

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 447 843**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

C07K 16/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2003 E 09158294 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2013 EP 2085467**

54 Título: **Polipéptidos de Lutzomyia longipalpis y métodos de uso**

30 Prioridad:

29.10.2002 US 422303

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

13.03.2014

73 Titular/es:

**THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA AS REPRESENTED BY THE SECRETARY OF THE DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (50.0%)
National Institutes of Health Office of Technology Transfer 6011 Executive Boulevard Suite 325
Rockville, MD 20852-3804, US y
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ (50.0%)**

72 Inventor/es:

**VALENZUELA, JESUS G;
RIBEIRO, JOSE M.C.;
BARRAL, ALDINA;
NETTO, MANOEL;
BRODSKYN, CLAUDIA y
GOMES, REGIS**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 447 843 T3

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

DESCRIPCIÓN

Polipéptidos de *Lutzomyia longipalpis* y métodos de uso**5 Campo de la invención**

La divulgación se refiere a proteínas sustancialmente purificadas de las glándulas salivales del flebótomo *Lutzomyia longipalpis* (*Lu. longipalpis*), o vectores recombinantes que expresan estas proteínas, así como a una respuesta inmune que producen estas proteínas. Esta divulgación se refiere también a la producción de una respuesta inmune que afecta a la supervivencia de la Leishmania.

Antecedentes

La leishmaniasis es un conjunto de enfermedades causadas por protozoos del género *Leishmania* y que afecta a muchos millones de personas en todo el mundo. En el ser humano, la infección por el parásito se manifiesta en forma de una enfermedad cutánea, causada principalmente por *L. major*, *L. tropica*, y *L. mexicana*; de una enfermedad mucocutánea causada principalmente por *L. brasiliensis*; o de una enfermedad visceral causada principalmente por *L. donovani* y *L. chagasi*. En cánidos, las infecciones por *Leishmania* se manifiestan como una enfermedad visceral que puede provocar unos elevados índices de mortalidad.

Todas las enfermedades por *Leishmania* se transmiten a sus huéspedes vertebrados a través de flebótomos, que adquieren el patógeno al alimentarse de huéspedes infectados y lo transmiten regurgitando el parásito en el lugar en el que se alimentan de sangre posteriormente (Killick-Kendrick, *Biology of Leishmania in phlebotomine sand flies*. En *Biology of the Kinetoplastida*. W. Lumsden y D. Evans, compiladores. Academic Press, New York. 395, 1979).

Mientras se alimenta de sangre, el flebótomo saliva en la piel del huésped. La saliva contiene compuestos anticoagulantes, antiplaquetarios y vasodilatadores que incrementan el foco hemorrágico en el que se alimentan los flebótomos (Ribeiro et al., *Comp. Biochem. Physiol* 4:683, 1986; Charlab et al., *Proc. Natl Acad. Sci. EE.UU.* 26:15155, 1999). Algunos de estos componentes son también inmunomoduladores. Por ejemplo, el flebótomo del Nuevo Mundo *Lutzomyia longipalpis* contiene el péptido 6.5kDa, maxadilano, que es el vasodilatador más potente conocido (Lerner et al., *J. Biol. Chem.* 17:11234, 1991). Por otra parte, el propio maxadilano tiene actividades inmunosupresoras (Qureshi et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 6:665, 1996), al igual que muchos vasodilatadores persistentes, tales como la prostaglandina E₂ (Makoul et al., *J. Immunol.* 134:2645, 1985; Santoli y Zurier, *J. Immunol* 143:1303, 1989; Stockman y Mumford, *Exp. Hematol* 2:65, 1974) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (Nong et al., *J. Immunol.* 1 :45, 1989). Los flebótomos del Viejo Mundo no tienen maxadilano, pero en su lugar utilizan AMP y adenosina como vasodilatadores (Ribeiro et al., *J. Exp. Biol* 11:1551, 1999). La adenosina es también un componente inmunomodulador que promueve la producción de IL-10 y suprime el TNF- α y la IL-12 en ratones (Hasko et al., *J. Immunol.* 10:4634, 1996; Webster, *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* 2:311, 1984; Hasko et al., *FASEB J.* 14:2065, 2000). A pesar de lo que se sabe acerca del papel de la saliva del flebótomo y la transmisión de la enfermedad, queda mucho por saber y no existe una vacuna efectiva. Por tanto, existe una necesidad de agentes que se puedan utilizar para inducir una respuesta inmune a los organismos que causan la leishmaniasis.

Resumen

La presente divulgación se refiere a proteínas salivales de vectores flebótomos *Lutzomyia longipalpis* (*Lu. longipalpis*) y a los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas. Se divulgan, asimismo, métodos para producir una respuesta inmune en un sujeto.

El presente proporciona polipéptidos salivales de *Lu. longipalpis* sustancialmente purificados. También se divulgan polinucleótidos que codifican los polipéptidos de *Lu. longipalpis*.

Se proporcionan métodos para inducir una respuesta inmune utilizando una cantidad terapéuticamente efectiva de un polipéptido salival de *Lu. longipalpis* sustancialmente purificado divulgado en el presente, o bien el polinucleótido que codifica los polipéptidos de *Lu. longipalpis* divulgados en el presente.

En otra realización del presente, se divulgan métodos para inhibir los síntomas de una infección por Leishmania o para prevenir la infección por Leishmania en un sujeto. Los métodos incluyen la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de un polipéptido de *Lu. longipalpis*, o bien de un polinucleótido que codifica un polipéptido de *Lu. longipalpis*. En dos ejemplos, sin carácter limitador, se puede administrar más de un polipéptido de *Lu. longipalpis*, o al menos un polipéptido de *Lu. longipalpis* conjuntamente con un polipéptido de *P. ariasi* o *P. perniciosus*.

En el presente se divulgan asimismo métodos para diagnosticar la infección por Leishmania en un sujeto. Los métodos incluyen poner en contacto un sustrato sólido que contiene al menos tres, seis o diez polipéptidos de *Lu. longipalpis*, o bien un fragmento inmunogénico de los mismos, con una muestra obtenida del sujeto y detectar la unión de un componente de la muestra con al menos un polipéptido del sustrato sólido. La detección de la unión del componente con el sustrato indica que el sujeto está infectado por Leishmania.

Se divulgan composiciones farmacéuticas que incluyen un vehículo farmacéuticamente aceptable y un polipéptido de *Lu. longipalpis*.

Lo anterior y otras características y ventajas se pondrán de manifiesto más claramente en la siguiente descripción detallada de diversas realizaciones, que se ofrecen con referencia a las figuras adjuntas.

Breve descripción de las figuras

FIG. 1 es un conjunto de gráficos de barras que muestran los niveles de anticuerpos contra la saliva de *Lutzomyia longipalpis* (*Lu. longipalpis*) en el suero de los individuos. Los sueros humanos se obtuvieron en el momento 0 (serología anti-Leishmania negativa (S⁻) o DTH negativa (DTH⁻)) y 6 meses más tarde (serología anti-Leishmania positiva (S⁺) o DTH anti-Leishmania positiva (DTH⁺)). Se realizó un ensayo de inmunosorción enzimática (ELISA) con estos sueros utilizando la sonicación de las glándulas salivales del flebótomo *Lu. longipalpis*. La FIG. 1A es un gráfico de barras de los niveles de IgG anti-saliva en individuos que pasaron de S⁻ → S⁺ y los que pasaron de DTH⁻ a DTH⁺. La FIG. 1B es un gráfico de barras de los niveles de IgE anti-saliva en los individuos descritos en la FIG. 1A. La FIG. 1C es un gráfico de barras de los niveles de IgG1 anti-saliva en los individuos descritos en la FIG. 1A. La FIG. 1D es un gráfico de barras de los niveles de IgG4 anti-saliva en los individuos descritos en la FIG. 1A. Se empleó la prueba comparativa de Wilcoxon no paramétrica para comparar los niveles de anticuerpos contra saliva de *Lu. longipalpis* en el momento 0 y después de 6 meses. El valor P < 0,05 se estableció como nivel de significación.

La FIG. 2 es un conjunto de dos imágenes digitales y un gráfico de barras que muestra proteínas salivales reconocidas mediante análisis Western blot. Las FIG. 2A y 2B son imágenes digitales de un Western blot de proteínas salivales de *Lu. longipalpis* que reaccionan con sueros humanos de los individuos que pasaron de S⁻ → S⁺ en Leishmania (bandas 1-6) o de DTH⁻ → DTH⁺ en Leishmania (bandas 7—14). Símbolos:—, momento 0; +, 6 meses. La FIG. 2C es un gráfico de barras de la frecuencia de proteínas salivales reconocidas por sueros de 13 individuos que pasaron de DTB⁻ → DTH⁺ en Leishmania. El eje X muestra las diferentes proteínas salivales de *Lu. longipalpis* (etiquetadas por el peso molecular aproximado) reconocido por análisis Western blot, mientras que el eje Y indica el número de sueros humanos que reconocen una proteína salival concreta.

Listado de secuencias

Las secuencias de aminoácidos y ácidos nucleicos que se recogen en el siguiente listado de secuencias se muestran utilizando las abreviaturas de letras estándar para las bases de nucleótidos y un código de tres letras para los aminoácidos, tal como se define en 37 C.F.R. 1.822. Solamente se muestra una cadena de cada secuencia de ácidos nucleicos, pero se entiende que la cadena complementaria está incluida por referencia a la cadena mostrada. En el listado de secuencias adjunto:

SEC. ID. N°: 1 es la secuencia de aminoácidos de LJL34.
 SEC. ID. N°: 2 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL34.
 SEC. ID. N°: 3 es la secuencia de aminoácidos de LJL18.
 SEC. ID. N°: 4 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL18.
 SEC. ID. N°: 5 es la secuencia de aminoácidos de LJS193.
 SEC. ID. N°: 6 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJS193.
 SEC. ID. N°: 7 es la secuencia de aminoácidos de LJS201.
 SEC. ID. N°: 8 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJS201.
 SEC. ID. N°: 9 es la secuencia de aminoácidos de LJL13.
 SEC. ID. N°: 10 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL13.
 SEC. ID. N°: 11 es la secuencia de aminoácidos de LJL23.
 SEC. ID. N°: 12 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL23.
 SEC. ID. N°: 13 es la secuencia de aminoácidos de LJM10.
 SEC. ID. N°: 14 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJM10.
 SEC. ID. N°: 15 es la secuencia de aminoácidos de LJL143.
 SEC. ID. N°: 16 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL143.
 SEC. ID. N°: 17 es la secuencia de aminoácidos de LJS142.
 SEC. ID. N°: 18 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJS142.
 SEC. ID. N°: 19 es la secuencia de aminoácidos de LJL17.
 SEC. ID. N°: 20 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL17.
 SEC. ID. N°: 21 es la secuencia de aminoácidos de LJM06.
 SEC. ID. N°: 22 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJM06.
 SEC. ID. N°: 23 es la secuencia de aminoácidos de LJM17.
 SEC. ID. N°: 24 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJM17.
 SEC. ID. N°: 25 es la secuencia de aminoácidos de LJL04.
 SEC. ID. N°: 26 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL04.
 SEC. ID. N°: 27 es la secuencia de aminoácidos de LJMI 14.
 SEC. ID. N°: 28 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJMI 14.

- 5
10
15
20
25
30
35
40
45
- SEC. ID. Nº: 29 es la secuencia de aminoácidos de LJMI 11.
 SEC. ID. Nº: 30 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJMI 11.
 SEC. ID. Nº: 31 es la secuencia de aminoácidos de LJM78.
 SEC. ID. Nº: 32 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJM78.
 SEC. ID. Nº: 33 es la secuencia de aminoácidos de LJS238.
 SEC. ID. Nº: 34 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJS238.
 SEC. ID. Nº: 35 es la secuencia de aminoácidos de LJS169.
 SEC. ID. Nº: 36 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJS169.
 SEC. ID. Nº: 37 es la secuencia de aminoácidos de LJL11.
 SEC. ID. Nº: 38 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL11.
 SEC. ID. Nº: 39 es la secuencia de aminoácidos de LJL08.
 SEC. ID. Nº: 40 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL08.
 SEC. ID. Nº: 41 es la secuencia de aminoácidos de LJS105.
 SEC. ID. Nº: 42 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJS105.
 SEC. ID. Nº: 43 es la secuencia de aminoácidos de LJL09.
 SEC. ID. Nº: 44 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL09.
 SEC. ID. Nº: 45 es la secuencia de aminoácidos de LJL38.
 SEC. ID. Nº: 46 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL38.
 SEC. ID. Nº: 47 es la secuencia de aminoácidos de LJM04.
 SEC. ID. Nº: 48 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJM04.
 SEC. ID. Nº: 49 es la secuencia de aminoácidos de LJM26.
 SEC. ID. Nº: 50 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJM26.
 SEC. ID. Nº: 51 es la secuencia de aminoácidos de LJS03.
 SEC. ID. Nº: 52 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJS03.
 SEC. ID. Nº: 53 es la secuencia de aminoácidos de LJS192.
 SEC. ID. Nº: 54 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJS192.
 SEC. ID. Nº: 55 es la secuencia de aminoácidos de LJM19.
 SEC. ID. Nº: 56 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJM19.
 SEC. ID. Nº: 57 es la secuencia de aminoácidos de LJL138.
 SEC. ID. Nº: 58 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL138.
 SEC. ID. Nº: 59 es la secuencia de aminoácidos de LJL15.
 SEC. ID. Nº: 60 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL15.
 SEC. ID. Nº: 61 es la secuencia de aminoácidos de LJL91.
 SEC. ID. Nº: 62 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL91.
 SEC. ID. Nº: 63 es la secuencia de aminoácidos de LJM11.
 SEC. ID. Nº: 64 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJM11.
 SEC. ID. Nº: 65 es la secuencia de aminoácidos de LJS138.
 SEC. ID. Nº: 66 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJS138.
 SEC. ID. Nº: 67 es la secuencia de aminoácidos de LJL124.
 SEC. ID. Nº: 68 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL124.
 SEC. ID. Nº: 69 es la secuencia de aminoácidos de LJL35.
 SEC. ID. Nº: 70 es la secuencia de ácidos nucleicos de LJL35.
 SEC. ID. Nº: 71 es un oligonucleótido cebador.
 SEC. ID. Nº: 72 es un oligonucleótido cebador.
 SEC. ID. Nº: 73 es un oligonucleótido cebador.

Descripción detallada

I. Abreviaturas

- 50
55
60
65
- | | |
|--------|---|
| AAV | virus adenoasociados |
| AcNPV | Virus de la polihedrosis nuclear Autographa California alum fosfato de aluminio o hidróxido de aluminio |
| BCG | Bacilo de Calmette-Guérin |
| BLAST | Herramienta de búsqueda de alineamientos locales básicos |
| BSA | albúmina de suero bovino |
| CAV | adenovirus canino |
| CDR | región determinante de la complementariedad |
| CHV | herpesvirus canino |
| CMV | citomegalovirus |
| CTL | linfocitos T citotóxicos |
| DMRIE | N-(2-hidroxiethyl)-N,N-dimetil-2,3-bis(tetradeciloxi)-l- propanamionio |
| DOPE | dioleoil-fosfatidil-etanolamina |
| DTH | hipersensibilidad tardía |
| fMLP | N-formil-metionil-leucil-fenilalanina |
| GM-CSF | factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos |
| H | cadenas pesadas |

	HLB	balance hidrofílico-lipofílico
	ID	intradérmico
	IM	intramuscular
	ISS	secuencia inmunoestimulante
5	KLH	hemocianina de lapa californiana
	L	cadena ligera
	LB	caldo Luria
	<i>Lu.</i>	<i>longipalpis Lutzomyia longipalpis</i>
	MVA	Virus Vaccinia modificado de Ankara
10	OFR	marco abierto de lectura
	P.	ariasi <i>Phlebotomus ariasi</i>
	PCR	reacción en cadena de la polimerasa
	polyA	señal de poliadenilación
	P.	papatasi <i>Phlebotomus papatasi</i>
15	PVDF	fluoruro de polivinilideno
	SC	subcutáneo
	SCA	anticuerpo de cadena sencilla
	sFv	proteínas de unión a antígeno de cadena sencilla
	SGH	homogeneizado de las glándulas salivales
20	SPGA	(sacarosa, fosfato, glutamato y albúmina)
	tPA	activador tisular del plasminógeno
	V _H	región variable de la cadena pesada
	V _L	región variable de la cadena ligera
25	VL	leishmaniasis visceral

II. Términos

A menos que se indique lo contrario, los términos técnicos se usan con arreglo al uso convencional. Las definiciones de términos comunes en biología molecular se pueden encontrar en Benjamin Lewin, *Genes V*, publicado por Oxford University Press, 1994 (ISBN 0-19-854287-9); Kendrew et al. (comp.), *The Encyclopedia of Molecular Biology*, publicado por Blackwell Science Ltd., 1994 (ISBN 0-632-02182-9); y Robert A. Meyers (comp.), *Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference*, publicado por VCH Publishers, Inc., 1995 (ISBN 1-56081-569-8).

A fin de facilitar la revisión de las diversas realizaciones de la divulgación, se facilitan las siguientes explicaciones de términos concretos:

Amplificación de una molécula de ácido nucleico (por ejemplo, una molécula de ADN o ARN): Una técnica que incrementa el número de copias de una molécula de ácido nucleico en una muestra. Un ejemplo de amplificación es la reacción en cadena de la polimerasa, en la que la muestra biológica recogida de un sujeto se pone en contacto con un par de cebadores oligonucleótidos en unas condiciones que permiten la hibridación de los cebadores con un ácido nucleico molde en la muestra. Los cebadores se elongan en condiciones adecuadas, se disocian del molde y se renaturalizan, se elongan y disocian para amplificar el número de copias de ácido nucleico. El producto de la amplificación se puede caracterizar mediante electroforesis, patrones de clivaje de endonucleasas de restricción, unión o hibridación de oligonucleótidos y/o secuenciación de ácido nucleico utilizando técnicas estándar. Otros ejemplos de amplificación incluyen la amplificación por desplazamiento de la cadena, tal como se divulga en la Patente estadounidense nº 5.744.311; la amplificación isotérmica sin transcripción, tal como se divulga en la Patente estadounidense nº 6.033.881; amplificación por reacción en cadena de amplificación, tal como se divulga en WO 90/01069; amplificación por reacción en cadena de ligasa, tal como se divulga en EP 0320308; amplificación por reacción en cadena de ligasa con relleno de huecos, tal como se divulga en la Patente estadounidense nº 5.427.930; y amplificación sin transcripción de ARN NASBA™, tal como se divulga en la Patente estadounidense nº 6.025.134.

Anticuerpo: Moléculas de inmunoglobulina y porciones inmunológicamente activas de moléculas de inmunoglobulina, es decir, moléculas que contienen un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a (inmunorreacciona con) un antígeno.

Un anticuerpo naturalmente presente (por ejemplo, IgG, IgM, IgD) incluye cuatro cadenas de polipéptidos, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas mediante enlaces disulfuro. Sin embargo, se ha demostrado que la función de unión a antígeno de un anticuerpo se puede realizar con fragmentos de un anticuerpo naturalmente presente. De este modo, estos fragmentos de unión a antígeno también se designarán por el término "anticuerpo". Algunos ejemplos concretos, a título meramente enunciativo, de fragmentos de unión incluidos en el término anticuerpo son (i) un fragmento Fab que se compone de los dominios V_L, V_H, CL, y CH1; (ii) un fragmento Fd que se compone de los dominios V_H y CH1; (iii) un fragmento Fv que se compone de los dominios V_L y V_H de un anticuerpo, (iv) un fragmento dAb (Ward et al., *Nature* 341:544-546, 1989) que se compone de un dominio V_H; (v) una región determinante de la complementariedad (CDR) aislada; y (vi) un fragmento F(ab')₂, un fragmento bivalente que se compone de dos fragmentos Fab unidos por un puente de disulfuro en la región bisagra.

Las inmunoglobulinas y ciertas variantes de las mismas son conocidas; muchas han sido preparadas en cultivo de células recombinantes (véase, por ejemplo, la Patente estadounidense nº 4.745.055; la Patente estadounidense nº 4.444.487; WO 88/03565; EP 0256654; EP 0120694; EP 0125023; Faoukner et al., Nature 298:286, 1982; Morrison, J. Immunol. 123:793, 1979; Morrison et al., Ann Rev. Immunol 2:239, 1984).

Animal: Organismos vertebrados multicelulares vivos. Una categoría que incluye, por ejemplo, mamíferos y aves. El término mamífero incluye tanto humanos como mamíferos no humanos. De forma similar, el término "sujeto" incluye tanto humanos como sujetos veterinarios, tales como perros.

Variantes conservadoras: Las sustituciones conservadoras de aminoácidos son aquellas que no afectan sustancialmente ni disminuyen la actividad o antigenicidad del polipéptido de *Lu. longipalpis*. Algunos ejemplos concretos, sin carácter limitador, de una sustitución conservadora incluyen los siguientes:

Residuo original	Sustituciones conservadoras
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln, His
Asp	Glu
Lys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
His	Asn; Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile; Val
Lys	Arg; Gln; Glu
Met	Leu; Ile
Phe	Met; Leu; Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp; Phe
Val	Ile ; Leu

El término variación conservadora incluye también el uso de un aminoácido sustituido en lugar de un aminoácido matriz no sustituido, siempre que los anticuerpos obtenidos para el polipéptido no sustituido también inmunorreacten esencialmente con el polipéptido sustituido, o que se pueda generar una respuesta inmune contra el polipéptido sustituido que sea similar a la respuesta inmune contra el polipéptido no sustituido. Por tanto, en una realización, las sustituciones no conservadoras son aquellas que reducen una actividad o antigenicidad.

ADNc (ADN complementario): Un fragmento de ADN que carece de segmentos internos no codificantes (intrones) y secuencias de control de la expresión. El ADNc se sintetiza en el laboratorio mediante transcripción inversa a partir de ARN mensajero extraído de células.

Variante degenerada: Un polinucleótido que codifica un polipéptido de *Lu. longipalpis* que incluye una secuencia que está degenerada como resultado del código genético. Existen 20 aminoácidos naturales, la mayoría de los cuales están especificados por más de un codón. Por lo tanto, todas las secuencias de nucleótidos degeneradas están incluidas en la divulgación siempre que la secuencia de aminoácidos del polipéptido de *Lu. longipalpis* codificado por la secuencia de nucleótidos se mantenga sin cambios.

Hipersensibilidad tardía (DTH): Una reacción inmune en la que la activación de macrófagos dependiente de linfocitos T y la inflamación causan daños en los tejidos. A menudo se utiliza una reacción por DTH a la inyección subcutánea de antígeno como un ensayo de la inmunidad mediada por células.

Epítopo: Un determinante antigénico. Se trata de grupos químicos o secuencias peptídicas concretas de una molécula que son antigénicos, es decir, que producen una respuesta inmune específica. Un anticuerpo se une específicamente a un epítopo antigénico concreto de un polipéptido. Algunos ejemplos concretos, a título meramente enunciativo, de un epítopo incluyen una secuencia de tetra a pentapéptidos de un polipéptido, una secuencia de tria-pentaglucósidos de un polisacárido. En el animal, la mayoría de los antígenos presentarán varios o incluso

numerosos determinantes antigénicos simultáneamente. Este polipéptido también puede ser cualificado como un polipéptido inmunogénico y el epítipo puede ser identificado como se define en el presente.

Secuencias de control de la expresión: Secuencias de ácido nucleico que controlan y regulan la expresión de una secuencia de ácido nucleico, como una secuencia de ácido nucleico heteróloga, a la que están operativamente unidas. Las secuencias de control de la expresión están operativamente unidas a una secuencia de ácido nucleico cuando las secuencias de control de la expresión controlan y regulan la transcripción y, cuando corresponde, la traducción de la secuencia de ácido nucleico. Por tanto, las secuencias de control de la expresión pueden incluir promotores, potenciadores, terminadores de la transcripción, señales de polyA, un codón de inicio (por ejemplo, ATG) delante de una secuencia de polinucleótidos que codifica proteína, la señal de unión para los intrones, el mantenimiento del marco de lectura correcto de ese gen que permita la correcta traducción de ARNm y codones de parada apropiados.

Para los fines del presente, el término "secuencias de control" incluye, como mínimo, componentes cuya presencia puede influir en la expresión y también puede incluir componentes adicionales cuya presencia es beneficiosa, por ejemplo, secuencias líder y secuencias del componente de fusión. Las secuencias de control de la expresión pueden incluir un promotor.

Un promotor es una secuencia mínima suficiente para dirigir la transcripción de un ácido nucleico. Los promotores pueden ser específicos de un tipo de célula o específicos de un tejido. Un promotor incluye secuencias de ácido nucleico necesarias cerca del sitio de inicio de la transcripción, como, en el caso de un promotor de la polimerasa tipo II, un elemento TATA. Un promotor también incluye opcionalmente un potenciador distal o elementos represores que pueden estar ubicados a varios miles de pares de bases del sitio de inicio de la transcripción. Se incluyen tanto promotores constitutivos como inducibles (véase, por ejemplo, Bitter et al., *Methods in Enzymology* 153:516-544, 1987).

Por ejemplo, cuando se clonan sistemas bacterianos, pueden usarse promotores inducibles tales como pL del bacteriófago lambda, plac, ptrp, ptac (promotor híbrido ptrp-lac) y similares. En una realización, cuando se clonan sistemas celulares de mamífero, pueden usarse promotores obtenidos del genoma de células de mamífero (tales como el promotor de la metalotioneína) o de virus de mamífero (tales como la repetición terminal larga de retrovirus; el promotor tardío de adenovirus; el promotor 7.5K del virus vaccinia). También pueden usarse promotores producidos por ADN recombinante o técnicas sintéticas para proporcionar la transcripción de las secuencias de ácido nucleico. Se puede insertar un polinucleótido en un vector de expresión que contiene una secuencia promotora que facilita la transcripción eficiente de la secuencia genética insertada del huésped. Típicamente el vector de expresión contiene un origen de la replicación, un promotor, así como secuencias de ácido nucleico específicas que permiten la selección fenotípica de las células transformadas. En una realización, el promotor es un promotor de citomegalovirus.

Células huésped: Células en las que puede propagarse un vector y expresarse su ADN. La célula puede ser procarionota o eucariota. El término también incluye cualquier descendencia de la célula huésped del sujeto. Se entiende que toda la descendencia puede no ser idéntica a la célula precursora ya que puede haber mutaciones que suceden durante la replicación. Sin embargo, dicha descendencia se incluye cuando se usa la expresión "célula huésped". También se incluyen las células del sujeto.

Respuesta inmune: Una respuesta de una célula del sistema inmunitario, como un linfocito B, linfocito T o monocito, a un estímulo. En una realización, la respuesta es específica para un antígeno concreto (una "respuesta específica de antígeno"). La respuesta también puede ser no específica (no dirigida específicamente a los polipéptidos salivales), como la producción de linfocinas. En una realización, una respuesta inmune es una respuesta de linfocitos T, como una respuesta de CD4+ o una respuesta de CD8+. En otra realización, la respuesta es una respuesta de Th1 (un subconjunto de linfocitos T colaboradores). En otra respuesta más, la respuesta es una respuesta de linfocitos B y provoca la producción de anticuerpos específicos.

Polipéptido inmunogénico: Un polipéptido que comprende un motivo específico de alelo, un epítipo u otra secuencia de modo que el polipéptido se una a una molécula MHC e induzca una respuesta de linfocitos T citotóxicos ("CTL"), y/o una respuesta de linfocitos B (por ejemplo, producción de anticuerpos), y/o una respuesta de linfocitos T coadyuvantes, y/o una respuesta de hipersensibilidad tardía (DTH) contra el antígeno del que se obtiene el polipéptido inmunogénico.

En una realización, los polipéptidos inmunogénicos se identifican utilizando motivos de secuencias u otros métodos conocidos en el campo. Típicamente se utilizan algoritmos para determinar el "umbral de unión" de los polipéptidos, a fin de seleccionar aquellos con las puntuaciones que hacen que tengan una mayor probabilidad de unirse a una determinada afinidad y que serán inmunogénicos. Los algoritmos se basan en los efectos sobre la unión a MHC de un aminoácido concreto en una posición concreta, los efectos sobre la unión al anticuerpo de un aminoácido concreto en una posición concreta, o los efectos sobre la unión de una sustitución concreta en un polipéptido que contiene un motivo. En el contexto de un polipéptido inmunogénico, un "residuo conservado" es aquel que aparece con una frecuencia notablemente superior a la que cabría esperar de una distribución aleatoria en una posición

concreta de un polipéptido. En una realización, un residuo conservado es aquel en el que la estructura del MHC puede proporcionar un punto de contacto con el polipéptido inmunogénico.

5 **Composición inmunogénica:** Una composición que, cuando se administra a un sujeto, induce una respuesta inmune a un polipéptido salival de *Lu. longipalpis*. En una realización, en particular una respuesta DTH positiva.

10 **Aislado:** Un componente biológico "aislado" (como un ácido nucleico o proteína u orgánulo) ha sido sustancialmente separado o purificado de otros componentes biológicos de la célula del organismo en la que el componente está naturalmente presente, como, por ejemplo, otro ADN o ARN cromosómico y extracromosómico, proteínas y orgánulos. Los ácidos nucleicos y proteínas que han sido "aislados" incluyen ácidos nucleicos y proteínas purificados mediante métodos de purificación estándar. El término también comprende los ácidos nucleicos y proteínas preparados mediante tecnología recombinante y síntesis química.

15 **Etiqueta:** Un compuesto o composición detectable que se conjuga directa o indirectamente con otra molécula para facilitar la detección de dicha molécula. Algunos ejemplos de etiquetas, a título meramente enunciativo, incluyen etiquetas fluorescentes, enlaces enzimáticos e isótopos radiactivos.

20 **Leishmaniasis:** Una enfermedad parasitaria que se propaga por la picadura de flebotomos infectados. El parásito tripanosoma del género *Leishmania* es el agente etiológico de diversas manifestaciones patológicas, conocidas colectivamente como leishmaniasis. La leishmaniasis es prevalente en todas las regiones tropicales y subtropicales de África, Asia, el Mediterráneo, el sur de Europa (Viejo Mundo), y el sur y el centro de América (Nuevo Mundo). Las especies del viejo mundo se transmiten a través del vector flebotomo *Phlebotomus sp.* Los seres humanos, animales salvajes y animales domésticos (como los perros) son objetivos conocidos de estos flebotomos, que actúan como huéspedes de depósito o desarrollan la leishmaniasis.

25 La leishmaniasis cutánea comienza con la aparición de un único o múltiples nódulos, que se convierten en úlceras en la piel en el lugar de la picadura. La úlcera de los chicleros típicamente se presenta como una pérdida de tejido similar a un corte en el lóbulo de la oreja. El periodo de incubación se prolonga entre unos días y varios meses, o incluso años en algunos casos. Por lo general, las heridas persisten durante varios meses o algunos años y en la mayoría de los casos cicatrizan por sí solas. El tipo mucocutáneo puede provocar lesiones erosivas en nariz, boca o garganta, pudiendo provocar graves desfiguraciones. La leishmaniasis visceral normalmente provoca la aparición de fiebre en un patrón diario típico, aumento de tamaño del abdomen acompañado de dolor, debilidad, hinchazón generalizada de los nódulos linfáticos y pérdidas de peso, además de infecciones sobreimpuestas como consecuencia de la debilitación del sistema inmunitario. La leishmaniasis visceral (VL) puede provocar tasas de mortalidad elevadas. La aparición de los síntomas puede ser repentina, aunque por lo general tiende a ser insidiosa.

35 ***Lutzomyia longipalpis* (*Lu. longipalpis*):** Una especie de flebotomo endógena del Nuevo Mundo (América del Sur y Centroamérica). Este flebotomo es el principal vector de la leishmaniasis visceral americana, una enfermedad potencialmente mortal que afecta principalmente a los niños en varios países de Sudamérica y América Central.

40 **Linfocitos:** Un tipo de leucocito que participa en la defensa inmunitaria del organismo. Existen dos tipos de linfocitos: los linfocitos B y T.

Mamífero: Este término incluye tanto a los seres humanos como a los mamíferos no humanos. De forma similar, el término "sujeto" incluye tanto a seres humanos como a sujetos veterinarios.

45 **Oligonucleótido:** Una secuencia lineal de polinucleótidos de hasta unas 100 bases de nucleótidos de longitud.

50 **Marco abierto de lectura (ORF):** Una secuencia de ácido nucleico que cuenta con una serie de tripletes de nucleótidos (codones), que comienza por un codón de inicio y termina por un codón de parada, que codifica aminoácidos sin ningún codón de terminación interno. Habitualmente estas secuencias se pueden convertir en un polipéptido.

55 **Operativamente unido:** Una primera secuencia de ácido nucleico está operativamente unida con una segunda secuencia de ácido nucleico cuando la primera secuencia de ácido nucleico está dispuesta en una relación funcional con la segunda secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, un promotor está operativamente unido con una secuencia de codificación si el promotor influye en la transcripción o expresión de la secuencia de codificación. Por lo general, las secuencias de ADN operativamente unidas son contiguas y, cuando es necesario unir dos regiones de codificación de proteínas, en el mismo marco de lectura.

60 **Modificaciones de polipéptidos:** Los polipéptidos de *Lu. longipalpis* incluyen realizaciones sintéticas de los polipéptidos descritos en el presente. Por otra parte, se pueden utilizar análogos (moléculas orgánicas no peptídicas), derivados (moléculas peptídicas químicamente funcionalizadas obtenidas a partir de las secuencias de polipéptidos divulgadas) y variantes (homólogos) de estas proteínas en los métodos descritos en el presente. Cada polipéptido de la divulgación se compone de una secuencia de aminoácidos, que pueden ser L-aminoácidos y/o D-aminoácidos, naturalmente presentes y de otro modo.

65

Los polipéptidos se pueden modificar mediante diversas técnicas químicas para producir derivados que tienen básicamente la misma actividad que los polipéptidos sin modificar y, opcionalmente, otras propiedades deseables. Por ejemplo, los grupos de ácido carboxílico de la proteína, sean de cadena carboxi-terminal o lateral, se pueden proporcionar en forma de una sal de un catión farmacéuticamente aceptable o esterificarse para formar un éster C₁-C₁₆, o convertirse en una amida de fórmula NR₁R₂ en la que R₁ y R₂ cada una independientemente H o alquilo C₁-C₁₆, o combinarse para formar un anillo heterocíclico, tal como un anillo de 5 ó 6 elementos. Los grupos amino del péptido, ya sean de cadena amino-terminal o lateral, pueden ser en forma de una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable, como HCl, HBr, acético, benzoico, toluensulfónico, maleico, tartálico y otras sales orgánicas, o pueden modificarse a alquilo C₁-C₁₆ o dialquilamino o transformarse más hasta una amida.

Los grupos hidroxilo de las cadenas peptídicas laterales pueden convertirse en alcoholi C₁-C₁₆ o en éster C₁-C₁₆ utilizando técnicas bien reconocidas. Los anillos fenilos y fenólicos de las cadenas laterales del péptido pueden estar sustituidas con uno o más átomos de halógeno, tales como flúor, cloro, bromo o yodo, o con alquilo C₁-C₁₆, alcoxi C₁-C₁₆, ácidos carboxílicos y ésteres de los mismos o amidas de dichos ácidos carboxílicos. Los grupos metileno de las cadenas laterales del péptido pueden prolongarse a alquilenos C₂-C₄ homólogos. Los tioles pueden protegerse con uno cualquiera de varios grupos de protección bien reconocidos, tales como grupos acetamida. Los expertos en el campo también reconocerán métodos para introducir estructuras cíclicas en los péptidos de esta divulgación para seleccionar y proporcionar restricciones conformacionales a la estructura que produzcan una estabilidad potenciada.

Se prevén realizaciones peptidomiméticas y organomiméticas, por las cuales la disposición tridimensional de los constituyentes químicos de dichos peptidomiméticos y organomiméticos imitan la disposición tridimensional de la estructura peptídica y las cadenas laterales de los aminoácidos componentes, produciendo dichos peptidomiméticos y organomiméticos de un polipéptido de *L. longipalpis* que tienen capacidad medible o potenciada de generar una respuesta inmune. Para aplicaciones de modelización por ordenador, un farmacóforo es una definición tridimensional idealizada de los requisitos estructurales para la actividad biológica. Los peptidomiméticos y organomiméticos pueden diseñarse de forma que se adapten a cada farmacóforo con el software de modelización por ordenador actual (usando diseño de fármacos asistido por ordenador o CADD). Véase Walters, "Computer-Assisted Modeling of Drugs," Klegerman & Groves (comp.), 1993, Pharmaceutical Biotechnology, Interpharm Press: Buffalo Grove, IL, pp. 165-174 y Principles of Pharmacology Munson (comp.) 1995, Ch. 102, para consultar una descripción de las técnicas utilizadas en el CADD. También se incluyen miméticos preparados usando dichas técnicas.

Vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables: Los vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables utilizados son los convencionales. Remington's Pharmaceutical Sciences, de E. W. Martin, Mack Publishing Co., Easton, PA, 15ª edición (1975), describe composiciones y formulaciones adecuadas para la administración farmacéutica de los polipéptidos, plásmidos y vectores virales divulgados en el presente.

En general, la naturaleza del vehículo o excipiente dependerá del modo de administración concreto que se vaya a emplear. Por ejemplo, las formulaciones parenterales habitualmente comprenden fluidos inyectables que incluyen como vehículo fluidos farmacéutica y fisiológicamente aceptables, tales como agua, suero fisiológico, soluciones salinas equilibradas, dextrosa acuosa, glicerol o similares. Para composiciones sólidas (por ejemplo, comprimidos secados por congelación, polvos, píldoras, tabletas o cápsulas), los vehículos o excipientes sólidos no tóxicos convencionales pueden incluir, por ejemplo, manitol, lactosa, almidón o estearato de magnesio de grado farmacéutico. Además de vehículos o excipientes biológicamente neutros, las composiciones farmacéuticas a administrar pueden contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas, tales como agentes humectantes o emulsionantes, conservantes y agentes tampón del pH y similares, por ejemplo, acetato sódico o monolaurato de sorbitán.

Phlebotomus ariasi (P. ariasi): Una especie del género flebótomo (mosca de la arena) endógena del Viejo Mundo, en particular del sur de Europa y los países del Mediterráneo, más concretamente de España y Francia. Este flebótomo es un vector de la leishmaniasis visceral demostrado. *P. ariasi* es un miembro del subgénero *Phlebotomus Larrousius*.

Phlebotomus perniciosus (P. perniciosus): Una especie de flebótomo (mosca de la arena) endógena del Viejo Mundo, en particular del sur de Europa y los países del Mediterráneo, más concretamente de Francia, Italia, Grecia, Marruecos y España. Este flebótomo es un vector de la leishmaniasis visceral demostrado. *P. perniciosus* es un miembro del subgénero *Phlebotomus Larrousius*.

Polinucleótido: El término polinucleótido o secuencia de ácido nucleico se refiere a una forma polimérica de nucleótido de al menos 10 bases de longitud, que incluye, por tanto, oligonucleótidos y genes. Un polinucleótido recombinante incluye un polinucleótido que no se encuentra inmediatamente contiguo a las dos secuencias codificantes inmediatamente contiguas (una en el extremo 5' y una en el extremo 3') en el genoma de origen natural del organismo del que se obtiene. Por tanto, el término incluye, por ejemplo, un ADN recombinante que está incorporado en un vector; en un virus o un plásmido de replicación autónoma; o en el ADN genómico de una célula procariota o eucariota, o que existe en forma de una molécula separada (por ejemplo, un ADNc) independiente de

otras secuencias. Los polinucleótidos pueden ser ribonucleótidos, desoxirribonucleótidos, o formas modificadas de cualquier nucleótido. El término incluye formas monocatenarias y bicatenarias de ADN.

5 **Polipéptido:** Cualquier cadena de aminoácidos, independientemente de la longitud (incluyendo, por tanto, oligopéptidos, péptidos y proteínas) o modificación posterior a la traducción (por ejemplo, glucosilación, fosforilación o acilación). Un polipéptido incluye también el precursor, así como la proteína madura. En una realización, el polipéptido es un polipéptido aislado de *Lu. longipalpis* o codificado por un ácido nucleico aislado de *Lu. longipalpis*, como los polipéptidos de *Lu. longipalpis* divulgados en el presente.

10 **Sondas y cebadores:** Una sonda comprende un polinucleótido aislado unido a una etiqueta detectable o molécula informadora. Los cebadores son polinucleótidos cortos. En una realización, los polinucleótidos tienen 15 nucleótidos o más de longitud. Los cebadores pueden hibridarse con una cadena de ADN diana complementaria por hibridación de ácido nucleico para formar un híbrido entre el cebador y la cadena de ADN diana, y después extenderse a lo largo de la cadena de ADN diana por una enzima ADN polimerasa. Pueden usarse pares de cebadores para la
15 amplificación de una secuencia de ácido nucleico, por ejemplo, por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) u otros métodos de amplificación de ácidos nucleicos conocidos en el campo. Un experto en el campo apreciará que la especificidad de una sonda o cebador concreto aumenta con su longitud. Así, por ejemplo, un cebador que comprende 20 nucleótidos consecutivos se hibridará con una diana con una especificidad mayor que un cebador correspondiente de solamente 15 nucleótidos. Por tanto, para obtener mayor especificidad, pueden seleccionarse
20 sondas y cebadores que comprenden al menos 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50 o más nucleótidos consecutivos.

Purificación de proteínas: Los polipéptidos de *Lu. longipalpis* divulgados en el presente se pueden purificar por cualquiera de los medios conocidos en el campo. Véase, por ejemplo, Guide to Protein Purification, Deutscher (comp.), Meth. Enzymol 185, Academic Press, San Diego, 1990; y Scopes, Protein Purification: Principles and
25 Practice, Springer Verlag, New York, 1982. Purificación sustancial se refiere a la purificación a partir de otras proteínas o componentes celulares. Una proteína sustancialmente purificada tiene una pureza mínima del 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o 98%. Así, en un ejemplo concreto, a título meramente enunciativo, una proteína sustancialmente purificada está un 90% libre de otras proteínas o componentes celulares.

30 **Purificado:** El término purificado no requiere pureza absoluta, sino que se entiende como un término relativo. Así, por ejemplo, una preparación de polipéptido purificada es una en la que el polipéptido está más enriquecido que el polipéptido en su entorno natural. Por ejemplo, una preparación de polipéptido se encuentra sustancialmente purificada cuando el polipéptido representa al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, o al menos el 98% del contenido total de polipéptido de la preparación. Lo mismo se aplica a los
35 polinucleótidos. Los polipéptidos divulgados en el presente se pueden purificar por cualquiera de los medios conocidos en el campo (véase, por ejemplo, Guide to Protein Purification, Deutscher (comp.), Meth. Enzymol. 185, Academic Press, San Diego, 1990; and Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, Springer Verlag, New York, 1982).

40 **Recombinante:** Un polinucleótido recombinante es aquel que tiene una secuencia que no se encuentra naturalmente presente o tiene una secuencia que se compone de una combinación artificial de dos segmentos de secuencia que de otro modo estarían separados. Por lo general, esta combinación artificial se realiza mediante síntesis química o, más frecuentemente, mediante la manipulación artificial de segmentos aislados de ácidos nucleicos, por ejemplo mediante técnicas de ingeniería genética. En una realización, un polinucleótido recombinante
45 codifica una proteína de fusión.

Hibridación selectiva: Hibridación en condiciones de rigurosidad moderada o elevada que excluye secuencias de nucleótidos no relacionadas.

50 En reacciones de hibridación de ácidos nucleicos, las condiciones usadas para conseguir un nivel concreto de rigurosidad variarán dependiendo de la naturaleza de los ácidos nucleicos que se están hibridando. Por ejemplo, la longitud, el grado de complementariedad, la composición de la secuencia de nucleótidos (por ejemplo, contenido de GC frente a AT), y el tipo de ácido nucleico (por ejemplo, ARN frente a ADN) de las regiones de hibridación de los ácidos nucleicos pueden considerarse a la hora de seleccionar las condiciones de hibridación. Una consideración
55 adicional es si uno de los ácidos nucleicos está inmovilizado, por ejemplo, en un filtro.

Un ejemplo específico, a título meramente enunciativo, de condiciones de rigurosidad progresivamente más elevadas es el siguiente: 2 x SSC/SDS al 0,1% aproximadamente a temperatura ambiente (condiciones de hibridación); 0,2 x SSC/SDS al 0,1% aproximadamente a temperatura ambiente (condiciones de baja rigurosidad);
60 0,2 x SSC/SDS al 0,1% aproximadamente a 42°C (condiciones de rigurosidad moderada); y 0,1 x SSC aproximadamente a 68°C (condiciones de elevada rigurosidad). Un experto en el campo puede determinar fácilmente variaciones de estas condiciones (por ejemplo, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª ed., vol. 1-3, comp. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989). Las condiciones de hibridación se pueden mantener durante 2 a 16 horas. El lavado puede realizarse usando solamente una de estas
65 condiciones, por ejemplo, condiciones de elevada rigurosidad, o puede usarse cada una de las condiciones, por ejemplo, durante 10-15 minutos cada una, en el orden enumerado anteriormente, repitiendo todos y cada uno de los

pasos indicados. Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, las condiciones óptimas variarán, dependiendo de la reacción de hibridación particular implicada, y pueden determinarse empíricamente.

Identidad de secuencia: La similitud entre secuencias de aminoácidos se expresa en términos del porcentaje de identidad entre las mismas. Cuanto mayor es el porcentaje, más similares son las dos secuencias. Los homólogos o variantes de un polipéptido de *Lu. longipalpis* tendrán un grado relativamente elevado de identidad de secuencia cuando se alinean usando métodos convencionales.

Los métodos de alineación de secuencias para la comparación son bien conocidos en el campo. Se describen diversos programas y algoritmos de alineación en: Smith y Waterman, Adv. Appl Math. 2:482, 1981; Needleman y Wunsch, J. Mol Biol. 48:443, 1970; Pearson y Lipman, Proc. Natl Acad. Sci. USA 85:2444, 1988; Higgins y Sharp, Gene 73:237, 1988; Higgins y Sharp, CABIOS 5:151, 1989; Corpet et al., Nucleic Acids Research 16:10881, 1988; y Pearson y Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. , 85:2444, 1988. Altschul et al., Nature Genet. 6:119, 1994 presenta un análisis detallado de los métodos de alineación de secuencias y los cálculos de identidad.

La herramienta de búsqueda de alineamientos locales básicos (BLAST) del NCBI (Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403, 1990) está disponible de varias fuentes, incluyendo el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, Bethesda, MD) y en Internet, para su uso en relación con los programas de análisis de secuencias blastp, blastn, blastx, tblastn y tblastx. En el sitio web del NCBI se encuentra disponible una descripción de cómo determinar la identidad de secuencia usando este programa.

Los homólogos y variantes de un polipéptido de *Lu. longipalpis* típicamente se caracterizan por tener al menos un 75%, por ejemplo al menos un 80%, de identidad de secuencia contada sobre la alineación de longitud completa con la secuencia del polipéptido de *Lu. longipalpis* usando NCBI Blast 2.0, blastp de huecos ajustado a los parámetros por defecto. La comparación entre las secuencias se realiza sobre la alineación de longitud completa con la secuencia de aminoácidos proporcionada en la presente divulgación, empleando la función de secuencias Blast 2 con la matriz BLOSUM62 por defecto ajustada a los 10 parámetros por defecto, (la existencia de un hueco tiene un valor de 11, y un hueco por residuo tiene un valor de 1).

Cuando se alinean péptidos cortos (menos de aproximadamente 30 aminoácidos), la alineación debe realizarse usando la función de secuencias Blast 2, con la matriz PAM30 ajustada a los parámetros por defecto (penalizaciones de apertura de hueco 9, extensión de hueco 1). Las proteínas con una similitud incluso mayor a las secuencias de referencia mostrarán porcentajes de identidad crecientes cuando se evalúan por este método, tales como al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98%, o al menos el 99% de identidad de secuencia. Cuando se está comparando menos de la secuencia completa para la identidad de secuencia, los homólogos y variantes típicamente tendrán al menos un 80% de identidad de secuencia sobre ventanas cortas de 10-20 aminoácidos, y pueden tener identidades de secuencia de al menos el 85% o al menos el 90% o el 95% dependiendo de su similitud con la secuencia de referencia. Los métodos para determinar la identidad de secuencia sobre estas ventanas cortas están disponibles en el sitio web del NCBI en Internet. Un experto en el campo apreciará que estos intervalos de identidad de secuencia se proporcionan solamente como a título orientativo; es completamente posible que se puedan obtener homólogos muy significativos fuera de los intervalos proporcionados.

Agente de unión específica: Un agente que se une sustancialmente sólo a una diana definida. Por tanto, un agente de unión específica a *Lu. longipalpis* es un agente que se une sustancialmente a un polipéptido de *Lu. longipalpis*.

En una realización, el agente de unión específica es un anticuerpo monoclonal o policlonal que se une específicamente a al polipéptido de *Lu. longipalpis*.

Sujeto: Organismos vertebrados multicelulares vivos, una categoría que incluye tanto sujetos humanos como veterinarios, incluyendo mamíferos humanos y no humanos. En una realización, el sujeto es un miembro de la familia de los cánidos, como un perro. En otra realización, el sujeto es un ser humano.

Linfocito T: Una célula sanguínea de color blanco crítica para la respuesta inmune. Los linfocitos T incluyen, a título meramente enunciativo, linfocitos T CD4⁺ y linfocitos T CD8⁺. Un linfocito T CD4⁺ es una célula inmune que lleva un marcador sobre su superficie conocido como "grupo de diferenciación 4" (CD4). Estas células, también conocidas como linfocitos T coadyuvantes, ayudan a organizar la respuesta inmune, incluyendo respuestas de anticuerpos así como respuestas de linfocitos T citotóxicos. Los linfocitos T CD8⁺ llevan el marcador del "grupo de diferenciación 8" (CD8). En una realización, un linfocito T CD8 es un linfocito T citotóxico. En otra realización, un linfocito T CD8 es un linfocito T supresor.

Polipéptido terapéuticamente activo: Un agente, como un polipéptido de *Lu. longipalpis*, que induce una respuesta inmune, medida por la respuesta clínica (por ejemplo, el aumento en una población de células inmunes, producción de anticuerpo que se une específicamente al polipéptido de *Lu. longipalpis*, una reducción mensurable de los síntomas resultantes de la exposición a Leishmania o protección frente a la infección por Leishmania). Las moléculas terapéuticamente activas también pueden prepararse a partir de ácidos nucleicos. Ejemplos de una molécula terapéuticamente activada basada en ácido nucleico es una secuencia de ácido nucleico que codifica un

polipéptido de *Lu. longipalpis*, donde la secuencia de ácido nucleico está operativamente unida a un elemento de control como un promotor. Los agentes terapéuticamente activos también pueden incluir compuestos orgánicos u otros compuestos químicos que imitan los efectos del polipéptido de *Lu. longipalpis*.

5 El término "fragmento terapéuticamente efectivo de un polipéptido de *Lu. longipalpis*" incluye cualquier fragmento del polipéptido de *Lu. longipalpis*, o variante del polipéptido de *Lu. longipalpis*, o proteína de fusión de un polipéptido de *Lu. longipalpis*, que conserva una función del polipéptido de *Lu. longipalpis* (como la inmunogenicidad) o conserva la capacidad para reducir los síntomas de la exposición a la Leishmania y para proteger frente a la infección por Leishmania.

10 Así, en una realización, una cantidad terapéuticamente efectiva de un fragmento de polipéptido de *Lu. longipalpis* es una cantidad utilizada para generar una respuesta inmune al polipéptido. En otra realización, una cantidad terapéuticamente efectiva de un fragmento de un polipéptido de *Lu. longipalpis* es una cantidad de uso para prevenir o tratar una infección por Leishmania en un sujeto. Tratamiento se refiere a una intervención terapéutica que confiere resistencia a la infección por Leishmania o una reducción de los síntomas asociados con la exposición a la Leishmania. Algunos ejemplos concretos, de carácter no limitador, de un fragmento de polipéptido son la mitad N-terminal o la mitad C-terminal de un polipéptido de *Lu. longipalpis* divulgado en el presente. Cabe señalar que se incluyen las proteínas de fusión, como una fusión con seis residuos de histidina, una etiqueta c-myc o cualquier otra etiqueta del polipéptido. Estas fusiones son conocidas para un experto en el campo y se utilizan a menudo en la purificación de proteínas.

15 **Transducida:** Una célula transducida es una célula en la que se ha introducido una molécula de ácido nucleico por técnicas de biología molecular. Para los fines del presente, el término transducción abarca todas las técnicas por las cuales puede introducirse una molécula de ácido nucleico en dicha célula, incluyendo transfección con vectores virales, transformación con vectores plasmídicos, e introducción de ADN desnudo por electroporación, lipofección, y aceleración por pistola de partículas.

20 **Vector:** Una molécula de ácido nucleico que introducida en una célula huésped produce una célula huésped transducida. Un vector puede incluir secuencias de ácido nucleico que le permiten replicarse en una célula huésped, como un origen de replicación. Un vector también puede incluir uno o más genes marcadores seleccionables y otros elementos genéticos conocidos en el campo.

25 **Vacuna:** Una composición que, cuando se administra a un sujeto, induce una reducción de la gravedad de los síntomas de un trastorno o una enfermedad. En una realización, una vacuna reduce la gravedad de los síntomas de la leishmaniasis y/o reduce la carga parasitaria.

30 A menos que se explique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos empleados en el presente tienen los mismos significados que normalmente entiende un experto en el campo al que corresponde la divulgación. Los términos singulares "un", "una" y "el", "la" incluyen los plurales, salvo que el contexto indique claramente lo contrario. Asimismo, se entiende que la palabra "o" incluye "y", salvo que el contexto indique claramente lo contrario. El término "comprende" significa "incluye" y una composición que comprende un polipéptido incluye ese polipéptido. Debe entenderse también que todos los tamaños de bases o tamaños de aminoácidos y todos los valores de peso molecular o masa molecular dados para los polinucleótidos o polipéptidos son aproximados y se proporcionan con fines descriptivos. Aunque en la práctica o el ensayo de la presente divulgación pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. Todas las publicaciones, solicitudes de patente, patentes y otras referencias mencionadas en el presente se incorporan como referencia en su totalidad. En caso de conflicto, predominará la presente especificación, incluyendo las explicaciones de términos. Por otra parte, los materiales, métodos y ejemplos se ofrecen únicamente a título ilustrativo y no tienen un carácter limitador.

35

Polinucleótidos y polipéptidos de *Lu. Longipalpis*

En el presente se divulgan los polipéptidos salivales del flebótomo *Lu. longipalpis*.

LJL34 (SEC. ID. N°: 1)

MLQIKHLLIFVGLLVVNAQSNYCKQESCSSGGVERPHIGCKNSGDFSETCSGDAEIVKMDK
KKQNLLVKMHNRLRDRFARGAVPGFAPAAKMPMLKWDELAKLAEYNVRTCKFAHDKC
RAIDVCPYAGQNLAQMMSYPTHRLDNLVKNLTREWFWEYRWAKQSQLDNYVGGPGKD
NKQIGHFTA FVHEKTDKVGCAIARFTNEHNFKETLLACNYCYTNMMKERIYTQGKPCSQCQ
SKKCGPVYKNLCDPSEKVDPTPDVLKQWKHGK

LJL34 (SEC ID N°: 3

MLLRSLFVLFILFTFCNAEEELIERKLTGKTIYISTIKLPWFQALNHCVKNGYTMVSIKTFFEE
NKELLKELKRVIRTEDTQVWIGGLKHHQFANFRWVSDGSHVATASGYTNWAPGEPADSFY
YDQFCMAMLFRKDGAPWDDLNCWVKNL FVCEKRDD

5

LJS193 (SEC ID N°: 5

MKLLQIIFSLFLVFFPTSNGALTGNESAANAAPLPVVLWHGMGDSCCFPFSLGSIKCLIEQQIP
GIHVVSLKIGKSLIEDYESGFFVHPDKQIQEVCESLQNDLTLANGFNAIGFSQGSQFLRGLVQR
CSSIQVRNLISIGGQHOGVFGLPYCPSLSRKTCEYFRKLLNYAAYEKWVQKLLVQATYWH
PLNEDAYRTGSTFLADINNERQINNDYINNIRKLNRFVMVKFLNDSMVQPIESSFFGFYAPGT
DTEVLPLKQSKIYLEDRGLQSPIDYLECGGDHLQFTKEWFIKFIIPYLKQ

LJS201 (SEC ID N°: 7)

MRNFVAVSLAVAVLLFCAWPINAEDNEEVGKAREKRGLKDAMEHFKNGFKELTKDFKLPS
LPSLPGFGKKPESGSSSEDSGDKTEDTSGSKDDQSKDNTVEES

10

LHL13 (SEC ID N°: 9)

MNFLKIFSLCLCGLGYSWQDVRNADQTLWAYRSCQKNPEDKDHVPQWRKFELPDDEKT
HCYVKCVWTRLGAYNENENVFKIDVITKQFNERGLEVPAGLDQELGGSTDGTCKAVYDKS
MKFFKSHFMDFRNAYYATYDGSDEWFSKNPDVKPKGTKVSEYCKNKDDGDCKHSCSMYY
YRLIDEDNLVIPFSNLPDYPEDKLEBCRNEAKSANECKSSVYQCLENADKSALDASLNIL
DEFSGRY

LJL23 (SEC ID N°: 11

MFLKWVVCATVFLVGVSAAPPVGEVYHFGLIADMDKKSIA SDKTTFN SVLKIDELRHN
TKTDQYIYVRSRVKPKPVSTRYGFKGRGAHLSEIVVFNNKLYTVDDKSGITFRITKDGKLPW
VILADADGQRPDGFKGEWATIKDDTIYVGSTGMLKFTSSLWVKKITKDGVTSHDWDKY
RKILKALNMPNGFVWHEAVTWSPFRKQWVFMPRKCSRHPFSQELEERTGCNKIVTADENFN
DIQVIHQDQPYNLASGFSSFRFIPGTKNERLLALRTVEQEDQVKTWAVVMDMKGTVLMYE
KELYDEKFEGLAFFGGIKKN

LJM10 (SEC ID N°: 13)

MALKFLPVLLSFCFAMSTALQVTEKELSDGKKIFISKVELNWFALDFCIHRGLTLLSIKSAK
ENVDVTKAIRAELNFD SKKLAHVWTGGIRHSQDKYFRWINDGTKVVKRVYTNWFTGEPNN
GYWKDEFCL EITYKTEEGKWND DKCHVKHHFVCQEKK

20

LJL143 (SEC ID N° 15)

MNSINFLSIVGLISFGFIVA VKCDGDEYFIGKYKEKDETLFFASYGLKRDPCQIVLGYKCSNN
QTHFVLNFKTNKKS CISAIKLT SYPKINQNSDLTKNLYCQTGGIGTDNCKLVFKRKRQIAAN
IEIYGIPAKKCSFKDRYIGADPLHVDSYGLPYQFDQEHGWNVERYNIFKDRFSTEVFYHKN
GLFNTQITYLAEEDSFSEAREITAKDIKKKFSIILPNEEYKRISFLDVYWFQETMRKKPKYPYIH
YNGECSNENKTCELVFDTDELMTYALVKVFTNPESDGSRLKEEDLGRG

LJS142 (SEC ID N°: 17)

MAFSNTLFLVFLVFSFLTFCGADQTLIEKELTGRTVYISKIKLNWNDAFDY CIRNGLTFAKIKSA
EENTE LSEKLT VIRTEEFQVWIGGIEHHQDSSFRWVSDSQPITNKLGYKYTNWNTGEPTNY
QNNBYCLEILFRKEDGKWNDFPCSARHHFVCEKRTK

5

LJL17 (SEC ID N°: 19)

MQNFLLVSLALAAALMLCAEAKPYDFPLYQDLIQGVIORESQAEREKRSPNEDYEKQFGDIVD
QIKEISFNVMKMPHFGSSDDNRDDGEYVDHHYGDEDDRVDYDHY

10

LJM06 (SEC ID N°: 21)

MKFYIFGVFLVSFLALCNAEDYDKVKL TGRTVYISRSKAPWFTALDNCNR
RFTFAMIKSQKENEELTNALLSVIKSDEBNVWIGGLRHDLDDYFRWISFGTALS KTSYTNWA
PKEPTGRPHRTQND EFCMQMSFKDGGKWSDN TCWRKRLYVCEKRD

LJM17 (SEC ID N°: 23)

MRFFFVFLAIVLFQGIHGAYVEIGYSLRNITFDGLDITDDYNPKFNPTGLAVDPEGYRLFIAIPR
RKP KVPYTV AELNMVMNPGFPVERAPSF EKFKKFNGBGKDLVNVYQPVIDDCRRLWVLDI
GKVEYTTGGDADQY PKGKPTLIA YDLKKDHTPEIHRFEIPDDLYSSQVEFGGFAVDVVNTKG
DCTESFVYL TNFKDNSLIVYDETQKKA WKFTDKTFEADKESTFSYSGEEQMKYK VGLFGIAL
GDRDEM GHRPACYIAGSSTKVYSVN IKELKTENGQLNPQLHGDRGKYTDAIALAYDPEHK
VLYFAESDSRQVSCWNVNMELKPDNTD VIFSSARFTFGTDILVDSKGMLWIMANGHPPVED
QEKIWKMR FVNRKIRIMKVDTERVFKYSRCNP NYKPPK
EIEV

15

LJL04 (SEC ID N°: 25)

MIKEVFSLALLVALAQCANEIPNRQGDYVPPIIDPNKSSSDYFDDRFYDPIDDEGIAEAPK
DNRGKSRGGGAAGAREGRLGTNGAKPGQGGTRPGQGGTRPGQGGTRPGQGGTRPGQGGT
RPGQGR TKPAQGTTRPAQGTRNPGSVGTKEAQDASKQGGKRRPGQVGGKRPQGQANAPNA
GTRKQKGSRGVGRPDL SRYKDAPAKFVFKSPDFSGEGKTPTVNYFR TKKKEHIVTRGSPN
DEFVLEILDGDPTGLGLKSETIGKDTRLVLENPNGNSIVARVKIYKNGYSG

LJM114 (SEC ID N°: 27)

MNSVNTLILTL LFAIFLLVKRSQAFLPSDPSICVKNLVLD TGRTCEESEYFPDIKNVKNGRVY
IVCTDSDAVDYK FYICFDMNRLSGPPYEEILRESTV TYAQIYELMTTETTETKKPKKKPKN
SKTDDPPAIRPGFSFRNSISV

20

LJM111 (SEC ID N°: 29)

MKLFFFLYTFGLVQITFGVEIKQGFKWNKILYEGDTSFNPNPDNNILTAFAYPD PESQKLFLTV
PRKYPETMYTLAEVDTEKNSFESGDTSPLLGKFSGHETGKELTSVYQPVIDECHRLWVVDVG
SVERNSDGTBQPEHNPTLVAYDLKEANYPEVIRYTFPDNSIEKPTFLGGFAVDVVKPDECSE
TFVYITNFLTALIVYDHNKDSWTVQDSTFGPKKSKFDHDGQQYEBEAGIFGITLGERDN
EGNRQAYYLVASSTKLHSINTKELKQKGSKNVANYLGDREGESTDAIGLVYDPKTKTIFVBS
NSKRVS CWNTQETLNKDKIDVIYHNADFSFGTDISIDSQDNLWFLANGLPPLENSDKFVFTKP
RYQIPKVNIQEAIAGTKCEKNL

5 LJM78 (SEC ID N°: 31)

MTFLIILGAFLLVQITASALGLPEQFKGLEDLPKKPLAETYYHEGLNDGKTDEMVDIFKSLSD
EFKPSDENLDVGEEKNYKKRDITQNSVARNFLSNVKGIPSMPSLPSMPSMPSIPSLWSSQTQA
APNTALALPESDYSLLDMPNIVKNFLKETRDLYNDVGAFKAITAALTNRSSSSQLLSSPMVS
TNKTKEFIRNEIQKVRKVRNFVQETLQKIRDISAAIAKKVKSSECLSNLTDIKGLVSDGINCLK
EKFN DGKRILQLYNLLKGLKIPNDLMVELKKCDTNQNNLGRHICYFLTPLQLEKEQILLPV
EFIKRILELTHYFSTMKEDLINCGIITIASIT

LJL238 (SEC ID N°: 33)

MLKIVLFLSVLAVLVICVAAMPGSNVPWHISREELEKLRARKNHKALEKAIDELIDKYL

10 LJS169 (SEC ID N°: 35)

MKFSCPVFVAIFLLCGFYRVEGSSQCEEDLKEEAFAFFKDCNEAKANPGEYENLTKEEMFEE
LKEYGVADTDMETVYKLVEECWNBLTTTDCRFLAEAECFKKKNICKYFPDEVKLLKK

LJL11 (SEC ID N°: 37)

MLFFLNFFVLVFSIELALITASAAAEDGSYEIIIHTNDMHARFDQTNAGSNKCQEKDKIASK
CYGGFARVSTMVKKIFREENGSSVFLNAGD TYTGIPWFTLYKETIATEMMNLRPDAASLG
NHEFDKGV EGLVPFLNGVTFPILTANLDTSQEPTMTNAKNLKRSMIFTVSGHRVGVIGYLT
DTKFLSDVGKVNFIPEVEAINTEAQRLLKKEENAEMIII VGHSGLIKDREIAEK CPLVDIIVGGHS
HTFLYTGSQPDREVPVDVYPVVVTQSSGKKVPIVQAYCFTKYLGYFKVTINGKGNVVGWGTG
QPILLNNNIPQDQEBVLTALEKYRERVENYGNRVIGVSRVILNGGHTBCRFHECNMGNLITDA
FVYANVISTPMTSTNAWTDASVVLYQSGGIRAPIDPRTAAGSITRLELDNVLPFGNALYVVKV
PGNVLRKALEHSVHRYSNTSGWGEFPQVSGLKIRFNVNEEIGKRVKSVKVLCSNCSQPEYQP
LRNKKTYNVIMDSFMKDGDDGYSMFKPLKIKTLPLGDIETVEAYIEKMGPIFPAVEGRITV
LGGLQKSDEDWH

15 LJL08 (SEC ID N°: 39)

MKQILLISLVVILAVLAFNVAEGCDATCQFRKAIEDCKKKADNSDVLQTSVQTTATFTSMDT
SQLPGNNVFKACMKEKAKEFRAGK

LJL105 (SEC ID N°:41)

MNVLFVSFTLTILLVCVKARPEDFVALQDQANFQKCLEQYPEPNQSGEVLACLKREGAKD
FREKRSLLDIEGTFQESGN
LWGA

20

LJL 09 (SEC ID N°: 43)

MKITVILFTGFTIALVSSAVLKKNGETIEEEVRAEQRLREINEELDRRKNINTVAAWAYASNI
TEVNLKMNNDVSVETAKYYKELASELKGFNKEYKSEDLKRQIKKLSKLGYSALPSEKYKE
LLEAITWMESNYAKVKVCSYKDPKKCDLALPEITEILIKSRDPEELKYYWKQWYDKAGTP
TRESFNKYVQLNREAAKLDGFYSGAESWLDEYEDETFEKQLEDIFAQIRPLYEQLHAYVRFK
LREKYGNDVVSEKGPIMHLLGNMWGQTWSEVAPILVPYPEKLLDVTDEMVKQGYTPIS
MFEKGDEFFQSLNMTKLPKTFWEYSILEKPQDGRELICHASAWDFYTKDDVRKQCTRVTMD
QFFTAAHELGHIIQYYLQYQHLPSVYREGANPGFHEAVGDVLSLSVSSPKHLEKVGLLKDFKF
DEESQINQLLNALDKMAFLPFAYTIDKYRWGVFRGEISPSEYNCKFWEMRSYGGIEPPIAR
SESDFDPPAKYHISSDVEYLRYLVSFHQPFHQAVCQKTGQFVNDPEKTLNCDIYQSAEA
GNAFKEMKLGSSKPWPDAMEILTGQRKMDASALIEYFRPLSEWLQKKNKELGAYVGVWDK
STKCVKNVS

LJL38 (SEC ID N°: 45)

MKTFALIFLALAVFVLCIDGAPTFVNLLDDVQEEVEVNTYEP

5

LJM04 (SEC ID N°: 47)

MNHLCFIIALFFLVQSLAEHPPEKCIRELARTDENCILHCTYSYYGFVDKNFRIAKKHVQKF
KKILVTFGAVPKKEKK
KLEHIEACADSANADQPQTKDEKCTKINKYRCVVDGKILPWNSYADAIKFDKTLNV

LJM26 (SEC ID N°: 49)

MKIIFLAFLADGIWAAEPPSVEIVTPQSVRRHATPKAQDARVGSESATTAPRPSESMDYW
ENDDFVFPFEGPFKDIGEFDWNLSKIVFEENKGNAILSPLSVKLLMSLLFEASASGTLTQHQLR
QATPTIVTHYQSREFYKNIFDGLKKSNDYTVHFGTRIVVDQFVTPRQRYAAILEKHLYLTDL
KVEDFSKAKETTQAINSWVSNITNEHIKDLVKEEDVQNSVMLMLNAVYFRGLWRKPFNRTL
PLPFHVSADSKTTDFMLTDGLYYFYEAKELDAKILRIPYKQYAMTVILPNSKSGIDSFVR
QINTVLLHRIKWLMDEVECRVILPKFHFDMTNELKESLVKLGISQIFTSEASLPSLARGQGVQ
NRLQVSNVIQKAGIIVDEKGSTAYAASEVSLVNKFGDDEFVMFNANHPFLFTIEDETTGAILE
TGKVVDPTQ

10

LJS03 (SEC ID N°: 51)

MRFLLAFSVALVLSPTFAKPLWDIVTGINDMVKNANALKNRLTTSVTLFTNTITEAIKNA
NSSVSELLQQVNEITLTDIINGVGQVQSAFVNSAGNVVVQIVDAAGNVLEVVDVDEAGNIVEV
AGTALETIPLPGVVIQKIIDALQGNAGTTSASSTVPQQS

LJS192 (SEC ID N°: 53)

MVKYSCLVLVAIFLLAGPYGVVGCENDLTEAAKYLQDECNAGEIADEFLLPFSEEEVGEALS
DKPENVQEVNTNIVRGCFEAEQAKEHGKCFERFSALSQCYIEKNLCOQFF

15

LJM19 (SEC ID N°: 55)

MKFFYLIFSIIFFLADPALVKCEDCENIFHDNAYLLKLDCEAGRVPVEYDDISDEEIEYETV
DVGVSSEDQEKVAKIIRECIAQVSTQDCTKFSEIYDCYMKKKICNYYPENM

20

LJL138 (SEC ID N°: 57)

MHLQLNLCAILLSVLNGIQGAPKSINSKSCAISFPENVTAKKEPVYLKPSNDGSLSTPLQPSGP
FVSLKIGESLAIFCPGDGKDVETITCNTNFDLASYSCKNSTSTDTIETEEVCGGSGKVYKVGFP
LPSGNFHSIYQTCFDDKKNLTPLYSIHILNGQA
VGYHLKHTRGSFRINGIYGKVNIDKLYKTQIEKFNKLFGPKQTFRRPLNFLSRGHLSPEVDF
TFRREQHATEMYINTAPQYQSINQGNWLRVENHVRDLAKVLQKDI'VVVTGILGILRLKSKKI
EKEIYLGDDVIAVPAMFWKAVFDPQKQEAIVFSSNNPHVKTFNPNCKDVCAQAGFGNDNL
EYFSNYSIGLTICCKLEEFVKRKNKILPKEVNNKNYTKKLLKFPKTRNKEGDKKVVVRKRAKG
A

LJL15 (SEC ID N°: 59)

MNLHLAHLFVSYFTLITATDLIEKELSDCKKIFISKAELTWFQALDFCTEQNLTLISIKSAREN
DEVTKAVRAEVHLPDTKKSHIWLGGIRYDQDKDFRWISDGTTVTKTVYINWYQGEPPNGGR
YQKEFCMELYFKTPAGQWDDICTAKHHFICQEEK

5

LJL91 (SEC ID N°: 61)

MNLPLAHLFVSYFTLITAADLTEKELSDGKKIFISKAELSWFDALDACTEKDLTLLTIKSAREN
EEVTKAVRAEVHLPDTKKSHIWLGGIRYDQDKDFRWISDGTTVTKTVYINWYQGEPPNGGRY
QKEFCMELYFKTPAGQWDDICTAKHHFICQEEK

10 LJM11 (SEC ID N°: 63)

MKVFFSIFTLVLFQGTLAGADTQGYKWKQLLYNNVTPGSYNPDNMISTAFAYDAEAGEKLF
VPRKLPVRYPTLAEVDTKNSLGVKGGKHSPLLNKFSGHKTGKELTSIYQPVIDDCRRLWVVDI
GSVEYRSRGAKDYPSHRPAIVAYDLKQPNYPEVVRYYPTRLVEKPTYFGGFAVDVANPKG
DCSETFVYITNFLRGALFIYDHHKQDSWNV'THPTFKAERP'KFDYGGKEYEFKAGIFGITLGD
RDSEGNRPAYYLAGSAIKVYSVNTKELKQKGGKLNPELLGNRGKYNDALALAYDPKTKVIF
FAEANTKQVSCWNTQKMPLRMKNTDVVYTSSRFVFGTDISVDSKGGGLWFMSNGFPPIRKSE
KFKYDFPRYRLMRIMDTQEAIAIGTACDMNA

LJS138 (SEC ID N°: 65)

MQSKILSFVLFTLSLGYVLGETCSNAKVKGATSYSTTDATIVSQIAFVTEFSLECSNPGSEKISL
FAEVDGKITPVAMIGDTTYQVSWNEEVNKARSGDYSVKLYDEEGYGAVRKAQRSGEENKV
KPLATVVVRHPGTYTGPWFNSEILAAGLIAVVAYFAFSTRSKILS

15

LJL124 (SEC ID N°: 67)

MVSILLISLILNLLVFYAKARPLEDISSDLSPDYITEGYDGVKEKREIELVPVTFGIFNIHTTPA
PRITFEW

20 LJL35 (SEC ID N° 69)

MKLFCLIFVVFVALEVCIVKAMEATEEISVKLQDDANEPDSDLDEGLPDAFDEDYNNQ
AEYKPNPRGDYRRR

25

De acuerdo con la invención, se proporciona un polipéptido que incluye la SEC. ID. N°: 15, y polipéptidos homólogos que tienen una secuencia de aminoácidos al menos un 80% idéntica a la secuencia de aminoácidos presentada como SEC. ID. N°: 15. En el presente se divulgan asimismo proteínas de fusión, que incluyen la SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°:

41, SEC. ID. Nº: 43, SEC. ID. Nº: 45, SEC. ID. Nº: 47, SEC. ID. Nº: 49, SEC. ID. Nº: 51, SEC. ID. Nº: 53, SEC. ID. Nº: 55, SEC. ID. Nº: 59, SEC. ID. Nº: 61, SEC. ID. Nº: 63, SEC. ID. Nº: 65 o SEC. ID. Nº 67.

Los fragmentos y variantes de los polipéptidos de *Lu. longipalpis* anteriormente identificados se divulgan en el presente y un experto en el campo podrá prepararlos fácilmente empleando técnicas de biología molecular. En una realización, un fragmento de un polipéptido de *Lu. longipalpis* incluye al menos 8, 10, 15 o 20 aminoácidos consecutivos de un polipéptido de *Lu. longipalpis*. En otra realización, un fragmento de un polipéptido de *Lu. longipalpis* incluye un epítipo antigénico específico que se encuentra en un polipéptido de *Lu. longipalpis* de longitud completa.

En una realización, un fragmento tiene al menos 19 aminoácidos, al menos 23 aminoácidos, al menos 25 aminoácidos o al menos 30 aminoácidos de longitud de cualquier polipéptido (incluyendo los polipéptidos presentados en la SEC. ID. Nº: 3, SEC. ID. Nº: 5, SEC. ID. Nº: 7, SEC. ID. Nº: 9, SEC. ID. Nº: 15, SEC. ID. Nº: 17, SEC. ID. Nº: 19, SEC. ID. Nº: 21, SEC. ID. Nº: 25, SEC. ID. Nº: 27, SEC. ID. Nº: 29, SEC. ID. Nº: 31, SEC. ID. Nº: 33, SEC. ID. Nº: 35, SEC. ID. Nº: 41, SEC. ID. Nº: 43, SEC. ID. Nº: 45, SEC. ID. Nº: 47, SEC. ID. Nº: 49, SEC. ID. Nº: 51, SEC. ID. Nº: 53, SEC. ID. Nº: 55, SEC. ID. Nº: 59, SEC. ID. Nº: 61, SEC. ID. Nº: 63, SEC. ID. Nº: 65 o SEC. ID. Nº 67, variantes conservadoras u homólogos de los mismos) o cualquier fragmento que conserva al menos un epítipo.

También se pueden producir proteínas de fusión que incluyen un polipéptido de *Lu. longipalpis*, utilizando métodos conocidos por un experto en el campo. En una realización, una proteína de fusión incluye una secuencia de aminoácidos presentada como SEC. ID. Nº: 3, SEC. ID. Nº: 5, SEC. ID. Nº: 1, SEC. ID. Nº: 9, SEC. ID. Nº: 15, SEC. ID. Nº: 17, SEC. ID. Nº: 19, SEC. ID. Nº: 21, SEC. ID. Nº: 25, SEC. ID. Nº: 27, SEC. ID. Nº: 29, SEC. ID. Nº: 31, SEC. ID. Nº: 33, SEC. ID. Nº: 35, SEC. ID. Nº: 41, SEC. ID. Nº: 43, SEC. ID. Nº: 45, SEC. ID. Nº: 47, SEC. ID. Nº: 49, SEC. ID. Nº: 51, SEC. ID. Nº: 53, SEC. ID. Nº: 55, SEC. ID. Nº: 59, SEC. ID. Nº: 61, SEC. ID. Nº: 63, SEC. ID. Nº: 65 o SEC. ID. Nº 67, o variantes conservadoras de la misma y un polipéptido marcador. Los polipéptidos marcadores incluyen, a título meramente enunciativo, etiquetas polipeptídicas, tales como un polipéptido que colabora en la purificación de proteína (por ejemplo, seis residuos de histidina o polipéptido c-myc) o un marcador enzimático (por ejemplo, fosfatasa alcalina) o un marcador fluorescente (por ejemplo, proteína fluorescente verde).

Dada la presente divulgación, un experto en el campo podrá purificar un polipéptido de *Lu. longipalpis* empleando técnicas estándar para la purificación de proteínas. El polipéptido sustancialmente puro producirá una única banda principal en un gel de poliacrilamida no reductor. La pureza del polipéptido de *Lu. longipalpis* también se puede determinar mediante el análisis de la secuencia de aminoácidos amino-terminal.

Las modificaciones menores de las secuencias de aminoácidos primarias del polipéptido de *Lu. longipalpis* pueden producir péptidos con una actividad sustancialmente equivalente en comparación con la contraparte del péptido sin modificar descrito en el presente. Estas modificaciones pueden ser deliberadas, como por mutagénesis de sitio dirigido, o pueden ser espontáneas. Todos los polipéptidos producidos mediante estas modificaciones se incluyen en el presente.

En el presente se divulgan los polinucleótidos que codifican polipéptidos salivales del flebótomo *Lu. longipalpis*, tales como los polinucleótidos que codifican la SEC. ID. Nº: 3, SEC. ID. Nº: 5, SEC. ID. Nº: 7, SEC. ID. Nº: 9, SEC. ID. Nº: 15, SEC. ID. Nº: 17, SEC. ID. Nº: 19, SEC. ID. Nº: 21, SEC. ID. Nº: 25, SEC. ID. Nº: 27, SEC. ID. Nº: 29, SEC. ID. Nº: 31, SEC. ID. Nº: 33, SEC. ID. Nº: 35, SEC. ID. Nº: 41, SEC. ID. Nº: 43, SEC. ID. Nº: 45, SEC. ID. Nº: 47, SEC. ID. Nº: 49, SEC. ID. Nº: 51, SEC. ID. Nº: 53, SEC. ID. Nº: 55, SEC. ID. Nº: 59, SEC. ID. Nº: 61, SEC. ID. Nº: 63, SEC. ID. Nº: 65 o SEC. ID. Nº 67.

Algunos ejemplos concretos, de carácter no limitador, de secuencias de ácido nucleico de *Lu. longipalpis* incluyen la SEC. ID. Nº: 4, SEC. ID. Nº: 6, SEC. ID. Nº: 8, SEC. ID. Nº: 10, SEC. ID. Nº: 16, SEC. ID. Nº: 18, SEC. ID. Nº: 20, SEC. ID. Nº: 22, SEC. ID. Nº: 26, SEC. ID. Nº: 28, SEC. ID. Nº: 30, SEC. ID. Nº: 32, SEC. ID. Nº: 34, SEC. ID. Nº: 36, SEC. ID. Nº: 42, SEC. ID. Nº: 44, SEC. ID. Nº: 46, o SEC. ID. Nº: 48, SEC. ID. Nº: 50, SEC. ID. Nº: 52, SEC. ID. Nº: 54, SEC. ID. Nº: 56, SEC. ID. Nº: 58, SEC. ID. Nº: 60, SEC. ID. Nº: 62, SEC. ID. Nº: 64, SEC. ID. Nº: 66, SEC. ID. Nº: 68, y variantes degeneradas de las mismas. Estos polinucleótidos incluyen secuencias de ADN, ADNc y ARN que codifican un polipéptido de *Lu. longipalpis*. Se entiende que todos los polinucleótidos que codifican un polipéptido de *Lu. longipalpis* están también incluidos en el presente, siempre que codifiquen un polipéptido con la actividad reconocida, como la unión a un anticuerpo que reconoce el polipéptido, la inducción de una respuesta inmune al polipéptido, o un efecto sobre la supervivencia de la *Leishmania* cuando se administra a un sujeto que padece leishmaniasis o que experimenta una reducción de un signo o un síntoma de la infección por *Leishmania*.

Los polinucleótidos de la divulgación incluyen secuencias que están degeneradas como consecuencia del código genético. Hay 20 aminoácidos naturales, la mayoría de ellos especificados por más de un codón. Por tanto, todas las secuencias de nucleótidos degeneradas se incluyen en la divulgación en la medida en que la secuencia de aminoácidos del polipéptido de *Lu. longipalpis* codificado por la secuencia de nucleótidos se mantenga funcionalmente sin cambios.

A continuación se presentan ejemplos concretos, de carácter no limitador, de un polinucleótido que codifica un polipéptido de *P. ariasi*:

LJL34 (SEC ID N°: 2)

AGTTGTGGAGCTTTTGGTCATTTTACGTGATGTTGCAAATTAACATCTTCTGATTTTTGT
 GGGATTGCTCGTGGTTGTTAATGCACAGAGCAATTA CTGCAAACAGGAATCGTGCTCAT
 CGGGAGGTGTTGAGAGACCCCATATTGGGTGCAAAAACCTCTGGAGATTTTTCCGAAACT
 TGCTCCGGAGATGCAGAAATTGTTAAGATGGACAAGAAGAAGCAGAACCTCCTTGTGAA
 AATGCACAATCGCCTGAGAGATAGATTTGCTCGTGGTGCAGTGCCAGGTTTTGCACCAG
 CTGCGAAAATGCCAATGCTTAAATGGAACGATGAACTGGCCAAATTGGCAGAGTACAAC
 GTGAGAACGTGCAAATTTGCCACGATAAATGCCGCGCAATTGATGTCTGCCCTATGCT
 GGACAGAATCTAGCTCAAATGATGTCCTATCCTACCCATCGAGATCTAAACTATGTTCTT
 AAGAATCTCACAAGGGAATGGTTCTGGGAGTACAGATGGGCTAAGCAATCTCAGCTTGA
 TAATTACGTGGGTGGTCTCTGGGAAAGACAACAAACAAATTGGACATTTACAGCTTTTG
 TGCATGAGAAAACAGACAAAGTTGGATGCGCTATAGCTCGATTTACAAATGAGCACAAT
 TTTAAGGAGACCCTCCTAGCTTGCAACTACTGCTACACGAATATGATGAAGGAGAGGAT
 CTACACGCAGGGAAAACCTTGTTACAGTGTGAGAGCAAAAAGTGTGGGCCAGTCTACA
 AGAACCTGTGTGATCCTTCGGAGAAGGTTGATCCAACCTCCTGATGTCCTTAAGCAATGG
 AAGCATGGAAAATGATTATTAAGCTCACTTCAAATGTTTCCAATCCAAAAA AAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAA

5

LJL18 (SEC ID N°: 4)

TTTTGAGAAAAACATTTCTTGTGAGTTAAATAGTTGGTAAATTAATCAAGAGAATGTT
 GCTTCGTTCCCTGTTTGTCTTTTTCTAATTTCTTAACATTCGCAACGCTGAGGAAGAA
 CITATTGAGAGAAAGTTAACAGGAAAAACGATCTATATCTCAACAATAAAGCTTCCGTG
 GTTCCAAGCTCTTAATCATTGTGTTAAAAATGGCTACACAATGGTGTCAATTAAGACATT
 TGAAGAGAATAAAGAACTCCTTAAAGAACTCAAAGGGTGATTAGGACAGAAGATACA
 CAAGTTTGGATTGGAGGCCTCAAACATCATCAATTTGCAAACITTCGTTGGGTAAGCGAT
 GGAAGCCACGTAGCAACAGCTTCAGGGTACACCAATTGGGCCCCAGGGGAGCCAGCTG
 ATTCCTTCTATTACGATCAATTTGCGATGGCGATGTTGTTTCAAGAAAAGACGGCGCTCCGT
 GGGATGATTTGAATTGTTGGGTTAAGAATCTTTTGTGTTGTGAGAAACGAGATGATTGAG
 AGGCTATTTTTGTTATCTCACCGTTTTGTTGAATAAAAAAGAAGAAGAAAGACAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAA

10

LJS193(SEC ID N°: 6)

TACTTCGTACTCTCAGAATTTCTTACAAGTTCCTTTTTCTCTTAACTTTTAAAGTTTTATTT
AACAAAATTGCTCCATTTTTTCGTTTTTCIGAATATTCTGTTGAAATTTTGATTAATCTATT
TTATGTGCAGTTTTTACTAAAAATCCCTTATCAGCAACCCGGTGTCTACAGTTTTGTAC
GCTCAGTAGCATCTTCAAGGTGGTAAGAAAAAATGAAACTCCTGCAAAATCATCTTCTCTC
TCTTCCTGGTCTTTTTCCCGACCTCAAATGGGGCCCTGACCGGAAATGAAAGTGCAGCAA
ATGCAGCTCCCTTGCTGTCTGTGGCACGGGATGGGCGATTCTTGCTGCTTTCCCTT
CAGTTTGGGAAGCATAAAAAAATTAATTGAACAACAAATTCCTGGGATTCATGTTGTTA
GCCTGAAAATTGGAAAGTCTCTCATTGAGGACTATGAAAGTGGATTTTTTTGTTTCATCCAG
ACAAGCAAATTCAGGAAGTTTGTGAGTCACTTCAGAACGATCTAACACTCGCAAATGGA
TTCAATGCAATTGGATTTTTCTCAGGGTAGTCAGTTCCTGCGAGGTCTTGTGCAACGATGT
TCTTCTATAACAAGTAAGGAATCTCATTTCATTGGAGGACAGCATCAAGGGGTTTTTGGT
CTGCCCTATTGTCCTTCGTTGAGCAGAAAGACTTGCGAATACTTTAGAAAAGCTCCTGAAT
TATGCAGCTTATGAAAAATGGGTACAGAAACTCCTAGTTC AAGCCACCTACTGGCATGA
TCCTCTAAATGAGGATGCATATCGGACTGGAAGCACTTTCCTTGCTGATATAAATAATGA
GAGACAAATCAATAATGACTATATTAATAATATTCGGAAGCTAAATCGTTTTGTGATGGT
AAAGTTCCTCAACGACAGCATGGTTCAGCCAATTGAATCTAGTTTTCTTTGGATTCTACGC
TCCAGGAACTGATACAGAAGTTCTCCATTA AAAACAAAGCAAGATTTATTTGGAAGATC
GTTTGGGACTTCAATCAGTACCGATAGATTATCTAGAATGCGGAGGAGATCATTGCAA
TTTACAAAAGAATGGTTCATAAAGTTTATCATAACCCTATCTGAAGCAATAAGAGCTGCA
ATGTAATTGATTAAAAAATGTTAACCATTT CAGGATGATTGGGTGACCCCTTAAAAATAT
AAATGAAAAAATATACAAAAGAAATAAATTTTTATATTGATCCACAAAAA AAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJS201 (SEC ID N°: 8)

GGATCGGCCATTATGGCCGGGGCAGTTAATCGCCACAATTTAATAAAAATGAGGAACTTT
GCTGTAGTCAGTTTAGCCGTTGCTGTCTCTTCTGTGCATGGCCTATAAATGCGGAA
GATAATGAAGAAGTTGGAAAGGCGAGAGAAAAAAGAGGCTTAAAAGACGCAATGGAA
CACTTCAAAAATGGATTTAAGGAGCTGACAAAGGACTTTAAACTTCCAAGCCTTCCAAG
TCTTCCTGGATTTGGTAAAAAGCCTGAATCTGGAAGTTCTGAAGATTCTGGAGATAAAA
CTGAGGATACCAGTGGATCTAAGGACGACCAATCAAAGGATAATACGGTTCGAAGAATCT
TAAGAAAGGCGCAAATAGCTATTTTCAAAGTGGCGAATGTTTCTTTCTTTATCTGAAATA
AATATTTTTTAAACCTTTCGAAACCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

5 LJJ13(SEC ID N°: 10)

ACTTAAAGATTTTTGTTTAAAGCAAAATGAACTTCTTGTTGAAAATTTTCTCTTTGCTCTGT
CTCTGTGGACTGGGGTATTCATGGCAGGATGTGAGAAATGCCGATCAAACCCCTCTGGGC
GTATAGATCGTGCCAAAAGAATCCTGAAGATAAGGATCACGTACCTCAATGGAGGAAGT
TCGAATTACCCGACGATGAAAAGACTCATTGCTACGTCAAGTGCGTATGGACGCGTTTG
GGAGCTTACAATGAAAATGAAAATGTTTTCAAAATTGATGTCATTACTAAGCAATTTAAT
GAACGTGGCCTAGAAGTTCCGGCTGGACTTGATCAAGAATTGGGTGGTTCTACAGATGG
AACTTGCAAAGCAGTTTACGATAAATCCATGAAGTTCTTCAAATCTCATTTTATGGACTT
TAGGAATGCTTACTACGCAACTTATGACGGTTCTGATGAATGGTTTAGCAAGAACCCTG
ATGTAAAACCGAAAGGAACAAAAGTTTCCGAATACTGCAAAAATAAAGATGATGGAGA
TTGCAAACATTCCTGCAGTATGTACTACTACCGCTTAATCGATGAAGACAACCTTAGTTAT
TCCGTTTACGCAACTTACCTGACTATCCCGAAGATAAGCTCGAGGAATGCAGGAATGAAG
CCAAGTCCGCAAATGAGTGCAAATCATCTGTTATCTATCAGTGTGGAAAATGCGGAT
AAGTCAGCTTTAGACGCGTCTTTGAATATACTCGATGAGTTTTCTGGAAGATATTTAAAC
AAACTGGATAAAAAACTTAGGCCAACCTATGATTCGAACTTACGATTTTGAACTTGAAA
TTCATGTGCTTTAACCTATTGTCCCCTAGGAAGAAAATCCATATTTGGTGATGTTAAA
CTATTTTTGAACCTCTTCAAATAAACAATTTTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAA

LJL23 (SEC ID N°: 12)

AAAGAGAAGTAGTGAGAATGTTTCTTAAAGTGGGTTGTTTGTGCTTTTGCGACTGTCTTCC
TTGTTGGGGTGAGTCAGGCAGCCCCACCGGGGTTGAATGGTATCACTTTGGTCTGATTG
CTGATATGGACAAAAAATCCATCGCGAGTGACAAAACCACCTTAAACAGCGTCTTAAAG
ATCGATGAATTGCGCCACAACAAAAACGGATCAATACATTTATGTGCGTAGTCGAGT
GAAGAAGCCCGTTTCCACGAGGTATGGGTTCAAAGGACGCGGTGCGGAATTGTCGGAAA
TTGTTGTCTTCAACAATAAACTTTACACAGTTGATGATAAATCTGGAATTACGTTCCGCA
TAACGAAAGACGGAAAACTCTTCCCGTGGGTTATTCTCGCAGATGCCGATGGACAGCGA
CCCGATGGCTTTAAGGGTGAATGGGCTACAATTAAGGATGATACAATCTATGTTGGATC
TACGGGGATGCTCAAGTTCACCTTCATCCCTTTGGGTGAAGAAGATCACGAAAGATGGCG
TTGTTACGAGTCACGATTGGACTGATAAATACCGAAAGATTCTCAAAGCTCTAAACATG
CCAAATGGTTTTGTCTGGCATGAGGCTGTTACGTGGTCTCCATTCAGGAAGCAATGGGTC
TTCATGCCGAGAAAGTGCTCAAGGCATCCCTTCTCACAGGAACCTCGAAGAACGCACAGG
GTGCAATAAAATAGTGACGGCAGATGAGAATTTCAACGACATTCAAGTTATTCACATTC
AAGATCAGCCATATAATTTAGCTTCTGGTTTCTCTTCCCTCCGCTTTATTCTGGTACGAA
AAATGAAAGACTTCTCGCCTTGAGGACAGTAGAGCAGGAAGATCAGGTTAAAACCTTGGG
CTGTGGTTCATGGATATGAAAGGAACAGTTCTGATGTACGAAAAGGAACTTTATGACGAA
AAATTCGAAGGTTTAGCATTCTTTGGTGGTATTTAAAAGAATTAATTTGTTCCAGAAGCT
TTTAGATGAAATAATAAATTTTATTTTCAATTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AA

5

LJM10 (SEC ID N°: 14)

CGCGGCCGCGTTCGACCGACAGAAGGGGTAGTTTGTAGAGAACTTTGAGTTCTAAAGGAA
ATTCTCAAGAAGAAAATATTCAAAAGTAAAGAATGGCGTTGAAGTTTCTCCGGTTCTCC
TTCTAAGCTGCTTCGCAATGAGCACGGCACTACAAGTTACTGAGAAGGAACTTTCTGAT
GGGAAAAAGATCTTCATCTCCAAAGTTGAGCTAAACTGGTTCGAAGCTCTTGATTTCTGT
ATCCATCGTGGTCTTACGTTGCTCTCAATTAATCCGCCAAGGAAAATGTAGACGTAACA
AAAGCAATTCGGGCTGAATTGAATTTTGATTCAAAGAAATTGGCTCATGTGTGGACTGG
AGGTATTCCGCATAGTCAAGATAAGTAATTTCCGTTGGATAAATGATGGAECTAAAGTTG
TAAACGAGTCTACACCAATTGGTTCACCTGGAGAACCAAATAATGGTTACTGGAAGGAT
GAATTTTGTCTGGAAATTTACTATAAAACCGAAGAAGGGAAGTGAATGATGATAAATG
TCACGTGAAGCATCATTTTGTATGTCAAGAAAAGAAATAAATTGATTGATTTTGTGTTGCT
GATTTGCAGTTCAGAATTGAAAAGCCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJL143(SEC ID N°: 16)

CTTCTTTGGATTTATTGAGTGATTAACAGGAAATTAGCTGAAGAAATGAATTCGATTAAT
TTCCTATCAATAGTTGGTTAATCAGTTTTGGATTCATTGTTGCAGTAAAGTGTGATGGT
GATGAATATTTCAATTGGAAAATACAAAGAAAAGATGAGACACTGTTTTTTGCAAGCTA
CGGCCTAAAGAGGGATCCTTGCCAAATTGTCTTAGGCTACAAATGCTCAAACAATCAAA
CCCACTTTGTGCTTAATTTTAAAACCAATAAGAAATCCTGCATATCAGCAATTAAGCTGA
CTTCTTACCCAAAAATCAATCAAAACTCGGATTTAACTAAAAATCTCTACTGCCAACTG
GAGGAATAGGAACAGATAACTGCAAACCTGTCTTCAAGAAACGTAAAAGACAAATAGC
AGCTAATATTGAAATCTACGGCATTCCAGCGAAGAAATGTTCCCTTCAAGGATCGTTACAT
TGGAGCTGATCCACTCCACGTCGATTCCCTATGGGCTTCCGTATCAGTTTGATCAGGAACA
TGGATGGAATGTGGAACGATATAACATTTTCAAAGACACAAGATTTTCCACAGAAGTTT
TCTACCACAAAAATGGTTTATTTAACACCCAAATAACTTATTTGGCTGAAGAAGATTCCCT
TCTCTGAAGCTCGAGAGATTACTGCGAAGGATATTAAGAAGAAGTTTCAATTATTTTGC
CCAATGAAGAGTATAAGAGGATTAGTTTCTTGGACGTTTATTGGTTCCAGGAGACTATGC
GAAAAAAGCCTAAATATCCCTACATTCACTACAATGGAGAATGCAGCAATGAGAATAAA
ACTTGTGAACTTGTCTTTGACACCGATGAACTAATGACCTACGCCCTTGTTAAAGTCTTT
ACTAATCCTGAGAGTGATGGATCTAGGCTCAAAGAAGAGGATTTGGGAAGAGGATAAA
TCTTCTTAATAAAAAAAAAAGTTCTGTAAGAAAATATTGTTCAATAAATTAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAA

5 LJL142 (SEC ID N°: 18)

AATAGATCTTCAAACCGTCTAAGAATGGCTTTCAGCAACACTTTATTTGTTCTTTTTGTG
AGTTTTTTAACGTTTTGTGGCGCTGATCAGACACTTATTGAGAAGGAATTAACCGGAAGA
ACTGTTTATATCTCCAAAATTAAGCTAAATTGGAACGATGCCTTCGATTACTGCATCCGC
AATGGCCTCACCTTTGCTAAGATTAATCAGCTGAAGAAAAACCCGAACTGAGTGAGAA
ACTCAAGACAGTCATTTCGTACGGAGGAGTTTCAAGTTTGGATTGGAGGCATTGAACATC
ATCAAGACAGITCCTTCCGCTGGGTAAGCGACTCCCAACCAATAACCAACAAATTGGGC
TACAAATACACAACTGGAATACCGGAGAGCCACAAATTACCAAAACAACGAATATT
GCTTGAAATATTATTCCGGAAGGAAGATGGAAAATGGAATGATTTTCCCTGCAGTGCA
AGACATCATTTTGTGTTGTGAAAAAAGAACAAAATAAAATGAAGAAAATGTGATTTTCT
TTGGTTGAAGAATAAAATTCTGTTGAAAAAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJL17 (SEC ID N°: 20)

ATTTAGTTTGTGTTTAAACAAAACAAGAAATGCAGAACTTCCTTTTAGTTTCTTGGCTTTAG
CTGCCTTAATGCTATGTGCCGAAGCAAAGCCGTACGATTTTCCGCTTTATCAGGACTTAA
TTCAGGGCGTTATTTCAGCGCGAAAGTCAAGCTGAGAGGGAGAAGAGAAGCCCAATGA
GGACTATGAGAAGCAATTTGGGGATATTGTTGATCAAATTAAGGAAATTAGTTTCAATG
TCATGAAAATGCCCATTTTGGGAAGCTCTGATGATAATCGTGATGATGGCGAGTACGTTG
ATCATCATTATGGTGACGAAGATGATCGTGATTATGATCATTACTAAATACTACTTGCTC
CTGCTGAATGACTTGAAGGAATCATTTTTTTGCAAAAATATCCATCAAATTAATTGAATTA
ATAAAGTTGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

5 LJM06 (SEC ID N°: 22)

GTTAAGGAATTTCTTTCATCTCAGTCTTCGATTTTCTTTAAACAAATAATGAAGTTTAT
ATTTTTGGAGTTTTCTTGGTGAGCTTTCITGCAATTATGCAATGCTGAGGATTATGATAAA
GTAAACTTACTGGAAGAACTGTTTACATCTCCAGATCAAAGGCTCCGTGGTTCACAGCT
TTAGACAATTGTAATCGTTTACGCTTACCTTCGCCATGATCAAGTCTCAGAAGGAGAAT
GAAGAGCTAACAAATGCGCTTTAAGTGTAATTAATCTGACGAAGAAAATGTTTGGAT
TGGAGGTCTTAGGCACGATCTGGATGACTACTTCCGTTGGATTAGTTTTGGAAGTGCATT
GTCAAAGACTTCGTACACCAATTGGGCCCAAAGGAACCC
ACAGGAAGGCCCCATAGAACTCAAATGATGAATTCTGCATGCAAATGTCTTTCAAAGA
TGGTGGCAAATGGAGTGATAACACCTGTTGGCGTAAACGTTTGTACGTTTGTGAAAAGC
GTGATTAATAAAGGAACACTGCCAATGAATATTGGGCAATTTGAGAGAAATTAATTA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJM17 (SEC ID N°: 24)

AGTCAGTGTTAATGAAGAAATGCAATTATGAGGTTCTTCTTTGTTTTCTTGGCCATCGTC
CTTTTTCAAGGGATCCACGGAGCTTATGTGGAAATAGGATATTCTCTGAGAAATATTACA

TTCGATGGATTGGATACAGATGACTACAATCCAAAGTTCAACATTCCAACGGGTTTGGC
AGTTGATCCCGAAGGATATAGGCTCTTCATAGCCATCCCAAGGAGAAAGCCAAAGGTC
CCTACACTGTGGCTGAACTGAATATGGTCATGAATCCCGGATTTCCCGTCGAGAGAGCTC
CGAGCTTTGAGAAATTCAAAAAATCAATGGCGAGGGCAAAAAGGATCTTGTTAATGTG
TATCAGCCAGTCATTGATGATTGTCGTGCTCTTTGGGTGCTTGACATTGGGAAGGTGGAA
TACACCGGTGGTGATGCTGATCAATATCCCAAAGGAAAGCCTACCCTAATTGCCTACGA
CCTCAAGAAGGATCATACTCCGGAAATTCATCGATTTGAAATTCAGACGATCTCTATAG
CTCACAAGTTGAATTTGGTGGATTTGCCGTTGATGTTGTTAACACGAAAGGAGACTGTAC
GGAGTCATTTGTCTACCTGACCAATTTCAAGGATAACTCTCTAATTGTCTACGATGAGAC
ACAAAAGAAAGCTTGGAAATTCACAGATAAAACATTTGAAGCTGATAAGGAATCCACGT
TCTCCTACTCGGGAGAGGAACAAATGAAGTACAAAGTCGGTCTTTTTGGGATAGCTCTG
GGTGATAGGGATGAAATGGGGCATCGTCCTGCCTGCTACATCGCTGGGAGTAGCACCAA
AGTCTACAGTGTTAACTAAAGAACTCAAAACAGAGAATGGTCAGTTAAATCCTCAGC
TTCACGGTGATCGTGGAAAGTACACAGATGCAATTGCCCTAGCCTACGATCCTGAGCAT
AAAGTCCTCTACTTTGCTGAATCCGACAGCAGGCAGGTGTCCTGTTGGAATGTAAATATG
GAGCTAAAACCAGACAATACGGATGTGATCTTCTCTAGTGCCCGTTTTACTTTTGGAAACG
GATATTTTGGTTGATAGCAAGGGAATGCTGTGGATAATGGCTAATGGACATCCACCAGT
AGAGGATCAAGAGAAGATTTGGAAGATGAGATTCGTAAACCGGAAGATCCGTATTATG
AAAGTGGATACGGAACGTGTTTTCAAATATTCACGCTGCAATCCAAATTATAAGCCCC
AAAGGAAATTGAAGTTTGAGACACAGGAAAAAGCTCAATTTTCAACAAGAATTTGATCT
TAATCTGAATACCCTAAAGTCTGTCAAAGAATTTTCATATTATTGAAAACCAATAAATTG
ATTAATTTTCCGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJL04 (SEC ID N°: 26)

ACTAAAGCGTCTCACCGAAATCAGGGAAAATGATTAAGGAAGTTTTCTCTCTGGCTCTA
CTTGTGGCCTTGGCACAGTGTGCTAATGAAATCCCTATTAATCGTCAGGGGAAAAGATTAT
CCAGTCCGATCATTGATCCAAATAAATCATCTTCGGATGATTATTTGATGATCGCTTC
TACCCTGATATTGATGATGAGGGCATAGCTGAGGCTCCTAAGGATAATAGGGGAAAATC
CCGTGGTGGTGGTGGCGCTGGCGCAAGAGAAGGTAGGTTAGGTACGAATGGGGCTAAA
CCGGGTGAGGGTGGAACTAGACCAGGACAGGGTGGAACTAGGCCAGGACAGGGTGGAA
CTAGGCCAGGTCAGGGTGGAACTAGGCCAGGTCAGGGTGGAACTAGACCTGGGCAAGG
TAGAACTAAGCCTGCTCAGGGAACTACTAGGCCAGCTCAGGGAACTAGAAATCCAGGAT
CGGTTGGTACGAAAAGAGCCAGGATGCGTCAAAACAAGGTCAAGGTAAAAGAAGGCC
AGGGCAAGTTGGTGGTAAAAGACCAGGACAAGCAAATGCTCCTAATGCAGGCCACTAGA
AAGCAACAGAAAGGCAGTAGAGGCGTTGGAAAGCCTGATCTATCGCGCTACAAAGATG
CCCCTGCTAAATTCGTTTTCAAATCTCCCGATTTCAAGTGGAGAAGGCAAAACTCCAATG
TAAATTACTTTAGAACGAAGAAGAAGGAGCACATTGTGACCCGTGGTAGTCTAATGAT
GAATTTGTTCTGGAGATTCTCGATGGGGATCCAACTGGGCTTGGACTAAAGAGTGAAAC
CATAGGCAAAGATACGCGTTTGTGCTGGAGAATCCTAATGGAAATTCATCGTGGCTC
GTGTTAAGATCTACAAGAACGGTTATTCAGGATGAAGAAGAAATCCTTTGATTTCCCCC
CCCCCTCTCCTTTAAAATTC AACATAATAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJM114 (SEC ID N°: 28)

GTCTTTTCTGAGTGTTCATTAACAAAATGAATTCAGTAAACACTTTAATTTAACTCTT
CTATTTGCAATTTTTTTATTAGTGAAAAGGTCTCAGGCTTTTCTCCATCTGACCCAAGTA
TCTGTGTTAAAAATTTAGTATTGGATACAGGAAGGACTTGTGAGGAAAGTGAATATTTTC
CGGATATCAAGAACGTTAAAAATGGAAAAAGAGTTTACATTGTCTGCACTGATTGAGAT
GCAGTTGATTATAAATTTTATATTTGTTTCGATATGAATCGTCTTTCTGGACCACCGTATC
CTGAGGAAGAAATCCTTCGTGAATCAACGGTAACTTATGCCCAAATTTATGAGCTGATG
ACTACGGAAACCACTGAAACCAAAAAGCCAAAAAGAAACCAAAGAATTCAAAAACGG
ACCCAGACCCCTCCAGCAATTCGTCCAGGATTTTCATTTAGAAATTCAATTTCTGTTTAATT
TTACAATTTATTTTGAAAAGAAAAATGATATTTGAAATATTCTATACAAAAAACAACA
GTTATAAAACGAAAATTCAATCATTTCATGAGAAAACITAGTCTTGAGTAAGGTTTATT
CACCACCCGACGCCACGCTATGGTGAATAATTTCTTTATTACCACATCAAAATGACGG
CTTATAAACTTCAACAAATAGTTTGGAAAATACATTTCTAACTAATGCAATGTTTACTTA
AAATCACTTTACAAATTCACGCATTTGAGATGCAACAAATATATACAATTCAACGATAT
AAACTTTCCACAAGGAAAACITTCACCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

5 LJM111 (SEC ID N°: 30)

ATCATTCAAAGGCAGCAGCACAATGAAGTTATTTTTCTTTCTTTACACTTTTGGTCTAGT
CCAAACGATTTTTGGAGTAGAAATTAACAAGGATTTAAATGGAATAAAATCCTTTATG
AGGGCGATACATCAGAAAACITTCATCCAGATAACAACATCCTTACGGCTTTTGCGTAC
GATCCTGAGAGTCAGAAACTCTCCTAACTGTCCCGAGGAAATATCCCGAAACTATGTA
CACITTTGGCAGAAAGTTGATACTGAGAAAAATCTTTTGAATCGGGAGATACTTCCCGCT
CCTTGGAAAATTGAGTGGTCATGAAACTGGGAAAGAAGTTACATCAGTTTATCAGCCAG
TTATCGATGAATGTCATCGTCTTTGGGTTGTTGATGTTGGATCAGTAGAACGTAACCTCAG
ACGGCACAGAAGGTCAGCCAGAACAATAATCCTACCCTGTGGCGTACGATCTCAAAGAA
GCCAACTATCCTGAAGTTATTGTTACACGTTTCCCGATAATTCCATTGAGAAGCCCACA
TTTCTGGGTGGATTTGCCGTTGATGTTGTAAGCCGGATGAATGCAGTGAAACTTTTGT
TACATCACAACITTCCTACCAACGCCCTCATAGTATACGATCATAAGAATAAGGACTC
CTGGACGGTACAAGATTCAACTTTTGGACCAGATAAAAAAGTCAAAGTTTGACCACGATG
GACAACAGTATGAATACGAAGCAGGAATCTTCGGGATTACCCTTGGAGAGAGAGATAA
CGAAGGAAATCGTCAAGCGTACTATTTAGTAGCAAGTAGTACCAAACITTCACAGCATCA
ACACCAAAGAAGTGAAGCAAAAAGGAAGCAAAGTTAATGCAAATTTTGGGAGATCG
TGGTGAATCCACCGATGCCATAGGCTTAGTTTACGATCCAAAAACCAAACITATCTTCTT
CGTTGAGTCAAATAGCAAAAAGAGTATCATGCTGGAATACCCAGGAAACACTAAACAAG
GATAAAATTGATGTAATCTATCACAATGCAGACTTTTCTTTGGAACAGATATATCGATT
GATAGTCAGGATAATTTGTGGTTCTAGCAAATGGACTTCCACCTCTGGAAAATTTCTGAT
AAATTTGTCTTTACAAAGCCACGTTATCAAATATTCAAAGTCAACATTCAAGAAGCAATT
GCTGGAACITAAATGTGAAAAGAATCTTTAACAAATGAAACTTTGTAGAAAAATACATAA
TATCTGAATAAAAAGTCATAAATGTACCATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJM78 (SEC ID N°: 32)

CTTIAAAGCAAAAATTTTGTGGGAAAGGAAGTTACCCGGAGATGACGTTTCTAATTATA
CTTGGTGCAATTTCTCCTTGTTCAAATTATTACAGCTTCAGCTTTAGGATTGCCTGAACAGT
TTAAAGGTTTAGAGGATTTACCTAAAAAACCTTTGGCAGAGACTTATTATCACGAAGGA
TTGAATGATGGAAAAACGGATGAAATGGTGGATATTTTTAAAAGTCTTAGCGATGAATT
TAAATTCAGTGATGAAAATTTAGATGTTGGTGAGGAGAAAAATTACAAGAAACGTGATA
TAACCCAAAATTCAGTGGCAAGGAACTTCTATCAAACGTAAAGGGAATTCCTTCAATG
CCATCACTCCCTTCAATGCCTTCAATGCCATCAATTCCTTCACTTTGGTCAAGTCAGACA
CAGGCGGCACCAAATACCGCACTTGCCCTTCTGAATCTGATTATTCCCTTCTAGATATG
CCGAATATTGTGAAAAATTTCTAAAGGAAACAAGAGACCTCTATAACGATGTTGGAGC
TTTTCTAAGGCAATTACAGAAGCTTTAAACAATAGATCTTCATCATCTCAACTTCITTC
TCCCCAATGGTGAGCACGAATAAAACCAAAGAATTTATTTCGGAATGAAATACAAAAAGT
CCGAAAAGTGAGAAATTTCTGTCAGGAACTCTTCAGAAAATCCGAGACATTTCTGCTG
CTATTGCCAAAAAGGTAATAATCATCAGAATGTCTGTCCAATCTTACGGACATCAAAGGA
CTTGTATCAGACGGAATTAATTGTTTAAAGGAAAAATTCAATGATGGAAAACGAATTAT
CCTGCAATTGTACAATAATTTACTAAAAGGACTCAAATTCCAAATGACCTAATGGTTG
AATTGAAGAAATGTGATACAAATCAAACAATACTTTGGGAAGAATAATCTGTTATTTT
TTGACACCATTGCAACTGGAAAAAGAACAATTCCTTCTACCTGTAGAATTTATAAAGCG
CATTCTGAATTAACCCACTACTTTTCCACAATGAAAGAAGATCTTATCA'ACTGTGGCAT
CACAACGATTGCATCCATTACGTAAAAAATGGAAAAATGTGCCGGTGAAATGCTTGAAA
TCACCAAAGAAATTCATCGCAAATAACAGTTCAGAAATAACCAAATTTTAATGATTACT
TCTCAAGGAAAATACTACCAAAGGCATTAATTAACGATGTTTTTTATAACAATGT
AAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJ238 (SEC ID N°: 34)

AGTTAATCTTCTGTCAAGCTACAAAAATGCTTAAAATCGTTTTATTTCTATCAGTTTTGGC
TGTATTAGTGATTTGTGTAGCAGCAATGCCAGGATCCAATGTTCTTGGCACATTTACAG
AGAAGAGCTTGAGAAGCTTCGTGAAGCTCGAAAGAATCACAAGGCACTCGAGAAGGCA
ATTGATGAATTAATTGACAAATATCTCTGATTTTGAAGAGCAAGGAAGAGGAAATAAAC
GGCCGAGGAAGGATTTTCTTTAGAGATTCTTCTTTTTATTACTTCAAACCTAACITCAA
ATCAGTCTGATATTTTTTAATTTGAAAAAATATTGAAAATTTTAACTATTTGTGAAATT
TAAATAAATAAAGAATGTCAGAAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

5

LJS169 (SEC ID N°: 36)

AATTTTCACCATGAAGTTTTCTTGCCAGTTTTCGTTGCAATTTCCITTTGTGCGGATTTT
ATCGTGTGAGGGGTATCACAATGTGAAGAAGATTTAAAAGAAGAAGCTGAAGCTTTC
TTAAGGATTGCAATGAAGCAAAGCCAATCCTGGTGAATACGAGAATCTCACCAAAGA
AGAAATGTTTGAAGAATTGAAAGAATATGGAGTTGCTGACACAGACATGGAGACAGTTT
ACAACTTGTGGAAGAATGTTGGAATGAATTAACAACAACGGATTGTAAGAGATTTCTC
GAAGAGGCTGAATGCTTCAAGAAGAAGAATTTTGTAATATTTCCAGATGAAGTGAA
ATTGAAGAAGAAATAAATTTTAGCTTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAA

LJL11 (SEC ID N°: 38)

AGTTGCAAGAATTTCTTCATTGCGTTAAGATGTTGTTTTTCCTTAACTTTTTTGTGCTGGT
GTTTCAGCATAGAAGCTGGCGTTGTTAACAGCATCAGCAGCAGCAGAAGACGGCAGCTATG
AGATCATAAATTCITCACACCAATGATATGCACGCGCGTTTTGATCAAACCAATGCTGGAA
GCAACAAATGCCAAGAAAAAGACAAGATTGCTTCCAAATGCTACGGAGGATTTGCAAG
AGTTTCAACAATGGTGAAAAAATTCGAGAAGAAAAATGGCAGCAGTGTCTTGTCTTGA
ATGCTGGTGACACGTATACAGGTACCCCATGGTTTACCCTCTACAAGGAGACCATTGCA
ACGGAGATGATGAACATCCTTCGTCCAGATGCAGCCTCACTGGGAAATCATGAATTCGA
CAAAGGAGTAGAAGGACTCGTGCCATTCCTCAATGGTGTACCTTCCCTATTTTAACAGC
GAATTTGGACACTTCTCAAGAGCCAACAATGACCAATGCTAAAAATCTCAAACGCTCAA
TGATTTTTACGGTTTTCCGGGCACAGAGTTGGTGTAAATTGGCTACCTAACGCCTGATACAA
AATTCCTCTCGGACGTTGGTAAAGTTAATTTTATTCGGGAAGTTGAAGCCATCAATACGG
AAGCACAGCGTCTGAAGAAAGAGGAAAAATGCCGAAATAATCATCGTTGTTGGACATTCA
GGGTTGATAAAAGATCGAGAAATTGCAGAGAAATGCCACTGGTTGACATAATTGTTGG
AGGACATTCACACACATTCTCTACACAGGAAGTCAGCCTGATCGTGAGGTTCCCTGTAG
ACGTTTATCCTGTTGTTGTGACCCAATCCAGTGGGAAGAAAGTTCCAATTGTTCAAGCCT
ATTGCTTTACAAAGTATTTGGGGTACTTTAAAGTGACGATCAACGGAAAAGGAAATGTT
GTGGGATGGACTGGGCAGCCAATTCTCCTTAATAACAACATTCCTCAAGATCAGGAAGT
TCTCACTGCTCTTGAAAAGTACAGAGAACGCGTGGAAAATGAAATCGCGTAATTG
GAGTTTCCCGTGTAATTCTCAATGGGGGGCATACTGAATGTCGTTTCCATGAATGCAATA
TGGGTAATCTCATCACGGACGCTTTTGTGTATGCCAATGTAATCAGTACACCAATGAGTA
CGAATGCCTGGACAGATGCAAGTGTGTTCTGTATCAAAGTGGTGGCATTTCGTGCCCCA
ATTGATCCTCGTACCGCGGCAGGGAGCATCACACGCCTCGAGTTGGACAATGTTCTACC
ATTTGGGAATGCACTGTACGTCGTAAAAGTTCTGGGAATGTCTTACGCAAAGCTTTGGA
ACATTCAGTTCATCGATACTCCAACACTTCGGGATGGGGAGAATTTCCACAAGTTTCGGG
GCTAAAGATTTCGTTTTAACGTCAATGAAGAAATGGAAAACGCGTAAAGTCCGTTAAAG
TTCTCTGTAGCAATTGCTCTCAACCTGAATACCAACCACTGAGAAATAAAAAAATTAC
AACGTTATCATGGACAGTTTTATGAAGGATGGAGGTGATGGGTATAGCATGTTCAAGCC
CTTGAAGATCATCAAGACCCCTCCCACTGGGAGATATTGAAACAGTAGAAGCTTATATTG
AGAAAATGGGCCCCATTT
TCCCAGCAGTCGAGGGAAGGATCACTGTTCTTGGGGGACTTCAAAAATCAGATGAGGAT
TGGCATTAGAAACATCCTGGACGTTATGGAAAGAATAAAAGAAGGATCATAGAAAAAA
AAAAAAAAAAAAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

5 LJL08 (SEC ID N°: 40)

GTCAGTGATCTGATAAGTTATTTAAAATGAAGCAAATCCTTCTAATCTCTTTGGTGGTGAT
TCTTGCCGTGCTTGCCTTCAATGTTGCTGAGGGCTGTGATGCAACATGCCAATTCGCAA
AGCCATAGAAGACTGCAAGAAGAAGGCGGATAATAGCGATGTTTTGCAGACTTCTGTAC
AAACAACTGCAACATTCACATCAATGGATACATCCCAACTACCTGGAAATAATGTCTTC
AAAGCATGCATGAAGGAGAAGGCTAAGGAATTTAGGGCAGGAAAGTAAGAGATTGAGG
AAAATTGTAGCCGAAGAGAGAAGGAAGGAAAGTCCCATATTTTGTGGTTAATTGTAAC
GAATTTTGCGAAAAAATAAAATATTATGCACTCCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAA

LJS105 (SEC ID N°: 42)

TATTTTAAATAATTCTGTGTA AAAATGAACGTTCTTTTCGTGTCTTTTCACGCTCACAATTCT
TCTTCTCTGTGTTAAGGCACGGCCAGAAGATTTTCGTAGCTCTTCAGGATCAAGCTAATTT
CCAGAAATGCCTCGAACAATATCCAGAACCAAATCAATCTGGAGAAGTTCTTTCGCGTGCC
TCAAGAAGCGCGAAGGTGCCAAAGATTTCCGGGAAAAGAGGAGCCTGGATGACATAGA
AGGGACTTTCCAAGAGTCTGGAAATCTCTGGGGTGCATAGGAAGCTCAGAGGACTTCTA
ATCAATCTGTGAGAAGAGAACCCAACGGCTAGAGAAAATTTAAGGAAAATAAAGAAAT
TAATGAAGCATTAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

5

LJL09 (SEC ID N°: 44)

GTATATCAAGTATCATTCAAGTGAATCATTGGCTCCGTAATTTGTACAAAAGAAAAAA
AAGTTGATAAAAATCATGAAAATCACTGTGATTTTATTACGGGATTTACAATTGCCCTCG
TGAGTAGTGCTGTGCTTAAAGAAAAACGGTGAAACTATTGAAGAAGAAGAAGTAAGAGC
TGAGCAACGACTTAGAGAGATCAATGAGGAACCTTGATCGTAGGAAGAATATCAATACTG
TAGCCGCTTGGGCTTATGCATCCAATATTA CTGAGGTCAATCTCAAGAACATGAATGATG
TGTCGGTTGAAACCGCGAAATACTACAAGGAACTTGCACTCTGAATTGAAGGGATTCAAT
GCCAAGGAATACAAGAGTGAGGATCTGAAGAGACAAATTAAGAAGCTAAGCAAGTTGG
GATATAGTGCTTTACCATCTGAGAAGTATAAGGAGCTTTTGGAAAGCTATCACATGGATG
GAATCGAATTATGCAAAAAGTAAAAGTTTGCTCATAACAAGGATCCAAAGAAATGTGATTT
AGCACTTGAACCTGAAATTACGGAAATCCTTATTTAAAAGTCGAGATCCTGAGGAACTTA
AATATTATTGGAAACAATGGTACGACAAAAGCTGGCACACCAACTCGAGAGAGTTTTAAT
AAGTATGTACAACTAAATCGTGAAGCAGCGAAATTTGGATGGATTTTATTCCGGGTGCAGA

ATCTTGGCTTGATGAATATGAAGATGAGACATTTGAGAAACAACCTTGAGGATATCTTCG
CCCAAATTCGCCCACTGTACGAGCAACTCCATGCTTATGTTAGATTCAAGCTGAGGGAA
AAGTATGGAAATGACGTTGTTTCGGAGAAAGGTCCCATTCCAATGCATCTCTTGGGGAA
CATGTGGGGTCAAACGTGGAGTGAAGTTGCCCAATTTTAGTCCCATACCCCGAAAAGA
AGCTCCTCGATGTTACCGATGAGATGGTTAAGCAGGGATACACACCAATTTCTATGTTTG
AAAAAGGAGACGAATTTTTCCAAAGCTTGAATATGACGAACTTCCAAAAACCTTCTGG
GAGTACAGTATTTTGAAAAACCCCAAGATGGTAGGGAATTGATCTGCCATGCAAGTGC
ATGGGACTTCTATACAAAGGATGATGTAAGGATTAACAGTGTACCAGAGTTACAATGG
ATCAATTCTTCACGGCTCATCATGAGCTTGGTCACATTC AATATTATTTGCAATATCAAC
ATTTGCCGAGTGTTTACAGAGAAGGTGCCAATCCAGGCTTTCACGAGGCTGTTGGGGAT
GTTCTCTCTTTTCGGTATCAAGTCCTAACATTTGGAAAAAGTTGGITTGCTTAAAGAC
TTCAAATTTGATGAAGAATCCCAGATAAATCAACTTCTAAATTTAGCTCTGGATAAAATG
GCATTCCTCCCATTTGCCTATACCATTGATAAATATCGCTGGGGTGTGTTTCGGGGTGAA
ATTTCCCGTCTGAGTACAATTTGCAAATTTGGGAAATGCGTTCCTACTATGGTGGFATA
GAACCACCAATTGCACGTTCTGAGAGTGATTTTGATCCACCAGCAAATATCATATTTCA
TCGGATGTTGAGTACCTCAGGATTTGGTTTCCTTCATTATTCAGTTCCAATTCATCAAG
CTGTGTGCCAAAAGACTGGTCAGTTTCGTACCGAATGATCCGGAGAAGACTCTCTAAAT
TGTGACATCTACCAGAGTGCTGAGGCTGGTAATGCCTTCAAAGAAATGCTCAAATTGGG
ATCCTCAAACCATGGCCAGATGCAATGGAAATTCCTACGGGGCAAAGGAAAATGGATG
CTTCTGCATTAATTGAGTACTTCCGTCCACTCAGTGAGTGGTTGCAGAAGAAGAATAAG
GAACTAGGAGCTTATGTTGGCTGGGACAAATCTACTAAGTGTGTCAAAAACGTCAGTTA
ATTTTTTGTGAGCCCTAAAAATATTCATAACATTTCAATATGACAAAATATATGATTTT
CGTGAAAACCTAAGCATGAGTAAGTTTTTTTTGTGAATTTTAGCAGTTTCATTTCAGAAT
AAACGTCAAATTTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJL38 (SEC ID N°:46)

TCAGTTAGTTGACTAACAAACCACAATAGAGACACTAAAATGAAGACATTCGCCTTAAT
CTTCTGGCTCTTGCTGTTTTTTGTGCTCTGCATTGACGGAGCTCCAACCTTTTGTGAATTTA
CTGGACGACGTACAGGAAGAGGTAGAAGTTAATACGTATGAGCCTTAGGAAGAAAATG
TTGAGGAGTTTCAGGCAGAGGCAGAGCTTCCAGAGAGGGAGCTTTTGCCTTGCTGT
AGATTTTTAAAAATGAATCAATTTGATTGGAGCAATTACGCTATAITTTGTGGGAATATTT
TTGAATTA AAAACTAATTATGGAAATTAATATATAATTTTCAGAATTTCAATAAATTCAT
CAAAATGTATTAATTA AAAAATATTGTATGAAATCCCAATAAAAGCTTCAAATTA AA
AA

5

LJM04 (SEC ID N°:48)

GGCATTATGGCCGGGATAGAACTTAATTGTTGTTAAAATGAATCACTTGTGCTTTATT
ATTATTGCTCTATTCTTTTTGGTTCAACAATCTTTGGCTGAACATCCAGAAGAAAATGT
ATTAGAGAATTGGCGAGAACTGATGAAAACCTGCATTCTTCATTGTACGTATTCGTACTAC

GGATTCGTTGATAAAAAATTTTCAGGATCGCTAAAAAACATGTTCAAAAATTCAAAAAAAT
CCTAGTTACATTCGGCGCTGTTCCCTAAGAAAGAAAAAAGAAACTTTTAGAGCACATTG
AGGCTTGTGCGGATTCTGCGAATGCTGATCAACCTCAAAGATGAAAAATGTACA
AAAATAAATAAGTACTATCGTTGTGTTGTGGATGGAAAAATATTACCCTGGAATAGTTA
TGCTGATGCAATCATTAAGTTTGATAAAACCCTTAACGTATGAAGCAAAGATATTCGAA
AAAAAACATCAAGATTATGCTGGAAAGAAAAAATAAAAAAATTTGTGCTAATCAA
ATTGAATTAACGCTTAATGCTATATTAAAAAAATAAAAAAATAAAAAA

LJM26 (SEC ID N°: 50)

GTCGGAGATCGTCTGCCTTGATGATCACATCGTGATTGTGAGTTACAAGAGTGAAACTTT
TTAAGTGTGTGTGCTTAGCAAAGTGATTTCCACAATGAAGATTATTTTTTTAGCCGCTTT
TCTACTAGCGGATGGTATTTGGGCTGCTGAAGAACCCTTCAGTGGAAATTGTAACACCAC
AATCAGTGGGAGACACGCTACGCCAAAAGCCAGGACGCGAGGGTAGGAAAGTGAATC
CGCAACAACAGCACCAAGACCAAGTGAATCAATGGATTACTGGGAGAATGATGATTTG
TCCCATTTGAGGGTCCATTCAAGGATATTGGAGAATTCGACTGGAACCTTTGCAAGATCG
TTTTTGAGGAAAACAAAGGTAATGCCATCTTGTGCGCCACTCTCTGTGAAGCTACTAATGA
GTTTGCTCTTCGAGGCCAGTGCGTCAGGTACCTTGACCCAGCACCAACTCAGACAAGCC
ACTCCCACCATCGTCACCCACTATCAGTCTCGAGAATTTTACAAGAATATCTTTGACGGT
CTCAAGAAAAAGAGTAACGACTACACGGTTCACCTTTGGTACGAGAATCTACGTGGATCA
GTTTGTGACGCCTCGCCAGAGATATGCTGCCATTTTGGAGAAGCATTATCTGACTGATCT
CAAAGTTGAGGACTTCTCGAAGGCAAAAGAAACAACCTCAGGCAATCAATAGTTGGGTGT
CAAACATCACAAATGAGCACATAAAGGATCTCGTGAAGGAGGAAGATGTTGAGAAATC
AGTTATGCTCATGCTTAATGCAGTCTACTTCCGCGGACTCTGGCGCAAGCCTTTCAATCG
TACACTCCCCTGCCCCTCCACGTGAGCGCTGATGAGTCCAAGACGACTGATTTTATGCT
AACCGATGGGCTCTACTACTTCTACGAGGCAAAAGGAATTTGGATGCTAAGATCCTCAGAA
TTCTTACAAGGTAACAATAACGCAATGACTGTGATCTTACCAAATTTCAAGAGTGGC
ATTGATAGCTTTGTGCGTCAGATTAACACGGTCCTCCTGCACAGGATTAAGTGGTTGATG
GATGAAGTGGAGTGCAGGGTTATTCTACCCAAGTTCCACTTTGACATGACGAATGAGCT
GAAGGAATCGCTCGTAAAGTTGGGCATCAGTCAGATTTTACATCAGAGGCATCTTTGC
CATCATTAGCACGAGGACAGGGCGTACAGAATCGTCTGCAGGTGTCTAATGTGATTGAG
AAGGCGGGAATAATTGTGGATGAGAAGGGCAGCACAGCCTATGCTGCGTCAGAAGTGA
GCCTAGTCAACAAGTTTGGAGATGATGAGTTCGTGATGTTCAACGCTAATCATCCATTCC
TCTTTACAATTGAGGACGAAACCACCGGCGCAATCCTATTTACGGGAAAAGTCGTGAT
CCCACGCAATAGGGAATGAAAAGCATTTCATCGTATACAACTTTTTTTTTAATTAATTAT
TCCTCATTGAAGGACATTAATAGAGCATCTTCTCAGGAAGGCACTCCTGACTTATTTTA
CTAAATGTGATCCTTGACACATAAAAAAACAGCTGTACTTTTACTTTTTATAATATA
CGACCATATTTGTGAGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

5 LJS03(SEC ID N°: 52)

TCAGTTAAGCAGATTTTCAAGCTAAAGAACTTAACTAAGATGCGATTCTTCTTTGGC
CTTCTCCGTTGCTTTGGTGTCTTACCAACATTCGCCAAACCAGGTCTTTGGGACATTGTA
ACTGGTATTAATGATATGGTAAAAAATACTGCGAATGCACTCAAAAATCGTCTAACAAAC
TTCTGTGACATTATTCACAAATACCATCACCGAAGCTATAAAAAATGCAAATTCCTTCTGT
TTCGGAACCTCTTCAGCAAGTCAATGAAACCCTTACGGATATTATTAATGGTGTAGGACA
AGTGCAGAGTGCCTTTGTGAATTCAGCTGGAAATGTTGTTGTGCAAATTGTTGATGCCGC
TGAAATGTTTTGGAAGTTGTTGTTGATGAGGCTGGAAATATCGTGGAGGTAGCTGGAA
CAGCATTGGAACTATCATTCCACTGCCCGGTGTAGTGATTGAGAAGATAATTGATGCTC
TCCAAGGAAATGCAGGGACTACATCGGATTCAGCTTCATCAACTGTGCCCAACAATCT
TAACTACAACCGCAATGATGTTGTCTTTAACGGAGAATTTTTAAATTTGAATATCAAAAT
CCAAGATGAAATATTCAGATTTTCAATCAATATGATACGAAATTTGAAATTTTTTC
CGACTAAAGCAATTTGTAAAAGGAAAACCAAATAAATATTTGAAATGTAAAGAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJS192 (SEC ID N°: 54)

ATATCAATTTTATCATCATGGTGAAGTACTCGTGTCTTGTCTTGTGCAATTTTTCTTCT
GGCCGGACCCTACGGCGTTGTAGGTTCTTGTGAGAATGACCTGACAGAGGCCGCCAAGT
ATCTTCAAGATGAATGCAATGCAGGTGAAATTGCAGATGAATTTCTACCCCTTCTGGAAG
AAGAAGTGGGTGAAGCATTGAGCGACAAACCAGAAAACGTGCAGGAAGTCACCAACAT
CGTGAGAGGATGCTTTGAAGCTGAACAAGCCAAAGAGCATGGAAAATGTGAAAGATTTT
CCGCTTTGAGTCAATGCTACATTGAAAAGAATTTATGTCAATTCTTCTAAAATATTTGA
AGAAAAGTTATGAATGAAAATTTTCTGAAAATTTGTTGCAAAAATATATAAATTGCCCA
ATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

5

LJM19 (SEC ID N°: 56)

AGTTTAATTTTATCATGAAGTCTTCTACTTGATTTTCTCTGCAATTTTCTTTCTGGCTGA
TCCTGCTTTGGTCAAGTGTTTCAAGGATTGTGAGAATATTTTTCATGACAATGCGTACCT
CCTTAAATTTGATTGTGAAGCAGGAAGGGTTGATCCTGTTGAATACGACGATATTTCCG
ATGAAGAAATATATGAAATAACGGTCGATGTTGGAGTTTCACTGAGGACCAGGAGAAA
GTTGCGAAAATAATAAGGGAGTGCATTGCACAAGTTTCAACGCAAGATTGCACGAAAT
TTCAGAAATTTATGATTGTTACATGAAGAAGAAAATCTGTAATTATTATCCTGAAAATAT
GTAAAAAAAATTTATTTATATAAAAAAATATAAGGATTAATAATCTCTTATTGATTG
TAAAAATGGCCTAATATTGAAGCAAAAATTAAGCATGAAACAAGACCAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJL138 (SEC ID N°: 58)

TCAATCTAACAAATGCACCTGCAATTGAATTTGTGCGCTATTCTCCTTTCCGGTACTAAATG
GAATTCAGGGCGCTCCCAAAAGTATTAATTCAAAATCCTGCGCAATCTCCTTTCCGGAGA

10

ATGTAACGGCTAAGAAGGAGCCAGTGTACTTGAAACCATCAAATGATGGCTCATTGAGT
ACCCCCCTACAGCCAAGTGGGCCATTTGTAAGTCTCAAATTTGGAGAATCTCTTGAATC
TTCTGTCCAGGTGATGGAAAGGACGTAGAGACAATTACGTGCAATACAAATTTTCGATTT
AGCITTCATATTCGTGCAACAAGAGCACATCAACGGATACCATTGAAACGGGAAGAAGTTT
GCGGAGGAAGTGGAAAAGTGTACAAAGTTGGTTTTCCGCTGCCCTCTGGGAATTTCCAT
TCAATCTACCAAACGTGTTTTGATAAGAAAAATCTCACACCTCTCTACTCAATTCACATT
CTCAATGGTCAAGCTGTTGGATATCACCTTAAGCACACAAGAGGAAGCTTTCGTACCAA
TGGTATCTACGGGAAAGTCAACATTGATAAACTCTACAAGACGCAAATTGAGAAAATCA
ACAAACTTTTCGGCCCTAAACAAACATTTTTCCGTAGACCCCTCAATTTTCTATCACGTG
GACACTTAAGCCCCGAAGTGGACTTTACATTCCGTAGGGAACAACATGCAACGGAAATG
TACATTAACACAGCACCACAGTACCAATCAATTAATCAAGGAAATTGGCTACGTGTTGA
AAATCACGTGAGGGATCTCGCAAAAGTTCTGCAGAAGGACATAACAGTCGTTACGGGAA
TTTTGGGGATACTTCGGTTGAAGAGTAAGAAAATAGAGAAAGAAATCTATTTAGGAGAT
GACGTAATTGCCGTACCAGCAATGTTCTGGAAAGGCTGTTTTTGACCCTCAAAAACAAGA
AGCAATTGTCTTTGTTTCCCTCAAATAATCCCCACGTGAAGACCTTTAATCCCAACTGCAA
GGATGTATGCGCTCAAGCTGGATTTGGGAATGATAATCTTGAATATTTCTCCAATTATTC
TATTGGTCTGACTATTTGTTGCAAACCTTGAGGAATTTGTTAAAAGAAATAAAATAATTCT
ACCCAAAGAAGTAAATAACAAAACTACACCAAAAACTCCTTAAGTTTCTAAAACAA
GAAACAAGGAGGGAGATAAGAAGGTGGTACGTAAGCGCGCAAAGGAGCATAAATATT
AAACGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJL15 (SEC ID N°: 60)

GTTCTACGATAAAAATTTCTTTTCAAACCTTTTCTTTTAAAGAAAAATCTTCAAAAAGTTA
AAATGAATTTGCACCTTGCATTATCCTCTTTGTGAGTTACTTCACACTGATCACTGCTAC
GGATCTAATTGAAAAGGAACTTTCTGATTGCAAAAAGATCTTCATCTCCAAGGCTGAGC
TAACCTGGTTCGAAGCTCTCGATTTCTGTACCGAACAAAACCTAACCTTGCTCTCAATTA
AATCCGCCCCGGGAAAATGATGAGGTGACTAAAGCAGTTTCGAGCTGAGGTTTCATCTCCA
GACACAAAGAAGTCTCACATTTGGCTCGGAGGTATTCGTTATGATCAAGACAAGGATTT
CCGTTGGATAAGCGATGGAACAACCTGTTACGAAGACAGTCTACATCAATTGGTACCAAG
GAGAACCAAATGGTGGGAGGTACCAAAGGAATTTTGTATGGAATGTACTTTAAAACCT
CCAGCTGGTCAATGGAATGATGATAATTTGTACAGCAAAGCATCATTTTATATGTCAGGA
GAAAAATAAATTGAATTGTTTCATGTGTCTTTGGCGGTGCGAAGGTATAATTCAGGTTG
ACGACATAAATTGATTTTCTTTTCAATTAAGAAAATAAAGGCTTGAATTTATAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

5

LJL91 (SEC ID N°: 62)

GTTCTACGATAAAAATTTCTTTTCAAACCTTTTCTTTTAAAGAAAAATCTTCAAAAAGTTA
AAATGAATTTGCCCTTGCATTATCCTCTTTGTGAGTTACTTCACACTGATCACTGCTGC
GGATCTAACTGAAAAGGAACTTTCTGATGGCAAAAAGATCTTCATCTCCAAGGCTGAGC

TAAGTTGGTTCGATGCTCTCGATGCCTGTACCGAAAAAGACCTAACTTTGCTCACAATTA
 AATCCGCCCGGGAAAAATGAGGAAGTGACTAAAGCAGTTTCGAGCTGAGGTTTCATCTTCCA
 GACACAAAGAAGTCTCACATTTGGCTCGGAGGTATTCGTTATGATCAAGACAAGGATTT
 CCGTTGGATAAGCGATGGAACAACTGTTACGAAGACAGTCTACATCAATTGGTACCAAG
 GAGAACCAAATGGTGGGAGGTACCAAAAAGGAATTTTGTATGGAATTGTACTTTAAAACT
 CCAGCTGGTCAATGGAATGATGATATTTGTACAGCAAAGCATCATTTTATATGTCAGGA
 GAAAAAATAAATTGAATTGTTTCATGTGTCTTTGGCGGTGCGAAGGTATAATTCAGGTTG
 ACGACATAAATTGATTTTTCTTTTCAATTAAGAAAAATAAAGGCTTGAATTTAGCAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJM11 (SEC ID N°: 64)

TTGAATTGAAGCAGCAGCAATGAAAGTGTTTTCTCAATTTTTACGCTCGTCTCTTCCA
 AGGGACCCCTGGAGCGGATACTCAAGGATATAAAATGGAAGCAATTGCTCTACAATAATG
 TTACACCAGGATCCTACAATCCGGATAATATGATCAGTACGGCTTTTGCCTACGATGCTG
 AGGGTGAAAACTCTTCCCTAGCTGTCCCAAGGAAGTTACCCAGAGTTCGGTATACATTG
 GCGGAAGTGGATACAAAGAATAGTCTTGGTGTTAAGGGAAAACATTCACCGTTACTTAA
 CAAATTCAGTGGGCACAAAACCTGGGAAGGAACTAACATCAATCTATCAGCCAGTTATTG
 ATGATTTGTCGTCGCCTTTGGGTGGTTGATATTGGTTCCGTGGAATATCGCTCAAGAGGTG
 CCAAAGACTACCCGAGTCATCGTCTGCAATTGTTGCGTACGACCTAAAGCAACCAAAC
 TACCCCGAAGTTGTTTCGATACTATTTCCCCACAAGATTAGTGGAGAAGCCAACATATTT
 GGTGGATTTGCCGTTGATGTTGCAAAACCAAAGGGGGATTGTAGTGAAACTTTTGTCTAC
 ATTACAAACTTCCCTCAGGGGAGCTCTCTTTATATACGATCATAAGAAGCAGGATTCGTGG
 AATGTAACCTCATCCACCTTCAAAGCAGAACGACCCACTAAATTTGATTACGGCGGAAA
 GGAATATGAATTCAAAGCCGGAATTTTCGGAATTACTCTCGGAGATCGAGACAGTGAAG
 GCAATCGTCCAGCTTACTACTTAGCCGGAAGTGCCATCAAAGTCTACAGCGTCAACACG
 AAAGAACTTAAGCAGAAAGGTGGAAAAGCTGAATCCGGAGCTTCTTGGAAACCGCGGGA
 AGTACAACGATGCCATTGCCCTAGCTTACGATCCCAAACTAAAGTTATCTTCTTTGCTG
 AGGCCAACACAAAGCAAGTATCCTGCTGGAACACACAGAAAATGCCACTGAGGATGAA
 GAATACCGACGTAGTCTACACTAGTTCTCGCTTTGTCTTTGGAACGGACATTTTCGGTTGA
 TAGCAAGGGCGGCCTCTGGTTCATGTCTAACGGCTTTCCGCCTATAAGGAAATCAGAAA
 AATTCAAATATGACTTCCCACGCTACCGTCTAATGAGGATCATGGACACACAGGAAGCA
 ATTGCCGGAACCTGCTTGGGATATGAATGCATAAAAGTTAATTTTCAACCCAAGAAGAAG
 ACCTAAAGAGGCTTTTCCAGGCTTTGATGCAGGAGAGGTGGTTATCAACGCAAAATCAG
 CTATTGTTGATGAGGAGGAGAAATTATTGATTCTGAATTCTATAAAAAAATTTAATTT
 GTGAAATATTTGGCAATAATAAATTAATTGAATTACAAAAAATAAAAAAAAAAAAAAAAAA
 AAAAAA

LJS138 (SEC ID N°: 66)

TCTCTTTGGTTAACATTGTGAAGTTATCGGACGTGGCCGTTTCTATTTCTTTTGCAAAAA
 TGCAGTCAAAAATTCCTTTTCCTTTTCACCTTATCCTTGGGCTATGTTTTGGGTGA
 AACATGCTCAAATGCTAAGGTTAAGGGAGCTACCTCTTATTCCACAACGGATGCCACAA
 TTGTAAGCCAAATTGCCTTTGTGACTGAATTCTCCTTGGAAATGCTCAAATCCTGGATCCG
 AGAAAATCTCCCTATTTGCTGAAGTCGATGGCAAAATTAATCCTGTTGCCATGATCGGGG
 ATACCACCTACCAGGTGAGCTGGAATGAAGAGGTTAATAAGGCTAGAAGTGGTGACTAC
 AGTGTGAAGCTGTACGATGAAGAAGGATACGGAGCAGTACGCAAAGCTCAGAGATCAG
 GTGAAGAGAACAAGGTCAAACCACTAGCAACCGTTGTTGTTGACATCCAGGAACATA
 ACTGGACCATGGTTCAATTCCGAAATCCTCGCAGCTGGTCTCATTGCTGTTGTTGCCTAC
 TTTGCTTTCTCAACGCGAAGCAAATTCCTTCTAAAGAGACGCAGCATGAAATTTTACA
 AAAAAATAAAAACAAATTCAGTCATCAACCATGTCTCTTTGGCACTCAGACTGTTTCG
 TGAAATACAACTATTATTTAACAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

LJL124 (SEC ID N°: 68)

ATCCCAAGAAGCTGCTAAAATGGTGTCAATTCTGTAAATCTCCTTGATTCTTAATTT
 GTTGGTTTTCTATGCTAAAGCTAGACCACTAGAAGACATCTCGTCAGATCTTTCCCTGA
 TTATTACATCACTGAAGGCTATGACGGTGTGAAGGAGAAGAGAGAGATCGAACTGTAC
 CTGTGACATTTGGAATATTTAATATACATACAACACCTGCTCCAGAATTACCTTTGAAT
 GGTA AAAAATCCAAGAAGAATTTATGATTTTATTCTTCTCCATTGGGATGGATTGTAA
 GTCAGCATAAAACGCCGTTAAAAATGAATTTTAATAAAAAAAAAAATTATCCAAAAAAA
 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

5

LJL35 (SEC ID N°: 70)

CACIATTCATTGGAAGATTTATTAACCTTCAAGATGAAATTATTTGTTTAATTTTGTGT
 GTTTTGTGCTTTAGAAGTCTGTATAGAGACCGTGAAAGCTATGGAAGCAACGGAGGAGA
 TATCTGTA AAAATGCAAGATGATGCGAATGAACCTGATGACTCTCTGGATTTAGACGAA
 GGTCTTCTGATGCATTGATGAGGACTATAATAATCAGGCTGAGTACAAGCCGAATCC
 TAGAGGGGACTACAGAAGACGATAATTAATAAATTCAGGAAAACACTCTAAAAATTT
 CCAATTGACTCTACTTTAAACGATTTAATACCTACCTACACTAAATACCATATGCAATAA
 TTATGTTTTAATTATTTAGTGCAAGATCTACTAGTTTCAGTTCATATTTGGGACTTTCC
 GCCTTTCTCTCGATGGAAAAATGATTTTACGGATTCTTAATTTTCATTGTACAGAGTTAAT
 AAAACAATTGAAAGCAATTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

10

También se incluyen fragmentos de las secuencias de ácido nucleico anteriormente descritas que tienen al menos 33 bases, al menos 36 bases, al menos 42 bases o al menos 48 bases de longitud, lo que es suficiente para permitir que el fragmento se hibride selectivamente con un polinucleótido que codifica un polipéptido de *Lu. longipalpis* divulgado en condiciones especificadas. El término "hibridación selectiva" se refiere a la hibridación en condiciones de una rigurosidad moderada a elevada, lo que excluye las secuencias de nucleótidos no relacionadas.

15

En el presente también se divulgan marcos abiertos de lectura (ORF) que codifican un polipéptido de *Lu. longipalpis*. Estos ORF están delimitados por un codón de inicio y un codón de parada. Esto también incluye las variantes degeneradas de secuencias de nucleótidos que codifican homólogos y variantes conservadoras.

20

Algunos ejemplos concretos, sin carácter limitador, de marcos abiertos de lectura son los siguientes:

La proteína sin procesar LJL34 está codificada por los ácidos nucleicos 30-842 de la SEC. ID. N°: 2; y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 87-842 de la SEC. ID. N°: 2.
 La proteína sin procesar LJL18 está codificada por los ácidos nucleicos 56-532 de la SEC. ID. N°: 4 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 113-532 de la SEC. ID. N°: 4.

- La proteína sin procesar LJS193 está codificada por los ácidos nucleicos 216-502 de la SEC. ID. Nº: 6 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 276-502 de la SEC. ID. Nº: 6.
- La proteína sin procesar LJS201 está codificada por los ácidos nucleicos 48-353 de la SEC. ID. Nº: 8 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 117-352 de la SEC. ID. Nº: 8.
- 5 La proteína sin procesar LJL13 está codificada por los ácidos nucleicos 26-766 de la SEC. ID. Nº: 10 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 83-766 de la SEC. ID. Nº: 10.
- La proteína sin procesar LJL23 está codificada por los ácidos nucleicos 18-992 de la SEC. ID. Nº: 12 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 81-992 de la SEC. ID. Nº: 12.
- 10 La proteína sin procesar LJM10 está codificada por los ácidos nucleicos 92-571 de la SEC. ID. Nº: 14 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 149-571 de la SEC. ID. Nº: 14.
- La proteína sin procesar LJL143 está codificada por los ácidos nucleicos 46-948 de la SEC. ID. Nº: 16 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 115-948 de la SEC. ID. Nº: 16.
- La proteína sin procesar LJS142 está codificada por los ácidos nucleicos 25-507 de la SEC. ID. Nº: 18 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 85-507 de la SEC. ID. Nº: 18.
- 15 La proteína sin procesar LJL17 está codificada por los ácidos nucleicos 28-342 de la SEC. ID. Nº: 20 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 88-342 de la SEC. ID. Nº: 20.
- La proteína sin procesar LJM06 está codificada por los ácidos nucleicos 50-523 de la SEC. ID. Nº: 22 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 107-523 de la SEC. ID. Nº: 22.
- 20 La proteína sin procesar LJM17 está codificada por los ácidos nucleicos 24-1264 de la SEC. ID. Nº: 24 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 83-1264 de la SEC. ID. Nº: 24.
- La proteína sin procesar LJL04 está codificada por los ácidos nucleicos 30-914 de la SEC. ID. Nº: 26 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 81-914 de la SEC. ID. Nº: 26.
- La proteína sin procesar LJMI 14 está codificada por los ácidos nucleicos 29-475 de la SEC. ID. Nº: 28 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 101-475 de la SEC. ID. Nº: 28.
- 25 La proteína sin procesar LJMI 11 está codificada por los ácidos nucleicos 24-1214 de la SEC. ID. Nº: 30 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 78-1214 de la SEC. ID. Nº: 30.
- La proteína sin procesar LJM78 está codificada por los ácidos nucleicos 42-1091 de la SEC. ID. Nº: 32 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 102-11091 de la SEC. ID. Nº: 32.
- 30 La proteína sin procesar LJS238 está codificada por los ácidos nucleicos 27-206 de la SEC. ID. Nº: 34 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 87-206 de la SEC. ID. Nº: 34.
- La proteína sin procesar LJS169 está codificada por los ácidos nucleicos 11-370 de la SEC. ID. Nº: 36 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 77-370 de la SEC. ID. Nº: 36.
- La proteína sin procesar LJL11 está codificada por los ácidos nucleicos 30-1745 de la SEC. ID. Nº: 38 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 105-1745 de la SEC. ID. Nº: 38.
- 35 La proteína sin procesar LJL08 está codificada por los ácidos nucleicos 26-238 de la SEC. ID. Nº: 40 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 95-238 de la SEC. ID. Nº: 40.
- La proteína sin procesar LJS105 está codificada por los ácidos nucleicos 24-275 de la SEC. ID. Nº: 42 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 81-275 de la SEC. ID. Nº: 42.
- 40 La proteína sin procesar LJL09 está codificada por los ácidos nucleicos 74-1954 de la SEC. ID. Nº: 44 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 128-1954 de la SEC. ID. Nº: 44.
- La proteína sin procesar LJL38 está codificada por los ácidos nucleicos 40-165 de la SEC. ID. Nº: 46 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 100-165 de la SEC. ID. Nº: 46.
- 45 La proteína sin procesar LJM04 está codificada por los ácidos nucleicos 40-456 de la SEC. ID. Nº: 48 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 100-456 de la SEC. ID. Nº: 48.
- La proteína sin procesar LJM26 está codificada por los ácidos nucleicos 96-1616 de la SEC. ID. Nº: 50 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 147-1616 de la SEC. ID. Nº: 50.
- La proteína sin procesar LJS03 está codificada por los ácidos nucleicos 41-553 de la SEC. ID. Nº: 52 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 98-553 de la SEC. ID. Nº: 52.
- 50 La proteína sin procesar LJS192 está codificada por los ácidos nucleicos 18-344 de la SEC. ID. Nº: 54 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 87-344 de la SEC. ID. Nº: 54.
- La proteína sin procesar LJM19 está codificada por los ácidos nucleicos 16-360 de la SEC. ID. Nº: 56 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 82-360 de la SEC. ID. Nº: 56.
- La proteína sin procesar LJL138 está codificada por los ácidos nucleicos 12-1238 de la SEC. ID. Nº: 58 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 72-1238 de la SEC. ID. Nº: 58.
- 55 La proteína sin procesar LJL15 está codificada por los ácidos nucleicos 63-542 de la SEC. ID. Nº: 60 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 120-542 de la SEC. ID. Nº: 60.
- La proteína sin procesar LJL91 está codificada por los ácidos nucleicos 63-542 de la SEC. ID. Nº: 62 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 120-542 de la SEC. ID. Nº: 62.
- 60 La proteína sin procesar LJMI está codificada por los ácidos nucleicos 20-1216 de la SEC. ID. Nº: 64 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 74-1216 de la SEC. ID. Nº: 64.
- La proteína sin procesar LJS138 está codificada por los ácidos nucleicos 12-1238 de la SEC. ID. Nº: 66 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 72-138 de la SEC. ID. Nº: 66.
- La proteína sin procesar LJL124 está codificada por los ácidos nucleicos 23-241 de la SEC. ID. Nº: 68 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 83-241 de la SEC. ID. Nº: 68.
- 65 La proteína sin procesar LJL35 está codificada por los ácidos nucleicos 12-1238 de la SEC. ID. Nº: 70 y la proteína madura está codificada por la secuencia de ácido nucleico 72-1238 de la SEC. ID. Nº: 70.

Otro ejemplo concreto, de carácter no limitador, de un polinucleótido que codifica un polipéptido de *Lu. longipalpis* es un polinucleótido que tiene una homología de al menos el 75%, 85%, 90%, 95% o 99% con una de las secuencias anteriormente presentadas que codifica un polipéptido que tiene una función o epítipo antigénico de un polipéptido de *Lu. longipalpis*. Otro ejemplo concreto más, de carácter no limitador, de un polinucleótido que codifica un polipéptido de *Lu. longipalpis* es un polinucleótido que codifica un polipéptido al que se ha unido de forma específica un anticuerpo que se une específicamente al polipéptido de *Lu. longipalpis*.

Los polinucleótidos de *Lu. longipalpis* incluyen un ADN recombinante que se incorpora a un vector, a un virus o plásmido que se replica de forma autónoma, al ADN genómico de una célula procariota o eucariota, o que existe como una molécula separada (por ejemplo, un ADNc) independiente de otras secuencias. Los nucleótidos pueden ser ribonucleótidos, desoxinucleótidos o formas modificadas de alguno de estos nucleótidos. El término incluye formas individuales o dobles de cada nucleótido. El término incluye formas individuales o dobles de ADN.

En el presente se divulgan también vectores recombinantes que incluyen un polinucleótido que codifica un polipéptido o un fragmento del mismo de acuerdo con la divulgación. Los vectores recombinantes incluyen plásmidos y vectores virales y se pueden utilizar para la expresión *in vitro* o *in vivo*.

Un plásmido puede incluir una unidad de transcripción de ADN, por ejemplo una secuencia de ácido nucleico que le permite replicarse en una célula huésped, como un origen de replicación (procariota o eucariota). Un plásmido puede incluir también uno o más genes marcadores seleccionables y otros elementos genéticos conocidos en el campo. En la presente divulgación se incluyen formas circulares y lineales de plásmidos.

Para la expresión *in vivo*, por lo general el promotor es de origen celular o viral. En una realización, se puede utilizar el promotor temprano del citomegalovirus (promotor de CMV-IE), incluyendo el promotor y potenciador. El promotor de CMV-IE puede ser de origen humano o murino, o proceder de otra fuente, como la rata o la cobaya (véase EP 0260148; EP 0323597; WO 89/01036; Pasleau et al., Gene 38:227-232, 1985; Boshart M. et al., Cell 41:521-530, 1985). También se pueden emplear fragmentos funcionales del promotor de CMV-IE (WO 98/00166). Asimismo, se puede utilizar el promotor temprano o tardío del virus SV40 y el promotor LTR del virus del sarcoma de Rous. Otros promotores incluyen, a título meramente enunciativo, un promotor de un gen citoesquelético, como por ejemplo (a título meramente enunciativo), el promotor de la desmina (Kwissa M. et al., Vaccine 18(22):2337-2344, 2000), o el promotor de la actina (Miyazaki J. et al., Gene 79(2):269-277, 1989). Cuando hay varios genes presentes en el mismo plásmido, se pueden proporcionar en la misma unidad de transcripción o en unidades diferentes.

Los plásmidos también pueden comprender otros elementos reguladores de la transcripción, como, por ejemplo, secuencias estabilizadoras de tipo intrón. En diversas realizaciones, los plásmidos incluyen el primer intrón de CMV-IE (Solicitud de PCT publicada nº WO 89/01036), el intrón II del gen de la beta-globina de conejo (van Ooyen et al., Science 206:337-344, 1979), la secuencia de señal de la proteína codificada por el activador del plasminógeno tisular (tPA; Montgomery et al., Cell. Mol. Biol. 43:285-292, 1997), y/o una señal de poliadenilación (polyA), en concreto la polyA del gen de la hormona de crecimiento bovino (bGH) (Patente estadounidense nº 5.122.458) o la polyA del gen de beta-globina de conejo o del virus SV40.

En un ejemplo concreto, de carácter no limitador, se puede utilizar el plásmido pVR1020 (VICAL Inc.; Luke C. et al., Journal of Infectious Diseases 175:91-97, 1997; Hartikka J. et al., Human Gene Therapy 7:1205-1217, 1996) como vector para la inserción de esta secuencia de polinucleótidos, generando plásmidos recombinantes.

Los plásmidos son evaluados en perros para determinar su eficacia contra la infección por *Leishmania* (Vidor E. et al., P3.14, XXIV Congreso Internacional de Veterinaria, Río de Janeiro, Brasil, 18-23 de agosto de 1991).

También se pueden utilizar diversos vectores virales con un polinucleótido que codifica un polipéptido de *Lu. longipalpis*. Un ejemplo concreto, de carácter no limitador, incluye poxvirus recombinantes, incluyendo virus avipox, como el virus de la viruela del canario. Otro ejemplo concreto, de carácter no limitador, incluye poxvirus recombinantes, incluyendo virus vaccinia (Patente estadounidense nº 4.603.112), como el virus vaccinia atenuado, como, por ejemplo el NYVAC (véase la Patente estadounidense nº 5.494.807) o el virus vaccinia modificado de Ankara (MVA, Stickl H. y Hochstein-Mintzel V., Munch. Med. Wschr. 113:1149-1153, 1971; Sutler G. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10847-10851, 1992; Carroll M. W. et al., Vaccine 15(4):387-394, 1997; Stittelaar K. J. et al., J. Virol. 74(9):4236-4243, 2000; Sutler G. et al., Vaccine 12(11): 1032-1040, 1994). Cuando se emplean virus avipox, resultan útiles los virus de la viruela del canario (Patente estadounidense nº 5.756.103.) y los virus de la viruela aviar (Patente estadounidense nº 5.766.599), tal como virus atenuados. Para los vectores de virus de la viruela del canario recombinantes, los sitios de inserción pueden estar en particular en las ORF C3, C5 o C6. Cuando el vector de expresión es un poxvirus, el polinucleótido heterólogo se puede insertar bajo el control de un promotor específico de poxvirus, como el promotor 7.5kDa del virus vaccinia (Cochran et al., J. Virology 54:30-35, 1985), el promotor I3L del virus vaccinia (Riviere et al., J. Virology 66:3424-3434, 1992), el promotor HA del virus vaccinia (Shida, Virology 150:451-457, 1986), el promotor ATI del virus de la viruela bovina (Funahashi et al., J. Gen. Virol. 69:35-47, 1988), otro promotor H6 del virus vaccinia (Taylor et al., Vaccine 6:504-508, 1988; Guo et al., J. Virol. 63:4189-4198, 1989; Perkus et al., J. Virol. 63:3829-3836, 1989).

Otros vectores virales útiles son los vectores del herpesvirus o adenovirus. Algunos ejemplos concretos, de carácter no limitador, incluyen un vector de herpesvirus canino (CHV) o de adenovirus canino (CAV) (véase, por ejemplo, la Patente estadounidense nº 5.529.780; la Patente estadounidense nº 5.688.920; la solicitud de PCT publicada nº WO 95/14102). Para el CHV, los sitios de inserción pueden estar en particular en el gen de la timidina quinasa, en la ORF3, o en la ORF de UL43 (véase la Patente estadounidense nº 6.159.477). Para el CAV, los sitios de inserción pueden estar en particular en la región E3 o en la región que se encuentra entre la región E4 y la región ITR izquierda (véase la Patente estadounidense nº 6.090.393; Patente estadounidense nº 6.156.567). En una realización en vectores de CHV o CAV, la inserción se produce en general bajo el control de un promotor (tal y como se ha descrito anteriormente para los plásmidos), como el promotor de CMV-IE.

Se pueden realizar múltiples inserciones en el mismo vector utilizando sitios de inserción diferentes o utilizando el mismo sitio de inserción. Cuando se utiliza el mismo sitio de inserción, cada elemento insertado del polinucleótido se inserta bajo el control de diferentes promotores. La inserción se puede realizar de cola a cola, de cabeza a cabeza, de cola a cabeza o de cabeza a cola. También se pueden utilizar los elementos del IRES (sitio de entrada del ribosoma interno, véase la Patente europea EP 0803573) para separar y expresar múltiples elementos insertados operativamente unidos al mismo promotor. También se pueden emplear vectores bacterianos para la expresión *in vivo*.

Cualquier polinucleótido de conformidad con la divulgación se puede expresar *in vitro* mediante transferencia de ADN o vectores de expresión en una célula huésped adecuada. La célula huésped puede ser procariota o eucariota. El término "célula huésped" incluye también descendencia de la célula huésped del sujeto. Los métodos de transferencia estable, lo que significa que el polinucleótido extraño se mantiene continuamente en la célula huésped, son conocidos en el campo. Las células huésped pueden incluir bacterias (por ejemplo, *Escherichia coli*), levaduras, células de insectos y células de vertebrados. Los métodos para expresar secuencias de ADN en células eucariotas son bien conocidos en el campo.

Como método para la expresión *in vitro*, los vectores de baculovirus recombinantes (por ejemplo, el virus de la polihidrosis nuclear de la *Autographa californica* (AcNPV)) se pueden utilizar con los ácidos nucleicos divulgados en el presente. Por ejemplo, los promotores de polihidrina se pueden utilizar con células de insectos (por ejemplo, células de *Spodoptera frugiperda*, como células Sf9 disponibles en la ATCC bajo el número de acceso CRL-1711, o células Sf21) (véase, por ejemplo, Smith et al., *Mol. Cell Biol.* 3:2156-2165, 1983; Pennock et al., *Mol. Cell Biol.* 4:399-406, 1994; Vialard et al., *J. Virol.* 64:37-50, 1990; Verne A., *Virology* 167:56-71, 1988; O'Reilly et al., "Baculovirus expression vectors, A laboratory manual," New York Oxford, Oxford University Press, 1994; Kidd I. M. & Emery V.C., "The use of baculoviruses as expression vectors," *Applied Biochemistry and Biotechnology* 42:37-159, 1993; Patente europea nº. EP 0370573; Patente europea nº. EP 0265785; Patente estadounidense nº. 4.745.051). Para la expresión se puede utilizar el BaculoGold™ Starter Package (Cat # 21001K) de Pharmingen (Becton Dickinson).

Como método para la expresión *in vitro*, se puede utilizar *E. coli* recombinante con un vector. Por ejemplo, cuando se clonan sistemas bacterianos, se pueden utilizar promotores inducibles como el promotor de arabinosa, pL de bacteriófago lambda, plac, ptrp, ptac (promotor híbrido ptrp-lac) y similares.

La transformación de una célula huésped con ADN recombinante se puede realizar mediante técnicas convencionales bien conocidas por los expertos en el campo. Cuando la célula huésped es procariota, como *E. coli*, se pueden preparar células competentes que son capaces de absorber ADN a partir de células cosechadas tras una fase de crecimiento exponencial para tratarlas después mediante el método de CaCl₂ utilizando procedimientos bien conocidos en el campo. Alternativamente, se puede utilizar MgCl₂ o RbCl. También se puede realizar la transformación tras formar un protoplasto de la célula huésped, si se desea, o mediante electroporación.

Cuando la célula huésped es eucariota, se pueden utilizar métodos de transducción del ADN como los coprecipitados de fosfato cálcico, procedimientos mecánicos convencionales como microinyección, electroporación, inserción de un plásmido encapsulado en liposomas o vectores virales. Las células eucariotas también se pueden transformar conjuntamente con secuencias de polinucleótidos de *Lu. longipalpis* y una segunda molécula de ADN extraña que codifica un fenotipo seleccionable, como el gen timidina quinasa del herpes simple. Otro método consiste en utilizar un vector viral eucariota (véase arriba), como un herpesvirus o adenovirus (por ejemplo, adenovirus canino 2), para transducir de forma transitoria células eucariotas y expresar la proteína (véase, por ejemplo, *Eukaryotic Viral Vectors*, Cold Spring Harbor Laboratory, Gluzman ed., 1982). Por otra parte, se puede utilizar un agente de transfección, como dioleoil-fosfatidiletanolamina (DOPE).

El aislamiento y la purificación del polipéptido expresado recombinantemente se pueden realizar por medios convencionales incluyendo cromatografía preparativa (por ejemplo, exclusión por tamaño, intercambio de iones, afinidad), precipitación selectiva y ultrafiltración. Este polipéptido expresado recombinantemente forma parte de la presente divulgación. También se incluyen métodos para la producción de este polipéptido, en particular el uso de un vector de expresión recombinante que comprende un polinucleótido de conformidad con la divulgación y de una célula huésped.

Anticuerpos

- Se puede utilizar un polipéptido de *Lu. longipalpis* de la divulgación o un fragmento del mismo de conformidad con la divulgación para producir anticuerpos. Se incluyen anticuerpos policlonales, anticuerpos que se componen básicamente de anticuerpos monoclonales agrupados con diferentes especificidades epítópicas, así como anticuerpos monoclonales distintos. Estos anticuerpos son útiles como marcadores para la exposición y como herramientas de inmunodiagnóstico para seguir la evolución de la respuesta inmune a las proteínas salivales de *Lu. longipalpis*.
- La preparación de anticuerpos policlonales es bien conocida por los expertos en el campo. Véase, por ejemplo, Green et al., "Production of Polyclonal Antisera," *Immunochemical Protocols*, pp. 1-5, Manson, comp., Humana Press, 1992; Coligan et al., "Production of Polyclonal Antisera in Rabbits, Rats, Mice and Hamsters," *Current Protocols in Immunology*, section 2.4.1, 1992.
- Del mismo modo, la preparación de anticuerpos monoclonales es convencional. Véase, por ejemplo, Kohler & Milstein, *Nature* 256:495, 1975; Coligan et al., secciones 2.5.1-2.6.7; y Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, p. 726, Cold Spring Harbor Pub., 1988. En resumen, los anticuerpos monoclonales se pueden obtener inyectando a ratones una composición que comprende un antígeno, verificando la presencia de producción de anticuerpos mediante la extracción de una muestra de suero, extirpando el bazo para obtener linfocitos B, fusionando los linfocitos B con células de mieloma para producir hibridomas, clonando los hibridomas, seleccionando clones positivos que producen anticuerpos para el antígeno y aislando los anticuerpos de los cultivos de hibridoma. Los anticuerpos monoclonales se pueden aislar y purificar a partir de cultivos de hibridoma mediante diversas técnicas bien establecidas. Estas técnicas de aislamiento incluyen la cromatografía de afinidad con Proteína A-Sefarosa, cromatografía de exclusión por tamaños y cromatografía de intercambio de iones. Véase, por ejemplo, Coligan et al., secciones 2.7.1-2.7.12 y secciones 2.9.1-2.9.3; Barnes et al., "Purification of Immunoglobulin G (IgG)," *Methods in Molecular Biology*, Vol. 10, pp. 79-104, Humana Press, 1992.
- Los métodos de multiplicación *in vitro* e *in vivo* de anticuerpos monoclonales son bien conocidos por los expertos en el campo. La multiplicación *in vitro* se puede realizar en medios de cultivo adecuados, tales como el Modified Eagle Medium de Dulbecco o medio RPMI 1640, opcionalmente suplementados con un suero de mamífero, como suero fetal bovino u oligoelementos y suplementos potenciadores del crecimiento, como células de exudado peritoneal, células de bazo, timocitos o macrófagos de médula espinal de ratones normales. La producción *in vitro* proporciona preparaciones de anticuerpos relativamente puros y permite ampliar para producir grandes cantidades de los anticuerpos deseados. El cultivo de hibridomas a gran escala se puede realizar mediante cultivo de suspensión homogénea en un reactor por bucle de aire, un reactor de agitación continua o en cultivo de células atrapadas o inmovilizadas. La multiplicación *in vivo* se puede realizar inyectando clones de células a mamíferos histocompatibles con las células madre, por ejemplo, ratones singénicos, para provocar el crecimiento de tumores que producen anticuerpos. Opcionalmente, a los animales se les aplica un hidrocarburo, especialmente aceites como pristano (tetrametilpentadecano), antes de la inyección. Después de una a tres semanas, el anticuerpo monoclonal deseado se recupera del fluido corporal del animal.
- Los anticuerpos también se pueden obtener de anticuerpos de primates no humanos. Las técnicas generales para obtener anticuerpos terapéuticamente útiles en babuinos se pueden encontrar, por ejemplo, en WO 91/11465, 1991, y Losman et al., *Int. J. Cancer* 46:310, 1990.
- Alternativamente, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido se puede obtener de un anticuerpo monoclonal humanizado. Los anticuerpos monoclonales humanizados se producen transfiriendo regiones determinantes de complementariedad murinas de cadenas variables pesadas y ligeras de la inmunoglobulina murina a un dominio variable humano y, a continuación, sustituyendo los residuos humanos de las regiones marco de las contrapartes murinas. El uso de componentes de anticuerpos obtenidos de anticuerpos monoclonales humanizados evita posibles problemas asociados con la inmunogenicidad de las regiones constantes murinas. Las técnicas generales para clonar dominios variables de inmunoglobulina murina se describen, por ejemplo, en Orlandi et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. EE.UU.*, 86:3833, 1989. Las técnicas para producir anticuerpos monoclonales humanizados se describen, por ejemplo, en Jones et al., *Nature* 321:522, 1986; Riechmann et al., *Nature* 332:323, 1988; Verhoeyen et al., *Science* 239:1534, 1988; Carter et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 89:4285, 1992; Sandhu, *Crit. Rev. Biotech* 2:437, 1992; y Singer et al., *J. Immunol.* 150:2844, 1993.
- Se pueden obtener anticuerpos obtenidos de fragmentos de anticuerpos humanos aislados de una biblioteca de inmunoglobulina combinatoria. Véase, por ejemplo, Barbas et al., *Methods: a Companion to Methods in Enzymology*, Vol. 2, p. 119, 1991; Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.* 12:433, 1994. Los vectores de clonación y de expresión que son útiles para producir una biblioteca de fagos de inmunoglobulina humana se pueden obtener, por ejemplo, de STRATAGENE Cloning Systemas (La Jolla, CA).
- Por otra parte, se pueden obtener anticuerpos de un anticuerpo monoclonal humano. Estos anticuerpos se obtienen de ratones transgénicos que han sido "modificados genéticamente" para producir anticuerpos humanos específicos en respuesta a un desafío antigénico. En esta técnica, se introducen elementos de los lugares de la cadena pesada

y la cadena ligera humanas en cadenas murinas obtenidas de líneas de células madre embrionarias que contienen alteraciones seleccionadas de los lugares de la cadena pesada y la cadena ligera endógenas. Los ratones transgénicos pueden sintetizar anticuerpos humanos específicos para antígenos humanos y los ratones se pueden utilizar para producir hibridomas que secretan anticuerpos humanos. Los métodos para obtener anticuerpos humanos de ratones transgénicos se describen en Green et al., *Nature Genet.* 7:13, 1994; Lonberg et al., *Nature* 368:856, 1994; y Taylor et al., *Int. Immunol.* 6:579, 1994.

Los anticuerpos incluyen moléculas intactas, así como fragmentos de las mismas, tales como Fab, F(ab')₂, y Fv, que son capaces de unirse al determinante epitópico. Estos fragmentos de anticuerpo conservan cierta capacidad para unirse selectivamente con su antígeno o receptor y se definen como sigue:

(1) Fab, el fragmento que contiene un fragmento monovalente de unión a antígeno de una molécula de anticuerpo se produce por digestión del anticuerpo entero con la enzima papaína para obtener una cadena ligera (L) intacta y una porción de una cadena pesada (H).

(2) Fab', el fragmento de una molécula de anticuerpo se puede obtener tratando el anticuerpo entero con pepsina, seguido por reducción, para producir una cadena ligera intacta y una porción de la cadena pesada; se obtienen dos fragmentos Fab' por molécula de anticuerpo;

(3) (Fab')₂, el fragmento del anticuerpo se puede obtener tratando todo el anticuerpo con la enzima pepsina que puede obtenerse sin reducción subsiguiente; F(ab')₂ es un dímero de dos fragmentos de Fab mantenidos juntos por dos enlaces de disulfuro;

(4) Fv, definido como un fragmento modificado genéticamente que contiene la región variable de la cadena ligera (V_L) y la región variable de la cadena pesada (V_H) expresadas como dos cadenas; y

(5) Anticuerpo de una sola cadena ("SCA"), definido como una molécula modificada genéticamente que contiene la región variable de la cadena ligera, la región variable de la cadena pesada, ligadas por un conector polipeptídico adecuado como una molécula de una sola cadena genéticamente fusionada.

Los métodos de preparación de estos fragmentos son conocidos en el campo. (Véase, por ejemplo, Harlow y Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual.*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1988).

Por ejemplo, se pueden preparar fragmentos de anticuerpos mediante hidrólisis proteolítica del anticuerpo o mediante expresión en *E. coli* del ADN que codifica el fragmento. Se pueden obtener fragmentos de anticuerpos mediante digestión con pepsina o papaína de anticuerpos enteros por métodos convencionales. Por ejemplo, se pueden producir fragmentos de anticuerpos mediante clivaje enzimático de anticuerpos con pepsina para proporcionar un fragmento de 5S denominado F(ab')₂. Este fragmento se puede clivar adicionalmente usando un agente reductor de tiol, y opcionalmente un grupo bloqueante para los grupos sulfhidrilo resultantes del clivaje de los enlaces disulfuro, para producir fragmentos monovalentes Fab' de 3,5S. De forma alternativa, un clivaje enzimático usando pepsina produce dos fragmentos monovalentes Fab' y un fragmento Fc directamente (véase la Patente estadounidense nº 4.036.945 y la Patente estadounidense nº 4.331.647, y referencias contenidas en las mismas; Isonhoff et al., *Arch. Biochem. Biophys.* 89:230, 1960; Porter, *Biochem. J.* 73:119, 1959; Edelman et al., *Methods in Enzymology*, Vol. 1, página 422, Academic Press, 1967; y Coligan et al. en las secciones 2.8.1-2.8.10 y 2.10.1-2.10.4).

También se pueden usar otros métodos de clivaje de anticuerpos, tales como separación de cadenas pesadas para formar fragmentos monovalentes de cadena ligera-pesada, clivaje adicional de fragmentos, u otras técnicas enzimáticas, químicas o genéticas, siempre que los fragmentos se unan al antígeno que reconoce el anticuerpo intacto.

Por ejemplo, los fragmentos Fv comprenden una asociación de cadenas V_H y V_L. Esta asociación puede ser no covalente (Inbar et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 69:2659, 1972). De forma alternativa, las cadenas variables se pueden unir por un enlace disulfuro intermolecular o entrecruzar mediante agentes químicos como glutaraldehído. Véase, por ejemplo, Sandhu, *supra*. En una realización, los fragmentos Fv comprenden cadenas V_H y V_L conectadas por un conector peptídico. Estas proteínas de unión al antígeno de cadena única (sFv) se preparan construyendo un gen estructural que comprende secuencias de ADN que codifican los dominios de V_H y V_L unidos por un oligonucleótido. El gen estructural se inserta en un vector de expresión, que se introduce posteriormente en una célula huésped como *E. coli*. Las células huésped recombinantes sintetizan una única cadena polipeptídica con un conector peptídico que une los dos dominios V. Los métodos para producir sFv son conocidos en el campo (véase Whitlow et al., *Methods: a Companion to Methods in Enzymology*, Vol. 2, página 97, 1991; Bird et al., *Science* 242:423, 1988; Patente estadounidense nº 4.946.778; Pack et al., *Bio/Technology* 11:1271, 1993; y Sandhu, *supra*).

Otra forma de un fragmento de anticuerpo es un péptido que codifica una única región determinante de la complementariedad (CDR). Se pueden obtener péptidos CDR (unidades mínimas de reconocimiento) construyendo genes que codifican la CDR de un anticuerpo de interés. Estos genes se preparan, por ejemplo, mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa para sintetizar la región variable a partir del ARN de células productoras de anticuerpos (Larrick et al., *Methods: a Companion to Methods in Enzymology*, Vol. 2, página 106, 1991).

- Los anticuerpos se pueden preparar usando como antígeno de inmunización un polipéptido intacto o fragmentos que contienen pequeños péptidos de interés. El polipéptido o el péptido usado para inmunizar a un animal se puede obtener de un polipéptido sustancialmente purificado producido en células huésped, ADNc transducido *in vitro* o mediante síntesis química, que se puede conjugar con una proteína portadora si se desea. Estos portadores comúnmente utilizados y que son acoplados químicamente al péptido incluyen hemocianina de lapa (KLH), tiroglobulina, albúmina de suero bovino (BSA) y toxoide de tétano. El péptido acoplado se emplea entonces para inmunizar el animal (por ejemplo, un ratón, una rata o un conejo).
- Los anticuerpos policlonales o monoclonales pueden ser purificados adicionalmente, por ejemplo, por unión y elución a partir de una matriz a la que se une el polipéptido o péptido para el cual se promovieron los anticuerpos. Los expertos en el campo conocerán diversas técnicas comunes en materia de inmunología para la purificación y/o concentración de anticuerpos policlonales, así como anticuerpos monoclonales (véase, por ejemplo, Coligan et al., Unidad 9, Current Protocols in Immunology, Wiley Interscience, 1991).
- También es posible utilizar la tecnología del anti-idiotipo para producir anticuerpos monoclonales que imitan a un epítipo. Por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-idiotípico preparado conforme a un primer anticuerpo monoclonal tendrá un dominio de unión en la región hipervariable que es la "imagen" del epítipo al que se une el primer anticuerpo monoclonal.
- En vista del gran número de métodos que se ha documentado para unir diversos compuestos de radiodiagnóstico, compuestos radioterapéuticos, fármacos marcadores (como enzimas o moléculas fluorescentes), toxinas y otros agentes a los anticuerpos, un experto en el campo será capaz de determinar un método apropiado para unir un determinado agente a un anticuerpo u otro polipéptido.
- En una realización, se puede utilizar un anticuerpo que se une a un polipéptido de *Lu. longipalpis* para valorar si un sujeto ha sido picado por un flebótomo. En un ejemplo concreto, de carácter no limitador, se obtiene una muestra de un sujeto de interés, como un ser humano o un perro. La muestra puede ser un fluido corporal (como sangre, suero, orina, saliva, etc.) o una biopsia de tejido. La muestra o una fracción de ella se pone en contacto con el anticuerpo y se valora la capacidad del anticuerpo para formar un complejo de antígeno-anticuerpo. Un experto en el campo podrá detectar fácilmente la formación de un complejo de antígeno-anticuerpo. Por ejemplo se puede utilizar un ensayo ELISA, Western blot o radioinmunológico.

Composiciones inmunogénicas, vacunas y métodos de uso

- En el presente se divulgan composiciones inmunogénicas y vacunas. En una realización, las composiciones inmunogénicas y vacunas incluyen un polipéptido. En una realización, las composiciones inmunogénicas y vacunas incluyen un vector recombinante, como un vector viral o un plásmido. Cuando se administra a un sujeto, esta composición inmunogénica o vacuna genera una respuesta inmune a la proteína o proteínas salivales del flebótomo y, sorprendentemente, se produce una reducción de los síntomas de la leishmaniasis y una reducción de la carga parasitaria de *Leishmania*. De este modo, sin pretender vincularse a una teoría, una respuesta celular, como una respuesta de Th1, producida en contra de la proteína salival puede matar indirectamente a un parásito *Leishmania*. Por ejemplo, la respuesta de tipo Th1 puede permitir que los macrófagos absorban antígenos de *Leishmania* y los presenten a los linfocitos T en un contexto de Th1. La inducción de la respuesta de Th1 puede producir una respuesta inmune contra la *Leishmania*, o puede preparar el sistema inmunitario del huésped mamífero para la inmunidad frente a la *Leishmania* en respuesta a una infección posterior.
- En una realización, la composición inmunogénica o la vacuna incluye una cantidad efectiva de al menos un polipéptido de *Lu. longipalpis* divulgado en el presente. La composición inmunogénica y la vacuna pueden incluir un excipiente y/o un adyuvante farmacéuticamente aceptables. En una realización, la composición inmunogénica o vacuna incluye un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácido como la que se presenta como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N° 67, un polipéptido al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 95% o al menos un 99% homólogo a uno de estos polipéptidos, una variante conservadora, un homólogo o un fragmento inmunogénico que comprende al menos ocho o al menos diez aminoácidos consecutivos de uno de estos polipéptidos, o una combinación de estos polipéptidos. En un ejemplo concreto, de carácter no limitador, la composición inmunogénica o vacuna incluye un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácido como la que se presenta como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N° 67. En ejemplos concretos, de carácter no limitador, la composición inmunogénica incluye un polipéptido que tiene una secuencia que se presenta como una de las SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 11, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 55 o SEC. ID. N° 59.

En una realización, la composición inmunogénica incluye más de un polipéptido de *Lu. longipalpis*, como dos, tres, cuatro, cinco, seis, diez o más de los polipéptidos divulgados en el presente. De este modo, la composición inmunogénica incluye al menos un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácido como la que se presenta como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N° 67, un polipéptido al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 95% o al menos un 99% homólogo a uno de estos polipéptidos, una variante conservadora, un homólogo o un fragmento inmunogénico que comprende al menos ocho o al menos diez aminoácidos consecutivos de uno de estos polipéptidos y, opcionalmente, otro polipéptido que tiene una secuencia de aminoácido como la que se presenta como SEC. ID. N°: 1, SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 11, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 37, SEC. ID. N°: 39, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N° 67 o SEC. ID. N° 69, un polipéptido al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 95% o al menos un 99% homólogo a uno de estos polipéptidos, una variante conservadora de uno de estos polipéptidos, o un homólogo o un fragmento inmunogénico que comprende al menos ocho o al menos diez aminoácidos consecutivos de uno de estos polipéptidos.

En ejemplos concretos, de carácter no limitador, la composición inmunogénica incluye un aminoácido que tiene una secuencia como la que se presenta como SEC. ID. N°: 1, SEC. ID. N°: 23, SEC. ID. N°: 39, un polipéptido al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 95% o al menos un 99% homólogo a uno de estos polipéptidos, una variante conservadora de uno de estos polipéptidos, o un homólogo o un fragmento inmunogénico que comprende al menos ocho o al menos diez aminoácidos consecutivos de uno de estos polipéptidos, o una combinación de estos polipéptidos. De este modo, la composición inmunogénica puede incluir un polipéptido que tiene una secuencia como la que se presenta como SEC. ID. N°: 1, SEC. ID. N°: 23 o SEC. ID. N° 39. Estas composiciones incluyen, a título meramente enunciativo, una composición inmunogénica que incluye un polipéptido que tiene una secuencia como la que se presenta como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 11, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 55 o SEC. ID. N° 59, y un polipéptido que tiene una secuencia como la que se presenta como SEC. ID. N°: 1, SEC. ID. N°: 23 o SEC. ID. N° 39.

La composición inmunogénica o la vacuna puede incluir un excipiente y/o un adyuvante farmacéuticamente aceptables.

En otra realización, la composición inmunogénica o la vacuna incluye una cantidad efectiva de al menos un polipéptido de *Lu. longipalpis* conjuntamente con uno o más polipéptidos de *P. perniciosus* y/o uno o más polipéptidos de *P. ariasi*. Estas secuencias de polipéptidos se divulgan en la Solicitud de patente estadounidense nº 60/412,327, presentada el 19 de septiembre de 2002, la Solicitud de patente estadounidense nº 60/425,852, presentada el 12 de noviembre de 2002, y la Solicitud de PCTnº PCT/US03/29833, presentada el 18 de septiembre de 2003, que se incorporan al presente como referencia.

En una realización, la composición inmunogénica o vacuna comprende una cantidad efectiva de un vector recombinante que expresa al menos un polipéptido de *Lu. longipalpis* divulgado en el presente y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. En un ejemplo concreto, de carácter no limitador, el vector recombinante codifica al menos un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácido como la que se presenta como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N° 67, una variante conservadora, un homólogo, un fragmento inmunogénico o una proteína de fusión de la misma. En ejemplos concretos, de carácter no limitador, el vector codifica un polipéptido que tiene una secuencia como la que se presenta como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 11, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 55 o SEC. ID. N° 59, un polipéptido al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 95% o al menos un 99% homólogo a uno de estos polipéptidos, una variante conservadora, un homólogo, un fragmento inmunogénico o una proteína de fusión de los mismos. En varios ejemplos, el vector codifica uno o más polipéptidos que tienen una secuencia como la que se presenta como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 11, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 55 o SEC. ID. N° 59. El vector también puede codificar opcionalmente un polipéptido que tiene una secuencia como la que se presenta como SEC. ID. N°: 1, SEC. ID. N°: 23 o SEC. ID. N° 39.

El compuesto inmunogénico puede incluir una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido o polipéptidos de *P. ariasi* y/o un polipéptido o polipéptidos de *P. perniciosus* (véase la Solicitud provisional estadounidense nº 60/412.327, que se incorpora por referencia al presente en su totalidad). En una realización, el polipéptido o polipéptidos de *Lu. longipalpis* que tienen una secuencia de aminoácido como la presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°:

35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67, una variante conservadora, un homólogo, un fragmento inmunogénico o una proteína de fusión de la misma, son codificados por el mismo vector recombinante, como un polipéptido o polipéptidos de *P. ariasi* y/o un polipéptido o polipéptidos de *P. perniciosus*. En otra realización, el polipéptido o los polipéptidos de *Lu. longipalpis*, un polipéptido o polipéptidos de *P. ariasi* y/o un polipéptido o polipéptidos de *P. perniciosus* son codificados por vectores recombinantes diferentes.

El polipéptido de *Lu. longipalpis* se puede administrar por cualquier medio conocido para un experto en el campo (véase Banga, A., "Parenteral Controlled Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins," Therapeutic Peptides and Proteins, Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA, 1995), como, por ejemplo, mediante inyección intramuscular (IM), intradérmica (ID), subcutánea (SC) o intravenosa, aunque también se puede contemplar la administración oral, nasal o incluso anal. En una realización, la administración se realiza por inyección subcutánea, intradérmica o intramuscular utilizando un inyector sin aguja (Biojector™, Bioject, Oregon, EE. UU.).

Para ampliar el tiempo durante el que el péptido o la proteína está disponible para estimular una respuesta, el péptido o la proteína se puede proporcionar como un implante, una inyección de aceite o un sistema de partículas. El sistema de partículas puede ser una micropartícula, una microcápsula, una microesfera, una nanocápsula o una partícula similar (véase, por ejemplo, Banja, supra). Se ha demostrado que un vehículo de partículas basado en un polímero sintético actúa como un adyuvante para potenciar la respuesta inmune, además de proporcionar una liberación controlada. Se pueden utilizar sales de aluminio como adyuvantes para producir una respuesta inmune humoral. De este modo, en una realización, se administra un polipéptido de *Lu. longipalpis* de manera que se induce una respuesta humoral.

En otra realización, un polipéptido de *Lu. longipalpis* se administra de manera que se dirige la respuesta inmune a una respuesta celular (es decir, una respuesta de CTL), en lugar de una respuesta humoral (anticuerpo). Se conocen diversos medios para inducir respuestas celulares, tanto in vitro como in vivo. Los lípidos han sido identificados como agentes capaces de ayudar a aplicar CTL in vivo contra diversos antígenos. Por ejemplo, tal como se describe en la Patente estadounidense 5.662.907, los residuos de ácido palmítico se pueden unir a los grupos amino alfa y épsilon de un residuo de lisina y, a continuación, enlazarse (por ejemplo, a través de uno o más residuos de unión, tales como glicina, glicina-glicina, serina, serina-serina o similares) a un péptido inmunogénico. El péptido lipidado se puede inyectar después directamente en una forma micelar, incorporar en un liposoma o emulsionar en un adyuvante. Como otro ejemplo, se pueden emplear lipoproteínas de *E. coli*, como tripalmitoil-S-glicerilcisteinilseril-serina, para aplicar CTL específicos tumorales cuando se unen covalentemente a un péptido apropiado (véase Deres et al., Nature 342:561, 1989). Por otra parte, dado que la inducción de anticuerpos neutralizantes también se puede aplicar con la misma molécula conjugada con un péptido que presenta un epítipo apropiado, las dos composiciones se pueden combinar para provocar tanto respuestas humorales como mediadas por células cuando se considere recomendable.

En otra realización más, se añade un epítipo T adyuvante restringido a MHC de clase II al polipéptido de la divulgación para inducir que las células T adyuvantes secreten citoquinas en el microentorno para activar células precursoras de CTL. La técnica implica adicionalmente añadir moléculas lipídicas cortas para retener la construcción en el sitio de la inyección durante varios días para localizar el antígeno en el sitio de la inyección y potenciar su proximidad a las células dendríticas u otras células presentadoras de antígeno "profesionales" durante un periodo de tiempo (véase Chesnut et al., "Design and Testing of Peptide-Based Cytotoxic T-Cell-Mediated Immunotherapeutics to Treat Infectious Diseases and Cancer", Powell et al., comp., Vaccine Design, the Subunit and Adjuvant Approach, Plenum Press, Nueva York, 1995).

Se puede preparar una composición inmunogénica o una vacuna de acuerdo con la divulgación, utilizando técnicas estándar bien conocidas por los expertos en el campo farmacéutico o veterinario. Estas composiciones se pueden administrar en dosis y mediante técnicas bien conocidas por los expertos en el campo médico o veterinario, teniendo en cuenta factores como la edad, el sexo, el peso, la especie y la condición del sujeto en particular, así como la vía de administración. La composición inmunogénica o la vacuna se puede administrar sola o conjuntamente con adyuvante(s) y/u otro(s) antígeno(s). El otro antígeno o antígenos puede ser un antígeno de la *Leishmania*. En una realización, el antígeno de la *Leishmania* es el antígeno A2, como el antígeno A2 de *L. infantum* (véase la Solicitud de Patente PCT publicada n° WO 95/06729 y, en particular, la secuencia proporcionada en SEC. ID. N°: 2). El otro antígeno o antígenos pueden estar presentes en la composición como una proteína, o como un fragmento inmunológico de la misma (por ejemplo, un epítipo), o como un elemento insertado en un vector de expresión (por ejemplo, un vector viral recombinante, un plásmido recombinante, en particular el pVR1012 (Vical Inc.; Hartikka J. et al., Human Gene Therapy 7:1205-1217, 1996)).

Cualquier composición inmunogénica, vacuna o composición terapéutica de acuerdo con la divulgación se puede mezclar con un adyuvante.

Composiciones basadas en polipéptidos:

En varias realizaciones, las vacunas y composiciones inmunogénicas basadas en polipéptidos de conformidad con la divulgación están formuladas (1) con vitamina E, saponina (por ejemplo, Quil A™, QS21™), hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio, óxido de aluminio ("Vaccine Design, The subunit and adjuvant approach," Pharmaceutical Biotechnology, vol. 6, Compilado por Micheal F. Powell y Mark J. Newman, 1995, Plenum Press New York), (2) con un polímero de ácido acrílico o ácido metacrílico, un polímero de anhídrido maleico y de derivado alquínico, (3) con una secuencia inmunoestimuladora (ISS), en particular una secuencia oligodesoxirribonucleotídica que contiene uno o más grupos CpG no metilados (Klinman D. M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:2879-2883, 1996; Solicitud de PCT publicada nº WO 98/16247), (4) para formular la composición inmunogénica o vacuna en forma de una emulsión de aceite en agua, en particular la emulsión de SPT que se describe en la página 147 de "Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach" , compilado por M. Powell y M. Newman, Plenum Press, 1995, y la emulsión MF59 descrita en la página 183 del mismo libro, (5) con citoquinas, o (6) combinaciones o mezclas de los anteriores elementos.

Las citoquinas (5) que se pueden añadir a la composición incluyen, a título meramente enunciativo, GM- CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos) o citoquinas que inducen Th1 (por ejemplo, IL-12). Todas estas citoquinas se pueden añadir a la composición como una proteína o como un vector que codifica esta proteína de citoquina. En una realización, las citoquinas son de origen canino, por ejemplo GM-CSF canino para el que se ha depositado una secuencia genética en la base de datos de GenBank (número de acceso S49738). Esta secuencia se puede utilizar para crear el vector de una manera similar a la recogida en la Solicitud de patente PCT publicada nº WO 00/77210.

En un ejemplo concreto, de carácter no limitador, el adyuvante contiene dos o más emulsionantes, agentes de formación de micela y aceites. Algunos emulsionantes, agentes de formación de micela y aceites apropiados se detallan en las Patentes estadounidenses nº 5. 585.103; 5.709.860; 5.270.202; y 5.695.770, todas ellas incorporadas al presente como referencia. Un emulsionante es cualquier molécula que permite que los componentes de la emulsión permanezcan en forma de una emulsión estable. Estos emulsionantes incluyen polisorbato 80 (Sorbitanmono-9-octadecenoato-poli(oxi-1,2-etanedilil); fabricado por ICI Americas, Wilmington, Del), polisorbato 20, polisorbato 21, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 61, polisorbato 85, dodecil-N,N-dimetil-3-ammonio-1-propanosulfonato, TEEPOL HB7™, y SPAN 80™ SPAN 85™, alcoholes grasos etoxilados, ácidos grasos etoxilados, aceite de ricino etoxilado (hidrogenado o no). En una realización, estos emulsionantes se proporcionan en una cantidad de entre 0,05 y 0,5% aproximadamente. En otra realización, estos emulsionantes se proporcionan en una cantidad aproximada del 0,2%. Un agente de formación de micela es un agente capaz de estabilizar la emulsión formada con los demás componentes, de forma que se genere una estructura similar a una micela.

Algunos ejemplos de estos agentes incluyen tensioactivos poliméricos descritos por las publicaciones de BASF Wyandotteof. por ejemplo, Schmolka, J. Am. Oil. Chem. Soc. 54:110, 1977, y Hunter et al., J. Immunol. 129:1244, 1981, PLURONIC™ L62LF, L101, L121, and L64, PEG1000, y TETRONIC™ 1501, 150R1, 701, 901, 1301, y 130R1. Las estructuras químicas de estos agentes son bien conocidas en el campo. En una realización, se selecciona el agente para que presente un balance hidrófilo-lipófilo de entre 0 y 2 aproximadamente, conforme a la definición de Hunter y Bennett, J. Immun. 133:3167, 1984. En una realización, el agente se puede proporcionar en una cantidad efectiva, por ejemplo entre 0,5 y 10% aproximadamente. En otra realización, el agente se puede proporcionar en una cantidad efectiva, por ejemplo entre un 1,25 y un 5% aproximadamente.

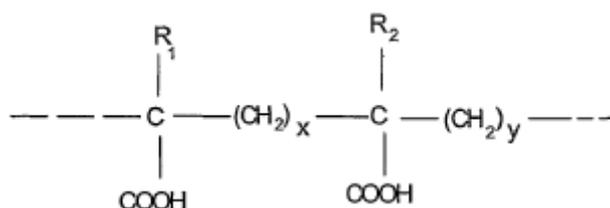
En una realización, el aceite incluido en la composición se selecciona para que promueva la retención del antígeno en la emulsión de aceite en agua, por ejemplo, para proporcionar un vehículo para el antígeno deseado. En otra realización, el aceite tiene una temperatura de fusión inferior a unos 65°C, de forma que la emulsión se forma a temperatura ambiente (entre 20 y 25°C aproximadamente) o una vez que la temperatura de la emulsión se ha reducido hasta la temperatura ambiente.

La emulsión de aceite en agua (4) se puede basar, en particular, en aceite de parafina líquida ligera (tipo Farmacopea Europea) ; aceite de isoprenoides como escualano, escualeno, EICOSANE™ o tetratetracontano; aceite resultante de la oligomerización de alquenos, en particular, de isobuteno o deceno; ésteres de ácidos o de alcoholes que contienen un grupo alquilo lineal, tales como aceites vegetales, oleato de etilo, di (caprilato/caprato) de propilenglicol, tri (caprilato/caprato) de glicerilo o dioleato de propilenglicol; ésteres de ácidos grasos o alcoholes ramificados, por ejemplo, ésteres de ácido isosteárico. El aceite se utiliza ventajosamente en combinación con emulsionantes para formar la emulsión. En varias realizaciones, los emulsionantes son tensioactivos no iónicos, en particular ésteres de sorbitán, manida (por ejemplo, oleato de anhidromanitol) , glicerol, poliglicerol, propilenglicol y ácido oleico, isosteárico, ricinoleico o hidroxiesteárico, opcionalmente etoxilados, y copolímeros de bloque de polioxipropileno-polioxietileno, en particular los productos Pluronic®, especialmente, L121. En un ejemplo concreto, de carácter no limitador, el aceite se proporciona en una cantidad de entre 1 y 60% aproximadamente. En otro ejemplo concreto, de carácter no limitador, el aceite se proporciona en una cantidad de entre 5 y 30% aproximadamente. En una realización el adyuvante es una mezcla de emulsionantes, agente de formación de micela y aceite disponible bajo el nombre de Provac ® (IDEC Pharmaceuticals, San Diego, CA).

Los polímeros de ácido acrílico o ácido metacrílico (2) se pueden entrelazar en particular con éteres de polialquénol de azúcares o de polialcoholes. Estos compuestos se conocen bajo el término "carbomer" (Pharmeuropa, Vol. 8, Nº

2, junio de 1996). Un experto en el campo podrá consultar también la Patente estadounidense nº 2.909.462 (incorporada al presente como referencia), en la que se describen estos polímeros acrílicos entrelazados con un compuesto polihidroxiado que contiene al menos tres grupos hidroxilo. En una realización, un compuesto polihidroxiado contiene no más de 8 grupos hidroxilo. En otra realización, los átomos de hidrógeno de al menos 3 hidroxilos son sustituidos por radicales alifáticos insaturados que contienen al menos 2 átomos de carbono. En otras realizaciones, los radicales contienen entre 2 y 4 átomos de carbono aproximadamente, como, por ejemplo, vinilos, alilos y otros grupos etilénicamente insaturados. Los radicales insaturados pueden contener por sí mismos otros sustituyentes, como metilo. Los productos comercializados bajo el nombre Carbopol® (Noveon Inc., Ohio, USA) resultan particularmente adecuados. Éstos se entrelazan con un alilo de sacarosa o con alilpentaeritritol. Entre ellos, cabe señalar los productos Carbopol® 474P, 934P, y 971P.

Los copolímeros de anhídrido maleico y de un derivado alqueno, como los productos EMA® (Monsanto) que son copolímeros de anhídrido maleico y de etileno, pueden ser lineales o entrelazados, por ejemplo entrelazados con éter de divinilo. Se puede hacer referencia a J. Fields et al., Nature 186:778-780, 1960 (incorporado al presente como referencia). En una realización, los polímeros de ácido acrílico o ácido metacrílico y los productos EMA® se forman a partir de unidades basadas en la fórmula siguiente:



en la que:

- R₁ y R₂, que pueden ser idénticos o diferentes, representan H o CH₃
- x = 0 o 1, en una realización, x = 1
- y = 1 o 2, con x + y = 2.

Para los productos EMA®, x = 0 e y = 2. Para los carbómeros, x = y = 1.

En una realización, la disolución de estos polímeros en agua conduce a una solución ácida que se neutralizará a pH fisiológico, para proporcionar al sujeto la solución de adyuvante en la cual se incorporará la composición inmunogénica o la vacuna. Los grupos carboxilo del polímero se hallan parcialmente en la forma COO⁻.

En una realización, una solución de adyuvante, especialmente de carbómero, se prepara en agua destilada. En otra realización, una solución de adyuvante, especialmente de carbómero, se prepara en presencia de cloruro sódico, teniendo la solución obtenida un pH ácido. En otra realización, esta solución madre se diluye mediante la adición de la cantidad adecuada (con el fin de obtener la concentración final deseada), o una parte sustancial de la misma, de agua cargada con NaCl. En otra realización más, la solución madre se diluye mediante la adición de la cantidad deseada de solución salina fisiológica (NaCl 9 g/l), en una o más partes con una neutralización concomitante o posterior (pH 7.3 a 7.4). En una realización, la solución madre se neutraliza con NaOH. Esta solución a pH fisiológico se utilizará para mezclarla con la composición inmunogénica o con la vacuna, que puede ser especialmente almacenada en forma seca por congelación, líquida o congelada.

En una realización, la concentración de polímero en la composición de la vacuna final es de aproximadamente 0,01 a 1,5% p/v. En otra realización, la composición de la vacuna final es de aproximadamente 0,05 a 1% p/v. En otra realización más, la composición de la vacuna final es de aproximadamente 0,1 a 0,4% p/v.

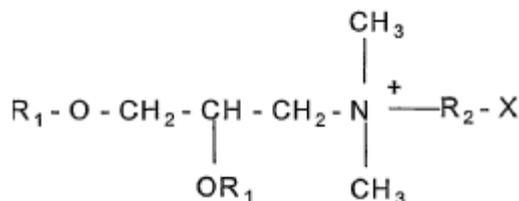
Los lípidos han sido identificados como agentes capaces de estimular la respuesta inmune para diversos antígenos. Por ejemplo, tal como se describe en la Patente estadounidense 5.662.907, los residuos de ácido palmítico se pueden unir a los grupos amino alfa y épsilon de un residuo de lisina y, a continuación, enlazarse (por ejemplo, a través de uno o más residuos de unión, tales como glicina, glicina-glicina, serina, serina-serina o similares) a un péptido inmunogénico. El péptido lipidado se puede inyectar después directamente en una forma micelar, incorporar en un liposoma o emulsionar en un adyuvante. En otro ejemplo, se pueden utilizar las proproteínas de E. coli, como tripalmitoil-S-glicerilcisteinilseril-serina.

Para ampliar el tiempo durante el que el péptido o la proteína está disponible para estimular una respuesta, el péptido o la proteína se puede proporcionar como un implante, una inyección de aceite o un sistema de partículas. El sistema de partículas puede ser una micropartícula, una microcápsula, una microesfera, una nanocápsula o una partícula similar (véase, por ejemplo, Banja, supra). Se ha demostrado que un excipiente particulado basado en un

polímero sintético actúa como adyuvante para potencial la respuesta inmune, además de proporcionar una liberación controlada.

Composiciones basadas en plásmidos:

- 5 En una realización, las composiciones basadas en plásmidos se formulan con lípidos catiónicos, en particular con lípidos catiónicos que contienen una sal de amonio cuaternario con la fórmula siguiente:



- 10 donde R1 es un radical alifático lineal saturado o insaturado de 12 a 18 átomos de carbono; R2 es otro radical alifático que comprende de 2 a 3 átomos de carbono, y X es un grupo hidroxilo o amino.

15 En una realización, DMRIE (N-(2-hidroxiethyl)-N,N-dimetil-2,3-bis(terradeciloxi)-1-propanamónio; Solicitud de PCT publicada nº WO 96/34109) es el lípido catiónico. En otra realización, el lípido catiónico se encuentra en asociación con un lípido neutro, por ejemplo DOPE (dioleoil-fosfatidil-etanolamina; Behr J. P., Bioconjugate Chemistry 5:382-389, 1994), con el objeto de formar el DMRIE-DOPE. En otra realización más, la mezcla se realiza de forma extemporánea, aproximadamente entre 10 y 60 minutos antes de la administración. En otra realización, la mezcla se realiza de forma extemporánea, aproximadamente 30 minutos antes de la administración. En una realización, el ratio molar DMRIE/DOPE es aproximadamente de 95/5 a 5/95. En otra realización, el ratio molar DMRIE/DOPE es aproximadamente de 1/1. En una realización, el ratio en peso de plásmido/DMRIE o DMRIE-DOPE adyuvante es aproximadamente de 50/1 a 1/10. En otra realización, el ratio en peso de plásmido/DMRIE o DMRIE-DOPE adyuvante es aproximadamente de 10/1 a 1/5. En otra realización más, el ratio en peso de plásmido/DMRIE o DMRIE-DOPE adyuvante es aproximadamente de 1/1 a 1/2.

25 En una realización, se añade una citoquina o grupos CpG no metilados a la composición, tal y como se ha descrito anteriormente para las composiciones basadas en polipéptidos. La adición se puede hacer ventajosa mediante un plásmido que codifica la citoquina.

Composición basada en el vector viral:

30 La composición basada en el vector viral recombinante se puede suplementar con fMLP (N-formil-metionil-leucil-fenilalanina; Patente estadounidense nº 6.017.537) y/o polímero de ácido acrílico o ácido metacrílico adyuvante, tal y como se ha descrito anteriormente para las composiciones basadas en polipéptidos. También se pueden formular con emulsiones como se ha descrito anteriormente.

35 En una realización, se añaden citoquinas, grupos CpG no metilados o emulsiones a la composición, tal y como se ha descrito anteriormente para las composiciones basadas en polipéptidos. La adición se puede hacer ventajosa mediante un vector viral que codifica dicha citoquina.

40 Las composiciones inmunogénicas y vacunas de conformidad con la divulgación se conservan y almacenan en forma formulada a 5°C o en forma liofilizada. En una realización, las composiciones inmunogénicas y vacunas de conformidad con la divulgación se conservan y almacenan en forma formulada a 5°C o en forma liofilizada con un estabilizador. El secado por congelación se puede realizar conforme a procedimientos estándar bien conocidos. Los estabilizantes farmacéuticamente aceptables pueden ser SPGA (sacarosa, fosfato, glutamato y albúmina) (Bovarnik et al., J. Bacteriology, 1950, 59: 509), carbohidratos (por ejemplo sorbitol, manitol, lactosa, sacarosa, glucosa, dextrano, trehalosa), glutamato sódico (Tsvetkov T et al., Cryobiology 20(3): 318-23, 1983; Israeli E et al., Cryobiology 30(5): 519-23, 1993), proteínas como peptona, albúmina o caseína, agentes que contienen proteínas tales como leche desnatada (Mills CK et al., Cryobiology 25(2): 148-52, 1988 ; Wolff E et al., Cryobiology 27(5): 569-75, 1990), y tampones (por ejemplo, tampón fosfato, tampón fosfato de un metal alcalino). Para hacer solubles las preparaciones desecadas por congelación se puede usar un adyuvante.

Métodos de inmunización

55 La presente divulgación proporciona métodos para inducir una respuesta inmune a un polipéptido de flebótomo Lutzomyia en un sujeto. La presente divulgación proporciona asimismo métodos para inhibir o prevenir la leishmaniasis en un sujeto.

Estos métodos incluyen la administración de al menos una composición inmunogénica o vacuna, de conformidad con la divulgación.

Según la divulgación, una composición inmunológica o una vacuna se puede preparar mediante técnicas estándar bien conocidas por los expertos en el campo farmacéutico o veterinario. Estas composiciones se pueden administrar en dosis y mediante técnicas bien conocidas por los expertos en el campo médico o veterinario, teniendo en cuenta factores como la edad, el sexo, el peso, la especie y la condición del sujeto en particular, así como la vía de administración.

Si se precisa más de una administración, se pueden administrar concurrentemente (por ejemplo, diferentes composiciones administradas durante el mismo periodo de tiempo a través de la misma o de diferentes vías, o una misma composición administrada en el mismo periodo de tiempo a través de diferentes vías) o secuencialmente (por ejemplo, la misma o diferentes composiciones administradas al menos dos veces a través de la misma o de diferentes vías). En una realización, el intervalo entre dos administraciones secuenciales es de aproximadamente 1 semana a 6 meses. En otra realización, el intervalo es de aproximadamente 3 semanas a 6 semanas. En otra realización más, el intervalo es a partir de unas 4 semanas. Tras la vacunación, se puede administrar una dosis de refuerzo anual. Preferiblemente, en un programa de vacunación de sensibilización y refuerzo, se puede realizar al menos una administración de sensibilización con una composición que contiene un plásmido de conformidad con la divulgación, seguida de al menos la administración de un refuerzo con una composición que contiene un vector recombinante de conformidad con la divulgación, con la condición de que un mismo polipéptido salival de *Lu. longipalpis* esté presente dos veces, codificado por el plásmido y por el vector viral. Alternativamente, la administración de refuerzo se puede realizar con una composición que contiene un polipéptido de conformidad con la divulgación, con la condición de que un mismo polipéptido salival de *Lu. longipalpis* esté presente dos veces, codificado por el plásmido de la administración de sensibilización y en la composición del refuerzo basado en el polipéptido.

En estas composiciones, el antígeno o antígenos pueden encontrarse combinados con un vehículo o excipiente adecuado, como agua estéril, solución salina fisiológica, glucosa o similares. Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponantes del pH, aditivos gelificantes o que potencian la viscosidad, conservantes, agentes aromatizantes, colorantes, y similares, dependiendo de la vía de administración y de la preparación deseada. Para preparar las preparaciones adecuadas, sin experimentación excesiva, se pueden consultar textos estándares tales como "Remington's Pharmaceutical Science, 17ª edición, 1985. Las composiciones también pueden estar liofilizadas.

Las dosis apropiadas también se pueden basar en los ejemplos siguientes. Para las composiciones basadas en polipéptidos, la vía de administración puede ser ID, IM, SC, intravenosa, oral, nasal o anal. Esta administración se puede realizar con una jeringuilla y una aguja o con un aparato sin aguja, como, por ejemplo Biojector™ (Bioject, Oregon, USA). En diversas realizaciones, las dosis de polipéptidos puede ser de entre 1 y 250 µg/ml, de entre 15 y 150 µg/dosis, de entre 20 y 100 µg/dosis, aproximadamente. En otra realización, utilizando un aparato sin aguja el volumen de una dosis puede ser de entre 0,1 ml y 0,5 ml, aproximadamente. En otra realización más, utilizando un aparato sin aguja el volumen de una dosis puede ser de 0,25 ml aproximadamente. Es preferible la administración con múltiples puntos de inyección. En una realización, para la inyección convencional con una jeringuilla y una aguja, los volúmenes son de entre 0,1 y 2 ml, aproximadamente. En otra realización, para la inyección convencional con una jeringuilla y una aguja, los volúmenes son de entre 0,5 y 1 ml, aproximadamente.

Para las composiciones basadas en plásmidos, la vía de administración puede ser ID, IM, SC, intravenosa, oral, nasal o anal. Esta administración se puede hacer con una jeringuilla y una aguja o con un aparato sin aguja, como, por ejemplo, Biojector™. La dosis es de unos 50 µg a 500 µg por plásmido. Cuando se añade DMRIE-DOPE, es preferible unos 100 µg por plásmido. En una realización, cuando se utiliza GM-CSF canino u otra citoquina, el plásmido que codifica esta proteína se encuentra presente a una dosis de entre 200 µg y 500 µg aproximadamente. En otra realización, el plásmido que codifica esta proteína se encuentra presente a una dosis de 200 µg aproximadamente. En una realización, utilizando un aparato sin aguja, el volumen de una dosis puede estar entre 0,1 ml y 0,5 ml aproximadamente. En otra realización, el volumen de una dosis puede ser de 0,25 ml aproximadamente. En otra realización más, la administración se realiza utilizando múltiples puntos de inyección. En una realización, para la inyección convencional con una jeringuilla y una aguja, los volúmenes son de entre 0,1 y 2 ml, aproximadamente. En otra realización, los volúmenes son de entre 0,5 ml y 1 ml aproximadamente. Las dosis son las mismas que las mencionadas anteriormente.

Para las composiciones basadas en un vector viral recombinante, la vía de administración puede ser ID, EM, SC, intravenosa, oral, nasal o anal. Esta administración se puede hacer con una jeringuilla y una aguja o con un aparato sin aguja, como, por ejemplo, Biojector™. La dosis es de unos 10^3 pfu a unos 10^9 pfu por vector de poxvirus recombinante. En una realización, cuando el vector es un virus de la viruela del canario, la dosis es de entre 10^8 pfu y 10^9 pfu aproximadamente. En otra realización, la dosis es de entre 10^6 pfu y 10^8 pfu aproximadamente. En una realización, el volumen de las dosis administradas con aparato sin aguja podrían ser de entre 0,1 ml y 0,5 ml aproximadamente. En otra realización, el volumen de la dosis administrada con aparato sin aguja es de 0,25 ml. En otra realización más, la administración se realiza utilizando múltiples puntos de inyección. En una realización, para la inyección convencional con una jeringuilla y una aguja, los volúmenes son de entre 0,1 y 2 ml, aproximadamente. En otra realización, los volúmenes son de entre 0,5 ml y 1 ml aproximadamente. Las dosis son las mismas que las mencionadas anteriormente. En una realización, cuando se utiliza una jeringuilla y una aguja, la inyección es IM.

Preferiblemente, en un programa de vacunación de sensibilización y refuerzo, la administración de sensibilización se realiza con una composición que contiene un plásmido y la administración de refuerzo con una composición que contiene un vector recombinante. En una realización, la administración de refuerzo se realiza con un vector del virus de la viruela del canario. Tanto la administración de sensibilización como la de refuerzo incluye vectores que codifican al menos un antígeno salival de *Lu. longipalpis* idéntico, y opcionalmente antígenos A2 de Leishmania. La dosis de plásmidos y vectores virales recombinantes son las mismas que se han indicado anteriormente. Opcionalmente, la administración de refuerzo se puede realizar con una composición basada en un polipéptido. En este caso, la dosis del polipéptido es de 1 a 250 µg/ml, de 15 a 150 µg/dosis, o de 20 a 100 µg/dosis, aproximadamente.

La inmunización por construcciones de ácido nucleico es bien conocida en el campo y se muestra, por ejemplo, en la Patente estadounidense nº 5.643.578 (que describe métodos para inmunizar vertebrados introduciendo ADN que codifica un antígeno deseado para provocar una respuesta mediada por células o humoral), y la Patente estadounidense nº 5.593.972 y la Patente estadounidense nº 5.817.637 (que describe la unión funcional de una secuencia de ácido nucleico que codifica un antígeno a secuencias reguladoras que posibilitan la expresión). La Patente estadounidense nº 5.880.103 describe varios métodos de suministro de ácidos nucleicos que codifican péptidos inmunogénicos u otros antígenos a un organismo. Los métodos incluyen suministro por liposomas de los ácidos nucleicos (o de los propios péptidos sintéticos), y construcciones inmunoestimuladoras, o ISCOMS™, estructuras tipo jaula cargadas negativamente de 30-40 nm de tamaño formadas espontáneamente al mezclar colesterol y Quil A™ (saponina). Se ha generado inmunidad protectora en una diversidad de modelos experimentales de infección, incluyendo tumores inducidos por toxoplasmosis y virus de Epstein-Barr, usando ISCOMS™ como vehículo de suministro para antígenos (Mowat y Donachie, Immunol Today 12:383,1991). Se ha descubierto que dosis de antígeno tan bajas como 1 µg encapsulado en ISCOMS™ producen respuestas de CTL mediadas por clase I (Takahashi et al., Nature 344:873, 1990).

En otro enfoque para usar ácidos nucleicos para inmunización, también puede expresarse un polipéptido de *Lu. longipalpis* o un fragmento inmunogénico del mismo por huéspedes o vectores virales atenuados o vectores bacterianos. Pueden usarse vectores de virus vaccinia recombinante, virus adenoasociados (AAV), herpesvirus, retrovirus, u otros vectores virales para expresar el péptido o proteína, provocando de este modo una respuesta de CTL. Por ejemplo, se describen vectores de vaccinia y métodos útiles en protocolos de inmunización en la Patente estadounidense nº 4.722.848. El BCG (bacilo de Calmette Guérin) proporciona otro vector para la expresión de péptidos (véase Stover, Nature 351:456-460, 1991).

En una realización, un ácido nucleico que codifica un polipéptido de *Lu. longipalpis*, o un fragmento inmunogénico del mismo, se introduce directamente en las células. Por ejemplo, el ácido nucleico puede cargarse en microesferas de oro por métodos estándar e introducirse en la piel por un dispositivo como Bio-Rad's Helios™ Gene Gun. También se puede utilizar un inyector sin aguja, como Bioinjector2000™. Los ácidos nucleicos pueden estar "desnudos", compuestos por plásmidos bajo el control de un promotor fuerte. Típicamente, el ADN se inyecta en músculo, aunque también puede inyectarse directamente en otros sitios. Los modelos de dosis para la inyección se encuentran en torno a 0.5 µg/kg a 50 mg/kg, y típicamente son de 0,005 mg/kg a 5 mg/kg aproximadamente (véase, por ejemplo, la Patente estadounidense nº 5.589.466). En una realización, se utilizó una estrategia de sensibilización y refuerzo para la inmunización. De este modo, en una realización, se administra un ácido nucleico que codifica un polipéptido de *Lu. longipalpis* al sujeto, seguido de la inmunización con la forma atenuada o inactivada de la Leishmania.

Las composiciones inmunogénicas y las vacunas divulgadas en el presente pueden ser administradas para tratamientos preventivos y terapéuticos. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones se administran a un sujeto que sufre una enfermedad, como la Leishmaniasis, en una cantidad terapéuticamente efectiva, que es una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente la enfermedad o un signo o síntoma de la enfermedad. Las cantidades efectivas para este uso dependerán de la gravedad de la enfermedad y del estado general de salud del sujeto. Una cantidad efectiva del compuesto es la que proporciona un alivio subjetivo de los síntomas o una mejora objetivamente identificable observada por el médico u otro observador cualificado.

Las dosis únicas o múltiples del compuesto se administran dependiendo de la dosis y la frecuencia necesaria y tolerada por el sujeto. En una realización, la dosis se administra una única vez en forma de bolo, pero en otra realización se puede aplicar periódicamente hasta conseguir un resultado terapéutico. Por lo general, la dosis es suficiente para tratar o mejorar los síntomas o signos de la enfermedad sin producir una toxicidad inaceptable en el sujeto.

Como se ha señalado, la dosis de la composición variará en función del peso, la edad, el sexo y el método de administración. La dosis también podrá ser ajustada por el médico individual en función de las circunstancias particulares. Las composiciones se pueden administrar convencionalmente como vacunas que contienen el compuesto activo como una cantidad predeterminada de material activo calculado para producir un efecto terapéutico o inmunológico deseado conjuntamente con el diluyente o vehículo necesario y farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, vehículo o portador). Por ejemplo, una vacuna con una construcción de ADN de unos 50 µg de la presente divulgación se puede inyectar por vía intradérmica tres veces a intervalos de dos semanas para

producir el efecto terapéutico o inmunológico deseado. En otra realización, una dosis aproximada de 1 mg/kg de una vacuna de proteína de la presente divulgación se puede inyectar por vía intradérmica tres veces a intervalos de dos semanas para producir el efecto terapéutico o inmunológico deseado.

- 5 En el presente se proporciona una vacuna que incluye un polipéptido o polinucleótido de *Lu. longipalpis*. La administración de la vacuna a un sujeto, como un sujeto humano o veterinario, produce una resistencia a la infección por Leishmania. En una realización, el sujeto es un sujeto humano. En otra realización, el sujeto es un cánido, como un perro.

10 Métodos y kits para el diagnóstico de la infección por Leishmania

En el presente se divulga que los individuos que presentan una conversión de la respuesta de DTH anti-Leishmania también experimentan un aumento de los anticuerpos contra las proteínas salivales del polipéptido de *Lu. longipalpis*. Por tanto, la presencia o ausencia de anticuerpos contra las proteínas salivales del polipéptido de *Lu. longipalpis* se puede utilizar para determinar si un sujeto presenta una infección por Leishmania.

- 15 En el presente se divulga un método para diagnosticar la infección por Leishmania, detectando la presencia de anticuerpos que se unen específicamente a uno o más polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos como la presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67, o un polipéptido al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 95% o al menos un 99% homólogo a uno de estos polipéptidos, una variante conservadora, un homólogo o un fragmento inmunogénico de uno de estos polipéptidos. El método puede emplear un único polipéptido de *Lu. longipalpis* o una combinación de estos polipéptidos. En determinados ejemplos, el método de diagnóstico detecta anticuerpos que se unen específicamente al menos a 3, 6 o 10 de estos polipéptidos, o fragmentos inmunogénicos de los mismos.

- 30 En una realización, se pueden unir uno o más polipéptidos de *Lu. longipalpis* a un sustrato sólido. Por ejemplo, el polipéptido de *Lu. longipalpis* que tiene una secuencia de aminoácidos como la que se presenta como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67 se puede unir al sustrato. Uno o más de estos polipéptidos se pueden unir al sustrato, por ejemplo al menos 3, 6 o 10 de estos polipéptidos, o un fragmento inmunogénico de los mismos. En un ejemplo, uno o más polipéptidos que tienen una secuencia presentada como una de las SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 11, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 55 o SEC. ID. N°: 59 se pueden unir al sustrato. En otro ejemplo, uno o más polipéptidos de *Lu. longipalpis* que tienen una secuencia presentada como una de las SEC. ID. N°: 1, SEC. ID. N°: 23 o SEC. ID. N°: 39 se pueden unir al sustrato. En un ejemplo concreto, de carácter no limitador, al menos seis polipéptidos de *Lu. longipalpis* se unen a un sustrato sólido, donde cada uno de los polipéptidos comprende una secuencia de aminoácidos como la presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 11, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 55 o SEC. ID. N°: 59, o un fragmento inmunogénico de la misma. En otro ejemplo concreto, de carácter no limitador, al menos tres polipéptidos de *Lu. longipalpis* se unen a un sustrato sólido, donde cada uno de los polipéptidos comprende una secuencia de aminoácidos como la presentada como SEC. ID. N°: 1, SEC. ID. N°: 23 o SEC. ID. N°: 39, o un fragmento inmunogénico de la misma.

- 50 En una realización, dos o más polipéptidos (por ejemplo, al menos 3, 6 o 10) de *Lu. longipalpis* (o fragmentos inmunogénicos de los mismos) se aplican a un sustrato sólido, por ejemplo como una serie de "puntos", como en un ensayo 'dot blot'. En otra realización, se aplican dos o más polipéptidos de *Lu. longipalpis* a un sustrato como en una disposición lineal.

- 55 En otra realización, se aplican polipéptidos de *Lu. longipalpis* a una membrana en una disposición bidimensional. De esta manera, se valora la presencia de anticuerpos para más de un polipéptido de *Lu. longipalpis*. Cada polipéptido de *Lu. longipalpis* se puede aplicar directamente a la superficie de una membrana en un único lugar o en una combinación de lugares.

- 60 El sustrato sólido puede ser una perla de poliestireno, una membrana, una partícula o una placa. Se puede utilizar un sustrato de plástico o de vidrio. En otras realizaciones, se utiliza una membrana que se compone de materiales porosos, tales como nylon, nitrocelulosa, acetato de celulosa, fibras de vidrio y otros polímeros porosos. La superficie de un portador sólido se puede activar mediante procesos químicos que causan un enlace covalente del polipéptido al portador. Sin embargo, se puede utilizar otro método adecuado para inmovilizar un polipéptido en un portador sólido, incluyendo, a título meramente enunciativo, interacciones iónicas, interacciones hidrófobas, interacciones covalentes y similares. Una vez que se ha aplicado el polipéptido al sustrato, el sustrato se puede poner en contacto con una sustancia, como una solución que contiene proteína, que satura de forma no específica

los sitios de unión de la misma. Algunos ejemplos concretos, de carácter no limitador, de una solución que contiene proteína incluyen una solución fabricada con leche en polvo o albúmina de suero, como albúmina de suero bovino.

5 A continuación se añade una muestra (por ejemplo, suero, sangre, plasma, orina, semen, saliva, esputo, fluido lacrimonal, fluido linfático) al sustrato, y la muestra combinada y el sustrato se incuban durante un tiempo suficiente como para permitir la unión específica. La unión específica de anticuerpos a los polipéptidos de *Lu. longipalpis* se divulga en el presente y, a continuación, se detecta utilizando cualquier medio conocido para un experto en el campo. En una realización, se utiliza un anticuerpo secundario etiquetado para detectar los anticuerpos que se unen específicamente a los polipéptidos de *Lu. longipalpis*. La etiqueta puede ser un radiomarcador (por ejemplo, ¹²⁵I), una etiqueta enzimática (por ejemplo, fosfatasa alcalina o peroxidasa de rábano), o una etiqueta fluorescente (por ejemplo, isotiocianato de fluoresceína). Los sistemas de detección de estas etiquetas son conocidos por los expertos en el campo. La unión de la muestra o de un componente de la muestra al polipéptido de *Lu. longipalpis*, señalada por la presencia del marcador, indica una infección por Leishmania.

15 En otra realización, la muestra se absorbe en un sustrato sólido que contiene sitios de unión para polipéptidos, como moléculas de anticuerpo. En una realización, el sustrato sólido es una perla, una partícula, una membrana o una placa de poliestireno. A continuación, se pone en contacto el sustrato con la sustancia, como una solución que contiene proteína que satura de forma no específica sus sitios de unión. Después se lava el sustrato con una solución tampón. A continuación, se añade una solución de uno o más polipéptidos de *Lu. longipalpis* a las muestras unidas. En una realización, el polipéptido de *Lu. longipalpis* es directamente etiquetado. El etiquetado del polipéptido de *Lu. longipalpis* se puede activar mediante el uso de cualquier marcador, como mediante la incorporación de un grupo o isótopo radiactivo, o uniendo este componente con una enzima o un tinte, por ejemplo una fracción cromofórica o un grupo fluorescente. Las enzimas que se pueden utilizar son aquellas que se pueden detectar colorimétricamente, espectrofotométricamente o fluorimétricamente. Algunos ejemplos, a título meramente enunciativo, de enzimas que se pueden utilizar en la presente invención son las enzimas del grupo de las oxidoreductasas, como catalasa, peroxidasa, glucosa oxidasa, beta-glucuronidasa, beta-D-glucosidasa, beta-D-galactosidasa, ureasa y galactosa oxidasa. Una vez que el polipéptido de *Lu. longipalpis* etiquetado ha sido incubado con el sustrato sólido, se retiran todos los polipéptidos de *Lu. longipalpis* etiquetados no unidos mediante lavado. A continuación, se detecta el polipéptido de *Lu. longipalpis* etiquetado unido a través de un ensayo apropiado. La unión del polipéptido de *Lu. longipalpis* etiquetado a la muestra, o a un componente de la muestra, es indicativo de una infección por Leishmania.

35 Por lo general, los pasos de incubación utilizados en la realización de los procedimientos se pueden llevar a cabo de una manera conocida, como la incubación a temperaturas de entre unos 4°C y 25°C, durante unos 30 minutos a 48 horas aproximadamente. Los lavados se pueden incluir con una solución acuosa como una solución tampón, en la que la solución tampón tiene un pH de entre 6 y 8 aproximadamente, por ejemplo utilizando una solución salina isotónica con un pH 7 aproximadamente.

40 Los ensayos de unión competitiva también resultan útiles para detectar la infección por Leishmania. Un experto en el campo al que se le proporcionen los polipéptidos de *Lu. longipalpis* divulgados en el presente será capaz rápidamente de diseñar ensayos adicionales, tales como ensayos de unión competitiva, que resulten útiles para detectar la infección por Leishmania.

45 En otra realización, los polipéptidos de *Lu. longipalpis* divulgados en el presente se pueden incluir en un kit de ensayo de diagnóstico. Por ejemplo, un kit de ensayo de diagnóstico para detectar una infección por Leishmania incluye un sustrato sólido sobre el que se ha aplicado uno o más polipéptidos de *Lu. longipalpis* divulgados en el presente. En otras realizaciones, el kit incluye instrucciones escritas y/o un recipiente que contiene una cantidad especificada de anticuerpos etiquetados contra las inmunoglobulinas, tales como IgG o IgM, o anticuerpos secundarios etiquetados que se unen a anticuerpos de una especie de interés. Por ejemplo, se pueden proporcionar anticuerpos etiquetados que detectan específicamente las inmunoglobulinas caninas o humanas. Los anticuerpos etiquetados se pueden etiquetar por fluorescencia, enzimáticamente o con radiomarcadores. Los anticuerpos etiquetados utilizados en los kits de ensayo anteriormente descritos pueden estar envasados en forma de solución o en formas liofilizadas apropiadas para la reconstitución.

55 En otra realización, el kit de ensayo incluye una cantidad especificada de uno o más polipéptidos de *Lu. longipalpis* descritos en el presente introducidos en un recipiente e instrucciones por escrito. En un ejemplo, el polipéptido de *Lu. longipalpis* es directamente etiquetado. En otro ejemplo, el polipéptido o los polipéptidos de *Lu. longipalpis* no están etiquetados. Si el polipéptido de *Lu. longipalpis* no está etiquetado, también puede incluir un recipiente con un reactivo de detección que se une específicamente al polipéptido de *Lu. longipalpis*, como un anticuerpo monoclonal etiquetado. El kit también puede incluir opcionalmente un sustrato sólido para la unión de la muestra.

65 El proceso anteriormente descrito y el kit de ensayo para la detección de anticuerpos contra polipéptidos de *Lu. longipalpis* divulgados en el presente se pueden utilizar en múltiples aplicaciones, incluyendo, a título meramente enunciativo, la detección de la infección por Leishmania en un sujeto, utilizando los métodos divulgados en el presente. Los ensayos y kits divulgados en el presente se pueden utilizar para detectar la eficacia de un tratamiento terapéutico en un sujeto. En otra realización más, los ensayos y kits divulgados en el presente se pueden utilizar

también para valorar una infección primaria por *Leishmania* o para predecir la recuperación de la infección por *Leishmania* tomando una muestra de fluido corporal de un sujeto infectado, por ejemplo, en distintos momentos tras la infección, y aplicando los procedimientos de detección anteriormente descritos.

5 La divulgación se ilustra a través de los siguientes Ejemplos, que no tendrán un carácter limitador.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

10

Construcción de la librería

15

La mosca de la arena y la preparación del homogenato de glándulas salivales (SGH). Las glándulas salivales del flebótomo *Lutzomyia longipalpis* se obtuvieron de moscas de la arena colonizadas en Walter Reed Army Institute y en los Institutos Nacionales de Salud estadounidenses.

Las glándulas salivales diseccionadas bajo un microscopio de disección y recogidas en tubos micrófugos en solución tampón de fosfato (PBS) estéril, pH 7.0, son almacenadas en hielo seco y transferidas a -70°C hasta su uso.

20

La glándula salival de *Lu. longipalpis* es una estructura como una bolsa que se compone de una capa de epitelio unicelular que rodea un gran lumen (Adler y Theodor, Ann. Trop. Med. Parasitol 20: 109, 1926). Tras haberse alimentado de sangre, el contenido de proteína total de la glándula se reduce a la mitad o menos con respecto a su valor de ~1µg (Ribeiro et al., Insect Biochem. 19:409-412, 1989). Por consiguiente, la mayor parte de la proteína del SGH del flebótomo se debe destinar a la secreción. De hecho, la SDS-PAGE del SGH revela una composición de baja complejidad consistente en ~12 bandas principales que varían de 10-100 kD (Valenzuela et al., J. Exp. Med. 194:331-42, 2001). Para la SDS-PAGE, se utilizaron geles de Tris-glicina (16%), 1 mm de grosor, y geles BIS-tris NUPAGE (12%) (Invitrogen, Carlsbad, CA). Los geles se migraron a una solución tampón de migración de Tris-glicina o MPS Nupage, conforme a las instrucciones del fabricante. Para calcular el peso molecular de las muestras, se utilizaron marcadores See BlueJ de Invitrogen (miosina, BSA, deshidrogenasa glutámica, alcohol deshidrogenasa, anhidrasa carbónica, mioglobina, lisozima, aprotinina e insulina, cadena beta).

25

30

35

Los SGH fueron tratados con partes iguales de 2X tampón de SDS (8% SDS en tampón de Tris-HCl, 0.5M, pH 6.8, 10% glicerol y 1% azul de bromofenol (tinte). Se aplicaron treinta pares de glándulas salivales homogeneizadas por línea (aproximadamente 30µg de proteína) para visualizar las bandas de proteína teñidas con azul de Coomassie. Para la secuenciación amino-terminal de las proteínas salivales, 40 pares homogeneizados de glándulas se sometieron a electroforesis y se transfirieron a una membrana de difluoruro de polivinilideno (PVDF) utilizando 10 mM CAPS, pH 11, 10% metanol como tampón de transferencia en un Blot-Module para XCell II Mini-Cell (Invitrogen, Carlsbad, CA). La membrana se tiñó con azul de Coomassie en ausencia de ácido acético. Las bandas teñidas se cortaron de la membrana de PVDF y se sometieron a degradación de Edman utilizando una secuenciador Procise (Perkin-Elmer Corp., Foster City, CA).

40

45

50

55

60

65

Construcción de la biblioteca de ADNc de glándulas salivales Se aisló el ARNm de 80 pares de glándulas salivales de hembras adultas de *Lu. longipalpis*. Se utilizó el kit de aislamiento de ARNm Micro-FastTrack (Invitrogen, Carlsbad, CA), que produjo aproximadamente 100 ng de poly (A)+ ARNm. La librería de ADNc basada en PCR se realizó siguiendo las instrucciones del kit de construcción de una biblioteca de ADNc SMART (Clontech, Palo Alto, CA). Se sometieron 100 nanogramas de ARNm de glándula salival de *Lu. longipalpis* a transcripción inversa para obtener ADNc utilizando Superscript II RNase H- reverse transcriptase (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD) y el cebador CDS/3' (Clontech, Palo Alto, CA) durante 1 hora a 42° C. La síntesis de la segunda cadena se realizó utilizando un protocolo basado en la PCR, utilizando el cebador SMART III (Clontech, Palo Alto, CA) como cebador de sentido y el cebador CDS/3' como cebador antisentido; estos dos cebadores adicionalmente se crean en los extremos de los sitios Sfil A y B del ADNc naciente. La síntesis de ADN de doble cadena se realizó en un ciclador Perkin Elmer 9700 Thermal (Perkin Elmer Corp., Foster City, CA) y utilizando ADN polimerasa Advantage Klen-Taq (Clontech, Palo Alto, CA). Las condiciones de la PCR fueron las siguientes: 94° C durante 2 minutos; 19 ciclos de 94°C durante 10 segundos y 68° C durante 6 minutos. El ADNc de doble cadena fue tratado inmediatamente con proteinasa K (0,8 µg/µl) durante 20 minutos a 45° C y se lavó tres veces con agua utilizando filtros Amicon con un corte de 100 kDa (Millipore Corp., Bedford MA). El ADNc de doble cadena se sometió a digestión con Sfi I durante 2 horas a 50° C (Los sitios Sfi I se insertaron en el ADNc durante la síntesis de la segunda cadena, utilizando el cebador SMART III y CDS/3'). A continuación, el ADNc fue fraccionado utilizando columnas proporcionadas por el fabricante (Clontech, Palo Alto, CA). Las fracciones que contenían ADNc de más de 400 pares de bases (bp) fueron agrupadas, concentradas y lavadas en tres ocasiones con agua, utilizando un filtro Amicon con un corte de 100 kDa. El ADNc se concentró hasta un volumen de 7 µl. A continuación, el ADNc concentrado se ligó a un vector Lambda Triplex2 (Clontech, Palo Alto, CA), y la reacción de la unión resultante se envasó utilizando el Gigapack gold III de Stratagene/Biocrest (Cedar Creek, TE) conforme a las especificaciones del fabricante. La librería obtenida se pasó a una placa infectando las células XLI-blue (Clontech, Palo Alto, CA) en fase de registro y la cantidad de recombinantes se determinó mediante PCR utilizando cebadores del vector que flanqueaban el ADNc insertado y se visualizó en un gel de agarosa al 1,1% con bromuro de etidio (1,5 µg/ml).

Secuenciación masiva de la librería de ADNc de glándulas salivales de *Lu. longipalpis*. La librería de ADNc de glándulas salivales de *Lu. longipalpis* se colocó en placas a aproximadamente 200 pocillos por placa (placa Petri de 150 mm). Los pocillos se recogieron aleatoriamente y se transfirieron a una placa de polipropileno de 96 pocillos que contenía 100 µl de agua por pocillo. La placa se cubrió y se colocó en un agitador giratorio durante una hora a temperatura ambiente. Se utilizaron cuatro microlitros de una muestra de fago como plantilla para una reacción PCR para la amplificación aleatoria de los ADNc. Los cebadores utilizados para esta reacción fueron secuencias del vector Triplex2; los cebadores se denominaron PT2F1 (5'- AAGTACTCT AGCAAT TGTGAGC- 3') (SEC ID N°: 71) que está posicionado antes del ADNc de interés (extremo 5'), y PT2R1 (5'-CTCTTCGCTATTACGCCAGCT G- 3') (SEC. ID. N°: 72) que está posicionado después del ADNc de interés (extremo 3'). Se utilizó polimerasa Taq Platinum (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD) para estas reacciones. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: 1 fase de 75° C durante 3 minutos, 1 fase de 94° C durante 3 minutos y 34 ciclos de 94° C durante 30 segundos, 49° C durante 30 segundos y 72° C durante 1 minuto y 20 segundos. Los productos amplificados se visualizaron en gel de agarosa al 1,1% con bromuro de etidio. La PCR limpia se utilizó como plantilla para una reacción de secuenciación cíclica utilizando el kit marcador DTCS de Beckman Coulter Inc. (Fullerton, CA). El cebador utilizado para la secuenciación (PT2F3) (5'-TCTCGGGAAGCGCGCCATTGTGTT - 3') (SEC. ID N°:73) se encuentra antes del ADNc insertado y después del cebador PT2F1. La reacción de secuenciación se realizó en un termociclador Perkin Elmer 9700. Las condiciones fueron 75° C durante 2 minutos, 94° C durante 4 minutos, y 30 ciclos de 96° C durante 20 segundos, 50° C durante 20 segundos y 60° C durante 4 minutos.

Tras la secuenciación cíclica de las muestras, se realizó un paso de limpieza utilizando el sistema de limpieza para placas multi-screen de 96 pocillos de Millipore (Bedford, MA). La placa multi-screen de 96 pocillos se preparó añadiendo una cantidad fija (conforme a las especificaciones del fabricante) de Sephadex-50 (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ) y 300 µl de agua desionizada. Tras una hora de incubación a temperatura ambiente, se retiró el agua de la placa multi-screen mediante centrifugación a 750 g durante 5 minutos. Una vez que el Sephadex de la placa multi-screen se hubo secado parcialmente, se añadió la secuenciación cíclica completa al centro de cada pocillo, se centrifugó a 750 g durante 5 minutos y la muestra limpia se recogió en una placa de microtitulación por secuenciación (Beckman Coulter, Fullerton, CA). La placa se secó a continuación en el modelo Speed- Vac SC 110 con un soporte para placas de microtitulación (Savant Instruments Inc, Holbrook, NY). Las muestras secas se resuspendieron de inmediato con 25 µl de formamida ultrapura desionizada (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ), y se añadió una gota de aceite mineral encima de cada muestra. Las muestras se secuenciaron de inmediato en un instrumento de secuenciación de ADN CEQ 2000 (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA) o se almacenaron a -30° C. El ADNc completo de genes seleccionados fue plenamente secuenciado utilizando los cebadores habituales en un instrumento de secuenciación de ADN CEQ 2000 (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA) como se ha descrito anteriormente.

Construcción de la vacuna de ADN y descripción del vector VRI 020.

Los genes que codifican las proteínas secretadas previstas se amplificaron a partir de ADNc específico de *Lu. longipalpis* mediante PCR utilizando polimerasa Taq Platinum (GIBCO BRL, Gaithersburg, MD) y cebadores específicos que portan el extremo N-terminal previsto (cebador directo); y el codón de parada (cebador inverso) del ADNc seleccionado.

El producto de la PCR se clonó de inmediato en el vector de clonación VR-2001 -TOPO habitual (obtenido del vector VR1020) siguiendo las especificaciones de los fabricantes (Invitrogen, Carlsbad, CA). La mezcla de unión se utilizó para transformar células TOP 10 (Invitrogen, Carlsbad, CA) y las células se incubaron durante una noche a 37° C. Se recogieron ocho colonias y se mezclaron con 10 µl de agua estéril. Se transfirieron cinco microlitros de cada muestra a caldo Luria (LB) con ampicilina (100 µg/ml) y se cultivaron a 37° C. Los otros 5 µl se utilizaron como plantilla para una reacción PCR utilizando dos cebadores de vector específico para el vector PCRII, al objeto de confirmar la presencia del elemento insertado y el análisis de la secuenciación. Tras la visualización del producto de la PCR en gel de agarosa al 1.1 %, los productos de la PCR se secuenciaron por completo, tal como se ha descrito anteriormente, utilizando un instrumento de secuenciación de ADN CEQ2000 (Beckman Coulter). Las células que contenían el plásmido portador del gen de *Lu. longipalpis* seleccionado se cultivaron durante una noche a 37°C en caldo Luria con ampicilina (100 µg/ml), y se realizó el aislamiento del plásmido utilizando el kit Wizard Miniprep (Promega, Madison, WI). El plásmido VR-2001-TOPO (una variante del plásmido VRI 020 de Vical) contiene un gen resistente a la kanamicina, el promotor del citomegalovirus humano, el promotor del citomegalovirus humano y el péptido señal del activador plasminógeno tisular, antes del sitio de clonación TOPO TA. Se seleccionó la muestra que contenía la secuencia del codón de inicio al codón de parada en la orientación correcta y en el marco abierto de lectura correcto después de que la secuencia del nucleótido codificase el activador plasminógeno titular.

Los plásmidos se transformaron en la cadena de *E. coli* de TOP-10 (Invitrogen, Carlsbad, CA) conforme a las instrucciones del fabricante. Las bacterias transformadas se cultivaron en medio LB y el plásmido fue posteriormente purificado utilizando el kit de purificación de plásmidos comercializado por Megaprep (Qiagen, Valencia, CA). Cada plásmido se denominó en función del nombre del polipéptido. De este modo, pLJL34 es un plásmido que codifica LJL34, y pLJMI 1 es un plásmido que codifica el polipéptido LJMI 1, etc.

Población del estudio.

Los sueros utilizados en el estudio realizado con seres humanos se obtuvieron de un ensayo epidemiológico de la leishmaniasis visceral (VL) en niños menores de 7 años en una región endémica de Sao Luiz., Estado de Maranhao, al noreste de Brasil. Durante este estudio prospectivo, se analizaron la serología y DTH anti-Leishmania dos veces al año durante 1997 y 1998. Solamente los niños que no padecían VL, ni una serología o DTH positiva en el primer estudio fueron incluidos en el ensayo. Ninguno de los individuos del conjunto de datos padecía la enfermedad y todos tenían respuestas negativas al antígeno de la Leishmania durante el semestre precedente. La positividad en los ensayos anti-Leishmania documentados aquí demuestra una reciente conversión determinada por un ELISA sensible y específico (Barral et al., Am J Trop MedHyg 62:740-5, 200) y/o DTH (Barral et al., ibid). Para determinar el valor de corte para la IgG anti-*Lu. longipalpis* en los ensayos ELISA, se obtuvieron sueros de niños del mismo rango de edades procedentes de una región no endémica. Considerando que la reciente seroconversión representa infección y que una respuesta DTH positiva es un marcador de protección frente a la leishmaniasis en los casos subclínicos, clasificados a los niños en dos grupos en función de sus respuestas anti-Leishmania: Grupo I, serología positiva ($S^- \rightarrow S^+$) (n=15) y Grupo II, DTH positiva (DTET \rightarrow DTH $^+$) (n = 15).

15 **Serología contra saliva de mosca de la arena**

Se realizó un ELISA para determinar la serología contra saliva de la mosca de la arena como se ha descrito anteriormente (Barral et al., ibid). Las subclases de IgG sérica se determinaron utilizando conjugados de alcalinafosfatasa contra IgG1, IgG3, o IgG4 humana (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Para determinar los niveles de IgE, los sueros se absorbieron previamente utilizando el Factor Reumatoide. En el ELISA se empleó anti-IgE humana (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO).

Western blots

25 Se realizaron ensayos Western blot de los antígenos de las glándulas salivales como se ha descrito anteriormente (Barral et al., ibid).

Análisis estadístico. Estudios con seres humanos

30 Se utilizó el test no paramétrico de Wilcoxon para comparar los niveles de anticuerpos contra saliva de *Lu. longipalpis* en los mismos niños en el momento 0 (al comienzo del estudio) y después de 6 meses. El valor $P < 0,05$ se estableció como nivel de significación. Se utilizó el software Graph Pad Prism (San Diego, CA) para realizar análisis estadísticos.

35 **Ejemplo 2**

Análisis de la secuencia de proteínas previstas y ADN

40 Los datos del ADN obtenidos del proyecto de secuenciación masiva fueron analizados con un programa interno escrito en VisualBASIC (Microsoft). Este programa retiró las secuencias del vector y el cebador de la secuencia original. Las secuencias retiradas fueron comparadas con la base de datos de proteínas no redundantes NCBI utilizando el programa BlastX con la matriz BLOSUM-62 (Altschul et al., Nucleic Acids Research 25:3389, 1997). Las secuencias de ADN se agruparon realizando comparaciones dentro de la misma base de datos con un umbral preseleccionado, normalmente $1e^{-10}$ (programa BlastN) (Altschul et al., Nucleic Acids Research 25:3389, 1997). Las secuencias del mismo grupo se alinearon utilizando ClustalX (Jeanmougin et al., Trends Biochem. Sci. 23:403, 1998). Para encontrar las secuencias de ADN correspondientes a la secuencia de aminoácidos obtenida mediante degradación Edman de las proteínas transferidas a membranas de PVDF desde los geles de SDS-PAGE, se escribió un programa de búsqueda que comprobase esas secuencias de aminoácidos frente a las tres posibles transducciones de cada secuencia de ADNc obtenida en el proyecto de secuenciación masiva. El programa se escribió utilizando el mismo planteamiento que el empleado en los programas BLOCKS (Henikoff et al., Bioinformatics 15:471, 1999) o Prosite (Bairoch, Nucleic Acids Res. 19 (Suppl):2241,1991). Las transducciones de proteínas de los clones de longitud completa fueron procesadas adicionalmente para identificar los péptidos señal previstos, utilizando el programa Signal P (Nielsen et al., Protein Eng. 10:1, 1997), disponible online. Los sitios clivados con el péptido señal previsto se compararon con la secuencia N-terminal obtenida de la degradación Edman de las proteínas salivales del flebotomo. La estimación del punto isoeléctrico y del peso molecular de la proteína transducida se realizó utilizando el programa DNA STAR (DNASTAR). La información de la secuencia de proteína transducida de longitud completa se comparó con la base de datos de proteínas no redundantes de NCBI utilizando el programa BLAST-P (Altschul et al., Nucleic Acids Research 25:3389, 1997) y se buscaron los motivos enviando cada secuencia a la base de datos electrónica.

60 Para caracterizar la estructura primaria de las principales proteínas de SGH de *Lu. longipalpis*, se transfirieron geles de SDS-PAGE a membranas de PVDF y se calculó la secuencia amino-terminal de cada banda de corte mediante degradación de Edman.

65 Además, se calcularon los valores siguientes:

Tabla 1

Características de las proteínas					
Nombre del polipéptido	Posición o sitio de clivaje	Peso molecular (MW) de la proteína sin procesar	pl de la proteína sin procesar	Peso molecular de la proteína procesada	pl de la proteína procesada
LJL34	19	31	9,14	28,9	9,1
LJL18	19	18,7	6,42	16,4	6,1
LJS193	20	34,5	6,59	32,2	6,3
LJS201	23	11,2	4,89	8,7	4,8
LJL13	19	28,7	5	26,6	4,9
LJL23	21	37,4	9,15	35,1	9,1
L3M10	19	18,8	8,73	16,7	8,6
LJL143	23	35	8,4	32,5	8,3
LJS142	20	18,9	6,43	16,7	6,5
LJL17	20	123	4,36	102	4,4
LJM06	19	18,6	8,79	16,5	8,7
LJM17	18	47,3	5,92	45,2	5,7
LJL04	17	31,1	10,1	29,3	10
LJM114	24	17	7,58	14,3	5,6
LJM111	18	45,2	4,9	43	4,9
LJM78	20	39,4	7,54	373	7,7
LJS238	20	6,9	7,92	4,8	6,7
US169	22	14,1	4,64	11,6	4,5
LJL11	24	63,4	6,49	60,8	6,7
UL08	23	9,5	8,76	7	8,8
US 105	19	9,5	4,85	7,4	4,7
LJL09	18	73	5,65	71,1	5,6
OL3S	20	4,8	3,66	2,5	3,3
LJM04	20	162	8,91	13,9	9
LJM26	i7	50,7	5,77	48,8	5,8
LJS03	19	17,3	4,27	15,2	4,2
LJS192	23	12,1	4,29	9,7	4,2
LJM19	22	13,4	4,26	10,8	4,2
LJL138	19	45,9	9,42	43,8	9,5
LJL15	19	18,7	6,2	16,5	6,1
LJL91	19	18,5	5,82	16,4	5,8
LJM11	24	45,3	9,35	42,7	9,4
LJS138	20	18,5	5,88	16,2	5,5

Ejemplo 3

5 Anticuerpos contra saliva de *Lu. Longipalpis*

Ya se ha demostrado anteriormente que los sueros de niños que viven en una región endémica para VL tienen anticuerpos contra IgG de SGS que reconocen de forma diferenciada los antígenos de las glándulas salivales. Los individuos con una respuesta positiva en DTH anti-Leishmania presentaban anticuerpos contra saliva de *Lu. longipalpis*. Se observó una correlación positiva entre los anticuerpos contra saliva de *Lu. longipalpis* y DTH anti-Leishmania, aunque no se observó ninguna correlación entre los anticuerpos contra saliva y la serología anti-Leishmania (Barral et al., ibid).

