc tta gga gct tta ttg gtt gca gtg ttt gcc ttg ggt 50
Met Lys Phe Leu Gly Ala Leu Leu Val Ala Val Phe Ala Leu Gly
1 5 10 15

gct gtg gct gct gac agg aat tcg ccc aca tat gtc cgc ggt ttc cca 98
Ala Val Ala Ala Asp Arg Asn Ser Pro Thr Tyr Val Arg Gly Phe Pro
20 25 30

gtg gga aga tcc aga gca cga aca aca ttt ggc aat gaa gaa ata aag 146
Val Gly Arg Ser Arg Ala Arg Thr Thr Phe Gly Asn Glu Glu Ile Lys
35 40 45

tgt act aat aag cag ttg gga aca ttt tgt cac gat tgt tct act ttg 194
Cys Thr Asn Lys Gln Leu Gly Thr Phe Cys His Asp Cys Ser Thr Leu
50 55 60

aag ttg tgc gct gga caa gaa acc cca att aca aca atc aat tgc aga 242

```

Patentansprüche

1. Isoliertes Nukleinsäuremolekül mit einer Nukleinsäuresequenz die zumindest zu 70% mit einer Nukleinsäuresequenz identisch ist, die aus einer Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören, wobei die Nukleinsäuresequenz für eine polypeptide kodierte die eine Allantoinase-Aktivität aufweist.

2. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 1, bei dem das Nukleinsäuremolekül eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die zumindest zu 80% mit einer Nukleinsäuresequenz identisch ist, die aus einer Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören.

3. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 1, wobei das Nukleinsäuremolekül eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die zumindest zu 90% mit einer Nukleinsäuresequenz identisch ist, die aus einer Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören.

4. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 1, bei dem das Nukleinsäuremolekül eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die zumindest zu 95% mit einer Nukleinsäuresequenz übereinstimmt, die aus einer Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören.

5. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 1, bei dem das Nukleinsäuremolekül aus einer Gruppe ausgewählt ist, zu der ein Nukleinsäuremolekül gehört, das eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören; sowie eine allele Variante eines Nukleinsäuremoleküls, das eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören.

6. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 1, bei dem das Nukleinsäuremolekül eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören.

7. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 1, bei dem das Nukleinsäuremolekül für ein Protein kodiert, das eine Aminosäuresequenz aufweist, die zumindest zu 75% mit SEQ ID NO: 2 identisch ist.

8. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 1, bei dem das Nukleinsäuremolekül für ein Protein kodiert, das SEQ ID NO: 2 aufweist.

9. Rekombinantes Molekül mit einem Nukleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 1–8 das operativ an eine Transkriptionssteuersequenz gelinkt ist.

10. Rekombinanter Virus, der ein Nukleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 1–8 enthält.

11. Rekombinante Zelle, die ein Nukleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 1–8 enthält.

12. Verfahren zum Herstellen eines Proteins, das durch eine Nukleinsäuresequenz kodiert ist, die zumindest zu 70% mit einer Nukleinsäuresequenz identisch ist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören, wobei die Nukleinsäuresequenz für ein Polypeptid kodiert, das eine Allantoinase-Aktivität aufweist, wobei es zu dem Verfahren gehört, eine Zelle zu kultivieren, die mit dem Nukleinsäuremolekül transformiert ist, um das Protein zu erzeugen.

13. Verfahren nach Anspruch 12, bei dem die Nukleinsäuresequenz für ein Protein kodiert, das eine Aminosäuresequenz aufweist, die zumindest zu 75% mit SEQ ID NO: 2 identisch ist.

14. Verfahren nach Anspruch 12, bei dem die Nukleinsäuresequenz für ein Protein kodiert, das eine Aminosäuresequenz aufweist, die zumindest zu 85% mit SEQ ID NO: 2 identisch ist.

15. Verfahren nach Anspruch 12, bei dem die Nukleinsäuresequenz für ein Protein kodiert, das eine Aminosäuresequenz aufweist, die zumindest zu 95% mit SEQ ID NO: 2 identisch ist.

16. Verfahren nach Anspruch 12, bei dem die Nukleinsäuresequenz für ein Protein kodiert, das die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2 aufweist.

17. Verfahren nach Anspruch 12, bei dem das Nukleinsäuremolekül aus einer Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus: (a) einem Nukleinsäuremolekül, das eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 besteht und (b) einem Nukleinsäuremolekül, das eine alle Variante des Nukleinsäuremoleküls aufweist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören.

18. Verfahren nach Anspruch 12, bei dem das Nukleinsäuremolekül eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören.

19. Isoliertes Protein, das durch eine Nukleinsäuresequenz kodiert ist, die zumindest zu 70% mit einer Nukleinsäuresequenz identisch ist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der SEQ ID NO: 1 und SEQ ID NO: 4 gehören, wobei das Protein eine Allantoinase-Aktivität aufweist.

20. Isoliertes Protein nach Anspruch 19, wobei das Protein eine Aminosäuresequenz aufweist, die zumindest zu 75% mit einer Aminosäuresequenz von SEQ ID NO: 2 identisch ist.

21. Protein nach Anspruch 19, bei dem das Protein eine Aminosäuresequenz aufweist, die zumindest zu 85% mit der Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 2 identisch ist.

22. Protein nach Anspruch 19, bei dem das Protein eine Aminosäuresequenz enthält, die zumindest zu 95% mit der Aminosäuresequenz von SEQ ID NO: 2 identisch ist.

23. Protein nach Anspruch 19, bei dem das Protein eine Aminosäuresequenz von SEQ ID NO: 2 enthält.

24. Isolierter Antikörper, der selektiv an ein Protein nach einem der Ansprüche 19–23 bindet.

25. Verfahren zum Identifizieren eines Compounds, das in der Lage ist, die Aktivität eines isolierten Proteins nach einem der Ansprüche 19–23 zu inhibieren, wobei es zu dem Verfahren gehört, ein isoliertes Protein nach einem der Ansprüche 19–23 mit einem mutmaßlich inhibierenden Compound unter Bedingungen zusammengebracht wird, unter denen bei Abwesenheit des Compounds das Protein eine Aktivität zeigt, und feststellen, ob der vermeintlich inhibierende Compound die Aktivität inhibiert.

26. Zusammenstellung zum Identifizieren eines Compounds, der in der Lage ist, die Aktivität eines isolierten Proteins nach einem der Ansprüche 19 bis 23 zu inhibieren, wobei zu der Testzusammenstellung ein isoliertes Protein nach einem der Ansprüche 19–23 und Mittel gehören, um das Maß der Inhibierung der Aktivität bei Anwesenheit eines mutmaßlich inhibierenden Compounds zu bestimmen.

27. Zusammensetzung mit einem Exzipienten und einem Compound, der aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der gehören: (a) ein isoliertes Nukleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 1–8; (b) ein isoliertes Protein nach einem der Ansprüche 19–23 und (c) ein isolierter Antikörper nach Anspruch 24.

28. Zusammensetzung nach Anspruch 27, bei der die Zusammensetzung ferner eine Komponente enthält,

die aus der Gruppe ausgewählt ist, zu der ein Adjuvanz und ein Träger gehören.

29. Zusammensetzung nach Anspruch 27 zur Verwendung bei einem Verfahren zum Schutz eines Tieres gegen Flohbefall.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen