



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 335 094**

51 Int. Cl.:

C12N 15/30 (2006.01)

C07K 14/445 (2006.01)

A61K 39/015 (2006.01)

C07K 16/20 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

G01N 33/569 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

C12N 15/63 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03292673 .5**

96 Fecha de presentación : **24.10.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1526178**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.04.2005**

54 Título: **Familia de genes del tipo MSP-3.**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
22.03.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
22.03.2010

73 Titular/es: **INSTITUT PASTEUR**
25-28, rue du Docteur Roux
75724 Paris Cédex 15, FR

72 Inventor/es: **Druilhe, Pierre**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

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

DESCRIPCIÓN

Familia de genes del tipo MSP-3.

5 La presente invención se relaciona con la protección contra la malaria. Más particularmente, la aplicación describe una novedosa familia de genes que abarca el gen MSP-3 ya conocido, y que muestra la redundancia excepcional de los epítopes expuestos, sugiriendo así, que esta familia de genes juega una parte importante en la inmunogenicidad del parásito. La caracterización de esta familia de genes, permite la definición de novedosas composiciones de vacuna e inmunógenas contra *P. falciparum*.

10 Los parásitos responsables de la malaria en humanos, incluyendo especialmente el *Plasmodium falciparum*, muestran diferentes morfologías en el humano huésped y expresan diferentes antígenos como una función de su localización en el organismo del huésped infectado. Las diferencias morfológicas y antigénicas de estos parásitos durante su ciclo de vida en el hombre permiten que al menos cuatro etapas distintas de desarrollo se definan.

15 La primera etapa de desarrollo del parásito en el hombre corresponde a la forma esporozoite introducida en la sangre del huésped por picaduras de vectores de insecto del parásito. La segunda etapa corresponde al paso del parásito en el hígado y con la infección de las células hepáticas en las cuales los parásitos se desarrollan para formar los esquizontes hepáticos que, cuando son maduros (por ejemplo, en el caso de *P. falciparum* en el 6º día después de la penetración de los esporozoitos) liberan merozoitos hepáticos mediante rompimiento. La tercera etapa se caracteriza por la infección de los eritrocitos de sangre por las formas asexuales (merozoitos) del parásito; esta etapa de desarrollo eritrocítico corresponde a la fase patogénica de la enfermedad. La cuarta etapa corresponde a la formación de las formas con la potencia sexual (o gametocitos) que llegarán a ser las formas sexuales extracelulares o gametos en el mosquito.

25 Se ha demostrado repetidamente que los anticuerpos juegan una parte importante en el desarrollo de inmunidad clínica a la malaria por *Plasmodium falciparum*.

30 En la actualidad numerosos estudios inmunológicos sugieren que los anticuerpos humanos de las subclases citofílicas (IgG1 y IgG3) son particularmente críticos con el estado de premunición. Esta inmunidad anti-parásito es un tipo de inmunidad cepa-independiente, no-esterilizante que se adquiere después de una exposición prolongada (15-20 años) al parásito. Se observa comúnmente en África y en Papua-Nueva Guinea, pero solo se ha documentado recientemente en el Sud Este de Asia (Soe, Khin Saw *et al.* 2001). Aunque los anticuerpos pueden actuar directamente sobre la invasión de merozoito de glóbulos rojos, el mecanismo más eficiente *in vivo* para el control del parásito mediado por el anticuerpo en zonas endémicas requiere de la participación de monocitos (Khusmith and Druilhe 1983); (Lunel and Druilhe 1989). La prueba de inhibición celular dependiente del anticuerpo (ADCI) imita esta cooperación entre los monocitos y los anticuerpos específicos a parásitos citofílicos y se presenta hoy como el mejor marcador sustituto *in vitro* de inmunidad adquirida contra la etapa sanguínea de *P. falciparum*.

40 Dos moléculas hasta ahora han sido identificados como blancos de anticuerpos humanos efectivos de ADCI, a saber la proteína 3 de la superficie del Merozoito de 48-kDa, - de ahora en adelante designada como MSP-3 - (Oeuvery, Bouharoun-Tayoun *et al.* 1994) y la proteína rica en Glutamato de 220-kDa, - de ahora en adelante designada como GLURP - (Theisen, Soe *et al.* 1998). También se ha encontrado que GLURP y MSP-3 pueden inhibir el crecimiento de parásitos *in vivo* por transferencia pasiva en ratones SCID *P. falciparum*-humanizados (Badell, Oeuvery *et al.* 2000).
45 La asociación de anticuerpos humanizados contra MSP-3 con protección clínica también se indica por un número de estudios inmuno-epidemiológicos, que demuestran que los niveles de anticuerpos citofílicos MSP-3 específicos (IgG1 e IgG3) se asocian significativamente con un riesgo reducido del ataque de la malaria (Roussillon 1999). Estos estudios además han mostrado que los anticuerpos IgG3 citofílicos juegan una parte principal en la protección contra la malaria, por lo tanto llevando soportes epidemiológicos con el concepto de que los anticuerpos contra MSP-3 pueden controlar activamente la multiplicación del parásito *in vivo* por cooperación con los receptores FcγII que llevan las células (Bouharoun-Tayoun, Oeuvery *et al.* 1995). Estos receptores muestran afinidad superior para las subclases IgG3 que para las subclases IgG1 (Pleass and Woof 2001). Los principales epítopes de la célula-B reconocidos por estos anticuerpos IgG humanos han sido localizados con las secuencias conservadas en la región MSP-3212-257 (Oeuvery, Bouharoun-Tayoun *et al.* 1994; Theisen, Soe *et al.* 2000; Theisen, Dodo *et al.* 2001). La secuenciación de nucleótidos
55 ha demostrado que estos epítopes importantes se conservan altamente entre un número de líneas de laboratorio de *P. falciparum* y aislados de campo de África y Asia (Huber, Felger *et al.* 1997); (McColl and Anders 1997).

Trucco *et al.* (2001) revela la secuencia de las proteínas de las proteínas MSP6 (ahora llamada MSP3.2) y la MSP3 (ahora llamada MSP3.1) y su alineamiento de la secuencia. Oeuvery *et al.* (1994) revela la identificación de un epítipo antigénico (MSP-3b) en la proteína MSP3 y describe sus secuencias de nucleótidos y de proteínas. Este epítipo antigénico se encontró utilizando el anticuerpo MoAb 2-45 y se confirmó por la prueba de anticuerpo dirigido contra un péptido MSP-3b sintético. El Número de Acceso Q8IJ53 describe un proteína hipotética de 424 aminoácidos, expresada hipotéticamente a partir de un Marco Abierto de lectura pronosticado *in silico* a partir de la secuencia del genoma de *Plasmodium falciparum*.

65 Los inventores han caracterizado ahora una serie de 9 genes de *P. falciparum*, todos agrupados en el 3' terminal del cromosoma 10, que codifica las proteínas y epítipes dentro, que son todos blancos para los anticuerpos que ocurren naturalmente en individuos expuestos a la malaria, la mediación de la destrucción de la etapa eritrocítica de

ES 2 335 094 T3

P. falciparum por cooperación con monocitos sanguíneos, y que muestran un grado inusual de la conservación de la secuencia entre los diversos *P. falciparum* aislados.

La presente aplicación revela una familia de genes aislados, denominada la familia del tipo MSP-3, los productos de la cual tienen características comunes estructurales e inmunológicas, así como a algunos de estos genes y las proteínas correspondientes, tomados individualmente.

Los polipéptidos antigénicos como se revela en las reivindicaciones que comprenden epitopes de dichas proteínas novedosas, así como las composiciones polipeptídicas antigénicas que comprenden al menos dos de dichos epitopes, también son parte de la invención.

Otros aspectos importantes de la invención son composiciones y vacunas inmunógenas contra la malaria, que comprenden como un inmunógeno un polipéptido o una composición polipeptídica como se menciona anteriormente.

Los anticuerpos recombinantes y parte de estos, que reaccionan en cruz con varios productos de la familia de genes del tipo MSP-3, también se revelan, ya sea tomados como tales o en un medicamento para inmunoterapia pasiva o en un kit para el diagnóstico *in vitro* de la malaria.

La aplicación revela métodos para el diagnóstico *in vitro* de la malaria en un individuo, ya sea utilizando un polipéptido antigénico, o utilizando un anticuerpo como se define anteriormente, así como kits que comprenden al menos parte de los reactivos necesarios (polipéptidos, anticuerpos ...) para realizar estos métodos.

Las secuencias de nucleótidos que codifican al menos uno de los antígenos novedosos *P. falciparum*, y su uso en un medicamento o una vacuna de ácido nucleico contra *P. falciparum*, también se revelan.

Durante todo el presente texto, un número de términos se utilizan, que se deberían entender de acuerdo con las siguientes definiciones:

En lo que sigue, el término “gen” es sinónimo de bien una “secuencia que ocurre naturalmente” incluyendo una secuencia codificante, o de una secuencia recombinante o sintética incluyendo una secuencia codificante. En el presente texto, un “gen” tampoco necesariamente contiene elementos reguladores, contrariamente a la aceptación de esta palabra que se utiliza a menudo en la literatura científica. En consecuencia, el gen de acuerdo con la invención es cualquier secuencia de nucleótido que comprende el Marco de lectura Abierto de la secuencia que ocurre naturalmente de *Plasmodium* o que comprende el mismo y además contiene todas o parte de las secuencias reguladoras de la expresión de dicha secuencia que ocurre naturalmente. De acuerdo con la presente definición, el gen es una molécula de ácido nucleico aislado, i.e., una secuencia de nucleótidos que no está en su ambiente natural.

En el presente texto, la expresión “familia de genes” tiene el mismo significado como en la literatura científica, i.e., designa un grupo de varios genes que tienen un número de rasgos o características (estructurales o funcionales) en común.

De acuerdo con la presente aplicación, un “motivo del tipo MSP-3-c/d” es una secuencia de aminoácidos de 20 aminoácidos, que es idéntica a cualquiera de las secuencias de SEQ ID Nos: 25 a 30, o que se obtiene por transposiciones de al menos dos de estas secuencias. Por ejemplo, una secuencia que tiene los aminoácidos 1 a 5 de la SEQ ID No:25, seguido por los aminoácidos 6 a 12 de la SEQ ID No:29 y los aminoácidos 13 a 20 de la SEQ ID No:27, es un motivo del tipo MSP-3-c/d. En otras palabras, un “motivo del tipo MSP-3-c/d” es una secuencia de aminoácidos de 20 aminoácidos, en donde los aminoácidos se eligen entre los siguientes:

TABLA 1

Posición a.a.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
a.a.	L	E	L	I	K	L	T	S	K	D	E	E	D	I	I	K	H	N	E	D
		S	H	V	N	I	S	L	W		K	N	N		V	D	E	S	D	Q
			S	L	Y	V	P		S		R		Q		S	N				
			Q		P						I				P					
															A					

Varios de estos aminoácidos tienen una carga similar y es poco probable cambiar la estructura global de la molécula o el reconocimiento por los anticuerpos, por ejemplo, valina, isoleucina, leucina.

Cualquier secuencia de aminoácidos de 20 aminoácidos, que comprende la mayoría de aminoácidos conservados indicados arriba (i.e., aminoácidos en las posiciones 1, 2, 8, 10, 12, 14 y 17 a 20), y en donde los residuos de ami-

ES 2 335 094 T3

noácidos en otras posiciones son diferentes de las anteriores y que se reconocen por un anticuerpo dirigido contra cualquiera de los motivos MSP-3-c/d de la SEQ ID Nos: 25 a 30, también serán considerados como un “motivo del tipo MSP-3-c/d”, de acuerdo con la presente invención. Estas propiedades funcionales de los últimos se pueden probar por cualquier inmunoensayo tales como aquellos conocidos por el experto y/o descritos a continuación.

En el presente texto, un “motivo del tipo MSP-3-b” designa una secuencia de aminoácidos de 11 a 14 aminoácidos, que es idéntica a cualquiera de las secuencias de SEQ ID Nos: 17 a 24, o que se obtiene por las transposiciones de al menos dos de estas secuencias. Por ejemplo, una secuencia que tiene los aminoácidos 1 a 5 de SEQ ID No: 17, seguido por los aminoácidos 6 a 11 de la SEQ ID No:22, es un motivo del tipo MSP-3-b. En otras palabras, un “motivo del tipo MSP-3-b”, es una secuencia de aminoácidos de 11 a 14 aminoácidos, en donde los aminoácidos se eligen entre los siguientes, en donde “-” significa “ningún aminoácido”:

TABLA 2

Posición	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
a.a.	I	L	E	R	G	W	E	F	G	G	G	V	P	E
a.a.	Y	F	D	D	A	G	L	I	S		S	A	Y	F
	-	-	P	-	L	S	A	G	A		A	L	L	-
			-		-	I		L				I		
						E		S				S		

Varios de estos aminoácidos tienen una carga similar y es poco probable cambiar la estructura global de la molécula o el reconocimiento por anticuerpos, por ejemplo, valina, isoleucina, leucina.

Un subgrupo de motivo del tipo MSP-3-b corresponde a las secuencias de SEQ ID Nos: 17, 18 y 22 y su combinación, i.e., las secuencias de 11 aminoácidos seleccionados de la siguiente manera:

TABLA 3

Posición	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
a.a.	I	L	G	W	E	F	G	G	G	V	P
a.a.	Y	F	A			I				A	

Cualquier secuencia de aminoácidos de 11 a 14 aminoácidos, que comprende la mayoría de los aminoácidos conservados indicados arriba (i.e., los aminoácidos indicados en la tabla 3, que corresponde a los aminoácidos particulares en las posiciones 1, 2, y 5 a 13 de la Tabla 2), y en donde los residuos de aminoácidos en otras posiciones son diferentes de los anteriores, y que se reconocen por un anticuerpo dirigido contra cualquiera de los motivos MSP-3-b de la SEQ ID Nos: 17 a 24, también serán considerados como un “motivo del tipo MSP-3-b”, de acuerdo con la presente invención. Estas propiedades funcionales de los últimos, se pueden probar por cualquier inmunoensayo, tales como aquellos conocidos por el experto y/o descritos a continuación.

En lo que sigue, a veces se hace referencia a un gen o una proteína que es un “homólogo” de un gen o proteína particular de la secuencia de la cual se revela. Esta palabra en este documento designa las secuencias cercanas en diferentes cepas de *Plasmodium* (en particular, cepas de *P. falciparum*), i.e., las secuencias que muestran al menos 70%, y preferiblemente al menos 90% de identidad de la secuencia, con la secuencia de referencia.

Una “Sustitución Conservadora” significa, en una secuencia de aminoácidos, una sustitución de un residuo de aminoácido por otra que tiene propiedades similares teniendo en cuenta la hidrofobicidad y/o impedimento estérico, de modo que la estructura terciaria del polipéptido no se cambie dramáticamente. Por ejemplo, reemplazando una guanina por una alanina o viceversa, es una sustitución conservadora. Valina, leucina e isoleucina también son aminoácidos que pueden ser sustituidos de forma conservadora por los demás. Otros grupos de sustitución conservadora son, sin ser limitantes, (D, E), (K, R), (N, Q), y (F, W, Y). Una variante de un polipéptido, obtenido por la sustitución conservadora de al menos un aminoácido de dicho polipéptido, será designado como una “variante conservadora” de dicho polipéptido.

Otras definiciones se proporcionan en el siguiente texto, cuando sea necesario.

Los inventores describen aquí un grupo de 9 genes, 6 de los cuales nunca han sido descritos, y que todos son agrupados en la misma región del cromosoma 10. Este cromosoma efectivamente, contiene una serie de 9 marcos abiertos de lectura, separados por regiones no codificantes, y comprende en una fila (5' - 3') los genes que codifican proteínas denominadas primero GLURP, seguido en 1300 pares de bases por MSP-3 (ahora denominada MSP-3-1) seguido por otros 7 genes denominados MSP-3-2, MSP-3-3, MSP-3-4, MSP-3-5, MSP-3-6, MSP-3-7, MSP-3-8. Esta organización se muestra en la Figura 1.

Además de ser agrupados en la misma región cromosomal, aquellos 9 genes tienen rasgos excepcionales, que indican que son productos privilegiados para el desarrollo de vacunas contra la infección de la etapa sanguínea de *P. falciparum*:

Se demostró que todos los 9 genes se expresaron simultáneamente en todos los parásitos estudiados, i.e., que las proteínas correspondientes podrían ser detectadas en las etapas eritrocíticas del *P. falciparum* y todas se localizan sobre la superficie de merozoito. Esto fue demostrado previamente para GLURP, MSP-3-1 y MSP-3-2 (designada "MSP6" por (Trucco, Fernández-Reyes *et al.* 2001) y además ha sido demostrado para el resto por la construcción de secuencias particulares en el N-terminal de aquellos genes que son únicos para cada uno de ellos, que no comparten epitopes de reacción en cruz, y que los anticuerpos correspondientes todos reaccionan con la superficie de merozoito. Adicionalmente, la transcripción se demostró por RT-PCR con cebadores únicos específicos de cada uno.

Adicionalmente, los 8 genes del tipo MSP-3 comparten la misma organización del gen general, que se ilustra en la Figura 1, con un N-terminal inicial "firma" de 4 aminoácidos (indicado "s" en la Figura 1) idéntico en cada uno de ellos e idéntico a las proteínas homólogas del tipo MSP-3 descritas en *Plasmodium vivax* y *Plasmodium Knowlesi*.

Un primer propósito revelado en la aplicación es por lo tanto una familia (o grupo) de genes aislados que tienen las siguientes propiedades:

- se localizan en el cromosoma 10 de *Plasmodium falciparum*;
- se conservan altamente en cepas *Plasmodium falciparum*;
- se expresan en *Plasmodium falciparum* en las etapas eritrocíticas;
- codifican las proteínas que tienen una firma NLRN o NLRK en su extremidad N-terminal y que se localizan en la superficie de merozoito, en donde dicha familia comprende al menos 3 genes.

La firma NLRN o NLRK se sigue con frecuencia por A o G, en las proteínas de la familia MSP-3 de acuerdo con la invención.

Los genes de la familia preferiblemente también comparten la misma organización general, como se muestra en la Figura 1.

Un ejemplo de una de esta familia es la familia completa del tipo MSP-3, que comprende los genes de las secuencias SEQ ID Nos: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, y 15. Cualquier grupo de al menos 3 genes seleccionados entre estos genes también se considera como una familia de genes.

A excepción de la firma N-terminal mencionada anteriormente, el resto de la parte N-terminal es altamente variable a partir de un producto génico con el otro, mientras que, en contraste, el C-terminal es idéntico en su organización para todos los genes, excepto 2 (MSP-3-5 y MSP-3-6) incluyendo el alargamiento epitope-del tipo "b" ("b"), el epitope-del tipo "c/d" ("c/d"), la región rica-glutamínica, y en el extremo C-terminal una cremallera de leucina.

Las familias de genes particulares son, por lo tanto familias como se describen arriba, en donde dichos genes además tienen las siguientes propiedades: codifican las proteínas que tienen un motivo del tipo MSP-3-b y/o un motivo del tipo MSP-3-c/d. Un ejemplo de una de esta familia es la familia que abarca los genes de las secuencias SEQ ID Nos: 1, 3, 5, 7, 13, y 15, o cualquier grupo de al menos 3 genes seleccionados entre estas secuencias.

Todas las 7 proteínas (GLURP + los 6 homólogos de moléculas del tipo MSP-3) producen anticuerpos en individuos expuestos a la malaria.

Para aquellos productos génicos en los cuales se ha investigado, particularmente GLURP, MSP-3-1 y MSP-3-2, las respuestas inmunes provocadas se asocian con la protección clínica contra los ataques de malaria bajo condiciones de campo. Esta asociación es altamente significativa estadísticamente, particularmente con los anticuerpos hechos del isotipo IgG3, y se confirmó en tres configuraciones, Dielmo y Ndiop en África, Oo-Do en Birmania. Por razones de homología descritas a continuación, es muy probable que el mismo hallazgo se hiciera para los restantes 5 genes.

En el caso de GLURP, MSP-3-1 y MSP-3-2, las regiones dirigidas por anticuerpos asociados con la protección son, la región no-repetida R0 de GLURP y la región no-repetida C-terminal de MSP-3-1 y MSP-3-2. Los diversos péptidos derivados de MSP-3-1 se muestran en la Fig 2. La protección se asoció con los anticuerpos para los péptidos MSP-3-b, c y d.

Los anticuerpos para los 7 productos génicos son todos efectivos en la mediación de la destrucción de la etapa sanguínea de *P. falciparum*, en el mecanismo de bADCI monocito- dependiente, anticuerpo-mediado, bajo condiciones *in vitro*. Estos resultados, descritos en el Ejemplo 1, muestran que los anticuerpos para cada una de aquellas regiones son igualmente efectivos en lograr la inhibición del crecimiento de la etapa eritrocítica de *P. falciparum* bajo condiciones *in vitro*.

La familia de genes preferida, por lo tanto además tiene la siguiente propiedad: los anticuerpos para los productos de dichos genes median la destrucción de la etapa sanguínea de *Plasmodium falciparum*, en el mecanismo de ADCl anticuerpo mediado, monocito-dependiente, bajo condiciones *in vitro*.

De acuerdo con las otras dos modalidades preferidas, una familia de genes por lo tanto además tiene la siguiente propiedad: los anticuerpos para los productos de dichos genes median la inhibición del crecimiento de *Plasmodium falciparum* en ratones infectados por *P. falciparum*.

Los inventores también han demostrado que existe un alto grado inusual de conservación de la secuencia de cada uno de los 7 genes, entre varios aislados de *P. falciparum*. Esto se ha demostrado previamente para GLURP y llevo a elegir la región no-repetitiva R0, que tiene la conservación más alta entre varios aislados, incluso tiene algunas sustituciones de aminoácido. Esto también se demostró para MSP1-3-1 cuya secuencia se encontró que era extraordinariamente conservada entre 111 aislados para la región que cubre los péptidos MSP-3-a, b, c y d, i.e., la región utilizada para la inmunización de voluntarios, donde ninguna sustitución de aminoácido único y por lo tanto ningún cambio de aminoácido se encontró en absoluto. Esto fue además confirmado recientemente para el resto del C-terminal de MSP-3-1 y la región conservada C-terminal completa de MSP-3-2, MSP-3-3, MSP-3-4, MSP-3-7, y MSP-3-8 (Figuras 9 y 10). Este grado de conservación notable de la secuencia de esta familia de genes es, en marcado contraste con el polimorfismo relativamente grande observado en la mayoría de las otra vacunas candidatas estudiadas en la actualidad, y es obviamente un criterio importante que fortalece el potencial de esta familia de genes para el desarrollo de vacunas.

Las familias de genes como se describen arriba, que comprenden al menos 3 genes seleccionados entre los genes de secuencias SEQ ID Nos: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, y 15, o sus homólogos en *Plasmodium*, particularmente cepas de *Plasmodium falciparum* por lo tanto también se prefieren las familias de genes.

Otro aspecto revelado en la aplicación es un gen de *Plasmodium falciparum* aislado que tiene la secuencia de SEQ ID No:5, 7, 13 o 15, o un gen aislado correspondiente con un homólogo de un gen de *Plasmodium falciparum* de la secuencia de SEQ ID No:5, 7, 9, 11, 13 o 15 en una cepa de *Plasmodium*.

Estos genes, que no se describen genes del tipo MSP-3, pueden ser muy útiles para el experto en un número de aplicaciones en los campos de la investigación, diagnóstico y vacunaciones, por las razones descritas anteriormente y a continuación. En particular, se pueden utilizar para producir proteínas recombinantes del tipo MSP-3-. En consecuencia, las proteínas recombinantes de la SEQ ID Nos: 6, 8, 10, 12, 14 y 16, también se revelan, así como cualquier proteína recombinante que tiene la secuencia de una proteína que es un homólogo de una proteína de la SEQ ID Nos: 6, 8, 10, 12, 14 o 16 en una cepa de *Plasmodium* diferente de la cepa 3D7.

La comparación de las secuencias entre los genes de la familia MSP-3, muestran una conservación muy inusual de los epitopes entre los miembros de la familia, especialmente de aquellos dirigidos por anticuerpos activos biológicamente, que es crítica para la protección. La comparación de la secuencias se resume en la Figura 11.

Los inventores han identificado 2 regiones que son muy similares, si no totalmente idénticas, entre los miembros de la familia y se refieren a una región crítica en el péptido MSP-3-b y uno en los péptidos MSP-3-c y d (región que se cubre por ambos péptidos MSP-3-c y MSP-3-d). Las pequeñas diferencias entre estos epitopes muy conservados entre los diferentes genes se resumen en las Figuras 12 y 13. Es notable y altamente significativo que las regiones más conservadas a través de los diferentes genes son aquellos dos que son el objetivo de los anticuerpos activos biológicamente en la prueba-AOCI *in vitro* y por transferencia pasiva en ratones SCID (ver arriba).

Los inventores también han demostrado que existe reactividad en cruz inmunológica entre las diferentes proteínas de la familia MSP-3, como una consecuencia de aquellas homologías estructurales entre los miembros de la familia de genes (ejemplo 5).

La consecuencia práctica en el nivel inmunológico y de desarrollo de vacunas es que la inmunización por cualquiera de los miembros de la familia de genes inducirá los anticuerpos reactivos a la misma y para todos de los productos génicos restantes.

Por consiguiente, la presente aplicación describe un tipo muy particular de familias multi-genes donde, en lugar del polimorfismo del epitope, que es usualmente la característica de familias multi-genes descritas hasta la fecha, conservación de epitope es la principal característica y donde, en caso de delección, la mutación en un gen determinado, otro o todos los otros miembros de la familia pueden asumir la función antigénica. Además, todos los genes se expresan simultáneamente por un parásito dado.

ES 2 335 094 T3

La aplicación, de esta manera, también revela una proteína que se codifica por un gen entre aquellos revelados aquí arriba. En una modalidad particular, la proteína es una proteína recombinante.

Un polipéptido antigénico que comprende un fragmento de al menos 10, preferiblemente al menos 15, aminoácidos consecutivos a partir de una proteína de acuerdo con la invención, por lo tanto se revela. Por supuesto, los polipéptidos limitados a los fragmentos de MSP-3-1 o MSP-3-2, no se consideran en este documento.

Los polipéptidos antigénicos preferidos, de acuerdo con la invención son polipéptidos antigénicos de MSP3-3 que comprenden al menos el motivo del tipo MSP-3-c/d como se define en la SEQ ID NO: 27. Un polipéptido antigénico de la invención además comprende al menos un motivo seleccionado entre las secuencias SEQ ID Nos: 17 a 24 y es parte de la invención.

Otro aspecto de la presente invención es una composición polipeptídica antigénica que comprende un motivo del tipo MSP3 c/d de MSP3.3 como se define anteriormente y, al menos otro motivo del tipo MSP-3-b. Por "composición polipeptídica" se entiende una composición que comprende componentes polipeptídicos, i.e., polipéptidos o moléculas que comprenden una fracción polipeptídica, tales como lipopolipéptidos, conjugados que consisten de polipéptidos unidos a un soporte, etc. Las composiciones polipeptídicas de acuerdo con la invención pueden ser soluciones, comprimidos, etc.

En una modalidad particular de la composición polipeptídica antigénica de acuerdo con la invención, al menos el otro motivo del tipo MSP-3-c/d se selecciona entre las secuencias de SEQ ID Nos: 25 26, 28, 29 y 30 y las variantes conservadoras de estas.

En la composición polipeptídica antigénica de la invención, al menos, los dos diferentes motivos del tipo MSP-3-c/d se pueden llevar por moléculas distintas (i.e., la composición puede comprender una diversidad de moléculas que cada una contiene solo un motivo); de manera alterna, cada componente polipeptídico de esta composición puede llevar al menos dos motivos. Una composición antigénica, según se describe arriba, que contiene moléculas que comprenden al menos dos diferentes motivos del tipo MSP-3-c/d, es por lo tanto, un objeto de la presente invención. Estas moléculas pueden ser moléculas complejas, en las cuales, al menos, dos motivos son parte de distintos péptidos unidos covalentemente a un portador común; preferiblemente, su fracción polipeptídica se constituye por un polipéptido único que comprende dichos motivos. Las proteínas de fusión, que comprenden varias partes procedentes de diferentes proteínas MSP-3, se pueden incluir en estas composiciones.

En vista de la conservación de los epitopes, los inventores han investigado si los anticuerpos citofílicos contra GLURP y MSP-3, están implicados en el desarrollo de inmunidad a la malaria clínica en una población Asiática de Myanmar, como ha sido reportado que es en África, i.e., en un diferente antecedente genético del parásito y humano. Los resultados, revelados en el Ejemplo 7 abajo, muestran que los niveles de anticuerpos IgG3 citofílicos contra regiones conservadas de MSP-3-1 y GLURP se correlacionan significativamente con protección clínica contra la malaria de *P. falciparum*. En contraste, los niveles de anticuerpos IgG4 no-citofílicos contra GLURP aumentaron con el número de ataques de la malaria. Más importante aún, hubo un efecto complementario de los anticuerpos IgG3 MSP-3-1- y GLURP-específicos en la protección contra la malaria. En aquellos individuos que no responden a uno de los antígenos, una respuesta firme al otro se detectó consistentemente y se asocio con la protección, sugiriendo que la inducción de anticuerpos contra ambos MSP3 y GLURP, podría ser importante para el desarrollo de inmunidad protectora.

De acuerdo con otra modalidad de la invención, la composición polipeptídica antigénica, por lo tanto, además comprende una molécula polipeptídica antigénica que comprende al menos 10 residuos de aminoácidos consecutivos de la región R0 de GLURP.

Como se menciona anteriormente, una composición polipeptídica antigénica de acuerdo con la invención puede comprender un número limitado de moléculas, cada una que comprende una variedad de epitopes, o una variedad de moléculas que comprende cada una un número limitado de epitopes. De acuerdo con una modalidad particular, la composición de polipéptidos antigénicos comprende de 2, preferiblemente de 3 a menos de 9 polipéptidos codificados por los genes de la invención.

Un ejemplo de composición polipeptídica antigénica de acuerdo con la última posibilidad es un mixotopo que comprende una variedad de péptidos sintéticos que comprende la secuencia:

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-G-X9-X10-X11-X12 (SEQ ID No:31),

en donde:

X1 = I, Y o ninguno;

X2 = L, F o ninguno;

X3 = E, D, P o ninguno;

ES 2 335 094 T3

X4 = R, D o ninguno;

X5 = G, A, L o ninguno;

5 X6 = W, G, S, I o E;

X7 = E, L o A;

X8 = F, I, G, L o S;

10 X9 = G, SorA;

X10 = V, A, L, I o S;

15 X11 = P, Y o L;

X12 = E, F o ninguno.

20 Un “mixotope” es una biblioteca combinatoria de péptidos que pueden ser obtenidos en una síntesis única, como se describe por (Gras-Masse, Georges *et al.* 1999).

Otro mixotope derivado de MSP-3-b y que se puede incluir en una composición polipeptídica antigénica de acuerdo con la invención es un mixotope que comprende una variedad de péptidos sintéticos que comprenden la secuencia

X1-X2-X3-W-E-X4-G-G-G-X5-P (SEQ ID No:32),

en donde:

30 X1 = I o Y;

X2 = L o F;

35 X3 = G o A;

X4 = F o I; y

X5 = V o A.

40

De modo semejante, otra composición polipeptídica antigénica de acuerdo con la invención es un mixotope que comprende una variedad de péptidos sintéticos que comprenden la secuencia

45 L-X1-X2-X3-X4-X3-X5-X6-X7-D-XS-X9-X10-I-X11-X12-X13-X14-X15-X16 (SEQ ID No:33),

en donde:

X1 = E, o S;

50 X2 = L, H, S o Q;

X3 = I, V o L;

55 X4 = K, N, Y o P;

X5 = T, S o P;

X6 = S o L;

60 X7 = K, W o S;

X8 = E, K, R o I;

65 X9 = E o N;

X10 = D, N o Q;

X11 = I, V, S, P o A;

X12 = K, D o N;

5 X13 = H o E;

X14 = N o S;

10 X15 = E o D;

X16 = D o Q.

15 Las composiciones de mixotopo antigénicas anteriores pueden ser una mezcla de al menos 50, al menos 100, o al menos 500 péptidos de diferentes secuencias. Pueden también comprender una biblioteca combinatoria de péptidos sintéticos correspondientes a cada una de las sustituciones observadas y potenciales. Una composición antigénica, que comprende una mezcla de los dos mixotopos descritos anteriormente, también se incluye en la presente invención.

20 En cualquiera de los polipéptidos antigénicos o composiciones polipeptídicas antigénicas descritos anteriormente, una molécula lipídica se puede unir a al menos parte de las moléculas polipeptídicas. Un ejemplo de molécula lipídica que puede ser utilizada por lo tanto es un residuo C-terminal palmitoilisilamida.

25 Como ya se menciona anteriormente, al menos parte de los polipéptidos o moléculas polipeptídicas en el polipéptido antigénico de acuerdo con la invención, se pueden unir a un soporte, por consiguiente, constituyendo los conjugados. Los soportes preferidos en esta modalidad de la invención son partículas virales, perlas de nitrocelulosa o poliestireno, y polímeros biodegradables tales como lipofosfoglicanos o ácido poli-L láctico.

30 Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición inmunógena que comprende como un inmunógeno un polipéptido o una composición polipeptídica especialmente preparada por recombinación como cualquiera de los descritos anteriormente.

35 Como se discute en el Ejemplo 5, la familia de genes descrita en este documento presenta una característica notable, que es la conservación de epitope entre los diferentes miembros de la familia, que conduce a la reactividad en cruz inmunógena entre los diferentes productos de la familia de genes. La potencial vacunación de MSP-3-1 y sus fragmentos, ilustrados en los Ejemplos 2 y 3, junto con la conservación del epitope y la reactividad en cruz mencionada anteriormente, son rasgos notables que hacen de esta familia de genes y las composiciones polipeptídicas derivadas de estas, particularmente candidatos interesantes para la vacunación contra la malaria. Otro aspecto de la presente invención es por lo tanto el uso de un polipéptido o una composición polipeptídica como se describe anteriormente, para la preparación de una vacuna contra la malaria, así como dicha vacuna, que comprende como un inmunógeno dicho polipéptido o composición polipeptídica, en asociación con un vehículo farmacéutico apropiado.

40 Una composición inmunógena y una vacuna de acuerdo con la invención, puede además comprender al menos un antígeno seleccionado entre LSA-1 (Guerin-Marchand, Druilhe *et al.* 1987), LSA-3 (Daubersies, Thomas *et al.* 2000), LSA-5, SALSA (Bottius, BenMohamed *et al.* 1996), STARP (Fidock, Bottius *et al.* 1994), TRAP (Robson, Hall *et al.* 1988), PfEXPI (Simmons, Woollett *et al.* 1987), CS (Dame, Williams *et al.* 1984), MSP1 (Miller, Roberts *et al.* 1993), MSP2 (Thomas, Carr *et al.* 1990), MSP4 (Marshall, Tieqiao *et al.* 1998), MSP5 (Marshall, Tieqiao *et al.* 1998), AMA-1 (Peterson, Marshall *et al.* 1989; Escalante, Grebert *et al.* 2001), SERP (Knapp, Hundt *et al.* 1989) y GLURP (*supra*).

50 De acuerdo con una modalidad particular de la invención, la composición inmunógena o la vacuna se formula para inyección intradérmica o intramuscular. En tal caso, dicha composición inmunógena o vacuna preferiblemente comprende entre 1 y 100 μ g de inmunógeno por dosis de inyección, más preferiblemente entre 2 y 50 μ g. De manera alterna, la composición inmunógena o la vacuna se puede formular para administración oral, como se describe por (BenMohamed, Belkaid *et al.* 2002).

55 La composición inmunógena o vacuna de la invención además también pueden comprender SBAS2 y/o Alum y/o Montanide como un adyuvante.

60 Otros aspectos de la presente invención se relacionan con anticuerpos y fragmentos de anticuerpos dirigidos contra los antígenos revelados en este documento. Como se describe anteriormente y en el Ejemplo 5, la conservación del epitope en la familia MSP-3 conduce a la reactividad en cruz de los anticuerpos obtenidos contra un antígeno. Por ejemplo, un anticuerpo sintético o recombinante que reacciona en cruz con MSP-3-3 y que media la inhibición de crecimiento o destrucción de la etapa sanguínea de *Plasmodium falciparum*, en el mecanismo de ADCI anticuerpo mediado, monocito-dependiente, bajo condiciones *in vitro*, es un anticuerpo particularmente interesante de acuerdo con la invención.

Una mezcla de anticuerpos y/o fragmentos de anticuerpos dirigidos contra los polipéptidos de acuerdo con la invención, es también parte de la invención.

Otra mezcla de anticuerpos y/o fragmentos de anticuerpos de acuerdo con la invención se dirige contra una composición polipeptídica como se describe anteriormente.

Los anticuerpos (o fragmentos) preferidos, de acuerdo con la invención son anticuerpos humanos o humanizados. Estos anticuerpos o fragmentos de anticuerpos se pueden producir por ejemplo en Lemna, así como en maíz, tabaco, células CHO, y similares. Cuando se produce en células CHO, se pueden obtener por ejemplo utilizando el método descrito en WO 03/016354.

La presente invención también se refiere al uso de una composición que comprende un anticuerpo o una mezcla de anticuerpos o fragmentos de estas como se describen arriba, para la preparación de un medicamento contra la malaria. Por supuesto, un medicamento para inmunoterapia pasiva de la malaria, que comprende dicho anticuerpo o una mezcla de anticuerpos, también se considera como parte de la invención. Tal medicamento puede además comprender anticuerpos dirigidos contra al menos un antígeno seleccionado entre LSA-1, LSA-3, LSA-5, SALSA, STARP, TRAP, PfEXPI, CS, MSP1, MSP2, MSP4, MSP5, AMA-1, SERP y GLURP.

Los métodos para la profilaxis, la atenuación o el tratamiento de la malaria, mediante la administración a un paciente con necesidad de estas, una composición inmunógena, una vacuna, o un medicamento que comprende anticuerpos, como se describen arriba, también se revelan en la invención.

La invención también se refiere a un método para el diagnóstico *in vitro* de la malaria en un individuo que puede ser infectado por *P. falciparum*, que comprende la puesta de una muestra biológica de dicho individuo en contacto con un polipéptido antigénico de la invención, en condiciones que permitan la formación de complejos antígeno/anticuerpo entre dicho péptido o polipéptido antigénico y los anticuerpos posiblemente presentes en la muestra biológica, y la detección *in vitro* de los complejos antígeno/anticuerpo posiblemente formados. En este método, el diagnóstico *in vitro* se puede realizar mediante una prueba de ELISA. También es posible poner en contacto la muestra biológica con uno o varios péptidos antigénicos que se originan de otros antígenos seleccionados entre LSA-1, LSA-3, LSA-5, SALSA, STARP, TRAP, PfEXPI, CS, MSP-3-1, MSP-3-2, MSP-3-5, MSP-3-6, MSP1, MSP2, MSP4, MSP5, AMA-1, SERP y GLURP, como una etapa adicional del método.

Un método alternativo para el diagnóstico *in vitro* de la malaria en un individuo que puede ser infectado por *P. falciparum* comprende la puesta en contacto de una muestra biológica de dicho individuo con los anticuerpos de acuerdo con la invención, en condiciones que permitan la formación de complejos antígeno/anticuerpo entre dichos anticuerpos y los antígenos específicos para el *P. falciparum* posiblemente presente en la muestra biológica, y la detección *in vitro* de los complejos antígeno/anticuerpo posiblemente formados.

Los Kits para el diagnóstico *in vitro* de la malaria, basándose en los rasgos particulares de la familia MSP-3, también se contemplan. Por ejemplo, pueden comprender al menos un péptido o polipéptido de acuerdo con la invención, posiblemente unido a un soporte. Tal kit puede además comprender reactivos para que permitan la formación de complejos antígeno/anticuerpo entre dicho péptido o polipéptido antigénico y los anticuerpos posiblemente presentes en una muestra biológica, y reactivos que permitan la detección *in vitro* de los complejos antígeno/anticuerpo posiblemente formados.

Otro kit para el diagnóstico *in vitro* de la malaria, de acuerdo con la invención, comprende anticuerpos como se describen arriba, y, si es necesario, los reactivos para que permitan la formación de complejos antígeno/anticuerpo entre dichos anticuerpos y antígenos a partir de las proteínas de la familia MSP-3 posiblemente presentes en una muestra biológica, y reactivos que permitan la detección *in vitro* de los complejos antígeno/anticuerpo posiblemente formados.

También parte de la presente invención es una secuencia de nucleótido recombinante codificada por un polipéptido antigénico de acuerdo con la invención. Las secuencias particulares de acuerdo con la invención son secuencias de nucleótidos de la invención que comprenden una secuencia que codifica al menos dos motivos del tipo MSP-3-b y/o del tipo MSP-3-c/d, en donde al menos uno de dichos motivos se selecciona entre los motivos de SEQ ID Nos: 19 a 24 y 27 a 30, o sus variantes conservadoras. Un ejemplo es una secuencia de nucleótido recombinante que comprende una secuencia que codifica una proteína de fusión que comprende varios motivos del tipo MSP-3-c/d, en donde al menos dos de dichos motivos se seleccionan entre los motivos de SEQ ID Nos: 25 a 30 y sus variantes conservadoras.

La invención también se refiere a una clonación recombinante y/o vector de expresión, que comprende una secuencia de nucleótido de la invención como se describe arriba, que puede ser, por ejemplo, bajo el control de un promotor y elementos reguladores homólogos o heterólogos vis-à-vis una célula huésped, de la expresión en la célula huésped.

Un vector de expresión como se describe en el párrafo anterior, se puede utilizar ventajosamente para la preparación de un medicamento para la inmunización genética contra el *Plasmodium falciparum*.

La invención también se refiere a una vacuna de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos de la invención.

Una célula huésped recombinante, por ejemplo una bacteria, una levadura, una célula de insecto, o una célula de mamífero, que se transforma por un vector de expresión como se describe arriba, también es parte de la presente invención.

5 Varios aspectos y ventajas de la presente invención se ilustran en las siguientes figuras y datos experimentales.

Leyendas de las figuras

Figura 1: Organización de nueve genes aglomerados en la misma región del cromosoma 10. Nueve marcos abiertos de lectura se separan por las regiones no codificantes, y codifican en una fila (5'-3') los genes que codifican las proteínas denominadas primero GLURP, seguido en 1300 pares de bases por MSP-3 (ahora denominadas MSP-3-1) seguido por otros 7 genes denominados MSP-3-2, MSP-3-3, MSP-3-4, MSP-3-5, MSP-3-6, MSP-3-7, MSP-3-8.

Figura 2: Diferentes péptidos derivados de MSP-3-1. La protección se asoció con los anticuerpos a péptidos MSP-3b, c y d.

Figuras 3, 4 y 5: Estudios *in vivo*. Los experimentos de transferencia pasiva de anticuerpos específicos en ratones con inmunidad comprometida, RBCs-injerto humano, infectados con *P. falciparum*.

Anticuerpos para el péptido MSP 3-b, péptido MSP-3-d y para región R0 de GLURP, fueron todos encontrados capaces, bajo condiciones de transferencia pasiva *in vivo*, para eliminar una parasitemia de *P. falciparum* establecida en ratones SCID con inmunidad comprometida.

Figura 6: Estudios *in vivo*. Resultados de confirmación.

Un anticuerpo humano recombinante dirigido para el epítopo MSP-3-b, reactividad cruzada con proteína recombinante MSP-3-2 que, bajo transferencia pasiva, puede eliminar la parasitemia en ratones SCID *P. falciparum*.

Figura 7: Los resultados obtenidos utilizando anticuerpos producidos por inmunización artificial de voluntarios humanos utilizando un Péptido Sintético Grande que cubre los péptidos MSP-3-b, c, d de la región.

El mismo efecto se observa, tanto bajo condiciones *in vitro* como bajo condiciones *in vivo*, en el modelo de ratón SCID del *P. falciparum*.

Figura 8: La comparación entre el efecto biológico de IgG Africana total con anticuerpos anti-MSP-3-b purificados ajustadas en la misma concentración como en IgG Africana total.

Un efecto más completo y fuerte de los anticuerpos anti-MSP-3-b solo se observa, que acentúa su vacuna potencial.

Figura 9: Alineación ClustalW de la secuencia de nucleótidos de la familia MSP-3.

Figura 10: Alineación ClustalW de las secuencias del péptido de la familia MSP-3.

Figura 11: La comparación de las secuencias entre los genes de la familia MSP3.

Esta comparación muestra una conservación muy inusual de los epítopos entre miembros de la familia, aquellos dirigidos por anticuerpos activos biológicamente, que es crítica para la protección.

Figura 12: motivo del tipo MSP-3-b.

Figura 13: motivo del tipo MSP-3-c-d.

Figura 14: A. Patrón de respuestas del anticuerpo IgG3 contra cada uno de los antígenos en los 30 individuos protegidos de OoDo (errores estándar y medios de las proporciones de respuestas del IgG3-específico). B. Patrón de respuestas de IgG3 en 7 habitantes OoDo protegidos con baja respuesta anti-MSP3 de IgG3 (los valores límite de IgG3 bajos se definieron como aquellos bajo los límites del Intervalo de confianza del 95% inferior del medio, i.e. proporciones de IgG3 anti-MSP3b <2.30). C Patrón de respuestas de IgG3 en 15 habitantes OoDo protegidos con baja respuesta anti-RO de IgG3 (valores límite de IgG3 bajos se definieron como aquellos por debajo de los límites inferiores del intervalo de confianza 95% de las proporciones de IgG promedio, i.e. proporciones de IgG3 de anti-GLURP R0 <1.38). D. Cambios a los 5 años de intervalo en 7 individuos protegidos con altas respuestas de MSP3 de IgG3 en 1998. E. Cambios a los 5 años de intervalo en 6 individuos protegidos con altas respuestas de anti-GLURP R0 de IgG3 en 1998.