Se estudió la variación en las respuestas anti-Leishmania mediadas por células y humorales en un seguimiento de seis meses de individuos en una región endémica para VL, así como la variación en las respuestas de anticuerpos contra saliva de *Lu. longipalpis* en los mismos individuos. Los individuos ($n = 15$) que pasaron a una DTH anti-Leishmania positiva incrementaron notablemente su IgG contra *Lu. longipalpis* (FIG. 1A; $P = 0,02$) y niveles de anticuerpo IgE (FIG. 1B, $P = 0,002$). IgG1 fue la principal subclase de anticuerpos implicada en el aumento de anticuerpos anti-saliva en el grupo que pasó a una DTH positiva anti-Leishmania ($n = 15$) (FIG. 1C); no se observaron cambios significativos en otras subclases de IgG. El valor de corte de IgG contra *Lu. longipalpis* en los ensayos ELISA fue de 0,045. Se observó una importante reducción de los niveles de anticuerpos IgG contra saliva ($P = 0,035$) en los sueros de los niños que experimentaron un cambio en su serología anti-Leishmania (Grupo I) (FIG. 1,4). No se observaron cambios significativos en la IgE anti-saliva del Grupo I (FIG. 15). A pesar de que los niveles de IgG anti-saliva de los niños del Grupo II se redujeron en el periodo de seis meses, se observó un importante aumento de la IgG4 anti-saliva en este grupo ($P = 0,0245$; FIG. 1D).

El número y el patrón de las proteínas salivales de *Lu. longipalpis* reconocidos por los sueros de individuos que pasaron de S⁻ → S⁺ o de DTH⁻ → DTH⁺ se evaluó mediante ensayo Western blot. De siete sueros seleccionados al azar pertenecientes a individuos que modificaron su serología anti-Leishmania, dos reconocían escasamente dos proteínas salivales diferentes de 33 kDa y 200 kDa, respectivamente (FIG. 2A, banda 4); los restantes sueros no reconocieron ninguna proteína salival en ningún punto temporal. Por lo contrario, de 13 sueros seleccionados al azar de individuos que pasaron de DTH⁻ → DTH⁺, 12 reconocieron una variedad de proteínas salivales con diversas intensidades. Las FIG. 2A y 2B muestran la diversidad de antígenos salivales reconocidos por estos sueros (bandas 7-14). Por otra parte, los sueros de seis individuos que pasaron de DTH⁻ → DTH⁺ demostraron un incremento del número y/o la intensidad en el reconocimiento de proteínas salivales al comparar los puntos temporales del momento 0 (-) y a los seis meses (+) (FIG. 2A, bandas 7(-) y 8(+), 11(-) y 12(+), 13(-) y 14(+); FIG. 2B, bandas 11(-) y 12(+), 13(-) y 14(+), y datos no mostrados). Algunos individuos del grupo que pasó de DTH⁻ → DTH⁺ no mostró ninguna variación entre los puntos temporales del momento 0 y a los 6 meses (FIG. 2A, bandas 9(-) y 10(+); FIG. 2B, bandas 7(-) y 8(+)) o no reconocieron ninguna proteína salival (FIG. 2B, bandas 9(-) y 10(+)).

Los sueros de los individuos que pasaron de DTH⁻ → DTH⁺ reconocieron un total de 16 proteínas salivales diferentes; sin embargo, la frecuencia del reconocimiento varía entre estos individuos (FIG. 2C). Una proteína salival de 45 kDa fue reconocida por 12 sueros, seguida de proteínas de 44 y 43 y 35 kDa reconocidas por 8 sueros (cada una), un proteína de 17 kDa por 6 sueros, y una proteína de 16 kDa por 5 sueros. Otras proteínas salivales fueron reconocidas también, aunque con menor frecuencia (3 sueros o menos, FIG. 2C).

De este modo, los niños del Grupo II, que convirtieron su DTH anti-Leishmania, también presentaron un aumento de los anticuerpos anti-saliva del flebótomo, tal y como ponen de manifiesto los ensayos ELISA y Western blot. Se ha demostrado una correlación entre los títulos de anticuerpos anti-saliva y la DTH anti-Leishmania (Barral et al., *ibid*); los resultados aquí presentados muestran que la evolución de la DTH contra el parásito coincide temporalmente con la evolución de los anticuerpos contra saliva de *Lu. longipalpis*. Sin pretender vincularse a una teoría, la neutralización de los componentes salivales de la mosca de la arena mediante anticuerpos o respuesta celular a las proteínas salivales permite generar una respuesta inmune más eficiente mediada por células contra la Leishmania, probablemente desarrollando una respuesta de Th1 contra el parásito. Los componentes de la saliva de este flebótomo, como el maxadilano, son capaces de obstaculizar la función de los macrófagos (Charlab et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 96:15155-60, 1999), que interfiere en la supervivencia de la Leishmania y en la presentación de antígeno (Soares et al., *J. Immunol.* 160: 1811-6, 1998). El aumento de los niveles de anticuerpos observado en los individuos que han pasado de DTH⁻ → DTH⁺ sugiere que el hecho de generar una respuesta inmune contra los componentes anti-saliva está vinculado a la evolución de la inmunidad mediada por células contra la Leishmania.

Los resultados revelados por el análisis Western blot demostraron que los individuos que modificaron su serología anti-Leishmania prácticamente no reconocieron ninguna proteína salival, mientras que los individuos que modificaron su DTH anti-Leishmania reconocieron varias proteínas salivales diferentes. La frecuencia de los antígenos salivales reconocidos por estos sueros revela un grupo de tan solo unas cuantas proteínas, incluyendo antígenos con una masa molecular aproximada de 45, 44, 43, 35, 27 y 16 kDa (FIG. 2C).

Entre estos antígenos, el reconocimiento de al menos dos proteínas salivales (45 kDa y 35 kDa) representa dos de las máximas frecuencias de reconocimiento por parte de los sueros humanos. Sorprendentemente, solamente dos sueros reconocieron una proteína en el rango de 6 kDa, el peso molecular del maxadilano (Titus y Ribeiro, *Parasitol Today* 6; 157-159, 1990), lo que sugiere que, en los seres humanos, el maxadilano puede no inducir una respuesta de anticuerpos sólida, aunque podría ser un fuerte inductor de la inmunidad celular.

Los individuos que convirtieron su inmunidad mediada por células anti-Leishmania demostraron un incremento de los niveles de IgG1 e IgE. La IgG1 ha sido relacionada con una respuesta humana de Th1. El aumento de los anticuerpos IgE sugiere el desarrollo de una hipersensibilidad inmediata, dado que la IgE se considera un marcador de las respuestas de tipo Th2. Sin pretender vincularse a una teoría, es probable que una respuesta combinada de tipo Th2 (relacionada con la hipersensibilidad inmediata) y de tipo Th1 (relacionada con la DTH) contra los componentes de la saliva coexista en los individuos que han convertido recientemente su DTH anti-Leishmania. De hecho, este tipo de respuesta mixta fue documentada en individuos expuestos a las picaduras del insecto, donde la respuesta inmune del huésped contra la saliva del insecto comienza por la respuesta de DTH y evoluciona hacia una hipersensibilidad de tipo inmediato predominante y finalmente hacia la desensibilización (Melanby, *Nature.* 158, 554-555.13, 1946).

Como se ha divulgado en el presente, en los ratones, la inmunización utilizando genes de la saliva de *Lu. longipalpis* se tradujo en una respuesta típica de anticuerpos y/o DTH a las proteínas salivales de *Lu. longipalpis* (véase más abajo), lo que sugiere que las picaduras de *Lu. longipalpis* podrían inducir respuestas de tipo Th1 y Th2 en los seres humanos. Cabe señalar que la proteína salival de *P. papatasi* (SP15) responsable de la respuesta de DTH en ratones es altamente homóloga a la proteína SL1 presente en la saliva de *Lu. longipalpis* (Charlab et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 96:15155— 60, 1999). Sin pretender vincularse a una teoría, los resultados presentados en el presente sugieren que una respuesta combinada anti-saliva tanto con componentes Th1 como Th2 puede ayudar a establecer una respuesta inmune anti-Leishmania.

Ejemplo 4**Vacunación de ADN en ratones**

5 Para la inmunización genética, se compraron ratones Swiss Webster a Taconi Farms. Los ratones se mantuvieron en el centro de cuidado de animales NIAED en condiciones libres de patógenos. Se inocularon en la oreja derecha de los ratones 30 µg del plásmido que codifica el ADNc seleccionado de *Lu. longipalpis* suspendidos en 5 µl de PBS. Cada grupo recibe una dosis de refuerzo dos semanas más tarde utilizando el mismo régimen. A los ratones se les inyectó en la oreja izquierda un homogenato de glándulas salivares de *Lu. longipalpis* para medir la respuesta de hipersensibilidad tardía (DTH) 24 horas después de la inyección, valorando el grosor y el enrojecimiento de la oreja (10 ++: al menos 2 ratones con una buena respuesta de DTH, +++ : al menos tres ratones con una buena respuesta de DTH).

Tabla 2

15

Respuesta de DTH en ratones	
ADNc de glándula salival de <i>Lutzomyia longipalpis</i>	Respuesta de DTH (grosor y enrojecimiento)
PLJS201	-
pLJM19	+++
pLJL91	-
pLJM06	-
PLJL15	+++
pLJMII	-
PLJM17	4-H-
pLJLII	-
PL3L08	++
pLJL18	++
PUS142	-
PLJL13	-
PLJL34	++
pLJMIII	+++
pLJL17	+++
pLJM04	-
pLJL23	++
* Respuesta de hipersensibilidad tardía (DTH) inducida mediante inyección de un homogenato de glándulas salivales en la oreja de los ratones (grupo de tres) previamente inmunizados con la vacuna de ADN salival. Los ratones fueron previamente sensibilizados con plásmidos de ADN específicos en dos ocasiones a intervalos de dos semanas y posteriormente se les inyectó el homogenato de glándulas salivales del flebótomo <i>Lutzomyia longipalpis</i> . La respuesta de DTH se midió (grosor y enrojecimiento de la oreja) 24 horas después de la inyección del homogenato de glándulas salivales. (+= al menos dos ratones tuvieron una buena respuesta de DTH, +++ al menos tres ratones tuvieron una buena respuesta de DTH).	

Ejemplo 5**Producción de una respuesta inmune en perros**

20

En un primer experimento, la reacción de DTH (hipersensibilidad tardía) se realiza en perros con una inmunidad natural frente a la leishmaniasis, con el fin de determinar qué proteínas salivales de *Lu. longipalpis* son reconocidas por una respuesta inmune de protección. Estos perros con inmunidad natural sobrevivieron sin síntomas después de dos años de exposición en una región endémica. En un segundo experimento, se inmuniza a perros que no habían recibido tratamiento previo con la proteína de las glándulas salivales de *Lu. longipalpis* expresada por un plásmido, con el fin de evaluar la capacidad de inducir una respuesta inmune celular medida por la DTH.

25

Doce perros de aproximadamente tres años de edad con inmunidad natural contra la Leishmaniasis reciben una inyección por vía intradérmica (ID) en el lomo, después de afeitar la zona, con 100 µg de cada plásmido individual suspendido en 100 µg de PBS. Cada plásmido se inyecta en un punto diferente. Estos puntos están separados por al menos 3 cm, con el fin de evitar interferencias entre las respuestas de DTH. El control negativo (100 µg de solución tampón) se inocula también por vía ID.

30

La respuesta de DTH se valora 72 horas después de la inyección, midiendo el aumento de diámetro de la zona de tumefacción de la piel. Los resultados se expresan como el valor medio de la zona de tumefacción para todos los perros y en forma de un porcentaje de los perros que presentan una respuesta de DTH positiva. Una DTH positiva es un diámetro de la zona de tumefacción mayor o igual a 4 mm a las 72 horas de la inyección.

35

En un segundo estudio, 10 perros sin tratamiento previo, de entre 4 y 6 meses de edad, son inmunizados mediante una inyección ID en 10 puntos (100 µl por punto) en la oreja derecha con un conjunto de los plásmidos que codifican un polipéptido de *Lu. longipalpis*, 100 µl para cada uno suspendidos en 100 µl de PBS. El día 21 los perros reciben una inyección en 10 puntos (100 µl por punto) de la oreja izquierda y en 10 puntos (100 µl por punto) del abdomen, con un conjunto de plásmidos, 100 µl para cada uno suspendidos en 2000 µl de PBS. Todos los perros son expuestos el día 35 a una inoculación por vía ID en el lomo (tras afeitar la zona) a 100 µl de cada plásmido individual suspendido en 100 µl de PBS. Cada plásmido se inyecta en un punto diferente. Los puntos están separados al menos por 3 cm para evitar interferencias. Como control negativo, se inoculan 100 µl de solución tampón por vía intradérmica. La respuesta a la DTH se valora 72 horas después de esta exposición, midiendo el aumento de diámetro de la zona de tumefacción de la piel. Los resultados se expresan como el valor medio de la zona de tumefacción para todos los perros y en forma de un porcentaje de los perros que presentan una respuesta de DTH positiva. Una DTH positiva es un diámetro de la zona de tumefacción mayor o igual a 4 mm a las 72 horas de la inyección.

Los resultados de este estudio demuestran que los plásmidos pueden inducir una inmunidad celular en los perros después de la inyección, una inmunidad celular puesta de manifiesto por una respuesta de DTH. La variación del nivel de respuesta de DTH puede darse por la variación de la expresión del elemento insertado.

Resultará evidente que los métodos y datos concretos descritos se pueden variar o modificar sin desviarse del contenido de la divulgación descrita. Reivindicamos todas las modificaciones y variaciones que se enmarcan en el ámbito de aplicación y el contenido de las reivindicaciones siguientes.

La invención incluye asimismo el asunto objeto de las reivindicaciones del documento WO2004/039958, del que se deriva la presente solicitud, y cuyo contenido se reproduce más adelante en forma de párrafos numerados.

Párrafo 1 Un polipéptido salival sustancialmente purificado de *Lu. longipalpis*.

Párrafo 2 El polipéptido del Párrafo 1, donde el polipéptido comprende

a) una secuencia de aminoácidos al menos un 80% idéntica a una secuencia de aminoácidos presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67

b) una variante conservadora de la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67;

c) Aun fragmento inmunogénico que comprende al menos ocho aminoácidos consecutivos de la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67, que se une específicamente a un anticuerpo que se une específicamente a la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67, respectivamente;

d) la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67, y donde la administración del polipéptido a un sujeto produce una respuesta inmunológica a *Lu. longipalpis*.

Párrafo 3. El polipéptido de *Lu. longipalpis* del Párrafo 2, donde el polipéptido comprende una secuencia de aminoácido como la presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67, o una variante conservadora del mismo.

- 5 Párrafo 4. El polipéptido de *Lu. longipalpis* del Párrafo 3, donde el polipéptido comprende una secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67.
- 10 Párrafo 5. Un fragmento antigénico del polipéptido del Párrafo 4.
- 15 Párrafo 6. El polipéptido del Párrafo 1, donde el polipéptido comprende una secuencia de aminoácido al menos un 80% idéntico a la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67.
- 20 Párrafo 7. Un ácido nucleico aislado que codifica el polipéptido del Párrafo 1.
- 25 Párrafo 8. El ácido nucleico del Párrafo 7, donde el ácido nucleico comprende una secuencia como la presentada como SEC. ID. N°: 4, SEC. ID. N°: 6, SEC. ID. N°: 8, SEC. ID. N°: 10, SEC. ID. N°: 14, SEC. ID. N°: 16, SEC. ID. N°: 18, SEC. ID. N°: 20, SEC. ID. N°: 22, SEC. ID. N°: 26, SEC. ID. N°: 28, SEC. ID. N°: 30, SEC. ID. N°: 32, SEC. ID. N°: 34, SEC. ID. N°: 36, SEC. ID. N°: 42, SEC. ID. N°: 44, SEC. ID. N°: 46, SEC. ID. N°: 48, SEC. ID. N°: 50, SEC. ID. N°: 52, SEC. ID. N°: 54, SEC. ID. N°: 56, SEC. ID. N°: 58, SEC. ID. N°: 62, SEC. ID. N°: 64, SEC. ID. N°: 66 o SEC. ID. N°: 68, o una variante degenerada de la misma.
- 30 Párrafo 9. El ácido nucleico del Párrafo 7, donde el ácido nucleico comprende una secuencia como la presentada como SEC. ID. N°: 4, SEC. ID. N°: 6, SEC. ID. N°: 8, SEC. ID. N°: 10, SEC. ID. N°: 14, SEC. ID. N°: 16, SEC. ID. N°: 18, SEC. ID. N°: 20, SEC. ID. N°: 22, SEC. ID. N°: 26, SEC. ID. N°: 28, SEC. ID. N°: 30, SEC. ID. N°: 32, SEC. ID. N°: 34, SEC. ID. N°: 36, SEC. ID. N°: 42, SEC. ID. N°: 44, SEC. ID. N°: 46, SEC. ID. N°: 48, SEC. ID. N°: 50, SEC. ID. N°: 52, SEC. ID. N°: 54, SEC. ID. N°: 56, SEC. ID. N°: 58, SEC. ID. N°: 62, SEC. ID. N°: 64, SEC. ID. N°: 66 o SEC. ID. N°: 68.
- 35 Párrafo 10. El ácido nucleico del Párrafo 7, donde el ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácido al menos un 80% idéntica a la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 4, SEC. ID. N°: 6, SEC. ID. N°: 8, SEC. ID. N°: 10, SEC. ID. N°: 14, SEC. ID. N°: 16, SEC. ID. N°: 18, SEC. ID. N°: 20, SEC. ID. N°: 22, SEC. ID. N°: 26, SEC. ID. N°: 28, SEC. ID. N°: 30, SEC. ID. N°: 32, SEC. ID. N°: 34, SEC. ID. N°: 36, SEC. ID. N°: 42, SEC. ID. N°: 44, SEC. ID. N°: 46, SEC. ID. N°: 48, SEC. ID. N°: 50, SEC. ID. N°: 52, SEC. ID. N°: 54, SEC. ID. N°: 56, SEC. ID. N°: 58, SEC. ID. N°: 62, SEC. ID. N°: 64, SEC. ID. N°: 66 o SEC. ID. N°: 68.
- 40 Párrafo 11. El ácido nucleico del Párrafo 7, operativamente unido a una secuencia de control de la expresión.
- 45 Párrafo 12. El ácido nucleico del Párrafo 11, donde la secuencia de control de la expresión es un promotor.
- 50 Párrafo 13. El ácido nucleico del Párrafo 12, donde el promotor es un promotor inducible o constitutivo.
- 55 Párrafo 14. El ácido nucleico del Párrafo 13, donde el promotor es un promotor de citomegalovirus.
- 60 Párrafo 15. Un vector que comprende el ácido nucleico del Párrafo 7.
- 65 Párrafo 16. El vector del Párrafo 15, donde el vector es un plásmido.
- Párrafo 17. El vector del Párrafo 15, donde el vector es un vector viral.
- Párrafo 18. Una célula huésped transformada con el vector del Párrafo 15.
- Párrafo 19. Un anticuerpo que se une específicamente al polipéptido del Párrafo 1.
- Párrafo 20. El anticuerpo del Párrafo 19, donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
- Párrafo 21. El anticuerpo del Párrafo 20, que comprende una etiqueta detectable.
- Párrafo 22. El anticuerpo del Párrafo 21, donde la etiqueta es una etiqueta fluorescente, enzimática o radiactiva.
- Párrafo 23. Una composición farmacéutica que comprende el polipéptido del Párrafo 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Párrafo 24. Una composición farmacéutica que comprende el ácido nucleico del Párrafo 7 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Párrafo 25. Un método para inducir una respuesta inmune a un polipéptido de *Ln. longipalpis* en un sujeto, que consiste en:

administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de:

a) una secuencia de aminoácido al menos un 80% idéntica a una secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67;

b) una variante conservadora de la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67;

c) un fragmento inmunogénico que comprende al menos ocho aminoácidos consecutivos de la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65, o SEC. ID. N°: 67, que se une específicamente a un anticuerpo que se une específicamente a la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67, respectivamente; o

d) la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67; o

(e) un polinucleótido que codifica el polipéptido presentado en las letras a), b), c) o d), induciendo así la respuesta inmune al polipéptido de *Lu. longipalpis* en un sujeto.

Párrafo 26. El método del Párrafo 25, donde la respuesta inmune es una respuesta de linfocitos T.

Párrafo 27. El método del Párrafo 25, donde la respuesta inmune es una respuesta de linfocitos B.

Párrafo 28. El método del Párrafo 25, donde el sujeto es un sujeto veterinario no humano.

Párrafo 29. El método del Párrafo 25, donde el sujeto es un perro.

Párrafo 30. El método del Párrafo 25, donde el sujeto es un ser humano.

Párrafo 31. Un método para inhibir un síntoma de una infección por *Leishmania* o para prevenir una infección por *Leishmania* en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de:

a) una secuencia de aminoácido al menos un 80% idéntica a la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67;

b) una variante conservadora de la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13, SEC. ID. N°: 15, SEC. ID. N°: 17, SEC. ID. N°: 19, SEC. ID. N°: 21, SEC. ID. N°: 25, SEC. ID. N°: 27, SEC. ID. N°: 29, SEC. ID. N°: 31, SEC. ID. N°: 33, SEC. ID. N°: 35, SEC. ID. N°: 41, SEC. ID. N°: 43, SEC. ID. N°: 45, SEC. ID. N°: 47, SEC. ID. N°: 49, SEC. ID. N°: 51, SEC. ID. N°: 53, SEC. ID. N°: 55, SEC. ID. N°: 59, SEC. ID. N°: 61, SEC. ID. N°: 63, SEC. ID. N°: 65 o SEC. ID. N°: 67;

c) un fragmento inmunogénico que comprende al menos ocho aminoácidos consecutivos de la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 3, SEC. ID. N°: 5, SEC. ID. N°: 7, SEC. ID. N°: 9, SEC. ID. N°: 13,

5 SEC. ID. Nº: 15, SEC. ID. Nº: 17, SEC. ID. Nº: 19, SEC. ID. Nº: 21, SEC. ID. Nº: 25, SEC. ID. Nº: 27, SEC. ID. Nº: 29, SEC. ID. Nº: 31, SEC. ID. Nº: 33, SEC. ID. Nº: 35, SEC. ID. Nº: 41, SEC. ID. Nº: 43, SEC. ID. Nº: 45, SEC. ID. Nº: 47, SEC. ID. Nº: 49, SEC. ID. Nº: 51, SEC. ID. Nº: 53, SEC. ID. Nº: 55, SEC. ID. Nº: 59, SEC. ID. Nº: 61, SEC. ID. Nº: 63, SEC. ID. Nº: 65 o SEC. ID. Nº: 67, que se une específicamente a un anticuerpo que se une específicamente a la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. Nº: 3, SEC. ID. Nº: 5, SEC. ID. Nº: 7, SEC. ID. Nº: 9, SEC. ID. Nº: 13, SEC. ID. Nº: 15, SEC. ID. Nº: 17, SEC. ID. Nº: 19, SEC. ID. Nº: 21, SEC. ID. Nº: 25, SEC. ID. Nº: 27, SEC. ID. Nº: 29, SEC. ID. Nº: 31, SEC. ID. Nº: 33, SEC. ID. Nº: 35, SEC. ID. Nº: 41, SEC. ID. Nº: 43, SEC. ID. Nº: 45, SEC. ID. Nº: 47, SEC. ID. Nº: 49, SEC. ID. Nº: 51, SEC. ID. Nº: 53, SEC. ID. Nº: 55, SEC. ID. Nº: 59, SEC. ID. Nº: 61, SEC. ID. Nº: 63, SEC. ID. Nº: 65 o SEC. ID. Nº: 67, respectivamente; o
 10 d) la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. Nº: 3, SEC. ID. Nº: 5, SEC. ID. Nº: 7, SEC. ID. Nº: 9, SEC. ID. Nº: 13, SEC. ID. Nº: 15, SEC. ID. Nº: 17, SEC. ID. Nº: 19, SEC. ID. Nº: 21, SEC. ID. Nº: 25, SEC. ID. Nº: 27, SEC. ID. Nº: 29, SEC. ID. Nº: 31, SEC. ID. Nº: 33, SEC. ID. Nº: 35, SEC. ID. Nº: 41, SEC. ID. Nº: 43, SEC. ID. Nº: 45, SEC. ID. Nº: 47, SEC. ID. Nº: 49, SEC. ID. Nº: 51, SEC. ID. Nº: 53, SEC. ID. Nº: 55, SEC. ID. Nº: 59, SEC. ID. Nº: 61, SEC. ID. Nº: 63, SEC. ID. Nº: 65 o SEC. ID. Nº: 67; o
 15 (e) un polinucleótido que codifica el polipéptido presentado en las letras a), b), c) o d), inhibiendo así el síntoma de la infección por Leishmania o previniendo la infección por Leishmania .

20 Párrafo 32. Uso de una composición que comprende el polipéptido del Párrafo 1 o un ácido nucleico que codifica el polipéptido del Párrafo 1 para la fabricación de un medicamento.

Párrafo 33. Uso de la composición del Párrafo 32, conjuntamente con una composición que comprende un polipéptido de *P. ariasi* o *P. perniciosus* para la fabricación de un medicamento.

25 Párrafo 34. Un método para diagnosticar la infección por Leishmania en un sujeto, que consiste en:

poner en contacto un sustrato sólido que comprende al menos tres, seis o diez polipéptidos, donde cada uno de los polipéptidos comprende una secuencia de aminoácido como la presentada como SEC. ID. Nº: 3, SEC. ID. Nº: 5, SEC. ID. Nº: 7, SEC. ID. Nº: 9, SEC. ID. Nº: 13, SEC. ID. Nº: 15, SEC. ID. Nº: 17, SEC. ID. Nº: 19, SEC. ID. Nº: 21, SEC. ID. Nº: 25, SEC. ID. Nº: 27, SEC. ID. Nº: 29, SEC. ID. Nº: 31, SEC. ID. Nº: 33, SEC. ID. Nº: 35, SEC. ID. Nº: 41, SEC. ID. Nº: 43, SEC. ID. Nº: 45, SEC. ID. Nº: 47, SEC. ID. Nº: 49, SEC. ID. Nº: 51, SEC. ID. Nº: 53, SEC. ID. Nº: 55, SEC. ID. Nº: 59, SEC. ID. Nº: 61, SEC. ID. Nº: 63, SEC. ID. Nº: 65 o SEC. ID. Nº: 67, o un fragmento inmunogénico de la misma;

35 poner en contacto el sustrato sólido con una muestra obtenida del sujeto, y detectar la unión de un componente de la muestra al menos a un polipéptido en el sustrato sólido, donde la detección de la unión del componente al sustrato indica que el sujeto está infectado por Leishmania,

diagnosticando así la infección por Leishmania en el sujeto.

40 Párrafo 35. El método del párrafo 34, donde uno de los al menos tres polipéptidos comprende una secuencia de aminoácido como la presentada como SEC. ID. Nº: 1, donde otro de los al menos tres polipéptidos comprende una secuencia de aminoácido como la presentada como SEC. ID. Nº: 23, y donde otro más de los al menos tres polipéptidos comprende una secuencia de aminoácido como la presentada como SEC. ID. Nº: 39.

45 Párrafo 36. El método del Párrafo 34, donde el sustrato sólido comprende al menos seis polipéptidos, donde un primer polipéptido comprende una secuencia de aminoácido como la presentada como SEC. ID. Nº: 3, donde un segundo polipéptido comprende una secuencia de aminoácido como la presentada como SEC. ID. Nº: 11, donde un tercer polipéptido comprende una secuencia de aminoácido como la presentada como SEC. ID. Nº: 19, donde un cuarto polipéptido comprende una secuencia de aminoácido como la presentada como SEC. ID. Nº: 29, donde un quinto polipéptido comprende una secuencia de aminoácido como la presentada como SEC. ID. Nº: 55, y donde un sexto polipéptido comprende una secuencia de aminoácido como la presentada como SEC. ID. Nº: 59.

55 Párrafo 37. El método del Párrafo 34, donde el sustrato sólido comprende una perla, una partícula, una membrana o una placa de poliestireno.

Párrafo 38. El método del Párrafo 34, donde la detección consiste en poner en contacto el componente unido al sustrato sólido con un anticuerpo secundario etiquetado.

LISTADO DE SECUENCIAS

60 <110> EL GOBIERNO DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA REPRESENTADO POR EL SECRETARIO DEL DEPARTAMENTO DE SALUD Y SERVICIOS HUMANOS Valenzuela, Jesus G. Ribeiro, Jose M. c. Barral, Aldina, Netto, Manoel Brodskyn, Claudia Gomes, Regis

65 <120> POLIPÉPTIDOS DE LUTZOMYIA LONGIPALPIS Y MÉTODOS DE USO

<130> 4239-67028

<150> US 60/422,303

<151> 29-10-2002

5

<160> 73

<170> Versión de la patente 3 . 2

10

<210> 1

<211> 271

<212> PRT

<213> Lutzomyia longipalpis

15

<400> 1

```

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

Val Asn Ala Gln Ser Asn Tyr Cys Lys Gln Glu Ser Cys Ser Ser Gly
          20           25           30

Gly Val Glu Arg Pro His Ile Gly Cys Lys Asn Ser Gly Asp Phe Ser
          35           40           45

Glu Thr Cys Ser Gly Asp Ala Glu Ile Val Lys Met Asp Lys Lys Lys
          50           55           60

Gln Asn Leu Leu Val Lys Met His Asn Arg Leu Arg Asp Arg Phe Ala
 65           70           75           80

Arg Gly Ala Val Pro Gly Phe Ala Pro Ala Ala Lys Met Pro Met Leu
          85           90           95

Lys Trp Asn Asp Glu Leu Ala Lys Leu Ala Glu Tyr Asn Val Arg Thr
          100          105          110

Cys Lys Phe Ala His Asp Lys Cys Arg Ala Ile Asp Val Cys Pro Tyr
          115          120          125

Ala Gly Gln Asn Leu Ala Gln Met Met Ser Tyr Pro Thr His Arg Asp
          130          135          140

Leu Asn Tyr Val Leu Lys Asn Leu Thr Arg Glu Trp Phe Trp Glu Tyr
 145          150          155          160
    
```

ES 2 447 843 T3

Arg Trp Ala Lys Gln Ser Gln Leu Asp Asn Tyr Val Gly Gly Pro Gly
 165 170 175

Lys Asp Asn Lys Gln Ile Gly His Phe Thr Ala Phe Val His Glu Lys
 180 185 190

Thr Asp Lys Val Gly Cys Ala Ile Ala Arg Phe Thr Asn Glu His Asn
 195 200 205

Phe Lys Glu Thr Leu Leu Ala Cys Asn Tyr Cys Tyr Thr Asn Met Met
 210 215 220

Lys Glu Arg Ile Tyr Thr Gln Gly Lys Pro Cys Ser Gln Cys Gln Ser
 225 230 235 240

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

Val Asp Pro Thr Pro Asp Val Leu Lys Gln Trp Lys His Gly Lys
 260 265 270

<210> 2
 <211> 905
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis

5

<400> 2

agttgtggag cttttggtca ttttacgtga tgttgcaaat taaacatctt ctgatttttg 60

tgggattgct cgtggttgtt aatgcacaga gcaattactg caaacaggaa tcgtgctcat 120

cgggaggtgt tgagagacc catattgggt gcaaaaactc tggagatttt tccgaaactt 180

gctccggaga tgcagaaatt gttaagatgg acaagaagaa gcagaacctc cttgtgaaaa 240

tgcacaatcg cctgagagat agatttgctc gtggtgcagt gccaggtttt gcaccagctg 300

cgaaaatgcc aatgcttaaa tggaacgatg aactggccaa attggcagag tacaacgtga 360

gaacgtgcaa atttgccac gataaatgcc gcgcaattga tgtctgcccc tatgctggac 420

agaatctagc tcaaatgatg tcctatccta cccatcgaga tctaaactat gttcttaaga 480

atctcacaag ggaatggttc tgggagtaca gatgggctaa gcaatctcag cttgataatt 540

acgtgggtgg tcctgggaaa gacaacaac aaattggaca tttcacagct tttgtgcatg 600

agaaaacaga caaagttgga tgcgctatag ctcgatttac aaatgagcac aattttaagg 660

agaccctcct agcttgcaac tactgctaca cgaatatgat gaaggagagg atctacacgc 720

agggaaaacc ttgttcacag tgtcagagca aaaagtgtgg gccagtctac aagaacctgt 780

gtgatccttc ggagaagggt gatccaactc ctgatgtcct taagcaatgg aagcatggaa 840

aatgattatt aagctcactt caaatgtttc caatccaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900

aaaaa 905

<210> 3
 <211> 159

10

ES 2 447 843 T3

<212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 3

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

Cys Asn Ala Glu Glu Glu Leu Ile Glu Arg Lys Leu Thr Gly Lys Thr
 20 25 30

Ile Tyr Ile Ser Thr Ile Lys Leu Pro Trp Phe Gln Ala Leu Asn His
 35 40 45

Cys Val Lys Asn Gly Tyr Thr Met Val Ser Ile Lys Thr Phe Glu Glu
 50 55 60

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

Thr Gln Val Trp Ile Gly Gly Leu Lys His His Gln Phe Ala Asn Phe
 85 90 95

Arg Trp Val Ser Asp Gly Ser His Val Ala Thr Ala Ser Gly Tyr Thr
 100 105 110

Asn Trp Ala Pro Gly Glu Pro Ala Asp Ser Phe Tyr Tyr Asp Gln Phe
 115 120 125

Cys Met Ala Met Leu Phe Arg Lys Asp Gly Ala Pro Trp Asp Asp Leu
 130 135 140

Asn Cys Trp Val Lys Asn Leu Phe Val Cys Glu Lys Arg Asp Asp
 145 150 155

<210> 4
 <211> 617
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 4

ttttgagaaa aacatttcct tgtgagttaa atagttggta aattaaatca agagaatggt 60
 gcttcgttcc ttgtttgttc tttttctaata tttcttaaca ttctgcaacg ctgaggaaga 120
 acttattgag agaaagttaa caggaaaaac gatctatatac tcaacaataa agcttccgtg 180
 gttccaagct cttaatcatt gtgttaaaaa tggctacaca atgggtgtcaa ttaagacatt 240
 tgaagagaat aaagaactcc ttaaagaact caaaagggtg attaggacag aagatacaca 300
 agtttggatt ggaggcctca aacatcatca atttgcaaac tttcgttggg taagcgatgg 360
 aagccacgta gcaacagctt cagggtacac caattgggcc ccaggggagc cagctgattc 420

ES 2 447 843 T3

cttctattac gatcaatfff gcatggcgcg gttgttcaga aaagacggcg ctccgtggga 480
 tgatttgaat tgttgggtta agaatctfff tgtttgtgag aaacgagatg attgagaggc 540
 tatttttgtt atctcaccgt tttgttgaat aaaaaagaag aagaaagaca aaaaaaaaaa 600
 aaaaaaaaaa aaaaaaa 617

<210> 5
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

5

<400> 5

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

Thr Ser Asn Gly Ala Leu Thr Gly Asn Glu Ser Ala Ala Asn Ala Ala
 20 25 30

Pro Leu Pro Val Val Leu Trp His Gly Met Gly Asp Ser Cys Cys Phe
 35 40 45

Pro Phe Ser Leu Gly Ser Ile Lys Lys Leu Ile Glu Gln Gln Ile Pro
 50 55 60

Gly Ile His Val Val Ser Leu Lys Ile Gly Lys Ser Leu Ile Glu Asp
 65 70 75 80

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

Cys Glu Ser Leu Gln Asn Asp Leu Thr Leu Ala Asn Gly Phe Asn Ala
 100 105 110

Ile Gly Phe Ser Gln Gly Ser Gln Phe Leu Arg Gly Leu Val Gln Arg
 115 120 125

Cys Ser Ser Ile Gln Val Arg Asn Leu Ile Ser Ile Gly Gly Gln His
 130 135 140

Gln Gly Val Phe Gly Leu Pro Tyr Cys Pro Ser Leu Ser Arg Lys Thr
 145 150 155 160

Cys Glu Tyr Phe Arg Lys Leu Leu Asn Tyr Ala Ala Tyr Glu Lys Trp
 165 170 175

Val Gln Lys Leu Leu Val Gln Ala Thr Tyr Trp His Asp Pro Leu Asn
 180 185 190

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

ES 2 447 843 T3

Glu Arg Gln Ile Asn Asn Asp Tyr Ile Asn Asn Ile Arg Lys Leu Asn
210 215 220

Arg Phe Val Met Val Lys Phe Leu Asn Asp Ser Met Val Gln Pro Ile
225 230 235 240

Glu Ser Ser Phe Phe Gly Phe Tyr Ala Pro Gly Thr Asp Thr Glu Val
245 250 255

Leu Pro Leu Lys Gln Ser Lys Ile Tyr Leu Glu Asp Arg Leu Gly Leu
260 265 270

Gln Ser Val Pro Ile Asp Tyr Leu Glu Cys Gly Gly Asp His Leu Gln
275 280 285

Phe Thr Lys Glu Trp Phe Ile Lys Phe Ile Ile Pro Tyr Leu Lys Gln
290 295 300

<210>6

<211> 1273

5 <212> ADN

<213> Lutzomyia longipalpis

<400> 6

ES 2 447 843 T3

tacttcgtac tctcagaatt tcttacaagt tcctttttct cttactttt aaagttttat	60
ttaacaaaat tgctccattt tttcgttttc tgaatattct gttgaaattt tgattaatct	120
atthttatgtg cagttttttac taaaaatccc ttatcagcaa cccggtgtct acagttttgt	180
cacgctcagt agcatcttca aggtggttaag aaaaaatgaa actcctgcaa atcatcttct	240
ctctcttctt ggtctttttc ccgacctcaa atggggccct gaccggaat gaaagtgcag	300
caaatgcagc tcccttgcct gtcgtcctgt ggcacgggat gggcgattct tgctgctttc	360
ccttcagttt gggaagcata aaaaaattaa ttgaacaaca aattcctggg attcatgttg	420
ttagcctgaa aattggaag tctctcattg aggactatga aagtggattt tttgttcatc	480
cagacaagca aattcaggaa gtttgtgagt cacttcagaa cgatctaaca ctcgcaaag	540
gattcaatgc aattggattt tctcagggtg gtcagttcct gcgagggtct gtgcaacgat	600
gttcttctat acaagtaagg aatctcattt ccattggagg acagcatcaa ggggtttttg	660
gtctgcccta ttgtccttcg ttgagcagaa agacttgca atactttaga aagctcctga	720
attatgcagc ttatgaaaaa tgggtacaga aactcctagt tcaagccacc tactggcatg	780
atcctctaaa tgaggatgca tatcggactg gaagcacttt ccttgctgat ataaataatg	840
agagacaaat caataatgac tatattaata atattcggaa gctaaatcgt tttgtgatgg	900
taaagttcct caacgacagc atggttcagc caattgaatc tagtttcttt ggattctacg	960
ctccaggaac tgatacagaa gttctcccat taaaacaaag caagatttat ttggaagatc	1020
gtttgggact tcaatcagta ccgatagatt atctagaatg cggaggagat catttgcaat	1080
ttacaaaaga atggttcata aagtttatca taccctatct gaagcaataa gagctgcaat	1140
gtaattgatt aaaaaatggt aaccatttca ggatgattgg gtgaccctt aaaaatataa	1200
atgaaaaaat atacaaaaga aataaatttt tatattgatc ccacaaaaa aaaaaaaaaa	1260
aaaaaaaaa aaa	1273

- <210> 7
- 5 <211> 102
- <212> PRT
- <213> Lutzomyia longipalpis
- <400> 7

ES 2 447 843 T3

Met Arg Asn Phe Ala Val Val Ser Leu Ala Val Ala Val Leu Leu Phe
 1 5 10 15

Cys Ala Trp Pro Ile Asn Ala Glu Asp Asn Glu Glu Val Gly Lys Ala
 20 25 30

Arg Glu Lys Arg Gly Leu Lys Asp Ala Met Glu His Phe Lys Asn Gly
 35 40 45

Phe Lys Glu Leu Thr Lys Asp Phe Lys Leu Pro Ser Leu Pro Ser Leu
 50 55 60

Pro Gly Phe Gly Lys Lys Pro Glu Ser Gly Ser Ser Glu Asp Ser Gly
 65 70 75 80

Asp Lys Thr Glu Asp Thr Ser Gly Ser Lys Asp Asp Gln Ser Lys Asp
 85 90 95

Asn Thr Val Glu Glu Ser
 100

<210> 8

<211> 466

<212> ADN

5 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 8

ggatcggcca ttatggccgg ggcagttaat cgccacaatt taataaaatg aggaactttg 60
 ctgtagtcag tttagccggt gctgtcctgc tcttctgtgc atggcctata aatgcggaag 120
 ataatgaaga agttggaag gcgagagaaa aaagaggctt aaaagacgca atggaacact 180
 tcaaaaatgg atttaaggag ctgacaaagg actttaaact tccaagcctt ccaagtcttc 240
 ctggatttgg taaaaagcct gaatctggaa gttctgaaga ttctggagat aaaactgagg 300
 ataccagtgg atctaaggac gaccaatcaa aggataatac ggtcgaagaa tcttaagaaa 360
 ggcgcaaata gctattttca aagtggcgaa tgtttctttc tttatctgaa ataaatattt 420
 ttaaaccctt cgaaaccaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 466

10 <210> 9

<211> 247

<212> PRT

<213> Lutzomyia longipalpis

15 <400> 9

ES 2 447 843 T3

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

Gly Tyr Ser Trp Gln Asp Val Arg Asn Ala Asp Gln Thr Leu Trp Ala
 20 25 30

Tyr Arg Ser Cys Gln Lys Asn Pro Glu Asp Lys Asp His Val Pro Gln
 35 40 45

Trp Arg Lys Phe Glu Leu Pro Asp Asp Glu Lys Thr His Cys Tyr Val
 50 55 60

Lys Cys Val Trp Thr Arg Leu Gly Ala Tyr Asn Glu Asn Glu Asn Val
 65 70 75 80

Phe Lys Ile Asp Val Ile Thr Lys Gln Phe Asn Glu Arg Gly Leu Glu
 85 90 95

Val Pro Ala Gly Leu Asp Gln Glu Leu Gly Gly Ser Thr Asp Gly Thr
 100 105 110

Cys Lys Ala Val Tyr Asp Lys Ser Met Lys Phe Phe Lys Ser His Phe
 115 120 125

Met Asp Phe Arg Asn Ala Tyr Tyr Ala Thr Tyr Asp Gly Ser Asp Glu
 130 135 140

Trp Phe Ser Lys Asn Pro Asp Val Lys Pro Lys Gly Thr Lys Val Ser
 145 150 155 160

Glu Tyr Cys Lys Asn Lys Asp Asp Gly Asp Cys Lys His Ser Cys Ser
 165 170 175

Met Tyr Tyr Tyr Arg Leu Ile Asp Glu Asp Asn Leu Val Ile Pro Phe
 180 185 190

Ser Asn Leu Pro Asp Tyr Pro Glu Asp Lys Leu Glu Glu Cys Arg Asn
 195 200 205

Glu Ala Lys Ser Ala Asn Glu Cys Lys Ser Ser Val Ile Tyr Gln Cys
 210 215 220

Leu Glu Asn Ala Asp Lys Ser Ala Leu Asp Ala Ser Leu Asn Ile Leu
 225 230 235 240

Asp Glu Phe Ser Gly Arg Tyr
 245

<210> 10

<211> 955

<212> ADN

5 <213> Lutzomyia longipalpis

ES 2 447 843 T3

<400> 10

```

acttaaagat ttttgtttaa gcaaaatgaa cttcttggtg aaaatcttct ctttgctctg      60
tctctgtgga ctgggttatt catggcagga tgtgagaaat gccgatcaaa ccctctgggc      120
gtatagatcg tgccaaaaga atcctgaaga taaggatcac gtacctcaat ggaggaagtt      180
cgaattaccg gacgatgaaa agactcattg ctacgtcaag tgcgtatgga cgcgtttggg      240
agcttacaat gaaaatgaaa atgttttcaa aattgatgtc attactaagc aatttaatga      300
acgtggccta gaagttccgg ctggacttga tcaagaattg ggtggttcta cagatggaac      360
ttgcaaagca gtttacgata aatccatgaa gttcttcaaa tctcatttta tggactttag      420
gaatgcttac tacgcaactt atgacggttc tgatgaatgg tttagcaaga accctgatgt      480
aaaaccgaaa ggaacaaaag tttccgaata ctgcaaaaat aaagatgatg gagattgcaa      540
acattcctgc agtatgtact actaccgctt aatcgatgaa gacaacttag ttattccggt      600
cagcaactta cctgactatc ccgaagataa gctcgaggaa tgcaggaatg aagccaagtc      660
cgcaaatgag tgcaaatcat ctgttatcta tcagtgtttg gaaaatgcbg ataagtcagc      720
tttagacgcb tctttgaata tactcgatga gttttctgga agatattaaa acaactgga      780
taaaaaactt aggccaacct atgattcgaa cttacgattt tgaacttgaa attcattgtc      840
tttaacctat tgtcccacta ggaagaaaaa tccatatttg gtgatgttaa actatttttg      900
aacctcttca aaataaacia ttttcaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa      955

```

5 <210> 11
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> *Lutzomyia longipalpis*

10 <400> 11

```

Met Phe Leu Lys Trp Val Val Cys Ala Phe Ala Thr Val Phe Leu Val
 1           5           10           15

Gly Val Ser Gln Ala Ala Pro Pro Gly Val Glu Trp Tyr His Phe Gly
          20           25           30

Leu Ile Ala Asp Met Asp Lys Lys Ser Ile Ala Ser Asp Lys Thr Thr
          35           40           45

Phe Asn Ser Val Leu Lys Ile Asp Glu Leu Arg His Asn Thr Lys Thr
          50           55           60

Asp Gln Tyr Ile Tyr Val Arg Ser Arg Val Lys Lys Pro Val Ser Thr
65           70           75           80

Arg Tyr Gly Phe Lys Gly Arg Gly Ala Glu Leu Ser Glu Ile Val Val
          85           90           95

```

ES 2 447 843 T3

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

<210> 12

<211> 1071

5 <212> ADN

<213> Lutzomyia longipalpis

<400> 12

ES 2 447 843 T3

aaagagaagt agtgagaatg tttcttaagt gggttgtttg tgcttttgcg actgtcttcc 60
 ttgttggggg gagtcaggca gccccaccgg gggttgaatg gtatcacttt ggtctgattg 120
 ctgatatgga caaaaaatcc atcgcgagtg acaaaaccac ctttaacagc gtcctaaaga 180
 tcgatgaatt gcgccacaac acaaaaacgg atcaatacat ttatgtgcgt agtcgagtga 240
 agaagcccgt ttccacgagg tatgggttca aaggacgcgg tgcggaattg tcggaaattg 300
 ttgtcttcaa caataaactt tacacagttg atgataaatc tggaattacg ttccgcataa 360
 cgaaagacgg aaaactcttc ccgtgggtta ttctcgcaga tgccgatgga cagcgacccg 420
 atggcttttaa ggggtgaatgg gctacaatta aggatgatac aatctatggt ggatctacgg 480
 ggatgctcaa gttcacttca tccctttggg tgaagaagat cacgaaagat ggcgttgta 540
 cgagtcacga ttggactgat aaataccgaa agattctcaa agctctaaac atgccaaatg 600
 gttttgtctg gcatgaggct gttacgtggt ctccattcag gaagcaatgg gtcttcatgc 660
 cgagaaagtg ctcaaggcat cccttctcac aggaactcga agaacgcaca gggtgcaata 720
 aaatagtgac ggcagatgag aatttcaacg acattcaagt tattcacatt caagatcagc 780
 catataattt agcttctggt ttctcttctt tccgctttat tcttggtacg aaaaatgaaa 840
 gacttctcgc cttgaggaca gtagagcagg aagatcaggt taaaacttgg gctgtgggtca 900
 tggatatgaa aggaacagtt ctgatgtacg aaaaggaact ttatgacgaa aaattcgaag 960
 gtttagcatt ctttggtggt attaaaaaga attaatgtgt tccagaagct tttagatgaa 1020
 ataataaatt ttatttcatt ttaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 1071

<210> 13
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

5

<400> 13

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

10

ES 2 447 843 T3

Lys Tyr Phe Arg Trp Ile Asn Asp Gly Thr Lys Val Val Lys Arg Val
 100 105 110

Tyr Thr Asn Trp Phe Thr Gly Glu Pro Asn Asn Gly Tyr Trp Lys Asp
 115 120 125

Glu Phe Cys Leu Glu Ile Tyr Tyr Lys Thr Glu Glu Gly Lys Trp Asn
 130 135 140

Asp Asp Lys Cys His Val Lys His His Phe Val Cys Gln Glu Lys Lys
 145 150 155 160

<210> 14
 <211> 648
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis

5

<400> 14

cgcgggccgcg tcgaccgaca gaaggggtag tttgtagaga actttgagtt ctaaaggaaa 60
 ttctcaagaa gaaaatattc aaaagtaaag aatggcgttg aagtttcttc cggttctcct 120
 tctaagctgc ttcgcaatga gcacggcact acaagttact gagaaggaac tttctgatgg 180
 gaaaaagatc ttcattctcca aagttgagct aaactggttc gaagctcttg atttctgtat 240
 ccatcgtggt cttacgttgc tctcaattaa atccgccaag gaaaatgtag acgtaacaaa 300
 agcaattcgg gctgaattga attttgattc aaagaaattg gctcatgtgt ggactggagg 360
 tattcgccat agtcaagata agtatttccg ttggataaat gatggaacta aagttgttaa 420
 acgagtctac accaattggt tcaactggaga accaaataat ggttactgga aggatgaatt 480
 ttgtctggaa atttactata aaaccgaaga agggaagtgg aatgatgata aatgtcacgt 540
 gaagcatcat tttgtatgtc aagaaaagaa ataaattgat tgattttggt tgctgatttg 600
 cagttcagaa ttgaaaagcc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 648

