



SPF ECONOMIE, P.M.E.,
CLASSES MOYENNES & ENERGIE

NUMERO DE PUBLICATION : 1015281A5
NUMERO DE DEPOT : 2000/0726
Classif. Internat. : C07K C12N A01K
Date de délivrance le : 11 Janvier 2005

Le Ministre de l'Economie,

Vu la Convention de Paris du 20 Mars 1883 pour la Protection de la propriété intellectuelle;

Vu la loi du 28 Mars 1984 sur les brevets d'invention, notamment l'article 22;

Vu l'arrêté royal du 2 Décembre 1986 relatif à la demande, à la délivrance et au maintien en vigueur des brevets d'invention, notamment l'article 28;

Vu le procès verbal dressé le 16 Novembre 2000 à 10H50 à l'Office de la Propriété Intellectuelle

ARRETE:

ARTICLE 1.- Il est délivré à : BAYER AKTIENGESELLSCHAFT
,D-51368 LEVERKUSEN(DEUTSCHLAND)

représenté(e)s par : de KEMMETER François, CABINET BEDE, Boulevard Général Wahis
15 - B 1030 BRUXELLES.

un brevet d'invention d'une durée de 20 ans, sous réserve du paiement des taxes
annuelles, pour : RECEPTEURS GABA-B.

INVENTEUR(S) : Raming Klaus, Lortzingstrasse 35, D-51375 Leverkusen (DE); Mezler
Mario, Lohrstrasse 72E, D-51371 Leverkusen (DE); Müller Thomas, Rilkestrasse 86,
D-53225 Bonn (DE)

PRIORITE(S) 18.11.99 DE DEA19955408

ARTICLE 2.- Ce brevet est délivré sans examen préalable de la brevetabilité
de l'invention, sans garantie du mérite de l'invention ou de l'exactitude de
la description de celle-ci et aux risques et périls du(des) demandeurs(s).

Pour expédition certifiée conforme

Bruxelles, le 11 Janvier 2005
PAR DELEGATION SPECIALE :

PETIT M.
Conseiller adjoint

PETIT M.
Conseiller adjoint

5

Récepteurs GABA-B.

L'invention concerne un procédé de recherche
10 de composés qui modifient les propriétés des
polypeptides qui exercent l'activité biologique des
récepteurs de GABA-B.

L'acide gamma-aminobutyrique (GABA) est le
neurotransmetteur inhibiteur le plus important du
15 système nerveux des vertébrés et des invertébrés. Les
récepteurs de GABA peuvent être divisés en 2 sous-
familles, les récepteurs de GABA-A et de GABA-B
(également appelés ci-après, récepteurs GABA-A et
récepteurs GABA-B, respectivement). Parmi ceux-ci, les
20 récepteurs GABA-A sont des canaux à ions ligand-
dépendants, alors que les récepteurs GABA-B sont des
récepteurs métabotropes, couplés à une protéine G. Les
récepteurs GABA-B influencent la libération de
différents neurotransmetteurs ainsi que l'activité des
25 canaux à ions.

Les récepteurs GABA-B ont surtout été bien
étudiés chez les vertébrés. On en connaît 2 sous-types
(GABA-B1 et GABA-B2), qui sont fonctionnellement actifs
comme hétérodimère (Jones et coll. 1998; Kaupmann et
30 coll., 1998; White et coll., 1998).

Chez les insectes, le GABA est un
neurotransmetteur inhibiteur le plus important du

5 système nerveux central. Ainsi, les récepteurs GABA peuvent être électrophysiologiquement décelés dans des préparations de ganglions centraux d'insectes. Non seulement les récepteurs GABA-A, mais également les récepteurs GABA-B sont le point d'attaque moléculaire de composés insecticides importants naturels et synthétiques (Sattelle, 1990; Fukunaga et coll., 1999).

10 La séquence protéinique d'un certain nombre de récepteurs GABA-A d'insectes est déjà connue. Ainsi par exemple, dans *Drosophila melanogaster*, les séquences de 3 sous-unités différentes ont été décrites (French-Constant et coll., 1991; Harvey et coll., 1994; Henderson et coll., 1993).

15 Il est de plus, d'une grande importance pratique, par exemple pour la recherche de nouveaux insecticides, de disposer de récepteurs GABA-B d'insectes.

20 La présente invention repose donc en particulier sur l'objectif de modifier des récepteurs GABA-B d'insectes et des systèmes de test édifiés sur ceux-ci avec un débit élevé en composés de test (High Throughput Screening Assays; dosages HTS).

25 L'objectif est atteint par un procédé de recherche de composés qui modifient les propriétés des polypeptides qui exercent au moins une activité biologique d'un récepteur de GABA-B, comprenant les étapes suivantes :

(a) préparation d'une cellule hôte contenant un acide nucléique comprenant une séquence nucléotidique
30 qui code pour un polypeptide ayant la séquence des acides aminés, qui présente une identité d'au moins 70%, de préférence une identité d'au moins 80%, de manière

particulièrement préférée une identité d'au moins 90%, de manière tout particulièrement préférée une identité d'au moins 95%, avec une séquence suivant SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4 ou SEQ ID NO:6 ;

5 (b) culture de la cellule hôte en présence d'un composé chimique ou d'un échantillon qui englobe un certain nombre de composés chimiques, et

(c) détection des propriétés modifiées.

Le niveau d'identité de la séquence des
10 acides aminés est déterminée de préférence, au moyen du programme GAP du kit de programme GCG, version 9,1 sous configuration standard (Devereux et coll., 1984).

Le terme "polypeptide", tel qu'utilisé ici, se rapporte non seulement à de courtes chaînes d'acides
15 aminés, qui sont habituellement caractérisées de peptides, oligopeptides ou oligomères, mais également de chaînes plus longues d'acides aminés, qui sont habituellement caractérisées de protéines. Il englobe
20 par des processus naturels comme une maturation posttraductionnelle ou par un procédé chimique de l'état de la technique. Ces modifications peuvent se produire en différents endroits et plusieurs fois sur un polypeptide, comme par exemple sur le squelette
25 peptidique, sur les chaînes latérales des acides aminés, sur l'extrémité amino et/ou carboxyterminale. Elles comprennent par exemple, des acétylations, acylations, ADP-ribosylations, amidations, liaisons covalentes avec
30 dérivés de nucléotide, des lipides ou dérivés de lipides ou un phosphatidylinositol, des cyclisations, des formations de pont disulfure, des déméthylations, des

formations de cystine, des formylations, des gamma-carboxylations, des glycosylations, des hydroxylations, des iodations, des méthylations, des myristoylations, des oxydations, des mises en œuvre protéolytiques, des phosphorylations, des sélénoylations et des additions ARNt-dépendantes d'acides aminés.

Les polypeptides décrits dans le cadre de l'invention peuvent se trouver sous la forme de protéines "matures" ou de parties de protéines plus grandes, par exemple comme protéine de fusion. D'autre part, ils peuvent présenter des séquences de tête ou "leader", des proséquences, des séquences qui permettent une purification aisée, comme des restes histidine multiples, ou des acides aminés stabilisants supplémentaires.

L'activité biologique des récepteurs GABA-B est atteinte de préférence, par hétérodimérisation du polypeptide décrit dans le cadre de l'invention. Par exemple, les polypeptides en question avec une séquence d'acides aminés suivant SEQ ID NO:2 et SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:2 et SEQ ID NO:6 ou SEQ ID NO:4 et SEQ ID NO:6, peuvent atteindre une activité de récepteur par dimérisation.

Lesdits polypeptides ne doivent pas représenter un récepteur complet, mais ils peuvent ne consister qu'en des fragments de celui-ci, tant qu'ils présentent au moins encore une activité biologique du récepteur complet. Les polypeptides, qui exercent une activité augmentée ou diminuée de 50% par comparaison aux récepteurs GABA-B, étant des polypeptides avec une séquence d'acides aminés suivant SEQ ID NO:2 et SEQ ID NO:4, sont encore considérés comme intéressants. Ainsi,

les polypeptides en question ne doivent pas dériver des récepteurs GABA-B de *Drosophila melanogaster*. Dans le cadre de l'invention, on considère également des polypeptides qui correspondent aux récepteurs GABA-B des invertébrés suivants, ou à des fragments de ceux-ci, qui peuvent exercer encore l'activité biologique de ces récepteurs : arthropodes, nématodes, mollusques.

Les polypeptides intéressants peuvent présenter, par comparaison aux régions correspondantes des récepteurs GABA-B naturels, des délétions ou des substitutions d'acide aminé, tant qu'ils exercent au moins encore une activité biologique du récepteur complet. Les substitutions conservatives sont préférées. Ces substitutions conservatives comprennent les variations où un acide aminé est remplacé par un autre acide aminé du même groupe :

1. Petit reste aliphatique, non polaire ou peu polaire: Ala, Ser, Thr, Pro et Gly;
2. Reste polaire, chargé négativement et leur amide: Asp, Asn, Glu et Gln;
3. Reste polaire, chargé positivement : His, Arg et Lys;
4. Grand reste aliphatique, non polaire : Met, Leu, Ile, Val et Cys, et
5. Reste aromatique : Phe, Tyr et Trp.

La liste suivante présente les substitutions conservatives préférées:

Reste initial	Substitution
Ala	Gly, Ser
Arg	Lys

Reste initial	Substitution
Asn	Gln, His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Ala, Pro
His	Asn, Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Tyr, Ile
Phe	Met, Leu, Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp, Phe
Val	Ile, Leu

L'expression "activité biologique d'un récepteur GABA-B", telle qu'utilisée ici, signifie une liaison du GABA.

5 Les formes de réalisation préférées du polypeptide suivant l'invention sont représentées par les récepteurs GABA-B de *Drosophila melanogaster*, qui possèdent la séquence d'acides aminés suivant SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 ou SEQ ID NO: 6.

10 La présente invention met en œuvre une cellule hôte, qui contient un acide nucléique qui code pour les polypeptides définis ci-dessus.

Les acides nucléiques intéressants consistent en particulier, en des acides désoxyribonucléiques (ADN) simple brin ou double brin ou des acides ribonucléiques (ARN). Les formes de réalisation préférées sont des
5 fragments d'ADN génomique, qui peuvent contenir des introns, et des ADNc.

Les formes de réalisations préférées des acides nucléiques en question sont des ADNc qui possèdent une séquence nucléotidique suivant SEQ ID NO:
10 1, SEQ ID NO: 3 ou SEQ ID NO: 5.

Les acides nucléiques qui s'hybrident dans des conditions rigoureuses aux séquences suivant SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3 ou SEQ ID NO: 5, intéressent également la présente invention.

15 Le terme "hybrider", tel qu'utilisé ici, décrit un processus dans lequel une molécule d'acide nucléique simple brin réalise un appariement de bases avec un brin complémentaire. De cette manière, partant de l'information de séquences donnée ici, on peut isoler
20 par exemple, des fragments d'ADN d'autres insectes que *Drosophila melanogaster*, lesquels codent pour un polypeptide avec l'activité biologique des récepteurs GABA-B.

Les conditions d'hybridation préférées sont
25 données ci-après:

Solution d'hybridation : 6X SSC/formamide à 0%, solution d'hybridation préférée : 6X SSC/formamide à 25%;

Température d'hybridation : 34°C, température d'hybridation préférée : 42°C;

30 Première étape de lavage : 2X SSC à 40°C;

Deuxième étape de lavage : 2X SSC à 45°C, deuxième étape de lavage préférée : 0,6X SSC à 55°C, deuxième étape de lavage particulièrement préférée : 0,3X SSC à 65°C.

D'autre part, les acides nucléiques en question englobent ceux qui présentent une identité d'au moins 70%, de préférence une identité d'au moins 80%, de manière particulièrement préférée une identité d'au moins 90%, de manière tout particulièrement préférée une identité d'au moins 95%, avec une séquence suivant SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3 ou SEQ ID NO:5 sur une longueur d'au moins 20, de préférence au moins 25, de manière particulièrement préférée au moins 30 nucléotides successifs et de manière tout particulièrement préférée sur toute la longueur.

Le niveau d'identité de la séquence nucléique est déterminée de préférence au moyen du programme GAP du kit de programmes GCG, version 9.1, sous configuration standard.

Les séquences avec le numéro d'accès de la banque génomique (Acc N°) AC002502, AF145639 et AC004420 sont par référence des constituants de la présente description.

Dans le cadre de la présente invention, on fait d'autre part, intervenir des constructions d'ADN qui comprennent un acide nucléique intéressant et un promoteur hétérologue.

L'expression "promoteur hétérologue", telle qu'utilisée ici, se rapporte à un promoteur qui présente d'autres propriétés que le promoteur qui contrôle l'expression du gène en question dans l'organisme original. Le terme "promoteur", tel qu'utilisé ici, se

rapporte de manière générale, aux séquences qui contrôlent l'expression.

Le choix de promoteurs hétérologues dépend donc de l'utilisation pour l'expression de cellules pro-
5 ou eucaryotes ou de systèmes acellulaires. Des exemples de promoteurs hétérologues sont le promoteur précoce ou ultérieur du SV40, de l'adénovirus ou du cytomégalo-
virus, du système lac, du système trp, des régions opérateur et promoteur principales du phage
10 lambda, des régions de contrôle des protéines d'enveloppe fd, du promoteur de la 3-phosphoglycérate kinase, du promoteur de la phosphatase acide et du promoteur du facteur de croissance α de la levure.

L'invention met en oeuvre des cellules hôtes
15 qui contiennent un acide nucléique du genre décrit plus haut.

L'expression "cellule hôte", telle qu'utilisée ici, se rapporte à des cellules qui ne contiennent pas naturellement les acides nucléiques suivant
20 l'invention.

Comme cellules hôtes, conviennent non seulement les cellules procaryotes comme les bactéries des espèces *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, de préférence *E. coli*,
25 mais également les cellules eucaryotes comme les levures, cellules de mammifères, d'amphibiens, d'insectes ou de végétaux. Les cellules hôtes eucaryotes préférées sont les cellules HEK-293, S2, Sf9 de spodoptère, Kc, CHO, COS1, COS7, HeLa, C127, 3T3 ou BHK
30 et en particulier, des oocytes de xénope.

Les acides nucléiques intéressants peuvent être utilisés en particulier pour préparer des

invertébrés transgéniques. Ceux-ci peuvent être utilisés dans des systèmes de test, qui sont basés sur l'expression s'écartant du type sauvage, du polypeptide intervenant dans le cadre de l'invention. En outre, on peut préparer sur base des informations données ici, des invertébrés transgéniques, chez lesquels il se produit un changement de l'expression du polypeptide décrit dans le cadre de l'invention, par la modification d'un autre gène ou promoteur.

La préparation d'invertébrés transgéniques se fait par exemple, chez *Drosophila melanogaster*, par transfert de gène par l'intermédiaire de l'élément P (Hay et coll., 1997) ou chez *Caenorhabditis elegans*, par transfert de gène par l'intermédiaire d'un transposon (par exemple, par Tc1; Plasterk, 1996).

De préférence, les invertébrés transgéniques contiennent le polypeptide décrit dans le cadre de l'invention sous une forme qui s'écarte du type sauvage.

Pour préparer les polypeptides qui sont codés par les acides nucléiques décrits dans le cadre de l'invention, on peut mettre en culture des cellules hôtes qui contiennent l'un des acides nucléiques suivant l'invention, dans des conditions appropriées. De plus, l'acide nucléique à exprimer peut être adapté aux "habitudes de codon" de la cellule hôte. Les polypeptides souhaités peuvent donc être isolés de manière usuelle des cellules ou du milieu de culture. Les polypeptides peuvent également être préparés dans des systèmes *in vitro*.

Un procédé rapide d'isolement des polypeptides en question, qui sont synthétisés à partir de cellules hôtes en utilisant un acide nucléique décrit

dans le cadre de l'invention, commence par l'expression d'une protéine de fusion, où le partenaire de fusion peut être purifié par affinité de manière aisée. Le partenaire de fusion peut être par exemple, la glutathion S-transférase. La protéine de fusion peut alors être purifiée sur une colonne d'affinité au glutathion. Le partenaire de fusion peut être séparé par clivage protéolytique partiel, par exemple au lieu entre le partenaire de fusion et le polypeptide suivant l'invention à purifier. Le lieu peut se présenter de sorte qu'il renferme un acide aminé visé tel qu'un reste arginine ou lysine, qui définit l'endroit de clivage par la trypsine. Pour produire un tel lieu, on peut mettre en œuvre les procédés standards de clonage en utilisant des oligonucléotides.

D'autres procédés possibles de purification sont basés sur l'électrophorèse préparative, la FPLC, la HPLC (par exemple en utilisant des colonnes de filtration sur gel, en phase inverse ou faiblement hydrophobes), la filtration sur gel, la précipitation différentielle, la chromatographie par échange d'ions et la chromatographie d'affinité.

Parce que les récepteurs GABA-B sont des protéines de membrane, on réalise de préférence dans le procédé de purification, une extraction par détergent, par exemple en utilisant des détergents qui n'influencent pas ou peu les structures secondaire et tertiaire des polypeptides, comme des détergents non ioniques.

La purification des polypeptides décrits dans le cadre de l'invention peut comprendre l'isolement de membranes au départ des cellules hôtes qui expriment

l'acide nucléique également décrit dans le cadre de l'invention. De préférence, ces cellules expriment le polypeptide suivant l'invention en un nombre de copie suffisant pour que la quantité du polypeptide dans une fraction membranaire soit d'au moins 10 fois supérieure à celle que l'on trouve dans des membranes comparatives de cellules qui expriment naturellement les récepteurs GABA-B; on préfère en particulier, des quantités d'au moins 100 fois, de manière particulièrement préférée au moins 1000 fois supérieures.

Le terme "isolement ou purification", tel qu'utilisé ici, signifie que les polypeptides en question sont séparés des autres protéines ou autres macromolécules de la cellule ou du tissu. De préférence, une composition contenant lesdits polypeptides, est enrichie en ceux-ci d'au moins 10 fois, et de manière particulièrement préférée d'au moins 100 fois, au niveau de la teneur protéinique par rapport à une préparation de la cellule hôte.

Les polypeptides intéressants peuvent également être purifiés par affinité sans partenaire de fusion, à l'aide d'anticorps qui se lient aux polypeptides.

Les acides nucléiques qui codent ces polypeptides, peuvent être préparés par les manières usuelles. Par exemple, les molécules d'acide nucléique peuvent être complètement chimiquement synthétisées. On peut également ne synthétiser chimiquement que de courts morceaux des séquences suivant l'invention et marquer ces oligonucléotides, de manière radioactive ou avec un colorant fluorescent. Les oligonucléotides marqués peuvent être utilisés pour rechercher des banques d'ADNc

2000/0726

préparées en partant d'ARNm d'insectes, ou des banques
génomiques préparées en partant d'ADN génomique
d'insecte. Les clones, sur lesquels les oligonucléotides
marqués s'hybrident, sont choisis pour isoler l'ADN
5 considéré. Après la caractérisation de l'ADN isolé, on
obtient de manière simple, les acides nucléiques.

Les acides nucléiques en question peuvent
également être préparés au moyen du procédé ACP
(amplification en chaîne par polymérase, ou PCR) en
10 utilisant des oligonucléotides chimiquement synthétisés.

Le terme "oligonucléotide", tel qu'utilisé
ici, signifie une molécule d'ADN, qui consiste en 10 à
50, de préférence 15 à 30 nucléotides. Ils sont
synthétisés chimiquement et peuvent être utilisés comme
15 sondes.

A l'aide des acides nucléiques ou des
polypeptides décrits précédemment, on peut identifier de
nouveaux agents actifs pour la protection des végétaux
ou des agents actifs pharmaceutiques pour le traitement
20 des hommes et des animaux, comme des composés chimiques
tels que des modulateurs, en particulier des agonistes
ou antagonistes, qui modifient les propriétés des
récepteurs GABA-B suivant l'invention. Pour cela, on
introduit une molécule d'ADN recombinée, qui comprend au
25 moins un acide nucléique suivant l'invention, dans une
cellule hôte appropriée. La cellule hôte est cultivée en
présence d'un composé ou d'un échantillon qui contient
un certain nombre de composés, dans des conditions qui
permettent l'expression des récepteurs suivant
30 l'invention. Une modification des propriétés du
récepteur peut par exemple être détectée comme décrit
ci-après à l'exemple 2. De cette manière, il est

2000/0726

possible de découvrir par exemple, des substances insecticides.

Les récepteurs GABA-B modifient de préférence après activation, la concentration du cAMP intracellulaire par une interaction avec les protéines G. Des modifications des propriétés du récepteur par des composés chimiques peuvent par conséquent, être mesurées après expression hétérologue, par exemple par mesure de la concentration en cAMP intracellulaire, directement au moyen d'un système de dosage ELISA (Biomol, Hambourg, Allemagne) ou d'un système de dosage RIA (NEN, Schwalbach, Allemagne) en format HTS. Une mesure indirecte de la concentration en cAMP est possible à l'aide de gènes reporters (par exemple, la luciférase), dont l'expression dépend de la concentration en cAMP (Stratowa et coll., 1995). La coexpression des récepteurs GABA-B avec des protéines G particulières, par exemple G α 15, G α 15 ou des protéines G chimères, dans des systèmes hétérologues et la mesure de l'augmentation du calcium, par exemple avec des colorants fluorescents ou l'équorine, est une autre possibilité de criblage (Stables et coll., 1997; Conklin et coll., 1993).

D'autre part, la liaison du GTP à la protéine G activée comme système de lecture, peut être prise en considération pour le test de substances. De même, des expériences de liaison avec du GABA marqué peuvent être mises en œuvre pour le criblage.

Le terme "agoniste", tel qu'utilisé ici, se rapporte à une molécule qui active les récepteurs GABA-B.

2000/0726

Le terme "antagoniste", tel qu'utilisé ici, se rapporte à une molécule qui déplace un agoniste de son site de liaison.

Le terme "modulateur", tel qu'utilisé ici, est le terme générique de agoniste et antagoniste. Les modulateurs peuvent être de petites molécules organochimiques, des peptides ou des anticorps, qui se lient au polypeptide suivant l'invention. De plus, les modulateurs peuvent être de petites molécules organochimiques, des peptides ou des anticorps, qui se lient à une molécule qui se lie à son tour, au polypeptide suivant l'invention, et ils influencent ainsi son activité biologique. Les modulateurs peuvent être des mimétiques de substrats et ligands naturels.

De préférence, les modulateurs consistent en de petits composés organochimiques.

La liaison du modulateur au polypeptide suivant l'invention peut modifier le processus cellulaire de sorte que cela conduise à la mort de l'insecte traité.

Par conséquent, la présente invention s'étend également à l'utilisation de modulateurs des polypeptides suivant l'invention, comme insecticide.

Les acides nucléiques ou polypeptides décrits dans le cadre de l'invention rendent possible également, le recherche de composés qui se lient aux récepteurs suivant l'invention. Ceux-ci peuvent également être employés comme insecticides sur les plantes. Par exemple, on met en contact des cellules hôtes, qui contiennent l'acide nucléique en question et qui expriment les récepteurs ou polypeptides correspondants ou les produits géniques eux-mêmes avec un composé ou un

mélange de composés, dans des conditions qui permettent l'interaction d'au moins un composé avec les cellules hôtes, les récepteurs ou les polypeptides individuels.

En utilisant des cellules hôtes ou des
5 invertébrés transgéniques, qui contiennent lesdits acides nucléiques, il est possible également de trouver des substances qui modifient l'expression des récepteurs.

Les acides nucléiques, vecteurs et régions de
10 régulation, décrits ci-dessus, peuvent en outre, être utilisés pour découvrir des gènes qui codent pour les polypeptides qui participent à l'élaboration de récepteurs GABA-B fonctionnellement similaires chez les insectes. Par récepteurs fonctionnellement similaires,
15 il convient de comprendre, des récepteurs qui comprennent les polypeptides, qui se différencient en ce qui concerne la séquence des acides aminés, des polypeptides décrits ici, mais qui ont essentiellement, les mêmes fonctions.

20

Explications du protocole de séquence et des figures.

Les SEQ ID N°:1, SEQ ID N°:3 et SEQ ID N°:5
présentent les séquences nucléotidiques et d'acides
aminés des ADNC de GABA-B isolés. Les SEQ ID N°:2, SEQ
25 ID N°:4 et SEQ ID N°:6 montrent en outre, les séquences d'acides aminés des protéines dérivées des séquences d'ADNC de GABA-B.

La Fig. 1 présente une courbe de dose-
activité du GABA et du 3-APMPA sur les récepteurs GABA-B
30 de drosophile, consistant en les polypeptides comportant les séquences d'acides aminés suivant SEQ ID N°:2 et SEQ ID N°:4, exprimés dans des oocytes de xénope.

La Fig. 2 montre le couplage fonctionnel des récepteurs D-GABA-B R1/R2 coexprimés, consistant en les polypeptides comportant les séquences d'acides aminés suivant SEQ ID N°:2 et SEQ ID N°:4 sur le système cAMP intracellulaire. Des cellules HEK293 Luc transfectées par le D-GABA-B R1/R2, stables, (D-GABA R1/2) et des cellules témoin non transfectées (témoin) sont stimulées avec de la forskoline, de la forskoline et du GABA, mais également avec du GABA seulement et on mesure la concentration intracellulaire en cAMP. Les cellules transfectées par le D-GABA-B R1/2 présentent une nette réduction de la réponse cAMP induite par la forskoline, alors que les cellules témoin ne réagissent pas.

15 Exemples.

Exemple 1.

Isolement des séquences polynucléotidiques décrites.

La manipulation des polynucléotides est réalisée d'après les procédés standard de la technologie de l'ADN recombiné (Sambrook et coll., 1989). Le traitement bioinformatique des séquences nucléotidiques et protéiniques se fait par le kit de programmes GCG, version 9.1 (GCG Genetics Computer Group, Inc., Madison Wisconsin, USA).

Exemple 2.Génération de la construction d'expression.

Au moyen de l'amplification en chaîne par polymérase (ACP), on amplifie les domaines de séquence de SEQ ID N°:1, SEQ ID N°:3 et SEQ ID N°:5 et on les clones dans le vecteur pcDNA3.1/Neo (Invitrogen, Groningen).

Expression hétérologue.

On cultive des cellules HEK293 dans du milieu Eagles modifié par Dulbecco et dans du sérum fœtal de veau à 10% et CO₂ à 5% à 37°C. Pour le transfert de gène, on utilise du MBS (Stratagene, La Jolla, USA) d'après les indications du fabricant. 24 à 48 heures après le transfert génique, on divise les cellules en différentes densités dans des plaques de microtitrage. Les cellules modifiées par technique génétique sont sélectionnées par croissance dans du milieu Eagles modifié par Dulbecco et dans du sérum fœtal de veau à 10% et généticine 700 µg/ml (G418, Life Technologies, Karlsruhe) comme marqueur de sélection pendant 3 à 4 semaines. Les clones individuels résistants sont analysés comme décrit ci-dessous.

L'expression fonctionnelle des récepteurs GABA-B d'insectes est également réalisée dans des oocytes de xénope. Pour cela, on coexprime des canaux à potassium activables par des protéines G (GIRK1 et GIRK4) pour mesurer l'activation des récepteurs GABA-B (White et coll., 1998).

Mesures du cAMP.

Pour déterminer la concentration en cAMP, on utilise des souches de cellules HEK293. D'une part, des cellules HEK293 expriment de manière stable, les deux récepteurs D-GABA-B R1 et D-GABA-B R2 (D-GABA-B R1/2) de *Drosophila melanogaster*. D'autre part, on introduit dans le test, des cellules témoin non transfectées (témoin). On étale les cellules, chaque fois en une densité de 20 000 cellules par cavité sur des plaques à 96 puits. Les cellules témoin sont incubées dans du milieu de culture (DMEM, FCS 10%, pénicilline et streptomycine, 50 U/ml et 50 µg/ml (Life Technologies)) et les cellules exprimant le D-GABA-B R1/2 dans du milieu de sélection (milieu de culture avec généticine à 0,5 mg/ml (G418, Life Technologies)) pendant 48 heures à 37°C jusqu'à une densité cellulaire d'environ 80%. On enlève alors le milieu et on lave une fois les cellules avec du DMEM sans addition. Après une incubation de 30 minutes avec du IBMX (300 µM) à 37°C, on réalise une stimulation de 30 minutes avec du GABA (100 µM) et/ou de la forskoline (10 µM) à 37°C. Toutes les étapes d'incubation sont effectuées dans du DMEM (Life Technologies) sans addition. Ensuite, on élimine le milieu de stimulation et on lyse les cellules avec 50 µl de HCl (0,1 N) par cavité. On lyse les cellules pendant 20 minutes à température ambiante sous agitation et on détermine la concentration en cAMP du lysat cellulaire en triple avec le kit de dosage immunoenzymatique (EIA) AK-200 (Biomol, Hambourg, Allemagne) en suivant la description du fabricant.

Mesures des oocytes.

1. Préparation des oocytes.

Les oocytes proviennent d'une grenouille femelle adulte *Xenopus laevis* (société Horst Kähler, 5 Hambourg, Allemagne). Les grenouilles sont conservées dans de grands réservoirs avec de l'eau en circulation à une température de l'eau de 20-24°C. Une partie des ovaires de grenouilles sont prélevés sous anesthésie complète par une petite incision dans l'abdomen (environ 10 1 cm). Ensuite, on traite l'ovaire sous agitation constante pendant environ 140 minutes dans 25 ml de collagénase (type I, C-0130, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Allemagne; 355 U/ml, dans une solution de Barth sans calcium, avec en mM: NaCl 88, KCl 1, MgSO₄ 15 0,82, NaHCO₃ 2,4, Tris/HCl 5, pH 7,4). Les oocytes sont alors lavés par la solution de Barth sans calcium. Seuls les oocytes au stade de maturation V (Dumont, 1972) sont choisis pour un autre traitement et placés dans des plaques de microtitrage (plaques Nunc MicroWell™, cat. 20 N° 245128 + 263339 (couvercle), Nunc GmbH & Co. KG, Wiesbaden, Allemagne), remplies de solution de Barth (en mM: NaCl 88, KCl 1, MgSO₄ 0,82, Ca(NO₃)₂ 0,33, CaCl₂ 0,41, NaHCO₃ 2,4, Tris/HCl 5, pH 7,4) ainsi que de gentamicine (sulfate de gentamicine, G-3632, Sigma-Aldrich Chemie 25 GmbH, Deisenhofen, Allemagne; 100 U/ml). Les oocytes sont alors conservés à 19,2°C dans une étuve d'incubation froide (Type KB 53, WTB Binder Labortechnik GmbH, Tuttlingen, Allemagne).

30 2. Injection des oocytes.

On prépare des électrodes d'injection ayant un diamètre de 10-15 µm avec un étireur de pipette (type

L/M-3P-A, List-electronic, Darmstadt-Eberstadt, Allemagne). Avant l'injection, on dégèle des aliquotes avec de l'ADN de D-GABA-B ou de l'ADN GIRK1/4 et on dilue avec de l'eau jusqu'à une concentration finale de 5 10 ng/ μ l. Les sondes d'ADN sont centrifugées à 3200 g pendant 120 secondes (type Biofuge 13, Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Allemagne). Ensuite, on utilise un tuyau en PE étiré comme tuyau de transfert, pour remplir les pipettes par l'arrière. Les électrodes 10 d'injection sont fixées sur une unité de procédure X,Y,Z (centre de traitement EP1090, isel-automation, Eiterfeld, Allemagne). Au moyen d'un ordinateur Macintosh, on accroche les oocytes dans les puits des plaques de microtitrage et on injecte environ 50 nl de 15 la solution d'ADN dans les oocytes par brève application de pression (0,5-0,3 bar, 3-6 secondes).

3. Mesures électrophysiologiques.

Pour les mesures électrophysiologiques, une 20 pince de tension à deux électrodes est réalisée avec un amplificateur TURBO TEC-10CD (npi electronic GmbH, Tamm, Allemgane). Les micropipettes utilisées pour cela sont étirées à partir de verre en silicate d'aluminium (tube capillaire Art.-n° 14 630 29, l=100 mm, $\varnothing_e = 1,60$ mm, $\varnothing_i = 1,22$ mm, Hilgenberg GmbH, Malsfeld, Allemagne) en deux 25 séquences (Hamill et coll., 1981). Les électrodes de courant et de tension ont un diamètre de 1-3 μ m et sont remplies de KCl 1,5 M et acétate de potassium 1,5 M. Les pipettes ont une résistance capacitive de 0,2-0,5 MW. 30 Pour les mesures électrophysiologiques, on fait passer les oocytes dans une petite chambre qui est rincée continuellement d'une solution Rimland normale (en mM:

KCl 90, MgCl₂ 3, HEPES 5, pH 7,2). Pour l'application d'une substance, on remplace la solution de perfusion par une solution de la substance avec une composition identique et en plus, la concentration souhaitée de la substance. Pour un potentiel de pince de -60 mV, l'expression satisfaisante de l'ADN D-GABA-B est vérifiée après une semaine. Les oocytes n'ayant pas réagi sont rejetés. Tous les autres sont utilisés pour le test de substance. Les données sont imprimées au moyen d'un stylo YT (stylo YT, modèle BD 111, Kipp & Zonen Delft BV, AM Delft, Pays-Bas). Lorsque les substances test sont examinées dans une série de concentration, les mesures sont effectuées sur au moins deux oocytes différents et sur au moins cinq concentrations différentes. Les substances sont testées directement et sans préincubation, en présence de GABA (acide gamma-amino-N-butyrique, A2129, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Allemagne) pour leur antagoniste. Les valeurs sont introduites dans Origin (logiciel d'exploitation Microcal Origin, Microcal Software, Inc., Northampton, MA 01060-4410 USA) (Additive GmbH, Friedrichsdorf/Ts, Allemagne). La valeur moyenne, la déviation standard, la valeur CI₅₀ et la courbe CI₅₀ sont calculés par Origin. Ces mesures sont réalisées au moins en double.

Littérature.

Conklin et coll. (1993) Substitution of three amino acids switches receptor specificity of Gq alpha to that of Gi alpha, Nature 363, 274-276.

Devereux et coll. (1984) Nucleic Acids Research 12, 387.

Dumont, J.N. (1972) Oogenesis in *Xenopus laevis* (Daudin). 1. Stages of oocyte development in laboratory maintained animals, *J. Morphol.* 136, 153-180.

5

Fukunaga, A. et coll. (1999) Insecticidal properties of 3-aminopropyl(methyl)phosphinic acid and its effect on K⁺-evoked release of acetylcholine from cockroach synaptosomes, *Comp. Biochem. and Physiol. Part C* 122, 283-286.

10

French-Constant, R.H. et coll. (1991) Molecular cloning and transformation of cyclodiene resistance in *Drosophila*: an invertebrate gamma-aminobutyric acid subtype A receptor locus, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 88, 7209-7213.

15

Hamill, O.P. et coll. (1981) Improves patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches, *Pfugers Arch.* 391, 85-100.

20

Harvey, R.J. et coll. (1994) Sequence of a *Drosophila* ligand-gated ion-channel polypeptide with an unusual amino-terminal extracellular domain, *J. Neurochem.* 62, 2480-2483.

25

Hay et coll. (1997) P element insertion-dependent gene activation in the *Drosophila* eye, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94 (10), 5195-5200.

30

- Henderson, J.E. et coll. (1993) Characterization of a putative gamma-aminobutyric acid (GABA) receptor beta subunit gene from *Drosophila melanogaster*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 193, 474-482.
- 5
- Jones K.A. et coll. (1998) GABA(B) receptors function as a heteromeric assembly of the subunits GABA(B)R1 and GABA(B)R2, *Nature* 396, 674-679.
- 10
- Kaupmann K. et coll. (1998) GABA(B)-receptor subtypes assemble into functional heteromeric complexes, *Nature* 396, 683-687.
- Plasterk (1996) The Tc1/mariner transposon family, *Transposable Elements/Current Topics in Microbiology and Immunology* 204, 125-143.
- 15
- Sambrook et coll. (1989) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbour Press.
- 20
- Sattelle D.B. (1990) GABA Receptors of Insects, *Advances in Insect Physiology* 22, 1-113.
- Stables et coll. (1997) A Bioluminescent Assay for Agonist Activity at Potentially Any G-Protein coupled Receptor, *Analytical Biochemistry* 252, 115-126.
- 25
- Stratowa C. et coll. (1995) Use of a luciferase reporter system for characterizing G-protein-linked receptors, *Current Opinion in Biotechnology* 6, 574-581.
- 30

2000/0726

25

White J.H. et coll. (1998) Heterodimerization is required for the formulation of a functional GABA(B)receptor, Nature 396, 679-682.

PROTOCOLE DE SEQUENCE

<110> Bayer Aktiengesellschaft

<120> Récepteurs GABA-B

<130> Le A 34 074

<140>

<141>

<150> DE 199 55 408.0

<151> 1999-11-18

<160> 6

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 2523

<212> DNA

<213> Drosophila melanogaster

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2520)

<400> 1

atg cgc aaa gat atg aca agt gat ggt gct gtt acg ttt tgg ata ttt 48
 Met Arg Lys Asp Met Thr Ser Asp Gly Ala Val Thr Phe Trp Ile Phe
 1 5 10 15

ttg ctt tgt tta atc gcc tcg ccg cac ctg caa ggg ggc gtg gcc ggg 96
 Leu Leu Cys Leu Ile Ala Ser Pro His Leu Gln Gly Gly Val Ala Gly
 20 25 30

agg ccc gat gaa ctg cac atc ggc ggc atc ttt ccg ata gcc ggc aaa 144
 Arg Pro Asp Glu Leu His Ile Gly Gly Ile Phe Pro Ile Ala Gly Lys
 35 40 45

gga gga tgg cag ggc ggc cag gcg tgt atg cct gcc aca aga ctg gcg 192
 Gly Gly Trp Gln Gly Gly Gln Ala Cys Met Pro Ala Thr Arg Leu Ala
 50 55 60

ttg gat gat gtc aac aag cag ccg aat ctg ctg ccg ggc ttc aag ctc 240
 Leu Asp Asp Val Asn Lys Gln Pro Asn Leu Leu Pro Gly Phe Lys Leu
 65 70 75 80

atc ctg cac agc aac gac agc gag tgt gag ccc ggt ttg ggc gcc agc 288
 Ile Leu His Ser Asn Asp Ser Glu Cys Glu Pro Gly Leu Gly Ala Ser
 85 90 95

gtg atg tac aat ctg ctc tat aat aaa ccg caa aag ctg atg ctg ttg 336
 Val Met Tyr Asn Leu Leu Tyr Asn Lys Pro Gln Lys Leu Met Leu Leu
 100 105 110

gca gga tgc agc acg gtc tgc acc act gta gcc gag gct gcc aaa atg 384
 Ala Gly Cys Ser Thr Val Cys Thr Thr Val Ala Glu Ala Ala Lys Met
 115 120 125

tgg aat cta att gtg ctc tgc tac ggg gcc tcg agt ccg gct ctt tcg 432
 Trp Asn Leu Ile Val Leu Cys Tyr Gly Ala Ser Ser Pro Ala Leu Ser
 130 135 140

gat cgc aaa cga ttc ccc act cta ttc cgc acc cat cca tcg gcc acg 480
 Asp Arg Lys Arg Phe Pro Thr Leu Phe Arg Thr His Pro Ser Ala Thr
 145 150 155 160

gtg cac aat cca acg cgc atc aag ctg atg aag aaa ttc ggc tgg tcc 528
 Val His Asn Pro Thr Arg Ile Lys Leu Met Lys Lys Phe Gly Trp Ser
 165 170 175

cgg gtg gcc att ctg cag cag gcg gag gag gtc ttt ata tcg acc gta 576
 Arg Val Ala Ile Leu Gln Gln Ala Glu Glu Val Phe Ile Ser Thr Val
 180 185 190

gag gat ctc gag aat cga tgc atg gag gct ggc gtt gaa atc gta act 624
 Glu Asp Leu Glu Asn Arg Cys Met Glu Ala Gly Val Glu Ile Val Thr
 195 200 205

aga caa tca ttt cta tcc gat cca aca gac gcc gtg cgc aat ttg cga 672
 Arg Gln Ser Phe Leu Ser Asp Pro Thr Asp Ala Val Arg Asn Leu Arg
 210 215 220

cgc cag gat gca cgc atc att gtg gga ctc ttc tat gtg gtg gcc gcc 720
 Arg Gln Asp Ala Arg Ile Ile Val Gly Leu Phe Tyr Val Val Ala Ala
 225 230 235 240

agg agg gtg ctc tgc gaa atg tac aaa cag cag cta tat ggc cga gct 768
 Arg Arg Val Leu Cys Glu Met Tyr Lys Gln Gln Leu Tyr Gly Arg Ala
 245 250 255

cat gtg tgg ttc ttt att ggc tgg tac gag gac aac tgg tac gag gtg 816
 His Val Trp Phe Phe Ile Gly Trp Tyr Glu Asp Asn Trp Tyr Glu Val
 260 265 270

aat ctg aaa gca gag ggc atc acc tgc act gtt gaa cag atg cga ata	864
Asn Leu Lys Ala Glu Gly Ile Thr Cys Thr Val Glu Gln Met Arg Ile	
275	280 285
gct gcc gaa gga cat ctg aca acg gaa gcg ctc atg tgg aat cag aac	912
Ala Ala Glu Gly His Leu Thr Thr Glu Ala Leu Met Trp Asn Gln Asn	
290	295 300
aat cag aca act ata tcc gga atg act gca gag gaa ttt cga cat cga	960
Asn Gln Thr Thr Ile Ser Gly Met Thr Ala Glu Glu Phe Arg His Arg	
305	310 315 320
ctg aat cag gcg cta atc gag gag ggt tac gac att aac cac gat cgc	1008
Leu Asn Gln Ala Leu Ile Glu Glu Gly Tyr Asp Ile Asn His Asp Arg	
325	330 335
tat ccg gag gga tat cag gag gcg cca ctc gcc tac gat gca gtg tgg	1056
Tyr Pro Glu Gly Tyr Gln Glu Ala Pro Leu Ala Tyr Asp Ala Val Trp	
340	345 350
agt gtg gct ttg gct ttc aac aag acc atg gaa cga ttg aca acc ggg	1104
Ser Val Ala Leu Ala Phe Asn Lys Thr Met Glu Arg Leu Thr Thr Gly	
355	360 365
aag aaa tct ctg agg gat ttt acc tat acg gac aag gag att gcc gat	1152
Lys Lys Ser Leu Arg Asp Phe Thr Tyr Thr Asp Lys Glu Ile Ala Asp	
370	375 380
gaa atc tac gct gcc atg aac tcc aca caa ttt ctg ggt gta tcg ggt	1200
Glu Ile Tyr Ala Ala Met Asn Ser Thr Gln Phe Leu Gly Val Ser Gly	
385	390 395 400
gtg gtg gca ttc agt tct cag ggc gat cgt att gct ctt aca cag atc	1248
Val Val Ala Phe Ser Ser Gln Gly Asp Arg Ile Ala Leu Thr Gln Ile	
405	410 415
gaa cag atg ata gac ggc aag tac gag aag ttg ggt tac tac gat act	1296
Glu Gln Met Ile Asp Gly Lys Tyr Glu Lys Leu Gly Tyr Tyr Asp Thr	
420	425 430
cag ttg gat aac cta tcc tgg ttg aat act gaa cag tgg att ggt ggc	1344
Gln Leu Asp Asn Leu Ser Trp Leu Asn Thr Glu Gln Trp Ile Gly Gly	
435	440 445
aag gtt cct caa gat cgc aca att gtc acc cat gtt cta cgc acc gtg	1392
Lys Val Pro Gln Asp Arg Thr Ile Val Thr His Val Leu Arg Thr Val	
450	455 460

2000/0726

29

tcc ttg cca tta ttt gtg tgc atg tgc aca ata tcc agt tgt ggc ata 1440
Ser Leu Pro Leu Phe Val Cys Met Cys Thr Ile Ser Ser Cys Gly Ile
465 470 475 480

ttc gtt gcc ttc gcc ttg atc atc ttt aat ata tgg aat aag cat aga 1488
Phe Val Ala Phe Ala Leu Ile Ile Phe Asn Ile Trp Asn Lys His Arg
485 490 495

aga gta ata caa tcc tcg cat ccc gtt tgc aat acg atc atg tta ttt 1536
Arg Val Ile Gln Ser Ser His Pro Val Cys Asn Thr Ile Met Leu Phe
500 505 510

ggt gtc atc atc tgt cta ata tct gtc atc tta ctg ggc atc gac gga 1584
Gly Val Ile Ile Cys Leu Ile Ser Val Ile Leu Leu Gly Ile Asp Gly
515 520 525

cgc ttt gtc agc ccc gag gaa tat cca aag ata tgt caa gcg cgg gct 1632
Arg Phe Val Ser Pro Glu Glu Tyr Pro Lys Ile Cys Gln Ala Arg Ala
530 535 540

tgg tta cta tcc acc ggt ttt aca cta gca tac ggt gct atg ttc agc 1680
Trp Leu Leu Ser Thr Gly Phe Thr Leu Ala Tyr Gly Ala Met Phe Ser
545 550 555 560

aag gtc tgg cgt gtg cat cgt ttt aca aca aaa gca aaa act gac cca 1728
Lys Val Trp Arg Val His Arg Phe Thr Thr Lys Ala Lys Thr Asp Pro
565 570 575

aag aaa aaa gtg gaa cct tgg aag cta tac acc atg gtt tcg ggg cta 1776
Lys Lys Lys Val Glu Pro Trp Lys Leu Tyr Thr Met Val Ser Gly Leu
580 585 590

tta tca ata gat tta gtg ata tta ctc tca tgg cag atc ttt gat ccg 1824
Leu Ser Ile Asp Leu Val Ile Leu Leu Ser Trp Gln Ile Phe Asp Pro
595 600 605

ctg cag cgt tat ctc gaa aca ttc cca ctc gaa gat cca gta tct act 1872
Leu Gln Arg Tyr Leu Glu Thr Phe Pro Leu Glu Asp Pro Val Ser Thr
610 615 620

act gat gat att aaa ata cgt cca gag ctt gag cat tgt gaa agt caa 1920
Thr Asp Asp Ile Lys Ile Arg Pro Glu Leu Glu His Cys Glu Ser Gln
625 630 635 640

cgc aac tcc atg tgg ttg ggt ctt gta tac ggc ttc aag ggg cta atc 1968
Arg Asn Ser Met Trp Leu Gly Leu Val Tyr Gly Phe Lys Gly Leu Ile
645 650 655

ctg gtg ttt ggc ctc ttt ttg gcg tac gag acg cgc tcc att aaa gtg 2016
 Leu Val Phe Gly Leu Phe Leu Ala Tyr Glu Thr Arg Ser Ile Lys Val
 660 665 670

aaa cag atc aac gat tcg cgt tat gtg ggc atg agc atc tat aac gtg 2064
 Lys Gln Ile Asn Asp Ser Arg Tyr Val Gly Met Ser Ile Tyr Asn Val
 675 680 685

gtc gtc ctt tgc ctg ata aca gct ccg gtg ggc atg gtc att gca tcg 2112
 Val Val Leu Cys Leu Ile Thr Ala Pro Val Gly Met Val Ile Ala Ser
 690 695 700

caa cag gac gcg tcc ttt gcc ttc gtt gct cta gct gtg ata ttc tgt 2160
 Gln Gln Asp Ala Ser Phe Ala Phe Val Ala Leu Ala Val Ile Phe Cys
 705 710 715 720

tgt ttc cta agc atg ctg ctg ata ttt gtg cca aag gtc att gag gtt 2208
 Cys Phe Leu Ser Met Leu Leu Ile Phe Val Pro Lys Val Ile Glu Val
 725 730 735

ata cgt cat ccc aag gat aag gcc gaa tcg aaa tac aat ccc gat tca 2256
 Ile Arg His Pro Lys Asp Lys Ala Glu Ser Lys Tyr Asn Pro Asp Ser
 740 745 750

gcc ata tcg aaa gag gac gaa gaa cgc tat cag aaa ctt gtt acc gaa 2304
 Ala Ile Ser Lys Glu Asp Glu Glu Arg Tyr Gln Lys Leu Val Thr Glu
 755 760 765

aac gag caa ttg caa cga tta ata aca cag aag gag gaa aag att cga 2352
 Asn Glu Gln Leu Gln Arg Leu Ile Thr Gln Lys Glu Glu Lys Ile Arg
 770 775 780

gtc ctg cga cag cgt ctg gtg gag cgg ggc gac gcc aag ggc aca gaa 2400
 Val Leu Arg Gln Arg Leu Val Glu Arg Gly Asp Ala Lys Gly Thr Glu
 785 790 795 800

ctg aat ggt gca aca ggt gtc gcc tcc gcc gcc gtt gca aca act tcg 2448
 Leu Asn Gly Ala Thr Gly Val Ala Ser Ala Ala Val Ala Thr Thr Ser
 805 810 815

cag ccc gct tcc ctc atc aac tca tca gca cat gcc acg ccc gca gcc 2496
 Gln Pro Ala Ser Leu Ile Asn Ser Ser Ala His Ala Thr Pro Ala Ala
 820 825 830

aca ctc gca atc aca caa ggt gag tag 2523
 Thr Leu Ala Ile Thr Gln Gly Glu
 835 840

<210> 2

<211> 840

<212> PRT

<213> Drosophila melanogaster

<400> 2

Met Arg Lys Asp Met Thr Ser Asp Gly Ala Val Thr Phe Trp Ile Phe
 1 5 10 15

Leu Leu Cys Leu Ile Ala Ser Pro His Leu Gln Gly Gly Val Ala Gly
 20 25 30

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

Gly Gly Trp Gln Gly Gly Gln Ala Cys Met Pro Ala Thr Arg Leu Ala
 50 55 60

Leu Asp Asp Val Asn Lys Gln Pro Asn Leu Leu Pro Gly Phe Lys Leu
 65 70 75 80

Ile Leu His Ser Asn Asp Ser Glu Cys Glu Pro Gly Leu Gly Ala Ser
 85 90 95

Val Met Tyr Asn Leu Leu Tyr Asn Lys Pro Gln Lys Leu Met Leu Leu
 100 105 110

Ala Gly Cys Ser Thr Val Cys Thr Thr Val Ala Glu Ala Ala Lys Met
 115 120 125

Trp Asn Leu Ile Val Leu Cys Tyr Gly Ala Ser Ser Pro Ala Leu Ser
 130 135 140

Asp Arg Lys Arg Phe Pro Thr Leu Phe Arg Thr His Pro Ser Ala Thr
 145 150 155 160

Val His Asn Pro Thr Arg Ile Lys Leu Met Lys Lys Phe Gly Trp Ser
 165 170 175

Arg Val Ala Ile Leu Gln Gln Ala Glu Glu Val Phe Ile Ser Thr Val
 180 185 190

Glu Asp Leu Glu Asn Arg Cys Met Glu Ala Gly Val Glu Ile Val Thr
 195 200 205

Arg Gln Ser Phe Leu Ser Asp Pro Thr Asp Ala Val Arg Asn Leu Arg
 210 215 220

2000/0726

32

Arg Gln Asp Ala Arg Ile Ile Val Gly Leu Phe Tyr Val Val Ala Ala
225 230 235 240

Arg Arg Val Leu Cys Glu Met Tyr Lys Gln Gln Leu Tyr Gly Arg Ala
245 250 255

His Val Trp Phe Phe Ile Gly Trp Tyr Glu Asp Asn Trp Tyr Glu Val
260 265 270

Asn Leu Lys Ala Glu Gly Ile Thr Cys Thr Val Glu Gln Met Arg Ile
275 280 285

Ala Ala Glu Gly His Leu Thr Thr Glu Ala Leu Met Trp Asn Gln Asn
290 295 300

Asn Gln Thr Thr Ile Ser Gly Met Thr Ala Glu Glu Phe Arg His Arg
305 310 315 320

Leu Asn Gln Ala Leu Ile Glu Glu Gly Tyr Asp Ile Asn His Asp Arg
325 330 335

Tyr Pro Glu Gly Tyr Gln Glu Ala Pro Leu Ala Tyr Asp Ala Val Trp
340 345 350

Ser Val Ala Leu Ala Phe Asn Lys Thr Met Glu Arg Leu Thr Thr Gly
355 360 365

Lys Lys Ser Leu Arg Asp Phe Thr Tyr Thr Asp Lys Glu Ile Ala Asp
370 375 380

Glu Ile Tyr Ala Ala Met Asn Ser Thr Gln Phe Leu Gly Val Ser Gly
385 390 395 400

Val Val Ala Phe Ser Ser Gln Gly Asp Arg Ile Ala Leu Thr Gln Ile
405 410 415

Glu Gln Met Ile Asp Gly Lys Tyr Glu Lys Leu Gly Tyr Tyr Asp Thr
420 425 430

Gln Leu Asp Asn Leu Ser Trp Leu Asn Thr Glu Gln Trp Ile Gly Gly
435 440 445

Lys Val Pro Gln Asp Arg Thr Ile Val Thr His Val Leu Arg Thr Val
450 455 460

Ser Leu Pro Leu Phe Val Cys Met Cys Thr Ile Ser Ser Cys Gly Ile
465 470 475 480

Phe Val Ala Phe Ala Leu Ile Ile Phe Asn Ile Trp Asn Lys His Arg
 485 490 495

Arg Val Ile Gln Ser Ser His Pro Val Cys Asn Thr Ile Met Leu Phe
 500 505 510

Gly Val Ile Ile Cys Leu Ile Ser Val Ile Leu Leu Gly Ile Asp Gly
 515 520 525

Arg Phe Val Ser Pro Glu Glu Tyr Pro Lys Ile Cys Gln Ala Arg Ala
 530 535 540

Trp Leu Leu Ser Thr Gly Phe Thr Leu Ala Tyr Gly Ala Met Phe Ser
 545 550 555 560

Lys Val Trp Arg Val His Arg Phe Thr Thr Lys Ala Lys Thr Asp Pro
 565 570 575

Lys Lys Lys Val Glu Pro Trp Lys Leu Tyr Thr Met Val Ser Gly Leu
 580 585 590

Leu Ser Ile Asp Leu Val Ile Leu Leu Ser Trp Gln Ile Phe Asp Pro
 595 600 605

Leu Gln Arg Tyr Leu Glu Thr Phe Pro Leu Glu Asp Pro Val Ser Thr
 610 615 620

Thr Asp Asp Ile Lys Ile Arg Pro Glu Leu Glu His Cys Glu Ser Gln
 625 630 635 640

Arg Asn Ser Met Trp Leu Gly Leu Val Tyr Gly Phe Lys Gly Leu Ile
 645 650 655

Leu Val Phe Gly Leu Phe Leu Ala Tyr Glu Thr Arg Ser Ile Lys Val
 660 665 670

Lys Gln Ile Asn Asp Ser Arg Tyr Val Gly Met Ser Ile Tyr Asn Val
 675 680 685

Val Val Leu Cys Leu Ile Thr Ala Pro Val Gly Met Val Ile Ala Ser
 690 695 700

Gln Gln Asp Ala Ser Phe Ala Phe Val Ala Leu Ala Val Ile Phe Cys
 705 710 715 720

Cys Phe Leu Ser Met Leu Leu Ile Phe Val Pro Lys Val Ile Glu Val
 725 730 735

Ile Arg His Pro Lys Asp Lys Ala Glu Ser Lys Tyr Asn Pro Asp Ser
 740 745 750

Ala Ile Ser Lys Glu Asp Glu Glu Arg Tyr Gln Lys Leu Val Thr Glu
 755 760 765

Asn Glu Gln Leu Gln Arg Leu Ile Thr Gln Lys Glu Glu Lys Ile Arg
 770 775 780

Val Leu Arg Gln Arg Leu Val Glu Arg Gly Asp Ala Lys Gly Thr Glu
 785 790 795 800

Leu Asn Gly Ala Thr Gly Val Ala Ser Ala Ala Val Ala Thr Thr Ser
 805 810 815

Gln Pro Ala Ser Leu Ile Asn Ser Ser Ala His Ala Thr Pro Ala Ala
 820 825 830

Thr Leu Ala Ile Thr Gln Gly Glu
 835 840

<210> 3

<211> 3663

<212> DNA

<213> *Drosophila melanogaster*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(3660)

<400> 3

atg ttc cgg cca agt tgg ttt cca ttc gcc agc ctg ctg ttc ctg ctc 48
 Met Phe Arg Pro Ser Trp Phe Pro Phe Ala Ser Leu Leu Phe Leu Leu
 1 5 10 15

ctt tgg agc acc gcc tgt ggc agg aca gcc aag aga tcg gac gtc tac 96
 Leu Trp Ser Thr Ala Cys Gly Arg Thr Ala Lys Arg Ser Asp Val Tyr
 20 25 30

ata gcg gga ttc ttc ccg tac ggg gat gcc gtg gaa aac tcc tac acc 144
 Ile Ala Gly Phe Phe Pro Tyr Gly Asp Gly Val Glu Asn Ser Tyr Thr
 35 40 45

ggc cgg ggc gtt atg ccc agt gta aag ctc gcc ttg ggt cac gtt aat 192
 Gly Arg Gly Val Met Pro Ser Val Lys Leu Ala Leu Gly His Val Asn

50	55	60	
gag cat gga aag ata ctg gcc aac tac agg ctg cac atg tgg tgg aac			240
Glu His Gly Lys Ile Leu Ala Asn Tyr Arg Leu His Met Trp Trp Asn			
65	70	75	80
gac act cag tgc aat gct gct gtg ggc gta aag tcc ttc ttc gat atg			288
Asp Thr Gln Cys Asn Ala Ala Val Gly Val Lys Ser Phe Phe Asp Met			
	85	90	95
atg cat tcg ggt ccc aat aaa gtg atg ctc ttc ggc gct gcg tgc acc			336
Met His Ser Gly Pro Asn Lys Val Met Leu Phe Gly Ala Ala Cys Thr			
	100	105	110
cat gtg acc gat ccc ata gcc aag gcc agc aag cac tgg cac ctc acc			384
His Val Thr Asp Pro Ile Ala Lys Ala Ser Lys His Trp His Leu Thr			
	115	120	125
cag ctc agc tac gcg gac acc cat ccc atg ttc acc aag gat gcg ttt			432
Gln Leu Ser Tyr Ala Asp Thr His Pro Met Phe Thr Lys Asp Ala Phe			
	130	135	140
ccg aat ttc ttt cgc gtg gta ccc tcg gag aat gcc ttt aat gcg ccg			480
Pro Asn Phe Phe Arg Val Val Pro Ser Glu Asn Ala Phe Asn Ala Pro			
145	150	155	160
cga ctg gcc ttg ctg aag gag ttc aat tgg acc aga gtg ggc act gtc			528
Arg Leu Ala Leu Leu Lys Glu Phe Asn Trp Thr Arg Val Gly Thr Val			
	165	170	175
tac cag aat gag cca cgc tat tcg ctg ccc cac aat cac atg gtg gct			576
Tyr Gln Asn Glu Pro Arg Tyr Ser Leu Pro His Asn His Met Val Ala			
	180	185	190
gac ctg gat gcc atg gag gtc gag gtg gtg gaa acg cag agc ttc gtc			624
Asp Leu Asp Ala Met Glu Val Glu Val Val Glu Thr Gln Ser Phe Val			
	195	200	205
aac gat gtg gct gaa tca ttg aag aaa ctg cgc gag aag gac gtg agg			672
Asn Asp Val Ala Glu Ser Leu Lys Lys Leu Arg Glu Lys Asp Val Arg			
	210	215	220
atc att ctg ggc aac ttt aac gag cac ttt gca cgc aag gca ttc tgt			720
Ile Ile Leu Gly Asn Phe Asn Glu His Phe Ala Arg Lys Ala Phe Cys			
225	230	235	240
gag gct tat aaa ttg gat atg tat ggc aga gcc tat caa tgg ctg atc			768
Glu Ala Tyr Lys Leu Asp Met Tyr Gly Arg Ala Tyr Gln Trp Leu Ile			

245	250	255	
atg gct acc tat tcc acg gat tgg tgg aat gtc acg cag gac agc gag			816
Met Ala Thr Tyr Ser Thr Asp Trp Trp Asn Val Thr Gln Asp Ser Glu			
260	265	270	
tgc agt gtg gag gag atc gct aca gcc ttg gaa ggt gcc att cta gtg			864
Cys Ser Val Glu Glu Ile Ala Thr Ala Leu Glu Gly Ala Ile Leu Val			
275	280	285	
gat ctt ttg ccc ttg tcc acc agt ggt gac atc aca gtg gct ggc att			912
Asp Leu Leu Pro Leu Ser Thr Ser Gly Asp Ile Thr Val Ala Gly Ile			
290	295	300	
act gct gat gag tat ctt gtg gag tac gac aga ctg cga ggc act gaa			960
Thr Ala Asp Glu Tyr Leu Val Glu Tyr Asp Arg Leu Arg Gly Thr Glu			
305	310	315	320
tat tcc cgc ttt cat ggc tat acc tac gat ggt atc tgg gca gct gcc			1008
Tyr Ser Arg Phe His Gly Tyr Thr Tyr Asp Gly Ile Trp Ala Ala Ala			
325	330	335	
ctg gcc att cag tat gtg gcc gaa aag cga gag gat ctg cta aca cat			1056
Leu Ala Ile Gln Tyr Val Ala Glu Lys Arg Glu Asp Leu Leu Thr His			
340	345	350	
ttt gat tat cgc gtg aag gac tgg gag agt gtc ttc ctt gag gct cta			1104
Phe Asp Tyr Arg Val Lys Asp Trp Glu Ser Val Phe Leu Glu Ala Leu			
355	360	365	
cgt aat aca tcc ttc gag ggt gtg acg gga ccc gtg cgt ttc tac aac			1152
Arg Asn Thr Ser Phe Glu Gly Val Thr Gly Pro Val Arg Phe Tyr Asn			
370	375	380	
aac gag cgc aag gcc aac atc ctg atc aat cag ttt cag ctg gga caa			1200
Asn Glu Arg Lys Ala Asn Ile Leu Ile Asn Gln Phe Gln Leu Gly Gln			
385	390	395	400
atg gaa aag atc ggg gaa tac cac tca cag aag tca cac ttg gat tta			1248
Met Glu Lys Ile Gly Glu Tyr His Ser Gln Lys Ser His Leu Asp Leu			
405	410	415	
agc ttg gga aaa cca gtc aaa tgg gtg ggg aaa act cct ccc aag gat			1296
Ser Leu Gly Lys Pro Val Lys Trp Val Gly Lys Thr Pro Pro Lys Asp			
420	425	430	
cgc act ttg atc tac atc gag cac agt cag gtc aat cca acc ata tat			1344
Arg Thr Leu Ile Tyr Ile Glu His Ser Gln Val Asn Pro Thr Ile Tyr			

435	440	445	
att gta tcg gct agt gct tcg gtc att gga gtg att att gcc aca gtt			1392
Ile Val Ser Ala Ser Ala Ser Val Ile Gly Val Ile Ile Ala Thr Val			
450	455	460	
ttt ctg gcc ttt aac att aag tat cgc aat caa aga tac atc aag atg			1440
Phe Leu Ala Phe Asn Ile Lys Tyr Arg Asn Gln Arg Tyr Ile Lys Met			
465	470	475	480
tcc agt ccc cat ttg aac aat ctg atc att gtg ggc tgt atg att acc			1488
Ser Ser Pro His Leu Asn Asn Leu Ile Ile Val Gly Cys Met Ile Thr			
485	490	495	
tat ttg agc atc att ttc ctg ggt ctc gat acc aca tta agt agt gtg			1536
Tyr Leu Ser Ile Ile Phe Leu Gly Leu Asp Thr Thr Leu Ser Ser Val			
500	505	510	
gca gct ttt ccc tat atc tgc aca gct cga gcc tgg atc ttg atg gct			1584
Ala Ala Phe Pro Tyr Ile Cys Thr Ala Arg Ala Trp Ile Leu Met Ala			
515	520	525	
gga ttc agt ctc agt ttt gga gcc atg ttc tcg aag acg tgg cgg gtg			1632
Gly Phe Ser Leu Ser Phe Gly Ala Met Phe Ser Lys Thr Trp Arg Val			
530	535	540	
cat tcg ata ttc acc gat ctg aag ctc aat aag aag gtg atc aag gac			1680
His Ser Ile Phe Thr Asp Leu Lys Leu Asn Lys Lys Val Ile Lys Asp			
545	550	555	560
tat caa ttg ttt atg gtt gtg ggc gtg ctt ttg gcc att gat ata gcc			1728
Tyr Gln Leu Phe Met Val Val Gly Val Leu Leu Ala Ile Asp Ile Ala			
565	570	575	
att ata acc acc tgg cag att gcc gat ccc ttt tac cgc gaa act aaa			1776
Ile Ile Thr Thr Trp Gln Ile Ala Asp Pro Phe Tyr Arg Glu Thr Lys			
580	585	590	
cag ttg gaa ccc ttg cat cac gag aat att gat gat gtc ttg gtg atc			1824
Gln Leu Glu Pro Leu His His Glu Asn Ile Asp Asp Val Leu Val Ile			
595	600	605	
ccc gaa aac gag tac tgc cag tct gag cac atg acc ata ttc gtt agc			1872
Pro Glu Asn Glu Tyr Cys Gln Ser Glu His Met Thr Ile Phe Val Ser			
610	615	620	
att att tat gcc tac aag gga ctg ttg ttg gtt ttt ggc gcc ttt ttg			1920
Ile Ile Tyr Ala Tyr Lys Gly Leu Leu Leu Val Phe Gly Ala Phe Leu			

625	630	635	640	
gcc tgg gaa act cga cat gtt tct ata ccg gct ctg aac gat tcc aag				1968
Ala Trp Glu Thr Arg His Val Ser Ile Pro Ala Leu Asn Asp Ser Lys				
	645	650	655	
cat att ggt ttc tcc gtt tat aac gtg ttc atc act tgt ctg gcc gga				2016
His Ile Gly Phe Ser Val Tyr Asn Val Phe Ile Thr Cys Leu Ala Gly				
	660	665	670	
gcg gct ata tcc ctg gtg cta tcg gat cga aag gat tta gtt ttt gtc				2064
Ala Ala Ile Ser Leu Val Leu Ser Asp Arg Lys Asp Leu Val Phe Val				
	675	680	685	
tta ctc tcg ttt ttt atc att ttt tgt acg aca gcc act ttg tgt ttg				2112
Leu Leu Ser Phe Phe Ile Ile Phe Cys Thr Thr Ala Thr Leu Cys Leu				
	690	695	700	
gtg ttc gta ccg aaa ttg gtg gag ctg aag cgg aat ccc cag ggc gtg				2160
Val Phe Val Pro Lys Leu Val Glu Leu Lys Arg Asn Pro Gln Gly Val				
	705	710	715	720
gtg gac aaa cgc gtt agg gcc acg ttg aga ccc atg tcc aaa aac gga				2208
Val Asp Lys Arg Val Arg Ala Thr Leu Arg Pro Met Ser Lys Asn Gly				
	725	730	735	
cgc cgg gat tcc tcg gtg tgc gaa ctg gag caa cga ttg cga gat gta				2256
Arg Arg Asp Ser Ser Val Cys Glu Leu Glu Gln Arg Leu Arg Asp Val				
	740	745	750	
aag aac aca aac tgc cga ttc cga aag gcg ctg atg gag aag gag aac				2304
Lys Asn Thr Asn Cys Arg Phe Arg Lys Ala Leu Met Glu Lys Glu Asn				
	755	760	765	
gag ctg cag gcc tta atc cgc aag ctg gga ccc gag gca cgc aaa tgg				2352
Glu Leu Gln Ala Leu Ile Arg Lys Leu Gly Pro Glu Ala Arg Lys Trp				
	770	775	780	
atc gat ggg gtg acc tgc aca ggt ggc tcc aac gtc ggt agc gaa ctg				2400
Ile Asp Gly Val Thr Cys Thr Gly Gly Ser Asn Val Gly Ser Glu Leu				
	785	790	795	800
gag ccc ata ctg aac gat gac att gtt agg ctc tca gct cca ccg gtg				2448
Glu Pro Ile Leu Asn Asp Asp Ile Val Arg Leu Ser Ala Pro Pro Val				
	805	810	815	
cgt cga gag atg ccc agc acc aca gtt acc gag atg acg tcc gtg gat				2496
Arg Arg Glu Met Pro Ser Thr Thr Val Thr Glu Met Thr Ser Val Asp				

820	825	830	
agt gtg acc tcg act cat gtg gag atg gat aac tcc ttt gtg tcg gtg			2544
Ser Val Thr Ser Thr His Val Glu Met Asp Asn Ser Phe Val Ser Val			
835	840	845	
cag tct aca gtg atg gcg cca tcg ctt cct ccc aaa aag aaa aag caa			2592
Gln Ser Thr Val Met Ala Pro Ser Leu Pro Pro Lys Lys Lys Lys Gln			
850	855	860	
tcg att gta gag cac cac tcg cat gcc cct gct cca act atg atg cag			2640
Ser Ile Val Glu His His Ser His Ala Pro Ala Pro Thr Met Met Gln			
865	870	875	880
ccc atc cag cag caa ctg cag cag cac tta cag caa cat cag cag atg			2688
Pro Ile Gln Gln Gln Leu Gln Gln His Leu Gln Gln His Gln Gln Met			
885	890	895	
cag cag cag cac ctg cag cag cag caa cac cag cag atg caa cag caa			2736
Gln Gln Gln His Leu Gln Gln Gln Gln His Gln Gln Met Gln Gln Gln			
900	905	910	
cag cag cag cag cag cat cat cat cgc cat ctg gag aag aga aac tcg			2784
Gln Gln Gln Gln Gln His His His Arg His Leu Glu Lys Arg Asn Ser			
915	920	925	
gtg tcc gct cag acc gat gat aat ata ggc agc atc acc agt acg gcg			2832
Val Ser Ala Gln Thr Asp Asp Asn Ile Gly Ser Ile Thr Ser Thr Ala			
930	935	940	
ggc aag cgg agc gga gga gac tgc tcc agc atg cgg gag agg cgt caa			2880
Gly Lys Arg Ser Gly Gly Asp Cys Ser Ser Met Arg Glu Arg Arg Gln			
945	950	955	960
tcg acc gcc tcc agg cac tac gac agt ggc agc cag acg ccc acc gcc			2928
Ser Thr Ala Ser Arg His Tyr Asp Ser Gly Ser Gln Thr Pro Thr Ala			
965	970	975	
cgg cca aag tac agc agc tcg cac cgg aac tcc tcc acc aac atc tcc			2976
Arg Pro Lys Tyr Ser Ser Ser His Arg Asn Ser Ser Thr Asn Ile Ser			
980	985	990	
aca tcg caa tcg gag ttg agc aac atg tgt cca cac tca aag ccc agt			3024
Thr Ser Gln Ser Glu Leu Ser Asn Met Cys Pro His Ser Lys Pro Ser			
995	1000	1005	
act ccg gct gtg att aag act ccc act gcc tcc gac cat cgc cgc acc			3072
Thr Pro Ala Val Ile Lys Thr Pro Thr Ala Ser Asp His Arg Arg Thr			

1010	1015	1020	
agc atg ggc tcc gct ctg aag tcc aat ttc gtg gtt tca cag agt gac			3120
Ser Met Gly Ser Ala Leu Lys Ser Asn Phe Val Val Ser Gln Ser Asp			
1025	1030	1035	1040
ctc tgg gac acg cac acg ctg tgc cac gcc aag cag cgc cag tgc ccg			3168
Leu Trp Asp Thr His Thr Leu Ser His Ala Lys Gln Arg Gln Ser Pro			
	1045	1050	1055
cgg aac tac gcc agt ccg cag cgc tgt gcg gaa cat cat ggc ggc cac			3216
Arg Asn Tyr Ala Ser Pro Gln Arg Cys Ala Glu His His Gly Gly His			
	1060	1065	1070
ggg atg acc tat gac ccg aac acc acc tgc ccc atc cag cgg tcc gtc			3264
Gly Met Thr Tyr Asp Pro Asn Thr Thr Ser Pro Ile Gln Arg Ser Val			
	1075	1080	1085
tcc gag aag aac cgc aac aaa cat cgg cca aaa ccg caa aag ggc acc			3312
Ser Glu Lys Asn Arg Asn Lys His Arg Pro Lys Pro Gln Lys Gly Thr			
	1090	1095	1100
gtt tgc cag agc gag acg gac agc gaa cgg gaa cga gat ccg ccg ccc			3360
Val Cys Gln Ser Glu Thr Asp Ser Glu Arg Glu Arg Asp Pro Pro Pro			
	1105	1110	1115
aac agt cag ccg tgc gtc cag ccg cgt aag gtc agc cgg agc tct aac			3408
Asn Ser Gln Pro Cys Val Gln Pro Arg Lys Val Ser Arg Ser Ser Asn			
	1125	1130	1135
atc cag cac gcc gcc cac cac cac agt tgc ccc aat gtg gcg ccc gat			3456
Ile Gln His Ala Ala His His His Ser Ser Pro Asn Val Ala Pro Asp			
	1140	1145	1150
aag cag cgg agc agg cag cgc ggc aag cag gat agc agc atc tac ggc			3504
Lys Gln Arg Ser Arg Gln Arg Gly Lys Gln Asp Ser Ser Ile Tyr Gly			
	1155	1160	1165
gcc agc agc gag acg gaa ctg ctc gag ggc gag acg gca att ttg ccc			3552
Ala Ser Ser Glu Thr Glu Leu Leu Glu Gly Glu Thr Ala Ile Leu Pro			
	1170	1175	1180
atc ttc cgg aaa ctc ctc acc gag aag agt ccc aac tat cgg ggc cgc			3600
Ile Phe Arg Lys Leu Leu Thr Glu Lys Ser Pro Asn Tyr Arg Gly Arg			
	1185	1190	1195
agt gcc gtg ggc cag agc tgt ccg aat ata tcc atc aaa tgc gat atc			3648
Ser Ala Val Gly Gln Ser Cys Pro Asn Ile Ser Ile Lys Cys Asp Ile			

2000/0726

42

Asp Leu Asp Ala Met Glu Val Glu Val Val Glu Thr Gln Ser Phe Val
195 200 205

Asn Asp Val Ala Glu Ser Leu Lys Lys Leu Arg Glu Lys Asp Val Arg
210 215 220

Ile Ile Leu Gly Asn Phe Asn Glu His Phe Ala Arg Lys Ala Phe Cys
225 230 235 240

Glu Ala Tyr Lys Leu Asp Met Tyr Gly Arg Ala Tyr Gln Trp Leu Ile
245 250 255

Met Ala Thr Tyr Ser Thr Asp Trp Trp Asn Val Thr Gln Asp Ser Glu
260 265 270

Cys Ser Val Glu Glu Ile Ala Thr Ala Leu Glu Gly Ala Ile Leu Val
275 280 285

Asp Leu Leu Pro Leu Ser Thr Ser Gly Asp Ile Thr Val Ala Gly Ile
290 295 300

Thr Ala Asp Glu Tyr Leu Val Glu Tyr Asp Arg Leu Arg Gly Thr Glu
305 310 315 320

Tyr Ser Arg Phe His Gly Tyr Thr Tyr Asp Gly Ile Trp Ala Ala Ala
325 330 335

Leu Ala Ile Gln Tyr Val Ala Glu Lys Arg Glu Asp Leu Leu Thr His
340 345 350

Phe Asp Tyr Arg Val Lys Asp Trp Glu Ser Val Phe Leu Glu Ala Leu
355 360 365

Arg Asn Thr Ser Phe Glu Gly Val Thr Gly Pro Val Arg Phe Tyr Asn
370 375 380

Asn Glu Arg Lys Ala Asn Ile Leu Ile Asn Gln Phe Gln Leu Gly Gln
385 390 395 400

Met Glu Lys Ile Gly Glu Tyr His Ser Gln Lys Ser His Leu Asp Leu
405 410 415

Ser Leu Gly Lys Pro Val Lys Trp Val Gly Lys Thr Pro Pro Lys Asp
420 425 430

Arg Thr Leu Ile Tyr Ile Glu His Ser Gln Val Asn Pro Thr Ile Tyr
435 440 445

Ile Val Ser Ala Ser Ala Ser Val Ile Gly Val Ile Ile Ala Thr Val
 450 455 460

Phe Leu Ala Phe Asn Ile Lys Tyr Arg Asn Gln Arg Tyr Ile Lys Met
 465 470 475 480

Ser Ser Pro His Leu Asn Asn Leu Ile Ile Val Gly Cys Met Ile Thr
 485 490 495

Tyr Leu Ser Ile Ile Phe Leu Gly Leu Asp Thr Thr Leu Ser Ser Val
 500 505 510

Ala Ala Phe Pro Tyr Ile Cys Thr Ala Arg Ala Trp Ile Leu Met Ala
 515 520 525

Gly Phe Ser Leu Ser Phe Gly Ala Met Phe Ser Lys Thr Trp Arg Val
 530 535 540

His Ser Ile Phe Thr Asp Leu Lys Leu Asn Lys Lys Val Ile Lys Asp
 545 550 555 560

Tyr Gln Leu Phe Met Val Val Gly Val Leu Leu Ala Ile Asp Ile Ala
 565 570 575

Ile Ile Thr Thr Trp Gln Ile Ala Asp Pro Phe Tyr Arg Glu Thr Lys
 580 585 590

Gln Leu Glu Pro Leu His His Glu Asn Ile Asp Asp Val Leu Val Ile
 595 600 605

Pro Glu Asn Glu Tyr Cys Gln Ser Glu His Met Thr Ile Phe Val Ser
 610 615 620

Ile Ile Tyr Ala Tyr Lys Gly Leu Leu Leu Val Phe Gly Ala Phe Leu
 625 630 635 640

Ala Trp Glu Thr Arg His Val Ser Ile Pro Ala Leu Asn Asp Ser Lys
 645 650 655

His Ile Gly Phe Ser Val Tyr Asn Val Phe Ile Thr Cys Leu Ala Gly
 660 665 670

Ala Ala Ile Ser Leu Val Leu Ser Asp Arg Lys Asp Leu Val Phe Val
 675 680 685

Leu Leu Ser Phe Phe Ile Ile Phe Cys Thr Thr Ala Thr Leu Cys Leu
 690 695 700

2000/0726

45

Val Phe Val Pro Lys Leu Val Glu Leu Lys Arg Asn Pro Gln Gly Val
705 710 715 720

Val Asp Lys Arg Val Arg Ala Thr Leu Arg Pro Met Ser Lys Asn Gly
725 730 735

Arg Arg Asp Ser Ser Val Cys Glu Leu Glu Gln Arg Leu Arg Asp Val
740 745 750

Lys Asn Thr Asn Cys Arg Phe Arg Lys Ala Leu Met Glu Lys Glu Asn
755 760 765

Glu Leu Gln Ala Leu Ile Arg Lys Leu Gly Pro Glu Ala Arg Lys Trp
770 775 780

Ile Asp Gly Val Thr Cys Thr Gly Gly Ser Asn Val Gly Ser Glu Leu
785 790 795 800

Glu Pro Ile Leu Asn Asp Asp Ile Val Arg Leu Ser Ala Pro Pro Val
805 810 815

Arg Arg Glu Met Pro Ser Thr Thr Val Thr Glu Met Thr Ser Val Asp
820 825 830

Ser Val Thr Ser Thr His Val Glu Met Asp Asn Ser Phe Val Ser Val
835 840 845

Gln Ser Thr Val Met Ala Pro Ser Leu Pro Pro Lys Lys Lys Lys Gln
850 855 860

Ser Ile Val Glu His His Ser His Ala Pro Ala Pro Thr Met Met Gln
865 870 875 880

Pro Ile Gln Gln Gln Leu Gln Gln His Leu Gln Gln His Gln Gln Met
885 890 895

Gln Gln Gln His Leu Gln Gln Gln Gln His Gln Gln Met Gln Gln Gln
900 905 910

Gln Gln Gln Gln Gln His His His Arg His Leu Glu Lys Arg Asn Ser
915 920 925

Val Ser Ala Gln Thr Asp Asp Asn Ile Gly Ser Ile Thr Ser Thr Ala
930 935 940

Gly Lys Arg Ser Gly Gly Asp Cys Ser Ser Met Arg Glu Arg Arg Gln
945 950 955 960

Ser Thr Ala Ser Arg His Tyr Asp Ser Gly Ser Gln Thr Pro Thr Ala
 965 970 975

Arg Pro Lys Tyr Ser Ser Ser His Arg Asn Ser Ser Thr Asn Ile Ser
 980 985 990

Thr Ser Gln Ser Glu Leu Ser Asn Met Cys Pro His Ser Lys Pro Ser
 995 1000 1005

Thr Pro Ala Val Ile Lys Thr Pro Thr Ala Ser Asp His Arg Arg Thr
 1010 1015 1020

Ser Met Gly Ser Ala Leu Lys Ser Asn Phe Val Val Ser Gln Ser Asp
 025 1030 1035 1040

Leu Trp Asp Thr His Thr Leu Ser His Ala Lys Gln Arg Gln Ser Pro
 1045 1050 1055

Arg Asn Tyr Ala Ser Pro Gln Arg Cys Ala Glu His His Gly Gly His
 1060 1065 1070

Gly Met Thr Tyr Asp Pro Asn Thr Thr Ser Pro Ile Gln Arg Ser Val
 1075 1080 1085

Ser Glu Lys Asn Arg Asn Lys His Arg Pro Lys Pro Gln Lys Gly Thr
 1090 1095 1100

Val Cys Gln Ser Glu Thr Asp Ser Glu Arg Glu Arg Asp Pro Pro Pro
 105 1110 1115 1120

Asn Ser Gln Pro Cys Val Gln Pro Arg Lys Val Ser Arg Ser Ser Asn
 1125 1130 1135

Ile Gln His Ala Ala His His His Ser Ser Pro Asn Val Ala Pro Asp
 1140 1145 1150

Lys Gln Arg Ser Arg Gln Arg Gly Lys Gln Asp Ser Ser Ile Tyr Gly
 1155 1160 1165

Ala Ser Ser Glu Thr Glu Leu Leu Glu Gly Glu Thr Ala Ile Leu Pro
 1170 1175 1180

Ile Phe Arg Lys Leu Leu Thr Glu Lys Ser Pro Asn Tyr Arg Gly Arg
 185 1190 1195 1200

Ser Ala Val Gly Gln Ser Cys Pro Asn Ile Ser Ile Lys Cys Asp Ile
 1205 1210 1215

Val Glu Tyr Leu
1220

<210> 5

<211> 3918

<212> DNA

<213> *Drosophila melanogaster*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(3915)

<400> 5

atg cgc ata att caa ccg gtc caa ggg acc aga tac ggt cca tgg ccg 48
Met Arg Ile Ile Gln Pro Val Gln Gly Thr Arg Tyr Gly Pro Trp Pro
1 5 10 15

gcc gtg gga ctg agg cta gtc ctg gcc ctt gcc tgg gca acg tcg gca 96
Ala Val Gly Leu Arg Leu Val Leu Ala Leu Ala Trp Ala Thr Ser Ala
20 25 30

gcg gct gcc atg gag tca tca gcc gag ctg cag gcc ctg ggc cac gag 144
Ala Ala Ala Met Glu Ser Ser Ala Glu Leu Gln Ala Leu Gly His Glu
35 40 45

gca att agg cca ggt gct gcc tca att agc aca tcc agc cca tcc agc 192
Ala Ile Arg Pro Gly Ala Ala Ser Ile Ser Thr Ser Ser Pro Ser Ser
50 55 60

tcg cca ccc gga gaa tcg gca tcg act gtg act gca ggg ggg act ccg 240
Ser Pro Pro Gly Glu Ser Ala Ser Thr Val Thr Ala Gly Gly Thr Pro
65 70 75 80

att cca ccg cgc tcc gat tgg aag tac aaa cgg acg aaa gtc aaa cgc 288
Ile Pro Pro Arg Ser Asp Trp Lys Tyr Lys Arg Thr Lys Val Lys Arg
85 90 95

cgg cag cag cgc ctc aat tcg cac agc aat ctg ccc gga agc acc aat 336
Arg Gln Gln Arg Leu Asn Ser His Ser Asn Leu Pro Gly Ser Thr Asn
100 105 110

gcc tcc cac gct cac cac ctc ctc aat ctg ccc ccc agg cag cga tac 384
Ala Ser His Ala His His Leu Leu Asn Leu Pro Pro Arg Gln Arg Tyr
115 120 125

ttg aag gtc aac cag gtg ttc gaa agc gaa cgc cgc atg tcg ccg gcc	432
Leu Lys Val Asn Gln Val Phe Glu Ser Glu Arg Arg Met Ser Pro Ala	
130 135 140	
gaa atg cag cgc aat cat ggc aaa atc gtg ctg ctc gga ctc ttt gag	480
Glu Met Gln Arg Asn His Gly Lys Ile Val Leu Leu Gly Leu Phe Glu	
145 150 155 160	
ctg tcc aca tcg cgg gga cca cgt ccg gat ggt ctg agc gaa ttg gga	528
Leu Ser Thr Ser Arg Gly Pro Arg Pro Asp Gly Leu Ser Glu Leu Gly	
165 170 175	
gct gcc acc atg gcc gtg gaa cac atc aac cgc aag cgc ctg ctg ccg	576
Ala Ala Thr Met Ala Val Glu His Ile Asn Arg Lys Arg Leu Leu Pro	
180 185 190	
ggc tac acc ctc gag ctc gtg acc aac gat act cag tgt gat cct gga	624
Gly Tyr Thr Leu Glu Leu Val Thr Asn Asp Thr Gln Cys Asp Pro Gly	
195 200 205	
gtg ggc gtg gat cgc ttc ttc cac gcc atc tac aca cag ccc tcg acg	672
Val Gly Val Asp Arg Phe Phe His Ala Ile Tyr Thr Gln Pro Ser Thr	
210 215 220	
agg atg gtg atg ctg ctg gga tcg gcc tgc tcg gag gtc acc gag agc	720
Arg Met Val Met Leu Leu Gly Ser Ala Cys Ser Glu Val Thr Glu Ser	
225 230 235 240	
ctg gcg aag gtg gtg ccc tac tgg aac atc gtg cag gta tcc ttc ggt	768
Leu Ala Lys Val Val Pro Tyr Trp Asn Ile Val Gln Val Ser Phe Gly	
245 250 255	
tcc aca tcg ccg gcg ttg agc gac agg cgg gag ttc ccc tac ttc tac	816
Ser Thr Ser Pro Ala Leu Ser Asp Arg Arg Glu Phe Pro Tyr Phe Tyr	
260 265 270	
agg aca gtg gcc ccg gac tcc tca cac aat ccg gcg cgc atc gct ttc	864
Arg Thr Val Ala Pro Asp Ser Ser His Asn Pro Ala Arg Ile Ala Phe	
275 280 285	
att cgg aag ttt ggc tgg ggc acg gtg acc act ttc tcg cag aac gag	912
Ile Arg Lys Phe Gly Trp Gly Thr Val Thr Thr Phe Ser Gln Asn Glu	
290 295 300	
gag gtt cac tcg ctg gcg gtg aac aac ctg gtc acc gaa ctg gag gcg	960
Glu Val His Ser Leu Ala Val Asn Asn Leu Val Thr Glu Leu Glu Ala	
305 310 315 320	

gcc aac ata tcc tgt gcc gcc acc atc acc ttt gcg gcc acc gac ttc 1008
 Ala Asn Ile Ser Cys Ala Ala Thr Ile Thr Phe Ala Ala Thr Asp Phe
 325 330 335

aag gag cag ctg ctg cta ctt agg gag acg gac acg cgc atc atc atc 1056
 Lys Glu Gln Leu Leu Leu Leu Arg Glu Thr Asp Thr Arg Ile Ile Ile
 340 345 350

ggc agc ttc tcg cag gag ctg gcc ccc cag atc ctg tgc gag gcc tac 1104
 Gly Ser Phe Ser Gln Glu Leu Ala Pro Gln Ile Leu Cys Glu Ala Tyr
 355 360 365

agg ctt cga atg ttc ggg gcg gac tac gcc tgg atc ctc cac gag agc 1152
 Arg Leu Arg Met Phe Gly Ala Asp Tyr Ala Trp Ile Leu His Glu Ser
 370 375 380

atg ggg gct ccg tgg tgg ccg gac cag cgc acc gcc tgc tct aac cac 1200
 Met Gly Ala Pro Trp Trp Pro Asp Gln Arg Thr Ala Cys Ser Asn His
 385 390 395 400

gaa ctg cag ctg gcc gtc gag aac ctc atc gtg gtc tca acg cac aac 1248
 Glu Leu Gln Leu Ala Val Glu Asn Leu Ile Val Val Ser Thr His Asn
 405 410 415

agc atc gtt gga aat aac gtc agc tat agt gga ctg aac aat cac atg 1296
 Ser Ile Val Gly Asn Asn Val Ser Tyr Ser Gly Leu Asn Asn His Met
 420 425 430

ttc aac tcc cag ctg cgc aag caa tcc gcc cag ttc cac ggc cag gat 1344
 Phe Asn Ser Gln Leu Arg Lys Gln Ser Ala Gln Phe His Gly Gln Asp
 435 440 445

gga ttt ggc tcc ggt tat ggt ccc agg atc agt atc gct gca acg caa 1392
 Gly Phe Gly Ser Gly Tyr Gly Pro Arg Ile Ser Ile Ala Ala Thr Gln
 450 455 460

tct gac tct cgt cgg cgg agg aga agg ggc gtg gta ggc acc agc gga 1440
 Ser Asp Ser Arg Arg Arg Arg Arg Arg Gly Val Val Gly Thr Ser Gly
 465 470 475 480

ggg cac ctc ttt ccg gag gcg atc tcg cag tac gcg ccg caa acc tac 1488
 Gly His Leu Phe Pro Glu Ala Ile Ser Gln Tyr Ala Pro Gln Thr Tyr
 485 490 495

gac gcc gtg tgg gcc atc gcc ctg gcc ttg aga gcc gct gag gag cac 1536
 Asp Ala Val Trp Ala Ile Ala Leu Ala Leu Arg Ala Ala Glu Glu His
 500 505 510

tgg cgg cgg aac gag gag cag tcg aag ctg gac gga ttc gat tac acc	1584
Trp Arg Arg Asn Glu Glu Gln Ser Lys Leu Asp Gly Phe Asp Tyr Thr	
515 520 525	
cgc agc gac atg gcc tgg gag ttc ctg cag caa atg ggc aag ctc cac	1632
Arg Ser Asp Met Ala Trp Glu Phe Leu Gln Gln Met Gly Lys Leu His	
530 535 540	
ttc ctg gga gtg tcg ggc ccc gtt tcc ttc agc ggc cca gat cgc gtt	1680
Phe Leu Gly Val Ser Gly Pro Val Ser Phe Ser Gly Pro Asp Arg Val	
545 550 555 560	
ggc acc act gcc ttc tat caa atc cag cgc ggt ttg ctg gaa ccg gtg	1728
Gly Thr Thr Ala Phe Tyr Gln Ile Gln Arg Gly Leu Leu Glu Pro Val	
565 570 575	
gcc ctc tac tat ccg gcc acg gat gcc ctg gac ttc cgg tgt ccc cgc	1776
Ala Leu Tyr Tyr Pro Ala Thr Asp Ala Leu Asp Phe Arg Cys Pro Arg	
580 585 590	
tgc cgg ccg gtg aag tgg cac agc ggg cag gta ccc atc gcc aag cgg	1824
Cys Arg Pro Val Lys Trp His Ser Gly Gln Val Pro Ile Ala Lys Arg	
595 600 605	
gtg ttc aag ctg cgg gtg gcg acc atc gct cca ctg gcc ttc tac acc	1872
Val Phe Lys Leu Arg Val Ala Thr Ile Ala Pro Leu Ala Phe Tyr Thr	
610 615 620	
atc gcc acc ctc tcc agc gtg gga atc gct ctg gcc atc acc ttc ctg	1920
Ile Ala Thr Leu Ser Ser Val Gly Ile Ala Leu Ala Ile Thr Phe Leu	
625 630 635 640	
gcg ttc aat ctg cac ttt cgg aag ctg aag gca att aaa ctt tcc agc	1968
Ala Phe Asn Leu His Phe Arg Lys Leu Lys Ala Ile Lys Leu Ser Ser	
645 650 655	
ccg aag ctg agc aac atc acc gca gtg ggc tgc atc ttt gtg tac gcc	2016
Pro Lys Leu Ser Asn Ile Thr Ala Val Gly Cys Ile Phe Val Tyr Ala	
660 665 670	
acc gtc atc ctt ttg ggc ttg gac cac tcg acg ctg ccc tcg gcg gag	2064
Thr Val Ile Leu Leu Gly Leu Asp His Ser Thr Leu Pro Ser Ala Glu	
675 680 685	
gac tct ttc gca acg gtc tgc acg gcc cgc gtc tat ctg ctc tcc gcc	2112
Asp Ser Phe Ala Thr Val Cys Thr Ala Arg Val Tyr Leu Leu Ser Ala	
690 695 700	

gga ttc tcg ttg gcc ttt gga tcg atg ttt gcc aag acc tac aga gtg 2160
 Gly Phe Ser Leu Ala Phe Gly Ser Met Phe Ala Lys Thr Tyr Arg Val
 705 710 715 720

cat cgg ata ttc act cgt acc ggc agc gtt ttc aag gac aag atg ctg 2208
 His Arg Ile Phe Thr Arg Thr Gly Ser Val Phe Lys Asp Lys Met Leu
 725 730 735

cag gac att caa ctg atc ttg ctc gtc ggc gga ttg ctt ctg gtg gat 2256
 Gln Asp Ile Gln Leu Ile Leu Leu Val Gly Gly Leu Leu Leu Val Asp
 740 745 750

gcg ctg ctc gta acc ctt tgg gtg gtc acc gat cca atg gag cgc cat 2304
 Ala Leu Leu Val Thr Leu Trp Val Val Thr Asp Pro Met Glu Arg His
 755 760 765

ctt cac aac ctg acg ctc gag atc agt gcg act gat aga agt gtc gtt 2352
 Leu His Asn Leu Thr Leu Glu Ile Ser Ala Thr Asp Arg Ser Val Val
 770 775 780

tac cag cct cag gtt gaa gtt tgc cgt tcg cag cac acg caa acg tgg 2400
 Tyr Gln Pro Gln Val Glu Val Cys Arg Ser Gln His Thr Gln Thr Trp
 785 790 795 800

ttg agt gtc ctg tac gcc tac aaa ggc ctt ctt ctt gtg gtg ggt gtc 2448
 Leu Ser Val Leu Tyr Ala Tyr Lys Gly Leu Leu Leu Val Val Gly Val
 805 810 815

tat atg gcc tgg gag acg cgc cac gta aaa ata cct gct ctc aat gac 2496
 Tyr Met Ala Trp Glu Thr Arg His Val Lys Ile Pro Ala Leu Asn Asp
 820 825 830

tcg cag tac atc gga gtg tct gta tac agt gtg gtc atc acc agc gcc 2544
 Ser Gln Tyr Ile Gly Val Ser Val Tyr Ser Val Val Ile Thr Ser Ala
 835 840 845

atc gtc gtg gtg ctg gcc aac ttg att tcg gag cga gtc acc ctg gcc 2592
 Ile Val Val Val Leu Ala Asn Leu Ile Ser Glu Arg Val Thr Leu Ala
 850 855 860

ttc atc aca atc aca gct ctg att tta acc agc acc act gca acc ctt 2640
 Phe Ile Thr Ile Thr Ala Leu Ile Leu Thr Ser Thr Thr Ala Thr Leu
 865 870 875 880

tgt ctg ctt ttc atc cca aaa ctc cat gat att tgg gca aga aac gat 2688
 Cys Leu Leu Phe Ile Pro Lys Leu His Asp Ile Trp Ala Arg Asn Asp
 885 890 895

att atc gat ccg gtt atc cac agt atg ggc ctt aag atg gag tgc aac 2736
 Ile Ile Asp Pro Val Ile His Ser Met Gly Leu Lys Met Glu Cys Asn
 900 905 910

aca cgc cga ttc gtg gtc gat gat cgc cga gaa ctg cag tat cga gtg 2784
 Thr Arg Arg Phe Val Val Asp Asp Arg Arg Glu Leu Gln Tyr Arg Val
 915 920 925

gag gtg caa aac agg gtc tat aag aag gaa atc cag gct ctg gac gcc 2832
 Glu Val Gln Asn Arg Val Tyr Lys Lys Glu Ile Gln Ala Leu Asp Ala
 930 935 940

gag att cga aag ctg gag agg cta ctc gag tcg gga cta acc acc acc 2880
 Glu Ile Arg Lys Leu Glu Arg Leu Leu Glu Ser Gly Leu Thr Thr Thr
 945 950 955 960

tcc acc aca act tcg tcg tcc aca tca ctc tta act ggg gga ggt cat 2928
 Ser Thr Thr Thr Ser Ser Ser Thr Ser Leu Leu Thr Gly Gly Gly His
 965 970 975

cta aag cca gaa ctg acg gta acc agt ggc atc tcg cag act ccg gct 2976
 Leu Lys Pro Glu Leu Thr Val Thr Ser Gly Ile Ser Gln Thr Pro Ala
 980 985 990

gca agt aaa aac aga act cca agt atc tcg gga ata ctg ccc aat ctc 3024
 Ala Ser Lys Asn Arg Thr Pro Ser Ile Ser Gly Ile Leu Pro Asn Leu
 995 1000 1005

ctg ctt tcc gtg ctg cct cct gtg att cca cgg gcc agt tgg ccg tca 3072
 Leu Leu Ser Val Leu Pro Pro Val Ile Pro Arg Ala Ser Trp Pro Ser
 1010 1015 1020

gca gag tac atg cag atc ccg atg agg cgt tct gtt acc ttt gcc tcc 3120
 Ala Glu Tyr Met Gln Ile Pro Met Arg Arg Ser Val Thr Phe Ala Ser
 1025 1030 1035 1040

cag ccc caa tta gag gag gcc tgc ctg cct gca cag gac ttg att aac 3168
 Gln Pro Gln Leu Glu Glu Ala Cys Leu Pro Ala Gln Asp Leu Ile Asn
 1045 1050 1055

ctc cgt tta gcc cac cag cag gcc acg gag gct aag acg ggc ttg ata 3216
 Leu Arg Leu Ala His Gln Gln Ala Thr Glu Ala Lys Thr Gly Leu Ile
 1060 1065 1070

aac cga tta cga ggg ata ttt tct cgc acc act tcg agc aac aag gga 3264
 Asn Arg Leu Arg Gly Ile Phe Ser Arg Thr Thr Ser Ser Asn Lys Gly
 1075 1080 1085

tcc acc gcc agc ttg gcg gac caa aag ggt ctg aag gcg gcc ttt aaa 3312
 Ser Thr Ala Ser Leu Ala Asp Gln Lys Gly Leu Lys Ala Ala Phe Lys
 1090 1095 1100

tcg cac atg gga ctg ttc acc cgc ctg att ccc tcc tct caa acg gcg 3360
 Ser His Met Gly Leu Phe Thr Arg Leu Ile Pro Ser Ser Gln Thr Ala
 1105 1110 1115 1120

tcc tgc aat gcc ata tac aat aat cca aat cag gat tcc att ccc tca 3408
 Ser Cys Asn Ala Ile Tyr Asn Asn Pro Asn Gln Asp Ser Ile Pro Ser
 1125 1130 1135

gag gcg tcc tcc cac ccg aat ggt aac cac cta aag ccc atc cat agg 3456
 Glu Ala Ser Ser His Pro Asn Gly Asn His Leu Lys Pro Ile His Arg
 1140 1145 1150

ggc tca ttg acc aaa agc ggt act cac ctg gat cac ctt acc aag gat 3504
 Gly Ser Leu Thr Lys Ser Gly Thr His Leu Asp His Leu Thr Lys Asp
 1155 1160 1165

ccg aat ttc ctg cct atc ccc act att tct ggc ggt gaa cag ggg gac 3552
 Pro Asn Phe Leu Pro Ile Pro Thr Ile Ser Gly Gly Glu Gln Gly Asp
 1170 1175 1180

caa acg ttg ggt gga aag tat gtg aaa ctg ctg gag acc aag gtg aac 3600
 Gln Thr Leu Gly Gly Lys Tyr Val Lys Leu Leu Glu Thr Lys Val Asn
 1185 1190 1195 1200

ttc caa ttg ccc agc aac cgg aga cct tcg gtg gtg cag cag cca ccc 3648
 Phe Gln Leu Pro Ser Asn Arg Arg Pro Ser Val Val Gln Gln Pro Pro
 1205 1210 1215

agt tta agg gaa agg gta agg ggt tcg cca cgc ttt cca cac cgc atc 3696
 Ser Leu Arg Glu Arg Val Arg Gly Ser Pro Arg Phe Pro His Arg Ile
 1220 1225 1230

ctg ccg ccc act tgc agt ctc agc gcc ctg gcc gaa tcc gag gac cgt 3744
 Leu Pro Pro Thr Cys Ser Leu Ser Ala Leu Ala Glu Ser Glu Asp Arg
 1235 1240 1245

ccc gga gat agc acc tct atc ttg ggc agc tgc aag tcc ata cct cgc 3792
 Pro Gly Asp Ser Thr Ser Ile Leu Gly Ser Cys Lys Ser Ile Pro Arg
 1250 1255 1260

att tcg ctg cag cag gtc acc agt gga ggc acc tgg aaa tcg atg gaa 3840
 Ile Ser Leu Gln Gln Val Thr Ser Gly Gly Thr Trp Lys Ser Met Glu
 1265 1270 1275 1280

Ala Ala Thr Met Ala Val Glu His Ile Asn Arg Lys Arg Leu Leu Pro
180 185 190

Gly Tyr Thr Leu Glu Leu Val Thr Asn Asp Thr Gln Cys Asp Pro Gly
195 200 205

Val Gly Val Asp Arg Phe Phe His Ala Ile Tyr Thr Gln Pro Ser Thr
210 215 220

Arg Met Val Met Leu Leu Gly Ser Ala Cys Ser Glu Val Thr Glu Ser
225 230 235 240

Leu Ala Lys Val Val Pro Tyr Trp Asn Ile Val Gln Val Ser Phe Gly
245 250 255

Ser Thr Ser Pro Ala Leu Ser Asp Arg Arg Glu Phe Pro Tyr Phe Tyr
260 265 270

Arg Thr Val Ala Pro Asp Ser Ser His Asn Pro Ala Arg Ile Ala Phe
275 280 285

Ile Arg Lys Phe Gly Trp Gly Thr Val Thr Thr Phe Ser Gln Asn Glu
290 295 300

Glu Val His Ser Leu Ala Val Asn Asn Leu Val Thr Glu Leu Glu Ala
305 310 315 320

Ala Asn Ile Ser Cys Ala Ala Thr Ile Thr Phe Ala Ala Thr Asp Phe
325 330 335

Lys Glu Gln Leu Leu Leu Leu Arg Glu Thr Asp Thr Arg Ile Ile Ile
340 345 350

Gly Ser Phe Ser Gln Glu Leu Ala Pro Gln Ile Leu Cys Glu Ala Tyr
355 360 365

Arg Leu Arg Met Phe Gly Ala Asp Tyr Ala Trp Ile Leu His Glu Ser
370 375 380

Met Gly Ala Pro Trp Trp Pro Asp Gln Arg Thr Ala Cys Ser Asn His
385 390 395 400

Glu Leu Gln Leu Ala Val Glu Asn Leu Ile Val Val Ser Thr His Asn
405 410 415

Ser Ile Val Gly Asn Asn Val Ser Tyr Ser Gly Leu Asn Asn His Met
420 425 430

Phe Asn Ser Gln Leu Arg Lys Gln Ser Ala Gln Phe His Gly Gln Asp
 435 440 445

Gly Phe Gly Ser Gly Tyr Gly Pro Arg Ile Ser Ile Ala Ala Thr Gln
 450 455 460

Ser Asp Ser Arg Arg Arg Arg Arg Arg Gly Val Val Gly Thr Ser Gly
 465 470 475 480

Gly His Leu Phe Pro Glu Ala Ile Ser Gln Tyr Ala Pro Gln Thr Tyr
 485 490 495

Asp Ala Val Trp Ala Ile Ala Leu Ala Leu Arg Ala Ala Glu Glu His
 500 505 510

Trp Arg Arg Asn Glu Glu Gln Ser Lys Leu Asp Gly Phe Asp Tyr Thr
 515 520 525

Arg Ser Asp Met Ala Trp Glu Phe Leu Gln Gln Met Gly Lys Leu His
 530 535 540

Phe Leu Gly Val Ser Gly Pro Val Ser Phe Ser Gly Pro Asp Arg Val
 545 550 555 560

Gly Thr Thr Ala Phe Tyr Gln Ile Gln Arg Gly Leu Leu Glu Pro Val
 565 570 575

Ala Leu Tyr Tyr Pro Ala Thr Asp Ala Leu Asp Phe Arg Cys Pro Arg
 580 585 590

Cys Arg Pro Val Lys Trp His Ser Gly Gln Val Pro Ile Ala Lys Arg
 595 600 605

Val Phe Lys Leu Arg Val Ala Thr Ile Ala Pro Leu Ala Phe Tyr Thr
 610 615 620

Ile Ala Thr Leu Ser Ser Val Gly Ile Ala Leu Ala Ile Thr Phe Leu
 625 630 635 640

Ala Phe Asn Leu His Phe Arg Lys Leu Lys Ala Ile Lys Leu Ser Ser
 645 650 655

Pro Lys Leu Ser Asn Ile Thr Ala Val Gly Cys Ile Phe Val Tyr Ala
 660 665 670

Thr Val Ile Leu Leu Gly Leu Asp His Ser Thr Leu Pro Ser Ala Glu
 675 680 685

Asp Ser Phe Ala Thr Val Cys Thr Ala Arg Val Tyr Leu Leu Ser Ala
 690 695 700

Gly Phe Ser Leu Ala Phe Gly Ser Met Phe Ala Lys Thr Tyr Arg Val
 705 710 715 720

His Arg Ile Phe Thr Arg Thr Gly Ser Val Phe Lys Asp Lys Met Leu
 725 730 735

Gln Asp Ile Gln Leu Ile Leu Leu Val Gly Gly Leu Leu Leu Val Asp
 740 745 750

Ala Leu Leu Val Thr Leu Trp Val Val Thr Asp Pro Met Glu Arg His
 755 760 765

Leu His Asn Leu Thr Leu Glu Ile Ser Ala Thr Asp Arg Ser Val Val
 770 775 780

Tyr Gln Pro Gln Val Glu Val Cys Arg Ser Gln His Thr Gln Thr Trp
 785 790 795 800

Leu Ser Val Leu Tyr Ala Tyr Lys Gly Leu Leu Leu Val Val Gly Val
 805 810 815

Tyr Met Ala Trp Glu Thr Arg His Val Lys Ile Pro Ala Leu Asn Asp
 820 825 830

Ser Gln Tyr Ile Gly Val Ser Val Tyr Ser Val Val Ile Thr Ser Ala
 835 840 845

Ile Val Val Val Leu Ala Asn Leu Ile Ser Glu Arg Val Thr Leu Ala
 850 855 860

Phe Ile Thr Ile Thr Ala Leu Ile Leu Thr Ser Thr Thr Ala Thr Leu
 865 870 875 880

Cys Leu Leu Phe Ile Pro Lys Leu His Asp Ile Trp Ala Arg Asn Asp
 885 890 895

Ile Ile Asp Pro Val Ile His Ser Met Gly Leu Lys Met Glu Cys Asn
 900 905 910

Thr Arg Arg Phe Val Val Asp Asp Arg Arg Glu Leu Gln Tyr Arg Val
 915 920 925

Glu Val Gln Asn Arg Val Tyr Lys Lys Glu Ile Gln Ala Leu Asp Ala
 930 935 940

Glu Ile Arg Lys Leu Glu Arg Leu Leu Glu Ser Gly Leu Thr Thr Thr
 945 950 955 960
 Ser Thr Thr Thr Ser Ser Ser Thr Ser Leu Leu Thr Gly Gly Gly His
 965 970 975
 Leu Lys Pro Glu Leu Thr Val Thr Ser Gly Ile Ser Gln Thr Pro Ala
 980 985 990
 Ala Ser Lys Asn Arg Thr Pro Ser Ile Ser Gly Ile Leu Pro Asn Leu
 995 1000 1005
 Leu Leu Ser Val Leu Pro Pro Val Ile Pro Arg Ala Ser Trp Pro Ser
 1010 1015 1020
 Ala Glu Tyr Met Gln Ile Pro Met Arg Arg Ser Val Thr Phe Ala Ser
 1025 1030 1035 1040
 Gln Pro Gln Leu Glu Glu Ala Cys Leu Pro Ala Gln Asp Leu Ile Asn
 1045 1050 1055
 Leu Arg Leu Ala His Gln Gln Ala Thr Glu Ala Lys Thr Gly Leu Ile
 1060 1065 1070
 Asn Arg Leu Arg Gly Ile Phe Ser Arg Thr Thr Ser Ser Asn Lys Gly
 1075 1080 1085
 Ser Thr Ala Ser Leu Ala Asp Gln Lys Gly Leu Lys Ala Ala Phe Lys
 1090 1095 1100
 Ser His Met Gly Leu Phe Thr Arg Leu Ile Pro Ser Ser Gln Thr Ala
 1105 1110 1115 1120
 Ser Cys Asn Ala Ile Tyr Asn Asn Pro Asn Gln Asp Ser Ile Pro Ser
 1125 1130 1135
 Glu Ala Ser Ser His Pro Asn Gly Asn His Leu Lys Pro Ile His Arg
 1140 1145 1150
 Gly Ser Leu Thr Lys Ser Gly Thr His Leu Asp His Leu Thr Lys Asp
 1155 1160 1165
 Pro Asn Phe Leu Pro Ile Pro Thr Ile Ser Gly Gly Glu Gln Gly Asp
 1170 1175 1180
 Gln Thr Leu Gly Gly Lys Tyr Val Lys Leu Leu Glu Thr Lys Val Asn
 1185 1190 1195 1200

Phe Gln Leu Pro Ser Asn Arg Arg Pro Ser Val Val Gln Gln Pro Pro
1205 1210 1215

Ser Leu Arg Glu Arg Val Arg Gly Ser Pro Arg Phe Pro His Arg Ile
1220 1225 1230

Leu Pro Pro Thr Cys Ser Leu Ser Ala Leu Ala Glu Ser Glu Asp Arg
1235 1240 1245

Pro Gly Asp Ser Thr Ser Ile Leu Gly Ser Cys Lys Ser Ile Pro Arg
1250 1255 1260

Ile Ser Leu Gln Gln Val Thr Ser Gly Gly Thr Trp Lys Ser Met Glu
265 1270 1275 1280

Thr Val Gly Lys Ser Arg Leu Ser Leu Gly Asp Ser Gln Glu Glu Glu
1285 1290 1295

Gln Gln Ala Pro Ala Asn Gly Thr Glu
1300 1305

REVENDEICATIONS

1. Procédé de recherche de composés qui modifient les propriétés des polypeptides qui exercent l'activité biologique d'un récepteur de GABA-B, comprenant les étapes suivantes :
- 5 (a) préparation d'une cellule hôte contenant un acide nucléique comprenant une séquence nucléotidique qui code pour un polypeptide qui comprend une séquence d'acides aminés qui présente une identité d'au moins 70% avec une séquence suivant SEQ ID N° :2, SEQ ID N° :4 ou SEQ ID N° :6
- 10 (b) culture de la cellule hôte en présence d'un composé chimique ou d'un échantillon qui englobe un certain nombre de composés chimiques, et
- 15 (c) détection des propriétés modifiées.
2. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce que ledit acide nucléique consiste en un fragment d'ADNc ou d'ADN génomique.
- 20 3. Procédé suivant la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que ledit acide nucléique comprend une nucléotidique qui correspond à une séquence suivant SEQ ID N° :1, SEQ ID N° :3 ou SEQ ID N° :5.
- 25 4. Procédé suivant l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que ledit acide nucléique s'hybride dans des conditions rigoureuses à une séquence nucléotidique suivant SEQ ID N° :1, SEQ ID N° :3 ou SEQ ID N° :5.
- 30 5. Procédé suivant l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que ladite cellule hôte consiste en une cellule eucaryote, en particulier une cellule de mammifère ou d'insecte.