Figura 15: La actividad ADCI de anticuerpos purificados por afinidad en diversas construcciones derivadas de la familia de genes MSP-3. Los resultados se expresan como el SGI medio (índice inhibidor de crecimiento específico) en comparación con un control positivo, la mezcla de las inmunoglobulinas Africanas inmunes (PIAG) que ha sido utilizada para la transferencia pasiva en niños Tailandeses. Las secuencias utilizadas para la purificación por afinidad corresponden a la región C-terminal, que es la parte más homóloga entre los genes y la única muy bien conservada

y se indican por una línea debajo de la región C-terminal en la figura 18. Los resultados muestran que todos los anticuerpos específicos para cada región para cada uno de los 6 genes son muy activos en el mecanismo de ADCI tanto como la mezcla de inmunoglobulinas Africanas mostraron que eran efectivas en la eliminación de *P. falciparum* por transferencia pasiva en individuos infectados.

Figura 16: patrón de reactividad en cruz, de anticuerpos purificados por afinidad en la región C-terminal de cada uno de los miembros de la familia MSP-3, con otros miembros de la familia MSP-3. GLURP, 571 y BSA sirven como controles negativos. Los resultados muestran que los anticuerpos purificados por afinidad en una región C-terminal dada, de un miembro de la familia reaccionan en cruz, a diversas extensiones, a todos los otros miembros de la familia MSP-3. El patrón de reactividad cruzada más fuerte se obtiene con MSP-3-4, que muestra una señal positiva fuerte con todos los otros miembros seguido por MSP-3-8. Sin embargo, esta transferencia en mancha solo muestra los epitopes de reacción en cruz en cada uno del miembro de la familia MSP-3.

Figura 17: patrones de reactividad en cruz, de anticuerpos purificados por afinidad en la región C-terminal de cada uno de los miembros de la familia MSP-3, con los péptidos derivados de los miembros MSP-3-1 y MSP-3-2 de la familia MSP-3. Los péptidos son péptidos a, b, c, d, y f, de MSP-3-1 y de MSP-3-2. El C-terminal de MSP-3 recombinante y BSA sirven como controles positivos y negativos respectivamente. Los resultados muestran que los anticuerpos para las regiones C-terminal de los diferentes miembros de la familia reaccionan, a diversas extensiones, con diversas regiones del C-terminal de MSP-3-1, particularmente MSP-3b y c, y la respuesta más fuerte se obtiene en MSP-3-f. La reactividad en cruz con diversos péptidos de MSP-3-2 no es tan fuerte como aquella obtenida con MSP-3-1. Finalmente, la reactividad en cruz obtenido muy fuerte con MSP-3-1 CT, el C terminal recombinante, también sugiere una reactividad en cruz con un epítopo no definido por cualquiera de los péptidos del individuo pero más probablemente un epítopo conformacional generado por el C-terminal recombinante alargado. En este caso, las extensiones de reactividad en cruz de cualquier anticuerpo purificado por afinidad dado para cualquier miembro de la familia dado demuestran la homología estructural de los diferentes miembros de esta familia y la existencia de los epitopes de reacción en cruz, incluyendo aquellos generados por conformación 3-dimensional. Lo mismo es válido para MSP-3-2.

Figura 18: Una representación esquemática de los diferentes miembros de la familia MSP-3. Subrayada es la región C-terminal que fue utilizada para construir, antígenos recombinantes, que se utilizaron en los inmunoensayos.

Ejemplos

Ejemplo 1

Destrucción de la etapa sanguínea In vitro de P. falciparum por anticuerpos para los productos génicos, mediante el mecanismo ADCI

2.A. Materiales y métodos: Prueba ADCI

2.A.1. Introducción

La prueba de Inhibición Celular Dependiente del Anticuerpo (ADCI) se diseña para evaluar la capacidad de anticuerpos para inhibir el crecimiento *in vitro* de *Plasmodium falciparum* en la presencia de monocitos. Los estudios han demostrado que los anticuerpos que resultaron protectores contra la etapa sanguínea de *P. falciparum* por transferencia pasiva en humanos, son incapaces para inhibir el parásito *in vitro* a menos que sean capaces de cooperar con los monocitos sanguíneos. También se demostró que los anticuerpos que no fueron protectores *in vivo* no tuvieron efecto en el crecimiento de *P. falciparum* en la prueba de ADCI. La ADCI es por lo tanto una prueba *in vitro*, cuyos resultados reflejan el efecto protector de anticuerpos anti-malaria observados bajo condiciones *in vivo* en humanos.

Los anticuerpos capaces de cooperar con los monocitos deberían ser obviamente citofílicos: los isotipos IgG1 e IgG3 son eficientes en ADCI mientras que IgG2, IgG4 e IgM no son eficientes. Esto es consistente con los hallazgos en suero de individuos protegidos, los anticuerpos citofílicos anti-*P. falciparum* son predominantes, mientras en pacientes no-protegidos los anticuerpos producidos contra el parásito son en su mayor parte no-citofílicos.

Los resultados sugieren que la ADCI probablemente involucra la siguiente sucesión de eventos: en el momento de la ruptura de esquizontes, el contacto entre algunos componentes de la superficie de merozoito y los anticuerpos citofílicos unidos a los monocitos vía su fragmento Fc desencadena la liberación de mediadores solubles que se difunden en el medio de cultivo y bloquean la división de parásitos intra-eritrocítica circundante.

Las principales etapas involucradas en el protocolo ADCI son:

- (i). Preparación del suero IgG utilizando cromatografía de intercambio iónico
- (ii). Aislamiento del monocito de un donante de sangre saludable

ES 2 335 094 T3

- (iii). Preparación de parásitos *P. falciparum* incluyendo sincronización y enriquecimiento de los esquizontes.
- (iv). Cultivo de parásitos, por 96 hrs, en la presencia de anticuerpos y monocitos.
- (v). Efecto de inhibición evaluado por observación microscópica y conteo de los parásitos.

2.A.2. Materiales

Preparación IgG

1. Solución reguladora Tris: Tris-HCl 0.025 M, NaCl 0.035 M, pH 8.8.
2. Solución Salina Reguladora de Fosfato (PBS), pH 7.4.
3. Columna de filtración GF-05-Trisacril (IBF, Biothecnic, Villeneuve La Garenne, France).
4. Columna de cromatografía de intercambio iónico DEAE-Trisacril (IBF).
5. Columna de Filtración G25.
6. Filtros y tubos de Amicon para la concentración de la proteína (Peso límite Mol.: 50,000 Da).
7. Filtros Millex Estériles, tamaño de poro de 0.22 μ m (Millipore Continental Water Systems, Bedford MA).
8. Espectrofotómetro equipado con una lámpara Ultra Violeta.

Preparación de Monocitos

1. Sangre heparinizada recolectada a partir de un donante saludable, volumen 20-40 mL.
2. Gradiente de densidad Ficoll-Hypaque (Pharmacia LKB Uppsala, Sweden).
3. Solución de Hank suplementado con NaHCO_3 , pH 7.0.
4. Medio de cultivo RPMI 1640 suplementado con Hepes 35 mM y NaHCO_3 23 mM.; preparado con agua mineral; almacenado a 4°C.
5. Reactivos para tinción estearasa no-específica (NSE): solución de fijación, nitrito, colorante, solución reguladora y sustrato
6. Placas de plástico estériles de 96-pozos (TPP, Switzerland).
7. Centrífuga refrigerada.
8. Incubador de CO_2 .
9. Microscopio invertido.

Preparación del Parásito

1. Medio de cultivo RPMI 1640 (ver arriba).
2. Solución stock al 10% de Albumax; almacenado a 4°C por hasta 1 mes.
3. Sorbitol al 5% para sincronización de parásitos.
4. Plasmagel para el enriquecimiento de los esquizontes.
5. Reactivos de fijación y tinción de frotis delgado: metanol, eosina, azul de metileno.

2.A.3. Métodos.

ES 2 335 094 T3

Preparación IgG

IgGs se extrajeron a partir de suero humano (ver Nota 1) de la siguiente manera:

1. Diluir el suero en una relación de 1 a 3 en Solución reguladora Tris.

2. Filtrar el suero diluido a través de una columna de filtración en gel Trisacryl GF-05 previamente equilibrada en la Solución reguladora Tris. Asegurarse que la relación de suero con el gel de filtración es 1 volumen de suero sin diluir a 4 volúmenes de gel GF-05.

3. Mezcla de las fracciones que contienen la proteína

4. Carga sobre una Columna de cromatografía de intercambio iónico DEAE-Trisacril previamente equilibrada con Solución reguladora Tris. Asegurarse de que la relación de suero con el gel de filtración sea 1 volumen de suero sin diluir a 4 volúmenes del gel DEAE.

5. Recolectar las fracciones de 1 mL de volumen.

6. Medición de la densidad óptica (OD) de cada fracción utilizando un filtro de 280 nm.

7. Calcular la concentración de IgG de la siguiente manera:

$$\text{Concentración IgG (mg/mL)} = \frac{\text{OD } 280 \text{ nm}}{1.4}$$

8. Mezcla de las fracciones que contienen IgGs.

9. Concentrar la solución de IgG utilizando filtros Amicon. Los filtros Amicon en primer lugar se remojan en agua destilada por 1 hora y que se adaptan a tubos especiales en los cuales la solución de IgG se adiciona.

10. Centrifugar los tubos a 876 g por 2 hr a 4°C. Este usualmente conduce a una concentración de 25-veces.

11. Realizar una etapa final de filtración en gel utilizando una columna G25 previamente equilibrada en medio de cultivo RPMI.

12. Recolectar las fracciones IgG en RPMI.

13. Medición de la densidad óptica (OD) de cada fracción utilizando un filtro de 280 nm.

14. Calcular la concentración de IgG.

15. Mezcla de las fracciones que contienen IgGs.

16. Esterilizar las fracciones IgG por filtración a través de filtros de 0.22 μm de tamaño de poro.

17. Almacenar la solución estéril de IgG a 4°C por hasta 1 mes (o adicionar Albumax para almacenamiento más largo- pero no se recomienda-).

Preparación de Monocitos

El procedimiento para la preparación de monocito se basa en aquel descrito por Boyum (Scand J. Clin. Lab. Invest. 1968, 21, 77-89) e incluye las siguientes etapas:

1. Diluir la sangre heparinizada 3-veces en Solución de Hank.

2. Cuidadosamente la capa de dos volúmenes de sangre diluida en un 1 volumen de Ficoll-Hypaque (volumen máximo de 20 mL de sangre diluida por tubo).

3. Centrifugar a 560 g por 20 min a 20°C.

4. Eliminar las capas de células mononucleares en la interfase Ficoll/plasma.

5. Adicionar 45 mL de Solución de Hank a la suspensión de células mononucleares.

6. Centrifugar a 1000 g por 15 min a 20°C.

ES 2 335 094 T3

7. Cuidadosamente resuspender las células peletizadas en 45 mL de Solución de Hank.
8. Centrifugar de nuevo a 1000 g por 15 min a 20°C. Repetir esta etapa de lavado dos veces más.
- 5 9. Finalmente, centrifugar a 180 g por 6 min a 20°C, eliminar cualquiera de las plaquetas que permanece en el sobrenadante.
10. Resuspender las células mononucleares en 2 mL de RPMI.
- 10 11. Calcular la concentración de las células mononucleares (i.e. linfocitos más monocitos) en la suspensión celular: diluir una alícuota de 20 μ L de la suspensión celular 3-veces en RPMI y contar los números de células utilizando un hemocitómetro (tipo Malassez por ejemplo).
12. Determinar el número de monocitos utilizando la técnica de tinción Estearasa No Específica (NSE):
 - 15 (i). En el microtubo A, adicionar 40 μ L de suspensión de células mononucleares a 40 μ L de solución de fijación.
 - (ii). En el microtubo B, mezclar los reactivos de tinción NSE en el siguiente orden: 60 μ L de nitrito, 60 μ L de colorante, 180 μ L de solución reguladora, y 30 μ L de sustrato
 - 20 (iii). Adicionar la mezcla en el microtubo B a las células en el microtubo A.
 - (iv). Tomar una muestra de 20 μ L de las células teñidas y medir la proporción de monocitos:linfocitos:monocitos será coloreada en color marrón mientras que los linfocitos serán sin color. Normalmente la proporción de monocitos es 10-20% del total de células mononucleares.
 - 25
13. Ajustar la suspensión celular a una concentración de 2×10^5 monocitos por 100 μ L, con RPMI.
- 30 14. Alícuota de la suspensión celular en una placa de 96-pozos a 100 μ L/pozo.
15. Incubar por 90 min a 37°C, 5% de CO₂. Durante esta incubación, los monocitos se adhieren al plástico.
16. Eliminar las células no-adherentes y lavar los monocitos adicionando, y eliminando completamente, 200 μ L de RPMI en cada pozo.
- 35 17. Repetir este procedimiento de lavado 3 veces con el fin de eliminar todas las células no-adherentes.
18. Al menos 95% de las células recuperadas serán monocitos. Control de la apariencia celular y la homogeneidad relativa de la distribución celular en los diferentes pozos por observación utilizando un microscopio invertido (ver Notas 2, 3, y 4).
- 40

Preparación del Parásito

- 45 Las cepas de *P. falciparum* se cultivaron en RPMI 1640 suplementado con 0.5% de Albumax. Los parásitos se sincronizan por tratamientos de Sorbitol de la siguiente manera:
 1. Diluir el sorbitol stock con 5% en agua mineral.
 - 50 2. Centrifugar la suspensión del cultivo de parásitos asíncrono a 1200 rpm por 10 min a 20°C.
 3. Resuspender el pellet en la solución de sorbitol al 5%. Esto conducirá a la lisis selectiva de esquizonte infectado con RBC sin ningún efecto sobre los anillos y trophozoitos jóvenes.
 - 55
- Cuando se requiere, los esquizontes se enriquecen por flotación sobre plasmagel de la siguiente manera:
- 60 1. Centrifugar los cultivos que contienen parásitos asíncronos a 250 g por 10 min a 20°C.
 2. Resuspender el pellet a una concentración final de glóbulos rojos al 20% (RBC), RPMI al 30%, 50% de plasma-gel.
 3. Incubar a 37°C por 30 min. Los RBC infectados con esquizontes, permanecerán en el sobrenadante, mientras que los RBC infectados con trophozoitos jóvenes y no infectados se sedimentarán.
 - 65 4. Recolectar cuidadosamente el sobrenadante, por centrifugación a 250 g por 10 min a 20°C.

ES 2 335 094 T3

5. Preparar un frotis delgado a partir de las células peletizadas, teñir, y determinar la parasitemia por examinación microscópica.

6. Normalmente, utilizando este método, los RBC síncronos infectados con esquizonte síncrono se recuperan a ~70% de parasitemia.

Para la prueba de ADCI, se utilizan parásitos de esquizonte sincronizados temprano. Normalmente la parasitemia es 0.5-1.0% y el hematocrito 4%.

Prueba ADCI

1. Después de la última etapa de lavado, adicionar en cada pozo que contiene el monocito:

- (i). 40 μ L de RPMI suplementado con 0.5% de Albumax (medio de cultivo).
- (ii). 10 μ L de la solución del anticuerpo que se ensayará. Normalmente las IgGs se utilizan al 10% de su concentración original en el suero (~20 mg/mL para adultos de zonas hiperendémicas, y ~12 mg/mL para niños de zona endémica y pacientes de ataque primario). (ver Nota 5).
- (iii). 50 μ L de cultivo de parásito, a 0.5% de parasitemia y 4% de hematocrito.

2. Los pozos control consisten de lo siguiente;

- (i). Monocitos (MN) y parásitos con IgG normal (N IgG) preparado a partir del suero de un donante sin antecedentes de malaria.
- (ii). Cultivo de parásitos con IgG que se ensayará sin MN.

3. Mantener el cultivo a 37°C por 96 hrs en una jarra de calentamiento (o una incubadora de O₂ bajo, 5% de CO₂).

4. Adicionar 50 μ L del medio de cultivo a cada pozo después de 48 y 72 hrs.

5. Eliminar el sobrenadante después de 96 hrs. Preparar frotis delgados a partir de cada pozo, teñir, y determinar la parasitemia por examinación microscópica. Con el fin de asegurar una precisión relativa en el conteo de los parásitos, un mínimo de 50,000 glóbulos rojos (RBC) se deberían contar y el porcentaje de RBC infectados se calcula (ver Notas 6 y 7).

6. Calcular el Índice Inhibidor de Crecimiento (SGI) específico, teniendo en cuenta la posible inhibición inducida por monocitos o anticuerpos solos:

$$\text{SGI} = 100 \times (1 - [\text{Porcentaje de parasitemia con MN y Abs} / \text{Porcentaje de parasitemia con abs}] / [\text{Porcentaje de parasitemia con MN+ N IgG} / \text{Porcentaje de parasitemia con N IgG}])$$

2.A.4. Notas

1. Preparación de IgG a partir de sueros que se analizaran, es una etapa esencial porque una inhibición de crecimiento dependiente del no-anticuerpo de parásitos, ha sido observado frecuentemente cuando se utilizaron sueros no-fraccionados, probablemente debido a los lípidos oxidados.

2. Función del monocito (MN) en ADCI es dependiente de varios factores tales como agua utilizada para preparar RPMI 1640. Agua de alta pureza, tal como agua Millipore, aunque adecuada para el cultivo de parásitos, conduce a una producción pobre en el número de MN recuperados después de la adherencia a los pozos plásticos. Por otra parte, el agua que contiene trazas de minerales, tales como agua Volvic disponible comercialmente, o agua destilada, proporcionar consistentemente una buena función del monocito.

3. La mejora de la adherencia del monocito, se puede obtener por el revestimiento de los pozos de cultivo con fibronectina i.e. revestimiento con plasma autólogo a partir del donante de MN, seguido de un lavado con RPMI 1640, antes de la incubación con células mononucleares.

4. MN de sujetos con una infección viral (por ejemplo influenza) frecuentemente son capaces de inducir una inhibición no dependiente de IgG de crecimiento de parásitos. Este efecto de inhibición no-específica, podría impedir la observación de la inhibición IgG-dependiente en ADCI. Por consiguiente, los donantes de MN sospechosos de padecer una infección viral, o que han tenido fiebre en los últimos 8 días, deben ser evitados. Los resultados de ADCI no son fiables cuando el efecto directo de MN sólo es mayor del 50% de inhibición. La preparación de MN en medio que contiene suero heterólogo, tal como FCS, resulta en la diferenciación de MN, su transformación progresiva en macrófagos que han perdido su efecto promotor de ADCI.

5. Si es necesario, IgG murina se pueden probar en ADCI con MN Humano. El isotipo IgG2a es capaz de unirse con el receptor II y Fc humano presente en los monocitos demostraron que se involucran en el mecanismo de ADCI.

6. Una posible variación de la prueba de ADCI es la evaluación de un efecto de competición entre anticuerpos citofílicos protectores (adultos de zona hiperendémica) dirigidos a la superficie de antígenos de merozoitos, y anticuerpos no-protectores (niños de una zona endémica y pacientes de ataque primario) que reconocen los mismos antígenos pero que no son capaces de desencadenar la activación del monocito debido a que no se unen a los receptores gamma Fc. Por consiguiente Ig no-citofílica dirigida a los antígenos "fundamentales" pueden bloquear el efecto ADCI de anticuerpos protectores. Cada fracción IgG debería ser utilizada al 10% de su concentración original en el suero.

La prueba del protocolo ADCI se puede modificar y realizar con una *ADCI de dos-etapas* con activación de corto-plazo de monocitos de acuerdo con el siguiente procedimiento:

(i). Incubar MN por 12-18 hrs con prueba Ig y esquizontes infectados maduros síncronos con RBC, al 5-10% de parasitemia.

Durante el primer tiempo de cultivo, la ruptura de RBC infectado ocurre y los merozoitos se liberan.

(ii). Recolectar sobrenadantes de cada pozo y centrifugarlos a 700 g.

(iii). Distribuir los sobrenadantes en una placa de 96-pozos, a 100 μ L/pozo

(iv). Adicionar a cada pozo 100 μ L de cultivo de *P. falciparum* asíncrono que contiene medio fresco, un 0.5-1% de parasitemia, 5% de hematocrito (se toma particular cuidado para reducir a un mínimo la contaminación de leucocitos de la preparación de RBC utilizada para este segundo cultivo).

(v). A 36 hr de cultivo, adicionar 1 mCi de 3H hipoxantina a cada pozo.

(vi). A 48 hr de cultivo, las células cosechadas y se estima la absorción 3H mediante conteo en un contador de centelleo líquido.

(Tabla pasa a página siguiente)

ES 2 335 094 T3

2.B. Resultados

TABLA 1

Condiciones de ADCI		anticuerpo	volumen	MN (-)	MN (+)	SGI %	Adj SGII%	Directo
ADCI 02/03	17/1/03	RPMI	10µl	7,8	7,1	0%		0%
Cepa de parásito	3D7	NIG dializado	5µl	7,5	6,3	8%		4%
Preparación de MN	attach	PIAG (IFA 35,000)Ali	10µl	11,8	5	53%	100%	-51%
Para. Inicial (%)	0.5% asincro en AB+ RBC	anti-MSP3.1 CT (MSP3 Simon)	10µl	11,8	5	53%	100 %	-51%
Para. Final. (%)	7.8%	anti-MSP3.4 CT	10µl	12,6	5.1	56%	104 %	-62%
Duración de ADCI	72 h		15µl	9,4	5	42%	78%	-21%
Inhibición MN	9%	anti-MSP3.7 CT	10µl	9,9	5	45%	83%	-27%
% donante de MN	Cito congelado 18/10/02		15µl	11,4	10	4%	7%	-46%
ADCI	Estándar	anti-MSP3.1 CT (MSP3 viejo)	10µl	11	4,6	54%	101 %	-41%
			15µl	11,3	4,6	55%	103%	-45%
placa 1		anti-MSP3.2 CT (MSP6)	10µl	12,5	3,4	70%	131 %	60%
Todos los anticuerpos se ajustaron a título IFA de 1: 200			15µl	9,8	4,5	50%	93%	-26%
		anti-MSP3.8 CT	10µl	12	4,4	60%	112	-54%
			15µl	8,2	7,7	-3%	-6%	-5%
		anti-MSP3.3 CT	10µl	9,1	4,1	51%	94%	-17%
			15µl	9,1	4,5	46%	85%	-17%

Las regiones C-terminal utilizadas para producir los anticuerpos se indican en la Figura 18, y corresponden a las líneas horizontales debajo de cada una de las proteínas. Han sido clonadas en *E. coli* utilizando el vector PTCR-His.

Ejemplo 2

Ensayos *in vivo* por transferencia pasiva de anticuerpos en ratones

Los resultados *in vitro* mostrados en el ejemplo 1 se confirmaron bajo condiciones *in vivo* mediante experimentos de transferencia pasiva de anticuerpos específicos en ratones con inmunidad comprometida, RBCs-injerto humano, infectado con *P. falciparum*.

Los materiales y métodos utilizados para realizar los experimentos descritos en el presente ejemplo se describen en (Brahimi, Perignon *et al.* 1993; Badell, Oeuvray *et al.* 2000). En particular, los métodos para obtener los anticuerpos han sido descritos por Brahimi *et al.*

Debido a la complejidad de la manipulación de este modelo, todos los anticuerpos no pudieron ser probados hasta ahora, pero los anticuerpos para el péptido MSP-3-b, péptido MSP-3-d y para la GLURP-región R0 fueron todos encontrados capaces, en condiciones de transferencia pasiva *in vivo*, para eliminar una parasitemia de *P. falciparum* establecida en ratones SCID con inmunidad comprometida (Figuras 3, 4 y 5). Se puede observar que el efecto de depuración de los anticuerpos anti-MSP-3-b y MSP-3-d es extremadamente fuerte y, al contrario que la depuración inducida por anticuerpos anti-GLURP, ajustado con la misma concentración del anticuerpo, es menos efectiva: el tiempo para la depuración de parásitos después de la transferencia es aproximadamente doble de tiempo con el anti-GLURP que el obtenido con los anticuerpos anti-MSP-3. De nuevo aquí, por las razones descritas en este documento, la red de la reactividad en cruz entre los 6 genes descritos con detalle implica que los anticuerpos dirigidos a los otros genes tendrán más probablemente el mismo efecto biológico, si se transfieren en ratones infectados con *P. falciparum*. Finalmente, este efecto *in vivo* además se confirmó utilizando un anticuerpo recombinante humano dirigido al epítopo MSP-3-b (Figura 6), la reactividad cruzada con proteína recombinante MSP-3-2 y que, tras la transferencia pasiva, se puede eliminar la parasitemia en ratones SCID *P. falciparum*. Resultados esencialmente similares, también se obtuvieron utilizando anticuerpos elicitados por inmunización artificial de voluntarios humanos utilizando un Péptido Sintético Grande que cubre la región de los péptidos MSP-3-b, c, d que mostraron el mismo efecto, tanto en condiciones *in vitro* como en condiciones *in vivo*, en el modelo de ratón SCID *P. falciparum*. (Figura 7).

Ejemplo 3

25 Experimentos de Inmunización en monos

Los datos protectores recolectados bajo condiciones *in vitro* y *in vivo* además se confirmaron independientemente mostrando que los monos aotus inmunizados por MSP-3-1 en forma recombinante con adyuvante mediante adyuvante completo de Freund, produjo anticuerpos efectivos en el mecanismo ADCI y que los monos, cuando se desafían por una inoculación de la etapa sanguínea de *P. falciparum* virulento, fueron capaces de controlar y desactivar su parasitemia por *P. falciparum*, mientras que los monos control no.

Ejemplo 4

35 Comparación de los efectos biológicos obtenidos con IgG Africano total y con anticuerpos anti-MSP-3-b purificados

La comparación del efecto biológico obtenido con IgG Africano total y con anticuerpos anti-MSP-3-b purificados ajustados en la misma concentración como en el IgG Africano total, muestra un efecto más completo y fuerte de los anticuerpos anti-MSP-3-b solos, lo cual acentúa su potencial como vacuna. En el curso de los estudios previos y presentes, los inventores observaron que la afinidad de los anticuerpos purificados con el péptido MSP-3-b tuvo un efecto aparentemente más rápido y duro que la IgG Africana total, de la cual fueron extraídos. Esta observación fue sumamente interesante, ya que *P. falciparum* que se hace de cerca de 6000 diferentes proteínas, y el péptido MSP-3-b que es solo una pequeña región de una de ellas, se puede calcular que los anticuerpos anti-MSP-3-b deberían corresponder a menos de 1/10,000 de los anticuerpos totales obtenidos por la exposición al parásito.

Otros estudios se llevaron a cabo ya sea con IgG total o con anticuerpos anti-MSP-3-b y se resumen en la figura 8. Es notable que en estos experimentos, la cantidad de anticuerpos anti-MSP-3-b en el IgG total o en la preparación purificada, fuera exactamente la misma. Estos experimentos, que corresponden a la $\pm$ SD media de 6 ratones tratados por anticuerpos anti-MSP-3-b y los 6 ratones tratados por IgG Africana total purificada, confirmaron claramente que hubo:

- un efecto mucho más rápido de los anticuerpos anti-MSP-3-b,
- un efecto más completo de los anticuerpos anti-MSP-3-b, ya que llevan a una depuración total de la parasitemia en ratones, mientras que la IgG inmune lleva a una disminución pero sin efecto de esterilización, como fue el caso con la misma preparación cuando se inyectó en voluntarios humanos (y, como es el caso, en donantes Africanos adultos que mantuvieron una parasitemia crónica de bajo-grado).

Esta observación implica que existen otros anticuerpos presentes en la IgG africana inmune, que compite o bloquea el efecto inhibitor de los anticuerpos anti-MSP-3. Esta interacción negativa entre diferentes anticuerpos es reminiscente de lo reportado, por ejemplo, por Blackman and collaborators para los anticuerpos anti-MSP-1. También se puede relacionar con la interferencia de los anticuerpos no-citofílicos dirigidos a otra superficie de antígenos de merozoitos y que podrían actuar indirectamente, por ejemplo, por impedimento estérico, reduciendo el acceso a los antígenos de MSP-3 de los anticuerpos anti-MSP-3.

En cualquier caso, esta observación también tiene implicaciones muy importantes para el desarrollo de vacunas: se puede tomar como una indicación que la inmunización por antígenos seleccionados de la malaria, pueden producir

respuestas de protección más estrictas que aquellas que resultan de la exposición a todas las proteínas de la malaria, o al menos a varias de ellas.

En otras palabras, la inmunización, por moléculas que se identifican como blancos de mecanismos protectores puede llevar a inducir una protección más fuerte que aquella desarrollada por la exposición natural, que ya es la más fuerte protección conocida contra las etapas sanguíneas asexuales en seres humanos. Por tanto, es extremadamente prometedor para el desarrollo de una futura, vacuna eficiente contra la malaria.

Ejemplo 5

Conservación del epítopo en la familia MSP-3

Los materiales y métodos utilizados para realizar los experimentos descritos en el presente ejemplo se describen en (Brahimi, Perignon *et al.* 1993; Badell, Oeuvray *et al.* 2000). En particular, los métodos para obtener los anticuerpos han sido descritos por Brahimi *et al.*

Como una consecuencia de las homologías estructurales entre los miembros de la familia de genes, la existencia de reactividad en cruz inmunológica entre las proteínas correspondientes se confirmó: los anticuerpos humanizados fueron purificados por afinidad en el producto de cada gen y respondieron a todo lo restante.

Los resultados muestran que los anticuerpos inducidos contra una sola proteína de la familia MSP-3 también reaccionaron con otros antígenos, en la inmunotransferencia (Figuras 16 y 17), y en ELISA (Tabla 2 abajo).

TABLA 2

Los anticuerpos para los siete productos génicos son todos efectivos a la mediación de la destrucción de la etapa sanguínea de P. falciparum, en el mecanismo de ADCI anticuerpo mediado, monocito-dependiente, bajo condiciones in vitro. Los resultados muestran que los anticuerpos para cada una de aquellas regiones son igualmente efectivos en conseguir la inhibición de crecimiento de la etapa eritrocítica de P. falciparum bajo condiciones in vitro

	MSP3.1 CT	MSP3.2 CT	MSP3.3 CT	MSP3.4 CT	MSP3.7 CT	MSP3.8 CT	571-His	BSA
Anti-MSP3.1C T	100	6	33	4	35	23	3	4
Anti-MSP3.2C T	54	100	22	4	39	37	4	4
Anti-MSP3.3C T	117	45	100	5	100	47	5	5
Anti-MSP3.4C T	216	44	130	100	147	103	10	10
Anti-MSP3.7C T	32	4	3	3	100	5	4	4
Anti-MSP3.8C T	73	23	26	8	53	100	6	5

Este estudio, que todavía está en marcha, mostró que los anticuerpos purificados por afinidad en el producto de un gen, reaccionan en cruz con los productos de los otros genes y viceversa para cada uno de ellos, que también se muestra indirectamente por los resultados obtenidos en ADCI (Ejemplo 1).

La consecuencia práctica en el nivel inmunológico y de desarrollo de vacunas es que la inmunización por cualquiera de los miembros de la familia de genes inducirá los anticuerpos reactivos a los mismos y a todos los productos génicos restantes.

Por consiguiente, esto constituye un tipo muy particular de familia de multi-genes donde, en lugar de polimorfismo de epítipo, que es usualmente la característica de la familia de multi-genes descritos hasta la fecha, la conservación de epítipo es aquí la principal característica y donde, en caso de delección, la mutación en un gen determinado, otro o todos los otros miembros de la familia pueden asumir la función antigénica. Además todos los genes se expresan simultáneamente por un parásito dado.

En este documento se propone que esto constituye no solo una familia de vacuna preferencial, sino también un mecanismo desarrollado por el parásito para asegurar su supervivencia. El parásito solamente puede sobrevivir a condición de que no destruya su huésped: por la inducción de anticuerpos que reducen la parasitemia a través del mecanismo de ADCI, el parásito garantiza un grado de protección suficiente del huésped inmune y por lo tanto garantiza su propia supervivencia. La duplicación del epítipo proporcionada por la familia de genes garantiza que más de un producto génico puede cumplir esta tarea esencial.

Ejemplo 6

Los resultados obtenidos En ADCI con los péptidos MSP-3-2

Los resultados obtenidos en ADCI con péptidos MSP-3-2 a, b, c, d, e y F son los mismos como aquellos obtenidos con los mismos péptidos a partir de MSP-3-1, i.e., los anticuerpos dirigidos contra los péptidos MSP-3-2 b, c, d y e tienen una Actividad ADCI, mientras que aquellos dirigidos contra los péptidos MSP-3-2 a y f, no.

Ejemplo 7

La complementariedad entre las respuestas a MSP3 y GLURP mostrada en un estudio longitudinal clínico y de seguimiento parasitológico

7.A. Materiales y métodos

7.A.1. Área de estudio, población y supervisión clínica

El pueblo OoDo es una región boscosa re-colonizada de Myanmar con un clima tropical caracterizado por estaciones secas cálidas, secas frías y monzones. En esta área, la malaria se encontró que es estable e hiper-endémica con variación estacional, la mayoría de las infecciones fueron debidas al *Plasmodium falciparum* (98%) y el *Plasmodium vivax* fue responsable para el 2% restante. Un ataque de malaria fue definido de acuerdo con 4 criterios concomitantes: i)- temperatura axilar corregida $\geq 38.0^{\circ}\text{C}$, ii)- ausencia de otras enfermedades clínicas, iii)- presencia de formas asexuales de *P. falciparum* en películas de espesor, y iv)- mejora clínica y parasitológica después del tratamiento con cloroquina. Dos ataques febriles fueron considerados como dos diferentes episodios de malaria si no fueron separados por ≥ 72 h. Los resultados de los primeros 33 meses de seguimiento han sido publicados recientemente (Soe, Khin Saw *et al.* 2001). La misma población de estudio se siguió por un año adicional, hasta el 31 de Diciembre de 1998, utilizando el mismo protocolo. Las muestras de sangre venosa se elaboraron durante Septiembre de 1998, y los índices de ataques de malaria registrados del 1° de Enero a Diciembre 31 de 1998, se utilizaron para analizar la relación con protección clínica.

7.A.2. Toma de muestra de sangre y estudio parasitológico

La supervisión de la infección de la malaria se llevó a cabo por examen mensual sistemático de películas de sangre espesa y delgada a partir de un pinchazo de dedo. Una lámina se consideró como negativo si ningún parásito se visualizó a 200 campos en aceite con tinción Giemsa de película gruesa. Para los casos febriles dos películas de pinchazos de dedo antes y después del tratamiento con cloroquina se examinaron. Muestras de sangre venosa se recolectaron en vacutainers, los sueros se dividieron en alícuotas de forma aséptica, y se almacenaron a -20°C hasta la prueba. Las muestras tomadas de un subgrupo representativo de 116 aldeanos de los cuales más del 60% de las películas de sangre de cada mes fueron disponibles para los datos parasitológicos se seleccionaron de cohorte más amplio de 292 residentes.

7.A.3. Antígenos

Los tres antígenos GLURP recombinantes se derivaron de la región R0 no repetida N-terminal (GLURP₂₇₋₅₀₀), la región R1 repetida (GLURP₄₈₉₋₇₀₅), y la región R2 repetida C-terminal (GLURP₇₀₅₋₁₁₇₈) de *P. falciparum* F32 (Oeuvray, Theisen *et al.* 2000). El fragmento 19-kDa C-terminal de MSP1, MSP1₁₉, de la cepa Wellcome (MSP1-W-19) se produjo como un proteína de fusión-GST recombinante en *Escherichia coli* y fue un regalo en especie de

Dr. A. Holder, UK. La etiqueta-GST se retiró por segmentación enzimática y posterior cromatografía por afinidad antes de utilizar. El péptido sintético MSP3b (184-AKEASSYDYILGWFEFGGVPPEHKKEEN-210, SEQ ID No: 5) contiene el epítipo de la célula-B de MSP3b, que reacciona con los anticuerpos humanos efectivos de ADCI (Oeuvray, Bouharoun-Tayoun *et al.* 1994).

7.A.4. Ensayos de Anticuerpos

Los niveles de anticuerpos a los tres antígenos derivados de *P. falciparum*, se determinaron mediante el ensayo de enzima ligada inmunoabsorbente (ELISA) como se describe previamente (Oeuvray, Theisen *et al.* 2000). En resumen, las placas de microtitulación (Maxisorb, Nunc, Denmark) se cubrieron durante la noche a 4°C con las proteínas o péptidos sintéticos recombinantes en las siguientes concentraciones: 0.5 µg/ml (R0 y R2), 1 µg/ml (R1 y MSP1) y 5 µg/ml (MSP3b). Para los antígenos GLURP 0.05 M de Na₂CO₃, pH 9.6 y para MSP1 y MSP3 solución salina reguladora de fosfato (PBS) pH 7.4 se utilizaron como soluciones reguladoras del revestimiento. El siguiente día las placas se lavaron con PBS más Tween 20 al 0.05% (PBST) y se bloquearon con leche descremada al 2.5% en PBS por 2 h. Los sueros diluidos en PBST que contiene 1.25% (peso/v) de leche descremada, se adicionaron a los pozos por duplicado y se incubaron por 1 h a temperatura ambiente. Las diferentes diluciones de sueros se hicieron para cada antígeno: 1:200 para GLURP, 1:100 para MSP1 y 1:20 para MSP3. Estas diluciones se seleccionaron después de estudios pilotos preliminares, que manifestaron más de una diferencia de 10-veces entre las muestras control y prueba. El anticuerpo unido se detectó mediante inmunoglobulina anti-humana de cabra conjugada con peroxidasa (Caltag Laboratories), diluida 1:3000. El color se manifestó por O-fenilenodiamina (Sigma, St. Louis, Mo.) y H₂O₂ en solución reguladora citrato pH 5 por 30 min. La densidad óptica (OD) a 492 nm, se determinó en un lector de placa (Titertek Multiskan MCC 1340). Las placas se lavaron extensamente con PBST entre cada una de las etapas de incubación. Todas las pruebas de ELISA incluyeron 6 sueros control, seleccionados aleatoriamente entre 100 donantes de sangre Franceses nunca expuestos a la malaria.

Para la determinación de las subclases de IgG1-4, se utilizaron subclases anti-humanas de ratón monoclonales (clones NL16=IgG1 (Boehringer®), HP6002=IgG2 (Sigma®), Zg4=IgG3, y RJ4=IgG4 (ambos de Immunotech®)). Se diluyeron 1:2,000, 1:10,000, 1:10,000, y 1:1,000, respectivamente en 1.25% (peso/v) de leche descremada en PBST y se incubaron por 1 h a temperatura ambiente. IgG anti-ratón de cabra conjugado con peroxidasa (Caltag Laboratories®), se diluye 1:3000 en 1.25% (peso/v) de leche descremada en PBST se adicionó y se incubó por 1 h. El anticuerpo marcado unido se manifestó como se describe anteriormente. Las diluciones de cada anticuerpo monoclonal isotipo-específico (MAb) han sido determinadas previamente como aquellas que discriminan entre las subclases de Ig humana, i.e. que no produce reacciones en cruz entre las subclases (Oeuvray, Theisen *et al.* 2000). Los resultados para IgG total así como los niveles de anticuerpos de subclases se expresaron como proporciones de respuesta del anticuerpo que fueron calculadas dividiendo la OD media de la prueba con la media más 3 SD de los 6 controles normales corren simultáneamente. Una muestra con una proporción de ≥1 se consideró positiva.

7.A.5. Análisis estadísticos

La prueba U de Mann-Whitney y el coeficiente de correlación de orden de rango de Spearman, se utilizaron para los cálculos de los valores-*P*. La asociación entre el riesgo del ataque de malaria durante 1998 y los niveles de anticuerpos (expresados en proporciones) se probaron con el software JMP®, utilizando tanto un modelo de regresión de Poisson donde el efecto de factores de confusión tales como edad, género, tiempo de permanencia en el pueblo y transmisión se controlaron como un análisis de regresión logística (con o sin presencia del ataque de malaria).

7.8. Resultados

7.B.1. Infecciones por *P. falciparum* en el estudio de cohorte

Los 116 sujetos en el estudio de cohorte fueron del pueblo OoDo situado en Myanmar, Sudeste de Asia, donde la malaria es hiper-endémica (Soe, Khin Saw *et al.* 2001). La prevalencia de parasitemia de *P. falciparum* fluctúa alrededor del 40% de Enero a Julio y se redujo alrededor del 20% de Agosto a Diciembre en 1998. La incidencia de malaria clínica, que se calculó como el número medio de ataques por mes en el estudio de cohorte y se expresó en porcentaje varió considerablemente durante el año, alcanzando un máximo en Junio. La velocidad de inoculación infecciosa no se ha determinado para OoDo, sin embargo, Tun-Lin, W *et al.* (Tun-Lin, Thu *et al.* 1995) encontraron 13.7 picaduras infecciosas por persona por año en un pueblo, que se localiza 15 km al Este del pueblo OoDo. El hallazgo concuerda bien con un número estimado de 11 picaduras infecciosas por persona por año, según se calcula por el método de (Beier, Killeen *et al.* 1999). La mayoría de las infecciones (98%) fueron debidas a *P. falciparum* (Soe, Khin Saw *et al.* 2001). Durante el periodo de 12 meses de supervisión clínica continua, 86 (74%) de los 116 aldeanos tuvieron al menos un ataque de malaria como se define en la sección Material y Método y estos individuos se consideraron que eran susceptibles a la malaria. Durante el mismo periodo de 12 meses, 30 (26%) de los aldeanos no tuvieron episodios de malaria clínica, y estos individuos fueron considerados como protegidos clínicamente.

7.B.2. Reconocimiento de anticuerpo de derivados de antígenos MSP3, GLURP, y MSP1 del *P. falciparum*

Los niveles de IgG, y las subclases IgG contra el péptido MSP3b₁₈₄₋₂₁₀ (MSP3b) y las cuatro proteínas recombinantes que representan las regiones GLURP₂₇₋₅₀₀ (R0), GLURP₄₈₉₋₇₀₅ (R1), GLURP₇₀₅₋₁₁₇₉ (R2), y MSP1-19-kDa C-terminal, se determinaron en los 116 sueros recolectados durante Septiembre 1998. R2 fue el antígeno reconocido más frecuentemente por los anticuerpos de IgG (67.2%) seguido por R1, MSP3b y MSP1 (todos a 62%), y R0 (58.6%). Los valores de OD más altos se obtuvieron contra R0 y R2, mientras que MSP3b produjo los valores de OD más bajos. Los niveles de IgG contra las tres regiones GLURP y MSP1 se asociaron significativamente con la edad (coeficiente de correlación de orden de rango de Spearman, $R=0.51, 0.26, 0.41, \text{ y } 0.43$ para R0, R1, R2, y MSP1, respectivamente, $P<0.05$) mientras que la respuesta de IgG contra MSP3 fue independiente de la edad ($R=0.16, P=0.17$). En cuanto a las respuestas de las subclases, IgG1 e IgG4 contra MSP1, IgG2 contra MSP3, IgG1 e IgG3 contra R0, IgG2 e IgG3 contra R1 e IgG4 contra R2, se encontraron significativamente asociados con la edad (Tabla 3). Ni el nivel ni la prevalencia de la respuesta positiva de anticuerpo variaron con el género para ninguno de los antígenos de la prueba.

TABLA 3

Relación entre la edad y el nivel de respuesta de las subclases de los anticuerpos a cada uno de los antígenos estudiados. Los valores $\underline{P}$ y $\underline{R}$ se calcularon, mediante el Coeficiente de correlación de Rango de Sperman

Antígenos	Subclases de IgG	P	R
MSP1	IgG1	0.0002	0.344
	IgG4	0.0009	0.309
MSP3	IgG2	0.0090	0.242
Antígenos GLURP			
R0	IgG1	0.0220	0.213
	IgG3	0.0040	0.268
R1	IgG2	0.0040	0.268
	IgG3	0.0008	0.313
R2	IgG4	0.0140	0.231

7.B.3. Respuestas de anticuerpos y protección clínica

Una diferencia notable entre las respuestas de las subclases de IgG y la protección, se observó para los tres diferentes antígenos (Tabla 4). Por ejemplo, la respuesta de IgG contra el fragmento C-terminal 19-kDa de MSP1, fue casi exclusivamente de las subclases IgG1 con un valor promedio de 8.6 veces mayor en el protegido que en el grupo susceptible mientras que, los anticuerpos IgG3 predominaron contra el epítopo MSP3b en individuos protegidos con un valor promedio de 6.5 veces mayor que el encontrado en individuos susceptibles. Aunque menos pronunciado, una disparidad similar en la respuesta citofílica de las subclases de IgG también se observó para diferentes regiones de los anticuerpos de GLURP, IgG1 predominantes contra la región-R0 no-repetida y los anticuerpos IgG3 prevalentes contra la región repetida R2.