10

<210> 15
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

15

<400> 15

Met Asn Ser Ile Asn Phe Leu Ser Ile Val Gly Leu Ile Ser Phe Gly
 1 5 10 15

Phe Ile Val Ala Val Lys Cys Asp Gly Asp Glu Tyr Phe Ile Gly Lys
 20 25 30

Tyr Lys Glu Lys Asp Glu Thr Leu Phe Phe Ala Ser Tyr Gly Leu Lys
 35 40 45

Arg Asp Pro Cys Gln Ile Val Leu Gly Tyr Lys Cys Ser Asn Asn Gln
 50 55 60

ES 2 447 843 T3

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

<210> 16
 <211> 1021
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis

5

<400> 16

ES 2 447 843 T3

cttctttgga tttattgagt gattaacagg aaattagctg aagaaatgaa ttcgattaat	60
ttcctatcaa tagttggttt aatcagtttt ggattcatig ttgcagtaaa gtgtgatggt	120
gatgaatatt tcattggaaa atacaaagaa aaagatgaga cactgttttt tgcaagctac	180
ggcctaaaga gggatccttg ccaaattgtc ttaggctaca aatgctcaaa caatcaaacc	240
cactttgtgc ttaattttaa aaccaataag aaatcctgca tatcagcaat taagctgact	300
tcttacccaa aaatcaatca aaactcggat ttaactaaaa atctctactg ccaaactgga	360
ggaataggaa cagataactg caaacttgtc ttcaagaaac gtaaaagaca aatagcagct	420
aatattgaaa tctacggcat tccagcgaag aaatgttcct tcaaggatcg ttacattgga	480
gctgatccac tccacgtcga ttcctatggg cttccgtatc agtttgatca ggaacatgga	540
tggaatgtgg aacgatataa cttttcaaa gacacaagat tttccacaga agttttctac	600
cacaaaaatg gtttatttaa cacccaaata acttatttgg ctgaagaaga ttccttctct	660
gaagctcgag agattactgc gaaggatatt aagaagaagt tttcaattat tttgcccaat	720
gaagagtata agaggattag tttcttggac gtttattggt tccaggagac tatgcgaaaa	780
aagcctaaat atccctacat tcaactacaat ggagaatgca gcaatgagaa taaaacttgt	840
gaacttgtct ttgacaccga tgaactaatg acctacgcc ttgttaaagt ctttactaat	900
cctgagagtg atggatctag gctcaaagaa gaggatttgg gaagaggata aatcttctta	960
ataaaaaaaaa gttctgtaag aaaatattgt tcaataaatt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1020
a	1021

<210> 17

<211> 161

5 <212> PRT

<213> *Lutzomyia longipalpis*

<400> 17

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

Lys

<210> 18

<211> 586

<212> ADN

<213> Lutzomyia longipalpis

<400> 18

5

ES 2 447 843 T3

aatagatcct caaaacgtct aagaatggct ttcagcaaca ctttatttgt tctttttgtg 60
 agtttttttaa cgttttgtgg cgctgatcag acacttattg agaaggaatt aaccggaaga 120
 actgttttata tctccaaaat taagctaaat tggaacgatg ctttcgatta ctgcatccgc 180
 aatggcctca cctttgctaa gattaaatca gctgaagaaa acaccgaact gagtgagaaa 240
 ctcaagacag tcattcgtac ggaggagttt caagtttggga ttggaggcat tgaacatcat 300
 caagacagtt ccttccgctg ggtaagcgac tccaaccaa taaccaacaa attgggctac 360
 aaatacacia actggaatac cggagagccc acaaattacc aaaacaacga atattgcttg 420
 gaaatattat tccggaagga agatggaaaa tggaatgatt ttccctgcag tgcaagacat 480
 cattttgttt gtgaaaaaag aacaaaataa aatgaagaaa atgtgatttt cctttggttg 540
 aagaataaaa ttctgttgaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 586

<210> 19

<211> 105

<212> PRT

5 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 19

Met Gln Asn Phe Leu Leu Val Ser Leu Ala Leu Ala Ala Leu Met Leu
 1 5 10 15

Cys Ala Glu Ala Lys Pro Tyr Asp Phe Pro Leu Tyr Gln Asp Leu Ile
 20 25 30

Gln Gly Val Ile Gln Arg Glu Ser Gln Ala Glu Arg Glu Lys Arg Ser
 35 40 45

Pro Asn Glu Asp Tyr Glu Lys Gln Phe Gly Asp Ile Val Asp Gln Ile
 50 55 60

Lys Glu Ile Ser Phe Asn Val Met Lys Met Pro His Phe Gly Ser Ser
 65 70 75 80

Asp Asp Asn Arg Asp Asp Gly Glu Tyr Val Asp His His Tyr Gly Asp
 85 90 95

Glu Asp Asp Arg Asp Tyr Asp His Tyr
 100 105

<210> 20

<211> 457

<212> ADN

10 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 20

ES 2 447 843 T3

athtagtttg tgtttaacaa aacaagaatg cagaacttcc ttttagtttc cttggcttta 60
 gctgccttaa tgctatgtgc cgaagcaaag ccgtacgatt ttccgcttta tcaggactta 120
 attcagggcg ttattcagcg cgaaagtcaa gctgagaggg agaagagaag ccccaatgag 180
 gactatgaga agcaatttgg ggatattggt gatcaaatta aggaaattag tttcaatgtc 240
 atgaaaatgc cccattttgg aagctctgat gataatcgtg atgatggcga gtacgttgat 300
 catcattatg gtgacgaaga tgatcgtgat tatgatcatt actaaatact acttgctcct 360
 gctgaatgac ttgaaggaat cttttttttg caaaaatc catcaaatta ttgaattaat 420
 aaagttgcaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 457

<210> 21

<211> 157

5 <212> PRT

<213> Lutzomyia longipalpis

<400> 21

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

Cys Asn Ala Glu Asp Tyr Asp Lys Val Lys Leu Thr Gly Arg Thr Val
 20 25 30

Tyr Ile Ser Arg Ser Lys Ala Pro Trp Phe Thr Ala Leu Asp Asn Cys
 35 40 45

Asn Arg Arg Phe Thr Phe Ala Met Ile Lys Ser Gln Lys Glu Asn Glu
 50 55 60

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

Val Trp Ile Gly Gly Leu Arg His Asp Leu Asp Asp Tyr Phe Arg Trp
 85 90 95

Ile Ser Phe Gly Thr Ala Leu Ser Lys Thr Ser Tyr Thr Asn Trp Ala
 100 105 110

Pro Lys Glu Pro Thr Gly Arg Pro His Arg Thr Gln Asn Asp Glu Phe
 115 120 125

Cys Met Gln Met Ser Phe Lys Asp Gly Gly Lys Trp Ser Asp Asn Thr
 130 135 140

Cys Trp Arg Lys Arg Leu Tyr Val Cys Glu Lys Arg Asp
 145 150 155

10

<210> 22

<211> 596

<212> ADN

<213> Lutzomyia longipalpis

15

ES 2 447 843 T3

<400> 22

```

gtttaaggaa tttctttcat ctcagctctc gattttcttt aaacaaataa tgaagtttta      60
tatttttggga gttttcctgg tgagctttct tgcattatgc aatgctgagg attatgataa      120
agtaaaactt actggaagaa ctgtttacat ctccagatca aaggctccgt ggttcacagc      180
tttagacaat tgtaatcgtt tacgcttcac cttcgccatg atcaagtctc agaaggagaa      240
tgaagagcta acaaatgcmc ttttaagtgt aattaaatct gacgaagaaa atgtttggat      300
tggaggtctt aggcacgatc tggatgacta cttccgttgg attagttttg gaactgcatt      360
gtcaaagact tcgtacacca attgggcccc aaaggaaccc acaggaaggc cccatagaac      420
tcaaaatgat gaattctgca tgcaaatgct tttcaaagat ggtggcaaat ggagtgataa      480
cacctgttgg cgtaaacgtt tgtacgtttg tgaaaagcgt gattaaataa aggaacactg      540
ccaatgaata ttgggcaatt tgagagaaat taaattaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa      596
    
```

5 <210> 23
 <211> 412
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

10 <400> 23

```

Met Arg Phe Phe Phe Val Phe Leu Ala Ile Val Leu Phe Gln Gly Ile
 1           5           10
His Gly Ala Tyr Val Glu Ile Gly Tyr Ser Leu Arg Asn Ile Thr Phe
           20           25           30
Asp Gly Leu Asp Thr Asp Asp Tyr Asn Pro Lys Phe Asn Ile Pro Thr
           35           40           45
Gly Leu Ala Val Asp Pro Glu Gly Tyr Arg Leu Phe Ile Ala Ile Pro
 50           55           60
Arg Arg Lys Pro Lys Val Pro Tyr Thr Val Ala Glu Leu Asn Met Val
65           70           75           80
    
```

ES 2 447 843 T3

Met Asn Pro Gly Phe Pro Val Glu Arg Ala Pro Ser Phe Glu Lys Phe
85 90 95

Lys Lys Phe Asn Gly Glu Gly Lys Lys Asp Leu Val Asn Val Tyr Gln
100 105 110

Pro Val Ile Asp Asp Cys Arg Arg Leu Trp Val Leu Asp Ile Gly Lys
115 120 125

Val Glu Tyr Thr Gly Gly Asp Ala Asp Gln Tyr Pro Lys Gly Lys Pro
130 135 140

Thr Leu Ile Ala Tyr Asp Leu Lys Lys Asp His Thr Pro Glu Ile His
145 150 155 160

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

Gly Phe Ala Val Asp Val Val Asn Thr Lys Gly Asp Cys Thr Glu Ser
180 185 190

Phe Val Tyr Leu Thr Asn Phe Lys Asp Asn Ser Leu Ile Val Tyr Asp
195 200 205

Glu Thr Gln Lys Lys Ala Trp Lys Phe Thr Asp Lys Thr Phe Glu Ala
210 215 220

Asp Lys Glu Ser Thr Phe Ser Tyr Ser Gly Glu Glu Gln Met Lys Tyr
225 230 235 240

Lys Val Gly Leu Phe Gly Ile Ala Leu Gly Asp Arg Asp Glu Met Gly
245 250 255

His Arg Pro Ala Cys Tyr Ile Ala Gly Ser Ser Thr Lys Val Tyr Ser
260 265 270

Val Asn Thr Lys Glu Leu Lys Thr Glu Asn Gly Gln Leu Asn Pro Gln
275 280 285

Leu His Gly Asp Arg Gly Lys Tyr Thr Asp Ala Ile Ala Leu Ala Tyr
290 295 300

Asp Pro Glu His Lys Val Leu Tyr Phe Ala Glu Ser Asp Ser Arg Gln
305 310 315 320

Val Ser Cys Trp Asn Val Asn Met Glu Leu Lys Pro Asp Asn Thr Asp
325 330 335

Val Ile Phe Ser Ser Ala Arg Phe Thr Phe Gly Thr Asp Ile Leu Val
340 345 350

ES 2 447 843 T3

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

Glu Asp Gln Glu Lys Ile Trp Lys Met Arg Phe Val Asn Arg Lys Ile
370 375 380

Arg Ile Met Lys Val Asp Thr Glu Arg Val Phe Lys Tyr Ser Arg Cys
385 390 395 400

Asn Pro Asn Tyr Lys Pro Pro Lys Glu Ile Glu Val
405 410

<210> 24

<211> 1409

5 <212> ADN

<213> *Lutzomyia longipalpis*

<400> 24

ES 2 447 843 T3

agtcagtgtt aatgaagaaa ttgcaattat gaggttcttc tttgttttcc ttgccatcgt 60
 cctttttcaa gggatccacg gagcttatgt ggaaatagga tattctctga gaaatattac 120
 attcgatgga ttggatacag atgactacaa tccaaagttc aacattccaa cgggtttggc 180
 agttgatccc gaaggatata ggctcttcat agccatccca aggagaaagc caaaggttcc 240
 ctacactgtg gctgaactga atatggtcac gaatcccgga tttcccgtcg agagagctcc 300
 gagctttgag aaattcaaaa aattcaatgg cgagggcaaa aaggatcttg ttaatgtgta 360
 tcagccagtc attgatgatt gtcgtcgtct ttgggtgctt gacattggga aggtggaata 420
 caccggtggt gatgctgac aatatcccaa aggaaagcct accctaattg cctacgacct 480
 caagaaggat catactccgg aaattcatcg atttgaaatt ccagacgac tctatagctc 540
 acaagttgaa tttggtggat ttgccgttga tgttgtaaac acgaaaggag actgtacgga 600
 gtcatttgtc tacctgacca atttcaagga taactctcta attgtctacg atgagacaca 660
 aaagaaagct tggaaattca cagataaaac atttgaagct gataaggaat ccacgttctc 720
 ctactcggga gaggaacaaa tgaagtacaa agtcggtcct tttgggatag ctctgggtga 780
 tagggatgaa atggggcatc gtcctgcctg ctacatcgtc gggagtagca ccaaagtcta 840
 cagtgttaac actaaagaac tcaaaacaga gaatggtcag ttaaactctc agcttcacgg 900
 tgatcgtgga aagtacacag atgcaattgc cctagcctac gatcctgagc ataaagtcct 960
 ctactttgct gaatccgaca gcaggcaggt gtcctgttgg aatgtaaata tggagctaaa 1020
 accagacaat acggatgtga tcttctctag tgcccgtttt acttttgga cggatatttt 1080
 ggttgatagc aagggaatgc tgtggataat ggctaattgga catccaccag tagaggatca 1140
 agagaagatt tggaaagatga gattcgtaaa ccggaagatc cgtattatga aagtggatac 1200
 ggaacgtggt ttcaaattatt cacgctgcaa tccaaattat aagccccca aggaaattga 1260
 agtttgagac acaggaaaaa gctcaatttt caacaagaat ttgatcttaa tctgaatacc 1320
 ctaaagtctg tcaaagaatt tcatattatt tgaaaaccaa taaattgatt aattttccga 1380
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1409

5 <210> 25
 <211> 295
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 25

ES 2 447 843 T3

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

Cys Ala Asn Glu Ile Pro Ile Asn Arg Gln Gly Lys Asp Tyr Pro Val
 20 25 30

Pro Ile Ile Asp Pro Asn Lys Ser Ser Ser Asp Asp Tyr Phe Asp Asp
 35 40 45

Arg Phe Tyr Pro Asp Ile Asp Asp Glu Gly Ile Ala Glu Ala Pro Lys
 50 55 60

Asp Asn Arg Gly Lys Ser Arg Gly Gly Gly Ala Ala Gly Ala Arg Glu
 65 70 75 80

Gly Arg Leu Gly Thr Asn Gly Ala Lys Pro Gly Gln Gly Gly Thr Arg
 85 90 95

Pro Gly Gln Gly Gly Thr Arg Pro Gly Gln Gly Gly Thr Arg Pro Gly
 100 105 110

Gln Gly Gly Thr Arg Pro Gly Gln Gly Gly Thr Arg Pro Gly Gln Gly
 115 120 125

Arg Thr Lys Pro Ala Gln Gly Thr Thr Arg Pro Ala Gln Gly Thr Arg
 130 135 140

Asn Pro Gly Ser Val Gly Thr Lys Glu Ala Gln Asp Ala Ser Lys Gln
 145 150 155 160

Gly Gln Gly Lys Arg Arg Pro Gly Gln Val Gly Gly Lys Arg Pro Gly
 165 170 175

Gln Ala Asn Ala Pro Asn Ala Gly Thr Arg Lys Gln Gln Lys Gly Ser
 180 185 190

Arg Gly Val Gly Arg Pro Asp Leu Ser Arg Tyr Lys Asp Ala Pro Ala
 195 200 205

Lys Phe Val Phe Lys Ser Pro Asp Phe Ser Gly Glu Gly Lys Thr Pro
 210 215 220

Thr Val Asn Tyr Phe Arg Thr Lys Lys Lys Glu His Ile Val Thr Arg
 225 230 235 240

ES 2 447 843 T3

Gly Ser Pro Asn Asp Glu Phe Val Leu Glu Ile Leu Asp Gly Asp Pro
 245 250 255
 Thr Gly Leu Gly Leu Lys Ser Glu Thr Ile Gly Lys Asp Thr Arg Leu
 260 265 270
 Val Leu Glu Asn Pro Asn Gly Asn Ser Ile Val Ala Arg Val Lys Ile
 275 280 285
 Tyr Lys Asn Gly Tyr Ser Gly
 290 295

5 <210> 26
 <211> 989
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 26
 actaaagcgt ctcaccgaaa tcagggaaaa tgattaagga agttttctct ctggctctac 60
 ttgtggcctt ggcacagtgt gctaataaaa tccctattaa tcgtcagggg aaagattatc 120
 cagttccgat cattgatcca aataaatcat cttcggatga ttatttcgat gatcgcttct 180
 accctgatat tgatgatgag ggcatagctg aggctcctaa ggataatagg ggaaaatccc 240
 gtgggtggtg tgcggctggc gcaagagaag gtaggttagg tacgaatggg gctaaaccgg 300
 gtcaggggtg aactagacca ggacaggggtg gaactaggcc aggacagggg ggaactaggc 360
 caggtcaggg tggaactagg ccaggtcagg gtggaactag acctgggcaa ggtagaacta 420
 agcctgctca gggaaactact aggccagctc agggaaactag aaatccagga tcggttggtg 480
 cgaaagaagc ccaggatgcg tcaaaaacaag gtcaaggtaa aagaaggcca gggcaagttg 540
 gtggtaaaag accaggacaa gcaaatgctc ctaatgcagg cactagaaaag caacagaaaag 600
 gcagtagagg cgttggaagg cctgatctat cgcgctacaa agatgcccct gctaaattcg 660
 ttttcaaadc tcccgattdc agtggagaag gcaaaaactcc aactgtaaat tactttagaa 720
 cgaagaagaa ggagcacatt gtgacccgtg gtagtcctaa tgatgaattt gttctggaga 780
 ttctcgatgg ggatccaact gggcttggac taaagagtga aaccataggc aaagatacgc 840
 gtttagtgct ggagaatcct aatggaaatt ccatcgtggc tcgtgttaag atctacaaga 900
 acggttattc aggatgaaga agaaatcctt tgatttcccc cccccctct tcctttaaaa 960
 ttcaacataa taaaaaaaaa aaaaaaaaaa 989

10 <210> 27
 <211> 148
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

15 <400> 27

ES 2 447 843 T3

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

<210> 28

<211> 826

5 <212> ADN

<213> Lutzomyia longipalpis

<400> 28

ES 2 447 843 T3

gtcttttcct gagtgtttca ttaacaaaat gaattcagta aacacttta ttttaactct 60
tctatttgca atttttttat tagtgaaaag gtctcaggct tttcttccat ctgaccaag 120
tatctgtggt aaaaatttag tattggatac aggaaggact tgtgaggaaa gtgaatattt 180
tccggatatac aagaacgta aaaatggaaa aagagtttac attgtctgca ctgattcaga 240
tgcagttgat tataaatttt atatttgttt cgatatgaat cgtctttctg gaccaccgta 300
tcctgaggaa gaaatccttc gtgaatcaac ggtaacttat gcccaaattt atgagctgat 360
gactacggaa accactgaaa ccaaaaagcc aaaaaagaaa ccaaagaatt caaaaacgga 420
cccagaccct ccagcaattc gtccaggatt ttcatttaga aattcaattt ctgtttaatt 480
ttacaattta ttttgaaaga aaaatgatatac ttcgaaatat tctatacaaa aaaacaacag 540
ttataaaacg aaaattcaat catttcaatg agaaaactta gtcttgagta aggtttattc 600
accacccgac gccacgctat ggtgaataat tttctttatt caccacatca aaatgacggc 660
ttataaactt caacaaatag tttggaaaat acatttctaa ctaatgcaat gtttacttaa 720
aatcacttta caaattcacg catttgagat gcaacaata tatacaattc aacgatataa 780
actttccaca aggaaaactt tcaaccaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 826

- <210> 29
- 5 <211> 397
- <212> PRT
- <213> *Lutzomyia longipalpis*
- <400> 29

ES 2 447 843 T3

Met Lys Leu Phe Phe Phe Leu Tyr Thr Phe Gly Leu Val Gln Thr Ile
1 5 10 15

Phe Gly Val Glu Ile Lys Gln Gly Phe Lys Trp Asn Lys Ile Leu Tyr
20 25 30

Glu Gly Asp Thr Ser Glu Asn Phe Asn Pro Asp Asn Asn Ile Leu Thr
35 40 45

Ala Phe Ala Tyr Asp Pro Glu Ser Gln Lys Leu Phe Leu Thr Val Pro
50 55 60

Arg Lys Tyr Pro Glu Thr Met Tyr Thr Leu Ala Glu Val Asp Thr Glu
65 70 75 80

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

Ser Gly His Glu Thr Gly Lys Glu Leu Thr Ser Val Tyr Gln Pro Val
100 105 110

Ile Asp Glu Cys His Arg Leu Trp Val Val Asp Val Gly Ser Val Glu
115 120 125

Arg Asn Ser Asp Gly Thr Glu Gly Gln Pro Glu His Asn Pro Thr Leu
130 135 140

Val Ala Tyr Asp Leu Lys Glu Ala Asn Tyr Pro Glu Val Ile Arg Tyr
145 150 155 160

Thr Phe Pro Asp Asn Ser Ile Glu Lys Pro Thr Phe Leu Gly Gly Phe
165 170 175

Ala Val Asp Val Val Lys Pro Asp Glu Cys Ser Glu Thr Phe Val Tyr
180 185 190

Ile Thr Asn Phe Leu Thr Asn Ala Leu Ile Val Tyr Asp His Lys Asn
195 200 205

Lys Asp Ser Trp Thr Val Gln Asp Ser Thr Phe Gly Pro Asp Lys Lys
210 215 220

ES 2 447 843 T3

Ser Lys Phe Asp His Asp Gly Gln Gln Tyr Glu Tyr Glu Ala Gly Ile
 225 230 235 240

Phe Gly Ile Thr Leu Gly Glu Arg Asp Asn Glu Gly Asn Arg Gln Ala
 245 250 255

Tyr Tyr Leu Val Ala Ser Ser Thr Lys Leu His Ser Ile Asn Thr Lys
 260 265 270

Glu Leu Lys Gln Lys Gly Ser Lys Val Asn Ala Asn Tyr Leu Gly Asp
 275 280 285

Arg Gly Glu Ser Thr Asp Ala Ile Gly Leu Val Tyr Asp Pro Lys Thr
 290 295 300

Lys Thr Ile Phe Phe Val Glu Ser Asn Ser Lys Arg Val Ser Cys Trp
 305 310 315 320

Asn Thr Gln Glu Thr Leu Asn Lys Asp Lys Ile Asp Val Ile Tyr His
 325 330 335

Asn Ala Asp Phe Ser Phe Gly Thr Asp Ile Ser Ile Asp Ser Gln Asp
 340 345 350

Asn Leu Trp Phe Leu Ala Asn Gly Leu Pro Pro Leu Glu Asn Ser Asp
 355 360 365

Lys Phe Val Phe Thr Lys Pro Arg Tyr Gln Ile Phe Lys Val Asn Ile
 370 375 380

Gln Glu Ala Ile Ala Gly Thr Lys Cys Glu Lys Asn Leu
 385 390 395

<210> 30
 <211> 1325
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis
 <400> 30

5

ES 2 447 843 T3

atcattcaaa	aggcagcagc	acaatgaagt	tatTTTTctt	tctttacact	tttggctag	60
tccaaacgat	ttttggagta	gaaattaaac	aaggatttaa	atggaataaa	atcctttatg	120
agggcgatac	atcagaaaac	ttcaatccag	ataacaacat	ccttacggct	tttgcgtacg	180
atcctgagag	tcagaaaactc	ttcctaactg	tcccgaggaa	atatcccga	actatgtaca	240
ctttggcaga	agttgatact	gagaaaaatt	cttttgaatc	gggagatact	tccccgctcc	300
ttggaaaatt	cagtgggtcat	gaaactggga	aagaacttac	atcagtttat	cagccagtta	360
tcgatgaatg	tcatcgtctt	tgggttggtg	atgttggatc	agtagaacgt	aactcagacg	420
gcacagaagg	tcagccagaa	cataatccta	cccttgtggc	gtacgatctc	aaagaagcca	480
actatcctga	agttattcgt	tacacgtttc	ccgataattc	cattgagaag	cccacatttc	540
tggttgatt	tgccgttgat	gttgtaaagc	cggatgaatg	cagtgaaact	tttgtctaca	600
tcacaaactt	cctcaccaac	gccctcatag	tatacgatca	taagaataag	gactcctgga	660
cggtaacaaga	ttcaactttt	ggaccagata	aaaagtcaaa	gtttgaccac	gatggacaac	720
agtatgaata	cgaagcagga	atcttcggga	ttacccttgg	agagagagat	aacgaaggaa	780
atcgtcaagc	gtactattta	gtagcaagta	gtaccaaact	tcacagcatc	aacaccaaag	840
aactgaagca	aaaaggaagc	aaagttaatg	caaattattt	gggagatcgt	ggtgaatcca	900
ccgatgccat	aggcttagtt	tacgatccaa	aaaccaaacc	tatcttcttc	gttgagtcaa	960
atagcaaaag	agtatcatgc	tggaatacc	aggaaact	aaacaaggat	aaaattgatg	1020
taatctatca	caatgcagac	ttttcctttg	gaacagatat	atcgattgat	agtcaggata	1080
atgtgtggtt	cctagcaaat	ggacttccac	ctctggaaaa	ttctgataaa	tttgtcttta	1140
caaagccacg	ttatcaata	ttcaaagtca	acattcaaga	agcaattgct	ggaactaaat	1200
gtgaaaagaa	tctttaacaa	atgaaacttt	gtagaaaaat	acataatatc	tgaataaaaa	1260
gtcataaatg	taccataaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	1320
aaaaa						1325

<210> 31

<211> 350

5 <212> PRT

<213> Lutzomyia longipalpis

<400> 31

ES 2 447 843 T3

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

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

Leu Pro Lys Lys Pro Leu Ala Glu Thr Tyr Tyr His Glu Gly Leu Asn
 35 40 45

Asp Gly Lys Thr Asp Glu Met Val Asp Ile Phe Lys Ser Leu Ser Asp
 50 55 60

Glu Phe Lys Phe Ser Asp Glu Asn Leu Asp Val Gly Glu Glu Lys Asn
 65 70 75 80

Tyr Lys Lys Arg Asp Ile Thr Gln Asn Ser Val Ala Arg Asn Phe Leu
 85 90 95

Ser Asn Val Lys Gly Ile Pro Ser Met Pro Ser Leu Pro Ser Met Pro
 100 105 110

Ser Met Pro Ser Ile Pro Ser Leu Trp Ser Ser Gln Thr Gln Ala Ala
 115 120 125

ES 2 447 843 T3

Pro Asn Thr Ala Leu Ala Leu Pro Glu Ser Asp Tyr Ser Leu Leu Asp
 130 135 140

Met Pro Asn Ile Val Lys Asn Phe Leu Lys Glu Thr Arg Asp Leu Tyr
 145 150 155 160

Asn Asp Val Gly Ala Phe Leu Lys Ala Ile Thr Glu Ala Leu Thr Asn
 165 170 175

Arg Ser Ser Ser Ser Gln Leu Leu Ser Ser Pro Met Val Ser Thr Asn
 180 185 190

Lys Thr Lys Glu Phe Ile Arg Asn Glu Ile Gln Lys Val Arg Lys Val
 195 200 205

Arg Asn Phe Val Gln Glu Thr Leu Gln Lys Ile Arg Asp Ile Ser Ala
 210 215 220

Ala Ile Ala Lys Lys Val Lys Ser Ser Glu Cys Leu Ser Asn Leu Thr
 225 230 235 240

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

Phe Asn Asp Gly Lys Arg Ile Ile Leu Gln Leu Tyr Asn Asn Leu Leu
 260 265 270

Lys Gly Leu Lys Ile Pro Asn Asp Leu Met Val Glu Leu Lys Lys Cys
 275 280 285

Asp Thr Asn Gln Asn Asn Thr Leu Gly Arg Ile Ile Cys Tyr Phe Leu
 290 295 300

Thr Pro Leu Gln Leu Glu Lys Glu Gln Ile Leu Leu Pro Val Glu Phe
 305 310 315 320

Ile Lys Arg Ile Leu Glu Leu Thr His Tyr Phe Ser Thr Met Lys Glu
 325 330 335

Asp Leu Ile Asn Cys Gly Ile Thr Thr Ile Ala Ser Ile Thr
 340 345 350

<210> 32
 <211> 1275
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 32

5

10

ES 2 447 843 T3

ctttaaagca aaaatthttgt gggaaaggaa gttacccgga gatgacgttt ctaattatac 60
 ttgggtgcatt tctccttggt caaattatta cagcttcagc tttaggattg cctgaacagt 120
 ttaaagggttt agaggattta cctaaaaaac ctttggcaga gacttattat cacgaaggat 180

 tgaatgatgg aaaaacggat gaaatgggtg atatthttta aagtcttagc gatgaattta 240
 aattcagtga tgaaaattta gatgttgggtg aggagaaaaa ttacaagaaa cgtgatataa 300
 cccaaaattc agtggcaagg aacttcctat caaacgtaaa ggggaattcct tcaatgccat 360
 cactcccttc aatgccttca atgccatcaa ttccttcact ttgggtcaagt cagacacagg 420
 cggcaccaaaa taccgcactt gcccttcctg aatctgatta ttcccttcta gatatgccga 480
 atattgtgaa aaatthccta aaggaaacaa gagacctcta taacgatggt ggagctthtc 540
 ttaaggcaat tacagaagct ttaacaaata gatcttcac atctcaactt cthtctccc 600
 caatgggtgag cacgaataaa accaaagaat ttattcggaa tgaaatacaa aaagtccgaa 660
 aagtgagaaa thtctccag gaaactctc agaaaatccg agacatttct gctgctattg 720
 ccaaaaagggt aaaatcatca gaatgtctgt ccaatcttac ggacatcaaa ggacttgtat 780
 cagacggaat taattgttta aaggaaaaat tcaatgatgg aaaacgaatt atcctgcaat 840
 tgtacaataa thtactaaaa ggactcaaaa thccaaatga cctaatgggt gaattgaaga 900
 aatgtgatac aatcaaaac aatactthtg gaagaataat ctgttattth ttgacaccat 960
 tgcaactgga aaaagaacaa atthtcttac ctgtagaatt tataaagcgc atthtgaat 1020
 taaccacta cthtccaca atgaaagaag atcttatcaa ctgtggcatc acaacgattg 1080
 catccattac gtaaaaaatg gaaaaatgtg ccggtgaaat gcttgaaatc accaaagaaa 1140
 thtcatcgca aataacagtt ccagaataac caaathttta tgattactc tcaaggaaaa 1200
 tactaccaaa aggcattaat taaaacgatg thttttataa acaatgtaag aaaaaaaaaa 1260
 aaaaaaaaaa aaaaa 1275

<210> 33

<211> 60

<212> PRT

5 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 33

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

Cys Val Ala Ala Met Pro Gly Ser Asn Val Pro Trp His Ile Ser Arg
 20 25 30

Glu Glu Leu Glu Lys Leu Arg Glu Ala Arg Lys Asn His Lys Ala Leu
 35 40 45

Glu Lys Ala Ile Asp Glu Leu Ile Asp Lys Tyr Leu
 50 55 60

ES 2 447 843 T3

<210> 34
 <211> 413
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis

5

<400> 34
 agttaatcctt ctgtcaagct acaaaaatgc ttaaaatcgt tttatttcta tcagttttgg 60
 ctgtattagt gatttgtgta gcagcaatgc caggatccaa tgttccttgg cacatttcac 120
 gagaagagct tgagaagcct cgtgaagctc gaaagaatca caaggcactc gagaaggcaa 180
 ttgatgaatt aattgacaaa tatctctgat tttgaagagc aaggaagagg aaataaacgg 240
 ccgaggaagg attttcttta gagattcttc tttttattac ttcaaacctt acttcaaaat 300
 cagtctgata tttttttaat ttgaaaaaaa tattgaaaat ttttaactatt tgtgaaattt 360
 aaataaataa agaatgtcag aagcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 413

<210> 35
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

10

<400> 35
 Met Lys Phe Ser Cys Pro Val Phe Val Ala Ile Phe Leu Leu Cys Gly
 1 5 10 15
 Phe Tyr Arg Val Glu Gly Ser Ser Gln Cys Glu Glu Asp Leu Lys Glu
 20 25 30
 Glu Ala Glu Ala Phe Phe Lys Asp Cys Asn Glu Ala Lys Ala Asn Pro
 35 40 45
 Gly Glu Tyr Glu Asn Leu Thr Lys Glu Glu Met Phe Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Glu Tyr Gly Val Ala Asp Thr Asp Met Glu Thr Val Tyr Lys Leu Val
 65 70 75 80
 Glu Glu Cys Trp Asn Glu Leu Thr Thr Thr Asp Cys Lys Arg Phe Leu
 85 90 95
 Glu Glu Ala Glu Cys Phe Lys Lys Lys Asn Ile Cys Lys Tyr Phe Pro
 100 105 110
 Asp Glu Val Lys Leu Lys Lys Lys
 115 120

15

<210> 36
 <211> 428
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis

20

<400> 36

ES 2 447 843 T3

aattttcacc atgaagtttt cttgcccagt tttcgttgca attttccttt tgtgCGgatt 60
ttatcgtggt gaggggtcat cacaatgtga agaagattta aaagaagaag ctgaagcttt 120
ctttaaggat tgcaatgaag caaaagccaa tcctggtgaa tacgagaatc tcaccaaaga 180
agaaatgttt gaagaattga aagaatatgg agttgctgac acagacatgg agacagttta 240
caaacttggt gaagaatggt ggaatgaatt aacaacaacg gattgtaaga gatttctcga 300
agaggctgaa tgcttcaaga agaagaatat ttgtaaatat ttcccagatg aagtgaaatt 360
gaagaagaaa taaattttta gcttgaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420
aaaaaaaaa 428

- 5 <210> 37
- <211> 572
- <212> PRT
- <213> *Lutzomyia longipalpis*
- <400> 37

ES 2 447 843 T3

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

ES 2 447 843 T3

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

ES 2 447 843 T3

Val Lys Ser Val Lys Val Leu Cys Ser Asn Cys Ser Gln Pro Glu Tyr
485 490 495

Gln Pro Leu Arg Asn Lys Lys Thr Tyr Asn Val Ile Met Asp Ser Phe
500 505 510

Met Lys Asp Gly Gly Asp Gly Tyr Ser Met Phe Lys Pro Leu Lys Ile
515 520 525

Ile Lys Thr Leu Pro Leu Gly Asp Ile Glu Thr Val Glu Ala Tyr Ile
530 535 540

Glu Lys Met Gly Pro Ile Phe Pro Ala Val Glu Gly Arg Ile Thr Val
545 550 555 560

Leu Gly Gly Leu Gln Lys Ser Asp Glu Asp Trp His
565 570

<210> 38

<211> 1839

5 <212> ADN

<213> Lutzomyia longipalpis

<400> 38

ES 2 447 843 T3

agttgcaaga atttcttcat tgcgtaaga tgttgTTTT ccttaacttt tttgtgctgg 60
 tgttcagcat agaactggcg ttgttaacag catcagcagc agcagaagac ggcagctatg 120
 agatcataat tcttcacacc aatgatatgc acgcgcgttt tgatcaaacc aatgctggaa 180
 gcaacaaatg ccaagaaaaa gacaagattg cttccaaatg ctacggagga tttgcaagag 240
 tttcaacaat ggtgaaaaaa ttccgagaag aaaatggcag cagtgtcttg ttcttgaatg 300
 ctggtgacac gtatacaggt accccatggt ttaccctcta caaggagacc attgcaacgg 360
 agatgatgaa catccttcgt ccagatgcag cctcactggg aatcatgaa ttcgacaaag 420
 gagtagaagg actcgtgcca ttcctcaatg gtgtcacctt ccctatttta acagcgaatt 480
 tggacacttc tcaagagcca acaatgacca atgctaaaaa tctcaaacgc tcaatgattt 540
 ttacggtttc cgggcacaga gttggtgtaa ttggctacct aacgcctgat acaaaattcc 600
 tctcggacgt tggtaaagtt aattttattc cggaagttga agccatcaat acggaagcac 660
 agcgtctgaa gaaagaggaa aatgccgaaa taatcatcgt tgttggacat tcagggttga 720
 taaaagatcg agaaattgca gagaaatgcc cactggttga cataattggt ggaggacatt 780
 cacacacatt cctctacaca ggaagtcagc ctgatcgtga ggttcctgta gacgtttatc 840
 ctgttgttgt gacccaatcc agtgggaaga aagtccaat tgttcaagcc tattgcttta 900
 caaagtattt ggggtacttt aaagtgcga tcaacggaaa aggaaatggt gtgggatgga 960
 ctgggcagcc aattctcctt aataacaaca ttccccaaga tcaggaagtt ctcactgctc 1020
 ttgaaaagta cagagaacgc gtggaaaact atggaaatcg cgtaattgga gtttcccgtg 1080
 taattctcaa tggggggcat actgaatgtc gtttccatga atgcaatatg ggtaatctca 1140
 tcacggacgc ttttgtgtat gccaatgtaa tcagtacacc aatgagtacg aatgcctgga 1200
 cagatgcaag tgttgttctg tatcaaagtg gtggcattcg tgccccaatt gatcctcgta 1260
 ccgcggcagg gagcatcaca cgcctcgagt tggacaatgt tctaccattt gggaatgcac 1320
 tgtacgtcgt aaaagttcct gggaatgtct tacgcaaagc tttggaacat tcagttcatc 1380
 gatactcaa cacttcggga tggggagaat ttccacaagt ttcggggcta aagattcgtt 1440
 ttaacgtcaa tgaagaaatt ggaaaacgcg taaagtccgt taaagttctc tgtagcaatt 1500
 gctctcaacc tgaataccea ccaactgagaa ataaaaaac ttacaacggt atcatggaca 1560
 gttttatgaa ggatggaggt gatgggtata gcatgttcaa gcccttgaag atcatcaaga 1620
 ccctcccact gggagatatt gaaacagtag aagcttatat tgagaaaatg ggccccattt 1680
 tcccagcagt cgaggggaagg atcactgttc ttgggggact tcaaaaatca gatgaggatt 1740
 ggcattagaa acatcctgga cgttatggaa agaataaaag aaggatcata gaaaaaaaaa 1800
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1839

- 5 <210> 39
- <211> 86
- <212> PRT
- <213> Lutzomyia longipalpis

ES 2 447 843 T3

<400> 39

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

Ala Phe Asn Val Ala Glu Gly Cys Asp Ala Thr Cys Gln Phe Arg Lys
 20 25 30

Ala Ile Glu Asp Cys Lys Lys Lys Ala Asp Asn Ser Asp Val Leu Gln
 35 40 45

Thr Ser Val Gln Thr Thr Ala Thr Phe Thr Ser Met Asp Thr Ser Gln
 50 55 60

Leu Pro Gly Asn Asn Val Phe Lys Ala Cys Met Lys Glu Lys Ala Lys
 65 70 75 80

Glu Phe Arg Ala Gly Lys
 85

5 <210> 40
 <211> 419
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 40

gtcagtgatc tgataagtta ttaaaatgaa gcaaatcctt ctaatctctt tgggtggtgat 60
 tcttgccgtg cttgccttca atgttgctga gggctgtgat gcaacatgcc aatttcgcaa 120
 10 agccatagaa gactgcaaga agaaggcgga taatagcgat gttttgcaga cttctgtaca 180
 aacaactgca acattcacat caatggatac atcccaacta cctggaaata atgtcttcaa 240
 agcatgcatg aaggagaagg ctaaggaatt tagggcagga aagtaagaga ttgaggaaaa 300
 ttgtagccga agagagaagg aaggaaagtc ccatattttg tttgttaatt gtaacgaatt 360
 ttgcgaaaaa aataaaatat tatgcactcc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 419

15 <210> 41
 <211> 84
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 41

ES 2 447 843 T3

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

Val Lys Ala Arg Pro Glu Asp Phe Val Ala Leu Gln Asp Gln Ala Asn
 20 25 30

Phe Gln Lys Cys Leu Glu Gln Tyr Pro Glu Pro Asn Gln Ser Gly Glu
 35 40 45

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

Lys Arg Ser Leu Asp Asp Ile Glu Gly Thr Phe Gln Glu Ser Gly Asn
 65 70 75 80

Leu Trp Gly Ala

<210> 42
 <211> 429
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

5

<400> 42
 ttttttaaat aattctgtgt aaaatgaacg ttcttttcgt gtctttcacg ctcacaattc 60
 ttcttctctg tgtaaggca cggccagaag atttcgtagc tcttcaggat caagctaatt 120
 tccagaaatg cctcgaacaa tatccagaac caaatcaatc tggagaagtt cttgcgtgcc 180
 tcaagaagcg cgaaggtgcc aaagatttcc gggaaaagag gagcctggat gacatagaag 240
 ggactttcca agagtctgga aatctctggg gtgcatagga agctcagagg acttctaadc 300
 aatctgtgag aagagaaccc aacggctaga gaaaatttaa ggaaaataaa gaaattaatg 360
 aagcattaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420
 aaaaaaaaaa 429

10

<210> 43
 <211> 626
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

15

<400> 43

ES 2 447 843 T3

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

Ser Ser Ala Val Leu Lys Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Glu Glu Glu
20 25 30

Val Arg Ala Glu Gln Arg Leu Arg Glu Ile Asn Glu Glu Leu Asp Arg
35 40 45

Arg Lys Asn Ile Asn Thr Val Ala Ala Trp Ala Tyr Ala Ser Asn Ile
50 55 60

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

Lys Tyr Tyr Lys Glu Leu Ala Ser Glu Leu Lys Gly Phe Asn Ala Lys
85 90 95

Glu Tyr Lys Ser Glu Asp Leu Lys Arg Gln Ile Lys Lys Leu Ser Lys
100 105 110

Leu Gly Tyr Ser Ala Leu Pro Ser Glu Lys Tyr Lys Glu Leu Leu Glu
115 120 125

Ala Ile Thr Trp Met Glu Ser Asn Tyr Ala Lys Val Lys Val Cys Ser
130 135 140

Tyr Lys Asp Pro Lys Lys Cys Asp Leu Ala Leu Glu Pro Glu Ile Thr
145 150 155 160

Glu Ile Leu Ile Lys Ser Arg Asp Pro Glu Glu Leu Lys Tyr Tyr Trp
165 170 175

Lys Gln Trp Tyr Asp Lys Ala Gly Thr Pro Thr Arg Glu Ser Phe Asn
180 185 190

Lys Tyr Val Gln Leu Asn Arg Glu Ala Ala Lys Leu Asp Gly Phe Tyr
195 200 205

Ser Gly Ala Glu Ser Trp Leu Asp Glu Tyr Glu Asp Glu Thr Phe Glu
210 215 220

Lys Gln Leu Glu Asp Ile Phe Ala Gln Ile Arg Pro Leu Tyr Glu Gln
225 230 235 240

Leu His Ala Tyr Val Arg Phe Lys Leu Arg Glu Lys Tyr Gly Asn Asp
245 250 255

Val Val Ser Glu Lys Gly Pro Ile Pro Met His Leu Leu Gly Asn Met
260 265 270

ES 2 447 843 T3

Trp Gly Gln Thr Trp Ser Glu Val Ala Pro Ile Leu Val Pro Tyr Pro
 275 280 285
 Glu Lys Lys Leu Leu Asp Val Thr Asp Glu Met Val Lys Gln Gly Tyr
 290 295 300
 Thr Pro Ile Ser Met Phe Glu Lys Gly Asp Glu Phe Phe Gln Ser Leu
 305 310 315 320
 Asn Met Thr Lys Leu Pro Lys Thr Phe Trp Glu Tyr Ser Ile Leu Glu
 325 330 335
 Lys Pro Gln Asp Gly Arg Glu Leu Ile Cys His Ala Ser Ala Trp Asp
 340 345 350
 Phe Tyr Thr Lys Asp Asp Val Arg Lys Gln Cys Thr Arg Val Thr Met
 355 360 365
 Asp Gln Phe Phe Thr Ala His His Glu Leu Gly His Ile Gln Tyr Tyr
 370 375 380
 Leu Gln Tyr Gln His Leu Pro Ser Val Tyr Arg Glu Gly Ala Asn Pro
 385 390 395 400
 Gly Phe His Glu Ala Val Gly Asp Val Leu Ser Leu Ser Val Ser Ser
 405 410 415
 Pro Lys His Leu Glu Lys Val Gly Leu Leu Lys Asp Phe Lys Phe Asp
 420 425 430
 Glu Glu Ser Gln Ile Asn Gln Leu Leu Asn Leu Ala Leu Asp Lys Met
 435 440 445
 Ala Phe Leu Pro Phe Ala Tyr Thr Ile Asp Lys Tyr Arg Trp Gly Val
 450 455 460
 Phe Arg Gly Glu Ile Ser Pro Ser Glu Tyr Asn Cys Lys Phe Trp Glu
 465 470 475 480
 Met Arg Ser Tyr Tyr Gly Gly Ile Glu Pro Pro Ile Ala Arg Ser Glu
 485 490 495
 Ser Asp Phe Asp Pro Pro Ala Lys Tyr His Ile Ser Ser Asp Val Glu
 500 505 510
 Tyr Leu Arg Tyr Leu Val Ser Phe Ile Ile Gln Phe Gln Phe His Gln
 515 520 525
 Ala Val Cys Gln Lys Thr Gly Gln Phe Val Pro Asn Asp Pro Glu Lys
 530 535 540

ES 2 447 843 T3

Thr Leu Leu Asn Cys Asp Ile Tyr Gln Ser Ala Glu Ala Gly Asn Ala
545 550 555 560

Phe Lys Glu Met Leu Lys Leu Gly Ser Ser Lys Pro Trp Pro Asp Ala
565 570 575

Met Glu Ile Leu Thr Gly Gln Arg Lys Met Asp Ala Ser Ala Leu Ile
580 585 590

Glu Tyr Phe Arg Pro Leu Ser Glu Trp Leu Gln Lys Lys Asn Lys Glu
595 600 605

Leu Gly Ala Tyr Val Gly Trp Asp Lys Ser Thr Lys Cys Val Lys Asn
610 615 620

Val Ser
625

<210> 44

<211> 2121

5 <212> ADN

<213> Lutzomyia longipalpis

<400>

gtatatcaag tatcattcaa gtgaatcatt ggctccgtaa tttgtacaaa agaaaaaaaa 60
 agttgataaa atcatgaaaa tcaactgtgat tttattcagc ggatttaciaa ttgccctcgt 120
 gagtagtgct gtgcttaaga aaaacgggta aactattgaa gaagaagaag taagagctga 180
 gcaacgactt agagagatca atgaggaact tgatcgtagg aagaatatca atactgtagc 240
 cgcttgggct tatgcatcca atattactga ggtcaatctc aagaacatga atgatgtgtc 300
 ggttgaaacc gcgaaatact acaaggaact tgcactctgaa ttgaagggat tcaatgccaa 360
 ggaatacaag agtgaggatc tgaagagaca aattaagaag ctaagcaagt tgggatatag 420
 tgctttacca tctgagaagt ataaggagct tttggaagct atcacatgga tggaatcgaa 480
 ttatgcaaaa gtgaaagttt gctcatacaa ggatccaaag aatgtgatt tagcacttga 540
 acctgaaatt acggaaatcc ttattaaag tcgagatcct gaggaactta aatattattg 600
 gaaacaatgg tacgacaaag ctggcacacc aactcgagag agttttaata agtatgtaca 660
 actaaatcgt gaagcagcga aattggatgg attttattcg ggtgcagaat cttggcttga 720
 tgaatatgaa gatgagacat ttgagaaaca acttgaggat atcttcgccc aaattcgccc 780
 actgtacgag caactccatg cttatgtag attcaagctg agggaaaagt atggaaatga 840
 cgttgtttcg gagaaaggtc ccattccaat gcatctcttg ggaacatgt ggggtcaaac 900
 gtggagttaa gttgccccaa ttttagtccc ataccccgaa aagaagctcc tcgatgttac 960
 cgatgagatg gttaagcagg gatacacacc aatttctatg tttgaaaaag gagacgaatt 1020
 tttccaaagc ttgaatatga cgaaacttcc aaaaaccttc tgggagtaca gtattttgga 1080

44

ES 2 447 843 T3

aaaaccccaa gatggtaggg aattgatctg ccatgcaagt gcatgggact tctatacaaa 1140
 ggatgatgta aggattaaac agtgtaccag agttacaatg gatcaattct tcacggctca 1200
 tcatgagctt ggtcacattc aatattattt gcaatatcaa catttgccga gtgtttacag 1260
 agaaggtgcc aatccaggct ttcacgaggc tgttggggat gttctctctc tttcgggtatc 1320
 aagtcctaaa catttgghaaa aagttggttt gcttaaagac ttcaaatttg atgaagaatc 1380
 ccagataaat caacttctaa atttagctct ggataaaatg gcattcctcc catttgcccta 1440
 taccattgat aaatatcgct ggggtgtggt tcggggtgaa atttcgccgt ctgagtacaa 1500
 ttgcaaattt tgggaaatgc gttcctacta tgggtgtata gaaccaccaa ttgcacgttc 1560
 tgagagtgat tttgatccac cagcaaaata tcatatttca tcggatgttg agtacctcag 1620
 gtatttggtt tccttcatta ttcagttcca attccatcaa gctgtgtgcc aaaagactgg 1680
 tcagttcgta ccgaatgatc cggagaagac tcttctaaat tgtgacatct accagagtgc 1740
 tgaggctggt aatgccttca aagaaatgct caaattggga tcctcaaac catggccaga 1800
 tgcaatggaa attcttacgg ggcaaaggaa aatggatgct tctgcattaa ttgagtactt 1860
 ccgtccactc agtgagtggg tgcagaagaa gaataaggaa ctaggagctt atgttggctg 1920
 ggacaaatct actaagtgtg tcaaaaacgt cagttaattt tttgtgagcc ctaaaaaata 1980
 ttcataacat ttcaatatga caaaatatat gattttcgtg aaaactaagc atgagtaagt 2040
 tttttttgtg aatttttagc agtttcattt cagaataaac gtcaaatttt taaaaaaaaa 2100
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 2121

<210> 45

<211> 42

5 <212> PRT

<213> Lutzomyia longipalpis

<400> 45

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

Cys Ile Asp Gly Ala Pro Thr Phe Val Asn Leu Leu Asp Asp Val Gln
 20 25 30

Glu Glu Val Glu Val Asn Thr Tyr Glu Pro
 35 40

10 <210> 46

<211> 463

<212> ADN

<213> Lutzomyia longipalpis

15 <400> 46

tcagttagtt gactaacaaa ccacaataga gacactaaaa tgaagacatt cgccttaatc 60
 ttcttggctc ttgctgtttt tgtgctctgc attgacggag ctccaacttt tgtgaattta 120
 ctggacgacg tacaggaaga ggtagaagtt aatacgtatg agccttagga agaaaatggt 180

