

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 18.01.10.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 22.07.11 Bulletin 11/29.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : INSTITUT DE RECHERCHE POUR
LE DEVELOPPEMENT Etablissement public — FR.

⑦2 Inventeur(s) : REMOUE FRANCK JACQUES LOUIS-
MARIE, POINSIGNON ANNE CLAIRE, CORNELIE
SYLVIE CAROLINE, DRAME PAPA MAKHTAR, DOU-
COURE SOULEYMANE, MOUCHET FRANCOIS JAC-
QUES ANDRE, ROSSIGNOL MARIE AUDE
BERNADETTE et CORBEL VINCENT BERNARD
CAMILLE.

⑦3 Titulaire(s) : INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE
DEVELOPPEMENT Etablissement public.

⑦4 Mandataire(s) : CABINET ARMENGAUD AINE.

⑤4 METHODE POUR EVALUER L'EFFICACITE DE STRATEGIES DE LUTTE ANTI-VECTORIELLE DANS LE
CONTROLE DU PALUDISME ET DES ARBOVIROSES.

⑤7 L'invention a pour objet l'utilisation de protéines sali-
vaires immunogéniques et spécifiques des moustiques
Anopheles et Aedes comme biomarqueurs d'évaluation de
l'efficacité de stratégies de lutte anti-vectorielle dans le con-
trôle du paludisme et des arboviroses, ces protéines étant
choisies dans le groupe comprenant les protéines et pepti-
des de séquences SEQ ID N° 1 à 30.



Méthode pour évaluer l'efficacité de stratégies de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses.

5 L'invention a pour objet l'utilisation de biomarqueurs immunologiques pour évaluer l'efficacité de stratégies de lutte anti-vectorielle (LAV en abrégé) dans le contrôle du paludisme et des arboviroses.

10 La transmission des maladies parasitaires et virales s'effectue par des vecteurs arthropodes, tels que les moustiques dans le cas du paludisme, de la dengue et du chikungunya, les tiques dans la maladie de Lyme ou les phlébotomes dans les leishmanioses.

15 Parmi ces maladies, le paludisme correspond à l'infection parasitaire la plus grave dans le monde, dont la morbidité est directement liée à l'exposition de l'homme au moustique *Anopheles* infecté.

20 De nombreuses méthodes préventives ont été proposées pour lutter contre les parasites (chimio prophylaxie) ou leurs vecteurs (contrôle des larves ou des adultes à l'aide de larvicides et d'adulticides, supports imprégnés
25 d'insecticides, notamment moustiquaires, pulvérisations intra-domiciliaires d'insecticides et autres).

L'évaluation de l'efficacité des stratégies LAV repose le plus généralement sur des méthodes entomologiques pour le vecteur,
30 telles que l'évaluation de l'abondance du vecteur, leur agressivité, leur taux d'infection ou chez l'Homme sur la détection des pathogènes. Mais ces méthodes de référence présentent de nombreuses limites dans leur capacité à évaluer réellement et individuellement le degré de piqûres reçu par

l'Homme et ainsi la réelle efficacité des mesures de LAV testées ou utilisées.

5 Ces limites sont particulièrement rencontrées dans un contexte de faible exposition aux vecteurs, ce qui est de plus en plus d'actualité dans les zones endémiques et d'exposition.

La détection chez l'homme, par exemple, de *Plasmodium* nécessite un suivi précis et actif des populations.

10 Les méthodes de références pour évaluer la LAV dans le cas du paludisme portent le plus généralement sur l'identification des *Plasmodium* dans le sang humain (utilisation d'une goutte épaisse). Cette méthode permet de calculer la prévalence parasitaire et l'intensité d'infection qui sont des outils

15 utilisés pour évaluer l'efficacité de la LAV en comparant avant/après mise en place de la LAV. Les limites majeures sont liées à la nécessité d'un suivi à long terme des populations (sur une année, par exemple) avant et après la mise en place de la LAV. En effet, pour affirmer que la LAV a bien fait

20 chuter la prévalence ou l'intensité d'infection à *Plasmodium*, il faut réaliser cette évaluation en tenant compte de la saison de transmission. Ces limites sont particulièrement importantes dans des zones où la transmission est saisonnière ou faible (paludisme urbain, d'altitude) et où la distribution

25 des médicaments antipaludiques est forte (impossibilité d'évaluer l'efficacité d'une LAV contre *Anopheles* par la détection des *Plasmodium* si les médicaments antipaludiques sont distribués aux populations dans la zone d'étude). De plus, la présence et l'intensité d'infection de *Plasmodium*

30 peuvent varier très régulièrement d'un jour à l'autre. Il s'ensuit qu'il est très difficile d'effectuer un suivi régulier des populations de la zone où la LAV est évaluée. Cette évaluation parasitologique nécessite ainsi des études de

suivi longitudinal chez un grand nombre d'individus pour affirmer l'efficacité d'une LAV.

5 Pour les arboviroses, les critères d'évaluation d'une LAV par la détection des pathogènes semblent encore plus complexes et peu utilisables. En effet, la détection d'une infection chez l'Homme est basée sur la production d'IgM (infection en cours) ou IgG (infection ancienne) anti-pathogènes. Mis à part dans une situation d'épidémie, la prévalence de l'infection est
10 souvent très faible pour les arboviroses et l'évaluation d'une LAV efficace nécessite ainsi de suivre avant/après la LAV une très large population d'étude afin de conclure à une efficacité d'une LAV. Ainsi, pour l'évaluation d'une LAV anti-Aedes, un suivi à très long terme est nécessaire et demande
15 des moyens logistiques de terrain très lourds et coûteux.

De plus, les méthodes entomologiques sont principalement applicables au niveau d'une population, mais ne donnent pas une mesure de l'hétérogénéité de l'exposition individuelle.

20

Ainsi, on mesurera l'intérêt pour de nouveaux indicateurs et méthodes afin d'évaluer au niveau individuel, le réel contact homme-vecteur et ainsi l'efficacité réelle d'une stratégie LAV, en conformité avec les recommandations de l'OMS.

25

Un programme de recherche coordonnée au sein d'un laboratoire de la Déposante porte sur l'étude immunologique de la relation Homme-vecteur au cours du paludisme et des arboviroses.

30

Des travaux précédents ont montré que les réponses anticorps spécifiques à des extraits salivaires totaux ou spécifiques à des protéines salivaires d'*Anopheles* et d'*Aedes* représentaient des biomarqueurs pertinents pour évaluer le degré d'exposition de populations humaines aux piqûres de ces moustiques.

Plus particulièrement, le groupe de recherche auquel appartiennent les inventeurs a démontré que la réponse anticorps IgG anti-salive totale d'*An. gambiae* (1) et (2) et anti-peptide de la protéine gSG6 de ce vecteur (3) d'*Anopheles* représentait un outil d'évaluation de l'exposition au vecteur du paludisme. De plus, la réponse anticorps Ig anti-salive totale d'*Anopheles gambiae* représentait également un outil d'évaluation de l'efficacité de la mise en place de moustiquaires imprégnées d'insecticides (désignées ci-après par l'abréviation ITN pour « Insecticide Treated Nets ») (5). Des protéines salivaires immunogéniques constituant des candidats potentiels comme biomarqueurs d'exposition aux piqûres ont été identifiées.

La validité de cette approche a également été démontrée pour le développement d'un biomarqueur d'exposition aux glossines, vecteur de la THA (4) et (3).

Dans le cadre de la poursuite des travaux dans ce domaine, les inventeurs ont constaté que des marqueurs immuno-épidémiologiques constituant des indicateurs de diagnostic des risques de paludisme et des marqueurs d'exposition à la piqûre de ce vecteur, étaient également des biomarqueurs spécifiques pour évaluer l'efficacité d'une LAV.

L'invention repose sur l'utilisation de tels biomarqueurs immunologiques pour évaluer l'efficacité d'une stratégie LAV.

L'invention a également pour but de fournir une méthode d'évaluation de l'efficacité d'une stratégie LAV basée sur mesure des taux d'anticorps dirigés contre des protéines et peptides salivaires, biomarqueurs spécifiques d'exposition aux piqûres des moustiques *Anopheles* et *Aedes*.

Elle vise particulièrement l'application de cette méthode pour le contrôle anti-vectoriel visant à réduire la transmission du paludisme et des arboviroses majeures.

5

Selon un premier aspect, l'invention vise l'utilisation de protéines salivaires immunogéniques et spécifiques des moustiques *Anopheles* et *Aedes* comme biomarqueurs d'évaluation de l'efficacité de stratégies de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses, ces protéines étant choisies dans le groupe comprenant les protéines et peptides de séquences SEQ ID N° 1 à 30 données ci-après.

10

Selon un deuxième aspect, l'invention vise l'utilisation de la réponse anticorps humains aux protéines salivaires immunogéniques et spécifiques des moustiques *Anopheles* et *Aedes* desdites séquences SEQ ID N°1 à 30 pour évaluer l'efficacité de stratégies de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses.

15

L'invention vise également selon un autre aspect, une méthode d'évaluation de l'efficacité d'une stratégie LAV dans le contrôle du paludisme et des arboviroses, caractérisée en ce qu'elle comprend l'évaluation des réponses anticorps spécifiques aux protéines et/ou peptides salivaires immunogéniques de moustiques *Anopheles* et *Aedes* comme critère d'efficacité de LAV, quelle que soit la forme larvicide ou adulticide du LAV, ces protéines et peptides étant choisis dans le groupe comprenant les protéines ou peptides répondant aux séquences SEQ ID N°1 à 30.

20

25

30

Les séquences SEQ ID N°1 à 30 mentionnées ci-dessus sont les suivantes :

SEQ ID N° 1 : protéine gSG6 avec le peptide signal souligné.

5 MAIRVELLLAMVLLPLLLLLESVVPHAAAEKVWVDRDNVYCGHLDCTRVATFKGERFCTLCDT
RHFCECKETREPLPYMYACPGTEPCQSSDRLGSCSKSMHDVLCDRIDQAFLEQ

SEQ ID N°2 : peptide P1 de la protéine gSG6, ci-après désigné par gSG6-P1

10 EKVWVDRDNVYCGHLDCTRVATF

SEQ ID N°3 : peptide P2 de la protéine gSG6, ci-après désigné par gSG6-P2

ATFKGERFCTLCDTRHFCECKETREPL

15

SEQ ID N°4 : peptide P3 de la protéine gSG6, ci-après désigné par gSG6-P3

CECKETREPLPYMYACPGTEP

20 SEQ ID N°5 : peptide P4 de la protéine gSG6, ci-après désigné par gSG6-P4

ACPGTEPCQSSDRLGSCSKS

SEQ ID N°6 : peptide P5 de la protéine gSG6, ci-après désigné par gSG6-P5

25

DRLGSCSKSMHDVLCDRIDQAFLEQ

SEQ ID N°7 : protéine gVAG

MAIWIACATLLLVVLSGVSAAGKYCSSDLCPRGGPHVGCNPPSSSGGPTCQGKQKARKVLLT

30 PALQAYIMDEHNLNRSNIALGRIRPYPSAVKMPTLTWDPELASLADANARSCNYGHDRCRAT

KKFPYAGQNI¹AITQFFGYRFTEKDLIHKFVSSWWSEYLDARPEHVRKYPSSYSGKPIGHFTQ

IASDRSTKVGCSMWYWKDGQMDVYYFVCNYSFTNIMDRSVYQSGPTASQCKTGRNSKFPGLC

NASEEPRSIMDP

SEQ ID N°8 Protéine 5' nucléotidase

MALVRFATIIITVLCHLAIQDGAAKSFPHGEKAPFPLTLIHINDLHARFDETNQKSSTCTNSK
 ECIAGIARVYHTIKQLKSEYKTKNPLYLNAGDNFQGTWYNLLRWNVNTAYFIKELPPDAMTL
 GNHEFDHSPKGLAPYLAELEKMKIPTVVANLEKNGEPALKDSKIAPQIVLKVGNRKVGVIGA
 5 LYDKTHLVAQTGMVTLTNSIEAVRKEAQELKKKNVNIIVVLSHCGLDGDQQLAEEAGDLIDV
 IVGAHSHSLLLNDKAKVPYDTKYDTIEGDYPLVVKKSNNHTVLITQARSFGKYVGRLTVNFD
 CEGEVQSWEGYPIYMNSVKQDEEVLRELEPWRAEVKRLGTQVIGTTEVFLDRESCRWCECT
 LGDLIADAYADQYTNSTVQPVAFVQAGNFRNPIEKGDITNGLAIEAAPYGSSVDMIKLSGAD
 LWSAIDHSFTLDDEFYNTAQVSGMTVVADLSKKPYERVQSIDIVGANGAKTALKKDQIYYV
 10 AVPSYLADGKDGFAMLKKGTNRVTGPLDSDVLEIYVRKRQTIAKTMFQEKRVVIENHTNGTC
 SWDLDSQRYKPK

SEQ ID N°9 Protéine SG1-like 3

MAGQRHLIEQAWQYGAQLQHELMLTSMESDRVQRALVLHSMVLNASLAEMVKESYQTHGADG
 15 RMVVRLMKFVRLLPGADERVAVYKQLAELLKSNGQDGRFPVIFSTDVRQLEDTRYKPDHAQY
 EGKVVERWLAELQAGTFHEVVEFARDYPEYFARVEEPLYETLKQQWSAEGLD RMVSFPNALP
 VGVQRVRALRALLETLLQHQQEQNNDVYLIRLAHETGRVEATVGQADA AVRQALDDVKKLFE
 QFKYQRGFPDYEALYKLFKGL

20 SEQ ID N°10 : Protéine 34 kDa n°1, avec peptide signal
 (souligné)

MSPSNKILVLLFPILLVSSHPIPAEDPAKQCNLSEDDLTKLKAAISGASSAKAANEDILPN
 TTLAACPMLKNFTEMLKTVATDMEVLKTQGVSNMEVQLLRESFEEKLNDLAKNKDIFERQAN
 QDTSKAEGEMVEKINKLQLEMAKLQEEIEEQTKQMYVDMIEYIFERLKMNDTEAIDSYAQIV
 25 MKTKMHELMKLKTDRLVLWEMVKYVEGKKNKWVGRKVLNTILDQVNKLKLYKPEEVEIGKN
 SLVVVWCWKFNSETVYGTDEDQKSFHLAKLFFPKEKGCKECANVKSRTMCNNDYPKVMVKA
 FG

30 SEQ ID N°11 : Protéine 34 kDa n°2, avec peptide signal
 (souligné)

METSLPITVVFPIVLLITGAQTKPTQGSCTLTDEDISDIKSAVQKASKAAVNDIVLDPTLIDK
 CPMLEKITASLKSVATEIVQMRDSAISTDQVDQLKQNFEDQVNQIVKSRDIFEKQSGTQATK
 EHGEMLERMTAQVKVTELEQQIAKQTASMYEDMAELIFQRLQMNSTESVRSYTKHMMEEKLE
 ELMNKLETNYRIYLGALRFLNHMNDQELIGKVFDGILKRLGDMKADSDDVKENGRNLLVNLL

CWTVNNDFLGKKYKERQVDLYRMALKFYPKTYEKAANEADVRSRQFCEENFPANLITWFAVS
WNDRG

SEQ ID N°12 : Protéine 34 kDa n°1, avec peptide signal
(souligné)

Les peptides biomarqueurs sont indiqués en italique.

MKTSLPIVVLLTAVISGVHPNPTPKSCTVSEEDLTTIRNAIQKASRASLDDVNLDDEDLIAKC
PLLKTITASLKSVAEIIATLKD*TGISEEQVDELKQSYEQQVNEIVKSRDIFEKQSGGDMKE*
QGAMINRMTELQVQVAQLQQI*GEQTSRMYDDMAELIFQRLAMNSTDSIRNYTAHMMEQKLH*
10 TLMTKLETNYRIFLGALRYLDHLGDQPLIDKVF~~GD~~GILKRLDEMSLETNKERENGKYVLVNL
CWTVNNRFLTEKYRKKQLELFRIALKFYPKTGNKEANEADIRGRQFCDANFPVNVITWFAVS
RAAEGWGLRGTL

SEQ ID N°13 : Protéine 34 kDa n°2, avec peptide signal
(souligné)

Les peptides biomarqueurs sont indiqués en italique

MPVTYEFFILLAMSLLLVRSHPLPEEATSDAAIKCTLSEEDLDSLKRAISSAASAKSSDGII
LSNETLTACPILANFTEMLKTVATDMEVLKTQGVSNAEVELLRESFEERLNEITKNKDIFER
QAGQETSKTEGQMVEKINRLQLEMASLKEE*IEQETKKMYEDMAEYIFQRLKMNDTDAIDSYA*
20 QIMFKTKMHDLFMKLKTDRWVLWKMLNYVEQKKDKVIGKWVLNTVINQVTS*LNRNKPDELEI*
GKDSLVLNLLCWTSTAKTVYGAVQEDQKMFYLT

SEQ ID N°14 : Peptide N-Term de la protéine 34 kDa
HPIPAEDPAKQCMLS

25

SEQ ID N°15: Protéine 62 kDa n°1

MNPFTQVFCLIVGVLFFAFTATADEDCEIPLSELNKEQTLTHIEKPIYTEEAESETSDE
CAQMLRGIHLQLRRLTQKYKLMNKGIVKVEEFHKMAKEYEEQLSKLNGELEYFKVEARSGAD
QKIKELKKDIKSLEQNVTKLHDRLKGITDELGKVSMELCSTYLESNQLDSAKEKVKDLPSKY
30 VIELVDQFLSKNENNWLFPVVDLSTAVPDLDGRGQVYKNIYEFLLAKSRLEGEESLLEAEIL
KLNATFHPSKITDDRKKELNDLLEKLRQNSEKTFEQWSQELDQSNISAVVFKNAIDRMFLT
QIEKFGEYVTGRHDYYGVRNFKLLGVSKNYHKIAAYNSLVEKKIGHALAVVMIDMLSIDIA
EIKHDPHVPDRIERMYNSTINSLPDSLKGIIPCIKSVKIRNEGTRNCIYAINQNIQVQNPNF
KNIVLGQYKRVTSMTSACTSFRLELSSNKPYIKIITSEGNLNTNINSAVPGETGFSRVGAPY

SNKPNMKLDHTGDWVLNANFVNNSIKIQSDFNAYQTSKSIDHLVVRNDGDVAVVRYGLSGMR
SGGIPDNHAEWK

SEQ ID N°16: Protéine 62 kDa n°2

5 MNPFTQVFRRLTVGVFFFAFTATADEVCEIPLSELNKEQTLTHIEKPIYTEEAESSETSDSDE
CAQMLRGIHLQLRRLTQKYKLMNKGIVKVEEFHKMAKEEYEEQLSKLNGELEHFKVEARSGAD
QKIKELKKDIQALEQNVTKLHDLRGITDELGKVSMELCSTYLESNQLDSAKEKVKDLPSKY
VIELVDQFLSKNENNWLPVVDLSTAVPDLDDRGQVYKNIYEFLLAKSRLEGEESLLLEAEIL
KLNATFHPSKITDDRKRELVLLTKLSQFSEKTLEQWTQELNQSNISAVVFKNAIDRMFLT
10 QIEKFGEYVTGRHDYYGVRNFLKLLGVSKNYHKIAAYNSLVEKKIGHALAVVMIDMLSIDIA
EIKHDPHPDRIERMNSTINSLPDSLKGIIPCIKSVKIRNEGTRNCIYAINQNIQVQNP
KNIVLGQYKRVSTMSACTSFRLELSSNKPYIKIITSEGNLNTNINSAPVGETGFSRVGAPY
SNKPNMKLDHTGDWVLNANFVNNSIKIQSDFNAYQTSKSIDHLVVRNDGDVAVVRYGLSGMR
SGGIPDNHAEWKLNALK

15

SEQ ID N° 17: Protéine 62kDa n°1

MNSVNRYVLCIALIALFVASFTTAEENCEISANELGKIEQTLTHINQPIYTGDDESEVSDSD
QCAQMLRGIHFQLRRLTQKYKLMNKGIVKAEFFAKMARDYEDQLSVLKNDLEQSKIGADSSA
KQKMQLKKDIATLEQNVNTLHKDLGITDELGKVRMDLCLTYMESNQLSNAQDKVKTLPK
20 YLMELVEQFLNKSEKNWLPVVDLSVAIPDLDDRGQVYKTVHEFLKTKNRDGGEDSILLEAEV
LKMNATFHPSKITEDRKKEIQDLLEKLSLTSTKIFDQWTQDLAKLENSAVYKNSIDRMFLT
QMEKFGERVMAKDDYYSLRNFLKLLVVSTNYYKIAAYRKLIQEKIGHTLAVLMFDMMSMERT
ELQYDPHPVDEVRMYDESITALPDSLKNIRSLKLVKIYNHVTNQCILATNEVEDVNNSNP
KFKSNVLGRRKLVKTASNDCTPFRLEPSADKASIRIITPKGDALTNINSIQPGLSWFNRVGA
25 PYTNNHNMKLDYSADWILDANYANDSIKIESEFNAYQTMKSVDHLMVTNVGKVPVHVVAQYG
LKGMEYAGAGMKDAEWKFKCDN

SEQ ID N°18: Protéine 62 kDa n°2

MKVYICQVIFSFLAVSVFCEENCNIPSELSKIDHVLRHMEKPIYSEEQFASDNEECTNLLN
30 GIHAQLRRLTQRYKLMNKGIVKVEEYQRMADNYEKQLKTLNDELVELQQHTSEKASATIAKL
KEDIKKLDEEVGTLHEKLGKIQDFEKKVRDL CVTYLNSNQMSKAKAKLKEMASTYLIEIVQ
QQLNKSNANIMPMLFSAAPDLDDMGAYKEIYKFLEEQRLEGEDSVLLEATVLKMNASL
KEGNSITDERRTQIEGLLDLATKSTIVFSTWTKELKKINDAVVIKNALDHMFVSQMKVFGA
LVGDTSDFGSIRNFVKLTIVCNYYKVAAYKELIDRKIGNALGTIMFDLLTLEVNMKFDPH

VPDEIPKLFEATLSSLPNSLTELRCLGKVQIYNKKTNCVATGNDFDVHKDKLGDFYRVV
 VADYGCTSRLEASGDKASVRIVTPSGNPMSNVNLHLEGNSLHNYVATPKSNKPDRTTPSSSD
 EWILDANYNNDTIKIESQFSDYKTKKTEVDHLLVRDINHLPHVLVARYGFMGLKNSDAKDTI
 EWNLKCGS

5

SEQ ID N°19: Protéine 62 kDa n°3

MKWSVYIALLVFAFLTSPVFSEENCNIPSELSKIDDVLRHMEKPIYSEDHYTSNNEECTNL
 LNGIHAQLRRLTQRYKLMNKGIVKVEEYKRMAEDYENQLKTLNAELLELOEHTSDKANAAIA
 KLKEDIKKLDEDVDTLHNKLKGIKQDFEKVKRDLCLTYLNSNQMSNAKAKVKEMASTYLIEI
 10 IQQRLNTKYANIIPMLDFSTAIPDLDDRGEAYKEIYKFIETHERLDGEDAVLLEASLLKMNA
 TLKEGSNITDERRTEIEKMLKELAEKSAVVFKTWSTELKGIEDTIIKYALDHLFVNQMKVFG
 GIVGDTFEFAPIRHLLKLLVVCNNYYKVAAYKELIDRKIGNVLGTIMFDLTTLEANEMSFDL
 HVPDEIPKLFNATLGSLPNSLTQLLPCLNKVHVYNAKTNMCIVAPEDRFDVQQEKLTDHFHRV
 VLAKYGCTAFRLESSPNKASVKFVKPSGNALSSINLQLENDQWHSVGTPTANKPDRKPSSS
 15 DEWILDANYVNDTVKIQSEFNEYKASQAEVDHLLVMDVKYLPHVVGGRYGVRGLKRSSAKDT
 IEWYLCAS

SEQ ID N°20: Protéine D7 forme longue n°1

MKLPLLLAIVTTFSVASTGPFDPPEMLFTFTRCMEDNLEDGPNRLPMLAKWKEWINEPVDS
 20 PATQCFGKCVLVRTGLYDPVAQKFDASVIEQEQFKAYPSLGEKSKVEAYANAVQQLPSTNNDC
 AAVFKAYDPVHKAHKDTSKNLFHGNKELTKGLYEKLGKDIRQKKQSYFEFCENKYYPAGSDK
 RQQLCKIRQYTVLDDALFKEHTDCVMKGIRYITKNNELDAEEVKRDFMQVNKDTKALEKVLN
 DCKSKEPSNAGEKSWHYKCLVESSVKDDFKEAFDYREVRSQIYAFNLPKKQVYSKPAVQSQ
 VMEIDGKQCPQ

25

SEQ ID N° 21: Protéine D7 forme longue n°1

MNILLVLAVVTISLALVTAKGPFDPPEEMHFIFTRCMEDNLKDGPDRVKTLLKWKWVTEPK
 DDPATHCFAKCVLEMSGLYDAASGKFDASVIEAQHKAYPNSEDKGKVDAFVKAVQALPPTKN
 DCTAVFRAFGPVHMAHKATSINLFHDNKALTKGIYEKLGKDIRQKKQSYFEFCENKHYPVGS
 30 PKRSDLCKIRQYVVLDDAQFKQHTDCIMKGLRYITKDNILNCDEIKRDFKQVNKDTGALEKV
 LNTCKAKEPRDVKEKSWHYKCLVESSVANDEKEAFDYREVRSQNYGYHLMQKQPYNKPAVQ
 AQVSEVDGKQCPS

SEQ ID N°22: Protéine 30 kDa (allergène) n°1

MKPLVKLFLLFCLVGIVLSRPMPEDEEPVAEGGDDASGESEGEEETDDAGGDGGEENE
EEHAGDKDAGGEDTGKEENTGHDDAGEEDAGEEDAGEEDAGEEDAGEEDAEKEEGEKEDAGD
DAGSDDGEEDSTGGDEGEDNAEDSKGSEKNDPADTYRQVVALLDKDTKVDHIQSEYLRNALN
5 NDLOSEVRVPVVEAIGRIGDYSKIQGCFSKMGKDVKKVISEEEKKFKSCMSKKKSEYQCS
SFAAAKSKLSPITSKIKSCVSSKR

SEQ ID N°23: Protéine 30 kDa (allergène) n°2

MKPLVKLFLLFCLVGIVLSRPMPEDEEPVAEGGDEETDDAGGDGGEENE
10 GEDTGKEENTGHEDAGEEDAGEEDAGEEDAGEEDAEKEEGEKEDAGDDAGSDDGEEDSTGG
EGEANAEDSKGSEKNDPADTYRQVVALLDKDTKVDHIQSEYLRNALNNDLOSEVRVPVVEAI
GRIGDYSKIQGCFSKMGKDVKKVISEEEKKFKSCMSKKKSEYQCS
IKSCVSSKGR

15 SEQ ID N°24: Protéine 30 kDa, allergène n°3

MKYLLTFLMALSLVNLMLTRPTPEDDGGTSEEPQTQETTGSDEKNGASEEPNADDASKPDDV
EEKGDDDTAKKEDDGESKDGESEKSDKEKGEPKNDPRETYNKVIEQLDQIKVDNVEDGHER
SELAADIQRYLRNPIVDVIGSAGDFSKIACFKSMVGDAKKAIEEDVKGFKECTAKKDSNAY
QCSQDRSTVQDKIAKMSSKIASCVASNRS

20

SEQ ID N°25: Protéine 30 kDa, allergène n°1

MQLFPISLVVSVCLVFSFVLSLPLPEEEASTSEETEATTEAESAADETTATGADDAESGSSE
KNNEGGETSAPEAKEEGSGKDDRLDTYNKVNELLDKGTGVNNVENGFLRAFLDNNLQSHLRV
PVIDAIGLVGDFSKIAGCFTSMGADVKKIVDDKLKSFTTCKSGKEAGDAKCS
25 DQITSKIKECVSSKGGK

SEQ ID N°26 Protéine 30 kDa, allergène n°2

MRSLLVLFAALCLVGFVLAKPIPEDDTEATTEEPKAEDAAEQTTAEDAGGSDGEKNDDEKPS
DDAASNDQPKDVEGGEDGKESPKTEGEAKNDPQETYNKVIELLDQIKVDNVENGYERSELTS
30 DLQTYLRNPIVDAITVGDFSKIADCFKSMGDEAKKAIEEELKAFKECTDKKESDAYQCSKNH
STVQGKIAKISSTINSCVVSRA

SEQ ID N°27: Protéine apyrase/5'nucléotidase n°1

MARLSFVPLVISFLSCTTALSEKSLFPLSIIHVNDIHARFEETNYVGTVCCKPHEGQVCIGGY
 ARTVTTVVKHLLRIRQNPLYLNAGDNFQGTWYNMFRWNVSTFLNMLPADAMTLGNHEFDNG
 VDGVIPFLDTASSPVLLCNVDASEVPEFVKYEKSIVIERAGRKIGIIGVILKNTSVISNPGK
 5 LRFLDEASSVKSEAQILKNQGIDIIIVLSHCGVDVDRRIATEGGEHVDIIVGGHSHTFLYSG
 NNTGIPGTVQGSYPTVVTHASGHKVLIVHAAAYTKLVGDIVLYFDEQGIIQRWEGNPHYLDP
 EVVPDPEVHKALLPWKLAVDELGNRIIGTTITDLPRLGCMNYRECALGNLISDAFVDSSAYMA
 EPGHWSYASIGLTNTGGIRVGLSKGDISYKSLIEVIPFENTVDFIELRGDHLRLVLEHGTA
 SNIQISGLRVVYNMTEPYGNRVKSVQARCHGCSEPRFDPLDPFKYYRVAVNSHMAGGGGGFT
 10 MFEEFGRNKVVGDVEINALVRFVQKRSPLRYEVEGRVTVLN

SEQ ID N°28 Protéine apyrase/5'nucléotidase n°2

MARLSFVLLVLLFLTYMTVIAEKPLFPLSIIHVNDIHARFEETNYVGTVCCKPHEGQVCIGGY
 ARTVTTVVKHLLRIRQNPLYLNAGDNFQGTWYNMFRWNVSTFLNMLPADAMTLGNHEFDNG
 15 VDGVIPFLDTVSSPVLLCNVDASEEPEFVKYEKSIVIERAGRKIGIIGVILKNTSVISNPGK
 LRFLDEASSVKSEAHILKDQGIDIIIVLSHCGVDVDRRIATEGGEHVDIIVGGHSHTFLYSG
 NNTGIPGTVQGSYPIVVTHASGHKVLIVQAAAYTKLVGDIVLYFDEQGIIQRWEGNPHYLDP
 EVVPDPEVHKALLPWKLAVDELGNRIIGTTMTGLPRLNCNYRECALGNLISDAFVDSSAYMA
 EPGHWSYASIGLTNTGGIRVGLSKGDISYKSLIEVIPFENTVDFIELRGDHLRLVLEHGTA
 20 SNIQISGLRVVYNMTEPYGNRVKSVQARCHDCSEPRFDPLDPFKYYRVAVNSHMAGGGGGFT
 MFEEFGRNKVVGDVEINALVRFVQKRSPLRYEVEGRVTVLN

SEQ ID N°29 : Protéine apyrase/5'nucléotidase n°3

MLRTSSIVFLTCCFLTFLIEGSSFKLKIIHFNDIHARFDEVNTSSSPCSGNETCVAGIARLV
 25 TTIEKLRKQENHNLVLNAGDVFQGTIWTLLKWNVSQQFMNMVKADAMTLGNHEFDDSFVPL
 IPFLENTKNVTPVVSNLVFPKQLSRDVTKFRSLIKEDPLVLTVGGQSIGIIGVIFDETDKI
 GNADPLKFKSSIETVRIAQQLKSKGVNIIIVLSHCGVFDDKKIAEQAGEDIDIIIVGGHTHT
 LLYNGDPPSKHAALDKYPIVVETGNNHKVLIVQAFCHGHYVGNIDLTFDDEGEITAFEGQPI
 YQENRIEKNALVEARVRELKRDVEVKSLVKVGESKLELSNDCRLKDCTFGSVLADAYVWHFR
 30 SRSNAPMIAMIHPGNFRISLAAGVITRGQILTALPFNSNANRVTVLGSTIKKAEFGTSINP
 RRCFNLQTAGIKIDVDYGPVGNRTVILLKTGGKYKRLVESKKYDILVNSYVFKGGDGF
 MFKHLAVKGRAPFDAELLEQYIVARKGIQKSGLLQSRMNVSHVEKALSEVKSCQR

SEQ ID N°30 : Protéine apyrase/5'nucléotidase n°1

MAGKPGIQLFVIFILLSSFAAVVWTTDNMPADKDVSKLFPLTLIHINDLHARFDETNMKSNA
CTAKDQCIAGIARVYQKIQDLLKEYKSKNAIYLNAGDNFQGTWYNLLRWQVTADFITKLKP
TAMTLGNHEFDHTPKGLAPYLAELDKAGIPTLVANLVMNDDPDLKSSKIQKSIKVTVGKTI
5 GIIGVLYDKTHEIAQTGKVTLNAVETVKREAAALKKDKVDIIVVLSHCSYDEDDKKIAKEAG
QDIDVIVGAHSHSFLYSKESNKPYPYDQDKIEGPTYPTIVESNNKRKIPIVQAKSFGKYVGRLT
LYFDNEGEVKHWEGYPEFIDNKVKQDPKILEALIPWRKKVQEIGSTKVGETTIELDRDSCRD
KECTLGVLADAFADHYTNSSFRPFQAIQAGNFRNPIKVGKITNGDIEAAPFGSTADLIRL
KGDSLWAVAEHSFALDDENRTNCLQVSGLRIVIDPSKKIGSRVVKIDVMDNRNPKSEDLKPL
10 DKNAEYFIALPSYLADGKDGFSAMKKATARWTGPLDSDVFKSYVEKIKKVDKLVWGRVIVCK
AGSPCT

Ces protéines salivaires immunogéniques et/ou peptides dérivés
de ces protéines immunogéniques ont été identifiés comme
15 protéines et peptides immunogéniques et spécifiques à
Anopheles ou *Aedes* et comme biomarqueurs d'exposition aux
piqûres du vecteur.

Conformément à l'invention, ces protéines et peptides ont été
20 sélectionnés en tant que biomarqueurs d'efficacité d'une LAV.

Des biomarqueurs spécifiques répondent plus particulièrement
aux séquences SEQ ID N°2, 7, 9, 10, 12 et 14.

25 Les réponses anticorps spécifiques à ces protéines et peptides
représentent un critère d'évaluation de l'efficacité ou de la
non-efficacité des stratégies LAV contre les moustiques
Anopheles et *Aedes* comme illustré par les exemples. Il s'agit
plus spécialement des réponses anticorps IgG, et isotypes
30 (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgE et IgA)

La méthode selon l'invention est caractérisée en ce qu'elle
comprend l'évaluation des réponses anticorps spécifiques à ces

protéines salivaires comme critère d'efficacité de LAV, quelle que soit la forme larvicide ou adulticide du LAV.

Les moustiques *Anopheles* visés comprennent les complexes
5 *Anopheles gambiae* et *Anopheles funestus*. Les moustiques *Aedes* comprennent *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*.

Les séquences SEQ ID N°1 à 30 ci-dessus correspondent plus particulièrement à des protéines ou à des peptides isolés
10 d'extraits salivaires d'*Anopheles* ou d'*Aedes*, à savoir, pour
-SEQ ID N°1-9, d'*Anopheles gambiae* et le cas échéant d'*Anopheles funestus*,

-SEQ ID N°1, 11, 27-30, d'*Ae. aegypti*

-SEQ ID N°12, 13, 15, 16, 25, 26 et 30, d'*Ae.*
15 *albopictus*.

De manière surprenante, le peptide P1 de la protéine gSG6 de séquence SEQ ID N°2 est un biomarqueur de faible, voire très faible exposition au vecteur *Anopheles* (6). Dans de telles
20 conditions, les méthodes entomologiques présenteraient de très fortes limites d'évaluation de l'exposition. Or, conformément à l'invention, ce biomarqueur spécifique s'est révélé particulièrement adapté à l'évaluation de la LAV qui fait fortement chuter la densité de moustiques si elle est
25 efficace.

La réponse IgG anti-salive totale d'*Anopheles* représente ainsi un nouvel indicateur immuno-épidémiologique et individuel permettant d'évaluer l'efficacité des stratégies anti-vecteurs
30 contre le paludisme, telle que l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides et autres formes de LAV par larvicides et adulticides.

Concernant *Aedes*, les réponses IgE et IgG4 spécifiques à la salive totale d'*Ae.aegypti* augmentent brutalement durant la saison d'exposition aux piqûres de ce vecteur (7) et les réponses IgM et IgG anti-salive peuvent détecter une exposition à *Aedes* chez des voyageurs en zone endémique pour les arboviroses (8).

L'invention permet ainsi d'évaluer à court terme, l'efficacité de nouvelles stratégies de LAV pour *Anopheles* et *Aedes*, par exemple dans les 6 semaines environ après leur mise en place. Elle permet également, la surveillance à plus long terme (par exemple sur une année) de la LAV utilisée, représentant ainsi une alerte pour indiquer que la LAV utilisée n'est pas efficace dans le temps.

L'invention permet également d'évaluer l'impact réel de la LAV sur une baisse du contact Homme-vecteur, donc l'impact réel de la LAV sur le risque de transmission des pathogènes.

Les populations visées comprennent aussi bien celles vivant en zone endémique que des voyageurs.

De manière avantageuse, l'évaluation de LAV selon l'invention peut être mesurée chez un faible nombre d'individus, plus spécialement chez un sous-échantillon de la population totale concerné par la mise en place de la LAV.

Il est également intéressant de comparer l'efficacité de différentes LAV par exemple larvicides versus adulticides, moustiquaires versus aspersions d'insecticides.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention sont donnés dans les exemples qui suivent dans lesquels il est fait référence aux figures 1 à 17.

Ces figures représentent, respectivement :

- la Figure 1, l'évolution de la réponse IgG anti-gSG6-P1 pendant la période de suivi (avant et après mise en place de moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée ci-
5 après LLIN en abrégé) ;
- la Figure 2, l'impact des LLINs sur la baisse des réponses IgG anti-gSG6-P1 ;
- la Figure 3, le nombre de répondeurs en fonction des
10 mois avant et après LLINs ;
- la Figure 4, le profil des réponses IgG anti-P1 des répondeurs ;
- la Figure 5, l'évolution comparative des densités moyennes d'An. gambiae et de la réponse IgG anti-P1 médiane ;
- 15 - la Figure 6, l'évolution comparative des densités parasitaires moyennes et de la réponse IgG anti-P1 médiane ;
- les Figures 7-9, l'évolution de la réponse IgG anti-gSG6 P1 chez les 0-6ans, chez les 7-14ans, et chez les + 14ans ;
- la Figure 10, l'évolution comparative de la réponse IgG
20 anti-gSG6-P1 chez les différents groupes d'âges ;
- les Figures 11A- 11C, les profils des réponses IgG anti- P1 individuelles avant et après LLINs chez différents groupes d'âge ;
- la Figure 12, les répartitions moyennes, médianes et
25 étendues chez différentes tranches d'âge pour chaque passage ;
- les Figures 13 et 14, les profils des répondeurs d'avril en juillet et août 2006 (Fig.13) et de juillet en avril et août (Fig 14) ;
- les Figures 14 et 16, la répartition de l'âge chez les
30 répondeurs de juin-juillet 2006 et les effectifs en fonction de l'âge des répondeurs de juin-juillet ;
- la Figure 17, l'évolution comparée de la réponse IgG anti-gSG6 -P1 selon le sexe avant et après LLINs.

Exemple 1: Validation du peptide P1 de la protéine gSG6 d'*An.gambiae*, de séquence SEQ ID N°2, comme marqueur de faible exposition à la piqûre et comme outil permettant d'évaluer l'efficacité de moustiquaires imprégnées des LLINs.

On rapporte ci-après les résultats d'une étude réalisée dans la localité de Lobito (Ouest de l'Ouganda) sur 105 individus de 19 familles, avant et après utilisation des LLINs

10 Le vecteur du paludisme le plus important dans cette région est *An.gambiae s.l.*

1- Evolution de la réponse IgG anti-gSG6-P1 au cours de l'étude.

15

La Figure 1 donne la variation de la densité optique correspondant à la réponse IgG anti-gSG6 -P1 de mars à décembre 2005, de janvier à décembre 2006 et janvier 2007, les LLINs étant mis en place en février 2006.

20

Les résultats obtenus mettent en évidence :

- d'importantes variations individuelles intra et inter-groupes de la réponse IgG anti-gSG6-P1 montrant que chaque réponse est spécifique à l'individu et à la saison (donc à la période d'exposition) ;
- des variations saisonnières des réponses IgG anti-gSG6-P1 médianes, malgré la grande diversité des réponses individuelles. En effet le maximum de réponse est noté en mai 2005 (pic) qui fait suite à la période des fortes pluies (mars-avril). Ce maximum de réponse est suivi d'une baisse du niveau IgG en juillet-août-septembre (saison sèche), avant d'augmenter de nouveau en octobre (petite saison pluvieuse).

30

- la mise en place des LLINs en février 2006 (avant les fortes précipitations de mars-avril) est suivie d'une remarquable baisse du niveau IgG anti-P1 ($P < 0,0001$ en Mann-Whitney), si bien qu'en avril (plus fortes densités anophéliennes) le
 5 niveau de réponse IgG anti-P1 est très faible ou nul chez la plupart des individus, ce qui témoigne de l'efficacité des LLINs sur la réduction du contact Homme-*Anopheles*.

Une comparaison du profil des réponses IgG individuelles en
 10 janvier 2006 (le dernier mois avant la mise en place des LLINs) et avril 2006 (1^{er} mois de prélèvement après mise en place des LLINs) a été effectuée sur les prélèvements chez 95 individus durant ces deux périodes pour mieux évaluer l'impact des LLINs.

15

Les résultats obtenus sont donnés sur la Figure 2.

On constate que le niveau individuel des IgG baisse significativement ($P < 0,0001$) en avril, 2 mois après la mise en
 20 place des LLINs, chez presque tous les individus.

Evolution du nombre de répondeurs au cours de l'étude :

Le nombre de répondeurs a été déterminé à partir d'un seuil de
 25 réponse. Ce seuil a été calculé chez 14 individus français non exposés aux piqûres d'*Anopheles* selon la formule suivante:

Seuil répondeur = Moy (Δ DO individus) + 3SD (Δ DO individus) =
 0,204 :

30 Cela signifie qu'un sujet est considéré comme répondeur si son Δ DO (réponse IgG anti-gSG6-P1) est supérieur à 0,204.

Les pourcentages de répondeurs par passage (ou mois) ont été calculés selon la formule suivante:

% Répondeurs = Nbre Répondeurs / Nbre Individus prélevés lors d'un passage.

Le nombre de perte, c'est-à-dire d'individus absents, par passage a été aussi évalué (voir Tableau 1).

5

Tableau 1 : Taux de perte et pourcentages de répondeurs

Passages	Nbre d'individus sur lesquels des prélèvements ont été effectués	Nbre d'absents	Nbre de répondeurs	Nbre de non répondeurs
Mars-Avril 05	95	10 (9,52%)	72 (75,78%)	23
Mai 05	103	2 (1,9%)	81 (78,64%)	22
Juillet 05	101	4 (3,81%)	77 (76,23%)	24
Août 05	100	5 (4,76%)	69 (69%)	31
Septembre 05	101	4 (3,81%)	78 (77,23%)	23
Octobre 05	99	6 (5,71%)	71 (71,71%)	28
Décembre 05	102	3 (2,86%)	66 (64,71%)	36
Janvier 2006	100	5 (4,76%)	64 (64%)	36
Mise en place LLINs (février 2006)				
Avril 06	100	5 (4,76%)	5 (5%)	95
Juin-Juillet 06	94	11 (10,48%)	16 (17,02%)	78
Août 06	101	4 (3,81%)	9 (8,91%)	92
Octobre 06	96	9 (8,57%)	30 (31,25%)	66
Décembre 06	85	20 (19,05%)	74 (87,06%)	11
Janvier 07	88	17 (16,19%)	76 (86,36%)	12

Les taux de perte les plus importants sont notés en juin-juillet (10,48%), décembre 2006 (19,05%) et janvier 2007 (16,19%), donc après la mise en place des LLINs. Les résultats

10

des mois concernés doivent donc être analysés avec un certain degré de prudence. Par contre la comparaison entre janvier et avril 06 montre clairement l'efficacité des LLINs sur la baisse du niveau d'IgG anti-P1 dans la population.

5

Les résultats de l'évolution des pourcentages de répondeurs sont représentés sur la figure 3 :

10 Avant la mise en place des LLINs, le nombre de répondeurs varie avec la saison avec un maximum en saison pluvieuse de 78,64% en mai et un minimum de 64,71% en décembre (début de la grande saison des pluies). En saison sèche le pourcentage de répondeurs reste important avec 76,23% en juillet, 69% en août et 77,23% en septembre. Ces résultats signifient que les
15 individus concernés sont suffisamment piqués pour développer une réponse anticorps pendant la saison sèche. La forte baisse des répondeurs en avril 2006, après mise en place des LLINs, atteste l'efficacité des LLINs sur la réduction du nombre de piqûres reçues et donc probablement sur la transmission.

20

Les réponses individuelles IgG anti-P1 chez les répondeurs pendant toute la période de l'étude ont été prises en compte afin de mieux les caractériser en termes d'intensité.

25 Les résultats sont donnés sur la Figure 4.

Ce graphe montre que les réponses sont plus fortes chez les répondeurs de mai et octobre avant la mise en place des LLINs et baissent d'intensité, en nombre aussi, après la mise en
30 place des LLINs. Ainsi, en plus du pourcentage répondeur, il est important de tenir compte de l'intensité des réponses dans le cas de l'évaluation de l'exposition et de l'efficacité des LLINs par la réponse IgG anti-gSG6-P1.

Comparaison IgG anti-P1, densités parasitaires et anophéliennes moyennes

Les densités anophéliennes moyennes sont exprimées en nombre
5 d'*An. gambiae*/piège/nuit et les densités parasitaires en moyennes géométriques.

La Figure 5 représente la comparaison entre densités anophéliennes moyennes et réponse IgG anti-gSG6-P1

10

De façon générale, les densités d'*An. gambiae* sont faibles (maximum 4 *An. gambiae*/piège/nuit) ce qui témoigne d'un contexte de faible exposition. Avant la mise en place des LLINs, les densités d'anophèles sont associées positivement
15 avec la réponse IgG anti-gSG6-P1 avec un maximum en mai qui coïncide avec le pic de réponse IgG anti-P1 et des valeurs faibles en saison sèche (juillet-septembre). Par contre on note une évolution opposée entre ces deux paramètres après la mise en place des LLINs, en avril-juillet 2006. Ainsi, il
20 apparaît que la baisse observée de réponses IgG individuelles et collectives n'est pas due à l'absence d'anophèles, mais plutôt à la réduction du contact homme-vecteur grâce à la protection physique et chimique que les LLINs confèrent aux populations les utilisant.

25

La comparaison réponse IgG et densités parasitaires est représentée sur la Figure 6.

Cette figure rapporte une bonne association entre la réponse
30 IgG anti-P1 et les densités parasitaires moyennes avant comme après la mise en place des LLINs, contrairement aux densités anophéliennes moyennes. En effet le pic de parasitémie (en mai) avant LLINs coïncide avec celui de la réponse IgG et la baisse des densités parasitaires, après LLINs, à celle très

marquée de la réponse IgG anti-P1. Le fait que la courbe de la réponse IgG soit au dessus et en-dessus de celle des densités parasitaires moyennes, respectivement avant LLINs et après LLINs, démontre que la réponse IgG anti-P1 est un outil plus sensible que la parasitémie pour l'évaluation de l'efficacité des LLINs.

2- Etude de l'influence des facteurs de variations tels que l'âge et le sexe des individus sur la réponse IgG anti-P1

10

a) influence de l'âge sur la réponse anti-gSG6 P1

L'échantillon utilisé a été subdivisé en 3 groupes d'âge : 0-6 ans (n=47), 7-14 ans (n=36) et +14 ans (n=22).

15 Les résultats sont présentés sur les Figures 7 à 9 :

Ces Figures montrent que l'évolution de la réponse IgG anti-gSG6 P1 est la même quelle que soit la tranche d'âge de l'individu, avant comme après utilisation des LLINs, et est similaire à celle de la population totale (enfants + adultes).

20 Ces résultats indiquent que la réponse IgG anti-gSG6-P1 est un :

- marqueur d'exposition à la piqure d'*Anopheles* quel que soit l'âge du sujet exposé
- indicateur d'efficacité des LLINs quel que soit l'âge des

25

sujets les utilisant.

Une comparaison a également été effectuée sur l'évolution des réponses IgG de ces trois tranches d'âge pour vérifier si elles sont différentes en termes d'intensité et donc de taux ou niveaux d'IgG.

30

Les résultats sont représentés sur la Figure 10.

L'examen de cette Figure montre que des différences d'intensité de réponse IgG anti-gSG6-P1 n'apparaissent qu'au

niveau des pics de réponse (mai et octobre) et janvier avant utilisation des LLINs et en juin-juillet, 4-5 mois après la mise en place des LLINs. En effet les individus âgés de plus de 14 ans (adolescents et adultes) présentent une réponse IgG anti-P1 significativement plus élevée que les autres pendant ces périodes. Ces individus âgés auraient donc reçus plus de piqûres que les moins âgés pendant ces périodes. En juin-juillet, après LLINs, cet effet est hautement significatif ($P < 0.0001$), ce qui semble indiquer un comportement des sujets les plus âgés ayant tendance à s'exposer plus aux piqûres. Par exemple les adultes restent plus longtemps dehors pour diverses raisons pendant que les enfants sont forcés de dormir sous leurs LLINs. La réponse IgG anti-gSG6-P1 pourrait donc être un intéressant indicateur sur le comportement des sujets vis-à-vis de l'utilisation des LLINs et autres stratégies de lutte anti-vecteurs contre le paludisme et autres maladies à vecteurs arthropodes.

Les analyses ont également été approfondies pour voir si la mise en place des LLINs est plus efficace dans une de ces classes d'âge. A cet effet, les profils individuels de réponse dans chaque classe d'âge entre janvier (dernier passage avant LLINs) et avril 2006 (1^{er} passage après mise en place LLINs) ont été évalués.

Les résultats obtenus sont représentés sur les Figures 11 A à 11 C, avec des enfants jusqu'à 6 ans: (Fig. 11A), 7-14 ans (Fig. 11B) et au-dessus de 14 ans (Fig. 11C).

Il ressort de ces figures que tous les sujets âgés de 0-6 ans ont un niveau d'IgG qui baisse après LLINs et devient très faible, voire nul. Chez les sujets de 7-14 ans, et + 14 ans on note 2-3 individus chez lesquels le niveau d'IgG devient plus élevé malgré la présence des LLINs. Ces résultats

confirment les hypothèses émises précédemment sur le comportement des individus vis-à-vis des LLINs, leur utilisation et des anophèles.

- 5 La répartition de certains paramètres de tendance centrale (moyenne et médiane) et de dispersion (minima et maxima, donc l'étendue de chaque distribution) dans chaque groupe d'âge et pour chaque passage (mois) a ensuite été étudiée.
- 10 Les résultats sont représentés sur la Fig.12 : les médianes sont matérialisées par les barres horizontales, les moyennes par les «+» intra-boxes, les 0-6 ans en rouge, les 7-14 ans en bleu et les +14 ans en noirs.
- 15 Cette figure confirme que l'intensité de la réponse IgG anti-P1 augmente avec l'âge et est plus forte en moyenne chez les +14 ans avant LLINs bien que la dispersion soit moins étendue dans ce groupe. Ces résultats suggèrent que les réponses individuelles sont plus hétérogènes dans les deux premiers
- 20 groupes qui présentent donc une variabilité plus importante. Selon un aspect de grand intérêt, les paramètres de tendance centrale restent identiques dans les 3 groupes en avril 2006, 3 mois après la mise en place des LLINs et la dispersion beaucoup plus marquée chez les 7-14 ans et +14 ans confirmant
- 25 ainsi l'efficacité des LLINs moins marquée chez deux groupes comparés aux 0-6 ans.

De plus dès juillet, on commence à retrouver la même évolution, mais moins marquée, des médianes et moyennes

30 qu'avant LLINs suggérant une baisse d'efficacité de ces dernières.

Les répondeurs ont été également pris en compte. Les résultats donnés portent sur les répondeurs d'avril 2006 pour

voir leur devenir en juillet et en août (Fig. 13) et aux répondeurs en juillet 2006 pour évaluer leurs réponses IgG en avril et en août (Fig.14) de la même année.

- 5 Parmi les 5 répondeurs en avril 2006, 3 sont âgés de 7-14 ans et 2 de +14 ans. On note que les profils de réponses individuelles en avril varient en Juin-juillet et en août, ce qui confirme la spécificité de la réponse IgG à l'exposition, et donc à la saison et au caractère de l'individu vis-à-vis de
10 l'utilisation des LLINs.

Les mêmes observations sont valables pour le mois juin-juillet. On notera qu'on observe plus de répondeurs en juin-juillet, comparé à août et d'adultes et d'enfants de 7-14 ans
15 (voir Figures 15 et 16) Ces observations doivent attirer attention sur les questions comportementales associés à la mise en place des LLINs comme stratégie de lutte anti-vecteur.

- influence du sexe sur la réponse anti-gSG6 P1

20

La subdivision de la population étudiée selon le sexe permet de suivre l'évolution de la réponse IgG chez 65 femmes et 40 hommes. La Figure 17 représente l'évolution des médianes de la réponse IgG anti-gSG6-P1 dans les deux groupes pendant toute
25 la durée de l'étude.

L'examen de cet figure montre que l'évolution de la réponse IgG anti-gSG6-P1 est similaire dans les deux groupes avant comme après LLINs et qu'il n'ait pas différence de réponse IgG
30 entre hommes et femmes. De plus, il apparaît que la réponse IgG anti-P1 baisse fortement de façon similaire dans les deux groupes après LLINs, ce qui suggère que le peptide gSG6-P1 est un marqueur quel que soit le sexe.

L'ensemble de ces résultats montre que le peptide 1 de la protéine gSG6 d'*Anopheles gambiae* est, non seulement un marqueur de faible exposition, mais aussi un indicateur permettant d'évaluer l'efficacité des LLINs comme outil de
5 lutte anti-vecteurs du paludisme. Ce peptide est marqueur quels que soient l'âge et le sexe des individus utilisant les LLINs. Il pourrait aussi donner des indications sur le comportement sur le comportement de ces individus vis-à-vis de l'utilisation des LLINs et de l'exposition aux vecteurs.

Références bibliographiques

- 1 - Remoue F., Cissé B., Ba F., Sokhna C., Hervé JP.,
 5 Boulanger D. and Simondon F. Evaluation of antibody responses
 to *Anopheles* salivary antigens as a potential marker of risk
 of malaria? *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2006; 100:363-
 370.

- 10 2 - Cornелиe S, Remoue F, Doucoure S, Ndiaye T, Sauvage FX,
 Boulanger D and Simondon F. An insight into immunogenic
 salivary proteins of *Anopheles gambiae* in African children.
Malaria Journal. 2007;6:75.

- 15 3 - Poinsignon A., Cornелиe S., Mestres-Simon M.,
 Lanfrancotti A., Rossignol M., Boulanger D., Cisse B., Sokhna
 C., Arca B., Simondon F. and Remoue F. Novel peptide marker
 corresponding to salivary protein gSG6 potentially identifies
 exposure to *Anopheles* bites. *Plos ONE.* 2008. 3:e2472.

- 20 4 - Poinsignon A, S. Cornелиe, F. Remoue, P. Grébaut, D.
 Courtin, A. Garcia and F. Simondon. Human/vector relationships
 during Human African Trypanosomiasis: initial screening of
 immunogenic salivary proteins of *Glossina* species. *Am. J.*
 25 *Trop. Med. Hyg.* 2007. 76:327-33

- 5 - Drame PM., Poinsignon A., Besnard P., Le Mire J., Dos-
 Santos MA. Sow CS., Doucoure S., N'Diaye A., Cornелиe S.,
 Foumane V., Toto JC., Sembene M., Boulanger D., Simondon F.,
 30 Fortes F., Carnevale P. and Remoue F. Human antibody response
 to *Anopheles gambiae* saliva: a new immuno-epidemiological
 marker to evaluate the efficacy malaria anti-vector strategies
 based on the use of Insecticide Treated Nets. *Am. J. Trop.*
Med. Hyg. 2010. In press

- 6 - Poinsignon A., Cornelie S., Ba F., Boulanger D., Sow C.,
Rossignol M., Sokhna C., Cisse B., Simondon F. and Remoue F.
Human IgG response specific to a salivary peptide, gSG6-P1, as
5 a new immuno-epidemiological tool for evaluating low level of
exposure to *Anopheles* bites. Malaria Journal. 2009. 8:198
- 7 - Remoue F., E. Alix, S. Cornelie, C. Sokhna, B. Cisse, S.
Doucoure, F. Mouchet, D. Boulanger and F. Simondon. Evaluation
10 of IgE and IgG4 antibody responses to *Aedes* saliva in African
children. Acta Tropica. 2007. 104:108-115.
- 8 - Orlandi-Pradines E., Denis de Senneville L., Almeras L.,
Barbe S., Remoue F., Villard C., Cornelie S., Penhoat K.,
15 Bourgoin C., Fontenille D., Bonnet J., Pagés F., Laffite D.,
Boulanger D., Simondon F., Fusai T., Rogier C. Immune
response against saliva from malaria and arbovirus vectors
in travelers in tropical Africa. Microb. Infect. 2007. 9(12-
13):1454-62

REVENDICATIONS

- 1 - Utilisation de protéines salivaires immunogéniques et spécifiques des moustiques *Anopheles* et *Aedes* comme biomarqueurs d'évaluation de l'efficacité de stratégies de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses, ces protéines étant choisies dans le groupe comprenant les protéines et peptides de séquences SEQ ID N° 1 à 30.
- 2 - Utilisation de la réponse anticorps humains aux protéines salivaires immunogéniques et spécifiques des moustiques *Anopheles* et *Aedes* de séquences SEQ ID N°1 à 30 selon la revendication 1 pour évaluer l'efficacité de stratégies de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses.
- 3 - Utilisation selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que les moustiques *Anopheles* visés comprennent les complexes *Anopheles gambiae* et *Anopheles funestus* et les moustiques *Aedes* comprennent *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*.
- 4 - Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans la quelle les protéines ou peptides répondent aux séquences SEQ ID N°2, 7, 9, 10, 12 et 14.
- 5 - Méthode pour évaluer l'efficacité de stratégies de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses, caractérisée en ce qu'elle comprend l'évaluation des réponses anticorps spécifiques aux protéines et/ou peptides salivaires immunogéniques de moustiques *Anopheles* et *Aedes* comme critère d'efficacité de LAV, quelle que soit la forme larvicide ou adulticide du LAV, ces protéines et

peptides étant choisis dans le groupe comprenant les protéines ou peptides répondant aux séquences SEQ ID N°1 à 30.

5 6 - Méthode selon la revendication 5, caractérisée en ce que les protéines ou peptides répondent aux séquences SEQ ID N°2, 7, 9, 10, 12 et 14.

10 7 - Méthode selon la revendication 5 ou 6, caractérisée par l'évaluation des réponses anticorps IgG, et isotypes (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgE et IgA) contre les protéines/peptides salivaires définis dans la revendication 1, chez les individus vivant dans des zones où une stratégie LAV est appliquée, avant et après application du protocole d'intervention de la LAV.

15

8- Méthode selon l'une quelconque des revendications 5 à 7, caractérisée en ce que la stratégie LAV comprend l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides et autres formes de LAV par larvicides et adulticides.

20

9 - Méthode selon l'une quelconque des revendications 5 à 8, caractérisée en ce qu'elle est appliquée à une population vivant en zone endémique.

25

10 - Méthode selon l'une quelconque des revendications 5 à 9, caractérisée en ce qu'elle est appliquée à une population de voyageurs.

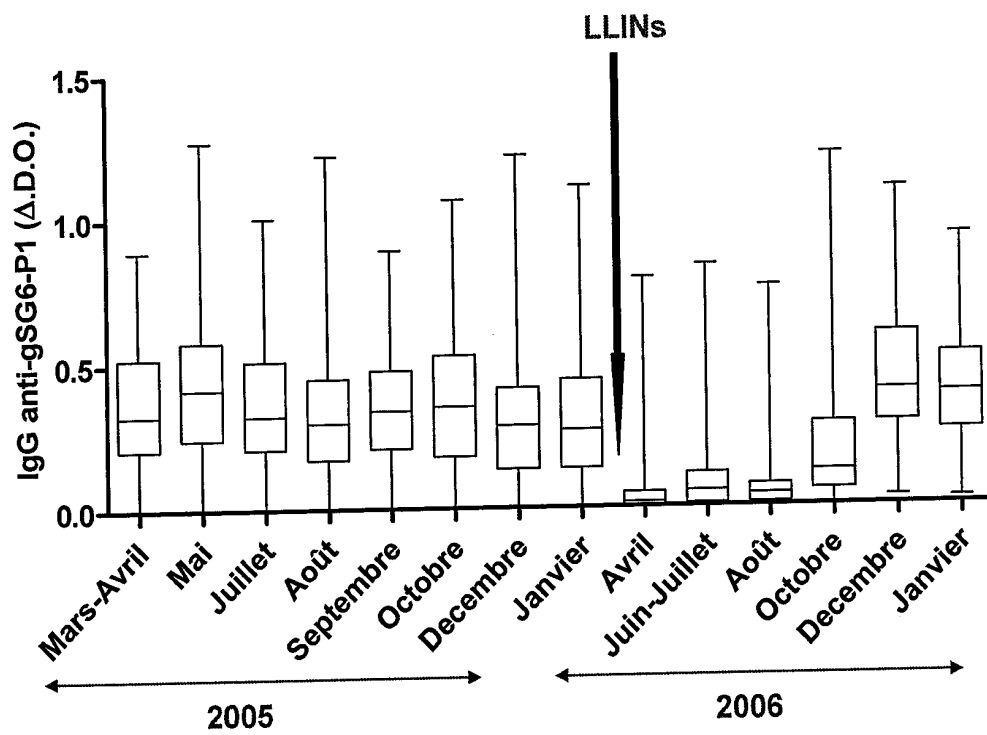


FIGURE 1

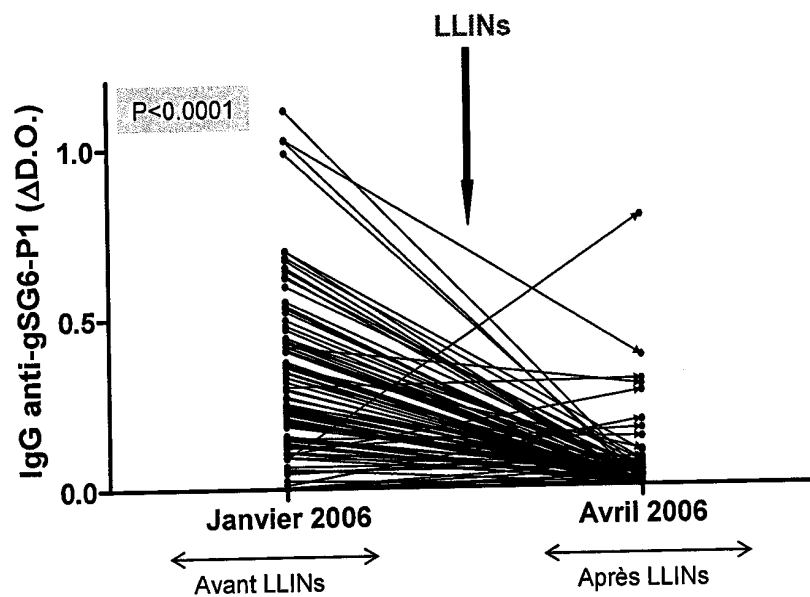


FIGURE 2

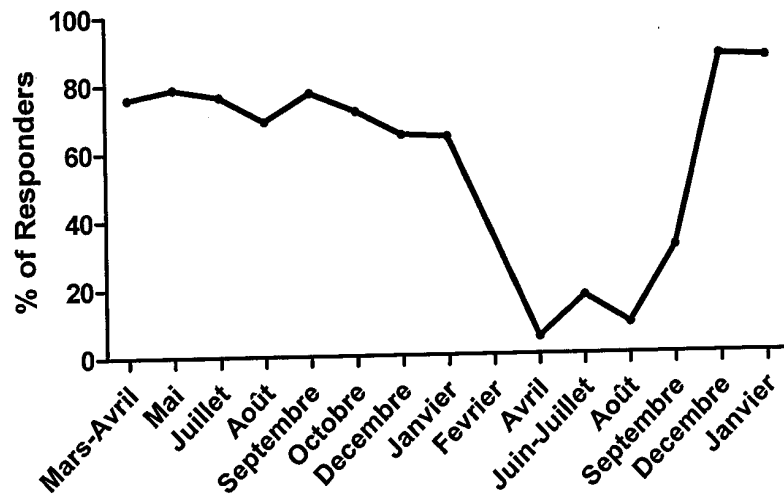


FIGURE 3

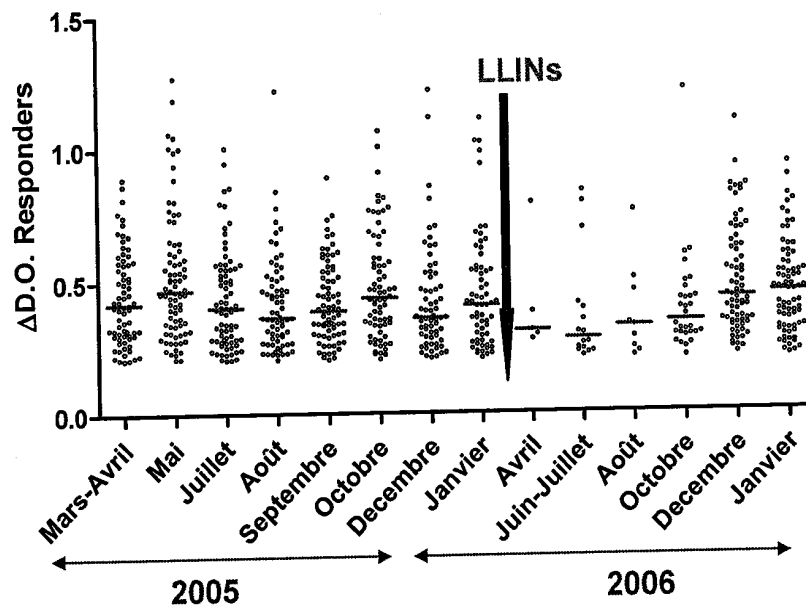


FIGURE 4

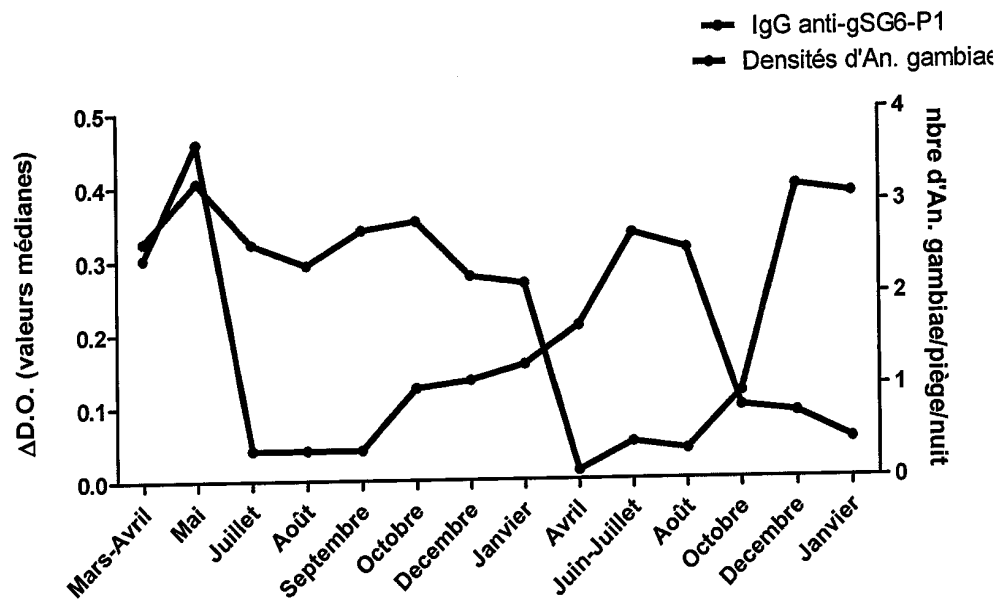


FIGURE 5

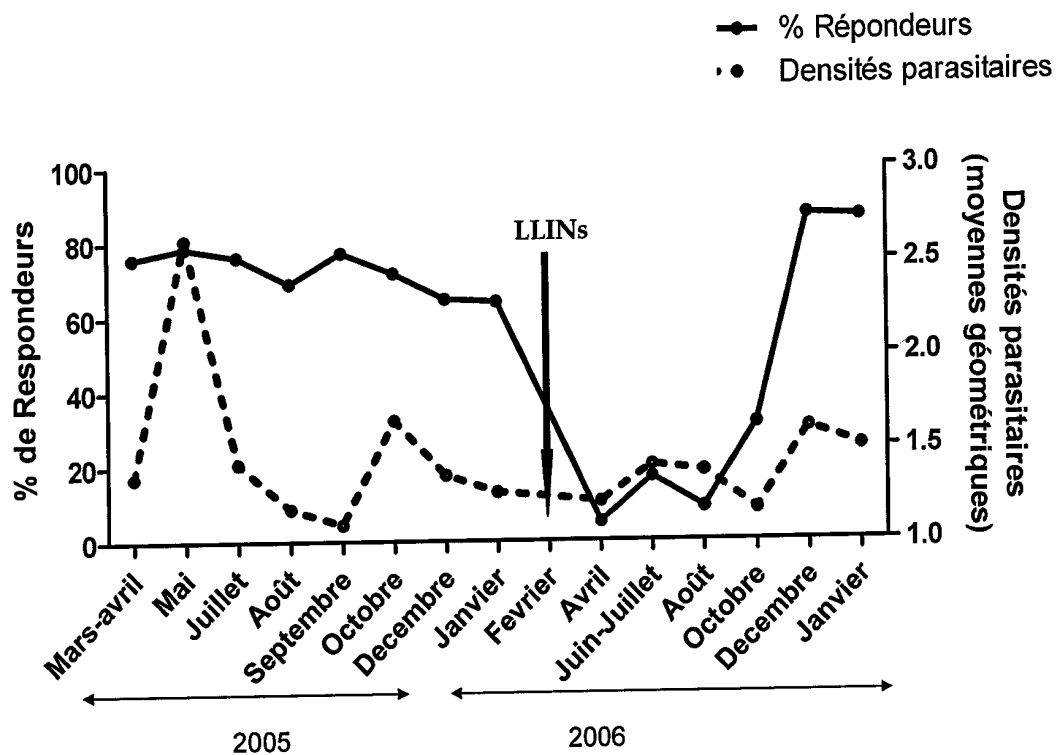


FIGURE 6

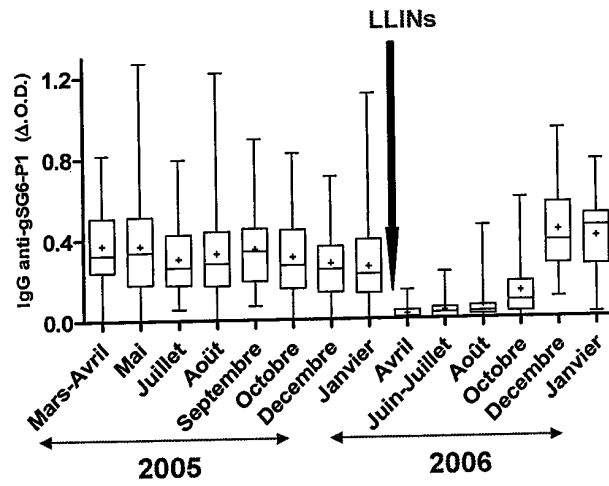


FIGURE 7

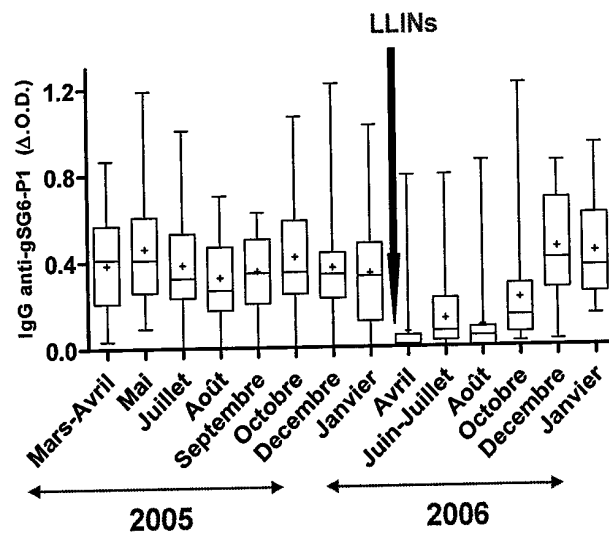


FIGURE 8

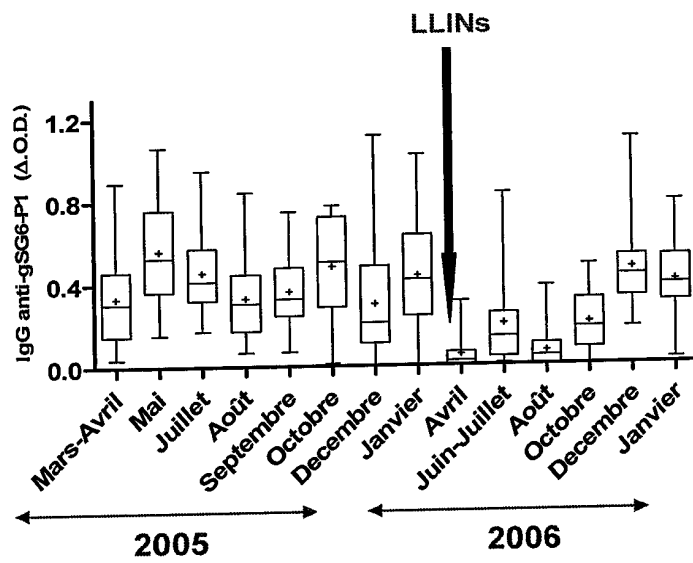


FIGURE 9

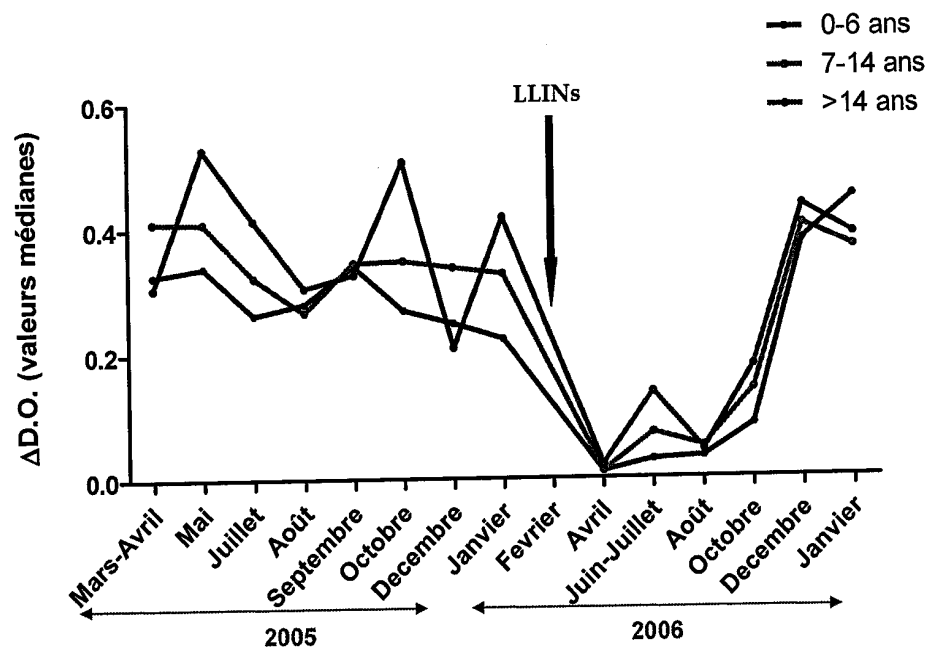


FIGURE 10

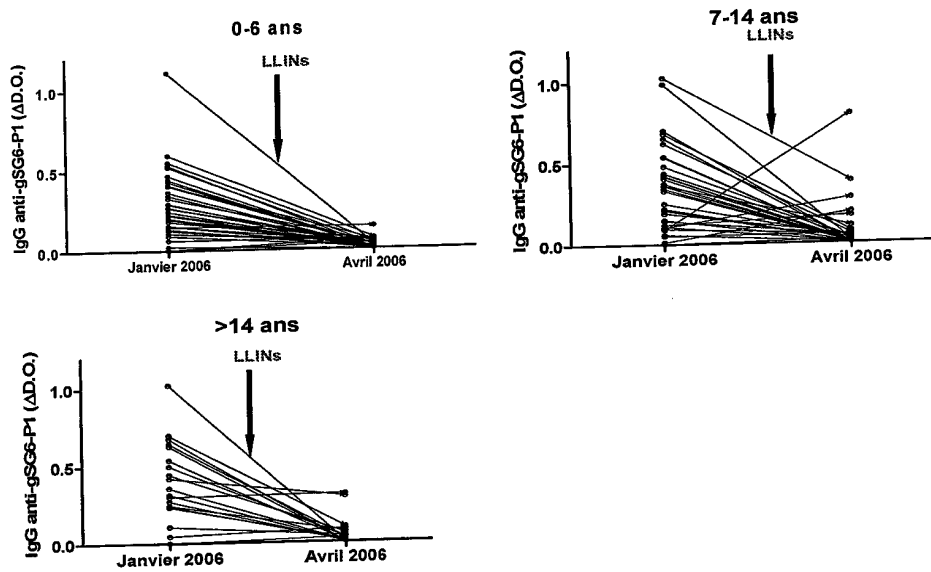


FIGURE 11

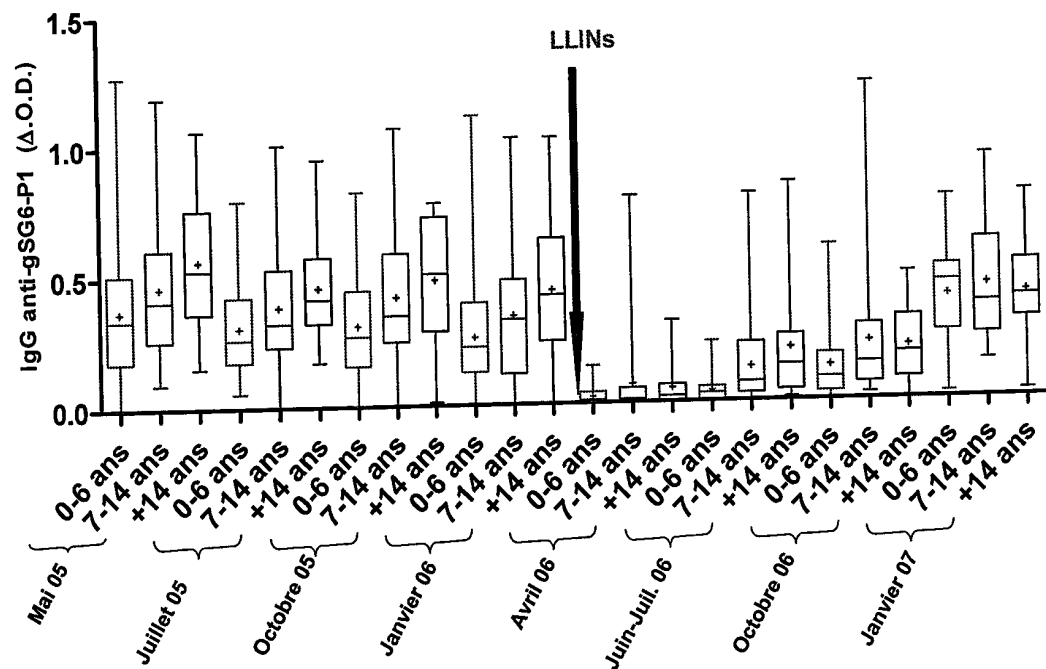


FIGURE 12

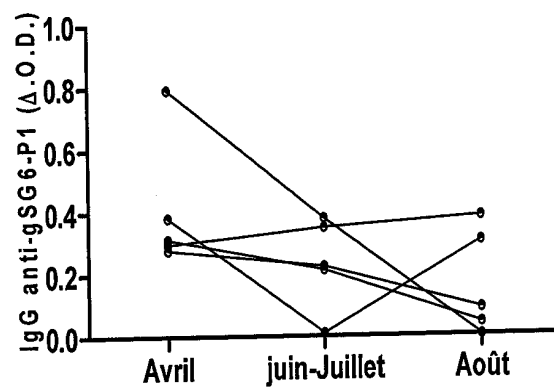


FIGURE 13

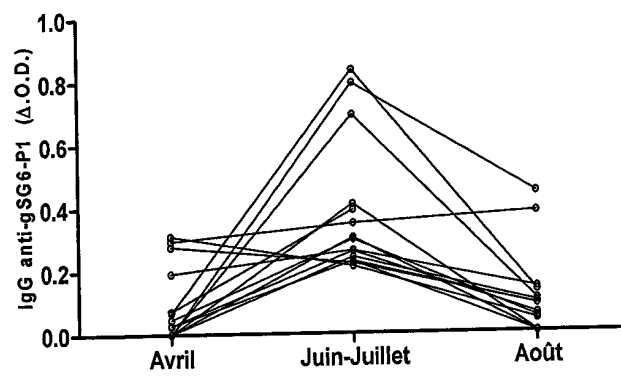


FIGURE 14

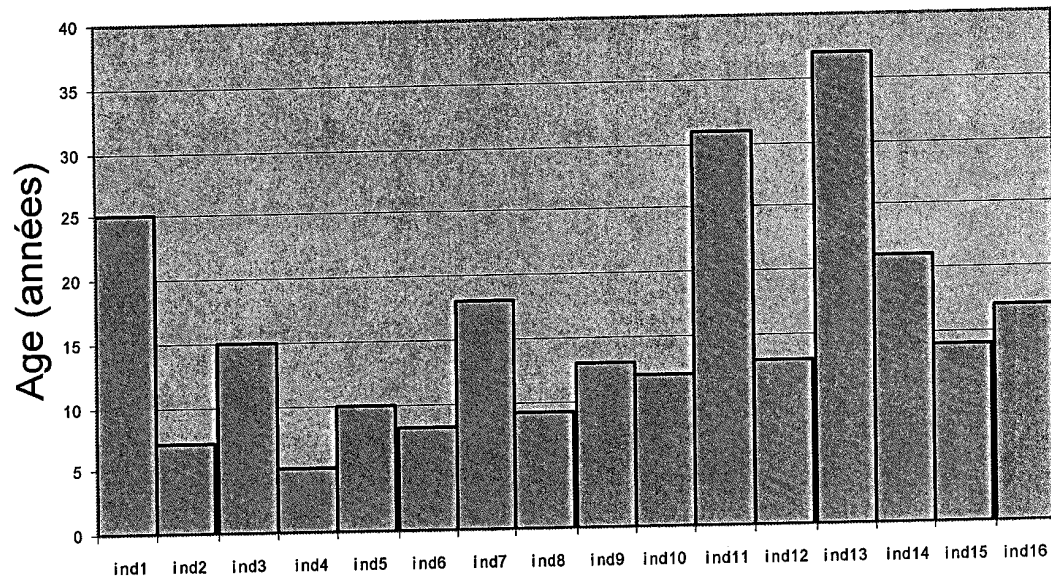


FIGURE 15

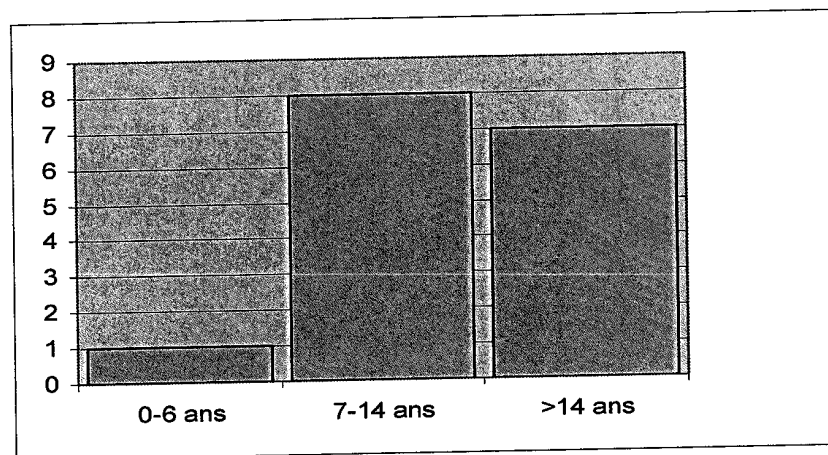


FIGURE 16

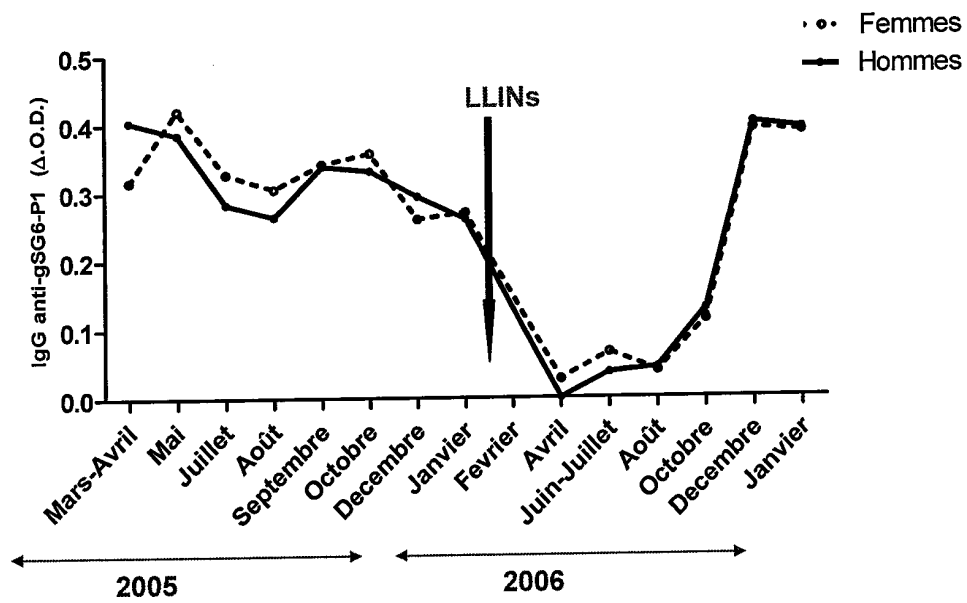


FIGURE 17

Untitled.ST25
SEQUENCE LISTING

<110> INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE DEVELOPPEMENT (IRD)
 <120> Méthode pour évaluer l'efficacité de stratégies de lutte
 anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses
 <130> CP 63037-3309
 <160> 30
 <170> PatentIn version 3.3
 <210> 1
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220>
 <223> gSG6 Protein

<220>
 <221> SIGNAL
 <222> (1)..(28)
 <223> peptide

<400> 1

Met Ala Ile Arg Val Glu Leu Leu Leu Ala Met Val Leu Leu Pro Leu
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Glu Ser Val Val Pro His Ala Ala Ala Glu Lys Val Trp
 20 25 30

Val Asp Arg Asp Asn Val Tyr Cys Gly His Leu Asp Cys Thr Arg Val
 35 40 45

Ala Thr Phe Lys Gly Glu Arg Phe Cys Thr Leu Cys Asp Thr Arg His
 50 55 60

Phe Cys Glu Cys Lys Glu Thr Arg Glu Pro Leu Pro Tyr Met Tyr Ala
 65 70 75 80

Cys Pro Gly Thr Glu Pro Cys Gln Ser Ser Asp Arg Leu Gly Ser Cys
 85 90 95

Ser Lys Ser Met His Asp Val Leu Cys Asp Arg Ile Asp Gln Ala Phe
 100 105 110

Leu Glu Gln
 115

<210> 2
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Peptide P1 of gSG6 protein

Untitled.ST25

<400> 2

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

Cys Thr Arg Val Ala Thr Phe
 20

<210> 3

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Peptide P2 of gSG6 protein

<400> 3

Ala Thr Phe Lys Gly Glu Arg Phe Cys Thr Leu Cys Asp Thr Arg His
 1 5 10 15

Phe Cys Glu Cys Lys Glu Thr Arg Glu Pro Leu
 20 25

<210> 4

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Peptide P3 of gSG6 protein

<400> 4

Cys Glu Cys Lys Glu Thr Arg Glu Pro Leu Pro Tyr Met Tyr Ala Cys
 1 5 10 15

Pro Gly Thr Glu Pro
 20

<210> 5

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Peptide P4 of gSG6 protein

<400> 5

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

Cys Ser Lys Ser
 20

<210> 6

<211> 25

<212> PRT

Untitled.ST25

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Peptide P5 of gSG6 protein

<400> 6

Asp Arg Leu Gly Ser Cys Ser Lys Ser Met His Asp Val Leu Cys Asp
 1 5 10 15

Arg Ile Asp Gln Ala Phe Leu Glu Gln
 20 25

<210> 7

<211> 260

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> gVAG protein

<400> 7

Met Ala Ile Trp Ile Ala Cys Ala Thr Leu Leu Leu Val Val Leu Ser
 1 5 10 15

Gly Val Ser Ala Gly Gly Lys Tyr Cys Ser Ser Asp Leu Cys Pro Arg
 20 25 30

Gly Gly Pro His Val Gly Cys Asn Pro Pro Ser Ser Ser Gly Gly Pro
 35 40 45

Thr Cys Gln Gly Lys Gln Lys Ala Arg Lys Val Leu Leu Thr Pro Ala
 50 55 60

Leu Gln Ala Tyr Ile Met Asp Glu His Asn Leu Asn Arg Ser Asn Ile
 65 70 75 80

Ala Leu Gly Arg Ile Arg Pro Tyr Pro Ser Ala Val Lys Met Pro Thr
 85 90 95

Leu Thr Trp Asp Pro Glu Leu Ala Ser Leu Ala Asp Ala Asn Ala Arg
 100 105 110

Ser Cys Asn Tyr Gly His Asp Arg Cys Arg Ala Thr Lys Lys Phe Pro
 115 120 125

Tyr Ala Gly Gln Asn Ile Ala Ile Thr Gln Phe Phe Gly Tyr Arg Phe
 130 135 140

Thr Glu Lys Asp Leu Ile His Lys Phe Val Ser Ser Trp Trp Ser Glu
 145 150 155 160

Tyr Leu Asp Ala Arg Pro Glu His Val Arg Lys Tyr Pro Ser Ser Tyr
 165 170 175

Untitled.ST25

Ser Gly Lys Pro Ile Gly His Phe Thr Gln Ile Ala Ser Asp Arg Ser
180 185 190

Thr Lys Val Gly Cys Ser Met Trp Tyr Trp Lys Asp Gly Gln Met Asp
195 200 205

Val Tyr Tyr Phe Val Cys Asn Tyr Ser Phe Thr Asn Ile Met Asp Arg
210 215 220

Ser Val Tyr Gln Ser Gly Pro Thr Ala Ser Gln Cys Lys Thr Gly Arg
225 230 235 240

Asn Ser Lys Phe Pro Gly Leu Cys Asn Ala Ser Glu Glu Pro Arg Ser
245 250 255

Ile Met Asp Pro
260

<210> 8
<211> 570
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> 5' nucleotidase