TABLA 4

Niveles promedio (y el rango intercuartil) de anticuerpos de las subclases de IgG para los antígenos MSP1, MSP3 y GLURP encontrados en aldeanos de OoDo considerados como ya sea protegidos de, o susceptibles a los, ataques de malaria por *P. falciparum* durante 1 año de seguimiento activo y continuo. Dado el número de pruebas estadísticas realizadas, el factor de corrección de Bonferroni se aplicó para determinar el nivel de significancia y solo los valores $P < .0025$ se consideraron significantes (*). Los valores P se determinaron a partir de la prueba U no-paramétrica de Mann-Whitney. La diferencia de veces se refiere a la proporción de valores promedio de los dos grupos. # Valores marginalmente diferentes

Antígeno	Subclase IgG	Grupo protegido (n=30)	Grupo susceptible (n=86)	Valores P	Diferencia de veces
MSP1	IgG1	9.5(0.8-25.03)	1.1 (0.5-8.22)	.003 #	8.6
	IgG2	0.9 (0.8-1.26)	0.9 (0.8-1.09)	>.05	
	IgG3	0.9 (0.1-2.63)	0.4 (0.0-0.81)	>.05	
	IgG4	1.2 (0.8-3.01)	1.0 (0.7-1.47)	.01	
MSP3	IgG1	1.4 (0.8-2.4)	0.7 (0.4-7.0)	<.001*	2.0
	IgG2	1.1 (0.9-1.57)	0.8 (0.7-1.0)	>.05	
	IgG3	6.5 (2.5-14.03)	1.0 (0.6-1.49)	<.001*	6.5
	IgG4	1.3 (1.0-1.82)	1.0 (0.9-1.35)	<.001*	1.3
R0	IgG1	3.9 (2.4-7.62)	1.8 (1.0-3.15)	<.001*	2.2
	IgG2	0.9 (0.4-2.5)	0.8 (0.4-1.33)	>.05	
	IgG3	1.3 (0.6-3.76)	0.9 (0.3-1.44)	.019	
	IgG4	0.2 (0.2-2.05)	0.6 (0.2-1.07)	>.05	
R1	IgG1	0.3 (0.1-0.9)	0.2 (0.1-0.4)	>.05	
	IgG2	0.9 (0.4-1.64)	0.6 (0.4-0.91)	>.05	
	IgG3	1.2 (0.4-2.64)	0.5 (0.2-0.91)	.039	
	IgG4	0.2 (0.2-0.52)	0.7 (0.2-0.94)	.021	
R2	IgG1	2.0 (0.9-5.4)	1.1 (0.3-3.11)	.01	
	IgG2	2.0 (1.0-4.02)	0.9 (0.2-1.73)	<.001*	2.2
	IgG3	6.4 (1.7-12.01)	0.9 (0.3-2.83)	<.001*	7.1
	IgG4	1.0 (0.6-1.2)	0.6 (0.4-0.85)	.003	

Dado que los títulos del anticuerpo contra GLURP y MSP1 aumentan en función de la edad, la correlación del estado clínico de los aldeanos con diversos anticuerpos fue reexaminado en un modelo de regresión logístico que considera la edad y todas las respuestas de anticuerpos (log transformado) como variables explicativas. Cuando se prueban estos parámetros en el modelo y en particular cuando la edad se controló para, entre todas las respuestas de anticuerpos, los pronosticadores más fuertes de la protección contra la malaria identificados fueron aumentando los niveles de IgG3 contra MSP3b (proporción $F = 67.5$; $P < 0.0001$) y contra GLURP-R0 (proporción $F = 23.1$; $P < 0.0001$). Otros anticuerpos no se asocian significativamente con la protección. En contraste, los análisis indicaron que los niveles de IgG4 contra R0 (proporción $F = 4.4$; $P = 0.038$) y R1 (proporción $F = 3.9$; $P = 0.051$) aumentan con el número del ataque de la malaria, i.e. eran en cierta medida pronóstico de la susceptibilidad a la malaria.

7.B.4. Respuestas de especificidad del antígeno de IgG3 en aldeanos protegidos

La Figura 14A muestra el patrón general de respuestas del anticuerpo IgG3 encontrado contra los diferentes antígenos de la etapa sanguínea en OoDo. El rango de valores fue grande para la mayoría de respuestas de anticuerpos de antígeno-específico y esto sugiere que diferentes subgrupos de “respondedores” podrían existir. Los sueros de aldeanos que fueron protegidos de la malaria clínica no muestran todos valores de IgG3 altos contra ambos MSP3b y GLURP-R0. Algunos individuos mostraron una reactividad de IgG3 inesperadamente baja, contra ya sea uno de estos 2 antígenos. En un intento por entender cómo estos aldeanos fueron protegidos contra los ataques de malaria, dos sub-grupos se identificaron, caracterizados por: a)- respuestas de IgG3 bajas contra MSP3 (7 de cada 30 casos) o b)- respuestas de IgG3 bajas contra R0 (15 de cada 30 casos). Los niveles de anticuerpos IgG3 contra los otros tres

antígenos se estimaron (Fig. 14B). Los 7 individuos protegidos (edad promedio $\pm$ error std = 33.9 ± 7.0 años) con una respuesta de IgG3 baja para MSP3b (IgG3 proporción = $1.26 \pm .22$) se encontró que tienen una fuerte respuesta de IgG3 para R0 (proporción IgG3 = 9.09 ± 3.41) y para R2 (proporción IgG3 = 8.36 ± 5.86). En el segundo subgrupo de los otros 15 individuos (24.7 ± 4.3 años de edad) también protegido a pesar de una baja respuesta de IgG3 para GLURP-R0 (proporción IgG3 = $0.55 \pm .08$), la situación inversa se encontró (Figura 14C): una respuesta de IgG3 alta de anticuerpo contra MSP3b se observó (proporción IgG3 = 10.45 ± 2.07) y para unas extensiones menores contra GLURP-R2 (proporción IgG3 = $4.43 \pm .80$). Los títulos para aquellos que responden a solo un antígeno tienden a ser más altos que aquellos que responden a ambos antígenos (Tabla 4). El número de años en el pueblo OoDo no difiere significativamente entre los grupos de baja respuesta a MSP3 (20.43 ± 4.70 años de residencia) y R0 (18.7 ± 10.6 años de residencia).

Los sueros de 13 de los 30 individuos considerados como protegidos en 1998 también han sido muestreados en 1993, y por lo tanto se utilizaron para comparar en un intervalo de 5 años los niveles relativos de anti-MSP3 y anti-R0 IgG1 y anticuerpos IgG3. Según se muestra en la Fig 14D y 14E, no hubo cambios principales detectables en los niveles de IgG1 específico contra los dos antígenos. En contraste, los niveles de anticuerpos IgG3 para ambos MSP3 y GLURP aumentan de 1993 a 1998. En el subgrupo de 7 individuos con IgG3 elevada contra MSP3 en 1998 (Fig 14D), la diferencia corresponde a un aumento de 1.67 veces ($P=.11$). En el subgrupo de 6 sujetos con elevada IgG3 contra R0 en 1998 (Fig 14E), la diferencia correspondía a una más importante, ie. Aumento de 3.93 veces ($P=.05$). Los 6 individuos con respuestas de IgG3 altas contra MSP3 en 1998 también tuvieron altos títulos 5 años antes, sugiriendo que ya eran protegidos vía una respuesta de IgG3 anti-MSP3 sostenida en 1993, cuando tuvieron 18.2 ± 9.8 años de edad. En contraste, para GLURP los 7 individuos con una fuerte respuesta anti-R0 IgG3 detectable en 1998 tuvo respuestas de IgG3 anti-R0 sustancialmente inferior 5 años antes ($P=0.0157$), cuando tuvieron 23.7 ± 6.9 años de edad. Así, hubo un cambio drástico en aquellos 7 individuos protegidos vía IgG3 para R0 en 1998 y su protección 5 años antes, se relacionó posiblemente a IgG3 contra MSP3.

7.C. Discusión

El presente estudio es el primero que muestra una asociación entre las respuestas de anticuerpos antígeno-específicos y protección de la malaria clínica en el Sud Este de Asia. La prevalencia de la respuesta positiva de los anticuerpos contra GLURP y MSP3 fue alta en OoDo, oscilando de 58.6% (R0) a 67.2% (R2). Esta observación está en concordancia con el hallazgo que los epitopes de la célula-B entre GLURP y MSP3 se conservan altamente entre líneas de laboratorio de *P. falciparum* y aislados de campo de África y Asia (Huber, Felger *et al.* 1997), (McColl and Anders 1997; of Stricker, Vuust *et al.* 2000). La prevalencia de anticuerpos frente a MSP1-W-19 también fue alta, siendo casi dos veces los valores encontrados en Gambia y Sierra Leona (Egan, Morris *et al.* 1996) y en Ghana (Dodoo, Theander *et al.* 1999) sugiriendo que las cepas relacionadas con la cepa Wellcome podrían ser prevalentes en OoDo.

Los títulos altos de ELISA se encontraron contra las regiones GLURP RO- y R2- recombinantes y MSP1. Las diferencias en los títulos de ELISA de GLURP-R0, -R1, -R2 y MSP1 muy probablemente reflejan diferencias en la reactividad del anticuerpo en suero. En contraste, el ELISA de MSP3 dio señales comparativamente menores, sin embargo esta discrepancia puede ser al menos, en parte, relacionada con el uso de un péptido sintético pequeño que define un solo o número limitado de epitopes, en comparación con las proteínas recombinantes en el caso de GLURP y MSP1 que se conocen por definir varios epitopes (Theisen, Soe *et al.* 2000).

Los niveles de IgG contra todas las regiones GLURP y MSP1 se asociaron significativamente con la edad ($P<0.05$) mientras que en contraste con esta situación, la respuesta de IgG contra MSP3 se encontró independiente de la edad. En cuanto a las respuestas de las subclases de IgGs, varias de ellas también se encontraron significativamente asociadas con la edad y estas variaciones podrían reflejar la duración de la exposición a los parásitos de la malaria, así como la maduración progresiva del sistema inmune con el tiempo.

Hubo un incremento estadísticamente significativo en los niveles de IgG3 contra R0 y MSP3 entre los individuos protegidos que viven en OoDo en comparación con aquellos no-protegidos. Estos resultados están en desacuerdo con aquellos de Dodoo *et al.* (Dodoo, Theisen *et al.* 2000), quienes encontraron que la respuesta citofílica de los anticuerpos contra R0 y R2 fueron fuertes pronosticadores de protección en niños de Ghana, y los de Oeuvray *et al.*, que encontraron una consistente correlación entre la protección y la IgG3 elevada contra ambos GLURP-R0 y R2 en Dielmo, West África (Oeuvray, Theisen *et al.* 2000). De modo semejante las respuestas de IgG3 de MSP3-específico han sido previamente asociadas con la protección contra la malaria clínica en Dielmo. En conjunto, estos resultados sugieren que la misma respuesta de las subclases de IgG con los mismos epitopes fundamentales se involucran en el desarrollo gradual de protección contra la malaria por *P. falciparum* en Africano, así como en poblaciones Asiáticas que viven en zonas endémicas de la malaria. Además, el presente estudio encontró una correlación significativa negativa entre los niveles de anticuerpos no-citofílicos contra R0 y R1 y protección clínica. Por consiguiente, por una parte, existe una asociación positiva entre las respuestas de las subclases de IgG citofílica y la protección y por otra parte, una asociación negativa entre las respuestas de las subclases no-citofílicas con la misma especificidad del epitope y la protección. Este resultado epidemiológico está en desacuerdo con la observación *in vitro* que los anticuerpos no-citofílicos pueden inhibir el puente de los merozoitos y monocitos humanos por anticuerpos citofílicos contra el mismo objetivo antigénico y por consiguiente reduce la capacidad de la última para controlar la multiplicación del parásito por el mecanismo de ADCI (Bouharoun-Tayoun and Druilhe 1992).

Considerando que la mayoría de los residentes protegidos de OoDo tuvo respuestas de IgG3 altas contra ambos MSP3 y GLURP, un número de individuos con baja o casi ninguna respuesta de IgG3 contra ya sea uno de estos antígenos también parece que es protegido. Los inventores encontraron que todos los individuos protegidos con baja respuesta de IgG3 de GLURP-R0 específico tuvieron niveles de anticuerpos IgG3 anti-MSP3 específicos significan-
 5 temente elevados, y viceversa. Esta observación sugiere que los anticuerpos contra GLURP y MSP3 pueden actuar de una manera complementaria para controlar la multiplicación del parásito en individuos inmunes. Esto es relevante en consideración con el papel de estos anticuerpos en el mecanismo de ADCI. De hecho, solo la evaluación simultánea de varios antígenos reveló este efecto complementario. Este hallazgo está en favor de las pruebas de varios antígenos de forma simultánea para complementarios como para posibles efectos antagonísticos que podría tener consecuencias
 10 en el diseño de vacunas combinadas.

En conclusión, el presente estudio muestra que (1)- los epitopes fundamentales en los antígenos MSP3 y GLURP, que son más conservadas, son blancos de anticuerpos protectores en zonas endémicas distantes geográficamente del mundo. (2)- anticuerpos IgG3 para MSP3 y GLURP-R0 son los pronosticadores más fuertes de protección de la
 15 malaria clínica en un Africano y también un Asiático. (3)- Para alcanzar un estado de premunición en Asia, así como en África, es necesario producir una subclase citofílica de anticuerpo contra antígenos fundamentales (a saber, MSP3b y GLURP que ambos inducen los anticuerpos activos en ADCI). (4)- Parece que es un efecto de complementariedad entre estos dos antígenos. Las respuestas de IgG3 pueden tener efectos similares contra el riesgo de los ataques de malaria, a condición de que se presenten contra un antígeno cuando las respuestas a los otros son bajas o casi ausentes. (5)- Las respuestas a diferentes epitopes de célula B en un antígeno dado parece evolucionar independientemente y el
 20 nivel de reconocimiento puede cambiar con el tiempo.

La complementariedad de las respuestas observadas a los dos principales blancos de ADCI identificados hasta la fecha, proporciona la primera base racional para combinar estos dos antígenos en una formulación de vacuna híbrida. Adicionalmente, los estudios de inmunogenicidad realizados en modelos de animales pre-clínicos con la vacuna de
 25 híbrido presta más apoyo a esta combinación de antígeno demostrando que mejora la inmunogenicidad con respuestas bien balanceadas, equilibradas a cada molécula.

Referencias

- 30 **Badell, E., C. Oeuvray, et al. (2000).** "Human malaria in immunocompromised mice: an *in vivo* model to study defense mechanisms against *Plasmodium falciparum*". *J Exp Med* 192(11): 1653-60.
- Beier, J. C., G. F. Killeen, et al. (1999).** "Short report: entomologic inoculation rates and *Plasmodium falciparum*
 35 malaria prevalence in África". *Am J Trop Med Hyg* 61(1): 109-13.
- BenMohamed, L., Y. Belkaid, et al. (2002).** "Systemic immune responses induced by mucosal administration of lipopeptides without adjuvant". *Eur J Immunol* 32(8): 2274-81.
- 40 **Bottius, E., L. BenMohamed, et al. (1996).** "A novel *Plasmodium falciparum* sporozoite and liver stage antigen (SALSA) defines major B, T helper, and CTL epitopes". *J Immunol* 156(8): 2874-84.
- Bouharoun-Tayoun, H. and P. Druilhe (1992).** "Antibodies in falciparum malaria: what matters most, quantity or quality?" *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87 Suppl 3: 229-34.
 45
- Bouharoun-Tayoun, H., C. Oeuvray, et al. (1995).** "Mechanisms underlying the monocyte-mediated antibody-dependent killing of *Plasmodium falciparum* asexual blood stages." *J Exp Med* 182(2): 409-18.
- Brahimi, K., J. L. Perignon, et al. (1993).** "Fast immunopurification of small amounts of specific antibodies on peptides bound to ELISA plates". *J Immunol Methods* 162(1): 69-75.
 50
- Dame, J. B., J. L. Williams, et al. (1984).** "Structure of the gene encoding the immunodominant surface antigen on the sporozoite of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*". *Science* 225(4662): 593-9.
- 55 **Daubersies, P., A. W. Thomas, et al. (2000).** "Protection against *Plasmodium falciparum* malaria in chimpanzees by immunization with the conserved pre-erythrocytic liver-stage antigen 3". *Nat Med* 6(11): 1258-63.
- de Stricker, K., J. Vuust, et al. (2000).** "Conservation and heterogeneity of the glutamate-rich protein (GLURP) among field isolates and laboratory lines of *Plasmodium falciparum*". *Mol Biochem Parasitol* 111(1): 123-30.
 60
- Dodoo, D., T. G. Theander, et al. (1999).** "Levels of antibody to conserved parts of *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1 in Ghanaian children are not associated with protection from clinical malaria". *Infect Immun* 67(5):2131-7.
- 65 **Dodoo, D., M. Theisen, et al. (2000).** "Naturally acquired antibodies to the glutamate-rich protein are associated with protection against *Plasmodium falciparum* malaria". *J Infect Dis* 181(3): 1202-5.

Egan, A. F., J. Morris, et al. (1996). "Clinical immunity to *Plasmodium falciparum* malaria is associated with serum antibodies to the 19-kDa C-terminal fragment of the merozoite surface antigen, PfMSP-1". *J Infect Dis* 173(3): 765-9.

Escalante, A. A., H. M. Grebert, et al. (2001). "Polymorphism in the gene encoding the apical membrane antigen-1 (AMA-1) of *Plasmodium falciparum*. X. Asembo Bay Cohort Project". *Mol Biochem Parasitol* 113(2): 279-87.

Fidock, D. A., E. Bottius, et al. (1994). "Cloning and characterization of a novel *Plasmodium falciparum* sporozoite surface antigen, STARP". *Mol Biochem Parasitol* 64(2): 219-32.

Gras-Masse, H., B. Georges, et al. (1999). "Convergent peptide libraries, or mixotopes, to elicit or to identify specific immune responses". *Curr Opin Immunol* 11(2): 223-8.

Guerih-Marchand, C., P. Druilhe, et al. (1987). "A liver-stage-specific antigen of *Plasmodium falciparum* characterized by gene cloning". *Nature* 329(6135): 164-7.

Huber, W., I. Felger, et al. (1997). "Limited sequence polymorphism in the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 3". *Mol Biochem Parasitol* 87(2): 231-4.

Khusmith, S. and P. Druilhe (1983). "Cooperation between antibodies and monocytes that inhibit *in vitro* proliferation of *Plasmodium falciparum*". *Infect Immun* 41(1): 219-23.

Knapp, B., E. Hundt, et al. (1989). "Molecular cloning, genomic structure and localization in a blood stage antigen of *Plasmodium falciparum* characterized by a serine stretch". *Mol Biochem Parasitol* 32(1): 73-83.

Lunel, F. and P. Druilhe (1989). "Effector cells involved in nonspecific and antibody-dependent mechanisms directed against *Plasmodium falciparum* blood stages *in vitro*". *Infect Immun* 57(7): 2043-9.

Marshall, V. M., W. Tieqiao, et al. (1998). "Close linkage of three merozoite surface protein genes on chromosome 2 of *Plasmodium falciparum*". *Mol Biochem Parasitol* 94(1): 13-25.

McColl, D. J. and R. F. Anders (1997). "Conservation of structural motifs and antigenic diversity in the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-3 (MSP-3)". *Mol Biochem Parasitol* 90(1): 21-31.

Miller, L. H., T. Roberts, et al. (1993). "Analysis of sequence diversity in the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-1 (MSP-1)". *Mol Biochem Parasitol* 59(1): 1-14.

Oeuvray, C., H. Bouharoun-Tayoun, et al. (1994). "Merozoite surface protein-3: a malaria protein inducing antibodies that promote *Plasmodium falciparum* killing by cooperation with blood monocytes". *Blood* 84(5): 1594-602.

Oeuvray, C., M. Theisen, et al. (2000). "Cytophilic immunoglobulin responses to *Plasmodium falciparum* glutamaterich protein are correlated with protection against clinical malaria in Dielmo, Senegal". *Infect Immun* 68(5): 2617-20.

Peterson, M. G., V. M. Marshall, et al. (1989). "Integral membrane protein located in the apical complex of *Plasmodium falciparum*". *Mol Cell Biol* 9(7): 3151-4.

Pleass, R. J. and J. M. Woof (2001). "Fc receptors and immunity to parasites". *Trends Parasitol* 17(11): 545-51.

Robson, K. J., J. R. Hall, et al. (1988). "A highly conserved amino-acid sequence in thrombospondin, properdin and in proteins from sporozoites and blood stages of a human malaria parasite". *Nature* 335(6185): 79-82.

Roussillon, C. (1999). "Correlates of Immune protection in malaria". MIM African Malaria Conference, 14-19 March, Durban South Africa.

Simmons, D., G. Woollett, et al. (1987). "A malaria protein exported into a new compartment within the host erythrocyte". *Embo J* 6(2): 485-91.

Soe, S., A. Khin Saw, et al. (2001). "Premunition against *Plasmodium falciparum* in a malaria hyperendemic village in Myanmar". *Trans R Soc Trop Med Hyg* 95(1): 81-4.

Theisen, M., D. Dodoo, et al. (2001). "Selection of glutamate-rich protein long synthetic peptides for vaccine development: antigenicity and relationship with clinical protection and immunogenicity". *Infect Immun* 69(9): 5223-9.

Theisen, M., S. Soe, et al. (2000). "Identification of a major B-cell epitope of the *Plasmodium falciparum* glutamaterich protein (GLURP), targeted by human antibodies mediating parasite killing". *Vaccine* 19(2-3): 204-12.

5 **Theisen, M., S. Soe, et al. (1998).** "The glutamate-rich protein (GLURP) of *Plasmodium falciparum* is a target for antibody-dependent monocyte-mediated inhibition of parasite growth *in vitro*". *Infect Immun* 66(1): 11-7.

Thomas, A. W., D. A. Carr, et al. (1990). "Sequence comparison of allelic forms of the *Plasmodium falciparum* merozoite surface antigen MSA2". *Mol Biochem Parasitol* 43(2): 211-20.

10 **Trucco, C., D. Fernandez-Reyes, et al. (2001).** "The merozoite surface protein 6 gene codes for a 36 kDa protein associated with the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-1 complex". *Mol Biochem Parasitol* 112(1):91-101.

15 **Tun-Lin, W., M. M. Thu, et al. (1995).** "Hyperendemic malaria in a forested, hilly Myanmar village". *J Am Mosq Control Assoc* 11(4): 401-7.

Referencias citadas en la descripción

20 *Esta lista de referencias citada por el aspirante es solamente para conveniencia del lector. No forma parte del documento de la patente Europea. Aún cuando se ha tenido gran cuidado en recopilar las referencias, los errores u omisiones no se pueden excluir y la EPO desconoce toda responsabilidad a este respecto.*

Documentos de patentes citadas en la descripción

25 • WO 03016354 A [0077]

Literatura no-patente citada en la descripción

30 • **Boyum.** *Scand J. Clin. Lab. Invest.*, 1968, vol. 21, 77-89 [0099]

• **Badell, E.; C. Oeuvray et al.** Human malaria in immunocompromised mice: an *in vivo* model to study defense mechanisms against *Plasmodium falciparum*. *J Exp Med*, 2000, vol. 192 (11), 1653-60 [0143]

35 • **Beier, J. C.; G. F. Killeen et al.** Short report: entomologic inoculation rates and *Plasmodium falciparum* malaria prevalence in África. *Am J Trop Med Hyg*, 1999, vol. 61 (1), 109-13 [0143]

40 • **BenMohamed, L.; Y. Belkaid et al.** Systemic immune responses induced by mucosal administration of lipopeptides without adjuvant. *Eur J Immunol*, 2002, vol. 32 (8), 2274-81 [0143]

• **Bottius, E.; L. BenMohamed et al.** A novel *Plasmodium falciparum* sporozoite and liver stage antigen (SALSA) defines major B, T helper, and CTL epitopes. *J Immunol*, 1996, vol. 156 (8), 2874-84 [0143]

45 • **Bouharoun-Tayoun, H.; P. Druilhe.** Antibodies in falciparum malaria: what matters most, quantity or quality?. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 1992, vol. 87 (3), 229-34 [0143]

• **Bouharoun-Tayoun, H.; C. Oeuvray et al.** Mechanisms underlying the monocyte-mediated antibody-dependent killing of *Plasmodium falciparum* asexual blood stages. *J Exp Med*, 1995, vol. 182 (2), 409-18 [0143]

50 • **Brahimi, K.; J. L. Perignon et al.** Fast immunopurification of small amounts of specific antibodies on peptides bound to ELISA plates. *J Immunol Methods*, 1993, vol. 162 (1), 69-75 [0143]

55 • **Dame, J. B.; J. L. Williams et al.** Structure of the gene encoding the immunodominant surface antigen on the sporozoite of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Science*, 1984, vol. 225 (4662), 593-9

• **Daubersies, P.; A. W. Thomas et al.** Protection against *Plasmodium falciparum* malaria in chimpanzees by immunization with the conserved pre-erythrocytic liver-stage antigen 3. *Nat Med*, 2000, vol. 6 (11), 1258-63

60 • **de Stricker, K.; J. Vuust et al.** Conservation and heterogeneity of the glutamate-rich protein (GLURP) among field isolates and laboratory lines of *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol*, 2000, vol. 111 (1), 123-30 [0143]

65 • **Dodoo, D.; T. G. Theander et al.** Levels of antibody to conserved parts of *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1 in Ghanaian children are not associated with protection from clinical malaria. *Infect Immun*, 1999, vol. 67 (5), 2131-7 [0143]

• **Dodoo, D.; M. Theisen et al.** Naturally acquired antibodies to the glutamate-rich protein are associated with protection against *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis*, 2000, vol. 181 (3), 1202-5 [0143]

• **Egan, A. F.; J. Morris et al.** Clinical immunity to *Plasmodium falciparum* malaria is associated with serum antibodies to the 19-kDa C-terminal fragment of the merozoite surface antigen, PfMSP-1. *J Infect Dis*, 1996, vol. 173 (3), 765-9 [0143]

• **Escalante, A. A.; H. M. Grebert et al.** Polymorphism in the gene encoding the apical membrane antigen-1 (AMA-1) of *Plasmodium falciparum*. X. Asembo Bay Cohort Project. *Mol Biochem Parasitol*, 2001, vol. 113 (2), 279-87 [0143]

• **Fidock, D. A.; E. Bottius et al.** Cloning and characterization of a novel *Plasmodium falciparum* sporozoite surface antigen, STARP. *Mol Biochem Parasitol*, 1994, vol. 64 (2), 219-32 [0143]

• **Gras-Masse, H.; B. Georges et al.** Convergent peptide libraries, or mixotopes, to elicit or to identify specific immune responses. *Curr Opin Immunol*, 1999, vol. 11 (2), 223-8 [0143]

• **Guerih-Marchand, C.; P. Druilhe et al.** A liver-stage-specific antigen of *Plasmodium falciparum* characterized by gene cloning. *Nature*, 1987, vol. 329 (6135), 164-7 [0143]

• **Huber, W.; I. Felger et al.** Limited sequence polymorphism in the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 3. *Mol Biochem Parasitol*, 1997, vol. 87 (2), 231-4 [0143]

• **Khusmith, S.; P. Druilhe.** Cooperation between antibodies and monocytes that inhibit *in vitro* proliferation of *Plasmodium falciparum*. *Infect Immun*, 1983, vol. 41 (1), 219-23 [0143]

• **Knapp, B.; E. Hundt et al.** Molecular cloning, genomic structure and localization in a blood stage antigen of *Plasmodium falciparum* characterized by a serine stretch. *Mol Biochem Parasitol*, 1989, vol. 32 (1), 73-83 [0143]

• **Lunel, F.; P. Druilhe.** Effector cells involved in nonspecific and antibody-dependent mechanisms directed against *Plasmodium falciparum* blood stages *in vitro*. *Infect Immun*, 1989, vol. 57 (7), 2043-9 [0143]

• **Marshall, V. M.; W. Tieqiao et al.** Close linkage of three merozoite surface protein genes on chromosome 2 of *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol*, 1998, vol. 94 (1), 13-25 [0143]

• **McColl, D. J.; R. F. Anders.** Conservation of structural motifs and antigenic diversity in the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-3 (MSP-3). *Mol Biochem Parasitol*, 1997, vol. 90 (1), 21-31 [0143]

• **Miller, L. H.; T. Roberts et al.** Analysis of sequence diversity in the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-1 (MSP-1). *Mol Biochem Parasitol*, 1993, vol. 59 (1), 1-14 [0143]

• **Oeuvray, C.; H. Bouharoun-Tayoun et al.** Merozoite surface protein-3: a malaria protein inducing antibodies that promote *Plasmodium falciparum* killing by cooperation with blood monocytes. *Blood*, 1994, vol. 84 (5), 1594-602 [0143]

• **Oeuvray, C.; M. Theisen et al.** Cytophilic immunoglobulin responses to *Plasmodium falciparum* glutamate-rich protein are correlated with protection against clinical malaria in Dielmo, Senegal. *Infect Immun*, 2000, vol. 68 (5), 2617-20 [0143]

• **Peterson, M. G.; V. M. Marshall et al.** Integral membrane protein located in the apical complex of *Plasmodium falciparum*. *Mol Cell Biol*, 1989, vol. 9 (7), 3151-4 [0143]

• **Pleass, R. J.; J. M. Woof.** Fc receptors and immunity to parasites. *Trends Parasitol*, 2001, vol. 17 (11), 545-51 [0143]

• **Robson, K. J.; J. R. Hall et al.** A highly conserved amino-acid sequence in thrombospondin, properdin and in proteins from sporozoites and blood stages of a human malaria parasite. *Nature*, 1988, vol. 335 (6185), 79-82 [0143]

• **Roussillon, C.** Correlates of Immune protection in malaria. MIM African Malaria Conference, 14 March 1999 [0143]

• **Simmons, D.; G. Woollett et al.** A malaria protein exported into a new compartment within the host erythrocyte. *Embo J*, 1987, vol. 6 (2), 485-91 [0143]

• **Soe, S.; A. Khin Saw et al.** Premunition against *Plasmodium falciparum* in a malaria hyperendemic village in Myanmar. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2001, vol. 95 (1), 81-4 [0143]

- **Theisen, M.; D. Dodoo** *et al.* Selection of glutamate-rich protein long synthetic peptides for vaccine development: antigenicity and relationship with clinical protection and immunogenicity. *Infect Immun*, 2001, vol. 69 (9), 5223-9 [0143]
- 5 • **Theisen, M.; S. Soe** *et al.* Identification of a major B-cell epitope of the *Plasmodium falciparum* glutamate-rich protein (GLURP), targeted by human antibodies mediating parasite killing. *Vaccine*, 2000, vol. 19 (2-3), 204-12 [0143]
- 10 • **Theisen, M.; S. Soe** *et al.* The glutamate-rich protein (GLURP) of *Plasmodium falciparum* is a target for antibody-dependent monocyte-mediated inhibition of parasite growth *in vitro*. *Infect Immun*, 1998, vol. 66 (1), 11-7 [0143]
- 15 • **Thomas, A. W.; D. A. Carr** *et al.* Sequence comparison of allelic forms of the *Plasmodium falciparum* merozoite surface antigen MSA2. *Mol Biochem Parasitol*, 1990, vol. 43 (2), 211-20 [0143]
- 20 • **Trucco, C.; D. Fernandez-Reyes** *et al.* The merozoite surface protein 6 gene codes for a 36 kDa protein associated with the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-1 complex. *Mol Biochem Parasitol*, 2001, vol. 112 (1), 91-101 [0143]
- 25 • **Tun-Lin, W.; M. M. Thu** *et al.* Hyperendemic malaria in a forested, hilly Myanmar village. *J Am Mosq Control Assoc*, 1995, vol. 11 (4), 401-7 [0143]

REIVINDICACIONES

1. Un Polipéptido antigénico de la proteína MSP3.3 de SEQ ID NO:6 que comprende al menos un motivo del tipo MSP-3-c/d como se define en SEQ ID NO:27.

2. Un polipéptido antigénico de la proteína MSP3.3 de SEQ ID NO:6 que comprende al menos un motivo del tipo MSP-3-c/d, obtenido por sustitución conservadora de al menos un aminoácido de SEQ ID NO:27, siendo dicho motivo reconocido por un anticuerpo dirigido contra el motivo del tipo MSP-3-c/d como se define en SEQ ID NO:27, a condición que dicho polipéptido antigénico no sea un fragmento de MSP-3-1 de la SEQ ID NO: 2 o un fragmento de MSP-3-2 de la SEQ ID NO: 4.

3. Un polipéptido antigénico de acuerdo con la reivindicación 2, que comprende al menos un motivo del tipo MSP-3-c/d, que muestra al menos 90% de identidad con el motivo según se define en SEQ ID NO:27.

4. Un polipéptido antigénico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que además comprende al menos un motivo del tipo MSP-3-b, que tiene una secuencia seleccionada entre la secuencia de SEQ ID Nos: 17 a 24.

5. Una composición polipeptídica antigénica que comprende un motivo del tipo MSP-3-c/d como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y al menos otro motivo del tipo MSP-3-c/d seleccionado en el grupo que consiste de:

a. SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30;

b. un motivo del tipo MSP-3-c/d obtenido por la sustitución conservadora de al menos un aminoácido en una secuencia seleccionada en el grupo que consiste en tener una secuencia de SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29 o SEQ ID NO:30, siendo dicho motivo reconocido por un anticuerpo dirigido contra cualquier motivo del tipo MSP-3-c/d como se define en SEQ ID NO:25 a SEQ ID NO:30; y

c. un motivo del tipo MSP-3-c/d que muestra al menos 90% de identidad con SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29 y SEQ ID NO:30.

6. Una composición de polipéptido antigénico de acuerdo con la reivindicación 5 que comprende un motivo del tipo MSP-3-c/d, como se define en SEQ ID NO:27 y al menos otro motivo del tipo MSP-3-c/d seleccionado en el grupo que consiste de SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29 y SEQ ID NO:30.

7. Una composición de polipéptido antigénico de acuerdo con la reivindicación 5 o 6. En donde los citados al menos dos motivos del tipo MSP-3-c/d diferentes, se llevan por moléculas distintas.

8. Una composición de polipéptido antigénico de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, en donde dichos al menos dos motivos del tipo MSP-3-c/d diferentes se llevan por una molécula única.

9. La composición polipeptídica antigénica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, que además comprende un polipéptido antigénico que comprende al menos 10 residuos de aminoácidos consecutivos de la región R0 de GLURP.

10. La composición polipeptídica antigénica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, que es un mixotopo que comprende los péptidos sintéticos que comprenden la secuencia:

$L-X_1X_2X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-D-X_8-X_9-X_{10}-I-X_{11}-X_{12}X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}$ (SEQ ID No:33),

en donde:

$X_1 = E, \text{ o } S;$

$X_2 = L, H, S \text{ o } Q;$

$X_3 = I, V \text{ o } L;$

$X_4 = K, N, Y \text{ o } P;$

$X_5 = T, S \text{ o } P;$

$X_6 = S \text{ o } L;$

$X_7 = K, W \text{ o } S;$

$X_8 = E, K, R \text{ o } I;$

$X_9 = E \text{ o } N;$

$X_{10} = D, N \text{ o } Q;$

5 $X_{11} = I, V, S, P \text{ o } A;$

$X_{12} = K, D \text{ o } N;$

$X_{13} = H \text{ o } E;$

10 $X_{14} = N \text{ o } S;$

$X_{15} = E \text{ o } D; \text{ y}$

15 $X_{16} = D \text{ o } Q.$

11. La composición polipeptídica antigénica de acuerdo con la reivindicación 10, que es una mezcla de al menos 50, al menos 100, o al menos 500 péptidos de diferentes secuencias.

20 12. El polipéptido antigénico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o la composición polipeptídica antigénica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11, en donde una molécula lipídica se une a al menos parte de las moléculas polipeptídicas.

25 13. El polipéptido antigénico o composición polipeptídica de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la molécula lipídica es un residuo C-terminal palmitoilisilamida.

30 14. El polipéptido antigénico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o la composición polipeptídica antigénica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 13, en donde al menos parte de las moléculas polipeptídicas se unen a un soporte.

15. El polipéptido antigénico o composición polipeptídica de acuerdo con la reivindicación 14, en donde el soporte es partículas virales, o perlas de nitrocelulosa o poliestireno, o un polímero biodegradable

35 16. El polipéptido antigénico o la composición polipeptídica de acuerdo con la reivindicación 15, en donde dicho polímero biodegradable es el lipofosfoglicano o el ácido poli-L láctico.

40 17. Una composición inmunógena que comprende, como un inmunógeno, un polipéptido antigénico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 12 a 16, o una composición polipeptídica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 15.

45 18. Una vacuna contra la malaria que comprende, como un inmunógeno, un polipéptido antigénico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 12 a 16, o una composición polipeptídica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 15, en asociación con un vehículo farmacéutico apropiado.

19. La composición inmunógena de la reivindicación 17 o la vacuna de la reivindicación 18, que además comprende al menos un antígeno seleccionado entre LSA-1, LSA-3, LSA-5, SALSA, STARP, TRAP, PfEXPI, CS, MSP1, MSP2, MSP4, MSP5, AMA-1, SERP y GLURP.

50 20. La composición inmunógena o la vacuna de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 17 a 20, que se formula para inyección intradérmica o intramuscular.

55 21. La composición inmunógena o vacuna de la reivindicación 20, que comprende entre 1 y 100 μg de inmunógeno por dosis de inyección.

22. La composición inmunógena o la vacuna de la reivindicación 20, que comprende entre 2 y 50 μg de inmunógeno por dosis de inyección.

60 23. La composición inmunógena o la vacuna de cualquiera de las reivindicaciones 17 a 22, que además comprende SBAS2 y/o Alum y/o Montanide como un adyuvante.

65 24. Uso de un polipéptido antigénico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 12 a 16, o una composición polipeptídica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 16, para la preparación de una composición de vacuna contra la malaria.

25. Un anticuerpo sintético o recombinante dirigido contra el motivo del tipo MSP-3-c/d de un polipéptido antigénico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

26. Una mezcla de anticuerpos dirigidos contra una composición polipeptídica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 16.

27. Un anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 25, o una mezcla de anticuerpos de acuerdo con la reivindicación 26, en donde dichos anticuerpos son anticuerpos humanos o humanizados.

28. Uso de una composición que comprende un anticuerpo o una mezcla de anticuerpos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27, para la preparación de un medicamento contra la malaria.

29. Un medicamento para una inmunoterapia pasiva de la malaria, que comprende un anticuerpo o una mezcla de anticuerpos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27.

30. El medicamento de la reivindicación 29, que además comprende anticuerpos dirigidos contra al menos un antígeno seleccionado entre LSA-1, LSA-3, LSA-5, SALSA, STARP, TRAP, PfEXP1, CS, MSP1, MSP2, MSP4, MSP5, AMA-1, SERP y GLURP.

31. Un método para el diagnóstico *in vitro* de la malaria en un individuo que puede ser infectado por *P. falciparum*, que comprende la puesta de una muestra biológica de dicho individuo en contacto con un polipéptido antigénico de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en condiciones que permitan la formación de complejos antígeno/anticuerpo entre dicho péptido o polipéptido antigénico y los anticuerpos, posiblemente presentes en la muestra biológica, y la detección *in vitro* de los complejos antígeno/anticuerpo posiblemente formados.

32. El método de la reivindicación 31, en donde el diagnóstico *in vitro* se realiza por una prueba de ELISA.

33. El método de la reivindicación 31 o 32, en donde la muestra biológica además se pone en contacto con uno o varios péptidos antigénicos que se originan de otros antígenos seleccionados entre LSA-1, LSA-3, LSA-5, SALSA, STARP, TRAP, PfEXP1, CS, MSP-3-1, MSP-3-2, MSP-3-5, MSP-3-6, MSP1, MSP2, MSP4, MSP5, AMA-1, SERP y GLURP.

34. Un kit para el diagnóstico *in vitro* de la malaria, que comprende al menos un polipéptido antigénico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

35. El kit de la reivindicación 34, en donde el péptido o polipéptido antigénico se une a un soporte.

36. El kit de la reivindicación 34 o 35, que además comprende los reactivos que permiten la formación de complejos antígeno/anticuerpo entre dicho péptido o polipéptido antigénico y los anticuerpos posiblemente presentes en una muestra biológica, y los reactivos que permiten la detección *in vitro* de los complejos antígeno/anticuerpo posiblemente formados.

37. Un método para el diagnóstico *in vitro* de la malaria en un individuo que puede ser infectado por *P. falciparum*, que comprende la puesta de una muestra biológica de dicho individuo en contacto con los anticuerpos como se define en cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27, en condiciones que permitan la formación de complejos antígeno/anticuerpo entre dichos anticuerpos y los antígenos específicos para *P. falciparum*, posiblemente presentes en la muestra biológica, y la detección *in vitro* de los complejos antígeno/anticuerpo posiblemente formados.

38. Un kit para el diagnóstico *in vitro* de la malaria, que comprende los anticuerpos como se definen en cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27.

39. El kit de la reivindicación 38, que además comprende los reactivos que permiten la formación de los complejos antígeno/anticuerpo entre dichos anticuerpos y antígenos a partir de las proteínas de la familia MSP-3 posiblemente presentes en una muestra biológica, y los reactivos que permiten la detección *in vitro* de los complejos antígeno/anticuerpo posiblemente formados.

40. Una secuencia de nucleótido recombinante que codifica un polipéptido antigénico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

41. La secuencia de nucleótido recombinante de acuerdo con la reivindicación 40, que comprende una secuencia que codifica una proteína de fusión que comprende varios motivos del tipo MSP-3-c/d, en donde al menos dos de dichos motivos se seleccionan entre los motivos de SEQ ID NOs: 25 a 30.

42. Una clonación recombinante y/o vector de expresión, que comprende una secuencia de nucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 40 a 41.

43. La clonación recombinante y/o vector de expresión de la reivindicación 42, en donde la secuencia de nucleótido está bajo el control de un promotor y elementos reguladores de la expresión en una célula huésped, siendo dicho promotor y elementos reguladores homólogos o heterólogos vis-à-vis la célula huésped.

ES 2 335 094 T3

44. Uso de un vector de expresión de acuerdo con la reivindicación 43, para la preparación de un medicamento para inmunización genética contra *Plasmodium falciparum*.

5 45. Una vacuna de ADN que comprende una secuencia de nucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 40 a 41.

46. Una célula huésped recombinante, que se transforma por el vector de la reivindicación 42 o 43.

10 47. La célula huésped de la reivindicación 46, que es una bacteria, una levadura, una célula de insecto, o una célula de mamífero.

15 48. Un polipéptido antigénico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 12 a 16, o una composición polipeptídica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 16, para utilizar como una composición de vacuna contra la malaria.

49. Una composición que comprende un anticuerpo o una mezcla de anticuerpos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27, para utilizar como un medicamento contra la malaria.