ES 2 447 843 T3

tgaggagttt caggcagagg cagagctttc ccagagaggg agcttttgcc ttgctgtaga 240
 tttttaaaaa tgaatcaatt tgattggagc aattacgcta tatttggtggg aatatttttg 300
 aattaaaaaac taattatgga aattaatata taattttcag aatttcaata aattcatcaa 360
 aattgtatta attaaaaaat attgtatgaa attcccaata aaagctttca aattaaaaaa 420
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 463

5 <210> 47
 <211> 139
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 47

Met Asn His Leu Cys Phe Ile Ile Ile Ala Leu Phe Phe Leu Val Gln
 1 5 10 15

Gln Ser Leu Ala Glu His Pro Glu Glu Lys Cys Ile Arg Glu Leu Ala
 20 25 30

Arg Thr Asp Glu Asn Cys Ile Leu His Cys Thr Tyr Ser Tyr Tyr Gly
 35 40 45

Phe Val Asp Lys Asn Phe Arg Ile Ala Lys Lys His Val Gln Lys Phe
 50 55 60

Lys Lys Ile Leu Val Thr Phe Gly Ala Val Pro Lys Lys Glu Lys Lys
 65 70 75 80

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

Gln Pro Gln Thr Lys Asp Glu Lys Cys Thr Lys Ile Asn Lys Tyr Tyr
 100 105 110

Arg Cys Val Val Asp Gly Lys Ile Leu Pro Trp Asn Ser Tyr Ala Asp
 115 120 125

Ala Ile Ile Lys Phe Asp Lys Thr Leu Asn Val
 130 135

10 <210> 48
 <211> 579
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis

15 <400> 48

ggccattatg gccggggata gaacttaatt gttgttaaaa tgaatcactt gtgctttatt 60
 attattgctc tattcttttt ggttcaacaa tctttggctg aacatccaga agaaaaatgt 120
 attagagaat tggcgagaac tgatgaaaac tgcattcttc attgtacgta ttcgtactac 180
 ggattcgttg ataaaaattt caggatcgct aaaaaacatg ttcaaaaatt caaaaaatc 240

ES 2 447 843 T3

ctagttacat tcggcgctgt tcctaagaaa gaaaaaaga aacttttaga gcacattgag 300
gcttgtgcbg attctgcbga tgctgatcaa cctcaacta aagatgaaaa atgtacaaaa 360
ataaataagt actatcgttg tgttgtggat ggaaaaatat taccctggaa tagttatgct 420
gatgcaatca ttaagtttga taaaaccctt aacgtatgaa gcaaagatat tcgaaaaaaaa 480
aacatcaaga ttatgctgga aagaaaaaaaa taaaaaaaaa ttgtgctaata caaattgaaat 540
taacgcttaa tgctatatta aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 579

Met Lys Ile Ile Phe Leu Ala Ala Phe Leu Leu Ala Asp Gly Ile Trp
1 5 10 15

Ala Ala Glu Glu Pro Ser Val Glu Ile Val Thr Pro Gln Ser Val Arg
20 25 30

Arg His Ala Thr Pro Lys Ala Gln Asp Ala Arg Val Gly Ser Glu Ser
35 40 45

Ala Thr Thr Ala Pro Arg Pro Ser Glu Ser Met Asp Tyr Trp Glu Asn
50 55 60

Asp Asp Phe Val Pro Phe Glu Gly Pro Phe Lys Asp Ile Gly Glu Phe
65 70 75 80

Asp Trp Asn Leu Ser Lys Ile Val Phe Glu Glu Asn Lys Gly Asn Ala
85 90 95

Ile Leu Ser Pro Leu Ser Val Lys Leu Leu Met Ser Leu Leu Phe Glu
100 105 110

Ala Ser Ala Ser Gly Thr Leu Thr Gln His Gln Leu Arg Gln Ala Thr
115 120 125

Pro Thr Ile Val Thr His Tyr Gln Ser Arg Glu Phe Tyr Lys Asn Ile
130 135 140

Phe Asp Gly Leu Lys Lys Lys Ser Asn Asp Tyr Thr Val His Phe Gly
145 150 155 160

Thr Arg Ile Tyr Val Asp Gln Phe Val Thr Pro Arg Gln Arg Tyr Ala
165 170 175

Ala Ile Leu Glu Lys His Tyr Leu Thr Asp Leu Lys Val Glu Asp Phe
180 185 190

- <210> 49
- <211> 446
- <212> PRT
- <213> Lutzomyia longipalpis
- <400> 49

ES 2 447 843 T3

Met Lys Ile Ile Phe Leu Ala Ala Phe Leu Leu Ala Asp Gly Ile Trp
 1 5 10 15

Ala Ala Glu Glu Pro Ser Val Glu Ile Val Thr Pro Gln Ser Val Arg
 20 25 30

Arg His Ala Thr Pro Lys Ala Gln Asp Ala Arg Val Gly Ser Glu Ser
 35 40 45

Ala Thr Thr Ala Pro Arg Pro Ser Glu Ser Met Asp Tyr Trp Glu Asn
 50 55 60

Asp Asp Phe Val Pro Phe Glu Gly Pro Phe Lys Asp Ile Gly Glu Phe
 65 70 75 80

Asp Trp Asn Leu Ser Lys Ile Val Phe Glu Glu Asn Lys Gly Asn Ala
 85 90 95

Ile Leu Ser Pro Leu Ser Val Lys Leu Leu Met Ser Leu Leu Phe Glu
 100 105 110

Ala Ser Ala Ser Gly Thr Leu Thr Gln His Gln Leu Arg Gln Ala Thr
 115 120 125

Pro Thr Ile Val Thr His Tyr Gln Ser Arg Glu Phe Tyr Lys Asn Ile
 130 135 140

Phe Asp Gly Leu Lys Lys Lys Ser Asn Asp Tyr Thr Val His Phe Gly
 145 150 155 160

Thr Arg Ile Tyr Val Asp Gln Phe Val Thr Pro Arg Gln Arg Tyr Ala
 165 170 175

Ala Ile Leu Glu Lys His Tyr Leu Thr Asp Leu Lys Val Glu Asp Phe
 180 185 190

ES 2 447 843 T3

Ser Lys Ala Lys Glu Thr Thr Gln Ala Ile Asn Ser Trp Val Ser Asn
 195 200 205

Ile Thr Asn Glu His Ile Lys Asp Leu Val Lys Glu Glu Asp Val Gln
 210 215 220

Asn Ser Val Met Leu Met Leu Asn Ala Val Tyr Phe Arg Gly Leu Trp
 225 230 235 240

Arg Lys Pro Phe Asn Arg Thr Leu Pro Leu Pro Phe His Val Ser Ala
 245 250 255

Asp Glu Ser Lys Thr Thr Asp Phe Met Leu Thr Asp Gly Leu Tyr Tyr
 260 265 270

Phe Tyr Glu Ala Lys Glu Leu Asp Ala Lys Ile Leu Arg Ile Pro Tyr
 275 280 285

Lys Gly Lys Gln Tyr Ala Met Thr Val Ile Leu Pro Asn Ser Lys Ser
 290 295 300

Gly Ile Asp Ser Phe Val Arg Gln Ile Asn Thr Val Leu Leu His Arg
 305 310 315 320

Ile Lys Trp Leu Met Asp Glu Val Glu Cys Arg Val Ile Leu Pro Lys
 325 330 335

Phe His Phe Asp Met Thr Asn Glu Leu Lys Glu Ser Leu Val Lys Leu
 340 345 350

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

Arg Gly Gln Gly Val Gln Asn Arg Leu Gln Val Ser Asn Val Ile Gln
 370 375 380

Lys Ala Gly Ile Ile Val Asp Glu Lys Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Ala
 385 390 395 400

Ser Glu Val Ser Leu Val Asn Lys Phe Gly Asp Asp Glu Phe Val Met
 405 410 415

Phe Asn Ala Asn His Pro Phe Leu Phe Thr Ile Glu Asp Glu Thr Thr
 420 425 430

Gly Ala Ile Leu Phe Thr Gly Lys Val Val Asp Pro Thr Gln
 435 440 445

<210> 50
 <211> 1651
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis

ES 2 447 843 T3

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1636)..(1636)
 <223> n is a, c, g, or t

5

<400> 50

```

gtcggagatc gtctgccttg atgatcacat cgtgattgtg agttacaaga gtgaaacttt      60
ttaagtgtgt gtgtcttagc aaagtgattt ccacaatgaa gattatTTTT ttagccgctt      120
ttctactagc ggatgggtatt tgggctgctg aagaaccttc agtggaaatt gtaacaccac      180
aatcagtgcg gagacacgct acgccaaaag cccaggacgc gagggtagga agtgaatccg      240
caacaacagc accaagacca agtgaatcaa tggattactg ggagaatgat gatttcgtcc      300
catttgaggg tccattcaag gatattggag aattcgactg gaacctttcg aagatcgttt      360
ttgaggaaaa caaaggtaat gccatcttgt cgccactctc tgtgaagcta ctaatgagtt      420
tgctcttcga ggccagtgcg tcaggtacct tgaccagca ccaactcaga caagccactc      480
ccaccatcgt caccactat cagtctcgag aattttacaa gaatatcttt gacggctca      540
agaaaaagag taacgactac acggttcact ttggtacgag aatctacgtg gatcagtttg      600
tgacgcctcg ccagagatat gctgccattt tggagaagca ttatctgact gatctcaaag      660
ttgaggactt ctcgaaggca aaagaaacaa ctcaggcaat caatagttgg gtgtcaaaca      720
tcacaaatga gcacataaag gatctcgtga aggaggaaga tgttcagaat tcagttatgc      780
tcatgcttaa tgagctctac ttccgcggac tctggcgcaa gcctttcaat cgtacactcc      840
cactgccctt ccacgtgagc gctgatgagt ccaagacgac tgattttatg ctaaccgatg      900
ggctctacta cttctacgag gcaaaggaat tggatgctaa gatcctcaga attccttaca      960
aaggtaaaca atacgcaatg actgtgatct taccaaattc caagagtggc attgatagct    1020
ttgtgcgta gattaacacg gtcctcctgc acaggattaa gtggttgatg gatgaagtgg    1080
agtgcaggg tattctacc aagttccact ttgacatgac gaatgagctg aaggaatcgc    1140
tcgtaaagtt gggcatcagt cagattttca catcagaggc atctttgcca tcattagcac    1200
gaggacaggg cgtacagaat cgtctgcagg tgtctaattg gattcagaag gcgggaataa    1260
ttgtggatga gaagggcagc acagcctatg ctgctcaga agtgagccta gtcaacaagt    1320
ttggagatga tgagttcgtc atgttcaacg ctaatcatcc attcctcttt acaattgagg    1380
acgaaaccac cggcgcaatc ctatttacgg gaaaagtcgt cgatcccacg caatagggaa    1440
tgaaaagcat ttcacgtat acaacttttt ttttaattaa ttattcctca ttgaaggaca    1500
ttaatagagc atcttctcag gaaggcactc ctgacttatt ttactaaat gtgatccttg    1560
gacacataaa aaaaacagct gtactttcta cttttataa tatacgacca tatttgtagg    1620
gaaaaaaaa aaaaanaaaa aaaaaaaaa a                                1651
    
```

10

<210> 51
 <211> 166
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

ES 2 447 843 T3

<400> 51

Met Arg Phe Leu Leu Ala Phe Ser Val Ala Leu Val Leu Ser Pro
 1 5 10 15
 Thr Phe Ala Lys Pro Gly Leu Trp Asp Ile Val Thr Gly Ile Asn Asp
 20 25 30
 Met Val Lys Asn Thr Ala Asn Ala Leu Lys Asn Arg Leu Thr Thr Ser
 35 40 45
 Val Thr Leu Phe Thr Asn Thr Ile Thr Glu Ala Ile Lys Asn Ala Asn
 50 55 60
 Ser Ser Val Ser Glu Leu Leu Gln Gln Val Asn Glu Thr Leu Thr Asp
 65 70 75 80
 Ile Ile Asn Gly Val Gly Gln Val Gln Ser Ala Phe Val Asn Ser Ala
 85 90 95
 Gly Asn Val Val Val Gln Ile Val Asp Ala Ala Gly Asn Val Leu Glu
 100 105 110
 Val Val Val Asp Glu Ala Gly Asn Ile Val Glu Val Ala Gly Thr Ala
 115 120 125
 Leu Glu Thr Ile Ile Pro Leu Pro Gly Val Val Ile Gln Lys Ile Ile
 130 135 140
 Asp Ala Leu Gln Gly Asn Ala Gly Thr Thr Ser Asp Ser Ala Ser Ser
 145 150 155 160
 Thr Val Pro Gln Gln Ser
 165

<210> 52

<211> 739

<212> ADN

<213> Lutzomyia longipalpis

<400> 52

tcagttaagc agatTTTTcaa gctaaagaaa cttaactaag atgCGattcc ttcttttggc 60
 cttctccggt gctttggtgc tttcaccaac attcgccaaa ccaggtcttt gggacattgt 120
 aactggtatt aatgatatgg taaaaaatac tgcgaatgca ctcaaaaatc gtctaacaac 180
 ttctgtgaca ttattcacia ataccatcac cgaagctata aaaaatgcaa attcttctgt 240
 ttcggaactc cttcagcaag tcaatgaaac cttacggat attattaatg gtgtaggaca 300
 agtgcagagt gcctttgtga attcagctgg aaatgTTgtt gtgcaaattg ttgatgccgc 360
 tggaaatggt ttggaagttg ttgTTgatga ggctggaaat atcgtggagg tagctggaac 420

10

ES 2 447 843 T3

agcattggaa actatcattc cactgcccgg tgtagtgatt cagaagataa ttgatgctct 480
 ccaaggaaat gcagggacta catcggattc agcttcatca actgtgcccc aacaatctta 540
 actacaaccg caatgatggt gtctttaacg gagaatTTTT aaatttgaat atcaaaatcc 600
 aagatgaaat attcagattt ttcaatcaat atgatacgaa attttgaat ttttttccg 660
 actaaagcaa tttgtaaaag gaaaaccaa taaatatttg aaattgtaaa gaaaaaaaaa 720
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 739

<210> 53
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

5

<400> 53

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

10

<210> 54
 <211> 447
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis

15

<400> 54

atatcaattt tatcatcatg gtgaagtact cgtgtcttgt tcttgttgca atttttcttc 60
 tggccggacc ctacggcgtt gtaggttctt gtgagaatga cctgacagag gccgccaagt 120
 atcttcaaga tgaatgcaat gcaggtgaaa ttgcagatga atttctaccc ttctctgaag 180
 aagaagtggg tgaagcattg agcgacaaac cagaaaacgt gcaggaagtc accaacatcg 240
 tgagaggatg ctttgaagct gaacaagcca aagagcatgg aaaatgtgaa agattttccg 300
 ctttgagtca atgctacatt gaaaagaatt tatgtcaatt cttctaaaat attttgaaga 360
 aaagttatga atgaaaattt tctgaaattt tgttgcaaaa atatataaat tgccaatta 420

aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaa

447

5 <210> 55
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 55

Met Lys Phe Phe Tyr Leu Ile Phe Ser Ala Ile Phe Phe Leu Ala Asp
 1 5 10 15

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

Asn Ala Tyr Leu Leu Lys Leu Asp Cys Glu Ala Gly Arg Val Asp Pro
 35 40 45

Val Glu Tyr Asp Asp Ile Ser Asp Glu Glu Ile Tyr Glu Ile Thr Val
 50 55 60

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

Arg Glu Cys Ile Ala Gln Val Ser Thr Gln Asp Cys Thr Lys Phe Ser
 85 90 95

Glu Ile Tyr Asp Cys Tyr Met Lys Lys Lys Ile Cys Asn Tyr Tyr Pro
 100 105 110

Glu Asn Met
 115

10 <210> 56
 <211> 496
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis

15 <400> 56

agtttaattt tcatcatgaa gttctttctac ttgattttct ctgcaatttt ctttctggct 60
 gatcctgctt tgggtcaagtg ttcagaggat tgtgagaata tttttcatga caatgcgtac 120
 ctccttaaat tggattgtga agcaggaagg gttgatcctg ttgaatacga cgatatttcg 180
 gatgaagaaa tatatgaaat aacggtcgat gttggagttt catctgagga ccaggagaaa 240
 gttgcgaaaa taataagggga gtgcattgca caagtttcaa cgcaagattg cacgaaattt 300
 tcagaaattt atgattgtta catgaagaag aaaatctgta attattatcc tgaaaaatag 360
 taaaaaaaa ttatttattt atataaaaa atataaggat taaaatctct tattgattgt 420
 aaaaatggcc taatattgaa gcaaaaatta aagcatgaaa caagaccaa aaaaaaaaaa 480
 aaaaaaaaa aaaaaa 496

20 <211> 409
 <212> PRT

ES 2 447 843 T3

<213> Lutzomyia longipalpis

<400> 57

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

ES 2 447 843 T3

Val Arg Asp Leu Ala Lys Val Leu Gln Lys Asp Ile Thr Val Val Thr
 260 265 270
 Gly Ile Leu Gly Ile Leu Arg Leu Lys Ser Lys Lys Ile Glu Lys Glu
 275 280 285
 Ile Tyr Leu Gly Asp Asp Val Ile Ala Val Pro Ala Met Phe Trp Lys
 290 295 300
 Ala Val Phe Asp Pro Gln Lys Gln Glu Ala Ile Val Phe Val Ser Ser
 305 310 315
 Asn Asn Pro His Val Lys Thr Phe Asn Pro Asn Cys Lys Asp Val Cys
 325 330 335
 Ala Gln Ala Gly Phe Gly Asn Asp Asn Leu Glu Tyr Phe Ser Asn Tyr
 340 345 350
 Ser Ile Gly Leu Thr Ile Cys Cys Lys Leu Glu Glu Phe Val Lys Arg
 355 360 365
 Asn Lys Ile Ile Leu Pro Lys Glu Val Asn Asn Lys Asn Tyr Thr Lys
 370 375 380
 Lys Leu Leu Lys Phe Pro Lys Thr Arg Asn Lys Glu Gly Asp Lys Lys
 385 390 400
 Val Val Arg Lys Arg Ala Lys Gly Ala
 405

<210> 58

<211> 1281

<212> ADN

5 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 58

tcaatctaac aatgcacctg caattgaatt tgtgcgctat tctcctttcg gtactaaatg 60
 gaattcaggg cgctcccaaa agtattaatt caaaatcctg cgcaatctcc tttccggaga 120
 atgtaacggc taagaaggag ccagtgtact tgaaaccatc aatgatggc tcattgagta 180
 cccccctaca gccaagtggg ccatttgtaa gtctcaaaat tggagaatct cttgcaatct 240
 tctgtccagg tgatggaaag gacgtagaga caattacgtg caatacaaat ttcgatttag 300
 cttcatattc gtgcaacaag agcacatcaa cggataccat tgaaacggaa gaagtttgcg 360
 gaggaagtgg aaaagtgtac aaagttgggt ttccgctgcc ctctgggaat ttccattcaa 420
 tctaccaaac gtgttttgat aagaaaaatc tcacacctct ctactcaatt cacattctca 480
 atgggtcaagc tgttgatata caccttaagc acacaagagg aagctttcgt accaatggta 540
 tctacgggaa agtcaacatt gataaactct acaagacgca aattgagaaa ttcaacaac 600

ES 2 447 843 T3

```

ttttcggccc taaacaaca tttttccgta gaccctcaa ttttctatca cgtggacact 660
taagccccga agtggacttt acattccgta gggaacaaca tgcaacggaa atgtacatta 720
acacagcacc acagtaccaa tcaattaatc aaggaaattg gctacgtgtt gaaaatcacg 780
tgaggggatct cgcaaaagtt ctgcagaagg acataacagt cgttacggga attttgggga 840
tacttcgggtt gaagagtaag aaaatagaga aagaaatcta ttaggagat gacgtaattg 900
ccgtaccagc aatgttctgg aaggctgttt ttgaccctca aaaacaagaa gcaattgtct 960
ttgtttcctc aaataatccc cacgtgaaga ctttaatcc caactgcaag gatgtatgcg 1020
ctcaagctgg atttgggaat gataatcttg aatatttctc caattattct attggtctga 1080
ctatttgttg caaacttgag gaatttgta aaagaaataa aataattcta ccaaagaag 1140
taaataacaa aaactacacc aaaaaactcc ttaagtttcc taaaacaaga aacaaggagg 1200
gagataagaa ggtggtacgt aagcgcgcca aaggagcata aatattaaac gaaaaaaaaa 1260
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 1281

```

<210> 59

<211> 160

5 <212> PRT

<213> Lutzomyia longipalpis

<400> 59

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

Ile Thr Ala Thr Asp Leu Ile Glu Lys Glu Leu Ser Asp Cys Lys Lys
20 25 30

Ile Phe Ile Ser Lys Ala Glu Leu Thr Trp Phe Gln Ala Leu Asp Phe
35 40 45

Cys Thr Glu Gln Asn Leu Thr Leu Leu Ser Ile Lys Ser Ala Arg Glu
50 55 60

Asn Asp Glu Val Thr Lys Ala Val Arg Ala Glu Val His Leu Pro Asp
65 70 75 80

Thr Lys Lys Ser His Ile Trp Leu Gly Gly Ile Arg Tyr Asp Gln Asp
85 90 95

Lys Asp Phe Arg Trp Ile Ser Asp Gly Thr Thr Val Thr Lys Thr Val
100 105 110

Tyr Ile Asn Trp Tyr Gln Gly Glu Pro Asn Gly Gly Arg Tyr Gln Lys
115 120 125

Glu Phe Cys Met Glu Leu Tyr Phe Lys Thr Pro Ala Gly Gln Trp Asn
130 135 140

ES 2 447 843 T3

Asp Asp Ile Cys Thr Ala Lys His His Phe Ile Cys Gln Glu Lys Lys
 145 150 155 160

<210> 60
 <211> 671
 <212> ADN

5 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 60

```

gttctacgat aaaatcttct tttcaaactt ttcttttaaa gaaaaatctt caaaaagtta      60
aatgaatctt gcaccttgcg attatcctct ttgtgagtta cttcacactg atcactgcta      120
cggatcctaa tgaaaaggaa ctttctgatt gcaaaaagat cttcatctcc aaggctgagc      180
taacttgggtt ccaagctctc gatttctgta ccgaacaaaa cctaactttg ctctcaatta      240
aatccgccccg ggaaaatgat gaggtgacta aagcagttcg agctgagggt catcttccag      300
acacaaagaa gtctcacatt tggctcggag gtattcgta  tgatcaagac aaggatttcc      360
gttggataag  cgatggaaca actgttacga agacagtcta catcaattgg taccaaggag      420
aaccaaatgg  tgggaggtag caaaaggaat tttgtatgga attgtacttt aaaactccag      480
ctgggtcaatg gaatgatgat atttgtacag caaagcatca ttttatatgt caggagaaaa      540
aataaattga  attgttcatg tgtctttggc ggtgcgaagg tataattcag gttgacgaca      600
taaattgatt  tttctttcat taagaaaata aaggcttgaa tttataaaaa aaaaaaaaaa      660
aaaaaaaaaa  a                                     671
  
```

10 <210> 61
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis

15 <400> 61

ES 2 447 843 T3

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

Ile Thr Ala Ala Asp Leu Thr Glu Lys Glu Leu Ser Asp Gly Lys Lys
 20 25 30

Ile Phe Ile Ser Lys Ala Glu Leu Ser Trp Phe Asp Ala Leu Asp Ala
 35 40 45

Cys Thr Glu Lys Asp Leu Thr Leu Leu Thr Ile Lys Ser Ala Arg Glu
 50 55 60

Asn Glu Glu Val Thr Lys Ala Val Arg Ala Glu Val His Leu Pro Asp
 65 70 75 80

Thr Lys Lys Ser His Ile Trp Leu Gly Gly Ile Arg Tyr Asp Gln Asp
 85 90 95

Lys Asp Phe Arg Trp Ile Ser Asp Gly Thr Thr Val Thr Lys Thr Val
 100 105 110

Tyr Ile Asn Trp Tyr Gln Gly Glu Pro Asn Gly Gly Arg Tyr Gln Lys
 115 120 125

Glu Phe Cys Met Glu Leu Tyr Phe Lys Thr Pro Ala Gly Gln Trp Asn
 130 135 140

Asp Asp Ile Cys Thr Ala Lys His His Phe Ile Cys Gln Glu Lys Lys
 145 150 155 160

<210> 62

<211> 672

<212> ADN

5 <213> *Lutzomyia longipalpis*

<400> 62

ES 2 447 843 T3

gttctacgat aaaatcttct tttcaaactt ttcttttaaa gaaaaatctt caaaaagtta 60
 aatgaattt gcccttgcg attatcctct ttgtgagtta cttcacactg atcactgctg 120
 cggatctaac tgaaaaggaa ctttctgatg gcaaaaagat cttcatctcc aaggctgagc 180
 taagttgggt cgatgctctc gatgcctgta ccgaaaaaga cctaactttg ctcacaatta 240
 aatccgcccg ggaaaatgag gaagtgacta aagcagttcg agctgagggt catcttccag 300
 acacaaagaa gtctcacatt tggctcggag gtattcgta tgatcaagac aaggatttcc 360
 gttggataag cgatggaaca actgttacga agacagtcta catcaattgg taccaaggag 420
 aaccaaattg tgggaggtac caaaaggaat tttgtatgga attgtacttt aaaactccag 480
 ctggtcaatg gaatgatgat atttgtacag caaagcatca ttttatatgt caggagaaaa 540
 aataaattga attgttcatg tgtctttggc ggtgcgaagg tataattcag gttgacgaca 600
 taaattgatt tttcttcat taagaaaata aaggcttgaa tttagcaaaa aaaaaaaaaa 660
 aaaaaaaaaa aa 672

<210> 63

<211> 399

<212> PRT

5 <213> *Lutzomyia longipalpis*

<400> 63

Met Lys Val Phe Phe Ser Ile Phe Thr Leu Val Leu Phe Gln Gly Thr
 1 5 10 15

Leu Gly Ala Asp Thr Gln Gly Tyr Lys Trp Lys Gln Leu Leu Tyr Asn
 20 25 30

Asn Val Thr Pro Gly Ser Tyr Asn Pro Asp Asn Met Ile Ser Thr Ala
 35 40 45

Phe Ala Tyr Asp Ala Glu Gly Glu Lys Leu Phe Leu Ala Val Pro Arg
 50 55 60

ES 2 447 843 T3

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

ES 2 447 843 T3

Thr Ser Ser Arg Phe Val Phe Gly Thr Asp Ile Ser Val Asp Ser Lys
 340 345 350

Gly Gly Leu Trp Phe Met Ser Asn Gly Phe Pro Pro Ile Arg Lys Ser
 355 360 365

Glu Lys Phe Lys Tyr Asp Phe Pro Arg Tyr Arg Leu Met Arg Ile Met
 370 375 380

Asp Thr Gln Glu Ala Ile Ala Gly Thr Ala Cys Asp Met Asn Ala
 385 390 395

<210> 64

<211> 1429

<212> ADN

5 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 64

```

ttgaattgaa gcagcagcaa tgaaagtgtt tttctcaatt tttacgctcg tcctcttcca      60
agggaccctt ggagcggata ctcaaggata taaatggaag caattgctct acaataatgt      120
tacaccagga tcctacaatc cggataatat gatcagtagc gcttttgcct acgatgctga      180
gggtgaaaaa ctcttcctag ctgtcccaag gaagttaccc agagttccgt atacattggc      240
ggaagtggat acaaagaata gtcttggtgt taagggaaaa cattcaccgt tacttaacaa      300
attcagtggg cacaaaactg ggaaggaact aacatcaatc tatcagccag ttattgatga      360
ttgtcgtcgc ctttggggtg ttgatattgg ttccgtggaa tatcgtcaa gaggtgccaa      420
agactacccg agtcatcgtc ctgcaattgt tgcgtacgac ctaaagcaac caaactacc      480
cgaagttggt cgatactatt tccccacaag attagtggag aagccaacat atttcggtgg      540
at ttgcccgtt gatgttgcaa acccaaaggg ggattgtagt gaaacttttg tctacattac      600
aaacttcctc aggggagctc tctttatata cgatcataag aagcaggatt cgtggaatgt      660
aactcatccc accttcaaag cagaacgacc cactaaattt gattacggcg gaaaggaata      720
tgaattcaaa gccggaattt tcggaattac tctcggagat cgagacagtg aaggcaatcg      780
tccagcttac tacttagccg gaagtgccat caaagtctac agcgtcaaca cgaaagaact      840
taagcagaag ggtggaaagc tgaatccgga gcttcttgga aaccgcgga agtacaacga      900
tgccattgcc ctagcttacg atccccaaac taaagttatc ttctttgctg aggccaacac      960
aaagcaagta tcctgctgga acacacagaa aatgccactg aggatgaaga ataccgacgt     1020
agtctacact agttctcgct ttgtctttgg aacggacatt tcggttgata gcaagggcgg     1080
cctctggttc atgtctaacg gctttccgcc tataaggaaa tcagaaaaat tcaaatatga     1140
cttcccacgc taccgtctaa tgaggatcat ggacacacag gaagcaattg ccggaactgc     1200
ttgcgatatg aatgcataaa agttaatttt caaccaaga agaagaccta aagaggcttt     1260
tccaggcttt gatgcaggag aggtggttat caacgcaaaa tcagctattg ttgtatgagg     1320
aggagaaatt attgattctg aattctataa aaaaaattta atttgtgaaa tattttggcaa     1380
    
```

taataaatta attgaattac aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

1429

<210> 65
 <211> 170
 5 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis
 <400> 65

Met Gln Ser Lys Ile Leu Ser Phe Val Leu Phe Thr Leu Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Tyr Val Leu Gly Glu Thr Cys Ser Asn Ala Lys Val Lys Gly Ala Thr
 20 25 30
 Ser Tyr Ser Thr Thr Asp Ala Thr Ile Val Ser Gln Ile Ala Phe Val
 35 40 45
 Thr Glu Phe Ser Leu Glu Cys Ser Asn Pro Gly Ser Glu Lys Ile Ser
 50 55 60
 Leu Phe Ala Glu Val Asp Gly Lys Ile Thr Pro Val Ala Met Ile Gly
 65 70 75 80
 Asp Thr Thr Tyr Gln Val Ser Trp Asn Glu Glu Val Asn Lys Ala Arg
 85 90 95
 Ser Gly Asp Tyr Ser Val Lys Leu Tyr Asp Glu Glu Gly Tyr Gly Ala
 100 105 110
 Val Arg Lys Ala Gln Arg Ser Gly Glu Glu Asn Lys Val Lys Pro Leu
 115 120 125
 Ala Thr Val Val Val Arg His Pro Gly Thr Tyr Thr Gly Pro Trp Phe
 130 135 140
 Asn Ser Glu Ile Leu Ala Ala Gly Leu Ile Ala Val Val Ala Tyr Phe
 145 150 155 160
 Ala Phe Ser Thr Arg Ser Lys Ile Leu Ser
 165 170

10

<210> 66
 <211> 712
 <212> ADN
 15 <213> Lutzomyia longipalpis
 <400> 66

tctcttttgggt taacattgtg aagttatcgg acgtggccgg tttctatttc ttttgcaaaa 60
 atgcagtcaa aaattctttc tttcgtcctt ttcaccttat ccttgggcta tgttttgggt 120
 gaaacatgct caaatgctaa ggttaaggga gctacctctt attccacaac ggatgccaca 180
 attgtaagcc aaattgcctt tgtgactgaa ttctccttgg aatgctcaaa tcttgatccc 240

ES 2 447 843 T3

gagaaaatct ccctatttgc tgaagtcgat ggcaaaatta ctctgttgc catgatcggg 300
 gataccacct accaggtgag ctggaatgaa gaggttaata aggctagaag tggtgactac 360
 agtgtgaagc tgtacgatga agaaggatac ggagcagtac gcaaagctca gagatcaggt 420
 gaagagaaca aggtcaaacc actagcaacc gttgttgttc gacatccagg aacatacact 480
 ggaccatggt tcaattccga aatcctcgca gctggctca ttgctgttgt tgcctacttt 540
 gctttctcaa cgcaagcaa aattctttcc taaagagacg cagcatgaaa tttcacaaaa 600
 aaataaaaac aaattcaagt catcaacat gtctctttgg cactcagact gtttctgtga 660
 aatacaaact attatttaac aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 712

<210> 67
 <211> 73
 5 <212> PRT
 <213> Lutzomyia longipalpis
 <400> 67

Met Val Ser Ile Leu Leu Ile Ser Leu Ile Leu Asn Leu Leu Val Phe
 1 5 10 15
 Tyr Ala Lys Ala Arg Pro Leu Glu Asp Ile Ser Ser Asp Leu Ser Pro
 20 25 30
 Asp Tyr Tyr Ile Thr Glu Gly Tyr Asp Gly Val Lys Glu Lys Arg Glu
 35 40 45
 Ile Glu Leu Val Pro Val Thr Phe Gly Ile Phe Asn Ile His Thr Thr
 50 55 60
 Pro Ala Pro Arg Ile Thr Phe Glu Trp
 65 70

10 <210> 68
 <211> 379
 <212> ADN
 <213> Lutzomyia longipalpis
 15 <400> 68

attcccacaa gaagctgcta aatgggtgtc aattctgtta atctccttga ttcttaattt 60
 gttggttttc tatgctaaag ctagaccact agaagacatc tcgtcagatc tttcccctga 120
 ttattacatc actgaaggct atgacggtgt gaaggagaag agagagatcg aacttgacc 180
 tgtgacattt ggaatattta atatacatac aacacctgct cccagaatta ctttgaatg 240
 gtaaaaaatc caagaagaat ttatgatttt attcttcctt ccattgggat ggattgtaag 300
 tcagcataaa acgccgtaa aatgaattt ttaataaaaa aaaattattc caaaaaaaaa 360
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 379

<210> 69
 <211> 76
 20 <212> PRT

ES 2 447 843 T3

<213> Lutzomyia longipalpis

<400> 69

Met Lys Leu Phe Cys Leu Ile Phe Val Val Phe Val Ala Leu Glu Val
1 5 10 15

Cys Ile Glu Thr Val Lys Ala Met Glu Ala Thr Glu Glu Ile Ser Val
20 25 30

Lys Leu Gln Asp Asp Ala Asn Glu Pro Asp Asp Ser Leu Asp Leu Asp
35 40 45

Glu Gly Leu Pro Asp Ala Phe Asp Glu Asp Tyr Asn Asn Gln Ala Glu
50 55 60

Tyr Lys Pro Asn Pro Arg Gly Asp Tyr Arg Arg Arg
65 70 75

5

<210> 70

<211> 526

<212> ADN

10 <213> Lutzomyia longipalpis

<400> 70

cactattcat tggagattt attaacttca agatgaaatt attttgttta atttttgttg 60
tgtttgttgc tttagaagtc tgtatagaga ccgtgaaagc tatggaagca acggaggaga 120
tatctgtaaa attgcaagat gatgcgaatg aacctgatga ctctctggat ttagacgaag 180
gtcttcctga tgcattcgat gaggactata ataatcaggc tgagtacaag ccgaatccta 240
gaggggacta cagaagacga taattaatat aaattcagga aaacactcta aaaatttcca 300
attgactcta ctttaaacga ttaataacct acctacacta aataccatat gcaataatta 360
tgttttaatt atttagtga agatctacta gtttcagttc atattttggg actttcccgc 420
ctttctctcg atggaaaaat gattttacgg attcttaatt ttcattgtac agagttaata 480
aaacaattga aagcaattaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 526

15

<210> 71

<211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> cebador del oligonucleótido

<400> 71

25 aagtactcta gcaattgtga gc 22

<210> 72

<211> 22

<212> ADN

30 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador del oligonucleótido

<400> 72

ctcttcgcta ttacgccagc tg 22

5

<210> 73

<211> 24

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> cebador del oligonucleótido

<400> 73

tctcgggaag cgcgccattg tggt 24

15

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido salival de *Lu. longipalpis* sustancialmente purificado, donde el polipéptido comprende
 - 5 a) una secuencia de aminoácido al menos un 80% idéntica a la longitud total de la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 15;
 - b) un fragmento inmunogénico, que comprende al menos ocho aminoácidos consecutivos de la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 15, específicamente reconocido por un anticuerpo que se une de forma específica con la secuencia de aminoácido que se presenta como SEC. ID. N°: 15; o
 - 10 c) la secuencia de aminoácido que se presenta como SEC. ID. N°: 15; y donde la administración del polipéptido a un sujeto provoca una respuesta inmune a *Lu. longipalpis*.
2. El polipéptido de *Lu. longipalpis* de la reivindicación 1, donde el polipéptido comprende la secuencia de aminoácido que se presenta como SEC. ID. N°: 15.
- 15 3. El polipéptido de *Lu. longipalpis* de las reivindicaciones 1 o 2, donde el polipéptido se compone de una secuencia de aminoácido como la que se presenta en la SEC. ID. N°: 15.
- 20 4. Un fragmento antigénico del polipéptido de la reivindicación 3.
5. El polipéptido de la reivindicación 1, donde el polipéptido comprende una secuencia de aminoácido al menos un 80% idéntica a la longitud total de la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 15.
- 25 6. Un ácido nucleico aislado que codifica el polipéptido de la reivindicación 1.
7. El ácido nucleico de la reivindicación 6, donde el ácido nucleico comprende una secuencia como la presentada como SEC. ID. N°: 16 o donde el ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácido al menos un 80% idéntica a la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 16.
- 30 8. El ácido nucleico de la reivindicación 6, operativamente unido a una secuencia de control de la expresión, donde la secuencia de control de la expresión es preferiblemente un promotor, donde preferiblemente el promotor es un promotor inducible o constitutivo, donde preferiblemente el promotor es un promotor de citomegalovirus.
- 35 9. Un vector que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 6.
10. El vector de la reivindicación 9, donde el vector es un plásmido, o donde el vector es un vector viral.
- 40 11. Una célula huésped transformada con el vector de la reivindicación 9.
12. Un anticuerpo que se une específicamente al polipéptido de la reivindicación 3 o al fragmento antigénico de la reivindicación 4.
13. El anticuerpo de la reivindicación 12, donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
- 45 14. El anticuerpo de la reivindicación 13, que comprende una etiqueta detectable, donde preferiblemente la etiqueta es una etiqueta fluorescente, enzimática o radiactiva.
15. Una composición farmacéutica que comprende el polipéptido de la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable; o una composición farmacéutica que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 6 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 50 16. Un polipéptido salival de *Lu. longipalpis* sustancialmente purificado seleccionado del grupo compuesto por:
 - 55 a) una secuencia de aminoácido al menos un 80% idéntica a la longitud total de la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 15.
 - b) un fragmento inmunogénico, que comprende al menos ocho aminoácidos consecutivos de la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 15, específicamente reconocido por un anticuerpo que se une de forma específica con la secuencia de aminoácido que se presenta como SEC. ID. N°: 15; o
 - 60 c) la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 15; para su uso en la inducción de una respuesta inmune a un polipéptido de *Lu. longipalpis* en un sujeto.
17. Un polinucleótido que codifica el polipéptido que se presenta en las letras a), b) o c) de la reivindicación 16, para su uso en la inducción de una respuesta inmune a un polipéptido de *Lu. longipalpis* en un sujeto.
- 65 18. El polipéptido de la reivindicación 16 o el polinucleótido de la reivindicación 17, donde la respuesta inmune es una respuesta de linfocitos T o donde la respuesta inmune es una respuesta de linfocitos B.

19. El polipéptido de la reivindicación 16 o el polinucleótido de la reivindicación 17, donde el sujeto es un sujeto veterinario no humano o donde el sujeto veterinario no humano es un perro.
- 5 20. El polipéptido de la reivindicación 16 o el polinucleótido de la reivindicación 17, donde el sujeto es un ser humano.
21. Un polipéptido salival de *Lu. longipalpis* sustancialmente purificado seleccionado del grupo compuesto por:
- 10 a) una secuencia de aminoácido al menos un 80% idéntica a la longitud total de la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 15;
- b) un fragmento inmunogénico que comprende al menos ocho aminoácidos consecutivos de la secuencia de aminoácido que se presenta como SEC. ID. N°: 15, específicamente reconocido por un anticuerpo que se une de forma específica con la secuencia de aminoácido que se presenta como SEC. ID. N°: 15; o
- 15 c) la secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 15; para su uso en la inhibición de un síntoma de una infección por *Leishmania* o en la prevención de una infección por *Leishmania* en un sujeto.
22. Un polinucleótido que codifica el polipéptido que se presenta en las letras a), b) o c) de la reivindicación 21, para su uso en la inhibición de un síntoma de una infección por *Leishmania* o en la prevención de una infección por *Leishmania* en un sujeto.
- 20 23. Uso de una composición que comprende el polipéptido de la reivindicación 1 o un ácido nucleico que codifica el polipéptido de la reivindicación 1 para la fabricación de un medicamento.
- 25 24. Uso de una composición que comprende el polipéptido de la reivindicación 1 o un ácido nucleico que codifica el polipéptido de la reivindicación 1 conjuntamente con una composición que comprende un polipéptido de *P. ariasi* o *P. perniciosus* para la fabricación de un medicamento.
- 30 25. Un método para diagnosticar la infección por *Leishmania* en un sujeto, que consiste en:
- poner en contacto un sustrato sólido con una muestra obtenida del sujeto, donde el sustrato sólido contiene un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácido presentada como SEC. ID. N°: 15 o un fragmento inmunogénico del mismo; detectar la unión de un componente de la muestra a dicha secuencia del polipéptido en el sustrato sólido, donde la detección de la unión del componente al sustrato indica que el sujeto está infectado por *Leishmania*, diagnosticando así la infección por *Leishmania* en el sujeto.
- 35 26. El método de la reivindicación 25, donde el sustrato sólido comprende una perla, una partícula, una membrana o una placa de poliestireno; o donde la detección consiste poner en contacto el componente unido al sustrato sólido con un anticuerpo secundario etiquetado.
- 40 27. El polipéptido de la reivindicación 1, donde el polipéptido está codificado por los residuos de ácido nucleico 115-948 de la SEC. ID. N°: 16 o los residuos de ácido nucleico 46-948 de la SEC. ID. N°: 16.

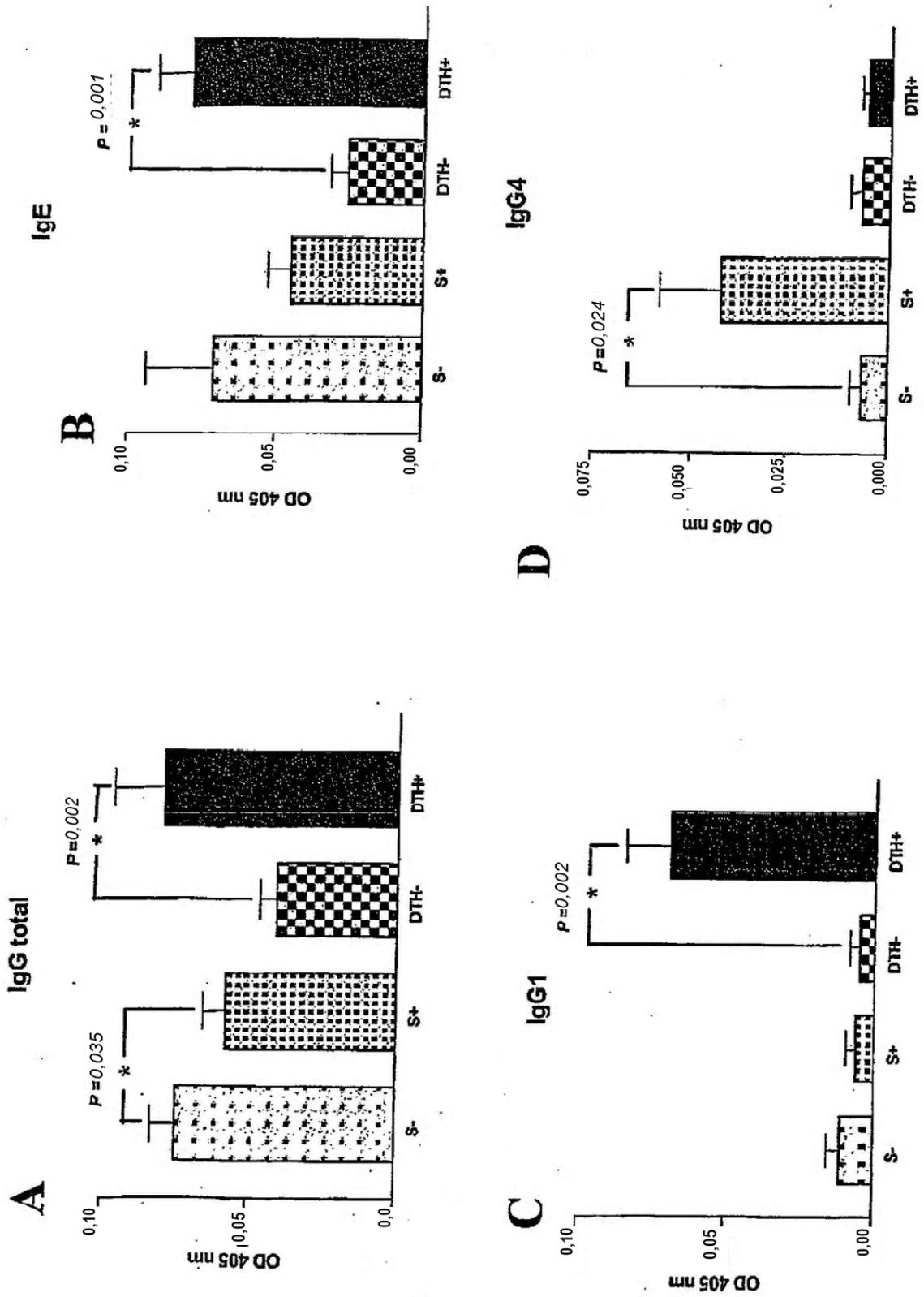
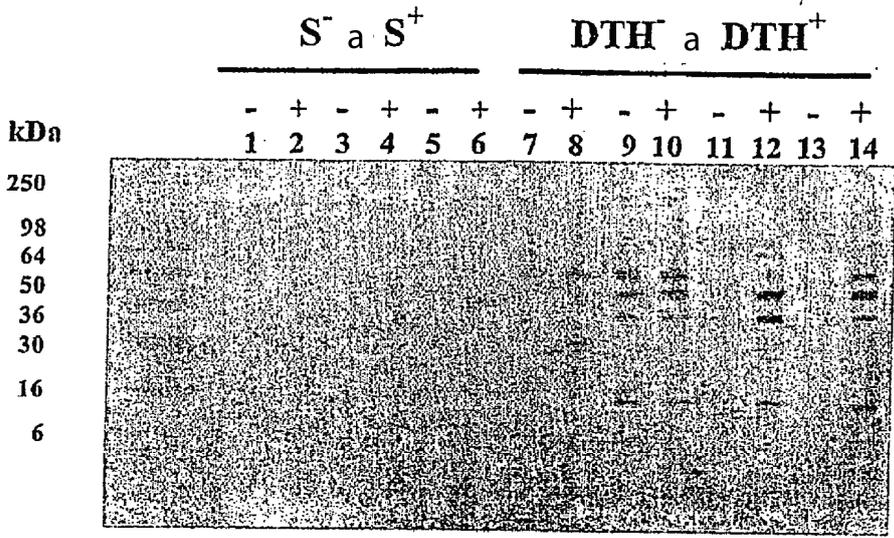
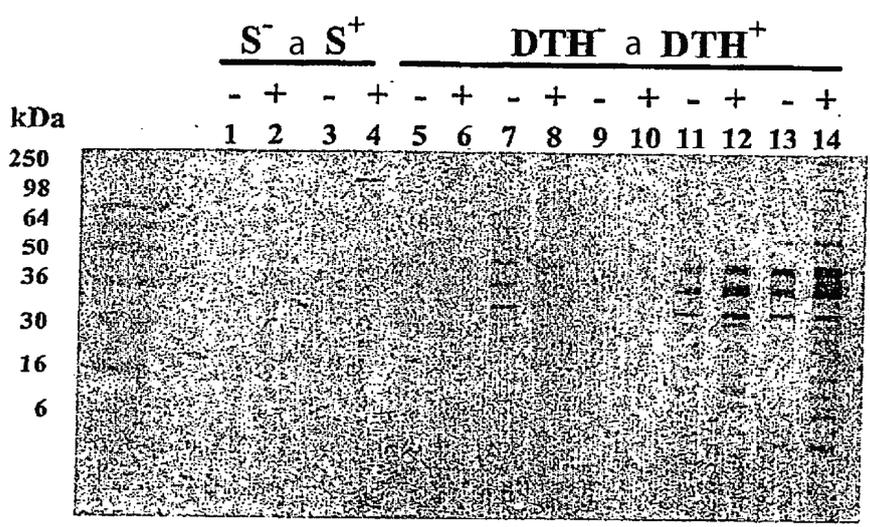


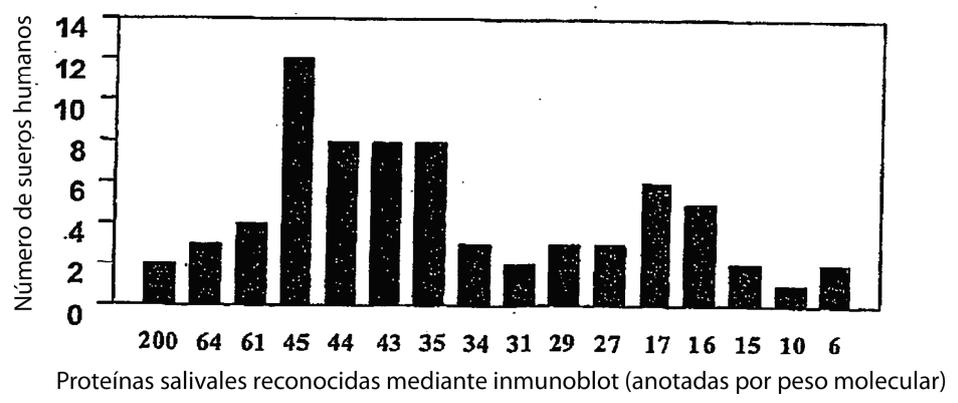
FIG. 1



A



B



C

FIG. 2