<400> 8

Met Ala Leu Val Arg Phe Ala Thr Ile Ile Thr Val Leu Cys His Leu
1 5 10 15

Ala Ile Gln Asp Gly Ala Ala Lys Ser Phe Pro His Gly Glu Lys Ala
20 25 30

Pro Phe Pro Leu Thr Leu Ile His Ile Asn Asp Leu His Ala Arg Phe
35 40 45

Asp Glu Thr Asn Gln Lys Ser Ser Thr Cys Thr Asn Ser Lys Glu Cys
50 55 60

Ile Ala Gly Ile Ala Arg Val Tyr His Thr Ile Lys Gln Leu Lys Ser
65 70 75 80

Glu Tyr Lys Thr Lys Asn Pro Leu Tyr Leu Asn Ala Gly Asp Asn Phe
85 90 95

Gln Gly Thr Leu Trp Tyr Asn Leu Leu Arg Trp Asn Val Thr Ala Tyr
100 105 110

Phe Ile Lys Glu Leu Pro Pro Asp Ala Met Thr Leu Gly Asn His Glu
115 120 125

Phe Asp His Ser Pro Lys Gly Leu Ala Pro Tyr Leu Ala Glu Leu Glu

Untitled.ST25
140

130

135

Lys Met Lys Ile Pro Thr Val Val Ala Asn Leu Glu Lys Asn Gly Glu
145 150 155 160

Pro Ala Leu Lys Asp Ser Lys Ile Ala Pro Gln Ile Val Leu Lys Val
165 170 175

Gly Asn Arg Lys Val Gly Val Ile Gly Ala Leu Tyr Asp Lys Thr His
180 185 190

Leu Val Ala Gln Thr Gly Met Val Thr Leu Thr Asn Ser Ile Glu Ala
195 200 205

Val Arg Lys Glu Ala Gln Glu Leu Lys Lys Lys Asn Val Asn Ile Ile
210 215 220

Val Val Leu Ser His Cys Gly Leu Asp Gly Asp Lys Gln Leu Ala Glu
225 230 235 240

Glu Ala Gly Asp Leu Ile Asp Val Ile Val Gly Ala His Ser His Ser
245 250 255

Leu Leu Leu Asn Lys Asp Ala Lys Val Pro Tyr Asp Thr Lys Tyr Asp
260 265 270

Thr Ile Glu Gly Asp Tyr Pro Leu Val Val Lys Lys Ser Asn Asn His
275 280 285

Thr Val Leu Ile Thr Gln Ala Arg Ser Phe Gly Lys Tyr Val Gly Arg
290 295 300

Leu Thr Val Asn Phe Asp Cys Glu Gly Glu Val Gln Ser Trp Glu Gly
305 310 315 320

Tyr Pro Ile Tyr Met Asn Asn Ser Val Lys Gln Asp Glu Glu Val Leu
325 330 335

Arg Glu Leu Glu Pro Trp Arg Ala Glu Val Lys Arg Leu Gly Thr Gln
340 345 350

Val Ile Gly Thr Thr Glu Val Phe Leu Asp Arg Glu Ser Cys Arg Trp
355 360 365

Cys Glu Cys Thr Leu Gly Asp Leu Ile Ala Asp Ala Tyr Ala Asp Gln
370 375 380

Tyr Thr Asn Ser Thr Val Gln Pro Val Ala Phe Val Gln Ala Gly Asn
385 390 395 400

Phe Arg Asn Pro Ile Glu Lys Gly Asp Ile Thr Asn Gly Leu Ala Ile
Page 5

Untitled.ST25
410

405

415

Glu Ala Ala Pro Tyr Gly Ser Ser Val Asp Met Ile Lys Leu Ser Gly
420 425 430

Ala Asp Leu Trp Ser Ala Ile Asp His Ser Phe Thr Leu Asp Asp Glu
435 440 445

Phe Arg Tyr Asn Thr Ala Gln Val Ser Gly Met Thr Val Val Ala Asp
450 455 460

Leu Ser Lys Lys Pro Tyr Glu Arg Val Gln Ser Ile Asp Ile Val Gly
465 470 475 480

Ala Asn Gly Ala Lys Thr Ala Leu Lys Lys Asp Gln Ile Tyr Tyr Val
485 490 495

Ala Val Pro Ser Tyr Leu Ala Asp Gly Lys Asp Gly Phe Ala Met Leu
500 505 510

Lys Lys Gly Thr Asn Arg Val Thr Gly Pro Leu Asp Ser Asp Val Leu
515 520 525

Ile Glu Tyr Val Arg Lys Arg Gln Thr Ile Ala Lys Thr Met Phe Gln
530 535 540

Glu Lys Arg Val Val Ile Glu Asn His Thr Asn Gly Thr Cys Ser Trp
545 550 555 560

Asp Leu Asp Ser Gln Arg Tyr Lys Pro Lys
565 570

<210> 9
<211> 269
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> SG1-like

<400> 9

Met Ala Gly Gln Arg His Leu Ile Glu Gln Ala Trp Gln Tyr Gly Ala
1 5 10 15

Gln Leu Gln His Glu Leu Met Leu Thr Ser Met Glu Ser Asp Arg Val
20 25 30

Gln Arg Ala Leu Val Leu His Ser Met Leu Val Asn Ala Ser Leu Ala
35 40 45

Glu Met Val Lys Glu Ser Tyr Gln Thr His Gly Ala Asp Gly Arg Met
50 55 60

Untitled.ST25

Val Val Arg Met Leu Lys Phe Val Arg Leu Leu Pro Gly Ala Asp Glu
65 70 75 80

Arg Val Ala Val Tyr Lys Gln Leu Ala Glu Leu Leu Lys Ser Asn Gly
85 90 95

Gln Asp Gly Arg Phe Pro Ala Val Ile Phe Ser Thr Asp Val Arg Gln
100 105 110

Leu Glu Asp Arg Tyr Lys Pro Asp His Ala Gln Tyr Glu Gly Lys Val
115 120 125

Val Glu Arg Trp Leu Ala Glu Leu Gln Ala Gly Thr Phe His Glu Val
130 135 140

Val Glu Phe Ala Arg Asp Tyr Pro Glu Tyr Phe Ala Arg Val Glu Glu
145 150 155 160

Pro Leu Tyr Glu Thr Leu Lys Gln Gln Trp Ser Ala Glu Gly Leu Asp
165 170 175

Arg Met Val Ser Phe Pro Asn Ala Leu Pro Val Gly Val Gln Arg Val
180 185 190

Arg Ala Leu Arg Ala Leu Leu Glu Thr Leu Leu Gln His Gln Gly Glu
195 200 205

Gln Asn Asn Asp Val Tyr Leu Ile Arg Leu Ala His Glu Thr Gly Arg
210 215 220

Val Glu Ala Thr Val Gly Gln Ala Asp Ala Ala Val Arg Gln Ala Leu
225 230 235 240

Asp Asp Val Lys Lys Leu Phe Glu Gln Phe Lys Tyr Gln Arg Gly Phe
245 250 255

Pro Asp Tyr Glu Ala Leu Tyr Lys Leu Phe Lys Gly Leu
260 265

<210> 10
<211> 312
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Protein

<220>
<221> SIGNAL
<222> (1)..(20)
<223> peptide

<400> 10

Untitled.ST25

Met Ser Pro Ser Asn Lys Ile Leu Val Leu Leu Leu Phe Pro Ile Leu
 1 5 10 15
 Leu Val Ser Ser His Pro Ile Pro Ala Glu Asp Pro Ala Lys Gln Cys
 20 25 30
 Asn Leu Ser Glu Asp Asp Leu Thr Lys Leu Lys Ala Ala Ile Ser Gly
 35 40 45
 Ala Ser Ser Ala Lys Ala Ala Asn Glu Asp Ile Leu Pro Asn Thr Thr
 50 55 60
 Leu Ala Ala Cys Pro Met Leu Lys Asn Phe Thr Glu Met Leu Lys Thr
 65 70 75 80
 Val Ala Thr Asp Met Glu Val Leu Lys Thr Gln Gly Val Ser Asn Met
 85 90 95
 Glu Val Gln Leu Leu Arg Glu Ser Phe Glu Glu Lys Leu Asn Asp Leu
 100 105 110
 Ala Lys Asn Lys Asp Ile Phe Glu Arg Gln Ala Asn Gln Asp Thr Ser
 115 120 125
 Lys Ala Glu Gly Glu Met Val Glu Lys Ile Asn Lys Leu Gln Leu Glu
 130 135 140
 Met Ala Lys Leu Gln Glu Glu Ile Glu Glu Gln Thr Lys Gln Met Tyr
 145 150 155 160
 Val Asp Met Ile Glu Tyr Ile Phe Glu Arg Leu Lys Met Asn Asp Thr
 165 170 175
 Glu Ala Ile Asp Ser Tyr Ala Gln Ile Val Met Lys Thr Lys Met His
 180 185 190
 Glu Leu Ile Met Lys Leu Lys Thr Asp Arg Leu Val Leu Trp Glu Met
 195 200 205
 Val Lys Tyr Val Glu Gly Lys Lys Asn Lys Trp Val Gly Arg Lys Val
 210 215 220
 Leu Asn Thr Ile Leu Asp Gln Val Asn Lys Leu Lys Leu Tyr Lys Pro
 225 230 235 240
 Glu Glu Val Glu Ile Gly Lys Asn Ser Leu Val Val Val Trp Cys Trp
 245 250 255
 Lys Phe Asn Ser Glu Thr Val Tyr Gly Thr Thr Asp Glu Asp Gln Lys
 260 265 270

Untitled.ST25

Ser Phe His Leu Ala Lys Leu Phe Phe Pro Lys Glu Lys Gly Cys Lys
 275 280 285

Glu Cys Ala Asn Val Lys Ser Arg Thr Met Cys Asn Asn Asp Tyr Pro
 290 295 300

Lys Val Met Val Lys Ala Phe Gly
 305 310

<210> 11
 <211> 315
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Protein

<220>
 <221> SIGNAL
 <222> (1)..(20)
 <223> peptide

<400> 11

Met Glu Thr Ser Leu Pro Ile Thr Val Val Phe Pro Ile Val Leu Ile
 1 5 10 15

Thr Gly Ala Gln Thr Lys Pro Thr Gln Gly Ser Cys Thr Leu Thr Asp
 20 25 30

Glu Asp Ile Ser Asp Ile Lys Ser Ala Val Gln Lys Ala Ser Lys Ala
 35 40 45

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

Met Leu Glu Lys Ile Thr Ala Ser Leu Lys Ser Val Ala Thr Glu Ile
 65 70 75 80

Val Gln Met Arg Asp Ser Ala Ile Ser Thr Asp Gln Val Asp Gln Leu
 85 90 95

Lys Gln Asn Phe Glu Asp Gln Val Asn Gln Ile Val Lys Ser Arg Asp
 100 105 110

Ile Phe Glu Lys Gln Ser Gly Thr Gln Ala Thr Lys Glu His Gly Glu
 115 120 125

Met Leu Glu Arg Met Thr Ala Gln Val Lys Val Thr Glu Leu Glu Gln
 130 135 140

Gln Ile Ala Lys Gln Thr Ala Ser Met Tyr Glu Asp Met Ala Glu Leu
 145 150 155 160

Untitled.ST25

Ile Phe Gln Arg Leu Gln Met Asn Ser Thr Glu Ser Val Arg Ser Tyr
 165 170 175

Thr Lys His Met Met Glu Glu Lys Leu Glu Glu Leu Met Asn Lys Leu
 180 185 190

Glu Thr Asn Tyr Arg Ile Tyr Leu Gly Ala Leu Arg Phe Leu Asn His
 195 200 205

Met Asn Asp Gln Glu Leu Ile Gly Lys Val Phe Asp Gly Ile Leu Lys
 210 215 220

Arg Leu Gly Asp Met Lys Ala Asp Ser Asp Asp Val Lys Glu Asn Gly
 225 230 235 240

Arg Asn Leu Leu Val Asn Leu Leu Cys Trp Thr Val Asn Asn Asp Phe
 245 250 255

Leu Gly Lys Lys Tyr Lys Glu Arg Gln Val Asp Leu Tyr Arg Met Ala
 260 265 270

Leu Lys Phe Tyr Pro Lys Thr Tyr Glu Lys Ala Ala Asn Glu Ala Asp
 275 280 285

Val Arg Ser Arg Gln Phe Cys Glu Glu Asn Phe Pro Ala Asn Leu Ile
 290 295 300

Thr Trp Phe Ala Val Ser Trp Asn Asp Arg Gly
 305 310 315

<210> 12
 <211> 322
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Protein

<220>
 <221> SIGNAL
 <222> (1)..(20)
 <223> peptide

<400> 12

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

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

Asp Leu Thr Thr Ile Arg Asn Ala Ile Gln Lys Ala Ser Arg Ala Ser
 35 40 45

Untitled.ST25

Leu Asp Asp Val Asn Leu Asp Glu Asp Leu Ile Ala Lys Cys Pro Leu
 50 55 60
 Leu Lys Thr Ile Thr Ala Ser Leu Lys Ser Val Ala Ser Glu Ile Ala
 65 70 75 80
 Thr Leu Lys Asp Thr Gly Ile Ser Glu Glu Gln Val Asp Glu Leu Lys
 85 90 95
 Gln Ser Tyr Glu Gln Gln Val Asn Glu Ile Val Lys Ser Arg Asp Ile
 100 105 110
 Phe Glu Lys Gln Ser Gly Gly Asp Val Met Lys Glu Gln Gly Ala Met
 115 120 125
 Ile Asn Arg Met Thr Glu Leu Gln Val Gln Val Ala Gln Leu Gln Gln
 130 135 140
 Gln Ile Gly Glu Gln Thr Ser Arg Met Tyr Asp Asp Met Ala Glu Leu
 145 150 155 160
 Ile Phe Gln Arg Leu Ala Met Asn Ser Thr Asp Ser Ile Arg Asn Tyr
 165 170 175
 Thr Ala His Met Met Glu Gln Lys Leu His Thr Leu Met Thr Lys Leu
 180 185 190
 Glu Thr Asn Tyr Arg Ile Phe Leu Gly Ala Leu Arg Tyr Leu Asp His
 195 200 205
 Leu Gly Asp Gln Pro Leu Ile Asp Lys Val Phe Asp Gly Ile Leu Lys
 210 215 220
 Arg Leu Asp Glu Met Ser Leu Glu Thr Asn Lys Glu Arg Glu Asn Gly
 225 230 235 240
 Lys Tyr Val Leu Val Asn Leu Leu Cys Trp Thr Val Asn Asn Arg Phe
 245 250 255
 Leu Thr Glu Lys Tyr Arg Lys Lys Gln Leu Glu Leu Phe Arg Ile Ala
 260 265 270
 Leu Lys Phe Tyr Pro Lys Thr Gly Asn Lys Glu Ala Asn Glu Ala Asp
 275 280 285
 Ile Arg Gly Arg Gln Phe Cys Asp Ala Asn Phe Pro Val Asn Val Ile
 290 295 300
 Thr Trp Phe Ala Val Ser Arg Ala Ala Glu Gly Trp Gly Leu Arg Gly
 305 310 315 320

Untitled.ST25

Thr Leu

<210> 13
 <211> 280
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Protein

<220>
 <221> SIGNAL
 <222> (1)..(20)
 <223> peptide

<400> 13

Met Pro Val Thr Tyr Glu Phe Phe Ile Leu Leu Ala Met Ser Leu Leu
 1 5 10 15

Leu Val Arg Ser His Pro Leu Pro Glu Glu Ala Thr Ser Asp Ala Ala
 20 25 30

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

Ile Ser Ser Ala Ala Ser Ala Lys Ser Ser Asp Gly Ile Ile Leu Ser
 50 55 60

Asn Glu Thr Leu Thr Ala Cys Pro Ile Leu Ala Asn Phe Thr Glu Met
 65 70 75 80

Leu Lys Thr Val Ala Thr Asp Met Glu Val Leu Lys Thr Gln Gly Val
 85 90 95

Ser Asn Ala Glu Val Glu Leu Leu Arg Glu Ser Phe Glu Glu Arg Leu
 100 105 110

Asn Glu Ile Thr Lys Asn Lys Asp Ile Phe Glu Arg Gln Ala Gly Gln
 115 120 125

Glu Thr Ser Lys Thr Glu Gly Gln Met Val Glu Lys Ile Asn Arg Leu
 130 135 140

Gln Leu Glu Met Ala Ser Leu Lys Glu Glu Ile Glu Gln Glu Thr Lys
 145 150 155 160

Lys Met Tyr Glu Asp Met Ala Glu Tyr Ile Phe Gln Arg Leu Lys Met
 165 170 175

Asn Asp Thr Asp Ala Ile Asp Ser Tyr Ala Gln Ile Met Phe Lys Thr
 180 185 190

Untitled.ST25

Lys Met His Asp Leu Phe Met Lys Leu Lys Thr Asp Arg Trp Val Leu
 195 200 205

Trp Lys Met Leu Asn Tyr Val Glu Gln Lys Lys Asp Lys Val Ile Gly
 210 215 220

Lys Trp Val Leu Asn Thr Val Ile Asn Gln Val Thr Ser Leu Asn Arg
 225 230 235 240

Asn Lys Pro Asp Glu Leu Glu Ile Gly Lys Asp Ser Leu Val Asn Leu
 245 250 255

Leu Cys Trp Thr Ser Thr Ala Lys Thr Val Tyr Gly Ala Val Gln Glu
 260 265 270

Asp Gln Lys Met Phe Tyr Leu Thr
 275 280

<210> 14
 <211> 571
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Peptide N-Term

<400> 14

Met Asn Pro Phe Thr Gln Val Phe Cys Leu Ile Val Gly Val Leu Phe
 1 5 10 15

Phe Ala Phe Thr Ala Thr Ala Asp Glu Asp Cys Glu Ile Pro Leu Ser
 20 25 30

Glu Leu Asn Lys Ile Glu Gln Thr Leu Thr His Ile Glu Lys Pro Ile
 35 40 45

Tyr Thr Glu Glu Ala Glu Ser Glu Thr Ser Asp Ser Asp Glu Cys Ala
 50 55 60

Gln Met Leu Arg Gly Ile His Leu Gln Leu Arg Arg Leu Thr Gln Lys
 65 70 75 80

Tyr Lys Leu Met Asn Lys Gly Tyr Val Lys Val Glu Glu Phe His Lys
 85 90 95

Met Ala Lys Glu Tyr Glu Glu Gln Leu Ser Lys Leu Asn Gly Glu Leu
 100 105 110

Glu Tyr Phe Lys Val Glu Ala Arg Ser Gly Ala Asp Gln Lys Ile Lys
 115 120 125

Glu Leu Lys Lys Asp Ile Lys Ser Leu Glu Gln Asn Val Thr Lys Leu
 Page 13

Untitled.ST25

130 135 140
 His Asp Arg Leu Lys Gly Ile Thr Asp Glu Leu Gly Lys Val Ser Met
 145 150 155 160
 Glu Leu Cys Ser Thr Tyr Leu Glu Ser Asn Gln Leu Asp Ser Ala Lys
 165 170 175
 Glu Lys Val Lys Asp Leu Pro Ser Lys Tyr Val Ile Glu Leu Val Asp
 180 185 190
 Gln Phe Leu Ser Lys Asn Glu Asn Asn Trp Leu Pro Val Val Asp Leu
 195 200 205
 Ser Thr Ala Val Pro Asp Leu Asp Asp Arg Gly Gln Val Tyr Lys Asn
 210 215 220
 Ile Tyr Glu Phe Leu Leu Ala Lys Ser Arg Leu Glu Gly Glu Glu Ser
 225 230 235 240
 Leu Leu Leu Glu Ala Glu Ile Leu Lys Leu Asn Ala Thr Phe His Pro
 245 250 255
 Gly Ser Lys Ile Thr Asp Asp Arg Lys Lys Glu Leu Asn Asp Leu Leu
 260 265 270
 Glu Lys Leu Arg Gln Asn Ser Glu Lys Thr Phe Glu Gln Trp Ser Gln
 275 280 285
 Glu Leu Asp Gln Ser Asn Ile Ser Ala Val Val Phe Lys Asn Ala Ile
 290 295 300
 Asp Arg Met Phe Leu Thr Gln Ile Glu Lys Phe Gly Glu Tyr Val Thr
 305 310 315 320
 Gly Arg His Asp Tyr Tyr Gly Val Arg Asn Phe Leu Lys Leu Leu Gly
 325 330 335
 Val Ser Lys Asn Tyr His Lys Ile Ala Ala Tyr Asn Ser Leu Val Glu
 340 345 350
 Lys Lys Ile Gly His Ala Leu Ala Val Val Met Ile Asp Met Leu Ser
 355 360 365
 Ile Asp Ile Ala Glu Ile Lys His Asp Pro His Val Pro Asp Arg Ile
 370 375 380
 Glu Arg Met Tyr Asn Ser Thr Ile Asn Ser Leu Pro Asp Ser Leu Lys
 385 390 395 400
 Gly Ile Ile Pro Cys Ile Lys Ser Val Lys Ile Arg Asn Glu Gly Thr