20 50. Un vector de expresión de acuerdo con la reivindicación 42 o 43, para utilizar como un medicamento para inmunización genética contra *Plasmodium falciparum*.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Fig 2

Péptidos MS P3

(numeración correspondiente a cepa 3D7)

MSP 3a: 16 7-YEKA KNAY QKAN QAV LKA KEASSYD-191

MSP 3b: 18 4-AK EA SSYDYILGW EFGGVP EHKKEEN-21 0

MSP 3c: 203-PEHKKEENW LSHL YVSSKDK ENISKEND-230

MSP 3d: 211-MLSHLYV SSKDK ENISKENDVDL EKEEEAEETEEEL EEK-251

MSP 3e: 275-EENDKKKEQEQSNEN NDQKKD MEAQN LSKN-307

MSP 3f: 302-NLISKNO NNNE KNVK EAA ESIMKTLAGLI KGNNOIOST LKOLVE ELSKYFKNH

Fig. 3

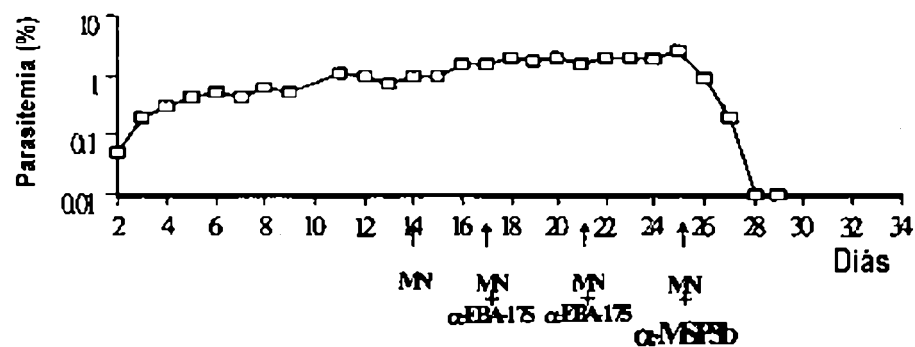


Fig 4

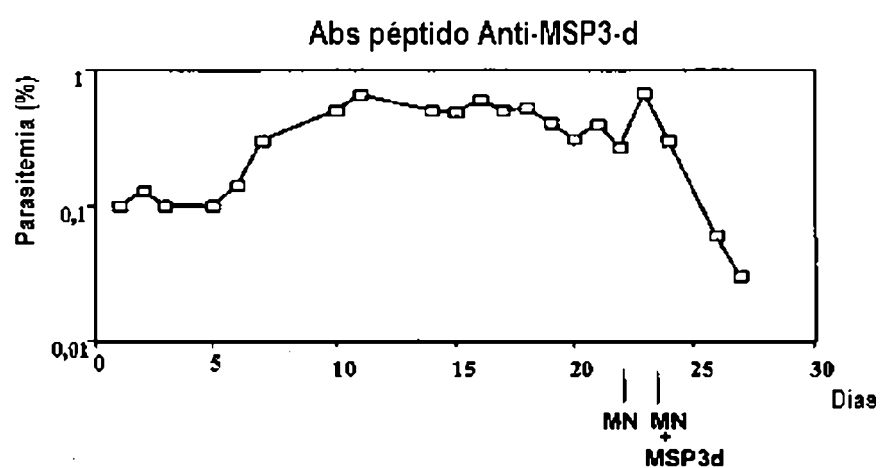


Fig. 5

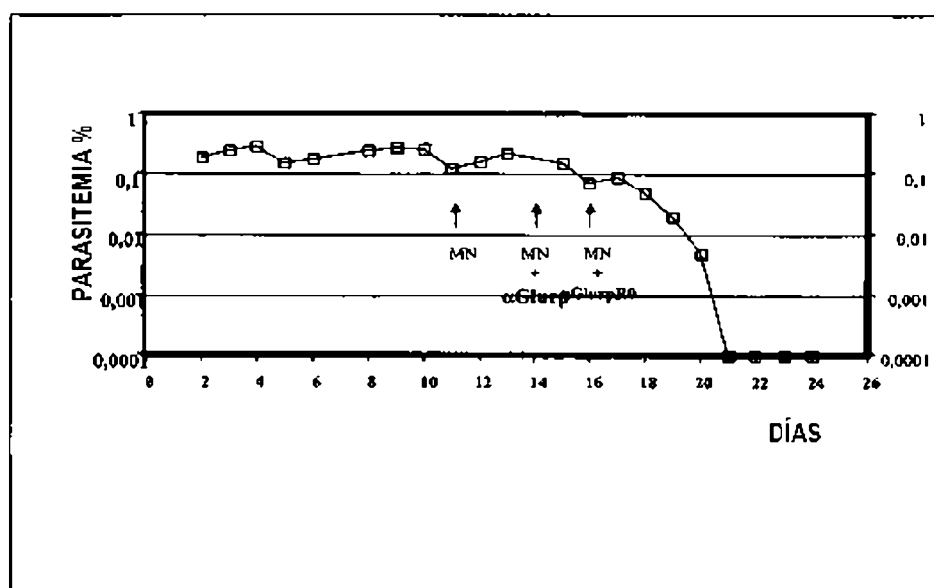


Fig. 6

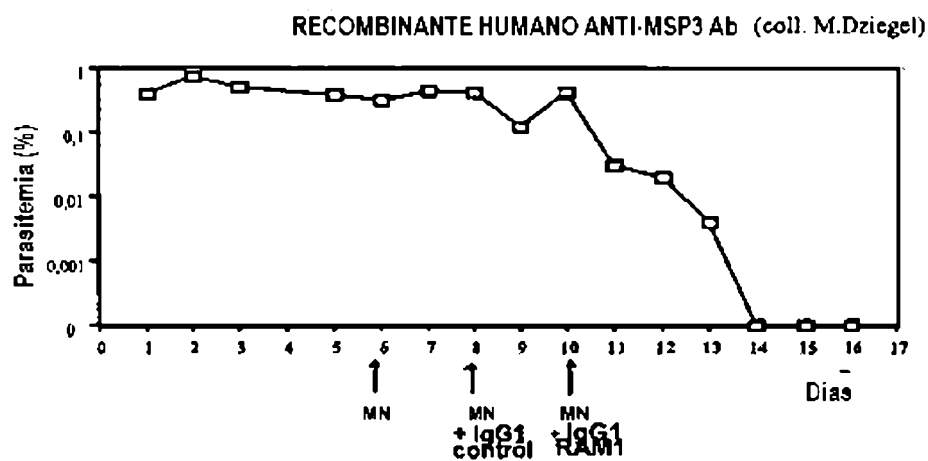


Fig. 7

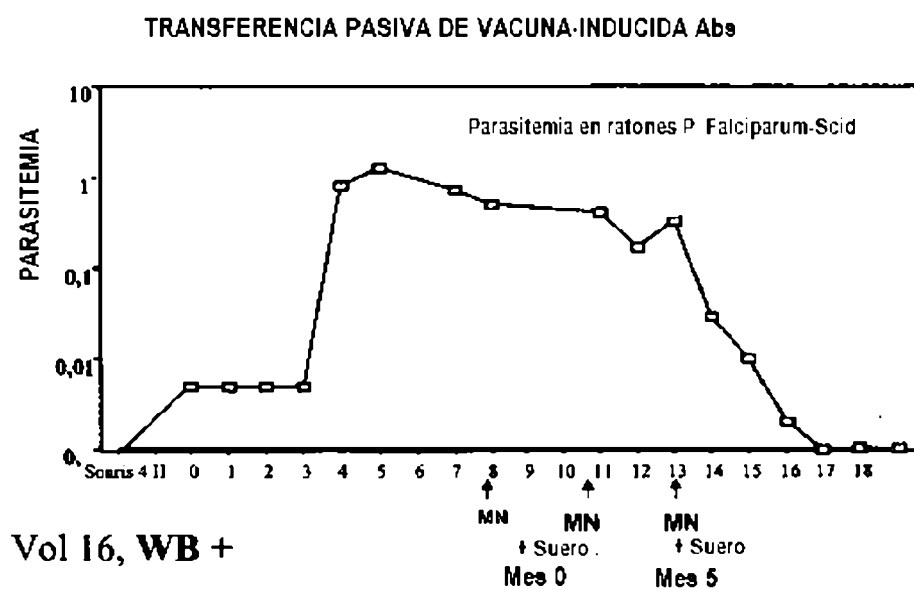


Fig. 8

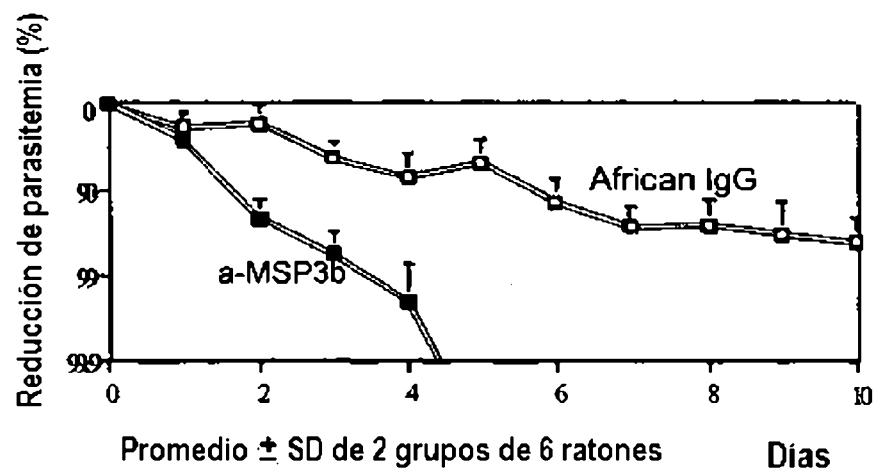


Fig 9A

CLUSTAL W (1.82) Alineamiento ClustalW Múltiple

neamiento de la secuencia de nucleótidos. <http://www.ebi.ac.uk/clustalw/> MSP3-1

CLUSTAL W (1.82) alineamiento de la secuencia múltiple

```

MSP3.1C 3D7      -TATGAAAGGCAAAATGCTTATCAAAAAGCAACCAAGCTGTTTAAAGCAAAGA 59
MSP3.1C B2      -TATGAAAGGCAAAATGCTTATCAAAAAGCAACCAAGCTGTTTAAAGCAAAGA 59
MSP3.1C B3      -TATGAAAGGCAAAATGCTTATCAAAAAGCAACCAAGCTGTTTAAAGCAAAGA 59
MSP3.1C B4      -TATGAAAGGCAAAATGCTTATCAAAAAGCAACCAAGCTGTTTAAAGCAAAGA 59
MSP3.1C B5      -TATGAAAGGCAAAATGCTTATCAAAAAGCAACCAAGCTGTTTAAAGCAAAGA 59
MSP3.1C D2      -TATGAAAGGCAAAATGCTTATCAAAAAGCAACCAAGCTGTTTAAAGCAAAGA 59
MSP3.1C D3      -TATGAAAGGCAAAATGCTTATCAAAAAGCAACCAAGCTGTTTAAAGCAAAGA 59
MSP3.1C D4      TTATGAAAGGCAAAATGCTTATCAAAAAGCAACCAAGCTGTTTAAAGCAAAGA 60
MSP3.1C D5      -TATGAAAGGCAAAATGCTTATCAAAAAGCAACCAAGCTGTTTAAAGCAAAGA 59
                *****
MSP3.1C 3D7      AGCTTCTAGTTATGATTATATTTAGTTGGGAATTTGGAGGAGGCGTTCCGAAACAA 119
MSP3.1C B2      AGCTTCTAGTTATGATTATATTTAGTTGGGAATTTGGAGGAGGCGTTCCGAAACAA 119
MSP3.1C B3      AGCTTCTAGTTATGATTATATTTAGTTGGGAATTTGGAGGAGGCGTTCCGAAACAA 119
MSP3.1C B4      AGCTTCTAGTTATGATTATATTTAGTTGGGAATTTGGAGGAGGCGTTCCGAAACAA 119
MSP3.1C B5      AGCTTCTAGTTATGATTATATTTAGTTGGGAATTTGGAGGAGGCGTTCCGAAACAA 119
MSP3.1C D2      AGCTTCTAGTTATGATTATATTTAGTTGGGAATTTGGAGGAGGCGTTCCGAAACAA 119
MSP3.1C D3      AGCTTCTAGTTATGATTATATTTAGTTGGGAATTTGGAGGAGGCGTTCCGAAACAA 119
MSP3.1C D4      AGCTTCTAGTTATGATTATATTTAGTTGGGAATTTGGAGGAGGCGTTCCGAAACAA 120
MSP3.1C D5      AGCTTCTAGTTATGATTATATTTAGTTGGGAATTTGGAGGAGGCGTTCCGAAACAA 119
                *****
MSP3.1C 3D7      AAAAGAGAAATATGTTATCAGATTATATATGTTTCTTCAAGGATAGGAAATATATC 179
MSP3.1C B2      AAAAGAGAAATATGTTATCAGATTATATATGTTTCTTCAAGGATAGGAAATATATC 179
MSP3.1C B3      AAAAGAGAAATATGTTATCAGATTATATATGTTTCTTCAAGGATAGGAAATATATC 179
MSP3.1C B4      AAAAGAGAAATATGTTATCAGATTATATATGTTTCTTCAAGGATAGGAAATATATC 179
MSP3.1C B5      AAAAGAGAAATATGTTATCAGATTATATATGTTTCTTCAAGGATAGGAAATATATC 179
MSP3.1C D2      AAAAGAGAAATATGTTATCAGATTATATATGTTTCTTCAAGGATAGGAAATATATC 179
MSP3.1C D3      AAAAGAGAAATATGTTATCAGATTATATATGTTTCTTCAAGGATAGGAAATATATC 179
MSP3.1C D4      AAAAGAGAAATATGTTATCAGATTATATATGTTTCTTCAAGGATAGGAAATATATC 180
MSP3.1C D5      AAAAGAGAAATATGTTATCAGATTATATATGTTTCTTCAAGGATAGGAAATATATC 179
                *****

```

41

Fig 9c

MSP3.1C	B5	AGACAAAGTAACGAAATTAATGATCAAAAAAAGATATGGAAGCTCAGAAATTTAATTC	398
MSP3.1C	D2	AGACAAAGTAATGAAATTAATGATCAAAAAAAGATATGGAAGCTCAGAAATTTAATTC	413
MSP3.1C	D3	AGACAAAGTAATGAAATTAATGATCAAAAAAAGATATGGAAGCTCAGAAATTTAATTC	416
MSP3.1C	D4	AGACAAAGTAGTGAATTAATGATCAAAAAAAGATATGGAAGCTCAGAAATTTAATTC	420
MSP3.1C	D5	AGACAAAGTAACGAAATTAATGATCAAAAAAAGATATGGAAGCTCAGAAATTTAATTC	419

MSP3.1C	3D7	TAAAAACAGAAATAATGAGAAAAACGTAAGAAGAGCTGCTGAAAGCATCATGAAAC	476
MSP3.1C	B2	TAAAAACAGAAATAATGAGAAAAACGTAAGAAGAGCTGCTGAAAGCATCATGAAAC	458
MSP3.1C	B3	TAAAAACAGAAATAATGAGAAAAACGTAAGAAGAGCTGCTGAAAGCATCATGAAAC	458
MSP3.1C	B4	TAAAAACAGAAATAATGAGAAAAACGTAAGAAGAGCTGCTGAAAGCATCATGAAAC	458
MSP3.1C	B5	TAAAAACAGAAATAATGAGAAAAACGTAAGAAGAGCTGCTGAAAGCATCATGAAAC	458
MSP3.1C	D2	TAAAAACAGAAATAATGAGAAAAACGTAAGAAGAGCTGCTGAAAGCATCATGAAAC	473
MSP3.1C	D3	TAAAAACAGAAATAATGAGAAAAACGTAAGAAGAGCTGCTGAAAGCATCATGAAAC	476
MSP3.1C	D4	TAAAAACAGAAATAATGAGAAAAACGTAAGAAGAGCTGCTGAAAGCATCATGAAAC	480
MSP3.1C	D5	TAAAAACAGAAATAATGAGAAAAACGTAAGAAGAGCTGCTGAAAGCATCATGAAAC	479

MSP3.1C	3D7	TTTAGCTGGTTTAATCAAGGGAAATAATCAATAGATTCTACCTTAAAGATTTAGTAGA	536
MSP3.1C	B2	TTTAGCTGGTTTAATCAAGGGAAATAATCAATAGATTCTACCTTAAAGATTTAGTAGA	518
MSP3.1C	B3	TTTAGCTGGTTTAATCAAGGGAAATAATCAATAGATTCTACCTTAAAGATTTAGTAGA	518
MSP3.1C	B4	TTTAGCTGGTTTAATCAAGGGAAATAATCAATAGATTCTACCTTAAAGATTTAGTAGA	518
MSP3.1C	B5	TTTAGCTGGTTTAATCAAGGGAAATAATCAATAGATTCTACCTTAAAGATTTAGTAGA	518
MSP3.1C	D2	TTTAGCTGGTTTAATCAAGGGAAATAATCAATAGATTCTACCTTAAAGATTTAGTAGA	533
MSP3.1C	D3	TTTAGCTGGTTTAATCAAGGGAAATAATCAATAGATTCTACCTTAAAGATTTAGTAGA	536
MSP3.1C	D4	TTTAGCTGGTTTAATCAAGGGAAATAATCAATAGATTCTACCTTAAAGATTTAGTAGA	540
MSP3.1C	D5	TTTAGCTGGTTTAATCAAGGGAAATAATCAATAGATTCTACCTTAAAGATTTAGTAGA	539

MSP3.1C	3D7	AGAATTATCCAAATATTTTAAAAATCATTA	567
MSP3.1C	B2	AGAATTATCCAAATATTTTAAAAATCATTT--	547
MSP3.1C	B3	AGAATTATCCAAATATTTTAAAAATCATTA	549
MSP3.1C	B4	AGAATTATCCAAATATTTTAAAAATCATTA	549
MSP3.1C	B5	AGAATTATCCAAATATTTTAAAAATCATTA	549
MSP3.1C	D2	AGAATTATCCAAATATTTTAAAAATCATTA	564
MSP3.1C	D3	AGAATTATCCAAATATTTTAAAAATCATTA	567
MSP3.1C	D4	AGAATTATCCAAATATTTTAAAAATCATTA	571
MSP3.1C	D5	AGAATTATCCAAATATTTTAAAAATCATTA	570

Fig 9D

Alineación ClustalW Secuencia de Nucleótidos MSP6FL : (www.abi.com/blast2/MSP3-2)

CLUSTAL W (1.82) alineación de la secuencia múltiple

MSP3.2FL 3D7	ATGATTAAGATTATATAATATACCTTTCTTTTCATCTCTTTTAAACCTTATATATAATGAA	60
MSP3.2FL B1	ATGATTAAGATTATATAATATATCTTTCTTTTCATCTCTTTTAAACCTTATATATAATGAA	60
MSP3.2FL B3	ATGATTAAGATTATATAATATATCTTTCTTTTCATCTCTTTTAAACCTTATATATAATGAA	60
MSP3.2FL B4	ATGATTAAGATTATATAATATATCTTTCTTTTCATCTCTTTTAAACCTTATATATAATGAA	60
MSP3.2FL B5	ATGATTAAGATTATATAATATATCTTTCTTTTCATCTCTTTTAAACCTTATATATAATGAA	60
MSP3.2FL D1	ATGATTAAGATTATATAATATATCTTTCTTTTCATCTCTTTTAAACCTTATATATAATGAA	60
MSP3.2FL D2	ATGATTAAGATTATATAATATATCTTTCTTTTCATCTCTTTTAAACCTTATATATAATGAA	60
MSP3.2FL D3	ATGATTAAGATTATATAATATATCTTTCTTTTCATCTCTTTTAAACCTTATATATAATGAA	60
MSP3.2FL D4	ATGATTAAGATTATATAATATATCTTTCTTTTCATCTCTTTTAAACCTTATATATAATGAA	60
MSP3.2FL D5	ATGATTAAGATTATATAATATATCTTTCTTTTCATCTCTTTTAAACCTTATATATAATGAA	60

MSP3.2FL 3D7	AATTAACCTTTATCAGAAATGAACCTTATATAACGAAATAAAACCATTAATTTAAGAAATGGTTCA	120
MSP3.2FL B1	AATTAACCTTTATCAGAAATGAACCTTATATAACGAAATAAAACCATTAATTTAAGAAATGGTTCA	120
MSP3.2FL B3	AATTAACCTTTATCAGAAATGAACCTTATATAACGAAATAAAACCATTAATTTAAGAAATGGTTCA	120
MSP3.2FL B4	AATTAACCTTTATCAGAAATGAACCTTATATAACGAAATAAAACCATTAATTTAAGAAATGGTTCA	120
MSP3.2FL B5	AATTAACCTTTATCAGAAATGAACCTTATATAACGAAATAAAACCATTAATTTAAGAAATGGTTCA	120
MSP3.2FL D1	AATTAACCTTTATCAGAAATGAACCTTATATAACGAAATAAAACCATTAATTTAAGAAATGGTTCA	120
MSP3.2FL D2	AATTAACCTTTATCAGAAATGAACCTTATATAACGAAATAAAACCATTAATTTAAGAAATGGTTCA	120
MSP3.2FL D3	AATTAACCTTTATCAGAAATGAACCTTATATAACGAAATAAAACCATTAATTTAAGAAATGGTTCA	120
MSP3.2FL D4	AATTAACCTTTATCAGAAATGAACCTTATATAACGAAATAAAACCATTAATTTAAGAAATGGTTCA	120
MSP3.2FL D5	AATTAACCTTTATCAGAAATGAACCTTATATAACGAAATAAAACCATTAATTTAAGAAATGGTTCA	120

MSP3.2FL 3D7	ATGTATATAACCGATATAAATATTTAAGTAAATGAAGTAGTACTAATAATAGAAAGTAAC	180
MSP3.2FL B1	ATGTATATAACCGATATAAATATTTAAGTAAATGAAGTAGTACTAATAATAGAAAGTAAC	180
MSP3.2FL B3	ATGTATATAACCGATATAAATATTTAAGTAAATGAAGTAGTACTAATAATAGAAAGTAAC	180
MSP3.2FL B4	ATGTATATAACCGATATAAATATTTAAGTAAATGAAGTAGTACTAATAATAGAAAGTAAC	180
MSP3.2FL B5	ATGTATATAACCGATATAAATATTTAAGTAAATGAAGTAGTACTAATAATAGAAAGTAAC	180
MSP3.2FL D1	ATGTATATAACCGATATAAATATTTAAGTAAATGAAGTAGTACTAATAATAGAAAGTAAC	180
MSP3.2FL D2	ATGTATATAACCGATATAAATATTTAAGTAAATGAAGTAGTACTAATAATAGAAAGTAAC	180

Fig 9E

MSP3.2FL D3	ATGTATAATAACGATAAAATATTAAAGTAAATAATGAAGTAGATACTAATAATAGAAAAGTAAC	180
MSP3.2FL D4	ATGTATAATAACGATAAAATATTAAAGTAAATAATGAAGTAGATACTAATAATAGAAAAGTAAC	180
MSP3.2FL D5	ATGTATAATAACGATAAAATATTAAAGTAAATAATGAAGTAGATACTAATAATAGAAAAGTAAC	180

MSP3.2FL 3D7	GAAATAGTATTACGAAATCTGGACATAAGATTGATGGGGAAGAAGTTTTTAAAAAGCTAAT	240
MSP3.2FL B1	GAAATAGTATTACGAAATCTGGACATAAGATTGATGGGGAAGAAGTTTTTAAAAAGCTAAT	240
MSP3.2FL B3	GAAATAGTATTACGAAATCTGGACATAAGATTGATGGGGAAGAAGTTTTTAAAAAGCTAAT	240
MSP3.2FL B4	GAAATAGTATTACGAAATCTGGACATAAGATTGATGGGGAAGAAGTTTTTAAAAAGCTAAT	240
MSP3.2FL B5	GAAATAGTATTACGAAATCTGGACATAAGATTGATGGGGAAGAAGTTTTTAAAAAGCTAAT	240
MSP3.2FL D1	GAAATAGTATTACGAAATCTGGACATAAGATTGATGGGGAAGAAGTTTTTAAAAAGCTAAT	240
MSP3.2FL D2	GAAATAGTATTACGAAATCTGGACATAAGATTGATGGGGAAGAAGTTTTTAAAAAGCTAAT	240
MSP3.2FL D3	GAAATAGTATTACGAAATCTGGACATAAGATTGATGGGGAAGAAGTTTTTAAAAAGCTAAT	240
MSP3.2FL D4	GAAATAGTATTACGAAATCTGGACATAAGATTGATGGGGAAGAAGTTTTTAAAAAGCTAAT	240
MSP3.2FL D5	GAAATAGTATTACGAAATCTGGACATAAGATTGATGGGGAAGAAGTTTTTAAAAAGCTAAT	240

MSP3.2FL 3D7	-----GTAGATGATATAACATACAAAAAATAATGTTGATGATTCAGAA	285
MSP3.2FL B1	-----GTAGATGATATAACATACAAAAAATAATGTTGATGATTCAGAA	285
MSP3.2FL B3	-----GTAGATGATATAACATACAAAAAATAATGTTGATGATTCAGAA	285
MSP3.2FL B4	-----GTAGATGATATAACATACAAAAAATAATGTTGATGATTCAGAA	285
MSP3.2FL B5	-----GTAGATGATATAACATACAAAAAATAATGTTGATGATTCAGAA	285
MSP3.2FL D1	-----GTAGATGATATAACATACAAAAAATAATGTTGATGATTCAGAA	285
MSP3.2FL D2	-----GTAGATGATATAACATACAAAAAATAATGTTGATGATTCAGAA	285
MSP3.2FL D3	-----GTAGATGATATAACATACAAAAAATAATGTTGATGATTCAGAA	285
MSP3.2FL D4	CAAGAACAGCTAATGTAGAGATATAACATACAAAAAATAATGTTGATGATTCAGAA	300
MSP3.2FL D5	-----GTAGATGATATAACATACAAAAAATAATGTTGATGATTCAGAA	285

MSP3.2FL 3D7	ATTCCTTTTCTGGTTATGATATACAAGCAACATATCAATTCCTTCTACATCAGGAGGA	345
MSP3.2FL B1	ATTCCTTTTCTGGTTATGATATACAAGCAACATATCAATTCCTTCTACATCAGGAGGA	345
MSP3.2FL B3	ATTCCTTTTCTGGTTATGATATACAAGCAACATATCAATTCCTTCTACATCAGGAGGA	345
MSP3.2FL B4	ATTCCTTTTCTGGTTATGATATACAAGCAACATATCAATTCCTTCTACATCAGGAGGA	345
MSP3.2FL B5	ATTCCTTTTCTGGTTATGATATACAAGCAACATATCAATTCCTTCTACATCAGGAGGA	345
MSP3.2FL D1	ATTCCTTTTCTGGTTATGATATACAAGCAACATATCAATTCCTTCTACATCAGGAGGA	345
MSP3.2FL D2	ATTCCTTTTCTGGTTATGATATACAAGCAACATATCAATTCCTTCTACATCAGGAGGA	345
MSP3.2FL D3	ATTCCTTTTCTGGTTATGATATACAAGCAACATATCAATTCCTTCTACATCAGGAGGA	345
MSP3.2FL D4	ATTCCTTTTCTGGTTATGATATACAAGCAACATATCAATTCCTTCTACATCAGGAGGA	345
MSP3.2FL D5	ATTCCTTTTCTGGTTATGATATACAAGCAACATATCAATTCCTTCTACATCAGGAGGA	360

45

46

47

Fig 9I

MSP3.2FL B4	AAGAAGAAAAAACCAGACAATGAATTACAAATGAAGTTAAAGAGGAAACAAAAATATA	931
MSP3.2FL B5	AAGAAGAAAAAACCAGACAATGAATTACAAATGAAGTTAAAGAGGAAACAAAAATATA	931
MSP3.2FL D1	AAGAAGAAAAAACCAGACAATGAATTACAAATGAAGTTAAAGAGGAAACAAAAATATA	931
MSP3.2FL D2	AAGAAGAAAAAACCAGACAATGAATTACAAATGAAGTTAAAGAGGAAACAAAAATATA	931
MSP3.2FL D3	AAGAAGAAAAAACCAGACAATGAATTACAAATGAAGTTAAAGAGGAAACAAAAATATA	931
MSP3.2FL D4	AAGAAGAAAAAACCAGACAATGAATTACAAATGAAGTTAAAGAGGAAACAAAAATATA	946
MSP3.2FL D5	AAGAAGAAAAAACCAGACAATGAATTACAAATGAAGTTAAAGAGGAAACAAAAATATA	931

MSP3.2FL 3D7	GTTCCACCAAGTGATATAAATGCCCAAAATTTAATTTCTTAATAAGAATAAAAAAGAAATGATG	991
MSP3.2FL B1	GTTCCACCAAGTGATATAAATGCCCAAAATTTAATTTCTTAATAAGAATAAAAAAGAAATGATG	991
MSP3.2FL B3	GTTCCACCAAGTGATATAAATGCCCAAAATTTAATTTCTTAATAAGAATAAAAAAGAAATGATG	991
MSP3.2FL B4	GTTCCACCAAGTGATATAAATGCCCAAAATTTAATTTCTTAATAAGAATAAAAAAGAAATGATG	991
MSP3.2FL B5	GTTCCACCAAGTGATATAAATGCCCAAAATTTAATTTCTTAATAAGAATAAAAAAGAAATGATG	991
MSP3.2FL D1	GTTCCACCAAGTGATATAAATGCCCAAAATTTAATTTCTTAATAAGAATAAAAAAGAAATGATG	991
MSP3.2FL D2	GTTCCACCAAGTGATATAAATGCCCAAAATTTAATTTCTTAATAAGAATAAAAAAGAAATGATG	991
MSP3.2FL D3	GTTCCACCAAGTGATATAAATGCCCAAAATTTAATTTCTTAATAAGAATAAAAAAGAAATGATG	991
MSP3.2FL D4	GTTCCACCAAGTGATATAAATGCCCAAAATTTAATTTCTTAATAAGAATAAAAAAGAAATGATG	1006
MSP3.2FL D5	GTTCCACCAAGTGATATAAATGCCCAAAATTTAATTTCTTAATAAGAATAAAAAAGAAATGATG	991

MSP3.2FL 3D7	AAACAAAAAAGACTGCTGAAAAATATAGTTAAACACATTTGGTTGGATTATTTAATGAAAAAA	1051
MSP3.2FL B1	AAACAAAAAAGACTGCTGAAAAATATAGTTAAACACATTTGGTTGGATTATTTAATGAAAAAA	1051
MSP3.2FL B3	AAACAAAAAAGACTGCTGAAAAATATAGTTAAACACATTTGGTTGGATTATTTAATGAAAAAA	1051
MSP3.2FL B4	AAACAAAAAAGACTGCTGAAAAATATAGTTAAACACATTTGGTTGGATTATTTAATGAAAAAA	1051
MSP3.2FL B5	AAACAAAAAAGACTGCTGAAAAATATAGTTAAACACATTTGGTTGGATTATTTAATGAAAAAA	1051
MSP3.2FL D1	AAACAAAAAAGACTGCTGAAAAATATAGTTAAACACATTTGGTTGGATTATTTAATGAAAAAA	1051
MSP3.2FL D2	AAACAAAAAAGACTGCTGAAAAATATAGTTAAACACATTTGGTTGGATTATTTAATGAAAAAA	1051
MSP3.2FL D3	AAACAAAAAAGACTGCTGAAAAATATAGTTAAACACATTTGGTTGGATTATTTAATGAAAAAA	1051
MSP3.2FL D4	AAACAAAAAAGACTGCTGAAAAATATAGTTAAACACATTTGGTTGGATTATTTAATGAAAAAA	1066
MSP3.2FL D5	AAACAAAAAAGACTGCTGAAAAATATAGTTAAACACATTTGGTTGGATTATTTAATGAAAAAA	1051
	**** *	
MSP3.2FL 3D7	ATGAGATAGATTCTACTATAAATAATTTAGTACAAAGAAATGATCCATCTATTTAGTAATA	1111
MSP3.2FL B1	ATGAGATAGATTCTACTATAAATAATTTAGTACAAAGAAATGATCCATCTATTTAGTAATA	1121
MSP3.2FL B3	ATGAGATAGATTCTACTATAAATAATTTAGTACAAAGAAATGATCCATCTATTTAGTAATA	1111
MSP3.2FL B4	ATGAGATAGATTCTACTATAAATAATTTAGTACAAAGAAATGATCCATCTATTTAGTAATA	1111
MSP3.2FL B5	ATGAGATAGATTCTACTATAAATAATTTAGTACAAAGAAATGATCCATCTATTTAGTAATA	1111

Fig 9J

```

MSP3.2FL D1      ATGAGATAGATTCTACTATAAATAATTAGTACAGAAATGATCCATCTATTTAGTAATA 1111
MSP3.2FL D2      ATGAGATAGATTCTACTATAAATAATTAGTACAGAAATGATCCATCTATTTAGTAATA 1111
MSP3.2FL D3      ATGAGATAGATTCTACTATAAATAATTAGTACAGAAATGATCCATCTATTTAGTAATA 1111
MSP3.2FL D4      ATGGATAGATTCTACTATAAATAATTAGTACAGAAATGATCCATCTATTTAGTAATA 1126
MSP3.2FL D5      ATGAGATAGATTCTACTATAAATAATTAGTACAGAAATGATCCATCTATTTAGTAATA 1111
... ..
MSP3.2FL 3D7     ATTAA 1116
MSP3.2FL B1      ATTRA 1116
MSP3.2FL B3      ATTAA 1116
MSP3.2FL B4      ATTAA 1116
MSP3.2FL B5      ATTAA 1116
MSP3.2FL D1      ATTAA 1116
MSP3.2FL D2      ATTAA 1116
MSP3.2FL D3      ATTAA 1116
MSP3.2FL D4      ATTAA 1131
MSP3.2FL D5      ATTAA 1116
*****

Alineación ClustalW secuencias de nucleótidos ORF2C (http://www.dl.ac.uk/cluster)_MSP3-3
*****
CLUSTAL W (1.82) alineación de la secuencia múltiple

MSP3.3C 3D7      TATGAGAGAGAAAAATGAAAATGATAAATGTATCTAAATGTAGATTCAAACCAAAATCAAAAT 60
MSP3.3C B1       TATGAGAGAGAAAAATGAAAATGATAAATGTATCTAAATGTAGATTCAAACCAAAATCAAAAT 60
MSP3.3C B2      -ATGAGAGAGAAAAATGAAAATGATAAATGTATCTAAATGTAGATTCAAACCAAAATCAAAAT 59
MSP3.3C B5       TATGAGAGAGAAAAATGAAAATGATAAATGTATCTAAATGTAGATTCAAACCAAAATCAAAAT 60
MSP3.3C D1       TATGAGAGAGAAAAATGAAAATGATAAATGTATCTAAATGTAGATTCAAACCAAAATCAAAAT 60
MSP3.3C D2       TATGAGAGAGAAAAATGAAAATGATAAATGTATCTAAATGTAGATTCAAACCAAAATCAAAAT 60
MSP3.3C D4       TATGAGAGAGAAAAATGAAAATGATAAATGTATCTAAATGTAGATTCAAACCAAAATCAAAAT 60
MSP3.3C D5       TATGAGAGAGAAAAATGAAAATGATAAATGTATCTAAATGTAGATTCAAACCAAAATCAAAAT 60
*****

GAAAAGGAGAGACCTCTACATATTCTCTATTTCCTGATGATGGGATAGAAATTTAGTGGT 120
MSP3.3C B1      GAAAAGGAGAGACCTCTACATATTCTCTATTTCCTGATGATGGGATAGAAATTTAGTGGT 120
MSP3.3C B2      GAAAAGGAGAGACCTCTCTAATAATCTCTCTATTTCCTGATGATGGGATAGAAATTTAGTGGT 119

```

Fig 3K

MSP3.3C B5	GAAAAAGGAGACCTCCTACATATTCTCCTATTCTGGATGATGGATAGAAATTTAGTGGT	120
MSP3.3C D1	GAAAAAGGAGACCTCCTACATATTCTCCTATTCTGGATGATGGATAGAAATTTAGTGGT	120
MSP3.3C D2	GAAAAAGGAGACCTCCTACATATTCTCCTATTCTGGATGATGGATAGAAATTTAGTGGT	120
MSP3.3C D4	GAAAAAGGAGACCTCCTACATATTCTCCTATTCTGGATGATGGATAGAAATTTAGTGGT	120
MSP3.3C D5	GAAAAAGGAGACCTCCTACATATTCTCCTATTCTGGATGATGGATAGAAATTTAGTGGT	120

MSP3.3C 3D7	GGTTTATATTTTAATGAGAAAAAGTCGACTGAGAAAAATAAACAAAAAAATGTTTTAGAA	180
MSP3.3C B1	GGTTTATATTTTAATGAGAAAAAGTCGACTGAGAAAAATAAACAAAAAAATGTTTTAGAA	180
MSP3.3C B2	GGTTTATATTTTAATGAGAAAAAGTCGACTGAGAAAAATAAACAAAAAAATGTTTTAGAA	179
MSP3.3C B5	GGTTTATATTTTAATGAGAAAAAGTCGACTGAGAAAAATAAACAAAAAAATGTTTTAGAA	180
MSP3.3C D1	GGTTTATATTTTAATGAGAAAAAGTCGACTGAGAAAAATAAACAAAAAAATGTTTTAGAA	180
MSP3.3C D2	GGTTTATATTTTAATGAGAAAAAGTCGACTGAGAAAAATAAACAAAAAAATGTTTTAGAA	180
MSP3.3C D4	GGTTTATATTTTAATGAGAAAAAGTCGACTGAGAAAAATAAACAAAAAAATGTTTTAGAA	180
MSP3.3C D5	GGTTTATATTTTAATGAGAAAAAGTCGACTGAGAAAAATAAACAAAAAAATGTTTTAGAA	180

MSP3.3C 3D7	TCAGTAAATTTTAAATCATCTGGGATAAAGAGGATATTGTTAAGGAAAAATGAGGATGTTAAA	240
MSP3.3C B1	TCAGTAAATTTTAAATCATCTGGGATAAAGAGGATATTGTTAAGGAAAAATGAGGATGTTAAA	240
MSP3.3C B2	TCAGTAAATTTTAAATCATCTGGGATAAAGAGGATATTGTTAAGGAAAAATGAGGATGTTAAA	239
MSP3.3C B5	TCAGTAAATTTTAAATCATCTGGGATAAAGAGGATATTGTTAAGGAAAAATGAGGATGTTAAA	240
MSP3.3C D1	TCAGTAAATTTTAAATCATCTGGGATAAAGAGGATATTGTTAAGGAAAAATGAGGATGTTAAA	240
MSP3.3C D2	TCAGTAAATTTTAAATCATCTGGGATAAAGAGGATATTGTTAAGGAAAAATGAGGATGTTAAA	240
MSP3.3C D4	TCAGTAAATTTTAAATCATCTGGGATAAAGAGGATATTGTTAAGGAAAAATGAGGATGTTAAA	240
MSP3.3C D5	TCAGTAAATTTTAAATCATCTGGGATAAAGAGGATATTGTTAAGGAAAAATGAGGATGTTAAA	240

MSP3.3C 3D7	GATGAAAAGGATGAAGATGATGAAGAGAAGAGAAAAATACGAAAAACGAAATTTATAAAG	300
MSP3.3C B1	GATGAAAAGGATGAAGATGATGAAGAGAAGAGAAAAATACGAAAAACGAAATTTATAAAG	300
MSP3.3C B2	GATGAAAAGGATGAAGATGATGAAGAGAAGAGAAAAATACGAAAAACGAAATTTATAAAG	299
MSP3.3C B5	GATGAAAAGGATGAAGATGATGAAGAGAAGAGAAAAATACGAAAAACGAAATTTATAAAG	300
MSP3.3C D1	GATGAAAAGGATGAAGATGATGAAGAGAAGAGAAAAATACGAAAAACGAAATTTATAAAG	300
MSP3.3C D2	GATGAAAAGGATGAAGATGATGAAGAGAAGAGAAAAATACGAAAAACGAAATTTATAAAG	300
MSP3.3C D4	GATGAAAAGGATGAAGATGATGAAGAGAAGAGAAAAATACGAAAAACGAAATTTATAAAG	300
MSP3.3C D5	GATGAAAAGGATGAAGATGATGAAGAGAAGAGAAAAATACGAAAAACGAAATTTATAAAG	300

MSP3.3C 3D7	CAACCAGAGACATATTGGATGAGGAGAAGTATTAGAAGAGAGAAATATTAGAAGAAAAAT	360

Fig 9L

```

MSP3.3C B1      CAACCAGAAGACATATTGGATGAGGAAGAGTATTAGAAGAAGAAATATTAGAAGAAAT 360
MSP3.3C B2      CAACCAGAAGACATATTGGATGAGGAAGAGTATTAGAAGAAGAAATATTAGAAGAAAT 359
MSP3.3C B5      CAACCAGAAGACATATTGGATGAGGAAGAGTATTAGAAGAAGAAATATTAGAAGAAAT 360
MSP3.3C D1      CAACCAGAAGACATATTGGATGAGGAAGAGTATTAGAAGAAGAAATATTAGAAGAAAT 360
MSP3.3C D2      CAACCAGAAGACATATTGGATGAGGAAGAGTATTAGAAGAAGAAATATTAGAAGAAAT 360
MSP3.3C D4      CAACCAGAAGACATATTGGATGAGGAAGAGTATTAGAAGAAGAAATATTAGAAGAAAT 360
MSP3.3C D5      CAACCAGAAGACATATTGGATGAGGAAGAGTATTAGAAGAAGAAATATTAGAAGAAAT 360
                *****
MSP3.3C 3D7     AAAAAATGATACAGTAGATACAAGTGATTTAGAAAAGAAAATATACCAGATTTATCAAAC 420
MSP3.3C B1      AAAAAATGATACAGTAGATACAAGTGATTTAGAAAAGAAAATATACCAGATTTATCAAAC 420
MSP3.3C B2      AAAAAATGATACAGTAGATACAAGTGATTTAGAAAAGAAAATATACCAGATTTATCAAAC 419
MSP3.3C B5      AAAAAATGATACAGTAGATACAAGTGATTTAGAAAAGAAAATATACCAGATTTATCAAAC 420
MSP3.3C D1      AAAAAATGATACAGTAGATACAAGTGATTTAGAAAAGAAAATATACCAGATTTATCAAAC 420
MSP3.3C D2      AAAAAATGATACAGTAGATACAAGTGATTTAGAAAAGAAAATATACCAGATTTATCAAAC 420
MSP3.3C D4      AAAAAATGATACAGTAGATACAAGTGATTTAGAAAAGAAAATATACCAGATTTATCAAAC 420
MSP3.3C D5      AAAAAATGATACAGTAGATACAAGTGATTTAGAAAAGAAAATATACCAGATTTATCAAAC 420
                *****
MSP3.3C 3D7     GATAATAATTATTATAGTTTAATTTATAGAAGCTATAGGATAATGATAAATCAGAAAAA 480
MSP3.3C B1      GATAATAATTATTATAGTTTAATTTATAGAAGCTATAGGATAATGATAAATCAGAAAAA 480
MSP3.3C B2      GATAATAATTATTATAGTTTAATTTATAGAAGCTATAGGATAATGATAAATCAGAAAAA 479
MSP3.3C B5      GATAATAATTATTATAGTTTAATTTATAGAAGCTATAGGATAATGATAAATCAGAAAAA 480
MSP3.3C D1      GATAATAATTATTATAGTTTAATTTATAGAAGCTATAGGATAATGATAAATCAGAAAAA 480
MSP3.3C D2      GATAATAATTATTATAGTTTAATTTATAGAAGCTATAGGATAATGATAAATCAGAAAAA 480
MSP3.3C D4      GATAATAATTATTATAGTTTAATTTATAGAAGCTATAGGATAATGATAAATCAGAAAAA 480
MSP3.3C D5      GATAATAATTATTATAGTTTAATTTATAGAAGCTATAGGATAATGATAAATCAGAAAAA 480
                *****
MSP3.3C 3D7     ACTGCACAACAACTTAATCAGAGCTCTGATAAGTTTATTAAATGGAAAAAATGAATTAGAT 540
MSP3.3C B1      ACTGCACAACAACTTAATCAGAGCTCTGATAAGTTTATTAAATGGAAAAAATGAATTAGAT 540
MSP3.3C B2      ACTGCACAACAACTTAATCAGAGCTCTGATAAGTTTATTAAATGGAAAAAATGAATTAGAT 539
MSP3.3C B5      ACTGCACAACAACTTAATCAGAGCTCTGATAAGTTTATTAAATGGAAAAAATGAATTAGAT 540
MSP3.3C D1      ACTGCACAACAACTTAATCAGAGCTCTGATAAGTTTATTAAATGGAAAAAATGAATTAGAT 540
MSP3.3C D2      ACTGCACAACAACTTAATCAGAGCTCTGATAAGTTTATTAAATGGAAAAAATGAATTAGAT 540
MSP3.3C D4      ACTGCACAACAACTTAATCAGAGCTCTGATAAGTTTATTAAATGGAAAAAATGAATTAGAT 540
MSP3.3C D5      ACTGCACAACAACTTAATCAGAGCTCTGATAAGTTTATTAAATGGAAAAAATGAATTAGAT 540
                *****

```

Fig 917

```

MSP3.3C 3D7
MSP3.3C B1
MSP3.3C B2
MSP3.3C B5
MSP3.3C D1
MSP3.3C D2
MSP3.3C D4
MSP3.3C D5
GCTACCATAGAAGATTAAACATAGGTTTATGGAAATTTTACATATAATTAA 594
GCTACCATAGAAGATTAAACATAGGTTTATGGAAATTTTACATATAATTAA 594
GCTACCATAGAAGATTAAACATAGGTTTATGGAAATTTTACATATAATTAA 593
GCTACCATAGAAGATTAAACATAGGTTTATGGAAATTTTACATATAATTAA 594
GCTACCATAGAAGATTAAACATAGGTTTATGGAAATTTTACATATAATTAA 594
GCTACCATAGAAGATTAAACATAGGTTTATGGAAATTTTACATATAATTAA 594
GCTACCATAGAAGATTAAACATAGGTTTATGGAAATTTTACATATAATTAA 594
GCTACCATAGAAGATTAAACATAGGTTTATGGAAATTTTACATATAATTAA 594
GCTACCATAGAAGATTAAACATAGGTTTATGGAAATTTTACATATAATTAA 594
*****

```

Alineación ClustalW Secuencias de nucleótidos ORF3C (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/seqanal/seqanal>)_MSP3-4

CLUSTAL W (1.82) alineación de secuencia multiple

```

MSP3.4C 3D7
MSP3.4C B4
MSP3.4C B1
MSP3.4C B5
MSP3.4C D4
MSP3.4C D5
MSP3.4C D2
MSP3.4C D1
GATTAATGTAAACTCTGTAAACGCAAGAGGAAATAATAACTACACAAATAATTTAGAGCGT 60
-ATAATGTAAACTCTGTAAACGCAAGAGGAAATAATAACTACACAAATAATTTAGAGCGT 59
GATTAATGTAAACTCTGTAAACGCAAGAGGAAATAATAACTACACAAATAATTTAGAGCGT 60
GATTAATGTAAACTCTGTAAACGCAAGAGGAAATAATAACTACACAAATAATTTAGAGCGT 60
GATTAATGTAAACTCTGTAAACGCAAGAGGAAATAATAACTACACAAATAATTTAGAGCGT 60
GATTAATGTAAACTCTGTAAACGCAAGAGGAAATAATAACTACACAAATAATTTAGAGCGT 60
GATTAATGTAAACTCTGTAAACGCAAGAGGAAATAATAACTACACAAATAATTTAGAGCGT 60
GATTAATGTAAACTCTGTAAACGCAAGAGGAAATAATAACTACACAAATAATTTAGAGCGT 60
GATTAATGTAAACTCTGTAAACGCAAGAGGAAATAATAACTACACAAATAATTTAGAGCGT 60
*****
GGATTGGGTTCTGGTCTCTTCTGGTACAAATATTTACTGAGAGAAATAATTTCTCTA 120
GGATTGGGTTCTGGTCTCTTCTGGTACAAATATTTACTGAGAGAAATAATTTCTCTA 119
GGATTGGGTTCTGGTCTCTTCTGGTACAAATATTTACTGAGAGAAATAATTTCTCTA 120
GGATTGGGTTCTGGTCTCTTCTGGTACAAATATTTACTGAGAGAAATAATTTCTCTA 120
GGATTGGGTTCTGGTCTCTTCTGGTACAAATATTTACTGAGAGAAATAATTTCTCTA 120
GGATTGGGTTCTGGTCTCTTCTGGTACAAATATTTACTGAGAGAAATAATTTCTCTA 120
GGATTGGGTTCTGGTCTCTTCTGGTACAAATATTTACTGAGAGAAATAATTTCTCTA 120
GGATTGGGTTCTGGTCTCTTCTGGTACAAATATTTACTGAGAGAAATAATTTCTCTA 120
GGATTGGGTTCTGGTCTCTTCTGGTACAAATATTTACTGAGAGAAATAATTTCTCTA 120
*****
GAATTAAATAAATTACATCAAGGATGAGAGAGATATTTATAAGCATTAATGAGGATGTG 180