NOTE D'OBSERVATIONS

Le document DATABASE EMBL du 18 juin 1999 GM. Rubin et al. "Drosophila melanogaster clone GH07312 BcDNA.GH07312 mRNA complete cds" est mentionné dans le rapport de recherche comme étant de catégorie X.

En raison de ce document les revendications ont été modifiées comme suit :

la nouvelle revendication 1 est une combinaison des revendications primitives 21 et 1

la nouvelle revendication 2 correspond à l'ancienne revendication 5

la nouvelle revendication 3 correspond à l'ancienne revendication 6

la nouvelle revendication 4 correspond à l'ancienne revendication 7

la nouvelle revendication 5 correspond à l'ancienne revendication 13

Toutes les autres anciennes revendications et en particulier la revendication 25 pour laquelle aucune protection n'est plus demandée, sont supprimées.

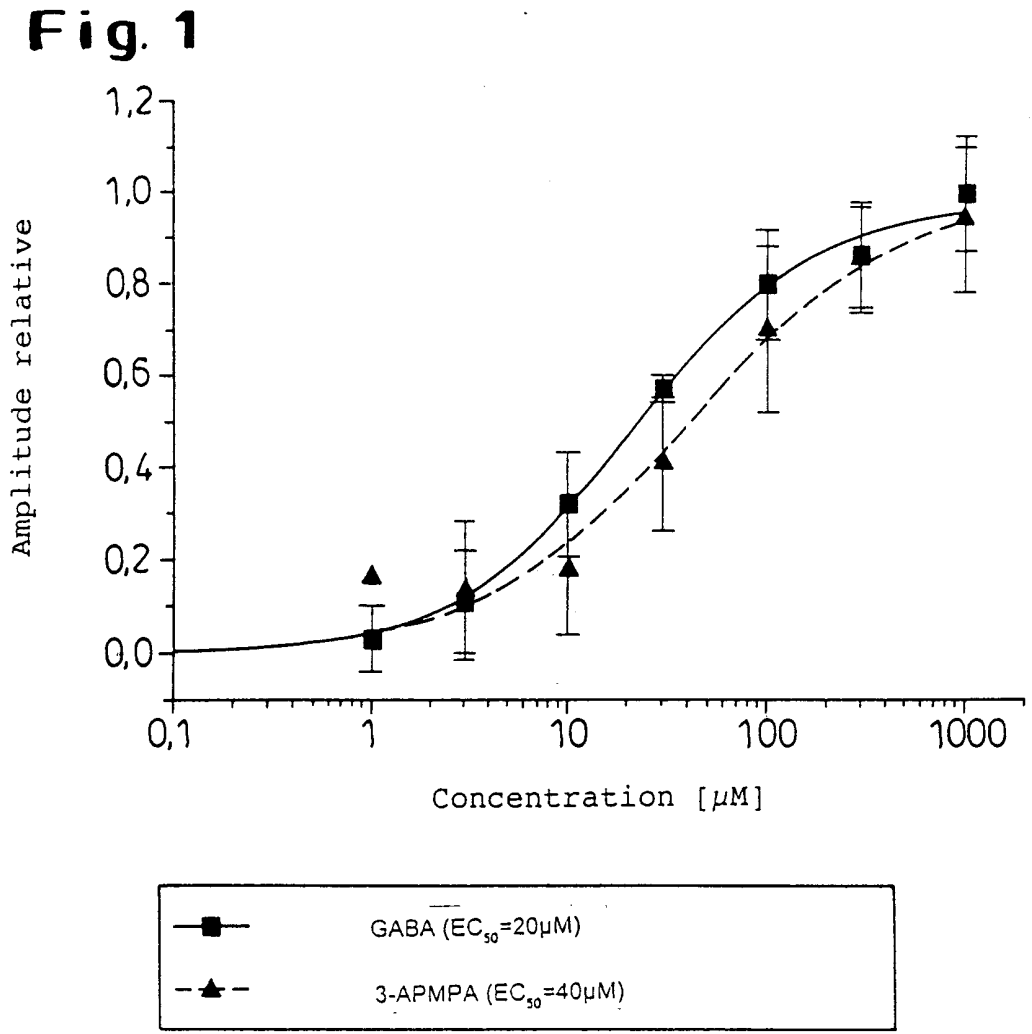
La séquence des acides aminés décrite dans le document mentionné ci-dessus est un homologue de la séquence SEQ IDN N° :4. Comparée à cette dernière, la séquence antérieurement connue a quatre séries de plusieurs aminoacides en moins. De plus, et c'est très important, la séquence antérieurement connue n'a pas été commentée, aucune fonction n'a été attribuée à un polypeptide possédant une telle séquence d'acides aminés.

Le présente invention est basée sur la découverte que les polypeptides qui y sont décrits ont une activité biologique de récepteur de GABA-B et constituent des cibles potentielles pour des composés insecticides.

C'est la raison pour laquelle les revendications concernent à présent un procédé de recherche de nouveaux composés, en particulier insecticides, en utilisant ces polypeptides et les acides nucléiques qui les codent respectivement.

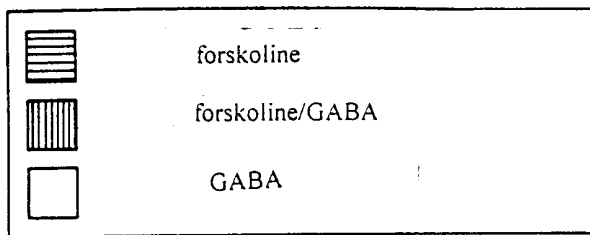
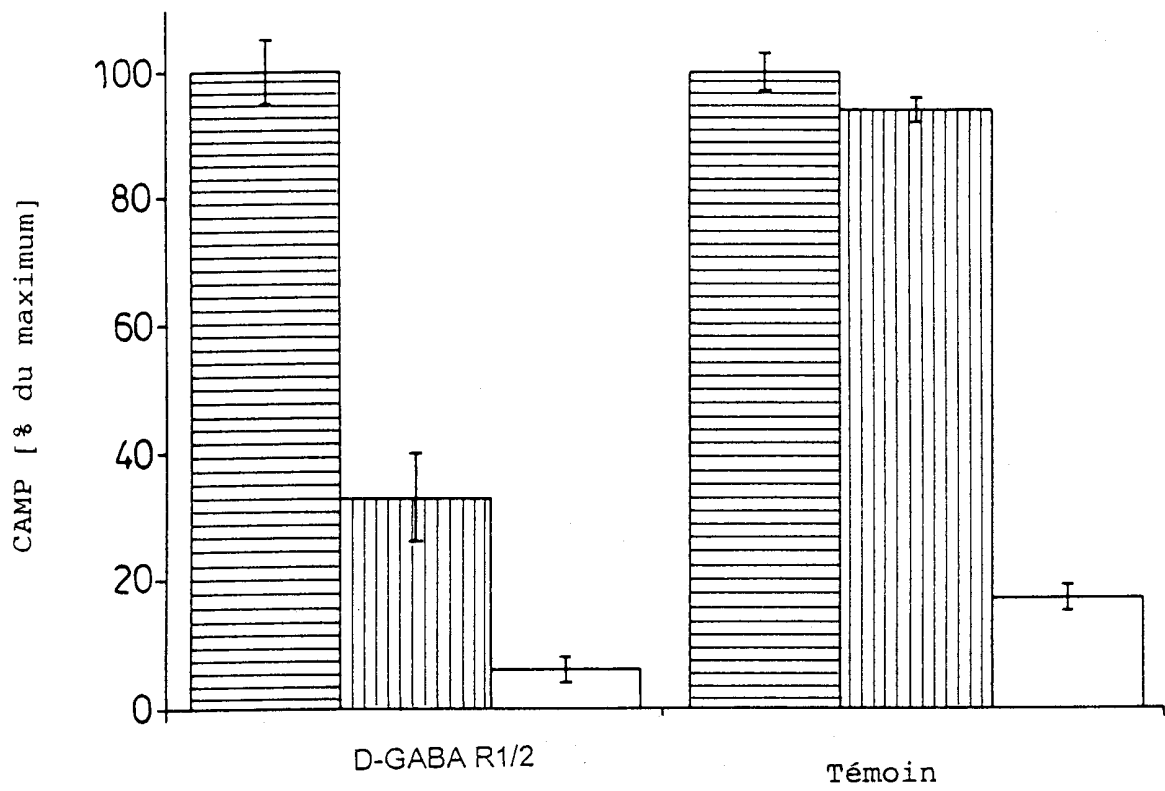
61
~~60~~

2000/0726



Ge
SA

Fig. 2



63
59

2000/0726

Abrégé.

Récepteurs GABA-B.

L'invention concerne des polypeptide, qui exercent l'activité biologique des récepteurs GABA-B, ainsi que des acides nucléiques qui codent pour ces polypeptides et en particulier, leur utilisation pour la recherche d'agents actifs pour la protection des végétaux.

Figure 1



PRINCIPAL DIRECTORATE
SEARCH

INTEROFFICE MEMO

Application No
BO 8056
BE 200000726

La présente demande manque d'unité. Ceci, est dû au fait que les séquences ID no.3 et 4 sont déjà connues: voir citation dans le rapport de recherche (EMBL:AF145633). Les 3 protéines revendiquées sont toutes des récepteurs GABA-B de drosophile mais le % d'identité entre elles est très faible: au plus 24%. La recherche a quand même été complète car cela ne demandait pas un gros effort de travail supplémentaire.

REQUEST FOR FEEDBACK

Examiner Le Cornec, N
 1212-02486
Date 4 mai 2004



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE
établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

Numero de la demande
nationale

BO 8056
BE 200000726

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.CI.7)
	RECHERCHE INCOMPLETE voir feuille supplémentaire C ---		A01K67/033 C07K14/705 C07K16/28 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/12
X	DATABASE EMBL18 juin 1999 (1999-06-18) G.M. RUBIN ET AL: "Drosophila melanogaster clone GH07312 BcDNA.GH07312 mRNA complete cds" retrieved from EBI, HINXTON, US Database accession no. AF145639 XP002278218 * abrégé *	1-13	
A	US 5 854 002 A (GANT DANIEL B ET AL) 29 décembre 1998 (1998-12-29) * le document en entier *	1-24	
A	HOSIE ALASTAIR M ET AL: "Molecular biology of insect neuronal GABA receptors" TRENDS IN NEUROSCIENCES, vol. 20, no. 12, décembre 1997 (1997-12), pages 578-583, XP002278217 & ISSN: 0166-2236 * le document en entier *	1,2	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CI.7)
			C07K C12N
A	WO 97/46675 A (CIBA GEIGY AG ; BETTLER BERNHARD (CH); FROESTL WOLFGANG (CH); MICKEL S) 11 décembre 1997 (1997-12-11) * le document en entier *	1-24	
A	WO 99/51636 A (STORMANN THOMAS M ; BUSBY JAMES G (US); GARRETT JAMES E (US); NPS PHAR) 14 octobre 1999 (1999-10-14) * revendications; exemple 1 *	1-24	

	-/--		
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
4 mai 2004		Le Cornec, N	
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

3

EPO FORM 1503 03 92 (P04C48)



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE
établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

Numero de la demande
nationale

BO 8056
BE 200000726

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.CI.7)
L	DATABASE EMBL26 mars 2002 (2002-03-26) VENTER J.C. ET AL: "Drosophila melanogaster polypeptide seq ID no. 5283" retrieved from EBI, HINXTON, UK Database accession no. ABB59497 XP002278219 ce document L a été cité pour fournir des informations sur la séquence ID no.5283 de WO-A-0171042 * le document en entier, abrégé *		
E	& WO 01/71042 A (PE CORP NY) 27 septembre 2001 (2001-09-27) ----	1-24	
E	WO 01/70980 A (PE CORP NY) 27 septembre 2001 (2001-09-27) séquences ID no.14,15,59 et 60 ----	1-24	
L	DATABASE EMBL2 février 2004 (2004-02-02) VENTER J.C. ET AL: "sequence ID no. 14637 from patent W00171042" retrieved from EBI, HINXTON, UK Database accession no. CQ586879 XP002278220 document L cité afin de fournir des informations sur la séquence ID no. 14637 contenue dans WO-A-0171042 * le document en entier, abrégé *		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CI.7)
E	& WO 01/71042 A (PE CORP NY) 27 septembre 2001 (2001-09-27) ---- -/--	1-24	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
4 mai 2004		Le Cornec, N	
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

3

EPO FORM 1503 03/82 (P04C48)



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE
établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

Numero de la demande
nationale

BO 8056
BE 200000726

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.CI.7)
L	<p>DATABASE EMBL2 février 2004 (2004-02-02) VENTER J.C. ET AL: "sequence 14636 from patent W00171042" retrieved from EBI, HINXTON, UK Database accession no. CQ586878 XP002278221</p> <p>Ce document L a été cité afin de fournir des informations sur la séquence ID no. 14636 contenue dans le WO-A- 0171042</p> <p>* le document en entier, abrégé *</p>		
E	<p>& WO 01/71042 A (PE CORP NY) 27 septembre 2001 (2001-09-27)</p> <p>---</p>	1-24	
L	<p>DATABASE EMBL2 février 2004 (2004-02-02) VENTER J.C. ET AL: "SEQUENCE 5282 FROM W00171042" retrieved from EBI, HINXTON, UK Database accession no. CQ577524 XP002278222</p> <p>ce document L a été cité afin de fournir des informations sur la séquence ID no. 5282 de WO-A-0171042</p> <p>* le document en entier, abrégé *</p>		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CI.7)
E	<p>-& WO 01/71042 A (PE CORP NY) 27 septembre 2001 (2001-09-27)</p> <p>-----</p>	1-24	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
4 mai 2004		Le Cornec, N	
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons</p> <p>..... & : membre de la même famille, document correspondant</p>			

3

EPO FORM 1503 03.82 (P04C4B)

**RECHERCHE INCOMPLÈTE
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE C**

Numéro de la demande

BO 8056
BE 200000726

Certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche parce qu'elles se rapportent à des parties de la demande qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:

Revendications ayant fait
l'objet de recherches complètes:
1-24

Revendications ayant fait
l'objet de recherches incomplètes:
25

Raison pour la limitation de la recherche:

La revendication 25 a trait à une utilisation d'un composé défini en faisant référence à une caractéristique ou propriété souhaitable, à savoir : un modulateur du polypeptide Recepteur de GABA-B de Drososphile .

La revendication couvre tous les composés présentant cette caractéristique ou propriété, alors que la demande ne fournit aucun fondement ni aucun exposé. Dans le cas présent, la revendication manque de fondement et la demande manque d'exposé à un point tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par la revendication est impossible. Indépendamment des raisons évoquées ci-dessus, la revendication manque aussi de clarté. En effet, on a cherché à définir le composé au moyen du résultat à atteindre. Ce manque de clarté est, dans le cas présent, de nouveau tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par la revendication est impossible. En conséquence, la recherche pour la revendication 25 n'a pu être effectuée que dans le cas où le modulateur est un anticorps contre le récepteur de GABA-B.

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET BELGE NO.**

BO 8056
BE 200000726

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche visé ci-dessus.
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

04-05-2004

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 5854002	A	29-12-1998	AUCUN	
WO 9746675	A	11-12-1997	AU 2028497 A CA 2254862 A1 WO 9746675 A1 EP 0907731 A1 JP 2000515005 T	05-01-1998 11-12-1997 11-12-1997 14-04-1999 14-11-2000
WO 9951636	A	14-10-1999	AU 3468599 A WO 9951636 A2	25-10-1999 14-10-1999
WO 0171042	A	27-09-2001	AU 4594501 A WO 0171042 A2	03-10-2001 27-09-2001
WO 0170980	A	27-09-2001	AU 5094701 A WO 0170980 A2 US 2003092124 A1	03-10-2001 27-09-2001 15-05-2003
WO 0171042	A	27-09-2001	AU 4594501 A WO 0171042 A2	03-10-2001 27-09-2001