Untitled.ST25

405

410

415

Asn Arg Cys Ile Tyr Ala Ile Asn Gln Asn Ile Gln Val Gln Asn Pro
 420 425 430

Asn Phe Lys Asn Ile Val Leu Gly Gln Tyr Lys Arg Val Thr Ser Thr
 435 440 445

Met Ser Ala Cys Thr Ser Phe Arg Leu Glu Leu Ser Ser Asn Lys Pro
 450 455 460

Tyr Ile Lys Ile Ile Thr Ser Glu Gly Asn Ser Leu Thr Asn Ile Asn
 465 470 475 480

Ser Ala Val Pro Gly Glu Thr Gly Phe Ser Arg Val Gly Ala Pro Tyr
 485 490 495

Ser Asn Lys Pro Asn Met Lys Leu Asp His Thr Gly Asp Trp Val Leu
 500 505 510

Asp Ala Asn Phe Val Asn Asn Ser Ile Lys Ile Gln Ser Asp Phe Asn
 515 520 525

Ala Tyr Gln Thr Ser Lys Ser Ile Asp His Leu Val Val Arg Asn Asp
 530 535 540

Gly Asp Val Ala Val Val Arg Tyr Gly Leu Ser Gly Met Arg Ser Gly
 545 550 555 560

Gly Ile Pro Asp Asn His Ala Glu Trp Lys Phe
 565 570

<210> 15

<211> 571

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Protein

<400> 15

Met Asn Pro Phe Thr Gln Val Phe Cys Leu Ile Val Gly Val Leu Phe
 1 5 10 15

Phe Ala Phe Thr Ala Thr Ala Asp Glu Asp Cys Glu Ile Pro Leu Ser
 20 25 30

Glu Leu Asn Lys Ile Glu Gln Thr Leu Thr His Ile Glu Lys Pro Ile
 35 40 45

Tyr Thr Glu Glu Ala Glu Ser Glu Thr Ser Asp Ser Asp Glu Cys Ala
 50 55 60

Untitled.ST25

Gln Met Leu Arg Gly Ile His Leu Gln Leu Arg Arg Leu Thr Gln Lys
 65 70 75 80
 Tyr Lys Leu Met Asn Lys Gly Tyr Val Lys Val Glu Glu Phe His Lys
 85 90 95
 Met Ala Lys Glu Tyr Glu Glu Gln Leu Ser Lys Leu Asn Gly Glu Leu
 100 105 110
 Glu Tyr Phe Lys Val Glu Ala Arg Ser Gly Ala Asp Gln Lys Ile Lys
 115 120 125
 Glu Leu Lys Lys Asp Ile Lys Ser Leu Glu Gln Asn Val Thr Lys Leu
 130 135 140
 His Asp Arg Leu Lys Gly Ile Thr Asp Glu Leu Gly Lys Val Ser Met
 145 150 155 160
 Glu Leu Cys Ser Thr Tyr Leu Glu Ser Asn Gln Leu Asp Ser Ala Lys
 165 170 175
 Glu Lys Val Lys Asp Leu Pro Ser Lys Tyr Val Ile Glu Leu Val Asp
 180 185 190
 Gln Phe Leu Ser Lys Asn Glu Asn Asn Trp Leu Pro Val Val Asp Leu
 195 200 205
 Ser Thr Ala Val Pro Asp Leu Asp Asp Arg Gly Gln Val Tyr Lys Asn
 210 215 220
 Ile Tyr Glu Phe Leu Leu Ala Lys Ser Arg Leu Glu Gly Glu Glu Ser
 225 230 235 240
 Leu Leu Leu Glu Ala Glu Ile Leu Lys Leu Asn Ala Thr Phe His Pro
 245 250 255
 Gly Ser Lys Ile Thr Asp Asp Arg Lys Lys Glu Leu Asn Asp Leu Leu
 260 265 270
 Glu Lys Leu Arg Gln Asn Ser Glu Lys Thr Phe Glu Gln Trp Ser Gln
 275 280 285
 Glu Leu Asp Gln Ser Asn Ile Ser Ala Val Val Phe Lys Asn Ala Ile
 290 295 300
 Asp Arg Met Phe Leu Thr Gln Ile Glu Lys Phe Gly Glu Tyr Val Thr
 305 310 315 320
 Gly Arg His Asp Tyr Tyr Gly Val Arg Asn Phe Leu Lys Leu Leu Gly
 325 330 335

Untitled.ST25

Val Ser Lys Asn Tyr His Lys Ile Ala Ala Tyr Asn Ser Leu Val Glu
 340 345 350

Lys Lys Ile Gly His Ala Leu Ala Val Val Met Ile Asp Met Leu Ser
 355 360 365

Ile Asp Ile Ala Glu Ile Lys His Asp Pro His Val Pro Asp Arg Ile
 370 375 380

Glu Arg Met Tyr Asn Ser Thr Ile Asn Ser Leu Pro Asp Ser Leu Lys
 385 390 395 400

Gly Ile Ile Pro Cys Ile Lys Ser Val Lys Ile Arg Asn Glu Gly Thr
 405 410 415

Asn Arg Cys Ile Tyr Ala Ile Asn Gln Asn Ile Gln Val Gln Asn Pro
 420 425 430

Asn Phe Lys Asn Ile Val Leu Gly Gln Tyr Lys Arg Val Thr Ser Thr
 435 440 445

Met Ser Ala Cys Thr Ser Phe Arg Leu Glu Leu Ser Ser Asn Lys Pro
 450 455 460

Tyr Ile Lys Ile Ile Thr Ser Glu Gly Asn Ser Leu Thr Asn Ile Asn
 465 470 475 480

Ser Ala Val Pro Gly Glu Thr Gly Phe Ser Arg Val Gly Ala Pro Tyr
 485 490 495

Ser Asn Lys Pro Asn Met Lys Leu Asp His Thr Gly Asp Trp Val Leu
 500 505 510

Asp Ala Asn Phe Val Asn Asn Ser Ile Lys Ile Gln Ser Asp Phe Asn
 515 520 525

Ala Tyr Gln Thr Ser Lys Ser Ile Asp His Leu Val Val Arg Asn Asp
 530 535 540

Gly Asp Val Ala Val Val Arg Tyr Gly Leu Ser Gly Met Arg Ser Gly
 545 550 555 560

Gly Ile Pro Asp Asn His Ala Glu Trp Lys Phe
 565 570

<210> 16
 <211> 575
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Protein

Untitled.ST25

<400> 16

Met Asn Pro Phe Thr Gln Val Phe Arg Leu Thr Val Gly Val Phe Phe
 1 5 10 15

Phe Ala Phe Thr Ala Thr Ala Asp Glu Val Cys Glu Ile Pro Leu Ser
 20 25 30

Glu Leu Asn Lys Ile Glu Gln Thr Leu Thr His Ile Glu Lys Pro Ile
 35 40 45

Tyr Thr Glu Glu Ala Glu Ser Glu Thr Ser Asp Ser Asp Glu Cys Ala
 50 55 60

Gln Met Leu Arg Gly Ile His Leu Gln Leu Arg Arg Leu Thr Gln Lys
 65 70 75 80

Tyr Lys Leu Met Asn Lys Gly Tyr Val Lys Val Glu Glu Phe His Lys
 85 90 95

Met Ala Lys Glu Tyr Glu Glu Gln Leu Ser Lys Leu Asn Gly Glu Leu
 100 105 110

Glu His Phe Lys Val Glu Ala Arg Ser Gly Ala Asp Gln Lys Ile Lys
 115 120 125

Glu Leu Lys Lys Asp Ile Gln Ala Leu Glu Gln Asn Val Thr Lys Leu
 130 135 140

His Asp Arg Leu Lys Gly Ile Thr Asp Glu Leu Gly Lys Val Ser Met
 145 150 155 160

Glu Leu Cys Ser Thr Tyr Leu Glu Ser Asn Gln Leu Asp Ser Ala Lys
 165 170 175

Glu Lys Val Lys Asp Leu Pro Ser Lys Tyr Val Ile Glu Leu Val Asp
 180 185 190

Gln Phe Leu Ser Lys Asn Glu Asn Asn Trp Leu Pro Val Val Asp Leu
 195 200 205

Ser Thr Ala Val Pro Asp Leu Asp Asp Arg Gly Gln Val Tyr Lys Asn
 210 215 220

Ile Tyr Glu Phe Leu Leu Ala Lys Ser Arg Leu Glu Gly Glu Glu Ser
 225 230 235 240

Leu Leu Leu Glu Ala Glu Ile Leu Lys Leu Asn Ala Thr Phe His Pro
 245 250 255

Gly Ser Lys Ile Thr Asp Asp Arg Lys Arg Glu Leu Asn Val Leu Leu
 Page 18

Untitled.ST25

260	265	270
Thr Lys Leu Ser Gln Phe Ser Glu Lys Thr Leu Glu Gln Trp Thr Gln	280	285
Glu Leu Asn Gln Ser Asn Ile Ser Ala Val Val Phe Lys Asn Ala Ile	295	300
Asp Arg Met Phe Leu Thr Gln Ile Glu Lys Phe Gly Glu Tyr Val Thr	310	315
Gly Arg His Asp Tyr Tyr Gly Val Arg Asn Phe Leu Lys Leu Leu Gly	325	330
Val Ser Lys Asn Tyr His Lys Ile Ala Ala Tyr Asn Ser Leu Val Glu	340	350
Lys Lys Ile Gly His Ala Leu Ala Val Val Met Ile Asp Met Leu Ser	355	365
Ile Asp Ile Ala Glu Ile Lys His Asp Pro His Val Pro Asp Arg Ile	370	380
Glu Arg Met Tyr Asn Ser Thr Ile Asn Ser Leu Pro Asp Ser Leu Lys	390	395
Gly Ile Ile Pro Cys Ile Lys Ser Val Lys Ile Arg Asn Glu Gly Thr	405	415
Asn Arg Cys Ile Tyr Ala Ile Asn Gln Asn Ile Gln Val Gln Asn Pro	420	430
Asn Phe Lys Asn Ile Val Leu Gly Gln Tyr Lys Arg Val Thr Ser Thr	435	445
Met Ser Ala Cys Thr Ser Phe Arg Leu Glu Leu Ser Ser Asn Lys Pro	450	460
Tyr Ile Lys Ile Ile Thr Ser Glu Gly Asn Ser Leu Thr Asn Ile Asn	470	475
Ser Ala Val Pro Gly Glu Thr Gly Phe Ser Arg Val Gly Ala Pro Tyr	485	490
Ser Asn Lys Pro Asn Met Lys Leu Asp His Thr Gly Asp Trp Val Leu	500	510
Asp Ala Asn Phe Val Asn Asn Ser Ile Lys Ile Gln Ser Asp Phe Asn	515	525
Ala Tyr Gln Thr Ser Lys Ser Ile Asp His Leu Val Val Arg Asn Asp		

Untitled.ST25

530

535

540

Gly Asp Val Ala Val Val Arg Tyr Gly Leu Ser Gly Met Arg Ser Gly
 545 550 555 560

Gly Ile Pro Asp Asn His Ala Glu Trp Lys Leu Asn Ala Leu Lys
 565 570 575

<210> 17

<211> 580

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Protein

<400> 17

Met Asn Ser Val Asn Arg Tyr Val Leu Cys Ile Ala Leu Ile Ala Leu
 1 5 10 15

Phe Val Ala Ser Phe Thr Thr Ala Glu Glu Asn Cys Glu Ile Ser Ala
 20 25 30

Asn Glu Leu Gly Lys Ile Glu Gln Thr Leu Thr His Ile Asn Gln Pro
 35 40 45

Ile Tyr Thr Gly Asp Asp Glu Ser Glu Val Ser Asp Ser Asp Gln Cys
 50 55 60

Ala Gln Met Leu Arg Gly Ile His Phe Gln Leu Arg Arg Leu Thr Gln
 65 70 75 80

Lys Tyr Lys Leu Met Asn Lys Gly Tyr Val Lys Ala Glu Glu Phe Ala
 85 90 95

Lys Met Ala Arg Asp Tyr Glu Asp Gln Leu Ser Val Leu Lys Asn Asp
 100 105 110

Leu Glu Gln Ser Lys Ile Gly Ala Asp Ser Ser Ala Lys Gln Lys Met
 115 120 125

Gln Glu Leu Lys Lys Asp Ile Ala Thr Leu Glu Gln Asn Val Asn Thr
 130 135 140

Leu His Lys Asp Leu Glu Gly Ile Thr Asp Glu Leu Gly Lys Val Arg
 145 150 155 160

Met Asp Leu Cys Leu Thr Tyr Met Glu Ser Asn Gln Leu Ser Asn Ala
 165 170 175

Gln Asp Lys Val Lys Thr Leu Ala Pro Lys Tyr Leu Met Glu Leu Val
 180 185 190

Untitled.ST25

Glu Gln Phe Leu Asn Lys Ser Glu Lys Asn Trp Leu Pro Val Val Asp
 195 200 205
 Leu Ser Val Ala Ile Pro Asp Leu Asp Asp Arg Gly Gln Val Tyr Lys
 210 215 220
 Thr Val His Glu Phe Leu Lys Thr Lys Asn Arg Asp Gly Gly Glu Asp
 225 230 235 240
 Ser Ile Leu Leu Glu Ala Glu Val Leu Lys Met Asn Ala Thr Phe His
 245 250 255
 Pro Gly Ser Lys Ile Thr Glu Asp Arg Lys Lys Glu Ile Gln Asp Leu
 260 265 270
 Leu Glu Lys Leu Ser Leu Thr Ser Thr Lys Ile Phe Asp Gln Trp Thr
 275 280 285
 Gln Asp Leu Ala Lys Leu Glu Asn Ser Ala Val Tyr Lys Asn Ser Ile
 290 295 300
 Asp Arg Met Phe Leu Thr Gln Met Glu Lys Phe Gly Glu Arg Val Met
 305 310 315 320
 Ala Lys Asp Asp Tyr Tyr Ser Leu Arg Asn Phe Leu Lys Leu Leu Val
 325 330 335
 Val Ser Thr Asn Tyr Tyr Lys Ile Ala Ala Tyr Arg Lys Leu Ile Gln
 340 345 350
 Glu Lys Ile Gly His Thr Leu Ala Val Leu Met Phe Asp Met Met Ser
 355 360 365
 Met Glu Arg Thr Glu Leu Gln Tyr Asp Pro His Val Pro Asp Glu Val
 370 375 380
 Val Arg Met Tyr Asp Glu Ser Ile Thr Ala Leu Pro Asp Ser Leu Lys
 385 390 395 400
 Asn Ile Arg Ser Cys Leu Lys Leu Val Lys Ile Tyr Asn His Val Thr
 405 410 415
 Asn Gln Cys Ile Leu Ala Thr Asn Glu Val Glu Asp Val Asn Asn Ser
 420 425 430
 Asn Pro Lys Phe Lys Ser Asn Val Leu Gly Arg Arg Lys Leu Val Lys
 435 440 445
 Thr Ala Ser Asn Asp Cys Thr Pro Phe Arg Leu Glu Pro Ser Ala Asp
 450 455 460

Untitled.ST25

Lys Ala Ser Ile Arg Ile Ile Thr Pro Lys Gly Asp Ala Leu Thr Asn
465 470 475 480

Ile Asn Ser Ile Gln Pro Gly Leu Ser Trp Phe Asn Arg Val Gly Ala
485 490 495

Pro Tyr Thr Asn Asn His Asn Met Lys Leu Asp Tyr Ser Ala Asp Trp
500 505 510

Ile Leu Asp Ala Asn Tyr Ala Asn Asp Ser Ile Lys Ile Glu Ser Glu
515 520 525

Phe Asn Ala Tyr Gln Thr Met Lys Ser Val Asp His Leu Met Val Thr
530 535 540

Asn Val Gly Lys Val Pro His Val Val Val Ala Gln Tyr Gly Leu Lys
545 550 555 560

Gly Met Glu Tyr Ala Gly Ala Gly Met Lys Asp Ala Glu Trp Lys Phe
565 570 575

Lys Cys Asp Asn
580

<210> 18
<211> 566
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Protein

<400> 18

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

Val Phe Cys Glu Glu Asn Cys Asn Ile Pro Glu Ser Glu Leu Ser Lys
20 25 30

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

Gln Phe Ala Ser Asp Asn Glu Glu Cys Thr Asn Leu Leu Asn Gly Ile
50 55 60

His Ala Gln Leu Arg Arg Leu Thr Gln Arg Tyr Lys Leu Met Asn Lys
65 70 75 80

Gly Tyr Val Lys Val Glu Glu Tyr Gln Arg Met Ala Asp Asn Tyr Glu
85 90 95

Lys Gln Leu Lys Thr Leu Asn Asp Glu Leu Val Glu Leu Gln Gln His
Page 22

Untitled.ST25

100	105	110
Thr Ser Glu Lys Ala Ser Ala Thr Ile Ala Lys Leu Lys Glu Asp Ile	115	120
Lys Lys Leu Asp Glu Glu Val Gly Thr Leu His Glu Lys Leu Lys Gly	130	140
Ile Lys Gln Asp Phe Glu Lys Val Lys Arg Asp Leu Cys Val Thr Tyr	145	155
Leu Asn Ser Asn Gln Met Ser Lys Ala Lys Ala Lys Leu Lys Glu Met	165	175
Ala Ser Thr Tyr Leu Ile Glu Ile Val Gln Gln Gln Leu Asn Lys Ser	180	185
Asn Ala Asn Ile Met Pro Met Leu Glu Phe Ser Ala Ala Ile Pro Asp	195	205
Leu Asp Asp Met Gly Glu Ala Tyr Lys Glu Ile Tyr Lys Phe Leu Glu	210	220
Glu Gln Lys Arg Leu Glu Gly Glu Asp Ser Val Leu Leu Glu Ala Thr	225	235
Val Leu Lys Met Asn Ala Ser Leu Lys Glu Gly Ser Asn Ile Thr Asp	245	255
Glu Arg Arg Thr Gln Ile Glu Gly Leu Leu Lys Asp Leu Ala Thr Lys	260	265
Ser Thr Ile Val Phe Ser Thr Trp Thr Lys Glu Leu Lys Lys Ile Asn	275	285
Asp Ala Val Val Ile Lys Asn Ala Leu Asp His Met Phe Val Ser Gln	290	295
Met Lys Val Phe Gly Ala Leu Val Gly Asp Thr Ser Asp Phe Gly Ser	305	315
Ile Arg Asn Phe Val Lys Leu Thr Ile Val Cys Asn Asn Tyr Tyr Lys	325	335
Val Ala Ala Tyr Lys Glu Leu Ile Asp Arg Lys Ile Gly Asn Ala Leu	340	345
Gly Thr Ile Met Phe Asp Leu Leu Thr Leu Glu Val Asn Glu Met Lys	355	365
Phe Asp Pro His Val Pro Asp Glu Ile Pro Lys Leu Phe Glu Ala Thr		

Untitled.ST25
380

370

375

Leu Ser Ser Leu Pro Asn Ser Leu Thr Glu Leu Arg Thr Cys Leu Gly
385 390 395 400

Lys Val Gln Ile Tyr Asn Lys Lys Thr Asn Lys Cys Val Val Ala Thr
405 410 415

Gly Asn Asp Phe Asp Val His Lys Asp Lys Leu Gly Asp Phe Tyr Arg
420 425 430

Val Val Val Ala Asp Tyr Gly Cys Thr Ser Phe Arg Leu Glu Ala Ser
435 440 445

Gly Asp Lys Ala Ser Val Arg Ile Val Thr Pro Ser Gly Asn Pro Met
450 455 460

Ser Asn Val Asn Leu His Leu Glu Gly Asn Ser Leu His Asn Tyr Val
465 470 475 480

Ala Thr Pro Lys Ser Asn Lys Pro Asp Arg Thr Pro Ser Ser Asp
485 490 495

Glu Trp Ile Leu Asp Ala Asn Tyr Asn Asn Asp Thr Ile Lys Ile Glu
500 505 510

Ser Gln Phe Ser Asp Tyr Lys Thr Lys Lys Thr Glu Val Asp His Leu
515 520 525

Leu Val Arg Asp Ile Asn His Leu Pro His Val Leu Val Ala Arg Tyr
530 535 540

Gly Phe Met Gly Leu Lys Asn Ser Asp Ala Lys Asp Thr Ile Glu Trp
545 550 555 560

Asn Leu Lys Cys Gly Ser
565

<210> 19
<211> 567
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Protein

<400> 19

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

Ser Pro Val Phe Ser Glu Glu Asn Cys Asn Ile Pro Glu Ser Glu Leu
20 25 30

Untitled.ST25

Ser Lys Ile Asp Asp Val Leu Arg His Met Glu Lys Pro Ile Tyr Ser
 35 40 45
 Glu Asp His Tyr Thr Ser Asn Asn Glu Glu Cys Thr Asn Leu Leu Asn
 50 55 60
 Gly Ile His Ala Gln Leu Arg Arg Leu Thr Gln Arg Tyr Lys Leu Met
 65 70 75 80
 Asn Lys Gly Tyr Val Lys Val Glu Glu Tyr Lys Arg Met Ala Glu Asp
 85 90 95
 Tyr Glu Asn Gln Leu Lys Thr Leu Asn Ala Glu Leu Leu Glu Leu Gln
 100 105 110
 Glu His Thr Ser Asp Lys Ala Asn Ala Ala Ile Ala Lys Leu Lys Glu
 115 120 125
 Asp Ile Lys Lys Leu Asp Glu Asp Val Asp Thr Leu His Asn Lys Leu
 130 135 140
 Lys Gly Ile Lys Gln Asp Phe Glu Lys Val Lys Arg Asp Leu Cys Leu
 145 150 155 160
 Thr Tyr Leu Asn Ser Asn Gln Met Ser Asn Ala Lys Ala Lys Val Lys
 165 170 175
 Glu Met Ala Ser Thr Tyr Leu Ile Glu Ile Ile Gln Gln Arg Leu Asn
 180 185 190
 Thr Lys Tyr Ala Asn Ile Ile Pro Met Leu Asp Phe Ser Thr Ala Ile
 195 200 205
 Pro Asp Leu Asp Asp Arg Gly Glu Ala Tyr Lys Glu Ile Tyr Lys Phe
 210 215 220
 Ile Glu Thr His Glu Arg Leu Asp Gly Glu Asp Ala Val Leu Leu Glu
 225 230 235 240
 Ala Ser Leu Leu Lys Met Asn Ala Thr Leu Lys Glu Gly Ser Asn Ile
 245 250 255
 Thr Asp Glu Arg Arg Thr Glu Ile Glu Lys Met Leu Lys Glu Leu Ala
 260 265 270
 Glu Lys Ser Ala Val Val Phe Lys Thr Trp Ser Thr Glu Leu Lys Gly
 275 280 285
 Ile Glu Asp Thr Ile Ile Lys Tyr Ala Leu Asp His Leu Phe Val Asn
 290 295 300

Untitled.ST25

Gln Met Lys Val Phe Gly Gly Ile Val Gly Asp Thr Phe Glu Phe Ala
 305 310 315 320
 Pro Ile Arg His Leu Leu Lys Leu Leu Val Val Cys Asn Asn Tyr Tyr
 325 330 335
 Lys Val Ala Ala Tyr Lys Glu Leu Ile Asp Arg Lys Ile Gly Asn Val
 340 345 350
 Leu Gly Thr Ile Met Phe Asp Leu Thr Thr Leu Glu Ala Asn Glu Met
 355 360 365
 Ser Phe Asp Leu His Val Pro Asp Glu Ile Pro Lys Leu Phe Asn Ala
 370 375 380
 Thr Leu Gly Ser Leu Pro Asn Ser Leu Thr Gln Leu Leu Pro Cys Leu
 385 390 395 400
 Asn Lys Val His Val Tyr Asn Ala Lys Thr Asn Met Cys Ile Val Ala
 405 410 415
 Pro Glu Asp Arg Phe Asp Val Gln Gln Glu Lys Leu Thr Asp Phe His
 420 425 430
 Arg Val Val Leu Ala Lys Tyr Gly Cys Thr Ala Phe Arg Leu Glu Ser
 435 440 445
 Ser Pro Asn Lys Ala Ser Val Lys Phe Val Lys Pro Ser Gly Asn Ala
 450 455 460
 Leu Ser Ser Ile Asn Leu Gln Leu Glu Asn Asp Gln Trp His Ser His
 465 470 475 480
 Val Gly Thr Pro Thr Ala Asn Lys Pro Asp Arg Lys Pro Ser Ser Ser
 485 490 495
 Asp Glu Trp Ile Leu Asp Ala Asn Tyr Val Asn Asp Thr Val Lys Ile
 500 505 510
 Gln Ser Glu Phe Asn Glu Tyr Lys Ala Ser Gln Ala Glu Val Asp His
 515 520 525
 Leu Leu Val Met Asp Val Lys Tyr Leu Pro His Val Val Val Gly Arg
 530 535 540
 Tyr Gly Val Arg Gly Leu Lys Arg Ser Ser Ala Lys Asp Thr Ile Glu
 545 550 555 560
 Trp Tyr Leu Lys Cys Ala Ser
 565