```

Fig 9N

MSP3.4C	B4	GAATTAATAAAATTAACATCAAGGATGAAGAGATATTATAAAGCATAATGAGGATGTG	179
MSP3.4C	B1	GAATTAATAAAATTAACATCAAGGATGAAGAGATATTATAAAGCATAATGAGGATGTG	180
MSP3.4C	B5	GAATTAATAAAATTAACATCAAGGATGAAGAGATATTATAAAGCATAATGAGGATGTG	180
MSP3.4C	D4	GAATTAATAAAATTAACATCAAGGATGAAGAGATATTATAAAGCATAATGAGGATGTG	180
MSP3.4C	D5	GAATTAATAAAATTAACATCAAGGATGAAGAGATATTATAAAGCATAATGAGGATGTG	180
MSP3.4C	D2	GAATTAATAAAATTAACATCAAGGATGAAGAGATATTATAAAGCATAATGAGGATGTG	180
MSP3.4C	D1	GAATTAATAAAATTAACATCAAGGATGAAGAGATATTATAAAGCATAATGAGGATGTG	180

MSP3.4C	3D7	AGAGAAGAAATAGAAGAACCAACAAGAGACATCGAGGAAGATGAAGAGAAATTTGAAAAT	240
MSP3.4C	B4	AGAGAAGAAATAGAAGAACCAACAAGAGACATCGAGGAAGATGAAGAGAAATTTGAAAAT	239
MSP3.4C	B1	AGAGAAGAAATAGAAGAACCAACAAGAGACATCGAGGAAGATGAAGAGAAATTTGAAAAT	240
MSP3.4C	B5	AGAGAAGAAATAGAAGAACCAACAAGAGACATCGAGGAAGATGAAGAGAAATTTGAAAAT	240
MSP3.4C	D4	AGAGAAGAAATAGAAGAACCAACAAGAGACATCGAGGAAGATGAAGAGAAATTTGAAAAT	240
MSP3.4C	D5	AGAGAAGAAATAGAAGAACCAACAAGAGACATCGAGGAAGATGAAGAGAAATTTGAAAAT	240
MSP3.4C	D2	AGAGAAGAAATAGAAGAACCAACAAGAGACATCGAGGAAGATGAAGAGAAATTTGAAAAT	240
MSP3.4C	D1	AGAGAAGAAATAGAAGAACCAACAAGAGACATCGAGGAAGATGAAGAGAAATTTGAAAAT	240

MSP3.4C	3D7	GAAGGAGAGAAACAAAGAAGAGAGATGATGAAGAAAGAAAGATGAACAAATGATACGGAA	300
MSP3.4C	B4	GAAGGAGAGAAACAAAGAAGAGAGATGATGAAGAAAGAAAGATGAACAAATGATACGGAA	299
MSP3.4C	B1	GAAGGAGAGAAACAAAGAAGAGAGATGATGAAGAAAGAAAGATGAACAAATGATACGGAA	300
MSP3.4C	B5	GAAGGAGAGAAACAAAGAAGAGAGATGATGAAGAAAGAAAGATGAACAAATGATACGGAA	300
MSP3.4C	D4	GAAGGAGAGAAACAAAGAAGAGAGATGATGAAGAAAGAAAGATGAACAAATGATACGGAA	300
MSP3.4C	D5	GAAGGAGAGAAACAAAGAAGAGAGATGATGAAGAAAGAAAGATGAACAAATGATACGGAA	300
MSP3.4C	D2	GAAGGAGAGAAACAAAGAAGAGAGATGATGAAGAAAGAAAGATGAACAAATGATACGGAA	300
MSP3.4C	D1	GAAGGAGAGAAACAAAGAAGAGAGATGATGAAGAAAGAAAGATGAACAAATGATACGGAA	300

MSP3.4C	3D7	GATACGGACGATACCTGAAGATACCGAAGATATAGAAGAGGAGAAATTAAGGAAAAAGAACTC	360
MSP3.4C	B4	GATACGGACGATACCTGAAGATACCGAAGATATAGAAGAGGAGAAATTAAGGAAAAAGAACTC	359
MSP3.4C	B1	GATACGGACGATACCTGAAGATACCGAAGATATAGAAGAGGAGAAATTAAGGAAAAAGAACTC	360
MSP3.4C	B5	GATACGGACGATACCTGAAGATACCGAAGATATAGAAGAGGAGAAATTAAGGAAAAAGAACTC	360
MSP3.4C	D4	GATACGGACGATACCTGAAGATACCGAAGATATAGAAGAGGAGAAATTAAGGAAAAAGAACTC	360
MSP3.4C	D5	GATACGGACGATACCTGAAGATACCGAAGATATAGAAGAGGAGAAATTAAGGAAAAAGAACTC	360
MSP3.4C	D2	GATACGGACGATACCTGAAGATACCGAAGATATAGAAGAGGAGAAATTAAGGAAAAAGAACTC	360
MSP3.4C	D1	GATACGGACGATACCTGAAGATACCGAAGATATAGAAGAGGAGAAATTAAGGAAAAAGAACTC	360

Fig 90

MSP3.4C	3D7	AGTAATCAACAACAAGTGAAAAAAGTATTTCAAAGTTGACGAAGATTCATATCGA	420
MSP3.4C	B4	AGTAATCAACAACAAGTGAAAAAAGTATTTCAAAGTTGACGAAGATTCATATCGA	419
MSP3.4C	B1	AGTAATCAACAACAAGTGAAAAAAGTATTTCAAAGTTGACGAAGATTCATATCGA	420
MSP3.4C	B5	AGTAATCAACAACAAGTGAAAAAAGTATTTCAAAGTTGACGAAGATTCATATCGA	420
MSP3.4C	D4	AGTAATCAACAACAAGTGAAAAAAGTATTTCAAAGTTGACGAAGATTCATATCGA	420
MSP3.4C	D5	AGTAATCAACAACAAGTGAAAAAAGTATTTCAAAGTTGACGAAGATTCATATCGA	420
MSP3.4C	D2	AGTAATCAACAACAAGTGAAAAAAGTATTTCAAAGTTGACGAAGATTCATATCGA	420
MSP3.4C	D1	AGTAATCAACAACAAGTGAAAAAAGTATTTCAAAGTTGACGAAGATTCATATCGA	420

MSP3.4C	3D7	ATACTATCAGTAAGTTATAAGGACAATAATGAAGTAAAAAATGTTGCTGAATCTATAGTG	480
MSP3.4C	B4	ATACTATCAGTAAGTTATAAGGACAATAATGAAGTAAAAAATGTTGCTGAATCTATAGTG	479
MSP3.4C	B1	ATACTATCAGTAAGTTATAAGGACAATAATGAAGTAAAAAATGTTGCTGAATCTATAGTG	480
MSP3.4C	B5	ATACTATCAGTAAGTTATAAGGACAATAATGAAGTAAAAAATGTTGCTGAATCTATAGTG	480
MSP3.4C	D4	ATACTATCAGTAAGTTATAAGGACAATAATGAAGTAAAAAATGTTGCTGAATCTATAGTG	480
MSP3.4C	D5	ATACTATCAGTAAGTTATAAGGACAATAATGAAGTAAAAAATGTTGCTGAATCTATAGTG	480
MSP3.4C	D2	ATACTATCAGTAAGTTATAAGGACAATAATGAAGTAAAAAATGTTGCTGAATCTATAGTG	480
MSP3.4C	D1	ATACTATCAGTAAGTTATAAGGACAATAATGAAGTAAAAAATGTTGCTGAATCTATAGTG	480

MSP3.4C	3D7	AAAAAACTATTTAGTTTATTAATGATAATAATAATTTGGAACTATTTTAAAGGGTTTG	540
MSP3.4C	B4	AAAAAACTATTTAGTTTATTAATGATAATAATAATTTGGAACTATTTTAAAGGGTTTG	539
MSP3.4C	B1	AAAAAACTATTTAGTTTATTAATGATAATAATAATTTGGAACTATTTTAAAGGGTTTG	540
MSP3.4C	B5	AAAAAACTATTTAGTTTATTAATGATAATAATAATTTGGAACTATTTTAAAGGGTTTG	540
MSP3.4C	D4	AAAAAACTATTTAGTTTATTAATGATAATAATAATTTGGAACTATTTTAAAGGGTTTG	540
MSP3.4C	D5	AAAAAACTATTTAGTTTATTAATGATAATAATAATTTGGAACTATTTTAAAGGGTTTG	540
MSP3.4C	D2	AAAAAACTATTTAGTTTATTAATGATAATAATAATTTGGAACTATTTTAAAGGGTTTG	540
MSP3.4C	D1	AAAAAACTATTTAGTTTATTAATGATAATAATAATTTGGAACTATTTTAAAGGGTTTG	540

MSP3.4C	3D7	ACAGAAGATATGACAGATTATTTCAAAAATAA	573
MSP3.4C	B4	ACAGAAGATATGACAGATTATTTCAAAAATAA	572
MSP3.4C	B1	ACAGAAGATATGACAGATTATTTCAAAAATAA	573
MSP3.4C	B5	ACAGAAGATATGACAGATTATTTCAAAAATAA	573
MSP3.4C	D4	ACAGAAGATATGACAGATTATTTCAAAAATAA	573
MSP3.4C	D5	ACAGAAGATATGACAGATTATTTCAAAAATAA	573
MSP3.4C	D2	ACAGAAGATATGACAGATTATTTCAAAAATAA	573
MSP3.4C	D1	ACAGAAGATATGACAGATTATTTCAAAAATAA	573

37 98

MSP3.4C D1 ACAGACATATGACAGATTATTTCAAAATAA 573

Alineación ClustalW Secuencias de nucleótidos ORF5C (www.ebi.ac.uk/Tools/MSA/MSP3-7)

CLUSTAL W (1.82) alineación de la secuencia múltiple

MSP3.7C	3D7	CCTGAAGCACC	GAAGCAACATAGAAATGAAATAATCAAAATACAGATCCATATAAC	60
MSP3.7C	B1	CCTGAAGCACC	GAAGCAACATAGAAATGAAATAATCAAAATACAGATCCATATAAC	60
MSP3.7C	B2	CCTGAAGCACC	GAAGCAACATAGAAATGAAATAATCAAAATACAGATCCATATAAC	60
MSP3.7C	B3	CCTGAAGCACC	GAAGCAACATAGAAATGAAATAATCAAAATACAGATCCATATAAC	60
MSP3.7C	B4	CCTGAAGCACC	GAAGCAACATAGAAATGAAATAATCAAAATACAGATCCATATAAC	60
MSP3.7C	B5	CCTGAAGCACC	GAAGCAACATAGAAATGAAATAATCAAAATACAGATCCATATAAC	60
MSP3.7C	D1	CCTGAAGCACC	GAAGCAACATAGAAATGAAATAATCAAAATACAGATCCATATAAC	60
MSP3.7C	D2	CCTGAAGCACC	GAAGCAACATAGAAATGAAATAATCAAAATACAGATCCATATAAC	60
MSP3.7C	D5	CCTGAAGCACC	GAAGCAACATAGAAATGAAATAATCAAAATACAGATCCATATAAC	60
MSP3.7C	addtional	*****	*****	60

MSP3.7C	3D7	CACATATTTGCA	TGGGAAATTGGAGGTGGTGCTCCAACTATATAACCCCGAGACAAATAAG	120
MSP3.7C	B1	CACATATTTGCA	TGGGAAATTGGAGGTGGTGCTCCAACTATATAACCCCGAGACAAATAAG	120
MSP3.7C	B2	CACATATTTGCA	TGGGAAATTGGAGGTGGTGCTCCAACTATATAACCCCGAGACAAATAAG	120
MSP3.7C	B3	CACATATTTGCA	TGGGAAATTGGAGGTGGTGCTCCAACTATATAACCCCGAGACAAATAAG	120
MSP3.7C	B4	CACATATTTGCA	TGGGAAATTGGAGGTGGTGCTCCAACTATATAACCCCGAGACAAATAAG	120
MSP3.7C	B5	CACATATTTGCA	TGGGAAATTGGAGGTGGTGCTCCAACTATATAACCCCGAGACAAATAAG	120
MSP3.7C	D1	CACATATTTGCA	TGGGAAATTGGAGGTGGTGCTCCAACTATATAACCCCGAGACAAATAAG	120

٩٥

MSP3.7C	D2	CACTATTTTGATGGGAAATTTGGAGGTGGTGTCTCCAAACGTATAAAACCCGAGAACAAATAAG	120
MSP3.7C	D5	CACTATTTTGATGGGAAATTTGGAGGTGGTGTCTCCAAACGTATAAAACCCGAGAACAAATAAG	120
MSP3.7C	additional	CACTATTTTGATGGGAAATTTGGAGGTGGTGTCTCCAAACGTATAAAACCCGAGAACAAATAAG	120

MSP3.7C	3D7	AACGATAAATATTTTGTAGAACACGTAATAAATTTACCTCGTGGGATAAAGAGATATAAT	180
MSP3.7C	B1	AACGATAAATATTTTGTAGAACACGTAATAAATTTACCTCGTGGGATAAAGAGATATAAT	180
MSP3.7C	B2	AACGATAAATATTTTGTAGAACACGTAATAAATTTACCTCGTGGGATAAAGAGATATAAT	180
MSP3.7C	B3	AACGATAAATATTTTGTAGAACACGTAATAAATTTACCTCGTGGGATAAAGAGATATAAT	180
MSP3.7C	B4	AACGATAAATATTTTGTAGAACACGTAATAAATTTACCTCGTGGGATAAAGAGATATAAT	180
MSP3.7C	B5	AACGATAAATATTTTGTAGAACACGTAATAAATTTACCTCGTGGGATAAAGAGATATAAT	180
MSP3.7C	D1	AACGATAAATATTTTGTAGAACACGTAATAAATTTACCTCGTGGGATAAAGAGATATAAT	180
MSP3.7C	D2	AACGATAAATATTTTGTAGAACACGTAATAAATTTACCTCGTGGGATAAAGAGATATAAT	180
MSP3.7C	D5	AACGATAAATATTTTGTAGAACACGTAATAAATTTACCTCGTGGGATAAAGAGATATAAT	180
MSP3.7C	additional	AACGATAAATATTTTGTAGAACACGTAATAAATTTACCTCGTGGGATAAAGAGATATAAT	180

MSP3.7C	3D7	AAAGAAATGAAGACACAAACCGGAAGTTCAAGAACTGAAGACACTGACGAAACTGAA	240
MSP3.7C	B1	AAAGAAATGAAGACACAAACCGGAAGTTCAAGAACTGAAGACACTGACGAAACTGAA	240
MSP3.7C	B2	AAAGAAATGAAGACACAAACCGGAAGTTCAAGAACTGAAGACACTGACGAAACTGAA	240
MSP3.7C	B3	AAAGAAATGAAGACACAAACCGGAAGTTCAAGAACTGAAGACACTGACGAAACTGAA	240
MSP3.7C	B4	AAAGAAATGAAGACACAAACCGGAAGTTCAAGAACTGAAGACACTGACGAAACTGAA	240
MSP3.7C	B5	AAAGAAATGAAGACACAAACCGGAAGTTCAAGAACTGAAGACACTGACGAAACTGAA	240
MSP3.7C	D1	AAAGAAATGAAGACACAAACCGGAAGTTCAAGAACTGAAGACACTGACGAAACTGAA	240
MSP3.7C	D2	AAAGAAATGAAGACACAAACCGGAAGTTCAAGAACTGAAGACACTGACGAAACTGAA	240
MSP3.7C	D5	AAAGAAATGAAGACACAAACCGGAAGTTCAAGAACTGAAGACACTGACGAAACTGAA	240
MSP3.7C	additional	AAAGAAATGAAGACACAAACCGGAAGTTCAAGAACTGAAGACACTGACGAAACTGAA	240

MSP3.7C	3D7	GATACTGACGAAACTGAAGAAACAGAGATATGGAAGATGAAACCGAAATTTGTGGAAGAT	300
MSP3.7C	B1	GATACTGACGAAACTGAAGAAACAGAGATATGGAAGATGAAACCGAAATTTGTGGAAGAT	300
MSP3.7C	B2	GATACTGACGAAACTGAAGAAACAGAGATATGGAAGATGAAACCGAAATTTGTGGAAGAT	300
MSP3.7C	B3	GATACTGACGAAACTGAAGAAACAGAGATATGGAAGATGAAACCGAAATTTGTGGAAGAT	300
MSP3.7C	B4	GATACTGACGAAACTGAAGAAACAGAGATATGGAAGATGAAACCGAAATTTGTGGAAGAT	300
MSP3.7C	B5	GATACTGACGAAACTGAAGAAACAGAGATATGGAAGATGAAACCGAAATTTGTGGAAGAT	300
MSP3.7C	D1	GATACTGACGAAACTGAAGAAACAGAGATATGGAAGATGAAACCGAAATTTGTGGAAGAT	300
MSP3.7C	D2	GATACTGACGAAACTGAAGAAACAGAGATATGGAAGATGAAACCGAAATTTGTGGAAGAT	300
MSP3.7C	D5	GATACTGACGAAACTGAAGAAACAGAGATATGGAAGATGAAACCGAAATTTGTGGAAGAT	300

F₃ 9R

MSP3.7C	additional	GATACGACGAACTGAGAGAAACAGAGATATGGAAGATGAAACGAAATTTGCGAAGAT	300

MSP3.7C	3D7	CAATTACAAGAAATGAGATGATGAGGATAATGTAAATTTTAGAAGATATTAAATAAAAT	360
MSP3.7C	B1	CAATTACAAGAAATGAGATGATGAGGATAATGTAAATTTTAGAAGATATTAAATAAAAT	360
MSP3.7C	B2	CAATTACAAGAAATGAGATGATGAGGATAATGTAAATTTTAGAAGATATTAAATAAAAT	360
MSP3.7C	B3	CAATTACAAGAAATGAGATGATGAGGATAATGTAAATTTTAGAAGATATTAAATAAAAT	360
MSP3.7C	B4	CAATTACAAGAAATGAGATGATGAGGATAATGTAAATTTTAGAAGATATTAAATAAAAT	360
MSP3.7C	B5	CAATTACAAGAAATGAGATGATGAGGATAATGTAAATTTTAGAAGATATTAAATAAAAT	360
MSP3.7C	D1	CAATTACAAGAAATGAGATGATGAGGATAATGTAAATTTTAGAAGATATTAAATAAAAT	360
MSP3.7C	D2	CAATTACAAGAAATGAGATGATGAGGATAATGTAAATTTTAGAAGATATTAAATAAAAT	360
MSP3.7C	D5	CAATTACAAGAAATGAGATGATGAGGATAATGTAAATTTTAGAAGATATTAAATAAAAT	360
MSP3.7C	additional	CAATTACAAGAAATGAGATGATGAGGATAATGTAAATTTTAGAAGATATTAAATAAAAT	360

MSP3.7C	3D7	ACTAGAAATGATATATTTGAAGAACCAATATAAATTTAGATTCTACGCAAGATGACAAAGCT	420
MSP3.7C	B1	ACTAGAAATGATATATTTGAAGAACCAATATAAATTTAGATTCTACGCAAGATGACAAAGCT	420
MSP3.7C	B2	ACTAGAAATGATATATTTGAAGAACCAATATAAATTTAGATTCTACGCAAGATGACAAAGCT	420
MSP3.7C	B3	ACTAGAAATGATATATTTGAAGAACCAATATAAATTTAGATTCTACGCAAGATGACAAAGCT	420
MSP3.7C	B4	ACTAGAAATGATATATTTGAAGAACCAATATAAATTTAGATTCTACGCAAGATGACAAAGCT	420
MSP3.7C	B5	ACTAGAAATGATATATTTGAAGAACCAATATAAATTTAGATTCTACGCAAGATGACAAAGCT	420
MSP3.7C	D1	ACTAGAAATGATATATTTGAAGAACCAATATAAATTTAGATTCTACGCAAGATGACAAAGCT	420
MSP3.7C	D2	ACTAGAAATGATATATTTGAAGAACCAATATAAATTTAGATTCTACGCAAGATGACAAAGCT	420
MSP3.7C	D5	ACTAGAAATGATATATTTGAAGAACCAATATAAATTTAGATTCTACGCAAGATGACAAAGCT	420
MSP3.7C	additional	ACTAGAAATGATATATTTGAAGAACCAATATAAATTTAGATTCTACGCAAGATGACAAAGCT	420

MSP3.7C	3D7	CAAAATTAATTTCTAATGAATATATAAATAAAGCTGAAGAAAAAATCATTAGAAGATCAT	480
MSP3.7C	B1	CAAAATTAATTTCTAATGAATATATAAATAAAGCTGAAGAAAAAATCATTAGAAGATCAT	480
MSP3.7C	B2	CAAAATTAATTTCTAATGAATATATAAATAAAGCTGAAGAAAAAATCATTAGAAGATCAT	480
MSP3.7C	B3	CAAAATTAATTTCTAATGAATATATAAATAAAGCTGAAGAAAAAATCATTAGAAGATCAT	480
MSP3.7C	B4	CAAAATTAATTTCTAATGAATATATAAATAAAGCTGAAGAAAAAATCATTAGAAGATCAT	480
MSP3.7C	B5	CAAAATTAATTTCTAATGAATATATAAATAAAGCTGAAGAAAAAATCATTAGAAGATCAT	480
MSP3.7C	D1	CAAAATTAATTTCTAATGAATATATAAATAAAGCTGAAGAAAAAATCATTAGAAGATCAT	480
MSP3.7C	D2	CAAAATTAATTTCTAATGAATATATAAATAAAGCTGAAGAAAAAATCATTAGAAGATCAT	480
MSP3.7C	D5	CAAAATTAATTTCTAATGAATATATAAATAAAGCTGAAGAAAAAATCATTAGAAGATCAT	480

MSF3.7C	3D7	
MSF3.7C	B1	TTAGAAATGAGCTTAACTTTTAAAAAACAATTGA 579
MSF3.7C	B2	TTAGAAATGAGCTTAACTTTTAAAAAACAATTGA 579
MSF3.7C	B3	TTAGAAATGAGCTTAACTTTTAAAAAACAATTGA 579
MSF3.7C	B4	TTAGAAATGAGCTTAACTTTTAAAAAACAATTGA 579
MSF3.7C	B5	TTAGAAATGAGCTTAACTTTTAAAAAACAATTGA 579
MSF3.7C	D1	TTAGAAATGAGCTTAACTTTTAAAAAACAATTGA 579
MSF3.7C	D2	TTAGAAATGAGCTTAACTTTTAAAAAACAATTGA 579
MSF3.7C	D5	TTAGAAATGAGCTTAACTTTTAAAAAACAATTGA 579
MSF3.7C	additional	TTAGAAATGAGCTTAACTTTTAAAAAACAATTGA 579

Alineación ClustalW secuencias de nucleótidos ORF7C

CLUSTAL W (1.82) alineación de la secuencia múltiple excluyendo MSP38C 82

Fig 9T

MSP3.8C	3D7	CATGAAAGTAATGTTGGTAGCATCCAGAAGTAACCAAGGTAGCGTGAGCGAAGAATCA	60
MSP3.8C	B1	CATGAAAGTAATGTTGGTAGCATCCAGAAGTAACCAAGGTAGCGTGAGCGAAGAATCA	60
MSP3.8C	B4	CATGAAAGTAATGTTGGTAGCATCCAGAAGTAACCAAGGTAGCGTGAGCGAAGAATCA	60
MSP3.8C	B5	CATGAAAGTAATGTTGGTAGCATCCAGAAGTAACCAAGGTAGCGTGAGCGAAGAATCA	60
MSP3.8C	D1	CATGAAAGTAATGTTGGTAGCATCCAGAAGTAACCAAGGTAGCGTGAGCGAAGAATCA	60
MSP3.8C	D2	CATGAAAGTAATGTTGGTAGCATCCAGAAGTAACCAAGGTAGCGTGAGCGAAGAATCA	60
MSP3.8C	D4	CATGAAAGTAATGTTGGTAGCATCCAGAAGTAACCAAGGTAGCGTGAGCGAAGAATCA	60

MSP3.8C	3D7	CATTCTAAACCTATAGATCCCTTCTAAGATTGACGACCGTTTGGAAATTAAGTAGTGGGTCA	120
MSP3.8C	B1	CATTCTAAACCTATAGATCCCTTCTAAGATTGACGACCGTTTGGAAATTAAGTAGTGGGTCA	120
MSP3.8C	B4	CATTCTAAACCTATAGATCCCTTCTAAGATTGACGACCGTTTGGAAATTAAGTAGTGGGTCA	120
MSP3.8C	B5	CATTCTAAACCTATAGATCCCTTCTAAGATTGACGACCGTTTGGAAATTAAGTAGTGGGTCA	120
MSP3.8C	D1	CATTCTAAACCTATAGATCCCTTCTAAGATTGACGACCGTTTGGAAATTAAGTAGTGGGTCA	120
MSP3.8C	D2	CATTCTAAACCTATAGATCCCTTCTAAGATTGACGACCGTTTGGAAATTAAGTAGTGGGTCA	120
MSP3.8C	D4	CATTCTAAACCTATAGATCCCTTCTAAGATTGACGACCGTTTGGAAATTAAGTAGTGGGTCA	120

MSP3.8C	3D7	TCATCTCTTGAAACAACACTCTAAGGAAGATGTAAAAAGGGATGTGCTTTAGAAATTGGTA	180
MSP3.8C	B1	TCATCTCTTGAAACAACACTCTAAGGAAGATGTAAAAAGGGATGTGCTTTAGAAATTGGTA	180
MSP3.8C	B4	TCATCTCTTGAAACAACACTCTAAGGAAGATGTAAAAAGGGATGTGCTTTAGAAATTGGTA	180
MSP3.8C	B5	TCATCTCTTGAAACAACACTCTAAGGAAGATGTAAAAAGGGATGTGCTTTAGAAATTGGTA	180
MSP3.8C	D1	TCATCTCTTGAAACAACACTCTAAGGAAGATGTAAAAAGGGATGTGCTTTAGAAATTGGTA	180
MSP3.8C	D2	TCATCTCTTGAAACAACACTCTAAGGAAGATGTAAAAAGGGATGTGCTTTAGAAATTGGTA	180
MSP3.8C	D4	TCATCTCTTGAAACAACACTCTAAGGAAGATGTAAAAAGGGATGTGCTTTAGAAATTGGTA	180

MSP3.8C	3D7	CCTTTATCTTTATCGGATATTGAAACAGATAGCTAATGAAAGCGAAGATGTACTGGAAGAG	240
MSP3.8C	B1	CCTTTATCTTTATCGGATATTGAAACAGATAGCTAATGAAAGCGAAGATGTACTGGAAGAG	240
MSP3.8C	B4	CCTTTATCTTTATCGGATATTGAAACAGATAGCTAATGAAAGCGAAGATGTACTGGAAGAG	240
MSP3.8C	B5	CCTTTATCTTTATCGGATATTGAAACAGATAGCTAATGAAAGCGAAGATGTACTGGAAGAG	240
MSP3.8C	D1	CCTTTATCTTTATCGGATATTGAAACAGATAGCTAATGAAAGCGAAGATGTACTGGAAGAG	240
MSP3.8C	D2	CCTTTATCTTTATCGGATATTGAAACAGATAGCTAATGAAAGCGAAGATGTACTGGAAGAG	240
MSP3.8C	D4	CCTTTATCTTTATCGGATATTGAAACAGATAGCTAATGAAAGCGAAGATGTACTGGAAGAG	240

MSP3.8C	3D7	ATAGAGAAGAAATTAATACAGATGGGGAATAGATATATAACAGAGAAGAAATAAAA	300

Fig 9U

MSP3.8C	B1	ATAGAAGAAGAAATTAATACAGATCGGGAAATAGAATATATAACAGAGAAGAAATAAAA	300
MSP3.8C	B4	ATAGAAGAAGAAATTAATACAGATCGGGAAATAGAATATATAACAGAGAAGAAATAAAA	300
MSP3.8C	B5	ATAGAAGAAGAAATTAATACAGATCGGGAAATAGAATATATAACAGAGAAGAAATAAAA	300
MSP3.8C	D1	ATAGAAGAAGAAATTAATACAGATCGGGAAATAGAATATATAACAGAGAAGAAATAAAA	300
MSP3.8C	D2	ATAGAAGAAGAAATTAATACAGATCGGGAAATAGAATATATAACAGAGAAGAAATAAAA	300
MSP3.8C	D4	ATAGAAGAAGAAATTAATACAGATCGGGAAATAGAATATATAACAGAGAAGAAATAAAA	300

MSP3.8C	3D7	GAAGATATAGAAGAAGAAACAGAGAAGATATAGAAGAAGAAACAGAGAAGAAACAGAA	360
MSP3.8C	B1	GAAGATATAGAAGAAGAAATTAAGAGAGATATAGAAGAAGAAACAGAGAAGATATAGAA	360
MSP3.8C	B4	GAAGATATAGAAGAAGAAACAGAGAAGATATAGAAGAAGAAACAGAGAAGAAACAGAA	360
MSP3.8C	B5	GAAGATATAGAAGAAGAAATTAAGAGAGATATAGAAGAAGAAACAGAGAAGATATAGAA	360
MSP3.8C	D1	GAAGATATAGAAGAAGAAACAGAGAAGATATAGAAGAAGAAACAGAGAAGAAACAGAA	360
MSP3.8C	D2	GAAGATATAGAAGAAGAAACAGAGAAGATATAGAAGAAGAAACAGAGAAGAAACAGAA	360
MSP3.8C	D4	GAAGATATAGAAGAAGAAACAGAGAAGATATAGAAGAAGAAACAGAGAAGAAACAGAA	360

MSP3.8C	3D7	GAAGAAACAGAAAGAAAGCAGA-----TGAAAGAAACAGTAAAAAGAAATAGAA	408
MSP3.8C	B1	GAAGAAACAGAAAGAAACAGAAAGAAAGCAGATGAAAGAAACAGTAAAAAGAAATAGAA	420
MSP3.8C	B4	GAAGAAACAGAAAGAAAGCAGA-----TGAAAGAAACAGTAAAAAGAAATAGAA	408
MSP3.8C	B5	GAAGAAACAGAAAGAAACAGAAAGAAAGCAGATGAAAGAAACAGTAAAAAGAAATAGAA	420
MSP3.8C	D1	GAAGAAACAGAAAGAAACAGAAAGAAAGCAGATGAAAGAAACAGTAAAAAGAAATAGAA	420
MSP3.8C	D2	GAAGAAACAGAAAGAAACAG-----TGAAAGAAACAGTAAAAAGAAATAGAA	396
MSP3.8C	D4	GAAGAAACAGAAAGAAAGCAGA-----TGAAAGAAACAGTAAAAAGAAATAGAA	408

MSP3.8C	3D7	GACAAACAGAAAGAAATTAAGAAATTAATTCGCTAGAGAGAAACAAATAGATAAAAT	468
MSP3.8C	B1	GACAAACAGAAAGAAATTAAGAAATTAATTCGCTAGAGAGAAACAAATAGATAAAAT	480
MSP3.8C	B4	GACAAACAGAAAGAAATTAAGAAATTAATTCGCTAGAGAGAAACAAATAGATAAAAT	468
MSP3.8C	B5	GACAAACAGAAAGAAATTAAGAAATTAATTCGCTAGAGAGAAACAAATAGATAAAAT	480
MSP3.8C	D1	GACAAACAGAAAGAAATTAAGAAATTAATTCGCTAGAGAGAAACAAATAGATAAAAT	480
MSP3.8C	D2	GACAAACAGAAAGAAATTAAGAAATTAATTCGCTAGAGAGAAACAAATAGATAAAAT	455
MSP3.8C	D4	GACAAACAGAAAGAAATTAAGAAATTAATTCGCTAGAGAGAAACAAATAGATAAAAT	468

MSP3.8C	3D7	ACAGATACCAGTGAGAAAGAAAGGATTTAATTAATTCAGAGAAAGATGAAAGAGCTCGAAAT	528

Fig 9v

MSP3.8C	B1	ACAGATACCAGTGAAGAAGGATTTAATAATTCAGAAAAAGATGAAAAAGCTCGAAAT	540
MSP3.8C	B4	ACAGATACCAGTGAAGAAGGATTTAATAATTCAGAAAAAGATGAAAAAGCTCGAAAT	528
MSP3.8C	B5	ACAGATACCAGTGAAGAAGGATTTAATAATTCAGAAAAAGATGAAAAAGCTCGAAAT	540
MSP3.8C	D1	ACAGATACCAGTGAAGAAGGATTTAATAATTCAGAAAAAGATGAAAAAGCTCGAAAT	540
MSP3.8C	D2	ACAGATACCAGTGAAGAAGGATTTAATAATTCAGAAAAAGATGAAAAAGCTCGAAAT	516
MSP3.8C	D4	ACAGATACCAGTGAAGAAGGATTTAATAATTCAGAAAAAGATGAAAAAGCTCGAAAT	528

MSP3.8C	3D7	TTAATTTCTAAAAATTATAAAAATTATAATGAACCTAGATAAAAACGTTTCATACCTTTAGTA	588
MSP3.8C	B1	TTAATTTCTAAAAATTATAAAAATTATAATGAACCTAGATAAAAACGTTTCATACCTTTAGTA	600
MSP3.8C	B4	TTAATTTCTAAAAATTATAAAAATTATAATGAACCTAGATAAAAACGTTTCATACCTTTAGTA	588
MSP3.8C	B5	TTAATTTCTAAAAATTATAAAAATTATAATGAACCTAGATAAAAACGTTTCATACCTTTAGTA	600
MSP3.8C	D1	TTAATTTCTAAAAATTATAAAAATTATAATGAACCTAGATAAAAACGTTTCATACCTTTAGTA	600
MSP3.8C	D2	TTAATTTCTAAAAATTATAAAAATTATAATGAACCTAGATAAAAACGTTTCATACCTTTAGTA	576
MSP3.8C	D4	TTAATTTCTAAAAATTATAAAAATTATAATGAACCTAGATAAAAACGTTTCATACCTTTAGTA	588
		**** *	
MSP3.8C	3D7	AATTCAAATTATAGTTTATTAGAAGAAGGTAAATGGAAGTGATTTCTACCTTGAATAGTTTA	648
MSP3.8C	B1	AATTCAAATTATAGTTTATTAGAAGAAGGTAAATGGAAGTGATTTCTACCTTGAATAGTTTA	660
MSP3.8C	B4	AATTCAAATTATAGTTTATTAGAAGAAGGTAAATGGAAGTGATTTCTACCTTGAATAGTTTA	648
MSP3.8C	B5	AATTCAAATTATAGTTTATTAGAAGAAGGTAAATGGAAGTGATTTCTACCTTGAATAGTTTA	660
MSP3.8C	D1	AATTCAAATTATAGTTTATTAGAAGAAGGTAAATGGAAGTGATTTCTACCTTGAATAGTTTA	660
MSP3.8C	D2	AATTCAAATTATAGTTTATTAGAAGAAGGTAAATGGAAGTGATTTCTACCTTGAATAGTTTA	636
MSP3.8C	D4	AATTCAAATTATAGTTTATTAGAAGAAGGTAAATGGAAGTGATTTCTACCTTGAATAGTTTA	648

MSP3.8C	3D7	TCAAAAGATATTACAAATTTATTAAAAATTAA	681
MSP3.8C	B1	TCAAAAGATATTACAAATTTATTAAAAATTAA	693
MSP3.8C	B4	TCAAAAGATATTACAAATTTATTAAAAATTAA	681
MSP3.8C	B5	TCAAAAGATATTACAAATTTATTAAAAATTAA	693
MSP3.8C	D1	TCAAAAGATATTACAAATTTATTAAAAATTAA	693
MSP3.8C	D2	TCAAAAGATATTACAAATTTATTAAAAATTAA	669
MSP3.8C	D4	TCAAAAGATATTACAAATTTATTAAAAATTAA	681

Fig 10 A

CLUSTAL W (1.82) alineacion ClustalW Multiple **MSP3-1**

AASequenceAlignment - Viewwww.ebi.ac.uk/clustalw/

CLUSTAL W (1.82) alineacion de la secuencia multiple

```

MSP3 .1C 3D7      YEKAKNAYQKQAQAVLKAKKASSYDYITLGNHFFGGGVPKHKKEENMLSHLYVSSKOKENIS 60
MSP3 .1C B2      YEKAKNAYQKQAQAVLKAKKASSYDYITLGNHFFGGGVPKHKKEENMLSHLYVSSKOKENIS 60
MSP3 .1C B3      YEKAKNAYQKQAQAVLKAKKASSYDYITLGNHFFGGGVPKHKKEENMLSHLYVSSKOKENIS 60
MSP3 .1C B4      YEKAKNAYQKQAQAVLKAKKASSYDYITLGNHFFGGGVPKHKKEENMLSHLYVSSKOKENIS 60
MSP3 .1C B5      YEKAKNAYQKQAQAVLKAKKASSYDYITLGNHFFGGGVPKHKKEENMLSHLYVSSKOKENIS 60
MSP3 .1C D2      YEKAKNAYQKQAQAVLKAKKASSYDYITLGNHFFGGGVPKHKKEENMLSHLYVSSKOKENIS 60
MSP3 .1C D3      YEKAKNAYQKQAQAVLKAKKASSYDYITLGNHFFGGGVPKHKKEENMLSHLYVSSKOKENIS 60
MSP3 .1C D4      YEKAKNAYQKQAQAVLKAKKASSYDYITLGNHFFGGGVPKHKKEENMLSHLYVSSKOKENIS 60
MSP3 .1C D5      YEKAKNAYQKQAQAVLKAKKASSYDYITLGNHFFGGGVPKHKKEENMLSHLYVSSKOKENIS 60
*****

MSP3 .1C 3D7      KENDVDLDEKEEAEETEEELBEKNEEETEEISEDEEEEB-EEEEKKEEENDKKKEQBK 119
MSP3 .1C B2      KENDVDLDEKEEAEETEEELBEKNEEETEEISEDEEEEB-EEEEKKEEENDKKKEQBK 113
MSP3 .1C B3      KENDVDLDEKEEAEETEEELBEKNEEETEEISEDEEEEB-EEEEKKEEENDKKKEQBK 113
MSP3 .1C B4      KENDVDLDEKEEAEETEEELBEKNEEETEEISEDEEEEB-EEEEKKEEENDKKKEQBK 113
MSP3 .1C B5      KENDVDLDEKEEAEETEEELBEKNEEETEEISEDEEEEB-EEEEKKEEENDKKKEQBK 113
MSP3 .1C D2      KENDVDLDEKEEAEETEEELBEKNEEETEEISEDEEEEB-EEEEKKEEENDKKKEQBK 118
MSP3 .1C D3      KENDVDLDEKEEAEETEEELBEKNEEETEEISEDEEEEB-EEEEKKEEENDKKKEQBK 119
MSP3 .1C D4      KENDVDLDEKEEAEETEEELBEKNEEETEEISEDEEEEB-EEEEKKEEENDKKKEQBK 120
MSP3 .1C D5      KENDVDLDEKEEAEETEEELBEKNEEETEEISEDEEEEB-EEEEKKEEENDKKKEQBK 120
*****

EOSNENNDDQKDHEAQNLISKQNNNEKNVKEAAESIMKTLAGLIKGNQIDSTLKDLVE 179
EOSNENNDDQKDHEAQNLISKQNNNEKNVKEAAESIMKTLAGLIKGNQIDSTLKDLVE 173
EOSNENNDDQKDHEAQNLISKQNNNEKNVKEAAESIMKTLAGLIKGNQIDSTLKDLVE 173
EOSNENNDDQKDHEAQNLISKQNNNEKNVKEAAESIMKTLAGLIKGNQIDSTLKDLVE 173
EOSNENNDDQKDHEAQNLISKQNNNEKNVKEAAESIMKTLAGLIKGNQIDSTLKDLVE 173
EOSNENNDDQKDHEAQNLISKQNNNEKNVKEAAESIMKTLAGLIKGNQIDSTLKDLVE 178
EOSNENNDDQKDHEAQNLISKQNNNEKNVKEAAESIMKTLAGLIKGNQIDSTLKDLVE 179
EOSNENNDDQKDHEAQNLISKQNNNEKNVKEAAESIMKTLAGLIKGNQIDSTLKDLVE 180
EOSNENNDDQKDHEAQNLISKQNNNEKNVKEAAESIMKTLAGLIKGNQIDSTLKDLVE 190
... ..

ELSKYFKNH 189
ELSKYFKNH 182
ELSKYFKNH 182
ELSKYFKNH 182
ELSKYFKNH 182
ELSKYFKNH 187
ELSKYFKNH 186
ELSKYFKNH 189
ELSKYFKNH 189

```

Fig 10 B

:**
Alineación Clustalw AA secuencias MSP6FL (cuerpo entero) (www.ebi.ac.uk/cluster/w/) **MSP3-2**

CLUSTAL W (1.82) alineación de la secuencia múltiple

```

MSP3.2FL 3D7  MNKIYNTFLFILLNLYINENNFI RNELINEKNHNL RSGSMYNDKILSKNEVD TNIESN 60
MSP3.2FL B1  MNKIYNTFLFILLNLYINENNFI RNELINEKNHNL RSGSMYNDKILSKNEVD TNIESN 60
MSP3.2FL B3  MNKIYNTFLFILLNLYINENNFI RNELINEKNHNL RSGSMYNDKILSKNEVD TNIESN 60
MSP3.2FL B4  MNKIYNTFLFILLNLYINENNFI RNELINEKNHNL RSGSMYNDKILSKNEVD TNIESN 60
MSP3.2FL B5  MNKIYNTFLFILLNLYINENNFI RNELINEKNHNL RSGSMYNDKILSKNEVD TNIESN 60
MSP3.2FL D1  MNKIYNTFLFILLNLYINENNFI RNELINEKNHNL RSGSMYNDKILSKNEVD TNIESN 60
MSP3.2FL D2  MNKIYNTFLFILLNLYINENNFI RNELINEKNHNL RSGSMYNDKILSKNEVD TNIESN 60
MSP3.2FL D3  MNKIYNTFLFILLNLYINENNFI RNELINEKNHNL RSGSMYNDKILSKNEVD TNIESN 60
MSP3.2FL D4  MNKIYNTFLFILLNLYINENNFI RNELINEKNHNL RSGSMYNDKILSKNEVD TNIESN 60
MSP3.2FL D5  MNKIYNTFLFILLNLYINENNFI RNELINEKNHNL RSGSMYNDKILSKNEVD TNIESN 60
***:*****

MSP3.2FL 3D7  ENSIHESGHKIDGEEVLKAN-----VDDITYKKKNVDDSEIPFSGYDIQATYQFPSTS-- 113
MSP3.2FL B1  ENSIHESGHKIDGEEVLKAN-----VDDITYKKKNVDDSEIPFSGYDIQATYQFPSTS-- 113
MSP3.2FL B3  ENSIHESGHKIDGEEVLKAN-----VDDITYKKKNVDDSEIPFSGYDIQATYQFPSTS-- 113
MSP3.2FL B4  ENSIHESGHKIDGEEVLKAN-----VDDITYKKKNVDDSEIPFSGYDIQATYQFPSTS-- 113
MSP3.2FL B5  ENSIHESGHKIDGEEVLKAN-----VDDITYKKKNVDDSEIPFSGYDIQATYQFPSTS-- 113
MSP3.2FL D1  ENSIHESGHKIDGEEVLKAN-----VDDITYKKKNVDDSEIPFSGYDIQATYQFPSTS-- 113
MSP3.2FL D2  ENSIHESGHKIDGEEVLKAN-----VDDITYKKKNVDDSEIPFSGYDIQATYQFPSTS-- 113
MSP3.2FL D3  ENSIHESGHKIDGEEVLKAN-----VDDITYKKKNVDDSEIPFSGYDIQATYQFPSTS-- 113
MSP3.2FL D4  ENSIHESGHKIDGEEVLKANQEQANVEDITYKKKNVDDSEIPFSGYDIQATYQFPSTAPGR 120
MSP3.2FL D5  ENSIHESGHKIDGEEVLKAN-----VDDITYKKKNVDDSEIPFSGYDIQATYQFPSTS-- 113
*****

MSP3.2FL 3D7  -----GGNNV IPLPIKQSGENQYTVTSISGIQKGANGLTGATENITQVWQANSETNKNP 167
MSP3.2FL B1  -----GGNNV IPLPIKQSGENQYTVTSISGIQKGANGLTGATENITQVWQANSETNKNP 167
MSP3.2FL B3  -----GGNNV IPLPIKQSGENQYTVTSISGIQKGANGLTGATENITQVWQANSETNKNP 167
MSP3.2FL B4  -----GGNNV IPLPIKQSGENQYTVTSISGIQKGANGLTGATENITQVWQANSETNKNP 167
MSP3.2FL B5  -----GGNNV IPLPIKQSGENQYTVTSISGIQKGANGLTGATENITQVWQANSETNKNP 167
MSP3.2FL D1  -----GGNNV IPLPIKQSGENQYTVTSISGIQKGANGLTGATENITQVWQANSETNKNP 167
MSP3.2FL D2  -----GGNNV IPLPIKQSGENQYTVTSISGIQKGANGLTGATENITQVWQANSETNKNP 167
MSP3.2FL D3  -----GGNNV IPLPIKQSGENQYTVTSISGIQKGANGLTGATENITQVWQANSETNKNP 167
MSP3.2FL D4  IINPRTGNTV IIPPRRLSGLEGVSYPHVS-----TSSNQSHQQRANIQGISHLSG 171