Untitled.ST25

<210> 20
 <211> 321
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Protein D7

<400> 20

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

Ala Ser Thr Gly Pro Phe Asp Pro Glu Glu Met Leu Phe Thr Phe Thr
 20 25 30

Arg Cys Met Glu Asp Asn Leu Glu Asp Gly Pro Asn Arg Leu Pro Met
 35 40 45

Leu Ala Lys Trp Lys Glu Trp Ile Asn Glu Pro Val Asp Ser Pro Ala
 50 55 60

Thr Gln Cys Phe Gly Lys Cys Val Leu Val Arg Thr Gly Leu Tyr Asp
 65 70 75 80

Pro Val Ala Gln Lys Phe Asp Ala Ser Val Ile Gln Glu Gln Phe Lys
 85 90 95

Ala Tyr Pro Ser Leu Gly Glu Lys Ser Lys Val Glu Ala Tyr Ala Asn
 100 105 110

Ala Val Gln Gln Leu Pro Ser Thr Asn Asn Asp Cys Ala Ala Val Phe
 115 120 125

Lys Ala Tyr Asp Pro Val His Lys Ala His Lys Asp Thr Ser Lys Asn
 130 135 140

Leu Phe His Gly Asn Lys Glu Leu Thr Lys Gly Leu Tyr Glu Lys Leu
 145 150 155 160

Gly Lys Asp Ile Arg Gln Lys Lys Gln Ser Tyr Phe Glu Phe Cys Glu
 165 170 175

Asn Lys Tyr Tyr Pro Ala Gly Ser Asp Lys Arg Gln Gln Leu Cys Lys
 180 185 190

Ile Arg Gln Tyr Thr Val Leu Asp Asp Ala Leu Phe Lys Glu His Thr
 195 200 205

Asp Cys Val Met Lys Gly Ile Arg Tyr Ile Thr Lys Asn Asn Glu Leu
 210 215 220

Asp Ala Glu Glu Val Lys Arg Asp Phe Met Gln Val Asn Lys Asp Thr
 Page 27

Untitled.ST25															
225				230				235				240			
Lys	Ala	Leu	Glu	Lys ₂₄₅	Val	Leu	Asn	Asp	Cys ₂₅₀	Lys	Ser	Lys	Glu	Pro ₂₅₅	Ser
Asn	Ala	Gly	Glu ₂₆₀	Lys	Ser	Trp	His	Tyr ₂₆₅	Tyr	Lys	Cys	Leu	Val ₂₇₀	Glu	Ser
Ser	Val	Lys ₂₇₅	Asp	Asp	Phe	Lys	Glu ₂₈₀	Ala	Phe	Asp	Tyr	Arg ₂₈₅	Glu	Val	Arg
Ser	Gln ₂₉₀	Ile	Tyr	Ala	Phe	Asn ₂₉₅	Leu	Pro	Lys	Lys	Gln ₃₀₀	Val	Tyr	Ser	Lys
Pro ₃₀₅	Ala	Val	Gln	Ser	Gln ₃₁₀	Val	Met	Glu	Ile	Asp ₃₁₅	Gly	Lys	Gln	Cys	Pro ₃₂₀

G1n

```
<210> 21
<211> 323
<212> PRT
<213> Artificial sequence
```

<220>
<223> Protein D7

<400> 21

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

Leu Val Thr Ala Lys Gly Pro Phe Asp Pro Glu Glu Met His Phe Ile
20 25 30

Phe Thr Arg Cys Met Glu Asp Asn Leu Lys Asp Gly Pro Asp Arg Val
35 40 45

Lys Thr Leu Leu Lys Trp Lys Glu Trp Val Thr Glu Pro Lys Asp Asp
50 55 60

Pro Ala Thr His Cys Phe Ala Lys Cys Val Leu Glu Met Ser Gly Leu
65 70 75 80

Tyr Asp Ala Ala Ser Gly Lys Phe Asp Ala Ser Val Ile Glu Ala Gln
85 90 95

His Lys Ala Tyr Pro Asn Ser Glu Asp Lys Gly Lys Val Asp Ala Phe
100 105 110

Val Lys Ala Val Gln Ala Leu Pro Pro Thr Lys Asn Asp Cys Thr Ala
115 120 125

Untitled.ST25

Val Phe Arg Ala Phe Gly Pro Val His Met Ala His Lys Ala Thr Ser
130 135 140

Ile Asn Leu Phe His Asp Asn Lys Ala Leu Thr Lys Gly Ile Tyr Glu
145 150 155 160

Lys Leu Gly Lys Asp Ile Arg Gln Arg Lys Gln Ser Tyr Phe Glu Phe
165 170 175

Cys Glu Asn Lys His Tyr Pro Val Gly Ser Pro Lys Arg Ser Asp Leu
180 185 190

Cys Lys Ile Arg Gln Tyr Val Val Leu Asp Asp Ala Gln Phe Lys Gln
195 200 205

His Thr Asp Cys Ile Met Lys Gly Leu Arg Tyr Ile Thr Lys Asp Asn
210 215 220

Ile Leu Asn Cys Asp Glu Ile Lys Arg Asp Phe Lys Gln Val Asn Lys
225 230 235 240

Asp Thr Gly Ala Leu Glu Lys Val Leu Asn Thr Cys Lys Ala Lys Glu
245 250 255

Pro Arg Asp Val Lys Glu Lys Ser Trp His Tyr Tyr Lys Cys Leu Val
260 265 270

Glu Ser Ser Val Ala Asn Asp Phe Lys Glu Ala Phe Asp Tyr Arg Glu
275 280 285

Val Arg Ser Gln Asn Tyr Gly Tyr His Leu Met Gln Lys Gln Pro Tyr
290 295 300

Asn Lys Pro Ala Val Gln Ala Gln Val Ser Glu Val Asp Gly Lys Gln
305 310 315 320

Cys Pro Ser

<210> 22
<211> 272
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Protein

<400> 22

Met Lys Pro Leu Val Lys Leu Phe Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly Ile
1 5 10 15

Val Leu Ser Arg Pro Met Pro Glu Asp Glu Glu Pro Val Ala Glu Gly
Page 29

Untitled.ST25

20	25	30		
Gly Asp Asp Asp Ala Ser Gly Glu Ser Glu Gly Glu Glu Glu Thr Thr	35	40	45	
Asp Asp Ala Gly Gly Asp Gly Gly Glu Glu Glu Asn Glu Gly Glu Glu	50	55	60	
His Ala Gly Asp Lys Asp Ala Gly Gly Glu Asp Thr Gly Lys Glu Glu	65	70	75	80
Asn Thr Gly His Asp Asp Ala Gly Glu Glu Asp Ala Gly Glu Glu Asp	85	90	95	
Ala Gly Glu Glu Asp Ala Gly Glu Glu Asp Ala Gly Glu Glu Asp Ala	100	105	110	
Glu Lys Glu Glu Gly Glu Lys Glu Asp Ala Gly Asp Asp Ala Gly Ser	115	120	125	
Asp Asp Gly Glu Glu Asp Ser Thr Gly Gly Asp Glu Gly Glu Asp Asn	130	135	140	
Ala Glu Asp Ser Lys Gly Ser Glu Lys Asn Asp Pro Ala Asp Thr Tyr	145	150	155	160
Arg Gln Val Val Ala Leu Leu Asp Lys Asp Thr Lys Val Asp His Ile	165	170	175	
Gln Ser Glu Tyr Leu Arg Ser Ala Leu Asn Asn Asp Leu Gln Ser Glu	180	185	190	
Val Arg Val Pro Val Val Glu Ala Ile Gly Arg Ile Gly Asp Tyr Ser	195	200	205	
Lys Ile Gln Gly Cys Phe Lys Ser Met Gly Lys Asp Val Lys Lys Val	210	215	220	
Ile Ser Glu Glu Glu Lys Lys Phe Lys Ser Cys Met Ser Lys Lys Lys	225	230	235	240
Ser Glu Tyr Gln Cys Ser Glu Asp Ser Phe Ala Ala Ala Lys Ser Lys	245	250	255	
Leu Ser Pro Ile Thr Ser Lys Ile Lys Ser Cys Val Ser Ser Lys Arg	260	265	270	

<210> 23
 <211> 258
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

Untitled.ST25

<220>

<223> Protein

<400> 23

Met Lys Pro Leu Val Lys Leu Phe Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly Ile
 1 5 10 15

Val Leu Ser Arg Pro Met Pro Glu Asp Glu Glu Pro Val Ala Glu Gly
 20 25 30

Gly Asp Glu Glu Thr Thr Asp Asp Ala Gly Gly Asp Gly Gly Glu Glu
 35 40 45

Glu Asn Glu Gly Glu Glu His Ala Gly Asp Glu Asp Ala Gly Gly Glu
 50 55 60

Asp Thr Gly Lys Glu Glu Asn Thr Gly His Glu Asp Ala Gly Glu Glu
 65 70 75 80

Asp Ala Gly Glu Glu Asp Ala Gly Glu Glu Asp Ala Gly Glu Glu Asp
 85 90 95

Ala Glu Lys Glu Glu Gly Glu Lys Glu Asp Ala Gly Asp Asp Ala Gly
 100 105 110

Ser Asp Asp Gly Glu Glu Asp Ser Thr Gly Gly Asp Glu Gly Glu Ala
 115 120 125

Asn Ala Glu Asp Ser Lys Gly Ser Glu Lys Asn Asp Pro Ala Asp Thr
 130 135 140

Tyr Arg Gln Val Val Ala Leu Leu Asp Lys Asp Thr Lys Val Asp His
 145 150 155 160

Ile Gln Ser Glu Tyr Leu Arg Ser Ala Leu Asn Asn Asp Leu Gln Ser
 165 170 175

Glu Val Arg Val Pro Val Val Glu Ala Ile Gly Arg Ile Gly Asp Tyr
 180 185 190

Ser Lys Ile Gln Gly Cys Phe Lys Ser Met Gly Lys Asp Val Lys Lys
 195 200 205

Val Ile Ser Glu Glu Glu Lys Lys Phe Lys Ser Cys Met Ser Lys Lys
 210 215 220

Lys Ser Glu Tyr Gln Cys Ser Glu Asp Ser Phe Ala Ala Ala Lys Ser
 225 230 235 240

Lys Leu Ser Pro Ile Thr Ser Lys Ile Lys Ser Cys Val Ser Ser Lys
 245 250 255

Untitled.ST25

Gly Arg

<210> 24
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Protein

<400> 24

Met Lys Tyr Leu Leu Thr Phe Leu Met Ala Leu Ser Leu Val Asn Leu
 1 5 10 15

Met Leu Thr Arg Pro Thr Pro Glu Asp Asp Gly Gly Thr Ser Glu Glu
 20 25 30

Pro Gln Thr Gln Glu Thr Thr Gly Ser Asp Glu Lys Asn Gly Ala Ser
 35 40 45

Glu Glu Pro Asn Ala Asp Asp Ala Ser Lys Pro Asp Asp Val Glu Glu
 50 55 60

Lys Gly Asp Asp Asp Thr Ala Lys Lys Glu Asp Asp Gly Glu Ser Lys
 65 70 75 80

Asp Gly Glu Gly Ser Glu Lys Ser Asp Lys Glu Lys Gly Glu Pro Lys
 85 90 95

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

Ile Lys Val Asp Asn Val Glu Asp Gly His Glu Arg Ser Glu Leu Ala
 115 120 125

Ala Asp Ile Gln Arg Tyr Leu Arg Asn Pro Ile Val Asp Val Ile Gly
 130 135 140

Ser Ala Gly Asp Phe Ser Lys Ile Ala Lys Cys Phe Lys Ser Met Val
 145 150 155 160

Gly Asp Ala Lys Lys Ala Ile Glu Glu Asp Val Lys Gly Phe Lys Glu
 165 170 175

Cys Thr Ala Lys Lys Asp Ser Asn Ala Tyr Gln Cys Ser Gln Asp Arg
 180 185 190

Ser Thr Val Gln Asp Lys Ile Ala Lys Met Ser Ser Lys Ile Ala Ser
 195 200 205

Cys Val Ala Ser Asn Arg Ser

Untitled.ST25

210

215

<210> 25
 <211> 204
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Protein

<400> 25

Met Gln Leu Phe Pro Ile Ser Leu Val Val Ser Cys Leu Val Phe Ser
 1 5 10 15

Phe Val Leu Ser Leu Pro Leu Pro Glu Glu Glu Ala Ser Thr Ser Glu
 20 25 30

Glu Thr Glu Ala Thr Thr Glu Ala Glu Ser Ala Ala Ala Asp Glu Thr
 35 40 45

Thr Ala Thr Gly Ala Asp Asp Ala Glu Ser Gly Ser Ser Glu Lys Asn
 50 55 60

Asn Glu Gly Gly Glu Thr Ser Ala Pro Glu Ala Lys Glu Glu Gly Ser
 65 70 75 80

Gly Lys Asp Asp Arg Leu Asp Thr Tyr Asn Lys Val Asn Glu Leu Leu
 85 90 95

Asp Lys Gly Thr Gly Val Asn Asn Val Glu Asn Gly Phe Leu Arg Ala
 100 105 110

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

Ala Ile Gly Leu Val Gly Asp Phe Ser Lys Ile Ala Gly Cys Phe Thr
 130 135 140

Ser Met Gly Ala Asp Val Lys Lys Ile Val Asp Asp Lys Leu Lys Ser
 145 150 155 160

Phe Thr Thr Cys Lys Ser Gly Lys Glu Ala Gly Asp Ala Lys Cys Ser
 165 170 175

Glu Asp Gly Ser Ser Val Gly Gly Gln Phe Asp Gln Ile Thr Ser Lys
 180 185 190

Ile Lys Glu Cys Val Ser Ser Lys Gly Lys Gly Lys
 195 200

<210> 26
 <211> 209
 <212> PRT

Untitled.ST25

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Protein

<400> 26

Met Arg Ser Leu Leu Val Leu Phe Ala Ala Leu Cys Leu Val Gly Phe
 1 5 10 15

Val Leu Ala Lys Pro Ile Pro Glu Asp Asp Thr Glu Ala Thr Thr Glu
 20 25 30

Glu Pro Lys Ala Glu Asp Ala Ala Glu Gln Thr Thr Ala Glu Asp Ala
 35 40 45

Gly Gly Ser Asp Gly Glu Lys Asn Asp Asp Glu Lys Pro Ser Asp Asp
 50 55 60

Ala Ala Ser Asn Asp Gln Pro Lys Asp Val Glu Gly Gly Glu Asp Gly
 65 70 75 80

Lys Glu Ser Pro Lys Thr Glu Gly Glu Ala Lys Asn Asp Pro Gln Glu
 85 90 95

Thr Tyr Asn Lys Val Ile Glu Leu Leu Asp Gln Ile Lys Val Asp Asn
 100 105 110

Val Glu Asn Gly Tyr Glu Arg Ser Glu Leu Thr Ser Asp Leu Gln Thr
 115 120 125

Tyr Leu Arg Asn Pro Ile Val Asp Ala Ile Thr Val Gly Asp Phe Ser
 130 135 140

Lys Ile Ala Asp Cys Phe Lys Ser Met Gly Asp Glu Ala Lys Lys Ala
 145 150 155 160

Ile Glu Glu Glu Leu Lys Ala Phe Lys Glu Cys Thr Asp Lys Lys Glu
 165 170 175

Ser Asp Ala Tyr Gln Cys Ser Lys Asn His Ser Thr Val Gln Gly Lys
 180 185 190

Ile Ala Lys Ile Ser Ser Thr Ile Asn Ser Cys Val Val Ser Lys Arg
 195 200 205

Ala

<210> 27

<211> 537

<212> PRT

<213> Artificial sequence

Untitled.ST25

<220>

<223> Apyrase 5' nucleotidase

<400> 27

Met Ala Arg Leu Ser Phe Val Pro Leu Val Ile Ser Phe Leu Ser Cys
1 5 10 15

Thr Thr Ala Leu Ser Glu Lys Ser Leu Phe Pro Leu Ser Ile Ile His
20 25 30

Val Asn Asp Ile His Ala Arg Phe Glu Glu Thr Asn Tyr Val Gly Thr
35 40 45

Val Cys Lys Pro His Glu Gly Gln Val Cys Ile Gly Gly Tyr Ala Arg
50 55 60

Thr Val Thr Val Val Lys His Leu Leu Arg Ile Arg Gln Asn Pro Leu
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Ala Gly Asp Asn Phe Gln Gly Thr Leu Trp Tyr Asn Met
85 90 95

Phe Arg Trp Asn Val Thr Ser Thr Phe Leu Asn Met Leu Pro Ala Asp
100 105 110

Ala Met Thr Leu Gly Asn His Glu Phe Asp Asn Gly Val Asp Gly Val
115 120 125

Ile Pro Phe Leu Asp Thr Ala Ser Ser Pro Val Leu Leu Cys Asn Val
130 135 140

Asp Ala Ser Glu Val Pro Glu Phe Val Lys Tyr Glu Lys Ser Ile Val
145 150 155 160

Ile Glu Arg Ala Gly Arg Lys Ile Gly Ile Ile Gly Val Ile Leu Lys
165 170 175

Asn Thr Ser Val Ile Ser Asn Pro Gly Lys Leu Arg Phe Leu Asp Glu
180 185 190

Ala Ser Ser Val Lys Ser Glu Ala Gln Ile Leu Lys Asn Gln Gly Ile
195 200 205

Asp Ile Ile Val Val Leu Ser His Cys Gly Val Asp Val Asp Arg Arg
210 215 220

Ile Ala Thr Glu Gly Gly Glu His Val Asp Ile Ile Val Gly Gly His
225 230 235 240

Ser His Thr Phe Leu Tyr Ser Gly Asn Asn Thr Gly Ile Pro Gly Thr
245 250 255

Untitled.ST25

Val Gln Gly Ser Tyr Pro Thr Val Val Thr His Ala Ser Gly His Lys
 260 265 270
 Val Leu Ile Val His Ala Ala Ala Tyr Thr Lys Leu Val Gly Asp Ile
 275 280 285
 Val Leu Tyr Phe Asp Glu Gln Gly Ile Ile Gln Arg Trp Glu Gly Asn
 290 295 300
 Pro His Tyr Leu Asp Pro Glu Val Val Pro Asp Pro Glu Val His Lys
 305 310 315 320
 Ala Leu Leu Pro Trp Lys Leu Ala Val Asp Glu Leu Gly Asn Arg Ile
 325 330 335
 Ile Gly Thr Thr Ile Thr Asp Leu Pro Arg Leu Gly Cys Asn Tyr Arg
 340 345 350
 Glu Cys Ala Leu Gly Asn Leu Ile Ser Asp Ala Phe Val Asp Ser Ser
 355 360 365
 Ala Tyr Met Ala Glu Pro Gly His Trp Ser Tyr Ala Ser Ile Gly Leu
 370 375 380
 Thr Asn Thr Gly Gly Ile Arg Val Gly Leu Ser Lys Gly Asp Ile Ser
 385 390 395 400
 Tyr Lys Ser Leu Ile Glu Val Ile Pro Phe Glu Asn Thr Val Asp Phe
 405 410 415
 Ile Glu Leu Arg Gly Asp His Leu Leu Arg Val Leu Glu His Gly Thr
 420 425 430
 Ala Lys Ser Asn Ile Gln Ile Ser Gly Leu Arg Val Val Tyr Asn Met
 435 440 445
 Thr Glu Pro Tyr Gly Asn Arg Val Lys Ser Val Gln Ala Arg Cys His
 450 455 460
 Gly Cys Ser Glu Pro Arg Phe Asp Pro Leu Asp Pro Phe Lys Tyr Tyr
 465 470 475 480
 Arg Val Ala Val Asn Ser His Met Ala Gly Gly Gly Gly Gly Phe Thr
 485 490 495
 Met Phe Glu Glu Phe Gly Arg Asn Lys Val Val Gly Asp Val Glu Ile
 500 505 510
 Asn Ala Leu Val Arg Phe Val Gln Lys Arg Ser Pro Leu Arg Tyr Glu
 515 520 525

Untitled.ST25

Val Glu Gly Arg Val Thr Val Leu Asn
530 535

<210> 28
<211> 537
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> apyrase 5' nucleotidase

<400> 28

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

Met Thr Val Ile Ala Glu Lys Pro Leu Phe Pro Leu Ser Ile Ile His
20 25 30

Val Asn Asp Ile His Ala Arg Phe Glu Glu Thr Asn Tyr Val Gly Thr
35 40 45

Val Cys Lys Pro His Glu Gly Gln Val Cys Ile Gly Gly Tyr Ala Arg
50 55 60

Thr Val Thr Val Val Lys His Leu Leu Arg Ile Arg Gln Asn Pro Leu
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Ala Gly Asp Asn Phe Gln Gly Thr Leu Trp Tyr Asn Met
85 90 95

Phe Arg Trp Asn Val Thr Ser Thr Phe Leu Asn Met Leu Pro Ala Asp
100 105 110

Ala Met Thr Leu Gly Asn His Glu Phe Asp Asn Gly Val Asp Gly Val
115 120 125

Ile Pro Phe Leu Asp Thr Val Ser Ser Pro Val Leu Leu Cys Asn Val
130 135 140

Asp Ala Ser Glu Glu Pro Glu Phe Val Lys Tyr Glu Lys Ser Ile Val
145 150 155 160

Ile Glu Arg Ala Gly Arg Lys Ile Gly Ile Ile Gly Val Ile Leu Lys
165 170 175

Asn Thr Ser Val Ile Ser Asn Pro Gly Lys Leu Arg Phe Leu Asp Glu
180 185 190

Ala Ser Ser Val Lys Ser Glu Ala His Ile Leu Lys Asp Gln Gly Ile
195 200 205

Asp Ile Ile Val Val Leu Ser His Cys Gly Val Asp Val Asp Arg Arg
Page 37

Untitled.ST25

210 215 220
 Ile Ala Thr Glu Gly Gly Glu His Val Asp Ile Ile Val Gly Gly His
 225 230 235 240
 Ser His Thr Phe Leu Tyr Ser Gly Asn Asn Thr Gly Ile Pro Gly Thr
 245 250 255
 Val Gln Gly Ser Tyr Pro Ile Val Val Thr His Ala Ser Gly His Lys
 260 265 270
 Val Leu Ile Val Gln Ala Ala Ala Tyr Thr Lys Leu Val Gly Asp Ile
 275 280 285
 Val Leu Tyr Phe Asp Glu Gln Gly Ile Ile Gln Arg Trp Glu Gly Asn
 290 295 300
 Pro His Tyr Leu Asp Pro Glu Val Val Pro Asp Pro Glu Val His Lys
 305 310 315 320
 Ala Leu Leu Pro Trp Lys Leu Ala Val Asp Glu Leu Gly Asn Arg Ile
 325 330 335
 Ile Gly Thr Thr Met Thr Gly Leu Pro Arg Leu Asn Cys Asn Tyr Arg
 340 345 350
 Glu Cys Ala Leu Gly Asn Leu Ile Ser Asp Ala Phe Val Asp Ser Ser
 355 360 365
 Ala Tyr Met Ala Glu Pro Gly His Trp Ser Tyr Ala Ser Ile Gly Leu
 370 375 380
 Thr Asn Thr Gly Gly Ile Arg Val Gly Leu Ser Lys Gly Asp Ile Ser
 385 390 395 400
 Tyr Lys Ser Leu Ile Glu Val Ile Pro Phe Glu Asn Thr Val Asp Phe
 405 410 415
 Ile Glu Leu Arg Gly Asp His Leu Leu Arg Val Leu Glu His Gly Thr
 420 425 430
 Ala Lys Ser Asn Ile Gln Ile Ser Gly Leu Arg Val Val Tyr Asn Met
 435 440 445
 Thr Glu Pro Tyr Gly Asn Arg Val Lys Ser Val Gln Ala Arg Cys His
 450 455 460
 Asp Cys Ser Glu Pro Arg Phe Asp Pro Leu Asp Pro Phe Lys Tyr Tyr
 465 470 475 480
 Arg Val Ala Val Asn Ser His Met Ala Gly Gly Gly Gly Gly Phe Thr

Untitled.ST25

485

490

495

Met Phe Glu Glu Phe Gly Arg Asn Lys Val Val Gly Asp Val Glu Ile
 500 505 510

Asn Ala Leu Val Arg Phe Val Gln Lys Arg Ser Pro Leu Arg Tyr Glu
 515 520 525

Val Glu Gly Arg Val Thr Val Leu Asn
 530 535

<210> 29
 <211> 552
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Apyrase 5' nucleotidase

<400> 29

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

Leu Ile Glu Gly Ser Ser Phe Lys Leu Lys Ile Ile His Phe Asn Asp
 20 25 30

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

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

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

Gly Asp Val Phe Gln Gly Thr Ile Trp Tyr Thr Leu Leu Lys Trp Asn
 85 90 95

Val Ser Gln Gln Phe Met Asn Met Val Lys Ala Asp Ala Met Thr Leu
 100 105 110

Gly Asn His Glu Phe Asp Asp Ser Phe Pro Val Leu Ile Pro Phe Leu
 115 120 125

Glu Asn Thr Lys Asn Val Thr Pro Val Val Val Ser Asn Leu Val Phe
 130 135 140

Pro Lys Gln Leu Ser Arg Asp Val Thr Lys Phe Arg Ser Leu Ile Lys
 145 150 155 160

Glu Asp Pro Leu Val Leu Thr Val Gly Gly Gln Ser Ile Gly Ile Ile
 165 170 175

Untitled.ST25

Gly Val Ile Phe Asp Glu Thr Asp Lys Ile Gly Asn Ala Asp Pro Leu
 180 185 190
 Lys Phe Lys Ser Ser Ile Glu Thr Val Arg Ile Ala Ala Lys Gln Leu
 195 200 205
 Lys Ser Lys Gly Val Asn Ile Ile Ile Val Leu Ser His Cys Gly Val
 210 215 220
 Phe Asp Asp Lys Lys Ile Ala Glu Gln Ala Gly Glu Asp Ile Asp Ile
 225 230 235 240
 Ile Val Gly Gly His Thr His Thr Leu Leu Tyr Asn Gly Asp Pro Pro
 245 250 255
 Ser Lys His Ala Ala Leu Asp Lys Tyr Pro Ile Val Val Glu Thr Gly
 260 265 270
 Asn Asn His Lys Val Leu Ile Val Gln Ala Phe Cys His Gly His Tyr
 275 280 285
 Val Gly Asn Ile Asp Leu Thr Phe Asp Asp Glu Gly Glu Ile Thr Ala
 290 295 300
 Phe Glu Gly Gln Pro Ile Tyr Gln Glu Asn Arg Ile Glu Lys Asn Ala
 305 310 315 320
 Leu Val Glu Ala Arg Val Arg Glu Leu Arg Lys Asp Val Glu Val Lys
 325 330 335
 Ser Leu Val Lys Val Gly Glu Ser Lys Leu Glu Leu Ser Asn Asp Cys
 340 345 350
 Arg Leu Lys Asp Cys Thr Phe Gly Ser Val Leu Ala Asp Ala Tyr Val
 355 360 365
 Trp His Phe Arg Ser Arg Ser Asn Ala Pro Met Ile Ala Met Ile His
 370 375 380
 Pro Gly Asn Phe Arg Ile Ser Leu Ala Ala Gly Val Ile Thr Arg Gly
 385 390 395 400
 Gln Ile Leu Thr Ala Leu Pro Phe Asn Ser Asn Ala Asn Arg Val Thr
 405 410 415
 Val Leu Gly Ser Thr Ile Lys Lys Ala Ile Glu Phe Gly Thr Ser Ile
 420 425 430
 Asn Pro Arg Arg Cys Ser Phe Asn Ala Leu Gln Thr Ala Gly Ile Lys
 435 440 445

Untitled.ST25

Ile Asp Val Asp Tyr Gly Lys Pro Val Gly Asn Arg Thr Val Ile Leu
 450 455 460

Leu Lys Thr Gly Gly Lys Tyr Lys Arg Leu Val Glu Ser Lys Lys Tyr
 465 470 475 480

Asp Ile Leu Val Asn Ser Tyr Val Phe Lys Gly Gly Asp Gly Phe Asp
 485 490 495

Met Phe Lys His Leu Ala Val Lys Gly Arg Ala Pro Phe Asp Ala Glu
 500 505 510

Leu Leu Glu Gln Tyr Ile Val Ala Arg Lys Gly Ile Gln Lys Ser Gly
 515 520 525

Leu Leu Gln Ser Arg Met Asn Val Ser His Val Glu Lys Ala Leu Ser
 530 535 540

Glu Val Lys Ser Cys Lys Gln Arg
 545 550

<210> 30
 <211> 564
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <223> Apyrase 5' nucleotidase

<400> 30

Met Ala Gly Lys Pro Gly Ile Gln Leu Phe Val Ile Phe Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Ser Ser Phe Ala Ala Val Val Trp Thr Thr Asp Asn Met Pro Ala Asp
 20 25 30

Lys Asp Val Ser Lys Leu Phe Pro Leu Thr Leu Ile His Ile Asn Asp
 35 40 45

Leu His Ala Arg Phe Asp Glu Thr Asn Met Lys Ser Asn Ala Cys Thr
 50 55 60

Ala Lys Asp Gln Cys Ile Ala Gly Ile Ala Arg Val Tyr Gln Lys Ile
 65 70 75 80

Gln Asp Leu Leu Lys Glu Tyr Lys Ser Lys Asn Ala Ile Tyr Leu Asn
 85 90 95

Ala Gly Asp Asn Phe Gln Gly Thr Leu Trp Tyr Asn Leu Leu Arg Trp
 100 105 110

Gln Val Thr Ala Asp Phe Ile Thr Lys Leu Lys Pro Thr Ala Met Thr
 Page 41

Untitled.ST25

115 120 125
 Leu Gly Asn His Glu Phe Asp His Thr Pro Lys Gly Leu Ala Pro Tyr
 130 135 140
 Leu Ala Glu Leu Asp Lys Ala Gly Ile Pro Thr Leu Val Ala Asn Leu
 145 150 155 160
 Val Met Asn Asp Asp Pro Asp Leu Lys Ser Ser Lys Ile Gln Lys Ser
 165 170 175
 Ile Lys Val Thr Val Gly Gly Lys Thr Ile Gly Ile Ile Gly Val Leu
 180 185 190
 Tyr Asp Lys Thr His Glu Ile Ala Gln Thr Gly Lys Val Thr Leu Ser
 195 200 205
 Asn Ala Val Glu Thr Val Lys Arg Glu Ala Ala Ala Leu Lys Lys Asp
 210 215 220
 Lys Val Asp Ile Ile Val Val Leu Ser His Cys Ser Tyr Asp Glu Asp
 225 230 235 240
 Lys Lys Ile Ala Lys Glu Ala Gly Gln Asp Ile Asp Val Ile Val Gly
 245 250 255
 Ala His Ser His Ser Phe Leu Tyr Ser Lys Glu Ser Asn Lys Pro Tyr
 260 265 270
 Asp Gln Lys Asp Lys Ile Glu Gly Pro Tyr Pro Thr Ile Val Glu Ser
 275 280 285
 Asn Asn Lys Arg Lys Ile Pro Ile Val Gln Ala Lys Ser Phe Gly Lys
 290 295 300
 Tyr Val Gly Arg Leu Thr Leu Tyr Phe Asp Asn Glu Gly Glu Val Lys
 305 310 315 320
 His Trp Glu Gly Tyr Pro Glu Phe Ile Asp Asn Lys Val Lys Gln Asp
 325 330 335
 Pro Lys Ile Leu Glu Ala Leu Ile Pro Trp Arg Lys Lys Val Gln Glu
 340 345 350
 Ile Gly Ser Thr Lys Val Gly Glu Thr Thr Ile Glu Leu Asp Arg Asp
 355 360 365
 Ser Cys Arg Asp Lys Glu Cys Thr Leu Gly Val Leu Tyr Ala Asp Ala
 370 375 380
 Phe Ala Asp His Tyr Thr Asn Ser Ser Phe Arg Pro Phe Ala Ile Ile
 385 390 395

Untitled.ST25

385	390	395	400
Gln Ala Gly Asn Phe Arg Asn Pro Ile Lys Val Gly Lys Ile Thr Asn	405	410	415
Gly Asp Ile Ile Glu Ala Ala Pro Phe Gly Ser Thr Ala Asp Leu Ile	420	425	430
Arg Leu Lys Gly Asp Ser Leu Trp Ala Val Ala Glu His Ser Phe Ala	435	440	445
Leu Asp Asp Glu Asn Arg Thr Asn Cys Leu Gln Val Ser Gly Leu Arg	450	455	460
Ile Val Ile Asp Pro Ser Lys Lys Ile Gly Ser Arg Val Val Lys Ile	465	470	475
Asp Val Met Asp Asn Arg Asn Pro Lys Ser Glu Asp Leu Lys Pro Leu	485	490	495
Asp Lys Asn Ala Glu Tyr Phe Ile Ala Leu Pro Ser Tyr Leu Ala Asp	500	505	510
Gly Lys Asp Gly Phe Ser Ala Met Lys Lys Ala Thr Ala Arg Trp Thr	515	520	525
Gly Pro Leu Asp Ser Asp Val Phe Lys Ser Tyr Val Glu Lys Ile Lys	530	535	540
Lys Val Asp Lys Leu Lys Trp Gly Arg Val Ile Val Cys Lys Ala Gly	545	550	555
Ser Pro Cys Thr			560



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 734562
FR 1000172

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X,D	POINSIGNON ANNE ET AL: "Human IgG response to a salivary peptide, gSG6-P1, as a new immuno-epidemiological tool for evaluating low-level exposure to Anopheles bites." MALARIA JOURNAL 2009 LNKD-PUBMED:19674487, vol. 8, 2009, page 198, XP002592259 ISSN: 1475-2875 * le document en entier * * en particulier: * * abrégé * * page 7, colonne de gauche, ligne 10 - ligne 17 *	1-3,5, 7-10	G01N33/68 G01N33/53
X	POINSIGNON ANNE ET AL: "Novel Peptide Marker Corresponding to Salivary Protein gSG6 Potentially Identifies Exposure to Anopheles Bites" PLOS ONE, vol. 3, no. 6, juin 2008 (2008-06), XP002592260 ISSN: 1932-6203 * le document en entier * * en particulier: * * abrégé * * figure 2 * * page 6, colonne de gauche, dernier alinéa - colonne de droite, alinéa 1 * ----- -/--	1-3,5, 7-10	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) G01N
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
16 juillet 2010		Tuyman, Antonin	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 734562
FR 1000172

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
Y	DRAME PAPA MAKHTAR ET AL: "HUMAN ANTIBODY RESPONSE TO ANOPHELES GAMBIAE SALIVA: A NEW IMMUNO-EPIDEMIOLOGICAL MARKER TO EVALUATE THE EFFECTIVENESS OF INSECTICIDES TREATED NETS (ITNS)?" AMERICAN JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE, vol. 79, no. 6, Suppl. S, décembre 2008 (2008-12), page 358, XP008124368 & 57TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-TROPICAL-MEDICINE-AND-HYGIENE; NEW ORLEANS, LA, USA; DECEMBER 07-11, 2008 * abrégé *	1-3,5, 7-10	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Y	WO 2009/034041 A2 (PEPTCELL LTD [GB]; STOLOFF GREGORY ALAN [GB]; CAPARROS-WANDERLEY WILSO) 19 mars 2009 (2009-03-19) * page 8, dernier alinéa * * séquence 85 *	1-3,5, 7-10	
Y	BARNES KAREN I ET AL: "Effect of artemether-lumefantrine policy and improved vector control on malaria burden in KwaZulu-Natal, South Africa." PLOS MEDICINE NOV 2005 LNKD-PUBMED:16187798, vol. 2, no. 11, novembre 2005 (2005-11), page E330, XP002592261 ISSN: 1549-1676 * le document en entier * -/--	8,9	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
16 juillet 2010		Tuynman, Antonin	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE PARTIEL**
établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche
voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 734562
FR 1000172

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
T	DRAME PAPA M ET AL: "Human antibody response to Anopheles gambiae saliva: an immuno-epidemiological biomarker to evaluate the efficacy of insecticide-treated nets in malaria vector control." THE AMERICAN JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE JUL 2010 LNKD-PUBMED:20595489, vol. 83, no. 1, juillet 2010 (2010-07), pages 115-121, XP008124370 ISSN: 1476-1645 * le document en entier * -----	1-3,5, 7-10	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
16 juillet 2010		Tuyman, Antonin	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

1
EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1000172 FA 734562

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **16-07-2010**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2009034041 A2	19-03-2009	AR 068428 A1	18-11-2009
		AU 2008297213 A1	19-03-2009
		CA 2699467 A1	19-03-2009
		EP 2182972 A2	12-05-2010
		PE 06822009 A1	22-06-2009

ABSENCE D'UNITÉ D'INVENTION
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE B

Numéro de la demande

FA 734562
 FR 1000172

La division de la recherche estime que la présente demande de brevet ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir :

1. revendications: 1-3, 5, 7-10(toutes en partie)

Évaluation de l'efficacité de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses utilisant comme biomarqueurs la protéine de séquence SEQ ID No 1 ou la réponse anticorps humains à cette protéine.

2-30. revendications: 1-10(en partie)

Évaluation de l'efficacité de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses utilisant comme biomarqueurs des protéines de séquence SEQ ID No 2-30 ou la réponse anticorps humains à ces protéines. Chaque SEQ ID No correspond avec le No de la groupe d'inventions.

La première invention a été recherchée.

Le problème à résoudre dans la présente demande (PA) est relatif à l'évaluation de l'efficacité de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses. Le concept général unique qui peut être identifié comme liaison entre les sujets différents revendiqués et qui constitue une solution pour le problème mentionné ci-dessus, est donc que "les protéines salivaires immunogéniques et spécifiques des moustiques Anopheles ou Aedes ou la réponse anticorps humains à ces protéines sont des biomarqueurs pour l'évaluation de l'efficacité de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses". Néanmoins, dans le document Poinsignon, A. et al. 2009 (ci-après nommé D1, passages pertinents cités dans le rapport de recherche) et Poinsignon, A. et al. 2008 (ci-après nommé D2, passages pertinents cités dans le rapport de recherche) des biomarqueurs pareils ont déjà été décrits pour la même évaluation.

En vue de D1 et D2, chaque document considéré en soi-même, le concept général unique identifié n'est donc ni nouveau ni inventif et ne peut pas constituer le concept général unique et inventif. Par voie de conséquence, l'unité d'invention requise n'existe pas dans la présente demande.

Par voie de conséquence, les diverses inventions, n'appartenant pas à un concept inventif commun, sont formulées comme des sujets différents ainsi que notifié ci-dessous:

1-30) Évaluation de l'efficacité de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses utilisant comme biomarqueurs des protéines de séquence SEQ ID No 1-30 ou la réponse anticorps humains à ces protéines. Chaque SEQ ID No correspond avec le No de la groupe d'inventions.

Nulle autre caractéristique ne peut être distinguée qui pourrait constituer un lien technique entre chacune de ces inventions particulières revendiquées et qui pourrait être considérée comme une caractéristique technique spéciale.

Le premier sujet (se rapportant à la séquence SEQ ID No 1) a été

**ABSENCE D'UNITÉ D'INVENTION
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE B**

Numéro de la demande

FA 734562
FR 1000172

La division de la recherche estime que la présente demande de brevet ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir :

recherché.



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 734562
FR 1000172

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X,D	POINSIGNON ANNE ET AL: "Human IgG response to a salivary peptide, gSG6-P1, as a new immuno-epidemiological tool for evaluating low-level exposure to Anopheles bites." MALARIA JOURNAL 2009 LNKD-PUBMED:19674487, vol. 8, 2009, page 198, XP002592259 ISSN: 1475-2875 * le document en entier * * en particulier: * * abrégé * * page 7, colonne de gauche, ligne 10 - ligne 17 *	1-3,5, 7-10	G01N33/68 G01N33/53
X	POINSIGNON ANNE ET AL: "Novel Peptide Marker Corresponding to Salivary Protein gSG6 Potentially Identifies Exposure to Anopheles Bites" PLOS ONE, vol. 3, no. 6, juin 2008 (2008-06), XP002592260 ISSN: 1932-6203 * le document en entier * * en particulier: * * abrégé * * figure 2 * * page 6, colonne de gauche, dernier alinéa - colonne de droite, alinéa 1 * ----- -/--	1-3,5, 7-10	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) G01N
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
16 juillet 2010		Tuyman, Antonin	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

1
EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 734562
FR 1000172

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
Y	DRAME PAPA MAKHTAR ET AL: "HUMAN ANTIBODY RESPONSE TO ANOPHELES GAMBIAE SALIVA: A NEW IMMUNO-EPIDEMIOLOGICAL MARKER TO EVALUATE THE EFFECTIVENESS OF INSECTICIDES TREATED NETS (ITNS)?" AMERICAN JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE, vol. 79, no. 6, Suppl. S, décembre 2008 (2008-12), page 358, XP008124368 & 57TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-TROPICAL-MEDICINE-AND-HYGIENE; NEW ORLEANS, LA, USA; DECEMBER 07-11, 2008 * abrégé *	1-3,5, 7-10	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Y	WO 2009/034041 A2 (PEPTCELL LTD [GB]; STOLOFF GREGORY ALAN [GB]; CAPARROS-WANDERLEY WILSO) 19 mars 2009 (2009-03-19) * page 8, dernier alinéa * * séquence 85 *	1-3,5, 7-10	
Y	BARNES KAREN I ET AL: "Effect of artemether-lumefantrine policy and improved vector control on malaria burden in KwaZulu-Natal, South Africa." PLOS MEDICINE NOV 2005 LNKD-PUBMED:16187798, vol. 2, no. 11, novembre 2005 (2005-11), page E330, XP002592261 ISSN: 1549-1676 * le document en entier * -/--	8,9	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
16 juillet 2010		Tuynman, Antonin	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 734562
FR 1000172

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
T	DRAME PAPA M ET AL: "Human antibody response to Anopheles gambiae saliva: an immuno-epidemiological biomarker to evaluate the efficacy of insecticide-treated nets in malaria vector control." THE AMERICAN JOURNAL OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE JUL 2010 LNKD-PUBMED:20595489, vol. 83, no. 1, juillet 2010 (2010-07), pages 115-121, XP008124370 ISSN: 1476-1645 * le document en entier * -----	1-3,5, 7-10	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
16 juillet 2010		Tuyman, Antonin	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

1
EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1000172 FA 734562**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **16-07-2010**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2009034041 A2	19-03-2009	AR 068428 A1	18-11-2009
		AU 2008297213 A1	19-03-2009
		CA 2699467 A1	19-03-2009
		EP 2182972 A2	12-05-2010
		PE 06822009 A1	22-06-2009

ABSENCE D'UNITÉ D'INVENTION
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE B

Numéro de la demande

FA 734562
 FR 1000172

La division de la recherche estime que la présente demande de brevet ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir :

1. revendications: 1-3, 5, 7-10(toutes en partie)

Évaluation de l'efficacité de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses utilisant comme biomarqueurs la protéine de séquence SEQ ID No 1 ou la réponse anticorps humains à cette protéine.

2-30. revendications: 1-10(en partie)

Évaluation de l'efficacité de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses utilisant comme biomarqueurs des protéines de séquence SEQ ID No 2-30 ou la réponse anticorps humains à ces protéines. Chaque SEQ ID No correspond avec le No de la groupe d'inventions.

La première invention a été recherchée.

Le problème à résoudre dans la présente demande (PA) est relatif à l'évaluation de l'efficacité de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses. Le concept général unique qui peut être identifié comme liaison entre les sujets différents revendiqués et qui constitue une solution pour le problème mentionné ci-dessus, est donc que "les protéines salivaires immunogéniques et spécifiques des moustiques Anopheles ou Aedes ou la réponse anticorps humains à ces protéines sont des biomarqueurs pour l'évaluation de l'efficacité de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses". Néanmoins, dans le document Poinsignon, A. et al. 2009 (ci-après nommé D1, passages pertinents cités dans le rapport de recherche) et Poinsignon, A. et al. 2008 (ci-après nommé D2, passages pertinents cités dans le rapport de recherche) des biomarqueurs pareils ont déjà été décrits pour la même évaluation.

En vue de D1 et D2, chaque document considéré en soi-même, le concept général unique identifié n'est donc ni nouveau ni inventif et ne peut pas constituer le concept général unique et inventif. Par voie de conséquence, l'unité d'invention requise n'existe pas dans la présente demande.

Par voie de conséquence, les diverses inventions, n'appartenant pas à un concept inventif commun, sont formulées comme des sujets différents ainsi que notifié ci-dessous:

1-30) Évaluation de l'efficacité de lutte anti-vectorielle dans le contrôle du paludisme et des arboviroses utilisant comme biomarqueurs des protéines de séquence SEQ ID No 1-30 ou la réponse anticorps humains à ces protéines. Chaque SEQ ID No correspond avec le No de la groupe d'inventions.

Nulle autre caractéristique ne peut être distinguée qui pourrait constituer un lien technique entre chacune de ces inventions particulières revendiquées et qui pourrait être considérée comme une caractéristique technique spéciale.

Le premier sujet (se rapportant à la séquence SEQ ID No 1) a été

**ABSENCE D'UNITÉ D'INVENTION
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE B**

Numéro de la demande

FA 734562
FR 1000172

La division de la recherche estime que la présente demande de brevet ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir :

recherché.