```

MSP3.2FL	D5	-----GNNVILPIKQSGENQYTVTSTISGLOKGANGLTGATENITQVQANSETNKP 167
		*** ** : ** : : : * : : : : * : : : : *
MSP3.2FL	3D7	TSHSNSTTTSLNNILGWFGGAPQNGAAEDKKTEYILLEQIKIPSWDRNNIPDENEQV 227
MSP3.2FL	B1	TSHSNSTTTSLNNILGWFGGAPQNGAAEDKKTEYILLEQIKIPSWDRNNIPDENEQV 227
MSP3.2FL	B3	TSHSNSTTTSLNNILGWFGGAPQNGAAEDKKTEYILLEQIKIPSWDRNNIPDENEQV 227
MSP3.2FL	B4	TSHSNSTTTSLNNILGWFGGAPQNGAAEDKKTEYILLEQIKIPSWDRNNIPDENEQV 227
MSP3.2FL	B5	TSHSNSTTTSLNNILGWFGGAPQNGAAEDKKTEYILLEQIKIPSWDRNNIPDENEQV 227
MSP3.2FL	D1	TSHSNSTTTSLNNILGWFGGAPQNGAAEDKKTEYILLEQIKIPSWDRNNIPDENEQV 227
MSP3.2FL	D2	TSHSNSTTTSLNNILGWFGGAPQNGAAEDKKTEYILLEQIKIPSWDRNNIPDENEQV 227
MSP3.2FL	D3	TSHSNSTTTSLNNILGWFGGAPQNGAAEDKKTEYILLEQIKIPSWDRNNIPDENEQV 227
MSP3.2FL	D4	TRG-IHTYSLSLNNILGWFGGAPQNGAAEGKKTEYILLEQIKIPSWDRNNIPDENEQV 230
MSP3.2FL	D5	TPGSKSTTTSLNNILGWFGGAPQNGAAEDKKTEYILLEQIKIPSWDRNNIPDENEQV 227
		* : * : : ***** : ***** : ***** : ***** : ***** : *****
MSP3.2FL	3D7	EDPQEDNKDEDE--ETETENLETEDDNNEIEENEDDIDBESVEEKEEEEEKKEEE 285
MSP3.2FL	B1	EDPQEDNKDEDE--ETETENLETEDDNNEIEENEDDIDBESVEEKEEEEEKKEEE 285
MSP3.2FL	B3	EDPQEDNKDEDE--GTEENLETEDDNNEIEENEDDIDBESVEEKEEEEEKKEEE 285
MSP3.2FL	B4	EDPQEDNKDEDE--ETETENLETEDDNNEIEENEDDIDBESVEEKEEEEEKKEEE 285
MSP3.2FL	B5	EDPQEDNKDEDE--ETETENLETEDDNNEIEENEDDIDBESVEEKEEEEEKKEEE 285
MSP3.2FL	D1	EDPQEDNKDEDE--ETETENLETEDDNNEIEENEDDIDBESVEEKEEEEEKKEEE 285
MSP3.2FL	D2	EDPQEDNKDEDE--ETETENLETEDDNNEIEENEDDIDBESVEEKEEEEEKKEEE 285
MSP3.2FL	D3	EDPQEDNKDEDE--ETETENLETEDDNNEIEENEDDIDBESVEEKEEEEEKKEEE 285
MSP3.2FL	D4	EEPQEDNKDEDEDEETETENLETEDDNNEIEENEDDIDBESVEEKEEEEEKKEEE 280
MSP3.2FL	D5	EDPQEDNKDEDE--ETETENLETEDDNNEIEENEDDIDBESVEEKEEEEEKKEEE 285
		* : ***** ***** : ***** : ***** : ***** : ***** : *****
MSP3.2FL	3D7	KKEEKEEKKPDNEITNEVKEEQYSSPSDINAQNLISNKNKNDETKKTAEINVKT 345
MSP3.2FL	B1	KKEEKEEKKPDNEITNEVKEEQYSSPSDINAQNLISNKNKNDETKKTAEINVKT 345
MSP3.2FL	B3	KKEEKEEKKPDNEITNEVKEEQYSSPSDINAQNLISNKNKNDETKKTAEINVKT 345
MSP3.2FL	B4	KKEEKEEKKPDNEITNEVKEEQYSSPSDINAQNLISNKNKNDETKKTAEINVKT 345
MSP3.2FL	B5	KKEEKEEKKPDNEITNEVKEEQYSSPSDINAQNLISNKNKNDETKKTAEINVKT 345
MSP3.2FL	D1	KKEEKEEKKPDNEITNEVKEEQYSSPSDINAQNLISNKNKNDETKKTAEINVKT 345
MSP3.2FL	D2	KKEEKEEKKPDNEITNEVKEEQYSSPSDINAQNLISNKNKNDETKKTAEINVKT 345
MSP3.2FL	D3	KKEEKEEKKPDNEITNEVKEEQYSSPSDINAQNLISNKNKNDETKKTAEINVKT 345
MSP3.2FL	D4	KKEEKEEKKPDNEITNEVKEEQYSSPSDINAQNLISNKNKNDETKKTAEINVKT 350
MSP3.2FL	D5	KKEEKEEKKPDNEITNEVKEEQYSSPSDINAQNLISNKNKNDETKKTAEINVKT 345
		***** : ***** : ***** : ***** : ***** : ***** : *****

Fig 10 C

Fig 10 A

```

MSP3.2FL 3D7  LFNEKNEIDSTINNLVQEMIHLSNN 371
MSP3.2FL B1  LFNEKNEIDSTINNLVQEMIHLSNN 371
MSP3.2FL B3  LFNEKNEIDSTINNLVQEMIHLSNN 371
MSP3.2FL B4  LFNEKNEIDSTINNLVQEMIHLSNN 371
MSP3.2FL B5  LFNEKNEIDSTINNLVQEMIHLSNN 371
MSP3.2FL D1  LFNEKNEIDSTINNLVQEMIHLSNN 371
MSP3.2FL D2  LFNEKNEIDSTINNLVQEMIHLSNN 371
MSP3.2FL D3  LFNEKNEIDSTINNLVQEMIHLSNN 371
MSP3.2FL D4  LFNEKNGIDSTINNLVQEMIHLSNN 376
MSP3.2FL D5  LFNEKNEIDSTINNLVQEMIHLSNN 371
*****

```

Alineación ClustalW AA secuencias ORF2C (<http://www.spl.it/seq/blast/>) MSP3-3

CLUSTAL W (1.92) alineación de la secuencia múltiple

```

MSP3.3C 3D7  YEKKNENKNSVDSKTSNEKGRPTTYSPIIDGIEFSGGLYFNEKKSTEENKQNVLE 60
MSP3.3C B1  YEKKNKKNNSVDSKTSNEKGRPTTYSPIIDGIEFSGGLYFNEKKSTEENKQNVLE 60
MSP3.3C B2  YEKKNENKNSVDSKTSNEKGRPTTYSPIIDGIEFSGGLYFNEKKSTEENKQNVLE 60
MSP3.3C B5  YEKKNENKNSVDSKTSNEKGRPTTYSPIIDGIEFSGGLYFNEKKSTEENKQNVLE 60
MSP3.3C D1  YEKKNENKNSVDSKTSNEKGRPTTYSPIIDGIEFSGGLYFNEKKSTEENKQNVLE 60
MSP3.3C D2  YEKKNENKNSVDSKTSNEKGRPTTYSPIIDGIEFSGGLYFNEKKSTEENKQNVLE 60
MSP3.3C D4  YEKKNENKNSVDSKTSNEKGRPTTYSPIIDGIEFSGGLYFNEKKSTEENKQNVLE 60
MSP3.3C D5  YEKKNENKNSVDSKTSNEKGRPTTYSPIIDGIEFSGGLYFNEKKSTEENKQNVLE 60
*****

MSP3.3C 3D7  SVNLTSWQKEDI VKENEDVVKDEKDDDEEEKYEENI IKQPEDILDEEVLSEELLEN 120
MSP3.3C B1  SVNLTSWQKEDI VKENEDVVKDEKDDDEEEKYEENI IKQPEDILDEEVLSEELLEN 120
MSP3.3C B2  SVNLTSWQKEDI VKENEDVVKDEKDDDEEEKYEENI IKQPEDILDEEVLSEELLEN 120
MSP3.3C B5  SVNLTSWQKEDI VKENEDVVKDEKDDDEEEKYEENI IKQPEDILDEEVLSEELLEN 120
MSP3.3C D1  SVNLTSWQKEDI VKENEDVVKDEKDDDEEEKYEENI IKQPEDILDEEVLSEELLEN 120
MSP3.3C D2  SVNLTSWQKEDI VKENEDVVKDEKDDDEEEKYEENI IKQPEDILDEEVLSEELLEN 120
MSP3.3C D4  SVNLTSWQKEDI VKENEDVVKDEKDDDEEEKYEENI IKQPEDILDEEVLSEELLEN 120
MSP3.3C D5  SVNLTSWQKEDI VKENEDVVKDEKDDDEEEKYEENI IKQPEDILDEEVLSEELLEN 120
*****

```

MSP3.3C	3D7	ATIRRLKHFMEFFTYN	197
MSP3.3C	B1	ATIRRLKHFMEFFTYN	197
MSP3.3C	B2	ATIRRLKHFMEFFTYN	197
MSP3.3C	B5	ATIRRLKHFMEFFTYN	197
MSP3.3C	D1	ATIRRLKHFMEFFTYN	197
MSP3.3C	D2	ATIRRLKHFMEFFTYN	197
MSP3.3C	D4	ATIRRLKHFMEFFTYN	197
MSP3.3C	D5	ATIRRLKHFMEFFTYN	197

CLUSTAL W (1.82) alineación de la secuencia múltiple

REIEEQQDI	IEDEEELE	NEGEET	KEEDDE	EENK	ETND	TEDT	DOTED	TEDEE	ENKE	KEKEL	120
REIEEQQDI	IEDEEELE	NEGEET	KEEDDE	EENK	ETND	TEOT	DOTED	TEDEE	ENKE	KEKEL	120
REIEEQQDI	IEDEEELE	NEGEET	KEEDDE	EENK	ETND	TEOT	DOTED	TEDEE	ENKE	KEKEL	120

[illegible][illegible]

MSP3.4C	3D7	TEDMTDLFQK	190
MSP3.4C	B1	TEDMTDLFQK	190
MSP3.4C	B4	TEDMTDLFQK	190
MSP3.4C	B5	TEDMTDLFQK	190
MSP3.4C	D1	TEDMTDLFQK	190
MSP3.4C	D2	TEDMTDLFQK	190
MSP3.4C	D4	TEDMTDLFQK	190
MSP3.4C	D5	TEDMTDLFQK	190

Alineación ClustalW AA secuencias ORF6C (www.ebi.ac.uk/cluster/) **MSP3-7**

CLUSTAL W (1.82) alineación de la secuencia múltiple

MSP3.7C	3D7	PEGPRANRNNNNQNTDPYNYHFAWEIGGGAPTYKPENNKNDNILLEHVKITSWDKEDI	60
MSP3.7C	B1	PEGPRANRNNNNQNTDPYNYHFAWEIGGGAPTYKPENNKNDNILLEHVKITSWDKEDI	60
MSP3.7C	B2	PEGPRANRNNNNQNTDPYNYHFAWEIGGGAPTYKPENNKNDNILLEHVKITSWDKEDI	60
MSP3.7C	B3	PEGPRANRNNNNQNTDPYNYHFAWEIGGGAPTYKPENNKNDNILLEHVKITSWDKEDI	60
MSP3.7C	B4	PEGPRANRNNNNQNTDPYNYHFAWEIGGGAPTYKPENNKNDNILLEHVKITSWDKEDI	60
MSP3.7C	B5	PEGPRANRNNNNQNTDPYNYHFAWEIGGGAPTYKPENNKNDNILLEHVKITSWDKEDI	60
MSP3.7C	D1	PEGPRANRNNNNQNTDPYNYHFAWEIGGGAPTYKPENNKNDNILLEHVKITSWDKEDI	60

7.3 10 5

MSP3.7C	D2	PEGPRANNRNNQNTDPYNYHFAWEIGGAPTYKPENNKNDNILLEHVKITSWKEDI	60
MSP3.7C	D5	PEGPRANNRNNQNTDPYNYHFAWEIGGAPTYKPENNKNDNILLEHVKITSWKEDI	60
MSP3.7C	additional	PEGPRANNRNNQNTDPYNYHFAWEIGGAPTYKPENNKNDNILLEHVKITSWKEDI	60

MSP3.7C	3D7	KENEDTKREVQETEDTDETDTEETEDMEDENEIVEDQLOENEDDEDNVNLEDINK	120
MSP3.7C	B1	KENEDTKREVQETEDTDETDTEETEDMEDENEIVEDQLOENEDDEDNVNLEDINK	120
MSP3.7C	B2	KENEDTKREVQETEDTDETDTEETEDMEDENEIVEDQLOENEDDEDNVNLEDINK	120
MSP3.7C	B3	KENEDTKREVQETEDTDETDTEETEDMEDENEIVEDQLOENEDDEDNVNLEDINK	120
MSP3.7C	B4	KENEDTKREVQETEDTDETDTEETEDMEDENEIVEDQLOENEDDEDNVNLEDINK	120
MSP3.7C	B5	KENEDTKREVQETEDTDETDTEETEDMEDENEIVEDQLOENEDDEDNVNLEDINK	120
MSP3.7C	D1	KENEDTKREVQETEDTDETDTEETEDMEDENEIVEDQLOENEDDEDNVNLEDINK	120
MSP3.7C	D2	KENEDTKREVQETEDTDETDTEETEDMEDENEIVEDQLOENEDDEDNVNLEDINK	120
MSP3.7C	D5	KENEDTKREVQETEDTDETDTEETEDMEDENEIVEDQLOENEDDEDNVNLEDINK	120
MSP3.7C	additional	KENEDTKREVQETEDTDETDTEETEDMEDENEIVEDQLOENEDDEDNVNLEDINK	120

MSP3.7C	3D7	TRNDIFEEQIKLDSTQDDKAQKLIISNEYKKTTEEKKSLEDHVNLLFNFLQTNQLDPSLK	180
MSP3.7C	B1	TRNDIFEEQIKLDSTQDDKAQKLIISNEYKKTTEEKKSLEDHVNLLFNFLQTNQLDPSLK	180
MSP3.7C	B2	TRNDIFEEQIKLDSTQDDKAQKLIISNEYKKTTEEKKSLEDHVNLLFNFLQTNQLDPSLK	180
MSP3.7C	B3	TRNDIFEEQIKLDSTQDDKAQKLIISNEYKKTTEEKKSLEDHVNLLFNFLQTNQLDPSLK	180
MSP3.7C	B4	TRNDIFEEQIKLDSTQDDKAQKLIISNEYKKTTEEKKSLEDHVNLLFNFLQTNQLDPSLK	180
MSP3.7C	B5	TRNDIFEEQIKLDSTQDDKAQKLIISNEYKKTTEEKKSLEDHVNLLFNFLQTNQLDPSLK	180
MSP3.7C	D1	TRNDIFEEQIKLDSTQDDKAQKLIISNEYKKTTEEKKSLEDHVNLLFNFLQTNQLDPSLK	180
MSP3.7C	D2	TRNDIFEEQIKLDSTQDDKAQKLIISNEYKKTTEEKKSLEDHVNLLFNFLQTNQLDPSLK	180
MSP3.7C	D5	TRNDIFEEQIKLDSTQDDKAQKLIISNEYKKTTEEKKSLEDHVNLLFNFLQTNQLDPSLK	180
MSP3.7C	additional	TRNDIFEEQIKLDSTQDDKAQKLIISNEYKKTTEEKKSLEDHVNLLFNFLQTNQLDPSLK	180

MSP3.7C	3D7	LENELTFFFLNYY	192
MSP3.7C	B1	LENELTFFFLNYY	192
MSP3.7C	B2	LENELTFFFLNYY	192
MSP3.7C	B3	LENELTFFFLNYY	192
MSP3.7C	B4	LENELTFFFLNYY	192
MSP3.7C	B5	LENELTFFFLNYY	192
MSP3.7C	D1	LENELTFFFLNYY	192
MSP3.7C	D2	LENELTFFFLNYY	192
MSP3.7C	D5	LENELTFFFLNYY	192

Fig 10 H

MSP3.7C additional
LENELTFFLNNY 192

Fig 10 I

Alineación ClustalW AA secuencias ORF7C [\(www.ebi.ac.uk/ClustalW/\)](http://www.ebi.ac.uk/ClustalW/) MSP3-8

CLUSTAL W (1.82) alineación de la secuencia múltiple excluyendo MSP3.8C B2

```

MSP3.8C      3D7      HESNVGSIQEVNQGSVSEESHKTIIDPSKIDDRLELSSGSSSLEQHSKEDVKKGSALELV 60
MSP3.8C      B1      HESNVGSIQEVNQGSVSEESHKTIIDPSKIDDRLELSSGSSSLEQHSKEDVKKGSALELV 60
MSP3.8C      B4      HESNVGSIQEVNQGSVSEESHKTIIDPSKIDDRLELSSGSSSLEQHSKEDVKKGSALELV 60
MSP3.8C      B5      HESNVGSIQEVNQGSVSEESHKTIIDPSKIDDRLELSSGSSSLEQHSKEDVKKGSALELV 60
MSP3.8C      D1      HESNVGSIQEVNQGSVSEESHKTIIDPSKIDDRLELSSGSSSLEQHSKEDVKKGSALELV 60
MSP3.8C      D2      HESNVGSIQEVNQGSVSEESHKTIIDPSKIDDRLELSSGSSSLEQHSKEDVKKGSALELV 60
MSP3.8C      D4      HESNVGSIQEVNQGSVSEESHKTIIDPSKIDDRLELSSGSSSLEQHSKEDVKKGSALELV 60
*****
PLSLSDIEQIANESEDVLEEIEEEINTDGEIEYITEEIKEDIEEETEEDIEEETEETE 120
MSP3.8C      3D7      PLSLSDIEQIANESEDVLEEIEEEINTDGEIEYITEEIKEDIEEETEEDIEEETEETE 120
MSP3.8C      B1      PLSLSDIEQIANESEDVLEEIEEEINTDGEIEYITEEIKEDIEEETEEDIEEETEETE 120
MSP3.8C      B4      PLSLSDIEQIANESEDVLEEIEEEINTDGEIEYITEEIKEDIEEETEEDIEEETEETE 120
MSP3.8C      B5      PLSLSDIEQIANESEDVLEEIEEEINTDGEIEYITEEIKEDIEEETEEDIEEETEETE 120
MSP3.8C      D1      PLSLSDIEQIANESEDVLEEIEEEINTDGEIEYITEEIKEDIEEETEEDIEEETEETE 120
MSP3.8C      D2      PLSLSDIEQIANESEDVLEEIEEEINTDGEIEYITEEIKEDIEEETEEDIEEETEETE 120
MSP3.8C      D4      PLSLSDIEQIANESEDVLEEIEEEINTDGEIEYITEEIKEDIEEETEEDIEEETEETE 120
*****
EETEEDAD---EETVKEIEDKPEQEIKNKSLEEKQIDKNTDTSEKKGFNNSKDEKARN 176
MSP3.8C      3D7      EETEEDAD---EETVKEIEDKPEQEIKNKSLEEKQIDKNTDTSEKKGFNNSKDEKARN 176
MSP3.8C      B1      EETEEDAD---EETVKEIEDKPEQEIKNKSLEEKQIDKNTDTSEKKGFNNSKDEKARN 180
MSP3.8C      B4      EETEEDAD---EETVKEIEDKPEQEIKNKSLEEKQIDKNTDTSEKKGFNNSKDEKARN 176
MSP3.8C      B5      EETEEDAD---EETVKEIEDKPEQEIKNKSLEEKQIDKNTDTSEKKGFNNSKDEKARN 180
MSP3.8C      D1      EETEEDAD---EETVKEIEDKPEQEIKNKSLEEKQIDKNTDTSEKKGFNNSKDEKARN 180
MSP3.8C      D2      EETEEDAD---EETVKEIEDKPEQEIKNKSLEEKQIDKNTDTSEKKGFNNSKDEKARN 172
MSP3.8C      D4      EETEEDAD---EETVKEIEDKPEQEIKNKSLEEKQIDKNTDTSEKKGFNNSKDEKARN 176
*****
LISKNYKNYNELDKNVHTLVNSIISLLEEGNGSDSTLNSLSKDIITNLFKN 226
MSP3.8C      3D7      LISKNYKNYNELDKNVHTLVNSIISLLEEGNGSDSTLNSLSKDIITNLFKN 226
MSP3.8C      B1      LISKNYKNYNELDKNVHTLVNSIISLLEEGNGSDSTLNSLSKDIITNLFKN 230
MSP3.8C      B4      LISKNYKNYNELDKNVHTLVNSIISLLEEGNGSDSTLNSLSKDIITNLFKN 226
MSP3.8C      B5      LISKNYKNYNELDKNVHTLVNSIISLLEEGNGSDSTLNSLSKDIITNLFKN 230
MSP3.8C      D1      LISKNYKNYNELDKNVHTLVNSIISLLEEGNGSDSTLNSLSKDIITNLFKN 230
MSP3.8C      D2      LISKNYKNYNELDKNVHTLVNSIISLLEEGNGSDSTLNSLSKDIITNLFKN 222
MSP3.8C      D4      LISKNYKNYNELDKNVHTLVNSIISLLEEGNGSDSTLNSLSKDIITNLFKN 226

```


Fig 11B

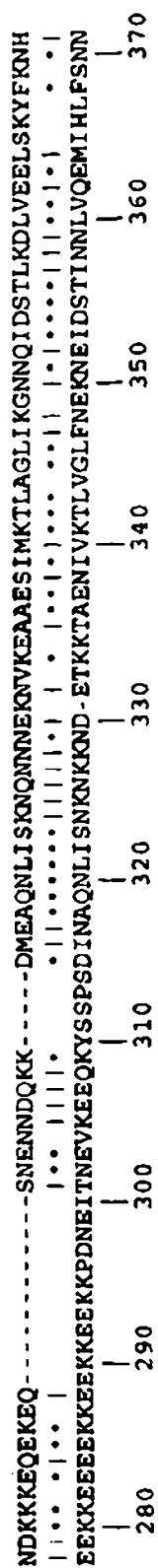


Fig. 11 D

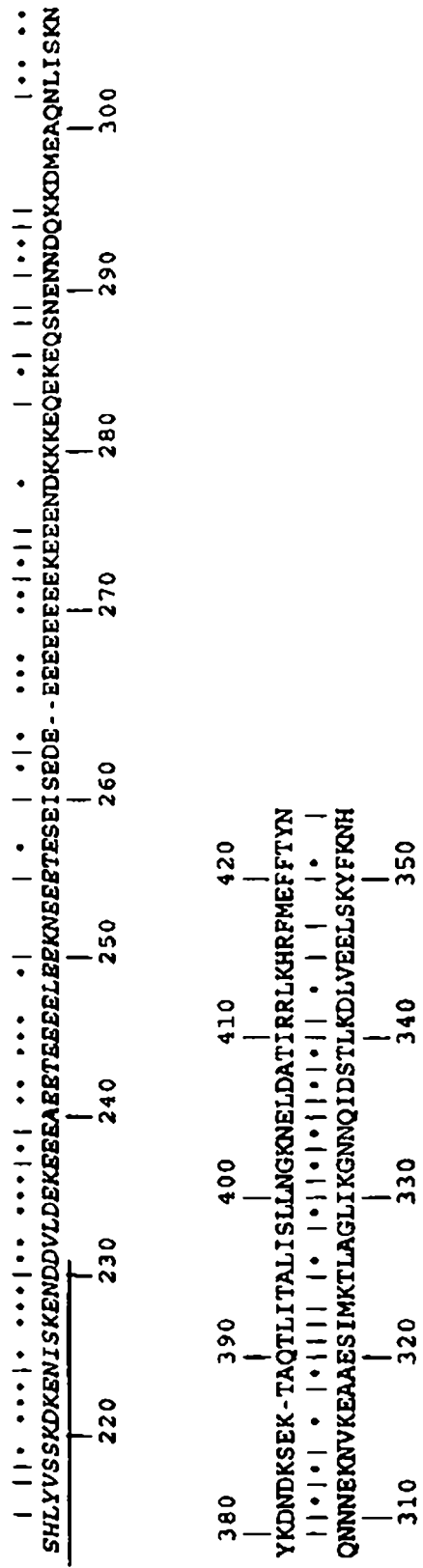


Fig. 11 F

NVLESVNLTSWKEDI VKNEDV. ---KDEKDEDDDEE---EEKYENBIIKQPEDILDEEEVLEEEI LEENKNDVTDTSOLEKKNI PD---
 1... ..
 YLLEQIKIPSWDRNNI PDENEQVTPQEDNKNDEDESEETETENLETEDDNNEEIEENEEDIDEE SVEEKEEKEEKEEKEEKKPDNEI
 210 220 230 240 250 260 270 280 290
 300

[illegible]

٢٦ . ١١ ٦

MSP3.4 Vs MSP3.1:

Seq 1008 MKKIYSIFFSLFILNLHIYIKNIKCNLDLYNDSNLRNGLNNSLDLTNGLNKNSFIDSKIEEHENKSYQNKDNNISIVGQDVPITSSKIIN
 Seq 1009 2 MKSPINITLSLFLHLHIYIYNVASKEIVKYNLNLRLN-----NSQIENEEN-----
 10 20 30 40 50 60 70 80 90

100 110 120 130 140 150 160 170 180 190
 ANDLEGNISDDTKGLSVTNSGFDGSAFGGGLPFGSGYSPLOGNHNKCPDENFCGIGKNVLSCPPKONSTGRGWDWISVAVKESSTTNKGVLPVPRRTK
 110 120 130 140 150 160 170 180 190
 -----VNTT-----ITGNDFS-----GGFLWPGYT-----EELKAKKASEDAEKAANDAE---NASKEAEAAKEAVN-----
 60 70 80 90 100

200 210 220 230 240 250 260 270 280
 290 LCLRNINKVWHRIKDEKNFKEEFVKVALGESNALMKHYKEKNLALTAIKYGFSDMGDIINGTDLIDYQITKNINRALDKILRNETSNDKIKKRVDM
 110 120
 --LKESDKSYTKAKE-----ACTAASKAKKAVETALKAKODAENS-----
 130 140

300 310 320 330 340 350 360 370 380
 WEANKSAFWDAFMCGYKVHIGNKPCPEHDNMRIPOYLRFHFWGTYVCSEYKNKFEDVIKLCNIQQFTNQDDSQLLEISKDKCKEALXHYEWN
 390 400

-----SKADSI STKT KEAENAK
| 150 160

390 |
 RRRPEWKQGDKFEKEKSKYEDTKSITAEKYLKEICSECDCYKDLDTNPFKEFKDNNVLLKAVIDNKKNQDSLTTSLSLTSINSVRDSSNLDQRGNI
 400 |
 |
 410 |
 420 |
 430 |
 440 |
 450 |
 460 |
 470 |
 480 |

490 | TTSGNSHRATVWQQVDQTNRLDNVSVTQGNMNNYNNLRLGCGSALPGTNIITEEKYSLELIKLTSKDEEDI I KHNEDVREIEEQQEDIEDE
 500 |
 510 |
 520 | b-like |
 530 |
 540 |
 550 | c/d-like |
 560 |
 570 |
 580 |

EELENEGEETKBEDEEENETNDTDDTDIEDENKEKELSNQQQSEKKSISKVDEDSYRILSVSYKDNNVEKNVAESIVVKLFLSFLNDDNN
.....
EELEB-----KNEETEISEDEEEEEEEKS--BENDKKQEKEQSNNNDOKKDMEAAQLISKNQNNEKNVYKEAAESIMKTLAGLIKGNNO

069 089

Fig 11 I

LETIFKGLTEDMTDLFQK-
IDSTLKOLVEELSKYFKNH

||
NS-----ETKNP-----TSHNS-----
|
160 170

380 390 400 410 420 430 440 450 460 470
EALKHVEWVRRRPEWKGCDFEKEKSKYEDTKSITAERYLKEICSECDCYKOLONTFEFKDNVTLLKAVIDNKKQDLSLTSLSTSINSVR
.....
TTSLN-----
180

Fig 11 K

480 490 500 510 520 530 540 550 560
DSSNLDQRGNITTSQGNSHRATVVQQVDQTNRLDNVNSVTQRGNNNNNLRLGSGALP--GTNIIITEEK---YSLELIKLTSKDEEDIKHNED
.....
NNILGWFEFGGA-PONGA---AEDKKTEYLLLEQIKIPSWDRNNIPDENEQ
190 200 210 220

570 580 590 600 610 620 630 640 650
VREEIEEQQEDI-BEDEEELENEGE--ETKEEDDBEQNETNDTDD--TEDTEDI EEENKEKELSNQQQSE-KKS---ISK-V-DEDSYRILS--
.....
V---IEDPQEDNKDEDEDE-ETETENLETEDDNNEETEE-NEEDDIDEESVEEKEE-EEEEKKEEKEEKKPDNEITNEVKKEEQKYSSPSDI
230 240 250 260 270 280 290 300 310

Fig 11 L

-----VSYKO--NNEVKNVAESIVKKLFLSFLNDNNLETIFKGLTDMTDLF-QK
 .
 NAQNLSNKKKNDETKKTAENIVKTLVGLFNEKNEIDSTINNLVQEMIHLFSNN

Fig. 11

MSP3.7 V8 MSP3.1 :

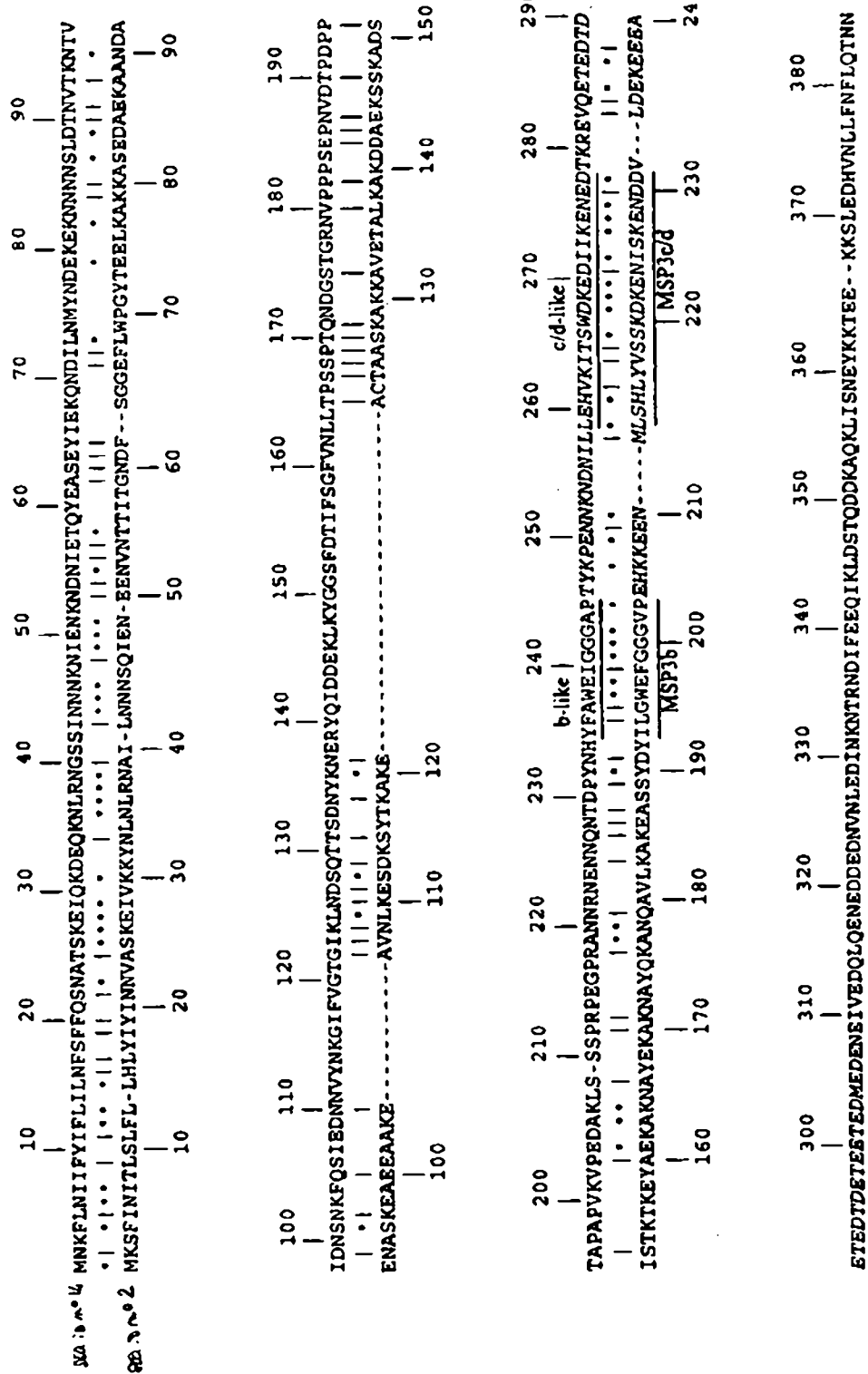
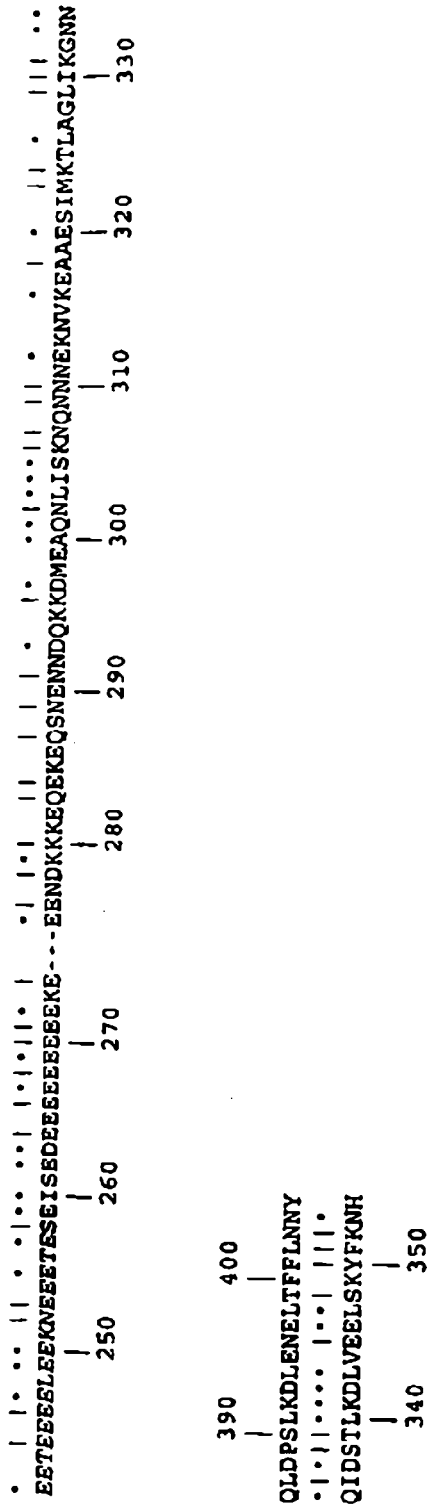


Fig 11 N



MSP3.7 Vs MSP3.2:

10 20 30 40 50 60 70 80 90
 MNKFLNIIFYIFLILNFSSFFQSNATSKIEIQKDEQKQNLNRGSSINNNKNENKNDNIETQYEASEYIEKQNDILNMYNDEKEKQNNNSLDTNVTQKTV

 MNKIYNITF-LFILNLNLYINENNFIENELINEKHNLRGSMYNDKILSK--NEVDTNIESNE-----NSIHESGHKIDGEEVLKANV
 10 20 30 40 50 60 70 80

100 110 120 130 140 150 160 170 180 190
 IDNSNKFQSIEDNNVYNKGI FVGIGIKLNDSSQTTSDNYKNERYQIDDEKLKYGGSFDTIFSGFVNLLTPSSPTQNDGSTGRNVPPPPSEPNVDTPDPP

 DDITYKKKNVDSEI----PFGYDIQ-----ATYQFPSTS---GG-----NNVPL-----PIKQSGENQYTVTTSISGIQKGANGLT
 90 100 110 120 130 140

0 = 0

200 210 220 230 240 250 260 270 280
 TAPAPVKVPEDAKLSSSPRPEGPRANNRNNQNTDPYNHYPaweIGGAPTYKPENNKNDNILLEHVKITSWDKEDIKENEDTKREVQETEDTDE

 GATENITQVVQAN-----SETNKNPTSHSNSTTTSLNNNILGWEEFGGAPONGAAEDKKTEYLLEQIKIPSWDRNNIPDENEQVIEDPQEDNKDED
 150 160 170 180 190 200 210 220 230

300 310 320 330 340 350 360
 TQDTEETEEDMED-----ENEIVEDQLQENEDDEDNNVNLEDINKNTRNDI-----FEEQIKLDSTQDDKAQKLISNEYKKTEE-KKS

Fig 11 p

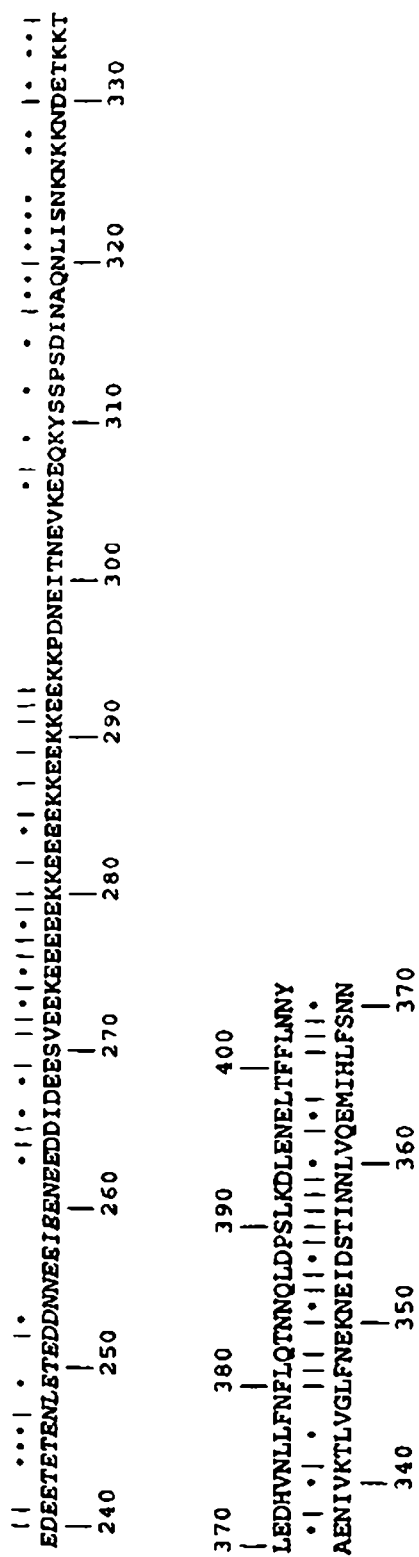


Fig. 11 Q

MSP3.8 Vs MSP3.1:

α/6 MIYILSVFYIFFLHIDIYVNIYSTCFVWNEGPNLRNNIINDDELKGKAYNNTIDANNQNIENYKNLKHNVNSSHISKFSDIHQEDKGDNENSHD

 α/2 MKSFNITLSLFLHLYIYN-----NVASKEIVK-----KYNLNLRNA-----ILNNSQIENEENVN
 10 20 30 40 50 60 70 80 90
 10 20 30 40 50

100 110 120 130 140 150 160 170 180 190
 IKFEEKKNINKSLDAESNYGINEISITGNDSDNSNQNIIFPDGSELAGIPRSIYITINLGFNKCPTTEEICKDFSNLPQCRKNVHERNNWLGSSVKV

 T-----TITGND-----FSGGEFL-----WPGYT-----
 60 70

200 210 220 230 240 250 260 270 280
 290 FSSDNKGVLPVPPRRQSLCLRITLQDFRTKKKKEGDFEKFIYSASSEARKLRTIHNNNLEKAKHAQAIRYSFADIGNIIRGDDMDTPTSKETITYLEK

 -----BELKAKKASEDA-----EKAA-----
 80

300 310 320 330 340 350 360 370 380
 VLKIYNENNDKPKDAKKWWTENRHHVWEAMMCGYQSAQKDNQCTGYGNIDDIIPQFLRWPFREWGTYVCESEKQNMNTLKAVCFPKQPRTEANPALTVH

[illegible]

FG 11 R
 490 500 510 520 530 540 550 560 570 580
 | | | | | | | | | |
 GQITLPDPSLKQTTQEQNPVETPVTTAVINEHQGTPEPNKGDNNRERENHESNVCSIQEVNQGSVSEESHKTTIDPSKIDDRLELSSGSSSLEQH
 | | | | | | | | | |

 -----ETALKAKDDAEKSSKADSI STKT-----KEYAEKAKNAYEKAKNAYQKANQAVL-----KAKEASSYDYILGWFEFGGVPEHK
 | | | | | | | | | |
 140 150 160 170 180 190 200

SKKEDVKKGCALVPLSLSDIEQIANESDVLRIIRHFRINTDGSIEYITEEIKEDIFFETTEDIESSETEETEETEEADEETTVKEIDKPQEI
 .|||
 KEENM-----LSHLVSSKKKENISKENDVDLDEKBSA-----EETEEEELEKNNEETESISEDEEEE--BEENEEND

Fig 11 S

680 |
 690 |
 700 |
 710 |
 720 |
 730 |
 740 |
 750 |
 760 |
 770 |
 780 |
 790 |
 800 |
 810 |
 820 |
 830 |
 840 |
 850 |
 860 |
 870 |
 880 |
 890 |
 900 |
 910 |
 920 |
 930 |
 940 |
 950 |
 960 |
 970 |
 980 |
 990 |
 1000 |
 1010 |
 1020 |
 1030 |
 1040 |
 1050 |
 1060 |
 1070 |
 1080 |
 1090 |
 1100 |
 1110 |
 1120 |
 1130 |
 1140 |
 1150 |
 1160 |
 1170 |
 1180 |
 1190 |
 1200 |
 1210 |
 1220 |
 1230 |
 1240 |
 1250 |
 1260 |
 1270 |
 1280 |
 1290 |
 1300 |
 1310 |
 1320 |
 1330 |
 1340 |
 1350 |
 1360 |
 1370 |
 1380 |
 1390 |
 1400 |
 1410 |
 1420 |
 1430 |
 1440 |
 1450 |
 1460 |
 1470 |
 1480 |
 1490 |
 1500 |
 1510 |
 1520 |
 1530 |
 1540 |
 1550 |
 1560 |
 1570 |
 1580 |
 1590 |
 1600 |
 1610 |
 1620 |
 1630 |
 1640 |
 1650 |
 1660 |
 1670 |
 1680 |
 1690 |
 1700 |
 1710 |
 1720 |
 1730 |
 1740 |
 1750 |
 1760 |
 1770 |
 1780 |
 1790 |
 1800 |
 1810 |
 1820 |
 1830 |
 1840 |
 1850 |
 1860 |
 1870 |
 1880 |
 1890 |
 1900 |
 1910 |
 1920 |
 1930 |
 1940 |
 1950 |
 1960 |
 1970 |
 1980 |
 1990 |
 2000 |
 2010 |
 2020 |
 2030 |
 2040 |
 2050 |
 2060 |
 2070 |
 2080 |
 2090 |
 2100 |
 2110 |
 2120 |
 2130 |
 2140 |
 2150 |
 2160 |
 2170 |
 2180 |
 2190 |
 2200 |
 2210 |
 2220 |
 2230 |
 2240 |
 2250 |
 2260 |
 2270 |
 2280 |
 2290 |
 2300 |
 2310 |
 2320 |
 2330 |
 2340 |
 2350 |
 2360 |
 2370 |
 2380 |
 2390 |
 2400 |
 2410 |
 2420 |
 2430 |
 2440 |
 2450 |
 2460 |
 2470 |
 2480 |
 2490 |
 2500 |
 2510 |
 2520 |
 2530 |
 2540 |
 2550 |
 2560 |
 2570 |
 2580 |
 2590 |
 2600 |
 2610 |
 2620 |
 2630 |
 2640 |
 2650 |
 2660 |
 2670 |
 2680 |
 2690 |
 2700 |
 2710 |
 2720 |
 2730 |
 2740 |
 2750 |
 2760 |
 2770 |
 2780 |
 2790 |
 2800 |
 2810 |
 2820 |
 2830 |
 2840 |
 2850 |
 2860 |
 2870 |
 2880 |
 2890 |
 2900 |
 2910 |
 2920 |
 2930 |
 2940 |
 2950 |
 2960 |
 2970 |
 2980 |
 2990 |
 3000 |
 3010 |
 3020 |
 3030 |
 3040 |
 3050 |
 3060 |
 3070 |
 3080 |
 3090 |
 3100 |
 3110 |
 3120 |
 3130 |
 3140 |
 3150 |
 3160 |
 3170 |
 3180 |
 3190 |
 3200 |
 3210 |
 3220 |
 3230 |
 3240 |
 3250 |
 3260 |
 3270 |
 3280 |
 3290 |
 3300 |
 3310 |
 3320 |
 3330 |
 3340 |
 3350 |
 3360 |
 3370 |
 3380 |
 3390 |
 3400 |
 3410 |
 3420 |
 3430 |
 3440 |
 3450 |
 3460 |
 3470 |
 3480 |
 3490 |
 3500 |
 3510 |
 3520 |
 3530 |
 3540 |
 3550 |
 3560 |
 3570 |
 3580 |
 3590 |
 3600 |
 3610 |
 3620 |
 3630 |
 3640 |
 3650 |
 3660 |
 3670 |
 3680 |
 3690 |
 3700 |
 3710 |
 3720 |
 3730 |
 3740 |
 3750 |
 3760 |
 3770 |
 3780 |
 3790 |
 3800 |
 3810 |
 3820 |
 3830 |
 3840 |
 3850 |
 3860 |
 3870 |
 3880 |
 3890 |
 3900 |
 3910 |
 3920 |
 3930 |
 3940 |
 3950 |
 3960 |
 3970 |
 3980 |
 3990 |
 4000 |
 4010 |
 4020 |
 4030 |
 4040 |
 4050 |
 4060 |
 4070 |
 4080 |
 4090 |
 4100 |
 4110 |
 4120 |
 4130 |
 4140 |
 4150 |
 4160 |
 4170 |
 4180 |
 4190 |
 4200 |
 4210 |
 4220 |
 4230 |
 4240 |
 4250 |
 4260 |
 4270 |
 4280 |
 4290 |
 4300 |
 4310 |
 4320 |
 4330 |
 4340 |
 4350 |
 4360 |
 4370 |
 4380 |
 4390 |
 4400 |
 4410 |
 4420 |
 4430 |
 4440 |
 4450 |
 4460 |
 4470 |
 4480 |
 4490 |
 4500 |
 4510 |
 4520 |
 4530 |
 4540 |
 4550 |
 4560 |
 4570 |
 4580 |
 4590 |
 4600 |
 4610 |
 4620 |
 4630 |
 4640 |
 4650 |
 4660 |
 4670 |
 4680 |
 4690 |
 4700 |
 4710 |
 4720 |
 4730 |
 4740 |
 4750 |
 4760 |
 4770 |
 4780 |
 4790 |
 4800 |
 4810 |
 4820 |
 4830 |
 4840 |
 4850 |
 4860 |
 4870 |
 4880 |
 4890 |
 4900 |
 4910 |
 4920 |
 4930 |
 4940 |
 4950 |
 4960 |
 4970 |
 4980 |
 4990 |
 5000 |
 5010 |
 5020 |
 5030 |
 5040 |
 5050 |
 5060 |
 5070 |
 5080 |
 5090 |
 5100 |
 5110 |
 5120 |
 5130 |
 5140 |
 5150 |
 5160 |
 5170 |
 5180 |
 5190 |
 5200 |
 5210 |
 5220 |
 5230 |
 5240 |
 5250 |
 5260 |
 5270 |
 5280 |
 5290 |
 5300 |
 5310 |
 5320 |
 5330 |
 5340 |
 5350 |
 5360 |
 5370 |
 5380 |
 5390 |
 5400 |
 5410 |
 5420 |
 5430 |
 5440 |
 5450 |
 5460 |
 5470 |
 5480 |
 5490 |
 5500 |
 5510 |
 5520 |
 5530 |
 5540 |
 5550 |
 5560 |
 5570 |
 5580 |
 5590 |
 5600 |
 5610 |
 5620 |
 5630 |
 5640 |
 5650 |
 5660 |
 5670 |
 5680 |
 5690 |
 5700 |
 5710 |
 5720 |
 5730 |
 5740 |
 5750 |
 5760 |
 5770 |
 5780 |
 5790 |
 5800 |
 5810 |
 5820 |
 5830 |
 5840 |
 5850 |
 5860 |
 5870 |
 5880 |
 5890 |
 5900 |
 5910 |
 5920 |
 5930 |
 5940 |
 5950 |
 5960 |
 5970 |
 5980 |
 5990 |
 6000 |
 6010 |
 6020 |
 6030 |
 6040 |
 6050 |
 6060 |
 6070 |
 6080 |
 6090 |
 6100 |
 6110 |
 6120 |
 6130 |
 6140 |
 6150 |
 6160 |
 6170 |
 6180 |
 6190 |
 6200 |
 6210 |
 6220 |
 6230 |
 6240 |
 6250 |
 6260 |
 6270 |
 6280 |
 6290 |
 6300 |
 6310 |
 6320 |
 6330 |
 6340 |
 6350 |
 6360 |
 6370 |
 6380 |
 6390 |
 6400 |
 6410 |
 6420 |
 6430 |
 6440 |
 6450 |
 6460 |
 6470 |
 6480 |
 6490 |
 6500 |
 6510 |
 6520 |
 6530 |
 6540 |
 6550 |
 6560 |
 6570 |
 6580 |
 6590 |
 6600 |
 6610 |
 6620 |
 6630 |
 6640 |
 6650 |
 6660 |
 6670 |
 6680 |
 6690 |
 6700 |
 6710 |
 6720 |
 6730 |
 6740 |
 6750 |
 6760 |
 6770 |
 6780 |
 6790 |
 6800 |
 6810 |
 6820 |
 6830 |
 6840 |
 6850 |
 6860 |
 6870 |
 6880 |
 6890 |
 6900 |
 6910 |
 6920 |
 6930 |
 6940 |
 6950 |
 6960 |
 6970 |
 6980 |
 6990 |
 7000 |
 7010 |
 7020 |
 7030 |
 7040 |
 7050 |
 7060 |
 7070 |
 7080 |
 7090 |
 7100 |
 7110 |
 7120 |
 7130 |
 7140 |
 7150 |
 7160 |
 7170 |
 7180 |
 7190 |
 7200 |
 7210 |
 7220 |
 7230 |
 7240 |
 7250 |
 7260 |
 7270 |
 7280 |
 7290 |
 7300 |
 7310 |
 7320 |
 7330 |
 7340 |
 7350 |
 7360 |
 7370 |
 7380 |
 7390 |
 7400 |
 7410 |
 7420 |
 7430 |
 7440 |
 7450 |
 7460 |
 7470 |
 7480 |
 7490 |
 7500 |
 7510 |
 7520 |
 7530 |
 7540 |
 7550 |
 7560 |
 7570 |
 7580 |
 7590 |
 7600 |
 7610 |
 7620 |
 7630 |
 7640 |
 7650 |
 7660 |
 7670 |
 7680 |
 7690 |
 7700 |
 7710 |
 7720 |
 7730 |
 7740 |
 7750 |
 7760 |
 7770 |
 7780 |
 7790 |
 7800 |
 7810 |
 7820 |
 7830 |
 7840 |
 7850 |
 7860 |
 7870 |
 7880 |
 7890 |
 7900 |
 7910 |
 7920 |
 7930 |
 7940 |
 7950 |
 7960 |
 7970 |
 7980 |
 7990 |
 8000 |
 8010 |
 8020 |
 8030 |
 8040 |
 8050 |
 8060 |
 8070 |
 8080 |
 8090 |
 8100 |
 8110 |
 8120 |
 8130 |
 8140 |
 8150 |
 8160 |
 8170 |
 8180 |
 8190 |
 8200 |
 8210 |
 8220 |
 8230 |
 8240 |
 8250 |
 8260 |
 8270 |
 8280 |
 8290 |
 8300 |
 8310 |
 8320 |
 8330 |
 8340 |
 8350 |
 8360 |
 8370 |
 8380 |
 8390 |
 8400 |
 8410 |
 8420 |
 8430 |
 8440 |
 8450 |
 8460 |
 8470 |
 8480 |
 8490 |
 8500 |
 8510 |
 8520 |
 8530 |
 8540 |
 8550 |
 8560 |
 8570 |
 8580 |
 8590 |
 8600 |
 8610 |
 8620 |
 8630 |
 8640 |
 8650 |
 8660 |
 8670 |
 8680 |
 8690 |
 8700 |
 8710 |
 8720 |
 8730 |
 8740 |
 8750 |
 8760 |
 8770 |
 8780 |
 8790 |
 8800 |
 8810 |
 8820 |
 8830 |
 8840 |
 8850 |
 8860 |
 8870 |
 8880 |
 8890 |
 8900 |
 8910 |
 8920 |
 8930 |
 8940 |
 8950 |
 8960 |
 8970 |
 8980 |
 8990 |
 9000 |
 9010 |
 9020 |
 9030 |
 9040 |
 9050 |
 9060 |
 9070 |
 9080 |
 9090 |
 9100 |
 9110 |
 9120 |
 9130 |
 9140 |
 9150 |
 9160 |
 9170 |
 9180 |
 9190 |
 9200 |
 9210 |
 9220 |
 9230 |
 9240 |
 9250 |
 9260 |
 9270 |
 9280 |
 9290 |
 9300 |
 9310 |
 9320 |
 9330 |
 9340 |
 9350 |
 9360 |
 9370 |
 9380 |
 9390 |
 9400 |
 9410 |
 9420 |
 9430 |
 9440 |
 9450 |
 9460 |
 9470 |
 9480 |
 9490 |
 9500 |
 9510 |
 9520 |
 9530 |
 9540 |
 9550 |
 9560 |
 9570 |
 9580 |
 9590 |
 9600 |
 9610 |
 9620 |
 9630 |
 9640 |
 9650 |
 9660 |
 9670 |
 9680 |
 9690 |
 9700 |
 9710 |
 9720 |
 9730 |
 9740 |
 9750 |
 9760 |
 9770 |
 9780 |
 9790 |
 9800 |
 9810 |
 9820 |
 9830 |
 9840 |
 9850 |
 9860 |
 9870 |
 9880 |
 9890 |
 9900 |
 9910 |
 9920 |
 9930 |
 9940 |
 9950 |
 9960 |
 9970 |
 9980 |
 9990 |
 10000 |
 10010 |
 10020 |
 10030 |
 10040 |
 10050 |
 10060 |
 10070 |
 10080 |
 10090 |
 10100 |
 10110 |
 10120 |
 10130 |
 10140 |
 10150 |
 10160 |
 10170 |
 10180 |
 10190 |
 10200 |
 10210 |
 10220 |
 10230 |
 10240 |
 10250 |
 10260 |
 10270 |
 10280 |
 10290 |
 10300 |
 10310 |
 10320 |
 10330 |
 10340 |
 10350 |
 10360 |
 10370 |
 10380 |
 10390 |
 10400 |
 10410 |
 10420 |
 10430 |
 10440 |
 10450 |
 10460 |
 10470 |
 10480 |
 10490 |
 10500 |
 10510 |
 10520 |
 10530 |
 10540 |
 10550 |
 10560 |
 10570 |
 10580 |
 10590 |
 10600 |
 10610 |
 10620 |
 10630 |
 10640 |
 10650 |
 10660 |
 10670 |
 10680 |
 10690 |
 10700 |
 10710 |
 10720 |
 10730 |
 10740 |
 10750 |
 10760 |
 10770 |
 10780 |
 10790 |
 10800 |
 10810 |
 10820 |
 10830 |
 10840 |
 10850 |
 10860 |
 10870 |
 10880 |
 10890 |
 10900 |
 10910 |
 10920 |
 10930 |
 10940 |
 10950 |
 10960 |
 10970 |
 10980 |
 10990 |
 11000 |
 11010 |
 11020 |
 11030 |
 11040 |
 11050 |
 11060 |
 11070 |
 11080 |
 11090 |
 11100 |
 11110 |
 11120 |
 11130 |
 11140 |
 11150 |
 11160 |
 11170 |
 11180 |
 11190 |
 11200 |
 11210 |
 11220 |
 11230 |
 11240 |
 11250 |
 11260 |
 11270 |
 11280 |
 11290 |
 11300 |
 11310 |
 11320 |
 11330 |
 11340 |
 11350 |
 11360 |
 11370 |
 11380 |
 11390 |
 11400 |
 11410 |
 11420 |
 11430 |
 11440 |
 11450 |
 11460 |
 11470 |
 11480 |
 11490 |
 11500 |
 11510 |
 11520 |
 11530 |
 11540 |
 11550 |
 11560 |
 11570 |
 11580 |
 11590 |
 11600 |
 11610 |
 11620 |
 11630 |
 11640 |
 11650 |
 11660 |
 11670 |
 11680 |
 11690 |

MSP3.8 V8 MSP3.2:

10 20 30 40 50 60 70 80 90
 MIYILSIVFYIFFLHIDIYVNIYSTCFVWNEGNPLRNNIINDDE--LKGKAYNNTIDANNQIEYNKLNKNNVNSSHISKFSIDIMDQEDKGDNENS

 MNKIYNITFLILLNLYINENNFIRNELINEKUNLNRNGSMYNDKILSKNEVDNIESNENSIH---ESCHKIDGEEVLK-----ANV
 10 20 30 40 50 60 70 80

100 110 120 130 140 150 160 170 180 190
 HDIKFEEKKNINKSLDAESNYGINEISITGNDSDNSDNQNIIFPDGSELAGGIPRSIYTIINLGENKCPTEEICKDFSNLPQCRKNVHERNNWLGSSV

 DDITYK-KKNVDDS-----EIPFSG-----YDIQATYQ-----
 90 100

200 210 220 230 240 250 260 270 280
 KNFSSDNKGVLVPPRRQSLCLRITLQDPRTKKKKEGDFEKFIYSASSEARKLRTHNNNLEKAHQAIRYSFADIGNIIRGDDMDTPTSKETITYL

 --FPSTSGGNVIP-----LPI-----KQSGE-----NQYTVTSISGIQKGANGLTGAT-----
 110 120 130 140 150

290 300 310 320 330 340 350 360 370 380
 EKVULKIYNENNDKPKDAKKWWTENRHHVWEAMMCGYQSAQKNQCTGYGNIDDIPOFLRWFRWGTYYVCESEKNNMNLKAVCFPKQPRTEANPALT

2
 11 T

ENITQVVQANSETNKNP-----TSHSNSTTTSLN-----
| 160 | 170

390 |
400 |
410 |
420 |
430 |
440 |
450 |
460 |
470 |
480 |

VHENEMCSSTLKKYEEWYNKRKTEWTEQSIKYNNDKINYTDIKTILSPSEYLI EKCP ECKTKKNLQDV FELTFD GKALLEKLKKEESPVSNSVNALP

Fig 11 v

580
490
500
510
520
530
540
550
560
570
EPGQITLDPDSLKQTTQQENQPVVETPVTTAVINEHQGTPEPNKGDNNRERENHESNVGSIQEVNQSVSEESHKTIIDPSKIDDRLELSSGSSSLE
NNILGWEFGGAPQ
180 190

OHSKEDVKKGCALVLPLSLSDIEQIANESEDVLEEEIEEINTDGEIYITTEEIKEDIEETEEDEIEETEEETEETEEADEETVKIEDKPEQ
| . . . | . . . | . . . | . . . | . . . | . . . | . . . | . . . | . . . | . . . | . . . | . . . | . . .
NGAAAEKKTEYLLEQIKIPSWDRNNIPDENEQVIEDPQEDNKOSEDEETETENL--ETEDDNNEEIEENEDDI DEESVVEKEEEEEEEKKEEKKE

Fig 11 V

[illegible]

Motivos del tipo MSP3b

		10
		•
seq.4/MSP3	IL--GWEFGGGVP	
seq.5/MSP6	IL--GWEFGGGAP	
seq.3	YF--AWEIGGGAP	
seq.1 c-term	-LER-GLGSGALP	
seq.1 n-term	--DDGSAFGGGLP	
seq.8	ILDDGIEFSGGLYF	
seq.7 n-term	--PDGSELAGGIP	
seq.7 c-term	---RLELSSGSSLE	

MSP3b:

codones: ATT TTA GGT TGG GAA TTT GGA GGA GGC GTT CCA
a.a. I L G W E F G G G V P

MSP6 equivalente

codones: ATA CTT GGA TGG GAA TTT GGA GGA GGT GCT CCT
a.a. I L G W E F G G G A P

Fig 12

Fig 13

Motivo del tipo MSP3 c/d s	
	10 ↓ • • •
seq.1	LELIKLTSKDEEDI IKHNE
seq.3	LEHVKITSWDKEDI IKENE
seq.8	LESVNLTSWDKEDIVKENE
seq.4/MSP3	LSHLYVSSKDKENISKEND
seq.5/MSP6	LEQIKIPSWDRNNIPDENE
seq.7	LELVPLSLSDIEQIANESE

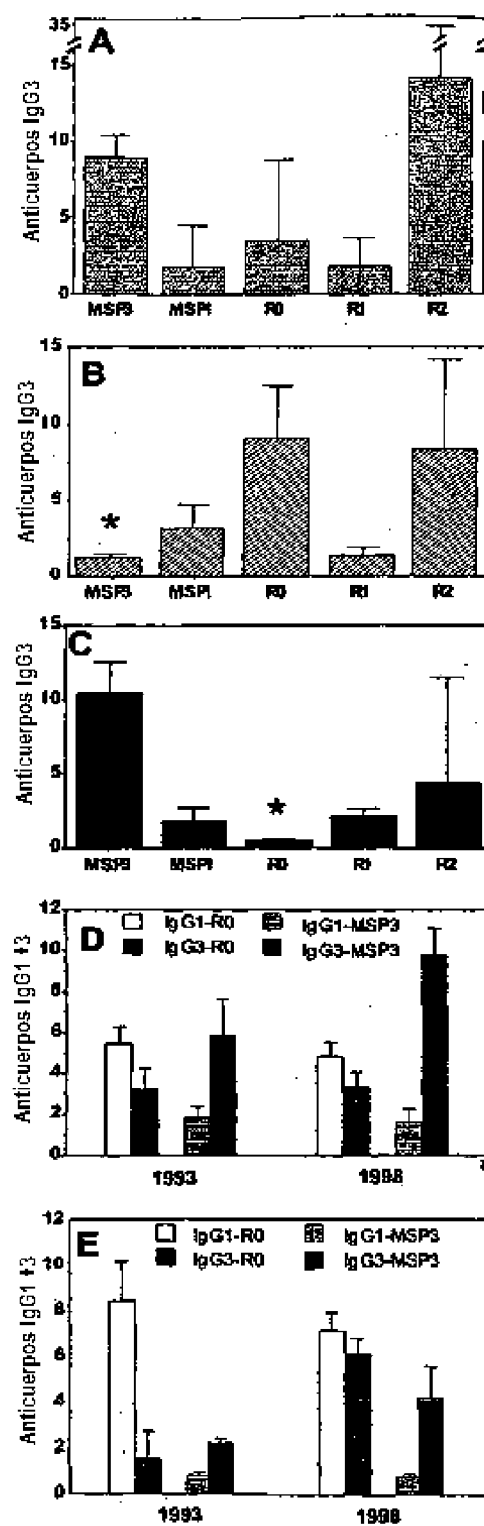


Fig. 14

Fig. 15

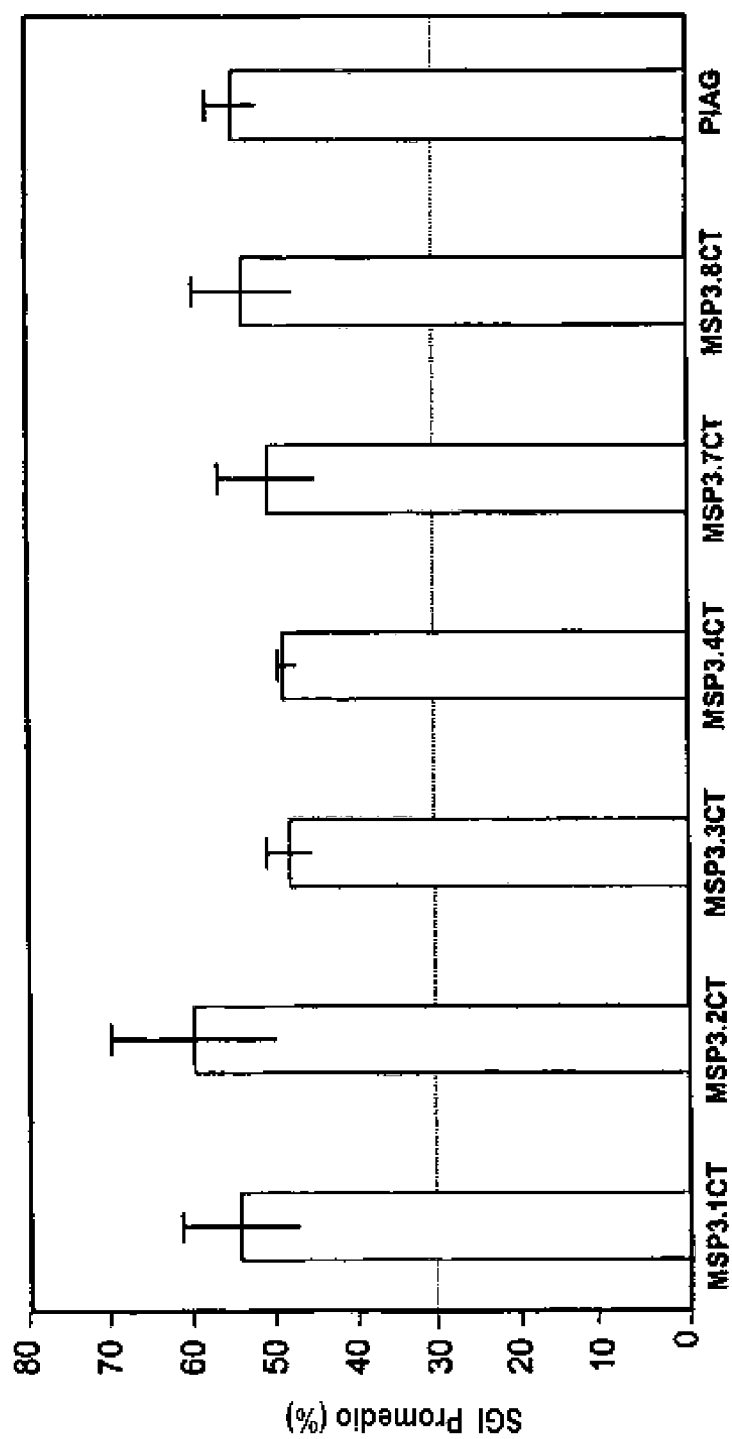


Fig. 16

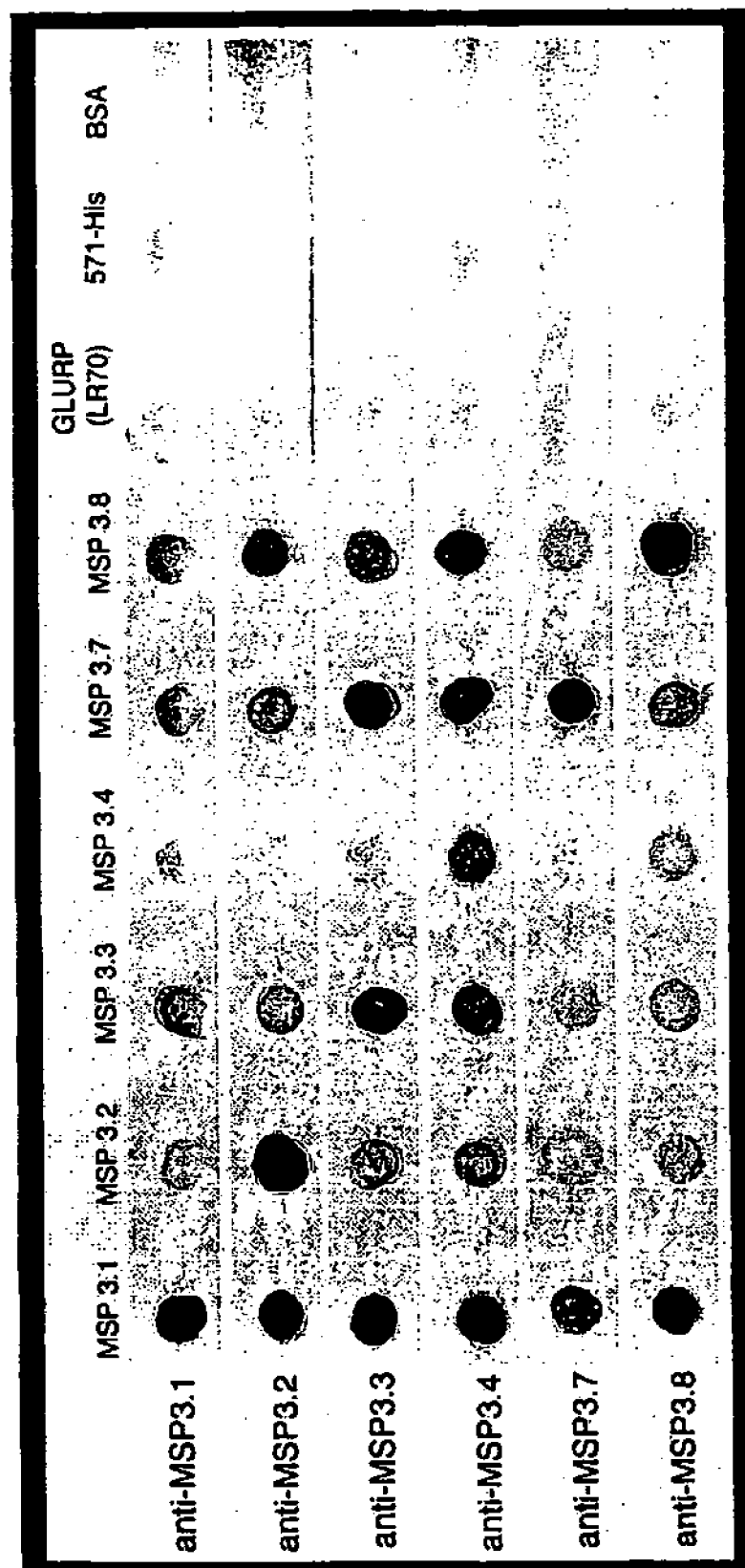


Fig. 17

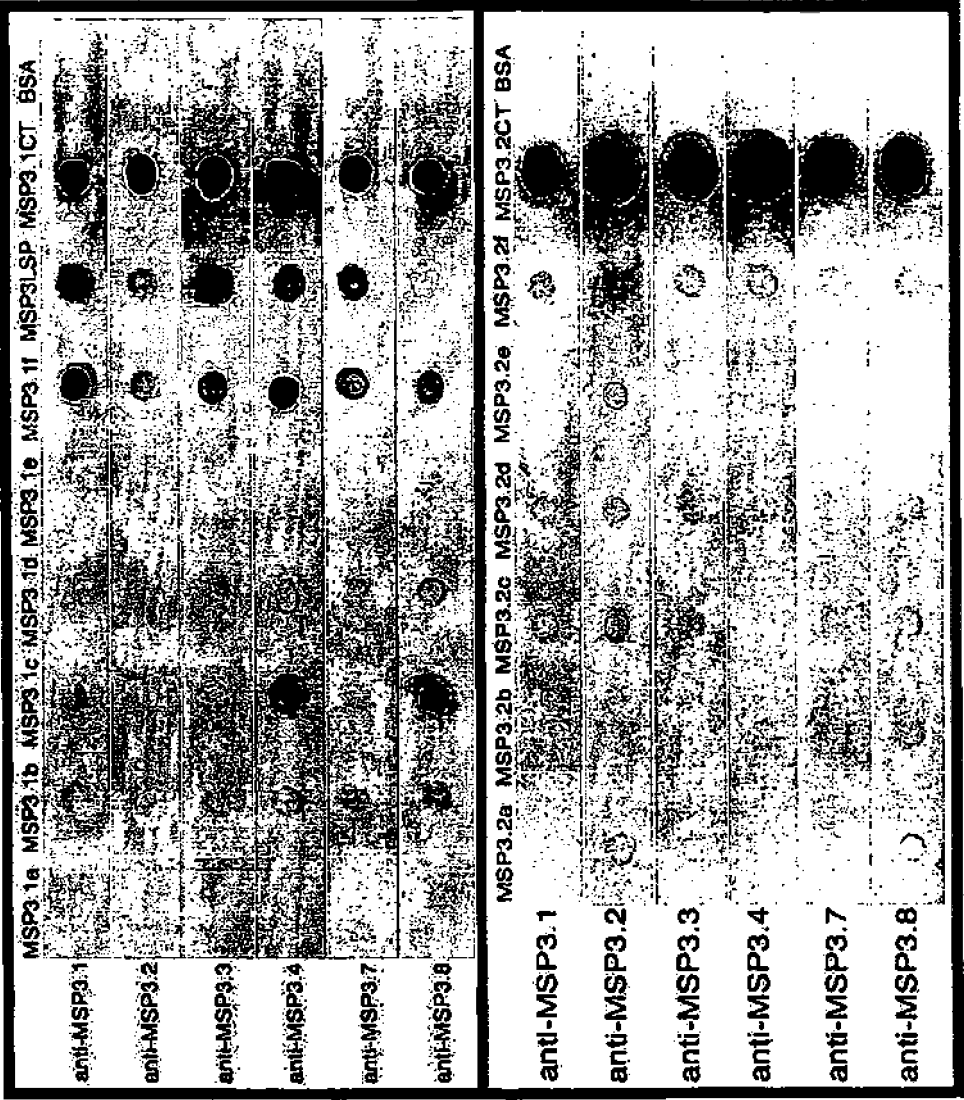
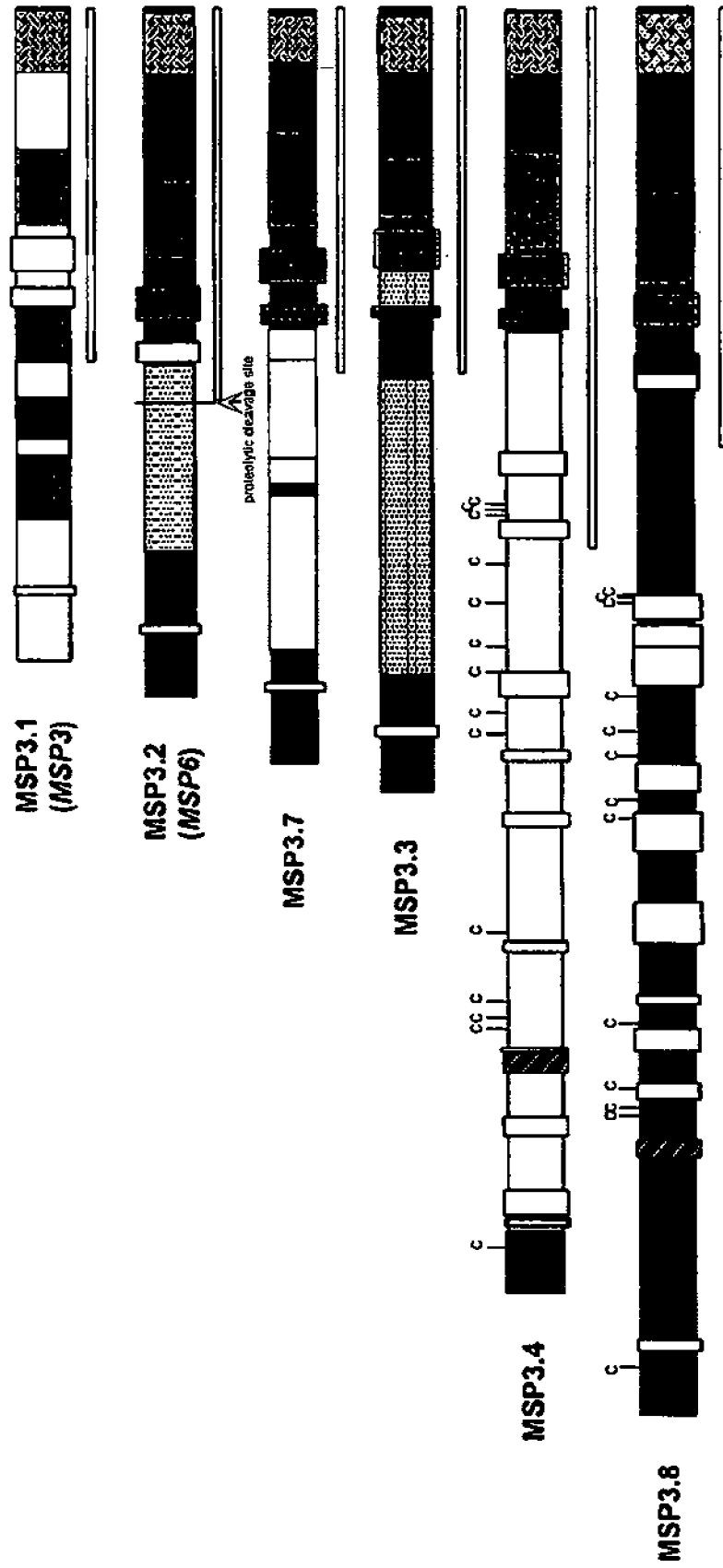


Fig. 18



ES 2 335 094 T3

LISTA DE SECUENCIAS

<110> INSTITUT PASTEUR
 <120> FAMILIAS DE GENES SIMILARES A MSP-3
 <130> 85767 - AD/VMA/VG
 <140> Nueva Aplicación de Patente Europea
 <141> 2003-10-24
 <160> 30
 <170> PatentIn version 3.1
 <210> 1
 <211> 1065
 <212> ADN
 <213> *Plasmodium Falciparum*
 <220>
 <221> miscfeature
 <222> (1)..(1065)
 <223> MSP 3.1
 <400> 1

	atgaaaagtt ttataaatat tactctttca ttatttttgt tacatttata tttttatata	60
	aataatggtg ctagtaaaaga aattgtaaaa aaatataatc ttaacttaag aaatgcaata	120
30	ttgaataata attctcaaat agaaaatgaa gaaaatgtaa atactacaat tactggtaat	180
	gatttttagtg gtggagaatt tttgtggcct ggttatacgg aagaattaaa agctaaaaaa	240
	gcttccgaag atgctgaaaa agctgctaata gatgctgaaa atgcttcaaa agaggcagaa	300
35	gaagctgcta aagaagcagt aaatttaaaag gaatctgata aatcttatac aaaagcaaaa	360
	gaagcatgta cagctgcttc aaaggcaaaag aaagctgttg aaactgcttt aaaggcaaaa	420
	gatgatgctg aaaaatcttc aaaagctgat agtatttcta caaaaacaaa agaatatgct	480
40	gaaaaagcaa aaaatgctta tgaaaaggca aaaaatgctt atcaaaaagc aaaccaagct	540
	gttttaaaag caaaagaagc ttctagttat gatttatatt taggttggga atttggagga	600
	ggcgttccag aacacaaaaa agaagaaaat atgttatcac atttatatgt ttcttcaaag	660
45	gataaggaaa atatatctaa ggaaaatgat gatgtattag atgagaagga agaagaggca	720
	gaagaaacag aagaagaaga acttgaagaa aaaaatgaag aagaacaga atcagaaata	780
	agtgaagatg aagaagaaga agaagaagaa gaagaaaagg aagaagaaaa tgacaaaaaa	840
50	aaagaacaag aaaaagaaca aagtaatgaa aataatgatc aaaaaaaga tatggaagca	900
	cagaatttaa ttcttaaaaa ccagaataat aatgagaaaa acgtaaaaga agctgctgaa	960
	agcatcatga aaacttttagc tggtttaatc aagggaaata atcaaataga ttctacctta	1020
55	aaagatttag tagaagaatt atccaatat tttaaaaatc attaa	1065

<210> 2
 <211> 354
 <212> PRT
 <213> *Plasmodium Falciparum*
 <220>
 <221> MISCFEATURE
 <222> (1)..(354)
 <223> MSP 3.1

ES 2 335 094 T3

<400> 2

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

ES 2 335 094 T3

Glu Glu Thr Glu Glu Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Glu Glu Glu Thr
 245 250 255
 5 Glu Ser Glu Ile Ser Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu
 260 265 270
 Lys Glu Glu Glu Asn Asp Lys Lys Lys Glu Gln Glu Lys Glu Gln Ser
 275 280 285
 10 Asn Glu Asn Asn Asp Gln Lys Lys Asp Met Glu Ala Gln Asn Leu Ile
 290 295 300
 15 Ser Lys Asn Gln Asn Asn Asn Glu Lys Asn Val Lys Glu Ala Ala Glu
 305 310 315 320
 Ser Ile Met Lys Thr Leu Ala Gly Leu Ile Lys Gly Asn Asn Gln Ile
 325 330 335
 20 Asp Ser Thr Leu Lys Asp Leu Val Glu Glu Leu Ser Lys Tyr Phe Lys
 340 345 350
 25 Asn His

<210> 3
 <211> 1116
 30 <212> ADN
 <213> *Plasmodium Falciparum*
 <220>
 <221> miscfeature
 35 <222> (1)..(1116)
 <223> MSP 3.2
 40 <400> 3

atgaataaga ttataatat tacttttctt ttcattcttt taaacttata tataaatgaa 60
 aataacttta tcagaaatga acctataaac gaaaaaaacc ataatttaag aaatggttca 120
 45 atgtataata acgataaaat attaagtaaa aatgaagtag atactaatat agaaagtaac 180
 gaaaatagta ttcacgaatc tggacataag attgatgggg aagaagtttt aaaagctaatt 240
 gtagatgata taacatacaa aaaaaaaaat gttgatgatt cagaaattcc tttttctggt 300
 50 tatgatatac aagcaacata tcaatttcct tctacatcag gaggaataaa tgtaattcca 360
 cttcctataa aacaaagtgg agaaaatcaa tatactgtta catctatatc aggtattcaa 420
 aaggagacaa atggtttaac tgggtgcaaca gaaaatatta cacaagttgt acaagcaaac 480
 55 tctgaaacaa ataaaaatcc tactttctcat agtaatagta ctacaacttc tctgaataat 540
 aatatacttg gatgggaatt tggaggaggt gctcctcaa atggagctgc agaagataaa 600
 aagacagaat atttactaga acaataaaaa attccatcat gggatagaaa taacatcccc 660
 60 gatgagaatg aacaagtaat agaggacct caagaagata ataaagatga agatgaagat 720

65

ES 2 335 094 T3

gaagaacag aaacagaaaa ttggaaaca gaagatgata ataatgaaga gatagaagaa 780
 aatgaagaag atgacataga tgaagaaagt gtagaagaaa aggaagaaga ggaagaaaaa 840
 5 aaggaagaag aagaaaaaaa ggaagaaaaa aaagaagaaa aaaaaccaga caatgaaatt 900
 acaaatgaag ttaaagagga acaaaaatat agttcaccaa gtgatataaa tgcccaaaat 960
 ttaatttcta ataagaataa aaagaatgat gaaacaaaaa agactgctga aaatatagtt 1020
 10 aaaacattgg ttggattatt taatgaaaaa aatgagatag attctactat aaataattta 1080
 gtacaagaaa tgatccatct atttagtaat aattaa 1116

15 <210> 4
 <211> 371
 <212> PRT
 <213> *Plasmodium Falciparum*
 20 <220>
 <221> MISCFEATURE
 <222> (1)..(371)
 25 <223> MSP 3.2
 <400> 4

30 Met Asn Lys Ile Tyr Asn Ile Thr Phe Leu Phe Ile Leu Leu Asn Leu
 1 5 10 15
 Tyr Ile Asn Glu Asn Asn Phe Ile Arg Asn Glu Leu Ile Asn Glu Lys
 20 25 30
 35 Asn His Asn Leu Arg Asn Gly Ser Met Tyr Asn Asn Asp Lys Ile Leu
 35 40 45
 Ser Lys Asn Glu Val Asp Thr Asn Ile Glu Ser Asn Glu Asn Ser Ile
 50 55 60
 His Glu Ser Gly His Lys Ile Asp Gly Glu Glu Val Leu Lys Ala Asn
 65 70 75 80
 45 Val Asp Asp Ile Thr Tyr Lys Lys Lys Asn Val Asp Asp Ser Glu Ile
 85 90 95
 Pro Phe Ser Gly Tyr Asp Ile Gln Ala Thr Tyr Gln Phe Pro Ser Thr
 100 105 110
 50 Ser Gly Gly Asn Asn Val Ile Pro Leu Pro Ile Lys Gln Ser Gly Glu
 115 120 125
 55 Asn Gln Tyr Thr Val Thr Ser Ile Ser Gly Ile Gln Lys Gly Ala Asn
 130 135 140
 Gly Leu Thr Gly Ala Thr Glu Asn Ile Thr Gln Val Val Gln Ala Asn
 145 150 155 160
 60
 65

ES 2 335 094 T3

Ser Glu Thr Asn Lys Asn Pro Thr Ser His Ser Asn Ser Thr Thr Thr
 165 170 175
 5 Ser Leu Asn Asn Asn Ile Leu Gly Trp Glu Phe Gly Gly Gly Ala Pro
 180 185 190
 10 Gln Asn Gly Ala Ala Glu Asp Lys Lys Thr Glu Tyr Leu Leu Glu Gln
 195 200 205
 15 Ile Lys Ile Pro Ser Trp Asp Arg Asn Asn Ile Pro Asp Glu Asn Glu
 210 215 220
 20 Gln Val Ile Glu Asp Pro Gln Glu Asp Asn Lys Asp Glu Asp Glu Asp
 225 230 235 240
 25 Glu Glu Thr Glu Thr Glu Asn Leu Glu Thr Glu Asp Asp Asn Asn Glu
 245 250 255
 30 Glu Ile Glu Glu Asn Glu Glu Asp Asp Ile Asp Glu Glu Ser Val Glu
 260 265 270
 35 Glu Lys Glu Glu Glu Glu Glu Lys Lys Glu Glu Glu Glu Lys Lys Glu
 275 280 285
 40 Glu Lys Lys Glu Glu Lys Lys Pro Asp Asn Glu Ile Thr Asn Glu Val
 290 295 300
 45 Lys Glu Glu Gln Lys Tyr Ser Ser Pro Ser Asp Ile Asn Ala Gln Asn
 305 310 315 320
 50 Leu Ile Ser Asn Lys Asn Lys Lys Asn Asp Glu Thr Lys Lys Thr Ala
 325 330 335
 55 Glu Asn Ile Val Lys Thr Leu Val Gly Leu Phe Asn Glu Lys Asn Glu
 340 345 350
 60 Ile Asp Ser Thr Ile Asn Asn Leu Val Gln Glu Met Ile His Leu Phe
 355 360 365
 65 Ser Asn Asn
 370

<210> 5

<211> 1275

<212> ADN

<213> *Plasmodium Falciparum*

<220>

<221> miscfeature

<222> (1)..(1275)

<223> MSP 3.3

ES 2 335 094 T3

<400> 5

```

atgaaaaaaa tcgtgaatat aatattttat atcttatatt tatatatata taaaagaaac      60
ttagtacaaa acgaaaatgt aaataaatct aatctaagaa aaggattatc tactaataat      120
tcagaaaatg gaataaaaag tctaaaggat gaagatgaac atattaatat tataggagat      180
gatttttcag cattttctta tgggtggttat cctattttatg aaactacagg aagtctagga      240
actgggggtg aaagtgtaaa agctattgat ggggaaagtg gtacttcaat ggattctaaa      300
cctaaaagaga ataaaattag tactgaacca ggagcagacc aggtgtctat tggattggtc      360
aacgaatctg atagtagttt agaaaatgat aaaaaaaaaa aagaaaatcgt aaaaaaagaa      420
atgcttggta ctgaaaagga aggttctcca gatagtcatg atagtcttaa ggaaaaatta      480
aatcttaacg acaattccaa atggtctgat tttcttaaaa atatcgtaac gtttgggtggt      540
tttgggtccta ctgtggttca tgaigttagt gatacccttt cagatatatc taaagatgaa      600
gttactcaaa aaacaactaa agatattggt agtactttac ttgacttttt ttaccatta      660
ccgactaaaa acactaatac atatgagaag aaaaatgaaa ataaaaatgt atcaaatgta      720
gattcaaaaa caaaatcaaa tgaaaaagga agacctccta catattctcc tattctggat      780
gatgggatag aatttagtgg tgggtttatat tttaatgaga aaaagtcgac tgaagaaaat      840
aaacaaaaaa atgttttaga atcagtaaat ttaacatcgt gggataaaga ggatattggt      900
aaggaaaatg aggatgttaa agatgaaaag gatgaagatg atgaagaaga agaagaaaaa      960
tacgaaaacg aaattataaa gcaaccagaa gacatattgg atgaggaaga agtattagaa     1020
gaagaaatat tagaagaaaa taaaatgat acagtagata caagtgattt agaaaagaaa     1080
aatataccag atttatcaaa cgataataat tattatagtt taatttataa gaactataag     1140
gataatgata aatcagaaaa aactgcacaa acattaatca cagctctgat aagtttatta     1200
aatggaaaaa atgaattaga tgctaccata agaagattaa aacatagggt tatggaattt     1260
tttacaatata attaa                                             1275

```

<210> 6

<211> 424

<212> PRT

<213> *Plasmodium Falciparum*

<220>

<221> MISCFEATURE

<222> (1)..(424)

<223> MSP 3.3

<400> 6

```

Met Lys Lys Ile Val Asn Ile Ile Phe Tyr Ile Leu Tyr Leu Tyr Ile
1      5      10      15

Tyr Lys Arg Asn Leu Val Gln Asn Glu Asn Val Asn Lys Ser Asn Leu
20     25     30

Arg Lys Gly Leu Ser Thr Asn Asn Ser Glu Asn Gly Ile Lys Ser Leu

```

ES 2 335 094 T3

	35	40	45
5	Lys Asp Glu Asp Glu His	Ile Asn Ile Ile Gly	Asp Asp Phe Ser Ala
	50	55	60
10	Phe Ser Tyr Gly Gly Tyr	Pro Ile Tyr Glu Thr	Thr Gly Ser Leu Gly
	65	70	75
	Thr Gly Val Glu Ser Val	Lys Ala Ile Asp Gly Glu Ser Gly	Thr Ser
		85	90
15	Met Asp Ser Lys Pro Lys Glu	Asn Lys Ile Ser Thr Glu	Pro Gly Ala
		100	105
20	Asp Gln Val Ser Ile Gly Leu	Val Asn Glu Ser Asp Ser Ser Leu Glu	
		115	120
	Asn Asp Lys Lys Lys Lys Glu	Asn Val Lys Lys Glu Met Leu Gly Thr	
		130	135
25	Glu Lys Glu Gly Ser Pro Asp Ser His Asp Ser Ser Lys Glu Lys Leu		
		145	150
30	Asn Leu Asn Asp Asn Ser Lys Trp Ser Asp Phe Leu Lys Asn Ile Val		
		165	170
35	Thr Phe Gly Gly Phe Gly Pro Thr Val Val His Asp Val Ser Asp Thr		
		180	185
	Leu Ser Asp Ile Ser Lys Asp Glu Val Thr Gln Lys Thr Thr Lys Asp		
		195	200
40	Ile Gly Ser Thr Leu Leu Asp Phe Phe Leu Pro Leu Pro Thr Lys Asn		
		210	215
45	Thr Asn Thr Tyr Glu Lys Lys Asn Glu Asn Lys Asn Val Ser Asn Val		
		225	230
	Asp Ser Lys Thr Lys Ser Asn Glu Lys Gly Arg Pro Pro Thr Tyr Ser		
		245	250
50	Pro Ile Leu Asp Asp Gly Ile Glu Phe Ser Gly Gly Leu Tyr Phe Asn		
		260	265
55	Glu Lys Lys Ser Thr Glu Glu Asn Lys Gln Lys Asn Val Leu Glu Ser		
		275	280
60	Val Asn Leu Thr Ser Trp Asp Lys Glu Asp Ile Val Lys Glu Asn Glu		
		290	295
65	Asp Val Lys Asp Glu Lys Asp Glu Asp Asp Glu Glu Glu Glu Lys		

ES 2 335 094 T3

	305		310		315		320
5	Tyr Glu Asn Glu	Ile Ile Lys Gln Pro Glu Asp Ile Leu Asp Glu Glu					
		325			330		335
	Glu Val Leu Glu Glu Glu Ile Leu Glu Glu Asn Lys Asn Asp Thr Val						
		340		345		350	
10	Asp Thr Ser Asp Leu Glu Lys Lys Asn Ile Pro Asp Leu Ser Asn Asp						
		355		360		365	
15	Asn Asn Tyr Tyr Ser Leu Ile Tyr Lys Asn Tyr Lys Asp Asn Asp Lys						
		370		375		380	
	Ser Glu Lys Thr Ala Gln Thr Leu Ile Thr Ala Leu Ile Ser Leu Leu						
		385		390		395	400
20	Asn Gly Lys Asn Glu Leu Asp Ala Thr Ile Arg Arg Leu Lys His Arg						
		405		410		415	
25	Phe Met Glu Phe Phe Thr Tyr Asn						
		420					

<210> 7

30 <211> 2094

<212> ADN

<213> *Plasmodium Falciparum*

<220>

35 <221> miscfeature

<222> (1)..(2094)

<223> MSP 3.4

40 <400> 7

	atgaagaaaa tatatagtat tttcttttct ttatttattt tgaatcttca tatatatata	60
45	aaaaatatca aatgcaatga cctaataaat tataatgatt cgaatctaag aaacggatta	120
	ctaaataata gtttagattt aacaaatgga ttaaataaca aagataacag ttttattgat	180
	tctaaaattg aagaacatga aaataaatct taccaaaata aagataataa tatctctatc	240
50	gttggacaag atgtgcctat tacatcggtt tattcttcta aaattataaa tgctaattgat	300
	ttagaaggaa atagtattga cgatactaaa ggtcttagtg ttactaatag tggatttgat	360
	gatggtagtg cttttggttg tggactccct ttttctggtt attctcctct acaaggaaat	420
55	cataataaat gtcctgatga aaatttttgt aagggtatta aaaatgtctt atcctgtcct	480
	ccaaaaaatt ctactggtag aaatggggat tggattagtg tggctgttaa agaaagtcca	540
	actacaaata aaggtgttct tgttcccccc agaagaacaa aattatgtct aagaaatatt	600
60	aacaagggtt ggcacgaat caaagacgag aaaaatttta aagaagaatt tgttaaagtt	660
	gctttaggag aatcaaatgc tttaatgaaa cattataaag aaaaaaatct gaatgccctt	720
65	acagctataa aatatggatt ttcagatatg ggagatataa taaagggaac agacctaatt	780

ES 2 335 094 T3

```

gactatcaaa ttactaaaaa tataaatagg gcattagata aaatattacg taatgaaaca      840
agtaatgaca aaattaaaaa acgtgtagac tgggtgggaag ctaataaaaag tgcatttctgg    900
5 gatgcattca tgtgtggata taaagttcat atcggaataa aaccatgtcc agaacatgat      960
aatatggaca gaataccaca atatcttaga tggtttagag aatggggaac atatgtttgc    1020
agcgaatata aaaataagtt tgaggatgta ataaaattat gtaatatcca acaatttaca    1080
10 aaccaggatg attcacaact attagaaata tcaaaaaagg ataaatgtaa agaagcatta    1140
aagcattatg aagaatgggt taatagaagg agacctgaat ggaaaggcca atgtgataaa    1200
tttgaaaaag aaaaaagtaa atatgaagat actaaaagta taactgctga aaaatattta    1260
15 aaagaaatat gtcttgaatg tgattgtaa tataaagatt tggataatac atttaaagaa    1320
tttaaagata acgttacact tcttaaagca gtaattgata acaaaaaaaaa tcaagattct    1380
ctaacaacca ctctcttatt aacgtctatt aatagtgtta gggattctag taatctagat    1440
20 caacgaggga atataacaac atctcaagga aattcacacc gtgcaactgt tgtgcaacaa    1500
gttgatcaaa ccaacagatt agataatgta aactctgtaa cgcaaagagg aaataataac    1560
tacaacaata atttagagcg tggattgggt tctggtgctc ttcctgggtac aaatattatt    1620
25 actgaagaaa aatattctct agaattaata aaattaacat caaaggatga agaagatatt    1680
ataaagcata atgaggatgt gagagaagaa atagaagaac aaCaagaaga catcgaggaa    1740
gatgaagaag aattggaaaa tgaaggagaa gaaacaaaag aagaagatga tgaagaaaag    1800
30 aatgaaacaa atgatacggg agatacggac gatactgaag atacggaaga tatagaagag    1860
gaaaataagg aaaaagaact cagtaatcaa caacaaagtg aaaaaaaaag tatttcaaaa    1920
gttgacgaag attcatatcg aatactatca gtaagttata aggacaataa tgaagtaaaa    1980
35 aatgttgctg aatctatagt gaaaaaacta tttagtttat ttaatgataa taataatttg    2040
gaaactattt ttaagggttt gacagaagat atgacagatt tatttcaaaa ataa          2094

```

```

40 <210> 8
    <211> 697
    <212> PRT
    <213> Plasmodium Falciparum
45 <220>
    <221> MISCFEATURE
    <222> (1)..(697)
50 <223> MSP 3.4

    <400> 8

```

```

55 Met Lys Lys Ile Tyr Ser Ile Phe Phe Ser Leu Phe Ile Leu Asn Leu
   1           5           10           15

His Ile Tyr Ile Lys Asn Ile Lys Cys Asn Asp Leu Ile Asn Tyr Asn
   20           25           30

Asp Ser Asn Leu Arg Asn Gly Leu Leu Asn Asn Ser Leu Asp Leu Thr

```

65

ES 2 335 094 T3

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

ES 2 335 094 T3

	305		310		315		320
5	Asn Met Asp Arg	Ile 325	Pro Gln Tyr	Leu Arg 330	Trp Phe Arg	Glu Trp 335	Gly
10	Thr Tyr Val	Cys 340	Ser Glu Tyr Lys	Asn 345	Lys Phe Glu Asp	Val 350	Ile Lys
15	Leu Cys	Asn 355	Ile Gln Gln Phe	Thr 360	Asn Gln Asp Asp	Ser 365	Gln Leu Leu
20	Glu 370	Ile Ser Lys Lys	Asp 375	Lys Cys Lys Glu	Ala 380	Leu Lys His Tyr	Glu
25	Glu 385	Trp Val Asn Arg	Arg 390	Arg Pro Glu Trp	Lys 395	Gly Gln Cys Asp	Lys 400
30	Phe Glu Lys Glu	Lys 405	Ser Lys Tyr Glu	Asp 410	Thr Lys Ser Ile	Thr 415	Ala
35	Glu Lys Tyr	Leu 420	Lys Glu Ile Cys	Ser 425	Glu Cys Asp Cys	Lys 430	Tyr Lys
40	Asp Leu	Asp 435	Asn Thr Phe Lys	Glu 440	Phe Lys Asp Asn	Val 445	Thr Leu Leu
45	Lys Ala 450	Val Ile Asp Asn	Lys 455	Lys Asn Gln Asp	Ser 460	Leu Thr Thr Thr	
50	Ser 465	Leu Ser Thr Ser	Ile 470	Asn Ser Val Arg	Asp 475	Ser Ser Asn Leu	Asp 480
55	Gln Arg Gly Asn	Ile 485	Thr Thr Ser Gln	Gly 490	Asn Ser His Arg	Ala 495	Thr
60	Val Val Gln Gln	Val 500	Asp Gln Thr	Asn 505	Arg Leu Asp Asn	Val 510	Asn Ser
65	Val Thr Gln Arg	Gly 515	Asn Asn Asn	Tyr 520	Asn Asn Asn	Leu 525	Glu Arg Gly
	Leu Gly 530	Ser Gly Ala Leu	Pro 535	Gly Thr Asn Ile	Ile 540	Thr Glu Glu Lys	
	Tyr 545	Ser Leu Glu Leu	Ile 550	Lys Leu Thr Ser	Lys 555	Asp Glu Glu Asp	Ile 560
	Ile Lys His Asn	Glu 565	Asp Val Arg Glu	Glu 570	Ile Glu Glu Gln	Gln 575	Glu
	Asp Ile Glu Glu	Asp Glu Glu Glu	Leu Glu Asn Glu	Gly Glu Glu Thr			

ES 2 335 094 T3

	580	585	590
5	Lys Glu Glu Asp Asp Glu Glu Lys Asn Glu Thr Asn Asp Thr Glu Asp 595 600 605		
	Thr Asp Asp Thr Glu Asp Thr Glu Asp Ile Glu Glu Glu Asn Lys Glu 610 615 620		
10	Lys Glu Leu Ser Asn Gln Gln Gln Ser Glu Lys Lys Ser Ile Ser Lys 625 630 635 640		
15	Val Asp Glu Asp Ser Tyr Arg Ile Leu Ser Val Ser Tyr Lys Asp Asn 645 650 655		
	Asn Glu Val Lys Asn Val Ala Glu Ser Ile Val Lys Lys Leu Phe Ser 660 665 670		
20	Leu Phe Asn Asp Asn Asn Asn Leu Glu Thr Ile Phe Lys Gly Leu Thr 675 680 685		
25	Glu Asp Met Thr Asp Leu Phe Gln Lys 690 695		

<210> 9

30 <211> 2139

<212> ADN

<213> *Plasmodium Falciparum*

<220>

35 <221> miscfeature

<222> (1)..(2139)

<223> MSP 3.5

40 <400> 9

	atgaaatata tattaagtat tagtcttttt ttaattcttt taaatttata taaatgtgct	60
45	agtatatcat gtgaaataga ttacaccctt agtaccaata ttactagcaa tttaaattct	120
	aatttaagaa gctgttcttc taatcttggt ctttcttcaa atatagattc tactaaatta	180
	gaaggaacat atggtgaaaa tttaaacgac agtgtatctt tgacgaataa tattaatgat	240
50	catacaacta acgaatcaaa tatatcaaat gtatcaaata tatcaaatga atcaaatata	300
	tcaaatgaat caagtataac taaccagtca aatttatcta gcgaaacaaa tatatctagc	360
	gaaacaaata tatctaacga atcaagtgtc ccaaatgaaa gcagtgtcaa tgaggtacct	420
55	caacttgaag tacctaaga tgtagtagaa aatcacacag aatccaaaga tgttttattg	480
	aatgaaaagg aaaattttgc aaatggagtg gaaacacatg ttgatctagg atcccaagaa	540
	caatattttg gatcttctta tgatatgaat atggacacag aaggaggaat aaaaaagttc	600
60	aaaaatgtgt ttcagttcta ttttaatcaa tccaaaggaa atagtgttac tgaaggtgat	660
	ggatcaagtg tatttggtac catatttggg agcttattaa cccctataga ttcattgtta	720
65	gaaaaattta taggatctaa caatacaaat tcggattcta atgtgaagaa cacttctatg	780

ES 2 335 094 T3

```

      ggaaatggac aaaataaata cgacaataat atatacttag atgaagaaga tgctttgagt      840
      gatgcagaac attataatga tggtagtata agtttaggcg aagaagatga gttgagtgat      900
5     gcagaacatt ataatgatgg aagtataagt ttagatgaag aagatgagtt gagtgateca      960
      gaacattata atgatggagg tatatgttta ggtgaagaag atgagttaag tgatgcagaa     1020
      cattataatg atggagggtat aagtttagat gaagaagatg tgttgagtga tgcagaacat     1080
10    tataatgatg gagatataag ttttagatgaa gatgagttaa gtgatacaga aaattattat     1140
      gatggaggta taagtttaga cgaatcagat gatttgagtg accccgaaag taaaacaaaa     1200
      gaagataact accatttata ttattgggat gatttctatc atgaatataa accaacttat     1260
15    ttaaattatc atatgcatta tacactttat gaaccaaaca atttttatga tactactaat     1320
      gaagaaacac acaattttta taatactact aatgaagaat cacacaattt ttacaaccct     1380
      actcatgaag aatcacacaa tttttacaac cctactcatg aagaatcaca caatttttac     1440
20    aaccctactc atgaagaatc acacaatttt tacaacccta ctcatgaaga atcacacaat     1500
      ttttacaacc ctactcatga agaatcacac aatttttaca accctactca tgaagaatca     1560
      cacaattttt acaaccctac tcatgaagaa tcacacaatt tttacaaccc tactcatgaa     1620
25    gaatcacaca atttttacaa cctactcatg gaagaatcac acaattttta caaccctact     1680
      catgaagaat cacacaattt ttacaaccct actcatgaag aatcacacaa tttttacacc     1740
      cctactcatg aagaatcaca caatttttac aaccctactc atgaagaatc acacaatttt     1800
30    tacaacccta ctcatgaaga atcacacaat ttttacaacc ctactcatga agaatcacac     1860
      aatttttaca accctactca tgaagaatca cacaattttt acaaccctac tcatgaagaa     1920
      tcacacaatt ttacacccc tactcatgat gaatttaatg ttcttttaa ttataaccat     1980
35    gactacgatt acaattactt tgaaaatgat aattataata ttcaaatgt taaagacaat     2040
      ttggtaaaaa aagttaatga tttcatggaa tcagataatt tattagttaa tacctttaaa     2100
      ggtatagctg ggggtgttac tagttttttc ggatattaa      2139

```

```

40    <210> 10
      <211> 712
      <212> PRT
45    <213> Plasmodium Falciparum
      <220>
      <221> MISCFEATURE
50    <222> (1)..(712)
      <223> MSP 3.5

      <400> 10

```

```

55
      Met Lys Tyr Ile Leu Ser Ile Ser Leu Phe Leu Ile Leu Leu Asn Leu
       1           5           10           15
60
      Tyr Lys Cys Ala Ser Ile Ser Cys Glu Ile Asp Tyr Thr Pro Ser Thr
       20           25           30

```

65

ES 2 335 094 T3

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

ES 2 335 094 T3

Asn Asp Gly Ser Ile Ser Leu Asp Glu Glu Asp Glu Leu Ser Asp Ala
 305 310 315 320
 5 Glu His Tyr Asn Asp Gly Gly Ile Cys Leu Gly Glu Glu Asp Glu Leu
 325 330 335
 10 Ser Asp Ala Glu His Tyr Asn Asp Gly Gly Ile Ser Leu Asp Glu Glu
 340 345 350
 15 Asp Val Leu Ser Asp Ala Glu His Tyr Asn Asp Gly Asp Ile Ser Leu
 355 360 365
 20 Asp Glu Asp Glu Leu Ser Asp Thr Glu Asn Tyr Tyr Asp Gly Gly Ile
 370 375 380
 25 Ser Leu Asp Glu Ser Asp Asp Leu Ser Asp Pro Glu Ser Lys Thr Lys
 385 390 395 400
 30 Glu Asp Asn Tyr His Leu Tyr Tyr Trp Asp Asp Phe Tyr His Glu Tyr
 405 410 415
 35 Lys Pro Thr Tyr Leu Asn Tyr His Met His Tyr Thr Leu Tyr Glu Pro
 420 425 430
 40 Asn Asn Phe Tyr Asp Thr Thr Asn Glu Glu Thr His Asn Phe Tyr Asn
 435 440 445
 45 Thr Thr Asn Glu Glu Ser His Asn Phe Tyr Asn Pro Thr His Glu Glu
 450 455 460
 50 Ser His Asn Phe Tyr Asn Pro Thr His Glu Glu Ser His Asn Phe Tyr
 465 470 475 480
 55 Asn Pro Thr His Glu Glu Ser His Asn Phe Tyr Asn Pro Thr His Glu
 485 490 495
 60 Glu Ser His Asn Phe Tyr Asn Pro Thr His Glu Glu Ser His Asn Phe
 500 505 510
 65 Tyr Asn Pro Thr His Glu Glu Ser His Asn Phe Tyr Asn Pro Thr His
 515 520 525
 70 Glu Glu Ser His Asn Phe Tyr Asn Pro Thr His Glu Glu Ser His Asn
 530 535 540
 75 Phe Tyr Asn Pro Thr His Glu Glu Ser His Asn Phe Tyr Asn Pro Thr
 545 550 555 560
 80 His Glu Glu Ser His Asn Phe Tyr Asn Pro Thr His Glu Glu Ser His
 565 570 575

ES 2 335 094 T3

Asn Phe Tyr Thr Pro Thr His Glu Glu Ser His Asn Phe Tyr Asn Pro
 580 585 590
 5 Thr His Glu Glu Ser His Asn Phe Tyr Asn Pro Thr His Glu Glu Ser
 595 600 605
 10 His Asn Phe Tyr Asn Pro Thr His Glu Glu Ser His Asn Phe Tyr Asn
 610 615 620
 Pro Thr His Glu Glu Ser His Asn Phe Tyr Asn Pro Thr His Glu Glu
 625 630 635 640
 15 Ser His Asn Phe Tyr Thr Pro Thr His Asp Glu Phe Asn Val Pro Leu
 645 650 655
 20 Asn Tyr Asn His Asp Tyr Asp Tyr Asn Tyr Phe Glu Asn Asp Asn Tyr
 660 665 670
 Asn Ile Gln Asn Val Lys Asp Asn Leu Val Lys Lys Val Asn Asp Phe
 675 680 685
 25 Met Glu Ser Asp Asn Leu Leu Val Asn Thr Phe Lys Gly Ile Ala Gly
 690 695 700
 30 Gly Val Thr Ser Phe Phe Gly Tyr
 705 710
 <210> 11
 <211> 1701
 35 <212> ADN
 <213> *Plasmodium Falciparum*
 <220>
 40 <221> miscfeature
 <222> (1)..(1701)
 <223> MSP 3.6
 45 <400> 11
 atgttgaata tttttaatat aattttcttg ttgtttttaa taaacatata tatatgtgaa 60
 gccaatggaa cactctctga aaatattgaa agtgctgaag agatagatgc tttaaaaacg 120
 50 aatttaagaa atggatattt aaataatact tattttaatg aagaaaacaa taatttaaat 180
 atagaaaatg aaataaataa tacaaattat aatgaagtaa cagaagaac taaagaagaa 240
 ttatatgata taaatgaaaa tattttccct gattattttt ttcttgatat ctttactgaa 300
 55 aataaagaac aaaaaaatga agaagtacca atgaaaatag aagtagtaaa tgatggagaa 360
 gaagtaaaaa cagaatatgt atctgaaaaa aatgaggaag tagaaaataa atcgaaact 420
 gaaataggtg aagaattaac tgaaaaagta gatgaaaag tacctgaaga agtagctgaa 480
 60 gaattagttg aaaaagtaga tgaagaagta gctgaagaat tagttgaaaa agtagatgaa 540
 aaagtagctg aagaagtaga tcaaaaagta gatgaagaag taactgaaga attaattgaa 600

65

ES 2 335 094 T3

aaagtagatg aagaagtaac tgaagaatta attgaaaaag tagatgaaga agttgctgaa 660
 gaattaattg aaaaagtaga tgaagaagtt gctgaagaat taattgaaaa ggtagctgat 720
 5 gaattaattg aaaaagtaga tgaagaagtt gctgaagaat taattgaaaa ggtagctgat 780
 gaattagttg aaaaagtagc tgaagaatta gttgaaaaag tagatgaaga agtagctgaa 840
 gaattagttg aaaaagtaga tgaagaagta gctgaagaag tagatcaaaa agtagatgaa 900
 10 gaagtaactg aagaattaat tgaagaagta gatgaagaag taactgaaga attaattgaa 960
 aaagtagatg aagaagttgc tgaagaatta attgaaaaag tagatgaaga agttgctgaa 1020
 gaattaattg aaaaggtagc tgatgaatta gttgaaaaag tagctgaaga attagttgaa 1080
 15 aaagtagatg aacaagtagc tgaagaatta gttgaaaaag tagatgaaca agtagctgaa 1140
 gaattagttg aaaaagtaga tgaacaagta gttgaagaag tagctgaaga agtagctgaa 1200
 gaagtagttg aagaaggtagc aaaagtacct gaagaagtag ctgaagaagt agctgaagaa 1260
 20 gtagctgaag aagtagctga agaagtagct gaagaattag ttgaaaaagt agatgaagaa 1320
 gtagctgaaa aagtagttga agaagaagggt gaaaaagtag ctgaagaagt agttgaagaa 1380
 gtagatgaag aagtagctga aaaagtagtt gaagaagaag gtgaaaaagt acttgaagaa 1440
 25 gtaattgaag aagtagttga agaagtagcc gaagaagtag ctgaaaaagt agttgaagaa 1500
 caaggtagaa aagtaaaca aaatgattta aatgatgcat ctccgagga aattaaggat 1560
 tctagtgatt ttaagaatc tcatgaggaa ttatttaaag tttcctgga gtttaattat 1620
 30 aaaaacgatt tagttaaga aaatttaaaa aagattacaa acaatttaaa tgaaatgcat 1680
 ttaagcactt tatatccata a 1701

<210> 12
 35 <211> 566
 <212> PRT
 <213> *Plasmodium Falciparum*
 <220>
 40 <221> MISCFEATURE
 <222> (1)..(566)
 <223> MSP 3.6
 45 <400> 12

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

65

ES 2 335 094 T3

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

ES 2 335 094 T3

Glu Val Ala Glu Glu Leu Ile Glu Lys Val Ala Asp Glu Leu Val Glu
 340 345 350
 5 Lys Val Ala Glu Glu Leu Val Glu Lys Val Asp Glu Gln Val Ala Glu
 355 360 365
 10 Glu Leu Val Glu Lys Val Asp Glu Gln Val Ala Glu Glu Leu Val Glu
 370 375 380
 15 Lys Val Asp Glu Gln Val Val Glu Glu Val Ala Glu Glu Val Ala Glu
 385 390 395 400
 Glu Val Val Glu Glu Gly Glu Lys Val Pro Glu Glu Val Ala Glu Glu
 405 410 415
 20 Val Ala Glu Glu Val Ala Glu Glu Val Ala Glu Glu Val Ala Glu Glu
 420 425 430
 25 Leu Val Glu Lys Val Asp Glu Glu Val Ala Glu Lys Val Val Glu Glu
 435 440 445
 Glu Gly Glu Lys Val Pro Glu Glu Val Val Glu Glu Val Asp Glu Glu
 450 455 460
 30 Val Ala Glu Lys Val Val Glu Glu Glu Gly Glu Lys Val Leu Glu Glu
 465 470 475 480
 35 Val Ile Glu Glu Val Val Glu Glu Val Ala Glu Glu Val Ala Glu Lys
 485 490 495
 Val Val Glu Glu Gln Gly Glu Lys Val Asn Lys Asn Asp Leu Asn Asp
 500 505 510
 40 Ala Ser Ser Glu Glu Ile Lys Asp Ser Ser Asp Phe Lys Glu Ser His
 515 520 525
 45 Glu Glu Leu Phe Lys Val Phe Leu Glu Leu Ile Asn Lys Asn Asp Leu
 530 535 540
 50 Val Lys Glu Asn Leu Lys Lys Ile Thr Asn Asn Leu Asn Glu Met His
 545 550 555 560
 55 Leu Ser Thr Leu Tyr Pro
 565

<210> 13
 <211> 1218
 60 <212> ADN
 <213> *Plasmodium Falciparum*
 <220>
 <221> miscfeature
 65 <222> (1)..(1218)
 <223> MSP 3.7

ES 2 335 094 T3

<400> 13

```

5      atgaataagt ttttgaatat tatattttac atttttctaa tattaaattt cttttcttc      60
      caaagcaatg ccacaagtaa ggaaattcaa aaagatgaac aaaagaattt aagaaatggt      120
      tcttcaataa ataataacaa aaatatagaa aataaaaatg ataatatga aactcaatat      180
10     gaagcttcag aatatataga aaaacaaaat gacattttta atagtataa tgatgaaaaa      240
      gagaaaaata ataataattc attagataca aatgtaacaa aaaatactgt aattgataat      300
      tcaataaat ttcaatcaat tgaagacaat aatgtataca ataaaggat atttgtaggt      360
15     actgggataa aattaaatga ttcacaaact acatctgata attacaaaaa tgaacgatat      420
      caaatagacg atgaaaaatt gaagtatgga gggtcgtttg acacaatttt ttcagggttt      480
      gttaatttat taacaccatc aagtcctact caaaacgatg gatctacagg aagaaatgta      540
20     ccacctccta gtgaacctaa tgttgatata ccagatcctc caacagcacc cgcacctgta      600
      aagggtacctg aagatgcaaa attatcaagt tctcctagac ctgaaggacc aagagcaaac      660
      aatagaaatg aaaataatca aaatacagat ccatataacc actattttgc atgggaaatt      720
25     ggagggtggtg ctccaacgta taaacccgag aacaataaga acgataatat ttgctagaa      780
      cacgtaaaaa ttacctcgtg ggataaagaa gatataatta aagaaaatga agacacaaaa      840
      cgcgaagttc aagaaactga agacactgac gaaactgaag atactgacga aactgaagaa      900
30     acagaagata tggaagatga aaacgaaatt gtggaagatc aattacaaga aatgaagat      960
      gatgaggata atgtaaattt agaagatatt aataaaaata ctagaaatga tatatttgaa      1020
      gaacaaataa aattagattc tacgcaagat gacaaagctc aaaaattaat ttctaataa      1080
35     tataaaaaaa ctgaagaaaa aaatcatta gaagatcatg taaatctatt atttaatttt      1140
      ttacaaacaa ataaccaact agatccttca ctaaaagatt tagaaaaatga gtttaacttt      1200
      tttttaaata actattga      1218

```

<210> 14

<211> 405

<212> PRT

<213> *Plasmodium Falciparum*

<220>

<221> MISCFEATURE

<222> (1)..(405)

<223> MSP 3.7

<400> 14

```

55     Met Asn Lys Phe Leu Asn Ile Ile Phe Tyr Ile Phe Leu Ile Leu Asn
      1           5           10           15
60     Phe Ser Phe Phe Gln Ser Asn Ala Thr Ser Lys Glu Ile Gln Lys Asp
      20           25           30

```

65

ES 2 335 094 T3

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

ES 2 335 094 T3

Glu Asp Glu Asn Glu Ile Val Glu Asp Gln Leu Gln Glu Asn Glu Asp
305 310 315 320

Asp Glu Asp Asn Val Asn Leu Glu Asp Ile Asn Lys Asn Thr Arg Asn
325 330 335

Asp Ile Phe Glu Glu Gln Ile Lys Leu Asp Ser Thr Gln Asp Asp Lys
340 345 350

Ala Gln Lys Leu Ile Ser Asn Glu Tyr Lys Lys Thr Glu Glu Lys Lys
355 360 365

Ser Leu Glu Asp His Val Asn Leu Leu Phe Asn Phe Leu Gln Thr Asn
370 375 380

Asn Gln Leu Asp Pro Ser Leu Lys Asp Leu Glu Asn Glu Leu Thr Phe
385 390 395 400

Phe Leu Asn Asn Tyr
405

<210> 15

<211> 2289

<213> *Plasmodium Falciparum*

<220>

<221> miscfeature

<222> (1)..(2289)

<223> MSP 3.8

<400> 15

```

atgatarata ttttatctat tgtattttat atatTTTTTT tacatattga tatatatgta      60
aacatttatt ctacatgttt tgttgtaaatt gaggggaacc ctaatttaag aaataacata      120
attaatgatg atgaactaaa ggggaaagca tataataata ctatagatgc taataaccaa      180
aatatagaat ataataaaaa cttaaagcac aatgtaaact catctcatat atctaaattt      240
tcggatatta tggatcaaga agataaagga gataatgaaa attctcatga cataaaattt      300
gaagaaaaaa aaaatattaa taaatcttta gacgctgaat ccaattatgg tattaatgaa      360
attagtatta ctggtaatga tagtaatagt gataatagta atcagaatat tttccagat      420
ggtagtgaat tagctggagg tattcctcgt tctatatata ctattaacct tggttttaat      480
aaatgtccta ctgaagagat ttgtaaagac tttagtaatc ttccacaatg tcgaaagaat      540
gtacatgaaa gaaataattg gttgggctca agtgtaaaaa atttttcaag tgataataag      600
ggggttcttg ttctccaag aagacaatct ttatgtttta gaattacatt acaagatttt      660
cgtacgaaaa agaaaaagga aggagatttt gaaaaattta tttattcata tgcattcatc      720
gaagctagaa aattaagaac catacacaat aataacttag aaaaagctca tcaagctata      780
agatatagtt ttgcagatat tggaaatatt attagaggag atgacatgat ggatacacct      840

```

ES 2 335 094 T3

```

acgtcaaaag aaaccataac atatttagaa aaagtactta aaatttataa tgaaaataat 900
gataaaccac aagatgcaaa aaaatgggtg acagaaaaca ggcacatgtt ttgggaagca 960
5 atgatgtgag gatatacagag tgcgcagaaa gataaccaat gtacaggtta tggtaacatt 1020
gatgatatac cacaattttt aagggtggtc agagagtggg gaacatatgt ctgtgaagaa 1080
agcgaaaaaa atatgaacac actaaaagct gtttgctttc cgaaacagcc aagaaccgaa 1140
10 gcgaatcctg cattgactgt acatgaaaaa gaaatgtgct catcaacttt aaaaaaatat 1200
gaagaatggt ataataaaaag gaaaactgaa tggactgaac aatctattaa atataacaat 1260
gacaaaatta attatacaga tataaaaaa tttctcctt ctgaatattt aatagaaaaa 1320
15 tgcctgaat gtaaatgtac caaaaaaaaa ttgcaagatg tatttgaact tacatttgat 1380
ggaaaagctt tattagaaaa gctaaaaaaaa gaagaatcac ctgtgagtaa tagtgtgaat 1440
gccttacctg aaccaggtca aattacatta cctgatcctt cattaaaaa aacaacacaa 1500
20 caggaaaatc aacctgttgt agaaacacct gttaccacag ctgttattaa tgaacatcaa 1560
ggacaaacag aaccgaataa aggtgacaac aataatgaaa gagaaaatca tgaaagtaat 1620
gttggtagca tccaagaagt aaaccaaggt agcgtgagcg aagaatcaca ttctaaaact 1680
25 atagatcctt ctaagattga cgaccgtttg gaattaagta gtgggtcatc atctcttgaa 1740
caacactcta aggaagatgt aaaaaaggga tgtgctttag aattggtacc tttatcttta 1800
tcggatattg aacagatagc taatgaaagc gaagatgtac tggagagat agaagaagaa 1860
30 attaatagc atggggaaat agaatatata acagaagaag aaataaaaaga agatatagaa 1920
gaagaacag aagaagatat agaagaagaa acagaagaag aaacagaaga agaaacagaa 1980
gaagaagcag atgaagaac agtaaaagaa atagaagaca aaccagaaca agaaattaaa 2040
35 aataaatcgc tagaagaaaa acaaatagat aaaaatacag ataccagtga aaagaaagga 2100
tttaataatt cagaaaaaga tgaaaaagct cgaaatttaa tttctaaaaa ttataaaaaa 2160
tataatgaac tagataaaaa cgttcatact ttagtaaat caattattag tttattagaa 2220
40 gaaggtaatg gaagtgattc taccttgaat agtttatcaa aagatattac aaatttattt 2280
aaaaattaa 2289

```

```

45 <210> 16
    <211> 762
    <212> PRT
    <213> Plasmodium Falciparum
50 <220>
    <221> MISCFEATURE
    <222> (1)..(762)
55 <223> MSP 3.8

```

60

65

ES 2 335 094 T3

<400> 16

	Met	Ile	Tyr	Ile	Leu	Ser	Ile	Val	Phe	Tyr	Ile	Phe	Phe	Leu	His	Ile	
	1				5					10					15		
5	Asp	Ile	Tyr	Val	Asn	Ile	Tyr	Ser	Thr	Cys	Phe	Val	Val	Asn	Glu	Gly	
				20					25					30			
	Asn	Pro	Asn	Leu	Arg	Asn	Asn	Ile	Ile	Asn	Asp	Asp	Glu	Leu	Lys	Gly	
10			35					40					45				
	Lys	Ala	Tyr	Asn	Asn	Thr	Ile	Asp	Ala	Asn	Asn	Gln	Asn	Ile	Glu	Tyr	
		50					55					60					
15																	
	Asn	Lys	Asn	Leu	Lys	His	Asn	Val	Asn	Ser	Ser	His	Ile	Ser	Lys	Phe	
	65					70					75					80	
20	Ser	Asp	Ile	Met	Asp	Gln	Glu	Asp	Lys	Gly	Asp	Asn	Glu	Asn	Ser	His	
					85					90					95		
	Asp	Ile	Lys	Phe	Glu	Glu	Lys	Lys	Asn	Ile	Asn	Lys	Ser	Leu	Asp	Ala	
25				100					105					110			
	Glu	Ser	Asn	Tyr	Gly	Ile	Asn	Glu	Ile	Ser	Ile	Thr	Gly	Asn	Asp	Ser	
			115					120					125				
30																	
	Asn	Ser	Asp	Asn	Ser	Asn	Gln	Asn	Ile	Phe	Pro	Asp	Gly	Ser	Glu	Leu	
		130					135					140					
35	Ala	Gly	Gly	Ile	Pro	Arg	Ser	Ile	Tyr	Thr	Ile	Asn	Leu	Gly	Phe	Asn	
	145					150					155					160	
	Lys	Cys	Pro	Thr	Glu	Glu	Ile	Cys	Lys	Asp	Phe	Ser	Asn	Leu	Pro	Gln	
40					165					170					175		
	Cys	Arg	Lys	Asn	Val	His	Glu	Arg	Asn	Asn	Trp	Leu	Gly	Ser	Ser	Val	
				180					185					190			
45																	
	Lys	Asn	Phe	Ser	Ser	Asp	Asn	Lys	Gly	Val	Leu	Val	Pro	Pro	Arg	Arg	
			195					200					205				
	Gln	Ser	Leu	Cys	Leu	Arg	Ile	Thr	Leu	Gln	Asp	Phe	Arg	Thr	Lys	Lys	
50		210					215					220					
	Lys	Lys	Glu	Gly	Asp	Phe	Glu	Lys	Phe	Ile	Tyr	Ser	Tyr	Ala	Ser	Ser	
55		225				230					235					240	
	Glu	Ala	Arg	Lys	Leu	Arg	Thr	Ile	His	Asn	Asn	Asn	Leu	Glu	Lys	Ala	
					245					250					255		
60																	
	His	Gln	Ala	Ile	Arg	Tyr	Ser	Phe	Ala	Asp	Ile	Gly	Asn	Ile	Ile	Arg	
				260					265					270			
	Gly	Asp	Asp	Met	Met	Asp	Thr	Pro	Thr	Ser	Lys	Glu	Thr	Ile	Thr	Tyr	
65			275					280					285				

ES 2 335 094 T3

Leu Glu Lys Val Leu Lys Ile Tyr Asn Glu Asn Asn Asp Lys Pro Lys
 290 295 300
 5 Asp Ala Lys Lys Trp Trp Thr Glu Asn Arg His His Val Trp Glu Ala
 305 310 315 320
 10 Met Met Cys Gly Tyr Gln Ser Ala Gln Lys Asp Asn Gln Cys Thr Gly
 325 330 335
 15 Tyr Gly Asn Ile Asp Asp Ile Pro Gln Phe Leu Arg Trp Phe Arg Glu
 340 345 350
 20 Trp Gly Thr Tyr Val Cys Glu Glu Ser Glu Lys Asn Met Asn Thr Leu
 355 360 365
 25 Lys Ala Val Cys Phe Pro Lys Gln Pro Arg Thr Glu Ala Asn Pro Ala
 370 375 380
 30 Leu Thr Val His Glu Asn Glu Met Cys Ser Ser Thr Leu Lys Lys Tyr
 385 390 395 400
 35 Glu Glu Trp Tyr Asn Lys Arg Lys Thr Glu Trp Thr Glu Gln Ser Ile
 405 410 415
 40 Lys Tyr Asn Asn Asp Lys Ile Asn Tyr Thr Asp Ile Lys Thr Leu Ser
 420 425 430
 45 Pro Ser Glu Tyr Leu Ile Glu Lys Cys Pro Glu Cys Lys Cys Thr Lys
 435 440 445
 50 Lys Asn Leu Gln Asp Val Phe Glu Leu Thr Phe Asp Gly Lys Ala Leu
 450 455 460
 55 Leu Glu Lys Leu Lys Lys Glu Glu Ser Pro Val Ser Asn Ser Val Asn
 465 470 475 480
 60 Ala Leu Pro Glu Pro Gly Gln Ile Thr Leu Pro Asp Pro Ser Leu Lys
 485 490 495
 65 Gln Thr Thr Gln Gln Glu Asn Gln Pro Val Val Glu Thr Pro Val Thr
 500 505 510
 70 Thr Ala Val Ile Asn Glu His Gln Gly Gln Thr Glu Pro Asn Lys Gly
 515 520 525
 75 Asp Asn Asn Asn Glu Arg Glu Asn His Glu Ser Asn Val Gly Ser Ile
 530 535 540
 80 Gln Glu Val Asn Gln Gly Ser Val Ser Glu Glu Ser His Ser Lys Thr
 545 550 555 560

ES 2 335 094 T3

Ile Asp Pro Ser Lys Ile Asp Asp Arg Leu Glu Leu Ser Ser Gly Ser
 565 570 575
 5 Ser Ser Leu Glu Gln His Ser Lys Glu Asp Val Lys Lys Gly Cys Ala
 580 585 590
 10 Leu Glu Leu Val Pro Leu Ser Leu Ser Asp Ile Glu Gln Ile Ala Asn
 595 600 605
 Glu Ser Glu Asp Val Leu Glu Glu Ile Glu Glu Glu Ile Asn Thr Asp
 610 615 620
 15 Gly Glu Ile Glu Tyr Ile Thr Glu Glu Glu Ile Lys Glu Asp Ile Glu
 625 630 635 640
 20 Glu Glu Thr Glu Glu Asp Ile Glu Glu Glu Thr Glu Glu Glu Thr Glu
 645 650 655
 Glu Glu Thr Glu Glu Glu Ala Asp Glu Glu Thr Val Lys Glu Ile Glu
 25 660 665 670
 Asp Lys Pro Glu Gln Glu Ile Lys Asn Lys Ser Leu Glu Glu Lys Gln
 675 680 685
 30 Ile Asp Lys Asn Thr Asp Thr Ser Glu Lys Lys Gly Phe Asn Asn Ser
 690 695 700
 35 Glu Lys Asp Glu Lys Ala Arg Asn Leu Ile Ser Lys Asn Tyr Lys Asn
 705 710 715 720
 Tyr Asn Glu Leu Asp Lys Asn Val His Thr Leu Val Asn Ser Ile Ile
 40 725 730 735
 Ser Leu Leu Glu Glu Gly Asn Gly Ser Asp Ser Thr Leu Asn Ser Leu
 740 745 750
 45 Ser Lys Asp Ile Thr Asn Leu Phe Lys Asn
 755 760

50 <210> 17
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Plasmodium Falciparum*
 55 <220>
 <221> MISCFEATURE
 <222> (1)..(11)
 60 <223> MSP 3-1 MSP3b-like motivo
 <400> 17

65 Ile Leu Gly Trp Glu Phe Gly Gly Gly Val Pro
 1 5 10

ES 2 335 094 T3

<210> 18
 <211> 11
 <212> PRT
 5 <213> *Plasmodium Falciparum*
 <220>
 <221> MISCFEATURE
 <222> (1)..(11)
 10 <223> MSP 3-2 MSP3b-like motivo
 <400> 18
 Ile Leu Gly Trp Glu Phe Gly Gly Gly Ala Pro
 1 5 10

<210> 19
 <211> 14
 20 <212> PRT
 <213> *Plasmodium Falciparum*
 <220>
 25 <221> MISCFEATURE
 <222> (1)..(14)
 <223> MSP 3-3 MSP3b-like motivo
 30 <400> 19
 Ile Leu Asp Asp Gly Ile Glu Phe Ser Gly Gly Leu Tyr Phe
 1 5 10

<210> 20
 <211> 11
 <212> PRT
 35 <213> *Plasmodium Falciparum*
 <220>
 40 <221> MISCFEATURE
 <222> (1)..(11)
 45 <223> MSP 3-4 MSP3b-like motivo
 <400> 20
 Leu Glu Arg Gly Leu Gly Ser Gly Ala Leu Pro
 1 5 10

<210> 21
 <211> 11
 55 <212> PRT
 <213> *Plasmodium Falciparum*
 <220>
 60 <221> MISCFEATURE
 <222> (1)..(11)
 <223> MSP 3-4 MSP3b-like motivo

ES 2 335 094 T3

<400> 21

Asp Asp Gly Ser Ala Phe Gly Gly Gly Leu Pro
1 5 10

5

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

10 <213> *Plasmodium Falciparum*

<220>

<221> MISCFEATURE

<222> (1)..(11)

15

<223> MSP 3-7 MSP3b-like motivo

<400> 22

20

Tyr Phe Ala Trp Glu Ile Gly Gly Gly Ala Pro
1 5 10

25

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

30 <213> *Plasmodium Falciparum*

<220>

<221> MISCFEATURE

<222> (1)..(11)

35

<223> MSP 3-8 MSP3b-like motivo

<400> 23

40

Arg Leu Glu Leu Ser Ser Gly Ser Ser Leu Glu
1 5 10

45

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> *Plasmodium Falciparum*

50

<220>

<221> MISCFEATURE

<222> (1)..(11)

55

<223> MSP 3-8 MSP3b-like motivo

<400> 24

60

Pro Asp Gly Ser Glu Leu Ala Gly Gly Ile Pro
1 5 10

65

<210> 25

<211> 20

<212> PRT

ES 2 335 094 T3

```

<213> Plasmodium Falciparum
<220>
<221> MISCFEATURE
5 <222> (1)..(20)
   <223> MSP3-1 MSP3c/d-like motivo

<400> 25
10      Leu Ser His Leu Tyr val Ser Ser Lys Asp Lys Glu Asn Ile Ser Lys
      1          5          10          15

      Glu Asn Asp Asp
      20

<210> 26
20 <211> 20
   <212> PRT
   <213> Plasmodium Falciparum
   <220>
   <221> MISCFEATURE
   <222> (1)..(20)
   <223> MSP 3-2 MSP3c/d-like motivo

30 <400> 26
      Leu Glu Gln Ile Lys Ile Pro Ser Trp Asp Arg Asn Asn Ile Pro Asp
      1          5          10          15

      Glu Asn Gln Gln
      20

40 <210> 27
   <211> 20
   <212> PRT
   <213> Plasmodium Falciparum
45 <220>
   <221> MISCFEATURE
   <222> (1)..(20)
50 <223> MSP 3-3 MSP3c/d-like motivo

<400> 27
      Leu Glu Ser val Asn Leu Thr Ser Trp Asp Lys Glu Asp Ile val Lys
      1          5          10          15

      Glu Asn Glu Asp
      20

60 <210> 28
   <211> 20
   <212> PRT
65 <213> Plasmodium Falciparum
   <220>

```

ES 2 335 094 T3

<221> MISCFEATURE

<222> (1)..(20)

<223> MSP 3-4 MSP3c/d-like motivo

5

<400> 28

Leu Glu Leu Ile Lys Leu Thr Ser Lys Asp Glu Glu Asp Ile Ile Lys
1 5 10 15

10

His Asn Glu Asp
20

15 <210> 29

<211> 20

<212> PRT

<213> *Plasmodium Falciparum*

20

<220>

<221> MISCFEATURE

<222> (1)..(20)

25

<223> MSP 3-7 MSP3c/d-like motivo

<400> 29

Leu Glu His Val Lys Ile Thr Ser Trp Asp Lys Glu Asp Ile Ile Lys
1 5 10 15

30

Glu Asn Glu Asp
20

35

<210> 30

<211> 20

<212> PRT

40

<213> *Plasmodium Falciparum*

<220>

<221> MISCFEATURE

<222> (1)..(20)

45

<223> MSP 3-8 MSP3c/d-like motivo

<400> 30

Leu Glu Leu Val Pro Leu Ser Leu Ser Asp Ile Glu Gln Ile Ala Asn
1 5 10 15

50

Glu Ser Glu Asp
20

55

60

65